

2 長期間コエンザイム Q10 低下細胞モデルの樹立と解析 II

○山崎 花菜, 菅原 響介, 田中 月佳, 竹内 光, 中村 朱里, 山本 順寛, 藤沢 章雄, 加柴 美里
東京工科大学 応用生物学部

【緒言】

コエンザイム Q10(CoQ10) はミトコンドリア電子伝達系の必須因子であり, 重要な抗酸化物質である. CoQ10 は生体内で合成され, ユビキタスに存在するがその組織内濃度は加齢や様々な病態で減少することが報告されている. 当研究室では, CoQ 合成阻害剤の長期投与による CoQ10 低下細胞モデルを樹立している. 本研究では, 長期間 CoQ10 低下細胞モデルを用いて, ミトコンドリア呼吸鎖複合体タンパク質の解析を行った. また, 本細胞の酸化ストレスを Acrolein(ACR) 抗体を用いて評価した.

【方法】

細胞の酸化ストレスの評価は ACR 抗体を用いて行った. 解析はウエスタンブロッティング手法を用いて行った.

ミトコンドリアは遠心分離手法を用いて単離した. 単離したミトコンドリアには, 界面活性剤である Digitonin を添加してサンプルとした. Digitonin は, 呼吸鎖複合体構造を保ちながら膜を可溶化できる界面活性剤であることが知られている. Digitonin を添加したミトコンドリアサンプルを Blue-Native 電気泳動 (BN-PAGE) で分離し, 呼吸鎖複合体の活性染色を行った. また, 2次元電気泳動を行い, 呼吸鎖複合体タンパク質量を定量した.

【結果】

長期間 CoQ10 低下細胞モデル由来のタンパク質に ACR が多く付加している所見を得た. 長期間 CoQ10 低下による酸化ストレスの亢進を確認した.

また, 酸化ストレス状態の細胞から単離したミトコンドリア呼吸鎖複合体タンパク質の解析結果についても併せて報告する.