

29G-am09

ペプチド性新規光クロスリンカーによるタンパク質 VSR への蛍光基のトランスファー解析

○森本 正大¹, 友廣 岳則¹, 丸山 伸之², 畑中 保丸¹ (¹富山大院薬, ²京大院農)

[目的] 光アフィニティーラベル法は複数のタンパク質が相互作用する系の解析に有用な化学的修飾法の一つである。我々は、光ラベル後に相手タンパク質に検出用のタグを移植するラベルトランスファー法に着目し、光ラベルとタグ移植を光反応のみで達成する光ラベルトランスファー試薬を開発した。今回、この試薬をシグナルペプチド中に組み込んだ発蛍光性光クロスリンカーを開発し、ダイズのタンパク質輸送系の解析を検討した。

[方法] この試薬は、光照射によりカルベンを発生させ相手タンパク質にクロスリンクするジアジリン基と光シストランス異性化による分子内環化を経てクマリンを形成する *o*-ヒドロキシ桂皮酸骨格を有しており、それぞれ違う光照射条件により制御することが可能である。また、二段階目の光照射でクマリンを形成すると同時にリガンドとなるペプチドを切断するので、この確認のためにペプチド中に biotin を導入した。

[結果] R の異なる (右図) 二種類の光反応性クロスリンカーを比較した。その結果、R=OH の場合に比べ、R=H ではジアジリンがすみやかに分解し、目的通りシグナル配列を認識する受容体タンパク質 VSR を蛍光化することに成功した。

[考察] この試薬とアビジン-ビオチン系を組み合わせ、標的タンパク質の釣り上げ精製から、アビジンビーズからの切断遊離、蛍光ラベル化までを連続的に行う新しい解析法の開発に有用と考えられる。

