

リガンド指向性化学と逆電子要請型 Diels-Alder(IEDDA)反応を組み合わせたリガンド指向性 2 段階ラベル化法の開発

(名大院工¹・京大院工²・JSTERATO³) ○曾我 恭平¹・小島 憲人²・浜地 格^{2,3}・清中 茂樹¹

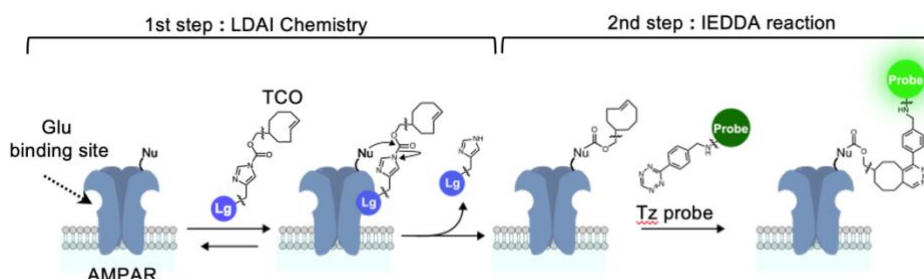
Development of ligand-directed two-step labeling combining ligand-directed chemistry with inverse electron demand Diels-Alder (IEDDA) reaction

(¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, ²Graduate School of Engineering, Kyoto University, ³ERATO JST) ○Kyohei Soga,¹ Kento Ojima,² Itaru Hamachi,^{2,3} Shigeki Kiyonaka¹

We have previously reported ligand-directed acyl imidazole (LDAI) chemistry to label cell-surface receptors.¹⁾ However, cells must be incubated under non-physiological conditions to prevent internalization of receptors. Here, we developed ligand-directed two-step labeling under physiological conditions, in which target receptors are labeled with trans-cyclooctene (TCO) by LDAI chemistry as a first step. In the second step, the labeled TCO group was successfully modified with tetrazine-conjugated probes by IEDDA reaction which has high selectivity and high reaction rate. This method allowed us to label AMPARs, which mediate the majority of excitatory synaptic transmission and play important role in learning and memory.²⁾

Keywords : Ligand-directed chemistry; IEDDA; AMPA receptor

我々はこれまで、中枢神経系で興奮性の神経伝達を担い、記憶・学習に深く関わる AMPA 型グルタミン酸受容体(AMPA)のケミカルラベル化法として、受容体のリガンド認識を利用したリガンド指向性アシルイミダゾール(LDAI)化学を報告した¹⁾。しかし、培養細胞を 1~4 時間非生理的条件で扱わなければならないという問題点があった。そこで本研究では、LDAI 化学で AMPAR をトランスシクロオクテン(TCO)標識した後、2 段階目の反応として逆電子要請型 Diels-Alder(IEDDA)反応により TCO に蛍光プローブを修飾する、2 段階ラベル化法を開発した。本手法により、HEK293T 細胞に一過的に発現させた AMPAR を迅速かつ特異的にラベル化し、分解やリサイクリングといった詳細な動態解析をすることに成功した²⁾。



- 1) Wakayama, S. *et al.* Chemical labelling for visualizing native AMPA receptors in live neurons. *Nat. Commun.* **8**, 14850 (2017).
- 2) Ojima, K. *et al.* Ligand-directed two-step labeling to quantify neuronal glutamate receptor trafficking. *Nat. Commun.* (in press)