

研究題目 SLFN11 の機能の独自性を生み出す分子機構の解明

研究組織

研究代表者：村井純子（愛媛大学プロテオサイエンスセンター）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

SLFN11 は幅広い DNA 障害型抗がん剤に対する感受性を増強するタンパクであることから、精密医療の有望な標的である。SLFN11 は複製ストレスに応じてクロマチン上で DNA 複製を阻害するというユニークな機能を持つ一方で、その詳細な分子機構は未だ不明である。本研究は、SLFN11 の機能の独自性を生み出す分子機構の解明を目的とする。

[1-2] 研究の方法・経過

ヒトの5つのSLFNファミリータンパクのうち、SLFN11 のみが複製ストレスに応じてクロマチン上で DNA 複製を阻害し、細胞死を亢進させることが分かっている。

我々はこれまでに SLFN11 に存在する ssDNA 結合サイト (K652) とリン酸化サイト (S753) が SLFN13 に保存されていないことを見つけ、変異体を用いた生化学的な検証から、K652、S753 の両方が SLFN11 の機能発揮に必須であることを見出した。特に SLFN11 の S753 をリン酸化ミミックさせた変異体である SLFN11^{S753D} を発現させた細胞では、SLFN11 のクロマチンリクルートが確認されず、表現型が認められなかったことから、SLFN11 の局在変化および機能発揮には S753 の脱リン酸化が必要であることが考えられる。その他さまざまな結果から、我々は SLFN11 の機能発揮に必須なドメインとして K652 と S753 の脱リン酸化状態を見出した (Fujiwara et al., iScience. 2023)。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

SLFN11 の機能発揮と S753 のリン酸化状態との関連性を実証するために共同研究が必要であると考え、小迫教授のご協力の元、本共同研究を 2023 年度から開始し、2023 年度と 2024 年度

ともに採択いただいた。2023 年度は、実際に SLFN 11 のリン酸化部位の検出をリン酸化プロテオミクスで行った。予想外なことに、薬剤投与前後において、S 753 やそれ以外も過去に報告のあった部位のリン酸化は検出できなかった。唯一 S180 のリン酸化は検出されたが、これは薬剤投与後にシグナルが増強していた。この結果を受けて、S180 のリン酸化変異 SLFN11 を作成したものの、SLFN 11 のもつ薬剤感受性への影響はまったく認められなかった。SLFN11 の S753 のリン酸化が薬剤感受性のスイッチング機能を持つことには、細胞実験の結果から確信をもっており、なぜ S 753 のリン酸化が検出されなかったかについては、いくつかの仮説を立てている。一つとして、クロマチン周囲のみでリン酸化、非リン酸化のスイッチングが起こる可能性を考えている。

そこで、SLFN11 のリン酸化状態が維持できる条件を検討するため、まず S753 のリン酸化と非リン酸化状態を特異的に認識する抗体をそれぞれ作成した。さらに、プロテオソーム阻害剤 MG132 を用いて、かつクロマチン分画のみを濃縮させたところ、リン酸化 SLFN11 がイムノブロット強く検出されることを見出した。2024 年度はこの濃縮サンプルを用いて、再度リン酸化プロテオミクスを試みる予定であったが、サンプル調整が間に合わず、実行できなかった。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

SLFN11 は DNA 障害型抗がん剤の薬効予測バイオマーカーとして注目され、臨床レベルでの有用性を示す論文が続々と報告されている。これまで、DNA 障害型抗がん剤の感受性を高めるために SLFN11 の発現を増加させる薬剤のスクリーニングが行われてきた。我々は、SLFN11 の活性化がリン酸化状態のスイッチングによって行われることを示してきた。本研究の成果に

より、SLFN11 の活性化に関与するリン酸化サイトの検出系が確立され、リン酸化に関与するキナーゼやホスファターゼの同定が期待される。同定されたリン酸化に関わる酵素に介入することで、SLFN11 のリン酸化状態を制御し、DNA 障害型抗がん剤の感受性を向上させる新たな可能性を示すことができると考えている。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

クロマチン上で、リン酸化された SLFN11 を濃縮してプロテオミクスを行うことで、SLFN11 の機能に関与する相互作用タンパク質を同定する。また、近位依存性ビオチン標識法を活用して、クロマチンに結合した SLFN11 と相互作用するタンパク質を同定することも試みており、2025 年度は、両方または片方のアプローチでクロマチン上の SLFN11 の相互タンパク質の探索を行い、そこから機能解明に繋げたい。