

資料10

図13

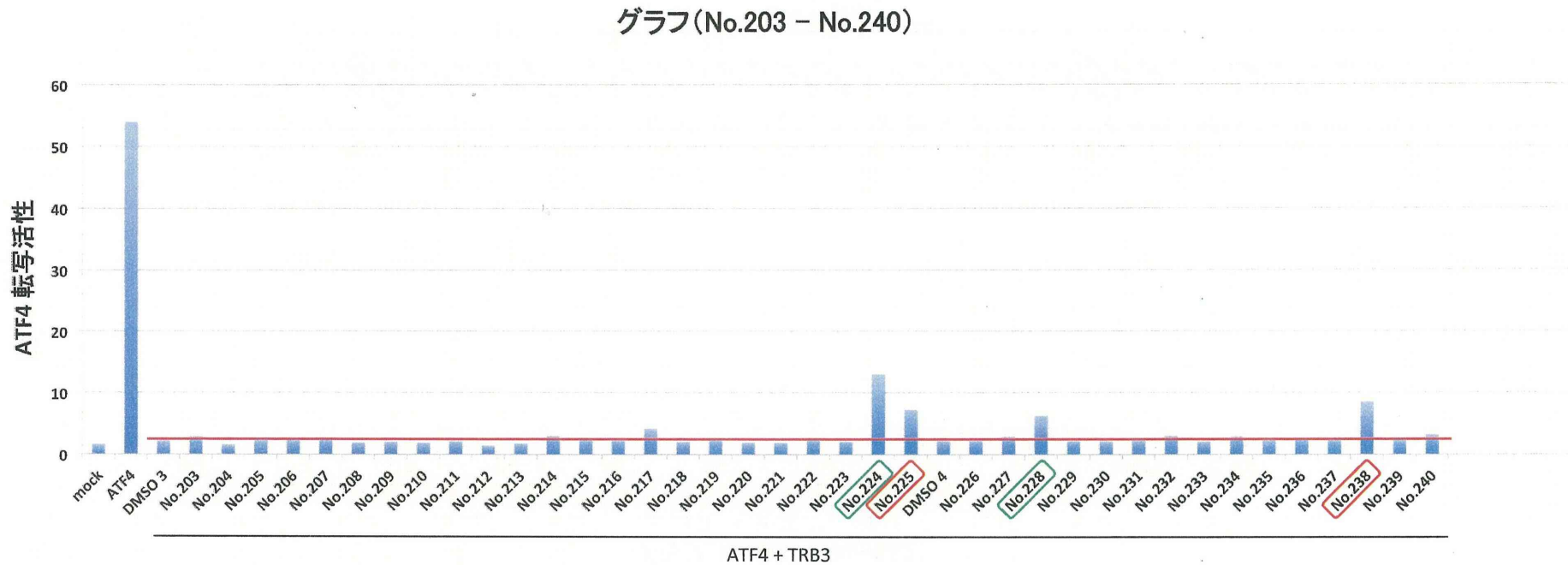


図13 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 6

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料11

図14

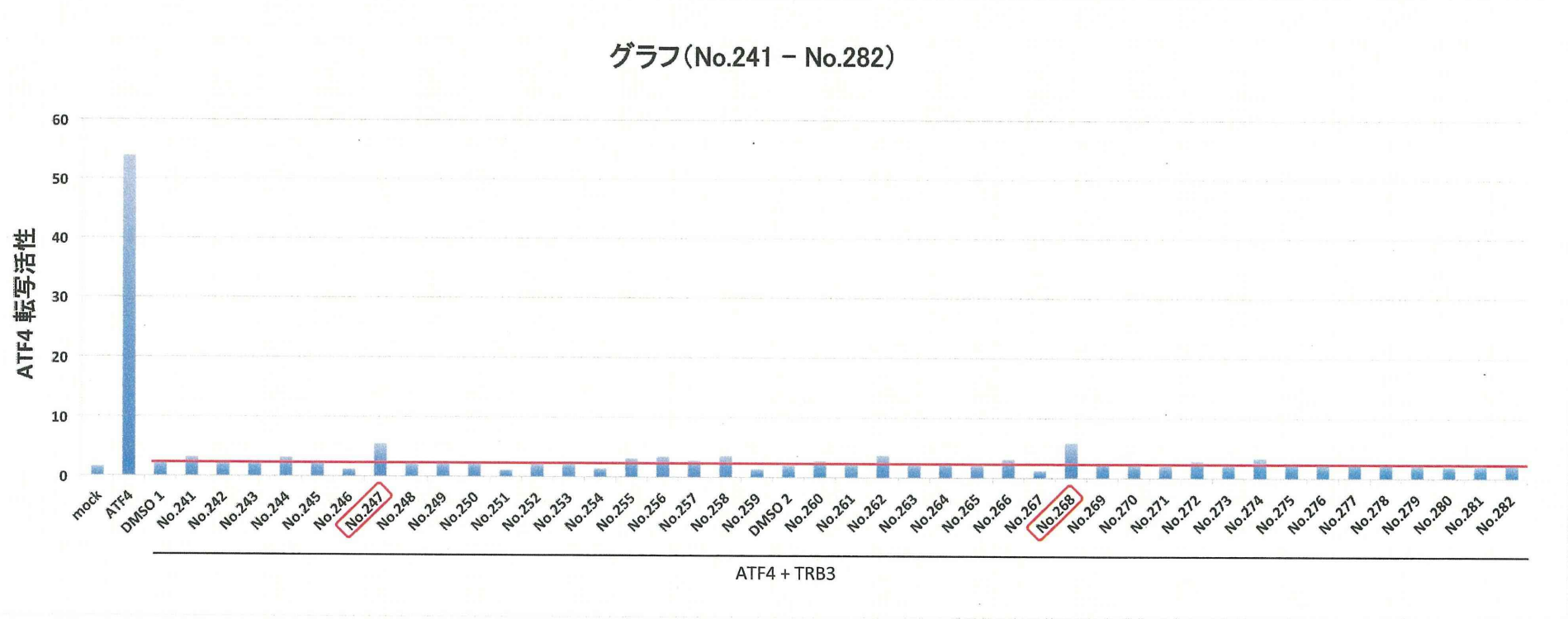


図14 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 7

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料12

図15

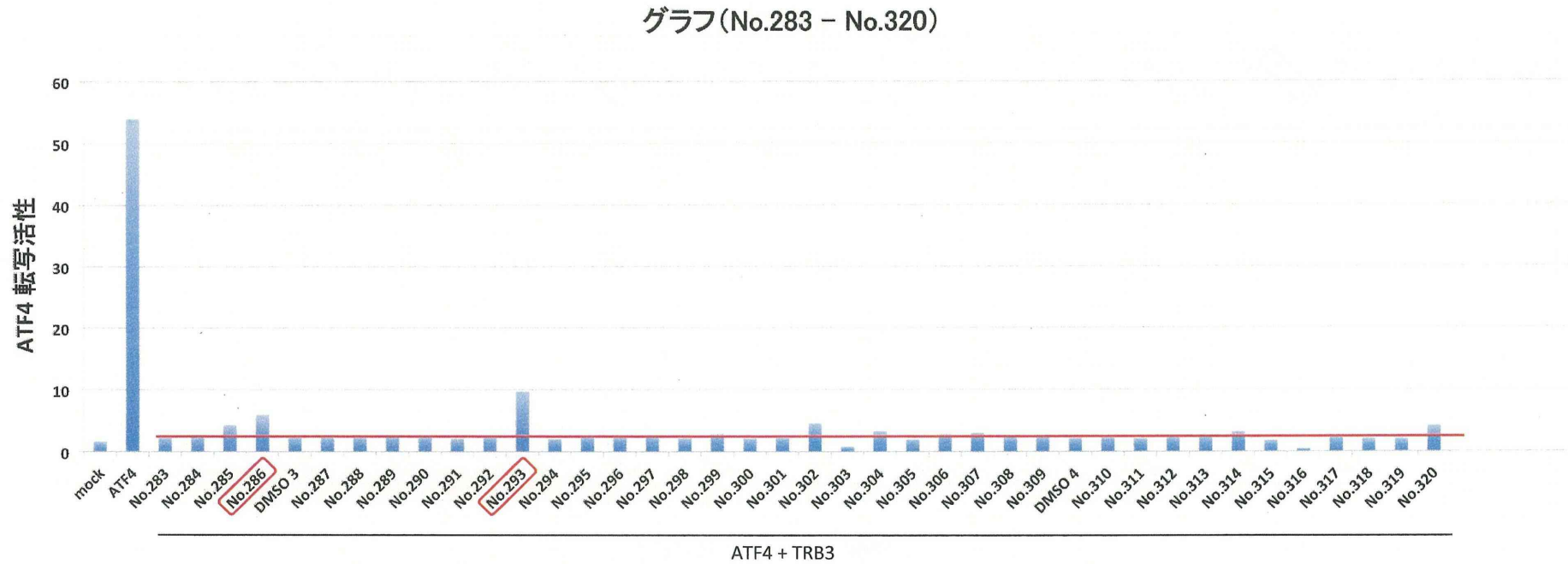


