

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| ID No. | 2056 |
| 研究課題名 | 乳がんの発がんと悪性化に関わる遺伝子産物に対する阻害剤スクリーニング系の開発 |
| 研究代表者 | 仙波 憲太郎 (早稲田大学・教授) |
| 研究組織 受入教員 研究分担者 | 井上 純一郎 (東京大学医科学研究所・教授) 中山 淳 (早稲田大学・助手) |
| 研究報告書 | |
| <p>膜貫通型プロテアーゼTMPRSS4に対して高い特異性を示す阻害剤のスクリーニング</p> <p>昨年度に続き、膜貫通型プロテアーゼであるTTSPファミリーの阻害剤に対するスクリーニングに向けた検討を行った。当初の目的であるTMPRSS4プロテアーゼについては、基質の切断部位を含む合成ペプチドがスクリーニングに用いることができる可能性を考え、ErbB2キナーゼの切断部位を調べた。TTSPプロテアーゼは一般に蛋白質のリジンまたはアルギニン残基のカルボキシ端側で切断を行うことが知られているため、ErbB2キナーゼの膜近傍部位に存在するこれらの残基を置換した変異体を作製し、TMPRSS4との共発現により切断を起こしたところ、すべての変異体で切断が確認されたものの、605, 615番目のリジンをアラニンに置換した変異体では切断された断片の大きさが異なっていた。これは変異により本来の切断部位とは異なる個所が切断されたことを示唆している。今後はこの付近のアミノ酸配列を持つペプチドを合成し、これをTMPRSS4の基質として用いることができるかを検討したい。</p> <p>また、昨年度の共同研究でその他のTTSPプロテアーゼの受容体型チロシンキナーゼ(RTK)に対する切断活性を培養細胞の強制発現系を用いて検討した結果、TMPRSS2, Hepsinをスクリーニング対象に加えることとした。これらプロテアーゼの切断活性を測定するため、これらが切断するRTKであるAxlについて、その切断に伴うチロシンリン酸化の評価及びリン酸化特異的抗体によるその検出の可能性について検討した。マイクロプレートを用いたスクリーニングを想定し、市販のリン酸化抗体を用いた蛍光抗体法によりリン酸化Axl蛋白質の検出を試みたが、切断に依存したシグナルの増加は観察されなかった。こちらについては、抗体の品質が低い可能性も考えられるため、他の抗体の入手を試みると共に、これらプロテアーゼのもう一つの基質キナーゼとして同定しているFGF受容体について同様の検討を進めたい。</p> | |