

フェロトーシス

—総説—

転写因子 BACH1 によるフェロトーシスの 促進機構とフェロトーシスの伝播現象

東北大学 西澤 弘成、山中 美慧、五十嵐和彦

Ferroptosis: Beauty or the Beast

Zhejiang University School of Medicine

Fudi Wang (王福佛)、Shan Xu (徐杉)、Junxia Min (闵军霞)、Zhixia Ren (任志霞)

—注目の研究—

Analysis of EPR/ESR (electron paramagnetic/ spin resonance spectroscopy) in Ferroptosis

Dojindo Beijing Co., Ltd. Liu Xiaokun (刘晓坤)

新製品

グルコース取り込み検出キット P.13

免疫染色用ミトコンドリア検出蛍光色素 P.16

ミトコンドリアスーパーオキシド検出用蛍光色素 P.17

開発中

アミノ酸取り込み検出キット P.13

シスチン細胞内取り込み検出キット P.14





表紙撮影：熊本県 南阿蘇村 両併
集落の氏神様である天神さんは、火雷神とも言われ、元々は天から降りてきた雷の神。雷は雨とともに起こり、雨は農作物の成育に欠かせないものであることから農耕の神でもあります。

photo：永島俊介氏

CONTENTS

Review

転写因子 BACH1 によるフェロトーシスの促進機構とフェロトーシスの伝播現象 ●————— [1]

東北大学 西澤 弘成、山中 美慧、五十嵐和彦

Ferroptosis: Beauty or the Beast ●————— [5]

Zhejiang University School of Medicine

Fudi Wang (王福倂)、Shan Xu (徐杉)、Junxia Min (闵军霞)、Zhixia Ren (任志霞)

Topics on Chemistry

Analysis of EPR/ESR (electron paramagnetic/spin resonance spectroscopy) in Ferroptosis ●————— [10]

Dojindo Beijing Co., Ltd. Liu Xiaokun (刘晓坤)

Commercial

ROS 検出キット ●————— [4]

MT-1 ミトコンドリア膜電位検出キット ●————— [15]

関連製品

細胞内過酸化脂質検出試薬 ●————— [4]

フェロトーシスの検出 ●————— [11]

ミトコンドリア染色試薬 ●————— [15]

新製品

グルコース取り込み検出キット ●————— [13]

免疫染色用ミトコンドリア検出蛍光色素 ●————— [16]

ミトコンドリアスーパーオキシド検出用蛍光色素 ●————— [17]

開発中

アミノ酸取り込み検出キット ●————— [13]

シスチン細胞内取り込み検出キット ●————— [14]

—関連アプリケーションの紹介—

NASH モデルマウスの代謝変化 ●————— [12]

お知らせ

バックナンバーのご案内 ●— [9]

フェロトーシス研究試薬 選択ガイド ●————— [10]

第 31 回フォーラム・イン・ドージン開催後記 ●————— [18]

※希望納入価格には消費税等は含まれておりません。

ツイッター



フォロー
お願いします

@dojindoinfo

転写因子 BACH1 によるフェロトーシスの促進機構とフェロトーシスの伝播現象

Promoting mechanism of ferroptosis by transcription factor BACH1 and propagation of ferroptosis



西澤 弘成

東北大学
大学院医学系研究科
生物化学分野
学術研究員



山中 美慧

東北大学
大学院医学系研究科
生物化学分野



五十嵐和彦

東北大学
大学院医学系研究科
生物化学分野
教授

Abstract

Ferroptosis, an iron-dependent cell death, is a cause of various diseases, including ischemic and neurodegenerative disorders. Ferroptosis has also been found to work as a cancer suppressor mechanism *in vivo*, as well as apoptosis. With the requirements for new treatments for these diseases, increasing attention has been paid to the regulatory pathways of ferroptosis and the effects of ferroptosis on tissues. Here, we summarize our latest discoveries: the promoting mechanism of ferroptosis by the transcription factor BACH1 (BTB domain and CNC homology 1) and the propagating phenomenon of ferroptosis associated with the diffusion of lipid peroxidation from ferroptotic cells. These two findings may lead to the realization of new ferroptotic therapy in the future, in which BACH1 is overexpressed in immune cells that have invaded tumors, thereby propagating ferroptosis within tumors.

1. はじめに

近年、生体にはアポトーシスとは異なるメカニズムで生じる制御性の細胞死が複数存在することが報告され¹⁾、「細胞はアポトーシスもしくはネクローシスのいずれかで死ぬ」という従来の通説が覆された。フェロトーシスはこのような展開の中で、2012年に新規の細胞死として Dixon らによって報告された²⁾。フェロトーシスはその名が示す通り、鉄依存性の細胞死であることが特徴であり、鉄キレート剤によって抑制される。フェロトーシス細胞では、細胞内自由鉄を介する電子の供与反応(フェントン反応)によって、細胞膜やオルガネラ膜のリン脂質の過酸化反応が進むことによって、フリーラジカル的一种である脂質ヒドロキシラジカルが蓄積することで細胞が死に至ると考えられている²⁻⁵⁾。

フェロトーシスは、虚血性疾患や神経変性疾患をはじめ、様々な疾患の病態形成に関わると考えられている。逆にフェロトーシスを抑制することでこれらの疾患の病態が緩和されることも多数報告されており⁶⁻¹³⁾、フェロトーシスはこれらの疾患の新規治療標的として期待される。一方、フェロトーシスは生体内でがん抑制メカニズムとして働くことも分かっており、がん治療にフェロ

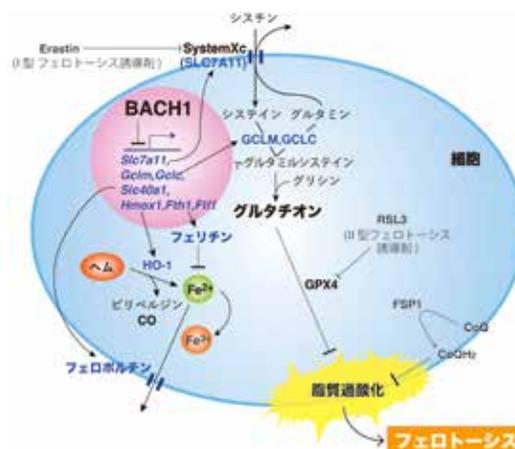


図1 転写因子 BACH1 によるフェロトーシス制御の遺伝子ネットワーク

BACH1 がグルタチオン合成経路 (Slc7a11, Gclm, Gclc) および自由鉄代謝 (Slc40a1, Fth1, Ft1l, Hmox1) に関わる遺伝子の転写を抑制することで、グルタチオン合成量を下げ自由鉄を増加させ、フェロトーシスを促進する。

トーシスを応用できる可能性がある。特に、分子標的治療に耐性化したがん細胞がフェロトーシスへの感受性が高まることが分かっており^{14, 15)}、腫瘍の分子標的薬耐性を克服するための鍵としてフェロトーシスが非常に注目されている。

このような背景のもと、フェロトーシスを制御する経路とフェロトーシス細胞が他の細胞や組織に及ぼす影響を解明することが喫緊の課題となっている。本稿では、近年、私達が報告した転写因子 BACH1 (BTB domain and CNC homology 1) によるフェロトーシスの促進機構⁷⁾と、フェロトーシス細胞からの脂質過酸化反応の拡散に伴う細胞死の伝播現象¹⁶⁾を紹介する。さらに、それらを利用したがん治療への応用の可能性について考察したい。

2. 転写因子 BACH1 によるフェロトーシスの促進機構

BACH1 は、塩基性ロイシンジッパー (basic-leucine zipper: bZip) 構造を有する転写抑制因子であり、同じく bZip を有する小 Maf 分子 (MafK, MafG, MafF) とロイシンジッパーで二量体を形成し、標的遺伝子の転写制御領域に結合して転写を抑制する¹⁷⁾。BACH1 にはヘムと結合して分解されるユニークな特徴がある。BACH1 はヘム分解酵素であるヘムオキシゲナーゼ 1 (heme oxygenase-1: HO-1) の転写を抑制するが¹⁷⁻¹⁹⁾、細胞内ヘム濃度の上昇に応じて BACH1 が分解され、HO-1 の発現が上昇してヘムが分解される。このフィードバック機構によってヘムひいてはその分解産物である細胞内自由鉄の恒常性が維持される。これらの知見から、ヘムおよび鉄代謝を制御する BACH1 が鉄依存性細胞死であるフェロトーシスを制御する可能性は高いと予想した。

マウス胎仔線維芽細胞 (mouse embryonic fibroblasts: MEFs) にフェロトーシス誘導剤である Erastin を投与して、遺伝子発現の変化を網羅的に解析すると、グルタチオン合成経路や細胞内自由鉄代謝に関わる遺伝子を中心に、酸化ストレスに拮抗する遺伝子の発現が活性化されることが分かった⁷⁾。これはフェロトーシス誘導に抵抗する細胞の防御反応だと考えられるが、これらの遺伝子群には、シスチンのトランスポーターである *Slc7a11*、グルタチオン合成の律速酵素である *Gclm*、*Gclc*、フェリチン (*Fth1*、*Ftl1*)、フェロポルチン (*Slc40a1*) などが含まれ、これらは BACH1 の標的遺伝子であった⁷⁾。フェロトーシス時には BACH1 タンパク質が分解されることも判明し、BACH1 の分解に伴ってこれらの防御因子の発現が上昇するのだと考えられた。逆に BACH1 には、これらの遺伝子の転写抑制を介して、フェロトーシスを促進する機能があると考えられた (図 1)。

実際に、*Bach1* ノックアウトマウス由来の MEFs は野生型と比べて、フェロトーシスへの抵抗性が高いことが判明した。さらに、*Bach1* ノックアウトマウス由来の MEFs は野生型よりも細胞内の還元型グルタチオンの濃度が高く、フェロトーシス誘導時に細胞内自由鉄が増加しにくいことがミトコンドリア内鉄イオン検出試薬 Mito-FerroGreen (同仁化学) を用いることで示された⁷⁾。これらの結果から、BACH1 にはグルタチオン合成経路と鉄代謝に関連する遺伝子群をともに転写抑制することで多角的にフェロトーシスを誘導する機能があると考えられた (BACH1 によるフェロトーシス制御の遺伝子ネットワーク: 図 1)。

BACH1 によるフェロトーシスの促進機構は生体内でも機能しており、BACH1 がフェロトーシスを促進することによって、マウスの心筋梗塞の重症化に関わることも証明された⁷⁾。心筋梗塞を含む虚血性疾患や神経変性疾患などのフェロトーシス関連疾患

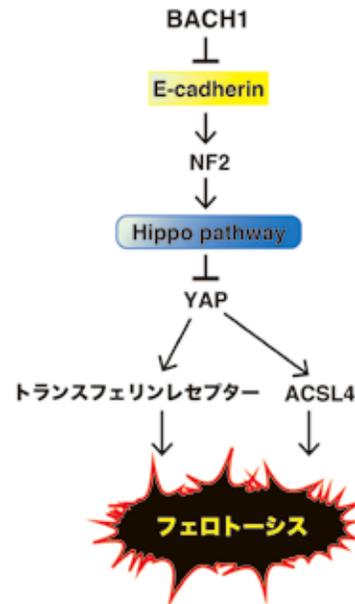


図 2 BACH1 による E-カドヘリンと Hippo 経路を介したフェロトーシス促進機構

BACH1 が E-カドヘリンの発現を間接的に抑制する。その結果 Hippo 経路による転写因子 YAP の抑制が解除され、トランスフェリンレセプター (鉄取り込み) や ACSL4 (脂肪酸合成酵素) の発現が上昇し、鉄を触媒として脂質過酸化反応が亢進してフェロトーシスに至る。



