

## 学会/受賞報告書

### 第85回生化学会大会 鈴木絃一メモリアル賞 受賞

生物化学分野 大学院生  
羽田 浩士



#### 感想

2012年12月14日～16日にかけて福岡で開催されました第85回日本生化学会大会において、「鈴木絃一メモリアル賞」に採択していただきました。大変名誉ある賞を頂くことが出来て、身の引き締まる思いです。本研究を行うにあたりご指導いただきました五十嵐和彦教授、白木琢磨准教授、松井美紀助手ならびに生物化学分野の方々に心より感謝申し上げます。

私は、補欠分子族へムによる遺伝子発現制御に興味を持ち、その制御機構の生理的な意義の探索を目的として研究を進め、これまで生理的なへムの取り込みを試験管内で再現した実験系の考案・構築を行いました。本学会では生理的環境をミミックしたへムの実験系の構築と、生理的なへム取り込みの分子機構の解析結果を発表致しました。

鈴木絃一メモリアル賞の受賞者として恥じない様、より一段と研究に邁進してまいりたいと思いますので、今後とも御指導御鞭撻のほどよろしくお願い致します。

受賞研究：

組換えヘモペキシンを用いた細胞外ヘムによる遺伝子制御機構の解明

抄録：

近年、補欠分子族であるヘムが遺伝子発現制御に関与することが報告されてきている。我々はヘムが転写抑制因子 **Bach1** と直接結合することで **Bach1** の細胞質への移行と分解を促し、ヘムオキシゲナーゼ-1 (**HO-1**)の転写抑制を解除することを明らかにしてきた。そこで、細胞外ヘムが酸化ストレスに対する細胞応答のシグナル分子として働き、**Bach1** がその受容体となる可能性を考えた。これまで生理的条件下における細胞外ヘムの **Bach1** への作用は不明であったため、生理的な細胞外ヘムの取込みを再現した実験系を構築し、**Bach1** への作用について検討した。通常、細胞外ヘムは主にヘモペキシン(**Hx**)との複合体で存在する。**Hx** と結合したヘムはマクロファージや肝細胞等に運ばれ、エンドサイトーシスで細胞内に取り込まれる。そこで、この生理的ヘム取り込み系を再現するため **Hx** を哺乳類発現系を用いて調製した。**Hx** の分泌シグナルをイムノグロブリン  $\kappa$  鎖由来の配列に置換えることにより大量分泌を実現した。また、**Flp** 組換え酵素を用いた DNA 組換えにより **Hx** 安定発現株の樹立を行った。安定発現株の培養上清から、イオン交換カラムを用いた精製により組換え **Hx** (**rHx**)を精製した。40ml の培養上清から 300  $\mu$ g の収量で精製 **rHx** が得られた。精製した **rHx** にヘムを添加後、遊離ヘムをゲル濾過によって除去することでヘム結合型 **rHx** を作製した。ヘム結合型 **rHx** を、マクロファージの分化を誘導したヒト単球細胞株 **THP-1** に添加して培養すると、**HO-1** の発現が誘導され、さらにこの **HO-1** 誘導がエンドサイトーシス依存的であることが明らかとなった。また、マウス肝由来の **Hepa-1c1c7** 細胞で、ヘム結合型 **rHx** を添加すると **Bach1** タンパク質の量が減少することが示された。以上の結果から、生理的条件下でも細胞外ヘムが **Hx** 複合体として細胞内に取り込まれ、**Bach1** に作用することが示された。今後、細胞外ヘムがどのような経路で **Bach1** に作用するのか、ヘムのダイナミクスを解析していく。