

PYP タグの新規リガンドを用いた OFF-ON-OFF 型蛍光プローブの開発とタンパク質分解可視化への応用

(九大院理¹・阪大院工²) ○太田航司郎¹・足立惇弥¹・Jingchi Gao²・菊地和也²・堀雄一郎¹

Development of OFF-ON-OFF Type Fluorescent Probe with a PYP-tag Ligand and Application to Visualize Protein Degradation (¹Graduate School of Science, Kyushu University, ²Graduate School of Engineering, Osaka University) ○Koshiro Ota,¹ Junya Adachi,¹ Jingchi Gao,² Kazuya Kikuchi,² Yuichiro Hori¹

Intracellular protein degradation plays important roles in the maintenance and regulation of cellular functions such as cell cycle and signal transduction. Since their disruption can cause some diseases such as cancer. Elucidation of biological phenomena related to protein degradation are one of the major challenges for life science. Western blotting has been widely used to detect protein degradation, but it requires the addition of cytotoxic cycloheximide to inhibit protein synthesis in cells, which affects cellular functions.

As a solution of this problem, we focused on the protein labeling technique using PYP-tag, a small protein that can be specifically labeled by fluorescent probes in cells, and this labeling reaction enables imaging of PYP-fused target protein. To visualize protein degradation, we have developed OFF-ON-OFF type fluorescent probes that are non-fluorescent in the free state, become fluorescent upon binding to PYP-tag, and become non-fluorescent upon protein degradation.^{1,2} In this study, we developed OFF-ON-OFF type fluorescent probe that can rapidly label PYP-tags. The details of the imaging result will be discussed in this presentation. *Keywords* : Live cell Imaging; Protein Degradation; Fluorescent Probe; Tag Protein; Chemical Biology

細胞内のタンパク質分解は細胞周期やシグナル伝達等の細胞機能の維持や制御において重要な役割を担っている。これらの破綻はがんなどの疾患の原因となるため、タンパク質分解に関わる生命現象の解明は生命科学や医学にとって大きな課題である。ウェスタンブロッティングはタンパク質分解を検出するために汎用されているが、この目的では細胞内のタンパク質合成を阻害する必要がある、細胞機能に影響を及ぼしてしまう。

このような問題を避けるために、我々が独自に開発した PYP タグを用いたタンパク質ラベル化技術に着目した。PYP タグは細菌由来の小タンパク質で、細胞内で蛍光プローブを用いてラベル化することで、PYP タグを融合発現したタンパク質の可視化が可能になる。これまでに、遊離状態では非蛍光性で、PYP タグと結合することで蛍光性となり、タンパク質分解に伴い非蛍光性になる OFF-ON-OFF 型蛍光プローブを用いたタンパク質分解可視化技術を開発してきた^{1,2}。本研究では、PYP タグを高速にラベル化することができる新たな OFF-ON-OFF 型蛍光プローブを開発し、細胞内のタンパク質分解の可視化について検証したため、その詳細について報告する。

1. Gao, J. *et. al.*, *Bioconjugate Chem.*, **2020**, *31*, 577.

2. Reja. S. I. *et. al.*, *Chem. Sci.*, **2022**, *13*, 1419.