

プロテオミクスと創薬への光技術

友廣 岳則

富山大学大学院医学薬学研究部
生体認識化学研究室

DNA-タンパク質、タンパク質・タンパク質や化学物質・タンパク質など生体機能を担う一連の特異的相互作用を解析するツールとして、それら分子間をその結合部位で架橋（クロスリンク）する技術がある。この技術を利用すると、例えば薬や環境ホルモンなどある特定の化学物質に直接関与する生体分子のみを釣り上げることができ、さらにその結合ドメインがわかる。つまり創薬においては、ターゲットタンパク質や薬剤のスクリーニングに応用可能であり、さらに毒性の軽減などピンポイント的に効果を発揮するような薬剤開発に繋がり、一方、材料分野においては物質センサー開発などに重要な意味を持つ。

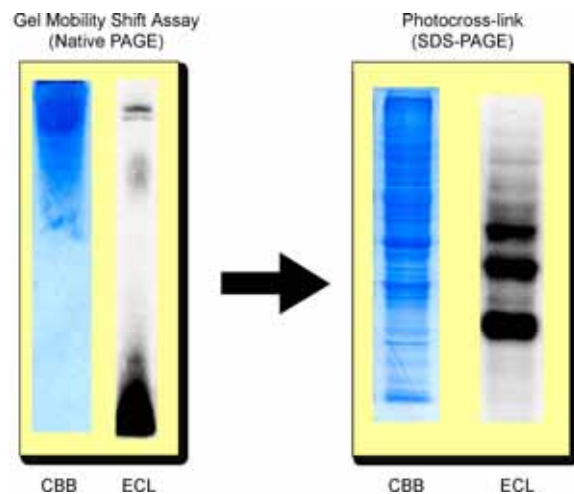
我々は光を利用して上記内容を迅速かつ簡便に行うことが可能な技術を開発してきた。タンパク質構造・機能を解析するという点において他の手法と比較すると、光クロスリンク法の主な利点は、1) X線結晶解析に比べ、結晶化が困難なタンパク質（例えば、薬物ターゲットの半分を占める膜受容体など）の解析が可能、2) NMRに比べ、大量のピュアなタンパク質は必ずしも必要ではない、3) ポイントミューテーションに比べ、構造に関する情報が必要ではないことが挙げられ、その他の大きな特長としては、不特定の相互作用タンパク質を同定しそのまま機能ドメイン解析に移行できること、比較的弱い相互作用系の解析にも応用可能なこと、光反応基は光以外の条件には高い安定性を有する化学種であることなどが挙げられる。

この光反応性基を利用した光アフィニティーラベル化技術ではジアジリン誘導体が最も実績がある。しかし、残念ながら今まではその合成法に問題があり汎用化に至っていなかった。我々はその極めて効率のよい合成ルートを開発し、多様な誘導体を大量に調製できる技術を有しており、多様な生体分子を簡便に光活性プローブに機能化することが可能である。用いる光は通常 DNA やタンパク質など生体分子に影響のない UVB (360nm 付近) である。また、固相を利用したスクリーニングやプロテオミクスを実施する場合、たびたび非特異的吸着を如何に抑えるかが問題となるが、この光を用いた手法は、非常に簡便に行える上に非特異的吸着タンパク質をきれいに洗浄し取り除くことができるため真にアフィニティーを有するもののみを取り出し解析することができる。我々は、この技術の展開を図っており、下記に主な取り組み内容を記す。

- ・多様な官能基を有するジアジリン誘導体ライブラリーの整備
 - ビオチン基や金属配位基など検出・精製タグ
 - 切断機能、ポストラベル対応官能基などの導入
- ・光反応性生体分子の簡便かつ効率的な構築技術と応用
 - DNA、ペプチド、タンパク質、糖鎖、脂質の各種光反応性プローブの作製
 - SDS-PAGE と組み合わせた複数レセプターの同時検出と相互作用解析法
- ・固相系を利用した精製・スクリーニング技術の開発：
 - 固相における脱着機能を取り入れた精製系
 - リガンド（またはタンパク質）固相スクリーニングシステム
 - 一段階光ファブリケーションによる固相表面の機能化
 - 光バイオパニング法によるターゲットタンパク質の効率的増幅法

