

2. 3. 12 研究分野：分子生体触媒化学

構成員：	教授	平竹 潤
	助教	渡辺 文太
	大学院博士後期課程	1 名
	大学院修士課程	7 名
	研究員	1 名

A. 研究活動（2009. 4～2010. 3）

A-1. 研究概要

a) γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ阻害剤の分子設計と合成

グルタチオン (γ -Glu-Cys-Gly) は活性酸素種や生体異物の解毒代謝に中心的な役割を果たしているトリペプチドであり、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT) はグルタチオン代謝の鍵酵素である。本研究では、GGT の基質認識機構を明確にするため、グルタチオンの構造に基づいて精密に設計された遷移状態アナログ阻害剤を合成した。構造活性相関の結果、ヒト GGT は Cys 部分およびリン原子上の立体配置、さらには Gly 部分末端の負電荷を強く認識していることが明らかとなった。一方、大腸菌 GGT に対する阻害剤の構造活性相関はヒト GGT と大きく異なり、特に末端 Gly 部分の負電荷を十分に認識していないことから、大腸菌 GGT の本来の基質はグルタチオンではないことが示唆された。また、質量分析の結果から、阻害剤はグルタチオンに相当する構造を保ったまま、GGT の小サブユニットと共有結合していることが分かった。さらに、遺伝子改変を行ったヒト GGT の X 線結晶構造解析より、Lys562 がグルタチオンおよび阻害剤の C 末端の負電荷と強く相互作用していることを明らかとした。

b) アスパラギン合成酵素を標的とした阻害剤の開発

アスパラギン合成酵素 (ASNS) は、ATP 依存的に Asp より Asn を合成する。白血病やガン細胞は ASNS を高度に発現しており、これが化学療法剤のひとつであるアスパラギナーゼの効果を低減させているため、ASNS 阻害剤は新しいガンの治療薬として注目を集めている。我々はこれまでに、アスパラギナーゼ耐性の腫瘍細胞に対して 100-1000 μ M の濃度で増殖を抑制する ASNS 阻害剤を世界で初めて開発している。本研究では、阻害剤の腫瘍細胞に対する生物活性を高めることを目的とし、スルホキシイミノスルファミドおよびスルホキシイミノスルファメート系化合物を設計した。阻害剤の合成過程では、ロジウム触媒を用いた新しいスルホキシイミン合成反応を開発す

ることに成功した。酵素試験の結果、ASNS はアシルアデニレート反応中間体のリン酸部分の負電荷を強く認識していることを明らかとし、新たな分子設計についての重要な知見を得た。

c) アシル活性化酵素に対する特異的阻害剤の分子設計

アシル活性化酵素は、脂肪酸の β 酸化や植物二次代謝産物の生合成等に広く関わり、CoA チオエステルやアミドを合成する非常に多様な酵素群である。これらリガーゼは全て、アシルアデニル酸活性化中間体を経由するという共通の反応機構を持つ。本研究では、フェニルプロパノイド経路の鍵酵素である 4-ヒドロキシケイ皮酸 CoA リガーゼ (4CL) に着目し、その生理的意義を明らかにするために、4CL 選択的阻害剤として新規 N-アシルアデノシルスルファミド系化合物を設計・合成した。合成した阻害剤は酵素レベルで 4CL を阻害し、阻害剤のベンゼン環上の置換基と阻害活性の間に相関があることを見出した。また、阻害剤を添加した培地で植物体を生育させたところ、スコポリンおよびスコポレチンといったフェニルプロパノイド化合物の含量が無添加時と比較して有意に減少したことから、本阻害剤は根から吸収され、in vivo でも 4CL を阻害していることが示唆された。

A-2. 研究業績 (国内・国外含む)

a) 成果刊行

原著論文 (査読付)

- ・ Ikeuchi H., Meyer M. E., Ding Y., Hiratake J. and Richards N. G. J.: A Critical Electrostatic Interaction Mediates Inhibitor Recognition by Human Asparagine Synthetase. *Bioorg Med Chem* 17; 6641-6650, 2009
- ・ Ogata M., Hidari K. I. P. J., Kozaki W., Murata T., Hiratake J., Park E. Y., Suzuki T. and Usui T.: Molecular Design of Spacer-N-linked Sialoglycopolyptide as Polymeric Inhibitors against Influenza Virus Infection. *Biomacromolecules* 10; 1894-1903, 2009

特許

- ・ 平竹 潤, 渡辺 文太, 松村 靖夫, 大喜多 守: 腎不全治療剤. 特願 2010-032161 (出願人: 国立大学法人京都大学)

b) 学会発表

- ・ 日本ケミカルバイオロジー学会第 4 回年会 (1 件)
- ・ 第 83 会日本薬理学会年会 (1 件)

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

- ・平竹 潤：日本農芸化学会関西支部（評議員）、「化学と生物」和文誌編集委員会委員

競争的資金等獲得状況

①科学研究費補助金

- ・基盤研究(B)：平竹 潤：グルタチオン代謝と酸化ストレスを制御する薬剤の開発とケミカルバイオロジー
- ・若手研究（スタートアップ）：渡辺 文太：グルタチオン生合成を制御する新規薬剤の開発

②その他の競争的資金

- ・科学技術振興機構 研究成果最適展開支援事業（A-STEP） 起業挑戦タイプ：平竹 潤：新規 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ（GGT）阻害剤によって引き起こされる細胞内コラーゲン産生の応用

B. 教育活動（2009. 4～2010. 3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目（担当教員）

- ・大学院： 分子生体触媒化学専攻演習（平竹、渡辺）、分子生体触媒化学専攻実験（平竹、渡辺）、KSI 化研講義「環境生物・物質化学」（平竹）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- ・平竹 潤：奈良女子大学、理学部（酵素機能論）