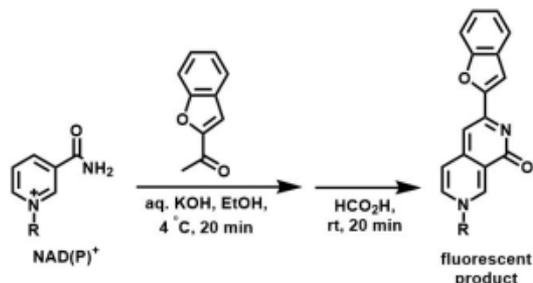


28S-pm07S

NAD(P)⁺ 検出プローブを利用した P450 基質スクリーニング系の改良と評価
○高橋 裕介¹, 守谷 崇¹, 叶 直樹¹, 岩瀬 好治¹ (¹東北大院薬)

【背景・目的】シトクロム P450 は基質小分子に酸素原子を添加する酸化酵素である。基質が不明な分子種は多数存在しているため、それらの基質を迅速かつ網羅的に探索する手法が求められている。当研究室ではこれまでに、P450 による基質の酸化反応に伴って生じる NAD(P)⁺ を 2-アセチルベンゾフランを用いて高感度に検出する方法 (2-ABF 法) を開発している (右上図: Moriya, T. *et al.* *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 11500)。この方法と他の手法を組み合わせた P450 基質スクリーニング系をこれまでに構築しているが (日本薬学会第 134 年会 28L-pm19)、今回その更なる改良と評価を行った。



【方法・結果】研究室所蔵の化合物ライブラリーを用いて、P450cam、P450BM3 に対する 1 次スクリーニングを 2-ABF 法により行い、各 P450 分子種に対して特異的な基質候補化合物を選抜した。次に、それぞれの基質候補化合物に対して、uncoupling 反応誘起による擬陽性化合物の除外を意図した 2 次スクリーニング、及び P450 と基質の結合を検出する 3 次スクリーニングを行った結果、それぞれの P450 分子種の天然基質が確認されたことから、本スクリーニング系の有用性が示された。一方、P450cam の新規基質候補化合物として 1 化合物、P450BM3 に対して 20 化合物を新たに見出した。P450cam の新規基質については、その酸化部位、エナンチオ選択性、及び速度論的パラメータの決定を行ったので併せて報告する。