

# プロジェクト名：創薬を目的とした、分子シャペロン機能を調節する化合物の作用機構の解析

プロジェクト代表者：仲本 準（大学院理工学研究科・准教授）

## 1 研究の目的

分子シャペロンは、他のタンパク質の誕生から死（分解）に至るまで「介添えする」タンパク質であり、タンパク質の折りたたみ（protein folding、機能的な高次構造形成）を制御する。タンパク質が変性するストレス下で分子シャペロンは誘導されて、タンパク質の不可逆的凝集を抑制し、変性タンパク質の天然型構造への再生を促進する。Hsp90やHsp70などの主要な分子シャペロンは、細胞増殖や分化などの（非ストレス下における）細胞機能においても重要な役割を果たし、分子シャペロンが、神経変性疾患や細胞の癌化に重要な役割を果たすことが明らかにされている。そのために、分子シャペロンの発現や機能を調節する薬剤の探索・開発が盛んになってきた。

本研究では、（1）我々が見出したHsp90と特異的に相互作用する20種以上の新規化合物の中で、未解析の化合物について、Hsp90の構造や機能に及ぼす影響を調べ、作用機構を明らかにする。（2）さらに、これらの多数の化合物で得られた結果を総合して、化合物の構造活性相関を明らかにし、難病予防・治療薬をデザインするための情報を得ることを目的とする。

## 2 研究の進め方及び研究の成果

長田抗生物質研究室が独自に開発した、「化合物マイクロアレイ（NPDepoArray）」を用いたタンパク質と化合物の相互作用解析法を駆使し、7,000種を超える低分子化合物を網羅的にスクリーニングした。その結果、我々が調製したシアノバクテリア（藍藻）由来のHsp90と特異的に相互作用する「新規な」20種以上の化合物を見つけることができた[平成18年度の埼玉大学大学院理工学研究科共同研究（理化学研究所長田裕之博士との共同研究）]。これらの化合物のすべてについて、Hsp90の分子シャペロン活性（変性タンパク質の凝集阻止活性やATPアーゼ活性）に及ぼす影響を調べたところ、活性を阻害あるいは増大するものが存在した[平成20年度及び21年度の埼玉大学連携大学院共同研究（理化学研究所長田裕之博士との共同研究）]。

上記の化合物の中で、コリスチン硫酸塩（colistin sulfate salt）やポリミキシンB（polymyxin B）などの環状リポペプチド抗生物質（下図）について詳細に解析した。これらの化合物は、HtpGのATPase活性には影響を与えなかったが、熱変性タンパク質の凝集抑制活性を阻害した。Hsp90は、N末端ドメイン、中間ドメイン及びC末端ドメインから構成されるが、各ドメインを欠失させたHtpGを用いて、表面プラズモン共鳴（SPR）イメージングやタンパク質凝集抑制実験等を行い、化合物の結合ドメインを解析した。その結果、環状リポペプチド抗生物質はHtpGのN末端ドメインと結合することが明らかになった。その作用機構であるが、Hsp90のN末端ドメインに結合し、N末端ドメインの相互作用を介した構造変化を促し、分子シャペロン活性を阻害するのではないかと考えている。なお、試験管レベルのみならず細胞レベルでも、Hsp90の阻害によるものと推察される効果がみられた。低分子量HspやHsp70といった代表的な分子シャペロンも変性タンパク質の凝集抑制活性を示すが、環状リポペプチド抗生物質はこれらのシャペロン活性には影響を与えなかった。化合物の構造活性相関に関する研究も行っているが、環状ペプチド構造が重要であることを示唆する結果を得ている。

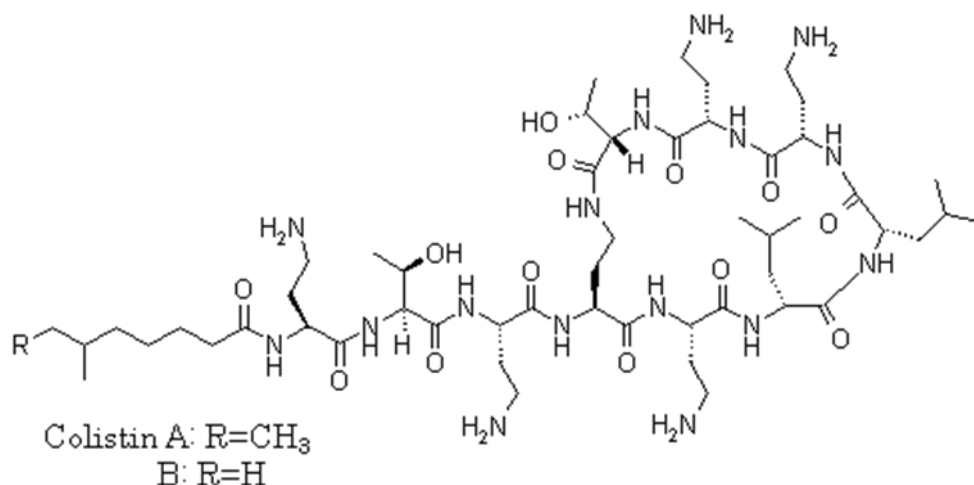


図. 環状リポペプチド抗生物質コリスチンの構造

以上の成果を、次に記す国際会議で発表した（招待講演）が、さらに論文に纏め、*Biochemical Journal*（Impact factor は 5.155、英国の学術雑誌）に投稿したところ採択された。

#### 国際会議招待講演

Hitoshi Nakamoto（発表者）

Modulation of the Hsp90 function by small molecules（発表標題）

International Conference on Natural Products and Biomedical technology（国際会議名称）

Annamalai University, India（開催場所）

2011年1月11日（講演日）

#### 学術雑誌論文

Minagawa, S., Kondoh, Y., Sueoka, K., Osada, H. and H. Nakamoto

Cyclic lipopeptide antibiotics bind to the N-terminal domain of the prokaryotic Hsp90, HtpG, to inhibit the chaperone activity

*Biochemical Journal*, 435(1):237-246, 2011

### 3 外部資金の応募・採択状況

平成 23 年度及び 24 年度の日本学術振興会「二国間交流事業共同研究」に応募して採択された。相手国はハンガリーで、研究課題名は、生体膜の品質管理におけるストレスタンパク質の新規機能の探索（Exploring the novel functions of stress proteins in the quality control of membranes）であり、二年間の（支給）総額は 5,000,000 円である。

日本学術振興会「外国人特別研究員」の受入研究者として応募したが、不採択であった。

なお、上記の国際会議で招待講演を行ったマレーシア Universiti Kebangsaan Malaysia 大学の Ibrahim Jantan 教授（薬学部長）から抗癌活性のある、数種の天然有機化合物を譲り受けて、現在 Hsp90 に及ぼす影響を解析しているが、これを契機にして、国際共同研究を発展させ、共同研究資金の獲得を目指したい。また、これらの研究成果を、製薬会社等からの外部資金の獲得に活かしたい。