

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成17年度採択分

平成20年 3月31日現在

研究課題名（和文）

生理活性物質と標的蛋白質の微視的相互作用解明のための化学構造生物学

研究課題名（英文）

Chemical proteomics to reveal interaction between chemicals and proteins

研究代表者

長田 裕之 (OSADA HIROYUKI)

独立行政法人理化学研究所・長田抗生物質研究室・主任研究員



推薦の観点：社会・経済の発展の基盤を形成する先見性・創造性に富む研究

研究の概要：「生命活動は化学反応の集合体である」この自明の理に基づき、有機化学を武器として生命現象を解き明かそうとする化学生物学(Chemical Biology)が世界のポストゲノム研究の一大潮流となっている。しかし、我が国では大きく立ち遅れているので、日本独自の化学生物学を創成する必要がある。そのために、我が国が伝統的に強みを持つ天然物化学を中心とした有機化学と、最近SPring-8を中心に急速に進展している構造生物学の両分野を融合した研究手法を確立する。ケミカルバイオロジーの手法に加えて、NMR 解析手法、X 線結晶構造解析手法を駆使することによって複雑多岐な生理活性物質(リガンド)と細胞内標的蛋白質(受容体)との微視的な相互作用の解明を目指す「化学構造生物学研究」を創成する。

研究分野：理工学

科研費の分科・細目：複合新領域・生物分子科学

キーワード：化学生物学、構造生物学、バイオプローブ、蛋白質、相互作用

1. 研究開始当初の背景

有機化学を武器として生命現象を解明しようとするケミカルバイオロジー研究(化学生物学的研究)、すなわち、化学を基盤とした化学と生物学の学際研究の必要性は世界的に認識されており、1997年にハーバード大学内に Institute of Chemistry and Chemical Biology が設立された。これを契機として、米国では続々と化学系学部の再編が行われ、ケミカルバイオロジー研究が活発に行われている。それに比較して、我が国におけるケミカルバイオロジー研究は現時点では非常に層が薄く遅れている感は否めない。我々は、日本が伝統的に強みを持つ天然物化学を中心とした有機化学と分子生物学を融合させたケミカルバイオロジー研究を推進していた。

2. 研究の目的

動的な生命活動を理解するためには、低分子化合物(リガンド)と蛋白質(受容体)との微視的な相互作用を解析することが必須である。本研究では、生理活性低分子とその標的蛋白質に焦点を絞り、「化学構造生物学研究」の研究領域を創成して、医薬開発ならびに社会経済の発展に資することを目標とする。

3. 研究の方法

本申請課題では、以下の研究を実施する。

1) リガンドと受容体の相互作用解明のための検出技術の開発を行い、構造活性相関を迅速に解明する手法を開拓する。2) 有機合成により得られた基質類縁体を用いて共結晶構造解析を行い、リガンドと受容体の微視的相互作用を解析する。3) リガンドの官能基置換と受容体のアミノ酸置換を論理的に行い、上記相互作用を実証する。

4. これまでの成果

これまでに受容体-リガンド間の微視的相互作用の迅速な解析に向けた化合物アレイ構築に成功しており、様々な蛋白質に対する化合物の相互作用解析が可能となっている。今回、蛋白質-低分子化合物の微視的相互作用解析のモデル蛋白質として CytC1 を使い、共結晶解析に成功した。さらに、蛋白質と標的分子との相互作用の実証むけた研究を展開しており、これまでに Iejimalide、Brasiliardin A、Epoxyquinol B の標的蛋白質同定に成功している。

