

課題番号	LR011
------	-------

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実施状況報告書(平成22年度)

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	特殊ペプチド増幅法の開発と創薬への応用
研究機関・ 部局・職名	東京大学大学院・総合文化研究科・准教授
氏名	村上 裕

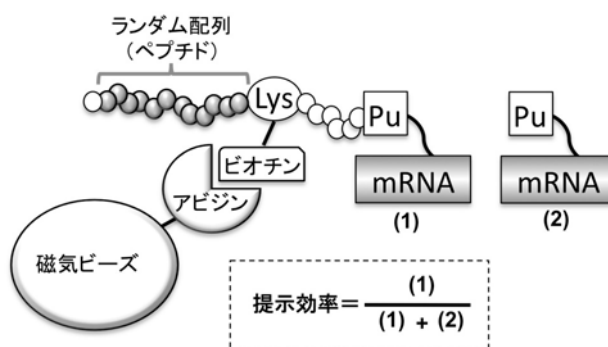
### 1. 当該年度の研究目的

平成22年度は、ライブラリーの多様性を評価し向上することを目的とした。mRNA 提示法では、1mL の翻訳溶液を用いると、約  $10^{13}$  種類のペプチドが提示できるとされている。しかしこれは、すべての mRNA が翻訳されたときの理論的な値であり、実際の翻訳系では mRNA の配列によって翻訳効率が変化することが知られている。すなわち実際のライブラリーの多様性は、 $10^{13}$  より少ないと予想される。本研究において、信頼のできる特殊ペプチドライブラリーを調製するために、事前にライブラリーの多様性を評価することが重要である。そこで、平成22年度はランダムペプチドを提示した mRNA を調製し、翻訳されたペプチドの多様性を正確に見積もることを試みる。さらに近年明らかとなった Super SD 配列やその誘導配列などを用いることで、より多様性の高いペプチドライブラリーの作製を試みる。

### 2. 研究の実施状況

mRNA 提示法においてライブラリーの多様性は、mRNA に提示されたペプチドの量から評価することができる。すなわち、ライブラリーの多様性は、右図に示すように(1)/((1)+(2))に、加えた mRNA の種類を乗じたものになる。そこで、まず 11 残基のランダムなアミノ酸からなるペプチドをコードする mRNA を調製し、これにピューロマイシンリンカー(図中の説明を参照)を結合させ翻訳を行った。このとき、翻訳系にはリボザイムで合成したビオチンリシン-tRNA を加えた。これにより、翻訳が行われた mRNA にのみペプチドと共にビオチンが提示される。そこでストレプトアビジンをを用いてペプチド-mRNA 複合体のみを選択的に回収できる。本方法により(1)を定量し、加えた mRNA 量((1)+(2))で割ることでペプチドの提示効率を算出した。また、ペプチドの効率的な提示には mRNA の上流にある SD (Shine-Dalgarno) 配列が重要であることが知られている。そこで様々な翻訳増強配列を持ち、最も効率が良いとされる T7g10 の SD 配列を mRNA に配置した。翻訳反応の結果、15~20% の mRNA がペプチドを提示していることが分かった。これは、約  $2 \times 10^{12}$  種類の配列を持つ特殊ペプチドのライブラリーが 1mL の翻訳液から調製できることを示している。さらに、様々な SD 配列を試した結果、提示効率を 25~30% に高める新規の SD 配列が見つかった。

**Pu**:ピューロマイシン。本来はペプチドと共有結合を形成する抗生物質である。これとmRNAを連結させておくことで、Puを介してペプチドとmRNAが複合体を形成する。



様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計0件	(掲載済み一査読有り) 計0件  (掲載済み一査読無し) 計0件  (未掲載) 計0件
会議発表 計1件	<p>専門家向け 計1件</p> <p>発表者名 : Hiroshi Murakami</p> <p>発表表題 : Development of Non-standard Peptide Inhibitors Using flexible in Vitro Translation System</p> <p>主催 : 日本化学会 共催 : 英国王立化学会 (RSC)</p> <p>日英シンポジウム<b>2011</b></p> <p>(平成23年3月29日開催、神奈川大学で開催の予定であったが、震災のため実際の発表はなく要旨集の発行により発表成立となった。)</p> <p>一般向け 計0件</p>
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件  (出願中) 計0件
Webページ (URL)	
国民との科学・技術対話 の実施状況	
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	116,000,000	0	77,388,000	38,612,000
間接経費	34,800,000	0	23,216,400	11,583,600
合計	150,800,000	0	100,604,400	50,195,600

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	77,388,000	0	77,388,000	16,182,326	61,205,674
間接経費	0	23,216,400	0	23,216,400	0	23,216,400
合計	0	100,604,400	0	100,604,400	16,182,326	84,422,074

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	16,078,340	下記備品、実験試薬、製氷機、小型実験機器等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	103,986	製氷機の設置、冷蔵庫の搬入費等
直接経費計	16,182,326	
間接経費計	0	
合計	16,182,326	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
研究用保冷库	SANYO MPR-721	1	605,041	605,041	2011/3/9	東京大学
小型超遠心機	himac CS150GXII	1	4,876,725	4,876,725	2011/3/30	東京大学
高速冷却遠心機	himac CR20GIII	1	2,546,250	2,546,250	2011/3/30	東京大学
ゲル撮影、タンパク 質精製装置	Bio-Rad GelDoc,Profinia	1	3,468,150	3,468,150	2011/3/30	東京大学
恒温震とう培養機	DC-BR-43FL	1	838,897	838,897	2011/3/31	東京大学