

## 活性酸素種 conditional なプロテオミクス(1): H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 応答性ラベル化剤の開発

○中島 航平<sup>1</sup>・朱 浩<sup>1</sup>・浜地 格<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>京都大学、<sup>2</sup>ERATO)

ROS conditional proteomics (1): development of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-responsive labeling reagents

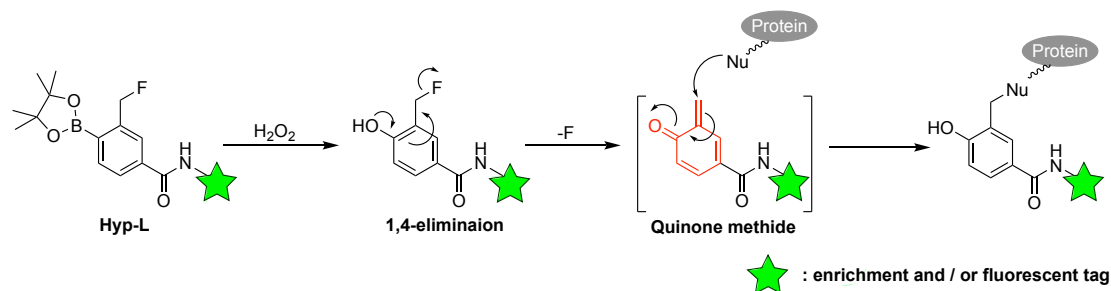
○Kohei Nakajima,<sup>1</sup> Hao Zhu,<sup>1</sup> Itaru Hamachi<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>Kyoto University, <sup>2</sup>ERATO)

Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), a central member of reactive oxygen species (ROS), can inflict damage to biomolecules under oxidative stress, which contributes to aging and diseases. On the other hand, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> serves as a signal molecule and modulates various biological processes. In this study, we develop a new chemical proteomics approach to decipher H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> homeostasis in living systems, which relies on designer chemical probes of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-responsive protein labeling reagents (Hyp-L). Once activated in the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-rich subcellular compartments, Hyp-L covalently modifies surrounding proteins which can be enriched and identified using a conditional proteomics workflow that we developed before. In this presentation, I will introduce the development of Hyp-L and its H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-responsive protein labeling behaviors in tubes and living cells.

**Keywords :** Protein labeling; Hydrogen peroxide

活性酸素種 (ROS) の中でも中心的な化学種として知られる H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は、酸化ストレス状態において生体分子を傷つけ老化や疾病の原因となる一方、シグナル分子として様々な生物学的プロセスを制御する二面性を持つ。本研究では、生体内での H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の恒常性の解明へ向けた新たなケミカルプロテオミクス戦略として、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 応答性のタンパク質ラベル化剤 Hyp-L を開発した。Hyp-L は下図のように、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を豊富に含む細胞内分画において求電子性のキノンメチドへと活性化され、周囲のタンパク質と共有結合を形成する。これを我々が開発したコンディショナルプロテオミクスプロトコルに組み込むことで、これらのタンパク質を同定することが可能となる。

本発表では、Hyp-L の開発及び in tube/生細胞での H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 応答性ラベル化反応の挙動について (Hyp-L が幅広い求核性アミノ酸残基と反応することや、細胞固定処理後も蛍光シグナルが保持されること等) 紹介させて頂く。



1) T. Miki et al., *Nat. Methods*, **2016**, 13, 931. 2) Y. Nishikawa et al., *ACS Chem. Biol.* **2019**, 14, 397. 3) H. Zhu et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142, 15711.