アフィニティーラベリングのための新規求電子性金ナノ粒子 プローブの反応性解析

(東農工大工¹) ○靍野 彩加¹・鴨下 潮音¹・櫻井 香里¹

Evaluation of reactivity of electrophilic groups on gold-nanoparticle probes (\(^1\) Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology) \(\times\) Ayaka Tsuruno,\(^1\) Shione Kamoshita,\(^1\) Kaori Sakurai\(^1\)

Affinity labeling based on electrophilic probes are promising chemical tools for the effective exploration of unknown target proteins, but their reactivity with non-specific proteins has been an issue. We have previously developed gold nanoparticle-based probes with multivalent ligands and electrophiles and found an electrophilic group that enables highly efficient affinity labeling. In this study, we designed new gold nanoparticle-based probes with different electrophilic groups and aimed to apply them as affinity labels. Following the previous study, we synthesized lipoic acid derivatives of a carbohydrate ligand and electrophilic groups, respectively, and obtained probes co-modified by the ligand exchange method. The reactivity of each probe was analyzed using a model carbohydrate-binding proteins, and the labeled proteins were detected by SDS-PAGE and in-gel analysis (Fig. 1). We used the probe developed in our previous study as a control experiment to determine the labeling efficiency of electrophilic probes.

Keywords: Affinity labeling; Gold-nanoparticles; Target proteins; Chemical probes; Electrophilic groups

【背景・目的】未知標的タンパク質の効率的な探索に向けて、求電子基を有するプローブを用いたアフィニティーラベリングは有用であるが、非特異的なタンパク質との反応性が課題であった。当研究室は、リガンドと求電子基をマルチバレント修飾した金ナノ粒子プローブを開発し、アフィニティーラベルとして有望な求電子基を見出した。^{1,2)} 本研究では、異なる求電子基を有する金ナノ粒子プローブを新たに設計し、アフィニティーラベリングへの応用を目指した。

【方法・結果】先行研究に習い、糖鎖リガンドと求電子基のリポ酸誘導体をそれぞれ合成し、リガンド交換法によって共修飾した金ナノ粒子プローブを作製した。各プローブをモデル系糖鎖結合タンパク質と反応させた後、SDS-PAGE とイメージング解析を用いてラベル化されたタンパク質を検出した (Fig. 1)。コントロール実験として先行研究で開発したプローブを使用して、求電子性プローブにおけるラベル化効率を解析した。

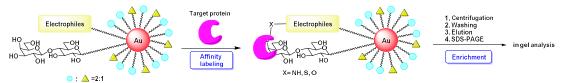


Figure. 1 Scheme of reactivity analysis using gold nanoparticle-based affinity labeling probes.

- 1) N. Suto, S. Kamoshita, S. Hosoya, and K. Sakurai, Angew. Chem. Int. Ed, 2021, 133, 2.
- 2) S. Kamoshita, S. Matsui, N. Suto, and K. Sakurai, ChemBioChem., 2021, Early view.