

細胞内で自己集合するペプチドタグ開発 1: クラスター形成を伴う蛋白質間相互作用解析

(東工大生命理工¹・東工大科学技術創成研究院²) ○橋本 匡浩¹・三木 卓幸¹・中井 太一¹・丹羽 達也^{1,2}・三原 久和¹

Development of peptide tags self-assembling in cells 1: Protein-protein interaction analysis accompanied by cluster formation (¹*School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*, ²*Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology*) ○Masahiro Hashimoto¹, Takayuki Miki¹, Taichi Nakai¹, Tatsuya Niwa^{1,2}, Hisakazu Mihara¹

In a living system, protein-protein interactions triggered by protein clustering are frequently observed. For in situ analysis of these interactions, we need a technology that can artificially integrate bait proteins into clusters and analyze the interaction with prey proteins. Recently, we have developed a Y15 peptide tag that can assemble proteins in cells, and have found AzamiGreen fused with Y15 peptide tag (Y15-AG) forms granules in cells. Furthermore, the Y15-AG granules provided a scaffold to enrich various proteins by fusion of Y15 peptide tag.

In this study, based on the Y15 peptide tag-based technology, we enriched the bait protein into the Y15-AG scaffold and analyzed the subsequent interaction with the prey protein. Consequently, we artificially controlled the partition coefficient of bait proteins. Also, we labeled and identified the endogenous prey proteins enriched in the clusters by proximity labeling.

Keywords: *Self-assembling peptide; Cluster formation; Protein-protein interaction analysis; Partition coefficient; Proteomics*

細胞内の様々な生理イベントにおいて、蛋白質のクラスター化を契機として生じる蛋白質間相互作用がよく見られる。このような相互作用を細胞内で解析するためには、bait 蛋白質を人工的にクラスター化し、そこに濃縮される prey 蛋白質との相互作用を解析できる技術が必要である。当研究室では、細胞内で蛋白質をクラスター化できる Y15 ペプチドタグを開発し、Y15 ペプチドタグを融合した AzamiGreen (Y15-AG) が細胞内で顆粒状の集合体を形成することを見出している¹⁾。さらに、Y15-AG の集合体をスキャホールドとし、そこへ様々な機能性蛋白質を Y15 ペプチドタグの融合によって濃縮することができた。

そこで我々は、bait 蛋白質を Y15-AG スキャホールドに濃縮し、その後に生じる prey 蛋白質との相互作用を解析する技術の開発を目指した。具体的には、bait 蛋白質の濃縮率を人為的に制御し、prey 蛋白質の集積化過程を分析する技術²⁾と、集積化した細胞内在性の prey 蛋白質を近接ラベル化法を用いたプロテオーム解析により同定する技術を、Y15 ペプチドタグを基軸として開発した。

1) T. Miki, T. Nakai, M. Hashimoto, K. Kajiwar, H. Tsutsumi and H. Mihara, *Nat. Commun.*, **2021**, 12, 3412.

2) T. Miki, M. Hashimoto, T. Nakai and H. Mihara, *Chem. Commun.*, **2021**, 57, 11338.