

細胞内での標的タンパク質機能解析に適した
新たなケミカルノックダウンシステムを開発
— 迅速かつ可逆的な標的タンパク質の発現量制御が可能 —

1.背景

タンパク質は生物の生理現象を制御するために様々な機能を有しており、細胞内では多くのタンパク質の機能は複雑に絡み合っています。したがって、タンパク質の機能の解明は複雑に制御されている生理現象の理解に繋がり、疾患発症のメカニズムの解明や治療薬標的タンパク質の特定などに応用できます。標的タンパク質の機能解析を行う上で、標的タンパク質の存在量を制御することは強力な手法であります。特に、低分子薬剤を用いたケミカルノックダウンシステムは、投与した低分子薬剤依存的に標的タンパク質の存在量を減少させることが可能であり、迅速かつ可逆的なノックダウンシステムとして注目されています。

これまで、植物ホルモンであるオーキシンを用いた AID システムをはじめとする多くのケミカルノックダウン¹⁾ システムが開発・利用されてきました。しかしながら、標的タンパク質へ付加するアミノ酸配列の長さや同時に分解誘導のためのタンパク質を発現させる必要性などの改善すべき点がありました。そのため、付加するアミノ酸配列の長さ等を改善したケミカルノックダウンシステムが求められていました。

2.研究成果

愛媛大学プロテオサイエンスセンターの澤崎達也教授らの研究グループは、今回、関西医科大学、名古屋工業大学の協力を得て、サリドマイドやその誘導体 (Immunomodulatory drug/IMiD²⁾) 依存的に標的タンパク質を分解可能な S4D システムを開発しました。E3 ユビキチンリガーゼ³⁾ の構成因子のひとつであるサリドマイド結合タンパク質 CRBN⁴⁾ によって分解誘導されるタンパク質である SALL4 の結合領域のマッピングにより、標的タンパク質の分解誘導に必要な 28 アミノ酸から成る短いタグ配列を決定しました。SALL4 分解タグを様々なタンパク質へ融合させ、分解速度、可逆性、サリドマイド誘導体による分解されるタンパク質の選択性を解析しました。その結果、S4D システムは迅速かつ可逆的に細胞内における様々なタンパク質の分解が可能であり、内在性の標的タンパク質の解析に有用であることが確認されました。また、サリドマイド代謝産物である 5 位水酸化サリドマイドを用いることにより、さらに迅速かつ特異的に標的タンパク質の分解誘導をできることを明らかにしました。これらの結果から、S4D システムは標的タンパク質に短いタグ配列を付加するだけで、迅速かつ選択的に低分子薬剤依存的な標的タンパク質の分解誘導が可能であり、細胞内シグナル伝達解析などの解析に有用であることが確認さ

れました。

3. 波及効果

S4D システムは高い分解誘導能を有し、標的タンパク質分解に必要な E3 リガーゼである CRBN は様々なヒト培養細胞内に広く発現していることから、ヒト培養細胞を用いた標的のタンパク質の解析に利用しやすいケミカルロックダウンシステムであると言えます。また、用いる誘導体に依存して分解強度や選択性を調節することが可能であり、迅速かつ可逆的なタンパク質分解であるため、細胞内シグナル伝達の解析に利用可能です。実際に、論文内においては、免疫および炎症応答に極めて重要な NF- κ B シグナル伝達の解析に利用可能であることが示されました。これらの結果から、S4D システムはタンパク質機能解析に関する幅広い分野での利用が期待されます。

