

28amB-001

TAB2 由来 NZF ペプチドの亜鉛結合性

○秋澤 俊史¹, 小嶋 絢², 井上 純一郎², 森岡 丈¹, 小西 元美¹, 長野 真¹(¹摂南大薬, ²東大医科研)

【目的】 TAK1 binding protein 2 (TAB2) 中の NZF (Npl4 zinc finger) 領域は亜鉛と結合して特定の立体構造を形成する。この NZF 領域は Lys63 型ポリユビキチン鎖と特異的に結合することが報告されている。本研究では NZF 領域由来のペプチドを合成し、カラムスイッチ HPLC 法を用いて亜鉛イオンとの結合性を検討した。

【方法】 ペプチドは自動ペプチド合成機を用いて F-moc 法により合成した。逆相 HPLC により精製した後、目的の分子量を質量分析により確認した。個々のペプチドの亜鉛結合性は、第一カラムに金属キレートカラムを、第二カラムに C18 カラムを用いたカラムスイッチ HPLC 法により検討した。

【結果・考察】 NZF 領域の野生型 NZF ペプチド (NZF-F)、NZF-F の C-端側 (NZF-C)、N-端側 (NZF-N)、Lys63 型ポリユビキチン鎖との結合領域由来の野生型ペプチド 4 種と、それらの変異型 15 種の計 19 種類について検討を行った。野生型のペプチドは全て弱いながら亜鉛結合性を示した。亜鉛結合性の高いペプチドは NZF-F 中の 4 個のシステインをアラニンに置換した NZF-FM3 と C-端側の 2 個のシステインをアラニンに置換した NZF-FM2 であった。その他の変異型ペプチドはほぼ結合しなかった。これらの結果より、NZF 領域が zinc finger 構造を形成するためには 4 個のシステインが必要と考えられる。また、NZF-FM3 と NZF-FM2 で亜鉛との結合性が野生形の NZF-F より高いことより、zinc finger 構造は形成できないが、分子中の 2 個のヒスチジンに亜鉛が結合し易い立体構造となっていると考えられる。現在、CD スペクトルの解析を行っている。