群馬大学大学院理工学府

生物有機化学研究室

■研究テーマ
●がん関連タンパク質に結合する人工ペプチドの創製
●ペプチドタグを用いたペプチド－タンパク質間相互作用検出法の開発

■キーワード
ペプチドライブラリ、タンパク質工学、ケミカルバイオロジー

■産業界の相談に対応できる技術分野
ペプチド合成、ペプチドライブラリの作製および有用ペプチドの探索

■主な設備
自動ペプチド合成機、マイクロウェーブ合成機、DNAシーケンサー、質量分析計、HPLC

高橋　剛　准教授

連 絡 先
化学・生物化学科　　高橋　剛　TEL　0277-30-1373　FAX　0277-30-1443　e-mail　　ttakahas@gunma-u.ac.jp

研究概要

疾患関連タンパク質に結合する人工ペプチドの創製およびペプチド－タンパク質間の相互作用検出法の開発

◆

現在、副作用の少ない薬剤として、分子標的薬が注目を集めています。抗体医薬は、その代表格であり、がん細胞で過剰発現している受容体タンパク質などに作用することで、比較的副作用の少ない抗がん剤として用いられています。受容体タンパク質は細胞表面にあるため、分子量が非常に大きい抗体でも作用できますが、一方で、細胞内にあるがん関連タンパク質を標的とするためには、抗体よりも分子量の小さい化合物を用いる必要があります。そのような背景から、分子量が500～5000程度の中分子医薬の開発に注目が集まっています。

私たちの研究室では、合成化学的に作製したペプチドライブラリから、細胞内のがん関連タンパク質に結合する人工ペプチドを創製する研究を行っています。通常のL体アミノ酸だけでなく、D体アミノ酸や、非天然骨格をもつ人工アミノ酸を用いることで、細胞内での安定性に優れたペプチドが獲得できると期待しています。

一方で、ライブラリから、目的とする標的タンパク質に結合するペプチドを探索するためには、高感度な相互作用検出法が必要となります。また、得られた人工ペプチドと標的タンパク質との相互作用について、実際に作用する場である細胞内環境で評価する必要があります。私たちの研究室では、タンパク質の化学合成において用いられているペプチド連結反応（ネイティブケミカルライゲーション：NCL）を使った新しい相互作用検出法の開発を進めています（図1）。この方法では、調べたい対象となる合成ペプチドと標的タンパク質のそれぞれに、あらかじめ短鎖のペプチドタグを配置し、合成ペプチドと標的タンパク質間の相互作用による近接効果を利用して、ペプチドタグ間が連結します。この反応生成物であるペプチド鎖と、別途用意した酵素断片との酵素再構成反応を行います。この一連の反応により、合成ペプチドとタンパク質間の相互作用の有無について、酵素活性を指標として、簡便に検出することができます。これまでに、検出用酵素として、リボヌクレアーゼ、プロテアーゼ、ガラクトシダーゼ、

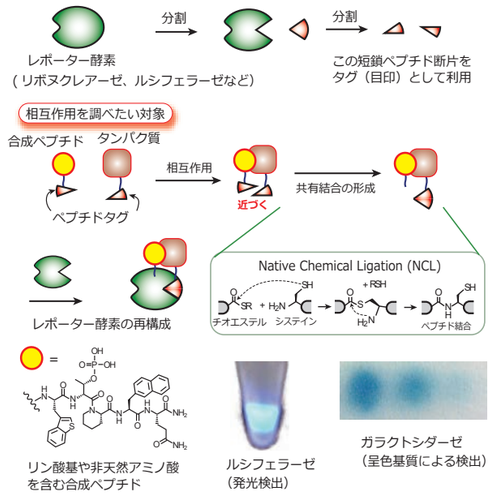

図 1. 当研究室で開発している合成ペプチド - タンパク質間相互作用検出法の概略図.

ルシフェラーゼを利用できることが分かっています。ルシフェラーゼを用いた検出系は、細胞内での相互作用検出に適しているので、現在はこの系で実際に細胞内に移行したペプチドと、細胞内のタンパク質との相互作用について検討しています。

特徴と強み

ペプチド合成技術の活用によるケミカルバイオロジー研究の展開

◆◆

当研究室では、これまでに蓄積してきたペプチド化学の幅広い知識から、複雑な構造をもつペプチドや薬剤などを担持したペプチドを合成することが可能であり、この特徴を活かしたケミカルバイオロジー研究を展開しています。概要で紹介した相互作用検出法を応用することで、薬剤化合物が本来相互作用する相手である標的以外のオフターゲットタンパク質を探索する研究を進めています。オフターゲットタンパク質の同定を進めることで、本来の疾患以外の疾患の治療薬としての利用が期待されます。

他にも、タンパク質の翻訳後修飾に関連した研究も行っています。糖鎖化学の専門家である群馬大学理工学府の松尾一郎教授との共同研究で、複雑な糖鎖を担持する糖ペプチドをプローブとして、細胞内の糖関連タンパク質の機能を調べています。

他にも、タンパク質工学で有用なインテインタンパク質の改変も行っています。当研究室で開発したインテインを用いることで、合成ペプチドと細胞内タンパク質の効率的なライゲーション反応も可能です。このように、ペプチド合成技術とタンパク質工学を組み合わせた研究も精力的に行っています。

今後の展開

オリジナルの化合物や相互作用検出法を使って生物機能の一端を明らかにしたい

◆◆◆

現在進めている、疾患関連タンパク質に結合する人工ペプチドの探索研究を継続し、特異性や結合力に優れたペプチドの獲得を目指します。また、相互作用検出法の改良を進め、より使いやすい検出法へと展開してきたいと考えています。共同研究や社会人学生の受け入れも大歓迎です。研究に必要な設備（図2）も整っていますので、興味がありましたらお気軽にお問い合わせください。

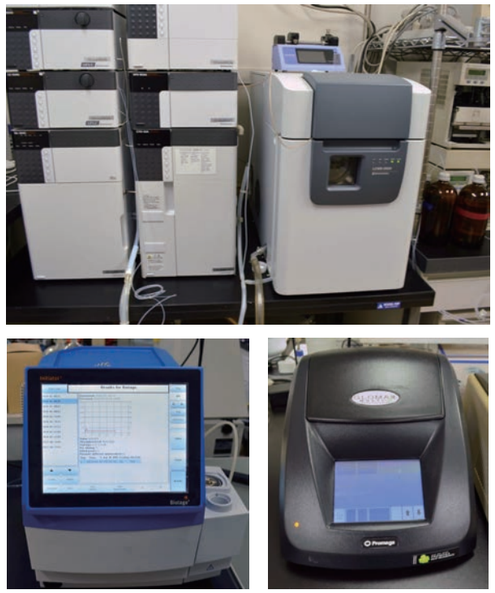

図 2.保有している実験装置.（上）液体クロマトグラフ質量分析計.（左下）マイクロウェーブ合成装置.（右下）高感度発光測定装置.