

課題番号 2

ストレス応答遺伝子 OXR1 による細胞防御機構の解明

[1] 組織

代表者：松井 亜子
(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 27 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

背景：

OXR1 (Oxidation Resistance 1) は、真核生物に高度に保存されており、ホ乳類細胞において、酸化ストレス防御機能をもつことが示されている遺伝子である (e.g. M. Yang, et al., 2014, Y. Wu. et al, 2016)。さらに、OXR1 の機能は筋萎縮性側索硬化症や老化に関与している報告されており (e. g. P. L. Oliver, et al. 2011, Y. Sanada, et al., 2014)、細胞・個体の正常な機能を維持するために必須であることが示唆されてきた。しかし、OXR1 の酸化ストレス防御機能は、未解明な部分が多い。

目的：

本研究では、OXR1 の酸化ストレス防御機能の詳細を明らかにするために、OXR1 の結合因子の探索、関連経路の同定をこころみた。

過去に、本研究グループでは、ヒト細胞内で発現させた FLAG-OXR1 を用いた免疫沈降法において、serine/threonine キナーゼである NDR1 を OXR1 への結合因子の候補としてみつけた。本研究では、別の方法を用い、さらに新たな結合因子の探索、および OXR1 と NDR1 の結合の検証をこころみた。

方法：

- (1) 京都大学において作成した大腸菌発現プラスミドを用い、東北大学において、ヒト細胞発現プラスミドを作成し、バキュロ細胞で発現させ、活性酸素処理をしたヒト細胞エキストラクトと反応させ、特異的に結合する蛋白を精製、質量分析をおこなった。
- (2) 京都大学において作成した発現プラスミドを使用し、東北大学において安定発現細胞株を樹立、

FLAG アフィニティー精製法により、OXR1 複合体を精製し、構成因子の質量分析を行った。

研究打合わせは主として電子メールによりおこなった。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

新たにこころみた方法(1)では、結果が得られなかった。

NDR1 の OXR1 への結合を検証するために、方法(2)を、新たな条件設定のもとで行った。NDR1 の OXR1 への結合は認められなかったが、新たに別の因子を同定することに成功した。

OXR1 結合因子として、細胞骨格を構成する actin filament-myosin 系タンパクのいくつかが同定された。また、細胞シグナリング関連因子、細胞間連結因子など、重要な結果を得ることができた。

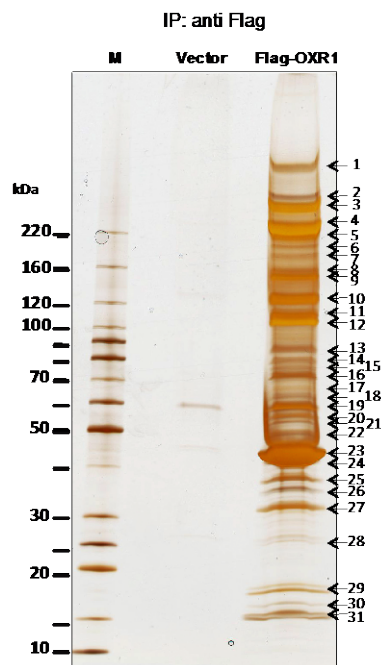


図 FLAG-OXR1 複合体精製

FLAG アフィニティー精製法により細胞抽出液中の OXR1 複合体を精製し、SDS-PAGE ゲル上に展開した後、候補タンパク質を質量分析で同定した (矢印で示す)。

(3-2) 波及効果と発展性など

本年度の成果において、OXR1 の actin

filament-myosin 系タンパクとの結合が認められたことは新しい。神経細胞の軸索を構成する細胞骨格形タンパクは、神経細胞間の正常なシグナル伝達に重要な因子であり、**OXR 1**の神経細胞機能維持への貢献に関するメカニズムが明らかになる可能性がある。すでに、神経変性疾患の治療へ、**OXR1**の応用が進められつつあることから、本研究結果をもとに、**OXR1**の機能の詳細が明らかになれば、神経変性疾患の予防、治療の向上につなげられることが期待される。

これまで詳細な機能が未解明であった **OXR1** について、新たな知見が得られることは、生体内ストレス防御機構の新たな面の発見につながる可能性もある。

[4] 成果資料

本共同研究成果が直接掲載された論文はまだない。本研究をもとに、引き続き、共同で具体的な研究を進める準備をしている。