

解説

コラーゲン結合タンパク質の分子認識機構の研究

河原 一樹

大阪大学大学院薬学研究科高分子化学分野

(受取日：2023年8月1日，受理日：2023年9月15日)

A Study of Molecular Recognition Mechanisms of Collagen by Collagen Binding Proteins

Kazuki Kawahara

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

(Received Aug. 1, 2023; Accepted Sep. 15, 2023)

Collagen, the most abundant protein in mammals, not only provides tensile strength to tissues and organs, but also interacts with a myriad of proteins, namely collagen-binding proteins (CBPs), to regulate cell adhesion, growth, and differentiation. Despite their significant biological importance, the interactions between collagen and CBPs are poorly understood because of its insoluble, large, and anisotropic natures of collagen. In this review, I describe the recent progress in understanding the collagen-CBP interactions, which is primarily accelerated by the use of homo- and heterotrimeric collagen-like model peptides coupled with a variety of physicochemical and structural biological techniques. The detailed analyses on the collagen-CBP interactions are important for understanding the biological functions of collagen and its related diseases, and potentially provide a clue to develop novel collagen mimetic materials. **Keywords:** collagen, collagen binding protein, collagen model peptide, isothermal titration calorimetry, X-ray crystallography

1. はじめに

タンパク質間相互作用の研究は、生命現象の深い理解につながるだけでなく、その巧みに制御された相互作用ネットワークの破綻により生じる様々な疾患の治療につながる可能性があるため、従来から盛んに進められている研究領域である。哺乳類中に最も豊富に存在し、全タンパク質重量の約 1/3 をも占めるコラーゲンは、その様な研究において特に重要な標的の一つであり、細胞外マトリックスの主成分として、腱、皮膚、血管などの結合組織に必須の弾性や強度を生み出しているだけでなく、細胞接着の足場としての機能や、細胞増殖・分化におけるシグナル伝達の役割も担うことから、近年バイオマテリアルや創薬分野を中心に注目されている分子である。^{1,2)}

コラーゲンは、Gly-X-Y の繰り返し配列に規定されたポリペプチド鎖が 1 残基ずつずれながら 3 本寄り集まった 3 重らせん構造を基本骨格としてもつファミリータンパク質の総称であり (Fig.1)，繊維形成型である I, II, III, V 型や、ネットワーク形成型である IV 型など、28 種類の型が報告されている。配列中の約 20% はプロリン等のイミノ酸が占め、Y 位のプロリンは翻訳後修飾により 4-ヒドロキシプロリン (Hyp または O と略される) に変換されることが多く、ポリプロリン II 型のヘリックス構造の安定化に寄与する。また、およそ 300 回の繰り返し配列の中には、イ

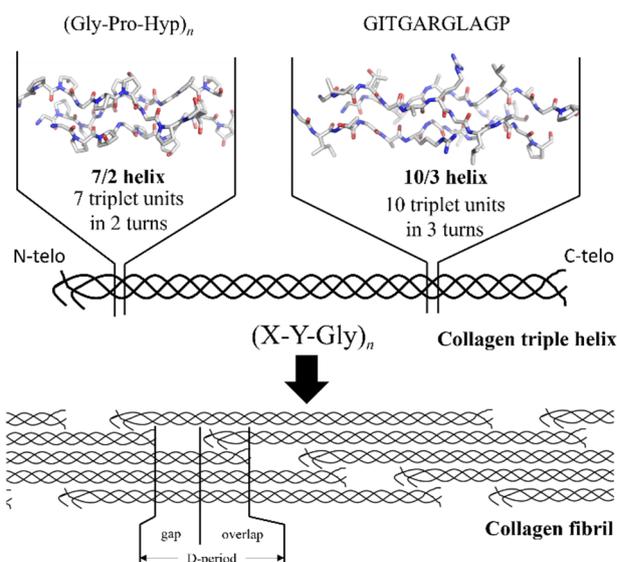


Fig.1 Molecular structure of collagen triple helix and schematic of the axial arrangement of collagen molecules in the D-periodic collagen fibril. The crystal structures of part of peptide (Gly-Pro-Pro)₉ (PDB code: 3B0S) and T3-785 (PDB code: 1BKV) are shown.

