

28V-am03S

亜鉛酵素モデルに対するリガンドの親和性を解析する新規分光分析法の開発
○草本 寛¹, 芝 晃生¹, 常弘 昌弥¹, 藤岡 晴人², 木下 恵美子¹, 木下 英司¹, 小池 透¹ (¹広島大院医歯薬保, ²福山大薬)

【目的】亜鉛イオンは生体の構造モチーフに含まれ、チオール含有分子と相互作用することで生体維持に関与している。チオール分子は生理 pH で容易に酸化されるため、生体内チオール分子をインタクトな形で分離分析することは難しい課題のひとつである。現在、亜鉛イオンと還元型チオール分子 ($R-SH$) の相互作用を分析できる技術は数が乏しい。本研究では、亜鉛酵素をモデルとした低分子化合物を用いて、生理 pH でチオール分子を分析できる新規分光分析法を開発した。

【方法】チオール分子を選択的に捕捉する亜鉛サイクレンを蛍光色素 tetramethylrhodamine (TAMRA) で標識し、TAMRA-サイクレン (TAMRA-ZnL) を合成した。生理条件下で、亜鉛と相互作用すると考えられるリガンドの TAMRA-ZnL に対する親和性を評価した。また、亜鉛サイクレンのチオール分子に対する酸化防止剤としての可能性を検討した。

【結果と考察】TAMRA-ZnL は TAMRA 標識システイン (TAMRA-Cys) と 1:1 錯体を形成し、TAMRA 部位同士の近接により、可視吸収および蛍光スペクトルの顕著な変化を示した。リガンドを添加した結果、チオール含有化合物のみが TAMRA-Cys と競合し、TAMRA 部位の吸光度を増加させた。カルボン酸、アミン、アミド、スルホンアミドでは亜鉛との相互作用は観察されなかった。本手法は、亜鉛酵素モデル TAMRA-ZnL に対する外部リガンドの結合定数の評価に利用できる。

亜鉛サイクレンは、pH 7.4, 25°C で水溶液中の還元型 L-グルタチオンやシステイン含有ペプチドを顕著に安定化し、チオールの空気酸化を抑制することを見出した。すなわち、亜鉛サイクレンは生体試料中のインタクトなチオール含有分子の分析において、空気酸化に対するチオール安定剤としても有用である。