

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293065

研究課題名(和文) 低分子量G蛋白質Rasの翻訳後脂質修飾の役割の構造科学的研究

研究課題名(英文) Structural study on the role of post-translational lipid modifications of the small G protein Ras

研究代表者

片岡 徹 (KATAOKA, TOHRU)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40144472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：Sortase Aによる蛋白質ライゲーション反応を用い、翻訳後脂質修飾を受けたH-Ras蛋白質及び翻訳後修飾の各種中間体の大量産生と精製に成功した。核磁気共鳴法とX線結晶回折法を用いて翻訳後脂質修飾を受けたH-RasのGTP結合型の高次構造を解析した結果、翻訳後修飾を受けたC末端領域がN末端側の活性領域と分子内相互作用を形成し、翻訳後修飾で付加されたファルネシル基がアクチベータ領域の近傍に配置されることにより、Rasの標的蛋白質c-Raf-1との新しい結合認識部位が形成されることを証明した。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in large scale preparation and purification of the post-translationally lipid-modified form of H-Ras protein and various intermediates of the modification by utilizing the protein-ligation reaction catalyzed by Sortase A. Structural analyses of the GTP-bound form of post-translationally-modified H-Ras using nuclear magnetic resonance spectroscopy and X-ray crystallography revealed that the modified C terminus established an intramolecular interaction with the N-terminal catalytic domain of H-Ras and positioned the post-translationally-attached farnesyl moiety at the proximity of the activator region, thereby forming a new binding interface for a Ras effector protein, c-Raf-1.

研究分野：細胞内情報伝達

キーワード：シグナル伝達 蛋白質 癌 脂質 高分子構造・物性

### 1. 研究開始当初の背景

低分子量 G 蛋白質 Ras は、不活性型である GDP 結合型と活性型である GTP 結合型を行き来することで、細胞内で分子スイッチとして機能している。GDP 結合型から GTP 結合型への変換 (活性化) は、グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) により促進され、GTP 結合型から GDP 結合型への変換 (不活性化) は内在性 GTP 加水分解活性により、この活性は、GTP 加水分解促進蛋白質 (GAP) により促進される。GTP 結合型 Ras は、種々の標的蛋白質 (エフェクター) と結合し、その活性制御を通じて下流にシグナルを伝達する。標的蛋白質として、出芽酵母ではアデニル酸シクラーゼ、哺乳動物では Raf ファミリー (c-Raf-1, B-Raf, A-Raf), PI-3 キナーゼやホスホリパーゼ Cε (PLCε) 等がある。

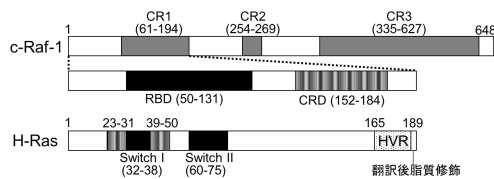


図1 H-Ras と c-Raf-1 のドメイン構造  
CR: conserved region, RBD: Ras-binding domain,  
CRD: cysteine-rich domain

哺乳動物では、3つのアイソフォーム H-Ras, N-Ras, K-Ras があり、これらは N 末端のアミノ酸番号 1-164 の領域で 90% を越えるアミノ酸配列相同性を有し標的蛋白質、GEF や GAP を共有している。この領域は、標的蛋白質との相互作用に関わる 3 つの小領域を含む (図 1)。Switch I (アミノ酸番号 32-38) と Switch II (60-75) は、GDP 結合型と GTP 結合型の変換の際に大きな構造変換が起こる領域である。Switch I は、標的蛋白質との第一の結合 (後述) に主要な働きを演じ、Switch II は標的蛋白質の認識にも一部関与するが、むしろ GEF, GAP との結合に関与している。アクチベータ領域 (23-31, 39-50) は Switch I の周囲に位置し、変異導入により Raf との結合能力にはあまり影響がないが Raf の活性化能力が失われる領域であり、標的蛋白質との第二の結合 (後述) に関与する。上記 3 ドメインのアミノ酸配列は、アイソフォーム間で完全に保存されている。一方、C 末端の約 20 残基に対応する超可変領域 (HVR) はアミノ酸配列相同性が 10-15% と低く (図 1) その C 末端部に翻訳後脂質修飾が起こる。Ras の翻訳後修飾は、以下の過程を経る (図 2)。(1) 小胞体での C 末端 CAAX 配列 (C:システイン, A:脂肪族アミノ酸, X:アミノ酸不特定) の Cys 残基へのファルネシル基の付加、(2) AAX 配列の除去、(3) C 末端 Cys のカルボキシメチル化。さらに、H-Ras, N-Ras では CAAX 上流の Cys 残基にパルミトイル化を受ける。その結果、Ras は形質膜に移送される。この脂質修飾は Ras の細胞がん化活性に必要不可欠であり、その理由は一義的に Ras を、標的蛋白質や GEF が存在

