

昆虫ステロイドホルモン生合成制御因子 Noppera-bo を標的とした 阻害剤の構造活性相関解析

A Structure-Activity Relationship Analysis of Inhibitors Targeting Noppera-bo, a Regulator of Insect Steroid Hormone Biosynthesis

稲葉和恵¹, 海老原佳奈¹, 小祝孝太郎², 千田美紀², 千田俊哉², 丹羽隆介^{2,3,*}

¹筑波大学 大学院生命環境科学研究科 生物科学専攻 〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

²高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所, 〒305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

³筑波大学 生存ダイナミクス研究センター, 〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1

Kazue INABA¹, Kana EBIHARA¹, Kotaro KOIWAI², Miki SENDA²,
Toshiya SENDA² and Ryusuke NIWA^{2,3,*}

¹Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan

²Photon Factory, Institute of Materials Structure Science,

High Energy Accelerator Research Organization, 1-1 Oho, Tsukuba, Ibaraki 305-0801, Japan

³Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance,

University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

1 はじめに

様々な作用機序に基づく殺虫剤の継続的開発は、薬剤抵抗性を抑え、農業害虫や衛生害虫を駆除する上で常に重要な課題である。本研究では、昆虫の脱皮と変態の誘導に必須である、脱皮ホルモンとして知られているエクジステロイドに着目し、エクジステロイド生合成を攪乱する新規化合物の同定を目指している。エクジステロイドは、食餌由来のコレステロールを出発点として複数の酵素により生合成される。複数の生合成酵素の中の1つであるグルタチオン S-転移酵素 Noppera-bo (Nobo) は、2014年に所属研究室にて同定された[1,2]。noboの機能欠損ショウジョウバエ個体およびカイコガ個体は致死であることから、我々は Nobo を阻害する薬剤が新規殺虫剤として期待できると考え、Noboの酵素活性を阻害する化合物の探索を実施している。そして現在までに我々は、ショウジョウバエ由来 Nobo に対する阻害剤の X 線結晶構造解析を報告している [3,4]。

今回の研究では、デング熱の媒介虫として知られているネッタイシマカ *Aedes aegypti* 由来 Nobo

(以下 AeNobo) に注目した。我々は、東京大学創薬機構の 9600 化合物コアライブラリーでの *in vitro* におけるハイスループットスクリーニングを実施し、フラボノイド化合物が蚊 Nobo を特異的に高く阻害することを見出した (未発表)。そこで我々は、AeNobo とフラボノイド化合物の相互作用様式を X 線結晶構造解析によって解明することを目指した。

2 実験・結果

AeNobo 質タンパク質の結晶化条件を検討した後、4つのフラボノイド化合物とのソーキングによって複合体結晶を得た。この結晶から回折データを PF の BL-5A で収集した。これらを用いた X 線結晶構造解析の結果、1.75 Å の最大分解能で 4つのフラボノイド阻害化合物との複合体構造の取得に成功した。いずれの複合体構造においても、113番目のグルタミン酸(E)とフラボノイド化合物との水素結合が確認された。この水素結合の重要性を評価するために、E113 をアラニン(A)に置換した変異体タンパク質 (E113A) に対する阻害活性を評価したところ、どの化合物においても E113A に対して阻害活性を持たなかった。このことから、E113 との相互作用が、阻害活性において重要であることが示唆された。

3 考察・まとめ

今回見出したフラボノイド阻害化合物は、実際にネッタイシマカに対して殺虫効果を発揮することを示す予備的結果を得ている。よって、これら化合物は、殺虫剤候補として期待できる。本研究の X 線結晶構造解析の結果は、AeNobo を標的とした新規の殺虫剤開発のドラッグデザインの手掛かりとなる、重要な知見になり得る。

参考文献

- [1] S. Enya *et al.*, *Sci. Rep.* 4, 6586 (2014)
[2] S. Enya *et al.*, *Insect Biochem. Mol. Biol.* 61, 1-7 (2015)
[3] K. Koiwai *et al.*, *J. Biol. Chem.* 295, 7154-7167 (2020)[4] K. Koiwai *et al.*, *J. Pest. Sci.* 46, 75-87 (2021)

* ryusuke-niwa@tara.tsukuba.ac.jp