

微量の薬物標的タンパク質を 特定する光技術

富山大学 大学院医学薬学研究部（薬学）
教授 友廣岳則

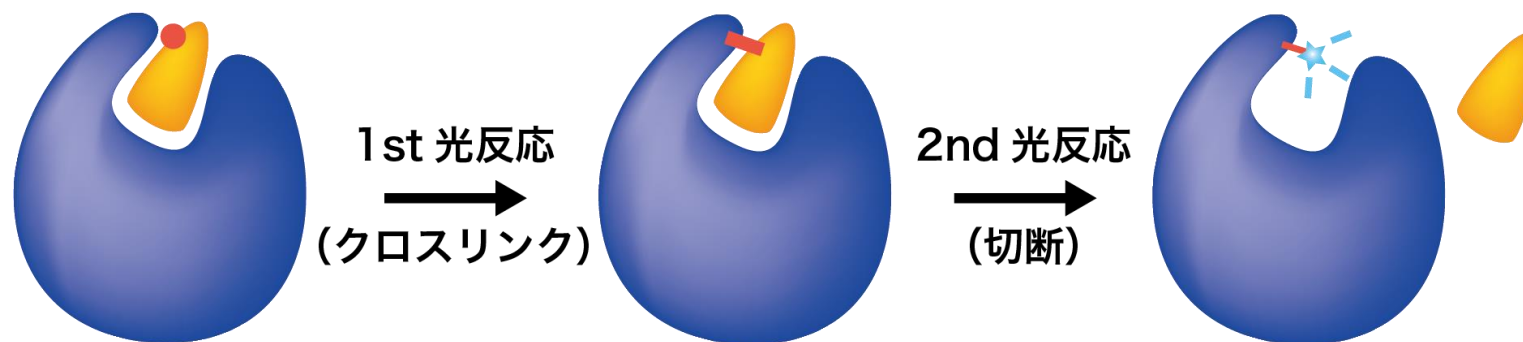
2019年10月8日

創薬における標的同定の必要性

- 現在、抗体医薬のターゲットタンパク質は限られている。
- 近年の新規作用機序を有する 1st-in-class 医薬品の多くは表現型スクリーニングによって見出されている。
- 標的タンパク質がわかれば、効果的な創薬プロセスを利用できる。
- 既存薬の off target は新たな疾患の治療薬に繋がる。

本技術の特徴

- 基盤技術は、蛍光化合物に変換する架橋剤
- 2つの物質を光で繋げて、光で切断する
- 相手物質に小型の蛍光標識だけを移す
- 薬物候補化合物を使えば、その結合タンパク質を蛍光標識できる



