

【目的】 生物活性分子の標的タンパク質同定は、生体関連化学分野における最も重要な研究課題の一つであり、多くの研究者の共通の研究対象である。従来の標的タンパク質同定研究では、生物活性分子のプロープ分子を作製し、そのプロープ分子を用いて結合タンパク質を同定するという研究手法がとられてきた。しかし、生物活性分子のプロープ化には、リンカー構造、リンカー導入部位、標識官能基の種類、等の検討が必要であり、生物活性分子の標的同定研究におけるボトルネックとなっている。「生物活性分子のプロープ化を必要とせずに、分子の結合タンパク質を同定できる手法」は、生化学者およびケミカルバイオロジー分野の研究者の長年の理想であり、創薬科学、生体関連化学分野の研究を効率化する技術になると期待できる。本研究では、生物活性分子がタンパク質に結合すると、タンパク質の熱変性に対する抵抗性が向上するという原理を利用して、新たな標的同定法を開発することを目指した。タンパク質の熱変性時に起きる特徴的な現象として、本来タンパク質の内部に埋もれているチロシン残基が熱変性によってタンパク質表面に露出するという現象に着目した。そこで、タンパク質表面に露出するチロシン残基を選択的に標識する技術の開発を目指した。

【方法】 熱変性過程のタンパク質にチロシン残基修飾を適用することで、熱変性度に応じてタンパク質の修飾効率が向上する修飾法が開発できると考えた。この目標を達成するためには、タンパク質が熱変性するような反応条件でも適用できるチロシン残基修飾法を開発する必要があった。そこで、以下 2 つの新たなアプローチを本研究で試行した。

1. Urazole radical を使ったチロシン残基選択的修飾。2. 熱耐性 laccase を使ったチロシン残基選択的修飾。

【結果】 本研究によって、2 種類の新規チロシン残基修飾法を開発することができた。1. Urazole radical を使ったチロシン残基選択的修飾の検討においては、従来のチロシン残基修飾剤の課題であるチロシン残基への選択性を改善した修飾剤を開発することに成功した。モデルタンパク質を使った反応部位レベルでの解析を行い、チロシン残基を特異的かつ効率的に修飾する修飾剤を見出した。2. 熱耐性 laccase を使ったチロシン残基選択的修飾についても検討し、従来のチロシン残基修飾反応と比較して極めて反応効率が高く、速い反応性を示すチロシン残基修飾法を開発することに成功した。また、モデルタンパク質の熱変性度に応じて、タンパク質修飾効率に変化する修飾法であることが示唆された。

タンパク質熱変性時のチロシン残基の表面露出を捉える手法の開発

