



2025年度 助成 研究 経過 ・ 終了 報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	光増感剤を応用したタンパク質自在操作法の確立
研究の結果	<p>申請者が所属する研究室ではこれまでに、Xタグを付加した分子に対して、光増感物質で標識した抗Xタグ抗体を反応し照射をすることで、CALIによる光不活化が可能であることを見出した。これにより分子ごとに抗体を作製しない迅速なCALI法開発が可能になると期待できる。実際に所属研究室ではこれまでに、NMDA受容体やmGluR5受容体など脳機能に重要な細胞表面の受容体分子に対し、CALI法の開発に成功している(xCALI法、未発表)。これにより抗体を分子ごとに作成する従来法で2年以上要したCALI法開発期間を、約3週間に短縮することに成功した。一方で本法はXタグに結合するIgG抗体を使用しており、これは細胞内に透過できない。従って現在は、本手法を細胞内分子に適用することは困難である。本研究では、Xタグに特異的に結合するペプチド(XBP)をファージディスプレイにより取得することを目指した。これを当研究室が開発した光増感タンパク質HyperNova(Shidara H et al. Commun. Biol. 2024)と融合したXBP-HyperNovaを細胞内に発現し、細胞内分子にもxCALI法を適用可能とする計画である。</p> <p>本研究では、アビジンコートした96well plateにビオチン化したXタグペプチドを固定し、結合ペプチドのスクリーニングを行った。まず、陽性対照として抗XタグIgG抗体のKd値を測定したところ、8.12nMであった。次に大阪公立大学の藤原博士との共同研究により、bHLH型ファージライブラリーを用いて、XタグにIgGと同程度の結合力で結合するファージクローンのスクリーニングを、バイオパンニング法で行った。合計4ラウンドのスクリーニングを行ったが、残念ながら結合力が強いペプチドを見出すことはできなかった。さらにランダム配列を含有するVHHライブラリーを用いて、同様にXタグおよびXタグを付加したRluc、さらにb-galタンパク質に対する結合配列のスクリーニングも進めたが、これまでのところ強く結合するものは見いだせなかった。現在は、洗浄の条件等のスクリーニング条件を検証している。</p>
研究発表 (実績)	なし

提出期限:研究期間終了後、速やかに助成金の「必要経費使途明細書」「レビテンス(領収書等)」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は、毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。