

28PA-am043

Turn-ON 蛍光アフィニティー標識法を用いた生物活性化合物標的タンパク質の網羅的解析への取り組み

○浅沼 三和子^{1,2}, どの 孝介^{1,2}, 田中 美帆¹, 大金 賢司^{1,2,3}, 江越 脩祐^{1,2}, 袖岡 幹子^{1,2} (1理研, 2AMED-CREST, 3東大分生研)

【目的】我々は、生物活性化合物の標的タンパク質を選択的に蛍光標識する手法として、turn-ON 型蛍光アフィニティーラベル化法、*O*-NBD (nitrobenzoxadiazole) 法、を開発した (*Chem. Sci.* 2014, 5, 1021-1029)。さらに現在、標的タンパク質の NBD 標識部位同定を目指し、免疫沈降 (IP) 法と nanoLC-MS/MS を組み合わせた解析を検討している。今までに、ミトコンドリア外膜タンパク質 TSPO のリガンド PIGA-1 の *O*-NBD 体が電位依存性アニオンチャンネル VDAC を標識することを明らかにし、さらにその NBD 修飾リジン残基の同定に成功している。

今回、*O*-NBD 法により NBD 標識される複数のタンパク質の網羅的解析を目的として実験を進めた。

【方法・結果】マウス単離腎臓ミトコンドリアを *O*-NBD 化 TSPO リガンドで処理後、その抽出物を SDS-PAGE で分離し、蛍光ゲルイメージャーで検出した複数の蛍光バンドのゲル内消化を行った。そのペプチド混合物を IP 法に供して得られた溶出物を、nanoLC-MS/MS もしくは蛍光検出器を備えた nanoLC-MS/MS で分析した。その結果、VDAC 以外の標識タンパク質でも NBD 修飾ペプチドを同定することに成功し、本法を用いた標的タンパク質の網羅的解析への展開が期待された。発表では、それら結果を報告したい。