

28K-am05S

NOの光解離を利用したタンパク質および細胞の機能制御～光による細胞凝集制御システムの開発～

○佐藤 一平¹, 平松 広嗣¹, 中林 孝和¹ (¹東北大院薬)

[目的] NOの光解離を用いたタンパク質および細胞の光制御を行っている。本研究では、糖結合タンパク質であるヒトガレクチン1 (hGal-1)の細胞凝集能力の光制御を目指す。hGal-1は分子内にチオール基(SH基)を有するときに細胞凝集能を持ち、分子内ジスルフィド(S-S)結合を形成すると細胞凝集能力を失う。そこで、SH基のプロトンがNOに置換されたhGal-1(SNO-hGal-1)を合成し、SNO-hGal-1内のSNO基を用いた細胞凝集能の光制御を目指す。SNO基の光解離では、光照射によってNOラジカルへの解離が生じる。生成したSラジカルは速やかに分子内S-S結合を形成し、細胞凝集能力が光変化すると考えられる。

[結果] 野生型hGal-1は、大腸菌を用いて発現させ複数のカラムを用いて精製した。野生型hGal-1とSNO基を持つシステインを混合し、SNO-hGal-1を合成した。生成したSNO hGal-1について、紫外可視吸収を用いたタンパク質内のSNO基の生成と、赤血球細胞の凝集試験によってSNO hGal-1が細胞凝集能力を持つことを確認した。次にSNO hGal-1に光を照射した。NO基が吸収する350 nmの光の照射によって、NO由来の吸光度の減少を確認した。また、円偏光二色性により、光照射によってS-S結合を有するhGal-1に構造変化することがわかった。光照射前後のSNO hGal-1による細胞凝集体の量を比較し、光照射によって赤血球凝集体の量が減少することがわかった。NOの解離によって、hGal-1の細胞凝集能を制御することに成功した。

[結論] 糖結合タンパク質であるhGal-1にSNO基を形成させ、光照射による分子内S-S結合の生成と細胞凝集の光制御に成功した。今後はSNO-hGal-1の生成率と、細胞凝集の光による減少量の定量化を行うことを検討している。