

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料
〔令和4（2022）年度 中間評価用〕

令和4年3月31日現在

研究期間：2020～2024
課題番号：20H05618
研究課題名：特殊ペプチド・擬天然物創薬の命題への挑戦
研究代表者氏名（ローマ字）：菅 裕明（SUGA Hiroaki）
所属研究機関・部局・職：東京大学・大学院理学系研究科・教授
研究者番号：00361668

研究の概要（4行以内）：

本研究では、これまで申請者が進めてきた「特殊ペプチド創薬」研究に区切りを付けるべく、以下の挑戦的な研究に目標を定めた。（1）細胞膜透過を有する特殊ペプチドの構造膜透過性相関検討による探索基盤の確立（2）環 β 、 γ 、不飽和環アミノ酸含有特殊ペプチドライブラリーの翻訳合成と生理活性種探索（3）擬天然物ライブラリーの創製と生理活性種探索（4）細胞膜透過性と小腸吸収性の検証、である。

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：特殊ペプチド、擬天然物、薬剤探索、コロナウイルス

1. 研究開始当初の背景

製薬業界で用いられる「Lipinski rule of 5」は、長きにわたり人類が発見、開発してきた経口性有機小分子の化学構造から導き出された「統計的」経験則である。一方、シクロスポリン A に代表される天然物由来の薬剤は、この上記則が当てはまらない分子でありながら経口剤として開発できた。しかし、天然物は主に抗菌性・細胞毒性をもつ化合物として微生物で産生分泌される物質であり、細胞内ヒト標的タンパク質に高い特異性と結合力をもった化合物として発見できるか否かは偶然に依存せざるを得ない。一方で、申請者が開発した RaPID システムを用いれば、標的タンパク質に高い生理活性と特異性をもった特殊ペプチドを高確率で発見できる。しかし、有機小分子薬剤や天然物のように膜透過性をもつ特殊ペプチドを獲得することは偶然に依存せざるを得なかった。

2. 研究の目的

本研究計画では、上記のジレンマを解決することを研究の最大の目標に定める。すなわち、細胞膜透過性を向上させるべく新技術による次世代型特殊ペプチド・擬天然物ライブラリーの構築と細胞内標的タンパク質に対する迅速な活性種探索を行うと同時に、それらの細胞膜透過性、小腸吸収性に対する検討と活性種の統計的・理論的な解析を進める。最終的には「中分子の膜透過性経験則」を導き出し、中分子創薬に新たなパラダイムシフトを起こすことを目指す。

3. 研究の方法

本研究計画では、以下の挑戦的な研究に目標を定めた。

- （1）細胞膜透過を有する特殊ペプチドの構造膜透過性相関検討による探索基盤の確立
- （2）環 β 、 γ 、および不飽和環アミノ酸含有特殊ペプチドライブラリーの翻訳合成と生理活性種探索
- （3）翻訳後酵素修飾された擬天然物ライブラリーの創製と生理活性種探索
- （4）特殊ペプチドおよび擬天然物の細胞膜透過性と腸間膜透過性の検証

4. これまでの成果

本研究の開始以来、（1）の研究に資する十分なデータの蓄積を目指し、（2）および（3）、さらに（4）の細胞膜透過性の検証を進めてきた。（2）および（3）の研究目標については、ほぼ達成ともいえる非常に大きな進展があった。また（4）についても成果が上がりつつある。

環 β アミノ酸を含む特殊環状ペプチドライブラリーの構築に成功し、2つのタンパク質標的に対して結合分子の探索し、それぞれに対し高い特異性と阻害活性をもつ特殊環状ペプチドの同定に成功した。これは世界で初めての成果として Nature Chemistry 2020 への発表に至った。また環 γ アミノ酸を翻訳によってペプチド鎖に導入する技術確立を達成し（JACS 2020）、このライブラリーを構築後、コロナウイルスに関わる細胞内標的に対して阻害剤候補を探索、オックスフォード大学の研究者らとその同定に成功した。この成果については、現在論文投稿中である。また不飽和環アミノ酸含有特殊ペプチドの翻訳合成にも成功した（JACS 2020）。この技術を用いた特殊ペプチドライブラリーの構築および薬剤探索は現在検討中である。一方、本目標の中で、ペプトイド・ペプチドハイブリッド型ライブラリーの構築も試み、がん関連細胞内標的に対して探索を行い、同定された阻害剤にハロタグ標識をし、CAPA アッセイにより膜透過性

をもつことが確認された。本成果についても現在論文投稿と特許出願の準備を進めている。

翻訳後酵素修飾された擬天然物ライブラリーの創製についても、本研究の開始以来、着実な成果が得られている。提案時に検討を進めていたトリプトファンプレニル化酵素 KgpF のゲノムマイニングで発見した LimF の研究においては、LimF がヒスチジン側鎖の C2 位にグラニル化する酵素であることが判明した。この酵素は研究分担者の仙石研究チームと共に X 線構造解析にも成功し、その機能と活性中心の関係を世界で初めて解明することができた。KgpG および LimF を駆使した擬天然物ライブラリーの構築も進めており、薬剤探索も開始した。さらに、本研究の開始する前に技術開発を行っていたラクタゾール生合成系の試験管内再構成にも成功し (Nature Comm 2020)、そのライブラリー構築に関する前準備も進めた (2 報 JACS 2020)。既に細胞内標的に対する薬剤探索も開始し成功しているが、本報告では割愛する。

