

堅固なリンカーを有する二価結合型 CXCR4 リガンドの開発と応用

Development and Application of Bivalent-type CXCR4 Ligands with Rigid Linkers

○田中智博、野村渉、鳴海哲夫、増田朱美、玉村啓和

○Tomohiro Tanaka, Wataru Nomura, Tetsuo Narumi, Akemi Masuda, Hirokazu Tamamura

東京医科歯科大学・生体材料研究所

Institute of Biomaterial and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

現存する医薬品のうち 40% が G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) を標的としており、魅力的な創薬標的である。近年、多くの GPCR はホモまたはヘテロ二量体で存在することが報告されているが、生細胞中における GPCR 二量体の構造及び機能の詳細に関しては明らかでない部分が多い。そこで、本研究では GPCR であるケモカイン受容体 CXCR4 を標的とした二価結合型リガンドを創製し、それらを用いて GPCR 二量体の構造及び機能の解明を試みた。多くの GPCR は構造が明らかでないため、二量体構造に対して適切なリガンド間の距離を保つ二価結合型リガンドの理論的な構築は困難であった。そこで、CXCR4 結合リガンドである環状ペプチド (FC131) を堅固な構造を有するポリプロリンリンカーで架橋した二価結合型 FC131 誘導体を設計・合成した (図 1)。ポリプロリンリンカーの長さは一定に保たれているため、適切なリガンド間距離の場合に結合親和性の増大がみられると考えられた。FC131 のグリシンをシステインに置換した cFC131 を構築し、リンカーを導入した。CXCR4 結合活性を評価した結果、リガンド間距離が 5.5-6.5 nm の場合に二価型結合形成による相乗的な結合活性の上昇が見られた。この二価結合型リガンドを用いて GPCR 二量体化の機能を解析するため、Ca²⁺流入活性の評価を行った。更に、CXCR4 ががん細胞において過剰に発現していることに着目し、二価結合型リガンドのがん細胞特異的プローブとしての応用を検討した (図 2)。この方法によって CXCR4 の二量体状態の推定が可能であることが示されたことからさらに高い親和性を持つ二価結合型リガンドの開発が可能であると期待される。また、この手法は他の既存の GPCR リガンドにも適用可能であり、さらなる GPCR の機能解明に有用であると考えられる。

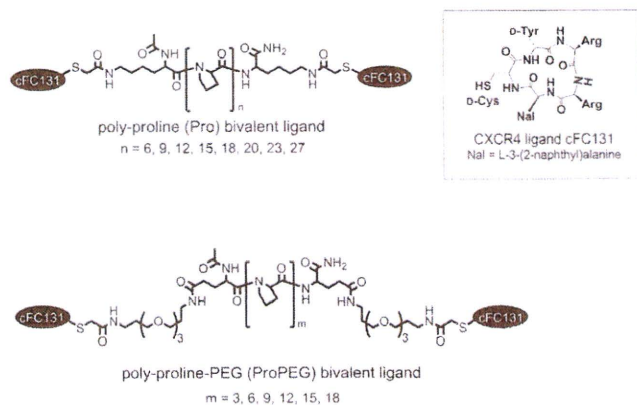


図 1. cFC131 及び二価結合型 CXCR4 リガンドの設計

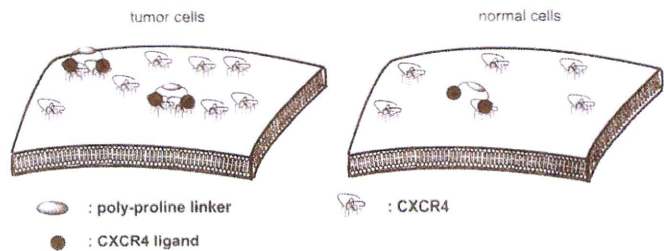


図 2. 二価結合型リガンドのがん細胞特異的な認識

亜鉛フィンガー融合型 DNA 組換え酵素のデザイン

Design of Sequence-Specific Zinc Finger Recombinase

○増田 朱美^{1,2)}、野村 渉¹⁾、奥田 毅^{1,2)}、玉村 啓和^{1,2)}○Akemi Mausuda^{1,2)}, Wataru Nomura¹⁾, Tsuyoshi Okuda^{1,2)}, Hirokazu Tamamura^{1,2)}¹⁾ 東京医科歯科大学・生体材料工学研究所、²⁾ 東京医科歯科大学大学院・疾患生命科学研究部¹⁾ Institution of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University,²⁾ Graduate School of Biomedical Science, Tokyo Medical and Dental University

