

リン酸化活性測定をもとにした 薬剤応答データベースPhosprofの開発

○鍵和田 晴美、福井 一彦

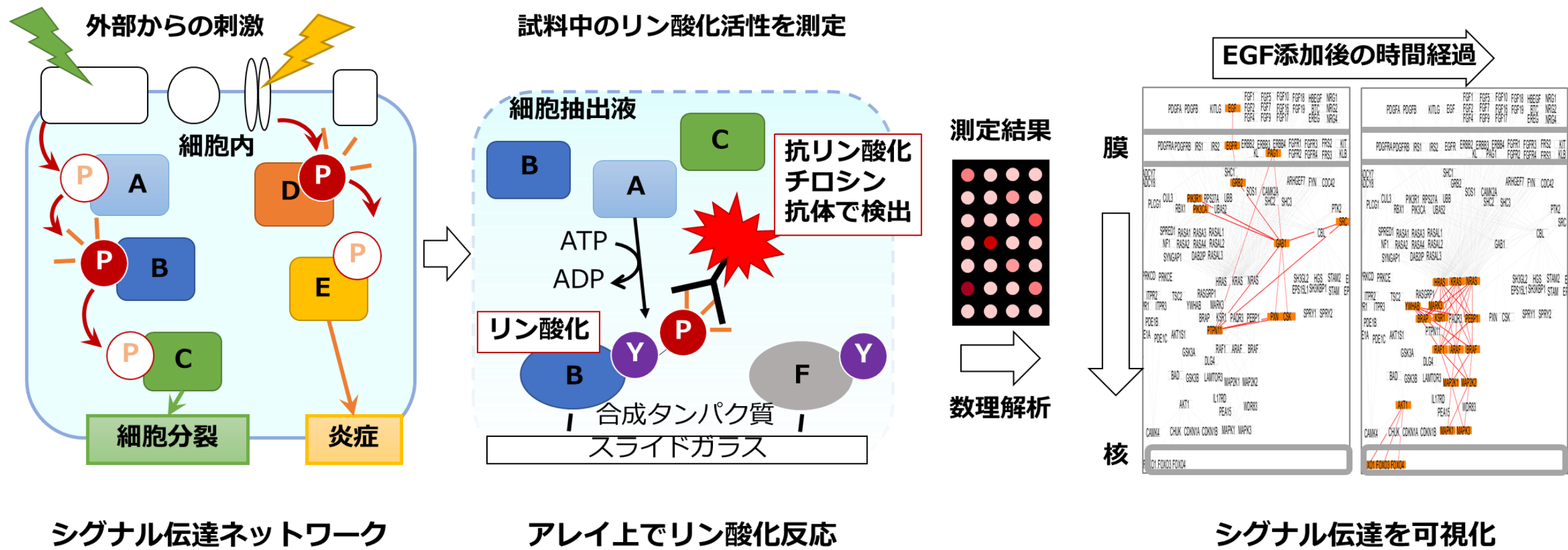
国立研究開発法人産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門

要旨

細胞は様々な刺激に呼応してシグナル伝達経路を制御し適切な細胞応答を導き出す。タンパク質リン酸化はシグナル伝達の主要な担い手である。我々はこれまでに、プロテインアレイを用いてリン酸化活性を測定し、その結果をもとにパスウェイ解析を行って細胞応答を評価する系を構築してきた。今回我々は、この系を用いて新たに94薬剤に対する細胞応答を解析した結果を収集し、データベースPhosprofを作成した。Phosprofは次の4つの項目から構成される。1) 'Signature Protein' 薬剤投与によって特にリン酸化度の変化が大きいタンパク質をパスウェイマップ上で色付け表示した。マップ上の各分子はさらに配列やdisorder scoreなどの情報にリンクさせた。2) 'Pathway' パスウェイ解析の結果を、階層マップ上に色付け表示した。階層化して表示することで、機能的に近いパスウェイどうしをグループ化してとらえることができる。3) 'Compare Pathway' 複数の薬剤間でのパスウェイ解析結果をベン図として表示した。薬剤間で共通して変化の大きいパスウェイや、各薬剤に特徴的なパスウェイを検索できる。4) 'Drug Search' 測定した94薬剤以外の化合物について、分子類似性の高い薬剤の'Signature Protein'結果を参照できる。このようにPhosprofは細胞応答から各薬剤の特性を調べるツールとして活用が期待される。

