

天然化合物を利用した新規 DAP キナーゼ阻害剤の開発 Development of novel DAP kinase inhibitors using natural products

横山 武司*

富山大学 大学院医学薬学研究部 (薬学), 〒930-0194 富山市杉谷 2630 番地

Takeshi Yokoyama

Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, 2630, Sugitani, Toyama, 930-0914

1 はじめに

Death-associated protein kinase 1 (DAPK1)はカルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼサブファミリーに属するセリン/スレオニンキナーゼである。このタンパク質は急性虚血発作や子宮内膜癌の進行を抑える薬剤の標的タンパク質として期待されている。これまでに様々なキナーゼ阻害剤が開発されてきた。しかし、数多く存在するキナーゼは共通の ATP 結合ポケットを有しており、DAPK1 だけに選択的に結合し、その活性を阻害する化合物の開発は挑戦的な課題である。

選択性の高い阻害剤を論理的に設計するには、構造-活性相関と立体構造情報を蓄積する必要がある。これまでの研究により、天然フラボノイドが cyclin dependent kinase (CDK)、casein kinase (CK)、PIM1 などのキナーゼの活性を阻害することが知られている。フラボノイドとキナーゼの相互作用は非常に興味深く、一つの水酸基の置換によってその阻害能力や、結合モードが大幅に変化する。しかし、DAPK1 とフラボノイドの相互作用はまだ調査されていない。DAPK1 の ATP 結合ポケットの特性を調査するためにフラボノイドが有用であると考え、本研究では、それらの親和性と X 線結晶構造解析によって結合様式を決定する。

2 実験

ケルセチン(QUE)、モリン(MOR)、ケンペロール(KAE)の三種類を使用した(図1)。アポ型の DAPK1 単結晶は硫酸アンモニウムを沈殿剤に用いることで得られた。DAPK1-フラボノイド複合体結晶は 1-2 mM フラボノイドになるように結晶化溶液に加え、そこにアポ型 DAPK1 結晶を浸漬することで得られた。これらの結晶を抗凍結剤を含む結晶化溶液に浸漬し、直接液体窒素で凍らせて X 線回折測定を行った。

3 結果および考察

DAPK1-フラボノイド複合体結晶の X 線回折データ収集の結果、1.5-2.0 Å 分解能のデータを得た(図2、表1)。

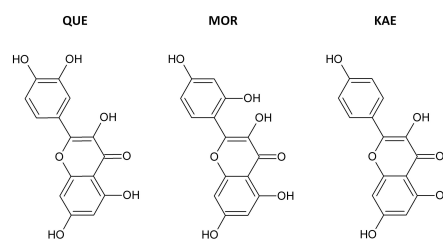


図1: 使用したフラボノイドの構造

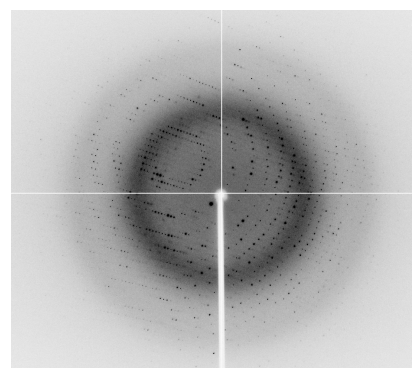


図2: DAPK1-ケンペロール複合体結晶 X 線回折像。

表1: 結晶データ

	QUE	MOR	KAE
Max. reso. (Å)	1.5	2.0	1.5
R_{merge} (%)	9.2	11.7	6.3
I/σ	19.7	18.5	27.2
Redundancy	4.6	4.4	5.1
Completeness (%)	99.1	97.7	98.6

4 まとめ

今回試験した三つのフラボノイド以外にも多数の類似したフラボノイドの結合分析を行っている。今後は複合体結晶構造解析をさらに行い、構造-活性相関をより原子レベルで明らかにする。

* tyokoya3@pha.u-toyama.ac.jp