

両親媒性ペプチドタグ融合による蛋白質の細胞内集積化 2 : Y15 ペプチドを基軸とした NCK 蛋白質集合体の再構築

(東工大生命理工) ○三木 卓幸・中井 太一・橋本 匡浩・堤 浩・三原 久和
Intracellular Protein Integration by Amphiphilic Peptide Tag Fusion 2: Reconstitution of NCK
Protein Assembly by Y15 Peptide Fusion (*School of Life Science and Technology, Tokyo
Institute of Technology*) ○Takayuki Miki, Taichi Nakai, Masahiro Hashimoto, Hiroshi
Tsutsumi, Hisakazu Mihara

Various proteins form assemblies and express their functions in cells. For example, in WASP signaling during cell migration, Nck proteins containing three SH3 domains are assembled under plasma membrane, and N-WASP proteins containing multiple proline-rich motifs are concentrated in the clusters. The events trigger the accumulation of Arp2/3 complexes to promote actin polymerization. In order to elucidate the mechanism, reconstruction experiments have been conducted *in vitro*. By immobilizing Nck proteins on glass surfaces and lipid membranes and mixing them with functional proteins, essential domains and their concentration dependence on the functional expression have been evaluated.

In our laboratory, we have been developing "amphiphilic peptide tag" to construct protein assemblies in cells. We clarified that the protein assembly can be conveniently created by fusing Y15 peptide which consists of the repeated sequence of YKYE to the protein. In this study, Nck protein assembly were prepared in cells using the Y15 peptide, and the importance of domains in Nck protein in functional expression and the effect of the concentration of Nck were examined in cells.

Keywords : Self-assembly; amphiphilic peptide; protein assembly

細胞内で様々な蛋白質は集合体を形成し機能を発現する。例えば、細胞遊走などで生じる WASP シグナル伝達においては、SH3 ドメインを3つ有する Nck 蛋白質が細胞膜直下で集合し、そこに SH3 ドメインと相互作用する Proline-rich motif を多価に有する N-WASP が濃縮される。これを契機に Arp2/3 複合体などの蛋白質群が集積化し、アクチン重合反応が促進される。これまでメカニズム解明には、試験管内での再構築実験が行われてきた。ガラス表面や脂質膜上に Nck タンパク質を固定化し、そこに機能に関わる蛋白質群を混合することで、アクチン重合の機能発現に必要なドメインや、濃度依存性が評価されてきた。

我々の研究室では、このような蛋白質集合体を細胞内で構築する“両親媒性ペプチドタグ”の開発を行ってきた。その過程で、我々は YKYE の繰り返し配列からなる Y15 ペプチドを蛋白質に融合することで蛋白質集合体を簡便に作成できることを明らかにした。本発表では、この Y15 ペプチドを用い Nck 蛋白質集合体を細胞内で作成し、機能発現における Nck 蛋白質のドメインの重要性や、Nck の濃縮率による影響を細胞内で検討した。