

チロシナーゼを用いた生細胞での近傍タンパク質ラベル化法の開発

(京大院工¹・JST ERATO²) ○松田 侑奈¹、朱 浩¹、Jae Hoon Oh²、中村 秀樹^{1,2}、辻川 宗男²、田村 朋則¹、浜地 格^{1,2} (1. 京大院工、2. JST ERATO)

Development of tyrosinase-based proximity protein labeling in living cells (¹Graduate School of Engineering, Kyoto University, ²JST ERATO) ○Yuna Matsuda,¹ Hao Zhu,¹ Jae Hoon Oh,² Hideki Nakamura,^{1,2} Muneeo Tsujikawa,² Tomonori Tamura,¹ Itaru Hamachi^{1,2}

Enzyme-catalyzed proximity labeling (PL) is one appearing method to large-scale obtain protein localization and interaction information under a live condition. The current PL enzymes, however, have the limitations of requiring H₂O₂ (1 mM) for the activation (peroxidases), undergoing a slow labeling reaction (BioID: 18-24 h), and suffering from high background labeling (TurboID). In this context, we are developing a new PL strategy based on tyrosinase, which can address the above issues. This presentation will profile the tyrosinase-catalyzed protein labeling in testing tubes and demonstrate its use for organelle proteomics.

Keywords : Proximity labeling; Enzyme; Tyrosinase; Organelle proteomics

酵素触媒を利用した近傍ラベル化法 (PL) は、生細胞でのタンパク質の局在や相互作用の情報を大規模に得るための手法として近年注目されている。しかし、既存の PL 酵素には以下の課題が指摘されている。(1) 活性化に 1 mM の H₂O₂ を添加する必要がある (ペルオキシダーゼ)。(2) ラベル化反応が遅い (BioID: 18-24 時間)。(3) ラベル化のバックグラウンドが高い (TurboID)。これらの課題を克服するため、我々はチロシナーゼに基づいた新規の PL 戦略の開発を進めている。本発表では、試験管内でのチロシナーゼ触媒のタンパク質ラベル化の基本特性を述べ、本手法がオルガネラプロテオミクスに有用であることを示す。

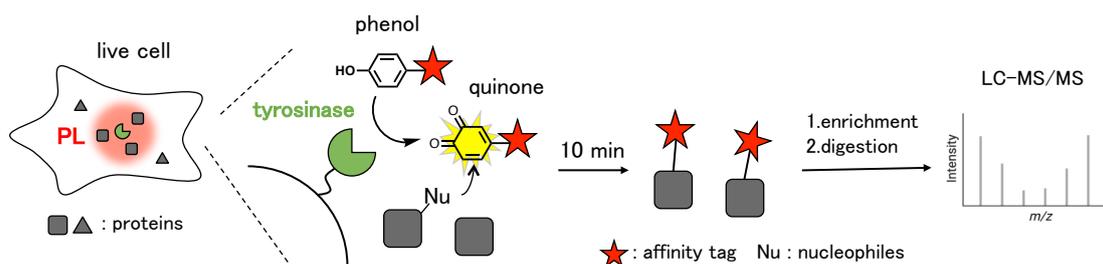


Figure 1. Tyrosinase-based proximity protein labeling

- 1) Hyun-Woo, R. *et al. Science* **339**, 1328–1331 (2013).
- 2) Roux, K. J., Kim, D. I., Raida, M. & Burke, B. *J. Cell Biol.* **196**, 801–810 (2012).
- 3) Branon, T. C. *et al. Nat. Biotechnol.* **36**, 880–887 (2018).