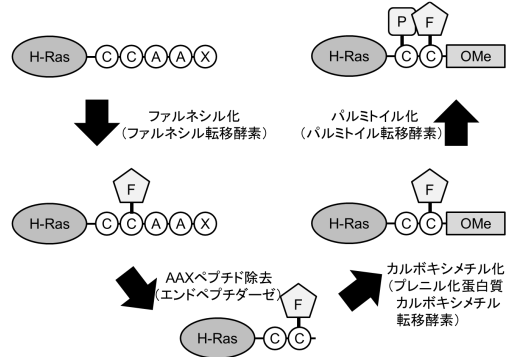


図2 Ras の翻訳後脂質修飾  
F: ファルネシル基, P: パルミトイル基

する形質膜へ局在させるためと解釈されてきた。しかし、我々は、出芽酵母アデニル酸シクラーゼの Ras による活性化が、Ras の脂質修飾、特にファルネシル化に依存すること、さらに、哺乳動物 c-Raf-1 と B-Raf においても Ras の脂質修飾が形質膜移行だけでなく標的蛋白質の活性化過程に必須であることを証明し、これを物質論的に説明する Ras の第二の結合様式を発見した。Ras による Raf の活性化には、Ras の Switch I/II と Raf の Ras-binding domain (RBD) (図 1) との GTP 依存性の第一の結合のみならず、Raf の Cysteine-rich domain (CRD) での Ras との第二の結合も必要である。この第二の結合は、Ras のファルネシル化に依存性であり、Raf 活性化における Ras のファルネシル化の重要性の分子機構を物質論的に説明した。さらに、この第二の結合は、Ras のアクチベータ領域の変異で失われることから、翻訳後脂質修飾を受けた Ras の C 末端部分がこのドメインと相互作用して第二の結合に関与するとの仮説を提唱したが、従来の Ras 単体及びその標的蛋白質との複合体の構造科学的研究は、すべて C 末端部分を欠失した翻訳後修飾を受けていない Ras を用いて行われてきており、構造科学的な証明は得られていなかった。

### 2. 研究の目的

翻訳後修飾を受けた Ras の構造科学的研究が世界的に進展しなかった理由は、その X 線結晶回折及び NMR による構造解析に必要な量の産生と精製ができなかったためである。近年、黄色ブドウ状球菌由来の Sortase を用いて効率的な蛋白質ライゲーションが可能になり、従来産生が困難であった修飾を受けた蛋白質の大量産生と構造科学的解析が可能になった。本研究では、この方法を用いて、翻訳後脂質修飾を受けた H-Ras およびその各種修飾中間体を、修飾構造を含めて化学的に合成した Ras の C 末端ペプチドと大腸菌で産生した N 末端ポリペプチドをライゲーションすることにより大量産生し精製する。それらを用いた X 線結晶解析及び多核多次元 NMR 解析により、翻訳後修飾を受けた H-Ras の単体及びそれらの c-Raf-1 の機能ドメイン

