



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Effects of ligand binding on the stability of aldo-keto reductases

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: English 出版者: 公開日: 2017-09-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kabir Aurangazeb メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12099/55737 |

| | |
|-----------|---|
| 氏 名（本 籍） | Kabir Aurangzeb（バングラデシュ） |
| 学 位 の 種 類 | 博 士（医科学） |
| 学位授与番号 | 甲第 35 号 |
| 学位授与日付 | 平成 28 年 12 月 28 日 |
| 専 攻 | 医療情報学専攻 |
| 学位論文題目 | AKR 安定性に対するリガンド結合効果 (Effects of ligand binding on the stability of aldo-keto reductases) |
| 学位論文審査委員 | (主査) 教 授 加 藤 善 一 郎 (副査) 教 授 赤 尾 幸 博 (副査) 教 授 紀 ノ 定 保 臣 (副査) 教 授 桑 田 一 夫 |

論文内容の要旨

Ligands such as enzyme inhibitors stabilize the native conformation of a protein upon binding to the native state, but some compounds destabilize the native conformation upon binding to the non-native state. The former ligands are termed “stabilizer chaperones” and the latter ones “destabilizer chaperones.” Because the stabilization effects are essential for the medical chaperone hypothesis, here we have formulated a thermodynamic system consisting of a ligand and a protein in its native- and non-native state. Using the differential scanning fluorimetry and the circular dichroism varying the urea concentration and temperature, we found that when the coenzyme NADP⁺ was absent, inhibitors such as isolithocholic acid stabilized the aldo-keto reductase AKR1A1 upon binding, which showed actually the three state folding, but destabilized AKR1B10. In contrast, in the presence of NADP⁺, they destabilized AKR1A1 and stabilized AKR1B10. To explain these phenomena, we decomposed the free energy of stabilization ($\Delta\Delta G$) into its enthalpy ($\Delta\Delta H$) and entropy ($\Delta\Delta S$) components. Then we found that in a relatively unstable protein showing the three state folding, native conformation was stabilized by the negative $\Delta\Delta H$ in association with the negative $\Delta\Delta S$, suggesting that the stabilizer chaperon decreased the conformational fluctuation of the target protein or increase its hydration. However in other cases, $\Delta\Delta G$ was essentially determined by the delicate balance between $\Delta\Delta H$ and $\Delta\Delta S$. The proposed thermodynamic formalism is applicable to the system including multiple ligands with allosteric interactions. These findings would promote the development of screening strategies for medical chaperones to regulate the target conformations.

論文審査結果の要旨

本論文は、各種リガンドの結合に伴う AKR（Aldo-keto-reductase）ファミリーの熱安定性の変化について調べ、タンパク質の熱安定性を高めるための原理について理論的及び実験的考察を行ったものである。AKR ファミリーは、がん関連タンパク質であり、抗がん剤の標的として知られており、これまで多くの低分子インヒビターが開発されてきた。

従来、リガンドとタンパク質の結合は、鍵と鍵穴モデルのように、タンパク質の非天然状態を含んでいなかった。プリオン病やアルツハイマー病においては、タンパク質の変性や凝集が問題となるため、本論文ではまず非天然状態を含む系に関するモデルを新たに構築した。

次に、低分子化合物の結合に伴い、AKRの熱安定性がどのように変化するかを、DSF (Differential Scanning Fluorometry) 及びCD (circular Dichroism) を用いて調べた。その結果、補酵素であるNADP⁺が存在しない時は、リガンド結合により、AKR1A1は安定化されるが、それとよく似た構造を有するAKR1B10は、不安定化されることが分かった。ところが、NADP⁺が存在する時は、リガンド結合により、AKR1A1は不安定化されたが、AKR1B10は、安定化された。

この原因を調べるため、結合に伴う天然構造の自由エネルギー変化を調べ、エンタルピーの寄与とエントロピーの寄与に分解した。その結果、3状態転移を示すような比較的やわらかい天然構造を有するタンパク質においては、リガンド結合により天然構造の揺らぎが抑制され、エントロピーが負になることにより、天然構造が安定化されることが分かった。しかし、比較的コンパクトなタンパク質では、結合に伴う自由エネルギー変化は、エンタルピーとエントロピーの微妙なバランスにより決定されることが分かった。

本論文では、リガンド結合に伴うタンパク質の安定性の変化を、理論的及び実験的に検証した。その結果、神経変性疾患の原因となるような不安定なタンパク質に対しては、その揺らぎを抑えるようなリガンドの設計が重要であることを明らかにした。

以上のように本論文では、新規理論を構築するとともに、低分子化合物によるタンパク質立体構造制御法の本質を明らかにし、それを実証した。本研究成果は、本論文の学術的価値が著しく高いことを示している。したがって、審査の結果、本論文が博士（医科学）論文に十分に値するものであると判定した。

最終試験結果の要旨

この論文の主要部分は、審査付き論文として公表済みの一編の論文に基づくものである。この論文が学位論文として完成された内容を有することを確認した。

また、公聴会において、学位論文の内容に関する事項、すなわち、リガンド結合に伴うタンパク質天然構造安定化の理論的考察、AKRファミリータンパク質のDSF及びCD実験による理論の検証、さらに今後の展開などに関して諮問を行った。申請者からは十分な内容の回答が得られたので、最終試験に合格したと判定した。

論文リスト

1. Aurangazeb Kabir, Ryo P. Honda, Yuji O. Kamatari, Satoshi Endo, Mayuko Fukuoka and Kazuo Kuwata. Effects of ligand binding on the stability of aldo-keto reductases: Implications for stabilizer or destabilizer chaperones *Protein Science* 2016 in press 【Impact Factor: 3.039】