

網膜色素変性症原因因子 PAP-1 における結合因子の同定および解析

加藤圭佑

生命科学院（生命システム科学コース） 環境応答統御科学分野

【背景および目的】

Pim-1 は、マウスにおいて *c-Myc* と協調してがん化能を示す原がん遺伝子である。*Pim-1* は種々のサイトカインに応答して発現誘導を受けるセリン・スレオニンキナーゼであるが、その結合因子として当研究室では PAP-1(Pim-1 Associated Protein-1)を同定した。PAP-1 は、ヒトやマウスにおいてユビキタスに発現が見られる約 30 kDa の核タンパク質であり、C 末端近傍に特徴的な強い塩基性領域が存在する (図 1)。この領域の存在により、PAP-1 は核内で粒状な局在を示す。また、PAP-1 は家族性網膜色素変性症原因因子の一つ(RP9)であることも明らかとなっている。

私は、PAP-1 の機能解析の一端として、PAP-1 に結合するタンパク質を同定し、その機能と PAP-1 との関連を調べることにした。

【方法および結果】

電荷による結合を除くため、まずは、塩基性領域以外での結合タンパク質の同定を試みた。具体的には、塩基性領域を欠損後アフィニティタグを付加した PAP-1 を大腸菌内で大量に精製し、培養細胞抽出液と混和し、*in vitro* Pull-down 法により PAP-1 結合因子を得た。その後質量分析により同定した。その結果、2 つのタンパク質が同定された。

また、*Pim-1* を PAP-1 と共発現させると *Pim-1* の局在が変化することから、何らかの PAP-1 結合因子が PAP-1 を介して *Pim-1* をリクルートしていると考えた。そこで、次に、PAP-1 に結合する特異的核構造タンパク質の同定を試みた。具体的には、アフィニティタグを付加した PAP-1 全長を安定発現させた細胞株を作製し、免疫沈降法により PAP-1 結合因子を得た。その後質量分析により同定した。その結果、2 つの核マトリクスタンパク質が同定された。

【考察および結論】

核マトリクスタンパク質と結合することから、PAP-1 も核マトリクス部位に存在することが考えられる。また、非塩基性領域でも結合因子が同定されたことから、その因子が PAP-1 とどのような相互作用をするのか、また、そのことと核マトリクス部位への局在は関連があるのかを検討する必要があると考えられる。

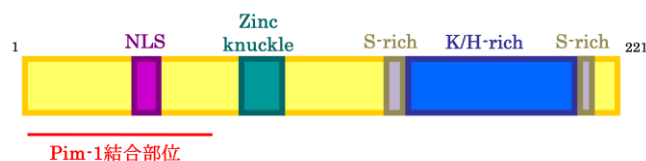


図1 PAP-1のドメイン構造