

脂質部位が与える人工脂質修飾タンパク質の細胞内取り込みへの影響

(九大院工¹・北陸先端大マテリアル²) ○内田 和希¹、若林 里衣¹、後藤 雅宏¹、下川 直史²、高木 昌宏²、神谷 典穂¹

Effect of lipid moiety on cellular uptake of artificial lipid-modified proteins (¹*Graduate School of Engineering, Kyushu University*, ²*School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology*) ○Kazuki Uchida¹, Rie Wakabayashi¹, Masahiro Goto¹, Naofumi Shimokawa², Masahiro Takagi², Noriho Kamiya¹

Lipid modification of proteins is a one of the post-translational modification that provides target proteins with cell membrane affinity. Artificial reconstructions of this system are expected to lead to further understanding of natural biological processes and to applications in drug delivery systems. We found the contribution of lipid rafts in the cellular internalization of a site-specifically palmitoylated green fluorescent protein (EGFP-C16) through the combined approach using artificial lipid membranes and cellular membranes (Fig. 1a). In this study, we prepared artificial lipid-modified fluorescent proteins (EGFP-lipids) with different alkyl chains to investigate the effect of lipid moieties on the cellular uptake. EGFPs modified with various fatty acids (C8-C22) were prepared using transglutaminase-catalyzed crosslinking reaction. Fluorescent spectroscopic analyses with human leukemic T cell line Jurkat suggest that the elongation of the alkyl chain from C16 to C22 results in less internalization.

Keywords : Endocytosis; Membrane; Lipid; Transglutaminase; Raft

タンパク質の脂質修飾は、対象タンパク質に細胞膜親和性を付与する翻訳後修飾である。その一連の機構の人工的な再構築は、生命現象のさらなる理解や Drug Delivery System への応用につながると期待される。我々は、パルミチン酸が部位特異的に修飾された緑色蛍光タンパク質 (EGFP-C16)、人工脂質膜ならびに細胞膜を組み合わせたアプローチにより、パルミトイル化タンパク質の細胞内在化における脂質ラフトの関与を見出した (Fig. 1a)。そこで本研究では、アルキル鎖長の異なる人工脂質修飾蛍光タンパク質 (EGFP-lipid) を調製し、脂質部位が細胞内取り込みへ与える影響を明らかにすることを目的とした。まず、酵素反応を利用して様々な脂肪酸 (C8-C22) が修飾された一連の EGFP-lipid を調製した。ベヘン酸 (22:0) 修飾蛍光タンパク質 (EGFP-C22) をヒト白血病性 T 細胞株 Jurkat 懸濁液に添加した際、EGFP-C16 はその多くが細胞内に取り込まれたが、EGFP-C22 は細胞内へ移行した分子に比べて膜上にアンカリングする分子の割合が大きく、アルキル鎖の C16 から C22 への長鎖化によって、内在化が起こりにくくなることが示唆された (Fig. 1b)。

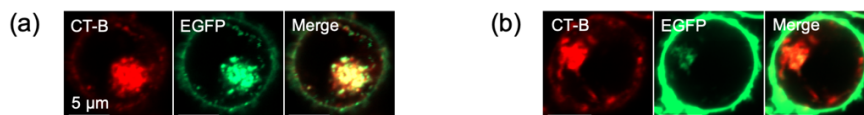


Fig. 1 (a) EGFP-C16 (b) EGFP-C22 の Jurkat 細胞への添加後の蛍光画像 (各条件で緑色蛍光の最大輝度が同程度となるように規格化)