光照射をトリガーとする等電点応答型タンパク質標識法の開発

(青山学院大学理工)○日髙 綾太・田村 千佳・西原 達哉・田邉 一仁 Development of an Isoelectric Point-Responsive Protein Labeling Method Upon Photo-Irradiation (*Graduate School of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*) ○ Ryota Hidaka, Chika Tamura, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Labeling of target protein by oligodeoxynucleotides (ODNs) is very attractive methodology to provide multifunctionality. ODNs have merits that were not found in proteins such as high programmability and facility for chemical modification. Therefore, it is highly required to develop a simple methodology to prepare the protein–ODNs conjugates.

In this study, we focused on an isoelectric point of protein to label it by the ODNs, because electronic interaction between target protein and ODNs was controllable by external pH. We prepared ODNs bearing benzophenone unit as photo-reactive group and characterized their photoreaction in the presence of target protein. In fact, photoirradiation resulted in a formation of protein-ODN conjugate and photo-labeling of acidic protein, BSA was achieved.

Keywords: Photoirradiation; Isoelectric Point; Protein Labeling

タンパク質は、酵素や抗体などに代表されるように様々な機能性を有する生体材料である一方、DNA はプログラム性に優れ、化学修飾が容易といったようにタンパク質には見られない特性を有している。近年、これらタンパク質と DNA を複合化し、新たな素材として活用しようとする材料開発研究が進められている。

タンパク質-DNA 複合化の有用な手法の一つとして、標的タンパク質に対するリガンドを用いたアフィニティーラベル化法が挙げられる。この手法は非常に優れた方法論であるものの、リガンドが既知であるタンパク質に適用が限られ、リガンドのアフィニティーの最適化も必要とされる。そこで、本研究では、普遍的なパラメータの一つであるタンパク質の等電点(pI)に着目し、タンパク質に対する汎用的な DNA 標識法の開発を目指した。具体的には、pI に基づき外部 pH を制御することで、タンパク質の荷電状態をプラスとする一方、マイナス電荷を帯びている修飾 DNA オリゴマーを添加し、タンパク質の近接を惹起させた。修飾 DNA には光応答性のベンゾフェノンが担持されており、光照射を行うと、標的タンパク質と修飾 DNA 間で共有結合

形成が進行する。すなわち、タンパク質に対する光ラベル化が出来るものと期待した。これまでに、ベンゾフェノンを備えたDNAを合成し、標的タンパク質としてBSAを用いることで、本システムを活用した光ラベル化に成功した。本発表では、光反応性のDNAの設計、合成、及び光照射をトリガーとするタンパク質ラベル化評価について報告する。

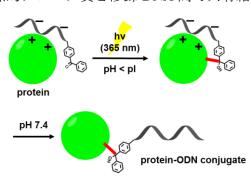


Figure 1. Schematic illustration of isoelectric point-responsive protein labeling method.