

## トリアゾールカルボアルデヒド誘導体による N 末端修飾を利用した緑色蛍光タンパク質のガラス基板への固定化と一分子蛍光観察

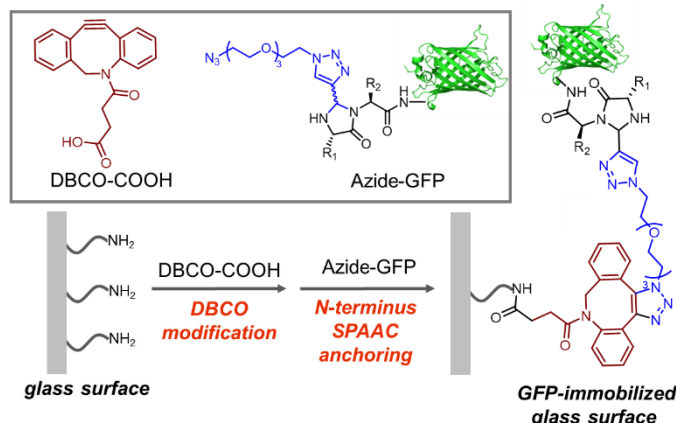
(北大院環境科学<sup>1</sup>・北大院地球環境科学<sup>2</sup>・北大電子研<sup>3</sup>)○張晏<sup>1</sup>・張冬<sup>1</sup>・Vasudevanpillai Biju<sup>1,3</sup>・小野田晃<sup>1,2</sup>

Visualization of Green Fluorescent Protein Immobilized on a Glass Substrate using N-Terminal Modification with a Triazole Carbaldehyde Derivative (<sup>1</sup>Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, <sup>2</sup>Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University, <sup>3</sup>Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University.) ○Yan Zhang<sup>1</sup>, Dong Zhang<sup>1</sup>, Vasudevanpillai Biju<sup>1,3</sup>, Akira Onoda<sup>1,2</sup>

N-terminus of proteins is a particularly attractive modification point because it is present in all proteins. In addition, the effect of modification on protein structure and function is minimal. We are thus concentrated on immobilization of proteins with N-terminal modification on the surface of glass substrate. The N-terminus of green fluorescent protein was specifically linked with an azide moiety using a 1*H*-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde reagent. After the glass surface was modified with dibenzocyclooctyne, the green fluorescent protein was then immobilized on the glass surface via strain-promoted azide-alkyne cycloaddition. The immobilized GFP was visualized by single molecule fluorescence imaging technique.

**Keywords :** *N-Terminal Modification; Immobilization; Green Fluorescent Protein; Single Molecule Fluorescence Imaging*

タンパク質の位置特異的な化学修飾は、バイオイメージング技術や抗体-薬物複合体の調製、タンパク質複合材料の構築において重要な手法である。特に N 末端は全てのタンパク質に存在し、修飾によるタンパク質構造や機能への影響が小さいため魅力的な修飾点である。当研究室では、1*H*-1,2,3-トリアゾール-4-カルボアルデヒド (TA4C) 誘導体を用いたタンパク質 N 末端特異的な修飾反応を報告している<sup>1</sup>。本研究では、N 末端修飾をした利用したタンパク質の材料表面への固定化に取り組んだ。具体的には、緑色蛍光タンパク質 (GFP) の N 末端に対して、TA4C 誘導体によりアジド基を導入した後に、この修飾タンパク質とジベンゾシクロオクチン (DBCO) を表面導入したガラス基板を歪み促進型アルキン-アジド環化付加 (SPAAC) 反応により GFP を固定化した。一分子蛍光観察により GFP 固定化表面を評価したので報告する。



**Reference** 1) A. Onoda, N. Inoue, E. Sumiyoshi, T. Hayashi, *ChemBioChem*, **2020**, 21, 1274.