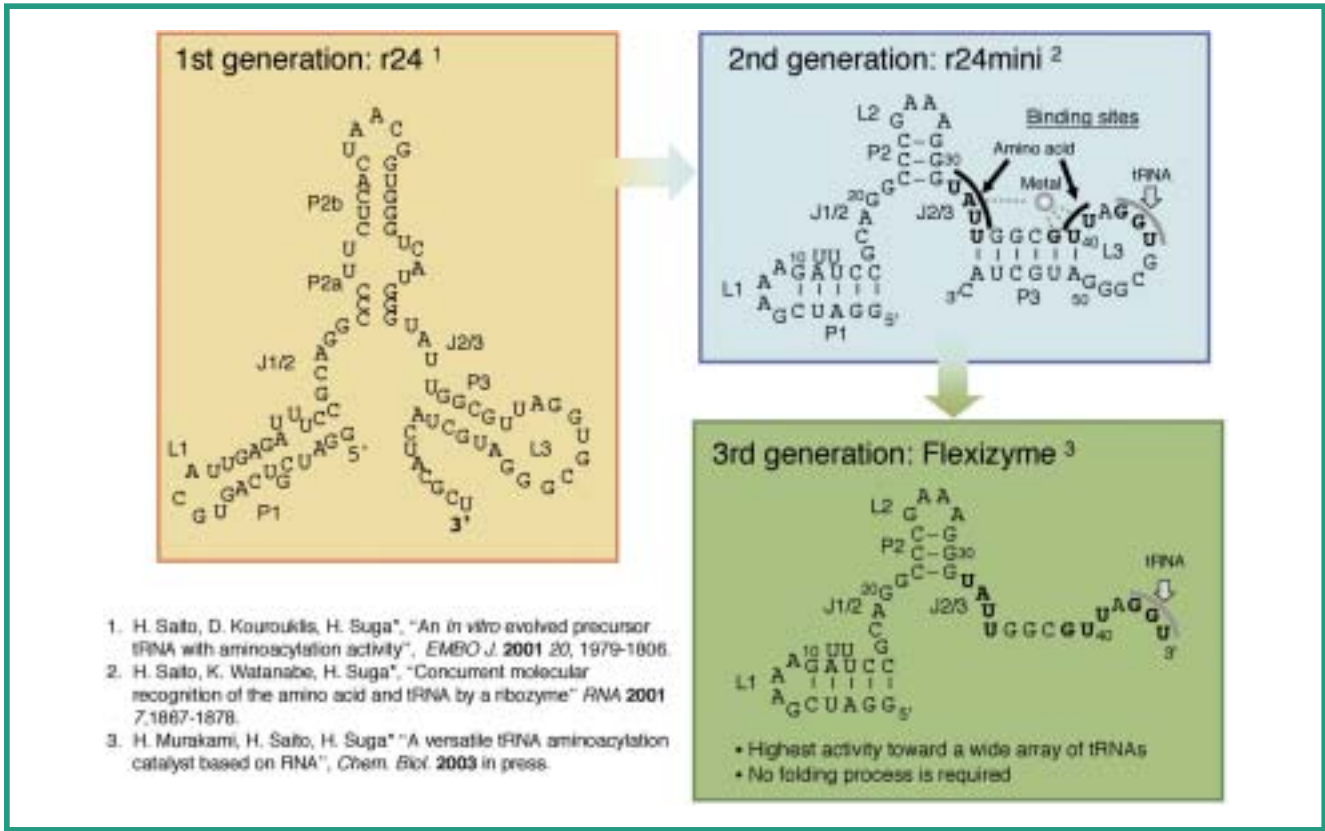


菅研究室 / ケミカル・バイオテクノロジー・ラボ

人工リボザイムを用いた遺伝子暗号の リプログラミングと高機能蛋白質の創製

菅研究室では、化学と生物学を融合することで、Newバイオテクノロジーの開発に挑んでいる。このポスターでは、我々の開発したフレキシレジンと呼ばれる、人工リボザイムを固定化したものを用いて、非天然アミノ酸をtRNAにアミノアシル化し、翻訳に用いた実験を示している。この技術では、従来の非天然アミノ酸の導入法では、その蛋白

