

28L-pm08S

Pd エノラートを用いたアフィニティー精製・標識法の開発

○早水 健二^{1,2}, ?? 孝介^{1,3}, 江上 寛通^{1,3}, 袖岡 幹子^{1,2,3} (1理研, 2東京医歯大院, 3ERATO-JST)

【目的】生物活性化合物の標的タンパク質との結合部位を同定することは、その作用機序解明において重要である。一般的には化合物にタグを導入し、アフィニティー精製によりその結合分子を得る。タグには精製用にビオチンを使うことが多いが、その溶出効率の低さが問題である。また、ビオチンに加えて検出用のタグを導入する場合、その分子サイズが大きくなってしまいう事も問題である。

【方法・結果】このような背景で、我々は Pd エノラートに着目した。Pd エノラートは水中でも安定で、さらに高い反応性を保持しているというユニークな特性を持つ。そこでジケトン構造をタグとして用い、両親媒性のビーズに担持した Pd 錯体を用いることで Pd エノラートとして精製し、さらに溶出時にその反応性を利用して検出用のタグを導入可能な方法を開発する事を計画した。

4 位にジケトン構造を導入したフェニルアラニン誘導体をモデル化合物として用い、種々検討を行った。結果として、50 μM の濃度でも水系溶媒中・固相上で Pd エノラートとしてモデル化合物を濃縮する事に成功した。さらに、形成された Pd エノラートの反応性を利用して、Michael 反応を進行させることでビーズからの溶出と同時に蛍光団を導入する事に達成した。