5. 今後の計画

今後、(2) (3) において発見された特殊ペプチドおよび擬天然物については一部 (4) の細胞膜透過性が確認できたが、まだ全ての化合物についての検討ができていないため、引き続き細胞膜透過性を検証する。また、(2) (3) において引き続き、細胞内標的に対する化合物の探索を行い、より多くの細胞膜透過性に関する化合物データの蓄積を行う。そのうえで、細胞膜透過を示す特殊ペプチドおよび擬天然物の化合物の (1) in silico 解析を進めることで化合物の水和の特徴等、膜透過性を有する化合物の共通点を探る。今後、細胞膜透過性を有する特殊ペプチドおよび擬天然物について、(4) PUMPA および Caco 細胞を用いて評価を進め、究極的な目標である「中分子の膜透過性経験則」を提案する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. "In Vitro Selection of Foldamer-Like Macrocyclic Peptides Containing 2-Aminobenzoic Acid and 3-Aminothiophene-2-Carboxylic Acid." T. Katoh; H. Suga*; **J Am Chem Soc**, 144, 2069-2072 (2022)
2. "In Vitro Selection of Macrocyclic D/L-Hybrid Peptides against Human EGFR." S. Imanishi; T. Katoh; Y. Yin; M. Yamada; M. Kawai; H. Suga*; **J Am Chem Soc**, 143, 5680-5684 (2021)
3. "One-Pot In Vitro Ribosomal Synthesis of Macrocyclic Depsipeptides." M. Nagano; Y. Huang; R. Obexer; H. Suga*; **J Am Chem Soc**, 143, 4741-4750 (2021)
4. "Posttranslational chemical installation of azoles into translated peptides." H. Tsutsumi; T. Kuroda; H. Kimura; Y. Goto; H. Suga*; **Nature Communications**, 12, 696 (2021)
5. "Accurate Broadcasting of Substrate Fitness for Lactazole Biosynthetic Pathway from Reactivity-Profiling mRNA Display." A.A. Vinogradov; E. Nagai; J.S. Chang; K. Narumi; H. Onaka; Y. Goto; H. Suga*; **J Am Chem Soc**, 117 (43) 26728-26738 (2020)
6. "Ribosomal Elongation of Aminobenzoic Acid Derivatives." T. Katoh; H. Suga*; **J Am Chem Soc**, 142, 16518-16522 (2020)
7. "Ribosomal synthesis and de novo discovery of bioactive foldamer peptides containing cyclic β -amino acids" T. Katoh; T. Sengoku; K. Hirata; K. Ogata; H. Suga*; **Nature Chemistry** 12, 1081-1088 (2020)
8. "A macrocyclic peptide library with a structurally constrained cyclopropane-containing building block leads to thiol-independent inhibitors of phosphoglycerate mutase" R. Okuma; T. Kuwahara; T. Yoshikane; M. Watanabe; P. Dranchak; J. Inglese, S. Shuto; Y. Goto; H. Suga*; **Chemistry - An Asian Journal**, 15, 2631-2636 (2020)
9. "Promiscuous enzymes cooperate at the substrate level en route to lactazole A" A.A. Vinogradov; M. Shimomura; N. Kano; Y. Goto; H. Onaka, H. Suga*; **J Am Chem Soc**, 142, 13886-13897 (2020)
10. "Minimal lactazole scaffold for in vitro thiopeptide bioengineering." A.A. Vinogradov; M. Shimomura; Y. Goto; T. Ozaki; S. Asamizu; Y. Sugai; H. Suga*; H. Onaka; **Nature Communications**, 11, 2272 (2020)
11. "Ribosomal Elongation of Cyclic γ -Amino Acids using a Reprogrammed Genetic Code." T. Katoh; H. Suga*; **J Am Chem Soc**, 142, 4965-4969 (2020)
12. "Macrocyclic peptides that inhibit Wnt signalling via interaction with Wnt3a." M.E. Otero-Ramirez; K. Matoba; E. Mihara; T. Passioura; J. Takagi; H. Suga*; **RSC Chemical Biology**, 1, 26-34 (2020)
13. "Affinity Maturation of Macrocyclic Peptide Modulators of Lys48-linked Diubiquitin by a Twofold Strategy." Y. Huang; M. Nawatha; I. Libneh; J.M. Rogers; H. Sun; S.K. Singh; A. Ciechanover; A. Brick; H. Suga*; **Chem Eur Journal**, 26, 8022-8027 (2020)

7. ホームページ等

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