5. 今後の計画

「化学構造生物学研究」の創成にむけて、化

合物アレイを用いた様々な蛋白質相互作用の解析・共結晶構造解析・リガンド-蛋白質相互作用の実証研究を展開する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
(研究代表者は太字、研究分担者には下線)
- N. Kanoh, T. Nakamura, K. Honda, H. Yamakoshi, Y. Iwabuchi, **H. Osada**. Distribution of photo-cross-linked products from 3-aryl-3-trifluoromethyl diazirins and alcohols. *Tetrahedron* (in press).
- K. Kawai, A. Saito, T. Sudo, **H. Osada**. Specific regulation of cytokine p38 MAP kinase activation by p62/SQSTM1. *J. Biochem.* (in press).
- H. Kamiyama, T. Usui, H. Sakurai, M. Shoji, Y. Hayashi, H. Kakeya, **H. Osada**. Epoxyquinol B, a naturally occurring pentaketide dimmer, inhibits NF- κ B signaling by crosslinking TAK1. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press).
- H. Kamiyama, H. Kakeya, T. Usui, K. Nishikawa, M. Shoji, Hayashi Y., **H. Osada**. Epoxyquinol B shows antiangiogenic effects in vitro and in vivo by inhibiting VEGFR not only but also EGFR, FGFR, and PDGFR. *Oncology Res.* 17, 11-21 (2008).
- H. Kamiyama, T. Usui, M. Uramoto, H. Takagi, M. Shoji, Y. Hayashi, H. Kakeya, **H. Osada**. Fungal metabolite, epoxyquinol B, crosslinks proteins by epoxy-thiol conjugation. *J. Antibiot.* **61**, 94-97 (2008)
- Y. Yashiroda, A. Matsuyama, M. Yoshida. New insights into chemical biology from ORFeome libraries. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12, 55-59 (2008).
- T. Miyazaki, S. Yokoshima, S. Simizu, **H. Osada**, Tokuyama H, Fukuyama T. Synthesis of (+)-vinblastine and its analogues. *Org. Lett.*, 9, 4737-4740 (2007).
- A. Yoneda, T. Higaki, N. Kutsuna, Y. Kondo, **H. Osada**, S. Hasezawa, M. Matsui. Chemical genetic screening identifies a novel inhibitor of parallel alignment of cortical microtubules and cellulose microfibrils. *Plant Cell Physiol.* 48, 1393-1403 (2007).
- S. Simizu, T. Suzuki, M. Muroi, N.S. Lai, S. Takagi, N. Dohmae, **H. Osada**. Involvement of disulfide bond formation in the activation of heparanase. *Cancer Res.*, 67, 7841-7849 (2007).
- C. W. Lo, D. Kaida, S. Nishimura, A. Matsuyama, Y. Yashiroda, H. Taoka, K. Ishigami, H. Watanabe, H. Nakajima, T. Tani, S. Horinouchi, M. Yoshida. Inhibition of splicing and nuclear retention of pre-mRNA by spliceostatin A in fission yeast. *Biochem, Biophys, Res, Commun.* 364, 573-577 (2007).
- Y. Hayashi, T. Urushima, W. Tsuboi, M. Shoji, L-Proline-Catalyzed Enantioselective One-Pot Cross-Mannich Reaction of Aldehydes. *Nature Protocol* 2, 113-118 (2007).
- Y. Hayashi, T. Okano, S. Aratake, D. Hazelard.

- Diphenylprolinol Silyl Ether as a Catalyst in an Enantioselective, Catalytic, Tandem Michael/Henry Reaction for the Control of Four Stereocenters. *Angew. Chem. Int. Ed.* 46, 4922-4925 (2007). Selected as "HOT PAPER".
- K. Kuroda, Y. Hayashi, T. Mukaiyama. Conversion of tertiary alcohols to tert-alkyl azides by way of quinone-mediated oxidation-reduction condensation using alkyl diphenylphosphinites. *Tetrahedron* 63, 6358-6364 (2007).
- Y. Hayashi, H. Sekizawa, J. Yamaguchi, H. Gotoh. Organocatalyst-Mediated Enantioselective Intramolecular Aldol Reaction Featuring the Rare Combination of Aldehyde as Nucleophile and Ketone as Electrophile. *J. Org. Chem.* 72, 6493-6499 (2007).
- H. Gotoh, H. Ishikawa, Y. Hayashi. Diphenylprolinol Silyl Ether as Catalyst of an Asymmetric, Catalytic, and Direct Michael Reaction of Nitroalkanes with α,β -Unsaturated Aldehydes. *Org. Lett.* 9, 5307-5309 (2007).
- A. Yokosuka, M. Haraguchi, T. Usui, S. Kazami, **H. Osada**, T. Yamori, Y. Mimaki. Glaziovianin A, a new isoflavone, from the leaves of *Ateleia glazioviana* and its cytotoxic activity against human cancer cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 3091-3094 (2007).
- M. Yoshida, Y. Matsui, Y. Ikarashi, T. Usui, **H. Osada**, H. Wakasugi. Antiproliferating activity of the mitotic inhibitor pironetin against vindesine- and paclitaxel-resistant human small cell lung cancer H69 cells. *Anticancer Res.* 27, 729-736 (2007).
- M. Makino, H. Sugimoto, Y. Shiro, S. Asamizu, H. Onaka, S. Nagano. Crystal Structures and Catalytic Mechanism of Cytochrome P450 StaP That Produces The Indolocarbazole Skeleton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 11591-11596 (2007).
- O. Shoji, T. Fujishiro, H. Nakajima, M. Kim, S. Nagano, Y. Shiro, Y. Watanabe: "Hydrogen Peroxide Dependent Monooxygenations by Tricking the Substrate Recognition of Cytochrome P450BS β ". *Angw. Chem. Int. Ed.* 46, 3656-3659 (2007).
- K. Harada, M. Makino, H. Sugimoto, S. Hirota, T. Matsuo, Y. Shiro, Y. Hisaeda, T. Hayashi. Structure and Ligand Binding Properties of Myoglobins Reconstituted with Monodepropionated Heme. Functional Role of Each Heme Propionate Side Chain. *Biochemistry* 46, 9406-9416 (2007).
- S. Hirano, S. Asamizu, H. Onaka, Y. Shiro, S. Nagano. Crystal Structure of VioE, a Key Player in the Construction of the Molecular Skelton of Violacein. *J. Biol. Chem.* 283, 6459-6466 (2008).
- ホームページ、受賞等
<http://www.antibiotics.riken.go.jp/>
長田裕之: バイオインダストリー協会賞 (2007年11月26日)
掛谷秀昭: 生命科学啓明賞 (2007年12月)