図15 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 8

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料13

図16

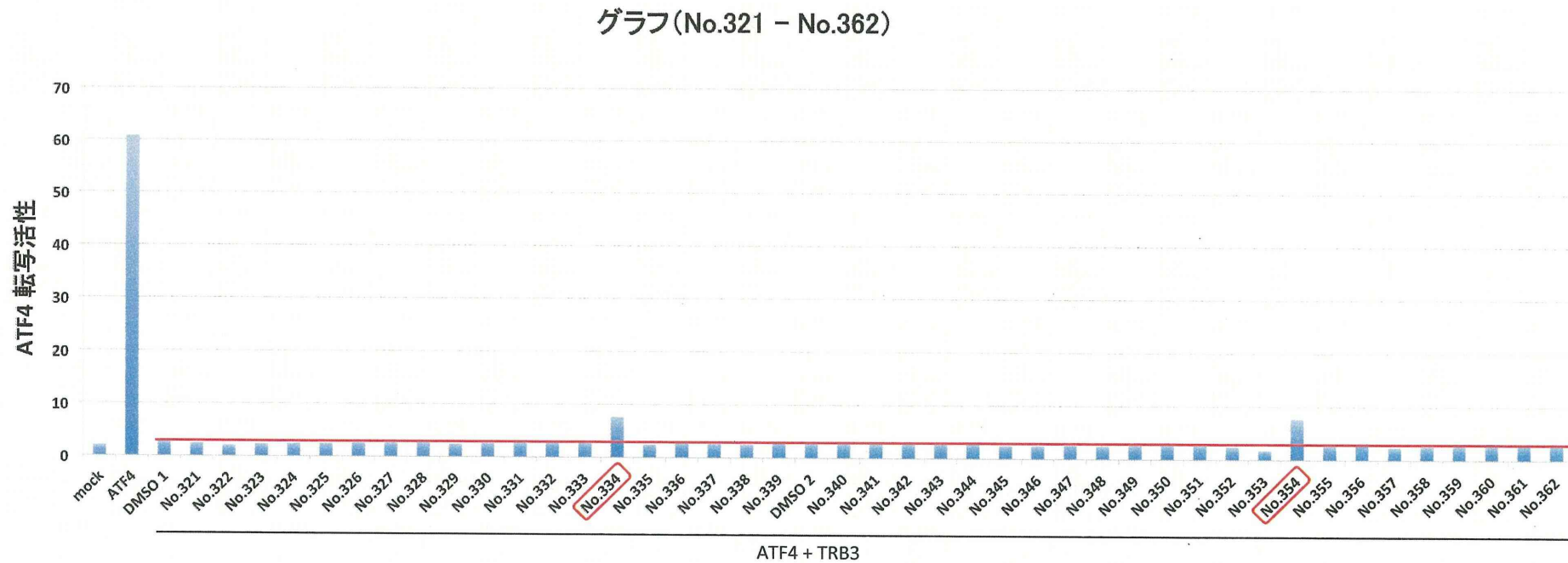


図16 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 9

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料14

図17

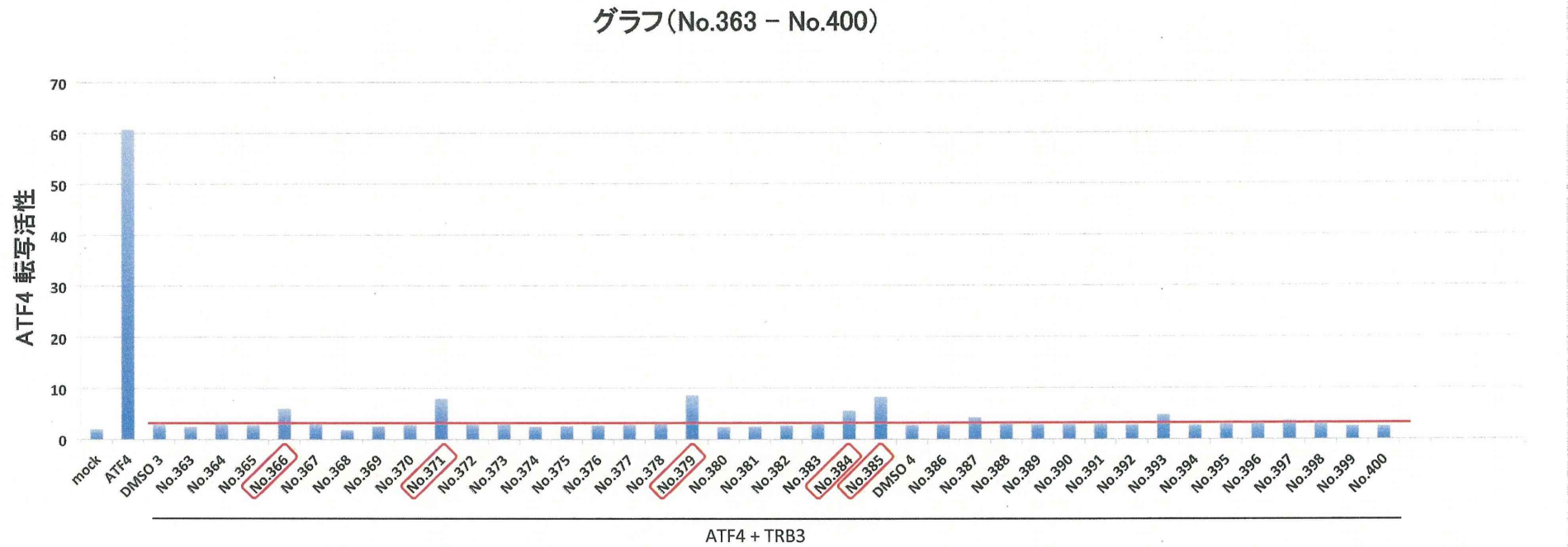