との複合体の高次構造解析を実施する。

本研究の成果は、Ras の高次構造に係る従来の考え方を一新させる可能性をもち、得られた構造情報は、Ras 本体や Ras-標的蛋白質相互作用の阻害剤の分子設計に役立ち、Ras に対する新規分子標的がん治療薬の開発に結びつく可能性がある。

### 3. 研究の方法

1. 種々の翻訳後修飾基をもつ全長 H-Ras 蛋白質の産生と精製：H-Ras の C 末端領域配列 NPPDESGPGMSCKCVLS (アミノ酸番号 172-189) の N 末に Gly (Sortase の認識配列) を付加した合成ペプチド及び各段階の翻訳後修飾に対応するペプチドの有機化学合成を外注し購入した (表 1)。H-Ras の N 末端側 166 アミノ酸 (アミノ酸番号 1-166) の C 末端側に LPKTG の 5 残基 (Sortase の認識配列) を付加したポリペプチドをグルタチオン S-転移酵素 (GST) との融合蛋白質として大腸菌大量発現系により産生し、精製した Sortase を用いた酵素学的反応にて各合成ペプチドとライゲーションした。以下各ライゲーション産物を表 1 のペプチド名の肩付きで示す。得られたライゲーション産物を GST アフィニティー精製した後、SDS-PAGE、HVR を特異的に認識する H-Ras 抗体 (C20) を用いたウェスタンブロットング、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析 (MALDI-TOF-MS) により、純度及び C 末端の化学構造を解析した。また本手法では H-Ras のアミノ酸番号 167-171 の KLRKL が LPKTG に置換されるため、同一置換変異を持つ H-RasG12V {G12V(LPKTG)} を作製してヒト胎児腎由来 AD293 細胞におけるシグナル伝達活性を検証した。

表 1 合成ペプチドのアミノ酸配列

Peptides	Amino acid sequences
CVLS	G-NPPDESGPGMSCKCVLS
C(Far)VLS	G-NPPDESGPGMSCKC(Far)*VLS
C(Far)	G-NPPDESGPGMSCKC(Far)
C(Far)OMe	G-NPPDESGPGMSCKC(Far)OCH <sub>3</sub> <sup>b</sup>

a: ファルネシル基, b: カルボキシメチル基  
合成の都合上 Cys181 と Cys184 は Ser に置換した。

2. 構造科学的アプローチによる翻訳後修飾を受けた Ras の構造変化及び Ras-Raf の第二の結合の認識機構の解析：

(1) 翻訳後修飾による H-Ras の高次構造変化の解析：M9 培地を用いた大腸菌大量発現系で <sup>15</sup>N 標識 H-Ras(1-166-LPKTG) を産生し、これと合成ペプチド (表 1) とを Sortase でライゲーションすることで、全長 H-Ras を得た。これらの GppNHp 結合型について [<sup>15</sup>N, <sup>1</sup>H]-Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC) を測定し、HVR もしくは翻訳後修飾依存性のシグナルの変化を検出することで、H-Ras(1-166) 領域の局所の化学的環境の変化を観察した。変化を示した残基を同定する

ために、三次元スペクトルを用いた連鎖帰属法により <sup>15</sup>N/<sup>13</sup>C 標識 H-Ras(1-166-LPKTG) の [<sup>15</sup>N, <sup>1</sup>H]-HSQC シグナル帰属を行い、得られた帰属結果に基づいてスペクトルの重ね合わせによりライゲーション産物のシグナルを帰属した。

(2) C 末端合成ペプチドと H-Ras(1-166) の直接結合の解析：<sup>15</sup>N 標識 H-Ras(1-166) に合成ペプチドを加えることで直接結合の有無の判定及び相互作用に關与するアミノ酸残基の同定を行った。また、表面プラズモン共鳴法を用いて同様の相互作用の評価を行った。

