

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 15 日

2019 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		小胞体・核膜局在タンパク質 JAW1 の翻訳後修飾と機能の解明	
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
			超高磁場NMR 共同利用研究課題
			クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
			客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		高尾 敏文 教授	
Jaw1 は別名 lymphoid-restricted membrane protein と呼ばれ、免疫細胞に多く発現している小胞体・核膜局在を示すⅡ型膜貫通タンパク質であるが、その機能の詳細は未だ明らかにされていない。最近、我々は Jaw1 の C 末端側に存在する核外膜局在シグナル配列 KASH 様ドメイン配列の部位が、核内膜タンパク質 sun1、sun2 と相互作用していることを見いだした。また、siRNA による Jaw1 のノックダウン細胞では、免疫染色や電子顕微鏡観察により、核が膨張し、核膜に凹凸が現れるなどの変形が多く観られた。一方で、正常細胞ホモジネートの Jaw1 ウェスタンブロッティングにより、C 末端側の一部が切断を受けている分子も存在していることが以前より知られている。そこで、我々は、KASH タンパク質として核の構造維持の役割を持つにもかかわらず、KASH 部分が切断されたものがなぜ細胞内に多量に存在するのかを検討するため、その切断部位を質量分析計にて同定し、合わせて切断酵素の同定も試みることにした。 これまで、Tag 付き Jaw1 を大量に発現させて抗 Tag 抗体で精製して PMF 法で C 末端ペプチドを同定して切断部位を決定する試みを行ってきたが、C 末端近傍を含む目的ペプチドの強い確かなシグナルは得られなかった。別のアプローチとして、C 末端部分を含むビオチン化合成ペプチドを細胞のホモジネートに作用させ、切断された生成物をアビジンで集めて MS 分析に供し、切断箇所の同定も試みてみたが、<i>in vitro</i> でうまくプロテアーゼが作用しないよう分析可能な生成物の量を集めることが出来なかった。以上のように、当初の目的である C 末端切断サイトの同定には更なる工夫が必要であり、引き続き検討を加えていきたい。 一方で、上記 PMF 解析において Jaw1 の他の部位から得られたペプチドに、リン酸化をはじめとする幾つかの修飾を受けているアミノ酸残基を新たに同定することが出来た。今後はこれら修飾を受けた Jaw1 の生理的機能の変化の解析も含めて、Jaw1 の翻訳後修飾と細胞内における機能の解明を進めていきたい。			