図17 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 10

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料15

図18

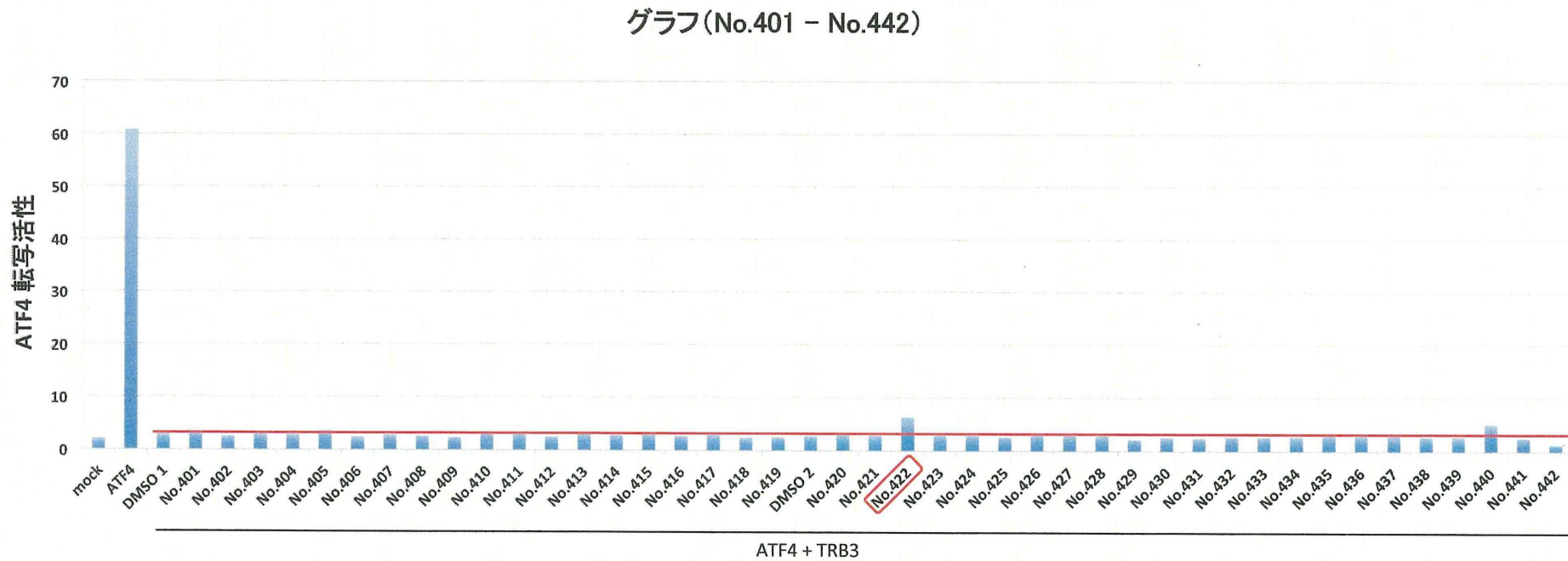


図18 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 11

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料16

図19

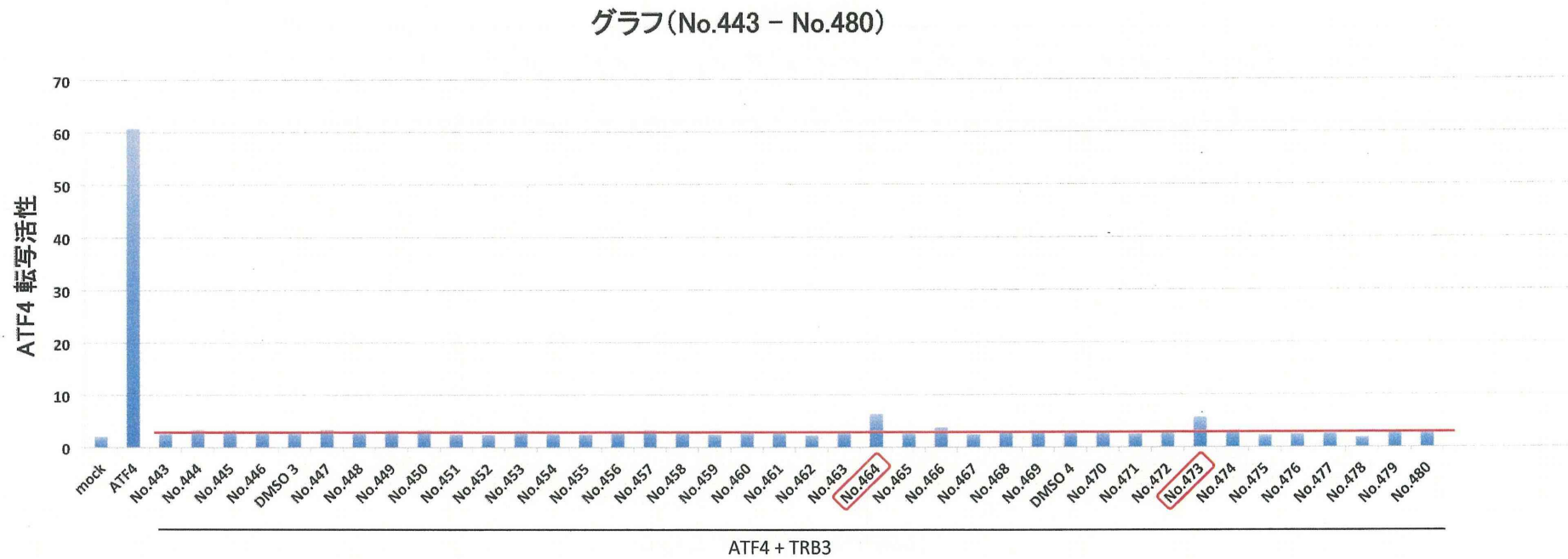


図19 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 12

