



ミツバチ由来抗菌ペプチドの標的分子は「翻訳終結因子」だった！

～生体内で抗生剤耐性メカニズムを検証できる新手法，ARGO 法がカギ～

研究成果のポイント

- ・抗生物質に代わる抗菌物質として期待されるミツバチ由来抗菌ペプチド「アピデシン」が標的とする分子を初めて解明。
- ・特定の遺伝子を過剰に発現させることで標的とする分子を見つけ出す ARGO 法という手法を新たに開発し、生きた細胞を用いて標的分子を選別。
- ・タンパク質合成に関与するタンパク質群の中から，ARGO アッセイ（大腸菌の抗菌物質に対する耐性を指標にした選抜法：図 1）で陽性と判断された翻訳終結因子（タンパク質の合成が完了した際に働くタンパク質）について徹底的に精査。
- ・ARGO 法は従来の抗生物質にも流用できたことから，今後，抗菌物質の作用メカニズム解明に広く利用されることが期待される。

研究成果の概要

ミツバチが産生する抗菌ペプチド「アピデシン」は，細菌の生育を抑える作用を持っていますが，そのメカニズムは不明でした。松本准教授らの研究グループは，アピデシンが何らかのタンパク質に作用すると仮定し，候補となるタンパク質の発現量をそれぞれ増加させ網羅的に検証することで，アピデシンから受ける影響がどのように変わるか調査しました。その結果，タンパク質合成の完了時に働く翻訳終結因子と呼ばれるタンパク質が，アピデシンの作用標的であることを見出しました。今回得られた成果は，アピデシンの応用を容易にするだけでなく，未知の抗菌剤の作用メカニズムへの応用も期待されます。

なお，本研究成果は，英国時間 2017 年 9 月 22 日（金），Nature の姉妹誌 Scientific Reports に公開されました。

論文発表の概要

研究論文名：In vivo target exploration of apidaecin based on Acquired Resistance induced by Gene Overexpression (ARGO assay)（遺伝子過剰発現が誘導する耐性獲得現象に基づいた新規アッセイ法による抗菌ペプチドアピデシンの作用機序解析）

著者：松本謙一郎¹，山崎蔵亨¹，川上 駿¹，三吉大地¹，大井俊彦¹，橋本茂樹²，田口精一^{1,3}

（1. 北海道大学大学院工学研究院，2. 東京理科大学基礎工学部，3. 東京農業大学生命科学部）

公表雑誌：Scientific Reports（自然科学系オンラインジャーナル）

公表日：英国時間 2017 年 9 月 22 日（金）（オンライン公開）

研究成果の概要

(背景)

昆虫やヒトなど多くの動物では、自身を細菌感染から守る防御システムとして、自然免疫物質である抗菌ペプチドが機能しています。中でもミツバチの持つ抗菌ペプチドであるアピデシンは、動物の細胞に対しては害がなく、病原菌であることが多いグラム陰性細菌を標的とするので、抗生物質に代わる副作用の少ない抗菌物質として注目されています。

アピデシンは、標的とする細菌の細胞膜を透過して細胞内の標的分子に作用することで抗菌効果を発揮すると考えられていますが、発見から 30 年近く経った今も、明確な抗菌作用の分子的なしくみは解明されていませんでした。

抗菌ペプチド「アピデシン」



図：アピデシンの概要。化学式中のオレンジの丸は、アミノ酸の配列を表す。

(研究手法)

アピデシンが抗菌機能を発揮するのは、細菌の生命を維持するための細胞内の特定の機能（標的分子）をアピデシンが阻害しているためだと考えられます。そのため松本准教授らの研究グループは、標的分子の発見のために、遺伝子の過剰発現を利用した ARGO (Acquired Resistance induced by Gene Overproduction) 法という手法を新たに開発し、細胞内の標的分子を探索しました。

