



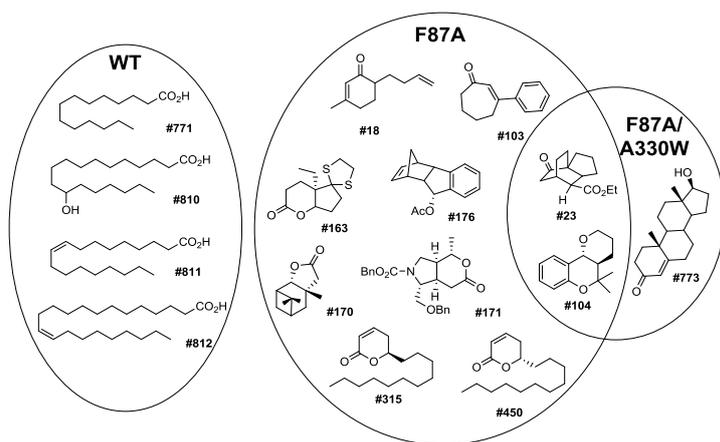
微生物由来シトクロム P450 の潜在能力を開拓する 新規 P450 基質スクリーニング法の開発

Integrated cytochrome P450 substrate screen system enables the analysis of global substrate specificity of microbial and engineered P450s

○鈴木花奈、川又綾乃、高橋裕介、守谷 崇、岩渕好治、叶 直樹（東北大院薬）

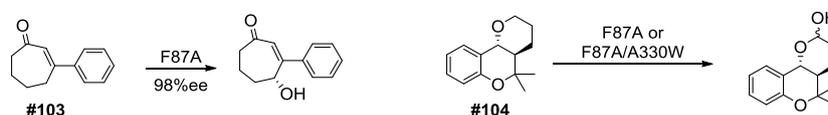
シトクロム P450 は生物界に広く分布する一原子酸素添加酵素であり、代謝やホルモン合成など生体内で重要な役割を担っている。現在までに多くの P450 分子種が報告されており、有用物質の生産を目指した変異体も盛んに創製されている。一方、機能や基質が未だ明らかになっていない P450 が数多く存在する。我々はこれら P450 の良基質や基質特異性を明らかにし、潜在能力を開拓するため、スループットの高い基質スクリーニング手法の開発を計画した。

当研究室では、2-アセチルベンゾフランを用いて、P450 の基質酸化反応で生じる NAD(P)⁺を高感度に検出する方法を開発している¹⁾。この手法と、アンカップリング反応を惹起する偽陽性化合物を検出する方法、P450 による基質認識を検出する方法などを組み合わせ、P450 の基質を総合的に評価する多段階スクリーニング法を構築した。研究室所蔵の合成化合物ライブラリーと本スクリーニングによって、P450 の未知の基質や基質特異性の理解が可能となった。



開発したスクリーニング法を P450BM3 及びその人工変異体群 (F87A, F87A/A330W)²⁾に適応した。これらの変異体は、長鎖脂肪酸を酸化する野生型に対して、わずか1または2アミノ酸変異を導入することで testosterone の位置・立体選択的な酸化能を獲得した酵素群である。解析の結果、各アミノ酸変異に対する基質特異性の劇的な変化が浮き彫りになった(左図)。すなわち、野生型が長鎖脂肪酸を認識し、酸化

したのに対し、変異体群は環状化合物を認識した。また、このうち、数種の酸化反応に関して詳細な解析を行ったところ、基質#103ではエナンチオ選択的な酸化が、#104では位置選択的な酸化が進行することが分かった(下図)。特に#103の変換反応は従来の有機化学的手法では難しく、合成化学的に有用である。本手法はこのように、P450の基質となる新規骨格を発見でき、従来分からなかったP450の潜在能力を開拓できるスクリーニング法である。現在、応用研究を進めている。



<参考文献>

- 1) Moriya, T. *et al. Chem. Commun.* **2013**, 49, 11500
- 2) Reetz, M. T. *et al. Nat. Chem.* **2011**, 3, 738

発表者紹介

氏名 鈴木 花奈 (すずき かな)
所属 東北大学大学院 薬学研究科
学年 博士前期課程 2年
研究室 合成制御化学分野 (岩渕研究室)

