

## 生体機能化学

教授：二木 史朗 講師：今西 未来 助教：河野 健一



## 研究概要

私たちの体は、様々な生体分子の巧妙な相互作用によって成り立っています。私たちの研究室は化学の目からの生体分子の相互作用の理解、細胞機能・遺伝子を制御する生理活性蛋白質の創出、さらには新しい薬物の治療概念の樹立を目指し、分子生物学、細胞生物学、ペプチド・蛋白質化学的手法等を用いて、以下のような研究に取り組んでいます。

1) 細胞膜透過ペプチドベクターの開発と機序：私たちの研究室では塩基性アミノ酸「アルギニン」を多く含むペプチドの細胞膜透過に興味を持ち、研究を進めています。アルギニンペプチドをベクターとして、従来、細胞膜を透過するのが困難であった様々な分子を細胞内に導入できることが明らかとなってきました。この方法は、新しい細胞機能制御法、あるいは薬物の細胞内送達法としても注目されています。私たちの興味の一つは、「なぜこのような塩基性ペプチドが効率よく細胞内に移行できるのか」ということです。このようなペプチドの細胞膜透過様式は今まで知られていない新しいものであると考えられ、これらを明らかにすることにより、細胞内への物質導入に関する新しい概念が生まれるのではないかと考えています。また、これらを明らかとすることによって、さらに効率的で選択的なベクターの開発が可能になるのではないかと期待しています。

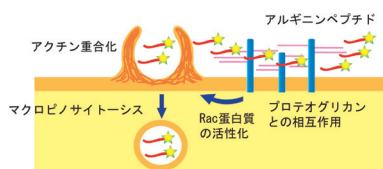
アルギニンペプチドを用いた細胞内への効率的な取り込みを説明する機序として、現在までに様々な説が提唱されてきています。私たちは、最近、アルギニンペプチドと細胞表面のプロテオグリカンの相互作用が細胞内のRac蛋白質を活性化し、アクチン蛋白質の重合化とマクロピノサイトーシスを誘導することを見いだしました。この結果は、細胞表面のプロテオグリカンとの相互作用によって「細胞表面へ濃縮されたアルギニンペプチド」が、「マクロピノサイトーシスによる細胞内への積極的な取り込みを誘導」することで、アルギニンペプチドの効率的細胞移行が行われることを示唆しています(図)。

ペプチドベクターを用いた細胞内物質導入法は、医療や薬物治療のみならず、細胞を志向する化学やナノ細胞技術など様々な分野に応用可能であり、関連領域の科学技術の発展に大きなインパクトを与え得る研究と考えられます。克服すべき問題点も多いですが、積極的に研究

を進めることにより、新しい細胞内物質導入の概念が生まれることを期待しています。

2) 人工転写因子による概日リズムの調節：遺伝子の発現は、遺伝子の中の特定のDNA領域(プロモーター、エンハンサーなど)に「転写因子」と呼ばれる蛋白質が結合することによって調節されています。亜鉛フィンガーやTALEは、転写因子のDNA配列選択的な結合を担う代表的な蛋白質構造モチーフです。このデザインにより、さまざまなDNA配列を認識可能な亜鉛フィンガー蛋白質やTALEが作製でき、さらに、これを基に、従来にはない機能を有する人工転写因子の創出が期待出来ます。このような人工転写因子は生命現象の解明や遺伝子治療のツールとして大変有用です。私たちは、亜鉛フィンガー蛋白質やTALEのDNA結合様式の理解を深め、人工転写因子設計に向けての知見を得るとともに、創出した人工転写因子を用いて、生命現象の解明への応用に取り組んでいます。特に現在は、「なぜ生物は24時間のリズムを刻むのか?」という、生物にとっての基本現象に対する分子レベルでの理解を目指しています。

3) 人工受容体型チャンネル蛋白質の設計：遺伝子工学を用いた蛋白質の改変では生体内に存在する20種類の天然型のアミノ酸しか用いることは出来ませんが、化学合成したペプチドを用いれば様々な非天然アミノ酸や官能基を導入した分子の調製が可能です。これらを利用して、天然の蛋白質ではできない機能を持ったペプチドや蛋白質を創出することを目指しています。たとえば、受容体蛋白質はそのリガンドと特異的に結合し、構造変化することにより、細胞内部にその情報を伝えます。この機能を短いペプチドで実現することが出来れば、その原理に基づく「新しい情報伝達素子」の創製が期待出来ます。また、ペプチドで発現する機能と蛋白質のそれとを比較することにより、従来とは異なる角度からの蛋白質の構造と機能の理解が深まることも期待されます。私たちは最近、膜外構造変化が膜電流の増加を誘起する人工受容体型チャンネルの創製に初めて成功しました。研究室では今、この概念に基づく新しいセンサー系の開発や天然の膜蛋白質の構造と機能の解明を目指し、研究を進めています。



アルギニンペプチドと細胞表面のプロテオグリカンとの相互作用により、アクチン重合とマクロピノサイトーシスという特殊なエンドサイトーシスが誘導され、細胞内への取り込みが促進される。

## 主要論文

- Kawaguchi et al. Syndecan-4 Is a receptor for clathrin-mediated endocytosis of arginine-rich cell-penetrating peptides. *Bioconjug Chem* **27**, 1119, 2016.
- Azusa et al. Controlling leucine-zipper partner recognition in cells through modification of a-g interactions. *Chem Commun* **50**, 6364, 2014.
- Tsuji et al. Creating a TALE protein with unbiased 5'-T binding. *Biochem Biophys Res Commun* **441**, 262, 2013.