図 3 フェロトーシス拡散現象

フェロトーシス細胞から脂質過酸化反応が広がることによって、フェロトーシスが周囲に連鎖していく。

の新規治療戦略として、BACH1 を標的として利用できる可能性があり、今後の更なる研究の発展が期待されている。

3. BACH1 の新規標的遺伝子とフェロトシス制御の新経路

BACH1 によるフェロトシスの促進機構として、グルタチオン合成経路と鉄代謝のほかにも新経路が存在する可能性が考えられている。2019年に、フェロトシスのもう一つの主要制御経路として、FSP1 (ferroptosis suppressor protein1, 別名 AIFM2: Apoptosis inducing factor mitochondria associated 2) による補酵素 Q (coenzyme Q: CoQ) を介した脂質過酸化の抑制機構 (図1) が存在することが報告された^{20, 21)}。今後の研究課題として、BACH1 がこの FSP1 (AIFM2) の転写を抑制するかどうかを探求される必要がある。グルタチオン合成と鉄代謝に加えて BACH1 が FSP1-CoQ 経路も抑制するのであれば、BACH1 はフェロトシスの複数の主要制御経路を遺伝子発現レベルで抑制することになり、フェロトシスの強力な促進因子としての位置づけがますます強くなると考えられる。

FSP1 と並んで、BACH1 とフェロトシスの関連性を解き明かすための興味深い点として、近年報告された BACH1 による、がん細胞での上皮間葉転換 (EMT: epithelial-mesenchymal transition) の促進機能がある^{22, 23)}。BACH1 が膵臓癌や卵巣癌などの様々な癌種において、EMT を促進し、ひいては転移を促進することが分かったが^{22, 23)}、一方で、がん細胞が分子標的薬治療に耐性化する際にも EMT 様の変化が起こることも報告されている^{24, 25)}。前記の通り、EMT を起こして分子標的治療に耐性化したがん細胞はフェロトシスには逆に感受性を示す^{14, 15)}。そのため、BACH1 は EMT を促進することによっても、フェロトシスの感受性を増強する可能性がある。実際に BACH1 は EMT の際に、間接的に E-カドヘリンの発現を抑制することが分かっている²²⁾。E-カドヘリンの低下によって細胞接着が阻害されると細胞内で Hippo 経路が抑制されてフェロトシスに感受性を示すことも報告されており²⁶⁾、BACH1 には E-カドヘリン-Hippo 経路を抑制することで、フェロトシスを促進する機能もあると考えられる (図2)。このように多くの知見が、BACH1 が極めて多角的にフェロトシスを促進することを示唆しており、さらなる詳細な機能の解明が待たれる。

4. 脂質過酸化を介するフェロトシスの細胞間伝播現象と治療応用の可能性

フェロトシスに関する最近の発見として、フェロトシス細胞からの分泌物を介した脂質過酸化反応とそれに伴う細胞死の伝播現象がある^{16, 27)}。死細胞は単なる死んで除去されるだけの存在ではなく、炎症や組織再生など生体内の様々な局面において、情報発信体として働くことが近年多数報告されてきた²⁸⁻³²⁾。こうした研究はアポトーシスを中心に行われてきたが、フェロトシス細胞もアポトーシス細胞と同様に、周囲に様々な物質を分泌することで影響を及ぼしていることが予想されていた。以前から、I 型のフェロトシス誘導剤 (Erastin など、シスチンのトランスポーターの阻害薬、図1) を細胞に投与したときには細胞死が細胞集団の辺縁部から波のように広がることが分かっており、これがフェロトシス細胞からの分泌シグナルによるフェロトシスの伝播だと考えられていた^{27, 33)}。また、生体内でフェロトシスが生じた部位に、免疫細胞が集まることが腎尿管やゼブラフィッシュで報告されていた^{34, 35)}。今回、私達はこれらの知見に加えて、フェロトシス細胞の培養上清の正常細胞への

移乗やフェロトシス細胞と正常細胞との共培養によって、直接フェロトシス刺激に曝されていない細胞にも脂質過酸化反応とともにフェロトシスが伝播することを、過酸化脂質検出蛍光試薬 Liperfluo (同仁化学) とクサピラオレンジのレポーターマウス由来の MEFs を使うことによって示した¹⁶⁾。これらの発見によって、フェロトシスが脂質過酸化反応とともに細胞間で伝播する (図3) ことがより確実になるとともに、実際にこの伝播現象をフェロトシスによるがん治療に利用できる可能性も示唆された。逆に、この伝播現象が虚血性疾患をはじめとするフェロトシス関連疾患の増悪の原因になっている可能性があり、これらの疾患の治療ターゲットにもなり得ると考えられた。

5. おわりに

本稿では、転写因子 BACH1 によるフェロトシスの促進機構とフェロトシス細胞からの脂質過酸化とフェロトシスの伝播現象について紹介したが、将来的には、フェロトシスによる、がん治療としての細胞療法にこの二つの知見が応用できる可能性があると考えている。BACH1 の過剰発現によってフェロトシスを誘導するシステムを確立し、腫瘍内に侵入した免疫細胞でフェロトシスを誘導できれば腫瘍内にフェロトシスを伝播させることで腫瘍縮小効果を得られる可能性がある。今後、フェロトシスの誘導システムを洗練させることで、フェロトシス伝播による細胞療法実現の可能性を探っていきたい。

[参考文献]

- 1) B. T. Vanden et al., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2014**, *15*, 135-147.
- 2) S. J. Dixon et al., *Cell*, **2012**, *149*, 1060-1072.
- 3) B. R. Stockwell et al., *Cell*, **2017**, *171*, 273-285.
- 4) B. R. Stockwell et al., *Trends. Cell Biol.*, **2020**, *30*, 478-490.
- 5) X. Jiang et al., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2021**, *22*, 266-282.
- 6) X. Fang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2019**, *116*, 2672-2680.
- 7) H. Nishizawa et al., *J. Biol. Chem.*, **2020**, *295*, 69-82.
- 8) A. Linkermann et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2014**, *111*, 16836-16841.
- 9) J. P. Friedmann Angeli et al., *Nat. Cell Biol.*, **2014**, *16*, 1180-1191.
- 10) I. Alim, et al., *Cell*, **2019**, *177*, 1262-1279.
- 11) S. Masaldan et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **2019**, *133*, 221-233.
- 12) D. Devos et al., *J. Neural. Transm. (Vienna)*, **2020**, *127*, 189-203.
- 13) D. Devos et al., *Antioxid. Redox Signaling*, **2014**, *21*, 195-210.
- 14) V. S. Viswanathan et al., *Nature*, **2017**, *547*, 453-457.
- 15) M. J. Hangauer et al., *Nature*, **2017**, *551*, 247-250.
- 16) H. Nishizawa et al., *Cell Death Dis.*, **2021**, *12*, 332.
- 17) K. Igarashi and M. M. Watanabe, *Tohoku J. Exp. Med.*, **2014**, *232*, 229-253.
- 18) K. Ogawa et al., *EMBO J.*, **2001**, *20*, 2835-2843.
- 19) J. Sun et al., *EMBO J.*, **2002**, *21*, 5216-5224.
- 20) K. Bersuker et al., *Nature*, **2019**, *575*, 688-692.
- 21) S. Doll et al., *Nature*, **2019**, *575*, 693-698.
- 22) M. Sato et al., *Cancer Res.*, **2020**, *80*, 1279-1292.
- 23) W. Han et al., *Cancer Lett.*, **2019**, *445*, 45-56.
- 24) K. Fukuda et al., *Cancer Res.*, **2019**, *79*, 1658-1670.
- 25) C. H. Weng et al., *Oncogene*, **2019**, *38*, 455-468.
- 26) J. Wu et al., *Nature*, **2019**, *572*, 402-406.
- 27) M. Riegman et al., *Nat. Cell Biol.*, **2020**, *22*, 1042-1048.
- 28) S. Kashio et al., *Dev. Growth Differ.*, **2014**, *56*, 368-375.
- 29) T. Yagai et al., *Am. J. Pathol.*, **2014**, *184*, 2250-2259.
- 30) C. B. Medina and K. S. Ravichandran, *Cell Death Differ.*, **2016**, *23*, 979-989.
- 31) Y. N. Gong et al., *Cell*, **2017**, *169*, 286-300.

- 32) C. B. Medina *et al.*, *Nature*, **2020**, 580, 130-135.
 33) S. E. Kim *et al.*, *Nat. Nanotechnol.*, **2016**, 11, 977-985.
 34) A. Linkermann *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2014**, 111, 16836-16841.
 35) A. Katikaneni *et al.*, *Nat. Cell Biol.*, **2020**, 22, 1049-1055.

〔著者プロフィール〕
 氏名：西澤 弘成 (NISHIZAWA Hironari)
 所属：東北大学大学院医学系研究科 生物化学分野
 〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1
 Tel：022-717-7597
 E-mail：hnishizawa@med.tohoku.ac.jp
 出身学校：東北大学
 学位：博士（医学）
 現在の研究テーマ：フェロトーシスの生体内における意義とフェロトーシス細胞療法の探求

氏名：山中 美慧 (YAMANAKA Mie)
 所属：東北大学大学院医学系研究科 生物化学分野
 〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1
 Tel：022-717-7597
 E-mail：mie.yamanaka.r6@dc.tohoku.ac.jp
 現在の研究テーマ：フェロトーシスにおける BACH family の役割の解明

氏名：五十嵐和彦 (IGARASHI Kazuhiko)
 所属：東北大学大学院医学系研究科 生物化学分野
 〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1
 Tel：022-717-7596
 E-mail：igarashi@med.tohoku.ac.jp
 出身学校：東北大学
 学位：博士（医学）
 現在の研究テーマ：細胞分化を制御する遺伝子ネットワークとその病態

関連製品

細胞内過酸化脂質検出試薬

Liperfluo

<特長>

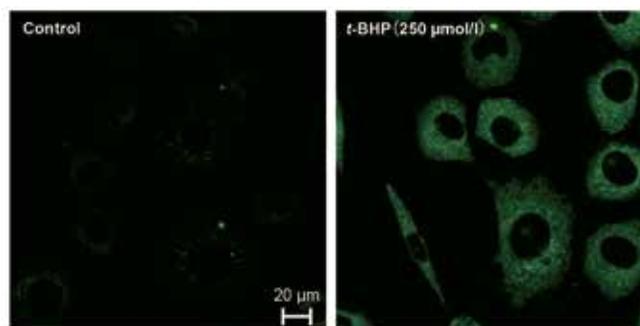
- 細胞内の過酸化脂質の検出ができる
- 過酸化脂質特異性が高い



Liperfluo は生細胞の過酸化脂質のイメージングやフローサイトメトリーによる過酸化脂質量の分析に使用することができます。

<測定例>

生細胞を用いたライブセルイメージング



細胞：L929
 装置：Zeiss LSM510META
 フィルター：FITC (GFP, Alexa488) wide filter
 HFT UV/488, NFT490, BP505-550

詳細は小社 HP をご覧ください。

L248 同仁 [検索](#)

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Liperfluo	50 μg × 5	21,200	L248

ROS 検出キット

ROS Assay Kit -Highly Sensitive DCFH-DA-

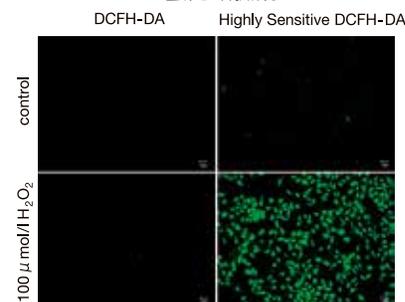
本製品は ROS (Reactive Oxygen Species) を蛍光プレートリーダー、蛍光顕微鏡、もしくはフローサイトメーターを使って蛍光法により検出するキットです。一般的に ROS を検出するキットの蛍光基質は ROS により酸化されることで発蛍光する DCFH-DA が使用されていますが、本キットに含まれる蛍光基質は細胞膜透過性を向上させた構造を有しており、DCFH-DA と比較して高感度に ROS を検出することができます。また、DCFH-DA と同等の蛍光波長を有することから DCFH-DA と同じ検出器やフィルターを使用することができます。

〈検出条件〉
 GFP フィルター (Ex. 450-490 nm / Em. 500-550 nm)
 細胞種：HeLa 細胞
 (スケールバー：50 μm)

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
ROS Assay Kit -Highly Sensitive DCFH-DA	100 tests	18,000	R252

※<使用回数の目安> 96 well プレート 1 枚分

蛍光顕微鏡



DCFH-DA との検出感度比較 (HeLa 細胞)
 ※Highly Sensitive DCFH-DA の観察条件で比較

Ferroptosis: Beauty or the Beast



Fudi Wang (王福佛)

Zhejiang University School of Medicine &
Hengyang Medical School
University of South China
Vice President for University of South of
China (USC)



Junxia Min (闵军霞)

Institute of Translational Medicine
Zhejiang University School of Medicine
Professor in the Institute of Translational
Medicine



Shan Xu (徐杉)

School of Public Health
Zhejiang University School of Medicine
Postdoctoral Fellow



Zhixia Ren (任志霞)

Zhejiang University School of Medicine
Undergraduate

Abstract

Ferroptosis is a newly identified iron-dependent programmed cell death, which is distinct from apoptosis, autophagy, necroptosis and pyroptosis. The major characteristics of ferroptosis is the accumulation of lipid peroxidation. Mounting evidence suggests ferroptosis plays a pathogenic role in a

plethora of human diseases, such as tissue injuries, cardiovascular and neurodegenerative diseases, cancer, and inflammatory diseases. Therefore, many efforts have been made to discover ferroptosis inhibitors and activators for potential therapeutic implications. This review summarizes current progress of ferroptosis and its potential applications in the biology and medicine.

