

## 28H-am10

ヒトUGT2B15及びカニクイザルUGT2B20の異種細胞発現系構築

○長岡 憲次郎<sup>1</sup>, 埴岡 伸光<sup>1</sup>, 生城 真一<sup>2</sup>, 森川 裕司<sup>3</sup>, 内藤 真策<sup>4</sup>, 成松 鎮雄<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院医歯薬, <sup>2</sup>富山県大工, <sup>3</sup>イナリサーチ, <sup>4</sup>大塚製薬工場)

【目的】UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) は内因性及び外因性物質の代謝に重要な役割を担っている薬物代謝第 2 相反応酵素である。本研究では、ヒト代替実験動物として汎用されているカニクイザルの薬物代謝酵素の特性を解明するための一環として、ヒト UGT2B15 及びそのカニクイザルの相同酵素タンパク質 UGT2B20 の異種細胞 (酵母及び昆虫細胞) 発現系構築を試みた。

【方法】酵母細胞発現系では、UGT2B15 または UGT2B20 cDNA を pYES2/CT ベクターに組み込んだ後、酵母 INVSc1 で酵素タンパク質を発現させ、マイクロゾーム画分を調製した。昆虫細胞発現系では、Bac-to-Bac System (Invitrogen 社) により、UGT2B15 または UGT2B20 発現バキュロウィルスを作製しこれらを昆虫細胞 Sf9 に感染させて酵素タンパク質を発現させ、細胞ライセートを調製した。UGT2B15 及び UGT2B20 酵素タンパク質の発現は抗 UGT2Bs 抗体を用いた Western blotting により確認した。酵素機能は 7-hydroxy-4-(trifluoromethyl) coumarin (7-HTFMC) に対するグルクロン酸抱合活性を測定することにより解析した。

【結果及び考察】Western blotting により酵母細胞マイクロゾーム画分において UGT2B15 及び UGT2B20 酵素タンパク質の発現が確認された。ところが UGT2B20 は 7-HTFMC に対してグルクロン酸抱合活性を示したのに対し、UGT2B15 は活性を示さなかった。一方、昆虫細胞ライセート画分においては UGT2B15 及び UGT2B20 酵素タンパク質が高発現し、さらに、いずれの分子種においても高い 7-HTFMC グルクロン酸抱合活性が認められた。そこで昆虫細胞発現 UGT2B15 及び UGT2B20 の 7-HTFMC グルクロン酸抱合反応について速度論的解析を行い、異種細胞発現系の有用性について考察を加える。