

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2011～2015

課題番号：23102012

研究課題名(和文)生物現象を誘起する新規内因性分子作用機構

研究課題名(英文) Mode-of-action of endogenous factor controlling biological phenomena

研究代表者

上田 実 (UEDA, Minoru)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60265931

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 88,100,000円

研究成果の概要(和文)：特筆すべき成果としては、天然物リガンドの立体異性体が標的選択性のチューニングに有用であることを明らかにした点を挙げることができる。天然物リガンドは「鍵束」のように複数の標的タンパク質と結合する。いくつかの研究成果から、「鍵束」の分解や「親鍵」の構造修飾によって、その標的選択性と活性強度は劇的に変化することが分かってきた。天然物リガンドのもつこの「鍵束」のような複雑な性質は、それらのケミカルツールとしての利用を阻んできたが、一方で、その標的選択性を絞り込むことができれば、医薬品としての副作用低減や生物学ツールとしての有用性向上が期待できる。植物ホルモンミミック コロナチンを用いて、実例を示した。

研究成果の概要(英文)：Our most important achievement is to show that a stereoisomer of natural products is most useful for tuning the target selectivity. Usually, natural product have plural target and functions as a multi-biofunctional molecule. natural product behave like a bunch of keys, not a canonical lock-and-key. We can reduce the side reactions in the body by using a stereoisomer of natural products. We demonstrated the successful example of target tuning of natural products in plant hormone mimicking natural product, coronatine.

研究分野：天然物有機化学

キーワード：天然物リガンド コロナチン 立体異性体

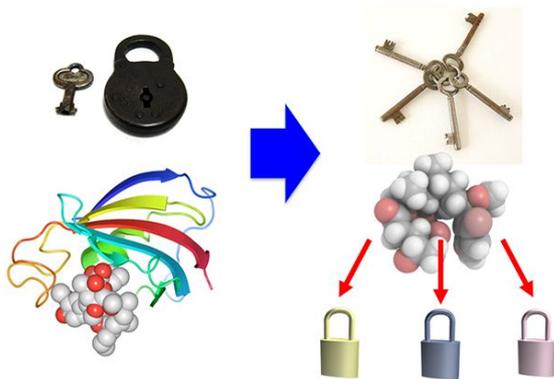
1. 研究開始当初の背景

天然物有機化学は、合成・構造有機化学の一分野として発展してきた。このため、分子構造の複雑さに注目するあまり、その本来の魅力である生物活性に関する理解がやや弱かった点是否めない。一方で近年、ゲノム生物学は隆盛を極め、生物現象の多くが遺伝子レベル、分子レベルで記述できるようになってきた。このため、天然物リガンド、特に生物現象を制御するリガンドの生物活性に関する理解を深め現代生物学とリンクさせたいという強い衝動は、当該分野研究者の多くが潜在的に有していた。生物活性をもつ天然物リガンドには、生物個体に対して明確な応答を引き起こすものの、同時に複数の応答を引き起こすものも少なくないため、分子レベルでの理解を複数にしていた。

2. 研究の目的

天然物リガンドの最大の魅力は、生物個体に対して明確な表現型(生物応答)を示すことである。このアドバンテージが、低分子である天然物の医薬・農薬としての圧倒的優位性のゆえんである。

天然物リガンドは、生体内で標的分子(タンパク質、核酸、糖鎖、膜低分子成分など)と結合して機能し、これは「鍵と鍵穴」の関係にたとえられてきた。しかし本領域において、天然物リガンドは、一つの標的タンパク質と結合する「鍵」というよりは、複数の標的タンパク質と結合する「鍵束」として働くことが明らかになった(下図)。次に、構造改変による標的選択性の制御による活性制御を実現する必要がある。天然物リガンドが「鍵束」として機能するのであれば、そこから各個の「鍵」を取り出すことで、副作用の低減が実現できる。このためには、「鍵束」の分解による天然物リガ