今回は、多機能光プローブの作製や DNA 結合タンパク質等を例にプロテオミクス解析に向けたリガンドレセプター相互作用解析について報告する。さらに、光技術を利用した固相機能化とその応用について最近のデータを紹介したい。

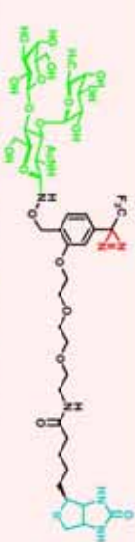
（右図は、HeLa 細胞核抽出液をタンパク質ソースとして用いて、Oct-1 DNA プロープに結合するタンパク質群を検出した結果。左側が、通常のゲルシフトアッセイ、右側が光クロスリンクと SDS-PAGE を組み合わせたアッセイ法。SDS-PAGE を利用可能なことから、複数の結合タンパク質を同時に、その分子量情報と共に解析できる。）



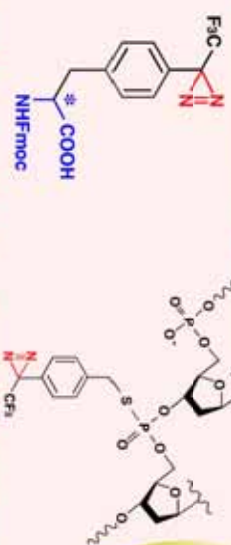
将来展望：結合タンパク質の解析やスクリーニングの高速化で何が可能になるのか。

極論すれば、薬は10人に2・3人にしか効かないといわれる。つまり、ある薬に関しての効果考えた場合、人は数種類のタイプに分けることができる。例えば、ターゲットタンパク質の薬剤作用部位の変異に注目すると、その多様性を特定し各タイプにわけることによって、少なくとも薬効の違いを事前診断できる。さらに、豊富に存在するドラッグライブラリーからそれぞれのタイプにあわせたドラッグ選別を可能にできれば、テーラーメイド医療に近づくと考えられる。

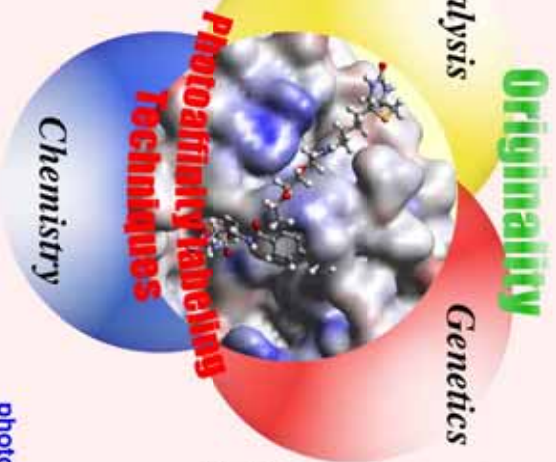
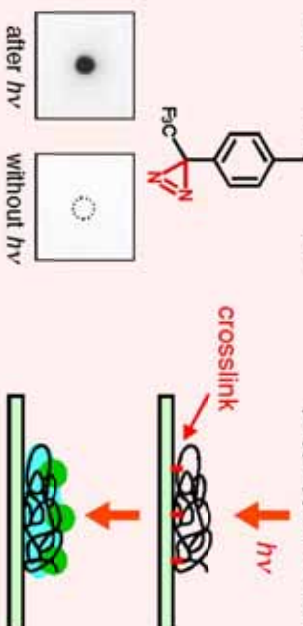
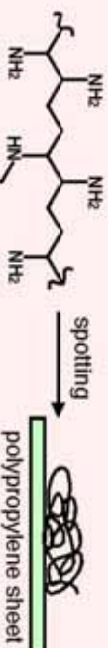
豊富な生体分子プローブ：任意の場所に簡単導入



