

トリアゾールカルボアルデヒド誘導体による N 末端修飾反応と SPAAC 反応を利用したアルブミンの固定化

○五十嵐優¹・小野田晃^{1,2} (¹北大院環境科学院、²北大院地球環境科学院)

Immobilization of albumin using N-terminal modification reaction with triazole carbaldehyde derivatives and SPAAC reaction (Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University¹, Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University²) IKARASHI, Yu¹; ONODA, Akira^{1,2}

タンパク質の材料表面への固定化はタンパク質特性評価などの応用に際して重要な手法であり、一般的には静電相互作用を用いた方法や Lys や Cys への化学修飾を用いた方法が利用されている。これらの固定化法には配向性の制御が難しいという点に課題が指摘されている。N 末端はいずれのタンパク質にも 1 点存在し、多くは表面に露出していることから、汎用性が高い、構造や機能への影響が小さい、配向制御がしやすいなど魅力的な修飾点となっている。当研究室で開発した 1H-1,2,3-トリアゾール-4-カルボアルデヒド (TA4C) 誘導体は N 末端を選択的に修飾可能であり、Dimroth 転移反応を経て 1 段階で合成可能な試薬である¹。

本研究では I.TA4C 誘導体によるタンパク質 N 末端のアジド化反応、II.アジド基とジベンゾシクロオクチン (DBCO) 誘導体による歪み促進型アジド-アルキン環化付加 (SPAAC) 反応の 2 つを組み合わせることで²、タンパク質の基板固定化を行った (Fig.1)。TA4C の導入は質量分析によって確認した。次に、比較的サイズが大きく観察が容易なヒト血清アルブミン (HSA) を用いてマイカ基板への固定化を行い、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) によって基板の評価を行った。DBCO 導入基板に対し、アジド化 HSA (100 nM, 2 μL) をマウントし、室温下で 5 分間静置した。反応後、Tris・HCl バッファー (pH 7.5, 100 mM, 60 μL) で洗浄し HS-AFM 測定を行ったところ、DBCO 導入前 (Mica-APS) は HSA がほとんど確認されなかったのに対し、DBCO 導入後 (Mica-DBCO/OA) は多数の HSA が確認された (Fig.2)。

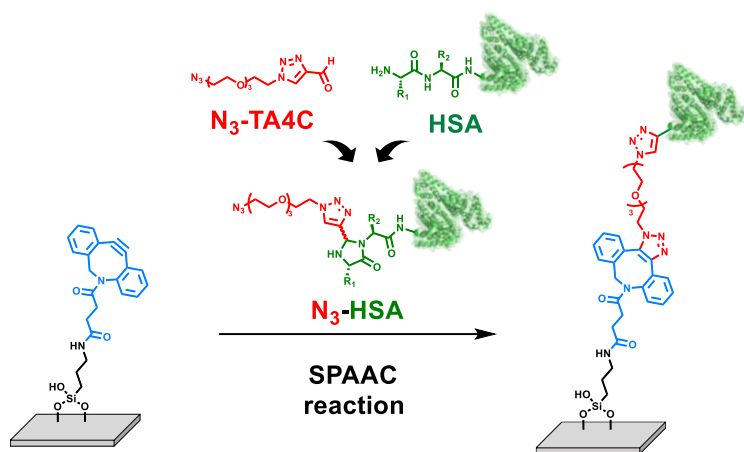


Fig.1 Protein immobilization strategy using N-terminal modification and SPAAC reaction

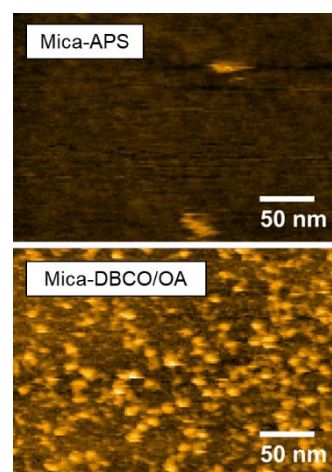


Fig.2 HS-AFM measurement

- 1) A. Onoda, N. Inoue, E. Sumiyoshi, T. Hayashi, *Chem. Bio. Chem.*, **21**, 1274 (2020)
- 2) A. Kuzmin, A. Poloukhine, M. A. Wolfert, V. V. Popik, *Bioconjugate Chem.*, **21**, 2076 (2010)