

「ケミカルプローブが生物活性物質の作用機構を明らかにする」

竹内倫文 (シカゴ大学化学科)

特異な生物活性を示す有機小分子が、「なぜ活性を示すのか?」、「細胞内のどこに効くのか?」、「どの標的分子に作用するのか?」、「どうやって結合するのか?」といった疑問に、有機化学的手法を駆使してアプローチするケミカルバイオロジーと呼ばれる研究分野が世界中で急速に発展しています。生物活性物質の標的分子を見つけ、その作用機構を解明することは、生命現象を分子レベル・化学レベルで理解していく上で、重要なツールとなる分子プローブの開発につながると期待されています。

私はこれまで、生物活性物質にアルキンやビオチンなどのタグを導入したケミカルプローブを設計・合成し、その作用機構を解析してきました。本セミナーでは、私が行ってきたケミカルプローブを用いたケミカルバイオロジー研究を紹介する予定です。

1. フマル酸水和酵素を標的とする有機小分子の開発。

我々は、選択的な細胞増殖抑制活性を示す化合物の標的分子を探索すれば、有用な分子プローブを見出せると考えた。選択的細胞増殖抑制活性を指標にしたハイスループットスクリーニングと構造活性相関から、ヒト大腸がん細胞 SW620 に強い細胞増殖抑制活性 ($IC_{50} = 1.5 \mu M$) を示す化合物を見出した。本化合物にアルキンを導入したケミカルプローブを用いて、本化合物がミトコンドリアに局在することを示した。本化合物はゆっくりと徐々に細胞呼吸を阻害したが、呼吸鎖複合体を阻害しなかった。遅効性の原因として、細胞内での分子変換が疑われた。本化合物で処理した SW620 細胞の抽出液の LC-MS 分析から、この分子変換を裏付けた。続いて、アルキン及び光反応性官能基を導入したケミカルプローブを合成し、ケミカルプロテオミクス解析を用いて、本化合物の標的が TCA 回路を構成する酵素であるフマル酸水和酵素と同定した。

2. 抗腫瘍性抗生物質ホストリエシンは、プロテインホスファターゼ 2A の Cys269 と共有結合する。

ホストリエシンは放線菌より単離されたリン酸モノエステルを有する天然物で、腫瘍細胞に対する細胞増殖抑制活性、抗腫瘍活性を有する。ホストリエシンはプロテインホスファターゼ (PP) 2A に対して強力で選択的な阻害活性を有するが、PP2A との相互作用機構の詳細は明らかでなかった。本研究では、ホストリエシンのビオチン化ケミカルプローブを合成し、プルダウンアッセイや MALDI-TOFMS を用いた結合解析から、ホストリエシンが PP2A 触媒サブユニットの Cys269 と共有結合することを証明した。

3. DNA 合成酵素に選択的阻害剤モノアセチルクルクミンは、本酵素の BRCA ドメインと共有結合する。

DNA の複製、修復はあらゆる生命にとって重要な現象であり、DNA 合成酵素は、これらの反応をつかさどる酵素群である。哺乳類でこれまでに 15 種類以上発見されているが、これら酵素群の生物学的機能の詳細は解明されていない。これら酵素群の選択的阻害剤は、本酵素群を解析する上で有用な分子プローブとなり得る。我々は DNA 合成酵素の分子種選択的阻害剤を探索し、DNA 合成酵素に選択的阻害剤クルクミンを見出した。続いて、構造活性相関により、より強い選択的な阻害活性を有するモノアセチルクルクミンを見出した。更なる解析では、本化合物を共有結合型のケミカルプローブとして用い、DNA 合成酵素の BRCT ドメインと本化合物とが共有結合により結合することを示した。