1. Basic characteristics of ferroptosis

Ferroptosis is an iron dependent and lipid peroxidation-driven form of cell death (Figure 1). Since it was discovered in 2012, the biological function and disease relevance of ferroptosis has been recognized. Although much progress has been made, the biological signaling pathways and underlying mechanisms remain to be elucidated. The intracellular iron homeostasis is tightly regulated by the hepcidin-ferroportin axis and other important proteins, such as TfR (Transferrin Receptor), metal transporter SLC39A14, Heme oxygenase-1 (HO-1) which have been associated with ferroptosis¹⁾⁻⁴⁾. Under normal condition, there is a delicate balance between the oxidation and reduction of phospholipids. Ferroptosis occurs when the lipid oxidative products are accumulated. The oxidative state of cellular lipids is regulated by ACSL4 (Long-chain-fatty-acid—CoA ligase4), LOXs (lipooxygenase), GPX4 (Glutathione Peroxidase 4), FSP1 (Ferroptosis Suppressor Protein 1) and the newly discovered mitochondrial-located DHODH⁵⁾⁻⁷⁾. The synthesis of GPX4 requires cystine, which is taken up by the system XC- (xCT) on the plasma membrane. By inhibiting xCT, erastin induces ferroptosis by reducing cystine uptake, which in turn decreases

GSH and GPX4 levels and ultimately leads to ferroptosis⁸⁾. Iron homeostasis was modulated by RNF217, a newly identified E3

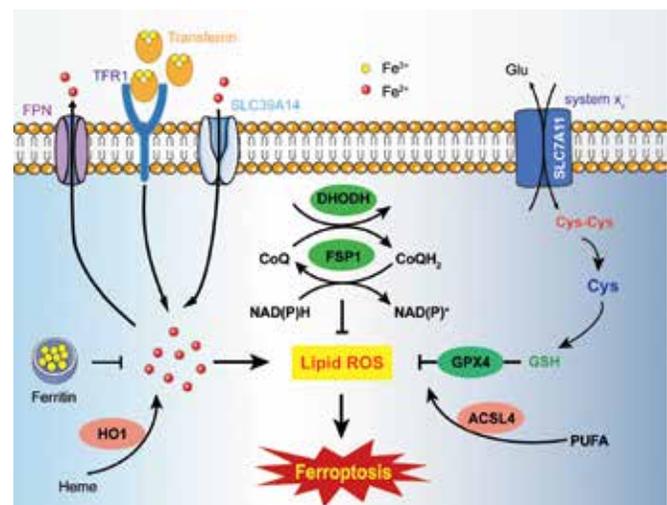


Figure 1. Current understanding of ferroptosis regulatory pathways

ubiquitin ligase, which mediates ferroportin degradation[9]. Further studies are warranted to explore the precise mechanism of lipid peroxidation-triggered ferroptosis.

During the process of ferroptosis, cell organelles, including the mitochondria, lysosome, endoplasmic reticulum (ER) and Golgi apparatus have been reported to have functions in regulating ferroptosis. Among these organelles, the mitochondria play an essential role in regulating many types of cell death, including ferroptosis. Morphologically, the smaller size and condensed mitochondria membrane densities, the diminished/vanished mitochondria crista, and ruptured outer membrane were observed during ferroptosis¹⁰. To date, although there is no direct evidence that the ER has a direct role in the regulation of ferroptosis, recent studies suggest that the ferroptotic modulators could induce ER stress response¹¹. The Golgi apparatus has been implicated in ferroptosis by regulating the cellular redox state¹². Lysosomes might be involved in ferroptosis by affecting intracellular iron through the decreased transferrin or degradation of ferritin.

Different types of cell death have different morphological characteristics. In comparison to other forms of cell death, such as apoptosis or necrosis, the ferroptotic cell death is mainly manifested as mitochondrial atrophy and damage whereas the nucleus remains intact. By contrast, typical morphological apoptosis is characterized by chromatin condensation, DNA cleavage, and nuclear fragmentation. Necroptosis-mediated cell rupture is morphologically characterized by the loss of cell plasma membrane and the swelling of organelles.

2. Targeting ferroptosis related metabolic pathways

Ferroptosis is regulated by multiple pathways and many molecules. Since it has been linked to many human diseases, enormous effects have been made to screen both agonists and antagonists of ferroptosis for the development of potential therapeutics.

2.1 Iron metabolism

Fenton reaction catalyzed by free iron in cells causes H_2O_2 to generate OH radicals and hydroxides, which is one of the key steps for the initiation of ferroptosis. As a result, excess free iron promotes ferroptosis whereas decreasing overloaded iron blocks ferroptosis¹³. Among iron chelators, a large class of ferroptosis inhibitors, deferoxamine (DFO) potently inhibits ferroptosis agonist RSL3-induced ferroptosis, which has been widely used in a variety of diseases, including neurodegenerative diseases, cardiovascular diseases, hematologic diseases and various tumor types. Deferiprone (DFP) is the first oral iron chelator to be used in long-term clinical trials since 1980. Until 2019, our group, for the first time, identified ferroptosis as the major pathogenic mechanism for doxorubicin-induced cardiomyopathy, and Dexrazoxane (DXZ), the only FDA-approved cardiac iron chelating drug, protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity through blocking ferroptosis of cardiomyocytes⁴.

On the contrary, dietary iron supplementation could enhance ferroptosis-induced heart injury.

2.2 Regulators of lipid peroxidation

GPX4 is a critical molecule to suppress lipid peroxidation and ferroptosis¹⁴. It is a popular target to intervene ferroptosis. Dopamine is a key neurotransmitter in the hypothalamus and pituitary gland, and processes multi-functions in the nervous and immune system. It was reported that dopamine could rescue ferroptosis by stabilizing GPX4 activity, which maybe significant in ferroptosis-induced neurological diseases¹⁵. Carvacrol, a food additive, has been widely used in food industry, which was demonstrated to inhibit ferroptosis by upregulating GPX4 expression. It is well-known that selenium is essential for GPX4 activity. Supplementation of selenium has a positive effect on restoring GPX4 activity. On the contrary, GPX4 inhibitors promote ferroptosis. Compounds, like RSL3, DPI7 and DPI10, directly act on GPX4 to inhibit its activity, thus reducing the antioxidant capacity of cells and accumulating ROS, leading to ferroptosis. FIN56 promotes GPX4 degradation and consequently induces ferroptosis.

System Xc- is an amino acid anti-transporter that mediates cystine uptake¹⁶. It is the heterodimer protein complex composed of two subunits, SLC7A11 and SLC3A2, which coordinately regulate ferroptosis by mediating the synthesis of GSH and GPX4 activity. β -mercaptoethanol (β -ME) inhibits erastin-induced cell death but not RSL3-induced ferroptosis, suggesting β -ME regulates ferroptosis through system Xc- but not GPX4. Similarly, N-acetylcysteine (NAC, an antioxidant) also suppresses erastin-induced ferroptosis, indicating system Xc- as its target. Erastin was the first discovered typical ferroptotic inducer to reduce the GSH levels by directly inhibiting system Xc-. In addition to the cancer treatment, erastin has also been shown to have a synergistic effect with traditional chemotherapeutic drugs. Similar to erastin, Sulfasalazine (SAS), an anti-inflammatory drug, triggers ferroptosis also through inhibiting system Xc-, although to the less extent. Sorafenib, a

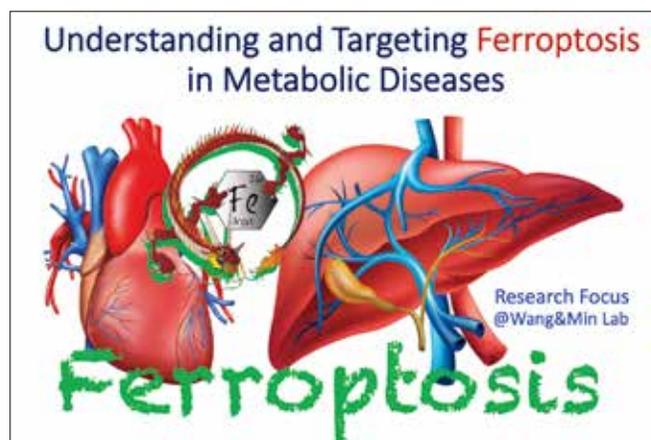


Figure 2. Our research focus: understanding and targeting ferroptosis in metabolic diseases.

clinically approved multi-kinase inhibitor for the treatment of advanced carcinoma, such as hepatocellular carcinoma and renal cell carcinoma, has been demonstrated to activate ferroptosis by blocking system Xc- mediated the import of cystine.

To suppress lipid peroxidation, there are a class of compounds directly influence phospholipids rather than ferroptosis-related proteins¹⁷. Ferrostatin-1 (Fer-1), the first identified ferroptosis specific inhibitor, blocks ferroptosis by scavenging free radicals via inserting into the hydrophobic phospholipid bilayer. Due to the poor physicochemical properties and metabolic instability of Fer-1, many efforts have been made to optimize the structure of Fer-1. Compared to Fer-1, UAMCs are a series of optimized Fer-1 like compounds with better metabolic kinetic characteristics and water solubility. Among these UAMCs, UAMC-3203 is the most potent lipophilic basic compound with improved pharmacological properties¹⁸. Liproxstatin-1 (LIP-1) was also found as a potent ferroptosis inhibitor containing amide and sulfonamide subunits through screening small molecule compounds¹⁹. Compared to Fer-1, LIP-1 has the same mode of action but with better physical and chemical properties. Therefore, LIP-1 showed better stability, drug absorption and distribution *in vivo*. In addition, tocopherol (vitamin E), suppresses ferroptosis through inserting into phospholipid bilayer by trapping free radicals.

3. Pathogenetic role of ferroptosis in human diseases

Heart and liver diseases remain one of the leading causes of death in China. There is an unmet medical need to discover novel targets to prevent and treat heart and liver diseases. It is known that the death of cardiomyocytes and hepatocytes is an important pathogenic factor in the development of heart and liver injuries. As shown in the Figure 2, our team (Dr. Fudi Wang & Junxia Min) has been working on understanding and targeting ferroptosis in metabolic diseases, such as liver and heart diseases. During years of efforts, our team has made series findings not only elucidated iron overload-induced ferroptosis as the leading mechanism for triggering various liver and heart diseases, but also demonstrated that targeting ferroptosis as a potential effective strategy for treating these diseases in animal disease models. These discoveries have been well recognized as the breakthrough and milestone in the field of novel targets for the prevention and treatment of heart and liver diseases.

