

28AB-am174

フェニルグリオキサールの反応性に基づいたシトルリン検出蛍光プローブの開発
○山内 啓雅¹, 川口 充康¹, 家田 直弥¹, 中川 秀彦¹ (1名市大院薬)

【目的】シトルリンは非コードアミノ酸の一種であり、生体内ではアルギニン側鎖が NOS や PAD といった酵素により脱イミノ化され生成する。特に PAD によるペプチド性アルギニン残基のシトルリン化は、翻訳後修飾の一つとして近年注目されており、PAD4 によるヒストンのシトルリン化は関節リウマチを代表とする様々な病態との関連性が示唆されている。そのため、シトルリン検出プローブは PAD 活性検出に利用でき、阻害剤探索スクリーニングに用いることができる。近年、酸性条件下においてフェニルグリオキサールがシトルリンと特異的に環化反応を起こすことが報告された。そこで我々は、この環化反応を利用して d-PeT 機構の制御による turn-on 型蛍光プローブの開発を目指した。

【方法】フルオレセインにグリオキサール構造を修飾した Flu-Glyoxal と、そのシトルリンとの環化生成物である FG-Citrulline を合成し、シトルリンとの反応前後における蛍光変化を測定し、turn-on 型蛍光プローブとしての有用性を評価した。また、Flu-Glyoxal とシトルリンを水中酸性条件下で反応させ、HPLC で分析した。

【結果および考察】Flu-Glyoxal はフルオレセインと比較して蛍光量子収率が大幅に低下し、d-PeT が効率的に起きていることが示唆された。また、シトルリンとの環化生成物である FG-Citrulline は蛍光量子収率がフルオレセインと同程度に回復し、d-PeT による消光が解除されることが示唆された。さらに、Flu-Glyoxal とシトルリンを水中酸性条件下で反応させた際の HPLC 分析から、シトルリンとの環化生成物である FG-Citrulline が系中で生成していることが示唆された。これらの結果より、Flu-Glyoxal はシトルリン検出蛍光プローブとして機能しうることが示唆された。