

## 人工抗体を利用した細胞内タンパク質ラベル化システムの開発

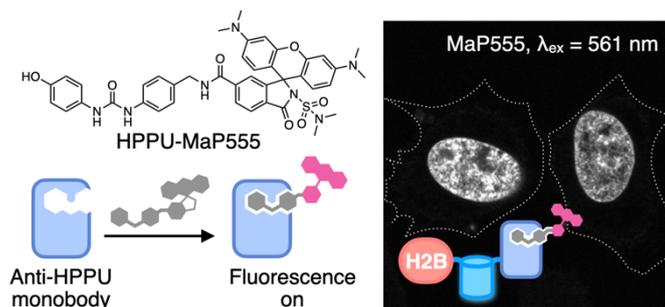
(名工大院工<sup>1</sup>・名大院工<sup>2</sup>・名大未来ナノ<sup>3</sup>) ○深谷 菜摘<sup>1</sup>・吉川 優<sup>1</sup>・吉井 達之<sup>1</sup>・梅本 駿<sup>2</sup>・都築成晃<sup>1</sup>・藤野 公茂<sup>2</sup>・林 剛介<sup>2</sup>・村上 裕<sup>2,3</sup>・築地 真也<sup>1</sup>

Development of a protein labeling system based on a small molecule-binding artificial monobody (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Nagoya Technology of Institute, <sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Nagoya University) ○Natsumi Fukaya,<sup>1</sup> Masaru Yoshikawa,<sup>1</sup> Tatsuyuki Yoshi,<sup>1</sup> Shun Umemoto,<sup>2</sup> Nariaki Tsuzuki,<sup>2</sup> Tomoshige Fujino,<sup>2</sup> Gosuke Hayashi,<sup>2</sup> Hiroshi Murakami,<sup>2,3</sup> Shinya Tsukiji<sup>1</sup>

Protein labeling systems based on small-molecule probes and protein tags are essential tools for visualizing protein localization and biological processes in living cells. To establish a novel intracellular protein labeling system using an artificial antibody (monobody) against the small-molecule 1-(4-hydroxyphenyl)-3-phenylurea (HPPU), we designed and synthesized an HPPU derivative tethered to a fluorogenic dye. Fluorescence microscopic study revealed that proteins fused to the anti-HPPU monobody tag could be fluorescently visualized with a high signal-to-noise ratio by the fluorogenic HPPU probe even without washing procedures.

**Keywords:** Artificial antibody; Fluorogenic probe; Small-molecule ligand; tag protein; bioimaging

細胞内におけるタンパク質の動態解析や機能解明において、小分子蛍光プローブとタンパク質タグを利用した蛍光標識(タグラベリング)法の重要性が高まっている<sup>1)</sup>。理想的なタンパク質タグの性質として、素早い標識速度、対象タンパク質への摂動を最小限に抑える小さいサイズ、生体直交性などが挙げられる。このような背景から我々は、非天然の低分子リガンドに対する人工抗体(Monobody: 10 kDa)を用いた新規タンパク質ラベル化システムの開発に着手した。これまでに、人工リガンドとして1-(4-hydroxyphenyl)-3-phenylurea (HPPU)を選定し、HPPUに特異的に結合するフィブロネクチン型人工抗体をTRAP提示法を用いて取得することに成功した<sup>2,3)</sup>。本研究では、抗HPPU人工抗体のタンパク質標識タグとしての応用を目指し、HPPUに発蛍光性プローブを連結したHPPU-MaP555を設計・合成した。抗HPPU人工抗体タグを融合したタンパク質を生細胞内に発現させ、HPPU-MaP555を添加することで、その標的タンパク質を(無洗浄条件下において)高いコントラストで蛍光標識できることを実証した。本発表では、抗HPPU人工抗体をタグとする新規発蛍光型タンパク質ラベル化システムの詳細について報告する。



1) C. A. Hoelzel, X. Zhang, *ChemBioChem* **2020**, *21*, 1935. 2) T. Ishizawa, T. Kawakami, P. C. Reid, H. Murakami, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5433. 3) 梅本ら, 第102回日本化学会春季年会 3AM-06.