

X線照射をトリガーとするタンパク質ラベル化法の開発

(青山学院大学理工) ○田村 千佳・日高 綾太・西原 達哉・田邊 一仁

Development of protein labeling method using X-ray irradiation (*Graduate School of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*) ○Chika Tamura, Ryota Hidaka, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Labeling of target protein is an effective methodology for their visualization and functionalization. Photoaffinity labeling has potential to label target proteins in cells at any time and place. However, *in vivo* applications of photoaffinity labeling are limited due to the low penetration of the light. Therefore, there is considerable interest in the development of protein labeling method using other technologies. In this study, we attempted to construct a molecular system to label target protein by means of X-irradiation as external stimuli, because of its high bio-permeability and excellent spatiotemporal controllability. We focused on the formation of reactive thiyl radicals that were generated by X-irradiation of disulfide compounds and applied them to covalent bond formation with target protein. In this presentation, we will report on the evaluation of X-ray-induced protein labeling.

Keywords : X-ray; Protein Labeling

標的タンパク質のラベル化は、タンパク質の可視化や機能化において有効な方法論である。種々のラベル化法が開発されているが、光照射をトリガーとする光アフィニティーラベル化は、時空間分解能にすぐれ、任意の時間と場所で標的タンパク質へのラベル化が可能という特性を有している。しかし、生物個体におけるタンパク質解析を指向した場合、光の生体透過性の低さが課題となり、特に生体深部でのラベル化は困難である。

そこで本研究では、生体透過性が高く時空間制御に優れる X 線を用いたラベル化法の開発を試みた。具体的には、X 線照射によるジスルフィド結合の開裂によって発生するチールラジカルとタンパク質の付加反応に着目した。標的タンパク質の認識分子近傍にジスルフィド結合を配置して X 線を照射し、タンパク質のラベル化が可能か評価した。本ラベル化法の実現可能性を調べるために、標的タンパク質モデルとしてストレプトアビジン、リガンドとしてデスチオビオチンを選択した。リガンド、及びジスルフィドの近接を担う部位として DNA 二重鎖を利用したシステムを考案し、タンパク質ラベル化評価を行った。本発表では、X 線照射をトリガーとするタンパク質ラベル化の実現可能性評価について報告する。

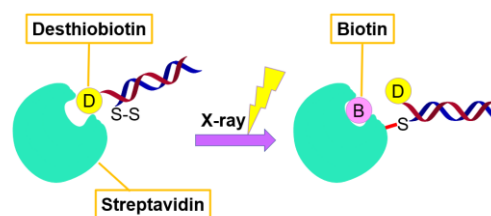


Figure1. Outline of protein labeling by radiation-induced one-electron reduction of disulfide group.