3.1 Heart injuries

Dysregulated iron metabolism plays an important role for heart damage. Our previous meta-analysis of human cohort studies reported that dietary heme iron intake is significantly related to the increased risk of heart disease in a dose-dependent manner²⁰.

To our knowledge, we are the first to demonstrate blocking ferroptosis, such as Ferrostatin-1 (Fer-1), could significantly

prevent the DOX-induced cardiotoxicity by screening cell death inhibitors in mice⁴. To identify the key regulators of ferroptosis in the DOX-induced cardiomyopathy model, we performed RNA-seq and found that upregulation of Hmox1 might be involved. The activation of Hmox1 was found to induce ferroptosis by mediating the release of free iron ions from heme and accumulated in cardiomyocytes. Further functional studies have confirmed that iron accumulation and ferroptosis mainly occurred in the mitochondria of cardiomyocytes upon treatment with DOX. Notably, ferroptosis inhibitors can also significantly reduce the heart damage caused by ischemia-reperfusion, and provided promising novel strategies for the prevention and treatment of clinical myocardial infarction and other related heart diseases.

Recently, our group functionally characterized the important function of ferritin H (Fth) in cardiac ferroptosis cardiomyocytes, which published on *Circulation Research*²¹. Fed with a high-iron diet, Fth-deficient in cardiomyocytes caused severe cardiac injury and hypertrophic cardiomyopathy by ferroptosis. Mechanistically, downregulation of *SLC7A11* in Fth-deficient cardiomyocytes through exacerbated ferroptosis via the decreased cystine and GSH.

3.2 Liver damage

In 2017, our team published a cover paper entitled “Characterization of Ferroptosis in Murine Models of Hemochromatosis” in *Hepatology*²², which was the first to reveal that the *in vivo* function of *Slc7a11* in the process of ferroptosis, and ferroptosis as an important pathogenic mechanism in iron overload induced liver injury by using multiple hemochromatosis gene knockout mouse models.

Transferrin (Trf) serves as one of the iron-containing proteins in the blood circulation, which is mainly secreted by the liver. It binds and transports ferric iron from the blood circulation to various tissues and organs. We demonstrated that hepatic Trf had an important regulatory function in systemic iron homeostasis³. Hepatic *Trf* knockout mice were more susceptible to ferroptosis-induced liver injuries. Interestingly, inhibition of either ferroptosis or *Slc39a14* could potentially rescue *Trf*-deficiency induced liver injuries in mice, providing a possible therapeutic strategy for preventing ferroptosis-induced liver fibrosis.

3.3 Other ferroptosis-related diseases

In addition to the organ injuries, ferroptosis has been indicated to play a role in many other pathological processes. Activation of ferroptosis is a promising strategy in tumor treatment²³⁻²⁵. For example, many studies showed that erastin analogs and nanoparticles potentially suppressed xenograft tumors in mice by inducing ferroptosis. Importantly, ferroptosis has also been shown to increase efficacy of tumor immunotherapy by accelerating ferroptosis of tumor cells²⁶.

Many neurological diseases are closely related to ferroptosis²⁷. It has been shown that accumulated iron and lipid peroxidation are related to a variety of neurological diseases, with the

decreased levels of GSH and GPX4. GPX4-knockdown leads to neurodegenerative disorders and neuronal loss in mice, which could be rescued by ferroptosis inhibitory function of vitamin E. Additionally, inhibiting ferroptosis in neurons could effectively improve the prognosis of Alzheimer's disease. As an inhibitor of ferroptosis, DFO has also been shown to have a protective effect on neurons in patients with early Parkinson's disease. Further studies are needed to explore the underlying molecular mechanism of ferroptosis in neurodegenerative diseases to develop novel therapeutic strategies.

4. Future perspectives on ferroptosis research

As a newly defined form of cell death, ferroptosis is emerging as a target for many diseases. The number of ferroptosis-related research papers drastically increased since the "ferroptosis" was firstly reported in 2012. Drs. Fudi Wang and Junxia Min groups have been awarded the TOP 10 Zhejiang University Academic Advances 2020, which entitled "Identification of ferroptosis as a target for heart and liver diseases" (Figure 3). It is exciting that we organized a new book entitled "ferroptosis and human health" by a group of Chinese scientists will soon be published. Compared to other well-characterized apoptosis, autophagy and necrosis, the field of ferroptosis is growing very fast. It remains unknown with respect to the physiological role of ferroptosis. Considering its pathogenic roles in many diseases, the regulatory networks of ferroptosis are worthy of further investigation. In addition, the complex relationship between ferroptosis and other types of cell death in the progression of diseases also needs to be explored. Nevertheless, targeting ferroptosis holds a great promise for developing effective therapeutics for many diseases.



Figure 3. Drs. Fudi Wang and Junxia Min attended the awarding ceremony for the TOP 10 Zhejiang University Academic Advances 2020 on June 7, 2021.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by research grants from the National Natural Science Foundation of China (31930057 and 31970689). Due to reference limitations, we sincerely apologize to our colleagues whose relevant work cannot be cited here.

[References]

- 1) B. R. Stockwell, J. P. Friedmann Angeli, H. Bayir, A. I. Bush, M. Conrad, S. J. Dixon, S. Fulda, S. Gascon, S. K. Hatzios, V. E. Kagan, K. Noel, X. Jiang, A. Linkermann, M. E. Murphy, M. Overholtzer, A. Oyagi, G. C. Pagnussat, J. Park, Q. Ran, C. S. Rosenfeld, K. Salnikow, D. Tang, F. M. Torti, S. V. Torti, S. Toyokuni, K. A. Woerpel and D. D. Zhang, "Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease", *Cell*, **2017**, 171(2), 273-285.
- 2) X. Jiang, B. R. Stockwell and M. Conrad, "Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease", *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2021**, 22(4), 266-282.
- 3) Y. Yu, L. Jiang, H. Wang, Z. Shen, Q. Cheng, P. Zhang, J. Wang, Q. Wu, X. Fang, L. Duan, S. Wang, K. Wang, P. An, T. Shao, R. T. Chung, S. Zheng, J. Min and F. Wang, "Hepatic transferrin plays a role in systemic iron homeostasis and liver ferroptosis", *Blood*, **2020**, 136(6), 726-739.
- 4) X. Fang, H. Wang, D. Han, E. Xie, X. Yang, J. Wei, S. Gu, F. Gao, N. Zhu, X. Yin, Q. Cheng, P. Zhang, W. Dai, J. Chen, F. Yang, H. T. Yang, A. Linkermann, W. Gu, J. Min and F. Wang, "Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy", *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2019**, 116(7), 2672-2680.
- 5) J. Zheng and M. Conrad, "The metabolic Underpinnings of Ferroptosis", *Cell Metab.*, **2020**, 32(6), 920-937.
- 6) B. Chu, N. Kon, D. Chen, T. Li, T. Liu, L. Jiang, S. Song, O. Tavana and W. Gu, "ALOX12 is required for p53-mediated tumour suppression through a distinct ferroptosis pathway", *Nat. Cell Biol.*, **2019**, 21(5), 579-591.
- 7) C. Mao, X. Liu, Y. Zhang, G. Lei, Y. Yan, H. Lee, P. Koppula, S. Wu, L. Zhuang, B. Fang, M. V. Poyurovsky, K. Olszewski and B. Gan, "DHODH-mediated ferroptosis defence is a targetable vulnerability in cancer", *Nature*, **2021**, 593, 586-590. DOI: 10.1038/s41586-021-03539-7
- 8) S. J. Dixon, D. N. Patel, M. Welsch, R. Skouta, E. D. Lee, M. Hayano, A. G. Thomas, C. E. Gleason, N. P. Tatonetti, B. S. Slusher and B. R. Stockwell, "Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis", *Elife*, **2014**, 3, e02523.
- 9) L. Jiang, J. Wang, K. Wang, H. Wang, Q. Wu, C. Yang, Y. Yu, P. Ni, Y. Zhong, Z. Song, E. Xie, R. Hu, J. Min and F. Wang, "RNF217 regulates iron homeostasis through its E3 ubiquitin ligase activity by modulating ferroportin degradation", *Blood*, **2021**, DOI: 10.1182/blood.2020008986
- 10) H. Wang, G. Liu, Y. Zhao and G. Gao, "Mitochondria regulation in ferroptosis", *Eur. J. Cell Biol.*, **2020**, 99(1), 151058.
- 11) Y. S. Lee, D. H. Lee, H. A. Choudry, D. L. Bartlett and Y. J. Lee, "Ferroptosis-Induced Endoplasmic Reticulum Stress: Cross-talk between Ferroptosis and Apoptosis", *Mol. Cancer Res.*, **2018**, 16(7), 1073-1076.
- 12) Y. Wu, S. Zhang, X. Gong, S. Tam, D. Xiao, S. Liu and Y. Tao, "The epigenetic regulators and metabolic changes in ferroptosis-associated cancer progression", *Mol. Cancer*, **2020**, 19(1), 39.
- 13) X. Chen, C. Yu, R. Kang and D. Tang, "Iron Metabolism in Ferroptosis", *Front. Cell Dev. Biol.*, **2020**, 8: 590226.
- 14) T. M. Seibt, B. Proneth and M. Conrad, "Role of GPX4 in ferroptosis and its pharmacological implication", *Free Radic. Biol. Med.*, **2019**, 133, 144-152.
- 15) J. R. Wu, Q. Z. Tuo and P. Lei, "Ferroptosis, a Recent Defined Form of Critical Cell Death in Neurological Disorders", *J. Mol. Neurosci.*, **2018**, 66(2), 197-206.
- 16) Y. Xie, W. Hou, X. Song, Y. Yu, J. Huang, X. Sun, R. Kang and D. Tang, "Ferroptosis: process and function", *Cell Death Differ.*, **2016**, 23(3), 369-379.