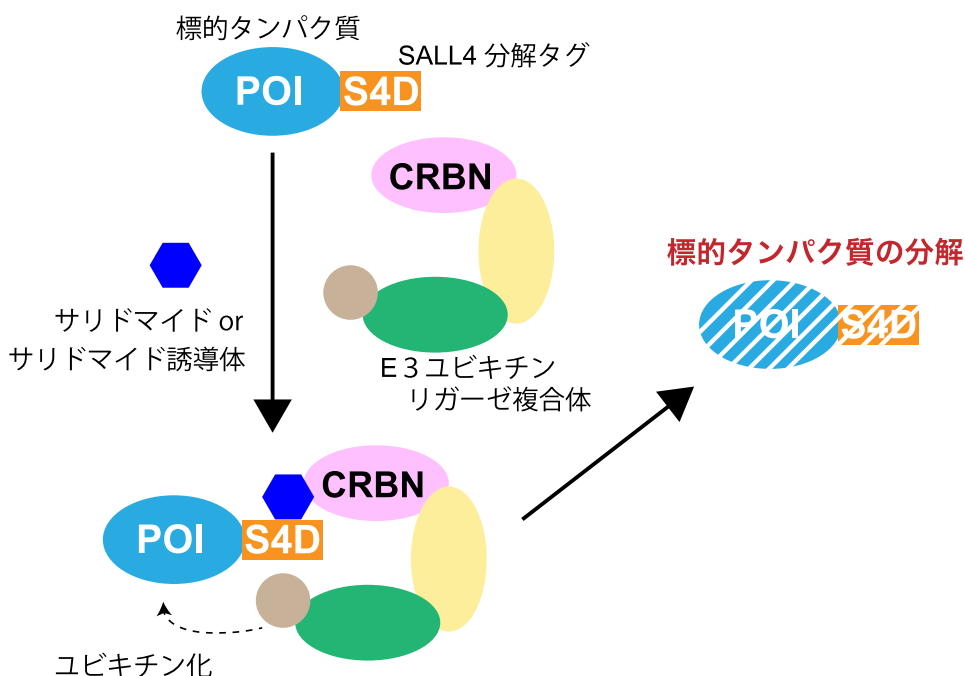


図 1.SALL4 分解タグによる IMiD 依存的な標的タンパク質の分解

4. 研究体制と支援について

本研究は、愛媛大学 プロテオサイエンスセンターを中心に、関西医科大学附属生命医学研究所、名古屋工業大学大学院工学研究科との共同研究としておこなわれました。

また、研究の実施にあたっては、日本学術振興会(JSPS) 科学研究費助成事業、新学術領域研究「数理解析に基づく生体シグナル伝達システムの統合的理解」、武田科学振興財団、日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (BINDS)「コムギ無細胞系による構造解析に適した複合体タンパク質生産・調製技術と低分子抗体作製技術の創出」の支援を受けま

した。

5.論文タイトルと著者

タイトル: An IMiD-induced SALL4 degron system for selective degradation of target proteins

(和訳) 標的タンパク質の選択的分解のための IMiD 誘導性 SALL4 デグロンシステム

著者: 山中 聡士 (愛媛大学), 庄屋 祐希 (愛媛大学), 松岡 沙耶 (愛媛大学), 福田 尚代 (関西医科大学), 柴田 哲男 (名古屋工業大学), 澤崎 達也* (愛媛大学) (*責任著者)

掲載誌: Communications Biology

Journal link: <https://www.nature.com/articles/s42003-020-01240-5>

DOI: 10.1038/s42003-020-01240-5

掲載日: 2020年9月18日(金)

本件に関する問合せ先

<研究内容に関すること>

愛媛大学プロテオサイエンスセンター
教授 澤崎 達也 (さわさき たつや)
TEL: 089-927-8530
mail: sawasaki@ehime-u.ac.jp

関西医科大学附属生命医学研究所
助教 福田 尚代 (ふくだ ひさよ)
TEL: 072-804-2624
mail: fukudahs@hirakata.kmu.ac.jp

名古屋工業大学大学院工学研究科
教授 柴田 哲男 (しばた のりお)
TEL: 052-735-7543
mail: nozshiba@nitech.ac.jp

用語説明

1) ケミカルノックダウン

低分子薬剤などの化学物質を用いて、標的タンパク質を分解誘導し存在量を減少させる手法。

2) Immunomodulatory drug/IMiD

サリドマイドやその誘導体の総称であり免疫調整薬とも呼ばれる。イカロスやアイオロスと呼ばれるタンパク質の分解を引き起こし、多発性骨髄腫などの血液がんに対する治療薬として世界中で使用されている。

3) E3 ユビキチンリガーゼ

タンパク質のユビキチン化を引き起こす酵素。細胞内でユビキチン化されたタンパク質はプロテアソームによって分解される。

4) CRBN (cereblon)

サリドマイドやその誘導体の薬剤が結合し、薬剤依存的に結合するタンパク質を分解誘導できる E3 ユビキチンリガーゼ。