

提出日：平成 28 年 5 月 20 日

平成 27 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	細胞内小胞輸送を制御するタンパク質翻訳後修飾の解析		
研究代表者	氏名	西河 淳	
	所属機関名・部局名	東京農工大学・大学院農学研究院	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		国際共同研究課題	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	高尾 敏文 教授		
<p>細胞はタンパク質の選択的な輸送によりその生理的な機能を維持している。この選択的な輸送は数多くの因子によって制御されていることが知られており、本研究で焦点を当てている sorting nexin family に属する sorting nexin 5 (SNX5) も細胞内の小胞輸送において重要な役割を担っている。我々はこれまでの研究でヒト結腸ガン由来細胞への広範なキナーゼの阻害剤であるスタウロスポリンの作用により等電点が増加するタンパク質の一つとして SNX5 を同定し、質量分析計により 3 箇所（3 箇所）のセリン或いはスレオニン残基がリン酸化修飾を受けることを明らかにしている。</p> <p>本研究では、それらの部位におけるリン酸化の生理的意義を明らかにするため、まず 3 箇所のリン酸化部位をアラニン（擬似非リン酸化）またはグルタミン酸（擬似リン酸化）に置換した変異体を作製し、SNX5 とヘテロダイマーを形成して機能する SNX1 や SNX2 との結合能を免疫沈降で確認した。結果、3 箇所のうちある 1 箇所の部位のグルタミン酸置換変異体がヘテロダイマーを形成できないことが判明した。次に、この部位のリン酸化の生理的役割を検討するため epidermal growth factor receptor (EGFR) の細胞内輸送に着目した。ヒト甲状腺がん由来細胞 TKG8505C において、SNX5 の knock down (KO) 細胞に EGF 刺激を加えた際の EGFR 量をウェスタンブロッティングで確認し、その細胞内局在を観察したところ、コントロール細胞に比べ SNX5 KO 細胞では活性型 EGFR の割合が増加し、EGFR と早期エンドソームとの共局在の減少が観察された。さらに擬似リン酸化変異体あるいは擬似非リン酸化変異体でレスキューした EGF 刺激細胞における EGFR の局在を観察したところ、擬似非リン酸化変異体発現細胞においては EGFR がエンドソームへの局在を示すのに対し、擬似リン酸化変異体発現細胞では同様の局在が観られなかった。これらのことから、SNX5 のリン酸化が EGFR の輸送を制御していることが示唆され、細胞内輸送における新たな調節機構の存在を明らかにした。</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 28 年 5 月 20 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