

28AB-am167S

ワンステップ ORL-1 受容体結合実験確立のためのペプチド性 FRET プロープの開発

○杉野 千尋¹, 河野 奨¹, 安保 明博², 白木 孝¹, 中井 裕士¹ (¹姫路獨協大薬, ²東北薬大)

【目的】オピオイドペプチドはその特徴的な鎮痛活性ために、様々な構造活性相関の研究が行われており、生理活性に必須なアミノ酸残基や受容体の選択性に関わるアミノ酸残基なども詳細に検討されている。この構造活性相関の研究にはオピオイド受容体との親和性を検討する事は不可欠である。一般的に受容体の結合実験は対応するリガンドを放射性同位元素 (HOT) や蛍光色素で標識して、遊離型リガンドと結合型リガンドの分離操作 (B/F 分離) を必要としている。従って、多検体を同時に処理することは困難であった。近年、蛍光物質の開発や測定機器の進歩に伴い、HOT に劣らない高感度で蛍光物質の測定が可能になり、結合実験を一般の実験施設でも行えるようになってきている。そこで受容体結合実験を一般実験室で多検体を効率よく処理するために fluorescence resonance energy transfer (FRET) を利用した、B/F 分離の不要なワンステップ結合実験系のためのペプチド性蛍光プロープの開発を行った。

【方法】ペプチドリガンドは一般的な Fmoc 固相合成法を用いて合成し、蛍光ラベル化は Dansyl Chloride を用いた。結合実験は一定濃度のペプチド性蛍光プロープに、様々な濃度の ORL-1 受容体膜標本を用い、蛍光分光光度計にて、蛍光スペクトルおよび、蛍光強度を測定した。

【結果】ペプチドライブラリー由来 ORL-1 受容体リガンドである Ac-RYYRIK-NH₂ を蛍光ラベルしたものについて、ORL-1 受容体膜標本の濃度依存的に蛍光強度の増加が認められた。

【考察】Ac-RYYRIK-NH₂ を蛍光ラベルしたペプチド性蛍光プロープは、有望な FRET プロープになると考えられる。