

Development of highly sensitive analytical method for biologically relevant materials and its pharmaceutical applications

荒川 秀俊 (Hidetoshi ARAKAWA)

昭和大薬 (Showa University, School of Pharmacy)

薬学における分析化学の重要な研究課題の一つは病気の診断、治療、さらには病態の解析などを可能とする分析法の開発にあると考え、研究課題は生体試料中の特定成分の高感度測定法の開発とした。課題を大きく分けると、特異的親和力を利用する方法としてのイムノアッセイやDNAハイブリダイゼーション、迅速な分離法のキャピラリー電気泳動、さらにこれら分析法をより高感度化するための化学・生物発光反応の開発である。測定対象は、ホルモン、腫瘍マーカー、薬物、活性酸素種、ならびに遺伝子などを取り上げた。

1. 化学発光・生物発光反応を検出系とする酵素免疫測定法 (EIA) の開発

この研究では発光反応を検出系とするEIA、および抗体と標識抗原間との親和力による高感度化について検討した。その結果、ペルオキシダーゼをはじめ7種の標識酵素の化学発光・生物発光法を確立した。また親和力に関しては、抗体と酵素標識抗原を作製する際の誘導体の影響について検討し、ステロイドやペプチドホルモンの高感度化を可能とした。

2. 生物発光反応を検出系とするDNA多型解析法

この研究では遺伝子診断法の高感度化について検討した。研究では、DNA合成時副生成するピロリン酸をPPDK (Pyruvate phosphate dikinase) でATPに変換し、ルシフェラーゼ反応で検出する遺伝子高感度分析法を確立した。本法は、SNPs解析やテロメラーゼ分析に応用した。

3. キャピラリー電気泳動によるDNA解析と遺伝子診断への応用

遺伝子上の一塩基置換の解析は、遺伝病の診断をはじめ薬物代謝能の予測にも利用可能なことから、本研究ではキャピラリー電気泳動による一本鎖DNA高次構造多型 (SSCP) 解析について検討し、ras遺伝子や骨粗鬆症に関与する遺伝子多型の解析を可能とした。

4. フリーラジカル及び活性酸素の化学・生物発光測定

この研究ではカテキンの過酸化水素生成能と殺菌作用との関係について微生物学的検証を含め検討した。その結果、その殺菌作用はカテキンのポリフェノール部位から生成する過酸化水素濃度に大きく依存することを明らかにした。現在、この研究は、整腸剤として利用されている生薬成分などに対象を広げ、その作用機構について検討を進めている。その他、一酸化窒素 (NO) や硫化水素の分析法についても検討した。