

29-0167

光誘起電子移動を利用したタンパク質蛍光ラベル化試薬の開発

○正田 卓司¹, 長野 哲雄¹ (¹東大院薬)

【序論】細胞や組織が生きたままの状態でタンパク質の細胞内局在や動的挙動を直接的に可視化することは、タンパク質の生理機能を解明する上で極めて重要である。GFP との融合タンパク質を用いる手法は、GFP 自身のサイズ等が問題となり、目的タンパク質の挙動を正確に追跡できない可能性がある。そこで本研究では目的タンパク質にタグとなる短いペプチドを導入し、そのタグに特異的に反応する蛍光ラベル化試薬を用いることで目的タンパク質を特異的かつ高感度に検出可能な手法の開発を目指し、タグとの反応前には蛍光を發せず、反応後蛍光を發する機能を持つ蛍光ラベル化試薬の分子設計を行った。このような機能を持たせるため、光誘起電子移動 (PeT) を利用することとした。

【本論】マレイミド基を有する蛍光ラベル化試薬は中性条件下において Cys と特異的に反応する。またいくつかの蛍光ラベル化試薬では反応の前後で蛍光強度が変化することが知られている。我々はこの蛍光強度変化は PeT に由来すると考え、量子化学計算および還元電位の測定を行ったところ、熱力学的に PeT が起こることを見出した。そこでこの原理に基づき詳細にデザインを検討した。Rehm-Weller 式によると短波長励起が可能な蛍光色素を用いた場合は電子移動反応が起こりやすくなることから、7-hydroxycoumarin を蛍光団としたマレイミド基を有する化合物を数種類合成し、光学特性を検討したところ、Cys の添加前では蛍光を發せず、添加後に蛍光量子収率 Φ が増加 ($\Phi = 0.01 \rightarrow 0.52$) することが確認された。

【結論】以上のことから、マレイミド基を有する蛍光ラベル化試薬の反応前後における蛍光変化は PeT に由来することが明らかとなった。現在この原理を利用してペプチドとの選択性をさらに高める改良を検討中である。