

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ID No.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 2014                                                                                           |
| 研究課題名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | TRAF6 の機能を特異的に阻害する低分子化合物の開発                                                                    |
| 研究代表者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 藤田 美歌子 （熊本大学薬学部附属創薬研究センター・准教授）                                                                 |
| 研究組織<br>受入教員<br>研究分担者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 井上 純一郎 （東京大学医科学研究所・教授）<br>大塚 雅巳 （熊本大学・教授）<br>モハメド オスマン ラドワン （熊本大学・博士研究員）<br>古賀 涼子 （熊本大学・研究補助員） |
| 研究報告書                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                |
| <p>シグナル蛋白質TRAF6は、医科研受入教員の井上らにより見い出され、その機能が解析されてきたものである。IL-1などからのシグナル経路に存在し、TRAF6が自己ユビキチン化されることで下流のNF-<math>\kappa</math>BやMAPキナーゼが活性化することが知られる。またTRAF6が癌の悪性化に関わることが明らかにされつつある。本研究の目的は、抗癌剤を目指してTRAF6を特異的に阻害する低分子化合物を開発することである。熊本大の大塚、藤田は、既に亜鉛蛋白質の機能を阻害する低分子化合物SN-1を合成した。なおこの作用機序は、おそらく蛋白質の亜鉛やその周辺アミノ酸への結合によると推測された。TRAF6特異的な阻害剤を目指し、最終的にはSN-1にTRAF6蛋白質特異的認識部位を導入しようと考えた。その第一歩として、SN-1そのものがTRAF6に結合しユビキチン化を抑制することやその下流シグナルを阻害することを調べ、2017年12月に共著論文を出版した（成果発表参照）。この時点では、統合計算化学システムMOEによりSN-1がN末端に存在する亜鉛フィンガー1の亜鉛および近傍のアミノ酸に結合することが示されていたが、実験的な証拠はなかった。そこでまず哺乳細胞で、TRAF6リングフィンガードメインと1番目の亜鉛フィンガーのみを持つRZ1と、RZ1の亜鉛フィンガーの亜鉛結合部位に変異を持つRZ1mの発現を試みたが、RZ1mの発現レベルが非常に低く実験には使えなかった。そこで、リングフィンガードメインと3番目の亜鉛フィンガーまでを含むRZ123とそれぞれの亜鉛フィンガーの亜鉛結合部位に変異を持つ3つの変異体を大腸菌で発現させ、精製を行った。現在、アビジンビーズに固定したビオチン化SN-1へのこれらの精製蛋白質の結合を検討している。その結果、preliminaryな結果では1番目の亜鉛フィンガーがSN-1との結合に重要であることが示されている。また、SN-1の誘導体を多数合成して、活性を調べた。結果は、MOEにより示したTRAF6とSN-1の結合様式を支持するものであった。さらにTRAF6蛋白質特異的認識部位として使用できる分子の文献調査を行い、リングフィンガーに結合する化合物を見つけた。この分子を適当な長さのリンカーを介してSN-1に導入することを決め、現在合成を検討している。以上のように特異的阻害剤開発という最終目標には達していないが、その基礎的知見は多く得られたと考えている。</p> |                                                                                                |