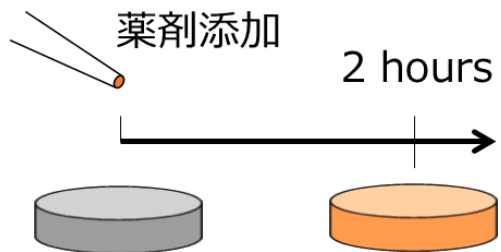
Phosprof URL; <https://phosprof.medals.jp>

図1 リン酸化活性測定とパスウェイ解析

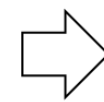


Kagiwada et al., Proteomics. 2021

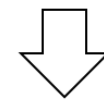
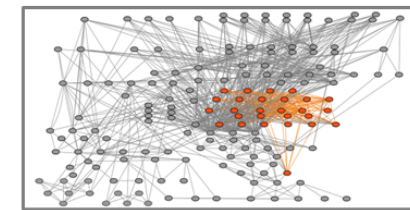
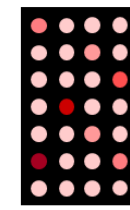
図2 化合物ライブラリを用いた細胞応答データベースの構築



ライブラリ化合物94種類を
2細胞株 (K562, MCF7) に投与



細胞懸濁液を回収
アレイ上でリン酸化活性測定
パスウェイ解析



データ収集
<https://phosprof.medals.jp/>

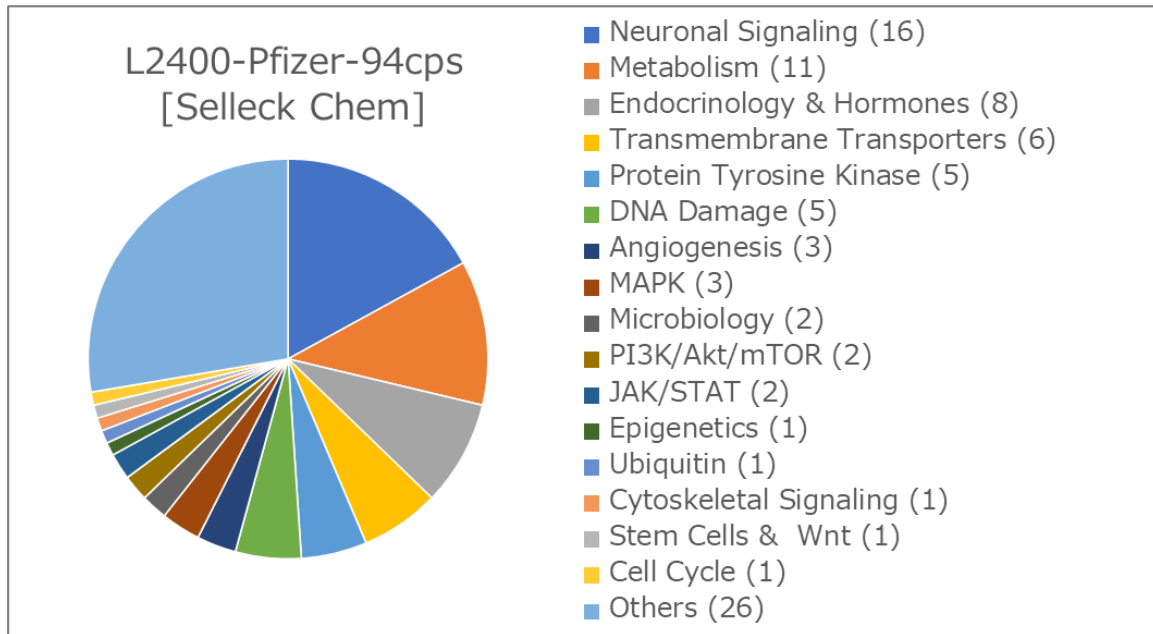
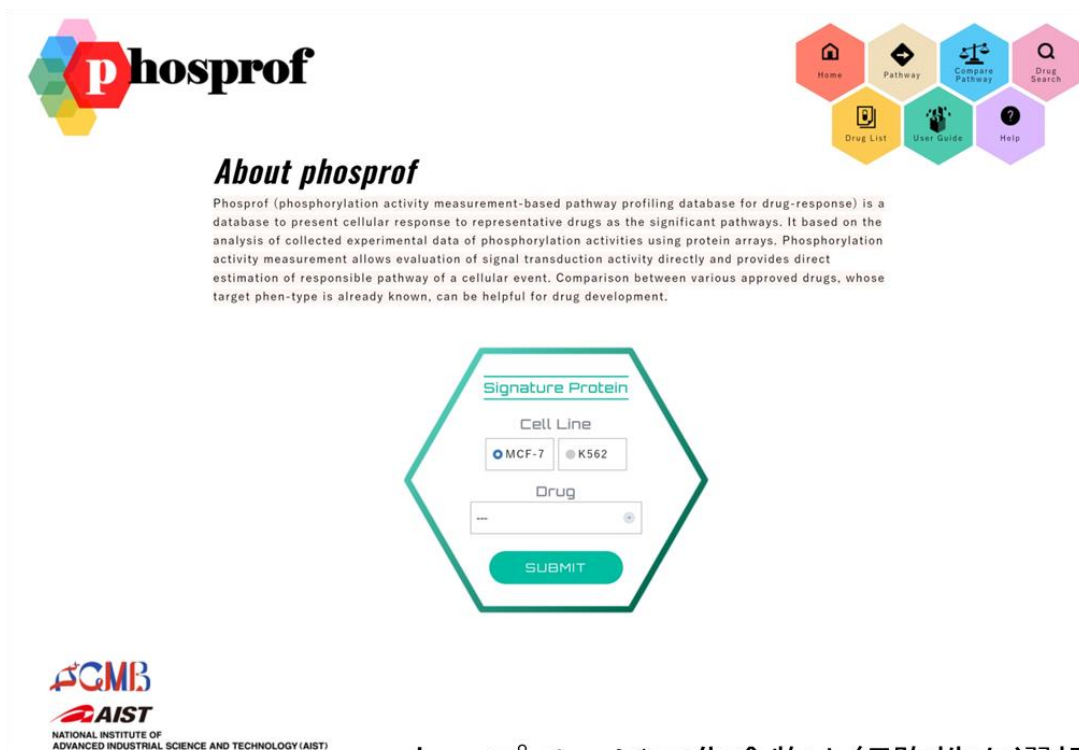


