

卒業論文要旨

HiBiT タグをバインダーとして利用したタンパク質の in vivo イメージング 1240185 浅田 陽向

In vivo protein imaging using the HiBiT tag as a binder Hinata Asada

HiBiT システムとは、NanoLuc ルシフェラーゼ断片間の相補性により、C 末ペプチド HiBiT と N 末側断片 LgBiT の相互作用による発光で HiBiT タグを付加したタンパク質を検出する技術である。生細胞タンパク質の定量ができるなど、蛍光タンパク質やエピトープタグにはない利点がある。この HiBiT-LgBiT 相互作用は高い親和性を持つため、LgBiT を HiBiT に対する一本鎖抗体のように使用できれば、タンパク質や RNA 動態のイメージングに広く活用できるツールになると考えた。そこで本研究では、LgBiT と蛍光タンパク質の融合タンパク質が、ゼブラフィッシュ胚内で HiBiT タグが付加された Sox3 の局在を可視化できるかを調べた。Sox3 は神経系や感覚器における発現が高い転写因子であるため、LgBiT 融合タンパク質が Sox3-HiBiT に結合すれば、これらの組織では蛍光タンパク質が核に観察されると期待される。蛍光タンパク質には Achilles と m-Scarlet-I を使用し、さらにそれらと LgBiT の位置が及ぼす影響を調べるため、LgBiT を N 側および C 側に付加した 4 種の融合タンパク質の発現ベクターを作製した。これらの mRNA を、Sox3-HiBiT を発現するノックインゼブラフィッシュ胚、および野生型の胚にインジェクションし、蛍光タンパク質の分布を観察した。その結果、Sox3-HiBiT 発現胚と野生型胚を比較すると、蛍光タンパク質の分布が異なっており、Sox3 の発現部位では、より強い蛍光が観察された。これは、LgBiT 融合タンパク質が Sox3 に付加された HiBiT タグに結合し、核に局在したためと考えられる。