

## 膜蛋白質のトポロジー解析

膜蛋白質の膜貫通ドメインのトポロジーを決定する方法を開発した。

### 研究成果の概要

cDNAがコードしている蛋白質のアミノ酸配列情報を基に、疎水性の膜貫通ドメインを有しているクローンを選別し、この蛋白質がいかなるタイプの膜蛋白質かを実験的に同定するための方法を考案した。膜貫通ドメインと思われる配列の下流にウロキナーゼのプロテアーゼドメインを融合させたものを培養細胞内で発現させ、細胞表面にウロキナーゼ活性があるかないかを、フィブリンシートを細胞表面に直接接触させることによって測定する方法である（図1）。この方法を、N末端に一箇所の膜貫通ドメインを有する蛋白質に適用して、完全長cDNAバンクの中から5種類の新規II型膜蛋白質を同定することができた。さらに、この方法を4個および7個の膜貫通ドメインを有する蛋白質に適用し、それぞれのドメインの細胞膜に対するトポロジーを決定することができた（図2）。

### 成果展開可能なシーズ、用途等

1. 新規II型膜蛋白質のスクリーニング
2. レセプター蛋白質のトポロジー決定

### 特許出願

1. 膜蛋白質のトポロジー決定法

特開：平11-46765（平成9年7月31日）

出願人：科学技術振興事業団

請求の概要：膜貫通ドメインの下流にリポーター蛋白質を融合させたものを動物細胞で発現させ、リポーター蛋白質の存在部位を指標として膜蛋白質のトポロジーを決定する方法。

### 報告書他

1. M.Yokoyama-Kobayashi, T.Yamaguchi, S.Sekine, and S.Kato

Selection of cDNAs encoding putative type II membrane proteins on the cell surface from a human full-length cDNA bank.

*Gene* 228:161-167,1999.

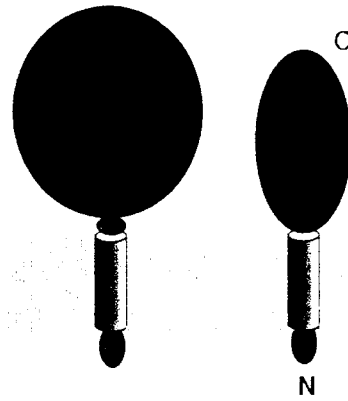
（研究者名）小林みどり

HP10085-ウロキナーゼ融合遺伝子



HP10085のトポロジー

融合蛋白質 HP10085  
II型蛋白質



細胞表面のウロキナーゼ活性の検出

COS7/pSSD1      COS7/pSSD1-10085

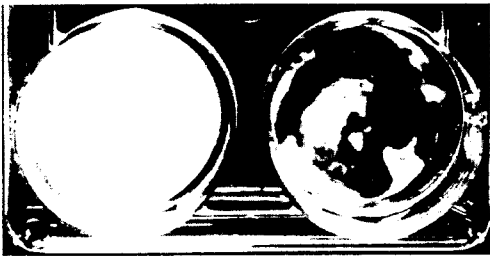


図1 ウロキナーゼ融合蛋白質を用いる膜蛋白質トポロジー解析

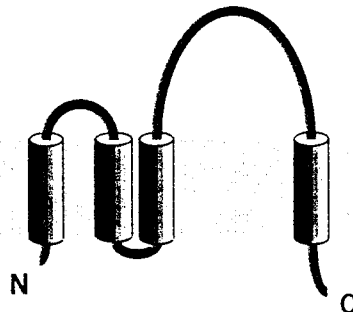
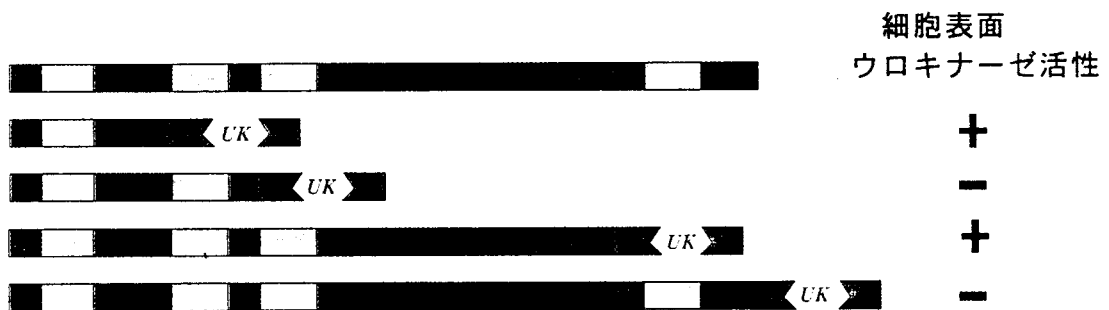


図2 4回膜貫通ドメインを有する膜蛋白質のトポロジー