

# 28AB-am168S

アジドフタルイミドを発蛍光性光反応基とする新規アフィニティーラベル化法の開発

○千葉 幸介<sup>1</sup>, 橋本 祐一<sup>1</sup>, 山口 卓男<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東大分生研)

[目的] 生物活性物質の作用メカニズムを理解する上で、標的タンパク質の同定は重要である。標的タンパク質の同定手法の一つに、アフィニティーラベル化法がある。我々は、分子サイズの小さいアジドフタルイミド(AzPI)を発蛍光性光反応基とする新規アフィニティーラベル化法を考案した。今回、本手法の実用性実証を目的に研究を行った。

[方法・結果] まず、ビオチン-アビジンをモデルの生物活性物質-標的タンパク質とし、ビオチンと AzPI をリンカーで結合させたプローブ分子を設計・合成した。次に、リン酸緩衝液中、アビジンにプローブ分子を添加し、照射を行った。電気泳動後、蛍光イメージャーで観察したところ、期待通りアビジンの蛍光ラベル化が確認できた。このラベル化は、ビオチン添加により阻害された。これは、ラベル化がプローブ分子とアビジンの相互作用に基づくことを示している。そこで、複数の非標的タンパク質共存下でラベル化反応を行った。その結果、標的タンパク質であるアビジンのみが選択的に蛍光ラベル化されることが明らかになった。

