

提出日：平成 30 年 4 月 20 日

平成 29 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	血小板凝集因子ポドプラニンの立体構造解析		
研究代表者	氏名	加藤 幸成	
	所属機関名・部局名	東北大学・大学院医学系研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	高木 淳一		
<p>加藤らは 2003 年、ポドプラニンの遺伝子クローニングに成功した。ポドプラニンは C 末端に膜貫通部位を有した I 型膜貫通型蛋白質であり、N 末端に血小板凝集の活性中心である EDxxVTPG という配列 (PLAG 配列) を持つ。さらに、2006 年、ヒトポドプラニンに特異度の高いモノクローナル抗体 (NZ-1) を作製した。NZ-1 により免沈したポドプラニンの糖鎖構造を解析した結果、ポドプラニンの血小板凝集に必須である disialyl-core1 という糖鎖構造を持つことが明らかとなった。一方、ポドプラニンの血小板上受容体として、C 型レクチン様受容体の CLEC2 を同定した。NZ-1 抗体は、ポドプラニンと CLEC2 との結合を阻害し、ポドプラニンによる血小板凝集も完全に阻害した。また、NZ-1 抗体をポドプラニン発現細胞と共にマウスに尾静注すると、肺転移も有意に抑制した。このように、NZ-1 抗体があらゆる実験に有用であり、そのアフィニティーも高いことから、ペプチドタグシステムとしての活用ができないかと考えるに至った。</p> <p>共同研究員の制度を活用した一連の研究 (平成 24 年度～) において、NZ-1 抗体がポドプラニンに結合することにより、ポドプラニンの活性中心、特に Thr52 に付加されている disialyl-core1 が血小板上のクレック 2 に結合できなくなるメカニズムが解明された。また、NZ-1 抗体をタグ抗体 (PA タグ) として使った実験では、糖蛋白質の非常に高い精製度が得られており、一回膜貫通型蛋白質や、細胞質、ミトコンドリアに局在する蛋白質の精製に有用であることも示すことができた。</p> <p>平成 29 年度には、マウスポドプラニンの PLAG domain に対するモノクローナル抗体 (PMab-1) を、無血清培地を用いて大量培養し、精製を行なった。PMab-1 抗体もペプチドタグとして活用できる可能性を考え、各種蛋白質に 12 アミノ酸のペプチドを付加し、ペプチドタグとしての利用を検討した。その結果、PA タグと同様に、ペプチドタグとしての有用性を示すことができた。本タグシステムを MAP タグと命名した。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 30 年 5 月 18 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp