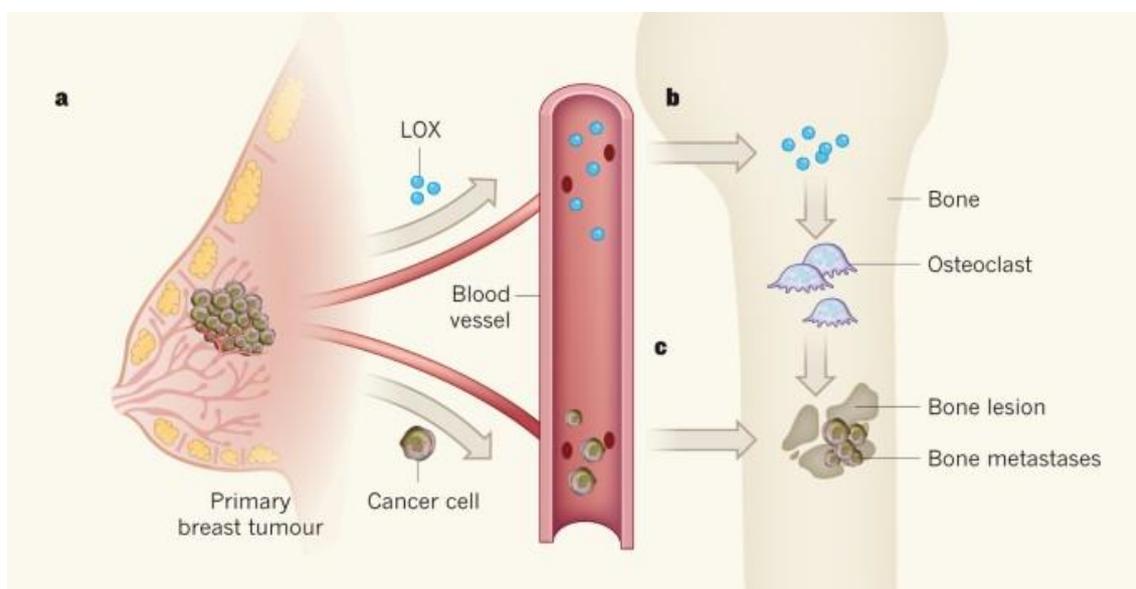


質問回答(220902)

回答忘れや新しい質問などがあれば、お気軽にご連絡ください m(.)m

・ ATOX-ATP7A-LOX 経路と TTM の関係

低酸素状態にさらされた乳がん細胞は、リシロキシダーゼ (LOX) という酵素を血流に分泌し、これが、骨で破骨細胞を活性化して骨の破壊を促進し、骨病変をもたらします。これらの病変は前転移性ニッチを形成し、循環によって播種されたオリジナルの乳がん細胞が、このニッチを占拠することで、転移性腫瘍が形成されます。このような転位の機構が知られており、LOX は銅輸送 ATPase である ATP7 から銅を受け取ることから、TTM によって銅を枯渇させることで、LOX の活性化を抑止し、がん転移が抑制されるのだと思います。



<https://www.nature.com/articles/nature14529>

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jcbrn/71/1/71\\_22-9/\\_pdf/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jcbrn/71/1/71_22-9/_pdf/-char/en)

・ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度いくつでやってるの？ :

Cu を担持させてない DBPD の実験(1H NMR)では、30%v/v→13M、Cu を担持させた DBPD-Cu の実験(HPLC-MS/MS)では、50uM(5 eq.)で実施していました。最初の実験では、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> で切れるかどうかを見るために過剰量を加えていて、最後の実験では、in vivo への応用を見据えて腫瘍の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度と同程度の条件でやっているっぽそうですね。

・ Cu(DTC)<sub>2</sub> 錯体から <sup>1</sup>O<sub>2</sub> が出るメカニズムは？ :

<sup>1</sup>O<sub>2</sub> ではなく、ROS の書き間違いでした。DCFH-DA という ROS(ラジカル)を検出する蛍光プローブを使っており、Cu の redox 活性などに由来するラジカル種を検出しているものと思われまます。

・ Aβ プラークに Cu 多い理由：

おそらく不明

・ Aβ が Cu で凝集するメカニズム：

おそらく不明？

・ Aβ の凝集具合と Cu 複合体の形成の関係：

凝集が進行したものには Cu は複合しにくいよう。

・ 銅の還元はリガンドの酸化還元電位によるところが大きいとも思うが、Aβ 周りの環境も実は重要だということはないのか？：

あると思います。酸化還元電位だけを考えても、金属-Aβ 複合体の酸化還元電位が種類によってさまざまなので、Aβ まわりの環境が与える影響は大きいと思います。また、Aβ まわりの環境次第では、そもそもリガンドと銅の結合定数も変わってくる気がします。

・ 金属選択性の戦略：

HSAB 則により、ハードな金属はハードなルイス塩基と、ソフトな金属はソフトなルイス塩基と結合を形成しやすいという特徴があり、これは 1 つのデザイン戦略になります。