(3) X 線結晶解析による翻訳後脂質修飾を受けた H-Ras の高次構造決定：蛋白質ライゲーション法で大量に産生し精製した H-Ras<sup>C(Far)OMe</sup> の GppNHp 結合型を高濃度 (~13 mg/ml) に濃縮し、Hampton Research 社 Crystal Screen, Crystal Screen 2 を含む合計約 700 条件下で結晶化を試みた。得られた蛋白質結晶を用いて SPring-8 のビームライン BL 38B1 で回折データを回収し、報告されている GppNHp 結合型 H-Ras(1-166) (PDB entry 3K8Y) の三次元構造を用いた分子置換法により分子モデルを構築した。得られた分子モデルを既知の H-Ras(1-166) の立体構造と詳細に比較することで、C 末端構造が存在することによって誘起される立体構造の違いを同定した。

3. c-Raf-1・CRD と翻訳後修飾を受けた H-Ras の相互作用解析：Sortase を用いたライゲーション反応によって得られた翻訳後修飾中間体を含む全長 H-Ras と GST-c-Raf-1・CRD との結合をプルダウン法により検証した。さらに <sup>15</sup>N 安定同位体標識された翻訳後修飾を受けた全長 H-Ras の GppNHp 結合型に大腸菌で産生し精製した c-Raf-1・CRD {c-Raf-1(132-206)}、c-Raf-1・RBD {c-Raf-1(51-131)} もしくは c-Raf-1・RBD+CRD {c-Raf-1(50-206)} を加え、 [<sup>15</sup>N, <sup>1</sup>H]-HSQC スペクトルの変化を解析することで c-Raf-1 との相互作用を解析した。

### 4. 研究成果

1. 種々の翻訳後修飾基をもつ全長 H-Ras 蛋白質の産生と精製：Sortase を用いたライゲーション反応条件の最適化の結果、GST-H-Ras(1-166-LPKTG)：Sortase：合成ペプチドをそれぞれ 1:8:10 で混合し、GDP 存在下

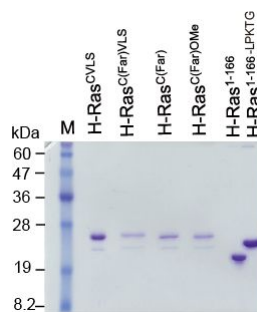


図 2 SDS-PAGE によるライゲーション産物の純度の確認

で 30 24 時間反応させることで最も高収率でライゲーション産物が得られることがわかった。得られたライゲーション産物をさらに精製し、SDS-PAGE 上で 90% 以上の純度であることを確認した (図 2)。

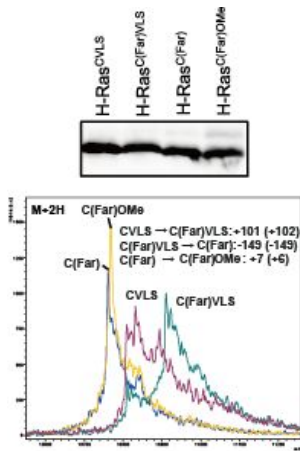


図3 ライゲーション産物のC末端構造の確認。(上)ウェスタンブロットングによるライゲーション反応の確認。(下)MALDI-TOF-MSによるC末端化学構造の確認。 $[M+2H]^{2+}$ のスペクトルを示しており、理論値を括弧内に示す。

生理的活性、Rasの下流蛋白質 MEK のリン酸化、に影響を及ぼさないことが確認された(図4)。これまで、翻訳後修飾の各段階を系統的に制御するための方法がなかったため、各翻訳後修飾の生理的な意義は全く解明されてこなかった。本研究で構築された手法を用いれば、各翻訳後修飾中間体を高純度かつ高収率で安定的に産生することが可能であり、翻訳後修飾に伴うRasの機能発現や制御に係る詳細な機構を明らかにすることが可能になると考えられた。

