

3. キナーゼの細胞内局在機構解明のためのツールとしてのケージド化合物

(¹ 東京医歯大・生材研、² 東京医歯大・院医歯学総合、³ Laboratory of Cancer Biology and Genetics, NCI, NIH、

⁴ 東京医歯大・院生命情報、⁵ 東京医歯大・難治研、⁶ 東邦大・理)

○野村 渉¹・芹澤 雄樹^{1,2}・大橋 南^{1,2}・Nancy E. Lewin³・奥田 善章^{1,4}・鳴海 哲夫¹・吉田 清嗣⁵・Peter M. Blumberg³・古田 寿昭^{1,6}・玉村 啓和^{1,2}

Caged molecules as tools for translocation analysis of protein kinases in cell

(*Inst. Biomater. Bioeng., Tokyo Med. Dent. Univ.*¹, *Grad. School of Med. and Dent. Sci., Tokyo Med. Dent. Univ.*², *Lab. Cancer Biol. Genetics, NCI, NIH*³, *School of Biomed. Sci., Tokyo Med. Dent. Univ.*⁴, *Med. Res. Inst., Tokyo Med. Dent. Univ.*⁵, *Dept. Biomol. Sci., Toho Univ.*⁶) NOMURA, Wataru¹; SERIZAWA, Yuki^{1,2}; OHASHI, Nami^{1,2}; Nancy E. LEWIN³; OKUDA, Yoshiaki^{1,4}; NARUMI, Tetsuo¹; YOSHIDA, Kiyotsugu⁵; Peter M. BLUMBERG³; FURUTA, Toshiaki^{1,5}; TAMAMURA, Hirokazu^{1,2}

第 24 回生体機能関連化学シンポジウム, 第 12 回バイオテクノロジー部会シンポジウム.

福岡, 2009 年 9 月 13-15 日.

プロテインキナーゼ C (PKC) はジアシルグリセロール (DAG) をセカンドメッセンジャーとするセリン・スレオニン特異的リン酸化酵素であり, がんやアルツハイマー病の治療薬創製の標的酵素として注目されている。演者らはケージド基で保護した PKC 特異的リガンドを創製し, 紫外光照射による PKC 活性化の時間・空間的な制御を試みた。DAGを環化することによって結合活性を上昇させた DAG-ラクトンの重要なファーマコフォアである水酸基を光分解性保護基である 6-Bromo-7-methoxycoumarin (Bmc) または 6-Bromo-7-hydroxycoumarin (Bhc) により保護したケージド DAG-ラクトン誘導体を合成した。ケージド DAG-ラクトンを緩衝液中で紫外光照射し, Bmc 基の脱保護及び DAG-ラクトンの出現を HPLC 分析により確認した。また, その結果から分解反応 (Figure 1A) の量子収率等を算出した。ケージド DAG-ラクトンの PKC・活性化能について, 試験管内での ³H[PDBu] (ホルボールエステル) との競合阻害活性, リン酸化アッセイ, および CHO-K1 細胞内における GFP 融合 PKC・の細胞内局在変化 (Figure 1B) によって検討した。その結果, ケージド DAG ラクトンはいずれの場合も PKC・に対する結合活性および活性化能を持たず, 紫外光照射によってケージド基を脱保護した場合においてのみ PKC・に対する結合活性を出現させ, 活性化も行うことが確認された。以上のことから, ケージド DAG-ラクトンへの紫外光照射による脱保護, それに伴う結合活性の回復を用いて PKC・の活性化を時間・空間的に制御できる可能性が示された。

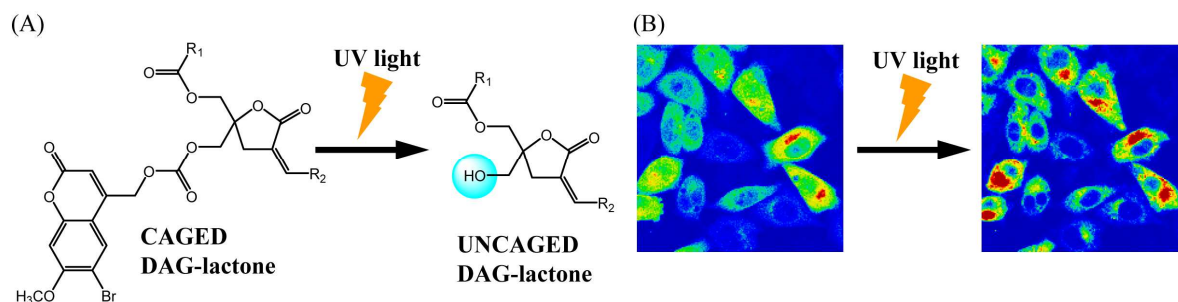


Figure 1. Uncaging of DAG-lactones (A) and activation of translocation (B) by UV irradiation.