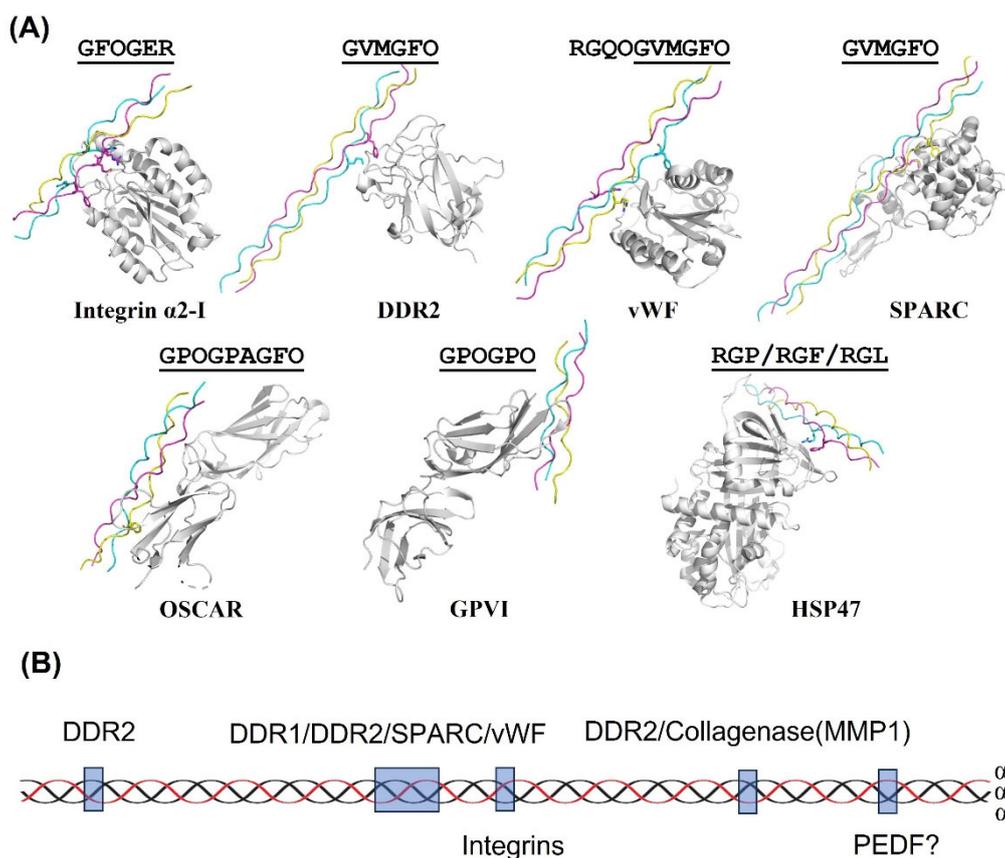


Fig.2 Crystal structures of CBPs in complex with CMPs. (A) Structures of Integrin $\alpha 2$ -I domain-CMP complex (PDB code: 1DZ1), DDR2-CMP complex (PDB code: 2WUH), vWF-CMP complex (PDB code: 4DMU), SPARC-CMP complex (PDB code: 2V53), OSCAR-CMP complex (PDB code: 5EIV), GPVI-CMP complex (PDB code: 5OUH), and HSP47-CMP complex (PDB code: 7BEE) are shown. Arg, Phe, Met, Glu residues important for binding are shown as stick models. (B) A schematic diagram illustrating the plausible CBP binding sites along the triple helix of type I collagen constituting of two $\alpha 1$ chains and one $\alpha 2$ chain.

ミノ酸を含まない領域も存在し、イミノ酸に富む領域に比べて緩やかならせん構造を採ることが知られている (Fig.1)。

コラーゲンは、このような比較的単純で掴みどころの少ない 3 重らせん構造を採るにもかかわらず、コラーゲン結合タンパク質 (collagen binding protein: CBP) と呼称される様々なタンパク質と結合することが知られている。コラーゲンの生物学的な重要性から、各 CBP との相互作用の詳細を知ることが重要であるが、コラーゲンは不溶性かつ異方性のある巨大な棒状分子であるため、その様な研究はこれまであまり進んでいなかった。

本稿では、コラーゲン 3 重らせんを模倣する低分子ペプチドの利用により可能になった、コラーゲンと CBP との相互作用研究の現状と、その研究過程において重要な働きをする構造生物学および物理化学的手法について紹介する。

2. コラーゲン結合タンパク質

コラーゲンの実験試料としての取り扱いの困難さから、原子レベルでの 3 重らせん構造の解析や、それと相互作用する CBP の同定および結合エピトープの決定は簡単ではない。とりわけ相互作用解析については、コラーゲン分子の臭化シアン (CNBr) 切断により生じるペプチド断片を用いた結合アッセイや、ロータリー・シャドウ法による電子顕微鏡観察等が行われてきたが、いずれも結合配列モチーフの正確な特定に至るものではない。この状況が改善されるようになったのは、自発的に 3 重らせんを形成するコラーゲン様 3 重らせんモデルペプチド (collagen-like triple

helical model peptide: CMP) が利用されるようになってからである。¹⁻³⁾当初は、(Pro-Pro-Gly)_n 及び (Pro-Hyp-Gly)_n 等の単純な配列をもつ CMPs を用いて 3 重らせんの立体構造や熱安定性が調べられたが、³⁾ I 型コラーゲンの CNBr 切断片の部分配列を含む CMPs の利用により Integrin $\alpha 2\beta 1$ の結合エピトープ (GFOGER) を同定した Barns らの先駆的な研究から、天然配列を含む CMP が結合エピトープを特定するための強力なツールとして認識され始めた。⁴⁾

