

蛍光性 diacylglycerol-lactone 誘導体の合成と機能評価

Synthesis and Evaluation of Fluorescent Diacylglycerol-lactone Derivatives

大橋南美¹⁾、奥田善章^{1,2)}、野村 渉¹⁾、堤 浩¹⁾、芹澤雄樹¹⁾、伊倉貞吉²⁾、伊藤暢聡²⁾、
吉田清嗣³⁾、Nancy E. Lewin⁴⁾、Peter M. Blumberg⁴⁾、玉村啓和^{1,2)}

Nami Ohashi,²⁾ Yoshiaki Okuda,^{1,2)} Wataru Nomura,¹⁾ Hiroshi Tsutsumi,¹⁾ Yuki Serizawa,¹⁾
Teichichi Ikura,²⁾ Nobutoshi Ito,²⁾ Kiyotsugu Yoshida,³⁾ Nancy E. Lewin,⁴⁾ Peter M. Blumberg,⁴⁾
Hirokazu Tamamura,^{1,2)}

¹⁾ 東京医科歯科大学・生体材料工学研究所、²⁾ 東京医科歯科大学・疾患生命科学研究所、
³⁾ 東京医科歯科大学・難治疾患研究所、⁴⁾ Laboratory of Cancer Biology and Genetics, Center
for Cancer Research, NCI, NIH

¹⁾ Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, ²⁾ School of
Biomedical Science, Tokyo Medical and Dental University, ³⁾ Medical Research Institute, Tokyo
Medical and Dental University, ⁴⁾ Laboratory of Cancer Biology and Genetics, Center for Cancer
Research, NCI, NIH

Protein kinase C (PKC)は、セリン/スレオニン特異的なリン酸化酵素であり、細胞内シグナル伝達系において重要な役割を果たしている。PKCが持っているC1bドメインは、シグナル伝達系のセカンドメッセンジャーとしてはたらく diacylglycerol (DAG)の結合標的部位である。このC1bドメインは、腫瘍プロモーターの結合部位でもあり、がん治療薬創製のターゲットとして注目されている。

当研究室では、Marquezらによって開発された方法に基づき、天然のリガンドであるDAGの誘導体を環化することにより、DAG- γ -lactone 誘導体を合成している。これらのPKCへの結合活性は、放射性同位体(RI)でラベル化された[20-³H]PDBuをプローブとした競合結合阻害アッセイを用いて評価している。

本研究では、DAG-lactone 誘導体のR₁またはR₂に蛍光基を導入した蛍光性 DAG-lactone 誘導体を合成し、[20-³H]PDBuに代わる競合プローブの開発を行った(Fig.1)。この蛍光性 DAG-lactone がPKC-C1bドメインとの結合に伴って蛍光変化を生じた(Fig.1a)ので、その結果リガンド候補品の競合的結合を蛍光変化として検出することができた(Fig.1b)。この方法では、RIアッセイでは必要な余剰プローブ除去操作が不要あり、[20-³H]PDBuにかわる有用なスクリーニングプローブとして期待される。

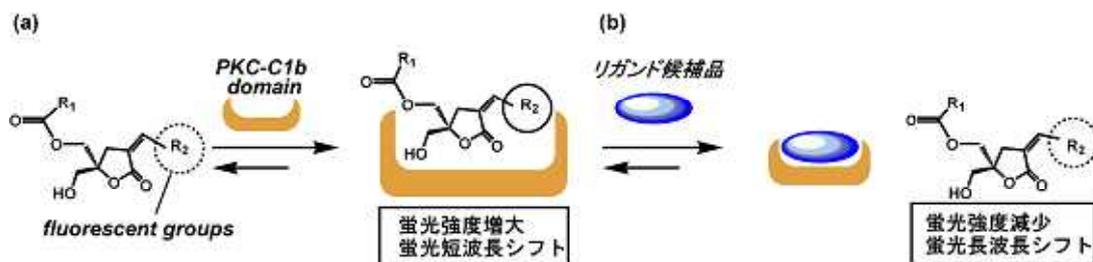


Fig. 1. (a) 蛍光性 DAG-lactone と PKC-C1b ドメインとの結合
(b) 蛍光性 DAG-lactone に対するリガンド候補品の競合的結合