

脂質ナノディスク複合体を用いたシトクロム P450 の薬物認識機構評価

○笠原 杜大¹, 辻野 博文¹, 岩井 愛里¹, 東阪 和馬^{1,2}, 長野 一也^{1,2}, 山下 沢³, 堤 康央^{1,2,4}, 宇野 公之¹ (¹阪大院薬, ²阪大院医, ³武庫川女大薬, ⁴阪大 MEI セ)

【背景・目的】Cytochrome P450 (CYP) は多くの薬物の酸化的代謝を担う酵素であり、創薬研究においてその詳細な機能の解明は非常に重要である。CYP は膜タンパク質であり、脂質膜との相互作用によって CYP の構造が変化することや、薬物代謝や結合に影響が出ることが示唆されているため、CYP 評価には脂質膜の影響の考慮が求められる。しかし脂質膜が水に難溶であるため、CYP 研究において汎用されている分光学的測定が困難である。そこで我々は Nanodisc (ND) というツールに着目した。ND は膜骨格タンパク質 (MSP) とリン脂質からなるリン脂質二重層のナノ構造体である。ND は水系溶媒に可溶であり、膜タンパク質と結合可能であるため CYP を ND に結合させ、ND-CYP 複合体を作製することにより脂質膜の影響を考慮した条件下での分光学的測定が可能となる。本研究では ND を用いて CYP の薬物結合における脂質膜の影響の解明を試みた。

【方法・結果・考察】本研究では CYP 分子種として 2C9 と 2C19 を選択し、大腸菌を用いて 2 種の CYP を精製・獲得した。また、別途大腸菌を用いて獲得した MSP にリン脂質を加えて ND を作製し、CYP とあわせて ND-CYP 複合体を作製した。得られた ND-CYP 複合体及び CYP 単体それぞれについて、吸収滴定法により結合親和性を測定した。算出した親和性について ND-CYP 複合体及び CYP 単体間で比較を行ったところ、単体と比較して複合体時には 2C9 では基質との親和性が上昇し、2C19 では基質との親和性が低下した。すなわち、薬物結合における脂質膜の影響は分子種によって異なることが示唆された。この要因として分子種間での、薬物侵入経路、ヘム周辺環境の相違などが考えられたため、共鳴ラマン分光法等による 2C9・2C19 のヘム周辺環境情報の獲得を試みており、あわせて報告する。