- 17) N. Kajarabille and G. O. Latunde-Dada “Programmed Cell-Death by Ferroptosis: Antioxidants as Mitigators”, *Int. J. Mol. Sci.*, **2019**, *20*(19), 4968.
- 18) L. Devisscher, S. Van Coillie, S. Hofmans, D. Van Rompaey, K. Goossens, E. Meul, L. Maes, H. De Winter, P. Van Der Veken, P. Vandenaabeele, T. V. Berghe and K. Augustyns, “Discovery of Novel, Drug-Like Ferroptosis Inhibitors with in Vivo Efficacy”, *J. Med. Chem.*, **2018**, *61*(22), 10126-10140.
- 19) J. P. Friedmann Angeli, M. Schneider, B. Proneth, Y. Y. Tyurina, V. A. Tyurin, V. J. Hammond, N. Herbach, M. Aichler, A. Walch, E. Eggenhofer, D. Basavarajappa, O. Radmark, S. Kobayashi, T. Seibt, H. Beck, F. Neff, I. Esposito, R. Wanke, H. Forster, O. Yefremova, M. Heinrichmeyer, G. W. Bornkamm, E. K. Geissler, S. B. Thomas, B. R. Stockwell, V. B. O’Donnell, V. E. Kagan, J. A. Schick and M. Conrad, “Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice”, *Nat. Cell Biol.*, **2014**, *16*(12), 1180-1191.
- 20) X. Fang, P. An, H. Wang, X. Wang, X. Shen, X. Li, J. Min, S. Liu and F. Wang, “Dietary intake of heme iron and risk of cardiovascular disease: A dose-response meta-analysis of prospective cohort studies”, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, **2015**, *25*(1), 24-35.
- 21) X. Fang, Z. Cai, H. Wang, D. Han, Q. Cheng, P. Zhang, F. Gao, Y. Yu, Z. Song, Q. Wu, P. An, S. Huang, J. Pan, H. Z. Chen, J. Chen, A. Linkermann, J. Min and F. Wang, “Loss of Cardiac Ferritin H Facilitates Cardiomyopathy via Slc7a11-Mediated Ferroptosis”, *Circ. Res.*, **2020**, *127*(4), 486-501.
- 22) H. Wang, P. An, E. Xie, Q. Wu, X. Fang, H. Gao, Z. Zhang, Y. Li, X. Wang, J. Zhang, G. Li, L. Yang, W. Liu, J. Min and F. Wang, “Characterization of ferroptosis in murine models of hemochromatosis”, *Hepatology*, **2017**, *66*(2), 449-465.
- 23) R. Kang, G. Kroemer and D. Tang, “The tumor suppressor protein p53 and the ferroptosis network”, *Free Radic. Biol. Med.*, **2019**, *133*, 162-168.
- 24) X. Chen, R. Kang, G. Kroemer and D. Tang, “Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer”, *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **2021**, *18*(5), 280-296.
- 25) B. Hassannia, P. Vandenaabeele and T. Vandenaabeele, “Targeting Ferroptosis to Iron Out Cancer”, *Cancer Cell*, **2019**, *35*(6), 830-849.
- 26) W. Wang, M. Green, J. E. Choi, M. Gijon, P. D. Kennedy, J. K. Johnson, P. Liao, X. Lang, I. Kryczek, A. Sell, H. Xia, J. Zhou, G. Li, J. Li, W. Li, S. Wei, L. Vatan, H. Zhang, W. Szeliga, W. Gu, R. Liu, T. S. Lawrence, C. Lamb, Y. Tanno, M. Cieslik, E. Stone, G. Georgiou, T. A. Chan, A. Chinnaiyan and W. Zou, “CD8⁺ T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy”, *Nature*, **2019**, *569*, 270-274.
- 27) C. O. Reichert, F. A. de Freitas, J. Sampaio-Silva, L. Rokita-Rosa, P. L. Barros, D. Levy and S. P. Bydlowski, “Ferroptosis Mechanisms Involved in Neurodegenerative Diseases”, *Int. J. Mol. Sci.*, **2020**, *21*(22), 8765.

[Contact]

Corresponding authors:

Fudi Wang (王福娈)
 Hengyang Medical School
 University of South China
 Hengyang 421001, China &
 Zhejiang University School of Medicine
 Zhejiang 310058, China
 Email: fwang@zju.edu.cn
 Current position:
 Vice President for University of South of China (USC)
 Dean for USC Hengyang Medical School
 Current interests: Ferroptosis and Iron metabolism

Junxia Min (闵军霞)
 Institute of Translational Medicine

Zhejiang University School of Medicine
 Zhejiang 310058, China
 Email: junxiamin@zju.edu.cn
 Current position: Professor in the Institute of Translational
 Medicine
 Current interests: Ferroptosis and Human Diseases

Third author:

Shan Xu (徐杉)
 School of Public Health
 Zhejiang University School of Medicine
 Zhejiang 310058, China.
 Email: shanxu@zju.edu.cn
 Graduation: Peking Union Medical College: Ph.D.
 Current position: Postdoctoral Fellow
 Current interests: Ferroptosis and immunity

Forth author:

Zhixia Ren (任志霞)
 Zhejiang University School of Medicine
 Email: 3160105583@zju.edu.cn
 Graduation: Zhejiang University School of Medicine
 Current position: Undergraduate
 Current interests: Metabolism and ferroptosis

バックナンバーのご案内

ドージンニュースのバックナンバーから、
 細胞死関連の総説および TOPICS をご案内します。

172号 (2020年3月発行)
 TOPICS「二重機能性蛍光色素 (H-V) を用いたフェロトーシスの解明」(北村 怜奈)

162号 (2017年9月発行)
 総説「地球上の生命体の活動や疾患における鉄の重要性の再認識」(豊國 伸哉)

145号 (2012年12月発行)
 総説「新しい細胞死ネクロトーシス～プログラムされたネクロトーシス～」(野口 範子・山中 一哲)

110号 (2004年3月発行)
 TOPICS「低分子蛍光プローブによりアポトーシスの検出」(佐々本 一美)

84号 (1997年6月発行)
 TOPICS「アポトーシスの研究における細胞染色」(大瀬戸 文夫)

ご希望の方は小社 HP よりご覧頂けます。
 冊子媒体でのご希望の方は info@dojindo.co.jp までご連絡下さい。

Topics on Chemistry

Analysis of EPR/ESR (electron paramagnetic/spin resonance spectroscopy) in Ferroptosis

Dojindo Beijing Co., Ltd. Liu Xiaokun (刘晓坤)

In 2003, Dolma *et al.* discovered that the small molecule erastin (an xCT inhibitor) kills cells. However, compared with camptothecin, erastin does not cause DNA fragmentation, caspase 3 activation and other classical characteristics of apoptosis¹⁾. Instead, erastin was the first compound used to induce ferroptosis.

Ferroptosis, first named by American scientist Stockwell in 2012^{2,3)}, is a type of iron-dependent non-apoptotic cell death characterized by the accumulation of lipid peroxides in cell membranes. Mechanistically, several proteins regulate ferroptosis by limiting the production of lipid peroxides, including xCT²⁾, GPX4⁴⁾, FSP1^{5,6)} and GCH1⁷⁾.

However, further research revealed that limitations exist within the current biological technology and some controversies remain. Ferroptosis is ROS (reactive oxygen species)-dependent and there are different kinds of ROS, such as peroxide, superoxide, hydroxyl radical and singlet oxygen. Identification of the ROS associated with the corresponding protein mechanism is required. It can readily catalyze the formation of ROS through processes such as the Fenton reaction because it can coordinate iron ions, which makes this compound highly toxic (Fig. 1)¹¹⁾. Therefore, the hydroxyl radical and superoxide anion are the focus of research.

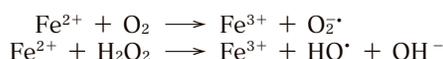


Fig. 1 Fe²⁺ reacts with oxygen and hydrogen peroxide to form the superoxide anion and hydroxyl radical, respectively.

Although numerous reports on the cellular reduction system (antioxidant system) have been published, there remains a paucity of information about the oxidation system in the process of lipid peroxidation that causes ferroptosis. These missing data continue to drive controversy in this research field. Thus, determining the ability of drugs to produce free radicals is important when screening for ferroptosis inducers.

EPR/ESR (electron paramagnetic/spin resonance spectroscopy) is commonly used in environmental and catalytic chemistry research. In recent years, EPR/ESR has gained increasing popularity in biological research. Spin trapping is the mutual transformation of free radicals. Active free radicals are transformed into stable or semi-stable free radical addition products by using trapping agents. The use of spin trapping reagents such as DMPO and BMPO can facilitate classification and quantification of free radicals by using an electron spin resonance paramagnetic spectrometer. There is a large body of published work that has used this method in ferroptosis research journals^{8,9,10)}.

Of note, the molecular weight (MW) of the spin trapping reagent is generally large (DMPO MW: 113; BMPO MW: 119) and cannot easily pass across the cell membrane. Moreover, the large number of different redox proteins in the organism reduce the stability of the DMPO/BMPO-radical in a cellular environment. Therefore, at present, DMPO/BMPO is primarily

used for the analysis of free radicals in drugs, and there are only a few reports describing the direct detection of these reagents in cells or cell lysates.

【参考文献】

- 1) S. Dolma *et al.*, "Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells", *Cancer Cell*, **2003**, *3*, 285-296.
- 2) B. R. Stockwell *et al.*, "Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death", *Cell*, **2012**, *149*, 1060-1072.
- 3) B. R. Stockwell *et al.*, "Ferroptosis: Death by Lipid Peroxidation", *Trends Cell Biol.*, **2016**, *26*(3), 165-176.
- 4) W. S. Yang *et al.*, "Regulation of Ferroptotic Cancer Cell Death by GPX4", *Cell*, **2014**, *156*, 317-331.
- 5) K. Bersuker *et al.*, "The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis", *Nature*, **2019**, *575*, 688-692.
- 6) S. Doll *et al.*, "FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor", *Nature*, **2019**, *575*, 693-698.
- 7) V. A. N. Kraft *et al.*, "GTP Cyclohydrolase 1/Tetrahydrobiopterin Counteract Ferroptosis through Lipid Remodeling", *ACS Cent. Sci.*, **2019**, *6*(1), 41-53.
- 8) B. Yan *et al.*, "Membrane Damage during Ferroptosis Is Caused by Oxidation of Phospholipids Catalyzed by the Oxidoreductases POR and CYB5R1", *Molecular Cell*, **2021**, *81*(2), 355-369.
- 9) X. Meng *et al.*, "High-Performance Self-Cascade Pyrite Nanozymes for Apoptosis-Ferroptosis Synergistic Tumor Therapy", *ACS Nano*, **2021**, *15*(3), 5735-5751.
- 10) H. Ren *et al.*, "Self-assembled FeS-based cascade bioreactor with enhanced tumor penetration and synergistic treatments to trigger robust cancer immunotherapy", *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **2021**, in press.
- 11) J.-H. Su, J.-F. Du, "Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy: Principles and Applications", **2021**.

フェロトーシス研究試薬 選択ガイド

小社ホームページにて、フェロトーシス研究用試薬の選択ガイドを掲載しています。

フェロトーシスの機構から誘導、関連疾患の研究や注目の研究についての情報がありますので、ご参照頂ければさらなる理解が深められます。



こちらのQRもしくは
下記のURLからご参照下さい。



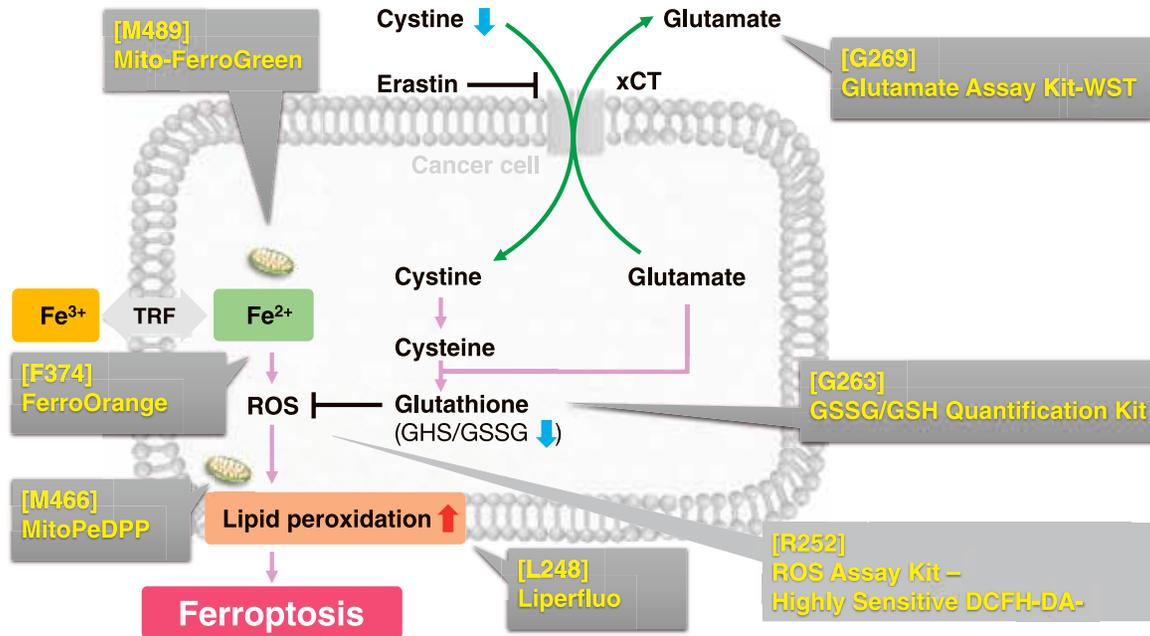
https://dojindo.co.jp/products/contents/ferroptosis_guide.html

関連製品

フェロトーシスの検出

ネクローシスやアポトーシス、オートファジーは細胞死関連プロセスとして知られています。2012年にコロンビア大学のStockwellらにより、フェロトーシスは新しい細胞死の1つとして提案されました¹⁾。フェロトーシスは、鉄イオン依存性脂質過酸化物の蓄積によって引き起こされる非アポトーシス細胞死として研究されています²⁾。Stockwellらの研究において、小社のLiperfluoがLipophilic ROSの検出用の蛍光プローブとして使用されています³⁾。フェロトーシスに関わる指標と関連製品を紹介します。

- 1) Stockwell, B.R. et al., *Cell*, **2012**, *149*, 1060-1072.
- 2) 豊國 伸哉, *DOJIN News*, **2017**, *162*, 1-3
- 3) Stockwell, B.R. et al., *Cell*, **2017**, *171*(2), 273-285.



