

私立大学戦略的研究基盤形成
支援事業「タンパク質の生成
と管理」第7回セミナー



第14回
生命科学
セミナー

演題: 哺乳動物細胞小胞体内におけるジスルフィド結合形成を解析する為の新規アッセイ系の作製

演者: 門倉 広 博士

奈良先端科学技術大学院大学

バイオサイエンス研究科・国際リサーチフェロー

要旨: ジスルフィド結合形成は、多くの分泌タンパク質にとって、立体構造形成上重要な反応ステップである。大腸菌においては、ペリプラズムでのジスルフィド結合形成活性や、分泌タンパク質のペリプラズムへの局在化活性が低下すると、 β -ガラクトシダーゼ活性を発現する鋭敏なレポーターが開発されている。このレポーターは、大腸菌分泌タンパク質のジスルフィド結合形成過程や局在化過程の解析に大きく寄与している(1-3)。私たちは、哺乳動物小胞体内におけるジスルフィド結合形成機構の解析を促進する為、哺乳動物細胞の小胞体で働く同様の系を開発したいと考えた。

今回、私たちは、蛍のルシフェラーゼに様々な変異を導入したものを、分泌のためのシグナル配列と小胞体内残留シグナルを利用して、小胞体内に局在化させた。これにともない、この改変型ルシフェラーゼの分子内にジスルフィド結合が形成されるとともに、このタンパク質の活性は著しく低下した。一方、改変型ルシフェラーゼを発現する HeLa 細胞を、ジスルフィド結合形成の非特異的な阻害剤である、DTT 存在下培養すると、この細胞は、DTT 非存在下、培養した細胞と比較して、20 倍以上のルシフェラーゼ活性を発現した。これらの結果から、本タンパク質は、小胞体のジスルフィド結合形成能力の低下をモニターするための、鋭敏なレポーターとして機能しうることがわかった。本レポーターの利用について議論したい。

1. Bardwell JC, McGovern K, Beckwith J. Cell 67:581-9 (1991). 2. Tian H, Boyd D, Beckwith J. Proc Natl Acad Sci USA 97:4730-5 (2000). 3. Kadokura H, Tian H, Zander T, Bardwell JC, Beckwith J. Science 303:534-7 (2004).

日時: 2012年3月8日(木)

午後3時～4時

場所: 15号館1階 15102セミナー室

世話人: 生命システム学科

伊藤維昭 (075-705-2972)

共催: 京都産業大学総合生命科学部

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「タンパク質の生成と管理」