図1 >> 人工リボザイム：野生型から
フレキシザイムへの進化



半導体レーザーのパッケージの中にはレーザーの背面光を受光するモニタ用PDが内蔵されている。使用に際しては、自動出力制御(APC)回路を介して駆動電流を流す。

図2 >> リボザイムの固定化：フレキシレジン
(Flexiresin) の開発

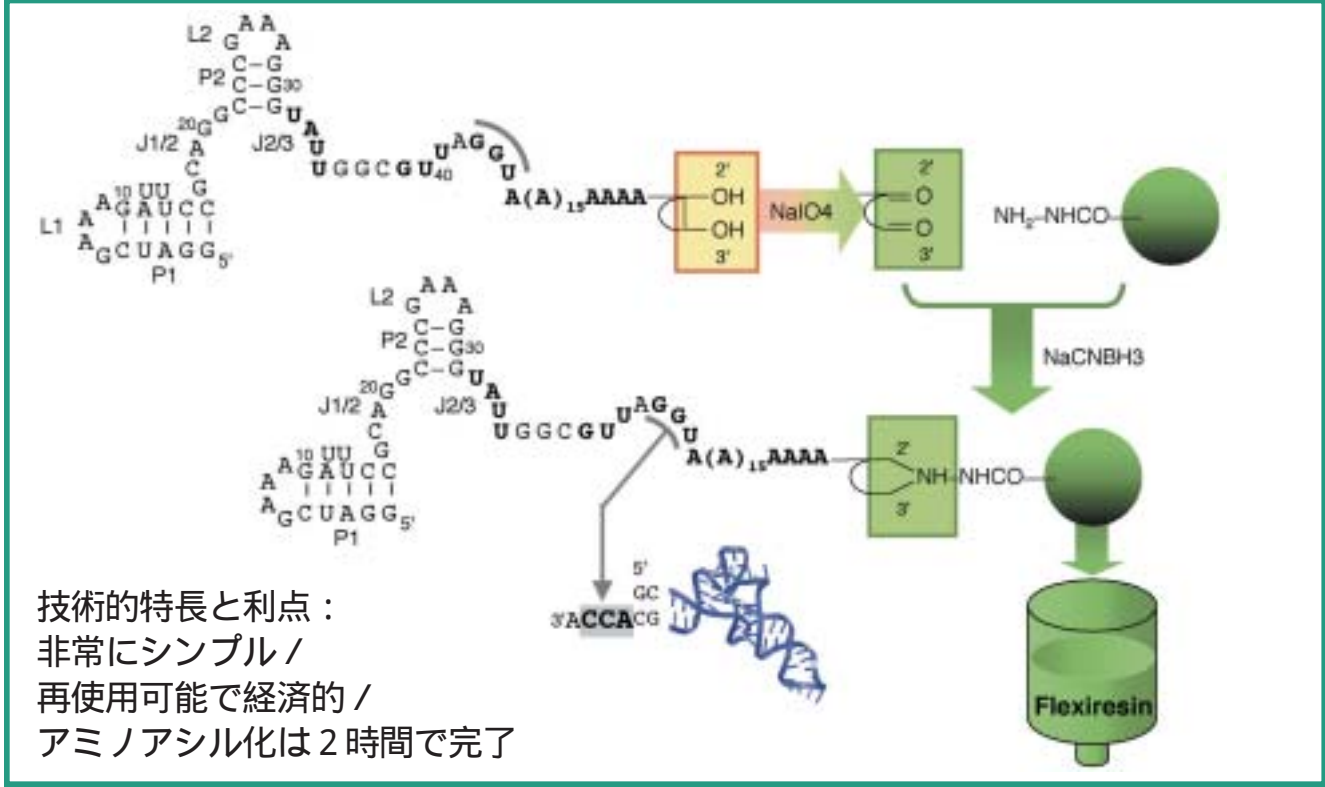
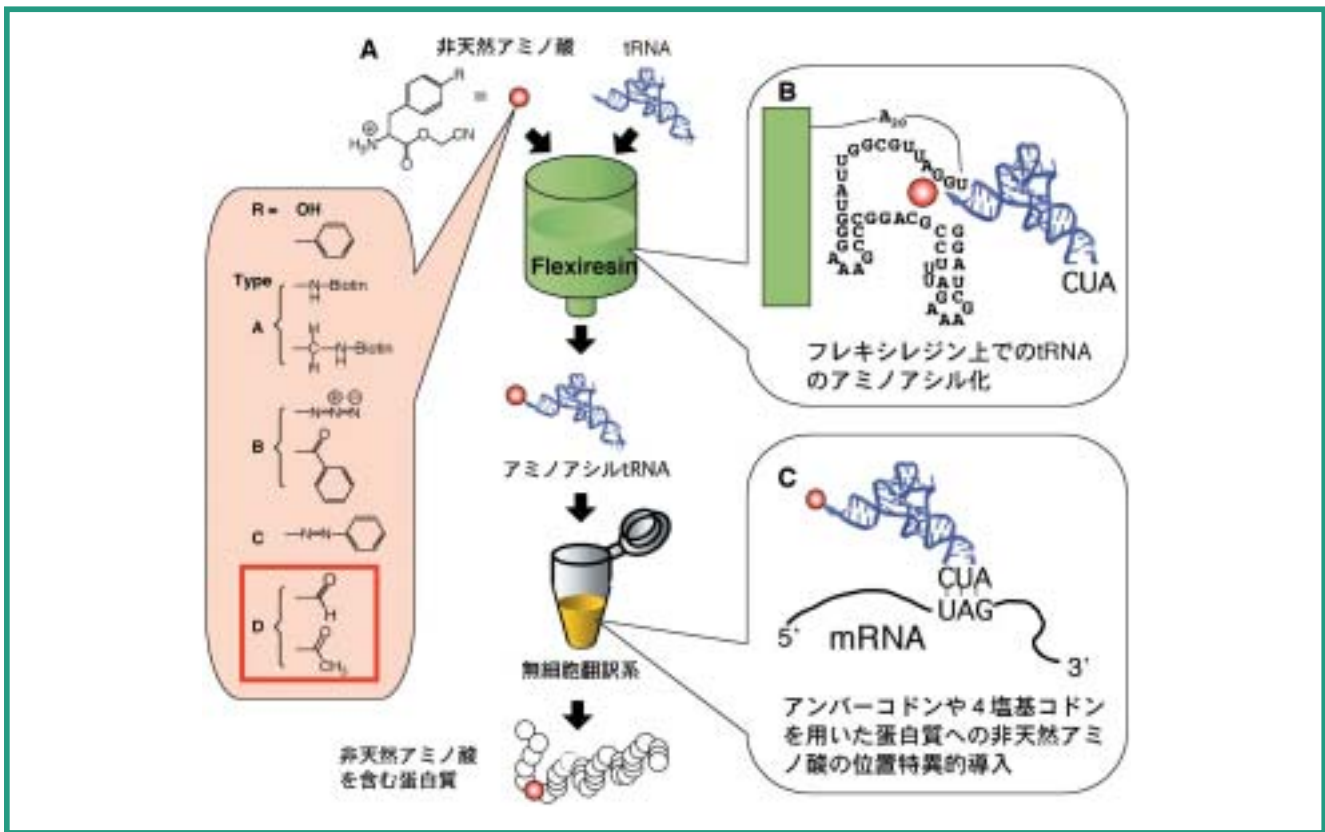