Farndale らは、II 型および III 型コラーゲンの全長をカバーする様デザインされた Collagen Toolkits と呼ばれる CMP ライブラリーを作製し、それぞれ結合アッセイを行うことで、Integrins ($\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 10\beta 1$), discoidin domain receptor 1 又は 2 (DDR1 又は 2), glycoprotein VI (GPVI), osteoclast-associated receptor (OSCAR) などの膜受容体, von Willebrand factor (vWF), secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) などのマトリックスタンパク質をはじめとする様々な CBP の結合エピトープを推定した。⁵⁾ また、それらの配列を 3 重らせん構造を安定化する適切な長さの (Pro-Hyp-Gly)_n で挟み込んだホスト-ゲスト型ペプチドを設計・合成することにより、幾つかの CBP について複合体の立体構造情報も得られ始めている (Fig.2(A))。これらの研究から、各 CBP がコラーゲン上の特徴的な配列を認識する興味深い事実も明らかになってきた。

特に、GPOGPO を認識する GPVI の様な例外はあるものの、現在までに立体構造が報告されている CBP の多くは、アルギニン、グルタミン酸、フェニルアラニン、メチオニン等の嵩高い側鎖を持つアミノ酸を含む領域を、分子表面に存在するポケットで認識する共通性を持っており、こ

の特徴により単純で接触面積の小さい3重らせん構造を効果的に認識している可能性が示唆された。一方で、ポケットを構成するアミノ酸やその周囲に配置されたアミノ酸残基の種類は様々であり、それらの存在によって結合親和性や選択性に差が生まれていることも明らかであった。

以上のホモ3量体型CMPから得られる情報によって、II型およびIII型コラーゲン上の結合エピトープが明らかになり、CBPの原子レベルでの分子認識の理解が進み始めた。また、配列相同性解析から、全コラーゲン量の約90%を占めるI型コラーゲン上の結合エピトープの推定もなされた(Fig.2(B)).²⁾しかし、この推定結果を簡単に鵜呑みにすることはできない。なぜなら、 $\alpha 1$ 鎖のホモ3量体であるII型、III型とは異なり、I型コラーゲンは、2本の $\alpha 1$ 鎖と1本の $\alpha 2$ 鎖からなるヘテロ3量体であり、配列相同性の低い $\alpha 2$ 鎖の存在によって、ホモ三量体型CMPから推定された結合面が必ずしも保存されているとは限らないからである。従って、I型コラーゲンに選択的に結合するCBPの発見、もしくは上述したCBPの結合エピトープを特定するためには、I型コラーゲンを模倣するヘテロ3量体型のCMPを利用しなければならないが、同コラーゲンの部分配列は3重らせん状態の安定性が乏しく、自発的に会合することが望めないため、何らかの技術により、同等のヘテロ3重らせん構造をもつCMPを作製する必要があった。

現在、その様な研究が盛んに進められており、⁶⁾ その一つとして、筆者らの色素上皮由来因子 (pigment epithelium derived factor : PEDF) の研究例を紹介する。⁷⁾

3. CBPのI型コラーゲン認識機構

3.1 PEDF

PEDFは、1991年にヒト網膜色素上皮細胞の培養液中から単離されたセルピンスーパーファミリーに属する糖タンパク質であり、眼の各所だけでなく、中枢神経系や心臓・骨格筋・血管など全身の多くの組織で発現する。⁸⁾ また、プロテアーゼ阻害活性は持たないが、神経栄養作用や抗血管新生作用など多様な生理機能を有することから注目されている分子でもある。PEDFの活性には細胞膜受容体との相互作用が重要であると考えられているが、2001年の立体構造決定から、分子表面に特徴的な酸性アミノ酸に富む領域(酸性パッチ)が見つかり(Fig.3)、当該領域においてI型コラーゲンを認識することが変異実験で示されたことから、その相互作用もまた重要であると考えられた。^{9,10)}

I型コラーゲンが塩基性アミノ酸に富むことから、当初

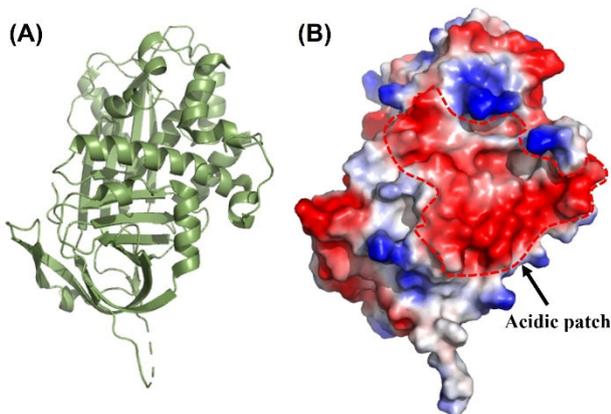


Fig.3 Crystal structure of PEDF. (A) Overall structure of PEDF (PDB code: 1IMV). (B) Electrostatic potential surface representation of PEDF. The acidic patch is indicated by arrow.