## 2. 構造科学的アプローチによる翻訳後修飾を受けたRasの構造変化及びRas-Rafの第二の結合の認識機構の解析:

(1) NMRを用いたC末端領域付加によるH-Rasの高次構造変化の解析:H-Ras(1-166-LPKTG)の $[^{15}N, ^1H]$ -HSQCシグナル帰属の結果、プロリンを除く163残基中136残基について帰属が完了した。未帰属の残基はGTP結合型においてミリ秒オーダーで立体構造交換しているSwitch I/II領域及びその周辺に位置しており、それらのシグナルは化学交換に由来する広幅化のため観測されなかった。H-Ras(1-166-LPKTG)とH-Ras<sup>CVLS</sup>の $[^{15}N, ^1H]$ -HSQCスペクトルを比較したところ、合成ペプチドが付加された領域(Ile163-Gln165)からアクチベータ領域(His27, Val44, Val45, Glu49)及びそれらの間に位置する $\beta$ シート領域(Thr2, Lys5, Leu6, Cys51-Leu53)で有意なシグナル変化が観察された(図5)。さらに、

またC末端領域を特異的に認識する抗体を用いたウェスタンブロットングによりライゲーション反応が起きていることを確認した(図3上)。さらに、MALDI-TOF-MSにおいて各翻訳後修飾に伴う分子量差が観察されたことから、得られた産物のC末端は全て正しい化学構造を有していることが証明された(図3下)。また、AD293細胞においてアミノ酸番号167-171のLPKTGへの置換がRasの

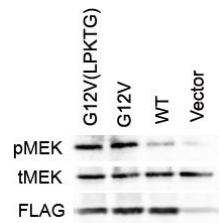


図4 LPKTG変異の生理的活性への影響。

H-Ras<sup>CVLS</sup>とH-Ras<sup>C(Far)OMe</sup>の $[^{15}N, ^1H]$ -HSQCスペクトルを比較した結果、アクチベータ領域またはその近傍に位置するPhe28, Asp54, Ile55及びSwitch II中の $\alpha 2$ ヘリックスとそれに隣接する $\alpha 3$ ヘリックスに位置するAla66-Arg68, Thr74, Gly75, Lys104由来のシグナルが翻訳後修飾依存的に変化していた(図5)。これらの結果は、変化が観察された残基にC末端領域が結合する、もしくはそれらの残基で立体構造変化が誘起されていることを示唆していた。また、上記の分子表面上に位置する残基に加え、Val8, Gly77-Leu79、Val81などの分子内部で疎水性コアを形成している残基も有意なシグナル変化を示した(図5)。以上の結果を受けて以下の

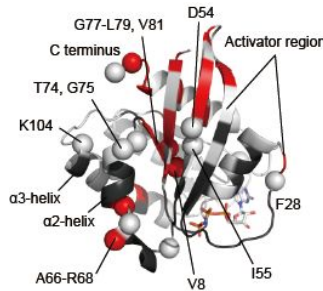


図5 HVR並びに翻訳後修飾依存的に化学的環境が変化した領域。有意なシグナル変化が観察された残基をそれぞれ赤色、Sphereで示す。未帰属等の理由で解析ができなかった残基を黒色で示す。

## (2)(3)の実験を実施した。

(2) H-RasのC末端合成ペプチドとH-Rasの直接結合の解析:C末端領域とH-Ras(1-166)領域との相互作用の有無を検証するため、NMRを用いてC末端合成ペプチドC(Far)OMeと $^{15}N$ 標識H-Ras(1-166)との直接結合の評価を行った。その結果、C末端合成ペプチドC(Far)OMeの添加に伴い、アクチベータ領域に位置するTyr40並びに $\alpha 2$ ヘリックスのアクチベータ領域側に位置するAla66, Gln70, Thr74の有意なシグナル変化が見られた(図6)。このことはC末端合成ペプチドが

