

同志社大学

2014年度 個人研究費研究経過・成果報告書

2015年 4 月 15 日提出

所 属	職 名	氏 名
研究開発推進機構	特定任用研究員（助教）	渡辺 祥司
研 究 題 目	ALS 原因蛋白質が電位依存性 K ⁺ チャネルの局在化機構に与える影響と病態との関連	
研 究 成 果 の 概 要	<p>神経細胞に存在するイオンチャネルは、“神経細胞同士および筋肉組織への情報伝達”といった、生体内で非常に重要な働きを持っている。その中で、電位依存性 K⁺チャネル（Kv チャネル）は、最も種類が多く、興奮性を制御するといった極めて重要な役割を担っている。Kv チャネルの一つである Kv2.1 は運動神経において他の神経細胞では見られない局在（運動神経でのみポストシナプスに局在する）を示し、進行性・致死性の神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症（ALS）や脊髄損傷時に発現レベルが上昇することが知られていることから、ALS の病態に関与している可能性が考えられた。また、Kv2.1 が ALS 原因蛋白質の一つである SigR 蛋白質と相互作用し、細胞内で共局在することからも、Kv2.1 の ALS 病態への関与が強く疑われた。</p> <p>ALS 患者の病巣では Kv2.1 の細胞内局在に変化が見られるが、神経細胞内における Kv2.1 の局在化機構は不明な点が多い。そこで、正常状態における神経細胞内での Kv2.1 の局在化機構を明らかにすることを第一の目標として研究を遂行した。まず、ドキシサイクリンによる発現誘導系を改良し、独自の発現系を構築した。この系を用いて蛍光蛋白質を付加した Kv2.1 が、内在性の Kv2.1 と同じ局在および機能を持つことを確認した。この系を用いて、発現開始後、どのようなタイムスケールで然るべき局在場所に局在するのかをライブセルイメージングで解析した。また、大腸菌由来のビオチン結合酵素を用いたユニークな実験系により、Kv2.1 と神経細胞内で相互作用因子を同定し、そのうち局在に関わる分子を探索することを試みた。しかし、神経細胞への遺伝子導入効率が悪いいため、これら分子の同定には至っていない。今後はレンチウイルスを用いた実験系に変更し、遺伝子導入効率の問題を回避したいと考えている。今後、正常状態での局在化機構を明らかにし、ALS 原因蛋白質の発現により、どのような変化を来すのかを生化学的・生理学的に解析し、病態との関連を明らかにしたいと考えている。</p>	