

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

目 次

課題番号

20030895A KH21009	リン脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	西島正弘 …… 1
896A KH21010	低酸素センサーを介する虚血性および変性性神経疾患の機序解明と新規治療薬開発	芝崎 太 …… 6
897A KH21011	細胞内情報伝達分子を標的とした抗ウイルス剤および抗癌剤の開発	松田道行 …… 19
898A KH21012	抗動脈硬化性リポ蛋白質HDLの代謝制御機構	新井洋由 …… 25
899A KH21013	ゲノム修復と細胞分裂に関連する因子の構造機能解析と応用に関する研究	葛西正孝 …… 33
900A KH21014	難治性疼痛に関与するATP受容体の機能解析と医療への応用	井上和秀 …… 39
901A KH21015	動脈硬化症進展阻止のための血管内皮細胞特異的発現EDG受容体作働薬・拮抗薬の開発	望月直樹 …… 47
902A KH21016	天然物由来シグナル伝達制御物質の探索と創薬への応用に関する研究	上原至雅 …… 51
903A KH21017	肥満/糖尿病発症予防のためのターゲット遺伝子の同定と制御法の開発	江崎 治 …… 55
904A KH21018	ゲノム情報にもとづいた移植免疫抑制にかかわる遺伝子の検索と創薬への応用に関する研究	絵野沢 伸 …… 59
905A KH21019	神経・免疫・内分泌相関による生体防御機構の解明と創薬	田平 武 …… 62
906A KH21020	レクチン機能を利用した血管における生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 …… 67
907A KH21021	感染症に関連した免疫異常の解析と新規制御物質の開発	鈴木和男 …… 74
908A KH21022	自己免疫性膵炎発症に関連するIgG 4型抗体の認識する自己抗原の検索、ならびに特異的診断システムの開発	川 茂幸 …… 84
909A KH21024	動物細胞におけるラフト等の脂質膜ドメインを介した生体機能調節機構の解析と疾病関連因子探索への応用	北川隆之 …… 89
910A KH21025	新規サイトカインの炎症性疾患における役割の解析と創薬への応用	山越 智 …… 95
911A KH21026	マイクロアレイDNAチップを用いた各種病態関連発現遺伝子の解析	辻本豪三 …… 104
912A KH21027	細胞死をもたらすストレスシグナル伝達機構の解析および生体防御機構の解明	桃井 隆 …… 111
913A KH22071	ウイルスの侵入および発芽過程を標的とした次世代抗インフルエンザ薬の開発	鈴木康夫 …… 118
914A KH22072	サイトカインシグナル制御分子による慢性関節リウマチの治療薬の開発	吉村昭彦 …… 121
915A KH22073	T細胞の活性化およびヘルパーT細胞サブセットの分化を特異的に制御する手法の樹立	宮武昌一郎 …… 125
916A KH22082	変異型HB-EGFノックインマウスによる循環器疾患の解析	目加田英輔 …… 133

T細胞の活性化およびヘルパーT細胞サブセットの分化を特異的に制御する手法の樹立

所 属	(財) 東京都医学研究機構 東京都臨床医学総合研究所 免疫研究部門
研究者	宮武昌一郎

研究分担者

- | | |
|--|------|
| (1) 東京大学医科学研究所・染色体制御部門 | 新井賢一 |
| (2) (財) 東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・細胞生物学研究部門 | 正井久雄 |
| (3) (株) 医学生物学研究所・研究開発部 | 玉井克之 |

要旨

免疫系で機能するふたつの転写因子 NFAT と GATA3 に着目し、相互作用する分子の同定、結合親和性の詳細な解析、結合阻害分子の設計・探索をおこない、特異性が高く副作用の少ない免疫抑制剤やヘルパーT細胞分化制御剤の開発をおこなうことが目的である。NFAT については、アルファースクリーン法によるカルシニューリンと NFAT ファミリー、カルシウム制御ドメインの結合領域とその結合親和性の詳細な解析をおこない、各 NFAT サブタイプで、すくなくとも3カ所以上の領域がカルシニューリンとの結合に関与することを明らかにした。またカルシニューリン結合領域を含む種々のペプチドにおいて、in vitro での結合親和性の強度と細胞内での NFAT 抑制作用には明確な相関が認められた。RNA 干渉法を用いた NFAT サブタイプの機能解析において、サブタイプとサイトカイン遺伝子の特定の組み合わせでは、NFAT が負の制御因子として機能することが、明らかとなった。この点は、NFAT の抑制作用を持つ薬剤の開発において考慮する必要がある。GATA3 については、GATA3 を含む複合体の構成タンパク質群の同定に成功した。また GATA3 が STAT4 の抑制を介して、IFN γ 遺伝子の発現を抑制するという分子機構の存在を明らかにした。

