

ID No.	129
研究課題名	人エシャペロン機能の創出およびペプチド進化学への利用に関する研究
研究代表者	久保 泰 (産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター・副研究センター長)
研究組織 受入教員 研究分担者	津本 浩平 (東京大学医科学研究所・教授) 亀山 仁彦 (産業技術総合研究所・副研究部門長)
研究報告書	
遺伝子情報とそれに由来するタンパク質の形質の対応付け技術により、特定の形質を持つタンパク質を試験管内で選択的に濃縮(試験管内進化)することができる。我々は、ある種の生理活性ペプチドが、広範な標的特異性を獲得するのに都合のよい分子骨格及び特異な遺伝様式を持つことに着目し、独自の試験管内進化技術を開発した。本研究では、(1) 三本指の形状(3F)を持つペプチドの3ヶ所のループ構造にランダム配列を提示する cDNA ライブラリが、多様な標的分子を認識し得るライブラリとして有用であることの検証を行い、(2) その探索効率を高めるため、有機ナノチューブのマイクロ環境を利用した試験管内で合成するペプチドのリフォolding技術の開発を目指した。 (1) 3F ライブラリから、IL6 受容体のアンタゴニスト及びアゴニスト様活性を呈するペプチドを創製することに既に成功している (<i>Molecular Brain</i>, 2011)。本研究では、トリプシンを新たな標的として設定した。トリプシンに対する結合活性を指標として、同ライブラリから7回の選択操作を繰り返した結果、選択されたクローンがコードするペプチドのアミノ酸配列は6種類に収束していた。このタンパク質をチオレドキシシン融合タンパク質として発現・精製してトリプシンのアッセイ系に供したところ、5種類のタンパク質がトリプシンに対して濃度依存的に阻害活性を示した ($K_i = 33 \sim 450$ nM)。比較的強い活性を持つ2種類のタンパク質は、トリプシンと同じくセリンプロテアーゼに属するキモトリプシン及びカリクレインに対しても阻害活性を示した。これらの結果から、選択された 3F 骨格ペプチドがセリンプロテアーゼに共通して保存される活性部位周辺構造を認識している可能性が示唆される。本実験により、3F ペプチドライブラリが受容体リガンド、イオンチャネルの活性モジュレータに加え、酵素阻害剤創製への利用など、多様な標的設定に利用できることが示された。 (2) (1) の成果を受け、現在、各種有機ナノチューブを合成し、これを無細胞タンパク質合成系に混合して複数のジスルフィド結合を有するペプチドのリフォolding及び生理活性復活の実験を進めている。	