

コラーゲン結合性タンパク質に相互作用する新規ペプチドの取得

研究代表者 増田 亮
(理工学術院総合研究所 次席研究員)

1. 研究課題

ペプチドは標的分子に対して高い親和性や特異性を発揮するポテンシャルを有しているが、直鎖のペプチドは生体内でプロテアーゼによって分解されてしまう。体内での易分解性を克服するための手法として、構造の固定化による分解抵抗性の付与がある。近年では生物活性ペプチドのスクリーニング法として、構造を固定化した環状ペプチドのライブラリから生物活性ペプチドを取得する方法が主流の一つになっている。本研究では、分解抵抗性ペプチドであるコラーゲン様の3重らせん構造を形成するペプチド(3重らせんペプチド)のライブラリを構築し、そこから生物活性ペプチドを探索する手法を開発するものである。

2. 主な研究成果

多様でランダムな3重らせんペプチドのライブラリを構築するために、生物発現系を利用することとした。酵母内に発現させる3重らせんペプチドは、酵母の培養温度で安定して3重らせん構造を形成できるようにするため、3重らせん安定化配列の繰り返しでランダム領域を挟んだデザインとした。この遺伝子を含むDNAを酵母にトランスフォームし、 10^6 オーダーの多様性を有する3重らせんペプチドの酵母ライブラリを得た。

つづいてこの酵母ライブラリをもちいて、様々なコラーゲン結合性タンパク質(色素上皮由来因子、HSP47、インテグリン受容体)を標的とした結合ペプチドのスクリーニングを行った。それらのスクリーニングから得られた酵母クローンのランダム領域の配列を解析したところ、各タンパク質の既知の結合モチーフが濃縮された一方で、新規の結合配列候補を複数取得できた。さらに得られた結合配列候補を含む3重らせんペプチドを種々化学合成し、それらの標的親和性や特異性を *in vitro* で評価した。その結果、既知のコラーゲン中の結合配列よりも高い標的特異性を示した。

また次世代シーケンサーをもちいて本ライブラリのランダム領域のアミノ酸分布を調査し、そのアミノ酸分布を天然コラーゲンのものと比較した。その結果、我々が構築した酵母ライブラリのアミノ酸はランダムな分布を取っていた。一方で天然コラーゲンのそれは、3重らせんの熱安定性向上に寄与するアミノ酸が多く含まれていたが、不安定化させるアミノ酸はほとんど含まれていなかった。したがって、本ライブラリは天然コラーゲンに含まれていない3重らせん配列をカバーするものであり、それによって新規のタンパク質結合配列が取得できたことが示唆された。

3. 共同研究者

小出 隆規 (先進理工学部 化学・生命化学科 教授)

4. 研究業績

4.1 学術論文

S. Kanai, K. Machida, R. Masuda, T. Koide

Peptide precursors that acquire denatured collagen-hybridizing ability by *O*-to-*N* acyl migration at physiological pH

Org. Biomol. Chem. **18**, 2823-2827 (2020), doi: 10.1039/C9OB02136A.

4.2 招待講演

T. Koide, R. Masuda

“Toward Further Functionalization of Collagen”

18th Akabori Conference (online), 2021 年 3 月

小出隆規, 増田亮, Khine Phyu Phyu Thant, 金井沙也伽, 藤井一徳

「3 重らせんペプチドの分子認識能に着目した創薬研究」

日本薬学会第 141 年会シンポジウム (online), 2021 年 3 月

4.3 学会および社会的活動

日本ペプチド学会 会員

第 58 回ペプチド討論会 (八王子) 運営委員

5. 研究活動の課題と展望

上記の研究成果をまとめ、原著論文にて発表を行う。さらに、このスクリーニングシステムの汎用性を向上させるため、コラーゲン結合性タンパク質に限定されないスクリーニングを行っていく、