

論文名：Development of Stimuli-responsive Anti-cancer Drug with Cell Penetrating Activity Using Ion-responsive DNA Aptamer (IRDAptamer) (要約)

新潟大学大学院自然科学研究科

氏名 金子 敦巳

Ser/Thr ホスファターゼ PPM1D は、がん抑制 p53 経路を負に制御するホスファターゼ(脱リン酸化酵素)であり、その過剰発現はがんの原因となることが知られている。一方、正常細胞において精子形成や免疫応答に関与していることが報告されている。そのため、PPM1D 特異的阻害剤は治療効果を示すのみならず深刻な副作用を示す可能性が示唆されている。そのため刺激応答性阻害剤は、PPM1D の時空間的制御を行うための機能性分子として適しているといえる。第 1 章では、Ser/Thr ホスファターゼ特に PPM1D に関する一般的事項を示した。第 2 章では、イオン応答性 G-quadruplex DNA を母体としてデザインしたイオン応答性 DNA アプタマー(IRDAptamer) ライブラリを用いた PPM1D 特異的イオン応答性アプタマーの探索を実施し、イオン応答による構造のスイッチング制御と、乳がん細胞に対する抗がん活性を示す PPM1D 特異的阻害剤 M1D-Q5F の研究結果に関して記述した。第 3 章では、PPM1D 特異的 DNA アプタマー M1D-Q5F の構造活性相関を行い、さらに強力な PPM1D 阻害剤 M1D-Q5M を同定するとともに、細胞内における機能を検証する過程において、予期せず MCF7 細胞に対して細胞膜透過性を M1D-Q5M が持つことを見出した結果に関して記述した。この結果から、IRDAptamer ライブラリはイオン応答性、細胞膜透過性を持つ新たな医薬品開発に応用できる可能性が示唆された。第 4 章では FCP/SCP ファミリーの Ser/Thr phosphatase Scp1 に対する新規基質・阻害剤同定法の開発を行った研究に関して記述した。Scp1 の欠損はがんや神経疾患など様々な疾患に関連していることが知られている。近年、当研究室では Scp1 の基質を同定する目的で  $\text{AlF}_4^-$ を用いたリン酸化ミミックファージディスプレイ法(PMPD 法)を開発している。そこで、今回新たに  $\text{BeF}_3^-$ を用いたリン酸化ミミックファージディスプレイを実施し、 $\text{BeF}_3^-$ 依存的 Scp1 結合ペプチドとして同定した BeM12-1 が Scp1 の活性中心に結合する Scp1 特異的阻害剤として働くことが明らかとなった。本研究により、PMPD 法は FCP/SCP ファミリーホスファターゼの基質・阻害剤探索に応用可能であることが示された。

結論として、独自にデザインしたイオン応答性 DNA アプタマー(IRDAptamer) library およびリン酸化ミミックファージディスプレイ法(PMPD 法) は標的タンパク質に対する新規基質・阻害剤を探索する強力なツールとして応用可能であることが示唆された。特に IRDAptamer library は、細胞内タンパク質を含む任意の標的タンパク質に対し細胞膜透過性を有する刺激応答性阻害剤、機能制御分子の開発に応用可能であると考えられる。