

インビトロ翻訳産物のマルチユビキチン化

インビトロ翻訳産物がマルチユビキチン化を受けることを見いだした。

研究成果の概要

cDNAクローンの網羅的インビトロ翻訳の過程で、cDNAがコードしている蛋白質のバンドより大きな分子量の位置にラダーバンドを生成する多くのクローンを見いだした(図1)。このようなラダーの生成機構を調べたところ、ラダーバンドはユビキチンが複数個共有結合した翻訳産物に由来することが示された。これらのクローンがコードする蛋白質のアミノ酸配列に特徴的なことは、膜貫通ドメインを有することである。そこで典型的なラダーパターンを示すクローンHP10122とHP10041についてその局在を調べたところ、小胞体膜に存在することが示された。インビトロ翻訳系にミクロソームを添加するとこれらのラダーバンドが消失することから、膜蛋白質が膜に移行できない場合速やかにユビキチン化され、プロテアソームによる分解が起こるものと思われる。この系を使用することによって、ユビキチン化を受ける部位を特定することが出来た(図2)。

成果展開可能なシーズ、用途等

1. ユビキチン化研究の材料

特許出願

なし

報告書他

1. N.-S.Kim, T.Yamaguchi, S.Sekine, M.Saeki, S.Iwamuro, and S.Kato
Cloning of human polyubiquitin cDNAs and a ubiquitin-binding assay involving its in vitro translation product.
J. Biochem. **124**:35-39,1998.
2. S.Iwamuro, M.Saeki, and S.Kato
Multi-ubiquitination of a nascent membrane protein produced in a rabbit reticulocyte lysate.
J. Biochem. **126**:48-53,1999.
3. S.Iwamuro, M.Saeki, F.Osaka, and S.Kato
All lysine residues of a nascent Golgi membrane protein can be multi-ubiquitinated in a rabbit reticulocyte in vitro translation system.
Submitted.

(研究者名) 岩室祥一、佐伯美帆呂、逢坂文男

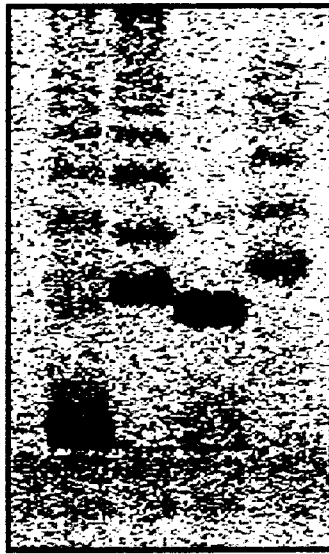


図1 ラダーバンドを生成するインビトロ翻訳産物

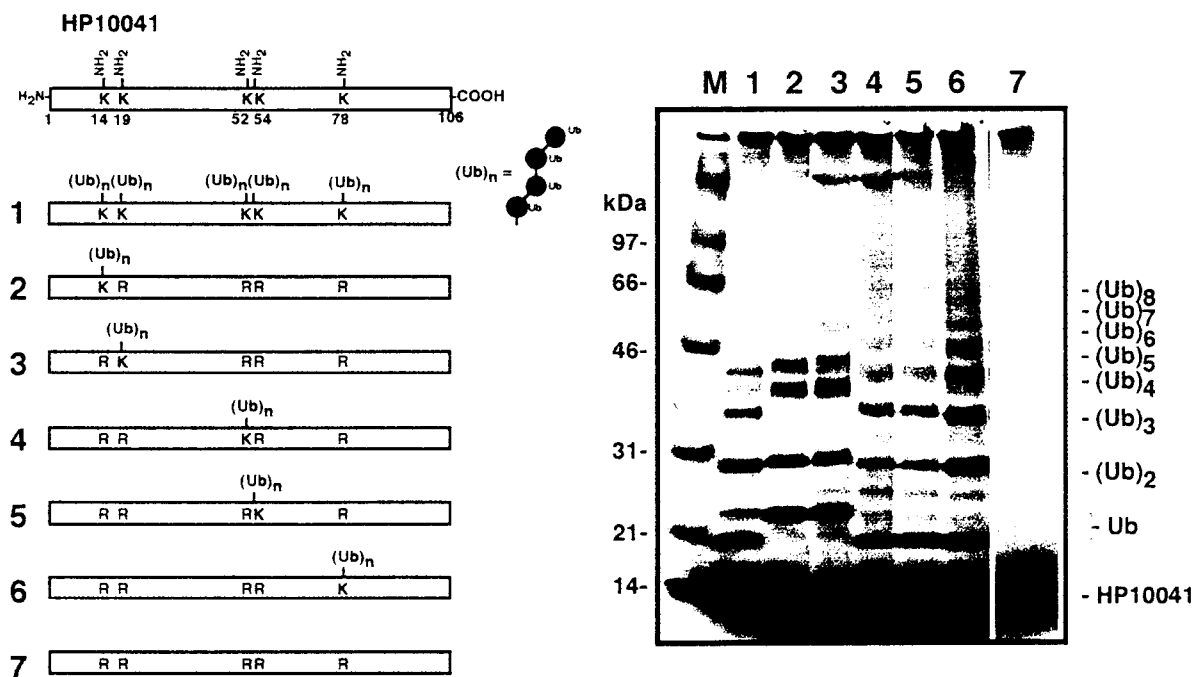


図2 マルチユビキチン化部位の決定