

27C-am07S

In silico 解析へ向けた α 1-酸性糖タンパク質異型間の薬物結合選択性に寄与するアミノ酸残基の同定

○中村 侑加¹, 渡邊 博志¹, 中村 照也¹, 池鯉鮒 麻美¹, 石躍 華奈¹, 前田 仁志¹, 山縣 ゆり子¹, 小田切 優樹², 丸山 徹¹ (熊本大院薬,²崇城大薬)

【目的】 α 1-酸性糖タンパク質 (AGP) には2つの異型 (A 体と F1*S 体) が存在し、異型間で薬物結合選択性が異なる。この違いを分子レベルで明らかにし、*in silico* 解析を構築することができれば、ドラッグデザインの効率化に貢献することが期待される。我々は、A 体と薬物複合体の結晶構造を決定し、112 位と 114 位の違いが薬物結合選択性に重要である可能性を見出してきた。本研究では、上述した2残基を異型間でスイッチした変異体を作製し、薬物結合選択性におけるそれらの役割について検討した。

【方法】大腸菌を用いて AGP を発現させた。A 体選択的薬物としてジソピラミド (DIS) を選択し、限外ろ過法及び等温滴定型熱量計により結合性を評価した。

【結果及び考察】A 体の F112/S114 と F1*S 体の L112/F114 を相互に置換した3種類の A 体変異体 (F112L, S114F, F112L/S114F) 及び、3種類の F1*S 体の変異体 (L112F, F114S, L112F/F114S) を作製した。限外ろ過実験の結果から、DIS に対する A 体野生型の結合率は 69% であったが、3つの変異体 (F112L, S114F, F112L/S114F) の結合率はそれぞれ 56%、28%、12% へと低下していた。特に、二重変異体の結合率は、F1*S 体野生型で観察された結合率 (18%) に匹敵した。このことから、A 体の二重変異体における結合性の低下は、F112 のフェノール環と DIS 芳香環との相互作用が消失したことに加えて、A 体と DIS のアミド基間の水素結合の欠如が大きく寄与しているものと推察された。このことは、DIS の結合エンタルピーの程度が A 体野生型に比べて二重変異体で減少していたことから支持された。本研究では、A 体の薬物結合選択性における 112 位と 114 位の重要性を初めて結合実験により裏付けることができた。