



## ユビキチンリガーゼ CRL<sup>Skp2</sup> を利用したハンチントン病原因タンパク質分解誘導薬の開発

### Discovery of chimeric molecules that degrade Huntington's disease-causing proteins using the ubiquitin ligase CRL<sup>Skp2</sup>

川崎湧至<sup>1</sup>、杉山実紅<sup>1</sup>、佐藤伸一<sup>1,2</sup>、石川稔<sup>1</sup>、友重秀介<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> 東北大院生命科学、<sup>2</sup> 東北大学際研 )

近年新たな創薬技術として、細胞内の標的タンパク質を特異的に分解する分子、Proteolysis-targeting chimeras (PROTAC) が注目を集めている。PROTAC は標的タンパク質のリガンドとユビキチンリガーゼ (E3) のリガンドをリンカーで連結したキメラ分子であり、標的タンパク質と E3 を接近させ、ユビキチン化とプロテアソームによる分解を誘導する (図 1)。PROTAC の現在の課題として、600 種類以上ある E3 のうち、未だ 1% 程度しか本手法に利用されていないことが挙げられる。また、現在までに開発された PROTAC が主に利用する E3 リガンドは、がん化や催奇形性の問題が危惧される。そこで、PROTAC に利用できる新たな E3 として、CRL<sup>Skp2</sup> に着目した。E3 の一つである CRL<sup>Skp2</sup> はがん細胞に過剰発現しており、がん抑制因子の分解を誘導する。抗がん剤候補として見出された CRL<sup>Skp2</sup> 阻害剤 C1 は、CRL<sup>Skp2</sup> の基質認識部位 (Skp2) に結合することで基質の分解を競合的に阻害すると考えられている。したがって、C1 を E3 リガンドとして利用する PROTAC は、がん化などのおそれがなく、より安全な手法として期待できる。このような背景を踏まえ、本研究では、CRL<sup>Skp2</sup> を利用した PROTAC (Skp2 型 PROTAC) の開発を目指した。Skp2 型 PROTAC の標的タンパク質は、難病であるハンチントン病の原因となる凝集性タンパク質 mutant huntingtin (mHtt) に設定した。まず、Skp2 型 PROTAC として、Skp2 リガンド (C1) と、タンパク質凝集体プローブ (BTA) を連結した化合物 **1a-c** を設計、合成した (図 2)。次に、HeLa 細胞に EGFP 融合 mHtt (mHtt-EGFP) と monomeric Red Fluorescent Protein (mRFP) を一過性発現させ、ここに合成した PROTAC を処理した。細胞溶解後、mRFP の蛍光強度を基準とした mHtt-EGFP の蛍光強度比を定量し、その変化を指標に活性評価を行った。化合物 **1b, c** の活性評価の結果、**1b** において 10–300 nM の濃度で mHtt-EGFP/mRFP の値が有意に減少し、mHtt の分解誘導が示された。

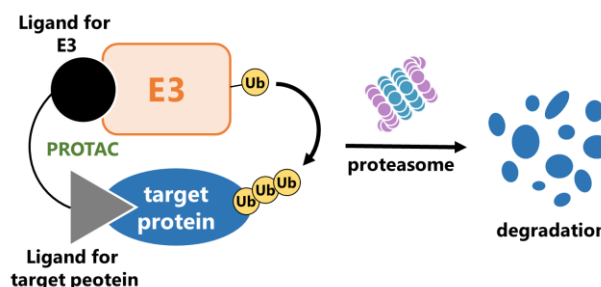


図 1. PROTAC の作用メカニズム。

タンパク質凝集体プローブ (BTA) と CRL<sup>Skp2</sup> リガンド C1 を連結した化合物 **1a-c** の構造を示す。BTA は、芳香族アミンとピリジン環を有する構造を持つ。C1 は、ピリジン環とチオフェン環を有する構造を持つ。化合物 **1a** (n=2)、**1b** (n=3)、**1c** (n=4) は、BTA と C1 をリンカーで連結した構造を持つ。

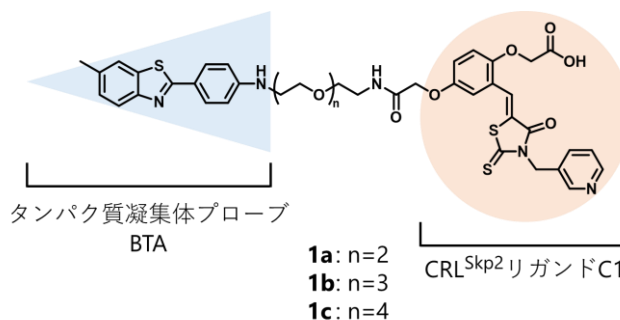


図 2. Skp2 型 PROTAC の構造。

#### <参考文献>

1) Wu, Lily. *et al.*, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 1515–1524.

#### 発表者紹介

氏名 川崎湧至 (かわさきゆうし)  
 所属 東北大学大学院生命科学研究所  
 学年 修士 1 年  
 研究室 活性分子動態分野

