

| | |
|------|-------------------|
| 研究区分 | 教員特別研究推進 独創・先進的研究 |
|------|-------------------|

| | | | | | |
|-------|---------------------------------|-------|----------------|----|-------|
| 研究テーマ | 抗がん剤耐性の獲得を防ぐ Shieldin の再構成と構造解析 | | | | |
| 研究組織 | 代表者 | 所属・職名 | 薬学部・准教授 | 氏名 | 原 幸大 |
| | 研究分担者 | 所属・職名 | 薬学部・教授 | 氏名 | 橋本 博 |
| | | 所属・職名 | 東北大学加齢医学研究所・教授 | 氏名 | 田中 耕三 |
| | | 所属・職名 | | 氏名 | |
| | 発表者 | 所属・職名 | 薬学部・准教授 | 氏名 | 原 幸大 |

| | |
|------|-------------------------------|
| 講演題目 | Shieldin サブ複合体の生産システム構築に向けた検討 |
|------|-------------------------------|

| | |
|-----------------|--|
| 研究の目的、成果及び今後の展望 | <p>本研究では、抗悪性腫瘍剤の一つであるリムパーザ（ポリ ADP リボースポリメラーゼ阻害剤）に対する耐性獲得を防ぐ Shieldin の組換えタンパク質を再構成し、X 線結晶構造解析とクライオ電顕単粒子解析を併用した次世代構造解析により、Shieldin による防御機構を原子レベルで明らかにする。細胞で DNA 一本鎖切断（SSB）が生じるとポリ ADP リボースポリメラーゼ（PARP）の働きにより塩基除去修復が促進されて傷を直す。SSB が修復されないと複製に伴い、DNA 二本鎖切断（DSB）が生じる。DSB は正常細胞では相同組換え修復（HR）により修復されるが、Breast cancer type 1/2 susceptibility protein（BRCA1/2）に変異を持ち HR が欠損した腫瘍では損傷を修復できずに細胞死を起こす。従って、PARP 阻害剤は悪性腫瘍に特異的に細胞死を誘導する分子標的治療薬となるため、本邦でも 2018 年よりリムパーザが販売されている。最近、Shieldin（SHLD1、SHLD2、SHLD3、REV7 の 4 つのサブユニットで構成されるタンパク質複合体）の変異が PARP 阻害剤に対する薬剤耐性を腫瘍に獲得させることが報告された（Gupta <i>et al.</i>, <i>Cell</i>, 2018; Noordermeer <i>et al.</i>, <i>Nature</i>, 2018）。本研究対象である Shieldin の立体構造を明らかにし、機能を欠損させる変異箇所をリスト化することが出来れば、PARP 阻害剤に対する薬剤耐性を防ぐより効果的ながん治療戦略が可能となる。</p> <p>本年度は Shieldin の構造解析に向けて、組換えタンパク質の調製に重点を置いた。Shieldin は SHLD2、SHLD3、REV7 からなるサブ複合体と、SHLD2、SHLD1 からなるサブ複合体で構成される。サブユニットの一つである REV7 は、発達障害の原因である CAMP や薬剤耐性獲得に関与する REV3、REV1 とともに複合体を形成するハブタンパク質として知られる。申請者はこれらの複合体の構造解析に成功しており、これらの系を生かして REV7-SHLD3-SHLD2 サブ複合体を大腸菌で発現させるシステムを構築した。構築した発現系を用いて、サブ複合体の調製を試みたが、SHLD2 の過剰発現がみられなかった。原因として、SHLD2 の中央領域に存在する天然変性領域が組換えタンパク質の適切なフォールディングを妨げている可能性が考えられる。SHLD2 の N 末端領域は REV7 との相互作用領域として知られており、C 末端領域は構造未知であるものの DNA 結合能を有する OB フォールドが複数タンデムに並んで存在することがアミノ酸配列から予測される。従って、SHLD2 の分子機能を保持しつつ、安定な組換えタンパク質を調製するために、構造を持たない中央領域を欠損させたインターナルトランケーション変異体を作製することで熱力学的に安定な REV7-SHLD3-SHLD2 サブ複合体の調製を試みる。また、SHLD1 を含むよりインタクティブな状態での Shieldin の再構成系の構築についても進めていく。</p> |
|-----------------|--|