

2020 Literature Seminar Questions and Answers

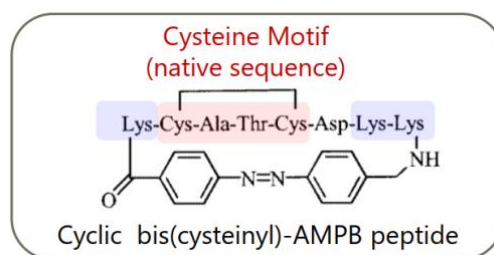
Mina Yamane (M1)

Q. On p.17, 「Cis 体が more oxidizing という結論で良い？ Cis 体の方が酸化されやすいということ？ More prone to oxidation？」

A. Cis 体が more oxidizing、つまり自身は還元されやすく、more prone to reduction ということです。トランス体の K_{ox} 値が $K_{ox, trans} = 49 \text{ mM}$ であるのに対して、シス体のそれは $K_{ox, cis} = 0.80 \text{ mM}$ であるため、GSH/GSSG redox buffer 中ではそのほとんどが還元されたチオール状態で存在します。[1]

Q. On p.18, 「どういう実験なのかフォローできなかった。どうやって AMPB peptide はシャペロン作用を持つのか？」

A. この研究の目的は *to design photoresponsive redox systems based on cyclic bis(cysteinylyl) peptides containing an azobenzene unit as a light switch* であり、特に筆者らはアゾベンゼンの光異性化反応に伴う redox potential の変化 (上記にて述べた通り、cis 体と trans 体では酸化力に大きな差が生じます) を利用して、RNase A の酸化的フォールディングの制御を試みました。その際用いた人工触媒が下記 cyclic bis(cysteinylyl)-AMPB peptide であり、RNase A のフォールディングに関与する *E.Coli. thioredoxin reductase* の既知の active-site sequence である Cys-Ala-Thr-Cys をベースにして合成されたということがポイントです。ただし、bis(cysteinylyl)peptide そのものがシャペロン作用を発揮するという訳ではなく、タンパク質の高次元構造形成を触媒する天然のプロテインジスルフィドイソメラーゼの特徴として挙げられる 1) high redox potentials および 2) low pKa values を示すことから、筆者らは “(AMPB peptide) should govern the catalytic efficiency in the oxidative folding processes of proteins” としています。[1]



Q. On p.18, 「本当に光照射してるの??」

A. はい、しています。Experimental procedure としては、まず全 trans 体の AMPB peptide solution を各種 GSH/GSSG/peptide ratio として調製して、その半分は 360 nm の光を照射することにより trans→cis 異性化を誘導し、残りの半分は trans 体のままで用いているようです。[1]

Q. On p.23, 「温度変化と光異性化について」

A. この研究で用いた系におけるアゾベンゼンの光異性化は、温度依存性を示すことが確認されています。特に cis 体は、高温条件下にてより高収率 (e.g. ~56% at 60 °C) で得られることが報告されています。[2]

Q. On p.23, 「どういうシーケンスのペプチド？ こういう性質 (can be reversibly photoregulated) にはどういふペプチドの本来の性質が必要か？」

A. この研究では、 α -helix 構造を形成することが知られているペプチド FK-11 (AcWGEGACAREAAAREAAACRQ-NH₂) を用いています。光照射条件下、可逆的なコンフォメーション変

化を示すために必要なペプチド本来の性質としては、光に対する安定性や骨格の柔軟性に加えて、どちらか一方の異性体だけが *participation in a larger protein structure* により特別安定化されない、ということが挙げられます。[3]

Q. On p.24, 「光でスイッチが入る薬ってどういうシチュエーションで必要ですか？」

A. 光でスイッチが入る薬のメリットは、主に *drug delivery system* の考えにあると思います。薬の効果を最大限に発揮するためには、薬物を必要な時に、必要な場所へ、必要なだけ届けることが求められます。そのため、光照射下においてのみ薬理効果が発揮されれば、薬の効果をリモートでコントロールすることが可能となり、また副作用の低減にもつながります。さらに、*irradiation is the only technique for manipulating biological systems on time scales faster than microseconds* [4]ということからも、薬の活性・不活性化のオン・オフ状態を即座にコントロールする必要がある場合に (例えば強力な薬剤を、極短時間だけ患者さんに投与する必要がある場合) も有用である考えられます。

References

[1] L. Moroder *et al.* *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2144.

[2] A. Woolley *et al.* *ChemBioChem.* **2008**, 9, 2147.

[3] A. Woolley *et al.* *PNAS*, **2000**, 97, 8, 3803.

[4] L. Moroder *et al.* *ChemBioChem*, **2006**, 7, 868.