ド機能のチューニングを可能にする必要がある。

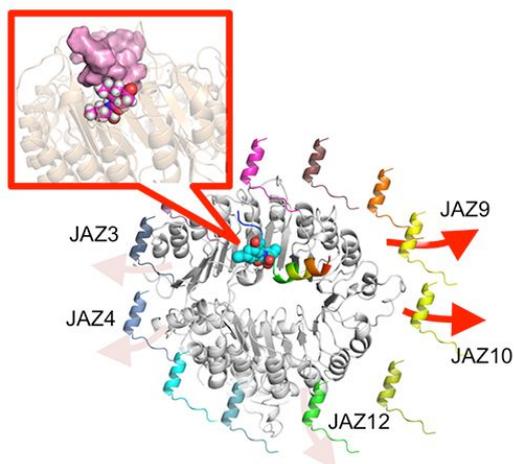
3. 研究の方法

本研究では、天然物リガンドの標的決定に続き、「鍵束」の標的選択性をチューニングする方法論を構築することである。このために、天然物リガンドの各種誘導体を合成し、標的中の結合ポケットへの結合モードをチューニングする方法論を開拓することにした。特に、結合モードの精密なチューニングを実現するために、天然型リガンドとおおよそ似ているものの、一部の立体構造のみが逆転した立体異性体を利用することを発案した。また、対象化合物として、強固な縮関係骨格をもつ植物生理活性物質コロナチンに着目した。さらに、受容体との複合体構造モデルを得るために、*in silico* ドッキングスタディを導入することとした(A03班 斎藤との共同研究)。特定の標的のみに作用する立体異性体リガンドをデザインすることで、天然物リガンドのもつ望む活性のみを残して、副作用を低減することを目指した。

4. 研究成果

特筆すべき成果としては、天然物リガンドの立体異性体が標的選択性のチューニングに有用であることを明らかにした点を挙げることができる。天然物リガンドは「鍵束」のように複数の標的タンパク質と結合する。いくつかの研究成果から、「鍵束」の分解や「親鍵」の構造修飾によって、その標的選択性と活性強度は劇的に変化することが分かってきた。天然物リガンドのもつこの「鍵束」のような複雑な性質は、それらのケミカルツールとしての利用を阻んできたが、一方で、その標的選択性を絞り込むことができれば、医薬品としての副作用低減や生物学ツールとしての有用性向上が期待できる。このため、天然物リガンドの標的選択性をチューニングするためのリガンド設計指針が求められていた。植物ホルモンミミック コロナチンは、2種のタンパク質(CO11とJAZ)間の相互作用(PPI)を誘導する(津ページ図を参照)。この際、植物体内で別々の機能をもつ12種のJAZサブタイプ全てがCO11と相互作用する。コロナチン立体異性体は、CO11と2種のJAZサブタイプとのPPIを特異的

に誘導するサブタイプ特異的 PPI アゴニストとなることを示した。これは、天然物リガンドの立体異性体を用いることで、ホモログタンパク質のように配列相同性が極めて高い複数の標的タンパク質間においても、標的選択性のチューニングが可能であることを示した初めての例である(下図)。



類似した例はフグ毒テトロドトキシン (A03 班西川) や海洋生物毒アプリシアトキシン (A02 班入江)、グルタミン酸受容体アゴニスト カイトセファリン (A02 班品田) などにも見られた。立体異性体は化学合成以外の手法では得ることができないが、標的選択性制御に極めて有用である。標的選択性をチューニングした天然物リガンドは、基礎ならびに応用研究に有用な強力なケミカルツールとなる。立体異性体を用いることで、「鍵束」を論理的に「分解」することが可能であることを実証できた点は大きな成果である。現在の所、標的タンパク質の立体構造が得られれば、ある程度の指針をもってリガンドの合理的デザインが可能であることも分かったが、この指針を全てのリガンド-標的の組み合わせに適用するには、*in silico* ドッキングスタディの一層の成熟を待たねばならない。今後、*in silico* ドッキングスタディの発展に伴い、立体異性体ライブラリーを用いて結合ポケットマッピングを実施し、論理的な分子設計に基づく標的選択性チューニングが可能となるであろう。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 14 件)

