

## GS02-2 アシルスルホンアミド型光反応基によるラベルタンパク質解析の効率化

○林 龍二<sup>1</sup>, 森本 正大<sup>1</sup>, 千葉 順哉<sup>1</sup>, 畑中 保丸<sup>1</sup>, 友廣 岳則<sup>1</sup>

<sup>1</sup>富山大院薬

〔目的・背景〕生体機能分子の機能解析には結合タンパク質の同定は必須である。我々は桂皮酸型光反応基を開発し、光アフィニティーラベル法 (PAL) におけるラベルペプチド解析効率を大きく向上することに成功した。今回、スルホクリック反応を利用した簡便なプローブ合成法を開発し、さらに形成したアシルスルホンアミドの機能を利用することで、操作性と解析効率の更なる向上を目指した。

〔方法〕プロテインキナーゼ PKC $\alpha$  を標的としてその阻害ペプチドを光プローブ化した。ATP 測定キットを用いて酵素反応阻害を確認した。光照射産物をトリプシンで消化し、LC-MS/MS で解析した。

〔結果・考察〕別途合成したスルホニルアジド基を側鎖に持つアミノ酸を固相合成法で阻害ペプチドに組み込み、ビオチン修飾した後、スルホクリック反応を利用して光反応基を無保護で導入し、2種類の PAL プローブを作製した。スルホクリック反応で形成するアシルスルホンアミド基は極めて安定だが、一旦 *N*-アルキル化されると容易に加水分解する。光照射後、この切断特性を利用して、アビジン担体に捕捉した微量のラベル PKC $\alpha$  を選択的に、効率よく溶出することができた。この処理は MS 解析前処理である還元アルキル化条件を利用できる利点がある。LC-MS/MS 解析から ATP 結合ドメイン近傍への結合とその方向が示唆された。生成した桂皮酸タグは光照射によりクマリンに変換するため、質量差タグとして利用することで微量 MS シグナルの検証に有効であることがわかった。