

細胞を探る化合物ツール

京都大学物質－細胞統合システム拠点／化学研究所

上杉 志成

**「細胞の働きを変える化合物を見つけて、細胞学研究の起爆剤とする」
——私たちの研究室の目標を一言でいえば、このように言える。**

人間の歴史の中で、生理活性小分子化合物は人間の疾病を治癒し、生命現象を解く鍵となり、医学と生物学に貢献してきた。ユニークな生理活性を持った有機化合物を発掘したり設計したりすることは、有機化合物を起爆剤とした生物や疾病の研究を可能にする。私たちの研究室では、細胞にユニークな作用を及ぼす合成化合物を見つけ出し、それらを道具として生命現象を探究している。細胞の仕組みは非常に複雑だが、有機化合物をツールとして用いることで、新たな切り口で細胞を研究することができる。

今回の講演では、2つの化合物を紹介する。遺伝子の発現を操る「レンチノロール」とその誘導體、細胞接着を操る「アドヘサミン」とその誘導體である。いずれも細胞研究の独特なツールとなる可能性がある。

●レンチノロールと小分子転写因子

私たちの手、眼、肝臓、皮膚の表現型は全く異なる。しかし、これらの細胞は同じ遺伝子コピーを持っている。このように、生物は同じ遺伝子コピーをもつ細胞集団であるが、遺伝子の発現の違いによりその表現型を劇的に変えることができる。つまり、どの遺伝子のスイッチを入れ、どの遺伝子のスイッチを切るかという判断が緻密に制御されているのだ。そ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。

転写因子そのものを小分子化合物でつくることができれば、さまざまな生命現象を化学で制御できるだろう¹。転写因子は通常2つの機能性部位（DNA結合部位と転写活性化部位）からなる。DNA結合部位は、遺伝子のプロモーター配列に特異的に結合し、遺伝子に対する特異性を発揮する。一方、転写活性化部位は、核内タンパク質群（コアクチベータ）に結合し、結局RNAポリメラーゼによる転写を促進する（図1）。小分子化合物で転写因子を模倣するには、これら二つの部位を小分子化合物でおきかえれば良いことになる。

DNA結合部位を模倣する化合物は存在する。DNAにnMオーダーの解離定数で塩基配列特異的に結合する分子が、Dervanらの研究グループによって開発されている。このヘアピンポリアミド分子は、NメチルピロールとNメチルイミダゾールの組み合わせによって構成されており、任意の塩基配列に特

異的な化合物を設計できる。小分子転写因子のDNA結合部位として利用できる。

転写活性化部位を模倣する化合物は存在しなかった。しかし、私たちは、転写活性化部位を模倣する化合物として、レンチノロールという化合物

を化合物ライブラリーから見出した^{2,3}。このレンチ型合成化合物は、がん関連転写因子であるESXの転写活性化部位を模倣し⁴、コアクチベーターであるSur-2と結合する。レンチノロールをヘアピンポリアミド分子と融合させれば、小分子転写因子を作ることができるはずだ。

筆者らの研究室では、小分子転写因子STF-1 (synthetic transcription factor-1)を次のように設計し、合成した(図2)⁵。DNA結合部位であるヘアピンポリアミドを、リンカーを介して転写活性化部位であるレンチノロールと共有結合させた。ヘアピンポリアミドはDNAの5'-TGACCAT-3'という配列を認識し、レンチノロールはSur-2タンパク質と結合する。ポリアミド