しかしながら、これ以外の方法で選択性を出すのはぱっとみ難しそうです。

環状なキレーターにすることで、原子サイズを利用するクラウンエーテルのような手法は、考えられる一手段かもしれません。

・ 疫学的な背景があるのか？：

明確に言及された文献は見つけれませんでした。何となく、がんにおける金属の役割がわかってきて、その結果、キレート剤が開発されたという流れな気がします。

初期のころにドラッグリパーバシグやリポジショニングの例が多いのは、単純に開発の手間がないから、というだけな気がします。

・ D-ペニシラミン：なんでシステインではダメ？ 4 置換炭素についてのチオールであることがどう重要なのか？：

詳しくはよくわからなかったのですが、システインは、生体内で容易に酸化されてジスルフィド結合を形成するため(cystine)、銅との結合に使えないとの記述がありました。なお、Cu(II)に 4 つのシステインがチオール基を介して配位した絵を描いている人がいて、もしかすると、システインでは、チオール基周りが立体的にすいているために、このような錯体構造もとってしまうのかもしれない。

・DSF: 細胞内でキレーターになるとのことだが、イオノフォアとして働くのは細胞外ではないのか？矛盾していないか？：

細胞内でキレーターとなったものが、細胞外に出て銅と錯体を形成し、これを細胞内にて放出するのだと思います。ただし、DSF から放出される DTC については、ionophore としての性質よりかは、 $DTC_2Cu$  の抗がん活性の方が、がんに対する役割が大きいかもしれないです。

おまけ：金属とアミロイドについて

[略語表]

A $\beta$ ：アミロイド $\beta$

AD：アルツハイマー病

$\alpha$  Syn： $\alpha$ シヌクレイン

DHA：dihydro ascorbic acid

IAPP：islet amyloid polypeptide (膵ラ島アミロイドタンパク)

PD：パーキンソン病

ROS：活性酸素種

## ■正常脳における金属の基本情報

### ○Zn(II)

生体内で2番目に多い金属。脳内に不均一に分布し、海馬、扁桃核、新皮質、嗅球領域で比較的高濃度に観察される。脳中のZn(II)のうち、90%以上は、タンパク質と結合した状態で存在し(タンパク質中の亜鉛(II)サイトは四面体または歪んだ四面体)、残りはグルタミン酸作動性ニューロンのシナプス小胞内に局在する。神経伝達物質や二次メッセンジャーとしての関与が考えられている。

ホメオスタシスを制御するタンパク質：SLC30A (Zn transporter 3; ZnT-3), ZRT/IRT-like proteins (ZIPs), metallothioneins (MTs) etc.

ホメオスタシス異常は、グルタミン酸受容体の活性化、活性酸素の生成、一酸化窒素(NO)シグナルの過剰活性化を介して細胞死を誘発する興奮性毒性につながる可能性がある。

### ○Cu(I/II)

生体内で3番目に多い金属。細胞内の還元状態ではCu(I)、細胞外の酸化条件ではCu(II)。タンパク質に結合した状態と labile( $\approx$ free)な状態で存在。Cu(I)は、直線、三角平面、(歪んだ)四面体の配位を、Cu(II)は、正方形の平面、正四角錐、または(軸方向に歪んだ)八面体の配位をとる。Cuと結合したタンパク質は大きく2種類に分けられる：①銅の redox 活性を利用して特定の機能を発揮するタンパク質(e.g. SOD1, CcO), ②銅の輸送に関わるタンパク質(e.g. CTR1, ATP7, CCS)。脳内では酸素代謝が盛んで、誤って ROS を放出しうするため、SOD1 などの高酸化酵素は重要であり、また、D $\beta$ M、ペプチジルグリシン $\alpha$ 水酸化モノオキシゲナーゼ、チロシナーゼ、およびアミノキシダーゼの補因子として作用は、神経伝達物質、神経ペプチド、食物アミンの恒常性に関連している。神経細胞の脱分極で uM レベルの銅が細胞外に放出され、NMDA, GABA, グリシン受容体に拮抗する可能性がある(詳細不明)。

銅のホメオスタシスを制御するタンパク質：CCS, CTR1, ATP7A, COX17, Cu metabolism COMM domain-containing protein 1 (COMMD1) domain

ホメオスタシス異常は、redox 活性による ROS の過剰産生を引き起こす可能性があり、老人斑への局在は、Cu を補酵素とするタンパク質を Cu 不足にして機能異常をもたらす可能性もある。

### ○Fe(II/III)

生体内で1番多い金属。Redox 活性を持ち、電子伝達、酸素化学、遺伝子制御、細胞の成長/分化制御といった幅広い生体機能関連酵素に必須の金属である。酵素中の静止状態では、Fe(II)/Fe(III)が支配的だが、触媒サイクルの中間体としてより酸化状態が高くなることもある。labile(≈free)な Fe(II/III)は、細胞内で 100uM までプールされるとの報告があるが、神経細胞における非酵素的な役割は知られていない。

