

天然変性概日時計転写因子を標的とする阻害剤の開発

(信州大農¹・北大院理²・京大化研³) ○細谷 侑佑¹・能條 航²・喜井 勲¹・鈴木 孝紀²・今西 未来³・大神田 淳子¹

Exploration of synthetic agents that inhibit intrinsically disordered circadian clock transcription factors (¹*Academic Assembly, Institute of Agriculture, Shinshu University*, ²*Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University*, ³*Institute for Chemical Research, Kyoto University*) ○Yusuke Hosoya,¹ Wataru Nojo,² Isao Kii,¹ Takanori Suzuki,² Miki Imanishi,³ Junko Ohkanda¹

Circadian transcription factors, BMAL1 and CLOCK, are intrinsically disordered proteins and agents capable of specific inhibition their function would serve as potential therapeutic for insomnia and cancer. In this study, we developed a DNA-binding assay based on fluorescence polarization using recombinant proteins of BMAL1 and CLOCK. Screening of a chemical library of 1,785 compounds identified quinone derivative **1** that significantly inhibits the DNA-binding of the heterodimer of BMAL1 and CLOCK. The result of structure-activity relationship and Cys-capping experiment suggest that **1** covalently reacts with nucleophilic residues in PAS region of BMAL1¹. These results suggest that covalent agents may provide a promising chemical basis for controlling disordered proteins.

Keywords : *intrinsically disordered proteins; inhibitors; BMAL1; CLOCK; circadian clock*

天然変性たんぱく質 (intrinsically disordered proteins; IDPs) BMAL1 と CLOCK は概日リズム形成の核となる転写因子である。概日リズムの乱れが不眠症や腫瘍形成の要因となることから両者の2量体形成もしくはDNA結合機能を阻害する化合物は治療薬となることが期待される。本研究ではBMAL1およびCLOCKの組み換えたんぱく質を用いて、蛍光偏光変化を指標とするHigh-throughput DNA結合試験系を確立した。

1,785個の小分子化合物ライブラリのスクリーニングを実施しBMAL1/CLOCKヘテロダイマーとDNA間の相互作用を顕著に阻害するキノキサリンジオン**1**を見出した。**1**の構造活性相関研究、MALDI-TOFによる質量分析、BMAL1/CLOCKシステイン残基マスキング実験によって**1**は共有結合的にBMAL1のPAS領域に作用していることが示唆された¹。以上よりBMAL1/CLOCKのDNA結合を阻害する小分子**1**を新規に見出すと共にIDPの機能調節において共有結合性の化合物が有効である可能性を示した。

1) Hosoya, Y.; Nojo, W.; Kii, I.; Suzuki, T.; Imanishi, M.; Ohkanda, J. *Chem. Commun.* **2020**, 56, 11203.

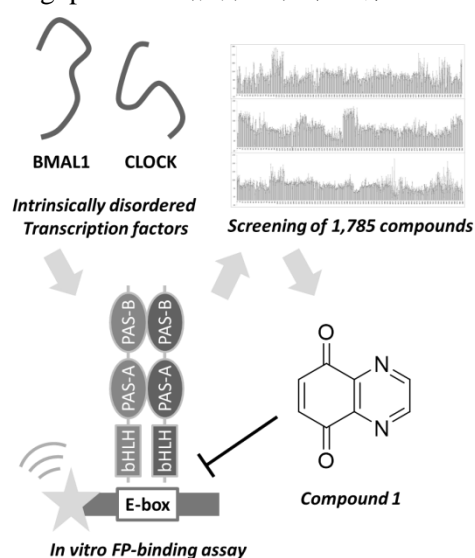


Fig 1. 蛍光偏光変化を指標とする天然変性概日時計転写因子に対する阻害剤探索