は、その役割として、非特異的な静電相互作用により、PEDFを細胞外マトリックスに蓄積する機能が考えられた。しかしながら、小出らの光架橋実験により、PEDFが、I型コラーゲンのコラゲナーゼ (matrix metalloprotease 1 : MMP1) 切断片であるC末端1/4の領域に選択的に結合することが示され、¹¹⁾ 同領域の部分配列を含むホモ3量体型CMPsを用いた結合アッセイから、I型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖上の特徴的な配列KGHRGFSGL ($\alpha 1$ 鎖中930から938残基目の領域)を認識することが明らかになったことから、この極めて高い配列選択性に何らかの機能的意味があるのではないかと考えられるようになった。¹²⁾ 興味深いことに、配列中の各アミノ酸をアラニンに置換したペプチドの実験から、酸性パッチとの相互作用に適する塩基性アミノ酸だけでなく、フェニルアラニンなどの疎水性アミノ酸も相互作用に重要であることがわかり、単純な静電相互作用では認識機構を説明できないことも示された。¹²⁾

3.2 ヘテロ3量体型CMPの利用

前項の結果から、PEDFは、I型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖上の特異的な配列を認識することが示唆されたが、先にも述べたように、I型コラーゲンはヘテロ3量体であるため、 $\alpha 2$ 鎖も考慮した場合に、より優れた結合エピトープが存在する可能性や、推定された $\alpha 1$ 鎖のエピトープがホモ三量体型CMPを使用したことによる擬陽性であることを完全には否定できない。そのため、ヘテロ3量体型CMPを合成し、検証する必要があった。

この目的のため、小出らは、ペプチドのC末端側にシステイン残基を導入し、段階的かつ位置選択的なジスルフィド結合の形成を利用することによって、Fig.4に示すような3種類のヘテロ3量体型CMPの合成に成功した。ここで、I型コラーゲン中の $\alpha 2$ 鎖の位置が未同定であるため、 $\alpha 2\alpha 1\alpha 1$ 、 $\alpha 1\alpha 2\alpha 1$ 、 $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ の全ての異性体を考慮したCMPを設計した。各CMPは、 $\alpha 2$ 鎖の位置に応じて、それぞれCP211、CP121、CP112と命名し、各 α 鎖のフラグメントの位置を指定するため、慣例に伴い、最もN末端側に存在する鎖からLeading (L)鎖、Middle (M)鎖、Trailing (T)鎖と呼ぶこととした。合成により調製した各ヘテロ3量体型CMPを用いて各種相互作用解析を実施した結果を次項から順次紹介する。

CP211		
Leading	Y(GPO) ₃ GPOGLKGHNGL(GPO) ₃ GPCG-amide	$\alpha 2$
Middle	(GPO) ₃ GPKGHRGFSGL(GPO) ₃ GCCG-amide	$\alpha 1$
Trailing	(GPO) ₃ GPKGHRGFSGL(GPO) ₃ GCG-amide	$\alpha 1$
CP121		
Leading	Y(GPO) ₃ GPKGHRGFSGL(GPO) ₃ GPCG-amide	$\alpha 1$
Middle	(GPO) ₃ GPOGLKGHNGL(GPO) ₃ GCCG-amide	$\alpha 2$
Trailing	(GPO) ₃ GPKGHRGFSGL(GPO) ₃ GCG-amide	$\alpha 1$
CP112		
Leading	Y(GPO) ₃ GPKGHRGFSGL(GPO) ₃ GPCG-amide	$\alpha 1$
Middle	(GPO) ₃ GPKGHRGFSGL(GPO) ₃ GCCG-amide	$\alpha 1$
Trailing	(GPO) ₃ GPOGLKGHNGL(GPO) ₃ GCG-amide	$\alpha 2$

Fig.4 Designed disulfide-crosslinked heterotrimeric CMPs with three combinations of chain arrangements, in which $\alpha 2$ chain segment derived from a sequence alignment with the previously identified PEDF-binding sequence of type I collagen $\alpha 1$ chain is positioned at the leading, middle, or trailing position, designated as CP211, CP121, and CP112, respectively.