亜鉛フィンガータンパク質 (ZFP) は各モジュールが約 30 アミノ酸からなる $\beta\beta\alpha$ 構造を形成し、 α ヘリックスのアミノ酸側鎖が DNA 3 塩基と相互作用する。この特徴を利用し、3 塩基のコードン配列に対応するモジュールを組み合わせて標的 DNA 配列に結合する ZFP を作製することができる。標的配列に対して高い特異性で結合する ZFP は多岐に渡る応用が考案されているが、その中でも DNA を修飾する酵素との融合タンパク質として用いた遺伝子治療の可能性が注目されている。DNA 組換え酵素は標的とする遺伝子配列の両端で二量体を形成し、さらに四量体として会合する際に組換え反応が起きる。この反応は能動的に起きるため標的遺伝子のノックアウト法として利用できる (図)。本研究では ZFP 融合型 DNA 組換え酵素 (RecZFP) を用いた標的 DNA 配列の切除反応について、反応効率の向上に向けた酵素デザインの検討を行った。具体的には、ZFP と酵素ドメイン間のリンカー配列及び ZFP の DNA 結合親和性のそれぞれが組換え反応効率に及ぼす影響について大腸菌内での反応について検討を行い、その結果をもとに哺乳類細胞内における反応効率についても同様に検討を行った。大腸菌内の反応では酵素の触媒ドメインが作用するスペーサー配列を介して両端に 2~6 モジュールがつながった ZFP の結合配列がある標的配列を 700 塩基程度離れた位置に置いたモデルプラスミドを用いた。作製した ZFP の結合親和性を ELISA 法により評価した後、融合型酵素 (RecZFP) として標的配列上流に遺伝子をコードしたプラスミドを大腸菌内へ導入した。導入後の反応時間を一定として組換え反応を定量した結果、ZFP モジュール数や酵素のリンカー長が反応効率に影響することが明らかになった。哺乳類細胞内での反応については、ゲノム上に標的配列の間にプロモーター配列と蛍光タンパク質のコード遺伝子を導入した安定発現細胞株を用いて蛍光タンパク質の減少比率から組換え反応を評価した。RecZFP を導入後、一定時間培養した細胞の蛍光強度を FACS で測定した結果、コントロール細胞と比較して蛍光強度が減少することが明らかになった。これらの知見に基づき、活性の高い ZFP 融合型 DNA 組換え酵素のデザインが可能になるとともに様々な遺伝子関連疾患への応用が期待される。

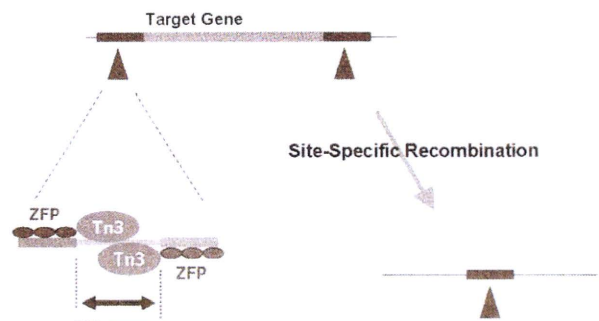


図. RecZFP による組換え反応について

2価結合型リガンドの新規デザインによる CXCR4 の細胞表面における機能解析

○野村 渉¹・田中 智博¹・増田 朱美²・鳴海 哲夫¹・玉村 啓和^{1,2} (¹東京医歯大・生材研、²東京医歯大院・疾患生命研)

Elucidation of CXCR4 function on cellular surface by designed novel bivalent ligands. (*Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University¹, Graduate School of Biomedical Science, Tokyo Medical and Dental University²*) NOMURA, Wataru; TANAKA, Tomohiro; MASUDA, Akemi; NARUMI, Tetsuo; TAMAMURA, Hirokazu