フェロトーシス研究に関連するさまざまな指標と小社製品群

品名	Liperfluo	MitoPeDPP	Mito-FerroGreen	FerroOrange	ROS Assay Kit -Highly Sensitive DCFH-DA-
指標	脂質過酸化	脂質過酸化	鉄イオン (Fe ²⁺)	鉄イオン (Fe ²⁺)	活性酸素種 (ROS)
局在	細胞内	ミトコンドリア	ミトコンドリア	細胞内	細胞内
装置	蛍光顕微鏡 フローサイトメーター	蛍光顕微鏡	蛍光顕微鏡 プレートリーダー	蛍光顕微鏡	蛍光顕微鏡 プレートリーダー フローサイトメーター
検出 (Ex/Em)	蛍光 524 nm / 535 nm	蛍光 452 nm / 470 nm	蛍光 505 nm / 580 nm	蛍光 543 nm / 580 nm	蛍光 505 nm / 525 nm
サンプル	生細胞	生細胞	生細胞	生細胞	生細胞
メーカーコード	L248	M466	M489	F374	R252

品名	GSSG/GSH Quantification Kit	Glutamate Assay Kit-WST
指標	GSSG/GSH	グルタミン酸
装置	プレートリーダー	プレートリーダー
検出	比色 412 nm	比色 450 nm
サンプル	細胞 組織 血漿 赤血球	細胞 細胞培養液
メーカーコード	G257	G269

掲載した製品の詳細や文献などの情報は、小社HPをご覧ください。

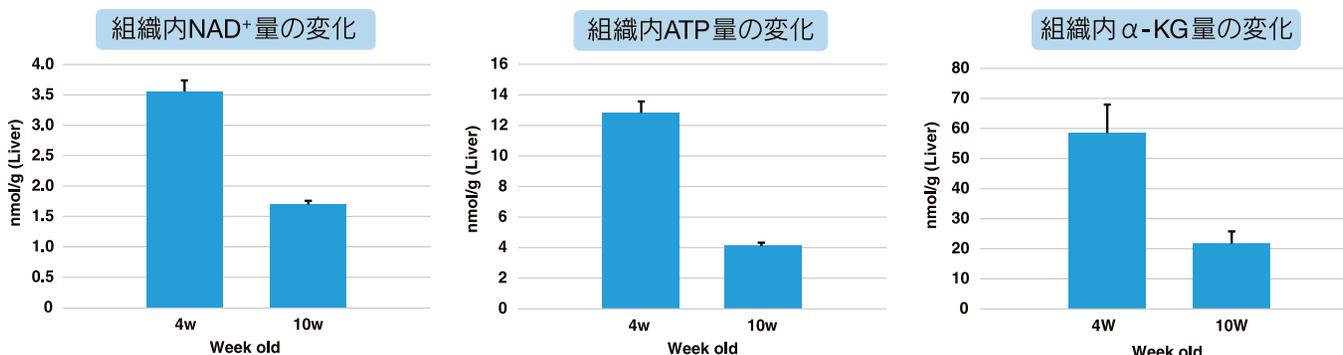
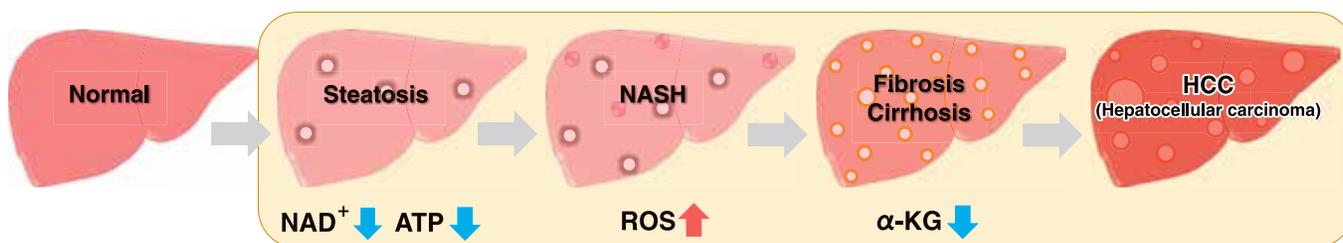
メーカーコード 同仁 [検索](#)

ー関連アプリケーションの紹介ー

NASH モデルマウスの代謝変化

非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) は脂肪肝に脂質過酸化やサイトカイン、鉄などによる酸化ストレスが加わり発症すると考えられ、組織中の ATP、 α -ケトグルタル酸 (α -KG)、NAD⁺量が減少することが知られています。

4 週齢から高脂肪食処理 (NASH 誘導) した 1 型糖尿病モデルマウス (STAM モデル) の肝臓組織を用い、組織内の ATP、 α -KG、NAD⁺量を測定しました。小社キットを用いて測定した結果、NASH 誘導後 10 週齢のマウス組織では ATP、 α -KG、NAD⁺量が 4 週齢と比較して減少していることが確認されました。



〈実験参考文献〉

ATP	Francesco Bellanti, <i>et al.</i> , "Synergistic interaction of fatty acids and oxysterols impairs mitochondrial function and limits liver adaptation during nafid progression", <i>Redox Biology</i> , 2018 , 15, 86-96.
α-KG	Jianjian Zhao, <i>et al.</i> , "The mechanism and role of intracellular α -ketoglutarate reduction in hepatic stellate cell activation", <i>Bioscience Reports</i> , 2020 , 40, (3).
	Ali Canbay, <i>et al.</i> , "L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) as a Novel Approach for Therapy of Non-alcoholic Fatty Liver Disease", <i>Drugs</i> , 2019 , 79, 39-44.
NAD⁺	Jinhan He, <i>et al.</i> , "Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor Sensitizes Mice to Nonalcoholic Steatohepatitis by Deactivating Mitochondrial Sirtuin Deacetylase Sirt3", <i>Mol. and Cell. Biol.</i> , 2013 , 33, (10), 2047-55.

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
NAD/NADH Assay Kit-WST	100 tests	54,000	N509
α -Ketoglutarate Assay Kit-Fluorometric	100 tests	64,000	K261
ATP Assay Kit-Luminescence	50 tests	25,000	A550
	200 tests	45,000	

掲載した製品の詳細や文献などの情報は、
小社 HP をご覧ください。

NASH モデル 同仁 [検索](#)

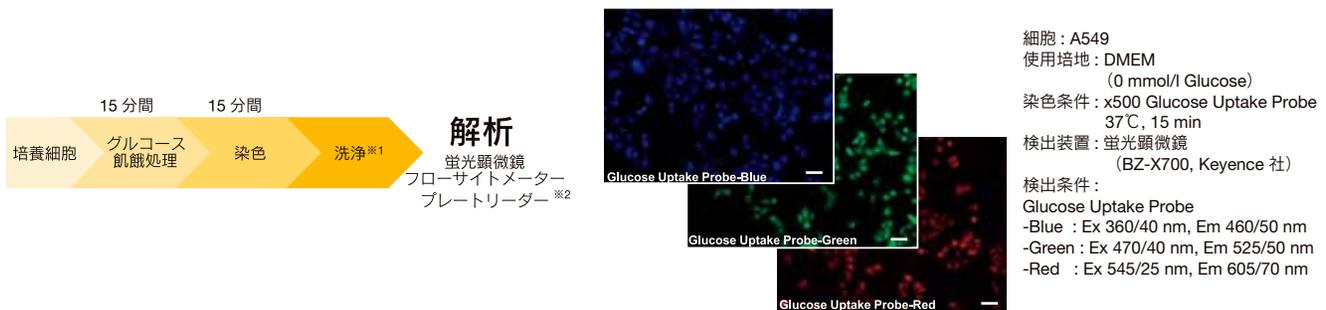
新製品

グルコース取り込み検出キット

Glucose Uptake Assay Kit-Blue, -Green, -Red

Glucose Uptake Assay Kit シリーズは、高感度にグルコースの細胞内取り込みを可視化できるキットです。すでに発売を開始し、ご好評いただいている Green タイプのキットに加え、要望の多かった Blue および Red タイプのキットもこの度製品化致しました。グルコースの細胞内取り込みを明瞭にイメージでき、またフローサイトメーターを用いた測定も可能です。さらに Green と Red タイプのキットに関してはプレートリーダーでの測定も可能です。また、小社が開発した Washing and Imaging (WI) solution を用いることで細胞からのプローブの漏出を抑制することができ、再現性の高いデータを取得することが可能です。

<グルコースの細胞内取り込みの可視化>



※ 1…本測定に最適化した WI Solution を用いることで細胞からの色素の漏れ出しを抑制できます。
 ※ 2…Glucose Uptake Probe-Green、-Red はプレートリーダー測定が可能です。

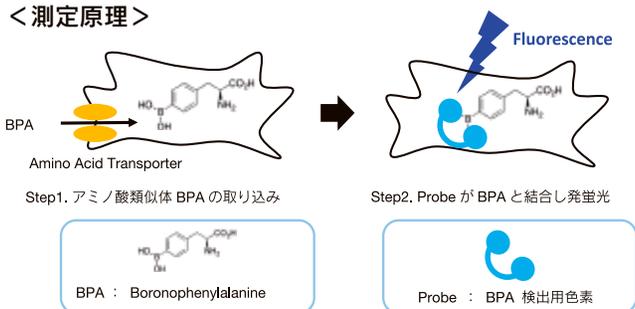
開発中

アミノ酸取り込み検出キット

Amino Acid Uptake Assay Kit

必須アミノ酸を取り込む大型中性アミノ酸トランスポーター (LAT) は、がん細胞や活性化した免疫細胞において発現が亢進していることが知られています。特に、LAT-1 はがん研究において、新規バイオマーカー及び治療ターゲットのひとつとして期待されています。小社では大型中性アミノ酸類似体であるホウ素アミノ酸 (boronophenylalanine : BPA) を用いた新規のアミノ酸取り込み能力測定法を開発しました。BPA は、大型中性アミノ酸と同様に LAT を経由して細胞内に取り込まれ、BPA と特異的に反応する蛍光プローブを用いることで検出することが可能です。本キットは蛍光イメージング、プレートリーダー測定、フローサイトメーター測定に使用できます。

<測定原理>

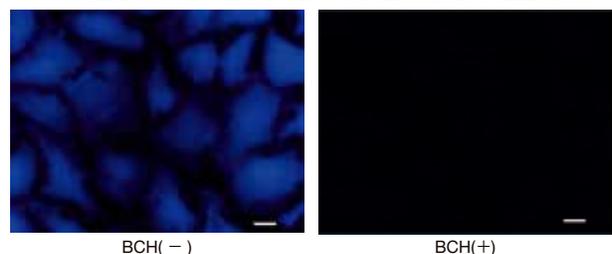


本キットは大阪府立大学の切畑光統先生から技術指導ならびに情報提供を頂いて開発しています。

[参考文献]

- 1) Y. Hattori *et al.*, "Visualization of Boronic Acid Containing Pharmaceuticals in Live Tumor Cells Using a Fluorescent Boronic Acid Sensor", *ACS Sens.*, **2016**, 7(12), 1394-1397.
- 2) Y. Hattori *et al.*, "Development and Elucidation of a Novel Fluorescent Boron-Sensor for the Analysis of Boronic Acid-Containing Compounds", *Sensors*, **2017**, 17(10), 2436.

