

タンパク質特異的ラベル化を目指した新規ペプチドタグ・亜鉛錯体 プローブペアの開発

Development of a novel oligo-aspartate tag/Zn(II)-complex probe pair for specific protein labeling

瀧田大和¹、田畑栄一¹、進藤直哉¹、高嶋一平¹、冷峭¹、初山勇次¹
浜地格²、王子田彰夫¹(九大院薬¹、京大院工²)

タンパク質は、生命機能の中心を担う生体分子であるため、その機能解析はきわめて重要であり、これまでに標的タンパク質を化学的にラベル化する手法が数多く報告されている。当研究室では、連続アスパラギン酸配列からなるペプチドタグと亜鉛錯体プローブとのペアにより標的タンパク質を特異的にラベル化する「リアクティブタグシステム」の開発を進めてきた。本システムでは、システイン残基を含む連続アスパラギン酸配列と亜鉛錯体プローブ **1** との配位結合による特異的相互作用により両者が近接し、近接効果によりラベル化反応が誘起される。

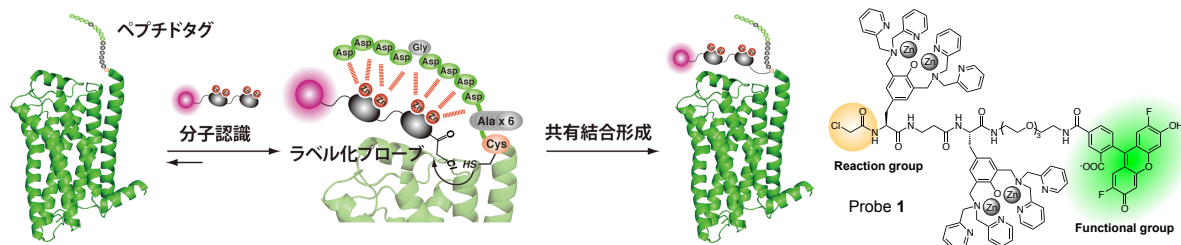
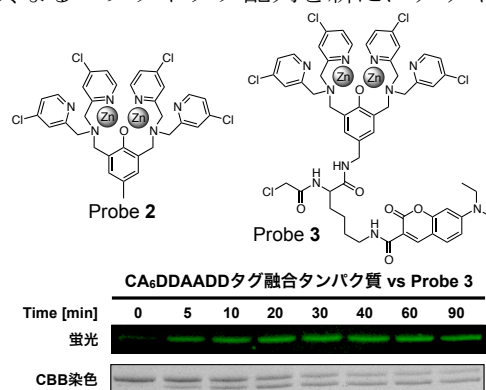


図. リアクティブタグシステムによるタンパク質特異的ラベル化

細胞内などの複雑な環境において標的タンパク質を効率的にラベル化するには、タグ・プローブ間の高い親和性が重要であると考えられる。そこで、強く相互作用する新しいタグ配列とプローブ構造のデザインを行った。

ピリジン環やイミダゾール環など電子供与性の異なるヘテロ芳香環をリガンドとして有する様々な亜鉛錯体プローブと、アスパラギン酸の数や位置の異なるペプチドタグ配列を新たにデザインし、両者の親和性を ITC により網羅的に解析した。その結果、4-クロロピリジン有する亜鉛錯体プローブ **2** と DDAADD 配列からなるペプチドタグとが水溶液中で強く相互作用 ($K_a = 3.9 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) することを見出した。さらに、プローブ **2** の構造をもとに α -クロロアセトアミド基と蛍光色素を有するプローブ **3** を合成し、CA₆DDAADD 配列からなるタグを融合したタンパク質のラベル化を行った。SDS-PAGE によりラベル化反応を解析したところ、タンパク質上においても迅速にラベル化が進行することを見出した。



<参考文献>

- 1) H. Fuchida, S. Tabata, N. Shindo, I. Takashima, Q. Leng, Y. Hatusyama, I. Hamachi, A. Ojida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2015, 88, 784 (Selected Paper)

発表者紹介

氏名 瀧田大和 (ふちだひろかず)
所属 九州大学大学院薬学府創薬科学専攻
学年 博士後期課程 2 年
研究室 生体分析化学分野 (王子田研究室)

