

二つの異なる蛍光色素を修飾したタンパク質を構成要素とするハイドロゲルの調製

(阪大院工) ○印南 拓希・大洞 光司・林 高史

Construction of a Hydrogel Containing a Protein Unit Modified with Two Different Fluorophores (*Graduate School of Engineering, Osaka University*) ○Hiroki Innami, Koji Oohora, Takashi Hayashi

Stimuli-responsive gels are potent high-performance materials. As a component of the gels, proteins responding to various external stimuli will be a candidate. In this study, we design a mechanofluorescent hydrogel containing a protein modified with two different fluorophores, because the protein showing Förster resonance energy transfer (FRET) in the gel causes fluorescence changes at the stress concentration site due to the mechanical denaturation. Here, we report the preparation of β -lactoglobulin modified with rhodamine and fluorescein as an energy acceptor and donor, respectively (Fig. 1). First, dibenzocyclooctyne (DBCO)-modified rhodamine was synthesized. Next, maleimide-modified fluorescein was reacted with a reactive cysteine residue of β -lactoglobulin. Then, the amine group of N-terminus of the modified protein was converted to an azide group which was reacted with the DBCO-modified rhodamine. Fluorescent spectra derived from FRET were observed. Preparation of the hydrogel containing this protein is in progress.

Keywords : *Energy transfer; β -lactoglobulin; Protein modification; Mechanophore*

刺激応答性ゲルは、高機能マテリアルとして盛んに研究されている。この刺激応答性ゲルの構成要素として、多様な外部刺激に応答するタンパク質が注目されている。本研究では、タンパク質の構造変化と2つの蛍光色素間のエネルギー移動 (FRET) を利用した応力集中可視化ゲルの開発を目指した (Fig. 1)。この系では、ゲル中の蛍光色素修飾タンパク質が応力により変性して FRET が解消し、応力集中部位の蛍光変化が期待される。はじめに、dibenzocyclooctyne (DBCO) を結合したローダミンを合成した。次に、マレイミド基を結合したフルオレセインと β -ラクトグロブリンのシステイン残基を反応させ、さらに N 末端に導入したアジド基と DBCO 結合ローダミンを反応させて、2種類の蛍光色素を修飾した β -ラクトグロブリンを得た。この蛍光色素修飾タンパク質を質量分析等により同定し、FRET に起因する特徴的な蛍光スペクトルを確認した。現在、ハイドロゲルの調製条件を検討している。

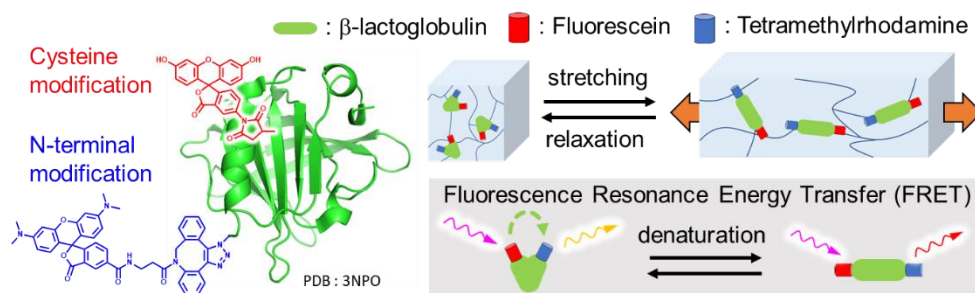


Fig 1. Hydrogel containing β -lactoglobulin modified with two fluorophores.