

第61回 学位取得者 ・ 第18回 学術奨励賞

学位取得者・学術奨励賞受賞者の紹介

城西国際大学 薬学部 医療薬学科 助教

しぶや あすか
渋谷 明日香

東京理科大学 薬学部 生命創薬科学科 (2013年度入学)

薬学研究科 薬科学専攻 (2019年度修士課程修了)

薬学研究科 薬科学専攻 (2023年度博士課程修了)

キネシタンパク質 CENP-E の構造を“見る” —新たな抗がん剤開発を目指して—

このたびは、第18回学術奨励賞ならびに本稿執筆の機会をいただき、誠にありがとうございます。受賞を機に学生時代の研究活動を振り返り、指導して下さった先生、支えてくれた仲間たちの存在に改めて感謝の念を抱いています。本稿では、私が学部時代から博士課程まで取り組んできた研究についてご紹介させていただきます。

◆生物物理学との出会い

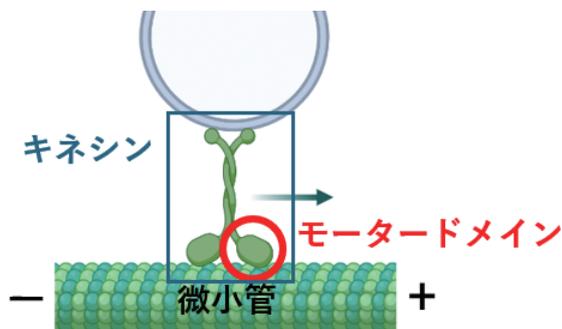
私の現在の研究領域への興味は、東京理科大学薬学部への入学から始まりました。2013年に本学の生命創薬科学科に入学し、1年次から幅広い薬学の講義を受ける中で、生物の美しさに感動しました。もともと数学や物理が好きだった私は、生命現象を物理法則で読み解こうとする「生物物理学」という分野に出会い、大変魅力を感じました。細胞がどのように力を生み出して形を変えるのか？タンパク質はどうやって機能しているのか？これらの問いに物理の視点から挑む生物

物理学は、私にとって非常に興味深いものでした。

研究室配属される大学4年次、ちょうどそのタイミングで、生物物理の中の一分野である構造生物学をご専門とする横山英志先生が本学に着任され、私は迷わず先生の研究室配属を希望しました。構造生物学は、タンパク質の立体構造を調べることでその機能やメカニズムを解明する学問分野です。私は先生の指導の下で、細胞分裂に関わるキネシタンパク質「CENP-E (Centromere-associated protein E)」の構造解析をテーマに研究を始めました。

◆研究対象「キネシタンパク質CENP-E」 とは？

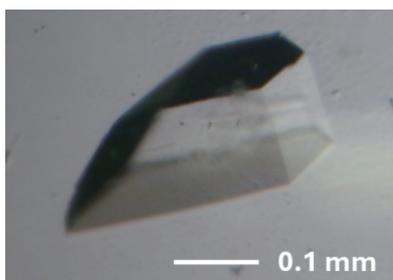
がん細胞では正常細胞に比べて細胞分裂が活発に行われています。この違いに注目して開発された抗がん剤ビンクリスチンは、細胞内での物質の移動や細胞分裂に関わるレール状の微小管を攻撃し、細胞分裂を止めることでがん細胞の増殖を妨げます。ただし微小管は、正常細胞にとっても重要なため、副作用が大きいという課題があります。そこで、がん細胞を選択的に攻撃できる、副作用の少ない次世代抗がん剤の標的として、キネシタンパク質 CENP-E が注目されます。キネシタンパク質は、ATP という物質を使って自らの構造を変化させながら、このレールの上を移動するタンパク質です【図1】。その一種である CENP-E は、細胞が分裂する際に、染色体を正確に並べる重要な役割を担っています。CENP-E を攻撃する薬剤は、医療現場ではまだ用いられていませんが、すでに複数が開発されています。しかし、それらの薬剤が CENP-E にどう作用し、そして作用する際に



【図1】キネシタンパク質の概略図。

青く示した部分はキネシン、赤く示した部分はキネシンの一部であるモータードメインという領域を示す。

Created with BioRender.com



【図2】得られた結晶の写真。光学顕微鏡を用いて撮影したもの

CENP-E はどんな構造をしているのか、詳細は不明でした。そこで私は、CENP-E と、薬剤 CIBA (3-chloro-4-isopropoxybenzoic acid) または ATP 類似体等との複合体について、X線結晶構造解析という手法を用いて、構造を詳細に明らかにすることを目指しました。CENP-E と薬剤の複合体構造を“見る”ことで、薬剤がどのように作用しているのかを理解し、より良い薬剤の設計に活かすことができると考えたからです。

◆5000回以上試した…苦悩の連続だった 修士学生時代

まず CENP-E の一部である、CENP-E モータードメインと、その薬剤の複合体の結晶化を目指しました。結晶を得られれば、X線を照射し得られるデータから複合体構造を“見る”ことが可能になります。しかしタンパク質の結晶化は非常に繊細な作業です。条件が少し違うだけで結晶が全くできない世界であることに加え、私が扱う CENP-E は過去の研究から結晶を得るのは難しいことも分かっていました。実際、2004年の一例を除き、CENP-E モータードメインの結晶構造の報告はありませんでした。それでも、タンパク質溶液に含まれる塩の濃度、pH、温度などあらゆる条件を試行錯誤し、学部時代から修士課程における3年間で5000以上の条件をテストし、ようやくX線照射に十分なサイズの結晶を得ることができました【図2】。

◆やっと成果を出せたけど、 期待通りではなかった

得られた結晶にX線を照射し、CENP-E モータードメインの骨格を明確に“見る”ことができたときの達成感は、今でも忘れられません。しかしその構造をよく“見る”と、CENP-E モータードメインと CIBA の



【図3】CENP-E モータードメインと ATP 類似体複合体の結晶構造 (PDB entry: 8HFH)

複合体を期待していたにもかかわらず、結合していたのは CIBA ではなく ADP という別の物質でした。CENP-E が大腸菌の中で発現した際に、あらかじめ大腸菌が持っていた ADP と結合しており、その後に添加した CIBA と結合することができなかったのです¹⁾。

◆ついに目的の構造を解明

CENP-E と薬剤等の複合体構造を解明するには、まず CENP-E から ADP を除去する必要がありました。そこで、ADP 分解酵素 apyrase を使って ADP を除去し、その後 ATP 類似体を添加して CENP-E・ATP 類似体複合体を調製しました。CIBA は CENP-E に結合しづらいことが示唆されていたため、より結合しやすい ATP 類似体を使うことにしました。この試料から得た結晶は、さらに高分解能な構造データを提供してくれました【図3】。分解能が向上したことで、タンパク質の骨格と呼ばれる主鎖はもちろん、より詳細を示す側鎖まで、明確に“見る”ことができました²⁾。

◆「理科大で研究できて良かった」と心から思う

このように、私の研究は“見る”という構造生物学の醍醐味を実感するものでした。CENP-E モータードメインの構造解明を目指す中で、新たな問いが生まれる。その問いを、先生や仲間と追いかけた日々は、苦しくもあり、同時にこの上なく幸せな時間でもありました。これらの経験を通して、素晴らしい研究環境を与えてくれた東京理科大学に心から感謝しています。今後も、悩みながらも研究に真摯に向き合っていきたいと強く思っています。

参考文献

- 1) A. Shibuya *et al.*, *Act. Cryst. D*, 77, 280–287 (2021).
- 2) A. Shibuya *et al.*, *FEBS Lett.*, 597, 1138–1148 (2023).