

ビメンチン-転写関連タンパク質 PHB2 相互作用の in cell 力学解析

(東農工大学院・工・生命工¹・産総研細胞分子工学²) ○水澤 愛衣¹・山岸 彩奈²・中村 史^{1,2} In cell mechanical analysis of interaction between vimentin and transcription-related factor PHB2 (¹*Dept. Biotechnol. & Life Sci., Grad. Sch. Eng., TUAT*, ²*Cell. Mol. Biotech. Res. Inst., AIST*) ○Mei Mizusawa¹, Ayana Yamagishi², Chikashi Nakamura^{1,2}

Intermediate filaments (IF) bind to various proteins and regulate cell function in the cytoplasm¹. We suppose that IF regulate gene expression by acting as capture scaffolds for transcription-related proteins and preventing them from translocating into nucleus. Immunostaining, a common method for analyzing protein-protein interactions, may result in loss of molecular interactions because of treatments with detergents. Therefore, a method to analyze the interaction between IFs and transcription-related proteins in cells, where the interaction is maintained, is necessary. In this study, we focused on IF vimentin, which is a marker of EMT to mechanically detect transcription-related proteins trapped by vimentin filament.

First, vimentin binding proteins were searched from protein-protein interaction database². Prohibitin 2 (PHB2), a transcription-related factor, was selected as a candidate protein. Next, we performed mechanical detection for PHB2 using AFM and anti-PHB2 antibody-modified nanoneedle in vimentin-expressing mouse breast cancer cells (FP10SC2) and vimentin knockout cell (VKO). Significantly larger unbinding forces were detected in FP10SC2 compared to those in VKO. The result suggests that this method is useful for detecting IF binding proteins.

Keywords : *Intermediate Filament; Atomic Force Microscope; Vimentin; Prohibitin 2*

中間径フィラメント(IF)は、細胞質で様々なタンパク質と結合し、細胞機能の調節を行っていることが近年報告されている¹。我々は、細胞質に存在する IF が転写関連タンパク質の捕縛足場として機能し、核移行を妨げることで、遺伝子の発現を制御すると考えている。タンパク質間相互作用を解析する一般的手法の免疫染色は、界面活性剤を用いるため分子間相互作用が失われる可能性がある。そのため、IF と転写関連タンパク質の相互作用が保持されている細胞の内部で相互作用を解析する手法が必要である。本研究では、上皮間葉転換の指標として用いられている IF ビメンチンに着目し、ビメンチン繊維に捕縛される転写関連タンパク質の力学検出を行った。

まず、タンパク質間相互作用のデータベース²よりビメンチン結合タンパク質を探索し、転写関連因子である Prohibitin 2 (PHB2)を候補分子として選出した。ビメンチン発現細胞であるマウス乳がん細胞 FP10SC2 と、FP10SC2 のビメンチンノックアウト(VKO)細胞に対して、抗 PHB2 抗体修飾ナノニードルを用いた力学検出を行った。VKO と比較して FP10SC2 において有意に大きい結合破断力が検出された。この結果から、本手法が IF 捕縛分子の検出に有用であることが示唆された。

1) Peng Li, et al., *Cancer Research* 76, 5573-83, 2016

2) Marco Y. Hein, et al., *Cell* 163, 712-23, 2015