

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		Fas および Fas リガンドに対するアゴニスト、アンタゴニスト環状ペプチドの開発
研究代表者	所属・職名・氏名	東京大学大学院理学研究科化学専攻・教授・菅裕明
研究分担者	所属・職名・氏名	東京大学大学院理学研究科化学専攻・助教・後藤佑樹
	所属・職名・氏名	東京大学大学院理学研究科化学専攻・修士課程学生・宮地大輝
受入担当教員	職名・氏名	教授・須田貴司
【研究目的】	Fas は Fas リガンドに結合することで細胞にアポトーシスを誘導する細胞表面受容体である。Fas や Fas リガンドの欠損は悪性リンパ腫や扁平上皮癌の発生頻度を高める。したがって、Fas アゴニストはこれらの悪性腫瘍の治療に有用である可能性がある。一方、肝炎を含む様々な炎症性疾患で Fas/Fas リガンド系の病理的役割が報告されている。従って、Fas アンタゴニストは肝炎などの治療に有用である可能性がある。そこで、本共同研究では、我々が開発した RaPID システムを用い、Fas に対するアゴニスト、アンタゴニストの開発を試みた。	
【研究内容・成果】	我々は、独自の方法で非天然アミノ酸を tRNA にアミノアシル化し、任意のアミノ酸配列を持つペプチドを翻訳合成すると技術と、膨大な種類のペプチドをコードした人工遺伝子の複合体の中から、任意の蛋白に結合するペプチドを迅速にスクリーニングする技術、RaPID システムを開発した。この技術を駆使することで、様々な蛋白に極めて高い親和性で結合する大環状特殊ペプチドの同定が可能になり、種々の受容体蛋白に対するアゴニストやアンタゴニストの開発に応用することが出来る。 そこで、須田らが調製した Fas の細胞外領域とヒト IgG1 抗体 Fc 領域の融合蛋白、Fas-Fc をプロテイン A カラムに固定化して、Fas-Fc カラムを調整した、RaPID システムで作成したペプチド-人工遺伝子複合体ライブラリーを Fas-Fc カラムに添加し、結合した複合体から人工遺伝子を回収して増幅した。このサイクルを 6 回繰り返すことで、11 種類の Fas 結合ペプチドを獲得した。ペプチドは、HPLC で精製し MALDI-TOF で確認した。 次に、得られた Fas 結合ペプチドがアゴニスト (Fas リガンド様)活性を示すか検討する目的で、Fas 発現細胞株 (W4) に添加し、6 時間培養後の細胞の生存率を WST1 アッセイで検討したが、残念ながらアゴニスト活性を示すペプチドは得られなかった。さらに、得られた Fas 結合ペプチドがアンタゴニスト (Fas リガンド阻害)活性を示すか検討する目的で、ペプチドを W4 細胞に添加した後、Fas リガンドを添加し、さらに 6 時間培養後の細胞生存率を検討した。この検討でも、残念ながら Fas リガンドによる細胞死誘導を阻害するペプチドは見出されなかった。今後は、Fas 結合ペプチドの多量体化により Fas に対するアゴニストペプチドを得られるか検討するとともに、Fas リガンドを固定化したカラムを作成し、Fas リガンド結合ペプチドの獲得を目指す。	
【成果等】	【主な論文発表】 なし	
	【学会発表】 なし	
	【その他特筆事項】 なし	