

## 光反応基による His タグ導入膜タンパク質の選択的ラベル化

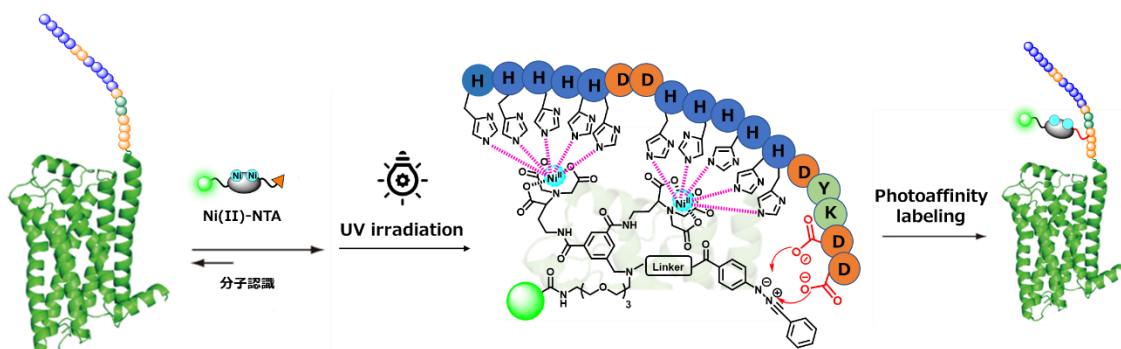
(九大院薬<sup>1)</sup> ○今村拓哉<sup>1</sup>、末次春花<sup>1</sup>、善明直輝<sup>1</sup>、田畑香織<sup>1</sup>、内之宮祥平<sup>1</sup>、王子田彰夫<sup>1</sup>

Selective Photoaffinity Labeling of His Tag-Fused Membrane Protein on Cell Surface  
(<sup>1</sup>Graduate School of Pharmacy, Kyushu University) ○Takuya Imamura,<sup>1</sup> Haruka Suetsugu,<sup>1</sup> Naoki Zenmyo,<sup>1</sup> Kaori Tabata,<sup>1</sup> Shohei Uchinomiya,<sup>1</sup> Akio Ojida<sup>1</sup>

Development of selective labeling methods for target proteins with synthetic molecules facilitates to functional analysis of protein. So far, we have developed the covalent labeling method (reactive tag system). In this system, oligo-histidine tag (His tag) possessing a cysteine residue is genetically introduced into a target protein and the His tag-fused protein is selectively labelled with a Ni complex (Ni-NTA) with a chloroacetamide group. However, this affinity-based labeling needs long incubation time (~1 hr) for selective labeling of the protein on live cell surface. To improve this slow reaction kinetics, we employed photoaffinity labeling method, which consists of newly designed Ni-NTA probe possessing tetrazole group and His tag containing Asp-rich sequence (DYKDDDK). Using this pair, we successfully labeled His tag-fused proteins on live cell surface within a few minutes (< 5 min).

**Keywords :** *photoaffinity labeling, his-tag fused protein, chemical biology*

生体機能の中心を担うタンパク質に機能性分子を導入する手法の開発は、タンパク質の機能解析に大きく貢献できる。当研究室ではこれまで標的タンパク質に連続ヒスチジン配列(His タグ)を導入し、His タグと選択的に相互作用する Ni 錯体(Ni-NTA)を用いて標的タンパク質を共有結合的にラベル化するリアクティブタグを開発した<sup>1)</sup>。本手法では His タグに導入されたシステインと Ni-NTA に導入されたクロロアセトアミド間の SN2 反応を利用するが、細胞表層でのラベル化に 1 時間程度必要であった。そこで本研究では光アフィニティーラベル化を採用し、Ni-NTA にはテトラゾール基を、His タグには対応する反応部位としてアスパラギン酸リッチ配列(DYKDDDK)を導入した。本手法を用いたところ、HEK293T 細胞に発現させたタグ導入タンパク質を 5 分以内に迅速にラベル化することに成功した。



1) Naoki Zenmyo et. al., *Bull.Chem.Soc.Jpn*,**2019**,92,995-1000