鉄のホメオスタシスを制御するタンパク質：Fe transporters (e.g., DMT1, ferroportin-1, mitoferrin-1, ZIP14), heme transporters (e.g., HRG1, FLVCR1), Fe chaperones (e.g., PCBPs), ferrereductases, hepcidin, ferritin, transferrin

ホメオスタシス異常は、Cu の場合に類する障害をもたらすと考えられる。

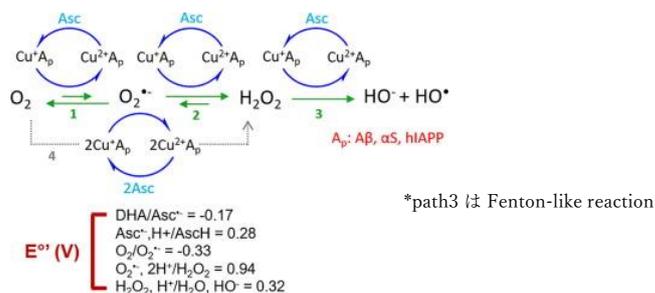
・γセクレターゼの構成要素であるプレセリニンが、Zn(II), Cu(I/II)の制御において大きく貢献しているという話もある。

### ■アミロイドと銅の複合体の酸化活性および凝集性について<sup>[1,2]</sup>

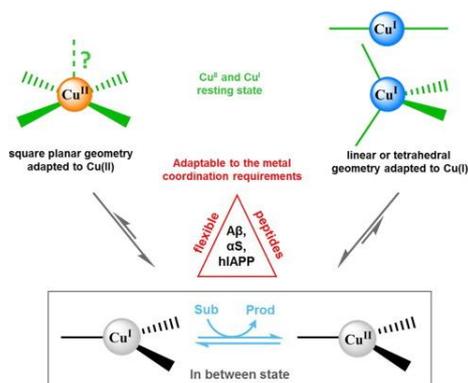
In vitro 実験において、種々の金属はアミロイド原性タンパクと複合体を形成することができ、このときの結合定数および配位構造は付録1・2にまとめた通りである。

Aβ および αSyn との銅錯体は、O<sub>2</sub>および生理的な還元剤であるアスコルビン酸(Asc)の存在下で活性酸素(ROS)を生成する。この活性は、ほかの銅結合タンパクよりも高く、Aβ と Syn では Syn の方が高い。free な銅は、より効率的に ROS を産生するが、生体内ではほとんどの銅がタンパク質などの生体分子と結合しているため、寄与は小さいと考えられる。また、よく凝集したαSyn と Aβ では、ROS の産生が低くなるが、これが、配位構造の違いによるものか、銅の配位しやすさによるものかは不明である。Cu-IAPP は、還元剤非存在下でも ROS を産生した。

Cu-Aβ<sub>1-16</sub>(非凝集性)を用いた研究により、活性酸素の生成機構は下図のようなものが提案されている。熱力学的に不利な Super oxide の産生が律速であり、経路4のような2電子還元は起こらない。α-Syn, IAPP で同様の機構があるかは不明だが、α-Syn では、この機構をサポートしうる間接的な証拠がある。



酸化還元反応における、Cu-アミロイドタンパク複合体のダイナミクスとして、下図のようなモデルが提唱されている。Cu(II)/Cu(I)とアミロイドタンパクの複合体は、大部分が resting state をとるが、その配位構造は大きく違うため(Cu(II)は planar、Cu(I)は diagonal or tetrahedral, 付録2 参照)、両者の変換は効率的でない。したがって、ROS の生成を伴う Cu(II)-Cu(I)間の変換は、in-between state を介すると考えられている。なお、アミロイド原生のタンパク質の柔軟さが、このような構造変換を可能にしていると考えられる。



HO ラジカルが生成する場合、これは半減期が  $10^{-9}$ s と短いため、生成部位の近傍で site-specific に反応する。したがって、 $A\beta$  では、末端アミン(Asp)および His が、Cu- $\alpha$ Syn では Met1, Met5 が攻撃される。HO ラジカルによる酸化の結果、配位構造が変化すると、新たな配位構造は ROS の産生に有利となり、一種の悪循環が形成される。

Cu- $\alpha$ Syn による ROS の産生がオリゴマー延いては凝集体をもたらしたことから、酸化的損傷によって配位構造および酸化活性だけでなく、凝集性にも影響が与えられた可能性が指摘された。同様に、酸化的損傷の結果である  $A\beta$  の Tyr 架橋体がみられる場合、オリゴマーやフィブリルが安定化されていることが知られている。