目的

薬物標的タンパク質の同定

薬物が作用する機能ドメインの特定

技術概要

高性能な光反応性ラベル試薬とそれを用いた高速標的同定法
解析操作を単純化し、必要量や解析日数を大幅に削減した

主な適用対象

未知の相互作用タンパク質

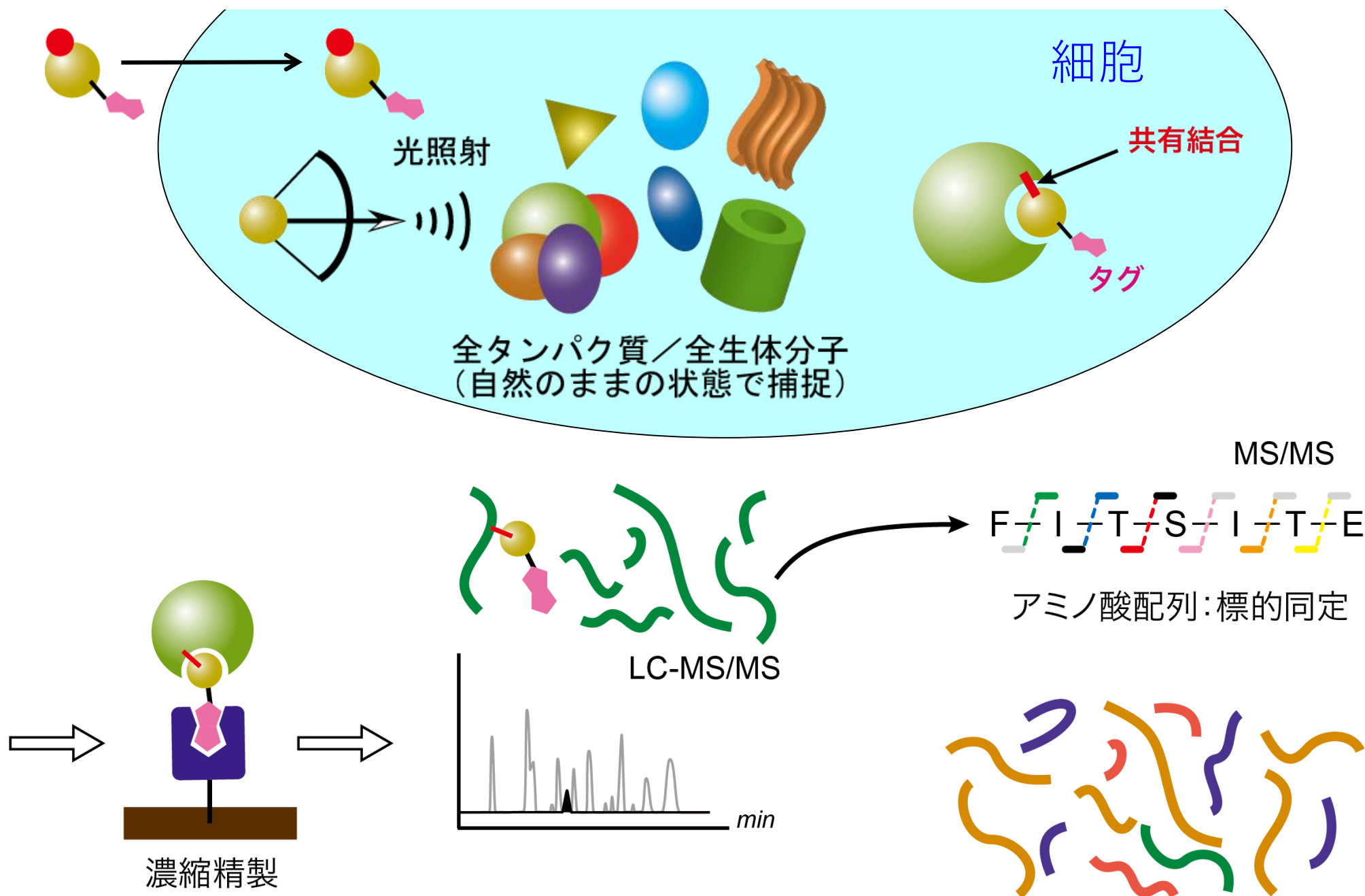
特に従来のアフィニティー精製が適応困難な生体分子

膜受容体、生体分子複合体

弱い相互作用タンパク質、微量発現タンパク質

