

様式3

令和2年度愛媛大学プロテオサイエンスセンター共同研究報告書

令和3年2月23日

国立大学法人愛媛大学
プロテオサイエンスセンター長 殿

研究代表者

所属機関： 岐阜大学

部局・職名： 工学部・教授

氏名： 竹森 洋

1. 研究課題

多機能カウレン酸の細胞内標的の探索

2. 研究組織

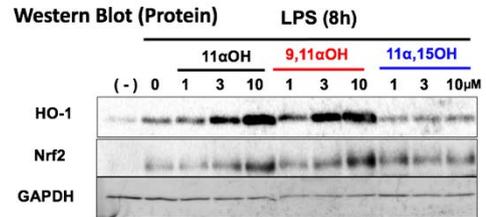
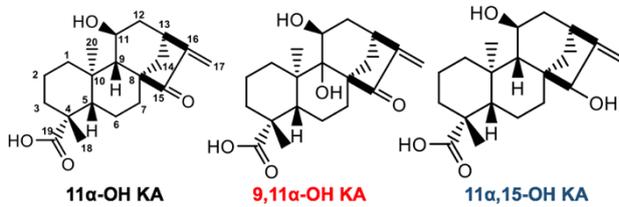
氏名	所属機関・部局	職名	分担内容
研究代表者 竹森 洋	岐阜大学・工学部	教授	カウレン酸の修飾
研究分担者 濱本明恵	岐阜大学・工学部	助教	細胞生化学評価
秦野 修	奈良県立医科大学・医学部	講師	細胞形態評価
竹田浩之	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター	准教授	プロテインアレイと AlphaScreen を用いたスクリーニング系構築

3. 研究成果

別紙のとおり

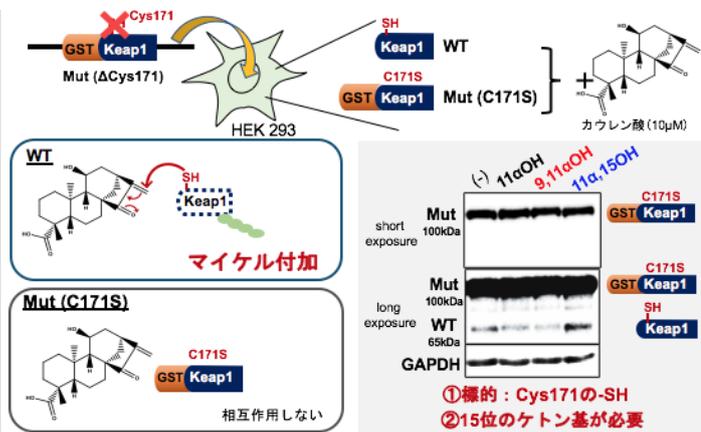
共同研究報告書（別紙）

11 α OH-KA(カウレン酸)は、メラニン合抑制、抗炎症、抗癌活性と多様な生物活性を有している。しかし、その標的は不明であるため、採用機序の解明やより高機能化することが困難である。そこで、ビオチン化修飾で標的検索を行うための予備試験を実施した。



まず、11 α OH-KA の類似体を植物から抽出し構造決定を行った。次に、抗酸化作用に着目し、培養細胞での作用を検証した。その結果、15位はケトでないと抗酸化作用作用が発揮されないことが明らかとなった。

次に、抗酸化作用に関連すると予想される NRF2-Keap1 経路を検討したところ、Keap1 の C171S が標的であることが示唆された。これには、15位のケトがシステインと共有結合するものと考えられる。このことは、Keap1 が結合標的の1つのポジティブコントロールとして利用できることを意味する。

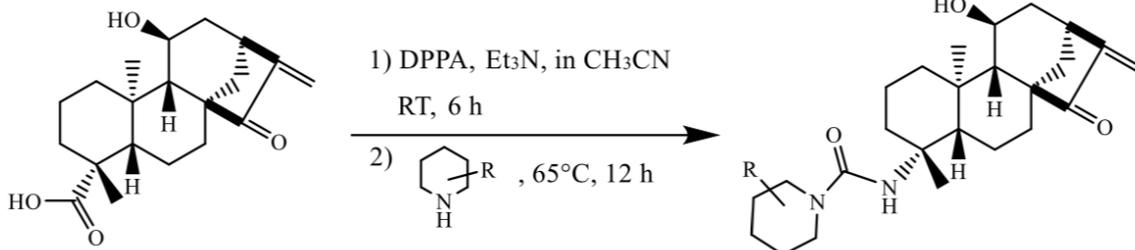


生物活性に大きな影響を与えない部位として、19位のカルボキシ基が予想された、そこで、当該部位を修飾し、PEG-Biotin 化するための修飾方法を検討したところ、DPPAを触媒とする系が有用であると示唆された。今後、ビオチン化の効率を上げる条件を検討する。化合物の必要量は、終濃度 100 nM、6 μ L 反応系、30,720 ウェルとのことで、現在精製済みの 11 α OH-KA で十分対応できる。

成功した反応系

DPPA : Diphenylphosphoryl Azide
 11 α OH-KA : DPPA : Et₃N : = 1 : 1 : 1 : 1

《縮合剤DPPAを用いたCurtius転位反応》



※条件

第一級アミン、第二級アミンでは反応が進行せず、環状二級アミンのみ反応が進行した。
 → 第一級アミンを有する化合物は15-oxo, 16-en の構造が保てず、メラニン合成抑制作用を失う