

## バイオイソスターを用いたオルガネラ集積抑制法によるタンパク質ラベル化プローブの開発

(九大院理<sup>1</sup>・阪大院工<sup>2</sup>・阪大免フロ<sup>3</sup>・) ○上川 拓也<sup>1</sup>・菊地 和也<sup>2,3</sup>・堀 雄一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Graduate School of Science, Kyushu University, <sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Osaka University, <sup>3</sup>Immunology Frontier Research Center, Osaka University) ○Takuya Kamikawa<sup>1</sup>, Kazuya Kikuchi<sup>2,3</sup>, Yuichiro Hori<sup>1</sup>

Cationic fluorescent dyes showing high fluorescence quantum yield, photobleaching resistance, and water solubility provide highly useful scaffolds of fluorescent probes. However, cationic dyes can be easily taken up by the mitochondria due to the high negative potential of the inner membrane<sup>1)</sup>, generating non-specific fluorescent signals that are undesirable particularly for live cell imaging of nonmitochondrial proteins using protein labeling probes. In recent years, protein labeling techniques using a protein tag and its specific fluorescent probes have been widely used as powerful tools for live-cell imaging of proteins. Cationic probes for their protein tags generally show organelle accumulation, which causes serious artifacts in a localization analysis. Unfortunately, introduction of anionic carboxyl or sulfo groups into the probes does not give a solution to this problem, because it causes loss of membrane permeability of the probes.

In this study, to overcome the limitation, we developed a novel cell-permeable protein-labeling probe with cationic dyes that could suppress organelle accumulation. The probes contain bioisosteres of carboxylic acid, which are relatively lipophilic five-membered heterocyclic derivatives<sup>2)</sup>. In this meeting, the molecular design and organelle accumulation property of the probe will be reported.

**Keywords :** Cationic fluorescent dyes, Bioisostere, Fluorescence probe, Protein tag

カチオン性蛍光色素には、高い蛍光量子収率や優れた光退色耐性に加えて、水溶性を併せ持つものがあり、蛍光プローブの母骨格として極めて有用である。しかし、生細胞イメージングにおいて、プローブがミトコンドリアに集積し非特異的な蛍光シグナルを生じることが課題であった。これは、ミトコンドリア内膜の高い負電位に起因する色素集積のためである<sup>1)</sup>。この性質が特に問題になるのが、タンパク質ラベル化プローブである。近年、「タグ」と呼ばれるタンパク質とそれに特異的に結合するプローブを用いたタンパク質ラベル技術が、強力なタンパク質の生細胞イメージングツールとして、広く用いられている。一方、カチオン性色素を有するタンパク質ラベル化プローブは、オルガネラ集積性を示すため、標的タンパク質の局在解析において重大なアーティファクトを生み出す。この問題を解決するために、アニオン性のカルボキシ基やスルホ基をプローブに導入すると、膜透過性を失うという新たな問題が生じる。

そこで本研究では、カチオン性色素を有しながら、細胞膜を透過し、オルガネラ集積を抑制できる新たなタンパク質ラベル化プローブを開発した。プローブには、比較的脂溶性の高いカルボン酸バイオイソスターであるヘテロ五員環誘導体<sup>2)</sup>を導入した。本発表では、プローブの分子設計およびオルガネラ集積性に関して報告する。

1) X. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55,13658. 2) P. Lassalas, *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 3183.