細胞、細胞抽出物など光がとどく系（用いる光：360 nm）

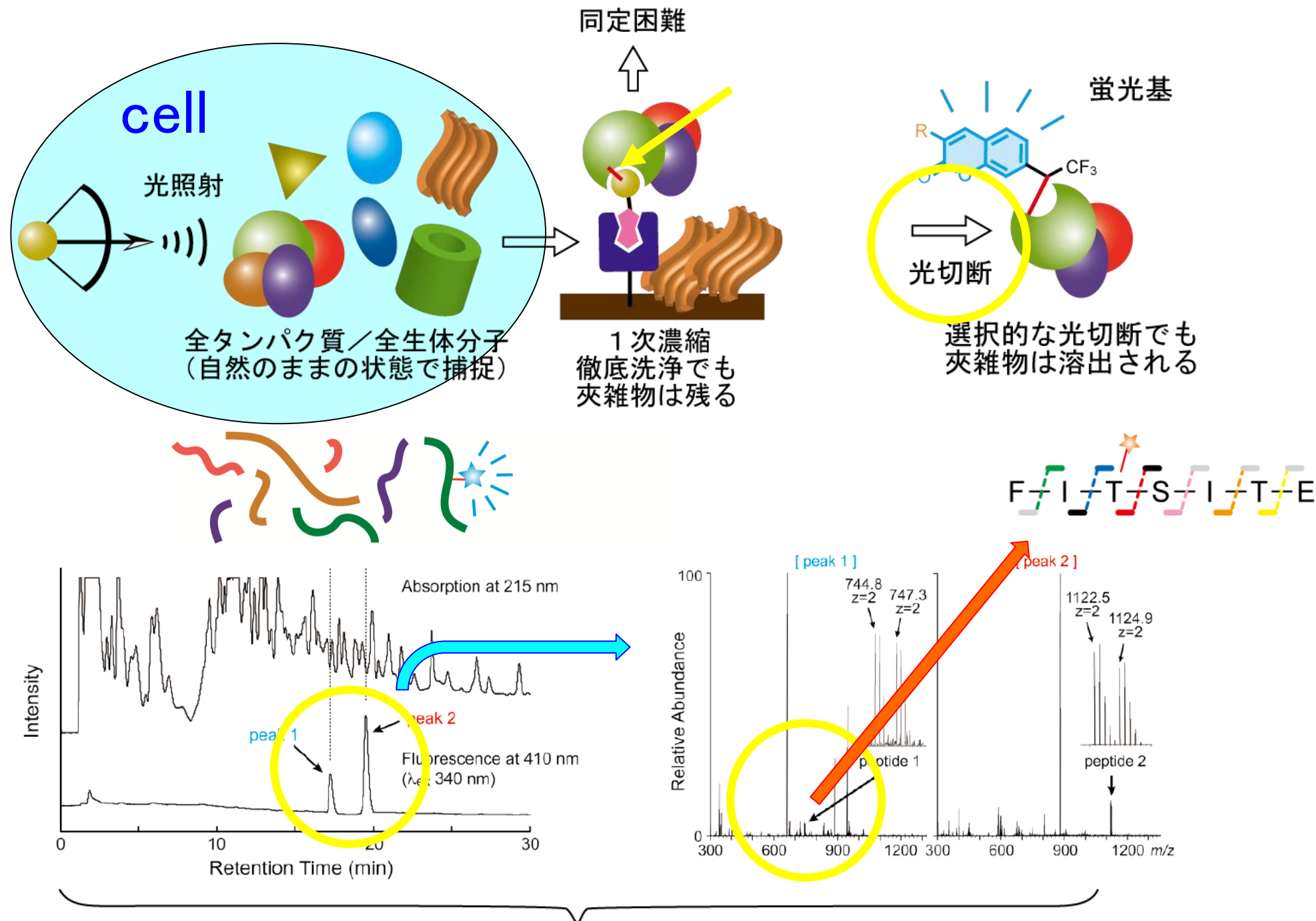
アフィニティーラベル法による標的同定の流れと問題点



光ラベル技術の利点と問題点

- 弱い結合性タンパク質や不安定なタンパク質でも解析できる
 - 非特異的なラベルが少ない
-
- 発現量の少ないタンパク質は膨大な夾雑物で解析できない。濃縮は必要。
 - 再精製を繰り返すと消失する

