

平成 28 年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業  
(英語) Drug Discovery Support Promotion Project “The iD3 Booster”

実験調査課題名 : (日本語) SWI/SNF complex と NF- $\kappa$ B に対する阻害剤の探索-阻害ペプチドの構造・機能解析  
(英語) Discovery of inhibitors for SWI/SNF complex and NF- $\kappa$ B -the structural/functional analyses of peptide inhibitors-

実験調査担当者 (日本語) 千葉大学・真菌医学研究センター・特任教授 伊庭 英夫  
所属 役職 氏名 : (英語) Medical Mycology Research Center (MMRC), Chiba University  
Professor, Hideo Iba

実施期間: 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

## II. 成果の概要

・各 d4-family 遺伝子の knockdown 及び d4-family タンパク質間で高度に保存された N 末端側 84 アミノ酸残基からなるペプチド (CT1 ペプチド) の強制発現による生物学的活性の比較解析から、CT1 が Dominant negative 変異体として d4-family 全体を効率よく阻害して、上皮がん細胞の足場非依存性増殖やマウス Xenograft モデルでの造腫瘍性を抑制することが示された。

・マイクロアレイによる CT1 標的遺伝子群の解析により、SWI/SNF 依存的な NF- $\kappa$ B の標的遺伝子のうち *IL6* 遺伝子が特に発がん活性に重要な貢献をすることが示された。

・今後の大規模な低分子化合物阻害剤の検索に向けて、レポーター細胞系や PLA (Proximity ligation assay) 法を確立した。

・ By comparing biological activity of knockdown of each d4-family protein and exogenous expression of the highly-conserved N-terminal 84-amino acid region (designated “CT-1”), CT1 was shown to function as an efficient dominant negative mutant that suppresses anchorage-independent growth of epithelial tumor cells and their tumorigenicity in mouse xenograft model by inhibiting the entire d4-family members.

・ Microarray analysis of CT1 target genes indicated that *IL6* gene is an important transforming gene among SWI/SNF dependent NF- $\kappa$ B target genes.

・ We also developed reporter cell systems and screening method for PLA (Proximity ligation assay) for the large scale screening for low-molecular weight inhibitors of NF- $\kappa$ B.

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 0 件)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

Inhibition of SWI/SNF complex-dependent NF- $\kappa$ B activation suppress tumor formation

(SWI/SNF 複合体依存性の NF- $\kappa$ B 標的遺伝子の阻害による腫瘍抑制)

○小林 和善, 平松 寛明, 原口 健, 伊庭 英夫 第 76 回日本癌学会学術総会 (横浜) で発表予定

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

特許出願中

平成 2 8 年 度 委 託 実 験 調 査 成 果 報 告 書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬支援推進事業 創薬総合支援事業  
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名： (日本語) SWI/SNF complex と NF-κB に対する阻害剤の探索-阻害ペプチドの構造  
・機能解析  
(英語) Discovery of inhibitors for SWI/SNF complex and NF-κB -the  
structural/functional analyses of peptide inhibitors-

実験調査担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学 教授 津本浩平  
所属 役職 氏名： (英語) The University of Tokyo, Professor Kohei Tsumoto

実施期間： 平成 2 8 年 8 月 1 日 ～ 平成 2 9 年 3 月 3 1 日

分担実験 (日本語) SWI/SNF complex と NF-κB に対する阻害剤の探索-分担 2  
調査課題名： (英語) Discovery of inhibitors for SWI/SNF complex and NF-κB

実験調査分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 助手 長門石 暁  
所属 役職 氏名： (英語) The University of Tokyo, Research Associate Satoru Nagatoishi

## II. 成果の概要

- ・ 阻害ペプチドと SWI/SNF complex の結合検出アッセイ系の構築を目指して、Octet 装置を用いて相互作用解析を行った。
  - ・ アナライトとして A549 細胞の全細胞溶解液 (SWI/SNF complex を含む) を用いたところ、センサーへの大きな非特異吸着レスポンスが観察された。
  - ・ そこで非特異吸着を抑えるために、添加剤・buffer 組成の検討、GST- DPF3 (CT1)-His の調製方法の改善を試みた。
  - ・ バイオレイヤー干渉法による阻害ペプチドと SWI/SNF complex の結合測定に関しては、バイオレイヤー干渉法によるアッセイ系の構築が困難であった。
- 
- ・ To construct the binding assay of SWI/SNF complex to a peptide inhibitor, BLI measurement (Octet system) was performed.
  - ・ Although binding responses of Octet were observed in the presence of analyte (extracted from A539 cells), these responses were mainly due to non-specific adsorption onto the Octet sensor.
  - ・ To suppress the non-specific adsorption, we investigated the effect of additives, buffer components, and yields of GST- DPF3 (CT1)-His on the non-specific adsorption.
  - ・ We could not find improved conditions to detect the specific binding of SWI/SNF complex to a peptide inhibitor in Octet system.

## III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 0 件)  
該当なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし
- (4) 特許出願  
該当なし