

28S-pm02

簡便かつ高感度な Sirtuin 活性蛍光検出系の構築

○川口 充康¹, 池川 祥平¹, 家田 直弥¹, 中川 秀彦¹ (1名市大院薬)

【目的】 Sirtuins (SIRT1-7) は酵母 Sir2 の哺乳類ホモログであり NAD⁺依存的に脱アセチル化活性を示し、代謝調節、ゲノム DNA の安定化、ストレス応答などに関与している。SIRT6 は、がんの代謝を制御するがん抑制遺伝子であり、大腸がんや膵臓がんにおいて発現低下が見られる。SIRT6 は HIF-1 α を介する解糖系の亢進を抑制するため、がんにおいて見られる“Warburg 効果”の分子スイッチであると考えられる。即ち、SIRT6 活性化剤は Warburg 効果を抑制し、抗がん剤として機能する可能性がある。そこで、SIRT6 活性化剤を HTS により得ることができれば抗がん剤の候補となり得る。しかしながら、これまでに報告されている SIRT 活性の検出法は i) 多段階の反応を必要とする、ii) 酵素基質が不安定など HTS に適用する上で、実用性の観点から最適であるとは言い難い。本研究では、煩雑な操作を必要としない簡便な SIRT 活性検出系の構築を目指した。

【方法・結果】 2013 年に SIRT6 は脱ミリスチル活性を示すことが報告され、その後 SIRT1 を始め、他の SIRT family も長鎖脂肪酸への脱アシル化活性を持つことが示された (*Nature* 2013, 496, 110, *JBC* 2013, 288, 31350)。この知見を基に、SIRT は平面性の高い消光団であっても認識でき、そのアシル基を切断する活性を持つと仮定し、H3K9 のリジン残基の側鎖アミノ基に消光団を結合させた FRET 型蛍光プローブの合成を行い SIRT6 との反応性を検討した。その結果、SIRT6、NAD⁺依存的な蛍光強度上昇が確認され、HPLC 解析によって消光団アシル基が切断を受けることが確認された。さらに、SIRT1 を用いた際にも同様の酵素反応が起こることが示された。本系は極めて簡便かつ高感度な SIRT 活性検出系として機能すると考えられる。