

# DJ-1 と小胞モノアミン輸送体 2(VMAT2)の相互作用の解析

生命科学院(生命システム科学コース) 環境応答統御科学分野  
田中悠貴

## 【背景と目的】

パーキンソン病はアルツハイマー病に次いで患者数の多い脳神経変性疾患である。その発症原因としては、主に活性酸素種による中脳黒質ドーパミン神経細胞死が考えられている。

当研究室で癌遺伝子として同定した DJ-1 は、癌遺伝子としてだけでなくパーキンソン病の原因遺伝子(PARK7)であることが判明し、酸化ストレスによる神経細胞死を抑制する機能の他、転写調節活性、プロテアーゼ活性、ミトコンドリアコンプレックス I 制御など多様な生理機能を持つことがわかってきてている。

酸化ストレスから神経細胞を保護する機能を持つタンパク質の一つとして小胞モノアミン輸送体 2(VMAT2)があげられる。VMAT2 は生合成されたドーパミンをシナプス小胞に取り込む働きを担い、ドーパミンの輸送に関与しているが、過剰なドーパミンや酸化ストレスを誘導する毒物を小胞内に隔離することで神経細胞を保護する働きも有している。さらに、パーキンソン病患者では VMAT2 の発現減少が見られるという報告もある。これらのことから、パーキンソン病の発症メカニズムにおいて VMAT2 が重要な役割を果たしていることが示唆されているが、DJ-1 と VMAT2 の相互作用については未だほとんど明らかにされていない。

本研究では、DJ-1 と VMAT2 との相互作用を検討して、VMAT2 がパーキンソン病発症機序にどのように関与しているか明らかにすることを目指した。

## 【結果と考察】

まず、ヒト神経芽腫細胞 SH-SY5Y を用いて VMAT2-FLAG-His を恒常的に発現する細胞株を作成し、免疫沈降法により、同細胞内の DJ-1 との相互作用を検討した。その結果、抗 FLAG 抗体により DJ-1 が VMAT2 と共に共沈降したことから、DJ-1 は VMAT2 と結合していることが示唆された。

次に、DJ-1 と VMAT2 が直接結合しているかを明らかにするために、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)-DJ-1 融合タンパク質を大腸菌で発現・精製し、ウサギ網状赤血球溶解液中で *in vitro* 合成した <sup>35</sup>S 標識 VMAT2 との相互作用を GST プルダウン法により検討したところ、DJ-1 は VMAT2 と直接結合していることが示唆された。

さらに、SH-SY5Y 細胞について、抗 DJ-1 抗体および抗 VMAT2 抗体を 1 次抗体として用い、続いてローダミンおよび FITC で蛍光標識された 2 次抗体を用いてそれぞれ染色した。その結果、DJ-1 は細胞内の広範囲で検出されたが、核内にはほとんど存在しなかった。同様に、VMAT2 も核を除いて広範囲に分布していることが判明した。

以上より、DJ-1 と VMAT2 が *in vivo* および *in vitro* 実験系において直接結合していることが示され、両タンパク質の細胞内局在性から、DJ-1 と VMAT2 の細胞内相互作用は核外で行われている可能性が示唆された。今後は DJ-1 が VMAT2 の生理機能にどのような影響を及ぼすかについて検討していく予定である。