

54 TRPA1 の立体構造解明と新規鎮痒剤の開発

日野 智也

アトピー性皮膚炎は、10 人に 1 人が罹患しているといわれ、特に 10 代以下の低年齢層において発症確率の高い炎症性疾患である。最近になり、C 線維の細胞膜上に発現している TRPA1 イオンチャネルの活性化により細胞内カルシウム濃度を上昇させることで C 線維の興奮を引き起こし、炎症性メディエーターの放出とともに痒み感覚の発生を惹起することが明らかにされた。そこで、本研究ではヒト由来 TRPA1 タンパク質の大量調製系を確立し、立体構造に基づく合理的なアンタゴニストの創製を目指した TRPA1 の X 線結晶構造解析と、化合物ライブラリーを用いたタンパク質レベルでの医薬候補のスクリーニングを行うことを目的として研究を行った。その結果、酵母を発現ホストとして用い、単ドメイン抗体 nanobody を用いたアフィニティ精製手法により構造解析に十分な量と純度の TRPA1 試料を調製することができた。また、細胞内可溶性ドメインの発現と精製に取り組み、機能単位である 4 量体構造を維持した細胞内ドメインの精製試料を調製することに成功した。現在これらの精製試料を用いた結晶化と構造解析を進めている。

*Pichia pastoris* 発現系を用いたコドン最適化による発現量の向上と GFP nanobody を用いた TRP チャネルの高純度精製