1. 研究目的

種々の薬剤の作用機序としては、酵素が基質に結合する構造であるポケットに結合することにより作用する活性阻害剤、あるいは、低分子リガンドと結合する受容体（Gタンパク質共役受容体や核内受容体など）のリガンド結合ポケットに結合するアゴニストあるいはアンタゴニストがほとんどである。タンパク質や核酸などの高分子間結合を標的としたものは非常に少ない。しかし、多様な刺激に対する細胞応答に関与する様々なパスウェイ

イが明らかとなっており、それらの多くは特異的な高分子間相互作用により成り立っている。そこで、このような細胞内で機能する分子間相互作用を特異的に阻害する物質を探索し、創薬に結び付けられないかという試みが本研究の主要なテーマである。免疫系で機能するふたつの転写因子NFATとGATA3に着目し、転写因子を標的とする薬剤、また分子間相互作用を制御することにより機能する薬剤の開発法を検討した。NFATについては、その活性化に必要な分子であるフォスファターゼ、カルシニューリンとの相互作用を阻害することにより作用する免疫抑制剤、サイクロスポリンやFK506（タクロリムス）が存在する。これらの薬剤は細胞内結合タンパク質である、サイクロフィリンおよびFKBPと複合体を形成し、複合体がカルシニューリンに結合することにより、カルシニューリンを阻害する。これは活性中心に結合し酵素活性を抑制するのではなく、複合体の結合が立体障害をひきおこし、基質との結合を阻止することによる。このカルシニューリン-NFAT分子間相互作用をモデルとして、分子間結合の阻害物質の探索をおこなった。定量的かつ迅速に分子間相互作用を測定する実験系を樹立し、新しい結合領域を同定した。また結合阻害活性を持つペプチドや低分子化合物を同定した。サイトカイン産生を指標として、生物活性と *in vitro*系での結合阻害活性の程度や特徴を比較した。

Th2細胞は、IL-4、IL-5、IL-13といったサイトカインの産生を通じて、喘息、皮膚炎、鼻炎、食物アレルギーなどのアレルギー性疾患の発症に関与すると考えられている。Th2細胞の分化は、マスターレギュレーターともいえる転写因子GATA3により誘導される。そこで、GATA3の機能発現に必要な他の分子との相互作用を阻害することにより、Th2細胞の誘導を阻害する薬剤の開発をめざし、GATA3分子の各ドメインの機能の分析、GATA3と相互作用する分子群の分離同定をおこなった。

2. 研究方法

I. NFATファミリーを標的とする薬剤の開発

a. 各NFATサブクラスとカルシニューリンの結合領域のマッピングおよび結合親和性の解析

GST、Hisタグ、FLAGタグ、MBP（Maltose Binding Protein）などのタグを種々の組み合わせでC末とN末と融合した、各NFATサブタイプのカルシニューリン結合領域全体あるいは一部を、大腸菌で量産し、それぞれのタグに対するアフィニティークラムで高純度に精製する。カルシニューリンAおよびBサブユニットも別々に、あるいは同一大腸菌で量産し、リコンビナント蛋白質として精製した。純化したこれらの蛋白質を用い、増幅ルミネッセンス近接ホモジニアスアッセイ法（アルファスクリーン法）を用いて、結合親和性を解析する。親和性が低い分子間結合もできるかぎり測定するため、結合を直接測定せず、特定のNFATカルシウム制御領域とカルシニューリンとの結合に対する、結合阻害活性を測定し、IC₅₀として定量した。カルシニューリン結合に必要として、一部のNFATサブタイプで報告されているアミノ酸配列を持ったペプチドの結合阻害活性も検討する。これらの実験を通して、すべてのNFATサブタイプで、カルシニューリンとの結合に必需な領域の同定をおこない、その親和性も測定した。

