

## 青色光照射により酸化される細胞内タンパク質の網羅的解析

○藤浩平<sup>1</sup>・上杉志成<sup>1</sup> (1 京都大学化学研究所)Chemoproteomic Identification of Blue Light-Damaged Proteins (Institute for Chemical Research, Kyoto University)<sup>1)</sup> Toh Kohei<sup>1</sup>; Uesugi Motonari<sup>2</sup>

光照射は一般的にヒトの細胞にとって有害である。可視光はオプトジェネティクスや超解像イメージングなどの生物科学分野に多く利用されてきたが、その照射は細胞の機能障害を引き起こす可能性がある。特に可視光領域の青色光(400-500 nm)は比較的高いエネルギーをもち、細胞の老化や加齢に伴う病態の発生と関連するため重要である。青色光を生細胞に照射すると、内因性光増感剤から活性酸素の一つである一重項酸素(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)が発生し、核酸、脂質、タンパク質が酸化される。核酸や脂質に関しては、どのような特徴を持つものが酸化ターゲットになっているのか、これまでに集中的に解明されてきた。一方で、タンパク質に関しては、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>により酸化されるアミノ酸残基がチロシン、ヒスチジン、トリプトファン、メチオニン、システインと分かっているものの、どのようなタンパク質が実際に細胞内で酸化されているのかは未解明であった。<sup>1</sup>O<sub>2</sub>によるタンパク質の酸化は細胞内シグナルに様々な変化を与えるため、その全貌を明らかにしていくことは、青色光照射による細胞影響を考察する上で重要と考えられる。

ごく最近、窒素を化学構造中に含む化学プローブが、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>に酸化されたタンパク質に結合すると報告されている<sup>1,2</sup>。我々はこの知見をもとに、適切な窒素含有化学プローブを生細胞に加えれば、青色光照射により酸化されたタンパク質を捕捉できるのではないかと考えた(図 1a)。そこで様々なプローブを検討した結果、プロパルギルアミン(PA)を用いることで、青色光照射により酸化された細胞内タンパク質を効率よく捕捉できることがわかった。PAは化学構造中にアルキン基を含むため、アジド基を有するビオチンとクリック反応を行うことで、酸化されたタンパク質をアビジンビースで濃縮精製することができる。濃縮精製したタンパク質の網羅的解析を行ったところ、角膜内皮細胞を含む様々な哺乳類細胞において、細胞接着や細胞移動に関わるタンパク質である Integrin β1 が突出して酸化されていることがわかった。さらに酸化された Integrin β1 の機能を解析した結果、Integrin β1 の構造変化、それに伴う細胞接着機能低下、インテグリン下流シグナルの不活性化が確認された(図 1b)。これらの結果より、本研究で開発した方法は、青色光照射により酸化され、機能を失ったタンパク質を解明できる方法として有用であることが示唆された。ポスターセッションでは、より詳細な実験手法と今後の展開について議論する。

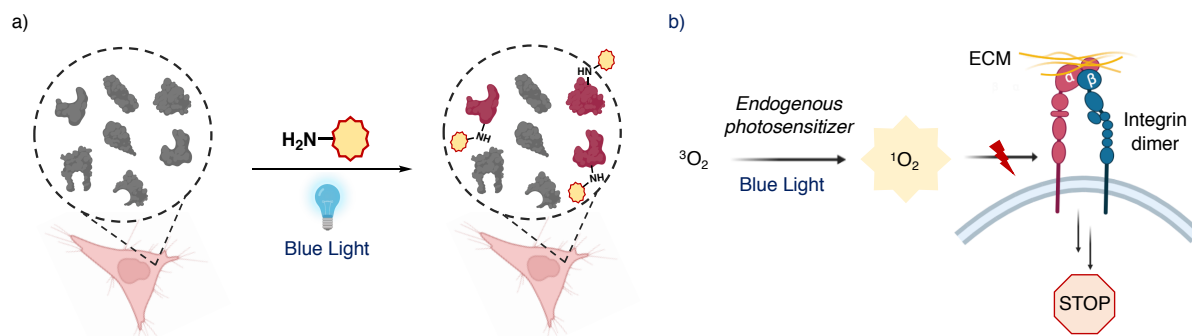
1) Tamura, T.; Takato, M.; Shiono, K. and Hamachi, I. *Chem. Lett.*, **2020**, *49*, 145.2) Tsushima, M.; Sato, S.; Miura, K.; Niwa, T.; Taguchi, H. and Nakamura, H. *Chem. Commun.*, **2022**, *58*, 1926.

図1 化学プローブを用いる青色光照射により酸化されるタンパク質の網羅的解析