

論文の内容の要旨

Development of Cyclic Peptide Inhibitor Targeting SHP2/PR-Set7 and

In Vitro Selection of Self-Cleaving Peptide Catalyst

(SHP2 および PR-Set7 を標的とした環状ペプチド阻害剤の開発と
自己切断活性ペプチド触媒の配列探索)

氏名 下舞 大

望みの機能を有する分子を自在に生み出すことは、科学技術の目指すところのひとつである。こうした観点においてペプチドは、以下のような理由から非常に魅力的な分子基盤である。ペプチドは酸性、塩基性、疎水性などさまざまな性質の側鎖をもつアミノ酸を構成単位とすることから、その重合体から生まれる配列の多様性は極めて高く、わずか 10-mer の重合体でも 10^{13} もの配列可能性を生み出す。現存する生命体において行われている触媒反応のほとんどが、アミノ酸重合体であるタンパク質によって担われていることから、こうした構成要素の多様性が広範かつ高効率な反応の実現に重要であることが伺える。また天然には 20 種類のタンパク質性アミノ酸以外の、多種多様な構造をもつペプチドが存在しており、それらが抗菌作用や抗癌作用といった生理活性を有していることが報告されている。

mRNA ディスプレイ法は、情報分子としての mRNA と機能性分子としてのペプチドを直結するという簡潔な原理に基づく *in vitro* セレクション法のひとつであり、高い多様性をもったランダムな配列のペプチドの集団の中から、目的の機能を有するペプチドを簡便な操作で探索することを可能にする技術である。同手法を用いることで、これまでに様々なタンパク質への結合能をもつペプチドが数多く取得されてきた。同手法を用いて、酵素活性を単離した研究も報告されている。

我々の研究グループは、近年、遺伝暗号を自在にリプログラミングすることで 20 種類のタンパク質性アミノ酸に留まらず、さらに多くのビルディングブロックを翻訳反応へ導入可能にする技術を開発した。加えて、この技術に先述の mRNA ディスプレイ法を組み合わせることで、天然ペプチドが有するような特殊構造をもつペプチド阻害剤の探索を実現する技術の開発にも成功している。本論文では、これらの独自技術を用いることによる新規機能性ペプチドの配列取得、ならびにその応用について述べる。

Chapter 1 では、癌や白血病に関連することが強く示唆される翻訳後修飾酵素、チロシンホスファターゼ SHP2 およびヒストン H4K20 メチル基転移酵素 PR-Set7 の阻害剤ターゲットとしての意義ならびに重要性について述べた。次に、阻害剤候補となるタンパク質結合性環状ペプチドを取得する手法について説明し、現時点における同手法の問題点に言及した。

Chapter 2 では、第一の標的 SHP2 に対する環状ペプチド阻害剤候補の取得とスクリーニング、そしてその応用について報告した。この研究では、膜透過性および生体内安定を期待して正電荷をもつ残基を排除し、かつ N-メチルアミノ酸を導入したライブラリーを構築し、そこからサブ〜数 μM の IC_{50} (50%阻害濃度) を有する環状ペプチド阻害剤を獲得することに成功した。

Chapter 3 では、第二の標的である PR-Set7 に対する環状ペプチド阻害剤候補の取得とスクリーニング、そしてその応用について報告した。この研究では、より幅広い PR-Set7 結合性ペプチド候補配列から、強力に酵素活性を阻害するペプチドのみならず、逆に活性を上昇させる機能制御ペプチドが得られたことが確認された。

Appendix では、自己切断活性ペプチド触媒の配列探索の試みを報告した。上で示したような標的タンパク質への結合ではなく、アミド結合の切断反応を指標とした mRNA ディスプレイ法に基づく新たな実験系を構築し、同反応を触媒する可能性のある 6 残基の共通モチーフを見出した。

以上、本論文では遺伝暗号のリプログラミング法と mRNA ディスプレイ法を組み合わせることで、酵素活性の阻害、活性化などの機能を有するペプチド配列を獲得することに成功した。本研究の成果は、バイオテクノロジー分野において新しい治療薬開発基盤の発展に寄与するだけでなく、ケミカルバイオロジー分野では酵素機能の解明の進展に貢献することが期待される。