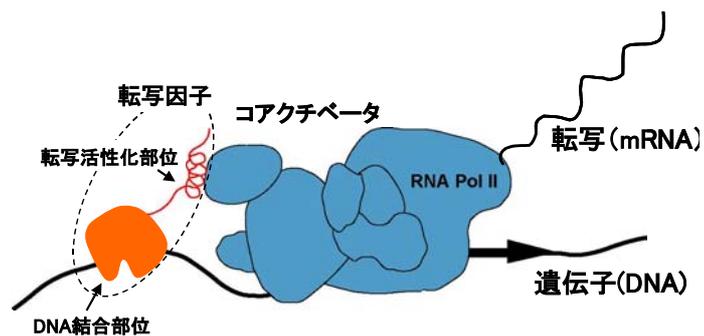


図1 転写因子による遺伝子発現機構

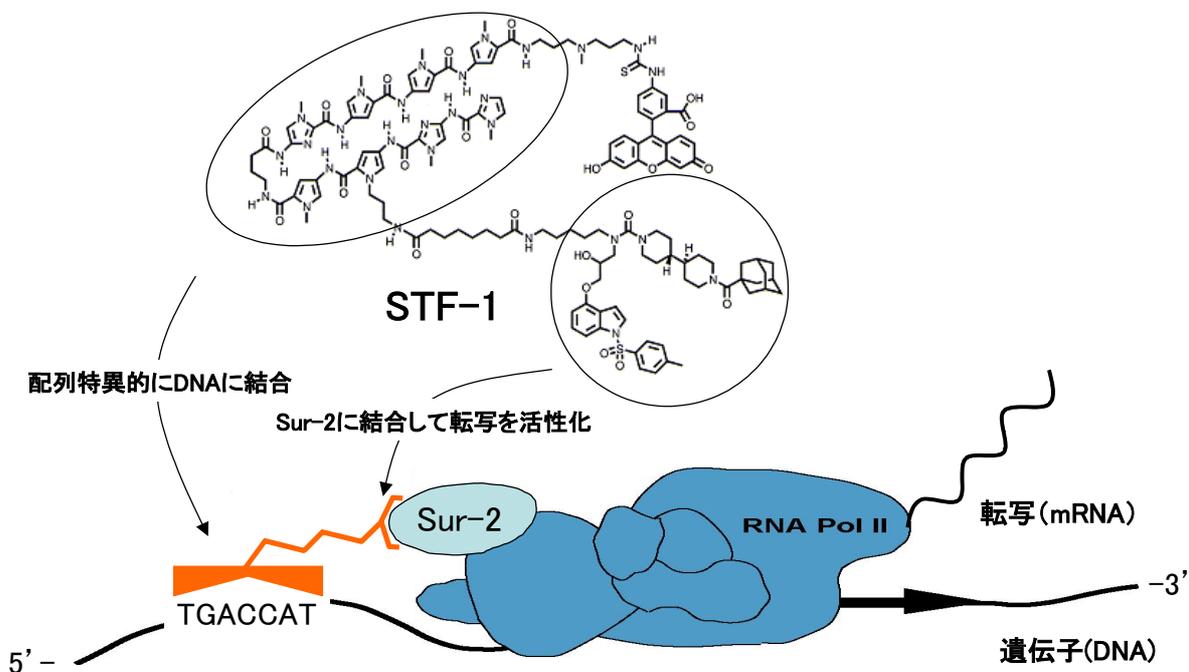


図2 STF-1はDNAとSur-2に同時に結合して、転写を活性化する。

認識配列である 5' -TGACCAT-3' をプロモーターに組み込んだレポーター遺伝子を作成し、STF-1 の転写活性化能の有無を検討した。その結果、予想通り STF-1 は濃度依存的にレポーター遺伝子の発現を活性化した。また、転写活性化はプロモーターの配列を 5' -TGCACAT-3' へ変えると観測されず、転写活性化は塩基配列特異的であることも確認された。つまり、STF-1 はまるで転写因子のように振る舞う。有機化合物で人工的に転写因子を合成できることが証明された。

私たちの小分子転写因子にはまだまだ問題がある。その問題を克服し、合成小分子化合物で転写を意のままに制御できれば、生物学研究の道具となるだろう。今回の講演では、小分子転写因子の問題を克服するための最新の研究を中心に紹介する⁶。

