

28P2-am007

三酸化ヒ素刺激による酸化的修飾のプロテオーム解析

○鍋師 裕美¹, 柴田 寛子^{1,2}, 阿部 康弘^{1,2}, 野村 鉄也^{1,2}, 蓑輪 恭子^{1,3},
鎌田 春彦^{1,4}, 吉岡 靖雄^{1,2,4}, 角田 慎一^{1,4}, 堤 康央^{1,2,4} (1基盤研, 2阪大院薬, 3京都
薬大, 4阪大MEIセ)

【目的】プロテオミクス研究の進展によって、タンパク質の翻訳後修飾と疾患の発症や悪化の関連が明らかになりつつあり、薬効発現メカニズムの解明に翻訳後修飾の解析が有効な方法であることが示唆されている。近年、白血病の新規治療薬候補として注目されている三酸化ヒ素(As)の薬効メカニズムの解明を目的として、細胞の生存率変化と形態変化を検討するとともに、細胞内タンパク質の酸化的修飾の網羅的な検出を行った。

【方法】各種白血病培養細胞株について、As 存在下、48 時間培養後の細胞生存率を WST-8 assay によって評価するとともに、細胞の形態変化を確認した。As 刺激による細胞内タンパク質の酸化的修飾を検討するために、T 細胞白血病株のひとつである C5/MJ 細胞を用い、1 μ M の As 存在下で 48 時間培養後の細胞をサンプルとして、2 次元電気泳動による発現量の変動解析(2D-DIGE)を行った。また、2 次元電気泳動と Western blot を組み合わせた 2D-Western blot によって、一般的にタンパク質の酸化的修飾の指標として用いられているカルボニル化タンパク質の検出を行った。

【結果・考察】白血病細胞株の生存率は As の濃度依存的に低下し、また細胞株によってその感受性に差があることが明らかになった。また、As 刺激により、細胞同士の凝集体が減少し、細胞が分散するという形態的变化が確認された。2 次元電気泳動を用いた解析により、As 刺激群と無刺激群でタンパク質の存在比、およびカルボニル化タンパク質の発現量に変化が起きたスポットが多数検出された。以上の変化は、As の薬効発現に関与している可能性を示唆するものであり、顕著な変化を示すタンパク質を質量分析により同定することで、As の持つ薬効発現メカニズムの詳細な解析を行っていく予定である。