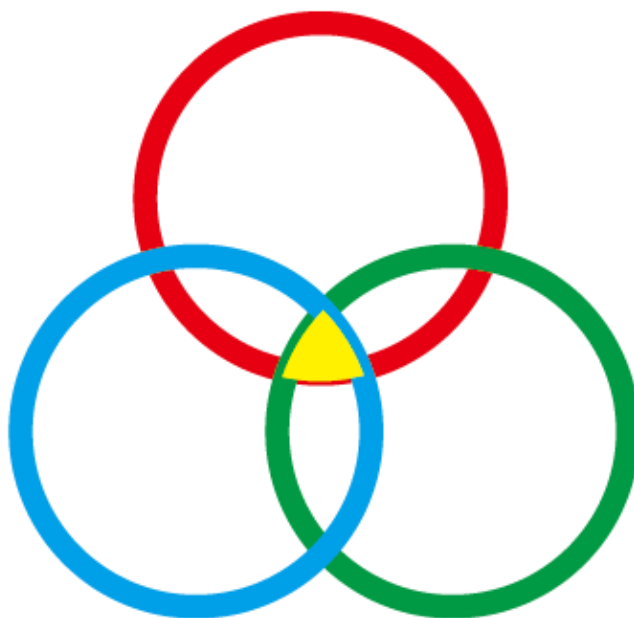
反応基の多機能化によるラベルペプチド同定の効率化



次元の異なる機能で
標的シグナルを一気に絞り込む

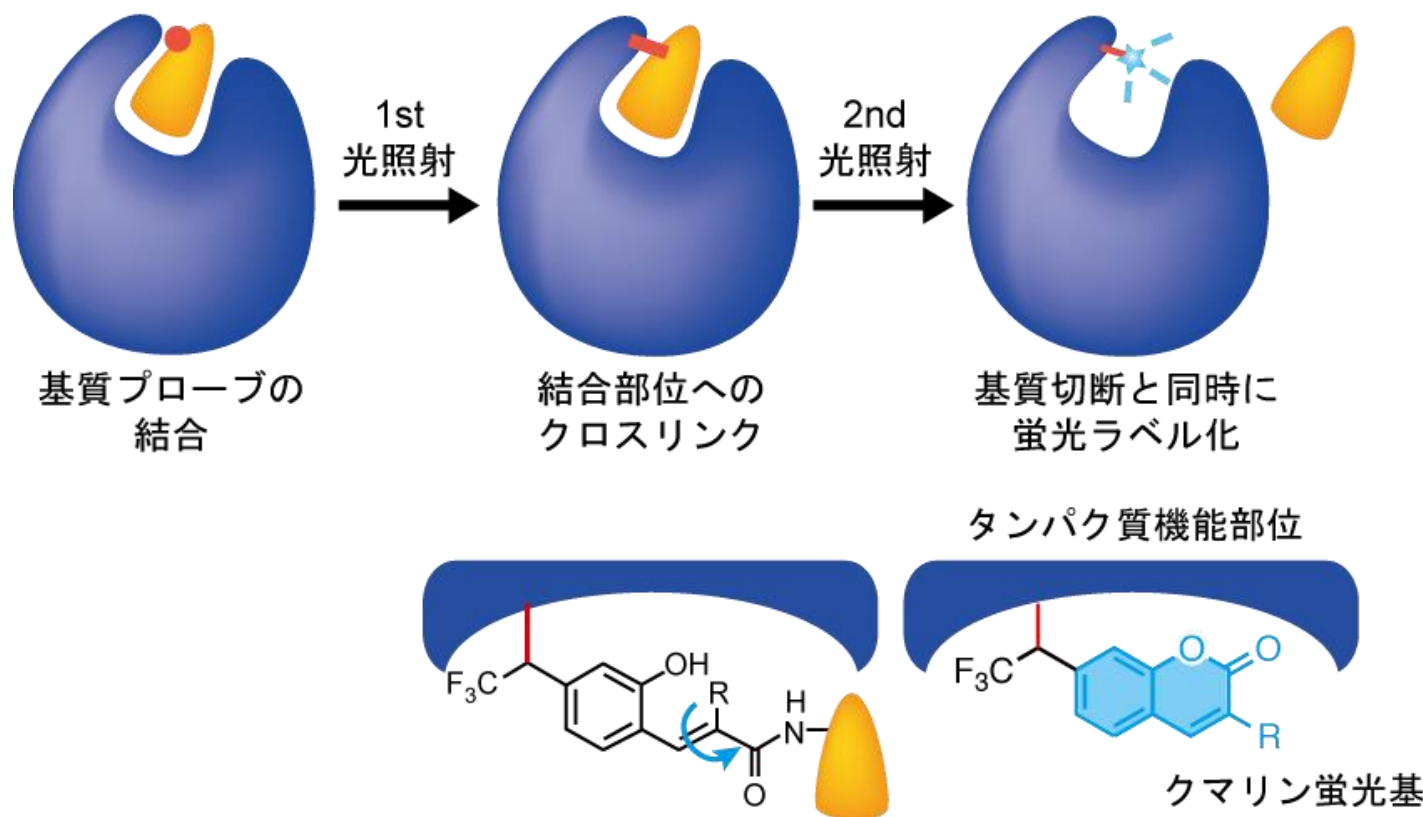
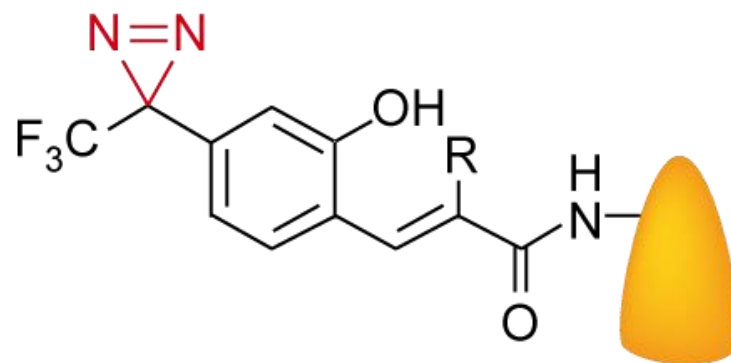
光切断性
for 選択的濃縮

