

助成番号	070576	6 - 2
------	--------	-------

研究成果報告書

(国立情報学研究所民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		孤発性神経変性疾患発症に関わる生体内一酸化窒素結合蛋白質の網羅的同定と機能解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Isolation and identification of endogenous S-nitrosylated proteins linking to sporadic neurodegenerative diseases			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)ウエハラ	名)タカシ	研究期間 B	2007 ~ 2009 年
	漢字 CB	上 原	孝	報告年度 Y	2009年
	ローマ字 CZ	UEHARA	TAKASHI	研究機関名	北海道大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		北海道大学大学院薬学研究院医療薬学講座薬理学研究室・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。ワープロ作成原稿の切り貼りで結構です。)</p> <p>蛋白質システイン残基への一酸化窒素(NO)の結合は S-ニトロシル化と呼ばれ、翻訳後修飾の一つであり重要な生理あるいは病態生理機構の獲得に関与していることが近年明らかにされつつある。ニトロソ化される蛋白質はこれまでに多数同定されてきているものの、NO の多様な生理作用を説明するには充分とは言えない。最近、生体内 S-ニトロシル化を特異的に同定するビオチンスイッチ法が開発され、この手法が汎用されつつある。これは蛋白質中の-SNO 部位を-S-S-biotin 化し、最終的に特異的抗体あるいは MASS などによって同定するものである。私たちはこの方法を改変して生体内 S-ニトロシル化蛋白質を網羅的に同定することを試み、以下の知見を得ることに成功した。</p> <p>細胞を NO ドナーで処理し、それをビオチンスイッチ法から修飾されたシステイン残基を特異的にビオチン化した。これをまず抗体アレイに供し、抗原抗体反応を行なった。その後、ビオチン残基を蛍光標識しアレイ解析を行い、対照に比べて有意に蛍光強度が高いサンプルをピックアップした。これによって、今回 23 種の陽性蛋白質を同定した。その中これまでに既に同定されてきたカスパーゼ、MAP キナーゼ、NO 合成酵素をはじめとする NO 標的蛋白質が含まれていた。ここで同定された蛋白質が本当に NO の標的となっていることを確認するために、今回単離した FADD に関して S-ニトロシル化の有無を検討した。FADD は NO の濃度依存的に確かに S-ニトロシル化されることが明らかとなった。</p> <p>現在、興味深い基質を数種ピックアップし、S-ニトロシル化部位の同定やその生理的／病態生理的役割を解析しているところである。</p>					
キーワード FA	一酸化窒素	酸化	S-ニトロシル化	神経細胞死	

(以下は記入しないでください)

助成財団コード TA						研究課題番号 AA							
研究機関番号 AC						シート番号							

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい）									
雑誌	論文標題 GB	GMEB1. a novel endogenous caspase inhibitor, prevents hypoxia- and oxidative stress-induced neuronal apoptosis.							
	著者名GA	Nakagawa, T. et al.,	雑誌名GC	Neuroscience Letters					
	ページGF	34~37	発行年GE	2	0	0	8	巻号 GD	438
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	~	発行年GE					巻号 GD	
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	~	発行年GE					巻号 GD	
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB		発行年HD					総ページ HE	
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB		発行年HD					総ページ HE	

欧文概要EZ（ワープロ作成原稿の切り貼りで結構です。）

In this study, we developed the new screening system for isolating the novel S-nitrosylated proteins (SNO-P). Samples were prepared from the human neuroblastoma SH-SY5Y cells treated with or without calcium inophore A23187 to activate endogenous NO synthase (NOS) and produce the physiological low concentration of NO. S-nitrosylated cysteine residues in cell lysates were changed to the biotinylated one by biotin-switch technique. The samples including biotinylated cysteines were subjected to the assay system and detected the fluorescent intensities. Twenty-five candidates were identified; the known SNO-Ps such as caspase, NOS, and MAP kinase were including. Since FADD was isolated as a candidate, we examined whether FADD is a target of NO in cells. It was revealed that FADD is S-nitrosylated by treatment with NO donor and A23187. We are now attempting to demonstrate the physiological roles of S-nitrosylation in vivo.