

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) Ras 活性化因子 X と Ras の細胞内での相互作用を標的とした Ras 活性化阻害剤の探索
(英語) Discovery of anti-Ras activator by targeting the intracellular interaction between Ras activator X and Ras.

実験調査担当者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院生命科学研究科 教授 松田 道行
所属 役職 氏名： (英語) Michiyuki Matsuda, Professor, Graduate School of Biostudies, Kyoto University

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

- 研究代表者は Ras 活性を生きた細胞、生きた組織で検討することができるフェルスター共鳴エネルギー移動/蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) に基づくバイオセンサーを開発し、生きた細胞や生きた動物で Ras 活性を測定することに成功した。本課題ではこの FRET バイオセンサーを Ras 活性化因子のハイスループットスクリーニング用に改良した。
- 次に、二次スクリーニングシステムを構築した。まず、薬剤誘導性に Ras 活性化因子を活性化する系を構築した。この系においては、薬剤投与後 5 分以内に Ras が顕著に活性化されることを確認した。さらに、この系を安定に発現する細胞株を樹立した。
- また、FRET によらない Ras 活性化検出系を構築した。この系は Ras 依存性に Ras 標的分子が膜画分に移動することを指標としている。この系も細胞株に安定に発現させ細胞のクローニングを行った。細胞増殖因子や、上記 Ras 活性化システムでの Ras 活性化を検出できることを確認した。このアッセイ系は FRET に依存していないため、蛍光を発する化合物に用いることができ、ヒット化合物の検証に用いることができる。
- HTS アッセイ系を最適化して、理研へ技術移管した。理研にて、化合物のスクリーニングが開始された。

- The principal investigator of this project invented a biosensor based on the principle of Förster resonance energy transfer (FRET), which can monitor the Ras activity in living cells and living animals. In the present project, we modified this biosensor to perform high-throughput screening for Ras activators.
- We also set up secondary screening systems. In the first assay system, we made a drug-inducible activation of Ras activators. We confirmed that Ras is rapidly activated within 5 minutes by the addition of the chemical compounds. This Ras-activation system was stably expressed in human cells.
- We also set up another system to monitor Ras activity. This system is based on the membrane-translocation of Ras effectors upon Ras activation. We have cloned several cell lines that express this Ras-dependent translocation system. Under conventional fluorescent microscopes, Ras activation could be detected reproducibly upon growth factor stimulation.
- The Ras-dependent translocation system was used in combination with the drug-inducible Ras activation system. We could monitor Ras activation with high sensitivity by this assay system. Because this assay system can be compatible with fluorescent chemical compounds, we can use this system for the validation of hit compounds identified by the FRET-based assay system.
- HTS assay was optimized and the technology has been transferred to RIKEN. With this HTS assay, screening of RIKEN chemical library was started.

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 件、国際誌 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