

pH によって蛍光色変化するタンパク質ペアの探索

(東京工科大学・応用生物) ○本間 柊蔵・宮崎 爽輝・秋元 卓央

Protein pairs whose fluorescent color changes depending on pH

(Sch. of Biosci. and Biotechol., Tokyo Univ. of Techol.) ○Shuzo Homma, Sohki Miyazaki, Takuo Akimoto

Abstract:Protein pairs whose fluorescent color can be changed by Förster Resonance Energy Transfer (FRET) have been developed to monitor intercellular pH, channels on cell membranes and to measure organophosphorus pesticides. By selecting pH-insensitive protein as a donor and pH-sensitive protein as an acceptor, FRET based fluorescence color can be changed depending on pH. A typical protein pair is CYP-YFP; however, the change of fluorescent color is not sufficient. In this study, we selected pHuji and pHoran4, red fluorescent proteins, as pH-sensitive fluorescent proteins and TagGFP and mAmetrine, green fluorescent proteins, as donor proteins to develop protein pairs that show sufficient change of fluorescence color depending on pH. The protein pairs of pHuji-TagGFP and pHuji-mAmetrine were constructed and suspended in different pH buffers. As a result, the protein pairs showed green color at lower pH due to low FRET ratio and red color at higher pH due to high FRET ratio with excitation light (430nm, 480 nm).

keyword: Förster Resonance Energy Transfer, pH, Fluorescent Protein

生体内 pH や細胞膜上チャネルのモニタリング、有機リン系農薬の測定をするために Förster Resonance Energy Transfer (FRET)により蛍光色変化するタンパク質ペアが開発されている。ドナータンパク質を pH 感受性が低く、アクセプタータンパク質を pH 感受性が高くすることで、pH によって FRET 効率の変化とともに蛍光色変化するタンパク質ペアを作製できる。代表的なタンパク質ペアとして CYP-YFP ペアが存在するが、蛍光色が大きく変化しないという問題点がある。本研究では、アクセプタータンパク質として pH 感受性蛍光タンパク質である赤色蛍光の pHuji と pHoran4、ドナータンパク質として緑色蛍光タンパク質の TagGFP と mAmetrine に着目し、pH による蛍光変化が明瞭になるタンパク質ペアを探索することを試みた。

pHuji-TagGFP、pHuji-mAmetrine のタンパク質ペアを異なる pH バッファー(pH5~9)に懸濁し、励起光(430nm, 480nm)を照射した。その結果、タンパク質ペアは pH5 では FRET ratio は低く、蛍光色は緑色を示した。一方で、pH9 では FRET ratio は高く、蛍光色は赤色を示した。