

# 研究題目 *In situ click chemistry* を利用したプリオン蛋白質高親和性物質 の探索と合成

## 研究組織

研究代表者：廣瀬 友靖（北里大学北里生命科学研究所）  
共同研究者：坂口 末廣（徳島大学疾患酵素学研究センター）  
研究分担者：砂塚 敏明（北里大学北里生命科学研究所）  
研究分担者：塩見 和朗（北里大学北里生命科学研究所）  
研究分担者：大村 智（北里大学北里生命科学研究所）  
研究分担者：堀越 俊（北里大学北里生命科学研究所）

## 【1】研究の概要

プリオンは、感染性蛋白質であり、ヒトでは、クロイツフェルト・ヤコブ病、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症、クールー病などの原因といわれている。

一方で、徳島大学疾患酵素学研究センターの坂口教授らはプリオン蛋白質の研究を精力的に行っており、その最近の研究結果から、プリオン蛋白質の細胞恒常性維持機能を活性化させることにより、感染防御や神経細胞死を主病態とする神経変性疾患の改善を行える可能性が示唆された。従って、プリオン蛋白質をターゲットにした創薬研究から新しい治療法を社会へ提供することが期待できる。しかしながら、現在までにプリオン蛋白質に作用する低分子化合物は報告例が極めて少ないのが現状である。

本研究では、酵素誘導反応を利用した蛋白質高親和性物質の探索法である *in situ click chemistry* を利用しプリオン蛋白質に対し高親和性を有する化合物の探索及び合成を実施し、その薬効評価等を検証する。そしてプリオン蛋白質結合低分子化合物を創薬展開へと結びつける。

## 【2】研究計画と成果

本研究では、これまで当研究室が培ってきた標的酵素誘導反応を指標にした蛋白質の高活性化合物の探索法「*in situ click chemistry*」(Figure)を利用して、プリオン蛋白存在下でのアジド含有プリオン蛋白親和性物質とアルキンフラグメントとを作用させ、プリオン蛋白によるトリアゾール形成促進効果を観察することで、プリオン蛋白に高い親和性を有する低分子化合物の探索をおこなう。なお、本研究に用いるプリオン蛋白は坂口教授のグループにより提供していただく。そして見出された化合物は別途有機合成的に調製し、その薬効評価をおこなう。

実際の研究に関して、以下に遂行した。第一段階として、報告されている低分子プリオン蛋白親和性物質 (Kuwata, K. *et al.*, *PNAS* **2007**, *104*, 11921) を基盤にアルキンもしくはアジド官能基を導入し、*in situ click chemistry* に利用可能なリガンド分子を合成した。それら化合物は、共同研究者の坂口教授らによって開発されたプリオン蛋白質のエピトープを用い、生体分子間相互作用解析システム Octet シリーズ (プライムテック株式会社) を用いて、解離定

数を測定した。その結果、アジド誘導体において、既存のプリオン蛋白親和性物質に匹敵する結合親和性を示した。次に第二段階としてその新たに合成したアジド基を有するプリオン蛋白親和性物質と、当研究室が保有する 140 種のアルキンフラグメントライブラリーを用い、プリオン蛋白存在下で *in situ click chemistry* によるスクリーニングを実施した。その結果、3 種のトリアゾール化合物がヒットした。第三段階として、ヒットしたトリアゾール化合物活性試験に供給するため、アジドリガンド分子とヒットしたアルキンフラグメントとの銅触媒によるトリアゾール形成反応をおこない、それぞれのヒット基質を合成した。

### 【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

### 【4】今後の課題等

今後は共同研究者の坂口教授らのプリオン蛋白質に対する親和性評価システムにて、今回ヒットしたトリアゾール体の活性評価を進める。そしてその結果を基に、プリオン蛋白親和性分子の構造最適化、動物モデルでの活性評価等へと本研究を発展させていきたい。一方で、今回用いたアジドリガンド分子以外にも *in situ click chemistry* に利用できる親和性分子を合成し、それらをリガンドとして *in situ click chemistry* のスクリーニングを継続しておこなっていく。