構造解析ユニット

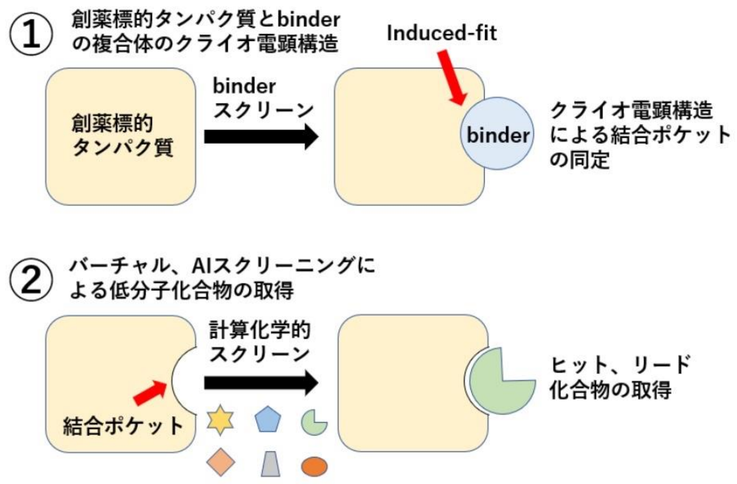
補助事業代表者（所属・職名）
濡木　理（東京大学理学系研究科・教授）

FTP

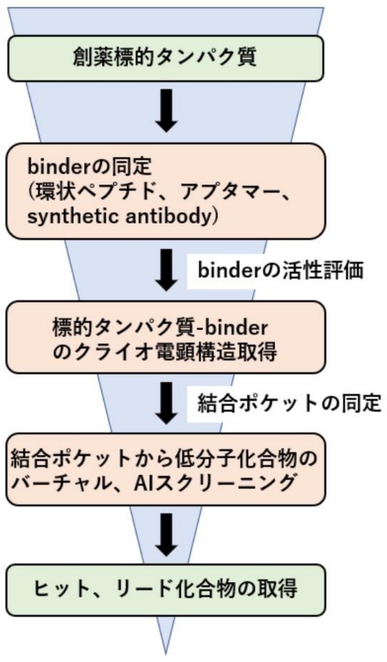
高難度膜タンパク質等の調製と構造解析可能なグリッド調製の支援

補助事業分担者（所属・職名）
大上　雅史（東京科学大学情報理工学院・准教授）、木瀬　孔明（東京大学理学系研究科・特任准教授）

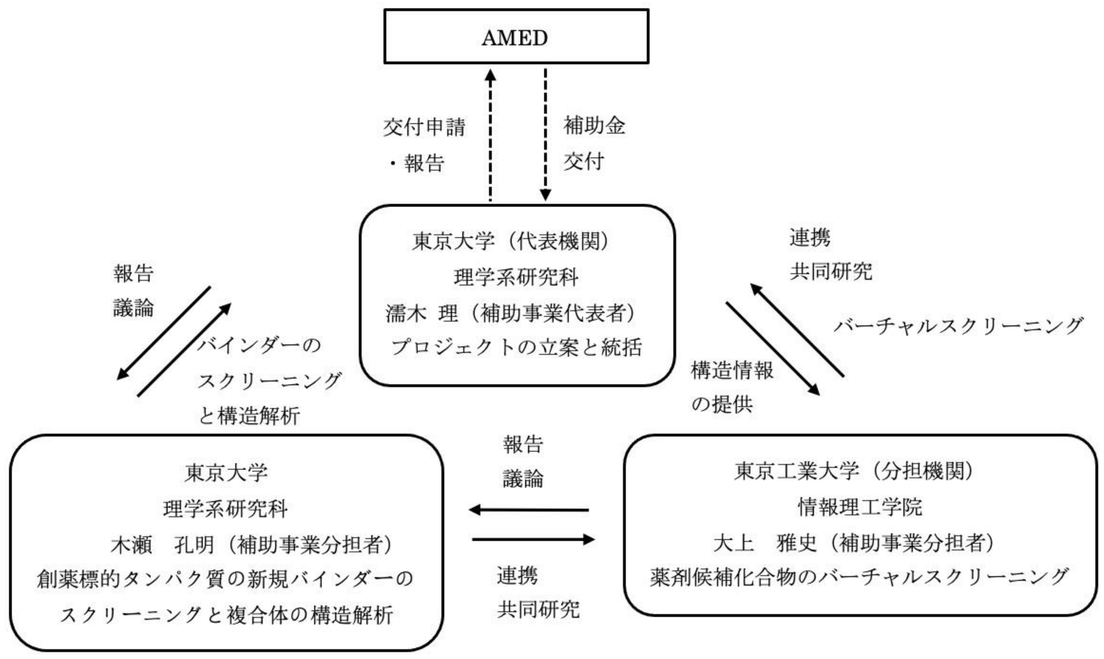
Fast Track Project　背景・目的



1-1. 創薬標的タンパク質のbinderの同定と活性評価
1-2. クライオ電子顕微鏡による創薬標的タンパク質とbinderの複合体構造解析
2. 薬剤候補化合物のバーチャル・AIスクリーニング



