求電子基修飾金ナノ粒子を用いたアフィニティーラベリングの反応解析 (東農工大院工¹) ○鴨下潮音¹・須藤菜々子¹・松井紗帆・櫻井香里¹

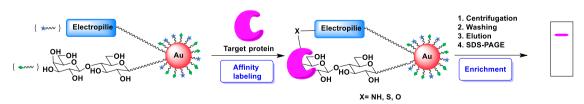
Evaluation of gold nanoparticle-based affinity labeling probes bearing electrophilic groups (¹Graduate student, Tokyo University of Agriculture and Technology, ²Coaching instructor, Tokyo University of Agriculture and Technology) O Shione Kamoshita¹, Nanako Suto¹, Saho Matsui, Kaori Sakurai²

Electrophilic groups have been used as protein labeling reagents in affinity labeling and covalent drugs¹. We have previously developed gold nanoparticles-based affinity labeling probes that multivalently display a ligand and an electrophilic group toward the identification of low-affinity target proteins. In this presentation, we further evaluated different electrophilic groups by comparing their suitability as affinity labeling probes. Target proteins were reacted with the new affinity labeling probes, enriched by centrifugation and resolved by SDS-PAGE. By in-gel fluorescence analysis, we found a new addition of an electrophilic group that effectively label the target protein.

Keywords: Affinity labeling probes; Gold nanoparticle; Multivalent display; Target proteins; Electrophilic groups

【背景・目的】ハロゲン化アルキル基や α , β -不飽和カルボニル基などの求電子基は、アフィニティーラベルやコバレントドラッグにおけるタンパク質ラベル化部位として用いられている 1 。当研究室では、従来法では探索同定が困難であった低親和性の標的タンパク質を効率的に探索するため、リガンドと求電子基をマルチバレントに共修飾した金ナノ粒子から成るアフィニティーラベリングプローブを開発した。そこで本研究では、このプローブを様々な標的タンパク質に対して応用すべく、新たな種類の求電子基について、アフィニティーラベルとしての反応性を解析することとした。

【方法・結果】リガンド、6種類の求電子基及び1種類の光反応基をPEGリポ酸で誘導化した。リガンド交換法によりリガンドとラベル化部位の2種の誘導体を2:1の比率で金ナノ粒子に修飾したプローブを作製した。各プローブを既知標的タンパク質と反応させた後、遠心分離とSDS-PAGEによりラベル化タンパク質を分離し、蛍光イメージング解析により反応性を比較した。この結果、ラベル化効率と選択性において有望な求電子基を新たに見出した。



1. S. Sakamoto and I. Hamachi, *Anal. Sci. J.* **2019**, *35*, 5-27.