

利用成果報告書

- 1 課題番号 H27-006
- 2 報告者 作田 庄平 国立大学法人東京大学大学院農学生命科学研究科
- 3 利用区分 成果公開有償利用
- 4 利用課題名 アロサミジン類縁体に結合する蛋白質の解析
- 5 使用装置名 BIACORE 分子間相互作用解析装置
- 6 利用期間 平成 27年 5月 1日 ~ 平成 28年 3月 31日

- 7 利用成果・実績の概要
- 放線菌の産生するキチナーゼ阻害物質アロサミジンは抗喘息作用を有している。アロサミジンの抗喘息作用に対する標的蛋白質としては、喘息に関連することが既に報告されている哺乳類キチナーゼ、もしくは酵素活性を欠くキチナーゼ様蛋白質が想定されている。アロサミジンの類縁体デメチルアロサミジンはキチナーゼに対する阻害活性はアロサミジンと同程度であるのに対し、アロサミジンよりも強力な抗喘息作用を発揮する。このことはアロサミジンの標的蛋白質がキチナーゼではなくキチナーゼ様蛋白質である可能性を示している。この可能性を追及するためキチナーゼおよびキチナーゼ様蛋白質とアロサミジン類の相互作用の強度を測定することを企画し、該当施設の蛋白質相互作用測定装置(BIACORE)を用いて測定を行った。アロサミジンの分子量は約1000と小さくアロサミジンを固定して蛋白質を検出する場合アロサミジンの誘導体を作製して固定することが必要となる。しかし、誘導体のキチナーゼに対する阻害作用はアロサミジンよりも減弱しており誘導体化に伴う立体障害が生じていることが考えられた。そのため、蛋白質の方を固定しアロサミジンの結合を測定する方策を採用した。この場合、結合により観察できるシグナルは微小であり測定は困難であることが予測されていたが該当機器の公称感度から、確実に結合するのであれば十分検出可能であると想定された。
- 測定の結果、阻害濃度(IC50)より想定される濃度より高濃度において結合とみられるシグナルが検出できたものの、バックグラウンドとの有意な相違を測定することができなかった。また、測定中に濃度およびアナライトを変えて反復測定をしている際に蛋白質の経時変化的変質が原因のためかシグナルが減弱していくことが観察された。そのため、再現性よく蛋白質とアロサミジン類の相互作用を測定するためには測定する都度プローブを再作成し迅速に測定する必要があると考えられた。このことは実験デザインとしても経済的にも測定戦略の再考を要することとなり、一旦、該当機器による解析を中断することとした。
- 8 社会・経済への波及効果 今回の利用では追及できなかったが、アロサミジンによる抗喘息作用の作用機序が明らかと出来れば抗喘息薬の開発につながり、また、アレルギー全般に対する緩和薬の開発も期待できる。
- 9 学会等における口頭・ポスター発表 該当無し
- 10 学会誌・雑誌等における論文掲載 該当無し