

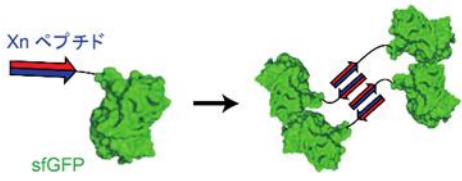
両親媒性ペプチドタグ融合による蛋白質の細胞内集積化 3 : タグの疎水性残基による集合体形成への影響

(東工大生命理工) ○梶原 圭悟・三木 卓幸・中井 太一・堤 浩・三原 久和
Intracellular Protein Integration by Amphiphilic Peptide Tag Fusion 3: Effect of Hydrophobic Residues in Tags on the Protein Assembling (*School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*) ○Keigo Kajiwara, Takayuki Miki, Taichi Nakai, Hiroshi Tsutsumi, Hisakazu Mihara

Protein assemblies play central roles in living cells. To understand the mechanism, tools to reconstitute these assembly in intracellular space are required. We hypothesized that fusion of self-assembling peptides (SAPs) to protein lead to artificial assembly in cells. However, the sequence of peptides that form self-assembly in cells has not been well studied. In this study, we investigated the effect of hydrophobic residues and chain length of SAP on intracellular assembling. In detail, X_n peptides consisted of different hydrophobic residues of F, I, L, V, or W and different chain lengths of 9, 11, 13, and 15 residues were evaluated (Fig. 1). We expressed the X_n -fused sfGFP in COS-7 cells and evaluated the assembly by the decrease of fluorescence anisotropy driven by homoFRET. It was found that the assembly ability of F_n and I_n was high when peptide's length was short, that of L_n was not clearly dependent on chain length, and that of V_n and W_n was high when peptide's length was long. Among the X_n peptides, W_{13} has the highest assembling propensity without perturbation of the protein folding.

Keywords : Amphiphilic peptide; Protein assembly; in cell; Hydrophobic amino acids; Self-assembling peptide

細胞内では、様々な蛋白質が集合化し機能を発現する。そのメカニズム解析のためには、人工的に蛋白質集合体を細胞内で再構築する技術が求められる。我々は、疎水・親水性残基の繰り返し配列から構成される自己集合化ペプチド (Self-assembling peptides, SAPs) を融合することで蛋白質を集積化できると考えた。しかし、細胞内環境で自己集合化するペプチド配列に関する検討は十分になされていない。そこで本研究では、細胞内集積化における SAP の疎水性残基、および鎖長の影響について検討した。具体的には、SAP の疎水基を F、I、L、V、W とし、親水基を E と K の繰り返し配列とし、それぞれ鎖長を 9, 11, 13, 15 残基にした計 20 種の X_n ペプチドタグの蛋白質集積能を評価した (図 1)。 X_n ペプチドタグ融合 sfGFP (X_n -sfGFP) を COS-7 細胞に発現させ、homoFRET による蛍光異方性の低下から細胞内における X_n ペプチドタグの蛋白質集積能を評価した。蛋白質集積能は、 F_n と I_n では短鎖長ほど高く、 L_n では鎖長に明確な依存性が見られず、 V_n と W_n では長鎖長ほど高くなることが判明した。その中で、最も W_{13} の集合能が高く、同時に蛋白質の変性を誘起しない適切な配列であることが判明した。



X9	XEXKXEXKX
X11	XEXKXEXKXEX
X13	XEXKXEXKXEXKX
X15	XEXKXEXKXEXKXEX

X = Phe, Ile, Leu, Val, Trp

図 1. X_n ペプチドによる蛋白質集積