

中分子の特徴を活かす新規創薬プラットフォーム技術

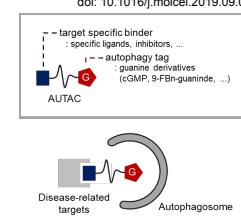
東北大学大学院生命科学研究科

有本博一、高橋大輝



AUTAC (AUTophagy-TArgeting Chimera)

Takahashi et al., Molecular Cell, 2019, doi: 10.1016/j.molcel.2019.09.009.

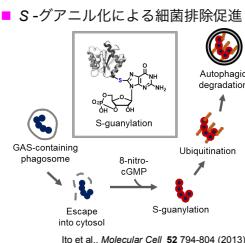


背景

PROTAC vs AUTAC

Mechanism	Tag	Ub-code	Targets	Research Grps.
Thalidomide etc.	Autophagy		Guanylation & its mimics	
K48-linked chain			K63-linked chain?	
Soluble proteins			Proteins, Organelles, Pathogens	Crews (USA) Bradner (Novartis) Naito (NIHS, Japan) Arimoto grp. (Tohoku Univ.)

Proteasome
Aggregation-prone proteins
Organelles
Pathogens

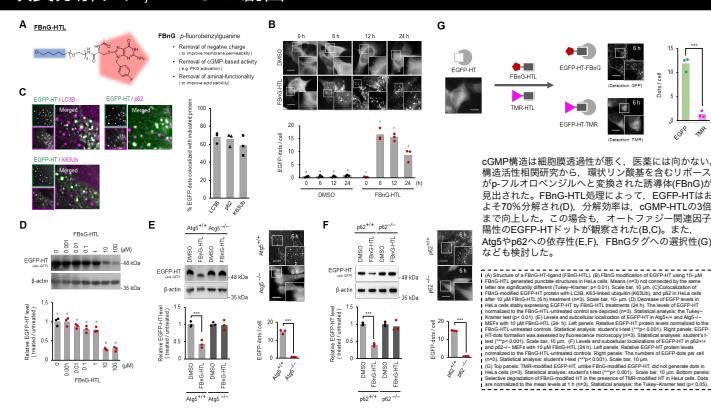


謝辞

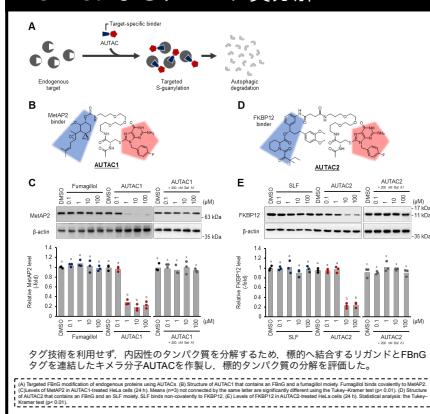
[共同研究]

- 東北大学大学院医学系研究科 赤池 孝志 教授
- 東京大学大学院医学系研究科 水島 昇 教授
- 宮城大学 医学医療系 柳川 徹 教授
- 東京都医学総合研究所 松田 勲之 博士
- 東北大大学大学院生命科学研究科 東谷 駿志 教授
- 佐々木 誠 教授
- MEXT-JSPS 科研費 (JP15H01716, JP16H02289, JP17K19190, JP19H04604, JP18H04377, JP25282236, JP26102706)
- AMED (JP18a0101048, JP18am0101100)
- 内藤記念科学振興財団
- 上原記念生命科学財団

改良分解タグ; FBnG の創出



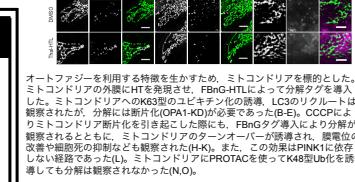
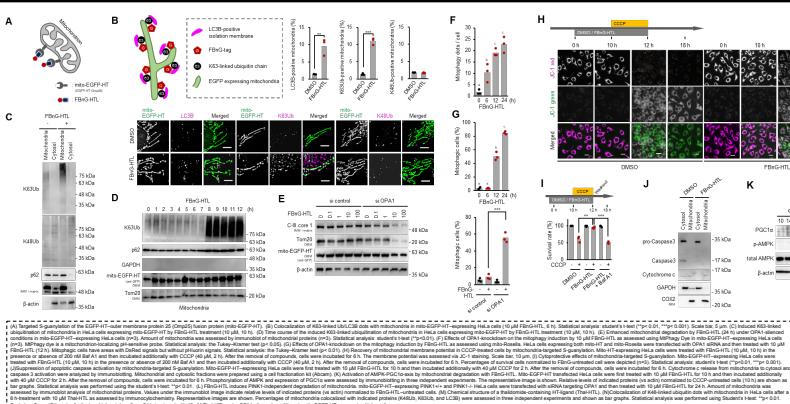
AUTACによるタンパク質分解



タグ技術を利用せず、内因性のタンパク質を分解するため、標的へ結合するリガンドとFBnG タグを連結したキメラ分子AUTACを作製し、標的タンパク質の分解を評価した。

