

## オルガネラ選択的脂質ラベリングの新展開 (2): 局在性エステラーゼの利用

(京大院工<sup>1</sup>・JST さきがけ<sup>2</sup>・JST ERATO<sup>3</sup>) ○小池 佑真<sup>1</sup>・土谷 正樹<sup>1,2</sup>・浜地 格<sup>1,3</sup>  
 New developments in organelle-selective lipid labeling (2): use of spatially localized esterase  
 (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Kyoto University, <sup>2</sup>JST PRESTO, <sup>3</sup>JST ERATO) ○Yuma Koike<sup>1</sup>, Masaki Tsuchiya<sup>1,2</sup>, Itaru Hamachi<sup>1,3</sup>

To expand organelles targetable in spatially-limited lipid labeling, we devised a genetically-encodable lipid labeling strategy using biorthogonal esterase. BS2 is an exogenous esterase derived from *Bacillus subtilis* and can cleave  $\alpha$ -cyclopropyl ester which is resistant to hydrolysis in mammalian cells. Here, we exploited BS2 tagged with organelle-targeting signal sequences for lipid labeling depending on the local enzymatic reaction of BS2. This approach involves labeling of azido lipids with non-fluorescent FL-CM-DBCO bearing  $\alpha$ -cyclopropyl-masked fluorescein followed by BS2-dependent ester hydrolysis to generate fluorescence of the labeled lipids. To demonstrate this, we engineered BS2 localized in mitochondria matrix, and examined the local BS2 activity and lipid labeling with the laser scanning microscopy and TLC analysis.

**Keywords** : organelle-selective lipid labeling, spatially localized esterase, mitochondria matrix

我々は、細胞内脂質をオルガネラ膜選択的に識別するために、生体直交型の酵素反応の活用を試みた。BS2は枯草菌由来のエステラーゼであり、哺乳動物の細胞内では分解されにくい  $\alpha$ -cyclopropyl ester を加水分解する。本研究では、標的オルガネラに局在化するタンパク質を融合した BS2 を発現させることで、局所的な BS2 の酵素反応に依存した脂質の蛍光ラベル化戦略を考案した。本手法では、①  $\alpha$ -cyclopropyl 基で保護されたフルオレセインを持つ無蛍光性ラベル化剤 FL-CM-DBCO により細胞内のアジド脂質をラベル化する。②局在化 BS2 により、 $\alpha$ -cyclopropyl ester が加水分解されたラベル化脂質が蛍光を発することによって識別できる。具体的には、ミトコンドリアマトリックスに局在化する BS2 を用いて、蛍光顕微鏡と TLC 解析による実証実験を進めており、本発表で最新結果を報告したい。

