

## ベンゾオキサボロール誘導体を用いた化学修飾による糖認識サイトを持つキモトリプシンの構築

(金沢工大<sup>1</sup>・石川高専<sup>2</sup>・摂南大<sup>3</sup>) ○藤本 雄樹<sup>1</sup>・布川 雄貴<sup>1</sup>・鈴木 茂樹<sup>1</sup>・畔田 博文<sup>2</sup>・尾山 廣<sup>3</sup>・小野 慎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Applied Chemistry, Kanazawa Institute of Technology, <sup>2</sup>Ishikawa National College of Technology, <sup>3</sup>Faculty of Science and Engineering, Setsunan University) ○Yuki Fujimoto,<sup>1</sup> Shigeki Suzuki,<sup>1</sup> Yuki Fukawa,<sup>1</sup> Hirofumi Kuroda,<sup>2</sup> Hiroshi Oyama,<sup>3</sup> Shin Ono,<sup>1</sup>

Benzoxaborole (Bob) has the property of selectively recognizing and binding cis diols such as galactose and mannose. At this conference last year, we reported a method for selectively introducing Bob into Lys175 near the active site of chymotrypsin using a peptide derivative of diphenylphosphonate. In this work, using a Bob derivative, chemical modification was performed to randomly introduce Bob into the Lys side chain existing on the surface of chymotrypsin. We will report the effect of the sugar recognition site on the obtained Bob-modified chymotrypsin by analyzing the Bob introduction site and examining the enzymatic chemical properties

*Keywords : Benzoxaborole; Chymotrypsin; Phosphonate derivatives; Sugar recognizable function*

当研究室では、ジフェニルホスホネート阻害剤を用いて、キモトリプシン (Csin) の活性部位周辺に存在する Lys175 へ部位選択的に化学修飾する方法を確立した<sup>1,2)</sup>。この方法を用いて Lys175 へ機能性分子を導入して、キモトリプシンに新たな機能を付与することを試みている。

ベンゾキサボロール (benzoxaborole, Bob) は、ガラクトースやマンノースなどのシスジオールを選択的に認識して結合する特性を持っている。昨年、ジフェニルホスホネートのペプチド誘導体 [Bob-NH-Glt-Glu(NHS)-Ala-Ala-(RS)-Phe<sup>p</sup>(OPh)<sub>2</sub>]を使用して、キモトリプシンの活性部位近くに存在する Lys175 に Bob が選択的に導入された Bob-Csin 複合体 (BobMCsin) を構築できることを報告した。そこで今回、BobMCsin に対する比較対象として、キモトリプシンの Lys 残基にランダムに Bob 誘導体が結合したランダム Bob (Bob<sup>h</sup>MCsin) を構築して、その酵素化学的性質や糖鎖との結合の様子などを比較検討することにした。ランダムな Bob の修飾には、Bob のアミノ誘導体をグルタリル化した後、N-ヒドロキシサクシニイミド活性エステルに導いた Bob 修飾分子 (Bob-NH-Glt-NHS) を用いた。Bob<sup>h</sup>MCsin を調製するため、種々の反応条件や精製方法を検討し、さらに得られた Bob<sup>h</sup>MCsin の酵素化学的性質を調べ、糖認識部位導入の影響を評価する。

1) S. Ono, J. Murai, T. Nakai, H. Kuroda, T. Yoshimura, H. Oyama, M. Umezaki, Chem.Lett, 42, 860-862 (2013)

2) S. Ono, T. Nakai, H. Kuroda, R. Miyataka, Y. Horino, H. Abe, M. Umezaki, H. Oyama, Biopolymer(PeptSci), 106, 521-530 (2016)