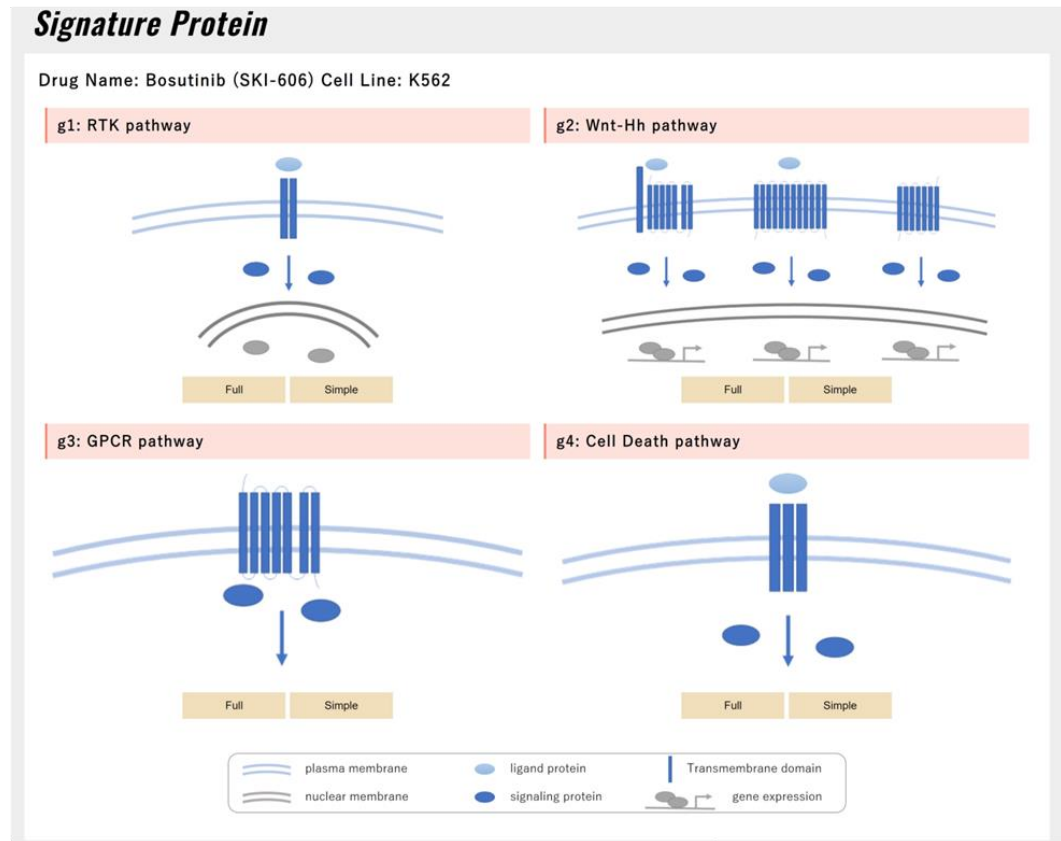
図3 Phosprof (phosphorylation profiling DB)