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料17

図20

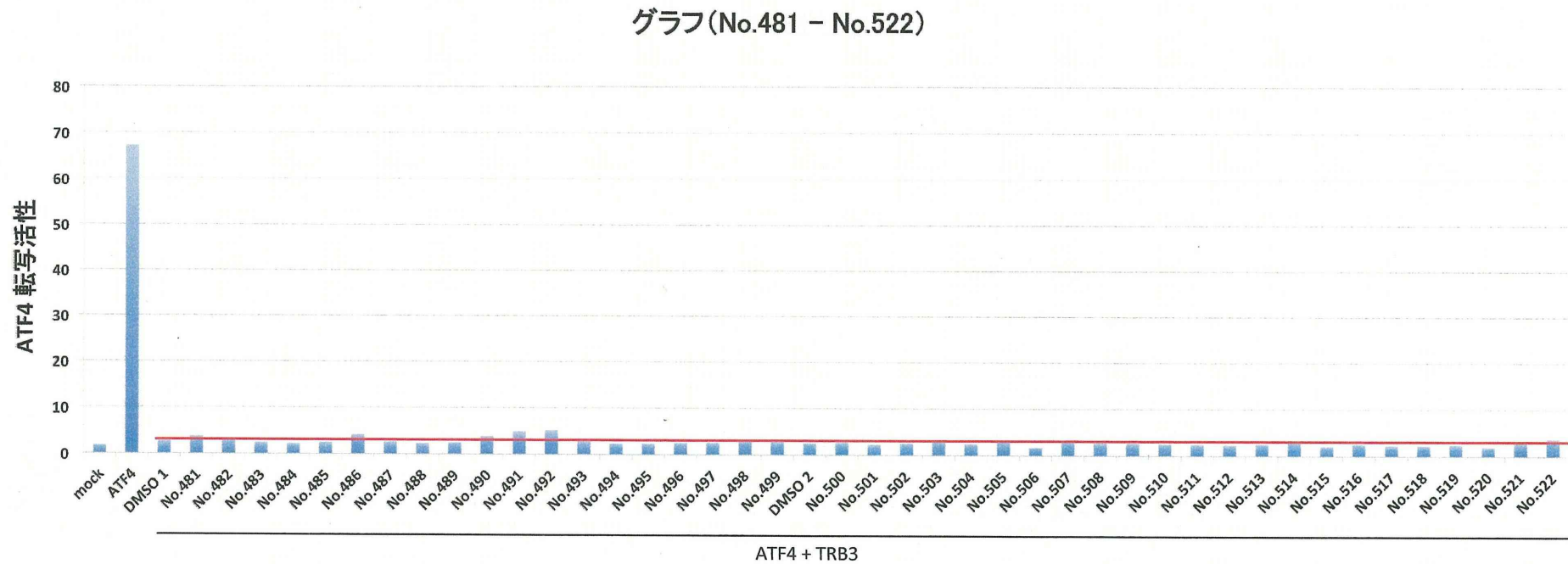


図20 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 13

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料18

図21

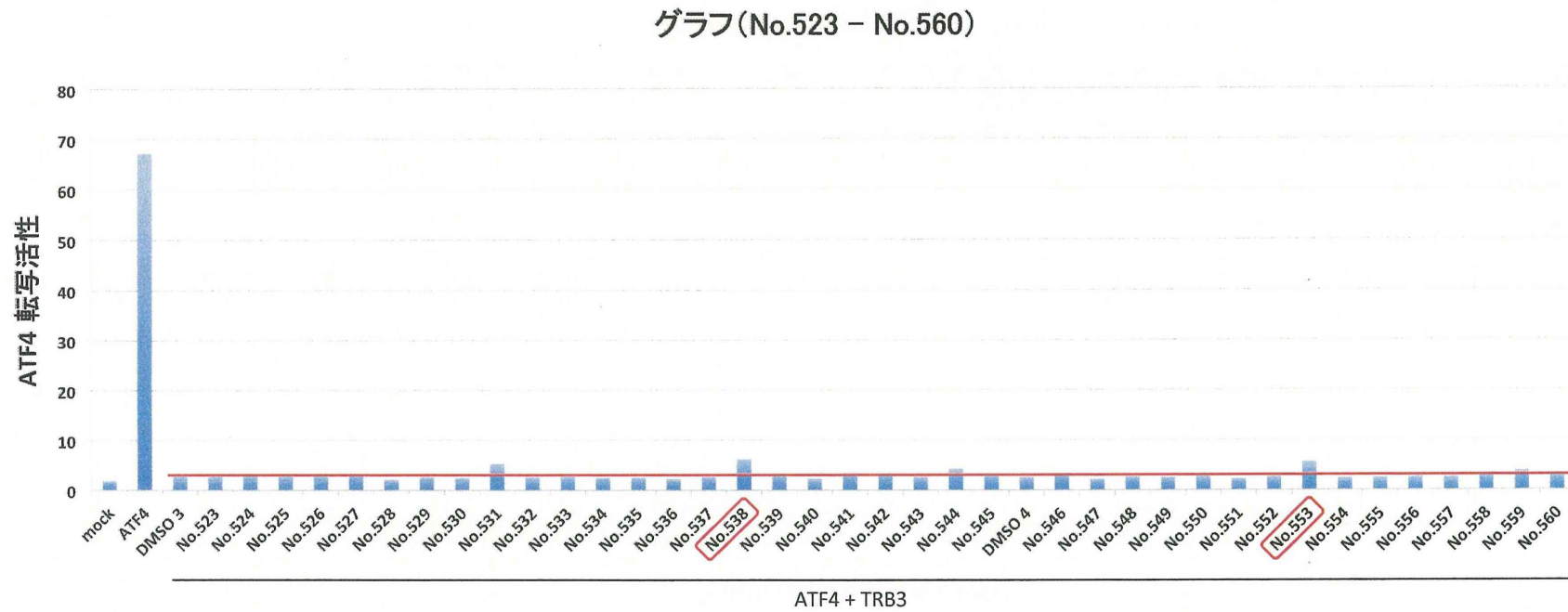


図21 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 14

