

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24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24年度は、前年度に開発をした高速進化分子工学法を用いて、血管新生阻害剤と抗菌剤の創製を進めることを目的とした。特に血管新生は癌等の疾患に関与しており、これを阻害する化合物の探索が行われている。そこで血管新生阻害剤として血管内皮細胞増殖因子の阻害剤や、この受容体の阻害剤が有望視されており、なかでも血管内皮細胞増殖因子受容体2の阻害剤の研究が多く進められている。本年度は高速進化分子工学法を用いて、血管内皮細胞増殖因子受容体2の阻害剤を探索し、その阻害活性を評価する。また抗菌剤については、標的タンパク質の発現を行う。

2. 研究の実施状況

本研究により開発した高速進化分子工学法 (TRAP display, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013)は、操作が簡便であるために高速に進化分子工学実験を行うことができる。また、この操作が簡便であるという特徴は、並列でいくつもの選択実験を行うことを可能にする。そこで血管内皮細胞増殖因子受容体2の阻害剤の探索のために、8種類の遺伝暗号を構築することで8種類の大環状ペプチドライブラリー(化合物群)を作製した。血管内皮細胞増殖因子受容体2を標的として並列に高速進化分子工学法を用いて選択実験を行った結果、それぞれの大環状ペプチドライブラリーから血管内皮細胞増殖因子受容体2へ結合する大環状ペプチドが得られた。次に化学合成によって、これら大環状ペプチドを合成し、血管内皮細胞増殖因子受容体2のリン酸化活性阻害評価、血管内皮細胞の増殖阻害評価を行うことで、有望な2種類の大環状ペプチドを得た。最後に、試験管内血管新生阻害の評価を行うことで、最も有望なL1ペプチドを得た(図1)。本成果はアメリカ化学会誌の生物化学の専門誌 (*ACS Chem. Biol.* 2013)へ掲載され、また、特願2012-193453として特許を出願した。また、抗菌剤については、活性のあるタンパク質の発現に成功した。

