

課題番号 31

ヒト OXR1 タンパク質のゲノム情報安定化における 生理学的機能の解明

[1] 組織

代表者：橋口 一成
(京都大学大学院理学研究科)

対応者：安井 明
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：
菅野 新一郎 (東北大学加齢医学研究所)
秋山 秋梅 (京都大学大学院理学研究科)

研究費：物件費 25 万円、旅費 0 円

[2] 研究経過

OXR1 (*oxidation resistance-1*) は真核生物において高度に保存された遺伝子であり、その遺伝子産物は酸化ストレスに対する防御機構に寄与すると推測されている。本研究代表者らによるこれまでの解析から、細胞レベルでの OXR1 の喪失がゲノム不安定性を引き起こすことを明らかにしたがその分子機序は未解明である。そこで本共同研究では OXR1 遺伝子産物の細胞内での生理機能を明らかにし、ゲノム安定化機構における位置づけを行うことを目的として研究を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。本研究目標達成のため、まず、OXR1 タンパク質の複合体を細胞抽出液から精製し、OXR1 結合タンパク質の同定を行った。用いたプラスミド DNA は京都大学において構築し、東北大学において安定発現ヒト培養細胞株の取得、細胞の大量培養、調製した細胞抽出液から OXR1 の複合体精製、その構成因子の質量分析を行った。

研究打ち合わせは主として電子メールで、また必要に応じて電話でも行った。また学会開催地 (BMB2010、2010 年 12 月、神戸) においても行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は以下に示す研究成果を得た。

まず第 1 に、OXR1 タンパク質複合体構成因子として細胞質画分では Gemine4, PP2B,

Carboxymethylene butenolidase homolog (下図)、核画分では GRP75 が同定された。しかしこれら全ては当該実験系でバックグラウンド(非特異的結合)として頻繁に見受けられるものであることから、有意な OXR1 結合タンパク質ではない、と判断した。

第 2 に、上述の複合体解析において OXR1 そのものが異なる分子量として含まれていたこと、さらに以前に行った細胞抽出液のゲルろ過分析により、OXR1 タンパク質の多量体形成が示唆された。そこで精製 OXR1 タンパク質を用いて相互作用解析したところ、OXR1 タンパク質の自己結合が検出された。この結果、OXR1 は細胞内で少なくとも二量体を形成している可能性が高い。

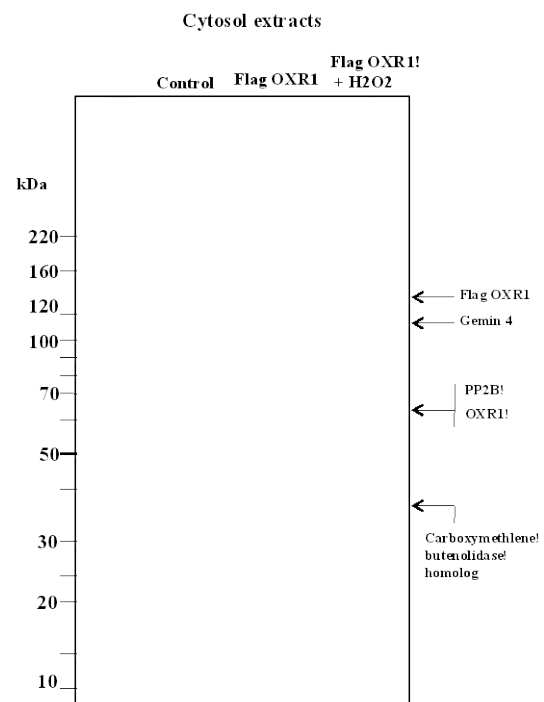


図 FLAG-OXR1複合体精製

FLAG-OXR1を恒常的に発現する細胞の細胞質画分を調製し、FLAGアフィニティー精製を行い複合体を電気泳動で分離した。矢印で示したタンパク質バンドをゲルから切り出し、質量分析によりタンパク質を同定した。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究結果は、OXR1が多量体形成する可能性を示唆するものである。機能未知のタンパク質であることから複合体に機能既知タンパク質が含まれていることを期待したが、本研究で構築した実験系ではそれを検出することができなかった。今後、実験系を改良することで複合体解析を継続して行う必要性がある。

出芽酵母 *oxr1* 遺伝子欠損株は酸化ストレス感受性や定常状態において突然変異性を示すことから、細胞内で恒常的に発生する活性酸素に対しての直接的、もしくは間接的な防御機能を持つと考えられる。そのため、その生理機能を明らかにすることは、ゲノム安定性維持機構の一端の解明に繋がると期待される。

[4] 成果資料

本共同研究の研究成果が直接掲載された論文はまだないため、平成22年度の学会発表を掲載する。

- (1) 秋山(張)秋梅、浅井 翔太、橋口 一成、中村 允耶、真田 悠生、石井 直明 (2010) 線虫 *C.elegans* における酸化ストレス防御遺伝子(CeOXR-1)によるゲノム安定性維持機構、BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会)、神戸
- (2) 秋山(張)秋梅・橋口一成・浅井翔太・中村允耶・真田悠生 (2010) 真核生物における酸化ストレス防御遺伝子(OXR1)の突然変異抑制機構、日本放射線影響学会・第53回大会、京都