[1] Y. Kanno, T. Oikawa, Y. Chiba, Y. Ishimaru, T. Shimizu, N. Sano, T. Koshiba, Y. Kamiya, M. Ueda, M. Seo, AtSWEET13 and AtSWEET14 regulate gibberellin-mediated physiological processes, *Nature Commun.* **7**:13245 (査読有)
DOI: 10.1038/ncomms13245 (2016).

[2] S. Egoshi, Y. Takaoka, H. Saito, Y. Nukadzuka, K. Hayashi, Y. Ishimaru, H. Yamakoshi, K. Dodo, M. Sodeoka, M. Ueda, Dual function of coronatine as a bacterial virulence factor against plant: possible COI1-JAZ-independent role, *RSC Adv.*, **6**, 19404-19412 (2016).
DOI: 10.1039/C5RA20676F (査読有)

[3] Y. Takaoka, M. Shigenaga, Y. Nukadzuka, M. Imai, Y. Ishimaru, K. Saito, R. Yokoyama, K. Nishitani, M. Ueda, Protein Ligand-tethered Synthetic Calcium Indicator for Localization Control and Spatiotemporal Calcium Imaging in Plant Cells, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26**, 9-14 (2016). (査読有)

[4] T. Kobayashi, R. Nakanishi Itai, T. Senoura, T. Oikawa, Y. Ishimaru, M. Ueda, H. Nakanishi, N. K. Nishizawa, Jasmonate signaling is activated in the very early stages of iron deficiency responses in rice roots, *Plant Mol. Biol.*, **91**, 533-547 (2016). (査読有)

[5] Saito, H., Oikawa, T., Hamamoto, S., Ishimaru, Y., Sato, M.K, Sekimoto, Y. S., Utsumi, T., Chen, J., Kanno, Y., Masuda, S., Kamiya, Y., Seo, M., Uozumi, N., Ueda, M., Ohta, H.: The jasmonate-responsive GTR1 transporter is required for gibberellin-mediated stamen development in Arabidopsis. *Nat Commun* 1-11(2015)
Doi:10.1038/ncomms7095 (査読有)

[6] Ueda, M., Yang, G., Nukadzuka, Y., Ishimaru, Y., Tamura, S., Manabe, Y.: Functional importance of the sugar moiety of jasmonic acid glucoside for bioactivity and target affinity *Org Biomol Chem* **13**: 55-58, 2015.
DOI: 10.1039/C4OB02106A (査読有)

[7] Tamura S, Inomata S, Ebine M, Genji T, Iwakura I, Mukai M, Shoji M, Sugai T, Ueda M.; Triazolyl-phenyl Linker System Enhancing the Aqueous Solubility of a Molecular Probe

and its Efficiency in Affinity Labeling of a Target Protein for Jasmonate Glucoside. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23, 188-193, 2013 DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.10.124 (査読有)

[8] Y. Ikuta, Y. Koseki, T. Murakami, M. Ueda, H. Oikawa, H. Kasai ; Fabrication of Pure Nanodrugs of Podophyllotoxin Dimer and Their Anticancer Activity. *Chem. Lett.* 42, 900-901, 2013.

