

構造最適化に適した新たなペプチドスクランニング法の開発

～ペプチド創薬への貢献に期待～

ポイント

- ・ペプチドの構造最適化の工程を大幅に削減できる新規スクランニング法の開発に成功。
- ・新手法では、アラニンスクランニング法では見出すことのできない部位に対する構造修飾が可能。
- ・薬剤耐性菌に有効な誘導体や様々な抗菌スペクトルを示す誘導体の獲得に成功。

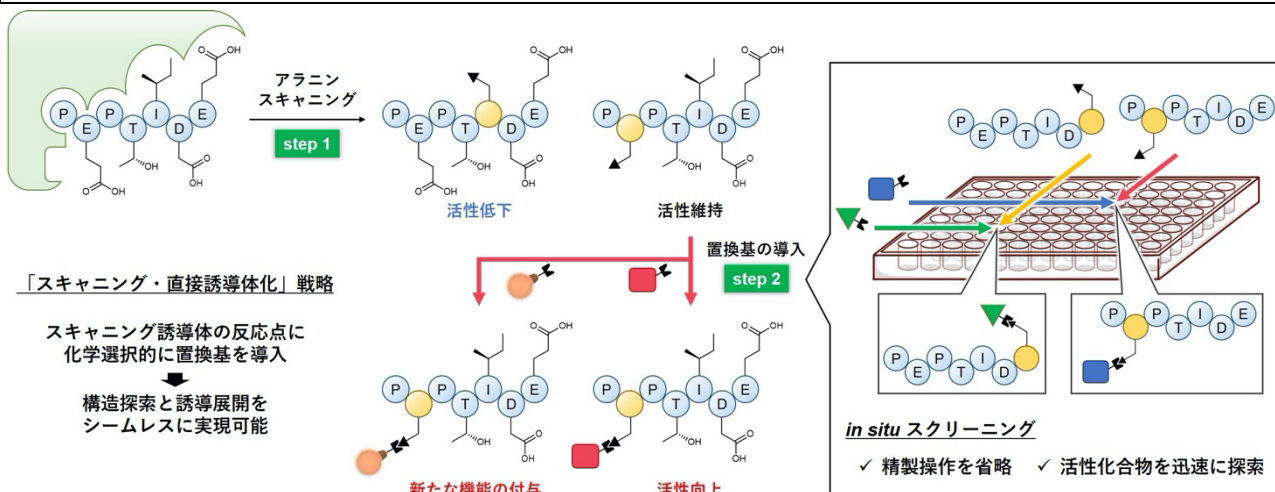
概要

北海道大学大学院薬学研究院及び国際連携研究教育局バイオサーフィス創薬グローバルステーション（以下、GI-CoRE GSD）の市川 聡教授、勝山 彬助教、同大学大学院獣医学研究院の佐藤豊孝准教授、堀内基広教授、札幌医科大学の横田伸一教授、高橋 聡教授らの共同研究グループは、ペプチドの創薬展開を迅速に実現できる新たなペプチドスクランニング法^{*1}を開発しました。

近年の医薬品開発においては、新薬の種としてペプチドが注目されています。ペプチドを医薬品として開発する方法として、ペプチドスクランニング法を用いて、ペプチドの構造修飾を行う手法が知られています。この構造修飾は二段階に分けて行われますが、二段階目では、目的のペプチドを一から作り直す必要があり、この簡素化が求められていました。

研究グループが開発した方法は、ペプチド中の活性に重要な部分の同定と、その部分に対する構造修飾をシームレスに実行することができるうえ、生物活性評価直前での化学合成と組み合わせることで、数百の誘導体の一挙合成も可能です。また、本研究で開発した方法を抗菌ペプチド系天然物に用いることで、薬剤耐性菌に有効な誘導体や、元々の天然物とは異なる抗菌スペクトルを示す誘導体を獲得することに成功しました。これまでのペプチド創薬研究では、構造最適化のために数多くの試行錯誤が必要でした。本研究は、この構造最適化の工程を大幅に削減できることから、新規ペプチド医薬品を開発する方法の一つとして広く活用できると期待できます。

なお、本研究成果は、2023年1月28日（土）に *Journal of the American Chemical Society* 誌にオンライン掲載されました。



新たに開発したペプチドスクランニングを用いた構造最適化の流れ

【背景】

これまでの創薬化学研究においては、低分子化合物が医薬品候補として主たる役割を果たしてきました。これにより様々な疾患の治療が可能になりましたが、未だ治療法のない疾患も残されています。こうした中、近年では、低分子化合物では作用するのが難しい標的に対する医薬品の開発が重要な課題となっています。ペプチドは多数の相互作用を広い面で形成できる特徴があることから、こうした標的に効果的に作用できる分子として、その重要性が年々増してきています。