ROS に関わらない、単純な金属複合体の凝集性については、Zn(II), Cu(II), Fe(II/III)のすべてで  $A\beta_{40}$  の凝集が誘導されることから確認されている。ただし、Cu(II)による誘導は pH6.8 のような若干の酸性を必要とし、 $<0.8\mu\text{M}$  のような微量ではあまり構造化されていない凝集体を与える。金属によって誘導される  $A\beta$  の凝集速度は一般に早く、結果として、金属と  $A\beta$  の比率に応じて非繊維状あるいは非晶質の凝集体が生成する。特に、金属イオンはフィブリルよりも可溶性オリゴマーを優先的に生成するといわれている。Zn(II)は、核形成過程をへずに環状の  $A\beta$  プロトフィブリルを形成し、Cu(II)および Fe(II)は、核形成期を長くすることでフィブリルの形成を抑えているらしい。なお、金属と  $A\beta$  の比率は、凝集速度と構造に影響を与えるようで、例えば、Cu(II)の相対量を  $A\beta_{40}$  に対して 0.1 から 0.6 に増やすと、繊維状構造から非晶質粒状構造へと変化した。

このような実験事実から、金属イオンの除去は、AD に対する治療可能性を有していると考えられるが、実際の AD 脳内における金属イオンの役割についてはあまりわかっていないことに注意したい。 $A\beta$  を主要素とする老人斑@AD,  $\alpha$ Syn を主要素とするレビー小体@PD では、比較的高い濃度の金属イオン Zn(1mM)、Cu(0.4mM)、Fe(0.9mM)が含まれている

ることが知られているが(濃度は老人斑におけるもの<sup>[2]</sup>)、A $\beta$ 、 $\alpha$ Syn、IAPP への金属の集積あるいは結合が、凝集体形成以前に起きているかどうかは不明である。また、アミロイド原性のタンパクと Cu の複合体が、AD や PD、2 型糖尿病(T2B)に見られる酸化ストレスにどの程度寄与しているかもわかっていない。一方、Cu と Zn の配位構造および ROS 産生能力は、結合するアミノ酸の変異によって変わり、変異は、疾患の早期発症(家族性)または疾患の非発現(マウス性)と関連していることから、金属イオンとアミロイド疾患の関連性が示唆されている。

■付録 1 : 各種金属と凝集性タンパクの結合定数(Ka, M<sup>-1</sup>)<sup>[1]</sup>および解離定数(Kd, x10<sup>-6</sup>M)<sup>[2]</sup>

peptide/protein	Cu(II)	Cu(I)	Zn(II)
hA $\beta$ <sub>1-16</sub>	10 <sup>9</sup> -10 <sup>10</sup> [55], [117], [118], [119]	10 <sup>7</sup> -10 <sup>10</sup> [57], [118]	10 <sup>5</sup> [120], [121]
hA $\beta$ <sub>1-16</sub> (A2T)	=hA $\beta$ <sub>16</sub> WT [53]		
hA $\beta$ <sub>1-16</sub> (A2V)			
hA $\beta$ <sub>1-16</sub> (H6R)	10 <sup>8</sup> [55], [119]		2.4 · 10 <sup>3</sup> [58] <sup>†</sup>
hA $\beta$ <sub>1-16</sub> (D7N)	10 <sup>9</sup> [55], [119]		0.88 · 10 <sup>5</sup> [121]
hA $\beta$ <sub>1-16</sub> (D7H)	>A $\beta$ <sub>40</sub> WT [122]		4.1 · 10 <sup>4</sup> [59] <sup>‡</sup>
mA $\beta$ <sub>1-16</sub>	3 · 10 <sup>9</sup> [119]	2 · 10 <sup>6</sup> [57]	1.53 · 10 <sup>4</sup> [62]
hIAPP	10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup> [99], [123]		10 <sup>6</sup> [109]
hIAPP (S20G)			
mIAPP	9 · 10 <sup>4</sup> [123]		9 · 10 <sup>3</sup> [116]
$\alpha$ Syn	10 <sup>7</sup> [65], [78]	10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup> [77], [78]	<10 <sup>3</sup> [83]
Ac- $\alpha$ Syn	ca. 10 <sup>4</sup> [72] <sup>*</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup> [79]	
$\beta$ Syn	5 · 10 <sup>6</sup> [67]		
$\alpha$ Syn (H50Q)	10 <sup>5</sup> [124]		
Ac- $\alpha$ Syn (H50Q)	Too low [73]		

\* This value is taken from the one for the low-binding affinity site found at His50[65].

† Value calculated for the dimer formation Zn-(A $\beta$  H6R)<sub>2</sub> (M<sup>-2</sup>).

‡ Value calculated for dimer formation of Zn<sub>2</sub>-(A $\beta$ <sub>1-10</sub>D7H)<sub>2</sub> (M<sup>-3</sup>).

