

2-P-5

ヘミンによる細胞死誘導は **Ferroptosis** に合致するかどうかの検討

井本しおん

澤田浩秀 鈴木高史 澤村 暢 溝越祐志 西郷勝康

【目的】Ferroptosis は、鉄依存性の programmed cell death (PCD) として 2012 年に提唱された。本研究では、鉄含有物であるヘミンによるヒト単球系細胞に対する細胞死誘導が ferroptosis に合致するかどうかを明らかにすることを研究目的とする。

【細胞および方法】ヒト単球系培養細胞 THP-1 を用いた。ヘミンによる細胞死を Annexin-V-FITC と PI、活性酸素種 (ROS) 発現を CM-H2DCFDA を用いてフローサイトメトリー (FCM) で測定した。また、ヘム代謝酵素 HO-1 発現をウェスタンブロッティングで解析した。

【結果】**1. ヘミンによる細胞死と ROS 産生との関連:** NADPH oxidase 阻害剤 DPI または抗酸化剤 NAC は細胞死も ROS 産生も抑制した。**2. ヘミンによる細胞死と鉄キレート剤、ferroptosis 阻害剤との関連:** 鉄キレート剤は細胞死も ROS 産生も抑制した。ferroptosis 阻害剤 ferrostatin-1 は細胞死を抑制したが ROS 産生は抑制しなかった。

【考察】細胞死と ROS 産生との関連、鉄キレート剤による抑制、ferroptosis 阻害剤による抑制は、いずれもヘミンによる細胞死が ferroptosis に合致することを示している。

HO-1 発現の解析は次年度継続中である。

2-P-6

DSCR9 の機能解明に関する研究

鈴木高史

澤村 暢 高松邦彦 溝越祐志

DSCR9 はダウン症必須領域にコードされ、かつ精巢に mRNA が発現していることから、男性のダウン症患者に多いとされている不妊症に本遺伝子が関与している可能性が考えられてきている (Stefanidis K *et al.* Andrologia. 2011)。また、進化上で類人猿のみが持つようになった DSCR9 のような遺伝子は極めてユニークな存在である。本遺伝子の機能は全くの未知であるが、ダウン症必須領域に存在することから、ダウン症発症のメカニズムに関与する可能性が示唆されている。

DSCR9 の組織における発現、並びに細胞内局在を解析することを目的として、抗 DSCR9 抗体の作製を試みた。そのために、まず大腸菌で組換え DSCR9 を発現させる実験を行った。全長鎖での発現では不溶化タンパクとなり、精製できなかったため、大腸菌シャペロンの一種である Trigger Factor (TF) との融合タンパクとして発現精製を行い、抗体作製を行った。その結果、できた抗体は組換え DSCR9 とは交差するものの、TF にも強く交差しており、特異性に問題があると考えられた。そこで、次に DSCR9 の親水性アミノ酸が多く含まれる部分を選択し再度タンパク発現を行い、この組換えタンパク質を用いて、新しい抗体作製を行った。現在、この抗体を用いて細胞内局在部位の解析を行っているため、その結果について報告を行う。