< LAT 阻害剤 BCH を用いたアミノ酸取り込み阻害実験 >



BCH : 2-aminobicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylic acid
 細胞 : HeLa
 使用培地 : HBSS
 薬剤 : 1 mmol/l BCH
 検出装置 : 蛍光顕微鏡
 フィルターセット : DAPI (Ex 360/40 nm, Em 460/50 nm)
 スケールバー : 20 μm

開発中

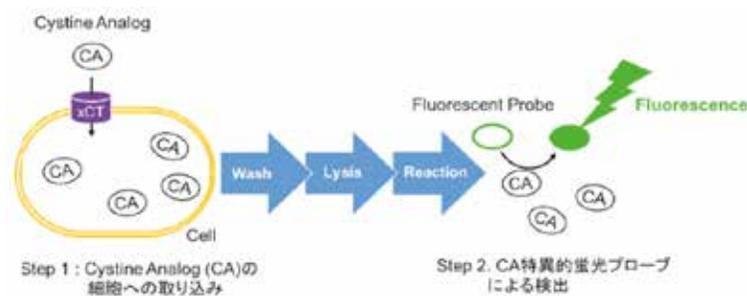
シスチン細胞内取り込み検出キット

Cystine Uptake Assay Kit

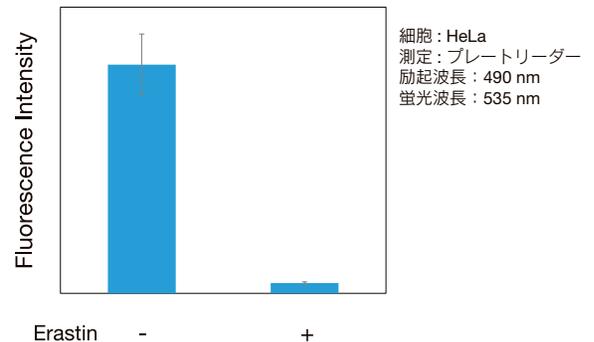
シスチン・グルタミン酸トランスポーター (xCT) は、主に細胞外液のシスチンと細胞内のグルタミン酸を1対1で交換輸送するアミノ酸トランスポーターです。xCTを介して取り込まれたシスチンは、抗酸化物質であるグルタチオンの原料として利用され、細胞内の酸化ストレス応答に重要な働きをしています。近年xCTは、がん、神経変性疾患、免疫との関連で注目されています。特にがん幹細胞においてxCTが高発現していることが分かり、xCT阻害剤は新たながん治療薬として期待されています。

小社ではシスチン類似体 (Cystine Analog: CA) を用いた新規のxCT活性測定法を開発しました。このCAは、シスチンと同様にxCTを経由して細胞内に取り込まれ、CAと特異的に反応する蛍光プローブを用いることで検出することが可能です。本キットはマイクロプレートを用いた多検体処理が可能のため、細胞のシスチン取り込み能力の測定だけでなく薬剤スクリーニング等にも有用です。

<測定原理>



<エラスチンを用いたシスチン取り込み阻害実験>



小社キット使用例: A549細胞のxCT阻害剤 Erastin による様々な代謝変化

(A) Amino Acid Uptake Assay Kit
アミノ酸の取り込み能力の変化

(B) Cystine Uptake Assay Kit
シスチンの取り込み能力の変化

(C) GSSG/GSH Quantification Kit
グルタチオン量の変化

(D) FerroOrange
細胞内Fe²⁺の変化

(E) ROS Assay Kit-Highly Sensitive DCFH-DA-
細胞内ROSの変化

(F) Liperfluo
細胞内過酸化脂質の変化

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Glucose Uptake Assay Kit-Blue	1 set	40,000	UP01
Glucose Uptake Assay Kit-Green	1 set	38,000	UP02
Glucose Uptake Assay Kit-Red	1 set	40,000	UP03
GSSG/GSH Quantification Kit	200 tests	54,800	G257
FerroOrange	1 tube	14,000	F374
	3 tubes	32,000	
ROS Assay Kit-Highly Sensitive DCFH-DA-	100 tests	18,000	R252

関連製品

ミトコンドリア染色試薬

MitoBright LT Green, Red, Deep Red

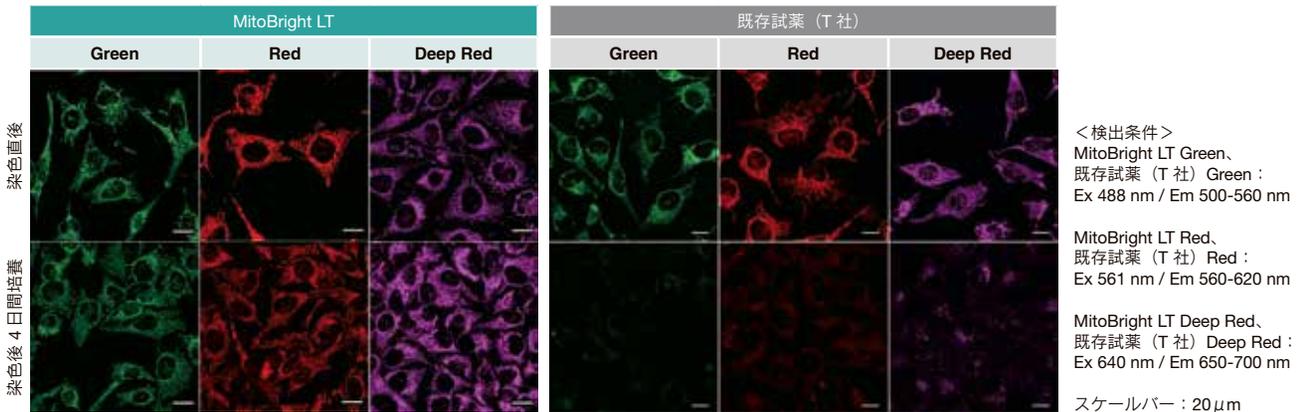
<特長>

- ・ミトコンドリアを長期間観察可能
- ・血清入り培地中で染色可能
- ・コラーゲンコートプレート上で培養した細胞のミトコンドリアを低バックグラウンドで検出可能



ミトコンドリアを長期間観察

HeLa 細胞を各 MitoBright LT または既存試薬で染色し、4 日間培養後ミトコンドリアを観察しました。その結果、既存試薬の蛍光強度は大きく低下したのに対し、MitoBright LT は蛍光強度が維持され、ミトコンドリアを明瞭に観察できました。



<検出条件>
 MitoBright LT Green、
 既存試薬 (T 社) Green :
 Ex 488 nm / Em 500-560 nm

 MitoBright LT Red、
 既存試薬 (T 社) Red :
 Ex 561 nm / Em 560-620 nm

 MitoBright LT Deep Red、
 既存試薬 (T 社) Deep Red :
 Ex 640 nm / Em 650-700 nm

 スケールバー : 20 μm

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
MitoBright LT Green	20 μl × 1	6,000	MT10
	400 μl × 1	12,000	
	400 μl × 3	30,000	
MitoBright LT Red	20 μl × 1	6,000	MT11
	400 μl × 1	12,000	
	400 μl × 3	30,000	
MitoBright LT Deep Red	20 μl × 1	6,000	MT12
	400 μl × 1	12,000	
	400 μl × 3	30,000	

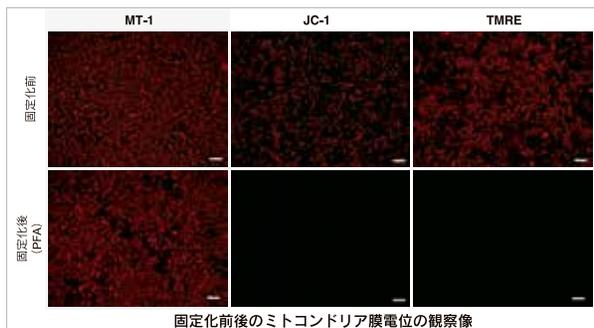
さらに詳細な情報は小社 HP で！

MitoBright LT 同仁 [検索](#)

MT-1 ミトコンドリア膜電位検出キット

MT-1 MitoMP Detection Kit

<染色固定化後も観察できる>



固定化前後のミトコンドリア膜電位の観察像

<特長>

- ・生細胞で使用できる、染色後に固定化できる
- ・ミトコンドリア膜電位のモニタリングができる
- ・ミトコンドリア膜電位の変化を高感度に検出できる

僅かな細胞状態の変化によりミトコンドリア膜電位は変動するため、データの再現性取得には細心の注意が必要でした。汎用のミトコンドリア膜電位検出試薬 (JC-1、TMRE) は、細胞を固定化処理すると蛍光が失われるため、生細胞を用いた迅速な測定が必要でした。

MT-1 は、染色後の PFA 固定化操作を行っても蛍光が保持されるため、再現性の高い実験を行う事が可能です。

<検出条件>
 Ex: 530-560 nm, Em: 570-640 nm
 スケールバー : 100 μm
 細胞 : HeLa 細胞

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
MT-1 MitoMP Detection Kit	1 set	28,000	MT13

※ <使用回数の目安> 35 mm dish 30 枚分

新製品

免疫染色用ミトコンドリア検出蛍光色素

MitoBright IM Red for Immunostaining

<特長>

免疫染色法と共染色できる

低バックグラウンドかつ鮮明に観察できる

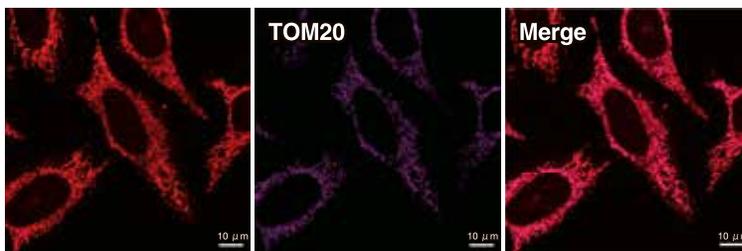
ミトコンドリアは細胞内のエネルギー産生のみならず、がんや老化、アルツハイマーやパーキンソン病等の神経変性疾患などと密接に関連する非常に重要なオルガネラの一つです。近年の顕微鏡技術の発展に伴い、「ミトコンドリアは単独で機能する」という考え方は、「ミトコンドリアは他のオルガネラと相互作用して機能する」という考え方に変わってきており、ミトコンドリアを詳細に観察する需要が増えています。本色素は免疫染色法と共染色する場合に、課題となっていた鮮明さを解決した製品です。

<測定例>

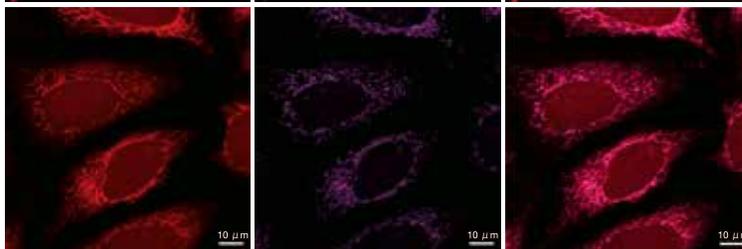
HeLa 細胞を MitoBright IM または既存の低分子試薬を用いてミトコンドリアを染色して洗浄後、TOM20 抗体を用いた 2 次抗体染色法にてミトコンドリアを染色し、観察しました。その結果、既存試薬はミトコンドリア以外のバックグラウンドが高かったのに対し、MitoBright IM はバックグラウンドが低くミトコンドリアを鮮明に染色していることが確認されました。