注)添え字の h, m, r はそれぞれ、human, murine, rat の意味。

metal ions	peptides	$K_d$ ( $\times 10^{-6}$ M)	conditions <sup>a</sup>	technique	ref	
Fe(II)	$A\beta_{40}$	76 ( $\pm$ 20)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	230	
Cu(I)	$A\beta_{16}$	2.7 ( $\pm$ 2.1) $\times 10^{-9}$	20 mM <i>N</i> -ethylmorpholine, pH 7.0	UV-Vis	239	
	H6A- $A\beta_{16}$	8.9 ( $\pm$ 3.7) $\times 10^{-9}$	20 mM <i>N</i> -ethylmorpholine, pH 7.0	UV-Vis	239	
	H13A- $A\beta_{16}$	1.1 ( $\pm$ 0.7) $\times 10^{-8}$	20 mM <i>N</i> -ethylmorpholine, pH 7.0	UV-Vis	239	
	H14A- $A\beta_{16}$	1.0 ( $\pm$ 0.8) $\times 10^{-8}$	20 mM <i>N</i> -ethylmorpholine, pH 7.0	UV-Vis	239	
Cu(II)	$A\beta_{42}$	5.3 $\times 10^{-2}$	100 mM HEPES, pH 7.4	UV-Vis	238	
	$A\beta_{16}$	47 ( $\pm$ 5)	100 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl	fluorescence	234	
	$A\beta_{16}$	0.1	H <sub>2</sub> O, pH 7.8	fluorescence	235	
	$A\beta_{16}$	0.09	50 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	ITC	236	
	$A\beta_{16}$	0.7 $\times 10^{-3}$	20 mM HEPES, pH 7.2, 150 mM NaCl	ITC	243	
	$A\beta_{16}$	0.3 $\times 10^{-3}$	20 mM PIPES, pH 7.4, 160 mM NaCl	ITC	245	
	$A\beta_{4-16}$	8 ( $\pm$ 2)	100 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl	fluorescence	234	
	$A\beta_{28}$	0.1	H <sub>2</sub> O, pH 7.8	fluorescence	224	
	$A\beta_{28}$	28 ( $\pm$ 5)	100 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl	fluorescence	234	
	$A\beta_{28}$	0.07	50 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	ITC	236	
	$A\beta_{28}$	0.4 ( $\pm$ 0.1)	10 mM phosphate, pH 7.2	fluorescence	218	
	$A\beta_{28}$	2.5 ( $\pm$ 0.2)	10 mM HEPES, pH 7.2	fluorescence	218	
	$A\beta_{28}$	1.2 ( $\pm$ 0.1)	10 mM phosphate, pH 6.5	fluorescence	218	
	$A\beta_{40}$	1.6 ( $\pm$ 0.9)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	230	
	$A\beta_{40}$	11 ( $\pm$ 1)	100 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl	fluorescence	234	
	$A\beta_{40}$	ca. 8	20 mM HEPES, pH 6.6, 100 mM NaCl	fluorescence	237	
	$A\beta_{40}$	0.5 ( $\pm$ 0.2)	10 mM Tris, pH 7.3, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
	$A\beta_{40}$	1.2 ( $\pm$ 0.4)	20 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
	$A\beta_{40}$	3.8 ( $\pm$ 0.9)	50 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
	$A\beta_{40}$	30 ( $\pm$ 6)	100 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
	$A\beta_{40}$	0.6 ( $\pm$ 0.2)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
	$A\beta_{40}$	2.5 ( $\pm$ 0.6)	100 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
	$A\beta_{40}$	0.9 $\times 10^{-3}$	20 mM HEPES, pH 7.2, 160 mM NaCl	ITC	240	
	$A\beta_{40}$	0.4 $\times 10^{-3}$	20 mM HEPES, pH 7.4, 160 mM NaCl	ITC	240	
	$A\beta_{40}$	1.6	5 mM phosphate, pH 7.3	NMR	242	
	$A\beta_{40}$	5.3 $\times 10^{-4}$	20 mM PIPES, pH 7.4, 160 mM NaCl	ITC	245	
	$F4W-A\beta_{40}$	0.6 ( $\pm$ 0.2)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	230	
	$A\beta_{42}$	2.0 ( $\pm$ 0.8)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	230	
	$A\beta_{42}$	0.8 ( $\pm$ 1.0)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
	Zn(II)	$A\beta_{16}$	22 ( $\pm$ 15)	20 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	ITC	228
		$A\beta_{16}$	14 ( $\pm$ 5)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	UV-Vis	228
		$A\beta_{16}$	9	50 mM HEPES, pH 7.1	UV-Vis	233
		$A\beta_{28}$	6.6 ( $\pm$ 0.2)	10 mM HEPES, pH 7.2	fluorescence	218
$A\beta_{28}$		1.1 ( $\pm$ 0.1)	10 mM phosphate, pH 7.2	fluorescence	218	
$A\beta_{28}$		3.2 ( $\pm$ 0.1)	10 mM phosphate, pH 6.5	fluorescence	218	
$A\beta_{28}$		12 ( $\pm$ 5)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	UV-Vis	228	
$A\beta_{28}$		10 ( $\pm$ 8)	20 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	ITC	228	
$A\beta_{40}$		1.2 ( $\pm$ 0.03)	10 mM phosphate, pH 7.2	NMR	218	
$A\beta_{40}$		300 ( $\pm$ 100)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	230	
$A\beta_{40}$		7 ( $\pm$ 3)	20 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	ITC	228	
$A\beta_{40}$		7 ( $\pm$ 3)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	UV-Vis	228	
$A\beta_{40}$		65 ( $\pm$ 3)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
$A\beta_{40}$		124 ( $\pm$ 32)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	UV-Vis	229	
$A\beta_{40}$		60 ( $\pm$ 14)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
$A\beta_{40}$		184 ( $\pm$ 30)	100 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
$A\beta_{40}$ fibrils		9 ( $\pm$ 6)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	UV-Vis	228	
$F4W-A\beta_{40}$		90 ( $\pm$ 30)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	230	
$A\beta_{42}$		57 ( $\pm$ 28)	10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	230	
$A\beta_{42}$		7 ( $\pm$ 3)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	UV-Vis	228	
$A\beta_{42}$		91 ( $\pm$ 16)	20 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl	fluorescence	229	
$A\beta_{42}$		6.2 ( $\pm$ 0.9)	20 mM HEPES, pH 7.4	ITC	232	

