

26V-pm10S

クマリン型 turn-on 蛍光プローブの開発研究

○小島 拓之¹, 伊藤 俊将¹, 竹内 涼介¹, 藤田 侑希¹, 大橋 南美¹, 山本 恵子¹ (昭和薬大)

【目的】低分子化合物や金属イオンを識別し発光する turn-on 型蛍光プローブは盛んに研究されてきた。一方、タンパク質に対する turn-on 型蛍光プローブとして *O*-nitrobenzoxadiazole が挙げられるが、報告例は少ない。我々は、医薬品からディスプレイまで幅広く使用されているクマリンをタンパク質に対する turn-on 型蛍光プローブとして開発することを目的とした。

【方法・結果】タンパク質に対する turn-on 型蛍光プローブは、①タンパク質に認識されること、②タンパク質との共有結合形成に伴って蛍光が増大すること、③標識後にリガンドが解離できること、の3点を満たすと利便性が高い。本研究ではモデルタンパク質としてビタミン D 受容体 (VDR) を選択した。リガンドであるリトコール酸を用い、求核性アミノ酸との共役付加反応によって生じる、アルケンからアルケンへの構造変化を利用した turn-on 型蛍光プローブの設計と合成を行った。合成した7種のプローブと VDR を buffer 中で反応させて質量分析を行った結果、クマリンで修飾された VDR と解離したリガンドのピークが検出された。蛍光標識を蛍光スペクトルと SDS-PAGE にて検討したところ、ジエチルアミノクマリンが優れた蛍光特性を示し、大腸菌溶菌液中の VDR を選択的に標識した。また、ペプチド型プローブを用いたタンパク質の標識にも成功した。

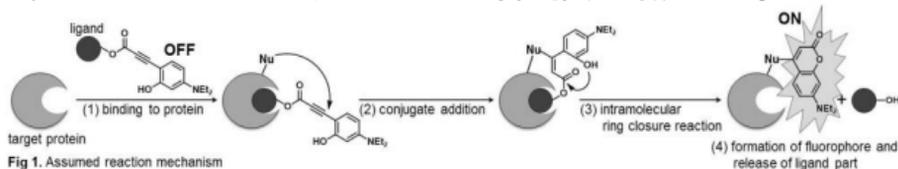


Fig 1. Assumed reaction mechanism