

## 研究課題別研究評価

1. 研究課題名： 低分子化合物による蛋白質の形とはたらきの制御

2. 研究者名： 袖岡 幹子

3. 研究のねらい

癌などに関わる細胞情報伝達を担う酵素の低分子リガンドによる活性調節のしくみに着目し、そのしくみを生かして酵素活性を制御する新しいタイプの低分子化合物の創製をめざした。具体的研究対象としてプロテインキナーゼC (PKC) を選び、そのコンホメーション (形) を活性型または不活性型に偏らせることにより酵素活性 (はたらき) を制御しうる分子を開発し、さらに分子レベルでの酵素の活性化のしくみも明らかにすることをめざした。

4. 研究結果及び自己評価：

研究結果

1) 新しいPKC 結合ユニットの設計: 本研究で導入した分子設計支援システムを用い、PKC の結晶構造と既知の PKC リガンドの構造活性相関などの知見をもとに、新しい PKC 結合ユニットとしてベンゾラクトンを設計した。

2) ベンゾラクトンユニットの合成法の確立: 設計したベンゾラクトンユニットの効率の良い合成法を開発した。光学異性体の分離法も確立し光学的に純粋なベンゾラクトン誘導体を合成した。

3) 単量体の PKC 結合能ならびに活性化能の評価: まず、脂質膜と相互作用し PKC 活性化剤として働く予想される長鎖疎水性側鎖をもつベンゾラクトン単量体の PKC 結合能ならびに活性化能を評価した。その結果、モデリングにより設計した光学異性体は期待通り PKC に対して生理的リガンドに近い結合能を示したのに対し、その光学異性体はより低い結合しか示さなかった。この疎水性側鎖を有する単量体は、結合能は劣るものの高濃度における最大酵素活性で比較すると、既存の最強の活性化リガンドとして知られる TPA の 1.4 倍の活性を示した。

4) ベンゾラクトン二量体の合成と評価: ふたつのリガンド結合部位を持つ PKC の特性に着目し、ベンゾラクトンを活性コンホマー、不活性コンホマーそれぞれにぴったりと合う適当なリンカーでつないだ二量体化合物が強力な活性化剤または阻害剤となりうると考え、その合成を行った。ふたつの結合部位の距離は不明である為、まず最初にフレキシブルな様々な長さのメチレンリンカーでつないだ多数の二量体群を合成し、その PKC 結合能を調べることにより距離情報を得ることを試みた。尾部結合型二量体においては、C<sub>8</sub> C<sub>12</sub>程度で単量体を上回る最も強い結合が観察され、これらの二量体ではふたつのベンゾラクトンユニットがそれぞれ結合部位と相互作用している事が示唆された。しかしその相互作用の効率は未だ十分でなく、強力な活性化剤または阻害剤を得る為にはさらなるリンカー部分の検討が必要と思われる。

5) 固相を利用したライブラリー合成法の開発: 上記研究のように、分子設計を行う為の十分な情報が得られない場合に、最適な化合物を得る為のひとつのアプローチとしてコンビナトリアルケミストリー、即ち多種類の化合物を合成してその中から良いものを選び出すというアプローチをとらざるを得ない。その場合、律速段階となるのは合成、特に化合物の精製段階であることから、精製操作が簡便な固相担持活性エステルを用いたアミドやカーボネートの合成法を開発した。

自己評価

本研究は、これまでの自分の研究の延長ではなく新しい着想で新しい手法を取り入れたり開拓したりして自分自身の今後の研究のひとつの柱を作ることをめざして一歩ずつ研究を進めて来た。残念ながら時間が足りずに最終目標である PKC の強力な阻害剤開発や PKC 活性化の分子メカニズムの

解明には至らなかったが、その為の基礎的な知見は得られえたと考えている。また、さきがけの支援を得て、分子設計や固相合成など新しい試みを行うことができてある程度の成果が得られたことは、今後の研究の展開に大きく寄与すると思われる。

## 5. 領域総括の見解

酵素の作用を高めたり低めたりする化学物質は、治療薬の開発で大いに期待されている。本研究では、発がんに関与している蛋白質リン酸化酵素の活性化剤を酵素活性部域の構造から推定して化学合成し、みごとに成功した。これから阻害剤の合成にかかるところで、実用化が待たれる。さきがけ研究に採用されたとき民間研究所の研究者であった本人はそのめざましい研究成果が認められ、東北大学教授に就任。新研究室を立ち上げている。さきがけ研究が引き金となったことを喜んでいる。

## 6. 主な論文等

### 論文

- ・ M. Kato and M. Sodeoka. "Polymer-Bound N-hydroxysuccinimide Esters: A Column-Free Fluorescent-Labeling Method." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9, 881 (1999).
  - ・ 袖岡幹子, "有機合成化学から生命科学へのアプローチ" *有機合成化学協会誌*, 59, 480 (2001).
- ### 口頭発表
- ・ 川崎秀和, 馬場良泰, 生越洋介, 袖岡幹子, 真弓聡, 橋本祐一, "PKC アンタゴニストの創製研究 1" 日本薬学会第 122 年会 (千葉) 2002.3.26.-28.
  - ・ 真弓聡, 長澤和夫, 橋本祐一, 馬場良泰, 生越洋介, 袖岡幹子, "PKC アンタゴニストの創製研究 2" 日本薬学会第 122 年会 (千葉) 2002.3.26.-28.
  - ・ 馬場良泰, 柳澤武史, 袖岡幹子, 真弓聡, 橋本祐一, "蛋白質の高次構造を認識する機能性分子の開発研究 P K C 結合分子の設計と評価" 日本薬学会第 21 年会 (札幌) 2001.3.28.-30.
  - ・ M. Kato, Y. Baba, T. Shimizu, M. Sodeoka, "A Column-Free Synthesis of Various Amides, Carbamates, and Ureas Using Polymer-Bound N-Hydroxysuccinimide" 第 18 回国際複素環会議 (横浜) 2001.7.29.-8.3.
  - ・ 袖岡幹子, "蛋白質の高次構造を制御する分子の開発" 平成 12 年度 KAST 科学技術セミナー (川崎) 2001.3.1.

招待講演 (1999 2001) : 国際学会 3 件、その他の国外招待セミナー等 5 件、国内学会 17 件、その他の国内招待セミナー等 8 件

受賞等 : R. B. Woodward Visiting Scholar (2001.5. Harvard University, U.S.A.)