

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

# Selection of pH-activated peptide aptamers via codon reprogramming (遺伝暗号改変による pH 依存性ペプチドアプタマーの取得)

氏 名 飯田 健夫

pH 依存的なタンパク質間相互作用は、生体内で散見される周辺環境依存的な相互作用様式の一つである。これらの相互作用は広く研究されているが、その多くが天然のタンパク質を元とした改変体の研究に留まっている。本研究では、遺伝暗号改変を利用した特殊ペプチドライブラリーから、生体内の pH 依存的な相互作用を模倣する新規ペプチドの取得を試みた。

天然に存在する pH 依存的なタンパク質間相互作用の多くは、ヒスチジン残基 (His) のプロトン化と脱プロトン化を利用している。これは、生体内の pH 変化が 5.0~7.4 程度であり、この範囲内に側鎖の pKa を持つものは、20 種類のタンパク質性アミノ酸の中で His のみであるためである。His を多く含む分子を作成すれば、pH 依存性を獲得しやすいことが想定されるが、これでは配列自体の多様性を大きく制限してしまう。このことは多様な標的や結合界面における pH 依存的結合分子の創出の可能性を制限すると考えられる。

そこで、我々は遺伝暗号改変により pH 依存性に寄与する非タンパク質性アミノ酸を複数個、遺伝暗号表に導入することで、大きな配列多様性をもつ pH 依存性分子のライブラリーを構築した。また、このライブラリーを用いてモデル標的分子に pH 依存的に結合するペプチドの取得に成功した。

モデルとして、ヒト胎児性 Fc 受容体 (FcRn) に pH 依存的に結合するペプチドアプタマーの取得を行った。FcRn は、免疫グロブリン G (IgG) と pH 依存的に相互作用することで、IgG の血中半減期を延長する作用を担っている。また、小腸上皮細胞に発現し抗体や免疫複合体と相互作用することにより免疫反応に関与することが示唆されている。改変遺伝暗号表を用いた mRNA ディスプレイ法により、pH 6.0 では  $K_D = 4 \text{ nM}$  であるが、pH 7.4 では  $K_D = 300 \text{ nM}$  の親和性を持つ FcRn 結合ペプチドを取得することができた。このペプチドは、FcRn が発現していることが知られているヒト結腸癌由来の細胞株である caco-2 においても、pH 依存的に細胞内へと取り込まれることが示された。このようなペプチドは、タンパク質性医薬品の半減期延長や投与経路拡張、効率的なワクチン開発に貢献できる可能性がある。