

ベンゾフェノン誘導体の光反応を用いたタンパク質—DNA 複合体の作成手法

(青山学院大学院理工) ○日高 綾太・西原 達哉・田邊 一仁

Preparation of protein-DNA complexes by photoreaction of benzophenone derivative
(Graduate School of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University) ○Ryota Hidaka,
Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Protein-DNA complexes have been attracted as the functional biomaterial due to their multifunctionality. Therefore, A variety of methodologies have been studied to prepare the protein-DNA conjugates.

In this study, we employ an isoelectric point of protein to induce the electronic interaction between the protein and DNA, which enable to crosslink using the benzophenone upon the photoirradiation (365 nm) under acidic conditions. In fact, bovine serum albumin (BSA) as a model protein was labeled with DNA upon the photoirradiation at pH 5.0, which is lower than its isoelectric point. Based on this methodology, we have successfully labeled several proteins with DNA such as β -galactosidase as a reporter enzyme, and IgG antibody.

Keywords : Photoirradiation; Protein-DNA conjugate

近年、タンパク質に対して DNA を標識し、新規機能性生体材料として活用しようとする研究が進められ、タンパク質—DNA の複合化に向けた様々な方法論が報告されている。我々の研究グループでは、これまで簡便かつ汎用性の高い新規 DNA 標識法の構築を目的に、タンパク質の等電点を踏まえた光アフィニティー標識法を開発してきた。水溶液の pH を制御することでタンパク質と DNA を静電相互作用に基づいて近接させ、その上で、光照射を行い DNA の末端に備えたベンゾフェノンとタンパク質の間で光架橋反応を起こさせることに成功してきた。

今回、本標識法の汎用性を確認するため、モデルタンパク質として牛血清アルブミン (BSA) の標識を試みた。BSA と光反応性 DNA を混合し、BSA の等電点より低い pH 環境(pH 5.0)で光照射(365 nm)を行ったところ、架橋反応が速やかに進行することがわかった。一方、pH 環境を等電点より高くする(pH 6.0)と、ほとんど架橋反応は進行しなかった。すなわち、光照射をトリガーとし、標的タンパク質の等電点に応答して、架橋反応が進行することが確認された。さらに、 β -ガラクトシダーゼ及び IgG 抗体についても同様の実験を行い、いずれのタンパク質に対しても pH 環境を調整することで光架橋が実現できることを明らかにした。

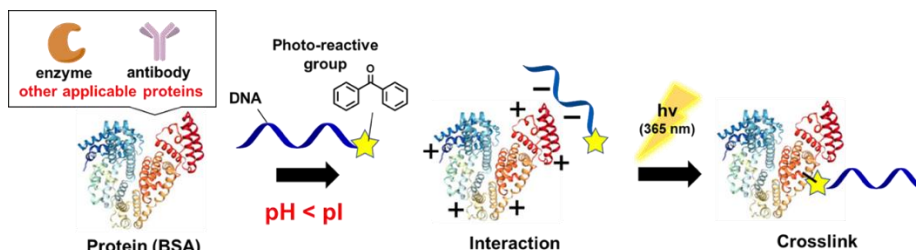


Figure1. Schematic illustration of isoelectric point-responsive protein labeling method