発蛍光性
for HPLC

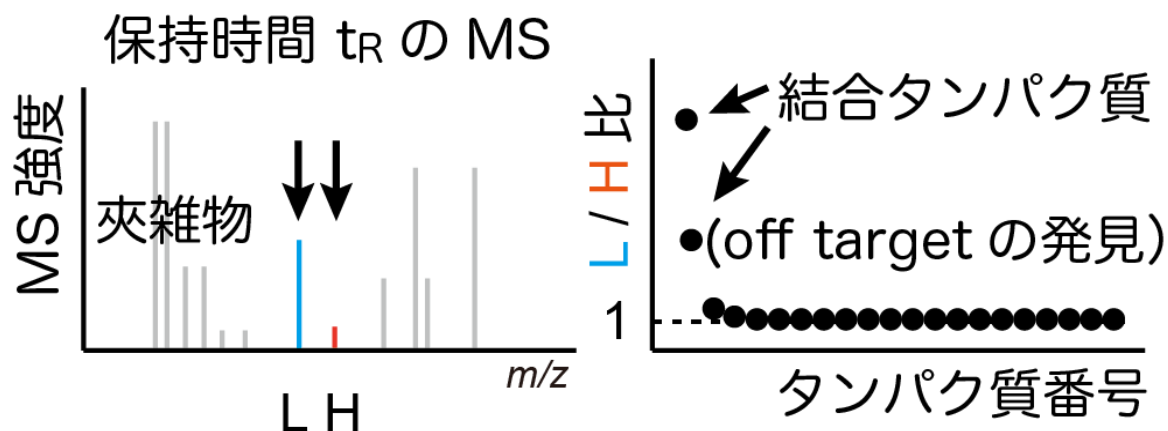
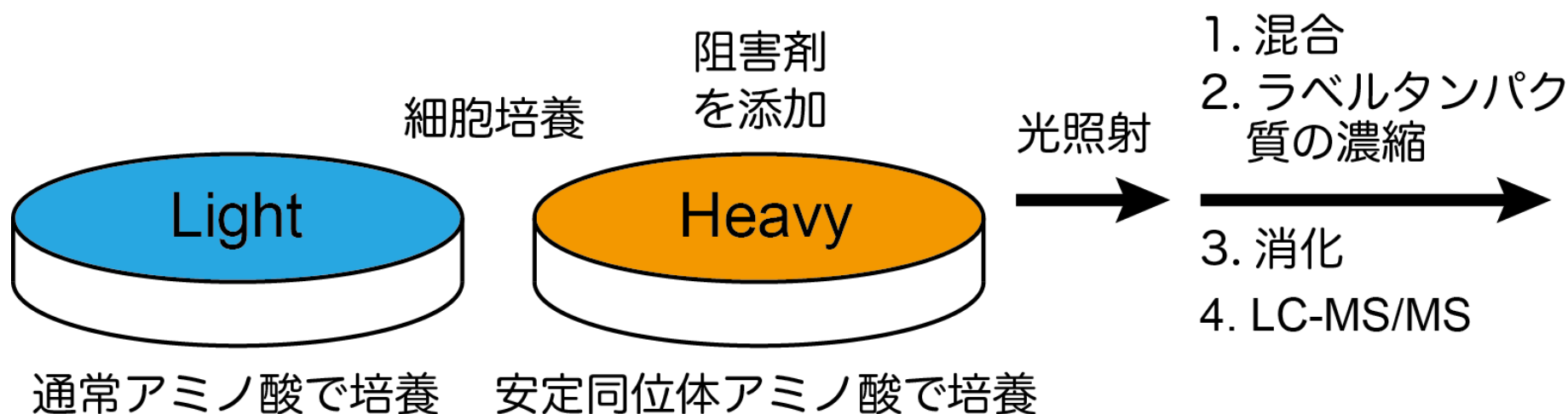


