



## 多種多様な抗菌ペプチドを効率良く生産可能な新技術を開発

### —医薬・産業応用への研究開発へ大きな期待—

#### 研究成果のポイント

- ・ 抗菌ペプチドは次世代の抗菌物質として注目されているが生産が困難。
- ・ カルモジュリンをキャリアタンパク質として用いて、多様な抗菌ペプチドの遺伝子組換え生産に成功。
- ・ この技術を利用して NMR 法での高度な解析に有効な安定同位体標識ペプチドの生産にも成功。
- ・ 医薬や産業への応用が期待される抗菌ペプチドの利用の進展に大きな期待。

#### 研究成果の概要

ヒトをはじめとした様々な生物が持つ生体防御因子である抗菌ペプチドは、優れた抗菌活性や抗がん活性などを持つことから、次世代の抗菌物質として医薬や産業分野への応用が期待されています。

北海道大学大学院先端生命科学研究院の相沢智康准教授は、客員研究員として参画したカルガリー大学（カナダ）の Hans J. Vogel 教授のグループの石田博昭 NMR マネージャーらとの共同研究において、多様なペプチドと結合するカルモジュリンというタンパク質を利用し、従来の技術では遺伝子組換えによる生産が困難な、多様な抗菌ペプチドを効率良く生産する新技術の開発に成功しました。核磁気共鳴（NMR）法を用いた解析により、カルモジュリンが抗菌ペプチドに結合し、生産宿主に対する抗菌活性や分解を抑制することで、効率的な生産が可能になるメカニズムも明らかにしました。

本研究成果は、2016年8月9日にアメリカ化学会の Journal of the American Chemical Society (JACS) のオンライン版に掲載されました。

#### 論文発表の概要

研究論文名：Overexpression of Antimicrobial, Anticancer, and Transmembrane Peptides in *Escherichia coli* through a Calmodulin-Peptide Fusion System（カルモジュリンペプチド融合系を利用した大腸菌での抗菌ペプチド、抗がんペプチド、膜貫通領域ペプチドの大量発現）

著者：石田博昭（カルガリー大学）、Leonard T. Nguyen（カルガリー大学）、Ramamourthy Gopal（カルガリー大学）、相沢智康（カルガリー大学、北海道大学）、Hans J. Vogel（カルガリー大学）

公表雑誌：Journal of the American Chemical Society

公表日：米国東部時間 2016年8月9日（火）（オンライン公開）

## 研究成果の概要

### (背景)

抗菌ペプチドはヒトをはじめとする動物のみならず、植物や菌類など幅広い生物が持つ生体防御因子の一つで、細菌や真菌などに対して優れた抗菌活性を示すことや抗ガン活性を有することなどから、近年高い注目を浴びています。その研究や応用利用を進めるために、抗菌ペプチドの生産技術の開発は重要な課題ですが、微生物などを用いた遺伝子組換えによる生産では、抗菌ペプチドが持つ生産宿主に対する抗菌活性などが問題となり、効率の良い生産が困難とされてきました。

### (研究手法)

北海道大学大学院先端生命科学研究院の相沢智康准教授は、客員研究員として国際共同研究に参画したカルガリー大学（カナダ）において、石田博昭 NMR マネージャー、Hans J Vogel 教授らと共同で、従来の遺伝子工学技術では生産が困難であった抗菌ペプチドを効率的に生産する新規技術の開発に成功しました。カルモジュリン（CaM）と呼ばれるタンパク質が、多様なペプチドを認識して結合する性質を利用して、その抗菌活性を抑制することが可能であることを突き止め、CaM をキャリアタンパク質<sup>※1</sup>として抗菌ペプチドと融合した形で合成させることで、効率的に生産することに成功しました。

### (研究成果)

CaM を利用することで、機能や立体構造が異なる 10 種類以上の抗菌ペプチドの効率的な生産に成功したほか、創薬ターゲットとして期待されながら、生産が困難な膜タンパク質の膜貫通ドメインの生産への応用が可能なることも見出しました。さらに、微生物を宿主としてペプチド生産を行うことで、化学的な合成法では困難な安定同位体標識<sup>※2</sup>に成功し、核磁気共鳴（NMR）法を用いて CaM と抗菌ペプチドの立体構造や相互作用を詳細に解析し、CaM が宿主内で抗菌ペプチドの活性を抑制し、宿主プロテアーゼからの分解を抑制するメカニズムも解明しました。

### (今後への期待)

耐性菌が生じにくいなどの優れた抗菌活性をもつ抗菌ペプチドの作用機構には未知の点が多く残されています。遺伝子組換えによる抗菌ペプチドの生産技術により安定同位体標識を行うことで、NMR 法による分子の立体構造解析やターゲットとの相互作用などの高度な解析が容易に可能となります。本研究成果により、抗菌ペプチドの医薬や産業への応用が飛躍的に進むことが期待されます。

## お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院先端生命科学研究院 准教授 相沢 智康（あいざわ ともやす）  
TEL：011-706-3806 FAX：011-706-3806 E-mail：aizawa@mail.sci.hokudai.ac.jp  
ホームページ：<http://altair.sci.hokudai.ac.jp/g5/>

### [用語解説]

#### ※1 キャリアタンパク質

遺伝子組換え技術により、目的のタンパク質やペプチドを合成する際に、そのタンパク質やペプ

チドの配列と結合させることで、安定性などを増し、合成量を増加させるために利用されるタンパク質。

## ※2 安定同位体標識

天然存在比が低い非放射性の同位体（安定同位体）を人工的にタンパク質やペプチドに導入する技術。例えば、炭素の安定同位体  $^{13}\text{C}$  や窒素の安定同位体  $^{15}\text{N}$  は天然存在比が低いが、NMR 法で効率的に観測可能なため、安定同位体標識により高度な NMR 測定が可能となる。