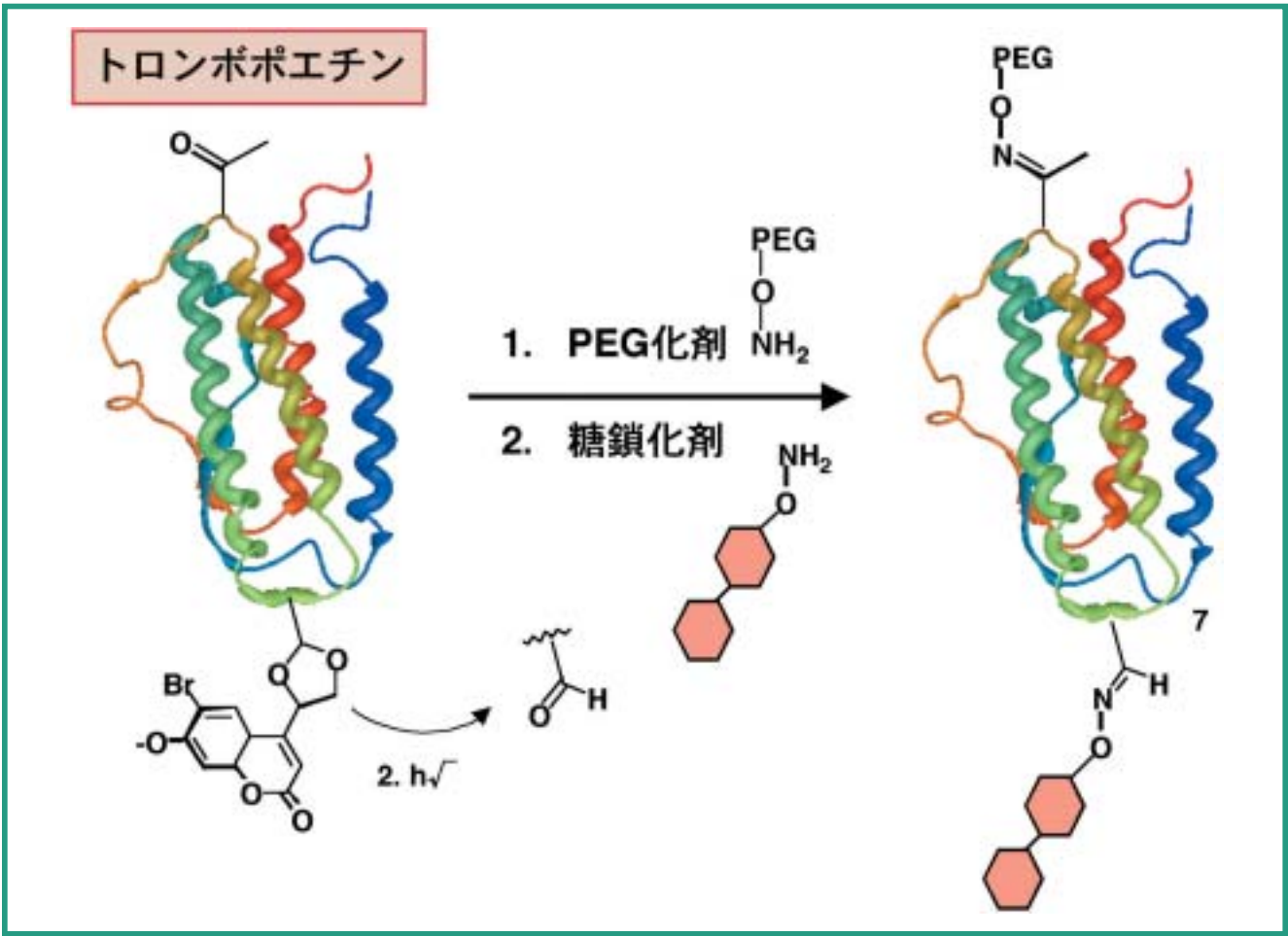
図3 >> テクノロジー・オーバービュー



フレキシレジンを用いる蛋白質への非天然アミノ酸の導入：フレキシザイムをヒドラジン修飾アガロースに固定化し(B)、非天然アミノ酸とtRNAをカラムに通すことにより、tRNAのアミノアシル化をする。非天然アミノ酸のタイプは次の通り(A)：A、ピオチン標識；B、光架橋剤標識；C、アゾベンゼン標識；D、翻訳後、選択的修飾可能な官能基(赤枠内)。そのアミノアシルtRNAによって、無細胞翻訳系でアンバー変異を抑制することで非天然アミノ酸を導入する(C)。