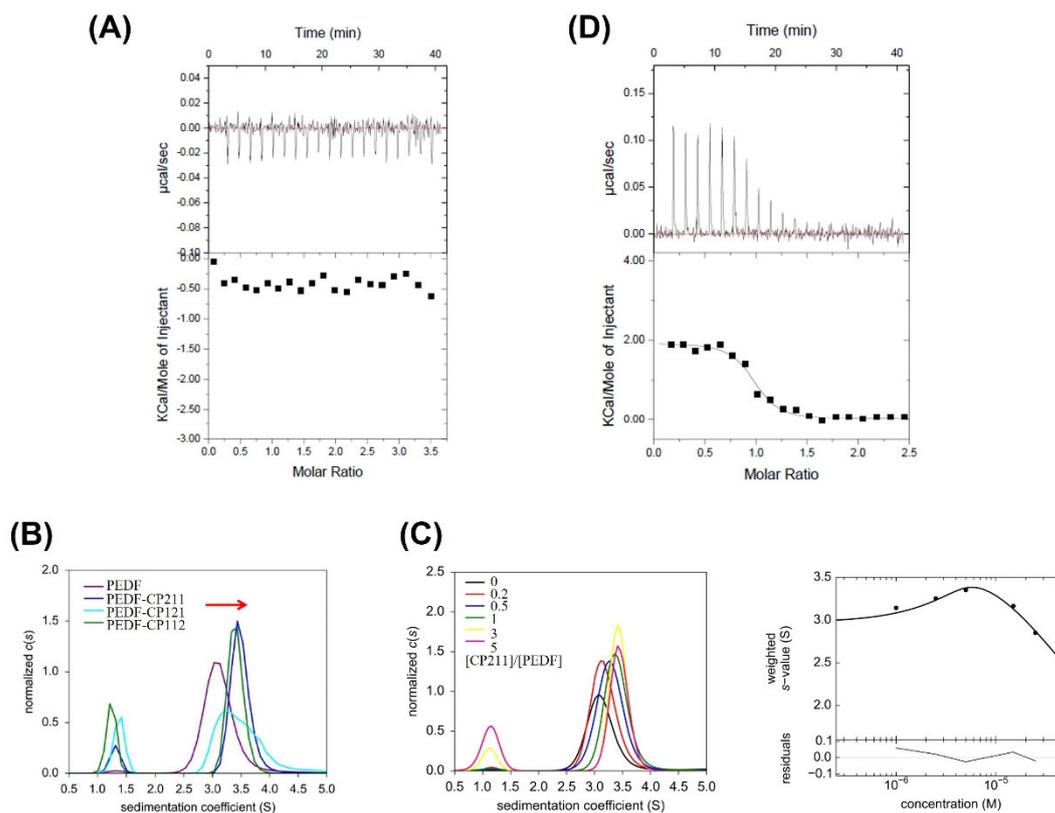


Fig.5 Interactions between PEDF and CMPs analyzed by ITC or SV-AUC. (A) ITC profile of the titration of the CP211 with PEDF at 25 °C. (B) The overlay of the distributions of the sedimentation coefficients (S) of PEDF alone and CMP/PEDF mixtures. (C) The overlay of the sedimentation coefficients (S) of CP211/PEDF mixtures measured at molar ratios of 0, 0.2, 0.5, 1, 3, 5 (left panel). The concentration dependence of weight-average sedimentation coefficients (S) of CP211/PEDF mixtures (right panel). A non-linear fitting was performed to determine the dissociation constant (K_d) value. (D) ITC profile of the titration of the CP211 with PEDF at 20 °C.

3.3 等温滴定型熱量測定を用いた相互作用解析

合成した各 CMP と PEDF との結合アッセイは、等温滴定型熱量測定 (isothermal titration calorimetry : ITC) により実施した。

ITC は、結合に伴うギブズ自由エネルギー変化 (ΔG)、エンタルピー変化 (ΔH)、エントロピー変化 (ΔS)、結合定数 K_a (又は解離定数 K_d)、結合比 (n) などの熱力学パラメータを一度の実験から算出できる他に類を見ない手法であり、複合体の結晶構造などの情報と併せて、結合様式の詳細を議論することができる。ITC の概要や解析手法の詳細は、既に本誌において優れた解説が掲載されているので、そちらを参照されたい。¹³⁻¹⁵⁾

ITC により、合成した各 CMP を評価したところ、当初は、静電相互作用に伴う発熱反応のサーモグラムを予想したが、標準的な 25 °C での測定では、いずれの CMP においても結合熱が全く観測されなかった (Fig.5(A)に CP211 の例を示す)。そのため、測定後の溶液を回収し、超遠心分析 (analytical ultracentrifuge : AUC) により分子間相互作用の

有無を確認した。AUC は、遠心力場における分子の沈降挙動を観測する手法であり、そのうちの一手法である沈降速度 (sedimentation velocity : SV) 法を用いることにより、タンパク質等が複合体を形成した際に生じる沈降係数の変化から、分子間相互作用の有無を検出することが可能である。¹⁶⁾

回収した各溶液について SV-AUC による分子間相互作用解析を実施したところ、いずれの CMP の場合においても、CMP 非存在下に比べて PEDF の明確な沈降係数の変化が認められ、PEDF に対して CMP の濃度を変化させた複数の測定の結果から、各 CMP の解離定数 K_d を求めることができた (Fig.5(B), 5(C)および Table 1)。この結果を踏まえ、ITC の測定条件を種々検討し、温度を 25 °C から 20 °C に変更し、SV-AUC から算出された K_d を参考に、濃度を変化させることで、各ペプチドの吸熱反応のサーモグラムを得ることに成功した (Fig.5(D)に CP211 の例を示す)。この例の様に、特定の分析法でうまく結合が見られない場合には、異なる原理に基づく分析法を併用することも有効である。

Table 1 Binding parameters of PEDF to CMPs from SV-AUC and ITC analyses.

