

核酸合成用試薬

チオール修飾 アミダイトと固相合成用支持担体

分子生物学ではナノサイズレベルの応用が盛んに行われています。金（ゴールド）は、貴金属で化学的安定性が高く、可視光を吸収する性質を持ち毒性もないことから、基盤に用いるためには最も適した元素です。チオール (R-SH) 修飾したオリゴヌクレオチドは、リガンドを共有結合できるので、核酸化学の分野では幅広い潜在的な用途を持つツールとして使われています。結合するリガンドとしては、a) α,β -不飽和ケトン; b) マレイミド c) マイケル付加 d) ジスルフィド結合のためのタンパク質中のシステインなどが挙げられます。これに加えて、チオールは金の表面と可逆的な共有結合をして、特異的な相互作用を持ちます。

Nuzzo と Allara は、反応性のチオール基が金の表面に吸着し、秩序だった単分子層を形成することを発見し²、その後、チオール基を持つオリゴヌクレオチドは、金の表面に自己組織化単分子膜 (SAM 膜) を生成するために使われるようになりました。さまざまな分子 (シラン、カルボン酸、ピリジン、亜硝酸、チオール) は、金、銀、白金、銅、水銀、ガラスなどの表面に固定化することはできますが、金へのチオールの化学吸着は、プローブを表面に固定化する一般的で簡便な方法として使われています。

DNA の機能化金ナノ粒子は、核酸ベースのアセンブリに広く使われるようになり、DNA の特異的な配列を認識するためのユニークなプローブとして用いられています³。それは、ビルディングブロックとしての利用や⁴、診断やナノテクノロジーをベースにした治療法などです⁵。単層の形成は、温度、溶媒、バッファー濃度、吸着する核酸の鎖長、基盤の洗浄度、表面との反応速度、単層の構成成分の吸着の可逆性などの要因に影響されます。また、これらのアプリケーションは、オリゴヌクレオチドとナノ粒子の、金と硫黄の結合の可逆的な結合にも依存しています。

ChemGenes では、オリゴヌクレオチドの標識または金-オリゴヌクレオチドのコンジュゲートを形成するための単一および複数の反応性のチオール基を生成する非環状ジスルフィド修飾体 (図 1) を販売しています。

非環状ジスルフィド チオール修飾

- 最も一般的な非環状のジスルフィド・チオール誘導体 1~4 (図 1) は、C6 または C3 スペーサーの化合物です。
- C3 ジスルフィドのアミダイトの効率的な合成法は報告されていませんが⁶、ChemGenes では、C3 ジスルフィドのアミダイト合成と精製をグラムスケールで行い、³¹P NMR で 94% 以上の純度で合成できる方法を開発しました⁷。

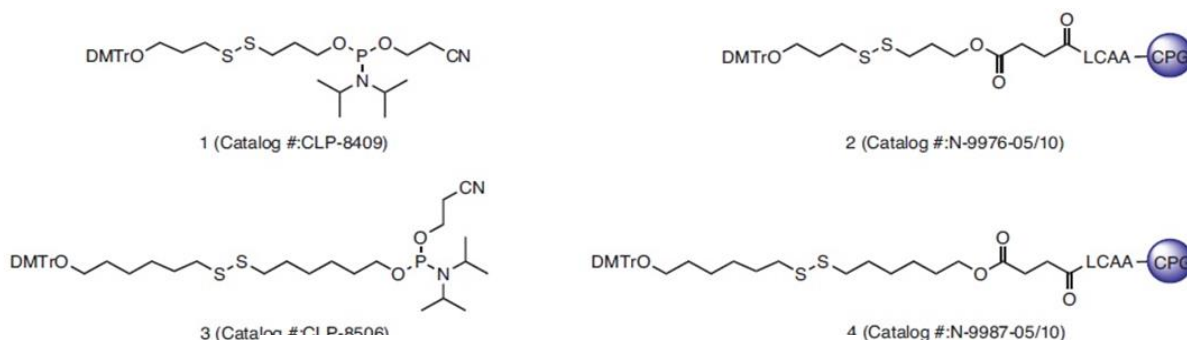


図 1 : 非環状ジスルフィド誘導体の構造式

References:

1. Srivastava, S. C.; Kumar, T. S.; Srivastava, S. K.; Shukla, P.; Srivastava, A. "Dithiolane Based Thiol Modifier For Labeling and Stronger Immobilization of Bio-Molecules On Solid Surfaces" Patent Application No. US 2014/0142253 A1.
2. Nuzzo, R. G., Allara, D. L. *Jour. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4481.
3. Storhoff, J. J., Elghanian, R., Mucic, R. C., Mirkin, C. A., and Letsinger, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998** *120*, 1959.
4. Mucic, R. C., Storhoff, J. J., Mirkin, C. A., Letsinger, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998** *120*, 12674.
5. Merkins, C. A., Letsinger, R. L., Mucic, R. C., Storhoff, J. J. *Nature*, **1996**, 382, 607; Hurst, S. J., Hill, H. D., Mirkin, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12192.
6. Taniguchi, N. A et. al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 8614.
7. Srivasatava, S. C.; Kumar, T. S.; Shukla, P.; Srivastava, S. K. A. "Synthesis of high purity DMT-C3-disulfide phosphoramidite" Patent No. WO2013126034 A1.
8. Dubois L. H., Zegarski B. R., Nuzzo R. G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987** *84* 4739; Liepold, P., Kratzmüller, T., Persike, N., Bandilla, M., Hinz, M., Wieder, 15 H., Hillebrandt, H., Ferrer, E., Hartwich, G. *Anal Bioanal Chem*, **2008**, *391*, 1759-1772.
9. Li, Z., Jin, R., Mirkin, C. A., Letsinger, R. L. *Nucleic Acids Res.* **2002**, *30*, 1558.
10. Letsinger, R. L., Elghanian, R., Viswanadham, G., Mirkin, C. A. *Bioconj. Chem.* **2000**, *11*, 289.