

## X線を用いた機能性 DNA による標的タンパク質のラベル化

(青山学院大院理工) ○田村 千佳・西原 達哉・田邊 一仁

Protein labeling by functionalized oligodeoxynucleotides upon X-irradiation. (*Graduate School of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*) ○Chika Tamura, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Protein labeling provides various information and multifunctionality such as visualization. Therefore, several methodologies have been reported to label the target protein *in vivo*.

In this study, we focused on X-irradiation as external stimuli for protein labeling because of its high bio-permeability and excellent spatiotemporal controllability. We designed several functional oligodeoxynucleotides (ODNs) bearing the ligand unit for target protein and evaluated protein labeling upon the X-irradiation. X-irradiation resulted in a denaturation of the protein, which immobilized the ligand unit on the protein. Thus, we achieved the X-induced labeling of protein by ODNs. In this presentation, we will report on the evaluation of X-ray-induced protein labeling.

**Keywords :** X-ray; Protein labeling

生物個体内における標的タンパク質のラベル化は、標的タンパク質の動態解析や、薬剤応用などが可能となるため、非常に有効な方法論である。そのため、生物個体応用を指向した研究が様々展開されている。

本研究では、生体透過性が高く時空間制御に優れる X 線に着目し、X 線照射に伴う標的タンパク質のラベル化を試みた。具体的には、リガンドを備えた DNA オリゴマーと標的タンパク質を混合し、標的タンパク質に認識させた上で X 線照射を行った。X 線照射に伴い標的タンパク質の変性が惹起され、リガンドの周辺環境が変化した結果、DNA とタンパク質が強固に結合した。

実際には、標的タンパク質としてストレプトアビジンを選択した。一方、ジスルフィド結合、DNA 及びビオチンを備えた機能性 DNA 分子 (Biotin-SS-DNA) を設計した。ストレプトアビジンに Biotin-SS-DNA を加えた後、X 線を照射し、反応を Native PAGE にて評価した。その結果、DNA がタンパク質に保持され、DTT で処理しても DNA はタンパク質から遊離しなかった。

他方、X 線未照射の条件では、DTT を加えると、ジスルフィド結合が開裂し、タンパク質から DNA が遊離した。この結果は、タンパク質の変性によって DNA とタンパク質間で結合が形成されたことを示唆している。本発表では、X 線を用いた機能性 DNA によるタンパク質ラベル化の実現可能性評価について報告する。

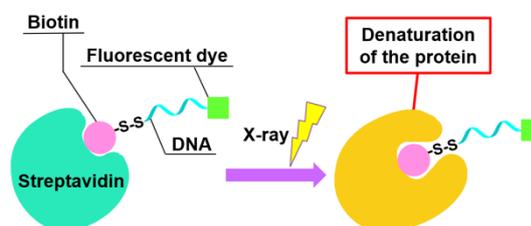


Figure 1. Outline of protein labeling by functionalized oligodeoxynucleotides upon X-irradiation.