

平成24年 3月30日

財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 金岡純二 殿

助成研究成果概要報告書

| | | |
|-----------------------------------|------------------|----------|
| 教育機関名 : 富山大学 | 助成金額 : 800 千円 | |
| 研究代表者 : 友廣 岳則 | 所属 : 医学薬学研究部 (薬) | 職位 : 准教授 |
| 研究題目 : 薬物の結合機構に基づく合理的くすり設計基盤研究の推進 | | |

【研究概要】

光プローブはタンパク質の薬物結合部位に化学的くさびを打ち込む高性能試薬である。その効率はタンパク質とプローブのフィット状態に依存するため、タンパク質結合部位と薬物の双方の構造情報が研究対象となり、薬物設計への合理的な指針が得られる。最近アシルスルホンアミドを導入した新しい光反応性基質が、陰イオン認識タンパク質に対する有用なプローブに成り得ることを初めて明らかにした。そこで、広く神経系から糖代謝、旨味等に関わる重要基質であるグルタミン酸の光プローブを種々合成し、グルタミン酸結合解析や新規プローブ構造の最適化を進めることで、グルタミン酸受容体を標的とする創薬研究を推進した。

【成果要約】

今回、光反応基や検出タグの導入位置を変えた種々の光プローブを作成し、その構造-活性相関を光ラベル収率から評価した。アシルスルホンアミドは生理条件下でカルボン酸と同様に負電荷を有する。これを介して主鎖および側鎖に光反応基を修飾した種々のグルタミン酸プローブを合成し、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GDH) を対象に結合評価した。その結果、スルホンアミドによるカルボン酸修飾はその結合活性を下げないことが判明し、また基質認識には側鎖と共に主鎖の負電荷が重要であることが示された。特に検出/精製タグであるビオチン基を導入した新規アシルスルホンアミド型光反応基を側鎖に組み込んだグルタミン酸プローブは十数倍の結合活性を示した。一方、効率的な解析には微量ラベルタンパク質の精製効率が大きく左右する。アシルスルホンアミドは切断性であり、これを利用したポストラベルや金属キレート能など優れた機能を秘める。ビオチン-アビジン相互作用を利用した精製系では担体からの溶出が問題となるが、アビジン修飾固相担体に捕捉したラベルタンパク質を N-アルキル化により容易に切断し溶出することに成功した。さらに別途、アシルスルホンアミドの金属配位能を利用したラベルタンパク質の分離、解析法の開発を進めた。金属キレート配位子を導入したポリアクリルアミドゲルを作成し、金属錯体形成による電気泳動度を評価したところ、いくつかの金属イオンで変化が見られた。つまり上記固相精製を利用せずに、ラベルタンパク質を直接ゲル内消化し、そのまま構造解析系に繋げることができるため、解析時間の大幅な短縮が期待できる。