

SYPRO Orange の蛍光を利用したタンパク質圧力変性の分析

(阪公大院工) ○岡崎 佑亮・米谷 紀嗣

Analysis of protein pressure denaturation using fluorescence of SYPRO Orange

(Graduate School of Engineering, Osaka Metropolitan University) ○Yusuke Okazaki, Noritsugu Kometani

Proteins are known to denature under pressure, but the denaturation process is not necessarily the same as other denaturation conditions such as heat denaturation. Therefore, analysis of protein denaturation under pressure is a useful tool for revealing the structure and physical properties of proteins. Currently, IR and Raman analysis is often used to detect denaturation under pressure, but this method has the disadvantage that it is not detectable for small amounts of sample. In this study, we investigated the application of differential scanning fluorimetry (DSF) to pressure denaturation, a method to indirectly evaluate thermal stability by detecting the fluorescence intensity of fluorescent reagents bound to hydrophobic portions exposed by thermal denaturation or amino acids inherent in proteins. It has the advantage that it can measure a small amount of sample because it is sensitive to small changes compared to other analytical methods. In this study, we used SYPRO Orange, a fluorescent reagent commonly used in DSF, to analyze the denaturation of proteins when pressure is changed.

The presentation will discuss the relationship between the measured changes in fluorescence intensity of SYPRO Orange with pressure and the pressure denaturation of proteins such as bovine serum-derived albumin (BSA).

Keywords : High Pressure; Differential Scanning Fluorimetry; Denaturation of Protein; Pressure Denaturation

タンパク質は圧力によって変性することが知られているが、その変性過程は他の変性条件と必ずしも一緒ではない。このことからタンパク質の圧力変性を分析することはタンパク質の構造・物性を明らかにする手段として有用である。現在タンパク質の圧力変性の分析には IR やラマンで結合状態の変化から変性を捉える手法がよく使われているが、これには微量の試料だと検出できないといった短所がある。そこで本研究では、示差走査蛍光測定法 (DSF) を圧力変性に適用することを検討した。DSF は、熱変性で露出した疎水部に結合した蛍光試薬や、タンパク質に内在するアミノ酸の蛍光強度の変化を検出することで間接的に熱安定性を評価する手法で、他の分析方法に比べて少しの変化にも敏感に反応することから、微量の試料で測定することができるといったメリットがある。今回、蛍光試薬として DSF でよく用いられる SYPRO Orange を用いて、圧力を変化させたときのタンパク質の変性を分析した。

発表では、加圧に伴う SYPRO Orange の蛍光強度の変化の測定結果と、牛血清由来アルブミン (BSA) などのタンパク質の圧力変性との関係性について議論する。