現存する医薬品のうち約 60%が膜表面に存在する分子を標的としており、そのうちの半数が G 蛋白質共役型受容体 (GPCR)を標的としている。このように魅力的な創薬標的であるにも関わらず、細胞膜表面における GPCR の構造及び機能の詳細に関しては明らかでない部分が多い。特に GPCR の 2 量体は機能発現に重要であるとされているが、直接的証明はこれまでなされていない。本研究ではケモカイン受容体 CXCR4 を標的とした 2 価結合型リガンドを創製し、GPCR 量体の構造及び機能の解明を試みた。2 量体構造に対して適切なリガンド間の距離を保つ 2 価結合型リガンドの理論的な構築を可能にするため、CXCR4 結合リガンドである環状ペプタド (FC131) を堅固な構造を有するポリプロリンリンカーで架橋した 2 価結合型 FC131 誘導体を設計・合成した。FC131 のグリシンをシステインに置換した cFC131 を構築し、リンカーを導入した。CXCR4 結合活性を評価した結果、リガンド間距離が 5.5-6.5 nm の場合に 2 価型結合形成による相乗的な結合活性の上昇が見られた。CXCR4 はがん細胞において過剰に発現していることに着目し、2 価結合型リガンドのがん細胞特異的なプローブとしての応用を検討した (図 1)。蛍光標識した 2 価結合型リガンドの細胞表面の CXCR4 に対する認識をフローサイトメトリーおよび蛍光顕微鏡によって評価した結果、細胞表面の CXCR4 発現量を認識し、特に発現の高いがん細胞株で高い特性を示すことが明らかになった。この手法は他の既存の GPCR リガンドにおいても適用可能であるため、更なる GPCR の機能解明に有用であると考えられる。

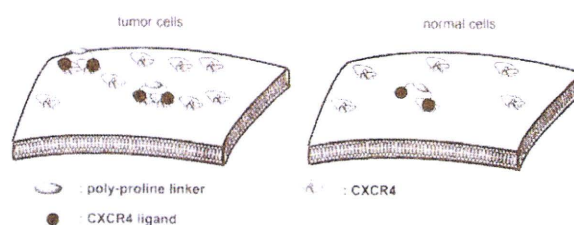


図 1. 2 価結合型リガンドのがん細胞特異的な認識

マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチド

(¹東京医歯大・生材研、²国立感染研・エイズ研セ、³Yong Loo Lin Sch. Med., Nat'l. Univ. Singapore)

小森谷 真央¹、村上 努²、鳴海 哲夫¹、野村 渉¹、山本 直樹³、○玉村 啓和¹

【背景】

現在、エイズの治療として数種の逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤を組み合わせる多剤併用療法 (HAART) が効果的であるが、耐性ウイルスの出現や高額な治療費等の問題があり、新たな作用点を持つ薬剤が必要とされている。我々は以前から抗 HIV 剤の研究に取り組んでおり、侵入阻害剤 CD4 ミミック¹、コレセプター阻害剤 CXCR4 アンタゴニスト²、インテグラーゼ阻害剤³を創製し、また、立体構造認識型の HIV ワクチン⁴を創製してきた。このような背景のもと、本研究ではウイルス構造タンパク質 Gag の構成成分であるマトリックス (MA) タンパク質に注目した。これまでに MA の部分ペプチドが抗 HIV 活性を示すことが報告されているが、その作用点や作用機序について十分な研究は行われていない。そこで本研究では、MA の部分ペプチドを作製し、抗 HIV 化合物を探索しようと考えた。

【方法】

α -ヘリックス構造を有する全長 132 アミノ酸の MA について、15 残基の部分ペプチドを設計した (Figure 1)。この部分ペプチドは二次構造の維持と活性モチーフ分断の回避を目的として 5 残基ずつオーバーラップ部分を設けた。さらに、作用点の解析を目的として、部分ペプチドの C 末端に導入したシステインと N 末端をクロロアセチル化したオクタアルギニン配列 (細胞膜透過性配列) との縮合を行うことで細胞膜透過性を付加した。また、細胞膜透過性 MA 部分ペプチドライブラリーに対するコントロールペプチドとして C 末端のシステインをキャッピングした部分ペプチドライブラリーも調製した。計 26 種の部分ペプチドライブラリーについて抗 HIV 活性および細胞毒性を評価する。

