

NEW

生細胞で使用できる不可逆的 GST 阻害物質 CNBSF <Irreversible GST Inhibitor>

CNBSF (2-Chloro-5-NitrobenzenSulfonyl Fluoride) は、Glutathione S-transferase (GST) に対する不可逆的な阻害物質です。既知の GST 阻害物質として汎用される Ethacrynic Acid (EA) と比べ、高い阻害活性を示します。また、不可逆的なため長期的な GST の不活性化が可能です。

※本製品は名古屋大学大学院 理学研究科 阿部洋教授の研究成果を元に製品化されました。

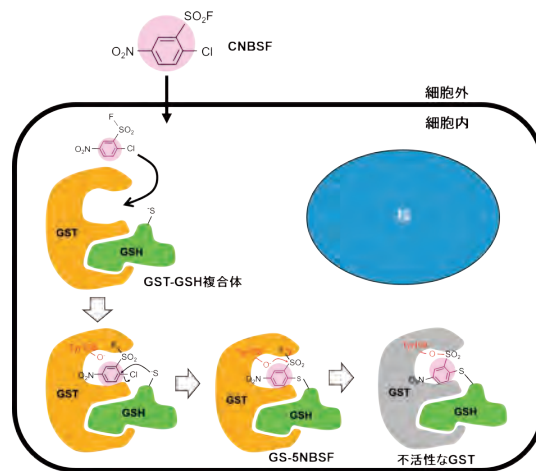
MEMO

BSF 阻害物質を用いた新規 GST 阻害戦略

名古屋大学 阿部洋教授らは、Benzensulfonyl fluoride (BSF) 基を用いた新たな GST 阻害戦略として「細胞内で不可逆的な阻害物質を作り出す」ことに取り組み、生細胞で優れた阻害活性を示す CNBSF の開発に成功しました¹。CNBSF は細胞膜透過性を示し、細胞内に取り込まれた後に GST の異物認識部位である H-site に結合します。GSH は GST の G-site に結合し、GST のタンパク質内部で CNBSF は GSH に付加され GSH 抱合体 (GS-5NBSF) に変換されますが、GS-5NBSF は直ちに GST の Tyr108 (GSTP₁₋₁ の場合) と不可逆的に反応します。この反応により GS-BSF は GST から解離できず H-site、G-site とともに塞がれた状態になるため、GST は不活性となります。従来の競合型阻害物質と比べ、不可逆的に GST を不活性化するため、長期的な阻害が可能です。

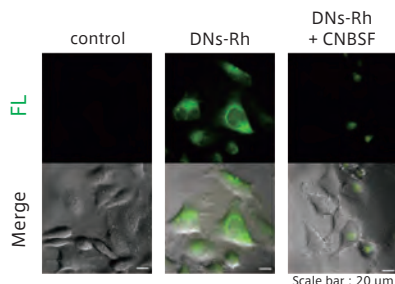
原著論文

1. Shishido, Y., et al., *ChemBioChem.*, **20** (7), 900~905 (2019).
[PMID: 30548113]



特 長

- 膜透過性を有し、生細胞に使用可能です。
- 細胞内で GST により GSH に付加されることで、GST 阻害物質として機能します。
- 質量分析により内在性の GST (GSTP₁₋₁) に共有結合することを確認しています。

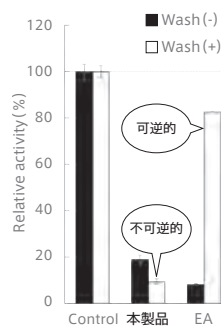


HeLa 細胞に DNs-Rh (#FDV-0030, p.26 参照) を添加し、インキュベート後に蛍光顕微鏡 (Ex 480 / Em 535 nm) を用いて観察した。不可逆的阻害物質 CNBSF を前処理として加え、反応させた。DNs-Rh により細胞内から Rhodamine 110 の緑色蛍光が観察されたが、阻害物質 CNBSF で前処理した場合は、著しく蛍光強度が減少していることが分かる。

※イメージングにおける注意点：DNs-Rh では GST により放出された Rhodamine 110 の細胞内分布を観察しています。蛍光強度をもとに GST の相対活性強度を観察することができますが、GST の細胞内局在を可視化するものではありませんのでご留意下さい。

使用例

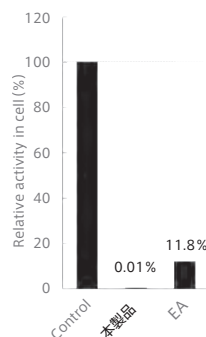
■不可逆的な GST 阻害活性



GSTP₁₋₁ 組換え体を用いて、*in vitro* における阻害活性を評価した。阻害物質存在下で GSTP₁₋₁ を反応させ、限外ろ過による洗浄作業の有無の後、GST 活性測定プローブ DNs-Rh (#FDV-0030, p.26 参照) により GST の活性を評価した。

EA は洗浄後に GST 活性が回復していることから可逆的な阻害物質であることが分かるが、CNBSF は洗浄後も阻害活性が維持されていることから不可逆的に GST を阻害していることが分かる。

■生細胞における GST の阻害活性



NCI-H522 細胞をトリプシンで剥離し、浮遊させた状態で、阻害物質を添加し、インキュベートした。細胞を PBS で洗浄した後、DNs-Rh (#FDV-0030, p.26 参照) を添加し、反応させた。その後細胞を再度 PBS で洗浄し未反応の試薬を取り除いた後、フローサイトメーター (Ex 490 / Em 520 nm) で定量した。CNBSF を添加した細胞では、GST 活性がほぼ完全に消失しており、その効果は EA よりも高いことが分かった。

品 名

メーカー 商品コード

包装 / 価格 (¥)

CNBSF <Irreversible GST Inhibitor> NEW

FNA FDV-0031

10 mg / 30,000