

^{77}Se 及び ^{125}Te NMR による生体分子構造解析

角山 (埜) 圭介

京都大学大学院農学研究科 技術室

1. 緒言

生体内には、タンパク質の構造の保持や、酸化還元を担う元素として硫黄が含まれている。とりわけ、タンパク質の構成成分であるアミノ酸の一種であるシスチンはジスルフィド結合 ($-\text{S}-\text{S}-$) を含んでおり、ジスルフィド結合が還元的に開裂することで、非常に反応性に富むチオール基 ($-\text{SH}$) が生成する。このチオール基が、開裂前とは異なる硫黄原子と酸化的に結合することで、タンパク質の変性が生じる。変性後のタンパク質の構造を NMR スペクトルを用いて解析しようとする際、反応点となっていた硫黄原子を利用できれば理想的であるが、NMR アクティブとされている ^{33}S は天然存在比が 0.76% と非常に低い。また、核スピン $I = 3/2$ で四極子核であることや、共鳴周波数が低いこともあり、測定難易度は非常に高い。そこで、ジスルフィド結合を形成する硫黄間により高周期元素であるセレンやテルルを挿入することで、生体分子における NMR スペクトルを用いたジスルフィド結合周辺の構造解析を容易にすることを目指し検討した。

2. 結果と考察

生体分子のモデル系化合物として、3つのアミノ酸残基から構成されるグルタチオン (**1**, GSH) に対し、重水中、種々の亜カルコゲン酸塩 (Na_2ChO_3) を反応させることで、ジスルフィド結合間に重いカルコゲン原子が挿入された化合物を合成した (**2**, GSSeSG, 99.9% (NMR yield); **3**, GSTeSG, 99.3% (NMR yield))。得られた化合物の HMBC スペクトル ($^1\text{H}-^{77}\text{Se}$ 及び $^1\text{H}-^{125}\text{Te}$) を測定したところ、化合物 **2** においてはシスチン残基の α 位 ($^4J_{\text{H-Se}}$) 及び 3つの β 位 ($^3J_{\text{H-Se}}$)、化合物 **3** では 1つの β 位 ($^3J_{\text{H-Te}}$) との相関シグナルが得られた (Figure 1)。

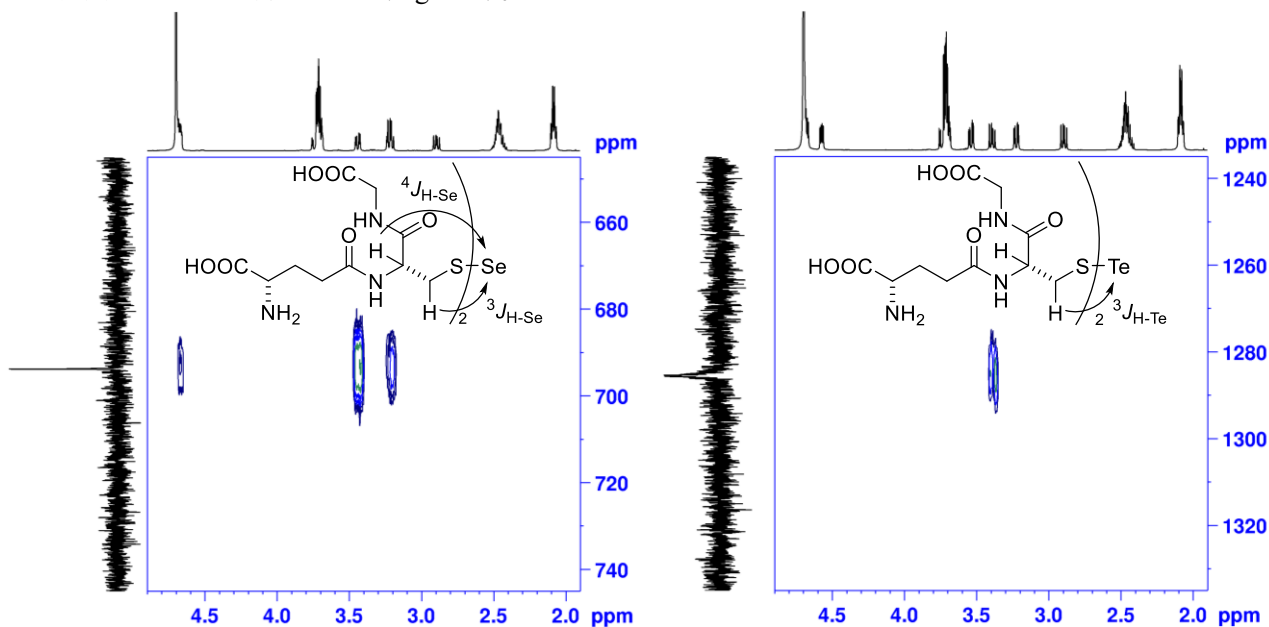


Figure 1. ^1H -Ch HMBC スペクトル。左 ($^1\text{H}-^{77}\text{Se}$) は ${}^nJ_{\text{H-Se}} = 5 \text{ Hz}$ 、右 ($^1\text{H}-^{125}\text{Te}$) は ${}^nJ_{\text{H-Te}} = 15 \text{ Hz}$ に設定し、観測幅は 12 ppm [F2] 及び 1400 ppm [F1]、積算回数はそれぞれ 16 回及び 64 回、展開回数 (TD [F1]) は 128 (NusAMOUNT = 25%)、サンプル濃度は 100 mM (vs. GSH) に統一して測定 (Bruker Avance Neo 600 with a 5 mm iProbe BBFO, 600.13 MHz)。

化合物 **2** の場合は ${}^4J_{\text{H-Se}}$ まで相関シグナルが得られているのに対し、化合物 **3** の場合は ${}^3J_{\text{H-Te}}$ の相関が一つ得られただけであり、また、 ${}^1\text{H}$ の共鳴周波数が 600 MHz の場合、 ${}^{77}\text{Se}$ 、 ${}^{125}\text{Te}$ の共鳴周波数はそれぞれ 114、189 MHz であり、 ${}^{13}\text{C}$ と比較した総合相対感度はそれぞれ 3.02、12.8 であることから一見すると ${}^{125}\text{Te}$ を用いた場合の方が感度は上がりそうであるが、実際には ${}^{77}\text{Se}$ の 4 倍の積算回数が必要であった。これらの結果は、硫黄-セレン及び硫黄-テルル間の結合距離の差や、トリカルコゲン部位の結合角が 90° に近くなることによるアミノ酸残基 ${}^1\text{H}$ との位置関係が変わることでカップリングが弱まっているためであると考えられる。また、生体分子のジスルフィド結合間にカルコゲン元素を導入する場合、結合距離は高周期元素の方が長くなるため、セレンよりもテルルを導入した方が構造の変化が大きくなることから、ジスルフィド結合間に挿入する元素はセレンの方が適していると言える。

参考文献

1. 北川進・水野元博・前川雅彦（2008）『多核種の溶液および固体 NMR』三共出版

謝辞

本研究は、京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻の村上一馬准教授と共同で進めているプロジェクトの一翼を担ったものです。このような研究に携わることができ、技術者冥利に尽きます。