[ざっくりまとめ]

Zn(II)- $A\beta$  :  $10^{-9}$ - $10^{-6}$ M

Cu(II)- $A\beta$  :  $10^{-11}$ - $10^{-7}$ M

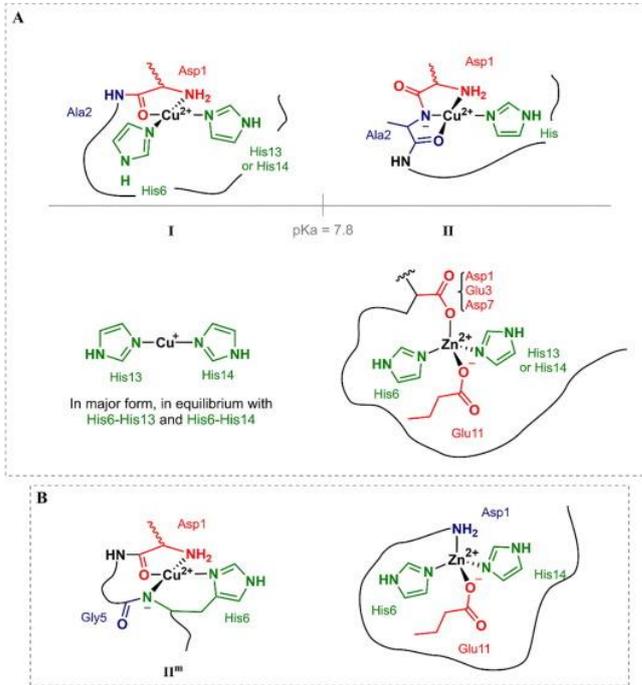
Cu(I)- $A\beta$  :  $10^{-15}$ - $10^{-8}$ M

Fe(II)- $A\beta$  :  $10^{-5}$ M

※結合親和性は、 $A\beta$  の種類と金属の組み合わせの他、技術、実験条件(e.g. バッファー組成、温度、濃度、ペプチド純度)などの影響を受けるため、幅広い値が報告されている。

■付録2：各種アミロイドと金属の配位構造<sup>[1,2]</sup>

・Aβ

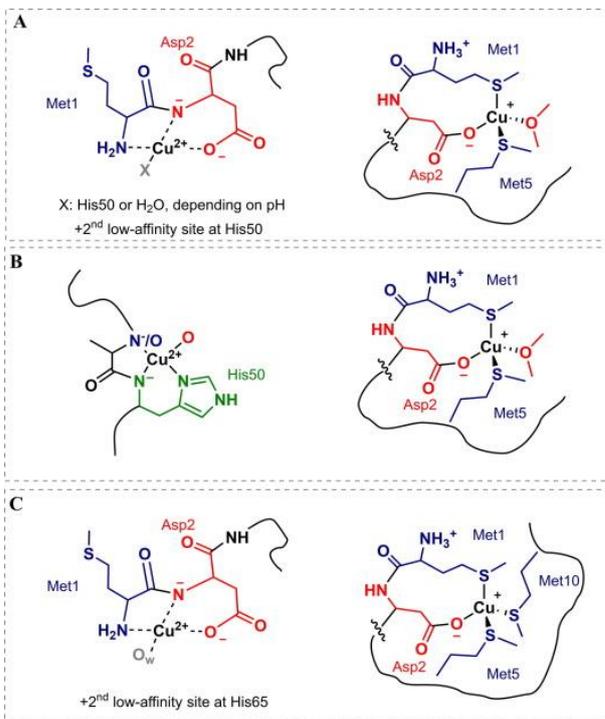


A : hAβwt for Cu(II), Cu(I) and Zn(II)

B : mAβ for Cu(II) at physiological pH and for Zn(II)

