

リガンド反応性分子標的を検出・同定する開裂型 photoaffinity beads

○高山 浩¹⁾、叶 直樹^{1,3)}、本田 香織³⁾、守谷 崇¹⁾、照屋 貴之³⁾、清水 史郎^{2,3)}、
長田 裕之^{2,3)}、岩瀬 好治¹⁾

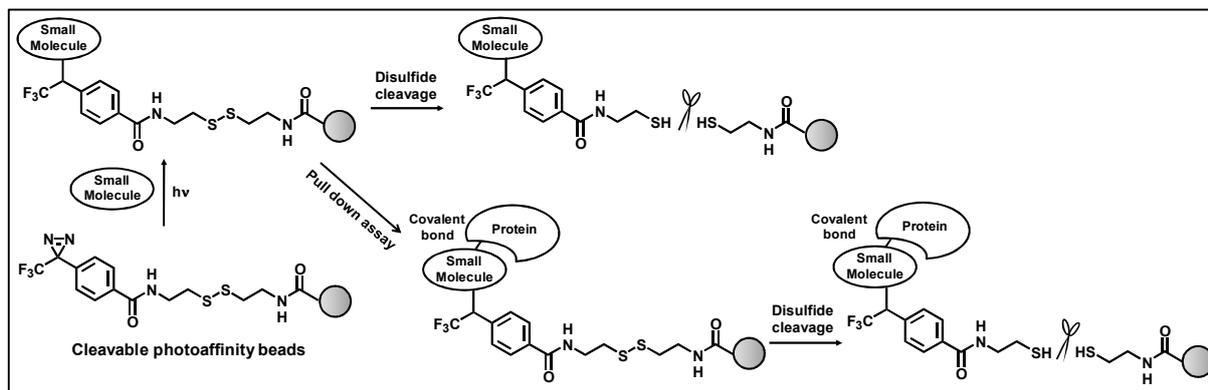
1) 東北大学大学院薬学研究科・合成制御化学分野、2) 理研・ケミカルバイオロジー領域
3) 理研・長田抗生物質研究室

小分子をアフィニティービーズなどの固相担体上に固定化し、小分子-蛋白質間相互作用に基づき細胞内結合蛋白質を釣り上げる手法は、生理活性小分子の分子標的を同定する上で有用な手法の一つである。我々はこれまで、光親和型固定化法 (ジアジリン基の光分解により発生するカルベンを利用した小分子の固定化法) によりアフィニティービーズ上に小分子を固定化する手法を開発し、本手法を用いて作製した小分子固定化アフィニティービーズが、細胞抽出液より細胞内結合蛋白質を釣り上げる (Pull down assay) のに有用であることを報告してきた^{1,2)}。しかし、これまでの検討結果より本プラットフォームには、以下の2つの大きな問題点があることが明らかとなっている。

- (1) カルベン種を利用した官能基非依存的な固定化を用いているため³⁾、ビーズに導入された小分子の固定化密度と、固定の配向性に関する定量的解析が困難である。
- (2) ビーズと細胞抽出液を混合した際に、ビーズ上に担持された小分子に共有結合する蛋白質は、ビーズ上からの解離が困難なために検出感が低い。

そこで、小分子とビーズを繋ぐリンカー中に特異的切断サイトを導入すれば、この部位での切断によりビーズ上に固定化された小分子と、小分子に共有結合した蛋白質も検出が可能であると考えた。

今回、切断サイトとしてジスルフィド結合を導入した開裂型 photoaffinity beads を作製し、ジスルフィドが上記のコンセプトに利用可能か否か評価を行った。本発表では、これらの詳細について報告する。



1) N. Kanoh et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3559

2) M. Kawatani et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2008**, *105*, 11691

3) N. Kanoh et al. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5692