

膜透過性ペプチドを連結したホスファローダミン色素による植物細胞の核小体イメージング

(名大¹⁾) ○酒井 佑基¹・八木 慎宜¹・中村 匡良¹・多喜 正泰¹・山口 茂弘¹
 Nucleolus Imaging in Plant Cells Using Phospha-rhodamine Dyes Conjugated with a Cell Penetrating Peptide (¹*Graduate School of Science, Nagoya University*) ○Yuki Sakai,¹ Noriyoshi Yagi,¹ Masayoshi Nakamura,¹ Masayasu Taki,¹ Shigehiro Yamaguchi¹

We herein demonstrate a novel fluorescent probe for labeling the nucleolus of a cultured plant cell line, tobacco BY-2 cells. When the cells were incubated with the BP100-PREX710-CCH, which is ethynylated phospha-rhodamine PREX710-CCH¹⁾ conjugated with cell-penetrating peptide BP100, the probe was localized to the nucleolus in BY-2 cells. Co-staining with a nuclear labeling reagent showed that the probe accumulated on the nucleolus, not nucleus. We then examined the mechanism of cellular uptake and localization of the probe and found that it directly penetrates the cell membrane and accumulates in the nucleolus, rather than via an endocytotic mechanism. A competitive assay using the cell lysate showed that the BP100 peptide binds to nuclear transport proteins, suggesting that the peptide contributes to both membrane permeabilization and nuclear translocation processes.

Keywords : Fluorescence imaging; Plant cells; Near-infrared fluorescence dye; Cell penetrating peptide; Nucleolus

動物細胞を対象とした各種オルガネラの蛍光標識剤は数多く存在するが、その多くは植物細胞に適用することができない。これは、色素が細胞壁および細胞膜への透過性に乏しいことが主な要因である。本研究では、エチニル基を有するホスファローダミン色素 PREX710-CCH¹⁾と膜透過性ペプチド BP100 を連結させることにより、植物イメージングに向けたオルガネラ蛍光標識剤の開発を目指した (Figure 1a)。エチニル基とアジド基を有するオルガネラ局在性官能基をクリック反応によって連結させることにより、色素の細胞内局在を制御することが可能である¹⁾。興味深いことに、クリック反応前駆体である BP100-PREX710-CCH を培養タバコ細胞 BY-2 に作用させたところ、核小体局在を示すことを見出した。

核染色剤 Kakshine との共染色実験では両者の局在が一致せず、核小体特異的な染色が認められた (Figure 1b)。色素の細胞内への取り込み機構について検証したところ、エンドサイトーシス機構ではなく、細胞膜を直接透過して核小体へ集積していることがわかった。このとき、エチニル基は細胞内への取り込みを促進している。次に、BY2 の細胞破碎液を用いた競合アッセイによる標的タンパク質の同定を試みた。その結果、BP100 ペプチドが核輸送タンパク質と結合していることが示唆され、膜透過性と核移行の両過程に寄与していることがわかった。

1) M. Taki, S. Yamaguchi et al., *Chem. Sci.*, **2021**, *12*, 7902.

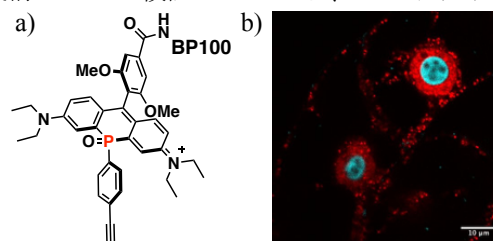


Figure 1. a) Structure of BP100-PREX710-CCH, b) Co-staining image of BY-2 cells with Kakshine.