注) 変異が入っている場合には、また異なる配位構造を与えることがある。

・シヌクレイン

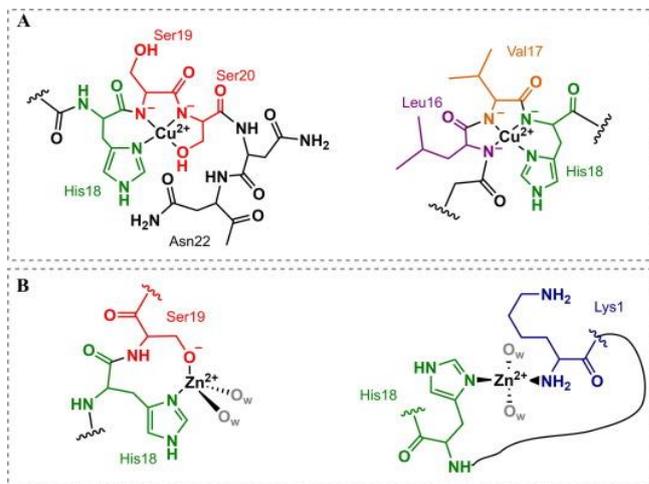


A :  $\alpha$ -synuclein for Cu(II), Cu(I)

B : Ac\*- $\alpha$ -synuclein for Cu(II), Cu(I) \* 生体内レビー小体中では Ac 化されている

C :  $\beta$ -synuclein for Cu(II), Cu(I)

• IAPPP



A : hIAPP for Cu(II)

with His18 as anchoring ligand, towards the C-terminal (left) and H<sub>2</sub>N-terminal (right)

B : hIAPP(monomeric) for Zn(II) (two-type)

metal ions	peptides	amino acid residues for metal coordination	technique	ref
Fe(II)	$A\beta_{16}$ and $A\beta_{40}$	N-terminal NH <sub>2</sub> , (D1 or E3), (D1-A2 or H6-D7; carbonyl from the amide group), H6, and (H13 or H14)	NMR	215
Fe(III)	$A\beta_{28}$	n.d. <sup>a</sup>	NMR, ESI-MS	216
Cu(I)	$A\beta_{6-14}$	H13 and H14	EXAFS	209
	$A\beta_{10-14}$	H13 and H14	EXAFS	209
	$A\beta_{16}$	H13 and H14	EXAFS, EPR	210
	$A\beta_{16}$	H13 and H14	NMR, XANES	211
	$A\beta_{16}$	H13 and H14	CP-MD simulation	212
	$A\beta_{40}$	H13 and H14	EXAFS, EPR	210
Cu(II)	$A\beta_{16}$	pH 6.5: H6, (H13 or H14), N-terminal NH <sub>2</sub> , (D1; side-chain carboxylate group), and (D1-A2; carbonyl from the amide group)	EPR	220
	$A\beta_{16}$	pH 9.0: N-terminal NH <sub>2</sub> , (D1-A2; N from the amide group), (A2-E3; carbonyl from the amide group), and (H6, H13, and H14)		
	$A\beta_{16}$	pH 6.3: N-terminal NH <sub>2</sub> , (D1-A2; carbonyl from the amide group), H6, and (H13 or H14)	EPR	213
	$A\beta_{16}$	pH 8.0: (A2-E3; carbonyl from the amide group), H6, H13, and H14		
	$A\beta_{16}$	pH 6.3: D1, (D1-A2; carbonyl from the amide group), H6, and (H13 or H14)	EPR	214
	$A\beta_{16}$	pH 8.0: O (no indication for the specific coordination site), H6, H13, and H14		
Zn(II)	$A\beta_{28}$	pH 6.9: H6, Y10, H13, and H14	NMR, EPR	205
	$A\beta_{28}$	pH 7.4: N-terminal NH <sub>2</sub> , H6, H13, and H14	EPR	224
	$A\beta_{16}$	R5, H6, H13, and H14	ESI-MS	200
	$A\beta_{16}$	D1, H6, H13, and H14	NMR	201
	$A\beta_{16}$	H6, H13, H14, and (E11; side-chain carboxylate group)	NMR	202
	$A\beta_{16}$	$A\beta_{11-14}$ residues (E11 and H14)	SPR, ESI-MS	203
	p $A\beta_{16}$ (S8)	H6, D7, phosphorylated S8, E11, and H14	ITC, ESI-MS, NMR	204
	$A\beta_{16}$	H6, E11, (H13 or H14), and (D1, E3, or D7)	NMR, XAS	217
	D7H- $A\beta_{10}$	(D1-A2; carbonyl from the amide group), E3, H6, and H7	NMR, EXAFS, MS, ITC	208
	$A\beta_{28}$	H6, H13, and H14	NMR, EPR	205
	$A\beta_{28}$	H6, H13, and H14	NMR, CD	206
$A\beta_{28}$	N-terminal NH <sub>2</sub> , H6, E11, H13, H14, and (Y10 for conformational rearrangement)	NMR	207	
$A\beta_{40}$	N-terminal NH <sub>2</sub> , H6, H13, and H14	NMR	218	

<sup>a</sup>n.d., not determined.

