

## 29【P1】 I -143

固定化抗体カラムを用いるヒストン-胆汁酸付加体解析手法の検討

○春日 紀恵<sup>1</sup>, 眞野 成康<sup>1</sup>, 小林 典裕<sup>2</sup>, 後藤 順一<sup>1,3</sup> (<sup>1</sup>東北大院薬,<sup>2</sup>神戸薬大,<sup>3</sup>東北大病院薬)

【目的】胆汁酸のようなカルボン酸誘導体は、生体内における代謝過程でしばしば CoA チオエステルに誘導されるが、その中間体として反応性の高いアシルアデニレートを生成する。当研究室ではこれまで、胆汁酸アシルアデニレートが、非酵素的条件下で蛋白質やペプチドなどの N 末端あるいはリジン残基側鎖のアミノ基と求核置換反応を起こし、胆汁酸付加体を生成することを報告している。ところで、核内ヒストン H3 の N 末端部は翻訳後修飾を受けやすく、それがシグナル伝達制御に深く関与するが、こうしたアシルアデニレートを介する蛋白質付加体生成に伴う翻訳後修飾の変化が、毒性発現に関与する可能性が示唆される。そこで今回、二次胆汁酸であるデオキシコール酸 (DCA) のアシルアデニレートを調製し、ヒストン H3 との付加体生成の可能性を検討すると共に、DCA 付加部位の解析手法について検討した。

【方法】ヒストン H3 に対し 10 当量の DCA アシルアデニレートを加え、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中、37°C で 24 時間インキュベートした。脱塩後、Arg-C を用いて蛋白質を断片化し、抗 DCA モノクローナル抗体固定化カラムを用いて DCA 付加ペプチドを抽出した後、溶出画分を MALDI-TOFMS にて測定した。

【結果・考察】ヒストン H3 は DCA アシルアデニレートと容易に反応し、9 種の DCA 付加ペプチドが生成した。固定化抗体カラムを用いることにより、DCA 付加ペプチドを効率良く抽出することが可能であり、本法が細胞内の胆汁酸付加蛋白質の探索にきわめて有用であると期待できる。