

サルフェン硫黄を系の中に加えたい

使用製品

-SulfoBiotics- Sodium disulfide (Na ₂ S ₂)	[SB02]
-SulfoBiotics- Sodium trisulfide (Na ₂ S ₃)	[SB03]
-SulfoBiotics- Sodium tetrasulfide (Na ₂ S ₄)	[SB04]
-SulfoBiotics- Sodium Polysulfide Set	[SB13]
-SulfoBiotics- SSP4	[SB10]

解析装置



I はじめに

近年、硫黄原子が連結したパースルフィドやポリスルフィドのようなサルフェン硫黄 (Sulfane Sulfur; 硫黄原子にのみ共有結合した硫黄の総称) を含む分子種が生体内に多く存在していることが明らかにされている¹⁾。このような分子種は、硫化水素の産生や貯蔵、放出だけでなく、S-スルフィドリル化などのタンパク質内チオールをターゲットとしたシグナル伝達にも関与していることが示唆されており、非常に注目されている^{2,3)}。また、パースルフィドやポリスルフィドは、

一般的な還元物質であるシステインやグルタチオンよりも還元能が非常に高いため、抗酸化物質として機能している可能性も示唆されている。

Sodium polysulfide (Na₂S_n) は、サルフェン硫黄を含む分子として最も単純な構造を有するサルフェン硫黄ドナーであり、水溶液中では各 pKa に応じて Hydrogen polysulfide (anion) として存在する。本試薬類は、パースルフィドやポリスルフィドのようなサルフェン硫黄 (Sulfane Sulfur) を含む分子種の生体内機能の解明や解析に有用である。

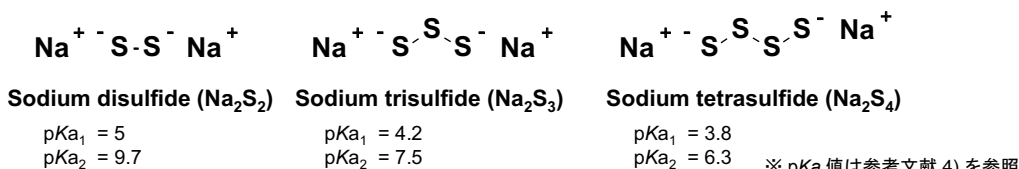


図 1 Sodium polysulfide の構造

II 使用方法

- Na₂S_n を秤量し、超純水(窒素バブリング処理済)を添加し、100 mmol/l Na₂S_n 水溶液を調製する。
(例: 100 mmol/l Na₂S_n 水溶液; Na₂S₂ 11 mg/ml, Na₂S₃ 14.2 mg/ml, Na₂S₄ 17.4 mg/ml)
- この溶液を実験に応じて超純水(窒素バブリング処理済)で希釈し、ご使用ください。

- 20 μmol/l SSP4 Working Solution 100 μl をウェルに添加し、CO₂ インキュベーター (37°C) 内で 15 分間静置した。
※ 20 μmol/l SSP4 Working Solution の調製法は、「サルフェン硫黄を蛍光検出したい」の項を参照。
- 上清を除去した後、PBS で細胞を 2 回洗浄した。
- PBS 100 μl をウェルに添加した後、蛍光顕微鏡を用いて細胞を観察した。

<実験例>

Sodium trisulfide (Na₂S₃) 添加による細胞内サルフェン硫黄量変化

- 96-well black clear bottom plate に CHO 細胞 を 1.0 × 10⁴ cells/well (DMEM) となるように播種し、CO₂ インキュベーター (37°C) 内で一晩培養した。
- 上清を除去した後、無血清培地 (DMEM) で細胞を 2 回洗浄した。
- 100 μmol/l Sodium trisulfide (Na₂S₃) を含む無血清培地 (DMEM) 100 μl を各ウェルに添加し、CO₂ インキュベーター (37°C) 内で 15 分間静置した。
- 上清を除去した後、無血清培地 (DMEM) で細胞を 2 回洗浄した。

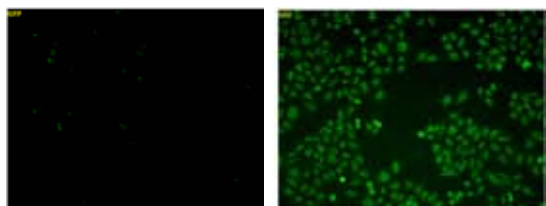


図 2 Sodium trisulfide (Na₂S₃) 添加による細胞内サルフェン硫黄の増加 (SSP4 を用いた細胞内イメージング)

III 注意事項

- ※ 使用する超純水は使用前に 30 分間以上、窒素バブリングを行ってください。溶存酸素によって酸化される可能性があります。
- ※ 調製した Na₂S_n 水溶液は、保存できません。溶液調製後、すぐにご使用ください。

参考文献

- T. Ida, T. Sawa, H. Ihara, Y. Tsuchiya, Y. Watanabe, Y. Kumagai, M. Suematsu, H. Motohashi, S. Fujii, T. Matsunaga, M. Yamamoto, K. Ono, N. O. Devarie-Baez, M. Xian, J. M. Fukuto and T. Akaike, "Reactive cysteine persulfides and S-polythiolation regulate oxidative stress and redox signaling", *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **2014**, *111*, 7606.
- Y. Kimura, Y. Mikami, K. Osumi, M. Tsugane, J. Oka and H. Kimura, "Polysulfides are possible H₂S-derived signaling molecules in rat brain", *FASEB J.*, **2013**, *27*, 2451.
- S. Koike, Y. Ogasawara, N. Shibuya, H. Kimura and K. Ishii, "Polysulfide exerts a protective effect against cytotoxicity caused by *t*-butylhydroperoxide through Nrf2 signaling in neuroblastoma cells", *FEBS Lett.*, **2013**, *587*, 3548
- J. Gun, A. D. Modestov, A. Kamysny Jr., D. Ryzkov, V. Gitis, A. Goifman, O. Lev Email author, V. Hultsch, T. Grischek, E. Worch, "Electrospray Ionization Mass Spectrometric Analysis of Aqueous Polysulfide Solutions", *Micromol. Acta*, **2004**, *146*, 229.

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
ミトコンドリア関連試薬
細菌研究用試薬
膜タンパク質可溶化剤
ラベル化剤
二価性試薬
イオン電極
その他
機能性有機材料