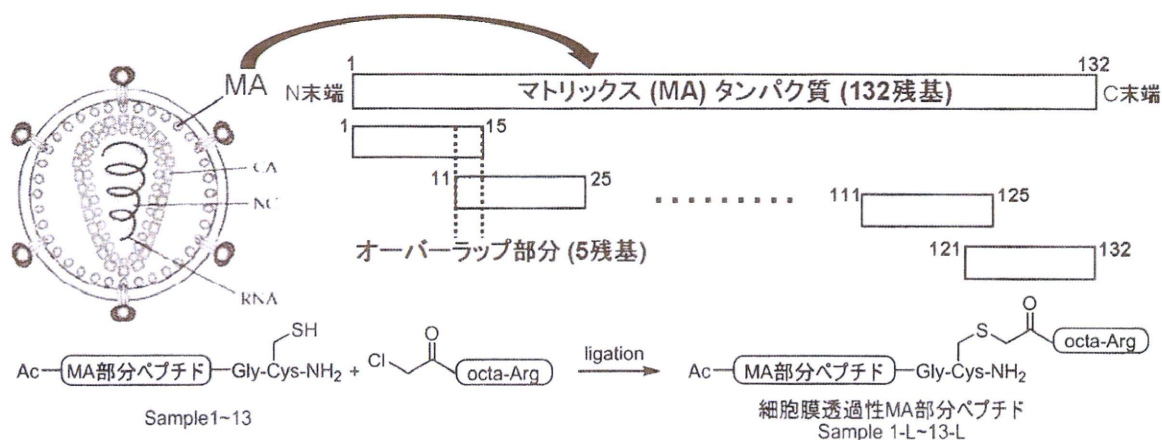


Figure 1. Design of overlapping peptide libraries derived from HIV-1 matrix (MA) and preparation of their cell penetrative peptides with an octa-Arg sequence.

【結果・考察】

X4HIV-1 である NL4-3 を MT-4 細胞に感染させる試験、R5HIV-1 である NL(AD8)または JR-CSF を PMI/CCR5 細胞に感染させる試験の両方において micro M のオーダーでウイルス複製を顕著に阻害する部分ペプチドを見出した。また、細胞膜透過性を付与したペプチドがコントロールペプチドに比べて、有意な抗 HIV 活性を示した。現在、実際に細胞内に導入されたか否かもペプチドに蛍光色素を付加して検証中である。今後は、活性を示した配列を基に新たなペプチドライブラリーを再構築し、より高活性なペプチドの探索を目指す。このように HIV 自身の蛋白質から抗 HIV 剤を探索することで、抗 HIV 剤の創製のひとつのオプションの可能性を追求する。

【参考文献】

1. Yamada, Y., Tamamura, H. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 354–358; Narumi, T., Tamamura, H. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5853–5858.
2. Tamamura, H. et al. *Expert Opin. Drug Discovery* **2008**, *3*, 1155-1166.
3. Suzuki, S., Tamamura, H. et al. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5356-5360; Suzuki, S., Tamamura, H. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6771–6775.
4. Nakahara, T., Tamamura, H. et al. *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 709-714.

Novel Anti-HIV Peptides Based on Matrix Proteins

Mao Komoriya¹, Tsutomu Murakami², Tetsuo Narumi¹, Wataru Nomura¹, Naoki Yamamoto³, Hirokazu Tamamura^{1,*}

¹Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, ²AIDS Research Center, National Institute of Infectious Diseases, ³Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore

Recently, highly active anti-retroviral therapy (HAART), which involves a combinational use of reverse transcriptase inhibitors and HIV protease inhibitors, has brought us a great success in the clinical treatment of AIDS patients. However, HAART has serious clinical problems including the emergence of multi-drug resistant HIV-1 strains. These drawbacks encouraged us to find novel drugs and increase repertoires of anti-HIV agents with various action mechanisms. The recent disclosing of the dynamic supramolecular mechanism in HIV-entry has provided potentials to find a new type of drugs. To date, we have synthesized HIV-entry inhibitors involving CD4 mimics and co-receptor CXCR4 antagonists, and HIV integrase inhibitors. In the present study, based on the screening of overlapping peptide libraries derived from HIV matrix (MA), effective leads of anti-HIV peptides were searched. Some peptide leads having an octa-Arg sequence, which functions as cell penetrating signals, showed significant anti-HIV activity. These anti-HIV agents might be useful compounds in consideration of cocktail therapy of AIDS.

