

30P2-pm067

フォトクロスリンカーを用いたアルギニンペプチドの取り込みに関与する細胞表面蛋白質の探索

○川口 祥正¹, 田中 弦¹, 福田 保則¹, 中瀬 生彦¹, 畑中 保丸², 二木 史朗¹
(¹京大化研, ²富山大院薬)

【背景】細胞膜透過ペプチド (CPP) は数残基から 20 残基程度の比較的短いポリペプチドで、タンパク質や核酸などの生理活性物質を細胞内に取り込ませることに利用出来る。代表的な CPP であるアルギニンペプチドの取り込み機構の一つとしてマクロピノサイトーシスが示唆されている。また、当研究室ではプロテオグリカンがマクロピノサイトーシスの誘導に大きな役割を果たしていることを報告している。しかし、アルギニンペプチドの効率的な取り込みに直接関与する細胞表面分子は解明されていない。そこで、本研究では光反応基である phenyl-trifluorethyldiazirine を結合させたアルギニンペプチドを用いて、取り込みに関与する細胞表面分子の同定を目指した。

【方法】Phenyl-trifluorethyldiazirine 基、ビオチンを共に導入したアルギニンペプチドを Fmoc 固相合成した。ペプチド処理した細胞に UV 照射し、細胞を可溶化した後、ストレプトアビジンビーズで濃縮し、SDS-PAGE を行い、差異が見られるバンドに対応するタンパク質をペプチドマスフィンガープリント法により同定した。

【結果】アルギニンペプチドとして R12 を用いた場合、ミオシン-9 がこれと相互作用する分子として同定された。ミオシン-9 はケモカインレセプターの CXCR4 と相互作用していることが示唆されており、CXCR4 が R12 の取り込みに関与していることが示唆された。アルギニンペプチドとして R8 を用いた解析結果に関しても報告する予定である。