

30P2-pm069

蛍光性 DAG lacton 誘導体の合成と PKC リガンドの新規スクリーニング法の開発
野村 渉¹, 〇湊 夏来^{1,2}, 奥田 善章¹, 大橋 南美¹, 鳴海 哲夫¹, 相川 春夫¹,
玉村 啓和¹(¹東京医歯大生材研, ²東京医歯大疾患生命研)

【目的】プロテインキナーゼ C(PKC)は生体の機能調節において重要な働きを担っており、がんやアルツハイマー型痴呆症などの疾患への関与が示唆されていることから創薬ターゲットとして注目されている。既知の PKC リガンド骨格は限定されているため新規化合物の探索が必要とされている。ケミカルライブラリーを用いた探索ではハイスループット処理が可能な評価系が必要である。そこで PKC リガンドに蛍光基を導入したプローブを用いた評価系の開発を目指すこととした。

【方法】PKC の内在性リガンドであるジアシルグリセロール(DAG)の環化誘導体(DAG lacton)は優れた PKC 結合活性を有している。この DAG lacton を基に、数種類の蛍光プローブを合成し、遊離状態のプローブと PKC 結合時のプローブの蛍光強度の差からリガンドの活性評価を行う蛍光アッセイ法の開発を行った。合成したプローブは RI アッセイによる PKC 結合能の評価および蛍光滴定実験による蛍光強度変化の評価を行った上でハイスループットスクリーニングに利用した。

【結果及び考察】合成した蛍光プローブの検討を行ったところ、ラクトン環の alpha 位に 6-メトキシナフタレンを導入した化合物が最もプローブとして適していた。しかし本グループは環境応答性蛍光基であるため細胞膜近傍では蛍光強度が増大し、S/N 比が悪化することが示唆された。今後導入する蛍光基を検討することで蛍光強度変化によってリガンドの PKC 結合活性を精密に検出する系の構築を目指す。

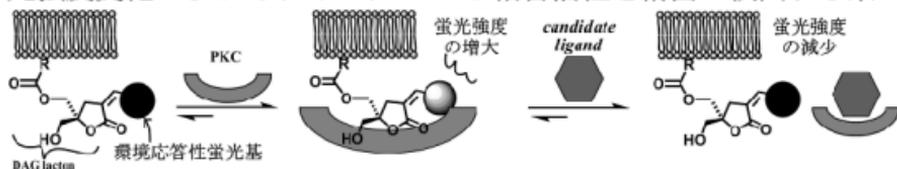


図. 蛍光を利用したアッセイ系の概略