DOI: 10.1246/cl.130224 (査読有)

[9] E. Suzuki, M. Ueda, S. Ohba, T. Sugai, M. Shoji. Stereoselective Construction of cis-Decalin Framework via Radical Domino Cyclization. *Tetrahedron Letters*, 54, 1589-1592, 2013

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.01.050> (査読有)

[10] M. Ueda, G. Yang, Y. Ishimaru, S. Tamura, T. Itabashi, K. Kiyota, S. Kuwahara, S. Inomata, M. Shoji, T. Sugai. Hybrid Stereoisomers of Compact Molecular Probes Based on Jasmonic Acid Glucoside: Syntheses and Biological Evaluations, *Bioorg. Med. Chem.*, 20, 5832-5843 (2012)

DOI: 10.1016/j.bmc.2012.08.003 (査読有)

[11] H. Kasai, T. Murakami, Y. Ikuta, Y. Koseki, K. Baba, H. Oikawa, H. Nakanishi, M. Okada, M. Shoji, M. Ueda, H. Imahori, M. Hashida. Creation of Pure Nanodrugs and Their Anticancer Properties, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 51, 10315-10318 (2012).

DOI: 10.1002/anie.201204596 (査読有)

[12] M. Ueda, Y. Manabe, Y. Otsuka and N. Kanzawa Cassia obtusifolia MetE as a Cytosolic Target for Potassium Isolespedezate, a Leaf-Opening Factor of Cassia plants: Target Exploration by a Compact Molecular-Probe Strategy *Chem Asian J* 6 (12) 3286-97 (2011).

Doi: 10.1002/asia.201100392 (査読有)

[13] M. Ueda, Y. Manabe and M. Mukai The high performance of 3XFLAG for target purification of a bioactive metabolite: a tag combined with a highly effective linker structure *Bioorg Med Chem Lett* 21 (5) 1359-62 (2011).

DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.01.038 (査読有)

[14] Y. Nakamura, A. Mithofer, E. Kombrink, W. Boland, S. Hamamoto, N. Uozumi, K. Tohma and M. Ueda 12-hydroxyjasmonic acid glucoside is a COI1-JAZ-independent activator of leaf-closing

movement in *Samanea saman* *Plant Physiol* 155 (3) 1226-36 (2011).

Doi: 10.1104/pp.110.168617 (査読有)

〔学会発表〕(計 20 件)

[1] 上田 実、「植物の天然物ケミカルバイオロジー」、新学術領域 天然物ケミカルバイオロジー 成果取りまとめシンポジウム、2016年7月1日、慶應義塾大学(横浜市)。(招待講演)

[2] 上田 実、「植物生理活性物質のケミカルバイオロジー」、第89回日本生化学会大会(仙台)シンポジウム「生物活性と創薬のケミカルバイオロジー」、2016年9月24日、仙台国際センター(仙台市)。(招待講演)

[3] M. Ueda, Plant Chemical Biology using Bioactive Natural Products, RIKEN-Max Planck Joint Research Center Fifth Annual Symposium, 2016年4月17-20日、ハーナックハウス(ベルリン、ドイツ)。(招待講演)

[4] 上田実、江越脩祐、石丸泰寛 コロナチンのケミカルバイオロジー 第56回日本植物生理学会 2015年3月17日 東京農業大学(東京都・世田谷区)(英語シンポジウム)(招待講演)

[5] 江越脩祐、山越博幸、闔闔孝介、岩下利基、石丸泰寛、袖岡幹子、上田実 天然植物毒素コロナチンの気孔開口作用解明を目指した植物孔辺細胞の in vivo ラマンイメージング 第56回天然有機化合物討論会 2014年10月15日 高知大学(高知県・高知市)第56回天然有機化合物討論会奨励賞(口頭部門)

[6] 上田実 植物の生物現象を制御するジャスモン酸誘導体の新たな機能 第51回植物化学シンポジウム 2014年11月21日 東北大学片平生命科学プロジェクト研究棟(宮城県・仙台市)(招待講演)

[7] 上田実 天然物化学から天然物ケミカルバイオロジーへ: 植物及び動植物配糖体リガンドを例として 神戸大学学術講演会、2014年1月22日 神戸大学(兵庫県・神戸市)(招待講演)

[8] Minoru Ueda, Glycosylation regulates function of endogenous ligands 天然物ケミカルバイオロジー第2回国際(第5回公開)シンポジウム 2013年10月28日パシフィコ横浜(神奈川県・横浜)(ポスター)