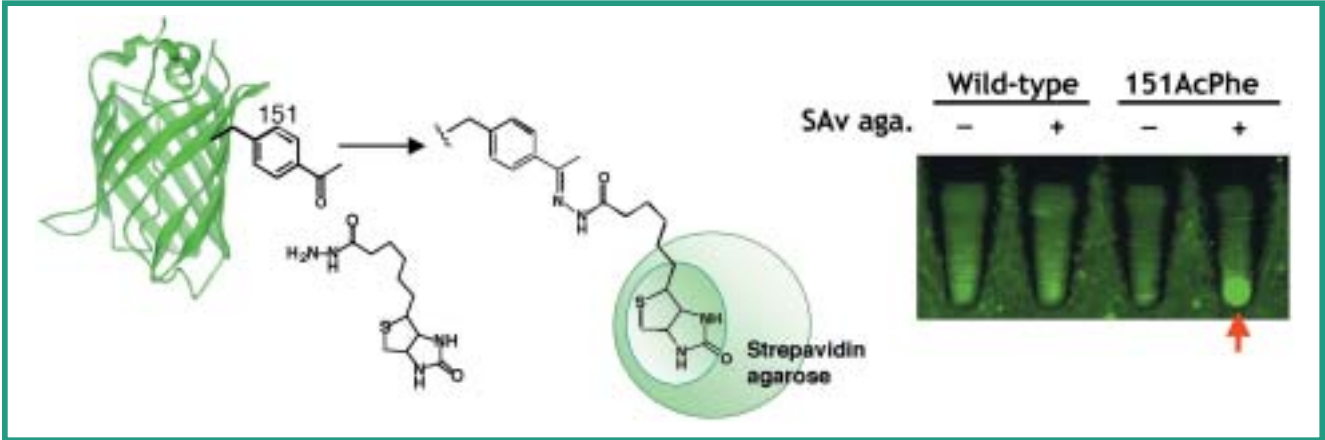
質を得るのに数日から数週間かかっていたのを、1日に短縮したばかりでなく、その技術のシンプルさゆえ、誰にでもできる汎用性の高い技術になっている。さらに、この技術を応用し、蛋白質の糖鎖化、固定化、ナノ材料化など、医療やナノテクノロジーへの応用を検討している。

図4 >> 非天然アミノ酸を用いた医療蛋白質の開発



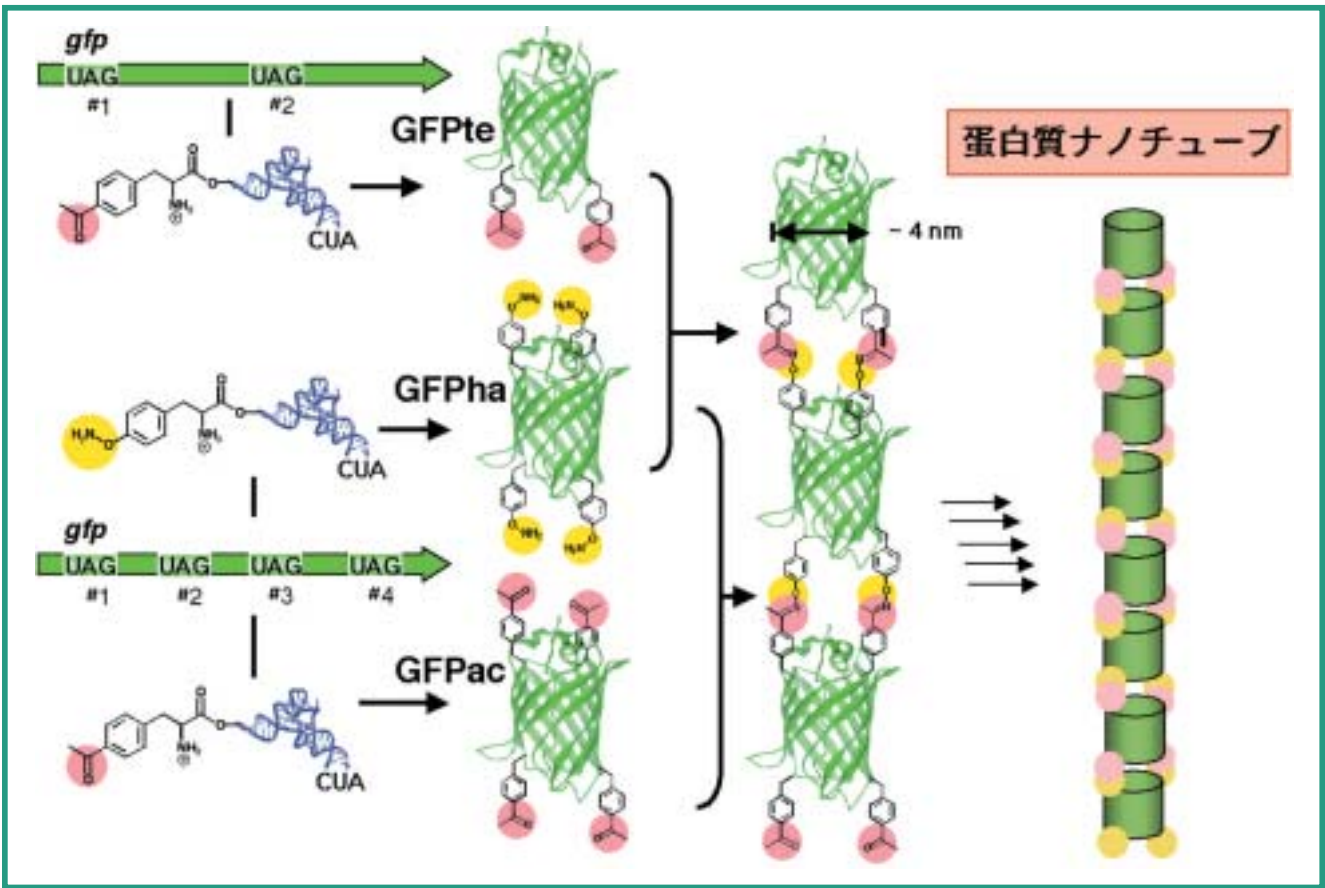
ケトン基、もしくは光除去可能な保護基で保護されたアルデヒド基を持つアミノ酸を位置特異的に蛋白質(上の図ではトロンボポエチン)に導入し、それらをヒドロキシアミノ基を持つPEG化剤もしくは糖鎖化剤で選択的に修飾する。

