

光駆動型近傍ラベリング PhoxID の新展開(2):リン脂質近傍プロテオミクス

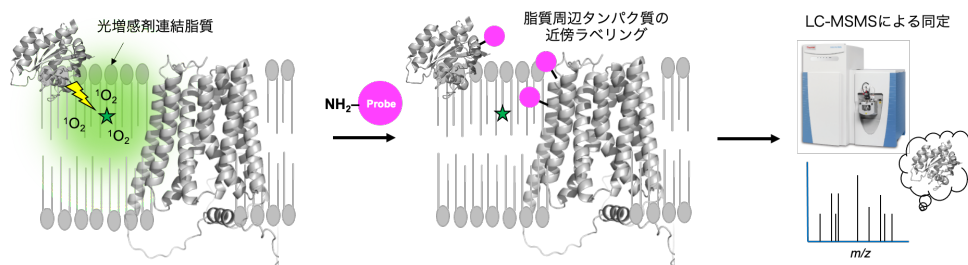
(京大院工¹・JST ERATO²) ○杉本 直樹¹・田村 朋則^{1,2}・浜地 格^{1,2}

PhoxID light-driven proximity labeling (2): Proteomics in the vicinity of phospholipids (¹Graduate School of Engineering, Kyoto University, ²JST ERATO) ○Naoki Sugimoto,¹ Tomonori Tamura,^{1,2} Itaru hamachi^{1,2}

Traditionally, lipid-protein interactions in live cells have been characterized by the photocrosslink-based method using photoreactive lipid analogs. However, this method has often suffered from low modification efficiency and requires cytotoxic UV (<365 nm). Here, we establish a new method for the comprehensive identification of lipid-protein interactions. This method is based on the PhoxID strategy, recently developed by us, and involves a lipid analog with a photosensitizer. Upon photo irradiation, proteins surrounding the lipid analog are oxidized by singlet oxygen, then the oxidized proteins are modified with a nucleophilic biotin probe and identified by mass spectrometry. In this presentation, we will report on the development of lipid analogs for Lipid-PhoxID and preliminary results in the proteomics study.

Keywords : PhoxID; Proximity labeling; Lipid; Membrane; Proteomics

生体膜には数千種類もの多種多様な脂質が存在し、それぞれが異なる生理機能を有している。例えば、ホスファチジルセリン (PS) やホスファチジエタノールアミン (PE)は、それぞれ特定の細胞質タンパク質を形質膜へとリクルートすることが知られている。従来、こうした脂質-タンパク質間相互作用解析には、光反応性脂質アナログを用いた光クロスリンク法が用いられてきた。しかし、この手法は一般に修飾効率が低く、生体毒性の高いUV(<365 nm)を必要とするといった問題があった。このような背景から、本研究では我々のグループが最近開発した PhoxID 法^(1,2)を応用し、脂質-タンパク質間相互作用を網羅的に同定するための新手法 Lipid-PhoxID 法の確立を試みた。この手法では、特定のヘッドグループを有するリン脂質の脂肪酸部位に光増感剤を導入した脂質アナログを細胞に添加し、光照射することで一重項酸素を発生させ周辺タンパク質を酸化する。この酸化タンパク質をアミン性ビオチン標識剤によって修飾し質量分析することで特定の脂質近傍のタンパク質を網羅的に同定することが可能である。本発表では、Lipid-PhoxID 法のためのプローブ設計戦略とプロテオミクス解析の結果について詳細を報告する。



1) *bioRxiv* 2023.05.25.542239. 2) *Chem. Lett.* **2020**, 49, 145.