

新規アフィニティーラベル化法によるアビジンの特異的標識化

○中西 修一¹, 田中 弘之¹, 盛崎 大貴¹, 日置 和人², 野元 裕³, 岩崎 了教⁴, 国嶋 崇隆¹(¹金沢大院薬, ²神戸学院大薬, ³松山大薬, ⁴ブルカードルトニクス)

【目的】タンパク質-リガンド間の特異的相互作用を利用したアフィニティーラベル化法は、タンパク質の構造機能解析の手段として有力な方法の一つである。我々は当研究室で開発した水中での触媒的脱水縮合反応を利用し、タンパク質のリガンド結合部位近傍のカルボキシル基をアミド化反応によって標識する新規アフィニティーラベル化法の開発を行っている。今回、この方法によるアビジンの特異的標識化について詳細な検討を加えたので本発表において報告する。

【方法・結果】アビジンのリガンドであるビオチンの側鎖に触媒活性を有する三級アミンを導入したリガンド触媒 (1) を合成設計し、この存在下、アビジンとグロブリンの等モル混合物に対してクロロジメトキシトリアジン (CDMT) を用いて蛍光性アミンとの脱水縮合反応を行った。その結果、アビジン分子が選択的に標識されることが判った。また、阻害剤としてビオチンを共存させたところ、標識化がほぼ抑制された。標識されたアビジンについてタンデムマス解析を行った結果、ビオチンの結合部位近傍に位置する 108 番目のアスパラギン酸残基が特異的に標識されていることが判った。

