

29G-am08

二段階光反応性新規 ATP プロープによるアクトミオシンの光蛍光ラベル化
○猪ノ口 裕二¹, 増田 宗太¹, 友廣 岳則¹, 畑中 保丸¹(¹富山大院薬)

〔目的〕 生体内で複合体を形成し、タンパク質は互いに相互作用をすることで機能を発揮する。それらの相互作用状態を分子レベルで解析する重要な手法の一つが光架橋法である。光架橋法は光反応性の化学修飾試薬によりタンパク質-タンパク質間に共有結合によるクロスリンクを導入する方法である。近年、このクロスリンクを利用して未知タンパク質に検出用タグを導入するポスト標識法「ラベルトランスファー」が開発された。我々は、二段階の光反応によりクロスリンクとポスト標識をコントロールできるユニークな方法を開拓し、新しい ATP プロープを開発した。しかし、光反応基ジアジリンの分解する過程が遅くクロスリンク段階の反応時間が長くなる欠点を持つことが分かった。今回、その欠点を改善した新規 ATP プロープの開発に成功したので報告する。

〔実験と結果〕

今回、当研究室で開発した光反応性ジアジリン化合物(3-(trifluoromethyl)-3*H*-diazirine-3-yl)-3-methoxybenzene を出発化合物とし、6段階の反応を経て新規 ATP プロープを合成した。この新規 ATP プロープのジアジリン消失速度を解析したところ、以前のプロープに比べ大幅な改善が見られた。続いて ATP 結合性複合体タンパク質であるアクトミオシンへの光ラベル化を検討した。