b. NFAT/カルシニューリン結合阻害分子の生物活性の検定

アルファスクリーン法を用いた *in vitro*の解析で得られた情報をもとに、細胞レベルでのNFAT依存

性転写活性の阻害効果を検討した。細胞としては、ヒトT細胞白血病細胞株Jurkatを用いた。様々なカルシニューリン結合領域あるいは結合モチーフを持つペプチドを、GFPとの融合タンパク質として発現させる。発現量はトランスフェクションに用いるプラスミド量を変えることで変化させ、GFPの発現量として定量した。IL-2遺伝子プロモーター領域にあるNFAT結合配列を持つルシフェラーゼレポータープラスミドを同時に導入し、抗原受容体活性化にともなうカルシニューリン-NFAT依存性転写活性に対する効果を解析した。

c, RNA干渉法を用いた、NFATサブタイプ特異的機能の解析

カルシウムにより制御される4種類のNFATサブタイプをすべて発現しているJurkat細胞に、RNA polymerase I依存性のU6プロモーターにより、ヘアピンタイプのsiRNAを発現させ、各NFATサブタイプの発現を抑制した。RealtimePCRによるmRNA量とウェスタンブロットによるタンパク量の解析によりsiRNAの効果を判定し、内在性サイトカインの発現、およびレポーターアッセイにより、各種サイトカイン遺伝子の転写誘導に対する作用を検討した。

II、GATA3を標的とする薬剤の開発

a、GATA3を含む複合体の分離・構成蛋白質の同定

GATA3にFLAGタグを融合した遺伝子を、T細胞に発現し、FLAGタグに対するアフィニティーカラムを用いて、GATA3を含む複合体を精製した。Th2サイトカインであるIL-4およびIL-5を産生し、大量培養が容易なT細胞株EL4を用いた。構成的にFLAG-GATA3を発現する細胞株が樹立できなかったため、MerCreMerとLoxP配列により、エストロゲン類似分子4ヒドロキシタモキシフェン(4HT)によりFLAG-GATA3が誘導される細胞株を樹立した。4HT存在下と非存在下で大量培養し、抗FLAG抗体のアフィニティーカラムにより複合体を精製し、LC-MS(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)により構成タンパク質の同定をおこなった。

b、GATA3によるIFN γ 遺伝子発現抑制の分子メカニズムの解析

RNA干渉法やGATAファミリー分子に対して抑制作用を持つFOG1およびCtBP2の過剰発現によるGATA3の抑制と過剰発現によるGATA3の増大により、サイトカイン産生にどのような影響があるのか解析した。IFN γ 遺伝子のプロモーター領域に存在するGATA結合配列に対するGATA3の作用をレポーターアッセイおよびEMSAにより解析した。さらにSTATファミリーの発現に対するGATA3の作用を、realtime PCRやレポーターアッセイを用いて解析した。

3、研究成果

I、NFATファミリーを標的とする薬剤の開発

これまで一部のNFATサブタイプで報告されてきたカルシニューリンとの結合領域(CNBR1およびCNBR2)が、すべてのNFATサブタイプに存在することが明らかとなった(図1)。

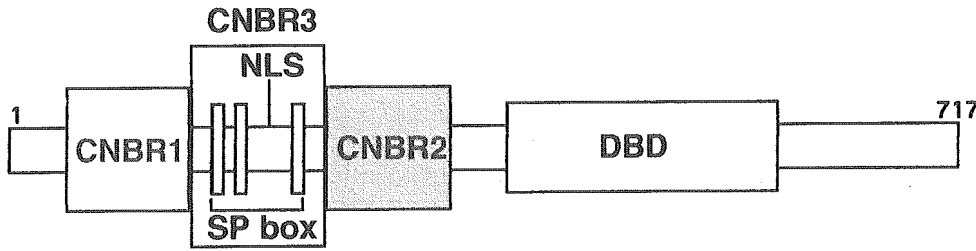


図1 NFATのドメイン構造

CNBR; カルシニューリン結合領域、CNBR3 は CNBR1 と CNBR2 の間の領域、NLS; 核局在配列、SP box; セリン-プロリン リピート、DBD; DNA 結合ドメイン