1) Signature Protein

リン酸化度が有意に変化した分子をパスウェイマップ上で色付き表示



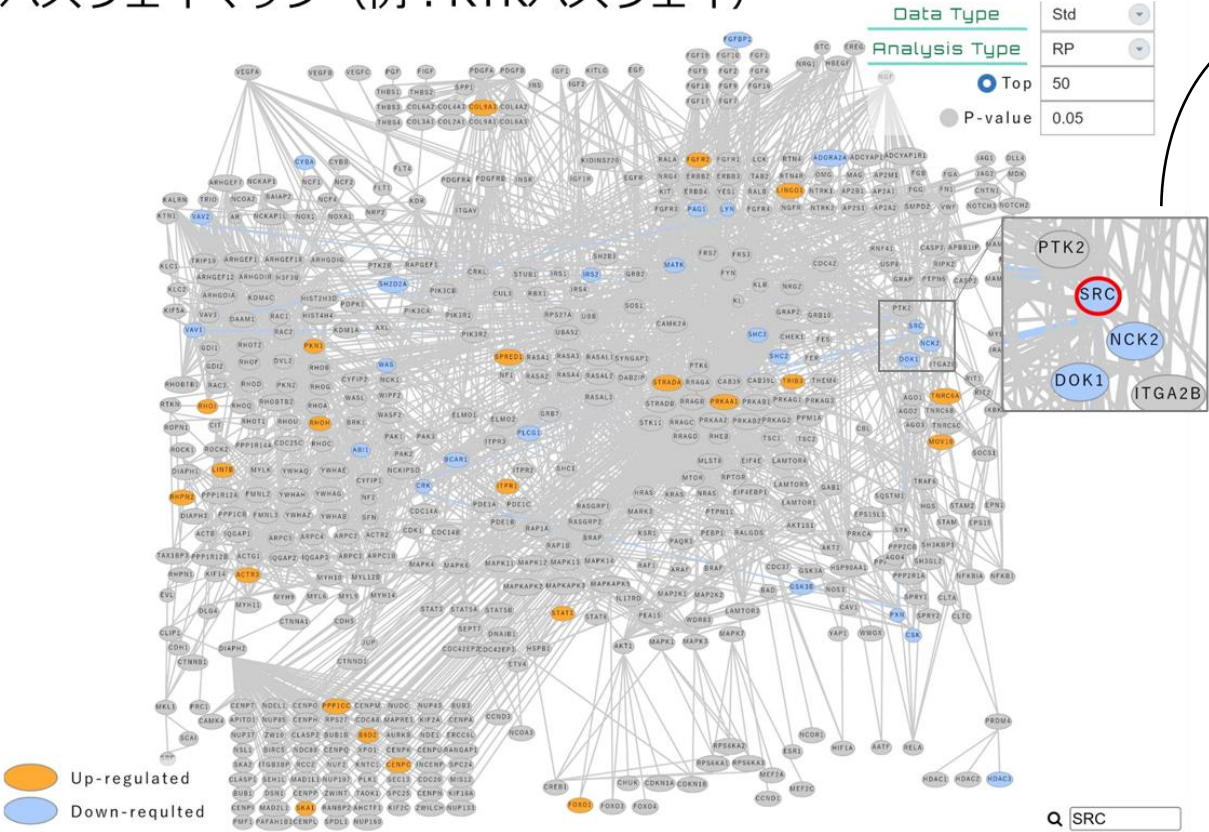
トップページで化合物と細胞株を選択



閲覧するパスウェイマップを選択

Kagiwada et al., Database (Oxford). 2022

パスウェイマップ (例 : RTKパスウェイ)