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料19

図22

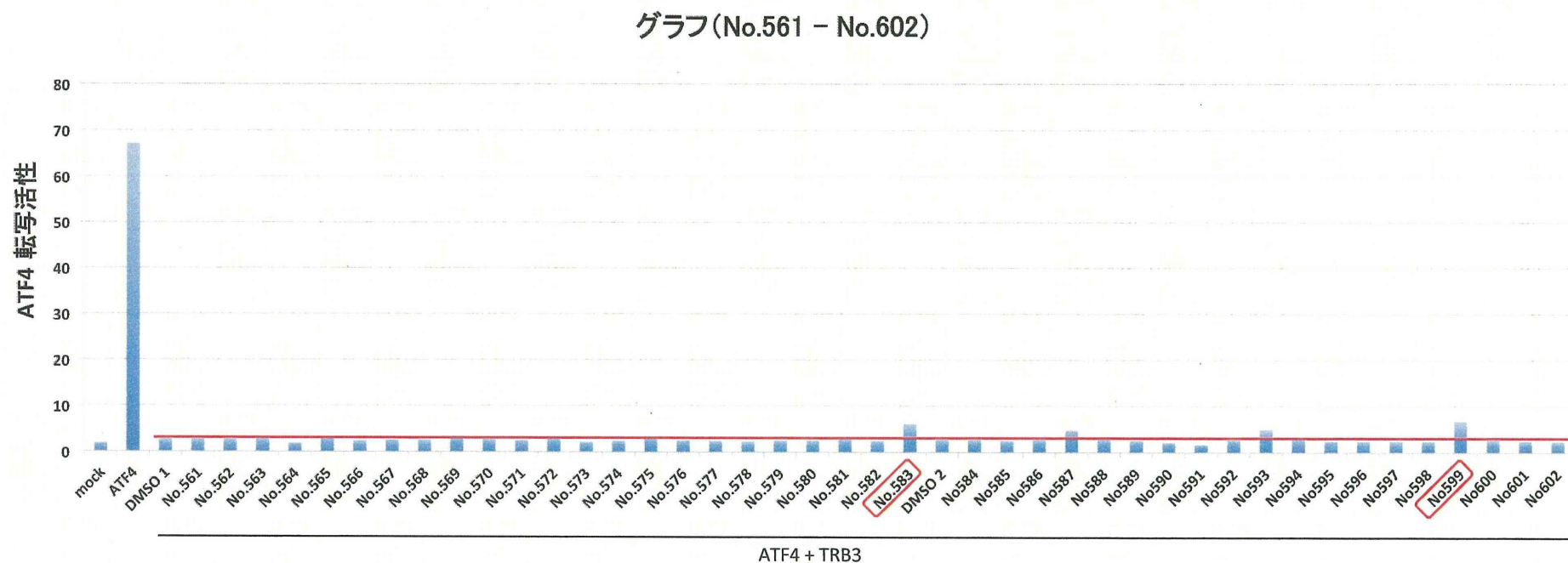


図22 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 15

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料20

図23

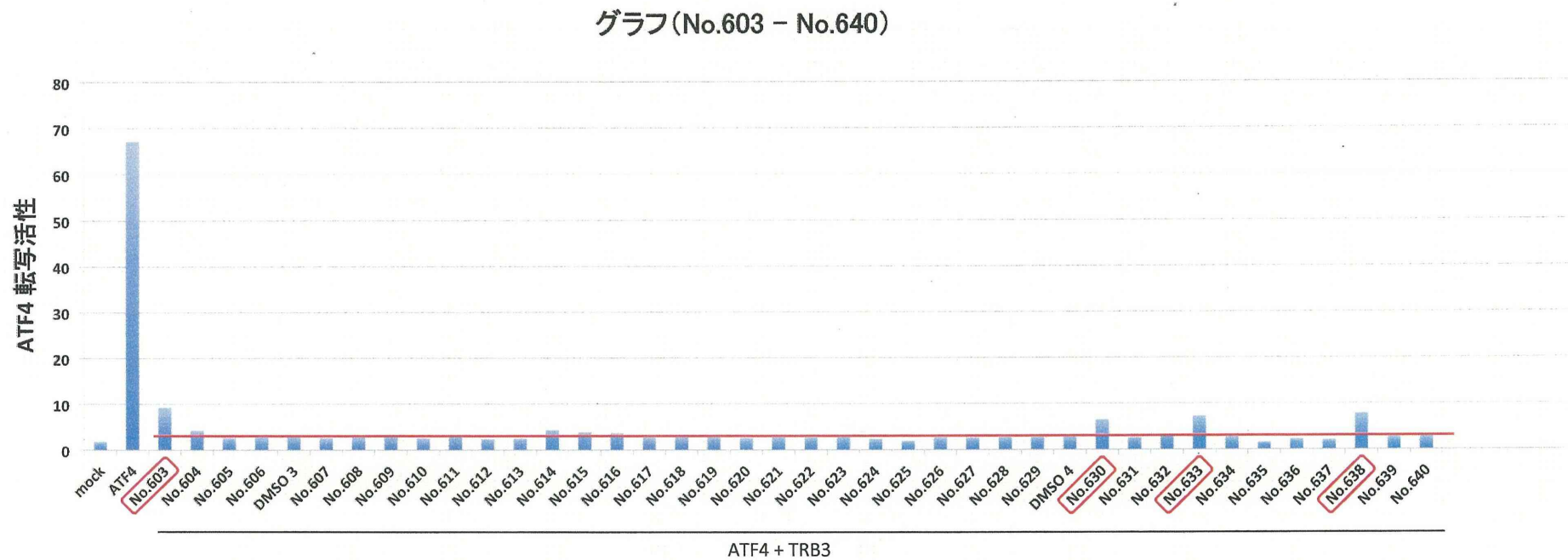


図23 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 16
 HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料21

