

アミノアシル tRNA 合成酵素を用いる BCAA 分析における 実サンプル計測評価

(広島市大院情報) ○釘宮 章光・河村 星

Evaluation of real sample measurements in BCAA analysis using aminoacyl-tRNA synthetases
(Graduate School of Information Sciences, Hiroshima City University) ○Akimitsu Kugimiya,
Akari Kawamura

A novel enzymatic analysis method for each valine, leucine, and isoleucine was developed using valyl-tRNA synthetase, leucyl-tRNA synthetase, and isoleucyl-tRNA synthetase, respectively and binding abilities and specificities of each enzyme were evaluated. The analysis of each valine, leucine, and isoleucine concentration in real food sample was also examined with the aim of demonstrating the reliability of the system. The absorbances at 560 nm changes with varying initial valine, leucine, and isoleucine concentrations and the absorbance increased in proportion to the corresponding amino acid concentration, and a linear relationship was obtained from 2 to 75 μM each amino acid selectively.

Keywords : Amino acid; Aminoacyl-tRNA synthetase; BCAA; Biosensing

血液中の 20 種類のアミノ酸濃度を計測することで各種病態の診断が可能なが知られている [1]。我々は 20 種類の各アミノ酸濃度を、アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) を分子認識材料に用いて検出する方法について研究を行っている [2, 3]。本研究では分岐鎖アミノ酸のバリン、ロイシン、イソロイシンそれぞれを aaRS 酵素を用いて選択的に計測する方法について検討し、また実サンプルを用いる評価についても行った。

大腸菌由来のバリン結合性 aaRS である ValRS、0~200 μM バリン、2 mM アデノシン三リン酸、2 mM 塩化マグネシウムを 200 mM HEPES 緩衝液 (pH 8.0) に溶解し、40°C で 30 分間反応させた。この反応液にトリンダー試薬を添加して呈色反応させ、マイクロプレートリーダーで 560 nm の吸光度を測定することで反応性の評価を行った。大腸菌由来のロイシン結合性 aaRS、イソロイシン結合性 aaRS についても同様に評価を行った。

その結果、2~75 μM バリン、2~50 μM ロイシン、1~150 μM イソロイシンに対してそれぞれ選択的に定量可能であることを示した。これにより、これまで酵素法では困難であった BCAA それぞれの選択的な濃度の計測が aaRS 酵素を用いることで可能であることを示した。また、実サンプルを用いる評価についても行い、夾雑物質の影響を受けることなく目的の BCAA が計測可能であることを示した。

[1] Y. Miyagi et al., *PLoS ONE*, **2011**, 6, 1.

[2] A. Kugimiya et al., *Sci. Rep.*, **2022**, 12:3427.

[3] A. Kugimiya et al., *Biomed. Mater. Dev.*, **2023**, 10th, Apr.