

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 横田 格 殿

## 助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 :	650 千円
研究代表者 : 伊野部 智由	所属 : 学術研究部工学系	職位 : 准教授
研究題目 : 蛋白質分解制御を可能にする次世代バイオ医薬の開発		

## 研究概要

多くの疾患の発症には、特定蛋白質の分解異常が関わっている。この特定蛋白質の分解を人工的に制御することができれば、新しい治療法の開発につながるはずである。我々は、細胞内の蛋白質分解を担うユビキチン-プロテアソーム分解系において、効率的な分解には、標的蛋白質のポリユビキチン化だけでは不十分で、標的蛋白質自身にフラフラとした Unstructured 領域が必要であることを明らかにした。このことは Unstructured 領域のプロテアソームへのアクセスを制御すれば、分解を制御できることを示している。そこで我々は有機化学的手法や小型抗体などを利用して、生体内においても、特定の標的蛋白質の特異的分解制御（分解誘導と分解抑制）を可能とする技術の開発を行った。さらにこの技術を応用することで、細胞内蛋白質分解異常に起因するガンや神経変性疾患の病因蛋白質の分解制御を行い、新規治療法の開発を進めている。

## 成果要約

Unstructured 領域に注目した以下の分解制御方法の開発を行った。

まず Unstructured 領域結合抗体による新規分解抑制方法の開発を行った。既に確立している細胞内でも働くことができる小型抗体を用いることにより、その抗体の抗原配列を Unstructured 領域にもつモデル蛋白質のプロテアソームによる分解を、*in vitro* 及び *in vivo* で阻害できることを確かめた。そこで前立腺ガンで分解が亢進する NKX3.1 を対象に、その C 末端の分解誘導性 Unstructured 領域に対する小型抗体を、無細胞ディスプレイ技術を用いて還元的環境で取得した。取得した抗体は確かに C 末端分解誘導配列に結合することができた。さらに取得した抗体は、その結合能に応じて、PC3 前立腺ガン細胞中の NKX3.1 の分解を抑えることを明らかにした。

次に分解誘導性 Unstructured ペプチドの標的蛋白質への選択的ケミカルラベリングにより、分解を誘導できるか検証を行った。まずは分解誘導性 Unstructured 領域をもつユビキチンによるポリユビキチン化が、基質蛋白質の分解を促進することを確認した (Inobe *et al.* BBRC, 2018)。次に分解誘導性ペプチドを直接標的蛋白質に取り付けるために、Spy-tag/Spy-catcher システムを用いることにした。このシステムを用いて、細胞夾雑環境でもモデル蛋白質 (Spy-catcher) に、Spy-tag を融合した分解誘導性ペプチドを付加できるようになった。さらにこの分解誘導性ペプチドが付加された Spy-catcher は、プロテアソームにより分解されることを確認している。

以上で開発した蛋白質分解制御方法を利用することにより、将来的には蛋白質分解異常が原因となる病気の治療が可能になると見込まれる。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p><b>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</b></p> <p><b>【論文】</b>  <u>伊野部 智由</u>  Unstructured 領域から始まるプロテアソームによる蛋白質分解  日本応用酵素協会誌 (2019) 54: 19-24.</p> <p><b>【学会発表】</b>  山本 啓暉, <u>伊野部 智由</u>  GFP を用いた 26S プロテアソームのハイスループットアッセイシステムの開発  第 19 回日本蛋白質科学会年会 (神戸国際会議場, 2019 年 6 月 24~26 日)</p> <p>大沼 幸平, <u>伊野部 智由</u>  プロテアソームの分解は基質タンパク質の電荷の違いに依存する  第 19 回日本蛋白質科学会年会 (神戸国際会議場, 2019 年 6 月 24~26 日)</p>		
<p>経費の 執行状況</p>	<p style="text-align: center;">区 分</p> <p><b>【物品費】</b>  消耗品費(試薬、プラスチック器具等)</p> <p><b>【旅費】</b></p> <p><b>【謝金】</b></p> <p><b>【その他】</b></p> <p style="text-align: center;">合計</p>	<p style="text-align: center;">執行額 (円)</p> <p style="text-align: center;">650,000 円</p> <p style="text-align: center;">650,000 円</p>	<p style="text-align: center;">備 考</p>