

# ヒスチジンを含んだペプチド銅(II)錯体によるDNAの酸化的切断反応

研究代表者 千喜良誠 研究員

**序** ヒスチジン(His)は多くの金属酵素の活性点において、酵素機能の発現に重要な役割を果たしている。最近、本研究の共同研究者でもあるE.C.Long等はXaaXaa'His型のトリペプチドNi(II)錯体がDNAの二重螺旋の副溝に結合するが、XaaやXaa'の種類とその配列によって、酸化剤の存在下でのDNA切断の塩基配列特異性が変化することを明らかにしている。<sup>1)</sup> 本研究では、生体内により多く存在する銅(II)イオンに着目し、類似したヒスチジンを含む銅(II)錯体がDNAとの反応においてどのような挙動を示すかを検討してきた。本年度は昨年度に引き続きN-末端アミノ酸の不斉がDNA結合構造や反応にどのような効果を与えているかを検証するために、新たにD-およびL-プロリン含むトリペプチド錯体を合成し、DNAファイバー-ESRスペクトル線形のシミュレーションにより結合構造を推定し、N-末端にアルギニンやリシンを持つトリペプチド錯体と比較して不斉の効果はどのように変化するかを検討した。

## 実験

•**ペプチド合成**: 本実験で用いたトリペプチド $H_2N-(D,L)\text{-Lys-Gly-L-His-CONH}_2$  (D,L-KGH),  $H_2N-(D,L)\text{-Arg-Gly-L-His-CONH}_2$  (D,L-RGH),  $H_2N-(D,L)\text{-Pro-Gly-L-His-CONH}_2$  (D,L-PGH),  $H_2N-(D,L)\text{-Pro-Lys-L-His-CONH}_2$  (D,L-PKH)はX-resinを用いた標準的なFmoc法により合成した。生成物はすべて逆相HPLCによって精製し、FAB-MS分析により生成物を確認した。

•**DNAファイバー**: 鮭精子DNAを20mM NaCl溶液に溶かし塩基対濃度で約1mM(pH7.4)の溶液を調整し、錯体溶液を加え約12時間4°Cで攪拌した。この溶液を超遠心分離機にかけ(360kG,7h), 得られたペレットから既報で示した方法でファイバーを作成した。<sup>2)</sup>

•**ESRスペクトル**: DNAファイバーを石英のファイバーホルダーに挿入し、磁場 $B$ とファイバー軸( $Z_f$ )のなす角度( $\Phi$ )を変化させて測定した。シミュレーションに用いた座標系を図2に示す。

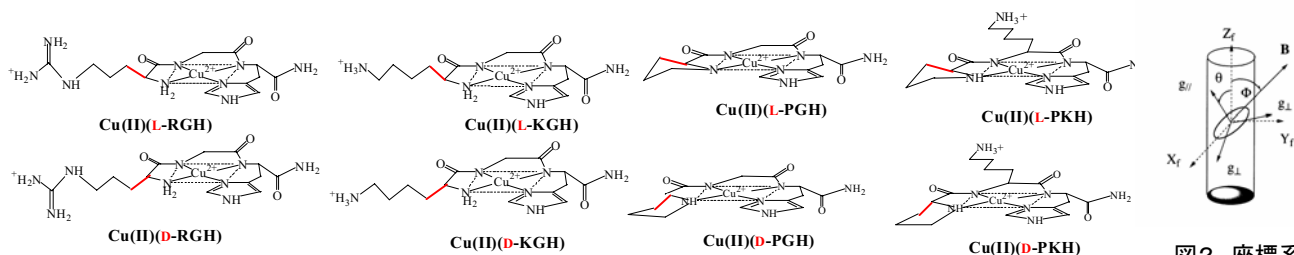


図2. 座標系

図1. 合成されたペプチド錯体

## 結果と考察

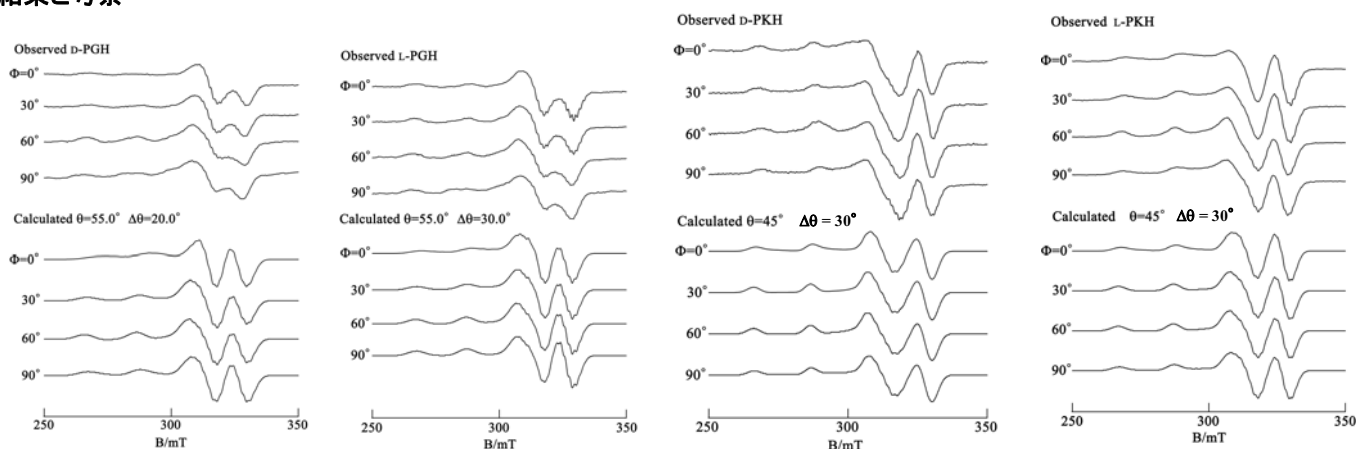


図3. 実測(室温)およびシミュレーションによって得られたD,L-プロリンを含むトリペプチド錯体のESRスペクトル

PGH錯体ではKGHやRGH錯体とは逆にD-型がL-型よりも配向の揺らぎ( $\Delta\theta$ )が小さく、環状の末端アミノ基側鎖の特徴が反映されている。一方、PKH錯体ではD-型とL-型の違いがあまりみられないことから、第2番目の塩基性側鎖も錯体の配向に影響を与えていることが明らかになった。今後、これらの結合構造の特徴が酸化的切断反応にどう影響するか検討を加える予定である。

参考文献: 1) Fang, Y.-Y.; Claussen, C. A.; Lipkowitz, K. B.; and Long, E. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 3198-3207.

2) R. Nagane, T. Koshigoe, and M. Chikira, *J. Inorg. Biochem.*, **93**, 204-212 (2003).