

細胞内環境下におけるタンパク質の薬剤認識機構の解明

代表研究者 森本 大智
京都大学大学院 工学研究科分子工学専攻 助教

研究要旨

試験管内で高い結合能を持つ薬剤は、時として、細胞内でその結合能が発揮されない。細胞内は生体高分子が高濃度に存在する極めて混雑した環境であり、この特殊な環境が標的分子と薬剤の相互作用に影響を及ぼしている可能性があるからである。そこで本研究では、免疫抑制剤とタンパク質 FKBP12 を標的分子とし、タンパク質と薬剤の相互作用に対する細胞内の混み合い効果を定量的に解析することを目指した。細胞内の混み合い環境は、タンパク質クラウダーとしてウシ血清アルブミンを高濃度に加えることで模倣し、その条件下で溶液 NMR 法を駆使することで解離定数ならびに速度定数を定量解析した。まず、FKBP12 に高濃度のウシ血清アルブミンを加えたところ、FKBP12 の構造にはほとんど影響を与えなかったのに対し、得られたピークが広幅化していたことから非特異的にウシ血清アルブミンは FKBP12 に相互作用していることが示唆された。この混雑環境下で FKBP12 と免疫抑制剤である pimecrolimus との解離定数を定量 NMR 法で解析したところ、希薄溶液中での解離定数と優位な差異が見出せなかった。また、NMR 緩和分散法により、会合速度定数ならびに解離速度定数を解析したところ、混雑環境下では希薄溶液中に比べ、両速度定数ともに増加していることが示唆された。一般的に、混雑環境下では排除体積効果により分子間相互作用は強くなり解離定数は減少すると考えられる。しかし本研究で得られた結果から考えると、混雑環境を構成する分子と標的分子との非特異的相互作用が、目的の分子間相互作用を不安定化させることが示唆される。このように薬が作用する「その場」を理解することは重要であり、細胞内における非特異的相互作用は薬剤の効能を変化させる可能性がある。本研究で得られた知見は、新たな標的-薬剤相互作用の評価方法を提案することが出来るであろう。