

30D-am10

タンパク質を選択的にラベル化できる K^+ 応答性蛍光プローブの開発

○平田 智也^{1,2}, 寺井 琢也^{1,2}, 下西 学³, 長野 哲雄^{1,2} (¹東大院薬, ²JST CREST, ³東大院薬GCOE)

【目的】 K^+ チャンネルは細胞の膜電位を規定する分子であり、薬物の心臓への副作用に深く関わるなど創薬においても注目すべきタンパク質である。その活性の検出法としてはパッチクランプ法や Rb^+ イオンを用いた原子吸光法、膜電位検出蛍光プローブなど様々な手法が存在するが、簡便かつ高感度な検出法は未だ確立されていない。 K^+ イオン検出蛍光プローブは上記の欠点を補う可能性を有しているものの、既存のプローブは選択性が低いことや局在の制御の難しさといった欠点がある。そこで今回我々は生細胞における K^+ チャンネル活性の新規検出法の開発を志向し、 K^+ イオンを K^+ チャンネルの近傍で検出可能な蛍光プローブの開発を行なうこととした。

【方法】 boron dipyrromethene (BODIPY) を母核とする、 K^+ イオンに選択的に応答する光誘起電子移動 (PeT) 制御型の蛍光プローブを設計・合成し、その光学特性を調べた。またプローブを細胞表面に局在化させるツールとして HaloTag® technology を選択し、基礎検討として大腸菌を用いて HaloTag® と蛍光タンパク質の融合タンパク質を発現・精製した。得られた融合タンパク質にプローブをラベルし、その蛍光特性の変化を調べた。

【結果および考察】 合成した化合物は、150 mM の Na^+ イオン存在下でも K^+ イオンの濃度変化に応じて蛍光強度が 11 倍に増大した。また他のタンパク質の存在下でも目的の融合タンパク質に特異的にラベル化が可能なこと、および融合タンパク質へのラベル後もその K^+ イオン応答性を失わないことを見出した。現在は細胞系への応用に向けプローブの更なる改良に取り組んでいる。