

合成小分子による 14-3-3 アイソフォーム選択的阻害と植物機能制御

(理研 CSRS¹・東大農²・東大 CRIIM³・名大理⁴・名大 WPI-ITbM⁵)

○西山 康太郎¹・工藤 紀雄¹・吉田 稔^{1,2,3}・相原 悠介⁴・高橋 宏二^{4,5}・

木下 俊則^{4,5}・鈴木 健裕¹・堂前 直¹・佐藤 綾人⁵・中村 咲耶¹・萩原 伸也^{1,5}

Synthetic Small Molecules for 14-3-3 Isoform-Selective Inhibition and Regulation of Plant Functions (¹RIKEN Center for Sustainable Resource Science, ²Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, ³Collaborative Research Institute for Innovative Microbiology, The University of Tokyo, ⁴Graduate School of Science, Nagoya University, ⁵WPI-ITbM, Nagoya University) ○Kotaro Nishiyama,¹ Norio Kudo,¹ Minoru Yoshida,^{1,2,3} Yusuke Aihara,⁴ Koji Takahashi,^{4,5} Toshinori Kinoshita,^{4,5} Takehiro Suzuki,¹ Naoshi Dohmae,¹ Ayato Sato,⁵ Sakuya Nakamura,¹ Shinya Hagihara^{1,5}

14-3-3 is a "hub" possessing multifunctionality due to interaction with various client proteins and a prospective target for human drugs and plant growth regulators. Because the 14-3-3 family is composed by many isoforms which show individual functions, 14-3-3 isoform-selective inhibitors are required in the field of drug discovery to reduce side effects. However, development of the isoform-selective inhibitors has been challenging because the reported inhibitory site is highly conserved among all 14-3-3s.

In this study, we discovered an isoform-selective inhibitor named **KN002**. As a result of estimation of each inhibitory activity against 7 isoforms in *Arabidopsis thaliana* 14-3-3 family, **KN002** clearly showed the inhibitory selectivity. Investigation of the inhibitory mechanism suggested that **KN002** covalently and allosterically inhibited 14-3-3 proteins. In conclusion, we successfully demonstrated the 14-3-3 isoform-selective inhibition based on the covalent and allosteric manner. In presentation, in planta activity of **KN002** was further discussed.

Keywords: 14-3-3 family, Protein-protein interactions, Chemical screening, X-ray crystal structure, Stomata

すべての真核生物がもつ 14-3-3 タンパク質は、様々なタンパク質と相互作用することで多様な機能を示す「ハブ」であり、ヒトでは治療薬の、植物では成長調節剤の標的となる。また、14-3-3 は複数のアイソフォームから構成され、それぞれが固有の役割を担う。そのため、14-3-3 を標的とした薬剤の副作用を抑えるためには、各アイソフォームに対する選択性を高める必要がある。しかし、14-3-3 の阻害部位として知られるタンパク質認識ポケットは、アミノ酸残基の保存性が非常に高く、低分子化合物によって各アイソフォームの機能を選択的に制御することは困難であった。

本研究では、シロイヌナズナ 14-3-3 ファミリーに対してアイソフォーム選択性を示す阻害剤として、**KN002** を開発した。7 種類のシロイヌナズナ 14-3-3 に対する阻害活性を評価すると、最大 10 倍程度の選択性が確認された。そこで、**KN002** の阻害機構を調べた結果、14-3-3 のタンパク質認識ポケットから離れたシステイン残基と共有結合することで、アロステリックな阻害作用を示すことが示唆された。以上のように、新規な阻害機構を示す低分子化合物によって、14-3-3 アイソフォーム選択的な阻害に成功した。本発表では、**KN002** の植物に対する生物活性についても議論する。