

Title	ヒトデ幼生のマクロファージ遊走阻止因子受容体の探索
Sub Title	A study of receptor(s) for the macrophage migration inhibitory factors in starfish larva.
Author	古川, 亮平(Furukawa, Ryohei)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>最も原始的なサイトカインの一つであるマクロファージ遊走阻止因子(Macrophage migration Inhibitory Factor ; MIF)は、ヒトの様々な慢性疾患に関与するが、詳細なメカニズムは不明である。その主要因として、進化的に保存されたMIF受容体が同定されていないことが挙げられる。免疫系の進化の理解に重要なモデル生物であるイトマキヒトデの幼生では、2種のMIF(ApMIF1及びApMIF2)が、それぞれ「走化性阻止因子」、</p> <p>「走化性因子」として差時的に作用することにより、異物の大きさや量に応じた適切な数の間充細胞のリクルートを制御していることが明らかにされている。そこで本研究では、還元条件下で切断可能な架橋剤を用いて、Hisタグ融合タンパク質(rMIF1またはrMIF2)をイトマキヒトデ幼生の解離細胞表面の受容体と架橋し、Hisタグに対するアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製した膜画分からの受容体の単離を目指した。</p> <p>まず、Hisタグ融合タンパクが多量体を形成するかを検討するために、rMIF1、rMIF2にそれぞれ架橋剤を添加したところ、共に、二量体、三量体を形成することが明らかとなった。これは哺乳類のMIFにおける過去の知見と一致した。次に、抗Hisタグ抗体を用いて、非還元条件下で電気泳動したアフィニティ精製産物に対してウエスタンブロットを行ったところ、rMIF1と架橋した膜タンパク質が、90kDa程度の複合体として検出された。しかし、rMIF2と架橋したタンパク質は得られなかった。</p> <p>今後は、rMIF1と架橋したタンパク質の配列決定を目指すとともに、rMIF2の膜タンパク質との架橋条件を詳細に検討する必要がある。</p> <p>Macrophage migration inhibitory factor (MIF), which is one of the most primitive cytokines, is involved in various chronic diseases in humans, but the detailed mechanism is unknown. One of the main reasons is that evolutionarily conserved MIF receptors have not been identified. In the larva of <i>Patiria pectinifera</i>, which is an important model organism for understanding the evolution of the immune system, it has been clarified that two MIFs (ApMIF1 and ApMIF2) regulate the recruitment of the mesenchyme cells by differentially acting as chemotactic inhibitory factor and chemotactic factor, respectively. In this study, to isolate evolutionarily conserved MIF receptor(s), we cross-linked the His-tagged fusion proteins (rMIF1 and rMIF2) with the receptor(s) on the surface of the dissociated larval cells using a cleavable cross-linker, and then performed affinity chromatography against the His-tag.</p> <p>First, it was revealed that both rMIF1 and rMIF2 formed dimers and trimers when the cross-linker was added to each of them. This result is consistent with previous reports in mammalian MIFs. Western blotting using the anti-His tag antibody was performed on the affinity purified product that was electrophoresed under non-reducing conditions, detecting a membrane protein cross-linked with rMIF1 as a complex of about 90 kDa. However, no protein cross-linked with rMIF2 was detected.</p> <p>It is necessary to determine the sequence of the protein cross-linked with rMIF1 and investigate the cross-linking conditions of rMIF2 with the membrane protein in detail.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170261

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	文学部	職名	助教(有期)(自然科学)	補助額	300 (A) 千円
	氏名	古川 亮平	氏名 (英語)	Ryohei Furukawa		
研究課題 (日本語)						
ヒトデ幼生のマクロファージ遊走阻止因子受容体の探索						
研究課題 (英訳)						
A study of receptor(s) for the macrophage migration inhibitory factors in starfish larva.						
1. 研究成果実績の概要						
<p>最も原始的なサイトカインの一つであるマクロファージ遊走阻止因子 (Macrophage migration Inhibitory Factor; MIF)は、ヒトの様々な慢性疾患に関与するが、詳細なメカニズムは不明である。その主要因として、進化的に保存された MIF 受容体が同定されていないことが挙げられる。免疫系の進化の理解に重要なモデル生物であるイトマキヒトデの幼生では、2 種の MIF (ApMIF1 及び ApMIF2) が、それぞれ「走化性阻止因子」、「走化性因子」として差時的に作用することにより、異物の大きさや量に応じた適切な数の間充細胞のリクルートを制御していることが明らかにされている。そこで本研究では、還元条件下で切断可能な架橋剤を用いて、His タグ融合タンパク質 (rMIF1 または rMIF2) をイトマキヒトデ幼生の解離細胞表面の受容体と架橋し、His タグに対するアフィニティクロマトグラフィーを用いて精製した膜画分からの受容体の単離を目指した。</p> <p>まず、His タグ融合タンパクが多量体を形成するかを検討するために、rMIF1、rMIF2 にそれぞれ架橋剤を添加したところ、共に、二量体、三量体を形成することが明らかとなった。これは哺乳類の MIF における過去の知見と一致した。次に、抗 His タグ抗体を用いて、非還元条件で電気泳動したアフィニティ精製産物に対してウエスタンブロットを行ったところ、rMIF1 と架橋した膜タンパク質が、90 kDa 程度の複合体として検出された。しかし、rMIF2 と架橋したタンパク質は得られなかった。</p> <p>今後は、rMIF1 と架橋したタンパク質の配列決定を目指すとともに、rMIF2 の膜タンパク質との架橋条件を詳細に検討する必要がある。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Macrophage migration inhibitory factor (MIF), which is one of the most primitive cytokines, is involved in various chronic diseases in humans, but the detailed mechanism is unknown. One of the main reasons is that evolutionarily conserved MIF receptors have not been identified. In the larva of <i>Patiria pectinifera</i>, which is an important model organism for understanding the evolution of the immune system, it has been clarified that two MIFs (ApMIF1 and ApMIF2) regulate the recruitment of the mesenchyme cells by differentially acting as chemotactic inhibitory factor and chemotactic factor, respectively. In this study, to isolate evolutionarily conserved MIF receptor(s), we cross-linked the His-tagged fusion proteins (rMIF1 and rMIF2) with the receptor(s) on the surface of the dissociated larval cells using a cleavable cross-linker, and then performed affinity chromatography against the His-tag.</p> <p>First, it was revealed that both rMIF1 and rMIF2 formed dimers and trimers when the cross-linker was added to each of them. This result is consistent with previous reports in mammalian MIFs. Western blotting using the anti-His tag antibody was performed on the affinity purified product that was electrophoresed under non-reducing conditions, detecting a membrane protein cross-linked with rMIF1 as a complex of about 90 kDa. However, no protein cross-linked with rMIF2 was detected.</p> <p>It is necessary to determine the sequence of the protein cross-linked with rMIF1 and investigate the cross-linking conditions of rMIF2 with the membrane protein in detail.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			