

2022年度島根大学女性研究者リーダー
育成支援事業（プロジェクト創出型）
成果報告書（添付図）

島根大学医学部附属病院病理部
荒木亜寿香

1

pCAG-neo ; mouse CCP1 (NM_023328.3)

1xHA is tagged at the C-terminal (All constructs).

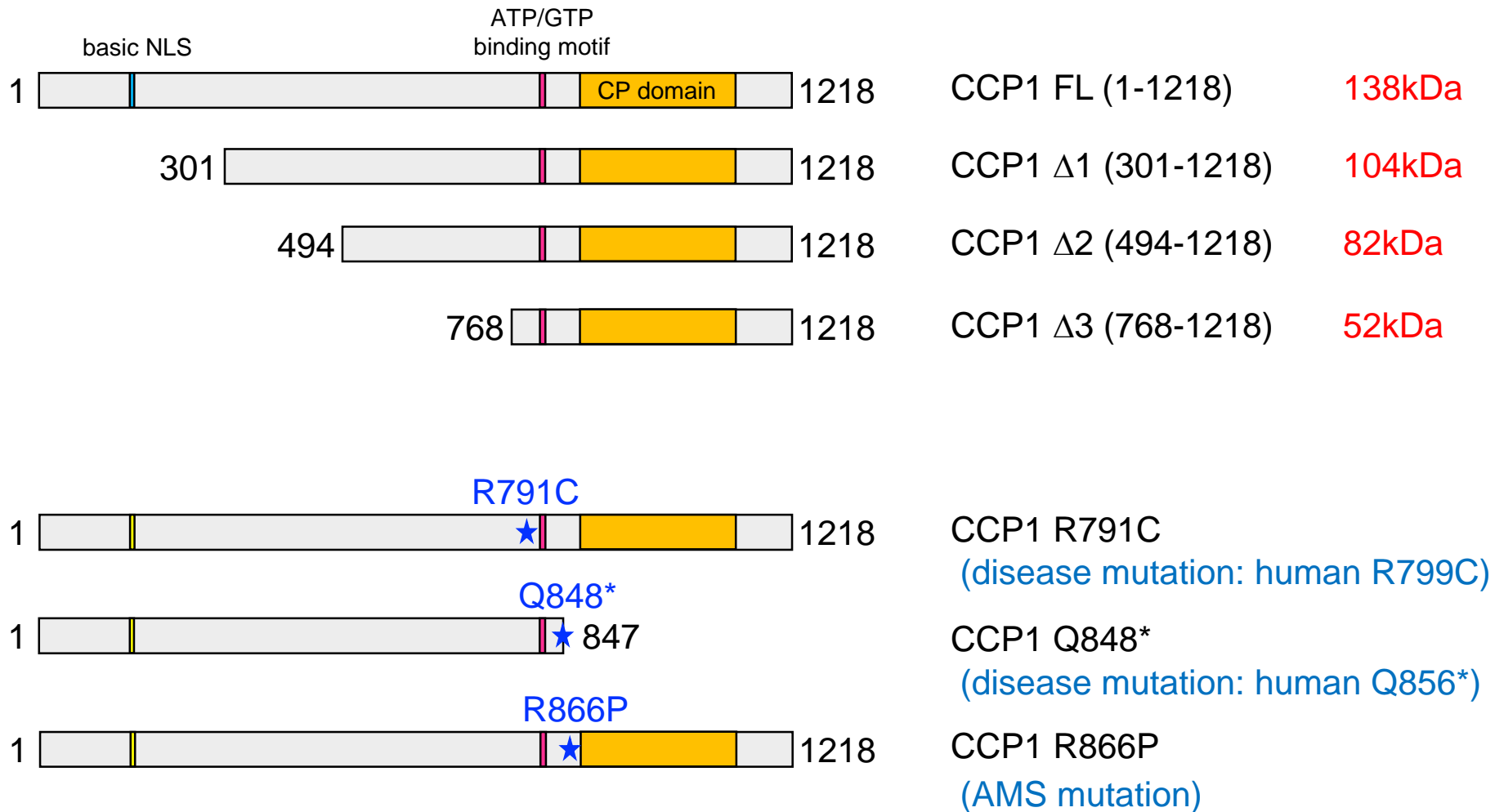
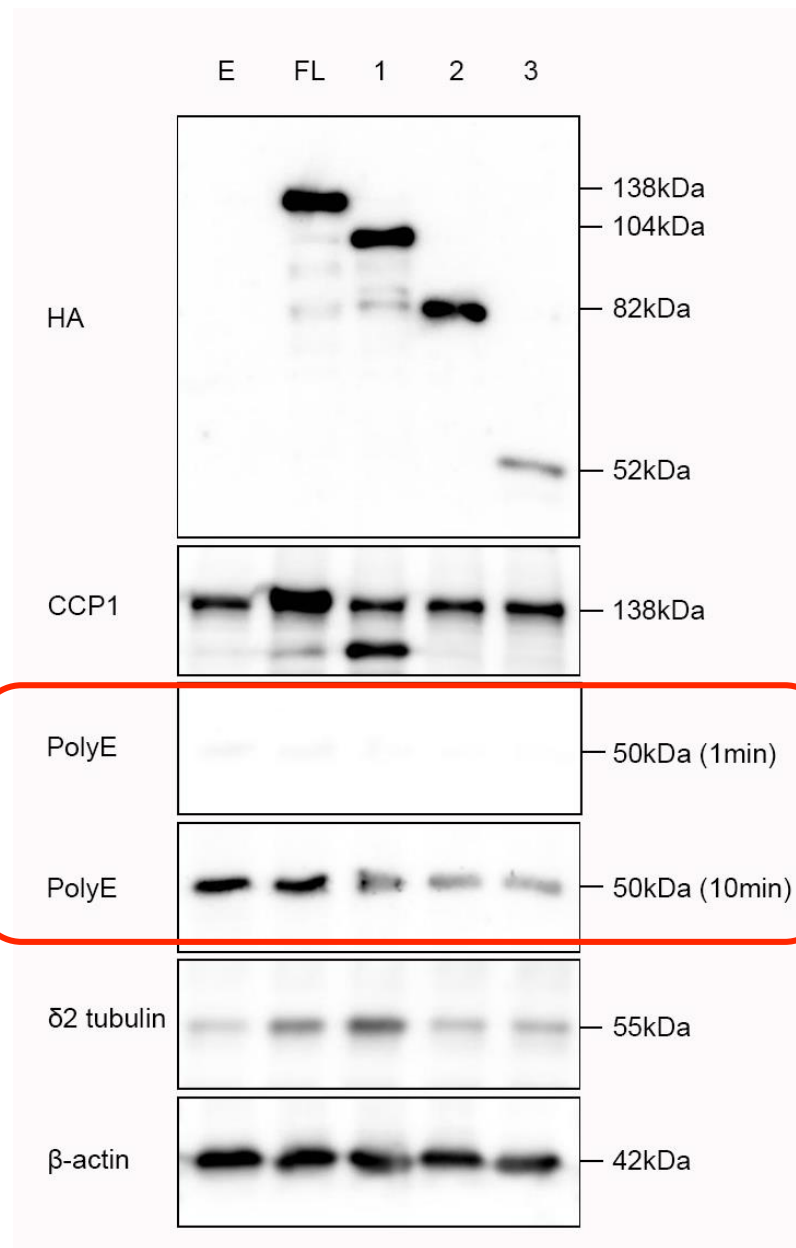


