

生命現象分析のための小分子転写因子創成

上杉 志成

京都大学 物質-細胞統合システム拠点・化学研究所

1. 研究のねらい

生物の表現型を劇的に変化させる生体内調節の一つに、遺伝子の転写がある。転写を小分子化合物で自由に制御できれば、分化、老化、癌化などの表現型を化合物で操ることができるだろう。生体内で転写を調節しているのは、転写因子と総称される一群のタンパク質。転写因子まるごとを小分子有機化合物でつくることができれば、遺伝子発現を外部から操ることができる。

2. 研究成果

■はじめに

生命現象は化学反応で成り立っている。それでは逆に、いかなる生命現象も化学で制御できるはずだ。このような夢を人間は作り話のなかで語ってきた。人魚姫が声と引き換えに魔女からもらった飲み薬、年齢を操るメルモのキャンディー——いずれも経口剤（おそらく活性成分は小分子化合物）で劇的な表現型の変化を引き起こす。

大きな表現型を誘発する生体内調節として、遺伝子発現の制御が挙げられる。例えば、我々の体のどの細胞をとっても、基本的には同じ遺伝子コピーをもっているが、遺伝子発現の制御によって様々な細胞が生み出されている。ある特定の遺伝子をスイッチオンにし、別の遺伝子をスイッチオフにすることで、大きな表現型が誘発されている。

このスイッチの役割をしているのが転写因子と呼ばれる一群のタンパク質である。転写因子には二つの機能性ドメイン—DNA 結合ドメインと転写活性化ドメイン—がある。¹⁾ DNA 結合ドメインは、プロモーターの上流にあるエンハンサーに結合し、活性化する遺伝子を特定する。一方、転写活性化ドメインは、コアクチベータと呼ばれる他の核内蛋白質群に結合してRNA ポリメラーゼによる転写を促進する。これら二つの相互作用のいずれか、ないしは双方を小分子化合物で変調することができれば、転写過程を制御することが可能になる。

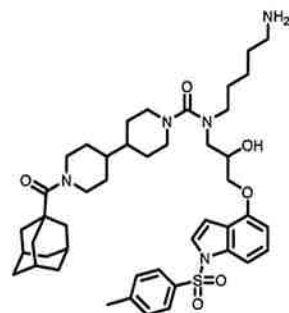
■小分子 DNA 結合ドメイン

転写因子のDNA結合ドメインのようにDNA塩基配列を厳密に認識する小分子有機化合物を設計するのは難しい。それはDNAが繰り返し構造をとり、必然的にDNA結合ドメインとの相互作用領域が広がってしまうことにある。そのため生体高分子である核酸やタンパク質のみがDNA塩基配列を認識できると考えられてきた。このような消極論にもかかわらず、DervanらはディスタマイシンAなどDNAに結合する抗腫瘍性抗生物質にヒントを得て、DNA塩基配列を厳密に読み取ることのできるヘアピンポリアミド分子をデザインした。²⁾ つまり、小分子有機化合物でDNA結合ドメインをつくることのできる。

■小分子転写活性化ドメイン

小分子化合物で転写活性化ドメインを模倣することも可能だ。多くの転写活性化ドメインには短い α -ヘリックスモチーフがあることが知られている。転写活性化に必須なこれらのモチーフがコアクチベータと結合して転写を活性化する。すなわち転写活性化ドメインは比較的コンパクトな領域であり、小分子化合物で阻害・模倣できると考えられた。

そこで我々は、乳がんの悪性度に関係する転写因子ESXに着目した。ESXの転写活性化ドメインにも短い α -ヘリックスモチーフ



レンチノロール

がある。我々はこのモチーフに結合するコアクチベータとして Sur-2 を単離・同定した。³⁾ 次いで Sur-2 と ESX のタンパク質-タンパク質相互作用を阻害する化合物アダマノロールを化合物ライブラリーから見いだした。さらに構造活性相関研究を経て、レンチノロールと名づけた化合物へと最適化した⁴⁾。このレンチ型合成化合物は α -ヘリックスモチーフの片面を模倣し、Sur-2 に結合する。

