

発光タンパク質フォラシンの発光機構に関する研究

研究期間: 2017~2018年

研究背景・目的

フォラシンとは:

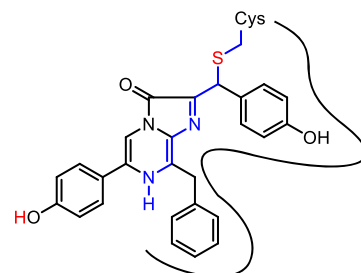
ヒカリカモメガイ由来の発光タンパク質であり、発光を司る化学構造であるクロモフォアが活性部位に存在している。デヒドロセレンテラジンがこのクロモフォアを構成しており、活性酸素種の刺激により発光する。

目的:

本研究では、クロモフォアの化学構造を明らかにし、活性酸素種の役割を解明するために、デヒドロセレンテラジン誘導体を化学合成し、これを分子プローブとして用いることを目的とした。



ヒカリカモメガイ・発光器・発光



クロモフォアの推定化学構造

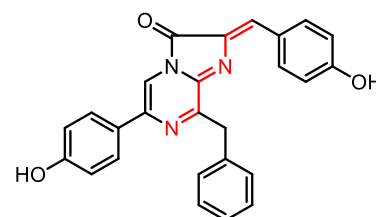
実験概要

1) デヒドロセレンテラジン (DCL) 誘導体の化学合成

天然型DCLより明るく発光する誘導体の創成をめざし、様々な誘導体を合成することにした。クロスカップリング反応を利用して市販のアミノピラジンから合成することにした。

2) 不活性化アナログの化学合成

フォラシンのX線結晶構造解析はクロモフォアを含む活性部位の化学構造を解明するための強力な手法である。そこで、活性部位に結合するが、発光しない不活性化アナログを合成し、フォラシンの構造を固定して、X線結晶構造を目指すことにした。

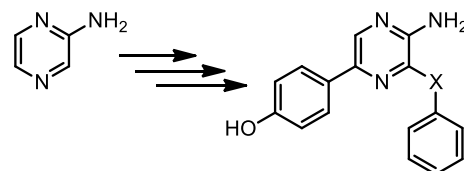


デヒドロセレンテラジンの構造

結果と考察

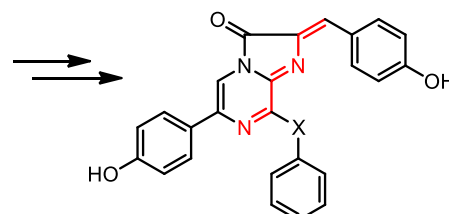
1) デヒドロセレンテラジン (DCL) 誘導体の化学合成

市販の2-アミノピラジンを出発物質として、ハロゲン化、そしてクロスカップリング反応を利用して様々なDCL誘導体を合成することに成功した。



2) 不活性化アナログの化学合成

DCLの窒素原子をすべて炭素に置換した誘導体を合成した。このアナログは天然由来のフォラシンの発光活性を低下させることが判明した。



デヒドロセレンテラジン誘導体の合成

発表論文

1. 森口 舞子 ; 井庭 早耶香 ; 久世 雅樹. 生物発光を担う天然有機分子 : セレンテラジン・デヒドロセレンテラジン類の化学合成. *有機合成化学協会誌*, 76 (10), 1000-1009 (2018).
2. Nguyen, H.T.H, Bouteau, F., Mazars, C., Kuse, M., Kawano, T. The involvement of calmodulin and protein kinases in the upstream of cytosolic and nucleic calcium signaling induced by hypoosmotic shock in tobacco cells. *Plant Signaling & Behavior*, e1494467, 1-7 (2018).
3. Nguyen, H.T.H, Bouteau, F., Mazars, C., Kuse, M., Kawano, T. Enhanced elevations of hypoosmotic shock-induced cytosolic and nucleic calcium concentrations in tobacco cells by pretreatment with dimethyl sulfoxide. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, in Press (2018). DOI: 10.1080/09168451.2018.1533801

学会発表

1. 井庭早耶香, 久世雅樹, 滝川浩郷. 発光タンパク質 (フォラシン) 阻害剤のデザインと合成. 日本農芸化学会 関西・中四国・西日本支部 2017年度合同大阪大会, 2017年9月.

共同研究先

北九州市立大学 国際環境工学研究科

河野智謙 教授

研究費

JSPS科研費 JP17H04621