図 2

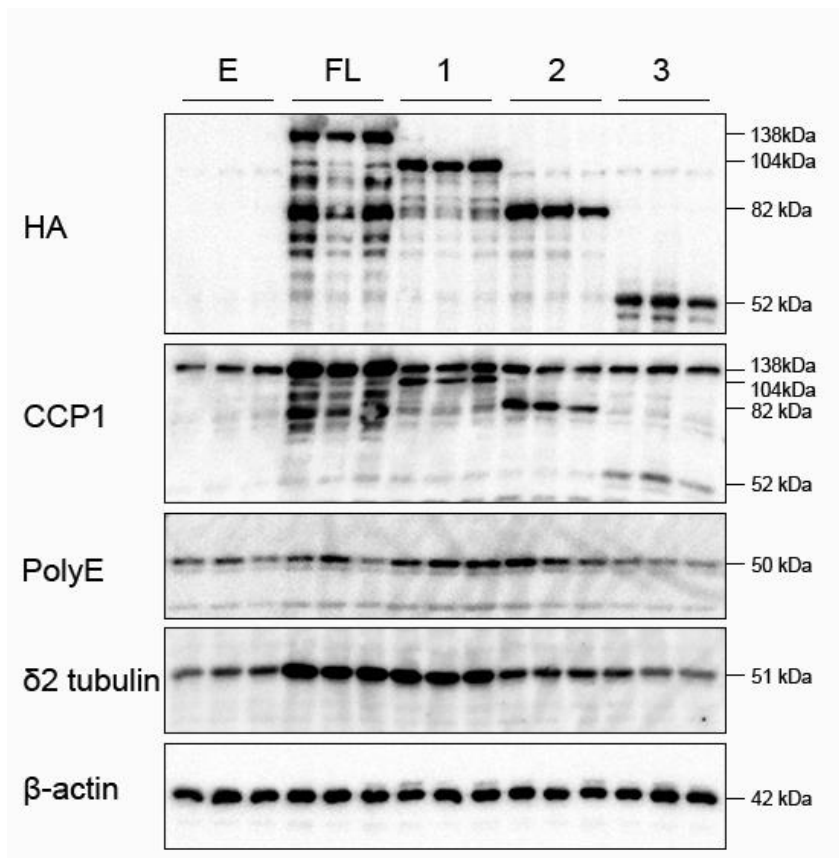
タンパク質濃度	μg/mL
E	1657.31
FL	1507.46
1	1138.86
2	1380.42
3	1491.47

1.5mg/mL前後
のタンパク質を得る
ことができました。



抗体はClone B3
マウス抗体
5000倍希釈

Protein quality: 4μg
Exposure time: 1min



Protein quality: 4μg
 Exposure time: 10 sec.

