

# 27H-pm17

Cytochrome P450 による基質構造変化を検出する化合物アレイ型プラットフォームの開発

○高山 浩<sup>1</sup>, 叶 直樹<sup>1,2</sup>, 高橋 俊二<sup>2</sup>, 中村 健道<sup>2</sup>, 長田 裕之<sup>2</sup>, 岩瀬 好治<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東北大院薬,<sup>2</sup>理研)

【目的】Cytochrome P450 (P450) は一原子酸素添加活性を持つオキシゲナーゼであり、現在、基質が特定されていない数千の P450 分子種の存在が明らかになっている。これらの基質および基質特異性を網羅的に明らかにすることができれば、P450 が関与する二次代謝産物の生合成研究、および酸化による化合物の多様化を志向した P450 の利用が加速的に進むことが期待される。我々は P450 の基質特異性を迅速かつ網羅的に検出できる化合物アレイ型プラットフォームの開発を目指しているが、今回、土壌細菌 *Pseudomonas putida* 由来の P450cam をモデル系として、目的とするプラットフォームに必要な基本要素の構築を行った。

【結果】基板上固定化用の長鎖リンカーを基質に導入しても、P450 に基質として認識されるが、その酸化効率はリンカー鎖長の伸長に伴い著しい低下が観測された。このことから、基板上に固定化した基質を P450 により酸化することは困難であることが示唆された。一方、比較的分子サイズの小さいアジド基を導入した基質では、P450 による基質の結合能および酸化効率の大きな低下は観測されなかった。そこで、アジド基を有する遊離の基質を *in vitro* で酸化した後に Husigen 反応を用いて基板上に導入し、次にイソシアネートをラベル化剤として水酸基を検出する手法を検討した。本発表では各要素技術の構築と、実際の酵素酸化産物のアレイ上での検出について報告する。