■小分子転写因子の合成

見方を変えればレンチノロールは転写活性化ドメインの小分子版だ。レンチノロールに小分子 DNA 結合ドメインを共有結合させれば、「小分子転写因子」ができあがるだろう。小分子 DNA 結合ドメインとして、細胞膜透過性・核移行性にすぐれたヘアピンポリアミド分子を用い、メチレンリンカーを介してレンチノロールを結合させた化合物(1)を合成した(図1)。化合物1はポリアミド認識配列(5'-TGA CCAT-3')をプロモーターに持つレポーター遺伝子の転写を濃度依存的に活性化した。レポーター

遺伝子のポリアミド認識配列を変えると転写が阻害されたことから、塩基配列特異的に転写活性化を行うことがわかった。次に生化学的な実験より、化合物1が Sur-2 と RNA ポリメラーゼ II をプロモーターへ誘導することで転写活性化を起こしていることが分かった。化合物1はまるで転写因子のように振る舞うことから、小分子転写因子 (Synthetic Transcription Factor (STF)-1) と名付けた⁵⁾。

STF-1 は、転写因子まるごとを模倣した初の合成化合物である。有機化合物で転写因子ができるということが、直接証明された。

■小分子転写因子の改良1

小分子転写因子(1)はまるで転写因子のように振舞う。しかしながら、生命現象解明のための道具とするには、二つの問題点があった。その一つは、レンチノロールの活性が低いことである。天然の転写活性化ドメインに比べると、転写活性化能力が劣る。

レンチノロールと Sur-2 との相互作用、天然の転写活性化ドメインの性質などを考え合わせて、13個のレンチノロール類縁体を設計・合成した。最も転写活性化能力が強かったのは、レンチの歯の部分の幅を調節した化合物3であった。この化合物は、細胞膜を透過し、天然の転写活性化ドメインに匹敵する転写活性化能力を示した。

この化合物を使ってレポーター遺伝子を活性化するだけでなく、内因性の遺伝子も活性化することができた。化合物3もしくはその誘導体は、小分子転写因子の一部として、また生物試薬として有用であろう。

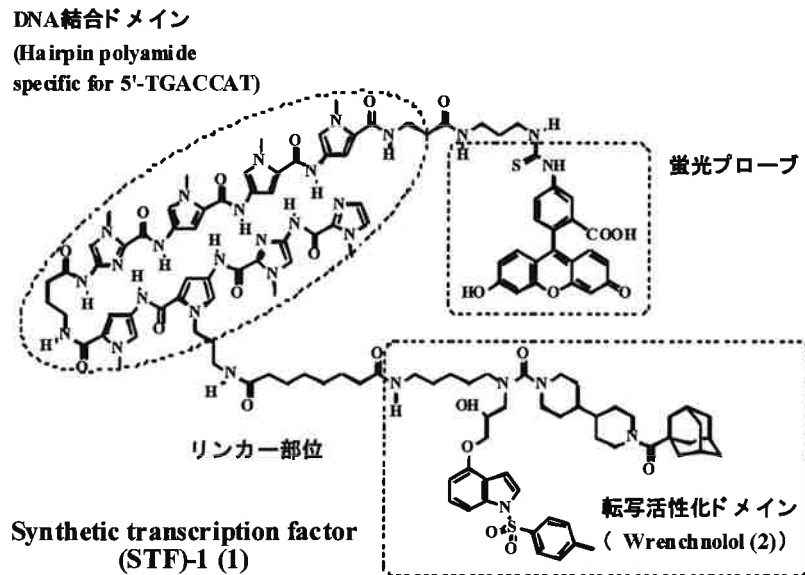
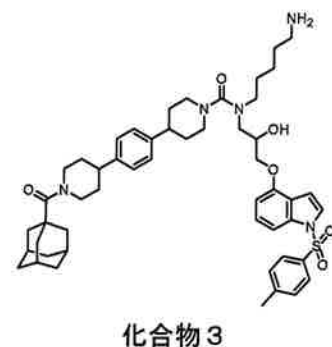


