

「新機能創出を目指した分子技術の構築」
平成 24 年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告

菅 裕明

東京大学 大学院理学系研究科
教授

擬天然物の新機能創出分子技術

§ 1. 研究実施体制

(1)「菅」グループ

① 研究代表者:菅 裕明 (東京大学大学院理学研究科科学専攻、教授)

② 研究項目

平成25年度は下記の2項目について、重点的な研究を進めた。

- ・ ヘテロ環合成酵素の人工改変と短鎖ヘテロ環含有ペプチドの迅速合成
- ・ 短鎖ヘテロ環含有擬天然物活性種探索に向けた RaPID-P システムの確立
- ・ 2重脂質膜で分離された極小(ナノ)ウェル作成技術の確立

§ 2. 研究実施の概要

- ・ ヘテロ環合成酵素の人工改変と短鎖ヘテロ環含有ペプチドの迅速合成

ヘテロ環合成酵素の1つであるPatDは、その基質であるPatEを修飾することが知られているが、その基質はリーダーペプチド(LP)、認識配列(RS)と修飾コア配列(CS)と呼ばれている40残基以上に及ぶ配列である。平成24年度に確立した再構築無細胞翻訳-PatD系(FIT-PatDシステム)を駆使した、基質配列変異体の網羅的な検証により、LPの最重要領域、RSのリンカーとしての役割、等が明らかになった。そこで本年度はこれらの知見をもとに、PatDそのものに人工改変を施し、LPを持たない短鎖ペプチドを修飾できる人工PatDを創製し、その基質許容性について検証した。

- ・ 短鎖ヘテロ環含有擬天然物活性種探索に向けたRaPID-PatDシステムの確立

人工PatDの開発による知見をもとに、活性種の探索を可能にするディスプレイシステムRaPID-PatDシステムの確立を進めた。RaPIDシステムは大環状特殊ペプチドをディスプレイし、高活性種を獲得する技術として菅研で既に確立された技術である。これに上記の人工PatDを組み込み、ヘテロ環含有特殊ペプチドをディスプレイするRaPID-PatDシステムの確立を進めた(現状ではまだ初期結果が出ておらず未完成)。

- ・ 2重脂質膜で分離された極小ウェル作成技術の確立

本研究では、膜透過性を有する擬天然物の探索に資する技術を開発するために、MEMS(Micro-Electro-Mechanical Systems)技術を用いて作成した極小ウェル上に、簡便に2重脂質膜を形成させる技術基盤を確立した。これまで、サブナノ(フェムト)リットルの体積をもつ極小ウェルにディフェクト・フリーで2重脂質膜を形成させることは極めて難しく、またそういった極小ウェルが薬剤探索等に応用された例はない。そこで、本研究では、10万の100フェムトリットル以下の体積をもつ極小ウェル上に、均一な2重脂質膜を作成する基盤技術の開発を試みた。様々な方法、条件検討を経て、20フェムトリットルの極小ウェルに、極めて簡便な方法でほぼディフェクト・フリーで2重脂質膜を形成させる技術の開発に至った。本研究は、東京大学大学院工学系研究科の野地博行研との共同研究である。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 2 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 2 件)