

審査の結果の要旨

氏名 境 太希

タンパク質リン酸化は主に細胞内シグナル伝達において重要な役割を担う翻訳後修飾である。関連酵素であるキナーゼならびにホスファターゼは、それぞれ基質のリン酸化と脱リン酸化を触媒し、その機能や構造、局在などの特性の変化が、リン酸化シグナルの緻密な制御を可能にしている。リン酸化シグナル経路は、一つの外部刺激がキナーゼを含む種々の関連タンパク質群によって何倍にも増幅され、多種多様な生体応答を引き起こす。そのため、生体内キナーゼの下流基質タンパク質は、複数存在することが多い。現在までのリン酸化シグナル解析は、主にキナーゼやホスファターゼの遺伝子的な発現制御や選択的阻害剤を用いて行われてきた。しかしながら、前述した理由により特定のキナーゼを選択的に制御した場合においても下流の複数の基質タンパク質全てが影響を受けるために、単一のシグナル解析は困難である。境 太希は既存の手法とは異なるアプローチに基づく、キナーゼ下流基質の選択的なリン酸化を誘導する化学的手法の開発に臨んだ。

境の所属研究室では、ユビキチンリガーゼ活性を有するタンパクに対するリガンドと対象タンパク質に対するリガンドを連結させた有機分子により、生細胞中で対象タンパク質のユビキチン化とそれに続くプロテアソームによる分解を誘導することに成功している。そこで境は、類似の分子設計手法がリン酸化誘導においても適用可能なのではないかと考え、Figure 1 に示すような分子を設計した。すなわち、キナーゼリガンドとその下流基質のリガンドとを連結させた化合物をリン酸化誘導活性を示しうる機能性分子として設計した。

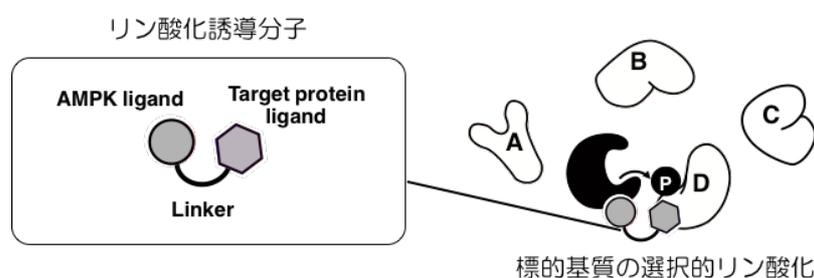


Figure 1. 選択的リン酸化誘導のコンセプト

今回対象とするキナーゼとしては、細胞内において主にエネルギー代謝経路にて機能するAMP 依存性プロテインキナーゼ (AMPK) に着目した。標的基質タンパク質としては、AMPK 下流基質として報告されているHMG-CoA 還元酵素 (HMGR)、acetyl-CoA カルボキシラーゼ (ACC) を選択し、リン酸化誘導分子の設計、有機合成を行った (Figure 2)。

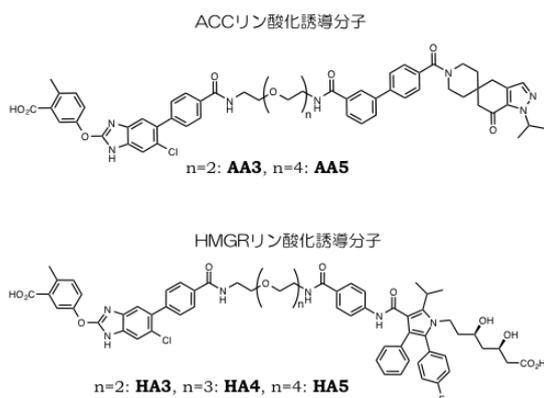


Figure 2. 標的基質選択的リン酸化誘導分子

合成したリガンド連結分子は各対象タンパク質に対し、親和性を示す事を実験的に明らかとした。精製タンパク質を用いて合成した分子のリン酸化誘導活性を評価したところ、リガンド連結分子は、標的とするタンパク質に対し効率的にかつ選択的にリン酸化を誘導することを明らかにした。さらに、高次評価系として HEK293 細胞破碎液中におけるリン酸化誘導活性を評価したところ、リガンド連結分子は数ある AMPK 下流基質の中でも、標的とする基質タンパク質選択的なリン酸化誘導活性を示した。

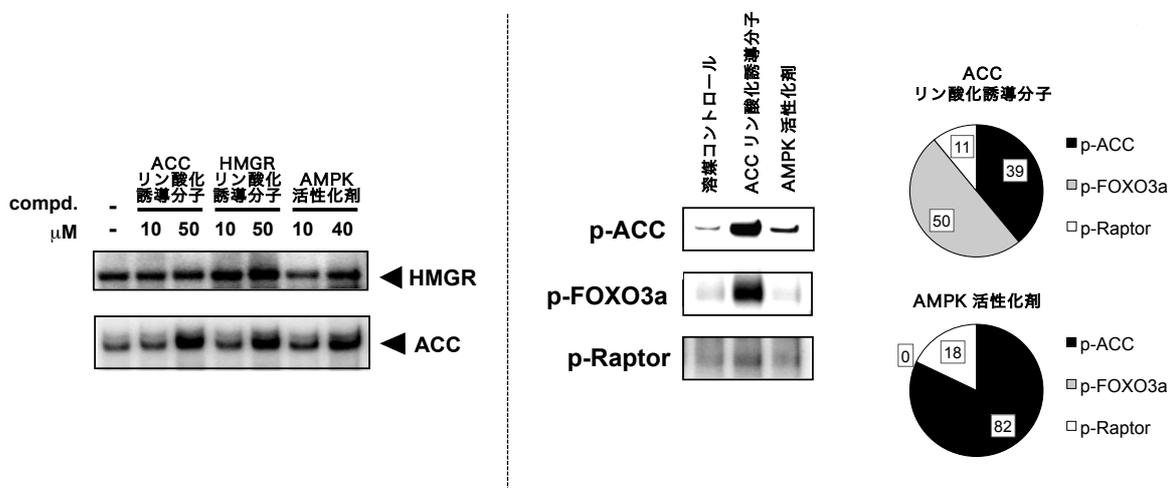


Figure 3. 精製タンパク質系 (左) と細胞破碎液系 (右) におけるリン酸化誘導選択性評価

以上、境はキナーゼと対象基質との近接を促すことにより選択的なリン酸化が誘導されるという仮説を、対象タンパク質リガンド連結分子を合成しその活性を評価することで実験的に証明した。本手法は、キナーゼの基質選択性を変動する手段として有用であると考えられ、キナーゼシグナルを解析する上で分子ツールとしての応用や医薬としての応用も期待されるものである。

よって本論文は博士 (薬科学) の学位請求論文として合格と認められる。