CMP	SV-AUC		ITC		
	$K_d / \mu\text{M}$	$K_d / \mu\text{M}$	$\Delta G / \text{kcal mol}^{-1}$	$\Delta H / \text{kcal mol}^{-1}$	$T\Delta S / \text{kcal mol}^{-1}$
CP211	0.3	0.24	-8.9	2.00	10.88
CP121	4.1	3.85	-7.3	3.78	11.04
CP112	0.7	1.12	-8.0	2.91	10.89

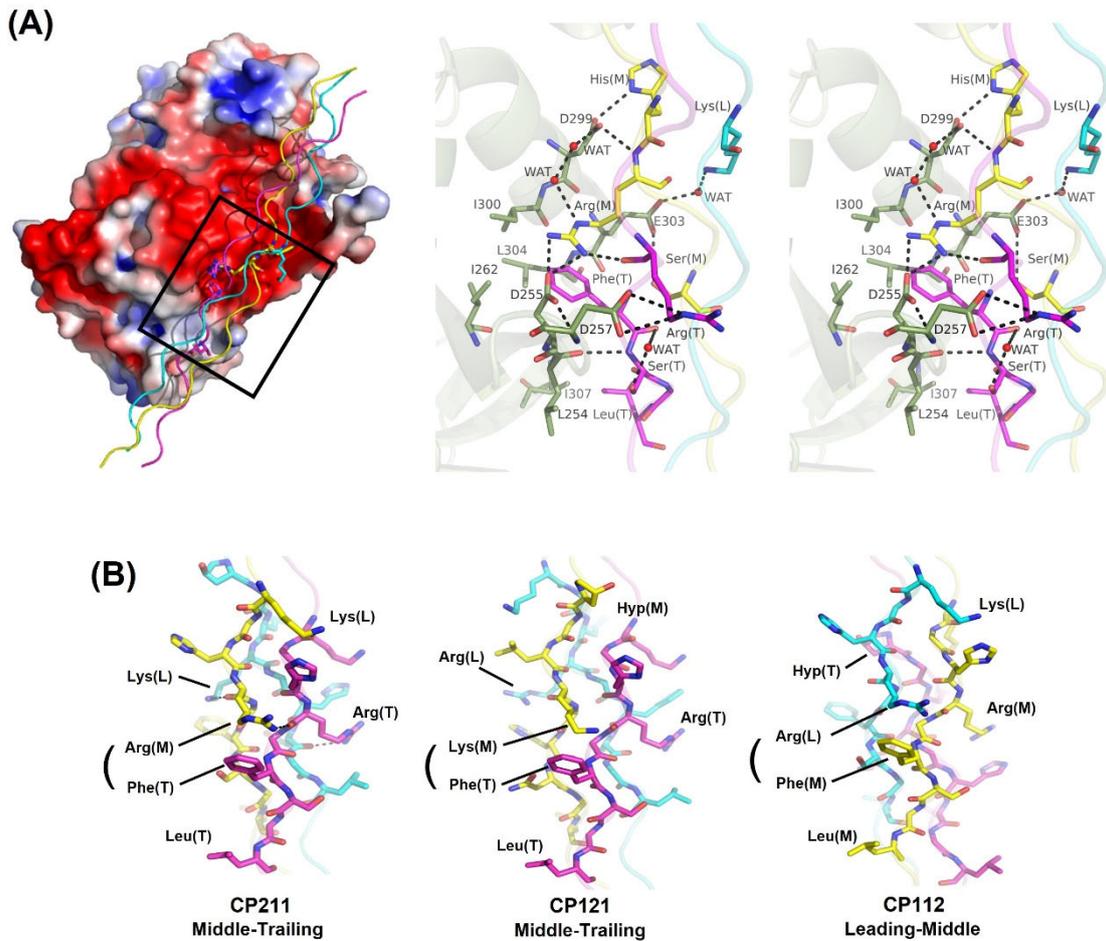


Fig.6 Crystal structure of PEDF-CP211 complex. (A) Electrostatic potential surface representation of PEDF and cartoon representation of CP211 (left panel). The residues important for PEDF recognition are shown as stick models. Stereoview of the interaction surface of the complex (right panel). (B) Modeling of the PEDF-binding region of CP121 (middle panel) and CP112 (right panel). Crystal structure of CP211 in the complex is shown at the left panel.

