

29【P2】 I -331

スクリーニングに適したコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 活性測定法の開発
○柴 和弘¹, 井出 新吾², 安田 江梨子², 森 厚文¹, 矢嶋 一賀³, 村上 佳裕³ (¹金沢大学学際科学,²金沢大医保健,³先端医薬)

【目的】アルツハイマー病の神経化学的变化の中で最も大きく変化しているものとしてコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) が知られている。しかし、ChAT に特異的に作用または親和性を有する化合物がほとんど知られていないため、ChAT イメージング剤の研究はほとんど行われていない。そこで、我々は ChAT イメージング剤の開発を目指し、その第一段階として、強い ChAT 活性阻害または増強作用を有する物質を発見するためのスクリーニング法の開発を目指し基礎検討を行った。これまでの ChAT 活性測定法は基質であるコリンや acetyl-CoA と生成物であるアセチルコリンの分離操作が煩雑であるため、スクリーニングに適していないことから、マイクロプレートを使った溶媒抽出法による分離操作不用の方法を考案した。

【実験】実験は[3H]acetyl-CoA とラット脳ホモジナイズをマイクロプレート内で反応させた後、tetraphenylborate、有機溶剤、液体シンチレータを種々の条件で加えることにより、生成した[3H]acetylcholine ([3H]ACh)の放射能のみをマイクロプレート用液体シンチレーションカウンタで測定できるか検討した。

【結果】その結果、反応液(50uL)に tetraphenylborate/酢酸エチル/マイクロシンチ[0](0.3mg/40uL/160uL)を加えることにより、[3H]ACh の抽出率は90%以上、[3H]acetyl-CoA の混入率は0.4%以下と[3H]ACh のみを選択的に測定することができた。この方法により、化合物の ChAT の活性阻害の程度を簡単に測定することが可能となった。