図24

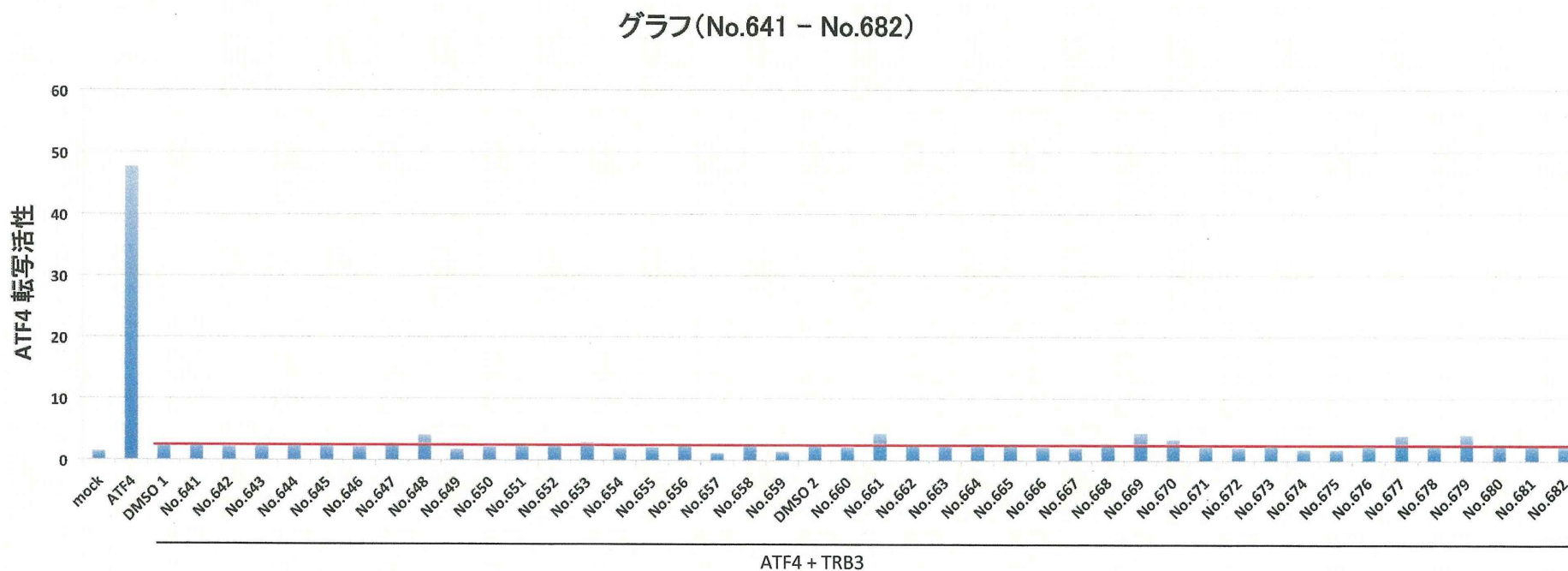


図24 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 17

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料22

図25

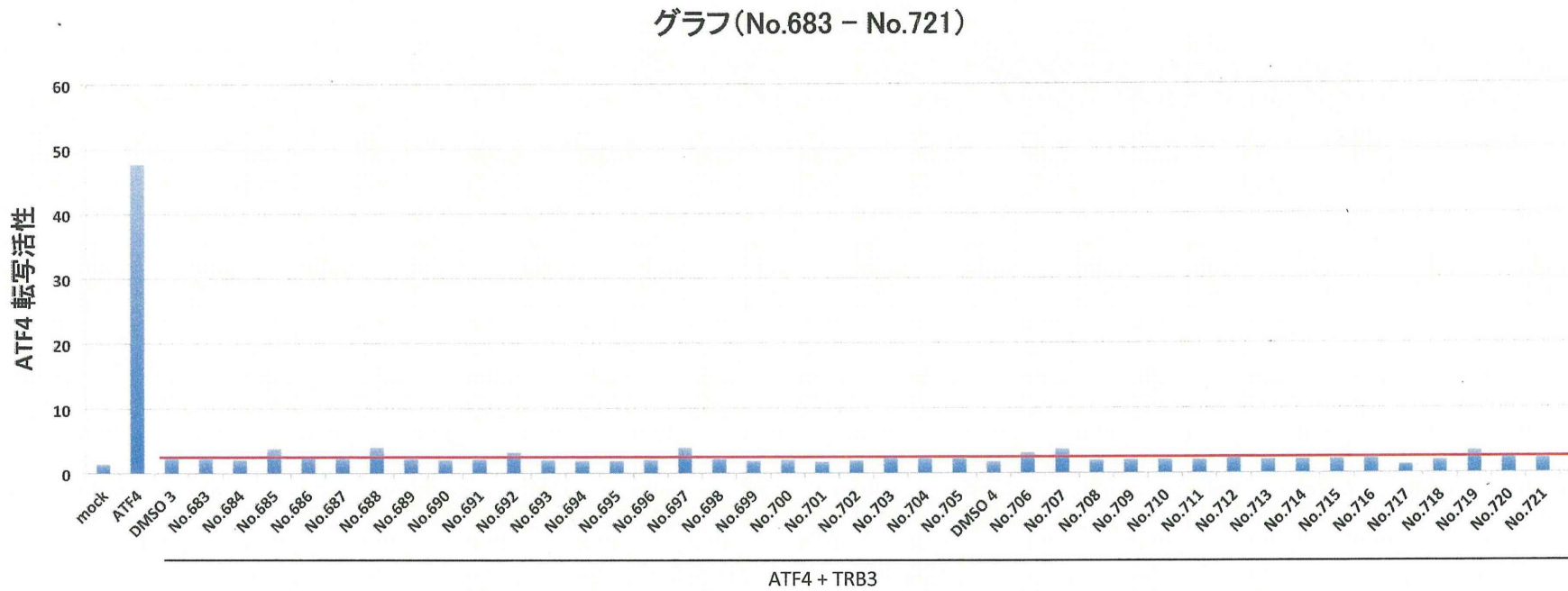


図25 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 18

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料23

図26

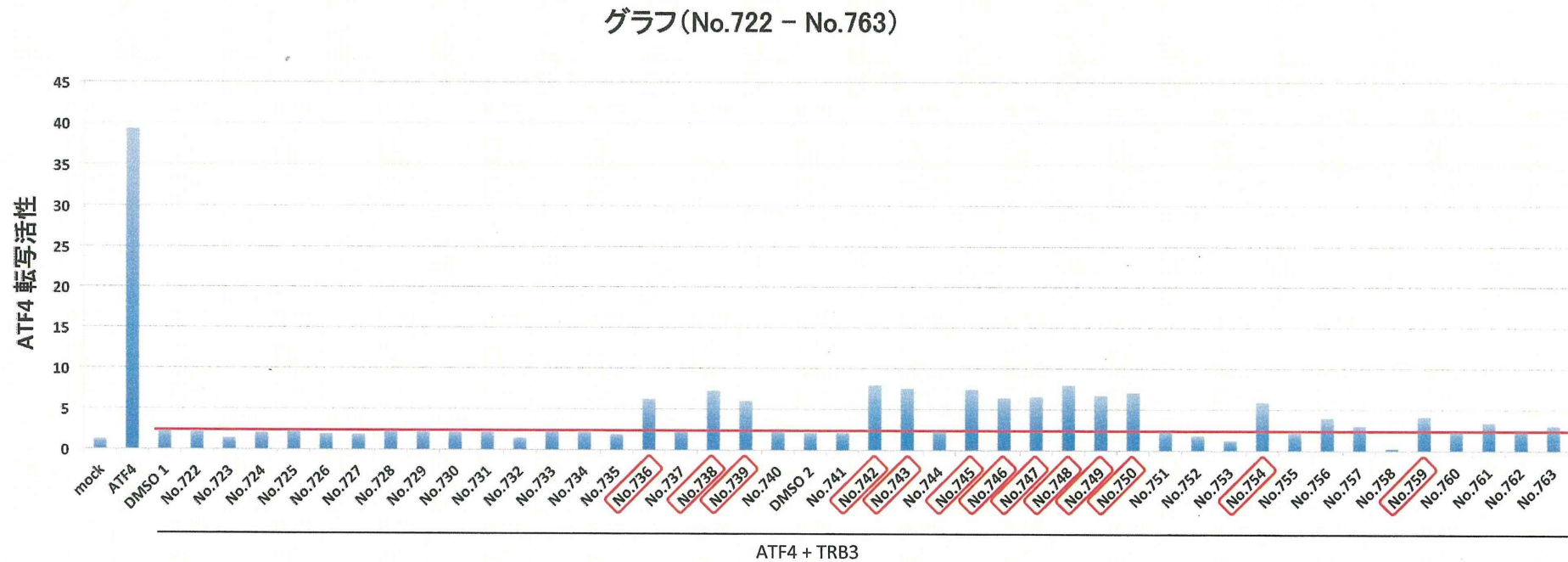


図26 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 19

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料24

図27

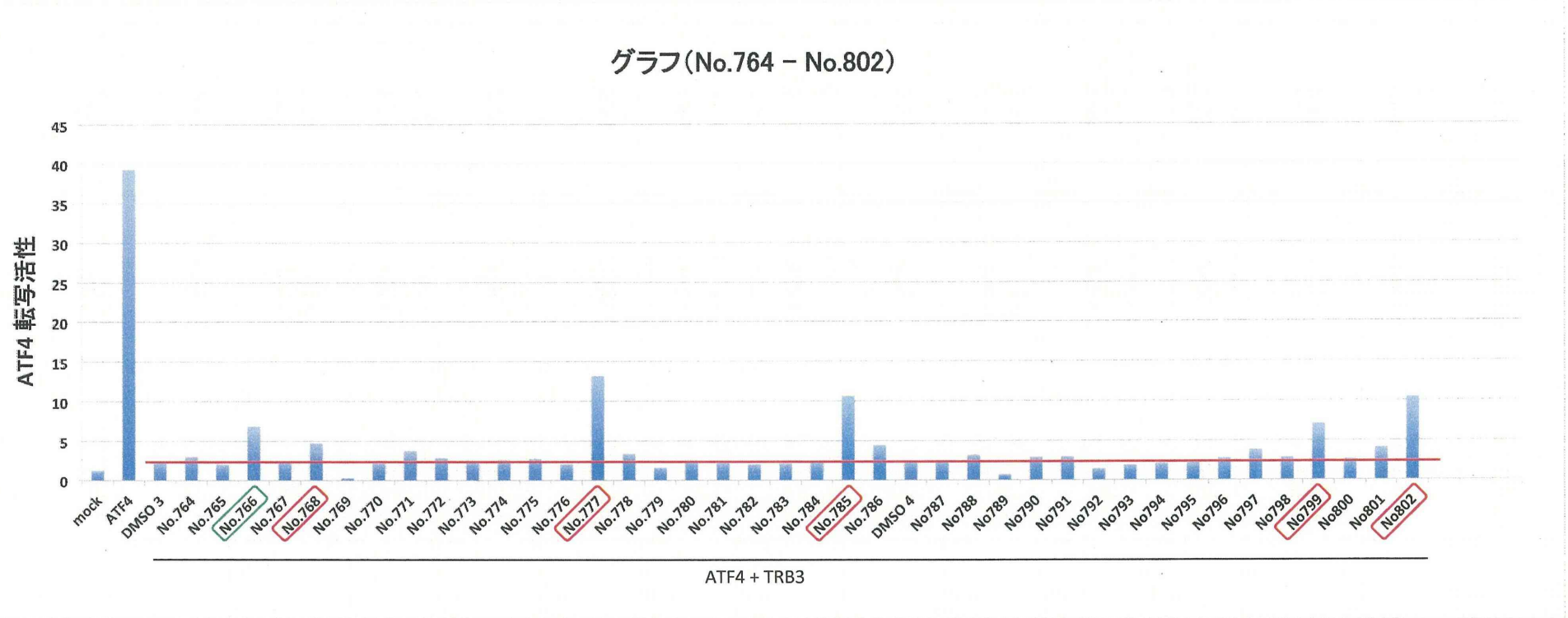


図27 レポーターアッセイスクリーニング(ATF4標的遺伝子) 20

HeLa細胞に、ATF4標的遺伝子であるTRB3のプロモーターを含むレポーター遺伝子、ATF4とTRB3の発現ベクター、ウミシイタケコントロールレポーター遺伝子をトランスフェクションし、24時間後、DMSOもしくはライブラリー化合物を終濃度20 μ Mになるように処理した。さらに16時間後、ルシフェラーゼアッセイを行った。左からレーン1は空ベクターを、レーン2はATF4を、レーン3以降はATF4とTRB3をトランスフェクションした。レーン1、2はDMSOを、レーン3以降はDMSOもしくは記載No.の化合物で処理した。(グラフ中の赤枠、緑枠に関する記載は本文中)

資料25

	A	B	C	抑制度(%)
mock	1.46			
ATF4	50.23			
DMSO 1	2.45	50.23	2.45	0.00
No.1	2.38	50.23	2.45	-0.15
