

アミノ基修飾 GFP 色素誘導体の合成と粘度依存적 Turn-On 蛍光特性

(東工大生命理工) ○飛田 健司・湯浅英哉・金森功史

Viscosity dependent turn-on fluorescence properties of amino-modified GFP dye derivatives
(School of life science and technology, Tokyo institute of technology) ○Kenji Hida, Hideya Yuasa, Takashi Kanamori

Fluorescence probes using a fluorescent molecule rotor (FMR) are often used to detect aggregated proteins. This method utilizes the property of FMR to show fluorescence when they are irradiated under the condition in which their internal twisting motion is restricted. On the other hand, for fluorescence detection of non-aggregated proteins, conjugates of ligand and FMR have been reported. However, there are some difficulties, such as structural limitation of the target protein to constrain FMR to the planar state and fluorescence response-ability of FMR.

To solve these issues, we have developed a method to explore fluorescent probes that show fluorescence upon binding to target proteins using a library of conjugates of GFP dye derivatives, one of the FMRs, and ligands and peptides. In this study, to improve GFP dye derivatives' fluorescence response and develop multiple fluorescent dyes, we synthesized a series of compounds with various amino groups modified on the benzyldiene-imidazoline backbone. We studied their fluorescence response in glycerol, a highly viscous solvent, to mimic an environment where internal twisting motion is restricted. In addition, we evaluated the fluorescence response upon binding to target protein using the GFP dye derivatives that showed high fluorescence response.

Keywords : Fluorescent Probe; GFP Dye; Molecule Rotor; TICT; Turn On

凝集体タンパク質を蛍光検出する方法として蛍光性分子ローター(FMR)を利用する手法が知られている。この方法は、FMR の励起時のねじれが抑制されると蛍光を示す性質を利用している。一方で、非凝集性のタンパク質の蛍光検出においては、リガンドと FMR のコンジュゲートが報告されているが、標的タンパク質結合時に FMR を平面に拘束させるための標的タンパク質の構造的な制限があることや、FMR 自体の蛍光応答性が十分でない場合があるなどの課題がある。

この課題に対しこれまでに我々は、FMR の一種である GFP 色素誘導体とリガンドおよびペプチドのコンジュゲートライブラリーを用いて標的タンパク質結合時に蛍光を示す蛍光プローブの探索法を開発してきた。本研究では、GFP 色素誘導体自体の蛍光応答性の向上及び多色化を目指し、ベンジリデンイミダゾリノン骨格に種々のアミノ基を修飾した誘導体を合成し、高粘度溶媒であるグリセロール中で分子内ねじれを抑制した環境下での蛍光応答性を調べた。さらに、高い蛍光応答性を示した誘導体を用いて標的タンパク質結合時の蛍光応答性を評価した。

高い蛍光応答性を示すGFP色素誘導体の探索

