

28R-am05

グルクロン酸抱合反応を可視化する蛍光プローブの開発 (その2)

○富安 里江^{1,2}, 浦野 泰照^{1,3}, 長野 哲雄^{1,2} (¹東大院薬, ²JST CREST, ³JST PRESTO)

【目的】現在、薬剤の薬物代謝酵素に対する反応性や阻害活性の網羅的な測定は、薬効・副作用の個人差や、薬物間相互作用などを予測する上で非常に重要となっている。薬物代謝酵素の中でも、シトクロム P450 に関しては薬剤の阻害活性測定の高throughput screening (HTS) 系が既に存在している。しかしながら代表的な抱合反応酵素であるグルクロン酸転移酵素 (UGT) に関しては実用的な HTS 系が存在せず、未だに HPLC 等の精製装置による分離分析が主流である。そこで本研究では UGT に対する阻害活性測定の高throughput screening 系を確立すべく、抱合化により蛍光強度が大きく上昇する蛍光プローブの開発を目的とした。

【方法】UGT 反応前後の電子密度変化を利用して、光誘起電子移動 (PeT) により発蛍光制御を行うプローブ設計が可能であることを昨年発表した。本年はまず UGT 基質となりうる蛍光団を系統的に探索し、フルオレセインのカルボキシル基を別の置換基に置き換えた一部のフルオレセイン誘導体類は、キサンテン環のヒドロキシル基が UGT 基質となることを見いだした。そこでキサンテン環のヒドロキシル基はアニオン型と抱合型で電子密度が大きく変化することを利用して、PeT を制御原理とする発蛍光型の蛍光プローブを開発し、それらの蛍光プローブの UGT 反応による反応性と蛍光特性の変化を観察した。

【結果と考察】ベンゼン環部位の電子密度を低下させ d-PeT により消光したフルオレセイン誘導体類の一部は、UGT 反応の進行に伴い蛍光強度が数十倍に上昇することが示され、高感度かつ実用性の高い蛍光プローブの開発に成功した。今後はより簡便かつ実用的な HTS 系の構築を目指し、諸条件を最適化していく予定である。