この ARGO 法の原理は、候補となる遺伝子を個別に過剰発現させることで、擬似的に抗菌物質に対する抵抗性を上昇させることに基づいています。標的分子には細菌の生命を維持する機能があるので、過剰発現させた遺伝子が作り出すタンパク質が標的分子だった場合には、その細菌の生命力が上がり、抗菌物質への抵抗性が高まります。すなわち、どの遺伝子を過剰発現させたときに細胞内で抗菌物質の作用が弱まるかを観察することで、標的分子を見つけることができます。

この選別法をアピデシンに応用し、標的分子を探索・同定しました。

(研究成果)

アピデシンによって細菌のタンパク質の生合成が阻害される現象が観察されたので、タンパク合成に関与する個々のタンパク質をそれぞれ過剰発現させ、ARGO 法により探索を行いました。

その結果、アピデシンは、タンパク質生合成における翻訳と呼ばれるステップの最終段階に関与する、翻訳終結因子というタンパク質が標的分子であることを見出しました。これまでの抗生物質にも、タンパク質の翻訳段階を阻害するものは非常に多く見つけられていますが、アピデシンは翻訳終結因子を標的とする初めての抗菌物質といえます。

また、ARGO 法を他の抗生物質（標的タンパク質が明らかになっているもの）に対して適用したところ、作用標的タンパク質の発現量に応じて抵抗性の向上が見られたことから、本手法はアピデシンに限らず作用標的が未知の抗菌物質の作用メカニズム解明にも応用可能であると考えられました。

（今後への期待）

本研究によりアピデシンの特異な作用メカニズムが明らかになったことで、従来の抗生物質などの他の抗菌剤との相乗効果（カクテル療法）も期待できます。

また、今回開発した ARG0 法は、従来の抗生物質の標的分子特定にも流用できることが確認されたため、今後、抗菌ペプチドをはじめ、広く抗菌物質の作用メカニズム解明に利用されることが期待されます。

お問い合わせ先

北海道大学大学院工学研究院応用化学部門 准教授 松本 謙一郎（まつもと けんいちろう）

TEL/FAX : 011-706-6610 E-mail : mken@eng.hokudai.ac.jp

ホームページ : <http://labs.eng.hokudai.ac.jp/labo/seika/>

【参考図】

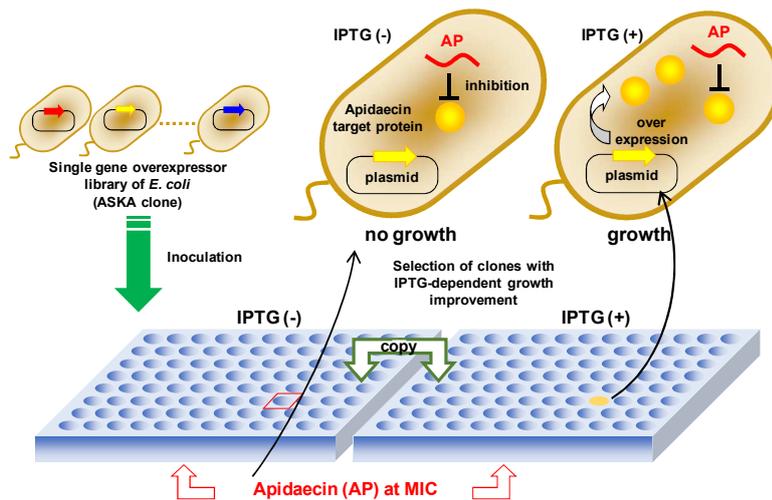


図 1. ARG0 アッセイの原理。左上の図は、候補となる遺伝子をそれぞれ過剰発現させた細菌を表す。IPTG(-)とある容器には遺伝子を過剰発現させていない細菌を、IPTG(+)とある容器には遺伝子を過剰発現させた細菌を入れる。両者にアピデシンを作用させて比較すると、過剰発現させた遺伝子が標的分子だったものだけが、抗菌物質（アピデシン）への抵抗が高まるので、それにより標的分子を見つけることができる。