CNBR1 と CNBR2 の結合親和性の強さはサブタイプにより異なり、NFAT3 では CNBR1 が主要な結合領域と考えられた。カルシウム制御領域全体の結合親和性は、CNBR1 や CNBR2 単独よりも常に強い。また CNBR1 (N 末側に存在) と CNBR2 (C 末側に存在) の間に位置する領域 (CNBR3) に CNBR1 や CNBR2 に親和性が匹敵する結合活性が検出された。したがって各 NFAT サブタイプは、少なくとも3カ所でカルシニューリンと結合する。CNBR1 および CNBR2 の結合に関与すると報告されているアミノ酸配列を持った、より短いペプチドも結合親和性を示したが、相対的に弱かった。NFAT1 の CNBR1 由来の結合配列を改変して親和性を高めた VIVIT と呼ばれるペプチドでは、親和性は、CNBR1 に近かった。

CNBR1、2、3、VIVIT などの結合配列を持ったペプチドを、GFP 融合タンパク質の形で、Jurkat 細胞に導入し、NFAT 依存性の転写活性に対する効果を検討したところ、親和性の強度と相関して、抑制効果が認められた。しかし、VIVIT などのペプチドによる抑制効果は、*in vitro* で測定された結合親和性に比較して、細胞内では相対的に強いことが示された。

ヘアピンタイプの siRNA を Jurkat 細胞に発現し、各サブタイプの発現の抑制を試みたところ、NFAT1-4 の各サブタイプに対する siRNA は、50-70%、発現量を減少させた。各サブタイプの siRNA は、特異的であり、2種類以上のサブタイプが単一の siRNA により抑制されることはなかった。NFAT3 の抑制により、内在性のサイトカイン、IL-2、IL-4、IFN γ 、TNF α はすべて大幅に増大した。IL-2 および IL-4 は NFAT3 以外の NFAT の抑制により減少した。一方 TNF α や IFN γ といった炎症性サイトカインは、どの NFAT の抑制によっても発現量が増大した。IL-2 遺伝子および TNF α 遺伝子のプロモーター領域に存在する NFAT 結合配列をもったレポータープラスミドに対して、siRNA の効果を解析したところ、NFAT1 と NFAT4 の siRNA のみ IL-2-NFAT プロモーターを抑制し、TNF α -NFATプロモーターに対しては、NFAT1 の siRNA のみ強く抑制し、他のサブタイプでは、抑制効果はよわかった。いずれの場合も内在性の TNF α に対して見られたような、強い誘導は全く見られなかった。RNA 干渉法を用いたこのような解析においても、NFAT の特定のサブタイプが、一部のサイトカイン遺伝子の発現に対して、負の制御因子として機能していることを示唆する結果となった。

II、GATA3 を標的とする薬剤の開発

Th2 細胞株の核抽出液中の GATA3 は、0.5Mda 以上の分子量を持つ高分子複合体として存在することが、ゲル濾過による解析で明らかとなった。そこで誘導的に FLAG-GATA3 を発現する EL4 細胞の核抽出液より、抗 FLAG 抗体アフィニティーカラムにより、複合体を精製し、LC-MS 法により、構成分子を同定した。FLAG-GATA3 を誘導していない核抽出液も同様の処理をおこなうことで、FLAG-GATA3 に特異的な分子と、非特異的に分離された分子を識別した。FLAG-GATA3 を誘導した場合にのみ同定された分子のリストを以下に示す。いくつか興味深い分子を太字で示した。

78 kDa glucose-regulated protein (GRP 78)

DnaK-type molecular chaperone hsc70

Histone deacetylase 1 (HDAC1)

Melanoma antigen; melanoma antigen, 80 kDa

Procollagen-proline, 2-oxoglutarate 4-dioxygenase

Protein phosphatase 1B, magnesium dependent, beta isoform

RIKEN cDNA 2610312E17

Similar to actin related protein 2/3 complex, subunit 1B (41 kDa)

Similar to heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1

Similar to splicing factor 3a, subunit 1, 120kDa

TAR DNA binding protein

Translation elongation factor eEF-1 alpha chain

Unnamed protein product

Vasodilator-stimulated phosphoprotein

RNA 干渉法などいくつかの実験法により、Jurkat 細胞において、内在性 GATA3 は、IFN γ の発現を抑制的に、また IL-4 の発現には促進的に作用していた。IFN γ プロモーターには GATA 結合配列が存在したが、この配列を欠失させても GATA3 による抑制効果が認められたことから、GATA3 がプロモーター領域に直接結合し、転写活性を抑制する可能性は排除された。GATA3 による転写抑制に必要な領域を、レポータープラスミドを用いてマップしたところ、転写因子 STAT の結合配列が見いだされた。GATA3 が STAT1 および STAT4 の発現を抑制すること、また STAT4 が IFN γ プロモーターの転写活性を増大させることから、GATA3 は STAT4 を介して IFN γ プロモーターを抑制するという分子機構が示唆された。