図5 >> 蛋白質の固定化・チップ化への応用



ケトン基、もしくは光除去可能な保護基で保護されたアルデヒド基を持つアミノ酸を位置特異的に蛋白質(上の図ではGreen Fluorescent Protein)に導入し、ヒドラジド基を持つピオチンでピオチン化し、アビジン担体へ固定化する。

図6 >> Bio-inspired Nano-materials の創製



1つはGFPの下筒端部分にのみケトン基(ターミネーターとして働く)、1つは両上下筒端部分にヒドロキシアミノ基を持つように、最後の1つは両上下筒端部分にケトン基を持つようにデザインする。これらのGFPを順次縮合させると、縮合回数に依存した特定の長さを持ったチューブ状蛋白質になる。また、このGFP由来のナノチューブでは直径約4nmとなるが、直径の異なる筒状蛋白質を選択すれば、異なる直径のチューブとなる。さらに、直径の異なる2種類の蛋白質を、デザインどおりに順次反応させれば、異なる直径を望みの間隔で持つナノチューブの合成も原理的には可能だ。

研究者



助教授 菅 裕明

助手 村上 裕

特任研究員 木賀大介

緑膿菌の同種胞数感知システムをターゲットした創薬

図1 >> 緑膿菌：日和見感染と院内感染

- グラム陰性菌
- 嚢胞性線維症（cystic fibrosis、アジアでは症例の少ない遺伝病であるが、欧米諸国では最も深刻な遺伝病のひとつである）患者に慢性感染
- 日和見感染、院内感染
免疫機能の低下した患者に感染
カテーテルなどの医療器具に付着
- 抗生物質耐性菌
バイオフィームを生成することで、自己防衛する

