HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	新規EZH2アロステリック活性化剤の創製とその機能解析［全文の要約］
Author(s)	戸子臺, 泰光
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第15317号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89753
Type	doctoral thesis
File Information	Yasuaki_Tokodai_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）　氏　名　　戸子臺　泰光

学 位 論 文 題 名

新規 EZH2 アロステリック活性化剤の創製とその機能解析

ポリコーム群抑制複合体 2 (PRC2) は、EZH2、EED および SUZ12 を含む 4 つのコアサブユニットからなるヒストン修飾酵素複合体であり、ヒストン H3 の 27 番目のリシン (H3K27) のメチル化を担う。トリメチル化された H3K27 (H3K27me3) は遺伝子発現を負に制御する。特定の種のがん細胞においてはしばしば H3K27me3 量が減少していることが知られているが、H3K27 メチル化量の減少と腫瘍形成の関係については未解明の点が多い。そのため、EZH2 活性化剤は、EZH2 が関与する腫瘍形成機構において新規知見を与えるツール分子として有用であると共に、新たな作用機序を有する抗がん剤候補化合物としても有望である。そこで筆者は、内在性タンパク質由来のアミノ酸配列を有する EZH2 アロステリック活性化剤である H3K27me3 ペプチドをリード化合物とし、より強力な EZH2 活性化能を有するペプチドリガンドを取得すべく研究を実施した。

第一章では、まず鎖状 H3K27me3 ペプチドを基に各種短縮型ペプチドの設計・合成を行った。合成したペプチドの EZH2 活性化能を評価することで、H3K27me3 ペプチドが有する各アミノ酸残基の活性への寄与について精査したところ、12 残基のペプチドから 8 残基への短縮が可能であることを見出した。続いて、得られた各残基の活性への寄与に関する情報をもとに、EZH2 活性化能の改善を狙い、環状ペプチドへの変換を試みた。その結果、元の H3K27me3 ペプチドと比較してより低濃度においても強力な活性を示す 8 残基の環状ペプチドを見出した。この環状ペプチドについて構造活性相関研究を実施することで、より優れた EZH2 活性化能を有するペプチドリガンドを創出することができた。

第二章では、見出した環状ペプチドリガンドの機能解析を実施した。具体的には、各活性化剤添加時の EZH2 によるヒストンメチル化反応における速度論的解析と、反応後の基質のメチル化レベルの精査の 2 点をそれぞれ実施した。その結果、これらの環状ペプチドはリード化合物である H3K27me3 ペプチドと同様にヒストンメチル化の反応速度を向上させるとともに、共通のアロステリック機構により EZH2 を活性化することが示唆された。また、環状ペプチドリガンドと PRC2 との相互作用様式について分子動力学法を用いたシミュレーションにより解析を試みた。その結果、リガンドが有する塩基性アミノ酸残基と標的タンパク質が有する酸性アミノ酸残基の間における塩橋形成が活性に大きく寄与していること

が示唆された。本研究の結果は、新規 EZH2 活性化剤の設計において分子動力学法による相互作用の解析が有力な手段となりうることを示唆するものである。

本研究で創出した環状ペプチドリガンドは EZH2 に関する研究におけるケミカルツールとして有用であるとともに、新規 EZH2 活性化剤の設計における新たな洞察を与えるうるものである。