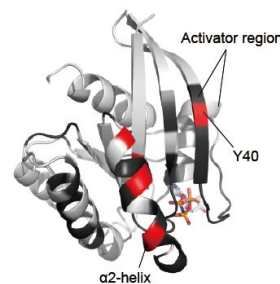


図6 合成ペプチドC(Far)OMeの結合部位。合成ペプチド添加に伴うシグナル変化を示した残基を赤色で示す。未帰属等の理由で解析ができなかった残基を黒色で示す。

ことから、翻訳後修飾部位はC末端領域とH-Ras(1-166)との結合の安定化に寄与するこ

とが示唆された。以上の結果と研究成果 2-(1)から、全長 H-Ras において C 末端領域は  $\beta$ シートを中心とした領域を介して H-Ras(1-166) 領域と分子内相互作用していることが明らかになった。また翻訳後修飾依存的なシグナル変化がアクチベータ領域近傍で見られることから(図 5)、この分子内相互作用は一次配列上遠位の翻訳後修飾構造をアクチベータ領域の近傍に配置することで、第二の結合に有利な立体構造を形成していると考えられた(図 8)。

(3) X 線結晶解析による翻訳後脂質修飾を受けた H-Ras の高次構造決定：研究成果 2-(1)では C 末端領域の主な相互作用部位の他に疎水性コアを形成している残基のシグナル変化が観察されている。これらの残基は蛋白質内部に位置しているため C 末端領域と相互作用することはできず、それら自身もしくは周辺領域の立体構造が変化している可能性が考えられた。そこで H-Ras<sup>C(Far)OMe</sup> 単体の X 線結晶構造解析を行った。その結果、上述の疎水性コア領域に近接した Switch II 中の  $\alpha 2$  ヘリックス及び  $\alpha 3$  ヘリックスの C 末端側が、GppNHp 結合型 H-Ras(1-166) とは異なる立体構造を有していることが明らかになった(図 9)。これらの領域は標的分子との複合体形成や GTP 加水分解等の生理的活性発現に関わることが示されている。そのため、これまでの生化学・物理化学実験ではその取扱いの容易さから主に H-Ras(1-166)が用いられてきたが、Ras の活性パラメータを正確に得るためには今後翻訳後修飾された全長 H-Ras を用いる必要がある可能性が示唆された。この問題提起に取り組む上で、本研究成果は 1 つの有効な手段となると考えられた。また得られた結晶構造中では C 末端領域の電子密度が観察されなかった。このことは C 末端領域が結晶構造中で複数の構造を有していることを示唆している。実際に、NMR 及び表面プラズモン共鳴法の二つの結合実験(研究成果 2-(2))において、C 末端領域と H-Ras(1-166)との親和性が非常に弱いことが示唆されている。このことから、分子内相互作用によって形成される第二の結合に有利な立体構造

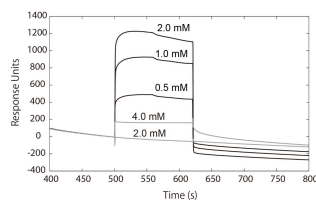


図 7 表面プラズモン共鳴法で観察された H-Ras(1-166) と合成ペプチド CVLS (灰色) 並びに C(Far)OMe (黒) との結合。各実験時の合成ペプチド濃度を各センサーグラムに付している。

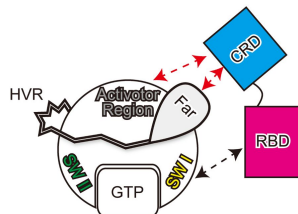


図 8 全長 H-Ras と c-Raf-1 との第一の結合及び第二の結合の模式図

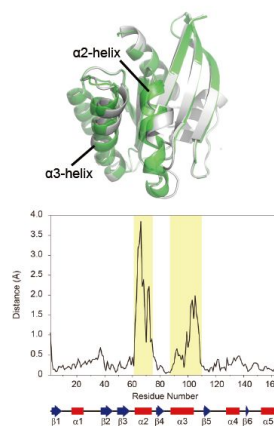


図 9 H-Ras<sup>C(Far)OMe</sup> (灰色) と既知の H-Ras(1-166) (緑) との立体構造上の違い。(上) 立体構造の重ね合わせ(下) 重ね合わせにおける各構造間の  $\alpha$ 原子間距離。 $\alpha 2$  ヘリックスと  $\alpha 3$  ヘリックスを黄色でハイライトしている。