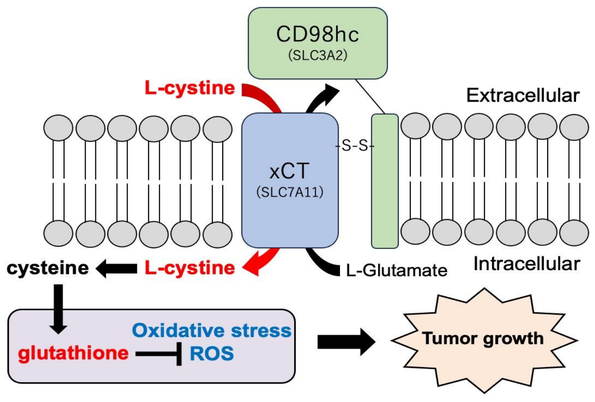
Fast Track Project　連携体制



Fast Track Projectの成果

1．創薬標的タンパク質①xCT

癌細胞、癌幹細胞に作用することで抗癌作用を持つxCT阻害剤の開発

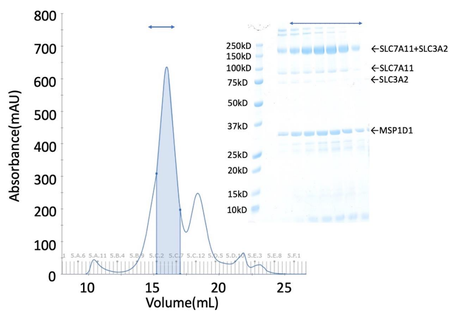


- 細胞内にL-cystineを取り込み、L-glutamateを細胞外に輸送するアミノ酸トランスポーター
- xCT(SLC7A11)とCD98hc (SLC3A2)の二量体
- がん細胞の細胞膜表面で発現し、がんの再発・転移の原因とされるがん幹細胞で高発現
- xCTにより細胞内に取り込まれたL-cystineは、Glutathioneを介し酸化ストレス応答から腫瘍を保護し成長を促進

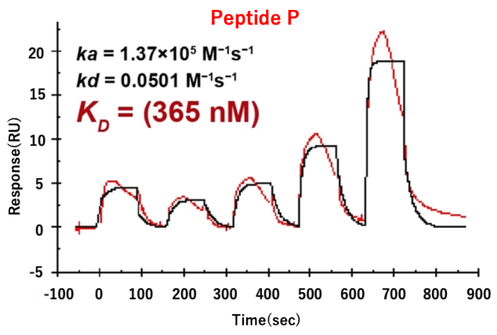
→ xCTを標的とした抗がん剤開発

2．xCTに結合するバインダーの探索・同定

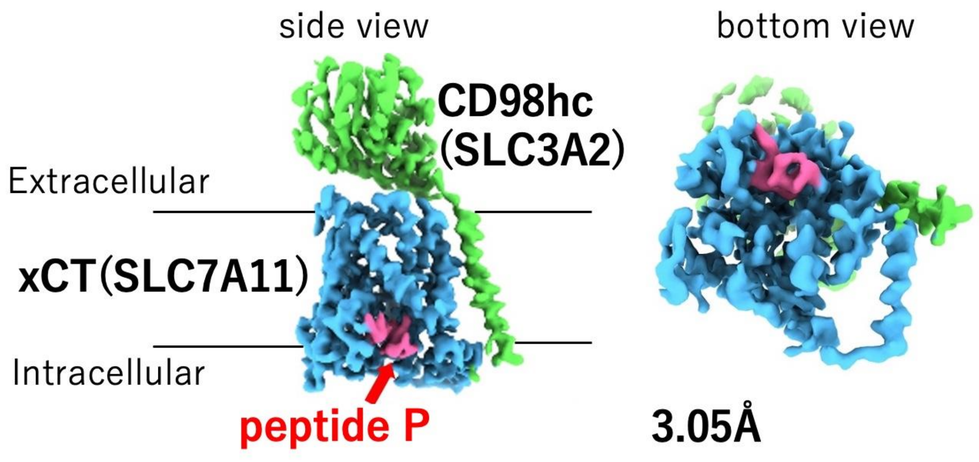
・xCT-CD98hc複合体の精製
→Detergentの選定・Nanodisc再構成
・xCTに結合するペプチドの探索・結合評価
→RaPID system/SPR法
・xCTに結合するSynetic antibodyの探索
→Nanodisc再構成したxCTと、空Nanodiscで比較



	detergent	Peptide	Kd
D-Trp library	Digitonin	1	442nM
		2	11.4μM
		3	998nM
D-Trp library	LMNG	4	546nM
		P	365nM
		5	5nM
		6	287nM
L-Trp library		7	250nM
		8	70nM

