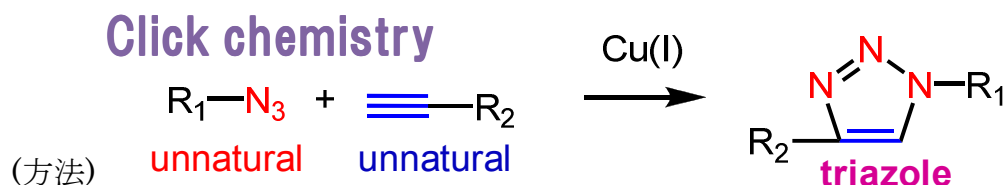


微量物質定量を指向した効率的クリック反応条件の検討

生命分子化学講座 生態化学生物学分野
小笠原唯

(背景・目的)

Click 反応は生体内に存在しない官能基であるアジドとアルキンが一価の銅触媒存在下で共有結合を形成することから、生体内に導入された exogenous な化合物を特異的に捕捉・標識するツールとして有用である。しかし、この反応の収率の網羅的な議論をした研究はほとんどない。そこで本研究は、微量 click 反応における効率的な反応条件を検討した。



アジド、アルキンを持つ基質をそれぞれいくつか用意し、click 反応での基質等量、反応温度、銅触媒の種類等の条件による反応性の違い、反応系中の一価銅の挙動を検討した。またその結果を参考にし生体内微量物質への反応を視野に入れ、低濃度における click 反応収率についても検討した。

(結果及び考察)

検討の結果 click 反応は、1) 基質等量、2) 加熱、3) 銅触媒の種類、4) 銅触媒の状況、によって反応性が異なる場合があることが明らかとなった。また、反応系内に一級アミンが存在する場合、触媒として一価銅のみを用いた反応系では反応が進行しなかった。しかしこれに対し、二価銅を還元して一価銅に再生できる sodium ascorbate を加えることにより反応が進行した。このことから、一級アミンは反応系中で一価銅を二価銅に酸化している可能性が示唆された。一価銅定量試薬により一級アミンが存在する反応系では一価銅濃度が減少し、sodium ascorbate を加えると一価銅濃度を上昇させ、反応を進行させることができることがわかった。これに対し、一級アミンを保護した化合物では、一価銅の濃度の変化はみられず、温和な条件で反応が進行した。また、phenyl-及び benzyl- azide 間の種類による反応性の差を検討したところ、明確な差は見られなかったことから phenylazide 系光アフィニティラベルにおける click 反応利用には、細心の注意が必要であることが示唆された。基質の濃度に対する影響の検討においては、click 反応は低濃度になるほど反応収率が低下することが明らかとなった。