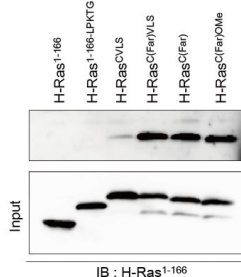


図 10 ファルネシル基依存的な GST-c-Raf-1・CRD との相互作用。

は一過的に形成されると考えられた。3. c-Raf-1・CRD と翻訳後修飾を受けた H-Ras の相互作用解析：本研究で得られた翻訳後修飾型 H-Ras による c-Raf-1 の認識機構を解明するため、まず翻訳後修飾中間体を含む全長 H-Ras と GST-c-Raf-1・CRD との結合をプルダウン法により検証した。その結果、翻訳後修飾依存的な GST-c-Raf-1・CRD の結合が観察された(図 10)。また各翻訳後修飾中間体間の結合活性に有意な差は観察されなかった。このことから、c-Raf-1・CRD の認識は翻訳後修飾の第一段階で付加されるファルネシル基によって主に担われていると考えられた。次に、c-Raf-1・CRD を <sup>15</sup>N 標識 H-Ras<sup>C(Far)OMe</sup> に添加して [<sup>15</sup>N, <sup>1</sup>H]-HSQC スペクトルの変化を観察したところ、予想に反して H-Ras(1-166) 領域の

有意なシグナル変化は観察されなかった。一方、c-Raf-1・RBD+ CRD を添加した際にはアクチベータ領域に位置する残基の顕著なシグナル変化が観察された。そこで、c-Raf-1・RBD - H-Ras<sup>C(Far)OMe</sup> 複合体に対して同様に c-Raf-1・CRD の結合実験を実施した。その結果、アクチベータ領域上の残基で翻訳後修飾依存的なわずかなシグナル変化が観察された。定量的な解析のためには実験条件をさらに最適化する必要があるものの、これらの結果は、第二の結合には翻訳後修飾に加え c-Raf-1・RBD 結合によるアクチベータ領域の立体構造変化を要する可能性を提示するものである。この仮説を立証するために、第二の結合が喪失するアクチベータ領域変異体 H-RasN26G や V45E を用いた同様の結合実験、及び H-Ras<sup>C(Far)OMe</sup> と c-Raf-1・RBD+CRD との複合体の結晶構造解析が今後の研究課題として挙げられる。さらに将来的な展望として、PLC $\epsilon$ など他の標的蛋白質群との相互作用を本研究で示された第二の結合に係る概念に基づいて解析することで、これまで未知の

Ras の標的蛋白質認識機構の存在が見つかる可能性がある。

本研究成果の 1, 2 については、FEBS Letters 誌に論文投稿し(Ke, H.ら、Structural basis for intramolecular interaction of post-translationally modified H-Ras•GTP prepared by protein ligation)、採択に向け revise 版を送付中である。

#### 5 . 主な発表論文等

( 研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線 )

[ 雑誌論文 ] ( 計 7 件 )