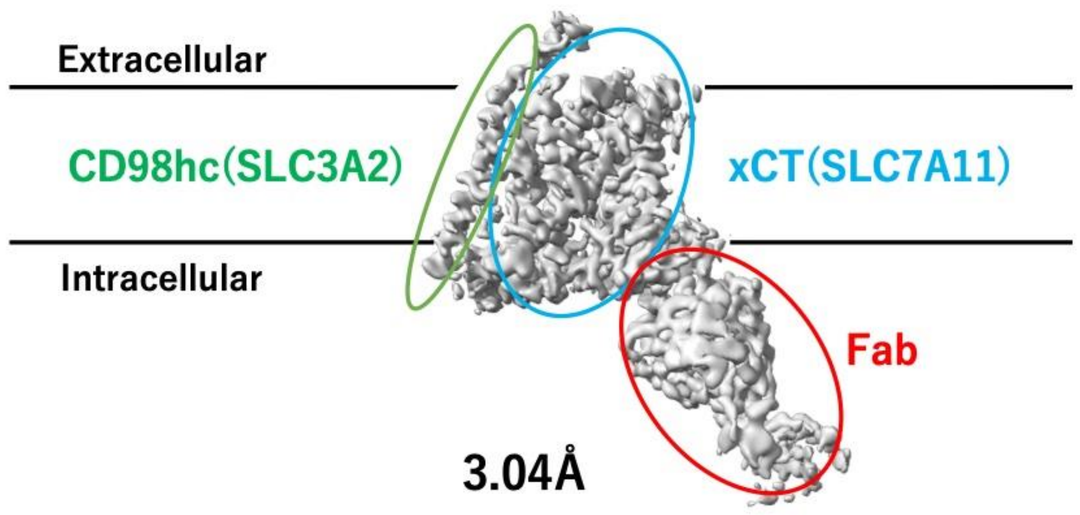


3．xCTとバインダーの複合体構造解析①



・Grid material : Au 300 mesh R 1.2/1.3
・Sample(3 μL/grid) : xCT(10.5 mg/mL)＋peptide P(500 μM)
・Data capture with cryoEM (Titan Krios(300 kV)) : 11541 micrographs
・Analysis using Relion & cryoSPARC

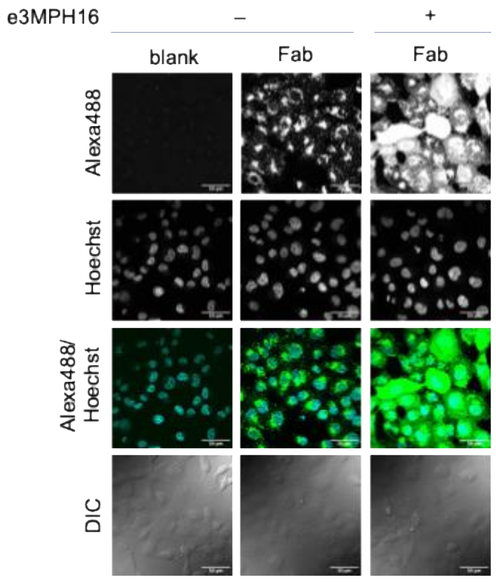
4．xCTとバインダーの複合体構造解析②

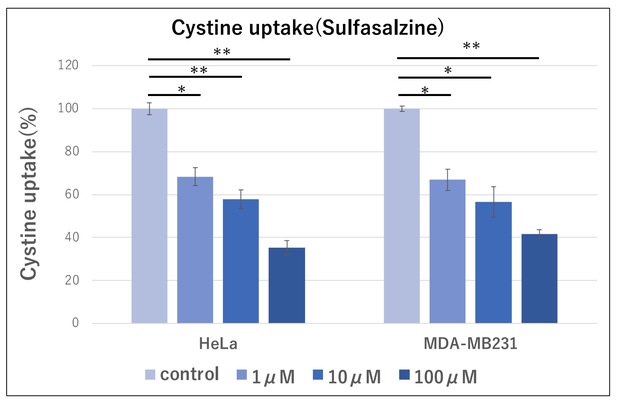


・Grid material：Au 300 mesh R 1.2/1.3
・Sample：xCT-CD98hc＋Fab（7 mg/mL, 3 μL/grid ）
・Data capture with cryoEM (Titan Krios(300 kV))：3872 micrographs
・Analysis using Relion & cryoSPARC

5．xCT阻害活性評価の準備

・ E3MPH16ペプチドを用いたFabの細胞内送達
・ 低分子化合物Sulfasalazineを用いたCystine取り込み阻害評価の予備実験





p value: *<0.01　**<0.001

今後の課題

- xCTに結合するペプチドおよびFabの阻害活性評価
→Cystineの取り込み抑制阻害評価
→がん細胞の増殖抑制評価

- 創薬タンパク質②SLC15A3、③GGCXに対するバインダー取得

- 結合ポケットから低分子化合物のバーチャル、AIスクリーニング