■付録3 : Cu-A $\beta$ , Cu- $\alpha$ Syn の酸化還元電位<sup>[1]</sup>

Peptide complex	Redox Potential (V)* [NHE] <sup>†</sup>	Experimental conditions			
		Electrolyte solution	Electrode	Scan rate (mV/s)	Cu:peptide ratio <sup>‡</sup>
Cu-A $\beta$ 1-42	E° ~0.500-0.550 [0.699-0.749] (quasi-reversible)	PB pH 7.3	Ag/AgCl(1 M KCl) (indium/tin oxide working electrode)	–	1:6 (17 $\mu$ M)
Cu-A $\beta$ 1-16	E <sub>pa</sub> = 0.340 E <sub>pc</sub> = 0.650	Tris/HCl pH 7.4, 100 mM NaCl	NHE	–	1:1 (1 mM)
Cu-A $\beta$ 1-28	E <sub>pa</sub> = 0.330 E <sub>pc</sub> = 0.630	Tris/HCl pH 7.4, 100 mM NaCl	NHE	–	1:1 (1 mM)
Cu-A $\beta$ 1-16	E <sub>pa</sub> = 0.780 [0.979] E <sub>pc</sub> = 0.085 [0.284]	PB 5 mM pH 7.4, 0.1 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% DMSO	Ag/AgCl	20	1:1 (50 $\mu$ M)
Cu-A $\beta$ 1-42	E <sub>pa</sub> = 0.600 [0.799] E <sub>pc</sub> ~0.020 [0.219]	PB 5 mM, pH 7.4, 0.1 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% DMSO	Ag/AgCl	20	1:1 (50 $\mu$ M)
Cu-A $\beta$ 1-40	E° = 0.100 [0.299]	KCl 0.2 M, pH 6.9	Ag/AgCl	50	1:1
Cu-A $\beta$ 1-16	0.300 vs (NHE) (In-between state)	PIPES buffer 25 mM, pH 6.7, 0.2 M KCl	SCE	20, 50, 100	1:5 (0.2 mM)
Cu-A $\beta$ 1-16	E <sub>pc</sub> = -0.076 [0.123] E <sub>pa</sub> = -0.140 [0.059] E° = 0.032 [0.231] (pH 6.5, mainly Component I) E° = -0.376 [-0.177] (pH 8.5, mainly Component II)	PB 10 mM, 50 mM Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag/AgCl	5	1:4 (100 $\mu$ M)
Cu-Ac-A $\beta$ 1-16	E° = 0.060 [0.259] (pH 7.4, mainly Component I) E° = -0.353 [-0.154] (pH 9.5, Component II)	PB 10 mM, 50 mM Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag/AgCl	5	1:4 (100 $\mu$ M)
Cu-A $\beta$ 1-16	E <sub>pa</sub> - E <sub>pc</sub> = 0.450 [0.649]	KNO <sub>3</sub> 96 mM HNO <sub>3</sub> 4 mM pH 7.4	Ag/AgCl	20, 100	0.9:1 (0.45 mM)
Cu-A $\beta$ 4-16	E <sub>pa</sub> = 0.830 [1.029]	KNO <sub>3</sub> 96 mM HNO <sub>3</sub> 4 mM	Ag/AgCl	20, 100	0.9:1 (0.45 mM)

Peptide complex	Redox Potential (V)* [NHE] <sup>†</sup>	Experimental conditions			
		Electrolyte solution	Electrode	Scan rate (mV/s)	Cu:peptide ratio <sup>‡</sup>
		pH 7.4			
Cu- $\alpha$ Syn <sub>1-140</sub>	0.018 [0.217] (quasi-reversible)	PB 5 mM pH 7.4, 0.1 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag/AgCl	5	1:2 (50 $\mu$ M)
Cu- $\alpha$ Syn <sub>1-19</sub>	0.053 [0.252] (quasi-reversible)	PB 5 mM pH 7.4, 0.1 M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag/AgCl	5	1:2 (50 $\mu$ M)
Cu- $\alpha$ Syn <sub>1-6</sub>	E <sub>pc</sub> (1) $\approx$ -0.365 [- 0.166] E <sub>pc</sub> (2) $\approx$ -0.461 [- 0.262] E <sub>pa</sub> (1) $\approx$ -0.101 [0.098] E <sub>pa</sub> (2) $\approx$ -0.024 [0.175]	PB 10 mM pH 7.4, 50 mM Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag/AgCl	5	1:1 (300 $\mu$ M)

\* All the redox potential values were obtained using a glassy carbon working electrode unless otherwise stated.

<sup>†</sup> Conversion value for the Ag/AgCl electrode to NHE obtained from previous report.

<sup>‡</sup> Cu concentration is indicated in parenthesis.

## ■文献リスト

1. Elena Atrián-Blasco, *et al. Coordination Chemistry Reviews*. **2018**, 371 (15), 38-55.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001085451730591X?via%3Dihub#b0650>
2. Masha G. *et al. Chemical Reviews*. **2019** 119 (2), 1221-1322.  
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00138>