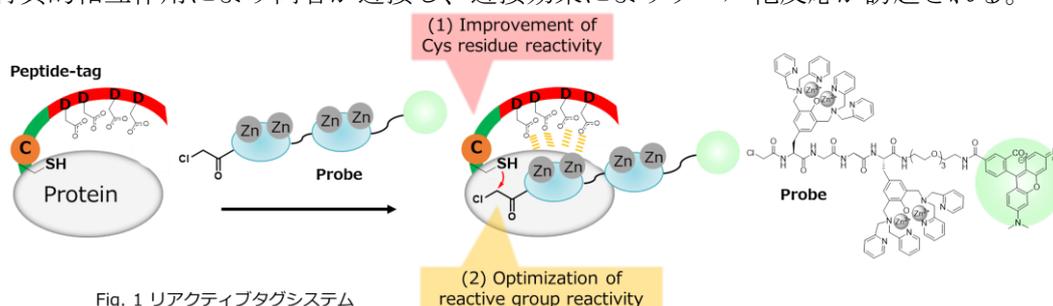




反応性の合理的制御によるペプチドタグを用いた 細胞表面でのタンパク質高選択的なケミカルラベリング Selective Protein Chemical Labeling on Cell Surface with Peptide-tag based on Rational Reactivity Tuning

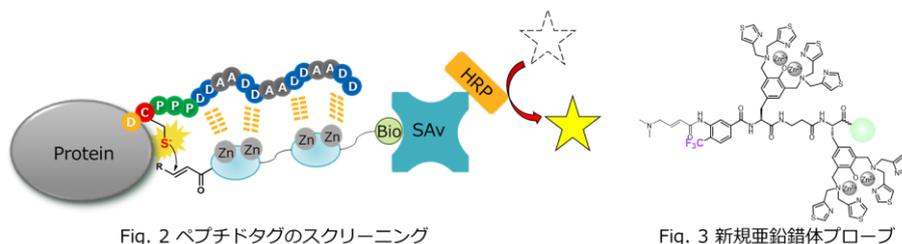
倉重伸崇¹、湊田大和¹、田畑栄一²、内之宮祥平¹、王子田彰夫¹ (九大院薬¹、IST Austria²)

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機能性分子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 (Fig. 1)。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。



しかし、従来法ではプローブの反応基として比較的反応性の高い α -クロロアセチル基を用いたため、プローブが他のタンパク質と非特異的に反応する問題があった。そこで、プローブ自体の反応性を抑制しつつ、ペア全体の反応速度を高めた新たなペアを開発するため、(1)高い反応性を有するペプチドタグの人工的デザインと、(2)プローブの反応性の最適化を行った。

まず、高い親和性を有するペアを採用し、ELISA ベースのスクリーニング法により高反応性ペプチドタグの探索を行った (Fig. 2)。その結果、従来よりも穏やかな反応性を示す 4-(ジメチルアミノ)クロトン酸アミドを反応基として導入したプローブと高い反応性を示すタグ配列 Asp-Cys-(Pro)₃-DD(AADD)₃ (DC-tag; $k_2 = 3933.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) を見出すことに成功した¹⁾。さらに、DC-tag に対するラベル化速度を向上させるため、プローブの反応性の最適化を行った。その結果、プローブの反応基部位にトリフルオロメチル基を導入した新たなタグ/プローブペアを見出し (Fig. 3)、このペアを用いることで、細胞表面で従来法より特異的かつ効率的な GPCR タンパク質のラベル化を達成した。今後は標的タンパク質の 1 分子イメージングが可能である電子顕微鏡イメージングに、今回開発した「リアクティブタグシステム」を応用する。



<参考文献>

1) N. Kurashige et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, *27*, 3486

発表者紹介

氏名 倉重伸崇 (くらしげのぶたか)
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 1 年
研究室 生体分析化学分野 (王子田研究室)