図2 >> クオラムセンシング：同種細胞数感知システム

- 「クオラム」を和訳すれば「定員数」
- 同種細胞数を感知する細胞間コミュニケーションシステム

クオラムセンシングは病原性物質（毒素）の発現を制御する中枢の遺伝子制御システムである

- なぜクオラムセンシングは緑膿菌にとって重要か？

感染した宿主の免疫システムに感知されず、効果的に宿主への攻撃を仕掛けるため、細胞数が定員に達するまで、静かに待っている

緑膿菌は定員数に達し次第、一気に攻撃を開始する

図3 >> 緑膿菌のクオラムセンシング：2重分子機構

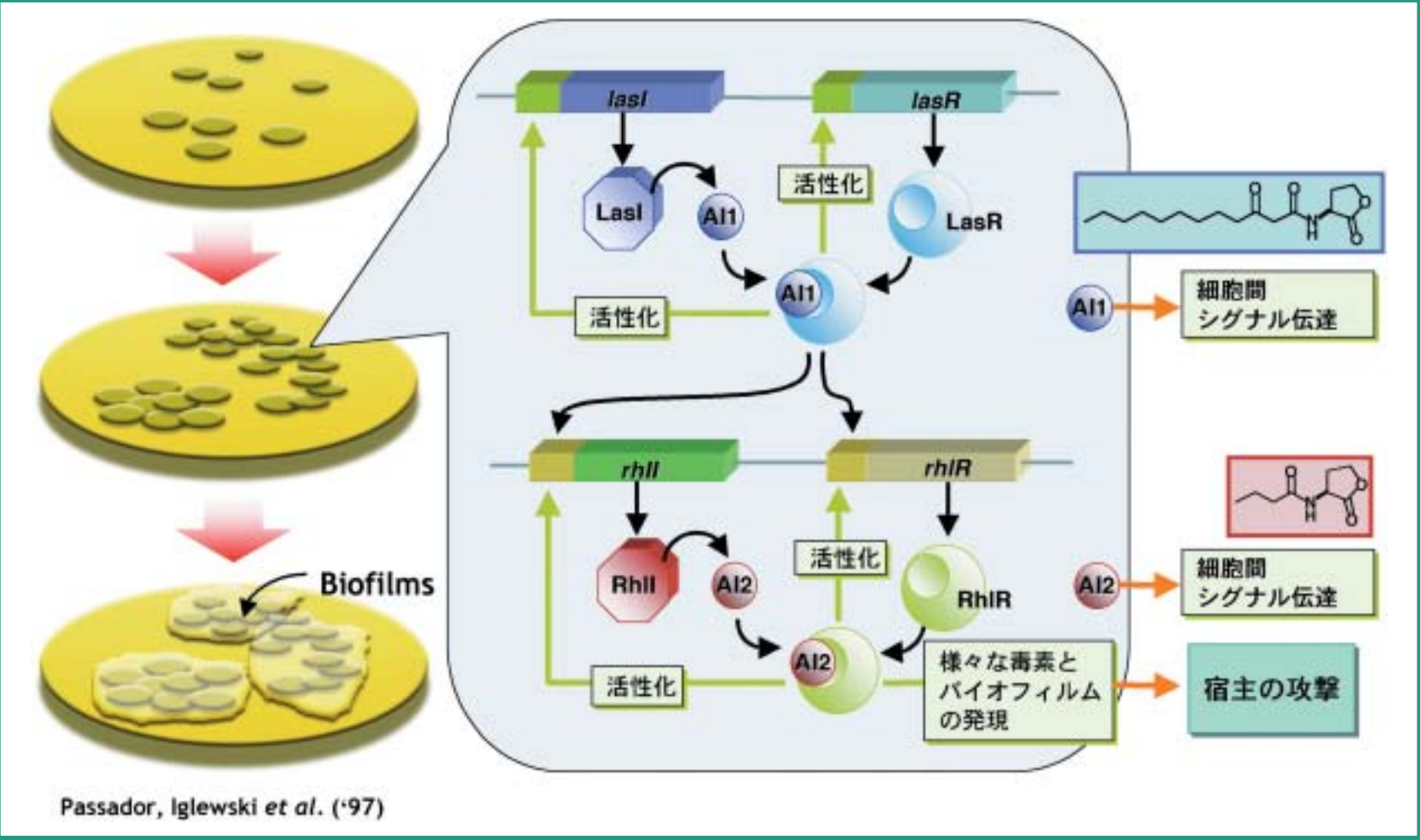


図4 >> オートインデューサーは異なる菌種で類似構造を持つ

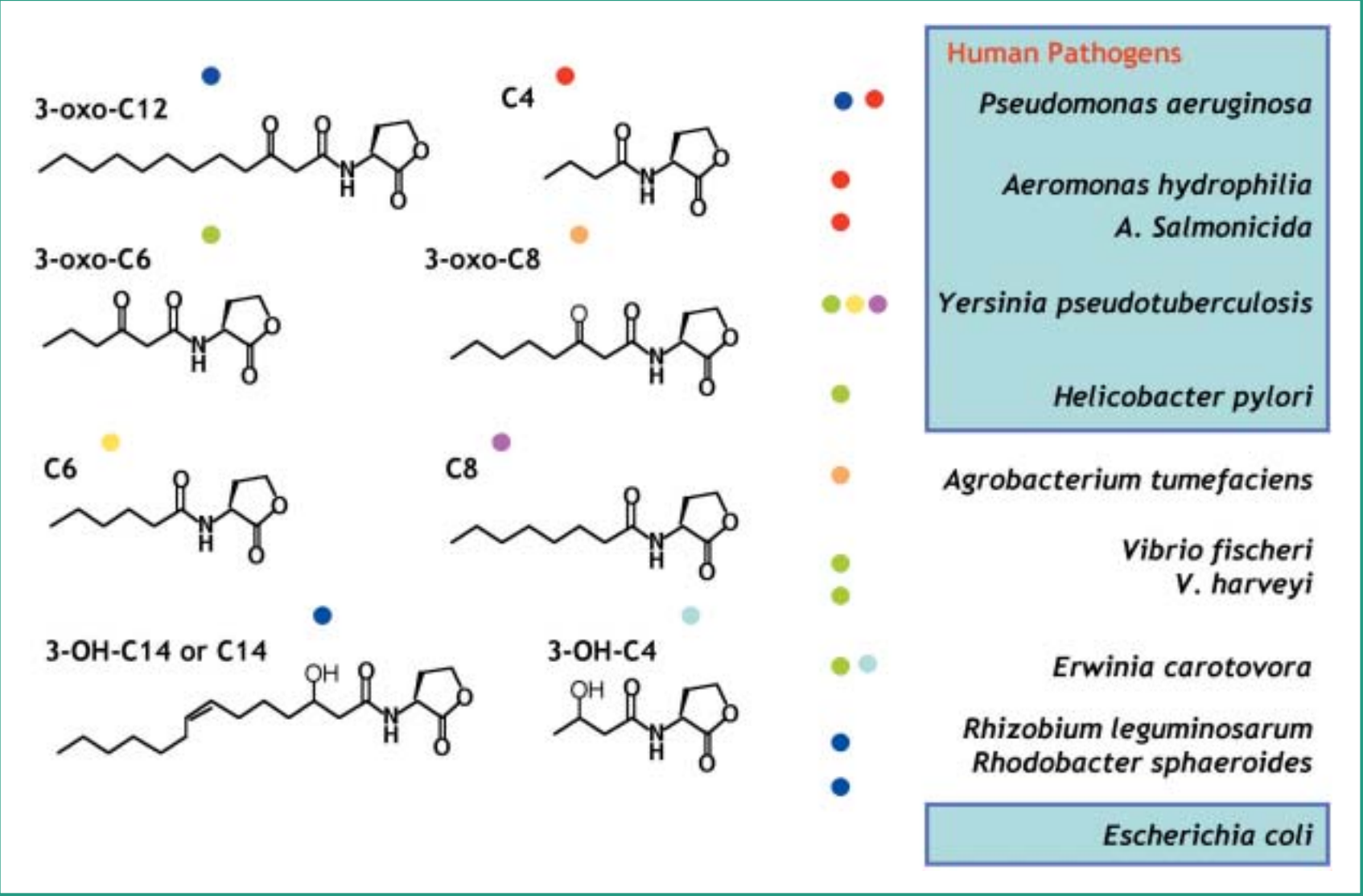
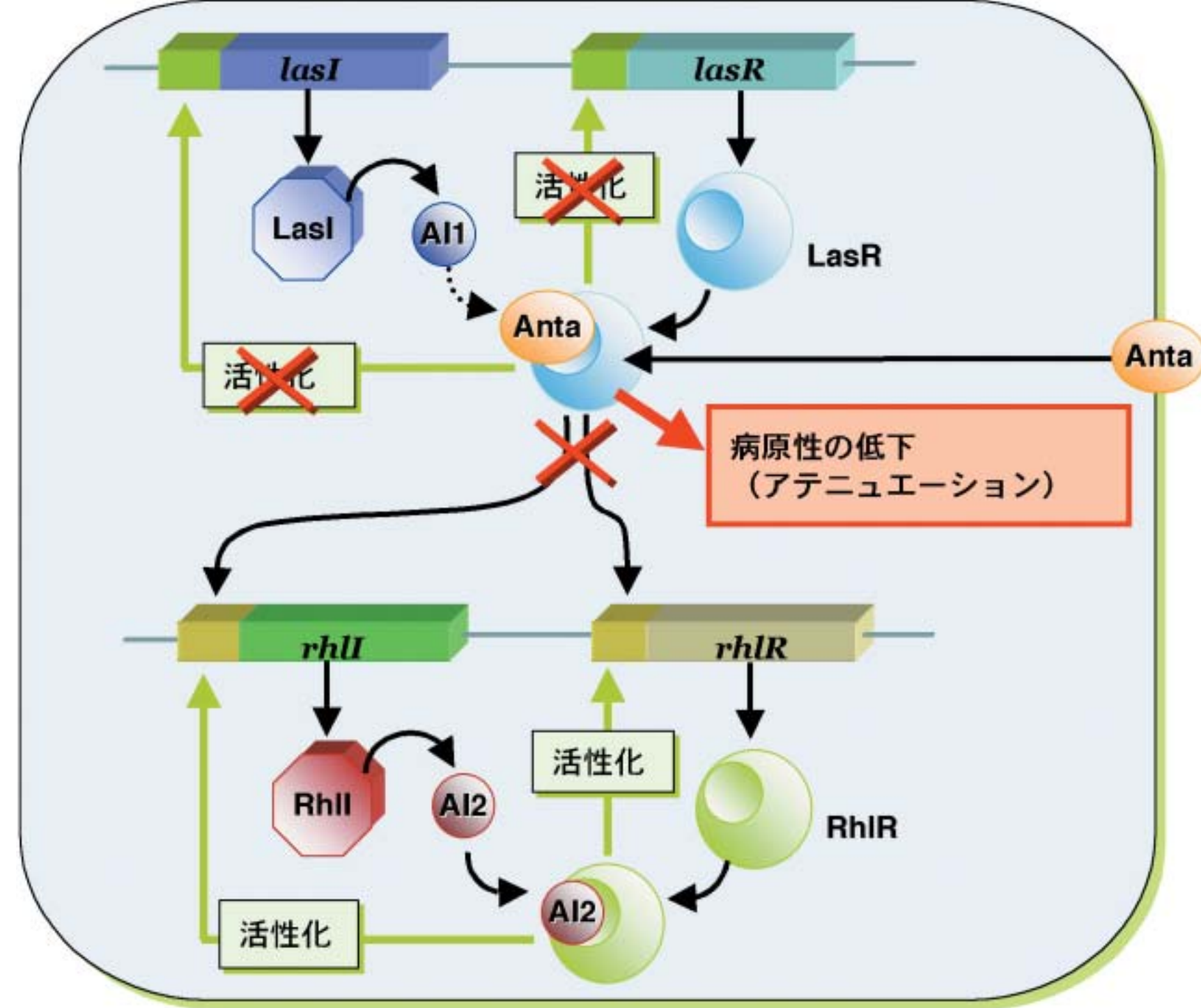


