

26R-am01S

タンパク質加水分解活性の網羅的検出を可能にするペプチドライブラリーの開発
○小名木 淳^{1,4}, 小松 徹^{1,4}, 浦野 泰照^{1,2,4,5} (¹東大院薬, ²東大院医, ³JST PRESTO, ⁴JST CREST, ⁵JST 研究加速課題)

【目的】酵素は重要な創薬標的群の一つであり、特定の酵素の活性異常が病態と深く関連する例が数多く報告されている。そのため、病態と各種酵素活性の変化に着目することによって、有用な創薬標的、バイオマーカーを見出せることが期待される。そこで我々は、特定の病態と関連して活性異常が見られる酵素の同定をおこなうため、生体試料中の酵素活性の網羅的解析を可能とするペプチドライブラリーの構築を目指した研究をおこなった。

【方法・結果】まず、酵素の残基選択的加水分解活性を利用して精製タンパク質を加水分解し、得られたペプチド群を LC-MS を用いた質量解析により同定することで、ペプチドライブラリーを構築した。現在までに、3 種類の精製タンパク質をそれぞれ 3 種類の酵素により残基選択的に加水分解することにより、合計 9 種類の群、294 種類のペプチドを含むライブラリーの構築に成功した。次に、得られたペプチドライブラリーを用いて特定の酵素活性の選択的検出が可能であることを確かめるため、類似のキモトリプシン様活性を示すタンパク質加水分解酵素である chymase と cathepsin-G を、それぞれペプチドライブラリーの溶液を混合し、酵素反応生成物を LC-MS を用いて解析した。次に多変量解析により基質認識に差があるペプチド配列の探索を行ったところ、BSA 由来のペプチドライブラリーの中に chymase によってのみ加水分解をうける配列を複数発見することに成功した。現在、見出された配列を組み込んだ chymase 選択的な蛍光プローブを設計・合成し、その評価を行っており、今後はプローブの改良や新たな選択的配列の探索と共に、生体試料を用いた解析法の構築を進めていく予定である。