



Title	Crystallographic studies on the three enzymes related to the human parasite diseases for development of novel drugs
Author(s)	高島, 康秀
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59160
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	たかしま やす ひで 高 島 康 秀
博士の専攻分野の名称	博 士 (工学)
学 位 記 番 号	第 2 5 4 7 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用化学専攻
学 位 論 文 名	Crystallographic studies on the three enzymes related to the human parasite diseases for development of novel drugs (新薬の開発を指向したヒト寄生原虫感染症に関する 3 種の酵素の結晶学的研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 井 上 豪 (副査) 教 授 林 高 史 教 授 宇 山 浩 教 授 桑 畑 進 教 授 大 島 巧 教 授 南 方 聖 司 教 授 今 中 信 人 教 授 平 尾 俊 一 教 授 町 田 憲 一 教 授 安 藤 陽 一 教 授 古 澤 孝 弘

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、主に発展途上国に蔓延しているヒト寄生原虫感染症に対し、インシリコスクリーニング法を用いた新薬の開発に取り組むことを目的として、mouse由来のprostaglandin F_{2α}合成酵素 (PGFS) および熱帯熱マラリア原虫*Plasmodium falciparum* (*Pf*) 由来の2種類のピリミジンスクレオチド生合成酵素のX線構造解析を行い、そのうちの1つで実際に阻害剤の探索を行った結果について述べられており、緒言、本文3章、および総括から構成されている。

緒言では、今回テーマとして取り上げたヒト寄生原虫感染症に対する新薬開発に取り組む意義について説明した。また、医薬品の開発におけるインシリコスクリーニング法の優位性について述べた。

第1章では、mouse由来のPGFSの培養、精製、結晶化、X線データ収集およびその構造解析について述べた。さらに、これまでに解析されていた*Trypanosoma cruzi*及び *Trypanosoma brucei*, *Leishmania major*の3種の寄生原虫由来のPGFSの構造と比較したところ、2つのループで形成されている基質結合部位がマウスと寄生虫で大きく異なることが判明した。寄生虫由来PGFSの基質結合部位のみに結合する選択性の高い阻害剤の開発が可能であることを見出した。

第2章では、*Pf*由来*de novo*合成経路に関わる酵素のひとつであるorotate phosphoribosyltransferase (*Pf*OPRT) の培養、精製、結晶化、X線データ収集およびその構造解析について述べた。生物のDNAやRNAの合成には*de novo*合成経路およびsalvage経路の2経路が存在するが、マラリアは*de novo*合成経路しか持たないため、この反応を阻害することでマラリアに致命的なダメージを与えられる。本酵素の構造を解析し、ヒト由来酵素の構造と比較したところ、活性部位付近の3つのβシートの構造が大きく異なることが判明した。構造の違いに基づいたマラリアのピリミジンスクレオチド生合成経路に特異的な阻害剤の開発が可能であることを見出した。

第3章では、第2章に引き続き*Pf*由来の*de novo*合成経路に関わるもうひとつの酵素である orotidine 5'-monophosphate decarboxylaseに対するインシリコスクリーニング法を用いた阻害剤を探索し、選択された阻害

剤との複合体のX線構造解析を行った結果について述べた。具体的には、multiple target screening法およびdocking score index法と呼ばれる新たなインシリコスクリーニング法を用いて、14種類の阻害剤を見出し、その阻害剤の1つである4-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4-oxobutanoic acidとの複合体のX線構造解析に成功し、その構造に基づいた新たな阻害剤分子の設計指針を提案した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、主に発展途上国に蔓延しているヒト寄生原虫感染症に対し、インシリコスクリーニング法を用いた新薬の開発に取り組むことを目的として、mouse 由来の prostaglandin F_{2α} 合成酵素 (PGFS) および熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* (*Pf*) 由来の 2 種類のピリミジンスクレオチド生合成酵素の X 線構造解析を行い、そのうちの 1 つで実際に阻害剤探索を行った結果についてまとめ、考察したものである。

第 1 章では、mouse 由来の PGFS の培養、精製、結晶化、X 線データ収集およびその構造解析について述べ、以前に解析されていた *Trypanosoma cruzi* 及び *Trypanosoma brucei*, *Leishmania major* の 3 種の寄生原虫由来の PGFS の構造と比較し、2 つのループで形成されている基質結合部位がマウスと寄生虫で大きく異なることを見出している。これを基に、寄生虫由来 PGFS の基質結合部位のみに結合する選択性の高い阻害剤開発の可能性を見出している。

第 2 章では、*Pf* 由来 *de novo* 合成経路に関わる酵素のひとつである orotate phosphoribosyltransferase (*POPRT*) の培養、精製、結晶化、X 線データ収集およびその構造解析について述べている。生物の DNA や RNA の合成には *de novo* 合成経路および salvage 経路の 2 経路が存在するが、マラリアは *de novo* 合成経路しか持たないため、この反応を阻害することがマラリアにとって致命的となることを予測し、本酵素の構造解析を行い、ヒト由来酵素の構造と比較したところ、活性部位付近の 3 つの β シートの構造が大きく異なることを明らかにしている。構造の違いに基づいたマラリアのピリミジンスクレオチド生合成経路に特異的な阻害剤の開発の可能性を見出している。

第 3 章では、第 2 章に引き続き *Pf* 由来の *de novo* 合成経路に関わるもうひとつの酵素である orotidine 5'-monophosphate decarboxylase に対するインシリコスクリーニング法を用いた阻害剤を探索し、選択された阻害剤との複合体の X 線構造解析を行った結果について述べている。具体的には、multiple target screening 法および docking score index 法と呼ばれる新たなインシリコスクリーニング法を用いて、14 種類の阻害剤を見出し、その阻害剤の 1 つである 4-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4-oxobutanoic acid との複合体の X 線構造解析に成功し、その構造を用いた新たな阻害剤分子の設計指針を提案している。

以上のように、本論文はヒト寄生原虫感染症に対する新薬の開発を目的に、mouse 由来の PGFS および *Pf* 由来の 2 種類のピリミジンスクレオチド生合成酵素の X 線構造解析およびその構造に基づく阻害剤探索を行った結果、寄生虫に対する選択性の高い阻害剤開発を行うための構造基盤に関する重要な知見を与えている。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。