

提出日：2019年 5月 17日

平成 30 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○)	<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	高尾 敏文	
<p>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、核が膨張したり凹凸があるなど変形しているものが多く観られた。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ちながら何故その部分が切断されたものが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することを試みた。</p> <p>まず Flag-tag 付き全長 Jaw 1 変異体を発現させた細胞から抗 Flag-tag ビーズで Jaw 1 を精製し、SDS 電気泳動後 C 末端側が切断された方の Jaw1 を切り出し、インゲル消化で断片化し MS 分析で切断部位を含むペプチドの同定を試みたが、C 末端近傍を含む目的の強い確かなシグナルは得られなかった。このアプローチに関しては今後も引き続き大量に試料を調整することで検討を加えて行きたいと考えている。一方で、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、切断箇所の同定を試みてもみたが、<i>in vitro</i> での生成物の収量が極端に低く、プロテアーゼの反応条件の検討が必要と思われる結果となっている。</p> <p>現在は、別の方法でのアプローチも含めプロテアーゼの至適条件を検討し MS 分析用試料をより多く溜めてから再度分析を試みるべく研究を進めている。また、C 末端 KASH ドメインを含む短いペプチドに対する抗体が作製出来たので、今後は切断されたペプチドを抗体カラムで集めて MS で同定を試みる予定である。</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：令和元年 5 月 17 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