

28SE-am05

CapZ を介した V-1 によるチロシン水酸化酵素遺伝子発現の新規調節メカニズムの解析

○森田 淳一¹, 金 京梅¹, 中島 晶¹, 阿部 誠也¹, 山岸 佑輔², 陳 嘉俊¹, 大泉 康^{3,4,5}, 富岡 佳久², 山國 徹¹(¹東北大院薬・薬物療法, ²東北大院薬・がん化学療法, ³横浜薬大, ⁴東北大院工・超臨界溶媒工学研セ, ⁵静岡県大院薬・衛生分子毒理学)

【目的】私たちの研究グループにより発見されたV-1は、神経細胞や内分泌系細胞などで選択的に発現する。V-1は分子内にタンパク質相互作用に関わるアンキリンリピート配列(Ankリピート)を4個持ち、Ankリピートを介してアクチンキャッピングタンパク質であるCapZ α β と結合し、アクチンの重合・脱重合を調節する。また、私たちは、*in vivo*および*in vitro*の研究から、V-1がカテコールアミン(CA)を産生・分泌する細胞においてチロシン水酸化酵素(TH)遺伝子発現の新規促進因子として働き、CA産生を増大させることを証明した。本研究ではTH遺伝子発現調節機構におけるV-1の作用メカニズムを解明するため、ラット副腎褐色細胞腫由来PC12D細胞においてV-1、CapZ α ₁、CapZ β ₁、およびnotch1のligandであるPref-1/DLK1のsiRNAで処置してノックダウン実験を行い、そのTHタンパク質発現レベルへの影響をウエスタンブロット法で検討した。

【方法】細胞を35-mm dishに2 x 10⁵/dishで播種し、2日間培養後上記の各siRNA またcontrol siRNAで10 nMの濃度で3日間処置して培養を行った。これらの細胞抽出液を抗V-1、抗CapZ α _{1/2}、抗CapZ β ₂、抗Pref-1/DLK1および抗TH抗体を用いてウエスタンブロット法で分析した。

【結果】その結果、V-1をノックダウンすると、期待した通り、THタンパク質の発現が抑制された。またV-1、CapZ α ₁、CapZ β ₁、Pref-1/DLK1をノックダウンすると、THタンパク質発現抑制強度はV-1 < CapZ α ₁ < CapZ β ₁ = Pref-1/DLK1の順であった。さらにCapZ β ₁のノックダウンによりPref-1/DLK1の減少が認められた。

【考察】V-1はAnkリピートを介してCapZと複合体を形成し、それによりPref-1/DLK1の発現を増大させTHタンパク質の発現を促進することが示唆された。