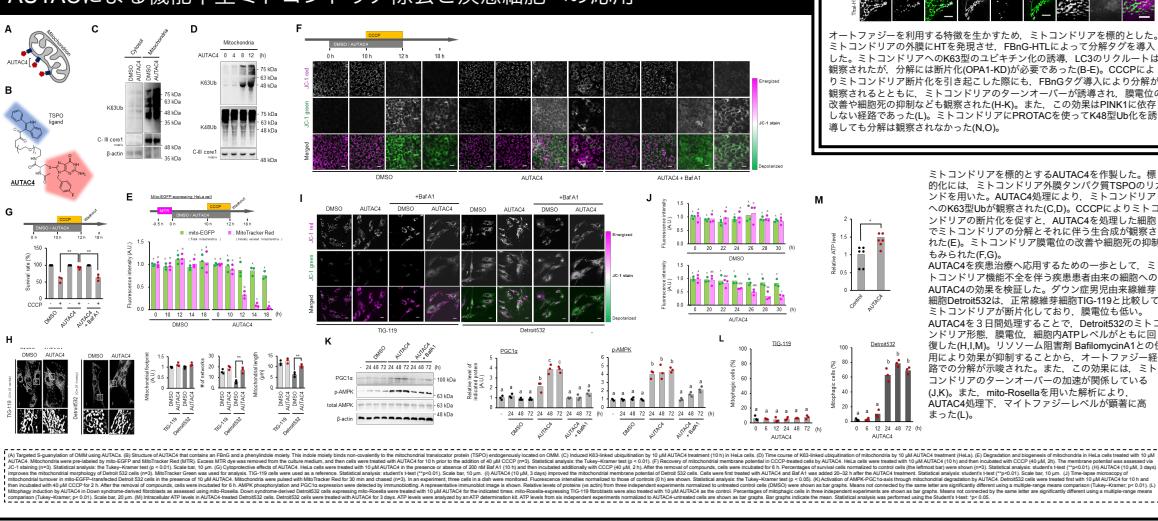
(A) Levels of mAPOL1 signal (FBnG-HT) after modification of mAPOL1 by FBnG-HT (24 h) were significantly different (Tukey-Kramer test ($p < 0.05$)). Scale bar, 10 μ m. (B) Scale bar, 10 μ m. (C) Scale bar, 10 μ m. (D) Scale bar, 10 μ m. (E) Scale bar, 10 μ m. (F) Scale bar, 10 μ m. (G) Scale bar, 10 μ m. (H) Scale bar, 10 μ m. (I) Scale bar, 10 μ m. (J) Scale bar, 10 μ m. (K) Scale bar, 10 μ m. (L) Scale bar, 10 μ m. (M) Scale bar, 10 μ m. (N) Scale bar, 10 μ m. (O) Scale bar, 10 μ m.

ミトコンドリアへのFBnGタグ導入によるマイトファジーの誘導



オートマティズムを利用して各種酵素を生産するため、ミトコンドリアを標的としたミトコンドリアの外側にHTLを用意させ、FBnG-HTLによって部分分解を入れた。ミトコンドリアのK32蛋白のユビキチン化の誘導、LC3Dのリクートは観察されたが、分解は断片化を引き起こした際にも、FBnGタグ導入により分解が観察されるとともに、ミトコンドリアのターンオーバーが誘導され、膜位の変換が見られた。また、この効果はPINK1によってミトコンドリアに存在しない経路で実現された(L)。ミトコンドリアにPROTACを使ってK48連結で誘導しても分子は解剖されなかつた(N)。

AUTACによる機能不全ミトコンドリア除去と疾患細胞への応用



オートマティズムを利用して各種酵素を生産するため、ミトコンドリアの外側にHTLを用意させ、FBnG-HTLによって部分分解を入れた。ミトコンドリアのK32蛋白のユビキチン化の誘導、LC3Dのリクートは観察されたが、分解は断片化を引き起こした際にも、FBnGタグ導入により分解が観察されるとともに、ミトコンドリアのターンオーバーが誘導され、膜位の変換が見られた。また、この効果はPINK1によってミトコンドリアに存在しない経路で実現された(L)。ミトコンドリアにPROTACを使ってK48連結で誘導しても分子は解剖されなかつた(N)。

オートマティズムを利⽤するため、ミトコンドリアを標的としたミトコンドリアの外側にHTLを用意させ、FBnG-HTLによって部分分解を入れた。ミトコンドリアのK32蛋白のユビキチン化の誘導、LC3Dのリクートは観察されたが、分解は断片化を引き起こした際にも、FBnGタグ導入により分解が観察されるとともに、ミトコンドリアのターンオーバーが誘導され、膜位の変換が見られた。また、この効果はPINK1によってミトコンドリアに存在しない経路で実現された(L)。

AUTACを疾患治療へ応用するための一歩として、ミトコンドリア機能不全を伴う疾患患者由来の細胞へのAUTACの効果を検討した。ダウノン男童由来未分化芽細胞(Detritos2)細胞を用いて、ミトコンドリア機能不全を示す細胞へFBnG-HTLを導入してミトコンドリアの断片化をして、興奮位をもつて、ミトコンドリアATPレベルとともに回復した(H)。リソソーム酵素剤 Bafomyycin1との併用によって細胞内ATPレベルが回復することから、ミトコンドリアのターンオーバーが活性化していることである。この効果には、ミトコンドリアのターンオーバーの加速が関係している(J,K)。また、mito-Rosellaを用いた解析により、AUTAC処理下、ミトコンドリアレベルが著しく高まっていた(L)。