

2023 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2022 年度採択研究代表者

村上 光

静岡県立大学 薬学部
助教

細胞内温度に着目した局所的オミクス手法の創出

研究成果の概要

本研究の目的は「細胞内局所の温度変動が生体分子の細胞内局在を制御する」との仮説を実証することである。これまでに、細胞内において温度分布とタンパク質局在との関連を評価可能な新規オミクス手法を構築するために、近接依存性ビオチン化タンパク質 APEX2 (*Nat. Protoc.* 2016) に着目し、細胞内局所の温度変動に依存したプロテオミクス手法の構築を進めてきた。

2023 年度の研究では、まず熱産生性の細胞小器官に遺伝的導入した APEX2(ミトコンドリア型: OMM-APEX2、小胞体型: APEX2-ERM) について、内因性タンパク質のビオチン化を指標にラベル化条件の検討な検討を行なった。その結果、ミトコンドリア外膜タンパク質 TOM20 については OMM-APEX2、小胞体膜タンパク質 CALMEXIN については APEX2-ERM にのみそれぞれビオチンラベル化される最適条件を見出した。

また、より時空間的に温度(熱)特異性の高い方法の実現のために、赤外光照射により発熱を誘導できる金ナノ粒子に APEX2 を結合した”GNP-APEX2”の開発に取り組んだ。具体的には、ストレプトアビジン(SA)特異的に結合する StrepTag®を融合した APEX2 を大腸菌発現系から精製し、SA により表面修飾された金ナノ粒子と混合することにより作製した。In vitro における評価を行なったところ、GNP-APEX2 のタンパク質ラベル化活性は単なる精製 APEX2- StrepTag®と比較してやや劣るものの十分なレベルで維持されていることが判明した。

以上、細胞小器官局在型 APEX2 ならびに GNP-APEX2 いずれも実験系としては確立したと判断した。現在、ミトコンドリア熱産生の誘導が想定される脱共役剤の適用下において、細胞小器官局在型 APEX2 によりラベル化されるタンパク質群が集団として変動するか解析を進めている。