- (1) Wakita M., Edamatsu H., Li M., Emi A., Kitazawa S., and Kataoka T. Phospholipase C $\epsilon$  activates nuclear factor- $\kappa$ B signaling by causing cytoplasmic localization of ribosomal S6 kinase and facilitating its phosphorylation of inhibitor  $\kappa$ B in colon epithelial cells. J. Biol. Chem. 291: 12586-12600, 2016( 査読有 )DOI: 10.1074/jbc.M116.717561
- (2) Maeta K., Edamatsu H., Nishihara K., Ikutomo J., Bilasy SE., and Kataoka T. Crucial role of Rapgef2 and Rapgef6, a family of guanine nucleotide exchange factors for Rap1 small GTPase, in formation of apical surface adherens junctions and neural progenitor development in the mouse cerebral cortex. eNeuro 3: 0142-16, 2016( 査読有 )DOI: <http://dx.doi.org/10.1523/ENEURO.0142-16.2016>
- (3) Matsumoto S., Miyano N., Baba S., Liao J., Kawamura T., Tsuda C., Takeda A., Yamamoto M., Kumasaka T., Kataoka T., and Shima F. Molecular mechanism for conformational dynamics of Ras-GTP elucidated from in-situ structural transition in crystal. Scientific Reports 6: 25931, 2016 ( 査読有 ) DOI: 10.1038/srep25931
- (4) Shima, F., Matsumoto, S., Yoshikawa, Y., Kawamura, T., Isa, M., and Kataoka, T. Current status of the development of Ras inhibitors. J. Biochem. 158: 91-99, 2015( 査読有 ) DOI: 10.1093/jb/mvv060
- (5) Levy, R. J., Kvajo, M., Li, Y., Tsvetkov, E., Dong, W., Yoshikawa, Y., Kataoka, T., Bolshakov, V. Y., Karayiorgou, M., and Gogos, J. A. Deletion of Rapgef6, a candidate schizophrenia susceptibility gene, disrupts amygdala function in mice. Translational Psychiatry 5: e577, 2015 ( 査読有 ) DOI: 10.1038/tp.2015.75
- (6) 島扶美、吉川陽子、松本篤幸、片岡徹、*ras* がん遺伝子産物 Ras を分子標的としたがん治療薬開発の現状、*がん分子標的治療*、13 巻: 92-98、2015 ( 査読有 )
- (7) Nagano T., Edamatsu H., Kobayashi K., Takenaka N., Yamamoto M., Sasaki N., Nishimura Y., and Kataoka T. Phospholipase C $\epsilon$ , an effector of Ras and Rap small GTPases is required for airway inflammatory response

in a mouse model of bronchial asthma. PLOS ONE 9: e108373, 2014 ( 査読有 ) DOI: 10.1371/journal.pone.0108373

[ 学会発表 ] ( 計 12 件 )

- (1) 村嶋 陽亮、Haoliang Ke、松本 篤幸、枝松 裕紀、片岡 徹。Sortase A を利用した翻訳後脂質修飾型 Ras の産生と構造生物学的研究、第 14 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム、ロジ舞洲 ( 大阪府大阪市 )、2016 年 8 月 27 日
- (2) Kataoka, T. Structure-based drug design of small-molecule Ras inhibitors having anti-tumor activity. 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会、神戸国際展示場・神戸国際会議場 ( 兵庫県神戸市 )、2016 年 7 月 29 日
- (3) Kataoka, T. Development of anti-cancer drugs targeting the Ras signaling pathway. 2015 Kobe University-Taipei Medical University Joint Symposium、Taipei Medical College (Taipei, Taiwan)、2015 年 12 月 22 日
- (4) 片岡 徹、*ras* がん遺伝子産物を分子標的とした抗がん剤のインシリコ創薬、情報計算化学生物学会 (CBI 学会) シンポジウム「アカデミア創薬」、タワーホール船堀 ( 東京都江戸川区 )、2015 年 10 月 28 日
- (5) 片岡 徹、分子標的がん治療薬の開発と SPring-8、SPring-8/SACLA コンファレンス 2014 「進化する光が拓く科学技術」、JP タワーホール&カンファレンス ( 東京都千代田区 )、2014 年 12 月 1 日

[ 図書 ] ( 計 1 件 )

- (1) Shima, F., Kataoka, T. SPring-8/JASRI, SPring-8 Research Frontiers 2013, 2014, 154 (12-13)

[ その他 ]

Homepage:<http://www.med.kobe-u.ac.jp/molbiol/>

#### 6 . 研究組織

(1) 研究代表者

片岡 徹 ( KATAOKA, Tohru )  
神戸大学・医学研究科・教授  
研究者番号 : 40144472

(2) 研究分担者

島 扶美 ( SHIMA, Fumi )  
神戸大学・科学技術イノベーション研究科・教授  
研究者番号 : 60335445

枝松 裕紀 ( EDAMATSU, Hironori )

神戸大学・医学研究科・講師  
研究者番号 : 70335438

松本 篤幸 ( MATSUMOTO, Shigeyuki )

神戸大学・医学研究科・特命助教  
研究者番号 : 00753906