

ディビジョン番号	7
ディビジョン名	天然物化学・生命科学

大項目	1. 理工系天然物化学
中項目	1-5. 活性天然物および医薬品による作用発現の分子機構
小項目	1-5-4. non-RI 光親和性標識法

<p>概要</p> <p>作用機序が未知である生物活性物質の標的タンパク質の探索研究は、新たな創薬ターゲットの開拓に直結する重要な課題である。non-RI 光親和性標識法は、光ラベル化した標的タンパク質の直接解析を可能にする。中でも脂肪族アジド基を検出基導入用タグに用いる方法は、オリジナルの親和性化合物の有する生物活性を損なわないプローブ設計が可能である。今後は光ラベル化効率の向上を目指した新しい光反応基の開発が期待される。</p>	<p>図1. 光親和性標識法の原理</p>
<p>現状と最前線</p> <p>有機化合物の多くは生物活性を有するが、現在使用されている薬剤を含めてその作用発現機構はよく分かっていないものが多い。近年、分子標的薬と呼ばれる薬剤の開発が盛んであることから、今後は標的タンパク質を定めた創薬開発が主流になるものと考えられる。ケミカル-タンパク質間の相互作用の代表的な研究法は、X線結晶構造解析やNMRによる解析などであるが、これらは一般に標的分子が未知である場合には不向きである。一方、光親和性標識法は、光照射によりプローブ分子内の光反応性官能基を活性化することにより高反応性化学種を発生させ、プローブと標的タンパク質とを安定な共有結合でクロスリンク（架橋）させて、多くのタンパク質が混在する系中から、標的タンパク質を直接解析することができる（図1）。ある化合物の光親和性標識プローブ化にあたっては、その構造に二種類の官能基修飾を施す。一つは光反応により標的タンパク質との間に共有結合を形成（捕獲）するための光反応性官能基（芳香族アジド、ジアジリン、ベンゾフェノンなど）であり、もう一つは捕獲タンパク質を他のタンパク質と区別するための検出用官能基である。後者には放射性同位元素（RI）がよく用いられる。ただし、RI 標識プローブは検出感度が高い点で有効であるものの、特別な実験施設を必要とし、実験者の被曝対策が必要であることや、プローブ自体が分解しやすい上に捕獲タンパク質の直接的解析や精製が困難である、など多くの制約がある。実際、RI 標識プローブを用いた実験では、多くの場合はラベル化タンパク質の分子量情報が得られるにとどまり、実態が未知である標的タンパク質の構造決定には不都合なことが多い。</p>	

RI を用いない (non-RI) 光親和性標識法としては、ビオチン修飾プローブを用いる方法が知られており、実際に数多くの応用例がある。この方法では、ビオチンに対するアビジン（またはストレプトアビジン）の高親和性を利用して捕獲タンパク質の検出や直接精製が可能である。最近、アジド基の特性を利用した、より一般性の高い non-RI 光親和性標識法が見出された (図2)。すなわち、芳香族アジド基やジアジリニル基などの光反応基とともに、同一プローブ構造内に脂肪族アジド基を有するプローブを活用する方法である。本手法では、まず光反応により標的タンパク質を捕獲した後 (第一段階)、脂肪族アジド基をタグとして利用して Staudinger-Bertozzi 反応などにより蛍光基やビオチンなどの検出用マーカを導入する (第二段階) ことにより直接解析を可能にしている。この際、検出基導入用のタグとして構造的に小さく低極性なアジドメチル基を用いれば、オリジナルの親和性化合物のプローブ化に伴う生物活性への影響を最小限に抑えることができる。本手法の有効性は、抗高脂血症薬であるセリバスタチンを構造修飾したプローブによる HMG-CoA 還元酵素の特異的ラベル化および筋弛緩薬であるダントロレンの修飾プローブによる興奮収縮連関関連タンパク質 (<29 kDa) の捕獲・同定により実証された。今後、様々な低分子が標的とする未知タンパク質の有効な同定法としての活用が期待される。

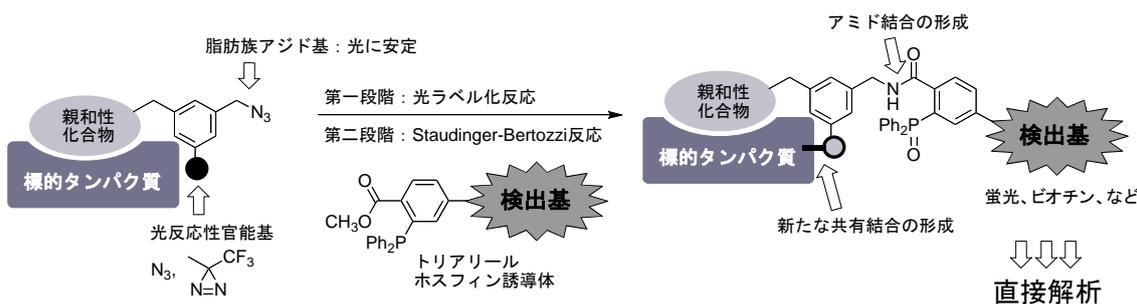


図2.アジド基の特性を利用したnon-RI光親和性標識法

将来予測と方向性

- ・ 5年後までに解決・実現が望まれる課題

生物活性を保持したままプローブ設計が行えるようにするためのよりコンパクトな構造を有する含アジド光反応性官能基の開発、non-RI 光親和性標識プローブの簡便な合成法の開発

- ・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題

光ラベル化効率の向上を可能にする新概念に基づく斬新な光反応性官能基の開発

キーワード

標的タンパク質、non-RI 光親和性標識法、分子プローブ、アジド基

(執筆： 鈴木 正昭、細谷 孝充)