

29-0171 W52-5

チオール基応答型蛍光プローブの特性評価とそれを用いる新規コリンエステラーゼアッセイ法の開発

前田 初男¹, 松野 宏美¹, ○片山 貢平¹, 牛田 真衣¹, 山内 雄二¹ (¹ 阪大院薬)

【目的】コリンエステラーゼ (ChE) 活性測定は一般にラジオアッセイや Ellman 法により行われる。しかし、前者には分離操作が不可欠であり、後者には吸光度分析のため感度が低いという欠点がある。そこで、これらの問題点を解決すべく、今回我々はチオール基応答型蛍光プローブの設計・開発に取り組んだ。さらに、開発した蛍光プローブを用いて Alzheimer 型痴呆症治療薬のスクリーニング法としても非常に重要である簡便・高感度な ChE 活性測定法ならびに ChE 阻害薬の阻害活性測定法の構築を試みた。

【方法】**1** の蛍光プローブ特性は蛍光プレートリーダーまたは蛍光光度計を用いて評価した。**1** は EtOH 溶液を緩衝液により 200 倍に希釈して用いた。

【結果および考察】グルタチオン等のチオール化合物に対して **1** は、数百 $M^{-1}s^{-1}$ という良好な速度で反応するとともに、良好な定量性を示した。また、acetylthiocholine または butyrylthiocholine を用いると、それぞれ acetyl ChE (AChE) および butyryl ChE (BChE) の活性測定が短時間でできた。このアッセイ系を活用することにより、ChE 阻害薬の AChE および BChE に対する IC_{50} が測定できた。Alzheimer 型痴呆症治療薬である donepezil を用いて同様の実験をしたところ、AChE に対して高選択的に阻害作用を示すことが確認できた。従って、**1** を用いることにより新規 ChE アッセイ法が構築できることを明らかにした。

