

27PW-am122

Maillard反応中間体dihydropyrazine類によるタンパク質の酸化的修飾

○武知 進士¹, 中原 和秀¹, 山口 忠敏¹(¹崇城大薬)

【目的】 Maillard 反応中間体 dihydropyrazine (DHP)類は生体内や食品中で普遍的に生成する。DHP 類が高い化学反応性を有することから、我々は、その生理的影響および糖尿病・癌等の成人病関連疾患との関連を検討している。これまでに DHP 誘導体を用い、ラジカル発生成、*in vitro* DNA 鎖切断活性、apoptosis 誘導、MAP kinase 活性化、大腸菌増殖抑制と突然変異誘発、等について報告してきた。今回、DHP 類によるタンパク質の酸化的修飾について報告する。

【方法】 DHP 類によるタンパク質への影響を調べるため、 β -galactosidase (β -gal)および GAPDH をモデルとして、DNA 鎖切断能が最も高い 1,2,3,5,6,7- and 2,3,5,6,7,8-hexahydroguinoxline (exo-DHP)と試験管内で反応させた。また、DHP 類による細胞内酵素活性阻害を調べるため、数種の抗酸化関連大腸菌変異株を exo-DHP に曝露後、 β -gal アッセイを解析した。exo-DHP によるタンパク質の酸化的修飾について、DNPH を用い carbonyl 化を解析した。

【結果および考察】 β -gal および GAPDH 活性は exo-DHP 濃度依存的に阻害された。更に、非変性 PAGE 解析で exo-DHP 濃度依存的に β -gal の移動度が低分子側にシフトし、exo-DHP によりタンパク質の構造変化が生じ、酵素活性が阻害されたことが示唆された。次に exo-DHP による β -gal 活性阻害を指標に、exo-DHP とアミノ酸の反応性を解析した。その結果、Met, Cys, GSH が β -gal 活性阻害を抑制し、exo-DHP の標的が SH 基であることが示唆された。さらに、BSA および β -gal の carbonyl 化は exo-DHP 濃度依存的に増加した。これら結果より、exo-DHP によるタンパク質の酸化的修飾、即ち SH 基の酸化ならびに carbonyl 化が生じることが示された。