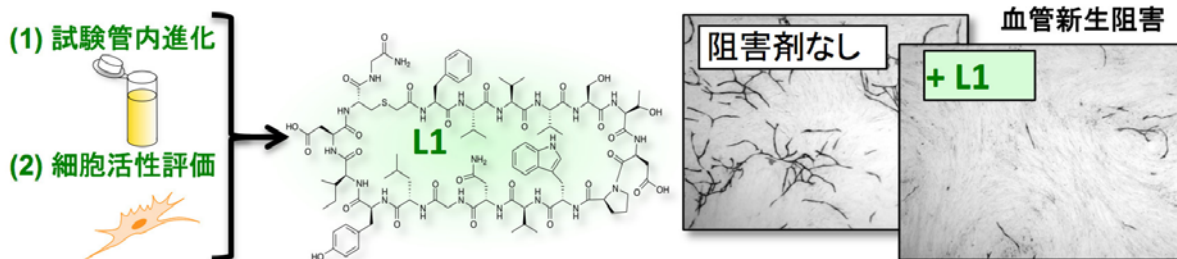


図1 高速進化分子工学法を用いた血管新生阻害剤の開発

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計 4 件	(掲載済み一査読有り) 計 4 件 <ul style="list-style-type: none"> • Takashi Kawakami, Takahiro Ishizawa, Tomoshige Fujino, Patrick C. Reid, Hiroaki Suga, and Hiroshi Murakami* <i>In vitro</i> selection of multiple libraries created by genetic code reprogramming to discover macrocyclic peptides that antagonize VEGFR2 activity in living cells. <i>ACS Chemical Biology</i>, DOI: 10.1021/cb300697h □ • Takahiro Ishizawa, Takashi Kawakami, Patrick C. Reid, and Hiroshi Murakami* TRAP display: a high-speed selection method for the generation of functional polypeptides. <i>Journal of the American Chemical Society</i> 2013, 135, (14), 5433-40 □ • Fujino, T.; Goto, Y.; Suga, H.; Murakami, H.* Reevaluation of the D-Amino Acid Compatibility with the Elongation Event in Translation. <i>Journal of the American Chemical Society</i> 2013, 135, (5), 1830-7 • Kawakami, T. & Murakami, H.* Genetically encoded libraries of nonstandard peptides. <i>Journal of Nucleic Acids</i> 2012, 713510.
会議発表 計 11 件	専門家向け 計 10 件 <ul style="list-style-type: none"> •第93回日本化学会春季年会 第4回日英シンポジウム 2013年3月24日 (滋賀)、招待講演 Hiroshi Murakami 「Development of Non-standard Peptide Inhibitor Using TRAP Display」 •第85回日本生化学会 2012年12月16日 (福岡)、口頭発表 溪口直弘、中山紗由美、村上裕 「迅速、簡便、高効率な複数変異導入法」 •第85回日本生化学会 2012年12月14日 (福岡)、招待講演 村上裕 「薬剤候補を増幅する方法の開発とVEGFR2阻害剤創製への応用」 •バイオサイエンス若手研究会第2回シンポジウム 2012年12月3日 (信州)、招待講演 村上裕 「進化分子工学の創薬への応用」 •第49回ペプチド討論会 (日本ペプチド学会) 2012年11月7日 (鹿児島)、ポスター発表 川上隆史、石沢堯大、藤野公茂、村上裕 「高速試験管内ペプチド分子進化法を用いた血管内皮増殖因子体阻害ペプチドの開発」 •第49回ペプチド討論会 (日本ペプチド学会) 2012年11月7日 (鹿児島)、口頭発表 藤野公茂、村上裕 「βアミノ酸を含むペプチドの翻訳系を用いた合成」 •第6回バイオ関連化学シンポジウム (日本化学会) 2012年9月7日 (札幌)、口頭発表 石沢堯大、川上隆史、村上裕 「高速試験管内分子進化法の開発と血管新生阻害ペプチド創製への応用」 •第12回 東京大学 生命科学シンポジウム 2012年6月30日 (東京)、ポスター発表 石沢堯大、村上裕 「試験管内でのポリペプチドの高速進化」 •第12回 東京大学 生命科学シンポジウム 2012年6月30日 (東京)、ポスター発表 藤野公茂、村上裕 「翻訳系でβ-アミノ酸をペプチドへ導入できるか」 •The Second Asian Chemical Biology Conference ACBC2012, June 5th, 2012, Okinawa, Poster presentation Hiroshi Murakami, Takahiro Ishizawa “Quick Display: a method for facilitating selection of functional peptides and proteins” 一般向け 計 1 件 <ul style="list-style-type: none"> •首都の大学訪問ツアー：スーパーサイエンスハイスクール、2012年8月6日 (東京)、口頭 村上裕 「薬剤を進化させる新しい方法」
図書 計 0 件	
産業財産権 出願・取得状 況 計 1 件	(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 1 件
Webページ	
国民との科 学・技術対話 の実施状況	上記の「首都の大学訪問ツアー」において、大学における研究活動の紹介を、香川県観音寺第一高等学校の生徒に対して行いました (2012年8月6日実施)。DNA→RNA→タンパク質のセントラルドグマの話から、最先端・次世代研究開発支援プログラムの内容である化合物の進化について話をしました。さらに進化を速めるための方法論や、血管新生阻害剤の創製を紹介しました。別の機会 (2012年12月6日実施) に同校の学生に対し、研究を実施している大学院生による講演や討議も行いました。また、オープンキャンパスにおいて最先端・次世代研究開発支援プログラム「国民との科学・技術対話」ポスター展示「未来からの招待状」にてポスター掲示を行いました。また同ポスターは、2012年8月3日～10月8日まで医学部附属病院外来棟1Fロビーに掲示されました。
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24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	116,000,000	77,388,000	18,216,000	20,396,000	0
間接経費	34,800,000	23,216,400	5,464,800	6,118,800	0
合計	150,800,000	100,604,400	23,680,800	26,514,800	0

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	当該年度返還 額
直接経費	1,095,629	18,216,000	0	19,311,629	16,812,829	2,498,800	0
間接経費	23,216,400	5,464,800	0	28,681,200	0	28,681,200	0
合計	24,312,029	23,680,800	0	47,992,829	16,812,829	31,180,000	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	10,033,695	実験試薬、実験チップ/チューブ、PCR装置等
旅費	425,260	研究成果発表旅費(生化学会、ペプチド学会)等
謝金・人件費等	5,422,822	博士研究員人件費、学術支援職員人件費等
その他	931,052	学会誌投稿料、トナー、印刷用紙等
直接経費計	16,812,829	
間接経費計	0	
合計	16,812,829	

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
Real-time PCR機	Roche社	1	1,342,740	1,342,740	2013/1/11	東京大学
				0		
				0		