

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 14 日

2020 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	RNA 脱メチル化酵素を阻害する化合物の作用機序の解明		
研究代表者	氏名	藤原 芳江	
	所属機関名・部局名	京都大学・高等研究院物質－細胞統合システム拠点	
	職名	研究員	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	鈴木 守 准教授		
<p>私たちの体内には複雑な神経回路が張りめぐらされており、学習・認知・記憶・感覚など日々の生活で受ける様々な刺激に応答している。神経細胞は長い突起を有するという特有の形態ゆえに、伝達されてくる刺激に素早く対応する機構として核からの蛋白質供給を待たずに、シナプスにて局所翻訳が起こる。シナプス可塑性はこれを背景として、刺激に応答してシナプス構造や伝達強度が柔軟に変化することである。近年になって RNA の化学修飾が可逆的に制御されることが発見されて以来、RNA エピランスクリプトームと細胞機能の関係が注目され、細胞内 mRNA の転写後制御機構の解析が進んでいる。</p> <p>本課題では mRNA に最も多く含まれている可逆的修飾 N6-メチルアデノシン (m6A) に着目した。この脱メチル化酵素は FTO と ALKBH5 の 2 種類が存在し、どちらも同じファミリーに属する。そのため、これら酵素の阻害剤を細胞内 m6A の機能解明に利用する場合、それぞれへの特異性が重要である。阻害化合物の取得のため、探索の段階で選択した化合物との結晶構造解析から、結合様式の解明あるいは fine-tuning の手がかりを得ることを目的として、代表者の研究室には結晶作成の段階から必要な資材と設備が揃っておらず、鉄道で行き来できる距離であることから、共同研究員として蛋白質研究所で実験を実施することを計画した。</p> <p>新型コロナウイルスの流行により行き来は難しくなったため、最低限の試薬と器具の提供を受けて、研究を進めた。FTO と ALKBH5 の結晶構造はヒト由来蛋白質で報告されている。本課題では脳神経細胞の研究でげっ歯類を用いることから、マウス由来蛋白質を使用しており、まずマウス由来蛋白質での結晶の再現性を確認した。FTO、ALKBH5 いずれもアミノ酸配列相同性から論文に相当する領域をクローニングして精製した。FTO($\Delta 31$)は市販されている既報の阻害剤 meclofenamic acid を用いて、報告されている条件の周辺を検査し、論文通りハンギングドロップ法にて微結晶ができることを確認できた。ALKBH5 は、結晶の再現に至っていない。</p> <p>一方、阻害剤候補化合物については、スクリーニングをしているが、どちらかの酵素に高い特異性をしめすものはまだ得られていない。そこで両者を阻害するものの中からいくつかを選択して、結晶化を試みることにしたが、結晶は得られていない。今後、広範な条件でのスクリーニングが求められる。また、ヒト由来蛋白質を使うことも検討事項に含まれる。</p>			