定量解析

Beta actinに対するHA, CCP1, D2-tubulinのバンド濃度の比

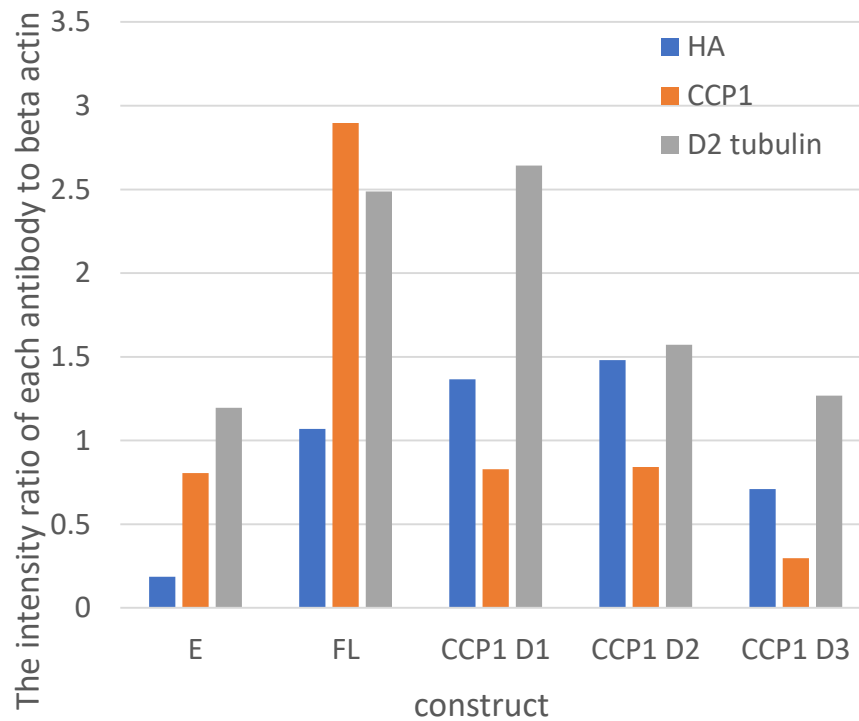


図4

グループBの変異型コンストラクトをHEK239へEP、
24時間培養し、変異型CCP1コンストラクト過剰発
現させる



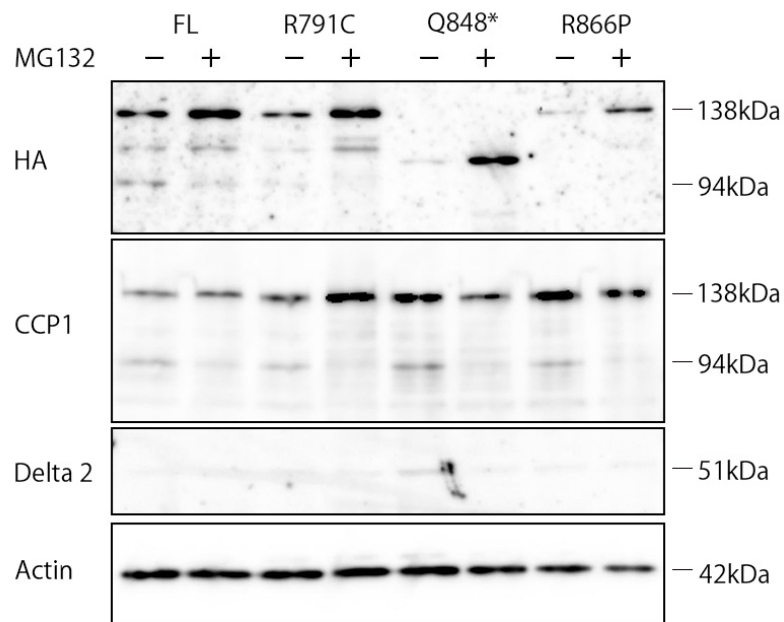
プロテアソーム阻害剤 MG132 (5 μ M)を加える。
(蛋白分解を阻害)
17時間培養し、その後細胞を回収する。



