

Title	タンパク質の部位選択的化学修飾剤の合成とその評価
Author(s)	藤田, 崇
Citation	
Issue Date	1999-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2606
Rights	
Description	横山憲二助教授, 材料科学研究科, 修士

タンパク質の部位選択的化学修飾剤の合成とその評価

藤田 崇 (横山研究室)

【目的】

タンパク質を部位特異的に化学修飾することは、同種のアミノ酸残基が多数あるため極めて難しい。そこで本研究では、ある特定の部位のアミノ酸残基周辺での立体構造やアミノ酸配列がその部位に特異的であることに注目し、修飾目的部位に近接する異なるアミノ酸残基を利用した新規部位選択的修飾法の構築とそれに適する修飾剤の合成を試みた。

修飾法は、下記に示したように多段階で行う。この方法では最後にジスルフィド結合を切断するため、Lys の近接していない Thr (または Ser) から修飾剤は脱離し、Thr (Ser) と Lys が近接する部位のみが修飾されると考えられる。上記の修飾法に適する修飾剤としてチオール基とカルボキシル基の 2 種類の結合部位を有する蛍光物質を合成した。

【実験と結果】

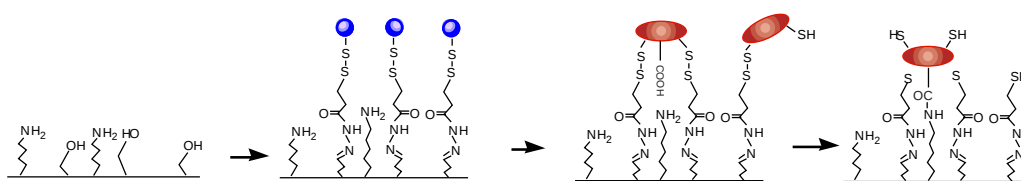
○ 修飾剤の合成

Echt BrownTM (東京化成) に、ヨード酢酸を用いてカルボキシル基を付加させた。次にクロロスルホン酸 でスルホン酸基をスルホクロリド化、2-アミノエタントールとのスルホンアミド結合反応によってチオール基を導入した。精製は逆相カラムクロマトグラフィー (溶媒 メタノール：水 = 10 : 1) で行い、収率 32% で右記の蛍光修飾剤が得られた。また励起波長 310nm で、蛍光波長 410nm の強い蛍光がみられた。

○ 合成修飾剤の評価 (タンパク質への修飾)

合成した修飾剤の部位選択能の評価は、シトクロム c を修飾することにより行った。各修飾段階における修飾率は蛍光強度によって測定し、また修飾部位は、トリプシン処理で断片化したポリペプチド片を MALDI-TOF MS で解析するペプチドマッピング法により決定した。

修飾部位はタンパク質だけでなく修飾剤の立体構造に、左右されることが示され、今回合成した修飾剤と修飾部位の構造上の相関関係を検討した。



タンパク質の部位選択的修飾法

keywords

タンパク質 部位選択的化学修飾 質量分析 ペプチドマッピング 蛍光