Zinc Finger 融合酵素を用いた革新的ウイルスゲノム改変技術の開発

野村 渉

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

レトロウイルスやヒトヘルペスウイルスなどが宿主細胞中に DNA の形で存在する感染症に対して、ウイルスゲノムを標的とした治療法の開発研究が行われてきている。遺伝子的な治療においては標的遺伝子に対する特異性が問題となるが、そのような問題点を克服する技術として亜鉛フィンガータンパク質の活用が注目されている。亜鉛フィンガータンパク質は DNA 結合タンパク質であり、その構造的な特徴に基づいてアルファヘリックスのアミノ酸を組み合わせることで任意の DNA 塩基配列に対して結合するドメインを構築することが可能である。このドメインを用いた融合酵素とすることで天然の酵素とは異なる配列特異性を有するテーラーメイド酵素を作製できる。このような例が示されている DNA 修飾酵素としては DNA 切断酵素、DNA 組換え酵素、DNA メチル化酵素などが挙げられる。DNA 切断酵素については FokI 制限酵素の触媒ドメインと亜鉛フィンガードメインを融合することで標的とするゲノム遺伝子の切断が行われ、切断点においては非相同組換えが誘発されて高い確率で変異が導入される。これによって標的とするタンパク質のノックダウンが可能となる。この反応を利用した遺伝子操作はこれまでに行われてきたノックアウト実験に比べて容易なことから、様々な応用例が報告され始めている。DNA 組換え酵素では切断反応とは異なり能動的な組換え反応によって標的とする遺伝子配列を欠損させることが可能である。すなわち、反応後の遺伝子配列を制御することが可能であるという点において優れている。抗ウイルスという観点からは例としてエピソームとして感染細胞中に存在する場合はその複製点を標的とする戦略や、宿主ゲノムに挿入されたプロウイルス遺伝子を欠損させる戦略といった新規な概念が考案されている。感染症において遺伝子を標的とした治療はウイルスゲノムの宿主細胞からの駆逐が可能となるため、その有用性が示されることで革新的な感染症治療法の実現に向けた起爆剤となると期待される。本発表では亜鉛フィンガータンパク質を用いた融合タンパク質研究の最近の動向とその活用について概要を述べるとともに演者の最新の成果について発表させていただく。

9G-am05

化合物による活性誘導が可能なジンクフィンガーヌクレアーゼの創製
 野村 渉¹, 増田 朱美², 卜部 亜里沙¹, 鳴海 哲夫¹, 玉村 啓和^{1,2} (¹東京医歯
 生材研, ²東京医歯大院疾患生命研)

【目的】ジンクフィンガーヌクレアーゼは標的配列特異的に DNA 二重鎖切断できる酵
 素であり、遺伝子機能の阻害などに広く応用が期待されている。一方で、ヌクレアーゼの
 高い活性から非特異的な切断による細胞毒性が問題となっている。本研究ではヌクレアー
 ゼの活性を化合物で制御可能な系の構築による細胞毒性の低下を目的とした。

【方法】タンパク質ドメインの二量体制御には FKBP-FRB-ラパマイシンの複合体を利
 用した。ジンクフィンガードメイン、FokI ドメインのそれぞれに FKBP, FRB を融合させた
 酵素を構築した。それぞれのドメインは in vitro 翻訳系で作製し、標的となる DNA 配列を
 含む DNA フラグメントを用いて DNA 切断活性に関する検討を行なった。

【結果および考察】FKBP を融合したジンクフィンガードメインは高い DNA 結合活性を
 示すことが明らかになった。FRB を融合した FokI ドメインは DNA 結合活性が見られな
 かった。それぞれの融合ドメインの
 存在下で標的 DNA フラグメント
 を加えた場合、ラパマイシンの添
 加時にのみ標的配列での DNA
 二重鎖切断が誘導されること
 が示された。この方法を哺乳類細
 胞内で応用することで、効率的な
 シックアウトモデルの作製、およ
 び疾病原因遺伝子の阻害が行
 えると期待できる。

