

28L-am07

変異体の局在修正を指標とした新規リガンドスクリーニング法：コレステロールトランスポーター NPC1L1 の阻害剤探索への応用

○唐木 文霞¹, 大金 賢司¹, 閼闔 孝介², 橋本 祐一¹(¹東大分生研, ²理研)

ファーマコロジカルシャペロン(PC)作用とは、リガンドの結合によりタンパク質の折りたたみが促進される作用を指す。タンパク質が正常に局在するためには適切な構造をとる必要がある。変異により折りたたみの効率が低下したタンパク質は、異常な局在を示す。このような変異体にリガンドを作用させると、PC作用により適切な構造が惹起され、局在異常の修正が起こる。タンパク質の変異およびそれに伴う局在異常が、遺伝性疾患において数多く見られることから、従来 PC作用はこのような疾患の治療を目的として研究されてきた。しかし我々は、PC作用がリガンド-タンパク質間の結合に起因することに着目し、PC作用による局在修正を結合の指標としたリガンドスクリーニングを試みた。PC作用を結合検出に用いる利点として、1. 細胞内で結合の指標が得られ、タンパク質の精製が不要であること 2. RI/蛍光標識されたリガンドが不要であることが挙げられる。

結合検出法としてのPC作用の有用性を示すため、NPC1L1阻害剤の創製を試みた。NPC1L1は消化管からのコレステロール吸収を担う膜タンパク質であり、この阻害剤であるエゼチミブは脂質異常症治療薬として用いられている。

PC作用を指標とした結合検出を行うために、局在異常を示すNPC1L1変異体を作製した。この変異体の細胞内での局在変化を指標として構造活性相関研究を行い、新規NPC1L1リガンドを得た。ここで得たリガンドの結合部位は、NPC1L1の既知のステロール結合部位ともエゼチミブの結合部位とも異なることが示唆された。したがって、新規クラスのNPC1L1リガンドが得られたと考えている。本発表ではスクリーニング系の構築、構造活性相関および結合部位に関する知見について報告する。