

システイン化学修飾によるタパク質機能解析・制御法の開発

善明, 直輝

<https://hdl.handle.net/2324/4784552>

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (創薬科学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)

氏 名	善明 直輝			
論 文 名	システイン化学修飾によるタンパク質機能解析・制御法の開発			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	王子田 彰夫
	副 査	九州大学	教授	平井 剛
	副 査	九州大学	教授	山田 健一
	副 査	九州大学	准教授	麻生 真理子

論文審査の結果の要旨

生体内において重要な役割を担うタンパク質の機能を解析・制御する手法は有用である。これまでも多くの手法が開発されてきたが、標的タンパク質の局在・機能への影響、低い標的選択性などから、適用範囲が限られている。

これに対して、博士論文申請者の善明直輝氏は Cys（システイン）残基を標的としたタンパク質高選択的なラベル化法およびタンパク質切断によりその機能制御する Cys 化学修飾法の開発を行った。

第一章では、電子顕微鏡イメージングによる高解像度局在解析を目指し、CysHis（システイン-ヒスチジン）タグケミカルラベル化法の最適化を行った。オリゴペプチドタグ・金属錯体を用いたケミカルラベル化法の研究は以前から行われてきたが、従来の CysHis タグでは詳細な検討は行われておらず、高反応性の反応基の利用によって非特異的なラベル化が懸念されていた。申請者はこの CysHis タグについてタグ配列・プローブ構造・求電子性反応基の最適化を行った。マイケルアクセプター型の穏やかな反応基を用いた高い標的選択性と迅速なラベル化速度の両方を併せ持つ CysHis タグ・Ni 錯体プローブペアの開発に成功した。本ペアは当研究室で開発したアスパラギン酸連続配列タグ・亜鉛錯体プローブと直交性があるため、併用によってタンパク質複合体などの解析にも利用可能となることが期待できる。

第二章では、タンパク質を化学的に切断することでその機能を制御することを目指した新規化学修飾の探索を行った。切断反応の進行を高感度で検出する蛍光アッセイ法を構築し、高い効率でペプチド配列を切断可能な化学修飾として Cys 側鎖の S-ホルミル化を見出した。S-ホルミル化の化学特性を検討し、Asp-Cys 配列および Asn-Cys 配列では切断効率が大きく向上するといった配列選択的や S-ホルミル化の可逆性を明らかにした。また、S-ホルミル化分子の Cys 反応性のチューニングを行い、穏やかな反応性を有する S-ホルミル化分子を見出した。

第三章では、S-ホルミル化によるタンパク質切断法の検討を行った。チオール種の添加により S-ホルミル化後の切断効率が大幅に上昇することを見出した。また、S-ホルミル化分子を高濃度で添加した場合においても非特異的な切断はほとんど起こらないことを明らかにした。

また、タグ-リガンド間の親和性によりタグ上の Cys 残基と S-ホルミル化分子を近接させることで、タンパク質に導入したタグを低濃度の S-ホルミル化分子で迅速に切断可能であることを示した。

以上、申請者の善明直輝氏は Cys 化学修飾を利用した標的タンパク質解析・制御法の開発を行い、CysHis タグ・Ni 錯体プローブペアを用いた標的選択的ラベル化法および S-ホルミル化を用いた効率的なタンパク質切断法の開発に成功した。これらは今後、創薬標的となるタンパク質の機能解析において有用ケミカルツールになると期待できるものであるため、博士（創薬科学）に値すると認める。