

28M-am09

Tokyo Green 骨格を蛍光団とした新規 Halo Tag リガンドの開発

○長野 千瑛^{1,2}, 浦野 泰照¹, 長野 哲雄^{1,2} (1東大院薬, 2JST-CREST)

【目的】近年汎用されているタンパク質のイメージングツールとして、Halo Tag 技術がある。本技術は、Halo Tag 蛍光リガンドが Halo Tag タンパク質のポケットに入り込み、迅速に共有結合を作ることによって、Halo Tag タンパク質を不可逆的に蛍光標識するものである。しかし、既存の緑色 Halo Tag リガンドは未結合リガンドの洗浄が効率的に行えず、S/N 比が悪いことが知られている。また、このようなタンパク質ラベル化技術において、未結合リガンドの洗浄が不必要な手法は極めて少ない。そこで、本研究では、S/N 比のよい新規緑色 Halo Tag リガンドの開発と、Halo Tag タンパク質結合時にのみ蛍光を発することで洗浄を不必要とする新規 Halo Tag リガンドの開発を目的とした。

【方法・結果】fluorescein(2)を母核とする緑色 Halo Tag リガンドで問題となっていたのは細胞膜透過性の悪さである。この問題を当研究室で開発された fluorescein 誘導体である Tokyo Green(TG)(1)骨格を用いることで克服し、S/N 比を向上させることを試みた。その結果、TG 骨格を有した Halo Tag リガンドは細胞膜透過性に優れ、未反応リガンドの効率的な洗浄が可能であり、狙い通り S/N 比を向上させることに成功した。また、有機小分子蛍光プローブは周辺環境を感受してその蛍光特性を大きく変化させる設計が可能である。この性質を利用し、洗浄を必要としないことを狙った、Halo Tag タンパク質に結合した際の疎水性環境を感受して蛍光を増大させる Halo Tag リガンドを設計し、合成を行った。現在、この環境感受性 Halo Tag リガンドの有用性を検討しているところである。

