

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 13 日

2020 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	ペプチドホルモンの未知受容体の検出・同定法の開発		
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○)	<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	高尾敏文教授		
<p>ペプチドホルモンは、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、受容体をターゲットとした創薬において非常に重要となる。ペプチドホルモン 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、本研究ではペプチドホルモンの未知受容体の検出・同定法の確立、および NERPs 受容体の同定を目的とする。</p> <p>本研究では Western Ligand Blotting (WLB) を改良した 2 次元 (2D) -WLB の開発を行った。細胞ライセート作成時に使用する SDS を取り除く処理によってタンパク質の変性が原因のため、2D-WLB での検出ができなくなることが判明した。そこで、細胞ライセート作成時の緩衝液中の界面活性剤の検討および 1 次元目の等電点電気泳動 IEF の泳動緩衝液組成の検討、最適化を行った。その結果 NERP-1 を使用した 2D-WLB では WLB と同じ分子量域でスポットが検出された。</p> <p>また NERP-2 も化学合成した後、NERP-1 と同様に WLB を行い、NERP-1 と異なる分子量域にバンドを検出したため、NERP-1、2 が異なるタンパク質を受容体となることが示唆された。</p> <p>今後、NERP-2 でも同様に 2D-WLB を行うとともに、検出したスポットに含まれるタンパク質の酵素消化、質量分析計による分析条件の最適化を行う。</p>			