

## 可逆的タンパク質標識プローブを用いたマルチカラーイメージング

(阪大院工<sup>1</sup>・IFReC<sup>2</sup>・JST さきがけ<sup>3</sup>) ○飯嶋 航平<sup>1</sup>・Shahi Imam Reja<sup>2</sup>・蓑島 維文<sup>1,3</sup>・菊地 和也<sup>1,2</sup>

Development of reversible protein labeling probes for multicolor imaging (<sup>1</sup>*Graduate School of Engineering, Osaka Univ*, <sup>2</sup>*Immunology Frontier Research Center, Osaka Univ*, <sup>3</sup>*JST PRESTO*) ○Kohei Iijima,<sup>1</sup> Shahi Imam Reja,<sup>2</sup> Masafumi Minoshima,<sup>1,3</sup> Kazuya Kikuchi<sup>1,2</sup>

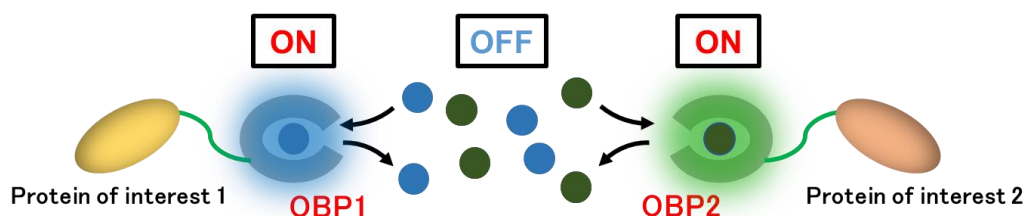
Fluorescence protein labeling with chemical fluorophores is a useful tool for visualizing the dynamics of proteins. This labeling method mainly relies on covalent bond formation between a fluorescent ligand and a self-labeling protein tag. On the other hand, fluorescent protein labeling using non-covalent bonds is an attracting approach for live-cell and single molecule imaging. In this method, a protein of interest is reversibly labeled with fluorogenic probe through a genetically-encoded protein tag. The rapid exchange of the fluorogenic probe enables sustainable labeling of target proteins and long-term imaging regardless of photobleaching of the probe. So far, a few of reversible protein labeling approaches has been developed<sup>1,2</sup>. However, these methods lack suitable probe exchangeability or sufficient probe photostability. We recently developed a reversible protein labeling method using an Odorant Binding Protein (OBP) for live cell imaging and single molecule imaging.

In this study, we develop an orthogonal fluorescent labeling system comprised of a pair of a new fluorogenic probe and an OBP mutant tag for multicolor cell imaging.

**Keywords :** Protein labeling, Fluorescent probe, Protein tag, Multicolor imaging

蛍光色素によるタンパク質のラベル化はタンパク質の動態を可視化する強力なツールである。これらのラベル化方法にはタグタンパク質とそれに特異的に共有結合を形成する蛍光色素が通常使用されている。一方で、非共有結合を利用したラベル化法では可逆性を有するため、迅速な標識プローブの交換が可能であり、光褪色が起こる条件でも長時間標的タンパク質を観察できる可能性がある。私たちは、既存の可逆的なラベル化法<sup>1,2</sup>が有する色素の交換速度や光安定性の課題を克服した Odorant Binding Protein (OBP)を利用した標識システムを開発し、生細胞イメージング、1分子イメージングへ応用している。

本発表では互いに直交性を持つ標識プローブと OBP 変異体のペアの開発、及びマルチカラーイメージングへの応用について報告する。



1) C. Szent-Gyorgyi, *et al. Nat. Biotechnol.* **2008**, 26, 235.

2) M.A. Plamont, *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2016**, 113, 497