

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 11914 号
------	---------------

氏 名 久米 暁子

論文題目

機能性ペプチド探索に向けたスクリーニング方法の提案
(Study on construction of a screening method to develop functional peptides)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	本多 裕之
委員	名古屋大学	教授	飯島 信司
委員	名古屋大学	教授	中野 秀雄
委員	名古屋大学	准教授	加藤 竜司
委員	名古屋大学	准教授	清水 一憲

論文審査の結果の要旨

久米暁子さん提出の論文「機能性ペプチド探索に向けたスクリーニング方法の提案」は、バリエーションが膨大なペプチドのライブラリーの中から機能性を示すペプチドを探索するため、4残基ペプチドアレイライブラリーの最適化、およびそのデータの解析による長鎖ペプチドの新しい探索法を明らかにしている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、従来の機能性ペプチド探索としてディスプレイ法の概要と問題点、ペプチドアレイ法の利点と欠点を比較して述べている。ペプチドアレイでは小スケールのライブラリーになるが、アミノ酸の物理化学的特性を使って配列機能解析することで合理的探索が可能になる。しかし、ライブラリーサイズの最適化はこれまで行われておらず、また残基数が長くなると指数関数的にスケールが大きくなるためランダムライブラリーでは限界に至る。本章ではこれら探索法の問題点を整理し、ペプチド探索法の概要を述べている。

第2章では、SPOT固層合成法で作製したペプチドアレイを用いて、標的分子に対して高結合性を示す機能性ペプチドをより簡便で戦略的に探索できるスクリーニングアレイの構築を検討した。すなわち、20種類のアミノ酸をその物理化学的性質から4つのgroupに分類し、これを網羅する256種のペプチド ($4^4 = 256$) を含んだ4残基ペプチドライブラリーを作製し、モデル標的分子として用いた繊維芽細胞、胆汁酸、ZnO微粒子、インターロイキン2 (IL-2)、免疫グロブリンG (IgG) に対して、上記4残基ペプチドライブラリーの結合性の傾向を評価した。その結果、各タンパク質に対して特徴的な物理化学的性質のルールが得られ、かつ、各標的分子へ高・低結合ペプチドにおいても特徴的な物理化学的性質のルールが得られることがわかったことから、本ペプチドライブラリーはスクリーニングアレイとして使える最小サイズになる可能性を明らかにした。

第3章では、標的分子における長鎖ペプチドの結合性の特徴を、短鎖ペプチドの結合性から明らかにするモデルの構築を検討した。そのために、2章で用いた256種類×2セットのである512ペプチドから成る4残基ペプチドライブラリーの主成分分析を実施し、ペプチドの物理化学的特徴を表す変数を2つの主成分に圧縮した。第2章と同様にIL-2とIgGをモデル標的分子とし、これらの標的に対するペプチドの結合親和性を、上記512ペプチドの含むペプチドアレイを用いて評価した。この結合親和性を主成分プロットに展開すると、IL-2とIgGの双方において高結合性ペプチドと低結合性ペプチドのプロットが局在化しており、ペプチドの結合性が分類できることが判明した。次に、この4残基ペプチドの主成分分析から得られた結合性の傾向から、更に長鎖である8残基ペプチドの結合性の傾向を予測できるか検証した。その結果、IL-2とIgGの双方において、8残基の高結合性ペプチドは、4残基の高結合性ペプチドの主成分プロット周辺に濃縮されることが判明した。これにより、4残基ペプチドのライブラリーの主成分分析結果を用いて、8残基ペプチドを高結合性群と低結合性群に区別でき、長鎖ペプチド (8残基) の探索に拡張適用できることがわかった。これは、わずか512ペプチドで8残基の機能性ペプチドの性質を調べることに成功しており、候補ペプチドの探索ライブラリーサイズを、20種のアミノ酸を網羅的に使用した場合 ($20^8 = 2.56 \times 10^{10}$ ペプチド) より、大幅に縮小できたことを示す重要な知見である。

第4章では、本研究の結論を与えている。

以上のように本論文では標的分子に対するペプチドの結合性評価モデルを構築し、高結合性を示す機能性ペプチドの簡便・戦略的な探索のためのスクリーニングアレイ構築、および標的分子に対する長鎖ペプチドの結合性の特徴を、短鎖ペプチドの結合性から推定するモデル構築に応用できることを明らかにした。これらの評価方法並びに得られた結果は、機能性ペプチド探索への応用を実現するために重要であり、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。よって、本論文の提出者である久米暁さんは博士 (工学) の学位を受けるに十分な資格があると判断した。