4、考察

I、NFAT ファミリーを標的とする薬剤の開発

各 NFAT サブタイプのカルシウム制御ドメインには、3カ所以上のカルシニューリン結合領域が存在することが明らかとなった。カルシウム制御ドメインには10以上のリン酸化が制御されるセリン残基が存在し、カルシニューリンがそれらを次々と脱リン酸化すると考えると、基質の結合領域を変化させていく可能性がある。もし脱リン酸化されるセリン残基の順序がある程度決まっているような状況であれば、単一のカルシニューリン結合領域に対する阻害だけでも、NFATの活性化を強く抑制できる可能性がある。VIVITなどのペプチドが、*in vitro*での結合親和性が相対的に低いにもかかわらず、細胞内でのNFAT依存性転写活性に対する抑制作用が強いことは、このような仮説を支持すると考える。NFATサブタイプ間で、カルシニューリン結合領域について、大きな差異は認められず、サブタイプ特異的な抑制は、ペプチドや低分子化合物による競合的阻害では実現できないと思われる。今後、新たに見いだされた結合領域をより詳細に解析し、カルシニューリンとの結合に必用なアミノ酸配列を決定したい。またカルシニューリン側の結合に関与するアミノ酸残基も同定したい。

RNA干渉法を用いた各NFATサブタイプの発現抑制の実験から、NFATがサイトカインの発現に対して、負の制御因子としても機能することが示された。これは、遺伝子欠損マウスや我々が作製したトランスジェニックマウスの解析からも示されている。現在のところ、NFATがどのような分子機構により、転写を抑制するのか不明である。特定のNFATサブタイプが、カルシニューリン-NFATパスウェイに抑制的に作用する遺伝子の誘導をおこなっている可能性もある。NFATの機能抑制により、一部のサイトカインの発現は増大する可能性があることから、NFATを抑制する薬剤の作用が免疫抑制となるかは、動物レベルでも十分に検討する必要がある。

II、GATA3を標的とする薬剤の開発

HDAC1は、ヒストン脱アセチル化を通して転写に対して、抑制的に機能するケースが多いが、GATA3の場合に、Th2サイトカイン遺伝子の産生誘導にともなっている点が興味深い。Th2細胞分化が誘導されると、Th2サイトカインであるIL-4やIL-13のある染色体領域は、多くの部分でヒストンアセチル化を受ける。またTAR DNA binding proteinはDNAとRNAの両者に結合活性も有しており、GATA3による染色体のエピジェネティカルな変化の誘導機構に、RNA分子が関与する可能性も考えられる。機能不明なふたつの分子は、ともにタンパク質分子間の結合に用いられるWDリピートを有する分子であり、タンパク質分子同士を結び付けている可能性がある。

タンパク質の分離・同定は、技術革新により、その感度が非常に高くなったとはいえ、解析試料の量が充分あることが重要である。染色体を制御する分子群は巨大な複合体を形成しており、今回同定された分子には、このような複合体を形成するタンパク質がほとんど含まれていない。今後より多い量の精製産物を調製し、同様の解析を繰り返し、再現性を見ると同時に、より多くのタンパク質の同定をする必要がある。これらの分子が、GATA3と結合しているかどうか免疫沈降法など、他の実験法で確認する。またこの情報をもとにTh2細胞株におけるGATA3複合体を解析し、EL4細胞の場合と比較検討する予定である。

GATA3によるIFN γ 遺伝子の発現抑制を、Th1サイトカインであるIFN γ とTh2サイトカインであるIL-4の両者を発現するJurkat細胞を用いて解析した。その結果、GATA3は転写因子STAT4の発現量を抑制することにより、IFN γ 遺伝子の転写を抑制する可能性が示唆された。これは、Th1細胞からのIFN γ 産生に関してSTAT4が重

要な標的であることを示している。また GATA3 の作用が、おそらく STAT4 遺伝子プロモーターに対する転写抑制であることを示す実験結果を得ており、ナイーブT細胞からの Th1/2 分化においても、このような分子機構がどの程度関与しているのか、今後の解析が必要である。

