

22PO-am103

アイソザイム非依存的な PAD 活性検出蛍光プローブの開発

○國枝 一輝¹, 川口 充康¹, 家田 直弥¹, 中川 秀彦¹ (1名市大院薬)

Peptidyl Arginine Deiminases (PADs) は生体内でペプチド性アルギニン側鎖のシトルリン化を触媒する酵素である。シトルリン化はわずかな分子量の変化にも関わらず、グアニジノ基の電荷の消失とそれに伴う疎水性の上昇によりタンパク質の構造や機能などダイナミックな変化を引き起こす点で非常に興味深い。また、種々の疾患との関連も指摘されていることから、PADs は魅力的かつ新たな創薬標的であると考えられる。そのため疾患治療薬開発を志向した PAD 活性検出系が開発されてきた。しかし、PAD 活性を簡便かつ高感度に検出できる評価系はこれまでに存在しなかった。そこで当研究室ではフェニルグリオキサール構造が酸性条件下でシトルリンと特異的に環化反応を起こすことに着目し、d-PeT (donor-exited Photoinduced electron Transfer) 機構の制御による新規シトルリン検出 turn-on 型蛍光プローブ **FGME** を開発し、簡便な PAD4 活性検出を実現した。

しかし、グリオキサールの高い求電子性に起因する水和物の生成により、d-PeT 機構の非効率化、即ち感度低下が課題として残された。そこで、2011 年に長野らが報告した過酸化水素プローブ NBz (*JACS*, 2011, 133, 10629) を参考に、benzil 構造が d-PeT 消光を起こすとともに、酸性条件下でシトルリン特異的に環化を引き起こすことを期待した。合成した 7 種の benzil 型プローブは光学特性評価から期待通り d-PeT 機構の消光を受けることが明らかになった。中でも反応性と消光効率に優れた **4MEBz-FluME** は、PAD4 に比べシトルリン化能が低い PAD2 活性をも検出可能な、高感度な PADs 活性検出プローブであることが示された。この高感度化による単一プローブを用いた複数の PAD アイソザイムの活性検出系の構築は、疾患治療薬開発のためのケミカルスクリーニングの一助となることが期待できる。