No.2	2.09	50.23	2.45	-0.74
No.3	1.94	50.23	2.45	-1.06
No.4	2.13	50.23	2.45	-0.66
No.5	2.23	50.23	2.45	-0.45
No.6	2.23	50.23	2.45	-0.46
No.7	2.29	50.23	2.45	-0.34
No.8	2.25	50.23	2.45	-0.41
No.9	2.21	50.23	2.45	-0.49
No.10	2.07	50.23	2.45	-0.79
No.11	2.31	50.23	2.45	-0.28
No.12	2.15	50.23	2.45	-0.63
No.13	2.43	50.23	2.45	-0.04
No.14	1.91	50.23	2.45	-1.13
No.15	1.95	50.23	2.45	-1.04
No.16	2.42	50.23	2.45	-0.05
No.17	2.32	50.23	2.45	-0.26
No.18	2.26	50.23	2.45	-0.39
No.19	2.35	50.23	2.45	-0.21
DMSO 2	2.20	50.23	2.20	0.00
No.20	2.37	50.23	2.20	0.35
No.21	2.44	50.23	2.20	0.50
No.22	2.50	50.23	2.20	0.62
No.23	2.44	50.23	2.20	0.50
No.24	2.63	50.23	2.20	0.90
No.25	8.92	50.23	2.20	14.00
No.26	7.53	50.23	2.20	11.09
No.27	1.91	50.23	2.20	-0.61
No.28	2.10	50.23	2.20	-0.20
No.29	2.28	50.23	2.20	0.17
No.30	2.51	50.23	2.20	0.65
No.31	10.50	50.23	2.20	17.28
No.32	2.40	50.23	2.20	0.42
No.33	2.55	50.23	2.20	0.74
No.34	11.63	50.23	2.20	19.64
No.35	2.45	50.23	2.20	0.53