図5 >> クオラムセンシングの阻害による病原性の低下をねらう



毒素とバイオフィームの発現をコントロールしているクオラムセンシングシステムの活性化を阻害（アンタゴナイズ）することで、緑膿菌の病原性を低下させる。
従来の抗生物質は、主に殺菌活性を持つ薬物であった。したがって、菌は生き延びるために進化し、抗生物質の効かない変異株の出現に至った。一方、クオラムセンシングアンタゴニストは、菌の病原性を眠らせる、すなわち、菌の眠り薬ともいえる。
このように、従来の抗生物質とはコンセプトを異にする薬剤の創製がこの研究の最終目標である。

図6 >> AIと合成アゴニストとアンタゴニストの構造的類似と相違

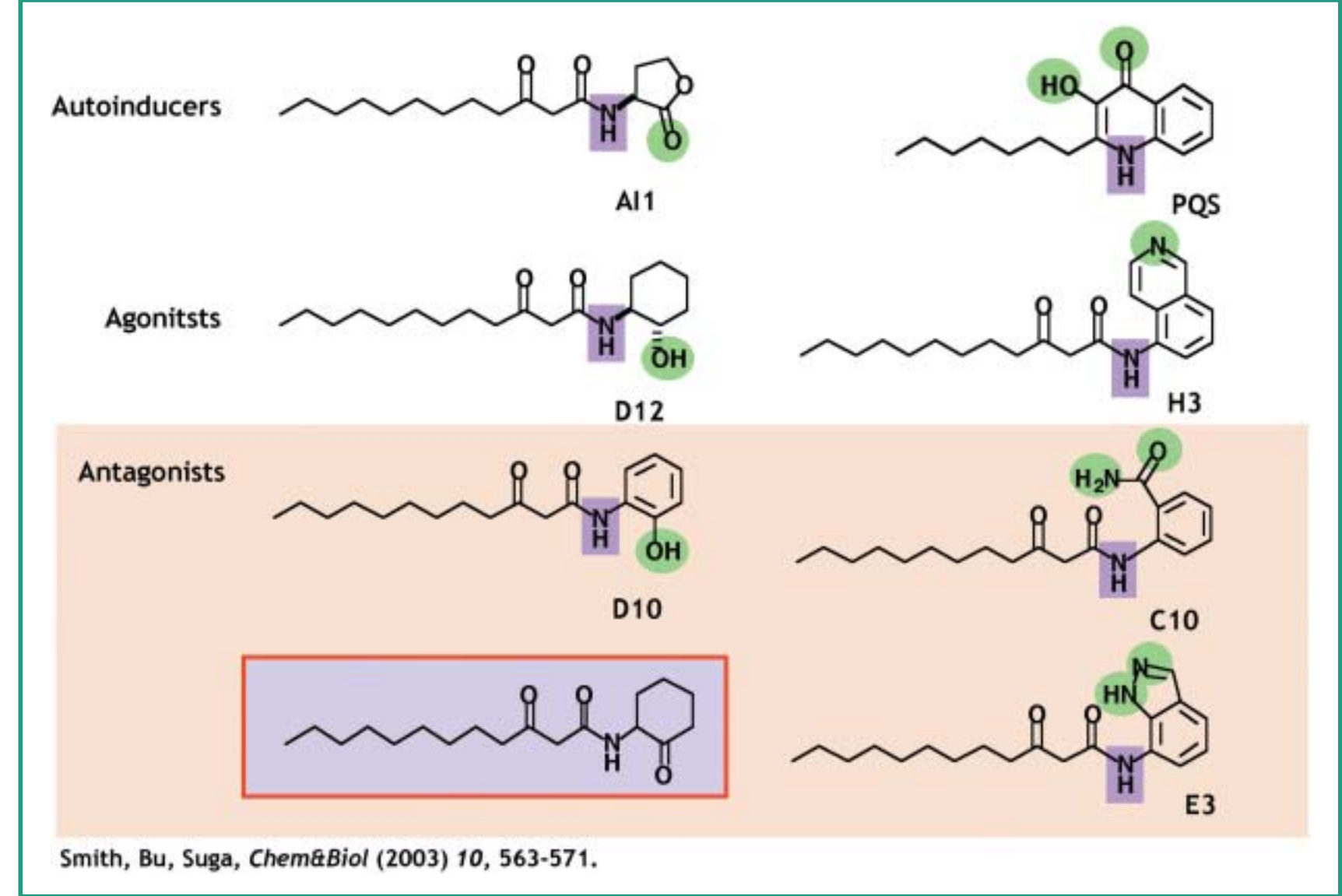


図7 >> QSアンタゴニストはバイオフィームの生成を抑制する