得られたデータを各々解析し、各種熱力学パラメータを算出したところ、いずれも PEDF に対して 1 分子のヘテロ 3 量体型 CMP が結合し、結合親和性は、CP211 > CP112 > CP121 の順となることが明らかになった (Table 1)。また、CP211 の解離定数 ($K_d = 0.24 \mu\text{M}$) は、天然の I 型コラーゲンと PEDF との文献値 ($K_d = \sim 0.13 \mu\text{M}$) と最も近い値となった。¹⁷⁾

3.4 複合体の X 線単結晶構造解析

前項の熱測定の結果をさらに検証するため、CP211 と PEDF との複合体の結晶を作製し、X 線単結晶構造解析による立体構造決定を実施したところ、2.47 Å の分解能で複合体の結晶構造を決定することに成功した (Fig.6)。本構造は、ヘテロ 3 量体型 CMP と CBP との複合体構造としては世界初となる報告例である。⁷⁾ 得られた複合体構造から、PEDF は、酸性アミノ酸に富む領域 (酸性パッチ) と疎水性アミノ酸に富む領域 (疎水性パッチ) の境界部に位置する両親媒性の結合ポケットにおいて、CP211 の Arg-Phe ペアを認識することが明らかになった。また、CP211 は設計通り、各鎖が 1 残基ずつずれたヘテロ 3 重らせん構造を形成しており、PEDF は、2 本の $\alpha 1$ 鎖 (M 及び T 鎖) から作られる分子表面を主に認識し、 $\alpha 2$ 鎖 (L 鎖) は結合面の反対側に位置していた (Fig.6(A))。 $\alpha 1$ 鎖の PEDF 認識モチーフ KGRHGFSGL は、N 末端側に塩基性アミノ酸が存在し、C 末端側には疎水性アミノ酸が存在する両親媒性の特徴をもつが、それぞれ、PEDF の酸性パッチおよび疎水性パッチに

面して相互作用していたことも興味深い。特に、当初は、発熱反応と関連する塩基性アミノ酸を中心とした水素結合や塩橋の形成が主たる相互作用と想定していたが、吸熱反応と関連する Phe (T) を中心とした疎水性相互作用も重要であることがわかり、両者の影響のため 25 °C で実施した ITC 実験において見かけ上結合熱が観測されなかったのだと考えられた (Fig.5(A))。また、過去の変異実験の結果から PEDF の Asp255, Asp257, Asp299, Glu303 が I 型コラーゲンの認識に寄与することが示されているが、¹⁰⁾ それぞれ、CP211 の Arg(M), Arg(T), His(M), Lys(L) と相互作用しており、今回得られた複合体構造から、各残基の結合への寄与を裏付けることができた (Fig.6(A))。

I 型コラーゲンの配列解析から、上記 Arg-Phe ペアを形成する可能性のある配列 (RGF) は、5 箇所発見されたが、Fig.6(A) に示された相互作用面における側鎖の配置を考慮すると、複合体形成を満足するような配列は今回実験に用いた $\alpha 1$ 鎖 930 から 938 残基目の領域に限られることも分かった。従って、PEDF のもつ高い配列特異性が構造的側面からも裏付けられた。

興味深いことに、PEDF 認識配列には、分子間架橋に関与するリジン (Lys930) が含まれており、成熟した I 型コラーゲン線維においては結合領域が隠されることも明らかになった。このことから、PEDF の細胞膜受容体への結合活性がコラーゲンの成熟過程において制御されるといった生物学的に重要な知見を得ることが出来た。⁷⁾

4. I型コラーゲンの Chain Registry

前節でも触れたように、コラーゲンは古くから研究が進められているにもかかわらず、I型コラーゲンの chain registry は未だに明らかになっておらず、3通り考えられる異性体のいずれも支持する研究報告が存在する。¹⁸⁾

筆者らの ITC や SV-AUC の測定結果から、PEDF と CMP の結合親和性は、 α 鎖の組成や $\alpha 2$ 鎖の位置の影響を受けることが明らかで、その強さは CP211 > CP112 > CP121 の順であった (Table 1)。考えられ得る全ての異性体に関して結合情報を得るため、CP211 の結晶構造を基にした分子モデリングにより、CP121, CP112 の 3 重らせん構造モデルを構築したところ (Fig.6(B)), CP112 においても、CP211 と同様の Arg-Phe ペアを含む分子表面が存在したが、結晶構造中で PEDF の Glu303 と水分子を介して相互作用している CP211 の Lys(L)に相当する位置の残基が Hyp に変わっているため、同箇所における水素結合の形成が妨げられることが考えられた。また、CP121 においては、Arg-Phe ペアが存在せず、代わりに Lys-Phe ペアを形成する面が存在するが、リジンは同箇所がアルギニンである場合に比べて、PEDF との水素結合数が減少するため、結合親和性が減弱する可能性が示唆された。これらの構造的側面からの考察は、CP121, CP112 の結合に伴うエンタルピー変化が CP211 に比べて好ましくないという ITC の結果とも一致しており (Table 1)、各々 Fig.6(B)に示すような分子表面で PEDF と結合することが考えられた。

この推定された各 CMP の結合面を考慮すると、先述した PEDF 中の Asp255, Asp257, Asp299, Glu303 をアラニンに変異させた際の I 型コラーゲンへの結合親和性の低下をうまく説明できるのは CP211 のみであり、また、天然の I 型コラーゲンと PEDF との結合親和性に最も近いのも CP211 である。従って、筆者らが得た PEDF-CP211 の結晶構造に基づく考察からは、I 型コラーゲンの chain registry について $\alpha 2\alpha 1$ の配置が正しいと思われるが、今後、vWF や Integrins など I 型コラーゲンと結合することが報告されている他の CBP においても同様の相互作用解析を行うことで、証拠を増やし、筆者らが提案する配置を裏付けたいと考えている。

