

(様式 1-1)

提出日：2024 年 4 月 22 日

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：岩崎憲治

所属機関名・部局名・職名：筑波大生存・ダイナミクス研究センター・教授・学長補佐

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

滑膜肉腫関連タンパク質の構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入洋平 (研究室名：高磁場 NMR 分光学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

滑膜肉腫発生のドライバーは染色体転座によって生じた融合タンパク質 SS18-SSX であることは、確実だと考えられる。3 種類存在するクロマチンリモデリング複合体 BAF 中のカノニカルなクロマチンリモデリング複合体 (cBAF) の正規なサブユニットである野生型 SS18 は、SS18-SSX に代わりに乗っ取られる。治療としてはこの異常 BAF 複合体がターゲットと考えられるが、そうではなく、ノンカノニカルな BAF (ncBAF) の構成成分である BRD9 というサブユニットの分解が滑膜肉腫の抑制につながるという報告がある。実際 FDA にもそのような機能をもった候補薬が 2 種類ほど第 I 相試験状態であることが記載されている。しかし、BRD9 において構造が明確なのはプロモドメインと呼ばれるアセチル化リジン認識ドメインのみである。このプロモドメインは BET など多くのタンパク質に共通して存在するドメインであり、従って BRD9 特異的なターゲティングは現行の情報だけから作製は難しいはずである。よって、BRD9 に対して特異性高く結合する化合物の開発のために、BRD9 特異的な配列をもつフラグメントベースでの構造解析と、それらに結合する ^{19}F -化合物のスクリーニングを宮ノ入博士と共同で行っている。

昨年度は、Fragment3 と我々が名付けた領域に対して、 ^{19}F 化合物を用いた溶液 NMR によるスクリーニングでヒットした化合物の結合領域を探るために、Fragment3 の構造解析を進めた。本年度は、Fragment3 の精製プロトコルの改良に成功し、昨年度よりも大幅に精製度の高い標品が、十分な量得られた。しかしながら、Tris-Tricine SDS-PAGE による CBB 染色において未だ二量体と推定されるバンドも検出されており、NMR 測定では懸念点となっていた。 ^{15}N ラベルした Fragment3 を筑波大で作製し、阪大蛋白研の高磁場 NMR 装置で ^1H - ^{15}N HSQC を測定した結果、観測されたアミドシグナルは Fragment3 の理論数程度であり、鋭いスペクトルであった。加えて現時点では、天然存在比 ^{13}C を用いた ^1H - ^{13}C HSQC 測定や三重共鳴測定を実施しており、完全なアミノ酸残基の帰属はできていないものの、大まかな連鎖帰属を確認している。これら一連の測定結果から、観察されているピークに Fragment 3 以外のものは含まれてはいないのではないかということや、 ^1H - ^{15}N HSQC において大部分の ^1H ケミカルシフトが 8.5 付近に集中していることから、Fragment3 が IDR であることが示唆された。また、同試料をもちいて蛋白質研究所の CD で円偏光二色性スペクトルの温度変化を測定したところ、僅かだが、二次構造の存在が示唆された。