

講演番号：3A15a15

講演日時：3月17日 11:54～ 共通講義棟北 A15 会場

ゲノムワイド shRNA ライブラリースクリーニングによるアポトーシス誘導物質 JBIR-140 の標的経路の解析

Target pathway analysis of an apoptosis inducer JBIR-140 using genome-wide shRNA library screening

○高瀬 翔平^{1,2}、近藤 恭光^{3,4}、鈴木 健裕⁵、堂前 直⁵、新家 一男⁶、長田 裕之^{3,4}、久城 哲夫²、松本 健^{1,7,8}、吉田 稔^{1,7,8} (1理研 CSRS・ケミカルゲノミクス、2明治大院・農、3理研 CSRS・ケミカルバイオロジー、4理研 CSRS・創薬ケミカルバンク、5理研 CSRS・生命分子解析、6産総研・創薬基盤、7理研・化学遺伝学、8理研 CSRS・創薬シード)

○Shohei Takase^{1,2}, Yasumitsu Kondoh^{3,4}, Takehiro Suzuki⁵, Naoshi Dohmae⁵, Kazuo Shin-ya⁶, Hiroyuki Osada^{3,4}, Tetsuo Kushiro², Ken Matsumoto^{1,7,8}, Minoru Yoshida^{1,7,8} (1Chem. Genomics Res. Gr., RIKEN CSRS, 2Grad. Sch. of Agri., Meiji Univ., 3Chem. Biol. Res. Gr., RIKEN CSRS, 4Chem. Bank Unit Drug Discov., RIKEN CSRS, 5Biomol. Charact. Unit., RIKEN CSRS, 6Biotech. Res. Inst. Drug Discov., AIST, 7Chem. Genet. Lab., RIKEN, 8Seed Cpds Explor. Unit Drug Discov., RIKEN CSRS)

植物、微生物が生産する天然有機化合物にはユニークな構造を持ち、特徴的で強力な生理活性を有するものが多い。そのような生理活性物質の標的を同定することによって、これらの化合物をバイオブローブとして活用でき、基礎研究の発展に貢献する上で重要である。そこで本研究は、プール型 shRNA ライブラリーと次世代シーケンサーを駆使してゲノムワイドな RNAi スクリーニングを行い、生理活性物質による細胞増殖抑制に関わる遺伝子を特定することを目的とした。このバイアスのない網羅的解析技術は、生理活性物質の作用機構解析に対して強力な手法の1つであり、新規の生物学的知見を得られる可能性がある。

本研究で解析した JBIR-140 は放線菌 *Streptomyces olivoviridis* より単離された Thioviridamide の構造類似体である。Thioviridamide は、ラット線維芽細胞 3Y1 にアデノウイルス E1A を発現させた細胞において顕著に細胞増殖阻害を引き起こすチオアミド結合を複数有したペプチドで、その増殖阻害活性はアポトーシスによるものであることがわかっている。また、幾つかのヒト腫瘍細胞において JBIR-140 が Thioviridamide よりも強力な増殖阻害活性を有することが示されている。しかし、JBIR-140 の作用機序は未だ解明されていない。そこで、本研究ではまず JBIR-140 の細胞増殖抑制に関わる遺伝子を同定するため、ヒト HeLa S3 細胞での shRNA ライブラリースクリーニングを行った。その結果、ミトコンドリアタンパク質や翻訳関連因子の遺伝子をノックダウンしたとき、見かけ上細胞の JBIR-140 感受性が低くなることが明らかとなり、これらが標的経路に関わると示唆された。また、トランスクリプトームやメタボローム解析、化合物ビーズを用いた結合タンパク質の同定等の手法を組み合わせ、JBIR-140 の標的を探索した。結果として JBIR-140 はミトコンドリア呼吸鎖 complex V を阻害することで統合ストレス応答の1つである GCN2 のリン酸化を介した ATF4 の発現上昇を引き起こすことが明らかとなり、E1A の発現がこの作用機構に何らかの影響を与えていることが示唆された。また、JBIR-140 処理によりミトコンドリア形態の変化も観察された。以上のことより、JBIR-140 はミトコンドリアに作用することによって細胞死を誘導していることが示唆された。

shRNA library screening, target identification