

26PA-am008S

アイソザイム選択的なシアリダーゼ阻害剤探索のためのスクリーニング系の構築と評価例

○藤岡 愛里¹, 南 彰¹, 大坪 忠宗², 池田 潔², 紅林 佑希¹, 高橋 忠伸¹, 鈴木 隆¹ (¹静岡県大葉, ²広島国際大葉)

【目的】シアリダーゼは糖鎖末端からシアル酸を脱離する加水分解酵素であり、細胞内局在や基質特異性の異なる Neu1、Neu2、Neu3、Neu4 の 4 種類のアイソザイムが存在する。Neu3 を強制発現させたトランスジェニックマウスはインスリン抵抗性糖尿病を発症することが報告されている。当講座ではこれまでに、臍島が高いシアリダーゼ活性を示すことや、シアリダーゼ阻害剤である 2,3-dehydro-2-deoxy-*N*-acetylneuraminic acid (DANA) を投与するとインスリン分泌が促進されることを見出した。シアリダーゼ阻害剤は、糖尿病治療薬として利用できること期待される。シアリダーゼは様々な臓器において多彩な機能を担うことから、副作用を軽減するためにもアイソザイム選択的な阻害剤が望ましい。本研究では、アイソザイム選択的なシアリダーゼ阻害剤探索のためのスクリーニング系の構築と評価例を示す。

【方法】Neu1、Neu2、Neu3、Neu4 の各種アイソザイムを高発現させたラット C6 グリオーマ細胞をそれぞれ可溶化した。蛍光プローブ 4MU-Neu5Ac (40 μM) を含む酢酸緩衝液 (pH 4.6) 中で可溶化したアイソザイムをインキュベートした後、プレートリーダーで蛍光強度を測定することによりシアリダーゼ活性を定量した。

【結果・考察】初めに、各種シアリダーゼアイソザイムの活性測定のための最適な反応時間と酵素濃度を決定した。次に、DANA のシアリダーゼ阻害効果を評価した結果、10-1000 μM DANA はどのシアリダーゼアイソザイムも阻害した。次に、2,3-dehydro-2-deoxy-*N*-glycolylneuraminic acid (DGNA) を新たに合成した。10-1000 μM DGNA はどのシアリダーゼアイソザイムに対しても阻害効果を示すものの、阻害効果は DANA よりも低かった。以上、シアリダーゼ活性の評価系を構築した。