No.36	2.52	50.23	2.20	0.67
No.37	2.08	50.23	2.20	-0.24
No.38	2.65	50.23	2.20	0.94
No.39	2.44	50.23	2.20	0.51
No.40	2.27	50.23	2.20	0.16
No.41	2.33	50.23	2.20	0.28
No.42	4.83	50.23	2.20	5.47
DMSO 3	2.06	50.23	2.06	0.00
No.43	1.67	50.23	2.06	-0.81
No.44	1.94	50.23	2.06	-0.25
No.45	2.34	50.23	2.06	0.58
No.46	2.13	50.23	2.06	0.14
No.47	2.47	50.23	2.06	0.86
No.48	1.71	50.23	2.06	-0.72
No.49	2.04	50.23	2.06	-0.04
No.50	5.67	50.23	2.06	7.50
No.51	3.22	50.23	2.06	2.40
No.52	2.94	50.23	2.06	1.82
No.53	2.69	50.23	2.06	1.31
No.54	2.46	50.23	2.06	0.84
No.55	2.23	50.23	2.06	0.35
No.56	2.12	50.23	2.06	0.13
No.57	2.15	50.23	2.06	0.18
No.58	1.71	50.23	2.06	-0.72
No.59	2.50	50.23	2.06	0.90
No.60	1.85	50.23	2.06	-0.43
No.61	2.18	50.23	2.06	0.24
No.62	2.39	50.23	2.06	0.68
No.63	2.91	50.23	2.06	1.75
No.64	2.52	50.23	2.06	0.95
No.65	2.41	50.23	2.06	0.73
DMSO 4	2.48	50.23	2.48	0.00
No.66	2.16	50.23	2.48	-0.67
No.67	2.31	50.23	2.48	-0.36
No.68	2.19	50.23	2.48	-0.61
No.69	2.43	50.23	2.48	-0.10
No.70	2.44	50.23	2.48	-0.07
No.71	2.13	50.23	2.48	-0.74
No.72	4.12	50.23	2.48	3.44
No.73	8.74	50.23	2.48	13.10
No.74	1.30	50.23	2.48	-2.48
No.75	2.39	50.23	2.48	-0.19
No.76	2.06	50.23	2.48	-0.87

No.77	2.35	50.23	2.48	-0.26
No.78	2.43	50.23	2.48	-0.11
No.79	2.16	50.23	2.48	-0.68
No.80	2.69	50.23	2.48	0.44

A: ATF4転写活性

B: ATF4のみ発現させたときのATF4転写活性

C: ATF4とTRB3を発現させ、DMSOを加えたときのATF4転写活性

$$\text{抑制度(\%)} = 100 - \{ (B-A) / (B-C) \times 100 \}$$

小数点以下2桁まで表示

資料26

	A	B	C	抑制度(%)
mock	1.46			
ATF4	50.23			
DMSO 1	2.19	50.23	2.19	0.00
No.81	2.07	50.23	2.19	-0.24
No.82	2.44	50.23	2.19	0.52
No.83	2.40	50.23	2.19	0.44
No.84	2.87	50.23	2.19	1.42
No.85	2.32	50.23	2.19	0.27
No.86	1.45	50.23	2.19	-1.53
No.87	1.78	50.23	2.19	-0.86
No.88	2.13	50.23	2.19	-0.12
No.89	2.26	50.23	2.19	0.15
No.90	2.35	50.23	2.19	0.33
No.91	2.10	50.23	2.19	-0.17
No.92	2.00	50.23	2.19	-0.40
No.93	2.10	50.23	2.19	-0.18
No.94	2.19	50.23	2.19	0.01
No.95	3.01	50.23	2.19	1.71
No.96	2.37	50.23	2.19	0.39
No.97	2.13	50.23	2.19	-0.12
No.98	1.71	50.23	2.19	-1.00
No.99	1.93	50.23	2.19	-0.53
DMSO 2	1.74	50.23	2.19	-0.93
No.100	2.17	50.23	2.19	-0.04
No.101	2.24	50.23	2.19	0.12
No.102	2.32	50.23	2.19	0.27
No.103	2.12	50.23	2.12	0.00
No.104	1.86	50.23	2.12	-0.54
No.105	2.38	50.23	2.12	0.54
No.106	1.80	50.23	2.12	-0.67
No.107	6.50	50.23	2.12	9.09
No.108	2.47	50.23	2.12	0.73
No.109	1.89	50.23	2.12	-0.49
No.110	2.00	50.23	2.12	-0.26
No.111	2.40	50.23	2.12	0.57
No.112	2.34	50.23	2.12	0.46
No.113	2.27	50.23	2.12	0.31
No.114	2.88	50.23	2.12	1.57
No.115	1.84	50.23	2.12	-0.58

No.116	2.34	50.23	2.12	0.45
No.117	2.31	50.23	2.12	0.38
No.118	7.94	50.23	2.12	12.10
No.119	8.20	50.23	2.12	12.64
No.120	2.40	50.23	2.12	0.57
No.121	2.02	50.23	2.12	-0.20
No.122	2.96	50.23	2.12	1.74
No.123	2.26	50.23	2.12	0.28
No.124	2.35	50.23	2.12	0.47
No.125	9.51	50.23	2.12	15.36
No.126	3.42	50.23	2.12	2.70
DMSO 3	2.19	50.23	2.19	0.00
No.127	7.49	50.23	2.19	11.03
No.128	2.39	50.23	2.19	0.42
No.129	2.38	50.23	2.19	0.39
No.130	7.46	50.23	2.19	10.97
No.131	10.29	50.23	2.19	16.84
No.132	1.96	50.23	2.19	-0.50
No.133	1.94	50.23	2.19	-0.53
No.134	1.59	50.23	2.19	-1.26
No.135	6.28	50.23	2.19	8.50
No.136	2.24	50.23	2.19	0.09
No.137	2.37	50.23	2.19	0.35
No.138	1.85	50.23	2.19	-0.71
No.139	2.03	50.23	2.19	-0.35
No.140	1.61	50.23	2.19	-1.21
No.141	2.34	50.23	2.19	0.29
No.142	2.33	50.23	2.19	0.28
No.143	2.32	50.23	2.19	0.25
No.144	1.83	50.23	2.19	-0.76
No.145	2.03	50.23	2.19	-0.35
No.146	1.92	50.23	2.19	-0.58
No.147	2.12	50.23	2.19	-0.16
No.148	1.90	50.23	2.19	-0.61
No.149	2.20	50.23	2.19	0.02
DMSO 4	2.11	50.23	2.11	0.00
No.150	1.98	50.23	2.11	-0.27
No.151	11.15	50.23	2.11	18.80
No.152	2.05	50.23	2.11	-0.11
No.153	2.27	50.23	2.11	0.34
No.154	2.13	50.23	2.11	0.04
No.155	1.87	50.23	2.11	-0.48
No.156	1.59	50.23	2.11	-1.07