5. おわりに

本稿では、コラーゲン 3 重らせん構造を模倣するペプチドの利用により、近年著しく進展した CBP のコラーゲン認識機構の研究について解説した。Fig.2 で紹介したように、X-Y-Gly の繰り返し配列に規定された比較的単純で接触面の限られている 3 重らせん構造に結合する CBP は、実に多様であり、その結合様式も様々である。それらの中には、本稿で詳しく触れることができなかったが、vWF, DDR2, SPARC のように、折り畳み構造が異なる CBP が共通した配列 (GVVMGFO) に結合する例もあれば、GPVI や OSCAR のように同じムグロブリン様ファミリーに属する CBP が、異なる部位において、異なる配列を認識する例も存在する。驚くことに、筆者らが報告した PEDF も、同じセルピンスーパーファミリーに属する HSP47 とは全く異なるコラーゲン認識機構を有していた (Fig.2 及び Fig.6)。この様に、多彩な CBP の分子認識の理解をさらに深めるには、変異体を用いた結合アッセイや、原子レベルでの複合体の構造情報は勿論であるが、それらの複雑なデータを読み解く際には、本稿で紹介したような ITC から得られる熱力学パラメータもまた道しるべとして役立つだろう。この様な相互作用研究は、未だ報告例は限られているが、コラーゲンと CBP との相互作用の制御や、様々なバイオマテリア

ルへの応用を志向して近年急速に進められている CMP の開発研究と相まって、^{1,2,6)} 今後、益々重要になっていくと考えられる。

謝 辞

本稿で紹介した PEDF に関する研究は、大阪大学大学院薬学研究科・小林祐次教授 (現・大阪大学大学院工学研究科招へい教授) の指導の下、早稲田大学先進理工学部・小出隆規教授の研究室と筆者の所属する大阪大学大学院薬学研究科・大久保忠恭教授の研究室との共同研究として実施したものであり、両研究室の構成員各位に、深く感謝申し上げます。また、ITC, SV-AUC の遂行に際し、多大なご支援、ご助言を頂いた丸野孝浩氏 (現・大阪大学大学院工学研究科特任研究員) に、この場をお借りして、厚く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 小出隆規, 生化学 **82** (6), 474-483 (2010).
- 2) B. An, Y. Lin, and B. Brodsky, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **97**, 69-84 (2015).
- 3) 西義則, 内山進, 小林祐次, 熱測定 **34** (4), 152-158 (2007).
- 4) C. G. Knight, L. F. Morton, D. J. Onley, A. R. Peachey, A. J. Messent, P. A. Smethurst, D. S. Tuckwell, R. W. Farndale, and M. J. Barnes, *J. Biol. Chem.* **273**, 33287-33294 (1998).
- 5) R. W. Farndale, *Essays Biochem.* **63**, 337-348 (2019).
- 6) S. A. H. Hulgán and J. D. Hartgerink, *Biomacromolecules* **23**, 1475-1489 (2022).
- 7) K. Kawahara, T. Yoshida, T. Maruno, H. Oki, T. Ohkubo, T. Koide, and Y. Kobayashi, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **117**, 11450-11458 (2020).
- 8) J. Tombran-Tink and C. J. Barnstable, *Nat. Rev. Neurosci.* **4**, 628-636 (2003).
- 9) M. Simonovic, P. G. Gettins, and K. Voltz, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**, 11131-11135 (2001).
- 10) N. Yasui, T. Mori, D. Morito, O. Matsushita, H. Kourai, K. Nagata, and T. Koide, *Biochemistry* **42**, 3160-3167 (2003).
- 11) N. Yasui and T. Koide, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 15728-15729 (2003).
- 12) A. Sekiya, H. Okano-Kosugi, C. M. Yamazaki, and T. Koide, *J. Biol. Chem.* **286**, 26364-26374 (2011).
- 13) 吉田卓也, 丸野孝浩, 小林祐次, 熱測定 **38** (1), 3-8 (2011).
- 14) 丸野孝浩, 内山進, 熱測定 **47** (1), 14-18 (2020).
- 15) 長門石暁, 熱測定 **49** (2), 62-66 (2022).
- 16) 丸野孝浩, 内山進, 「創薬研究のための相互作用解析パーフェクト」(3章), 津本浩平, 前仲勝実編, 羊土社 (2021).
- 17) C. Meyer, L. Notari, and S. P. Becerra, *J. Biol. Chem.* **277**, 45400-45407 (2002).
- 18) A. A. Jalan, D. Sammon, J. D. Hartgerink, P. Brear, K. Stott, S. W. Hamaia, E. J. Hunter, D. R. Walker, B. Leitinger, and R. Farndale, *Nat. Chem. Biol.* **16**, 423-429 (2020).



河原 一樹
Kazuki KAWAHARA
E-mail: kkkazuki@phs.osaka-u.ac.jp