

## オルガネラ選択的脂質ラベリングの新展開(3) : ホスファチジルイノシトールへの拡張

(1.京都大学・2.京大院工・3.JST ERATO)○木村 天海<sup>1</sup>・田村 朋則<sup>2</sup>・浜地 格<sup>2,3</sup>

New developments in organelle-selective lipid labeling (3) :Extension to phosphatidylinositol

(1. Kyoto university, 2. graduate school of engineering, Kyoto university, 3. JST ERATO)

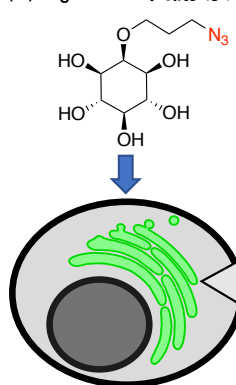
○Takami Kimura<sup>1</sup>, Tomonori Tamura<sup>2</sup>, Itaru Hamachi<sup>2,3</sup>

Phosphatidylinositol(PI) is known to play a major role in many cellular events, but the details of its function remain largely unexplored due to lack of method for visualizing PI specifically. Here, we propose a new method for labeling PI in subcellular resolution based on “organelle-selective lipid labeling” previously developed by our lab group. This method involves (1) the metabolic incorporation of N<sub>3</sub>-Ins, (2) followed by a spatially limited Cu-free click ligation that enables labeling of PI in specific organelle.<sup>1,2</sup> In this presentation, we will report several results on our initial trial, including the labeling in ER/Golgi and the product analysis by TLC, MS and live-cell imaging.

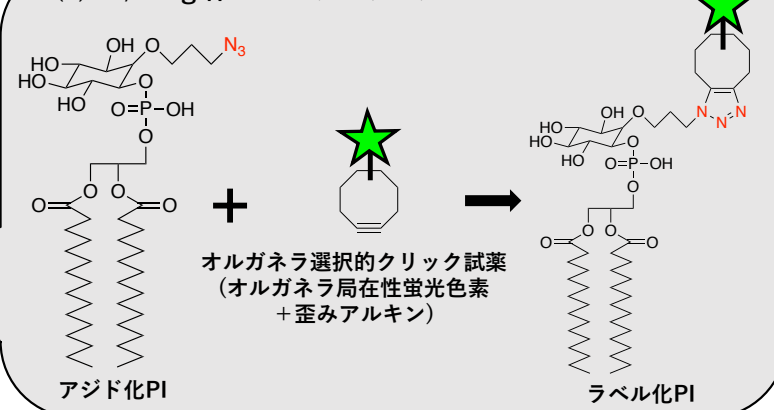
**Keywords :** organelle, phosphatidylinositol, labeling

ホスファチジルイノシトール(PI)はセカンドメッセンジャー産生を介したシグナル伝達やタンパク質の局在制御など、様々な細胞内イベントに関与している。しかし、生細胞においてPIを特異的に可視化解析するための手法はほとんどなく、その代謝や動態については未だ不明な部分が多い。そこで本研究では、オルガネラ分解能でのPIイメージングを可能にする新しい蛍光標識法の開発を行なった。本手法では、当研究室にて近年開発されたオルガネラ選択的脂質ラベリング法を基に、(1)アジド基を導入したイノシトール(N<sub>3</sub>-Ins)の代謝導入後、(2)狙ったオルガネラに局在するよう設計した歪みアルキン試薬を用いてアジド化PIを蛍光修飾する。<sup>1,2</sup> この戦略により特定のオルガネラ膜内のPIを選択的に標識することで、PIのオルガネラ間移行の可視化やオルガネラごとの脂肪酸組成の解析が可能であると考えた。本発表では小胞体(ER)/Golgi体でのPIラベリングにおける生成物のTLC、MS解析、および共焦点顕微鏡を用いた生細胞イメージングについて報告する。

### (1)N<sub>3</sub>-Insの代謝導入



### (2)ER/Golgi体でのPIラベリング



1 T. Tamura *et al*, *Nature Chemical Biology* **2020**, 16, 1361-1367

2 T. J. Ricks *et al*, *ChemBioChem* **2019**, 20, 172-180