●アドヘサミン

この化合物は我々の研究室で偶然に発見された。化合物ライブラリーをヒト細胞でスクリーニングしている際に、細胞接着を促進する合成小分子化合物を

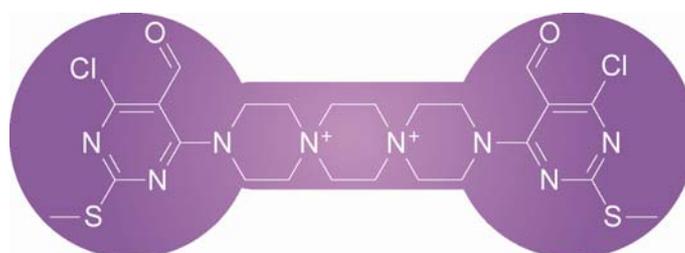


図 3 アドヘサミンの化学構造

見つけ、アドヘサミンと名付けた。このダンベル型化合物を培養液に加えると、ヒト細胞（肝癌細胞 H e p G 2 など）が培養プレートに接着して増殖が促進される（図 3）。浮遊状態で培養される J u r k a t 細胞ですら培養プレートに接着して増殖する。H e L a、S K - B R 3、H E K 2 9 3、C H O およびマウス E S 細胞といった様々なタイプの細胞に対してアドヘサミンの効果を試してみたところ、一様に細胞接着を補助することが分かった。

アドヘサミンを洗い流せば、浮遊細胞はプレートから剥がれる。つまり、アドヘサミンを加えたり除いたりすることで、ヒト細胞を脱着させることができる。さらに、培養プレート上では、アドヘサミンは細胞・細胞間接着は誘導しなかった。プレート上に細胞は均一に接着する。既存のコート剤と異なる特徴は、培地に添加するだけで細胞接着を補助することである。これまでに、このような完全合成化合物は無かった。

アドヘサミンによって誘発されるのは、どのような細胞接着だろうか。アドヘサミンは、調べたどの細胞に対しても、毒性を発現することはなかった。むしろ増殖を促進する。様々な方法によって調べたところ、アドヘサミンに

よる細胞接着は生理的な細胞接着に酷似している。まるで、フィブロネクチンのように働く。いわば、フィブロネクチンの小分子版といえる。

アドヘサミンの標的分子としてまず考えられたのは、インテグリンである。インテグリンは、フィブロネクチン等の細胞外マトリックスが結合する細胞表面受容体として知られている。しかしながら、細胞生物学的実験によると、アドヘサミンはインテグリンのフィブロネクチン認識サイトには結合しないと考えられた。様々な方法でアドヘサミンの標的分子の決定を試みた。今回の講演では、アドヘサミンの標的分子決定を紹介する。

アドヘサミンは細胞生物学基礎研究のための新しい試薬として利用されるだろう。フィブロネクチンやコラーゲンといった天然由来の細胞外マトリックスは培養困難な細胞を培養するための試薬として広く用いられ、生物工学、細胞生物学、医学、薬学の基礎研究に大きく寄与してきた。アドヘサミンが細胞生物学に利用されれば、細胞培養の方法が変わる。細胞生物学、細胞工学、分子生物学、医学、薬学の研究が誘発され、基礎研究に波及効果が期待できる。

参考文献

- (1) Jung, D.; Choi, Y.; Uesugi, M. *Drug Discov Today* **2006**, *11*, 452-457.
- (2) Asada, S.; Choi, Y.; Uesugi, M. *J Am Chem Soc* **2003**, *125*, 4992-4993.
- (3) Shimogawa, H.; Kwon, Y.; Mao, Q.; Kawazoe, Y.; Choi, Y.; Asada, S.; Kigoshi, H.; Uesugi, M. *J Am Chem Soc* **2004**, *126*, 3461-3471.
- (4) Asada, S.; Choi, Y.; Yamada, M.; Wang, S. C.; Hung, M. C.; Qin, J.; Uesugi, M. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**, *99*, 12747-12752.
- (5) Kwon, Y.; Arndt, H. D.; Mao, Q.; Choi, Y.; Kawazoe, Y.; Dervan, P. B.; Uesugi, M. *J Am Chem Soc* **2004**, *126*, 15940-15941.
- (6) Jung, D.; Shimogawa, H.; Kwon, Y.; Mao, Q.; Sato, S. I.; Kamisuki, S.; Kigoshi, H.; Uesugi, M. *J Am Chem Soc* **2009**.