[9]

重永美由希、源治尚久、楊剛強、石丸泰寛、上田 実 光親和性コンパクト分子プローブを用いた就眠物質結合タンパク質の検出と精製第 12 回新規素材探索研究会 2013 年 6 月 7 日フジビューホテル(神奈川県・横浜市)(ポスター)

[10]上田実 配糖体リガンドのケミカルバイオロジー 天然物ケミカルバイオロジー 第 4 回公開シンポジウム 2013 年 5 月 28 日 筑波国際会議場(茨城県・つくば市)(ポスター)

[11]上田実 “Glycosylation Switching”による天然物リガンドの活性制御 第 93 回日本化学会春季年会特別企画ケミカルバイオロジーの新展開-有機化学から発信するライフサイエンス新戦略 I 2013 年 3 月 22 日立命館大学(滋賀県・草津市)(特別企画講演)

[12] M. Ueda. “Glycosylation Switching”: Glycosylation regulates mode-of-action of bioactive natural products, 3rd International Symposium on Creation of Functional Materials-Life Science and Materials-, 2012 年 12 月 11 日筑波大学(茨城県・つくば市)(招待講演)

[13]上田実 配糖体型天然物リガンドのケミカルバイオロジーに見る活性制御の新戦略」後期(秋期)有機合成化学講習会 2012 年 11 月 20 日 日本薬学会長井記念館(東京都・渋谷区)(招待講演)

[14]上田実 「植物の運動」の化学生物学 第 12 回学習院大学生命科学シンポジウム 2012 年 11 月 10 日学習院大学(東京都・豊島区)(招待講演)

[15] M. Ueda. Chemical Biology of Naturally Occurring Glycosides: “Glycosylation Switching”, 1st International Symposium on Chemical Biology of Natural Products, 2012 年 10 月 31 日 京都センチュリーホテル(京都・京都市)ポスター

[16]上田実 配糖体型天然物リガンドのケミカルバイオロジーに見る活性制御の新戦略 2012 年生命医薬情報学連合大会 2012 年 10 月 14 日 船堀タワーホール(東京都・江戸川区)(招待講演)

[17]上田実 天然物ケミカルバイオロジー: 配糖体リガンドの新しい機能 早稲田大学 FBT 生物学・化学・情報科学融合のための戦略的先進理工学研究基盤の形成 2012 年 9 月 12 日 早稲田大学(東京都・新宿区)(招待講演)

[18] M. Ueda. Chemical Biology of Glycoside Natural Products, The Second Asian Chemical Biology Conference (ACBC2), 2012 年 7 月 5 日 Southern Beach Hotel & Resort OKINAWA(沖縄県・糸満市)(招待講演)

[19]上田実 天然物ケミカルバイオロジー: 生物現象と天然物リガンド」名古屋大学 IGER グリーン自然科学レクチャー 2012 年 6 月 29 日 名古屋大学(愛知県・名古屋市)(招待講演)

[20]上田実 生理活性グリコシドの天然物ケミカルバイオロジー グローバル COE プログラムシンポジウム 2011 2011 年 11 月 20 日 東北大学片平さくらホール(宮城県・仙台市)(講演)(招待講演)

〔図書〕(計 3 件)

[1] 上田 実著、上村大輔編、「天然物の化学-魅力と展望」、東京化学同人(2016).

[2] 上田 実編著、「CSJ カレントレビュー-19 生物活性分子のケミカルバイオロジー: 標的特定と作用機構」、化学同人(2015).

[3] Y. Ishimaru, S. Hamamoto, N. Uozumi, and M. Ueda. Regulatory Mechanism of Plant Nyctinastic Movement: An Ion Channel-Regulated Plant Behavior, in A. Volkov eds. “Plant Electrophysiology Signaling and Responses”, Springer-Verlag, pp. 125-142 (2012)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 実 (UEDA, Minoru)

東北大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：60265931

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()