

28S-am09

ヒアルロン酸分解酵素活性評価系における DMSO 添加効果

○友原 啓介¹, 伊藤 智裕², 加藤 敦¹, 足立 伊佐雄¹ (¹富山大病院薬, ²富山大薬)

【目的】酵素阻害剤の探索においては、酵素活性部位に対して特異性の高い阻害剤を抽出することが重要である。本研究では、抗炎症剤や抗がん剤の創薬ターゲットとして注目されているヒアルロン酸分解酵素 (HAase) を題材として、その阻害剤の活性部位に対する特異性の程度を評価する新手法を開発することを目的として、溶媒添加効果を利用した分子間相互作用解析研究に取り組んだ。

【方法】HAase 活性評価系に対しジメチルスルホキシド (DMSO; 終濃度 up to 35% (v/v)) を添加すると、用量依存的に酵素活性が低下した。これは、DMSO 添加効果による酵素活性部位の 3 次元立体構造変化に依るものである。そこで、DMSO 添加前後の酵素に対する阻害剤の応答を動的に解析することで、酵素と阻害剤の分子間相互作用様式を評価できると考えた。作業仮説は次の通りである。(1) DMSO 添加効果により、productive な酵素は、DMSO 用量依存的に non-productive な酵素になる。ここで、(2) 特異性の高い阻害剤 (a 群) および基質は、productive な酵素にのみ作用する。特異性の低い阻害剤 (b 群) は、productive/non-productive 双方の酵素に作用する。(3) 阻害率は、productive な酵素における基質と阻害剤の競合率である。よって、DMSO 添加前後における阻害率の変化量は、阻害剤の「活性部位特異性の程度」と負の相関性を示す。

【結果】作業仮説に基づき、主に文献既知 HAase 阻害剤を用いて検証を行った。その結果、上記の a 群と b 群を見出し、作業仮説が支持された。本手法は、酵素反応そのものを用いた *in vitro* 評価系において、DMSO 添加効果を利用して酵素と阻害剤の分子間相互作用様式を評価した初めての研究例である。本手法の一般性と適応範囲について、現在検証中である。