

チューブリン N 末端修飾による微小管内部への分子導入

(鳥取大工¹・鳥取大院工²・北大院地球環境科学³・京大院理⁴) ○清水 彰悟¹・渡 宗英²・稲葉 央²・小野田 晃³・角五 彰⁴・松浦 和則²

Molecular introduction into the inside of microtubules by tubulin N-terminal modification (¹*Faculty of Engineering, Tottori University*, ²*Graduate School of Engineering, Tottori University*, ³*Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University*, ⁴*Graduate School of Science, Kyoto University*) ○Shogo Shimizu,¹ Soei Watari,² Hiroshi Inaba,² Akira Onoda,³ Akira Kakugo,⁴ Kazunori Matsuura²

Microtubules, which are one of the cytoskeletons, are protein nanotubes consisting of tubulin. We have developed a Tau-derived peptide (TP) that binds to the inside of microtubules and controlled microtubule functions by TP-based encapsulating nanomaterials.¹⁾ However, the weak binding of TP should be improved. In this study, we modified molecules to the N-terminus of tubulin located inside of microtubules by using TA4C molecules that form covalent bonds at the N-terminal amines of proteins.²⁾ Cy5-containing TA4C was modified to tubulin and the CLSM showed the binding of Cy5-TA4C to microtubules (Fig. 1). The analysis using the fluorescent-labeled anti-Cy5 antibody suggested the binding of Cy5-TA4C to the inside of microtubules. Conjugation of R8 to the N-terminus of tubulin and the evaluation of the effect on microtubules stability are under consideration.

Keywords : Microtubule; Tubulin; N-terminal modification; Molecular introduction

微小管はチューブリンからなる細胞骨格であり、様々な細胞機能に関与するタンパク質ナノチューブである。我々は微小管内部に結合する Tau 由来ペプチド TP を開発し、TP を用いたナノマテリアルの内包による微小管の機能化に成功している¹⁾。しかし、TP の微小管への弱い結合が課題であった。そこで本研究では、タンパク質の N 末端アミン選択的に共有結合を形成する分子 TA4C²⁾を用い、微小管内部に相当するチューブリン N 末端への機能分子修飾法の確立を目指した。蛍光色素 Cy5 を有する TA4C (Cy5-TA4C) とチューブリンとの反応により Cy5 修飾を行った(Fig. 1a)。Cy5-TA4C 修飾チューブリンと Alexa Fluor 488 標識チューブリンと混合して微小管を構築したところ、共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)により Cy5-TA4C の微小管への結合が明らかとなった(Fig. 1b)。蛍光ラベル抗 Cy5 抗体を用いた解析により、Cy5-TA4C が主に微小管内部に結合していることが示唆された。次に、TA4C を用いてアジド修飾したチューブリンとのクリック反応により Arg が 8 個連続した R8 ペプチドを修飾したチューブリンを構築した。現在 R8 修飾チューブリンからなる微小管の詳細な解析を行っている。

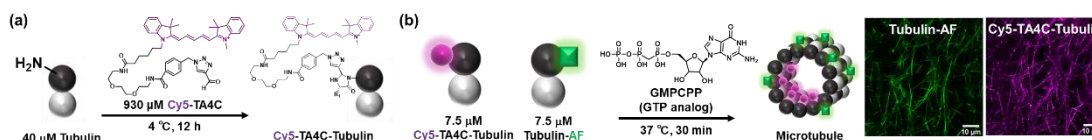


Fig. 1. (a) Modification of Cy5-TA4C to the N-terminal amino group of tubulin. (b) Construction of Cy5-TA4C-modified microtubules and the CLSM images.

1) H. Inaba, K. Matsuura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2021**, 94, 2100.

2) A. Onoda, N. Inoue, E. Sumiyoshi, T. Hayashi, *ChemBioChem*, **2020**, 21, 1274.