

ヒト α 1-酸性糖タンパク質による ウミホタルルシフェリンの発光

SATテクノロジー・ショーケース2022

■ はじめに

ウミホタルは、美しい青色に発光する体長3 mm程度の小さな海洋生物である(図1)。その発光は、酵素であるウミホタルルシフェラーゼ(CLase)を介した、ウミホタルルシフェリン(CL)(図1)の酸化反応に起因する。その発光効率を示す発光量子収率は高く、例えば、血痕鑑定で利用されるルミノールの発光反応と比較すると10倍超である。

ウミホタルの高効率な発光の鍵となっているのは、CLaseである。CLaseはCLの酸化反応を担う酵素であるにも関わらず、既知の酸化酵素とは相同性を示さず、他の酸化酵素が必要とする金属イオンを要求しないタンパク質である。CLaseがCLの高効率な発光を実現するメカニズムの詳細は未解明だが、CLが取り込まれるCLase内部の疎水性環境が高効率な発光の実現に重要だと考えられている。発表者自身も、これまでにその仮説を支持する予備的な結果を得ている。

そうした背景を踏まえ、CLに似た化学構造を有する低分子化合物(例:クロロプロマジン)を分子内部の疎水性空洞に取り込む性質のある、ヒト α 1-酸性糖タンパク質(hAGP)に着目し、「hAGPがCLの発光を引き起こすのか」を問いとして、hAGP存在下でCLの発光を検証した。

■ 活動内容

1. 各種タンパク質存在下でのCL発光量の検証

中性バッファー条件下で、各種タンパク質(hAGP、オボアルブミン、ヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン)をCLと混合したところ、hAGPを混合した場合にのみ有意な発光が認められた。すなわち、hAGPがCLの発光を誘起することを明らかにした。

2. hAGP存在下で起きるCLの発光反応の解析

95℃で30分加熱処理したhAGPをCLと混合した場合、加熱処理していないhAGPを用いた条件と比較して、発光量が低下した。続いて、中性から塩基性の異なるpHのバッファー条件下での発光量を調べたところ、pH 9.5のバッファーを用いた場合に発光量が最大となった。また、hAGPの疎水性空洞に取り込まれるクロロプロマジン(CPZ)を共存させた条件でhAGPをCLと混合すると、その発光量はCPZの存在量が増えるにつれて低下した。以上の結果から、hAGPが疎水性空洞にCLを取り込み、酵素のようにふるまい、CLの発光を誘起することを示唆した。

発光色に関わる発光スペクトルについて、CLにhAGP

を混合した場合、CLaseを用いた条件と比較して、最大発光波長($\lambda_{\max}$)が短波長側に20 nm程度シフトしていた(図2)。この短波長シフトの明確な理由は明らかでないが、こうした違いも含めてhAGPとCLaseを比較することにより、CLaseによるCLの高効率な発光のメカニズム解明につながる手がかりが得られるのではないかと考えている。

3. CL発光量とhAGP量の相関関係の検証

hAGPはヒトの血中や尿中にみられるタンパク質であり、癌や心疾患など、各種疾患の進行や治療予後の判定に寄与するバイオマーカーとして注目されている。そこで、発光による簡便かつ迅速なhAGPの定量法を見据え、CL発光量とhAGP量が相関するかを検証した。それにより、少なくともhAGP濃度が0.4 – 10 μ g/mLの範囲で、CL発光量とhAGP量が相関すること($R^2 = 0.9993$)を示した。現在、ヒト由来の実試料を用いた条件での検討をしており、血中hAGPや、尿中の微量なhAGPの発光による定量を見据えて研究を進めている。

■ 関連情報等

Kanie S., Komatsu M., Mitani Y. “Luminescence of Cypridina luciferin in the presence of human alpha 1-acid glycoprotein” *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 7516 (2020)

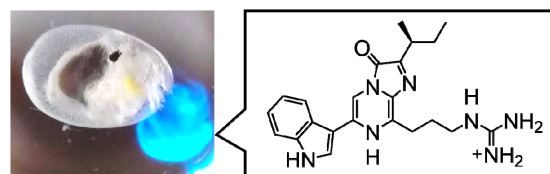


図1. 発光するウミホタルとCLの化学構造

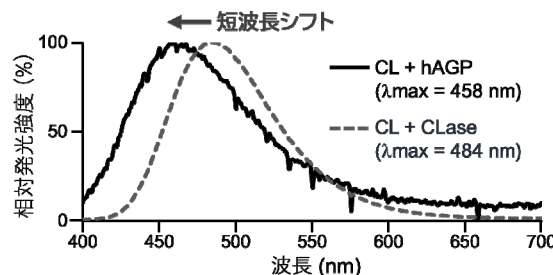


図2. hAGP存在下およびCLase存在下でのCLの発光スペクトルの比較

代表発表者 蟹江 秀星(かにえ しゅうせい)
所 属 国立研究開発法人 産業技術総合研究所
生物プロセス研究部門
問合せ先 〒062-8517 北海道札幌市豊平区月寒東2条17-2-1
TEL:011-857-8410 FAX:011-857-8980
s-kanie@aist.go.jp

■キーワード: (1) ウミホタル
(2) α 1-酸性糖タンパク質
(3) ルシフェリン

■共同研究者: 三谷 恭雄(みたに やすお)
所属 国立研究開発法人産業技術総合研究所
生物プロセス研究部門