

Protein kinase C (PK-C)結合活性の向上を目指した diacylglycerol (DAG)の環化誘導体の合成の分子生物学的アプローチ

2. 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)}

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・疾患生命科学研究部、
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

日本ケミカルバイオロジー学会 第4回年会. 神戸, 2009年5月18-19日.

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。

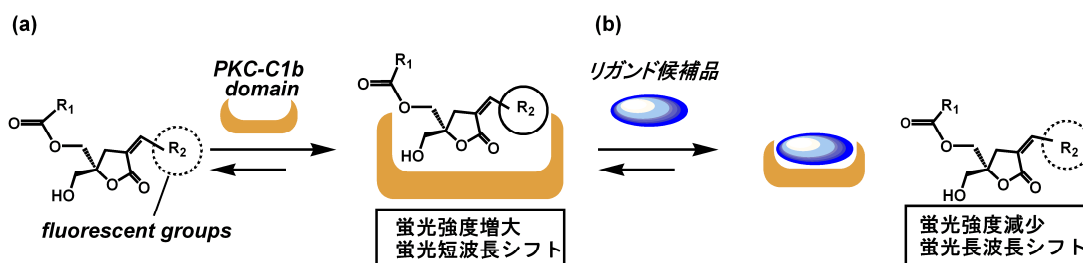


Fig. 1. (a) 蛍光性DAG-lactoneとPKC-C1bドメインとの結合
(b) 蛍光性DAG-lactoneに対するリガンド候補品の競合的結合