平成 28 年度　　京都大学化学研究所 スーパーコンピュータシステム 利用報告書

たんぱく質間相互作用を制御する合成分子の創製
Rational Design of Synthetic Agents that Control Protein-protein Interactions

京都大学 化学研究所 ケミカルバイオロジー領域　　大神田淳子

本研究では、京都大学化学研究所スーパーコンピュータシステムを利用し、K-Ras と、K-Ras の脂質翻訳後修飾を担うファルネシル転移酵素(FTase)およびゲラニルゲラニル化酵素(GGTase-I)との間に起こる過渡的 PPIs を阻害するアンカー型中分子を、生物学的に安定なイミダゾール含有ペプチドミメティクスを用いて合理設計し、生物活性を評価することを目的とした。

約 65 万以上のたんぱく質間相互作用（PPIs）の約 8 割が、分化・増殖、細胞死、老化等多様な生体反応を司る細胞内信号伝達系の構築に関わっている。近年、PPs の異常とがんや神経変性性疾患等の関連が解明され、PPIs はポストゲノム時代の新薬の標的として広く注目されている。今後、PPI ネットワークの解明ならびに PPI 創薬をより推進してゆくためには、、細胞透過型の分子プローブおよび PPI 阻害剤の設計法の抜本的な改革が必要である。本研究では、細胞で機能する中分子 PPI 阻害剤および検出プローブの開発の一環として、悪性腫瘍の原因因子である K-Ras たんぱく質の翻訳後修飾を対象とした新規阻害剤の合理設計と合成、酵素阻害活性評価を計画した。

K-Ras の翻訳後脂質修飾酵素であるファルネシル転移酵素（FTase）ならびにゲラニルゲラニル転移酵素(GGTase-I)の結晶構造に基づいて、活性ポケット認識モジュールを合理設計した。これまでの研究で、K-Ras の C 末端テトラペプチド配列 CVIM を模倣したペプチドミメティクスを含有する中分子 PPI 阻害剤が、細胞内の K-Ras の翻訳後修飾を阻害することを見出していた。しかし、活性中心の亜鉛イオンに配位するシステイン残基が酸化されやすく、化合物の安定性の向上が課題となっていた。そこで本研究では、システインに代わってイミダゾールを亜鉛イオン配位として用いる戦略を検討した。

まず CVIM の伸長構造を模倣するように設計した各種のイミダゾール含有誘導体と FTase のドッキングシミュレーションを実施し、イミダゾールとメチオニン残基を連結する土台として、6 員環含窒素複素環が良好な結果を与えることを見出した。また連結スペーサーとして、アミドよりも尿素型の誘導体が CVIM のコンホメーションにマッチする結果を与えた。続いて良好なスコアを与えたペプチドミメティクスを有機合成化学的に調製し、リコンビナント酵素を用いた in vitro 実験により阻害活性を評価した。その結果、尿素誘導体が 1nM 以下の低濃度で FTase を阻害することが分かった。この活性は、市販のペプチドミメティクス阻害剤 FTI-2148 のそれを凌駕するものである。

現在、本ペプチドミメティクスに酵素表面を認識する部位を導入した中分子 PPI 阻害剤の合成を検討中であり、細胞中の K-Ras 阻害活性と抗腫瘍活性の評価を行う予定である。