

論文要旨

質量分析装置によるリン酸化ペプチドの測定法の開発および 応用に関する研究

群馬パース大学大学院 保健科学研究科

20R101 井野 洋子

タンパク質のリン酸化は、細胞内シグナル伝達などの重要な生命現象に関わる翻訳後修飾として、古くから研究されてきた。近年は、リン酸化タンパク質/ペプチド濃縮技術と高性能質量分析装置の発展に伴い、リン酸化タンパク質解析（リン酸化プロテオミクス）は世間一般に浸透している。しかし、非リン酸化タンパク質に比べてリン酸化タンパク質の割合は低く、質量分析前のリン酸化ペプチド濃縮操作は必要不可欠である。濃縮操作の精度がリン酸化プロテオミクスの結果に影響を及ぼすことから、サンプルに適した濃縮手法を選択することは大変重要なことである。

私たちは4種類のリン酸化ペプチド濃縮ビーズを比較し、様々なサンプルに対する最適な濃縮方法を調べた。この研究により **Phos-tag** 磁気ビーズを用いた手法は、血清消化物などの非リン酸化ペプチドを多く含むサンプル中からのリン酸化ペプチド濃縮に適していることが明らかとなった。そのため応用実験として、血清同様に非リン酸化ペプチドを多く含む細胞培養上清からの **SARS-CoV-2** のリン酸化ペプチド濃縮に **Phos-tag** 磁気ビーズ手法を活用した。その結果、ヌクレオカプシドタンパク質の **Ser79** のリン酸化が **Pin1** との結合に重要であることを明らかにした。さらに、その相互作用がウイルス粒子の安定性と感染性に寄与している可能性が示唆された。

キーワード：プロテオミクス、リン酸化修飾、**Phos-tag**、**SARS-CoV2**