ペプチドを医薬品として開発していくためには、活性の向上や代謝安定性等の性質の改善が必要であり、このためにペプチドの構造修飾が行われます。この過程では、ペプチドスキャンニングと呼ばれる体系的な手法によりペプチド中の変換可能なアミノ酸を同定した後、当該部位への適切な置換基^{*2}の導入が行われます。一段回目においてはアラニンスキャンニングをはじめとした優れた方法が知られていますが、二段階目の置換基導入に際しては目的のペプチドを一から作り直す必要があり、多大な労力が必要でした。

【研究手法】

ペプチドスキャンニングに用いるアミノ酸として、後の官能基導入の足がかりとなるアミノアルコールを有するアミノ酸を設計しました。このアミノアルコールに対しては、セリン/スレオニライゲーション(STL)を用いることで、置換基の選択的な導入が可能です。このアミノ酸を用いたペプチドスキャンニングを行ったのち、用いた無保護のスキャンニング誘導体に対して、STLにより直接置換基を導入します。この際、生物活性評価直前に化合物を微量合成する手法 (*in situ* 化学^{*3}) を併用することで、ペプチドスキャンニング後の誘導体合成と生物活性評価をシームレスに行います (図1)。

【研究成果】

新たなペプチドスキャンニングの手法を抗菌天然物であるポリミキシン B (図2) に適用し、その有用性を調査しました。スキャンニング用のアミノ酸としてスレオニルジアミノブタン酸を用いるとともに、ポリミキシンの側鎖の長さについても同様に調査しました。

まず、アミノアルコール部位を有するスキャンニング用誘導体に対する置換基導入と、続く抗菌活性評価について検討したところ、この2段階が極微量の検体を用いてシームレスに実施できることがわかりました。2種類の薬剤耐性菌に対するペプチドスキャンニングの結果から、ポリミキシン B の3箇所に置換基導入が可能であることがわかりました。この部位に対して、STLを用いて様々な置換基を導入した結果、天然物と同等以上の活性を示す誘導体を複数獲得しました (図3)。

また、同様の手法を用いて9種類の細菌に対する抗菌活性の最適化を試みたところ、天然物よりも狭い抗菌スペクトルを有する誘導体や、反対に広範な抗菌スペクトルを有する誘導体も獲得することができました。また、ペプチドスキャンニング法の代表的な例であるアラニンスキャンニング法と本手法を比較することで、アラニンスキャンニング法では見出すことのできない部位に対する構造修飾が可能であることがわかりました。

【今後への期待】

今回開発したペプチドスキャンニング手法は、ポリミキシン B にとどまらず、ペプチド一般に応用可能です。この手法を様々なペプチドに対して適用することで、ペプチドの構造最適化を迅速に行うことができ、優れた生物活性を示す誘導体を獲得することができます。この方法を活用していくことで、ペプチドという創薬モダリティを用いた新規医薬品の開発に繋がることが期待されます。

論文情報

論文名 Discovery of Structurally Optimized Polymyxin Derivatives Facilitated by Peptide Scanning and *In Situ* Screening Chemistry (ペプチドスキャンニングと *in situ* スクリーニング化学を用いたポリミキシン B の構造最適化)

著者名 家口凜太郎¹、勝山 彬^{1,2,3*}、佐藤豊孝^{4,5,6}、高橋 聡^{7,8}、堀内基広^{4,5,6}、横田伸一⁷、市川 聡^{1,2,3*} (1北海道大学大学院生命科学院、2北海道大学大学院薬学研究院、3GI-Core GSD、4北海道大学大学院獣医学研究院、5北海道大学大学院国際感染症学院、6北海道大学 One Health リサーチセンター、7札幌医科大学、8札幌医科大学附属病院)

雑誌名 Journal of the American Chemical Society (化学の専門誌)

D O I 10.1021/jacs.2c12971.

公表日 2023年1月28日(土)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 教授 市川 聡 (いちかわさとし)

T E L 011-706-3228 F A X 011-706-4980 メール ichikawa@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/gouseiyaku/>

北海道大学大学院薬学研究院 助教 勝山 彬 (かつやまあきら)

T E L 011-706-3763 F A X 011-706-4980 メール katsuyama@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.pharm.hokudai.ac.jp/gouseiyaku/>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

札幌医科大学事務局経営企画課企画広報係 (〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目)

