

(様式 1-2)

提出日：2020 年 4 月 20 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	リガンド誘導体を用いた受容体検出技術による生理活性ペプチド受容体の同定		
研究代表者	氏名	安東友繁	
	所属機関名・部局名	京都薬科大学・共同利用機器センター	
	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		
<p>生理活性ペプチドは、特定の受容体を介して、内分泌や免疫、神経系などにおいて多種多様なシグナル伝達を行っている。生理活性ペプチドの受容体の同定は、生体内での機能、作用機構の解明のみならず薬剤開発や、受容体を標的とした診断・創薬につながる。生理活性ペプチド Neuroendocrine regulatory peptide (NERP) -1、-2 は、前駆体である神経分泌タンパク質 VGF から産生されるペプチドであり、下垂体に作用し、抗利尿ホルモンの分泌の抑制作用を示し、また塩代謝異常疾患との関連も推察されているとともに、他にも複数箇所での発現が報告されているがその機能などは解明されていない。NERPs 受容体は未だ同定されておらず、このことが NERPs の機能、作用機構の解明への障害となっている。そこで、本研究では、生理活性ペプチドの未知受容体の探索法の確立、および NERPs 受容体の同定を目的とする。</p> <p>本研究では受容体探索手法としてウェスタンリガンドブロット(WLB)法を用いて、NERPs が発現している甲状腺髄様がん(TT)細胞をから NERPs 特異的な受容体の探索を試みた。TT 細胞ライセートをゲル電気泳動により分離し膜に転写後、化学合成によって得た標識化 NERP-1 を用いて特異的に結合するタンパク質の検出を行った。その結果、特異的なバンドが検出された。質量分析法を用いてこのバンドに含まれるタンパク質の検出を行った。膜からタンパク質を直接抽出し、MALDI-MS により検出した結果、複数のタンパク質とみられるピークを検出した。また、インゲル消化法を用いてタンパク質をペプチド断片化し同定を試みたがタンパク質の特定には至らなかった。</p> <p>WLB で検出したバンド内に複数のタンパク質が存在するとかがえられることから、今後 2 次元電気泳動法-WLB などを用いることで、単一タンパク質のみで検出できるよう条件の再検討を行い、NERPs 受容体の同定を行う予定である。</p>			