

30E02-pm06

ビスコクラウリン型アルカロイドと固定化熱ショックタンパク質との相互作用の評価とその応用

○松永 久美¹, 北畠 智子¹, 廣瀬 伊世¹, Ruin MOADDEL², 萩中 淳¹(¹武庫川女大薬,²米国国立衛研)

【目的】熱ショックタンパク質 (Hsp) はがん細胞の増殖に関与しており, Hsp90 阻害剤は抗がん活性を有している. 今回, アミノプロピルシリル化 (APS) シリカ粒子に Hsp90 を固定化し, 抗がん作用を有するビスコクラウリン型アルカロイド [セファランチン (CT), ベルバミン (BB), イソテトランドリン (IT), シクレアニン (CA)] と Hsp90 との相互作用を検討した.

【方法】(1) Hsp90 固定化カラムの調製: APS シリカ粒子をグルタルアルデヒドで活性化し, ヒト Hsp90 と反応後, N 末端固定化 Hsp90 (Hsp90-NT) を, また Hsp90 を 1-ethyl-3-(3-methylaminopropyl)carbodiimide で活性化後, APS シリカ粒子に固定化することにより C 末端固定化 Hsp90 (Hsp90-CT) を調製し, ガラスカラムにそれぞれ充填した. (2) Hsp90 との相互作用の検討: 前駆分析法を用いて, これらアルカロイドと Hsp90 の解離定数 (K_d) を評価した. また, Hsp90 カラム上でのこれらアルカロイドの保持係数 (k) も併せて測定した.

【結果および考察】Hsp90-NT と Hsp90-CT カラムを用いて評価したビスコクラウリン型アルカロイドと Hsp90 との相互作用は, CT>BB>IT>CA の順であり, K_d (5.3 ~ 160 μ M) と k (27 ~ 6.8) との間には負の相関が認められた. また, それぞれのアルカロイドと Hsp90-NT および Hsp90-CT カラムとの K_d 値が, それぞれほぼ同等であったことから, これらのアルカロイドは Hsp90 のミドルドメインと相互作用していると推測された. 現在, Hsp90 カラムの抗がん活性体の探索への適用を検討中である.