ヘルパーT細胞サブセットの分化においては、染色体構造のエピジェネティカルな変化が重要であるが、Jurkat 細胞で見られるような転写レベルでの制御も存在し、この両者の分子機構の解析が進むことにより、概念としても明確に区別できることなのか、という重要な問題の解決につながると期待される。

5. まとめ

NFAT とカルシニューリンの結合を解析するアルファースクリーン法を用いて、カルシニューリンと結合する NFAT の領域のマッピングと結合親和性を測定した。これまで報告されていなかった新たな結合領域が見いだされた。NFAT のカルシニューリン結合領域を細胞内で発現させることにより、NFAT 依存性転写活性が抑制された。単一のカルシニューリン結合領域を発現させても、抑制活性は in vitro で測定される親和性に比べ相対的に強い。RNA 干渉法を用いて、各 NFAT サブタイプのサイトカイン遺伝子発現に対する作用を解析し、特定の NFAT サブタイプとサイトカインの組み合わせでは、NFAT が負の制御因子として機能することが明らかとなり、NFAT を標的とする薬剤の開発において、考慮する必要がある。GATA3 複合体の構成タンパク質を同定した。HDAC1 や TAR bonding protein など興味深い分子群が含まれていた。今後、GATA3 の染色体構造のエピジェネティカルな変化を誘導する機能において、これらの分子がどのような役割を担うのか、明らかにする必要がある。Th2 細胞分化のマスターレギュレーターである、GATA3 は、Th1 細胞特異的サイトカインである IFN γ 遺伝子の発現を、転写因子 STAT4 の発現の抑制を介して抑制するという分子メカニズムが明らかになった。

6. 研究発表

1. Chen, J., Amasaki, Y., Kamogawa, Y., Nagoya, M., Arai, N., Arai, K. and Miyatake, S. Role of NFATx (NFAT4/NFATc3) in Expression of Immunoregulatory Genes in Murine Peripheral CD4⁺ T Cells. *J. Immunol.* 170, 3109-3117, 2003.
2. Miyatake, S., Kamogawa, Y. and Arai, K. Cytokines, Extracellular Transport and Processing. In: *Encyclopedia of Endocrinology and Endocrine Disease*, ed. Martini, L., San Diego, Academic Press (in press)
3. Kaminuma, O., Kitamura, F., Kitamura, N., Miyagishi, M., Taira, K., Yamamoto, K., Miura, O., Miyatake, S. GATA-3 suppresses IFN- γ gene transcription independently of binding to the cis-regulatory elements. (submitted)
4. Tanaka, T., Taniyama, C., Arai, K., and Masai, H. ATPase/helicase motif mutants of Escherichia coli PriA protein essential for recombination-dependent DNA replication. *Genes to Cells*, 8, 251-261, 2003.
5. Sato, N., Sato, M., Nakayama, M., Saitoh, R., Arai, K. and Masai, H. Cell cycle regulation of chromatin binding and nuclear localization of Cdc7-ASK kinase complex. *Genes to Cells*, 8, 451-463, 2003.
6. Kim, J.M., Takemoto, N., Arai, K. and Masai, H. Hypomorphic mutation in an essential cell-cycle kinase causes growth

- retardation and impaired spermatogenesis. *EMBO J.* 22, 5260-5272, 2003.
- 7, Mizukoshi, T., Tanaka, T., Arai, K., Kohda, D. and Masai, H. A critical role of the 3'-terminus of nascent DNA chains in recognition of stalled replication forks. *J. Biol. Chem.* 278, 42234-42239, 2003.
 - 8, You, Z., Ishimi, Y., Mizuno, T., Sugasawa, K., Hanaoka, F., and Masai, H. Thymine-rich single-stranded DNA sequences specifically activate mouse Mcm4/6/7 helicase on Y-fork and bubble-like substrates. *EMBO J.* 22, 6148-6160, 2003.
 - 9, Fujita, K., Shimazaki, N., Ohta, Y., Kubota, T., Ibe, S., Toji, S., Tamai, K., Fujisaki, S., Hayano, T. and Koiwai, O. Terminal deoxynucleotidyltransferase forms a ternary complex with a novel chromatin remodeling protein with 82 kDa and core histone. *Genes Cells.*8, 559-71, 2003
 - 10, Mochida, S., Esashi, F., Aono, N., Tamai, K., O'Connell, M.J. and Yanagida, M. Regulation of checkpoint kinases through dynamic interaction with Crb2. *EMBO J.* 23, 418-28, 2004

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

平成16年9月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社