安定同位体
(小分子タグ)
for MS

架橋剤の構造と2つの光反応



現在の有力法：定量プロテオミクス法との組み合わせ



非特異的なラベルや吸着物は $L/H = 1$ になり除外される

検出限界レベルでは強度差の比較は再現性が低い。

多くの偽陽性シグナル（ノイズ）で、データの信頼性は低い。

本法では、標識ペプチドという確実な情報を加えることで、信頼性を高める。さらに相互作用部位を明らかにできる。

従来技術とその問題点

既に実用化されたもの：本発明者が開発した
架橋剤（特許第6145742、先述の反応基）

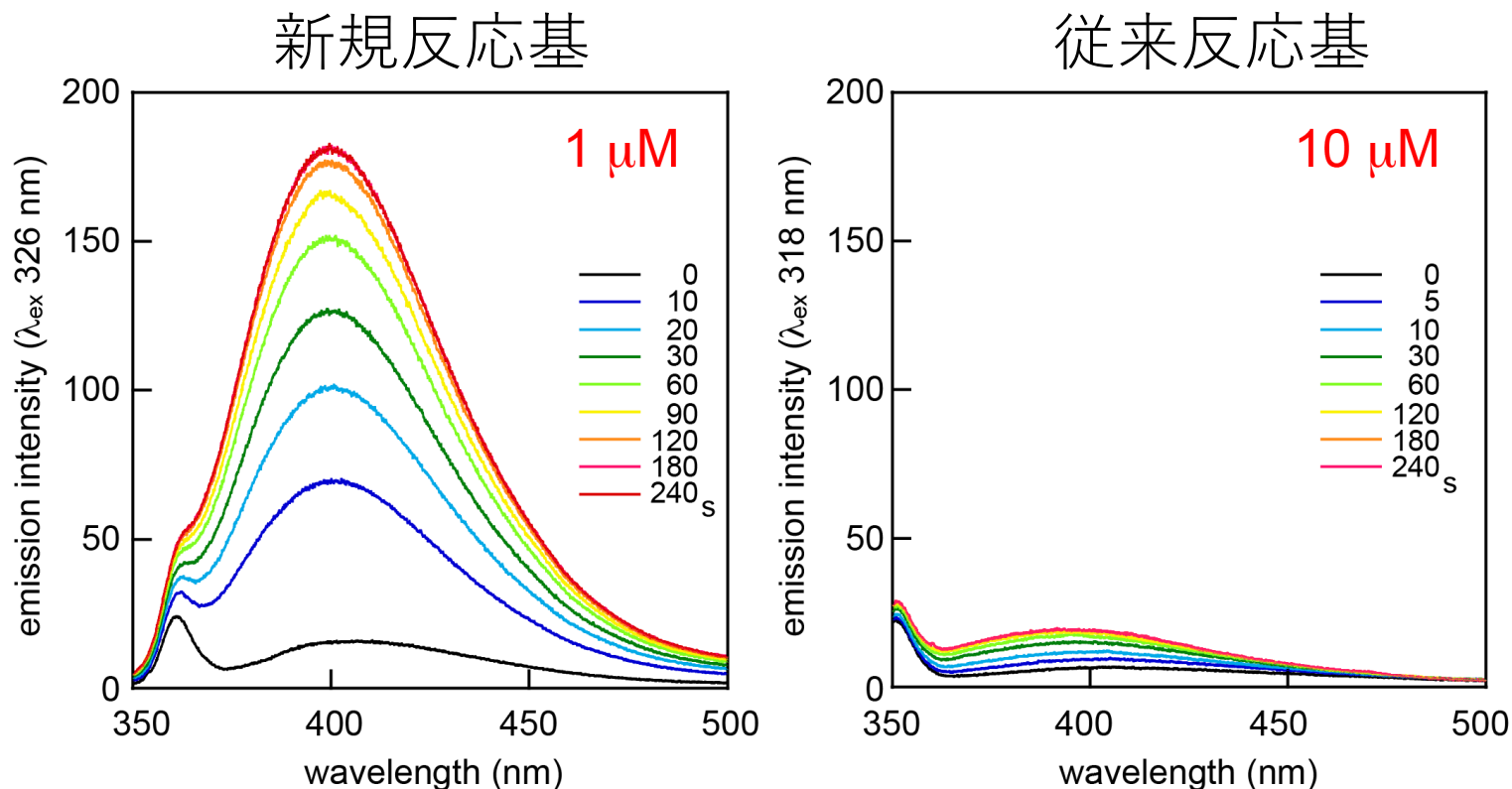
タンパク質の捕捉率が極めて低いこと
蛍光特性が低いこと

などの問題があり、広く利用されるまでには
至っていない。

タンパク質捕獲量と蛍光検出感度の向上

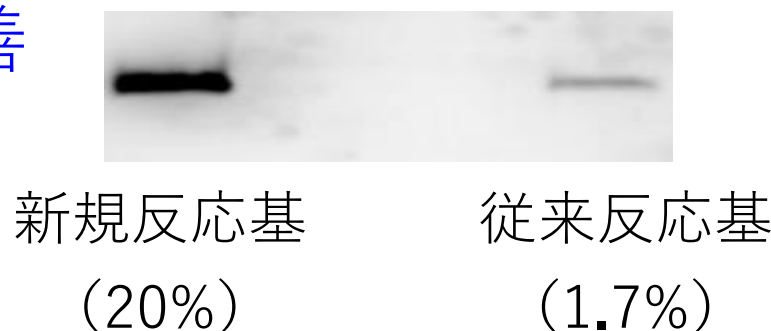
・ 蛍光特性の改善

約 90 倍の強度



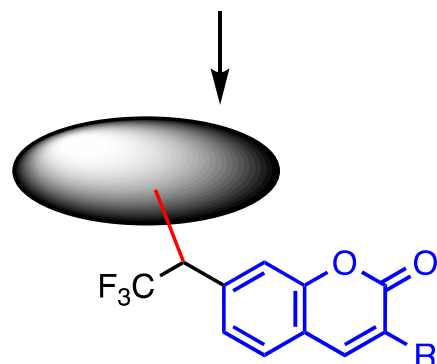
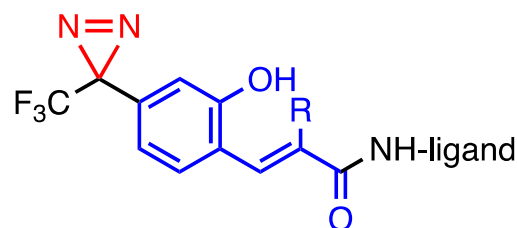
・ ラベル収率の改善

