

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 12 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		分泌型 ephrin-A1 の機能解析	
研究代表者	氏名	家口勝昭	
	所属機関名・部局名	東京女子医科大学・医学部・薬理学教室	
	職名	助教	
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	
本年度における ephrin-A1 のプロテアーゼによる切断アミノ酸断片および糖鎖修飾の解析を主に行った。細胞膜に局在する ephrin-A1 はプロテアーゼによって切断されることで分泌型となり血流を介して肺血管の透過性などを調節していることを我々は報告してきたが、生理的な条件下とがん病態下において同様の切断がなされるかどうか不明である。この点に着目し、生理的条件下で存在する分泌型 ephrin-A1 のアミノ酸断片とがん病態において存在する分泌型 ephrin-A1 のアミノ酸断片を比較することでバイオマーカーとしての可能性を探ることができると我々は考えている。健常のマウス尿 20 ml を用いて Concanavalin A ビーズおよび陰イオンカラムを用いて分泌型 ephrin-A1 を精製した。ペプチダーゼによってペプチド化する際に安定同位体 ^{18}O で標識し、ペプチダーゼによる切断アミノ酸断片と体内でプロテアーゼによって切断されたアミノ酸断片を区別した。その後、MALDI で解析を行い ^{18}O 標識もたないピークについて MS/MS 解析を行ったが尿から得られたサンプルが非常に微量でああったため詳細なデータは得られなかった。 がん細胞ではフコシル化などの糖鎖修飾が亢進していることが知られている。よって、糖鎖修飾の構造差異についてもバイオマーカーとなりうる。まずは ephrin-A1 の糖鎖修飾の解析が可能かどうか検討するために、培養細胞から精製した分泌型 ephrin-A1 の糖鎖修飾の解析を行った。Tripisin によりペプチド化し、その後 nLC で分取しそれぞれのピークについて MALDI で解析を行った。その結果、ephrin-A1 の糖鎖修飾の種類が明らかとなった。今度、様々ながん細胞、またはがん患者から得られたサンプルと健常から得られたサンプルを比較し、バイオマーカーとして利用できるか否か検討していきたい。			