

イオン対形成を駆動力とした歪みジイン (WS-CODY) を用いたタンパク質選択的ラベル化法の開発

(東農工大院工) ○吉永 萌華・北川 浩平・寺 正行

Development of ion-pair-driven protein selective labeling by the strained-diyne (WS-CODY)
(Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology)

○Moeka Yoshinaga, Kohei Kitagawa, Masayuki Tera

Bioorthogonal reactions have been widely utilized in chemical modification of biomolecules. Dibenzocyclooctadiyne (CODY) has two strained alkynes and crosslinks two azides spontaneously by strain-promoted azide-alkyne cycloaddition¹⁾. We have previously reported the water-soluble dibenzocyclooctadiyne (WS-CODY)²⁾. In this study, we first measured the ligation reaction kinetics between cationic or anionic WS-CODY and small azide molecules. As a result, forming ion pairs between the side chains of WS-CODY and the azides enhanced the reaction kinetics. Then, α 1 acid-glycoprotein and albumin modified with azides on lysine residues were reacted with the cationic WS-CODY, resulting in α 1 acid-glycoprotein selective labeling. Thus, the protein fluorescent labeling depending on their isoelectric points (pI) was developed.

Keywords : Chemical biology; Bioorthogonal Reaction; Click reaction; Protein labeling; Ion pair

【目的】生体分子を化学修飾する有用な手法として生体直交反応が広く用いられる。二価の歪みアルキンである dibenzocyclooctadiyne (CODY) は、歪み促進型アジド-アルキン付加環化反応により二つのアジド分子と自発的かつ生体直交的に連結する¹⁾。当研究室では、CODY に様々な極性官能基を有する側鎖を導入し、水溶性を向上させた water-soluble dibenzocyclooctadiyne (WS-CODY) 類を開発している²⁾。本研究では、WS-CODY 側鎖の電荷とタンパク質との静電相互作用を利用し、タンパク質の等電点 (pI) に応じた選択的な蛍光ラベル化を検討した。

【結果】カチオン性 (1) およびアニオン性の WS-CODY (2) を用いて種々のアジド低分子との反応速度定数を測定したところ、WS-CODY 側鎖とアジド分子がイオン対を形成した場合に連結反応が加速された (Figure 1a)。そこで、リジン残基の一部をアジド修飾した α 1-酸性糖タンパク質およびアルブミンに対して、1 を作用させた結果、 α 1-酸性糖タンパク質を選択的にラベル化することに成功した (Figure 1b)。

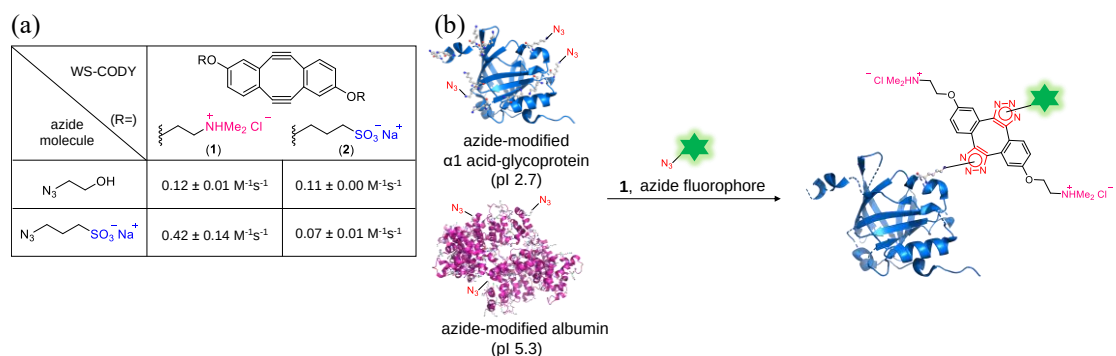


Figure 1. (a) The apparent second-order reaction rate constants between WS-CODYs and the small azide molecules. (b) pI selective protein labeling using WS-CODY and the azide fluorophore.

【参考文献】 1) I. Kii, T. Hosoya *et al.*, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 4051; 2) M. Tera, Z. Harati-Taji, N. Luedtke, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 15405.