T E L 011-611-2111 F A X 011-611-2237 メール kouhou@sapmed.ac.jp

【参考図】

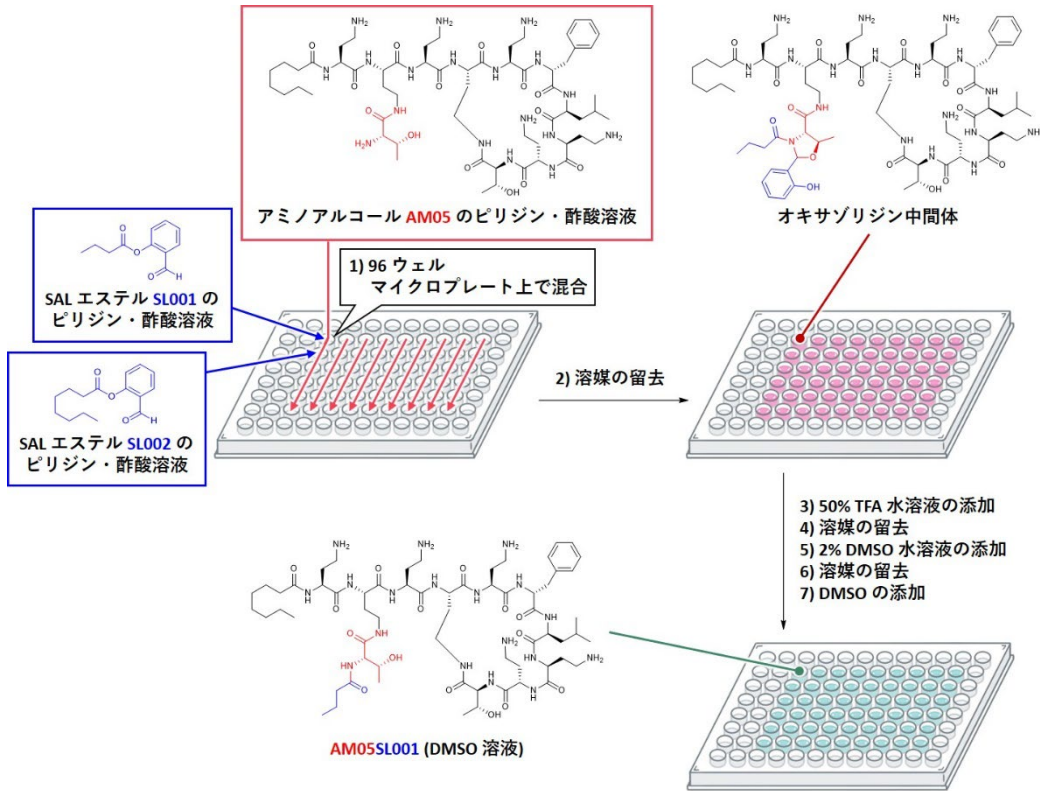


図 1. *in situ* 化学を用いた誘導体の一挙合成

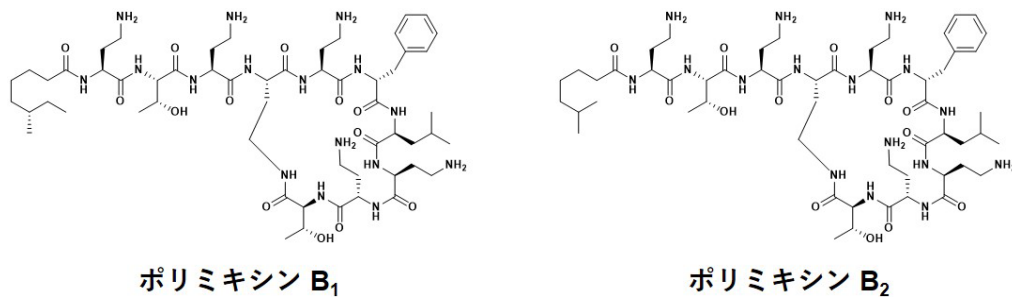


図 2. ポリミキシン類の構造

化合物	最小発育阻止濃度 (MIC, μM)		化合物	最小発育阻止濃度 (MIC, μM)	
	<i>E. coli</i> SME98 /plncI2_mcr-1	<i>E. coli</i> SME98 /PORTpmrB34		<i>E. coli</i> SME98 /plncI2_mcr-1	<i>E. coli</i> SME98 /PORTpmrB34
AM05	50	>50	7	1.56–3.13	6.25
AM10	25	25–50	8	6.25–12.5	6.25–12.5
5	1.56–3.13	3.13–6.25	コリスチン	3.13–6.25	6.25–12.5
6	1.56	3.13–6.25	ポリミキシン B	3.13–6.25	6.25

低活性 高活性

図 3. 得られた高活性誘導体の抗菌活性（化合物 5-7 が本研究で得られた高活性誘導体に対応）

【用語解説】

- *1 ペプチドスキャンニング法 … アミノ酸が連なった分子であるペプチドの各アミノ酸残基を系統的に変化させることで、元のアミノ酸の生物活性に対する寄与を調査する手法。このなかで、アミノ酸の一つであるアラニンを用いて置き換えていく方法をアラニンスキャンニングと呼ぶ。

- *2 置換基 … 複数の原子で構成されたひとまとまりの集合体。創薬化学においては、この様々な種類の置換基を元の分子に組み込むことで、医薬品としての性質の改良を図ることが多い。

- *3 *in situ* 化学 … 「*in situ*」は「その場で」を意味し、創薬化学においては化学合成を生物活性評価直前に行う手法を指す。一般的に、化学合成と生物活性評価は実験設備も異なる独立した実験である。これに対し、今回の *in situ* 化学では、生物活性を行う設備・装置を用いて化学合成を実施し、そのまま生物活性を評価することで、この二段階を迅速に行うことができる。