

29S-am07

家族性 ALS に関与する Optineurin ZnF ドメインの構造・機能解析

○天野 剛志^{1,2}, 市川 大哉³, 池上 貴久⁴, 廣明 秀一^{1,2} (1名大院創薬, ²神戸大院医, ³神戸大医, ⁴阪大蛋白研)

【目的】緑内障の原因遺伝子の一つとして同定されていた Optineurin は、近年家族性 ALS の原因の一つとしても報告された。Optineurin はマルチドメインタンパク質であり、各ドメインにおいて様々なタンパク質と相互作用することが分かっているが、カルボキシ末端にあるジンクフィンガー (ZnF) ドメインについては、相互作用するタンパク質および機能が不明である。

【方法】安定同位体ラベルを導入した ZnF ドメインを大腸菌で発現させて、各種クロマトグラフィーにより精製し、構造解析用のサンプルを得た。このサンプルを溶液 NMR により解析し、溶液構造を決定した。ZnF ドメインの機能を調べるために、培養細胞で欠損変異体を発現させて、細胞内局在を調べた。また、プルダウン実験により、ZnF ドメインと相互作用するタンパク質について解析を行った。

【結果および考察】溶液構造は CCHC タイプの ZnF ドメインであり、ユビキチンと相互作用することが明らかとなった。これらは類似タンパク質である NEMO(IKK γ)の ZnF ドメインとよく似ている。そして、NMR 滴定実験により同定したユビキチンとの相互作用残基を変異させると、ユビキチンとの親和性が低下した。次に、GFP 融合 Optineurin を培養細胞で発現させると、細胞内のゴルジ体近傍に強く局在するが、ZnF ドメインを欠いた変異体を発現させた細胞ではこのような局在は観察されなかった。そしてユビキチンとの親和性が低下する変異を含む全長タンパク質を細胞で発現させても、細胞内での局在が観察されなかった。したがって、Optineurin の ZnF ドメインはユビキチンと相互作用し、その相互作用は細胞内局在に関与していることが明らかとなった。