

# 低分子化合物と結合標的タンパク質の相互作用解析

## Interaction analysis of small molecules and binding target protein

奥村英夫<sup>1,2,3</sup>、加藤直樹<sup>1,2</sup>、高橋俊二<sup>1,2</sup>、長田裕之<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>理研基幹研・長田抗生物質研究室、

<sup>2</sup>理研基幹研・ケミカルバイオロジー研究基盤施設、<sup>3</sup>JASRI（現所属）

ケミカルバイオロジーは、低分子化合物をケミカルツールとして用いることで生命現象を研究する分野である。対象とするタンパク質の機能を制御することのできる低分子化合物はバイオプローブと呼ばれ、研究の強力なツールとなる。目的とする阻害剤やバイオプローブを同定するハイスループットスクリーニングシステムはケミカルバイオロジーにとって重要であり、その手法の一つである化合物アレイは個々のタンパク質に対するリガンド分子の高効率な検出を可能にしている。ケミカルバイオロジー研究基盤施設では天然化合物やその誘導體、薬剤など、多様な構造の低分子化合物を基板上に固定する光親和型化合物アレイを開発してきた。光親和型固定化法は一枚の基板上に簡単に種々の化合物を固定でき、またスクリーニングにおいては対象となるタンパク質が基板上の化合物が持つそれぞれの官能基と接触できる。本シンポジウムではまず、この化合物アレイを利用した低分子化合物と結合標的タンパク質の相互作用研究を紹介する。

また一方で、微生物代謝産物から有用な生物活性を有する化合物を見だし、その生合成機構、および基質化合物と酵素タンパク質の相互作用を明らかにし、それをもとにした改変等により天然物の持つ特性の拡張することも目指している。

マイコトキシン *verruculogen* は *Aspergillus fumigatus* における *fumitremorgin* 生合成経路の最終産物の一つであり、分子内に *peroxide* 架橋を有する特徴的な構造を有している。我々のこれまでの *fumitremorgin* 生合成遺伝子クラスターの解析から、 $\alpha$ -ケトグルタル酸依存型ジオキシゲナーゼと相同性を示す酵素遺伝子 *ftmF* が、その生成に関与していることを明らかにしている[1]。FtmF の触媒する分子内 *peroxide* 架橋形成反応のメカニズムの理解を目的に、FtmF の機能解析ならびに結晶構造解析を行った。大腸菌において His タグタンパク質として発現させた組換え FtmF を、 $\alpha$ -ケトグルタル酸、 $\text{Fe}^{2+}$  イオン、アスコルビン酸存在下で、*fumitremorgin B* と反応させたところ、*verruculogen* の生成が確認できた。最適化した反応条件において、*fumitremorgin B* および  $\alpha$ -ケトグルタル酸に対するキネティクスの測定を行った。さらに精製タンパク質の結晶化ならびに X 線回折実験を行った結果、 $1.82\text{\AA}$  分解能にて FtmF の結晶構造を明らかにすることが出来た。FtmF は結晶中においてダイマー構造をとっており、FtmF が属する *Clavaminic synthase-like* スーパーファミリーにおいてよく保存されている *double-stranded beta-helix* 構造を有していた。

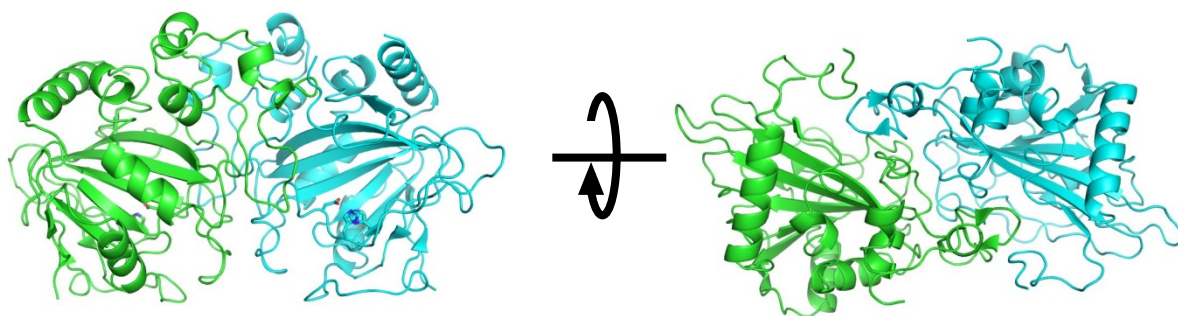


Figure 1. FtmF ジオキシゲナーゼの結晶構造

[1] Kato N, *et al.* Gene Disruption and Biochemical Characterization of Verruculogen Synthase of *Aspergillus fumigatus*. *Chembiochem* **12**, 711-4 (2011)