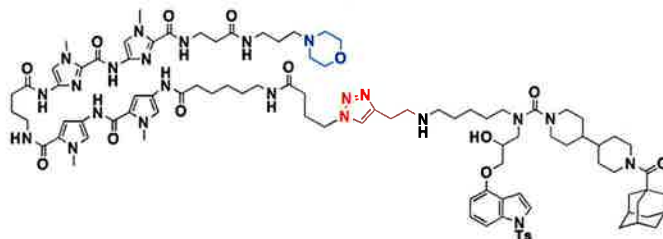
図1 小分子転写因子 (Synthetic transcription factor (STF)-1)



■ 小分子転写因子の改良 2

小分子転写因子(1)のもう一つの問題点は、細胞透過性が低いことである。レンチノロール、ヘアピンポリアミド分子のそれぞれは細胞膜を透過する。しかし、両方の化合物をメチレンリンカーで繋いだ小分子転写因子は、細胞透過性に乏しい。有用な研究試薬とするには、細胞透過性を向上させる必要がある。

そのため、4つの方法をとった。(1)水溶性を高めながら細胞透過性を上げるために化合物の末端構造を工夫し、物性を整える。(2)リンカー部分を工夫する。(3)ヘアピンポリアミド分子のサイズを縮小し、化合物全体の大きさを小さくする。(4)レンチノロールを付ける位置を変える。これら4つの点について小分子転写因子を設計、合成した。その一例を下に示した。合成の方法にも工夫を加え、効率化した。



■ おわりに

一見複雑な生命現象でも、化学反応が巧妙に組み合わさって起こっている。転写因子の作用も巧妙な化学反応の組み合わせであり、転写因子を小分子有機化合物で模倣することが可能である。

創薬への応用は未知であるものの、化合物が秘めた可能性の深さと広さを思い知らされる。小分子転写因子が今後生命現象解明の道具となることを期待する。

文献

- 1) Tjian R, *et al.*: *Cell* **77**: 5, 1994.
- 2) Dervan P. B, *et al.*: *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**: 688, 1999.
- 3) Asada S, *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**: 12747, 2002.
- 4) Shimogawa H, *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.* **126**: 3461-3471, 2004.
- 5) Kwon Y, *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.* **126**: 15940-15941, 2004.

3. 主な発表

論文

1. Sato S., Kwon, Y., Kamisuki, S., Srivastava, N., Mao, Q., Kawazoe, Y., Uesugi, M.
Polyproline-rod approach to isolating protein targets of bioactive small molecules: Isolation of a new target of indomethacin. *J. Am. Chem. Soc.* **129**(4), 873-880 (2007).
2. Choi, Y., Shimogawa, H., Murakami, K., Ramdas, L., Zhang, W., Qin, J., Uesugi, M.
Chemical genetic identification of the IGF-linked pathway that is mediated by STAT6 and MFP2. *Chem. Biol.* **13**, 241-249 (2006).
3. Kwon, Y., Arndt, H., Mao, Q., Choi, Y., Kawazoe, Y., Dervan, P. B., Uesugi, M.
Small molecule transcription factor mimic. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 15940-15941 (2004).
4. Shimogawa, H., Kwon, Y., Mao, Q., Kawazoe, Y., Choi, Y., Asada, S., Kigoshi, H., Uesugi, M.
A wrench-shaped synthetic molecule that modulates a transcription factor-coactivator interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 3461-3471 (2004).

招待講演

1. Uesugi, M. Chemical Biology of Gene Expression. 2006 Japanese-American Kavli Frontiers of Science Symposium. California, U.S.A., 2006/12/9.
2. Uesugi, M. Chemical biology of gene expression and cell differentiation. ICOB-5 & ISCNP-25

IUPAC International Conference on Biodiversity and Natural Products Chemistry. Kyoto, 2006/7/27.

4. その他

特許

- ・ 上杉志成・山添紗有美 「細胞接着促進剤及び細胞の接着を促進させる方法」
特願 2008-159369、出願人：国立大学法人京都大学

受賞

- ・ 上杉志成 平成18年4月東京テクノフォーラム 21 ゴールドメダル賞