

# 29G-am06

細胞内タンパク質の挙動解明を志向したタグ・プローブシステムの開発

○森 あつみ<sup>1</sup>, 野村 渉<sup>1</sup>, 鳴海 哲夫<sup>1</sup>, 大橋 南美<sup>1</sup>, 増田 朱美<sup>1</sup>, 玉村 啓和<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東京医歯大・生材研)

【目的】 これまでに本研究室では3本鎖ロイシンジッパー構造を基に設計・合成した ZIP タグ・プローブペアを用いて細胞表面の膜タンパク質の蛍光イメージングに成功している。本研究では細胞内に発現しているタンパク質の挙動を蛍光イメージングによって観察するために、膜透過性を付加した合成プローブ分子を利用した新規タグ・プローブペアの開発を行った。

【方法】 環境応答性蛍光色素をもつプローブにオクタアルギニン配列を導入して細胞膜透過性を付加した。プローブペプチドは Fmoc ペプチド固相合成法により合成した後、蛍光滴定実験によりタグとの結合親和性を評価した。細胞内でのタグ・プローブペア形成は、タグ配列を付加した標的タンパク質を哺乳類細胞で発現する系を用いて共焦点顕微鏡により確認した。

【結果・考察】 合成したプローブペプチドとタグペプチドの結合は抗原抗体反応と同等の結合親和性を示した。タグ配列を有するタンパク質を一過性発現させた哺乳類細胞に対してプローブ分子を導入することで、タグ・プローブペアの形成による蛍光の増大が確認された。よって、本システムの細胞内タンパク質におけるイメージングツールとしての有用性が示された。

図. タグ・プローブペアを利用した細胞内タンパク質の可視化について