免疫調節因子ヒトIDOにおける基質阻害機構の分光学的研究

理学研究科　生命科学専攻

◎M2 名定加峰（なさだかほ）、准教授 柳澤幸子（やなぎさわさちこ）、教授 久保 稔（くぼ みのる）

キーワード　免疫調節因子，基質阻害，酵素活性，二原子酸素添加酵素，ストップトフロー吸収分光法

研究概要

ヒト由来インドールアミン 2,3 ジオキシゲナーゼ（IDO）は活性中心にヘムを持つ二原子酸素添加酵素で、トリプトファン（Trp）に酸素二原子を添加して N-フォルミルキヌレニンを生成する（図１）。IDO は免疫調節因子として知られ、癌治療における免疫療法のターゲットとして阻害剤の研究が盛んである。IDO は 2 つの基質結合部位を持つと考えられていて、一方は酵素反応の活性部位であり、もう一方は基質阻害を引き起こす基質阻害部位である。基質阻害とは基質 Trp 過多の条件下で、Trp が基質阻害部位に結合することにより IDO の酵素活性が下がる現象である（図２）。IDO の基質阻害機構の研究は、新たな阻害剤を探索する上で有用であり、本研究では IDO の基質阻害機構の解明を目指す。具体的には、ストップトフロー吸収分光法を用いて酵素反応を追跡し、基質阻害が起きるための条件を分光学的に明らかにする。これまでにいくつかの温度条件と基質濃度条件下で酵素反応を追跡したところ、12℃・基質高濃度条件において、基質阻害時にのみ現れる特徴的なスペクトル種を検出した。しかし、5℃の低温条件においては、基質高濃度条件であっても、基質阻害時に特徴的なスペクトル種は検出されなかった。そこで活性測定を行い基質阻害定数を調べた結果、5℃では 20℃に比べて基質阻害定数が顕著に増大していることを見出した。本シンポジウムでは基質阻害と温度、吸収スペクトルの関係性について得られた結果を発表する。

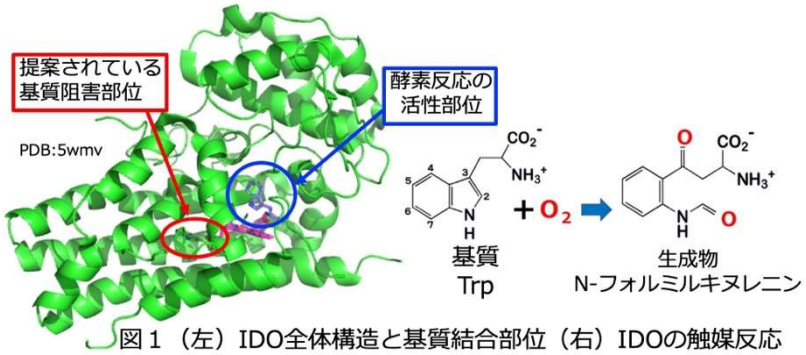

図１（左）IDO全体構造と基質結合部位（右）IDOの触媒反応

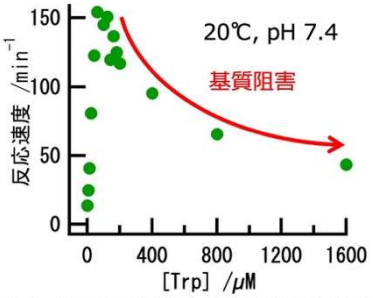

図２ IDO反応速度の基質濃度依存性．基質高濃度で活性が減少．

アピールポイント

現在研究されている IDO の阻害剤は、酵素反応中心の Trp 結合部位に結合して活性を阻害するものである。基質阻害サイトにおける Trp の結合様式は不明で、これを明らかにできれば、基質阻害サイトを利用した阻害剤探索への知見が得られ、副反応の少ないより良い治療薬の可能性を広げる事が期待できる。本研究の強みは、反応中の酵素を調べることであり、酵素反応中に出現する中間種をスペクトルとして検出することです。