



反応基組み込み型天然物リガンドによる 受容体タンパク質の効率的ラベル化 Reactive group-embedded affinity labeling reagent for efficient receptor protein labeling

糠塚 祐希¹、高岡 洋輔^{1,2}、上田 実¹ (東北大院理¹, JST さきがけ²)

タンパク質の選択的なラベル化は、未知標的タンパク質の同定やイメージング、機能解析につながる極めて重要な手法である。細胞内のような複雑環境下で小分子リガンドの標的タンパク質をラベル化する方法として、アフィニティーラベル化が挙げられる¹。この方法は、リガンドの認識に関与しない部位に反応基を導入したラベル化剤を主に用いるため、ラベル化部位は主としてタンパク質表面に限定されてきたが、生細胞内のような複雑系での効率的かつ特異的なラベル化はこれまで困難である (Fig. 1a)。そこで本研究では、標的タンパク質の結合ポケットをラベル化することのできる反応基組み込み型ラベル化剤 (Fig. 1b) の開発を試みた。リガンドに直接反応基を組み込むことで、立体障害による反応性官能基の立体保護効果により非特異的なラベル化が低減されるとともに、顕著な近接効果から生細胞内でのより選択的かつ効率的なラベル化が期待された。

FK506 Binding Protein 12 (FKBP12) をモデルタンパク質として用い、その結晶構造を基に、FKBP12 の結合ポケット内や表面など異なる位置へ反応性官能基を配置した各種ラベル化剤を設計し、それらのラベル化効率を *in vitro* および *in cell* で比較した。その結果、*in vitro* では、反応性官能基の配置によるラベル化効率の違いはほぼ見られず、全てのラベル化剤でラベル化が確認されたが、*in cell* では表面へ反応基を向けたラベル化剤ではラベル化は確認されなかったのに対して、反応基組み込み型ラベル化剤では効率的、かつ選択的な標的タンパク質のラベル化が確認された。さらなる詳細な検討の結果、この顕著な違いは細胞内の分子クラウディング環境が大きく影響していることが示唆された²。発表では、詳細な分子設計やラベル化から得られた新知見について報告する。

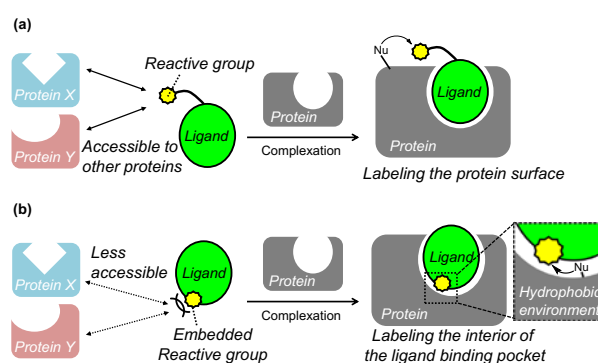


Figure 1. タンパク質表面を修飾する従来のアフィニティーラベル化剤 (a) と、リガンド結合部位内部を修飾する反応基組み込み型ラベル化剤 (b) の概念図

<参考文献>

- 1) Takaoka, Y., Ojida, A., Hamachi, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4088-4106.
- 2) Takaoka, Y., Nukadzuka, Y., Ueda, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 2888-2894.

発表者紹介

氏名 糠塚 祐希 (ぬかづか ゆうき)
所属 東北大学大学院理学研究科化学専攻
学年 博士課程後期 3 年
研究室 有機化学第一研究室

