

固相担持型 SH 基特異的ビオチニル化試薬の合成と低分子化合物への効率的ビオチン標識

○足立 久美¹, 福元 謙太郎^{1,2}, 山崎 有理¹, 薬師寺 文華¹, 林 良雄¹(¹東京薬大薬, ²国産化学)

【目的】従来、種々のアッセイ系や生理活性物質の精製において、その感度・純度を高める目的でアビジンとビオチン間の強力な親和性を利用したシステムが開発されている。一般に、ビオチンを含む標識体の導入は、官能基特異的な標識試薬を用いて行われる。この場合、標識試薬を過剰に用いることが多く、大抵の場合未反応の試薬あるいは試薬の分解物が残存する。そのため、通常では標識反応の後に精製操作が必要になる。標識対象がタンパク質に代表される高分子であればゲル濾過による精製が可能であるが、ペプチド等の低分子であればより煩雑な精製が必要になり、改善が望まれていた。この問題を解決する手段として、近年ペプチド等の有機合成に多用されている固相合成法の手法を取り入れることにした。つまり、固相合成法の最大の利点である濾過による不要物の簡便除去を利用し、標識試薬を固相化することで簡便な標識システムを確立できると考えた。今回、ビオチニル化の標的となる官能基として、多くの生体内分子に含まれる SH 基に着目した。SH 基への官能基特異的修飾には、SH 基の保護基として知られ、ペプチド合成において選択的ジスルフィド結合形成反応にも用いられる Npys(3-nitro-2-pyridinesulfenyl) 基を選択した。これを固相化することで、固相担持型の新規 SH 基選択的ビオチニル化試薬の創出を目指した。

【結果・考察】6-Hydroxynicotinic Acid を出発物質として、SH 基選択的固相担持型ビオチニル化試薬 KSH-1 を合成した。また、SH 基を有する化合物としてカプトプリルを例とし、本試薬を用いたビオチニル化の効率について検討を行った。その結果、精製を必要とせず、効率的にビオチニル化が達成されることを確認した。