

26PB-am008

N^1 -アセチルポリアミン酸化酵素活性測定法の開発

北澤 友貴¹, ○高尾 浩一¹, 杉田 義昭¹ (¹城西大・薬)

【目的】スペルミン、スペルミジンに代表されるポリアミンは、細胞の増殖や分化に必須の成分であり、その細胞内濃度は生合成酵素、代謝酵素、輸送系により厳密に調節され、細胞機能調節に深く関わっている。アセチルポリアミン酸化酵素 (AcPAO) は、スペルミジン/スペルミン- N^1 -アセチルトランスフェラーゼによりアセチル化されたスペルミンやスペルミジンをそれぞれスペルミジン、プトレシンへと酸化分解する酵素であり、後に発見されたスペルミンを直接スペルミジンへと酸化分解するスペルミン酸化酵素と共に、脳虚血再灌流障害において重要な役割を担っていることが報告されている。一方、現在汎用されている AcPAO 活性測定法は過酸化水素を測定する方法やポリアミンを測定する方法であり、内在因子の影響を強く受けることが予想される。そこで本研究では、より高感度で信頼度の高い AcPAO 活性測定法の開発を目的とした。

【方法】以前の当研究室の報告を基に、 N^1, N^2 -ジピリジルスペルミン (DiPy343) を基質としてデザインし合成した。酵素活性は、1 mM EDTA、0.56 mM aminoguanidine、0.036 mM pargyline、DiPy343 を含む 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 9.0) に His-tagged hAcPAO を加え、37°C で一定時間インキュベートし、20% トリクロロ酢酸を等量加え反応停止後、遠心上清を蛍光検出逆相 HPLC により測定し評価した。

【結果および考察】2-ピリジル標識ポリアミンの合成では、2-プロモピリジンとポリアミンの反応性の低さや、合成時の N -(3-プロモプロピル)- N -(2-ピリジル)-アミンの環化などの問題が生じたが、原料に N -(3-プロモプロピル)- N -(1-ボロピリジン-2-イル)アミンを用いることで合成可能となった。本基質により、AcPAO 活性の高感度検出が可能となり、現在、培養細胞試料への応用を検討中である。