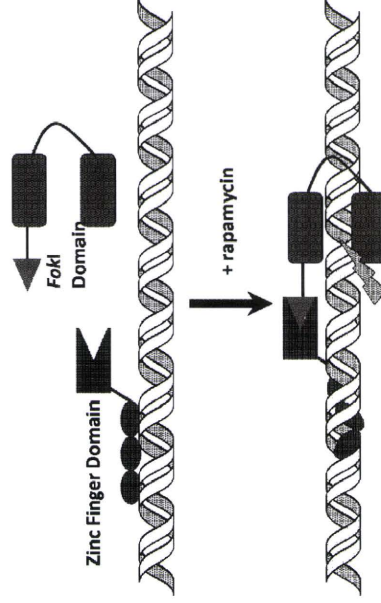


図. ラパマイシンによる活性制御について

口頭発表 29G-am05

29 日 10:12~10:24

G 会場 グランシップ 9F 904

化学系薬学 (Chemical Divisions) ケミカルバイオロジー1
 座長: 関 孝介 (理研基幹研)

化合物による活性誘導が可能なジンクフィンガーヌクレアーゼの
 創製

○野村 渉¹, 増田 朱美², 卜部 亜里沙¹, 鳴海 哲夫¹, 玉村 啓和^{1,2}
 (¹東京医歯大生材研, ²東京医歯大院疾患生命研)

9G-am06

胞内タンパク質の挙動解明を志向したタグ・プローブシステムの開発
 森 あつみ¹, 野村 渉¹, 鳴海 哲夫¹, 大橋 南美¹, 増田 朱美¹, 玉村 啓和¹
 東京医歯大・生材研)

【目的】 これまでに本研究室では3本鎖ロイシンジッパー構造を基に設計・合成したZIPタグ・プローブペアを用いて細胞表面の膜タンパク質の蛍光イメージングに成功している。本研究では細胞内に発現しているタンパク質の挙動を蛍光イメージングによって観察するために、膜透過性を付加した合成プローブ分子を利用した新規タグ・プローブペアの開発を行った。

【方法】 環境応答性蛍光色素をもつプローブにオクタアルギニン配列を導入して細胞膜透過性を付加した。プローブペプチドはFmocペプチド固相合成法により合成した後、蛍光滴定実験によりタグとの結合親和性を評価した。細胞内でのタグ・プローブペア形成は、タグ配列を付加した標的タンパク質を哺乳類細胞で発現する系を用いて共焦点顕微鏡により確認した。

【結果・考察】 合成したプローブペプチドとタグペプチドの結合は抗原抗体反応と同等の

親和性を示した。タグ配列を有するタンパク質を一過性発現させた哺乳類細胞に対してプローブ分子を導入すると、タグ・プローブペアの形成による蛍光の増大が確認された。よって、本システムの胞内タンパク質におけるイメージングツールとしての有用性が示された。

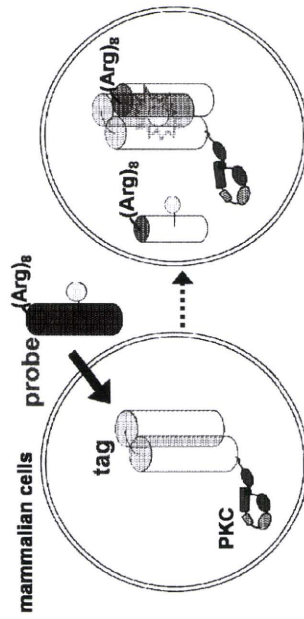


図.タグ・プローブペアを利用した細胞内タンパク質の可視化について

口頭発表 29G-am06

29日 10:24~10:36

G会場 グランシップ 9F 904

化学系薬学 (Chemical Divisions) ケミカルバイオロジー2
 座長: 小島 直人 (阪大院薬)

細胞内タンパク質の挙動解明を志向したタグ・プローブシステムの開発

○森 あつみ¹, 野村 渉¹, 鳴海 哲夫¹, 大橋 南美¹, 増田 朱美¹, 玉村 啓和¹

(¹東京医歯大・生材研)

0Y-am01

ジクフィンガーヌクレアーゼによるEBウイルス複製阻害効果の検討
 村 啓¹, 〇ト部 亜里沙¹, 近藤 麻美², 増田 朱美³, 鳴海 哲夫¹, 梁 明秀²,
 村 啓和^{1,3} (¹東京医歯大生材研, ²横浜市大院医, ³東京医歯大院疾患生命研)

