

【基盤研究(S)】

総合系(複合領域)



研究課題名 環状最小ペプチド酵素の創製

東京大学・大学院理学系研究科・教授

すが ひろあき
菅 裕明

研究課題番号: 26220204 研究者番号: 00361668

研究分野: 生体分子科学

キーワード: ペプチド、酵素

【研究の背景・目的】

タンパク質酵素は、生体内の大半の触媒反応を担う生体分子である。その触媒活性部位は、いずれの酵素をみても、触媒残基や標的分子への結合を担う残基が立体的に巧妙に配置されており、どのようにして複雑な酵素が進化したか、その過程は未だ多くの謎に包まれている。既知の酵素の中で最も短鎖といわれる 4-oxalocrotonate tautomerase ですら 62 残基の長さを持ち、20 種類のアミノ酸からその組み合わせが生まれる確率の単純計算は 10^{80} 分の1という、まさに気の遠くなるような稀さになる。一方、タンパク質が生まれる前に触媒機能を担ったとされる RNA 触媒(リボザイム)は、RNAワールドでその機能を進化させ、ついにはタンパク質合成装置、いわゆる「原始翻訳系」を作り上げたと考えられる。しかし、RNA分子だけで構成された原始翻訳系では、現在の翻訳系のように効率よく長鎖ペプチド(タンパク質)を合成することはできなかったと考えられ、せいぜい 20 残基程度の短鎖ペプチドの合成が可能だったと考えるのが妥当であろう。

これまでも多くの優れたタンパク質化(科)学者、ペプチド化(科)学者がこの謎に迫ろうと実験を試みてきた。それらの多くの試みは、既知の 2 次構造モジュール(α ヘリックスや β シート)を *in silico*あるいは *in vitro* で実験的に組み合わせることで、酵素機能を獲得するようにデザインした、いわゆる *de novo* タンパク質であった。そして、ある程度の成功(低活性触媒機能の観測)をおさめてきたのも事実だ。しかし、その長さは 50 残基を下回ることはなく、原始翻訳系の伸張能力を考慮すると、未だ上述の進化の謎に迫れたとはいえない。

本研究計画は、短鎖ペプチドを大環状化することで構造的に束縛(constrained)した空間をもつペプチドライブラリーを翻訳合成し、様々な触媒機能をもつペプチド分子を探索することに挑む。究極的には、大環状ペプチドの人工進化系を用いた「酵素起源」の探索とも言える基礎研究提案でもある。具体的には、

- ① 3次元空間を生み出す大環状ペプチド(1環~3環)ライブラリーの構築
 - ② 触媒活性種のセレクション
 - ③ 個々の大環状ペプチド触媒の反応機構及び構造の解明
- を達成目標に掲げる。

【研究の方法】

研究の目的で掲げた①~③を達成すべく、これまで当研究室で培ってきた RaPID システムを用いたセレクション技術の全ノウハウを注ぎ込み、4つの異なる活性をもつ大環状特殊ペプチド探索を推進する。①では、N末端に配置した ClAc 基の特性を生かし、選択的な1環、2環、3環の大環状特殊ペプチドライブラリーの合成戦略を確立する。②では自己修飾型(*cis*-acting)触媒活性種の探索を並行して行い、できる限り全目標の達成に挑む。③では、自己修飾型触媒ペプチドの機能と構造の解明を進め、その分子機構を理解すると同時に、*cis* から *trans*-acting、すなわちターンオーバー型触媒へのエンジニアリングを展開する。

【期待される成果と意義】

大環状特殊ペプチドライブラリーから生命進化あるいは生命活動に重要な役割を果たし得る短鎖ペプチド触媒の発見に挑む本研究は、「タンパク質酵素の起源」研究に新たな一石を投じると自負している。また、獲得したペプチド触媒は、ケミカルバイオロジーの新規ツールとしても期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- K. Yamagata, Y. Goto, H. Nishimasu, J. Morimoto, R. Ishitani, N. Dohmae, N. Takeda, R. Nagai, I. Komuro, H. Suga, O. Nureki "Structural basis for potent inhibition of SIRT2 deacetylase by a macrocyclic peptide inducing dynamic structural change" **Structure** 22, 345-352 (2014).
- Y. Tanaka, C.J. Hipolito, A.D. Maturana, K. Ito, T. Kuroda, T. Higuchi, T. Katoh, H.E. Kato, M. Hattori, K. Kumazaki, T. Tsukazaki, R. Ishitani, H. Suga*, O. Nureki "Structural basis for the drug extrusion mechanism by a MATE multidrug transporter" **Nature** 496, 247-51 (2013).

【研究期間と研究経費】

平成 26 年度 - 30 年度
140,000 千円

【ホームページ等】

<http://www.chem.s.u-tokyo.ac.jp/users/bioorg/index.html>
hsuga@chem.s.u-tokyo.ac.jp