酵母 3 重らせんペプチドライブラリから取得したペプチドの生物活性の調査

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と特異性で結合することができる。また、コラーゲン様の 3 重らせん構造を形成するペプチドは生体内で酵素による分解を受けにくく、血中に投与しても特定の臓器や組織に蓄積しない性質を有している。したがって、生物活性ペプチドを有する 3 重らせんペプチドは、医薬品リードとなりえる。

申請者はこれまでに、酵母内に 3 重らせんペプチドのランダムなライブラリを構築した。さらに、そのライブラリからタンパク質に結合する 3 重らせんペプチドをセレクションする手法を確立している。

2. 主な研究成果

本研究ではまず、コラーゲン結合性タンパク質の一つであり、コラーゲン生合成時の分子シャペロンである HSP47 に結合するペプチドをランダムな 3 重らせんペプチドライブラリからセレクションした。その結果得られた酵母のクローン数が膨大であったため、それら酵母の中に発現するペプチドの DNA 配列を次世代シーケンサーで解析した。その結果、セレクション時の温度依存的に 3 重らせん熱安定性が高い配列を有するペプチドのポピュレーションが増大する結果を得た。またセレクション時の温度がより高くなると、既知の結合配列とは異なるアミノ酸配列が濃縮された結果を得ることができた。

さらに、血管新生阻害作用を有する色素上皮由来因子 (PEDF) や血小板凝集因子である von Willebrand 因子に対して結合するペプチドのスクリーニングをさらに進めた。PEDF に関しては、新たに得られたアミノ酸配列を有するペプチドを化学合成した。これらの PEDF に対する結合親和性を評価したところ、コラーゲン上に存在する天然の PEDF 結合配列よりも高い特異性を有していることが示唆された。von Willebrand 因子に関しては、新規の結合ペプチド候補を得た。

一方で、コラーゲン様 3 重らせんと類似の構造を認識するタンパク質複数種に対して結合する 3 重らせんペプチドを探索したが、取得することはできなかった。

3. 共同研究者

小出隆規 (先進理工学部・教授)

4. 研究業績

4.1 学術論文

K.K. Fujii, Y. Taga, Y.K. Takagi, R. Masuda, S. Hattori, T. Koide

The Thermal Stability of the Collagen Triple Helix Is Tuned According to the Environmental

Temperature.

Int. J. Mol. Sci. **23**, 2040 (2022), doi: 10.3390/ijms23042040.

5. 研究活動の課題と展望

HSP47 結合ペプチドの選択によって得られたアミノ酸配列は酵母内での相互作用の再現性を確認するとともに、それらのHSP47との結合を *in vitro* で評価する。PEDF や von Willebrand 因子については生物活性を評価する系の構築を行う。上記の研究成果をまとめ、原著論文にて発表を行う。

また、コラーゲン様 3 重らせんと類似の構造を認識するタンパク質に関しては、ペプチドのデザインを改良したライブラリを構築した上でセレクションを行う。