【目的】EBウイルスはエピンームとして宿主細胞に潜伏感染し、免疫低下とともに様々な病態を引き起こす。これまでの対策としては対症療法のみであるため、新規なウイルス毒性抑制方法として本研究ではウイルス遺伝子の複製開始点 (OriP) を標的としたジクフィンガーヌクレアーゼの利用を検討することにした。

【方法】OriP を標的とするジクフィンガードメインを 3 組構築し、それぞれについてELISA 法により DNA 結合活性を評価した。最も高い活性を示したドメインについて FokI 酵素ドメインとの融合体を構築した。融合酵素の DNA 二重鎖切断活性を *in vitro* で確認した。ウイルス複製阻害については EB ウイルスの潜伏感染モデルである Akata 細胞に gG 刺激を与える方法により行なった。

【結果および考察】構築したジクフィンガードメインのうち 100 (nM) より強い活性を示す組み合わせを 1 組得た。これを基に構築したジクフィンガーヌクレアーゼは標的 DNA 配列において DNA 二重鎖切断活性を示した。ウイルス複製はジクフィンガードメイン

の二量化条件において最も高く抑制されることが明らかになった。今後、潜伏感染に関与するウイルスタンパク質と競合などを詳細に検討することにより、阻害効果が高められようと考えている。

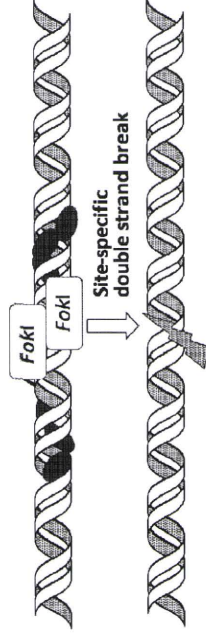


図. ジクフィンガーヌクレアーゼによる DNA 切断反応について

口頭発表 30Y-am01

30 日 9:00~9:12

Y 会場 ツインメッセ静岡 中央棟4F 406-407
 生物系薬学 (Biological Divisions) タンパク質
 座長: 中谷 良人 (昭和大薬)

ジクフィンガーヌクレアーゼによるEBウイルス複製阻害効果の検討

野村 渉¹, 〇ト部 亜里沙¹, 近藤 麻美², 増田 朱美³, 鳴海 哲夫¹, 梁 明秀², 玉村 啓和^{1,3}

(¹東京医歯大生材研, ²横浜市大院医, ³東京医歯大院疾患生命研)

1P-0182

ポスター発表 31P-0182

31日 9:45~15:30

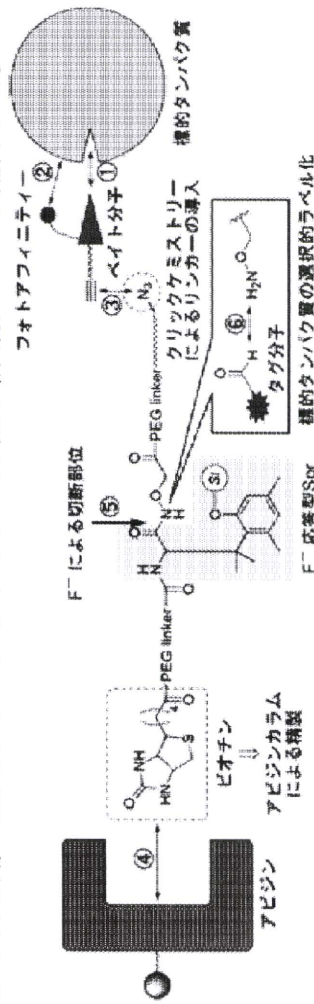
P会場 ツインメッセ静岡 南館・北館1F 大展示場
化学系薬学 (Chemical Divisions) 有機化学

標的タンパク質の効率的濃縮と同定を指向したトレーサーサブルリンカーの開発

○山本 純¹, 前田 奈美¹, 田中 智博², 傳田 将也¹, 重永 章¹, 野村 渉²,
玉村 啓和², 大高 章¹
(¹徳島大院薬,²東京医歯大生材研)

