92 ミトコンドリア操作を見据えたタンパク質分解法の開発

東北大学 大学院生命科学研究科 分子化学生物学専攻　　友重　秀介

【目的】近年、Proteolysis Targeting Chimera（PROTAC）などのタンパク質の分解を誘導する化合物「タンパク質分解薬」が新規創薬モダリティとして注目されている。タンパク質分解薬は生体内のタンパク質分解機構を標的タンパク質へ近接させることで分解へ導く。例えば現在最も研究されている PROTAC はユビキチンープロテアソーム系を利用する。がんや神経変性疾患などの難治性疾患とミトコンドリアのつながりから、ミトコンドリアのタンパク質を標的とするタンパク質分解薬は次世代の基礎研究ツール／創薬アプローチとして期待できる。しかし、ミトコンドリアは独自の分解機構を持つため既存の分解薬はミトコンドリアでは機能しない。そこで本研究では、ミトコンドリアで機能するタンパク質分解薬を開発し、ミトコンドリア制御への展開を目指す。

【方法】ミトコンドリアにおける分解機構として、我々はミトコンドリアマトリックスに存在するプロテアーゼ複合体 caseinolytic protease P（ClpP）に着目した。すなわち、標的タンパク質のリガンドと ClpP を活性化する薬剤を連結した化合物は標的タンパク質に ClpP を接近させて選択的な分解へ導くと考えた。概念実証として、ミトコンドリア移行シグナル（MTS）を融合した単量体ストレプトアビジン（MTS-mSA）をモデル標的タンパク質に設定し、実験を行った。研究開始時点で MTS-mSA の分解誘導を達成していたため、研究期間ではそのメカニズム解析、ならびに本分解薬を用いたミトコンドリア形態制御に取り組んだ。

【結果】見出した分解薬の活性は、ClpP の RNA 干渉によりキャンセルされた一方で、プロテアソームやリソソームの阻害剤共存下で活性はキャンセルされなかった。すなわち、開発した技術がミトコンドリア ClpP 依存的に作用することが示された。また、SA 担持ビーズを用いたプルダウン実験により、分解薬共存下でミトコンドリア ClpP がプルダウンされたことから、本技術では【MTS-mSA：分解薬 **1**：ClpP】の三者複合体を形成することで機能していることが示唆された。さらに、ミトコンドリア形態制御実験のために、ミトコンドリアの断片化を促進する short transmembrane mitochondrial protein 1（STMP1）と MTS-mSA の融合タンパク質（MTS-mSA-STMP1）を発現させたミトコンドリアの過剰断片化系を作製した。この系に分解薬を処理し、蛍光顕微鏡撮影および画像解析を行ったところ、断片化したミトコンドリアの形態が正常ミトコンドリアの形態に近づいていることが明らかになった。以上より、本研究によってミトコンドリアで機能する新たな標的タンパク質分解技術の開発に成功した。また、本技術を用いてミトコンドリアの表現型を制御できることを実証することができた。本研究成果は、今後ミトコンドリア創薬のための新たなアプローチとしての活用やミトコンドリア機能解明への貢献が期待される。

【発表】

1）　2025 年 3 月　日本薬学会第 145 年会、口頭発表
2）　2024 年 5 月　日本ケミカルバイオロジー学会第 18 回年会、口頭発表
3）　Wakana Yamada, Shusuke Tomoshige,* Sho Nakamura, Shinichi Sato, Minoru Ishikawa* “Targeted Protein Degradation in the Mitochondrial Matrix and Its Application to Chemical Control of Mitochondrial Morphology” Chemical Science 2024 Sep 28;15(36):14625-14634. DOI: 10.1039/D4SC03145H
4）　Yugo Mishima, Shusuke Tomoshige,* Shinichi Sato, Minoru Ishikawa “Allosteric Hsp70 Modulator YM-1 Induces Degradation of BRD4” Chemical & Pharmaceutical Bulletin 2024 Feb 1;72(2):161-165. DOI: 10.1248/cpb.c23-00543



ミトコンドリアにおける標的タンパク質分解技術