

光反応を利用した His タグ導入受容体の標識と近位ラベル化への応用

(九大院薬) ○末次春花・今村拓哉・善明直輝・田畑香織・内之宮祥平・王子田彰夫
Photoaffinity Labeling of His Tag-Fused Proteins on Cell Surface and Its Application to Proximity Labeling

(Graduate School of Pharmacy, Kyushu University) Haruka Suetsugu, Takuya Imamura, Naoki Zenmyo, Kaori Tabata, Shohei Uchinomiya, Akio Ojida

Selective labeling of protein of interests (POIs) with artificial molecules is indispensable approach for functional analyses of POIs. However, conventional labeling methods using antibody and protein tags is often problematic due to their large molecular size. To overcome this issue, we have developed a novel protein labeling method using specific interaction between short oligo-histidine sequence (His tag) and small Ni-complex probe. In this presentation, we will report a new photoaffinity protein labeling method based on this tag-probe pair and its application for protein interactome analysis on cell surface. We achieved selective and rapid (~ 1 min) labeling of a his-tag protein on cell surface upon UV irradiation at 365 nm using the Ni complex possessing a tetrazole group. Using this method, we also successfully conducted proximity labeling using the probe appended with an Ir catalyst.

Keywords : photoaffinity label; tetrazole; interactome

タンパク質を人工小分子で標識する技術はタンパク質の機能解析に重要である。従来は抗体やタンパク質タグが用いられてきたが、分子サイズが大きいため機能解析に影響を与える懸念がある。一方、当研究室では連続 His 配列と Ni 錯体間の相互作用を利用した、サイズの小さなタンパク質標識法を開発してきた¹⁾。本研究では、光反応基を用いた迅速な標識法の開発、及びタンパク質間相互作用を検出するインタラクトーム解析のための近位ラベル化への応用に取り組んだ。

テトラゾール基導入 Ni 錯体プローブを用い、365nm の光を 1 分照射することで細胞表層上の標的タンパク質を選択的にラベル化することに成功した。また、本標識法を用いることで、最近インタラクトーム解析に用いられる Ir 錯体²⁾を有する Ni 錯体プローブを用いて膜タンパク質の近位ラベル化に応用可能であることも分かった。