標的タンパク質の効率的濃縮と同定を指向したトレーサーサブルリンカーの開発
山本 純¹, 前田 奈美¹, 田中 智博², 傳田 将也¹, 重永 章¹, 野村 渉²,
村 啓和², 大高 章¹ (¹徳島大院薬, ²東京医歯大生材研)

【目的】 生理活性物質の標的タンパク質を単離する手法として、標的タンパク質
ビオチン修飾した後、アビジンカラムで濃縮する方法が汎用される。しかし、
の方法にはアビジンカラムからの溶出効率の低さという問題点がある。このた
、標的タンパク質-ビオチン間において特定の条件下において切断可能なリンカーを
入し溶出効率を上げる試みが行われてきた。今回、温和な条件での切断および
標的タンパク質の選択的ラベル化が可能なたレーサーサブルリンカーの開発を行った。
【方法・結果】 我々は、外部刺激に反応してアミド結合切断反応を誘起するアミ
酸 (Spr: Self-processing residue) に関する研究を行ってきた。今回、フッ化物イ
ンに反応する Spr を導入したトレーサーサブルリンカーの開発を行った。リンカー切
後に再生するアミノオキシ基はアルデヒドと選択的に反応するため、標的タン
パク質の選択的ラベル化が可能となる設計である。本発表では、リンカーの合成
およびこれを用いたモデルペプチドのラベル化の詳細について報告する。

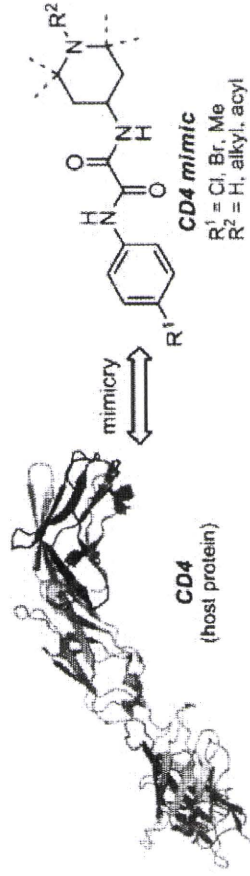


1P-0419

V-1 外被タンパク質の構造変化を誘起する低分子 CD4 ミミックの創製研究
 海¹ 哲夫¹, 新井 啓之¹, 落合 千裕¹, 吉村 和久², 原田 惠嘉², 野村 渉¹,
 下 修三², 〇玉村 啓和¹(¹東京医歯大・生材研,²熊本大・エイズ学研セ)

【目的】 HIV は外被タンパク質が宿主細胞上にある複数のタンパク質 CD4 や
 CXCR5/CXCR4 といったコレセプターとダイナミックな構造変化を起こしながら、
 相互作用する動的超分子機構によりヒトの宿主細胞に感染する。その第一段階で
 ある HIV の外被タンパク質 gp120 と CD4 の相互作用様式の解析を目的として、
 gp120 と相互作用する HIV 侵入阻害剤 CD4 ミミック誘導体を合成し、その生物活
 性について評価した。

【方法・結果】 CD4 ミミックは gp120 と相互作用することで、gp120 に可溶性 CD4
 結合時と類似した構造変化を誘起する。そこで、gp120 の構造変化に伴い露出する
 CD4i site を認識する CD4i 抗体 4C11 を用いて、CD4 ミミック誘導体処理した
 M1/JR-FL 細胞表面における gp120 の構造変化を解析した。4C11 の結合量につい
 ては、FITC を結合させた IgG 抗体にて蛍光標識し、FACS にてその蛍光強度を測
 定した。その結果、芳香環パラ位の置換基およびピペリジン環が gp120 の構造変
 化に大きく寄与していることが示唆された。また、これら部位への更なる構造活
 性相関研究について報告する。



ポスター発表 31P-0419

31 日 9:45~15:30

P 会場 ツインメッセ静岡 南館・北館1F 大展示場
 化学系薬学 (Chemical Divisions) 医薬化学

HIV-1 外被タンパク質の構造変化を誘起する低分子 CD4 ミミック
 の創製研究

鳴海 哲夫¹, 新井 啓之¹, 落合 千裕¹, 吉村 和久², 原田 惠嘉², 野村 渉¹,
 松下 修三², 〇玉村 啓和¹
 (¹東京医歯大・生材研,²熊本大・エイズ学研セ)