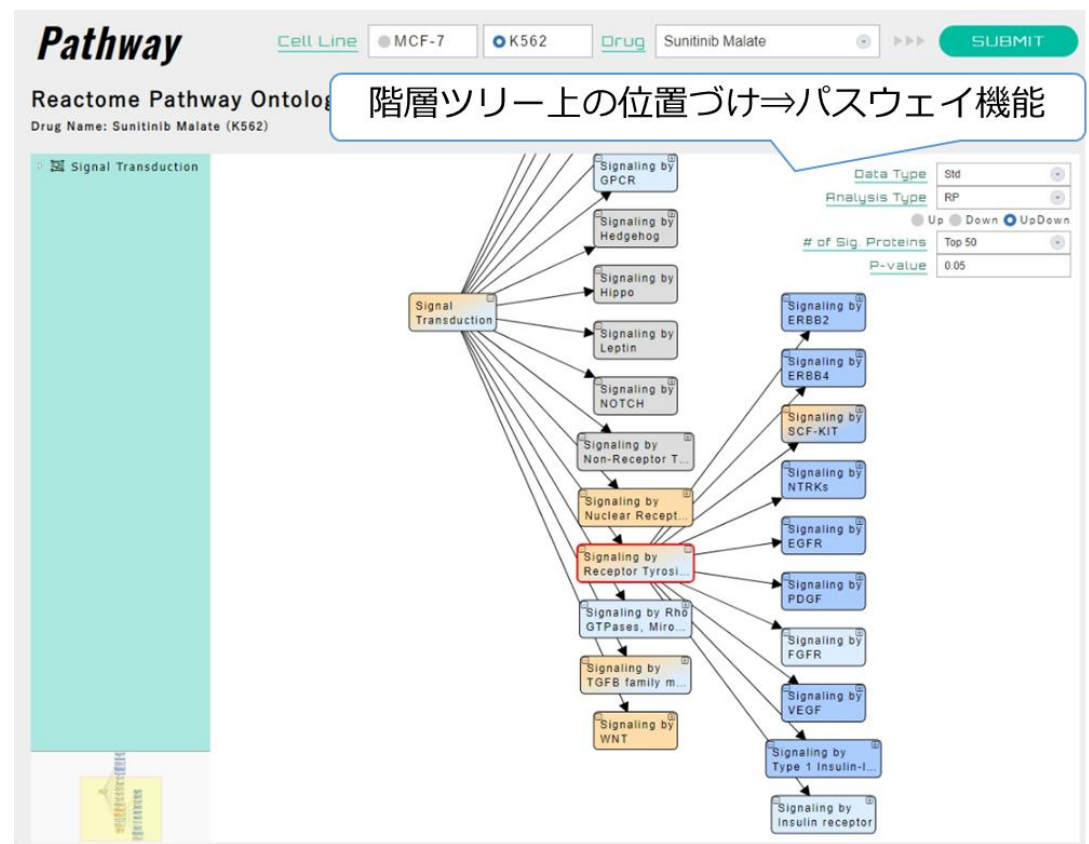


マップ上でタンパク質を選択すると詳細情報を表示

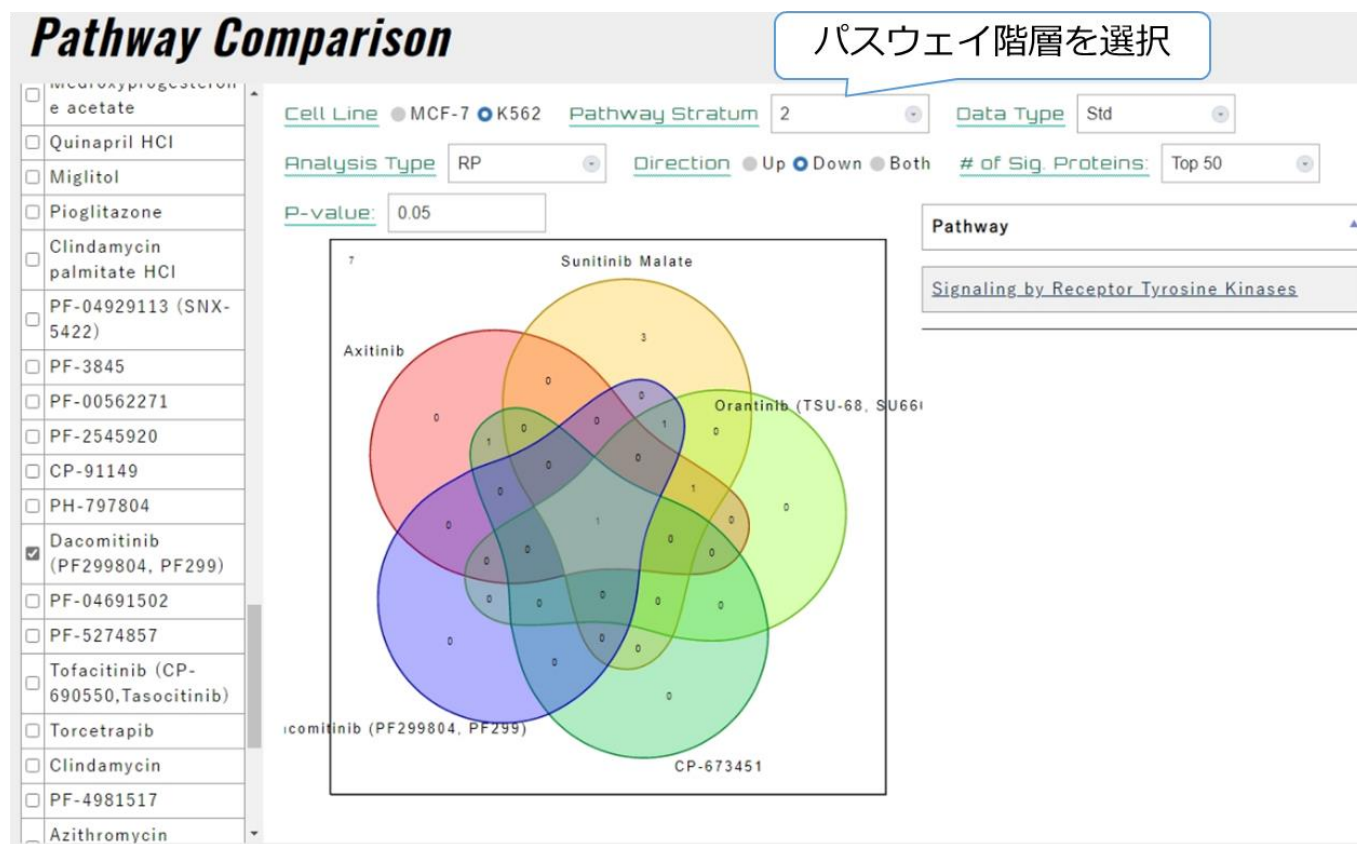
Detail of Protein



2) Pathway
パスウェイ解析結果を階層ツリー上に色付き表示



3) Compare Pathway
化合物間で有意なパスウェイ群を比較



4) Drug Search

CAS番号またはSMILESから構造類似性の高い化合物を検索

Drug Search

Cell Line

☒ MCF-7 ☐ K562

Input type

SMILES

Input:

C(CC(=O)O)CN

Search

Reset

Sample

Sample2

Done!

Product Name	Tanimoto coeff
Gabapentin	0.642857
Gabapentin HCl	0.62069
Miglitol	0.26087
Alprostadil	0.235294
Tolterodine tartrate	0.231884
Levonorgestrel	0.211538
Gemfibrozil	0.20339
Methylprednisolone	0.2
Medroxyprogesterone acetate	0.196721
Azithromycin	0.184783
Azithromycin Dihydrate	0.184783
Ketoprofen	0.166667
Ibutilide Fumarate	0.166667
Varenicline Tartrate	0.16

まとめ

- リン酸化活性測定とパスウェイ解析で細胞応答を評価
- 主要な標的が知られている94化合物に対する細胞応答データを収集・解析した
- パスウェイが機能的に関連していることを考慮して、さまざまなレベルの階層でパスウェイを比較可能にした
- 化合物間の比較により、各化合物に共通の／特徴的なパスウェイが検索可能

参考文献

1 Kagiwada H, Fukui K et al., Assessing the activation/inhibition of tyrosine kinase-related pathways with a newly developed platform. Proteomics. 2021 Aug;21(16):e2000251. doi: 10.1002/pmic.202000251.

2 Kagiwada H, Motono C, Horimoto K, Fukui K, Phosprof: pathway analysis database of drug response based on phosphorylation activity measurements. Database (Oxford). 2022:baac072. doi:10.1093/database/baac072.

謝辞

This work was supported by the Japan Agency for Medical Research and Development [grant number 21ae0101074s0203]