

微量薬物標的の同定を目指した多機能光ラベル法の開発

富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）生体認識化学研究室

友廣 岳則

最近、患者 iPS 細胞を使った効果的な化合物探索法により、脂質異常症に高い薬効を示すスタチン系医薬品が軟骨無形成症に極めて効果的であることが判明した。つまり、この化合物が作用するタンパク質は軟骨無形成症治療薬の標的として重要であり、その知見は、生命科学において軟骨無形成症シグナル経路解明の重要な布石となる。創薬における1つのブレークスルーは治療効果の高い標的タンパク質を特定することであり、学術的にも活性物質が作用するタンパク質から新たな疾患シグナル経路を見いだすことは、既成概念にとらわれない合理的な方法と考えられる。しかし、標的タンパク質が極微量の場合には、MS など解析データの再現性が低く、候補タンパク質の判別はしばしば煩雑化し見誤る。

今回紹介する基盤技術の光アフィニティーラベル法（PAL : photoaffinity labeling）は、薬物などのリガンド分子を介して生細胞中の相互作用分子を光照射で瞬時に捕らえて同定する、簡便で原理的に優れた方法である。低い解析効率がボトルネックであったが、LC-MS/MS 分析機器の高性能化に伴い、化学プロテオミクスの主な手法の1つになってきた。しかしながら、これらの方法は基本的に阻害剤添加の有無における溶出量の差で判別することから、多量夾雑物中では非特異的吸着タンパク質の影響は大きく、極微量ラベルタンパク質の判別は困難を伴う。我々は光クロスリンカーとして優れた反応性を示すジアジリン基の機能化により解析操作を改良してきた。最近、ラベルペプチドの直接同定を組み入れた、より確実なタンパク質同定法を確立すべく、蛍光基に変化する独特な光反応基を開発した。

この反応基ユニットはシンプルな構造ながらも、光クロスリンク、光切断、発蛍光、質量差などの多機能を内包している。つまり、捕らえたタンパク質を通常の前処理から光照射で温和に切断溶出させ、その消化サンプルから蛍光特性と質量差で標的シグナルを絞り込む。最終的に比較的安定で小型のタグが付与される点でも MS 解析に有意となっている。操作としては通常の前処理/LC-MS 解析であるが、汎用法における濃縮前処理など単一機能の繰り返しではなく、次元の異なる機能の重なりで、膨大な夾雑物シグナルから極微量の標的シグナルを一気に特定するものであり、細胞ライセートから短期間での標的タンパク質同定を可能にした。本発表ではこれに特化した2種類の反応基とその応用について紹介する。

参考文献 : 1) Tag-Creation Approaches for Highly Efficient Profiling of Interacting Proteins and Domains. Contribution to "Photoaffinity Labeling for Structural Probing within Protein", Eds. Hatanaka, Y., Hashimoto, M. Chapter 2, *Springer Nature*, **2017**; 2) Tomohiro, T., Morimoto, S., Shima, T., Chiba, J., Hatanaka, Y. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2014**, 53, 13502; 3) Hotta, Y., Kaneko, T., Hayashi, R., Yamamoto, A., Morimoto, S., Chiba, J., Tomohiro, T. *Chem. Asian J.*, **2019**, 14, 398.

略歴

氏名：友廣 岳則（ともひろたけのり）

現職：富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）生体認識化学研究室・教授

学歴

1984年 筑波大学第1学群自然科学類卒業
1986年 筑波大学大学院理工学修士課程修了
「1992年 理学博士（筑波大学）」

職歴

1986年 通産省工業技術院・化学技術研究所入所
1992年 博士研究員（英国オックスフォード大学、-1994）
1993年 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年 独立行政法人・産業技術総合研究所（組織法人化による）・主任研究員
2002年 客員教授（仏国パスツール大学・ベル研究所）
2002年 富山医科薬科大学・薬学部、助教授
2005年 富山大学・薬学部、助教授（三大学統合による）
2006年 富山大学・大学院医学薬学研究部・助教授（改組による）
2017年 富山大学・大学院医学薬学研究部・教授

主な所属学会

日本薬学会、日本化学会、日本ケミカルバイオロジー学会、日本プロテオーム学会、日本光医学・光生物学会、アメリカ化学会

受賞

2010年 日本光医学・光生物学会奨励賞