Non-protect & one-step synthesis

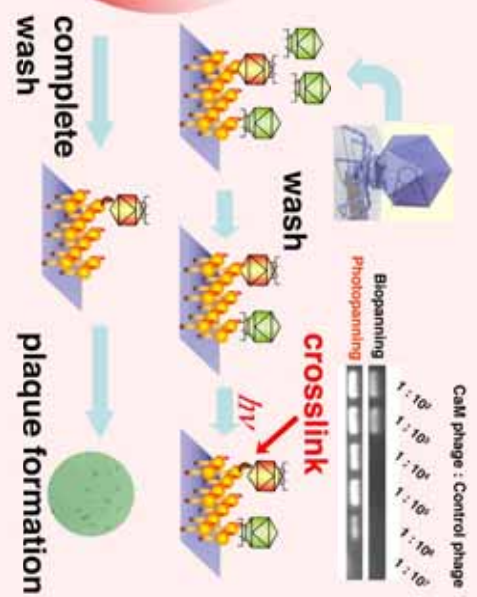


Available for the machine Custom DNA synthesis

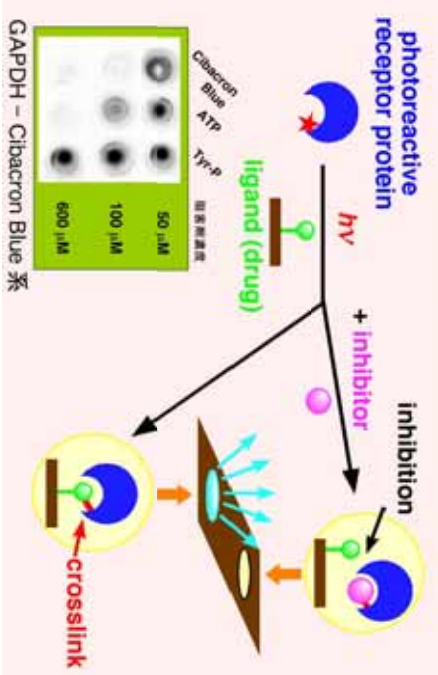


diazirine derivatives

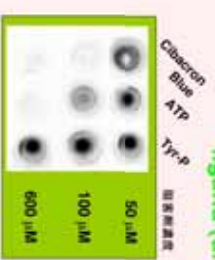
光フラグメンテーション：固相表面の簡便な機能化



↑ 標的タンパク質を増やす
↓ 標的薬剤を探し出す



GAPDH - Cibacron Blue 系



【略歴】

ともひろ たけのり

友廣 岳則 理学博士

富山大学大学院 医学薬学研究部 生体認識化学研究室 助教授

- 1986 筑波大学大学院理工学修士課程修了
通産省工業技術院・化学技術研究所入所
- 1992 学位取得（筑波大学・理学博士）
- 1992 博士研究員（英国オックスフォード大学・S.R.Cooper 教授、-1994）
- 1993 通産省工業技術院・生命工学工業技術研究所（組織再編による）
- 2001 独立行政法人・産業技術総合研究所（組織法人化による）
- 2002 富山医科薬科大学・薬学部、助教授
- 2005 富山大学・薬学部、助教授（三大学統合による）
- 2006 富山大学・大学院医学薬学研究部・助教授（改組による）

主な所属学会：日本化学会、日本薬学会

現在の研究テーマ：生命現象を観るツールを開発する

- 1) 光技術、ナノ微粒子を用いた損傷 DNA 結合タンパク質のプロテオミクス解析
- 2) 新しい固相技術を用いた生体分子スクリーニング法、および精製技術

研究歴：

- 1) 金属酵素モデル錯体の合成、アロステリック機能制御
- 2) 抗癌性白金錯体合成と DNA 損傷作用機序に関わるタンパク質精製・解析技術
- 3) ドラッグキャリアー（膜融合性リポソーム、新規異方性ナノ微粒子）の開発