

27H-pm16

ヒスタグ配列を認識する発蛍光型蛍光試薬の開発

○鴨東 美絵¹, 梅澤 直樹¹, 加藤 信樹¹, 樋口 恒彦¹ (¹名市大院薬)

【目的】蛋白質の蛍光標識は、生化学研究を進める上で重要な技術である。本研究では、標的蛋白質の構造や機能に及ぼす影響が少ない、発蛍光型蛍光標識試薬の開発を目的とした。蛋白質の蛍光標識に伴い蛍光強度が増大する試薬は、標識操作が簡便だけでなく、従来法と比し、信頼性の高い技術となると考えられる。

【方法】ヒスチジン6残基からなるヒスタグ配列と金属-NTA（ニトリロ三酢酸）錯体との相互作用に着目した。下図に示す戦略に基づき、ヒスタグ融合蛋白質と結合することで蛍光強度の増大が期待できる蛍光試薬を設計した。蛍光団として、可視光励起可能なフルオレセインを用いた。

【結果及び考察】下図に示す化合物 **1** を含め、NTA を有するフルオレセイン誘導体2種を合成した。これらの Ni^{2+} 及び Co^{2+} 錯体は期待通り弱蛍光性であった。調製した蛍光試薬にヒスタグ配列をもつモデルペプチド及び蛋白質を添加したところ、濃度依存的な蛍光増大がみられた。ヒスタグを持たない配列では蛍光強度変化は見られなかった。現在、同様の戦略に基づいた新規蛍光試薬の開発を進めている。

