

# 26R-am08S

ペプチドライブラリーを用いた酵素活性の網羅的解析法の確立と発展

○市橋 裕樹<sup>1</sup>, 小名木 淳<sup>1</sup>, 小松 徹<sup>1,4</sup>, 神谷 真子<sup>2,4</sup>, 松崎 裕幸<sup>3</sup>, 畑 啓介<sup>3</sup>, 渡邊 聡明<sup>3</sup>, 浦野 泰照<sup>1,2,5</sup> (東大院薬,<sup>2</sup>東大院医,<sup>3</sup>東大病院腫瘍外科,<sup>4</sup>JST さきがけ,<sup>5</sup>AMED CREST)

【目的】酵素は重要な創薬標的であり、生体内の酵素の代謝活性を直接評価する方法は酵素の動的機能の理解につながると期待される。当研究室で開発されたペプチドライブラリーを用いた酵素活性の網羅的解析法は、様々な代謝反応の基質となるペプチドを調整し、生体試料と混合してペプチドを代謝させ、その後、質量分析法を用いてペプチド由来のマスシグナル変化を調べることで、ペプチドを基質とする酵素活性の網羅的解析を可能とするものである。本研究では、これを用いた生体サンプル中の酵素活性の評価系を確立し、細胞種特異的な酵素活性の探索を行うと共に、本手法を発展させ、生体内に存在するより広範な酵素の働きの評価を可能とする新たな実験系の開発を行った。

【方法・結果】当研究室で開発された Diced electrophoresis gel (DEG) 法では、生体サンプル溶液内のタンパク質を 2 次元電気泳動により分離し、そのゲルをカットしてウェルに入れることで、分離したタンパク質について解析をおこなうことができる。そこでまず、本手法を用いることで生体サンプル中の各酵素を分離し、その後各ウェルにペプチドライブラリー溶液を加えてペプチドを代謝させた(右図)。UPLC-MS を用いて各ウェルにおけるペプチドのマスシグナル変化を調べることで、ペプチドを基質とした酵素活性の網羅的解析を行うことに成功した。本発表では、ペプチドライブラリーを用いた酵素活性の網羅的解析法の確立、およびヒト大腸がん検体に対して行った酵素活性の解析結果について発表する。