約 10 倍の収率



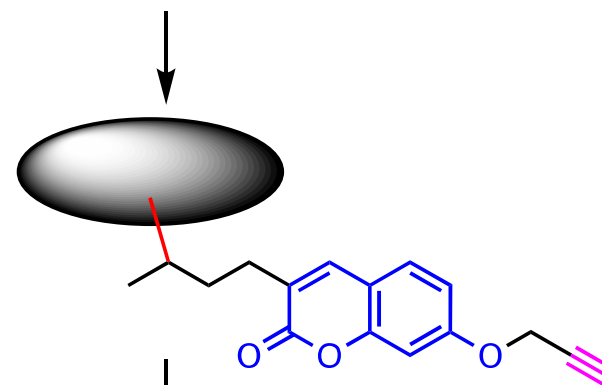
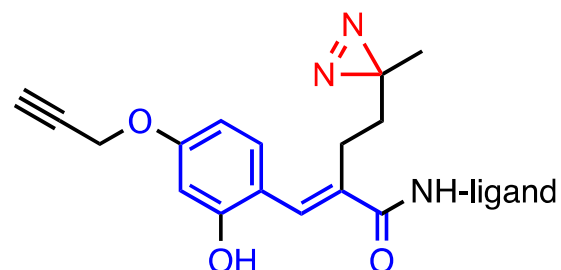
タンパク質捕獲量と蛍光検出感度の向上

従来反応基
(特許第6145742)

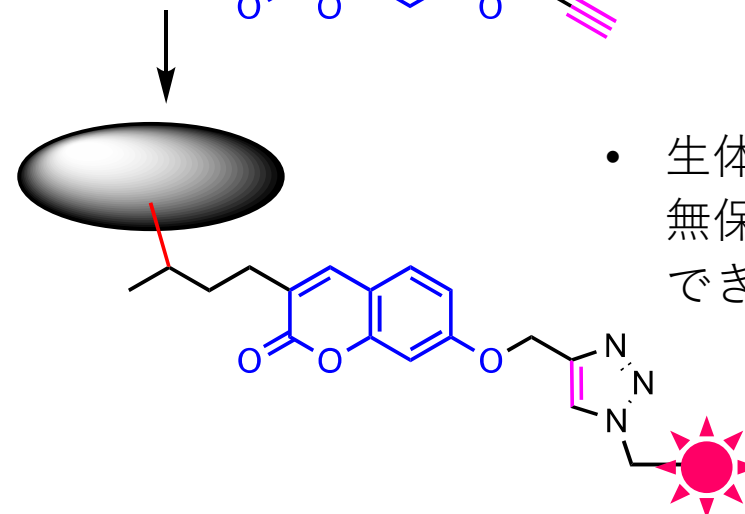


- 光切断性
- 剛直構造でリガンドから遠い
- 蛍光強度が小さい
- ラベル収率が低い

新規反応基



- 小型で柔軟な構造
- 反応基がリガンド部分に近い
- 光切断性
- ラベル収率の向上
- 蛍光強度の向上
- 生体直交性反応により無保護で別機能を付加できる



新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった収率を10倍、蛍光強度を90倍に改良することに成功した。
- 選択的な、標識タグへの更なる機能化が可能である。
- 従来技術では膜タンパク質を検出できたが、再現性に乏しかった。ラベルペプチドの絶対量確保（100倍以上）は必須。

想定される用途

単分子同士の脱着以外には、

- 無機材料以外の材料表面特性を任意に変えられる
- 光照射部分のみが活性化するので、照射スポットのみの機能化ができる。
- 高温でも反応するので、光の届かない物質表面でも修飾できる。

実用化に向けた課題

- 最終的に、質量分析（MS）で同定する。現在、MSシグナル強度の大幅向上に向けた開発を行っている。
- 今後、膜受容体やキナーゼなど生体内シグナルに重要な微量構想を対象に実験データを取得する。
- 生細胞イメージングには蛍光波長の長波長化が課題となる。

企業への期待

- プロテオミクスを基盤に、創薬研究を実施している企業との共同研究を希望
保有リード化合物の標的同定、
結合部位同定、機能解析
- 樹脂表面への特殊加工への展開を考えている企業

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 蛍光標識薬、プローブ及びその中間体
- 出願番号 : 特願2019-002254
- 出願人 : 富山大学
- 発明者 : 友廣岳則、中島大海

産学連携の経歴

- 2011-2012年 JST A-STEP FS探索タイプ
- 2017-2018年 AMEDの委託研究実施
- 2017-2018年 第一三共ノバーレ社と共同研究実施

お問い合わせ先

富山大学

産学連携推進センター 小前 憲久

T E L 076-434-7196

F A X 076-434-5138

e-mail komae@ctg.u-toyama.ac.jp