<検出条件>
Ex: 561 nm, Em: 560-620 nm
スケールバー: 10 μm

MitoBright IM Red
同仁化学



既存試薬 (T 社)
Red

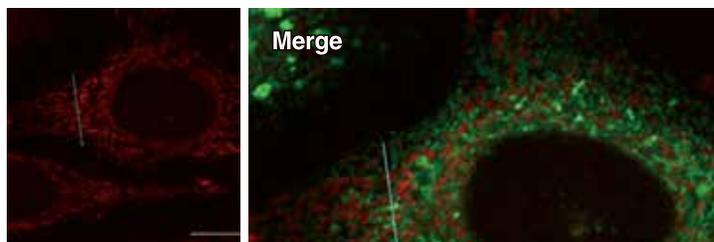


<応用例>

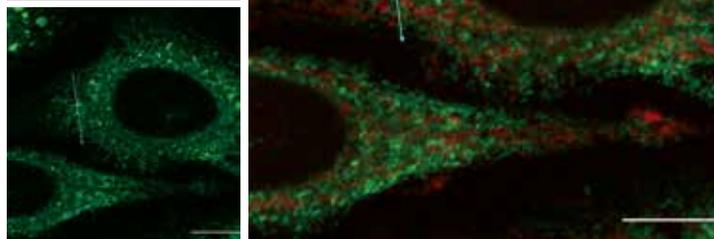
MitoBright IM にてミトコンドリアを染色した HeLa 細胞を洗浄し PFA 固定および膜透過処理後に小胞体のマーカータンパクである KDEL 抗体を用いた免疫染色法と共染色しました。その結果、鮮明にミトコンドリアに近接する小胞体の形態を観察することができました。

<検出条件>
MitoBright IM Red (赤) Ex: 561 nm, Em: 560-620 nm
KDEL 抗体 - Alexa 488 (緑) Ex: 488 nm, Em: 490-550 nm
スケールバー: 10 μm
赤: ミトコンドリア, 緑: 小胞体 (KDEL)

MitoBright IM Red
同仁化学



小胞体
(anti-KDEL 抗体
- Alexa 488)



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
MitoBright IM Red for Immunostaining	20 μl × 1	12,000	MT15
	20 μl × 3	25,000	

新製品

ミトコンドリアスーパーオキシド検出用蛍光色素

mtSOX Deep Red – Mitochondrial Superoxide Detection

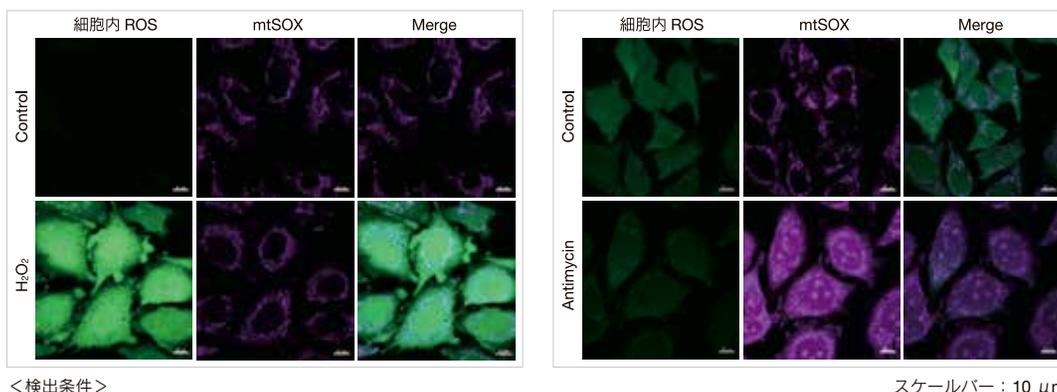
<特長>

- ミトコンドリアスーパーオキシドを長波長励起で検出できる
- 緑色や赤色の蛍光色素と共染色ができる
- スーパーオキシド選択性が高い

ミトコンドリアでは ATP を合成する際に活性酸素種の一つであるスーパーオキシドが発生しています。正常な状態の細胞であれば、抗酸化能が働き発生した活性酸素を消去しますが、ミトコンドリア機能異常が起こると活性酸素が過剰に発生し、細胞に様々な機能不全を引き起こします。このような細胞の酸化ストレスを議論する際に、細胞内の活性酸素やミトコンドリア膜電位と活性酸素を同時解析するニーズが増えてきています。本製品はミトコンドリアスーパーオキシドと選択的に反応して赤紫色蛍光を発し、既存の膜電位色素 (JC-1 など) やトータル ROS 検出試薬 (DCFH-DA) との共染色が可能になりました。

<細胞内 ROS とミトコンドリアスーパーオキシドの同時測定例>

HeLa 細胞を HBSS にて洗浄後、mtSOX と細胞内トータル ROS 検出キット (ROS Assay Kit – Highly Sensitive DCFH-DA-、メーカーコード: R252) を用いて共染色し、ミトコンドリアスーパーオキシド発生剤 (Antimycin) もしくは過酸化水素による異なる刺激して観察を行いました。その結果、細胞全体の ROS 誘導とミトコンドリア由来のスーパーオキシド誘導を見分けることができました。

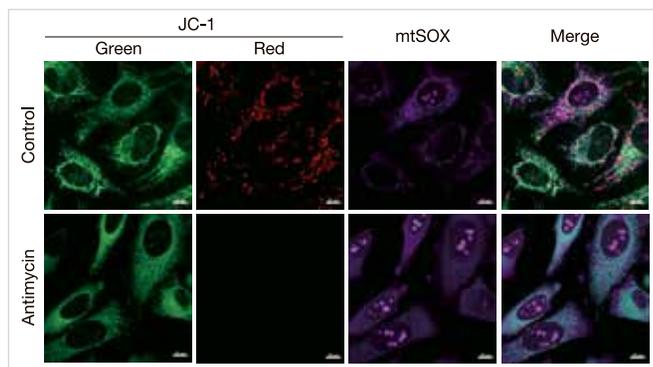


<検出条件>
 ・細胞内 ROS (Ex: 488 nm, Em: 490-520 nm)
 ・ mtSOX (Ex: 633 nm, Em: 640-700 nm)

スケールバー: 10 μm

< JC-1 との共染色例 >

HeLa 細胞を HBSS にて洗浄後、mtSOX と小社ミトコンドリア膜電位染色色素 JC-1 (メーカーコード MT09) を用いて共染色し、発生したミトコンドリアスーパーオキシドと膜電位を同時に観察しました。その結果、ミトコンドリアスーパーオキシドの発生に伴うミトコンドリア膜電位の低下を同時に観察することができました。



検出条件 (共焦点レーザー蛍光顕微鏡)
 JC-1 : 緑 Ex = 488 nm, Em = 490-520 nm,
 赤 Ex = 561 nm, Em = 560-600 nm
 mtSOX : Ex = 633 nm, Em = 640-700 nm
 スケールバー: 10 μm

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
mtSOX Deep Red – Mitochondrial Superoxide Detection	100 nmol	20,000	MT14

※ <使用回数の目安> 35 mm dish 12 枚、96-well microplate 1 枚

第31回フォーラム・イン・ドージン開催後記 「細胞内膜系のダイナミズムーオルガネラが織りなす細胞のドラマ」

1992年からスタートしたフォーラム・イン・ドージンは昨年のコロナ感染の拡大により初めての延期となり、その後関係者の議論を経てオンライン開催を選択した。本フォーラム代表世話人の富澤先生から、「複数のオルガネラが近接する部位で何が起きているかを知ることこれまでのオルガネラとは異なる姿が見えてくる。世界中で熾烈な研究が行われている分野であり、今回のフォーラムが研究の進展に寄与するものとなることを期待したい。」と述べられ午前のセッションがスタートした。

最初の演者である清水先生は「オルガネラの局所に形成され特定の機能を発揮する場がありその連携によって細胞が機能することが分かってきた。このオルガネラ・ゾーンによる細胞機能の発現は細胞生物学における新たなパラダイムシフトである。」と述べられ、オルガネラ・ゾーンの存在とオルガネラの連携が複雑なオルガネラ機能を生み出すこと、一例としてミトコンドリアの局所でのアポトーシスの開始、ゴルジ体の新たなタンパク質分解応答ゾーン (GOMED) について紹介された。その中で弊社の蛍光プローブを用いた解析についても触れられた。今回は視聴者の方々からの質問はチャットに限定させていただいたが、多岐にわたる質問が数多く寄せられた。田村先生からは、ミトコンドリアの動的性質の理解に重要である脂質の輸送に興味を持たれた経緯と、ERMES 複合体にリン脂質を取り込むポケットがあり、オルガネラ膜間を繋ぐことでリン脂質の膜間の水相中の移動を伴わずに PA から PE に構造変換されることや、小胞体ストレスに対する役割などが示された。視聴者からは動物細胞での存在、リン脂質以外の輸送への関与などの質問などがあつた。次に、山口先生から、「開発者が分かるような特徴ある分子を創る」として B、Si、P、S の活用や、分子を的確にデザインすることにより耐光性やオルガネラ特異性など機能を自在に操ることができると示された。P=O を導入したローダミンプローブは STED にも利用できる耐光性を持ちオルガネラの微細構造解析に使用できる。その一つ MitoPB Yellow は今回のセッションを通して多くのサンプル依頼があつた。

午後のセッションでは、西頭先生から熱産生の仕組みと脂肪細胞の種類についての説明があり、褐色脂肪細胞の熱産生は小胞体とミトコンドリア間のやりとりが重要であることや、小胞体ストレスセンサーの一つ PERK の非典型的リン酸化は小胞体ストレスとは関係せず、小胞体とミトコンドリアが接触している部位でリン酸化され、ミトコンドリアのストレスにより惹起されることなどが示された。質問に際して PERK リン酸化キナーゼの同定を検討していることや、熱の細胞での発生場について示された。次に、吉田先生はこれまでの研究の取組について触れられた後、ゴルジ体に着目してゴルジ体機能ゾーンの動的制御について紹介された。組織毎に4つのゾーンが機能しており、足りなくなると個別の転写因子によって活性化されゾーンを増強することなど

紹介された。一つのオルガネラでゾーンを作る必要性をどう考えるか、分割したオルガネラでも機能できるのではという質問に対し、共通に使われているものもあるので、一緒にすることで効率化という点で意味がある、あるいは進化的なことかもしれないと述べられた。

最後のセッションでは、濱田先生より、植物の微小管ネットワークの役割として、オルガネラの足場としての機能を持つこと、小胞体チューブの微小管依存的伸長も起きること、微小管と小胞体の密度には相関があること、微小管はクロロフィルの合成に重要であることなどが示された。質問に際して、植物細胞は水が多く効率よく機能させるにはタンパク質を集める必要があり、それが微小管上でホットスポットを作って効率を上げる仕組みがあるのではとのことも議論された。次に、新崎先生からレジオネラの宿主細胞での輸送システムについての紹介があつた。レジオネラが細胞内で旅する様子を分子生物学的に詳細に解析し、巧妙で多様な仕組みがあることが示された。アメーバの栄養獲得方法とマクロファージの貪食の仕組みが似通っていることから、レジオネラ感染症の発生は私たちの生活圏にレジオネラ菌を取り込んでしまった結果ともいえるとのことであつた。

代表世話人である三隅先生の閉会の挨拶では、「他のオルガネラと相互作用して機能することを分かりやすく示していただいた。蛍光試薬の開発やタイムラプスなど動的解析技術の革新によってオルガネラ・ゾーンの姿が捉えられた。今回のフォーラムを通してこの分野に興味を持った方々も多いと思うので、演者の先生方との接点を持っていただくことも喜ばしいことである。」と締めくくられた。本来であれば、この後、演者の先生方と参加者との交流会があり、ここがもう一つのディスカッションの場であるが、残念ながら今回はそれが叶わなかった。次回は皆さんと一堂に会してのフォーラムとなることを期待したい。

(志賀匡宣)



URL : <https://www.dojindo.co.jp/>
E-mail : info@dojindo.co.jp
Free Dial : 0120-489-548 (受付時間: 平日 9:00 ~ 17:00
土・日・祝日は除く)

次号テーマ案内

オルガネラゾーン③