翻訳される変異型タンパク質に安定性があるか
ウェスタンブロット法で解析

タンパク質濃度	ug/ml
FL-	1745.15
FL+	1150.90
Q848-	1292.97
Q848+	1180.62
R791C-	1542.76
R791C+	717.05
R866P-	1981.12
R866P+	1590.86

CCP1 FL (1-1218) 約138kD
 CCP1 R791C (disease mutation: human R799C) 約138kD
 CCP1 Q848* (disease mutation: human Q856*) 約93.6kDa
 CCP1 R866P (AMS mutation) 約138kD



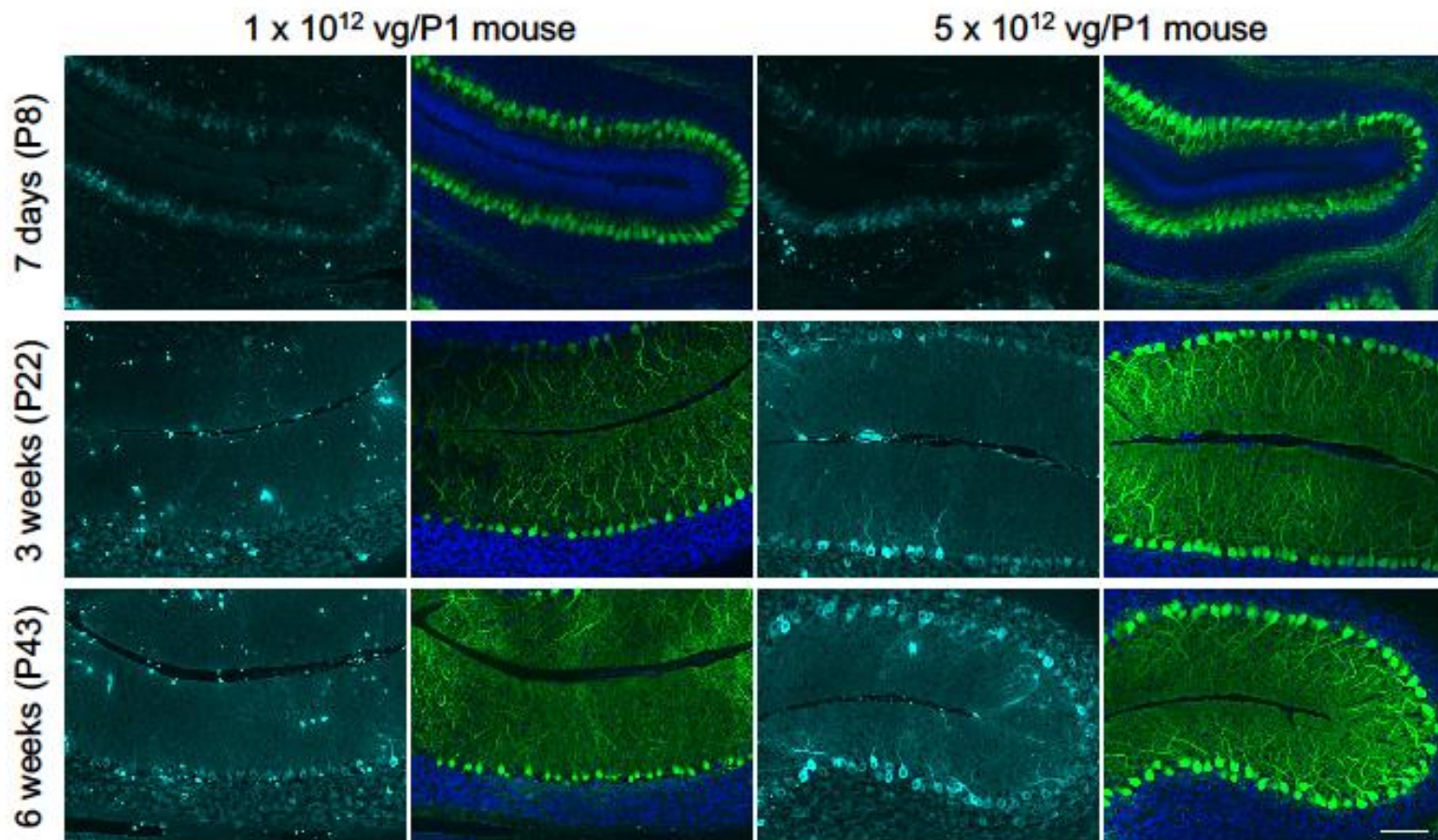
Antibody: HA, Delta 2 (20220314) CCP1, β -actin (20230216)
 Protein quantity: 4 μ g
 Exposure time: 1 min.

野生型

AMSマウス



C57BL/6J mice injected with AAV-hSyn-Ccp1 Δ 1-1xHA



Ccp1 Δ 1-1xHA expression
 5x10¹² > 1x10¹²

Scale bar, 50 μ m