

27PA-am006S

Pathway-oriented screening 法による解糖系酵素阻害剤の探索

○柳 光一¹, 小松 徹^{1,3}, 小島 宏建⁵, 岡部 隆義⁵, 長野 哲雄⁵, 浦野 泰照^{1,2,4} (東大院薬,²東大院医,³JST さきがけ,⁴AMED CREST,⁵東大創薬機構)

【目的】 多くのがんでは解糖系が亢進しており、解糖系に関わるタンパク質の多くは重要な創薬標的として着目されている。生体内で解糖系に関わる酵素は代謝物やシグナルによって複雑に制御されており、これらの酵素活性を正しく評価するには生細胞を用いて評価することが必要である。そこで我々は生細胞レベルで解糖系に関わる酵素群の活性を評価する系を構築し、これを用いた解糖系阻害剤スクリーニングによって抗がん剤候補化合物を探索する研究を行った。

【方法・結果】 解糖系の基質である glucose(input)を生細胞に添加し、解糖系の最終産物として細胞外へ放出される L-lactate(output)を検出することで解糖系の酵素活性を評価する系を構築した。このような、input、output を定めて特定の代謝経路を標的とする阻害剤スクリーニング法(pathway-oriented screening)をおこなうことで、目的の代謝経路に関わるタンパク質を制御する化合物を網羅的に取得することができると考えた。図のように、細胞外に放出される L-lactate を乳酸脱水素酵素 LDH 存在下ピルビン酸に変換し、この際に生じる NADH と反応して蛍光性となる蛍光プローブを開発することで、output である L-lactate を *in situ* で検出する評価系を構築した。実際に、この評価系を用いて解糖系阻害剤スクリーニングを行ったところ、これまで知られていなかった生細胞レベルで機能する解糖系阻害剤を新たに見出すことに成功し、本スクリーニング系の有用性が確かめられた。

