

2023年1月4日

【お知らせ】Journal of Electrophoresis Vo. 66 (2022) No.1 の J-STAGE からの公開】

日本電気泳動学会会員の皆様

2022年12月29日、Journal of Electrophoresis Vo. 66 (2022) No.1 (J-STAGE 電子版)に、以下の論文が掲載されましたのでお知らせ致します。

(<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/jelectroph>)

J Electrophoresis. 2022; 66:13-20.

Title: Use of *Escherichia coli* expression system for analyzing kinase motifs

Authors: Emiko Kinoshita-Kikuta, Yoko Ino, Yayoi Kimura, Tomoko Akiyama, Eiji Kinoshita, Tohru Koike

Abstract: Sixty-eight human tyrosine kinases were cloned into the *Escherichia coli* expression vector pET21a(+) and 48 of them were successfully expressed in the BL21(DE3) strain. Among them, 18 kinases were activated in the bacterial cells by autophosphorylation and they phosphorylated endogenous proteins. Since *E. coli* expression systems do not usually enable post-translational modifications, the *in vivo* phosphorylation should be due to the tyrosine kinase expressed. In this study, we attempted to use the bacterial expression system as a site for the kinase reaction to determine the substrate sequence preference of a certain kinase, namely, a phosphorylation motif. As a first example, phosphoproteomic analysis of *E. coli* expressing active bone marrow tyrosine kinase gene in chromosome X protein (BMX) was performed to extract the phosphorylation motifs. The motifs were compared with that obtained from Kinapple, the database of *in vitro* human kinome profiling, and common features rich in acidic amino acids were found. Furthermore, the phosphorylation state of expressed BMX was analyzed. Phos-tag SDS-PAGE in conjunction with alanine scans of the phosphorylation sites found by mass spectrometry revealed that Y224, Y234, and Y566 are predominantly phosphorylated. Moreover, phosphorylation at S453 and T572 was implicated in activation in *E. coli*, whereas these sites did not affect activity in 293 cells. These results

suggest that, although the bacterial system does not fully reflect the physiological properties of the kinase, it is a simple experimental method that can infer the substrate preference of tyrosine kinases similar to that observed with substrates of human origin.

.....

なお、日本電気泳動学会では学会英文機関誌（Journal of Electrophoresis）への論文投稿を広く募集しております。また Case Reports（英文誌）、症例報告（和文誌）の論文種目もございます。会員の皆様の積極的なご投稿を期待しております（会員であれば、投稿料は無料です）。

日本電気泳動学会 編集委員長
亀山 昭彦



日本電気泳動学会企業会員

アドバンテック東洋（株）	コスモ・バイオ（株）	ナカライテスク（株）
（株）ナード研究所	日本エイドー（株）	バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)
（株）ヘレナ研究所	富士フイルム和光純薬（株）	（株）クリムゾン インタラクティブ ジャパン

【日本電気泳動学会電子メール通信】は、日本電気泳動学会会員の皆様に配信しています。

【日本電気泳動学会電子メール通信】に対するご意見をメールにてお寄せ下さい。

ご意見を【日本電気泳動学会電子メール通信】に掲載希望の場合はその旨お知らせ下さい。

【アドレス変更/配信中止】【ご質問・お問い合わせ】は、本会事務局（secretariat@jes1950.jp）宛にお願いいたします。