

合成化合物-タンパク質間相互作用に依存したβラクタマーゼ生成系の構築

(群馬大学理工¹・群馬大学理工²) ○萩原 弘顕¹・藤井 絵里帆²・石川 佳歩²・高橋 剛¹
 Construction of System to Generate Active β -Lactamase Depending on Interactions between Synthetic Compounds and Proteins. (¹Graduate School of Science and Technology, Gunma University,²Science and Technology, Gunma University) ○Hiroaki Hagiwara¹, Eriho Fujii², Kaho Ishikawa², Tsuyoshi Takahashi¹

The development of screening methods for the interactions between synthetic compounds and proteins is useful for drug discovery. On the other hand, β -lactamase, which can hydrolyze the compounds bearing the β -lactam ring, has been widely used in the field of biochemistry. In the present study, we have constructed the system to generate the active β -lactamase depending on the interactions between synthetic compounds and proteins. The interactions between model compounds and their target proteins have been evaluated by measuring the enzyme activity.

Keywords : β -Lactamase; Split Intein; Protein Trans-Splicing; Ligand-Protein Interaction

薬剤などの合成化合物とタンパク質間の相互作用を検出する手法の開発は、創薬などにおいて重要である。本研究では、 β -ラクタム環を分解する β -ラクタマーゼ(β Lac)の酵素活性を指標に相互作用を検出する系の構築を行った。 β Lac は大腸菌などの微生物の抗生物質耐性を付与する酵素として、生化学分野で広く使われている。本検出法は、活性型の β Lac を生成させるためのツールに、タンパク質トランススプライシング反応(PTS)を触媒する分割インティンを利用した(図 A)。分割インティンには、*Npu* DnaE 変異体を用い、通常とは異なる位置で分割することで、相互作用に依存してPTS反応が生じる系を設計した。

最初に、リン酸化チロシン含有ペプチドと、それを認識する SrcSH2 タンパク質をモデルとし、それぞれの融合ペプチド(pYEEI)および融合タンパク質を設計した(図 B)。pYEEI ペプチドとタンパク質を反応させたところ、リガンド-タンパク質間相互作用に依存して

PTS反応が進行し、活性型酵素が生成した(図 C)。次に、相互作用が既知の小分子化合物とタンパク質をモデルに検討したところ、同様に相互作用検出が可能であることが分かった。

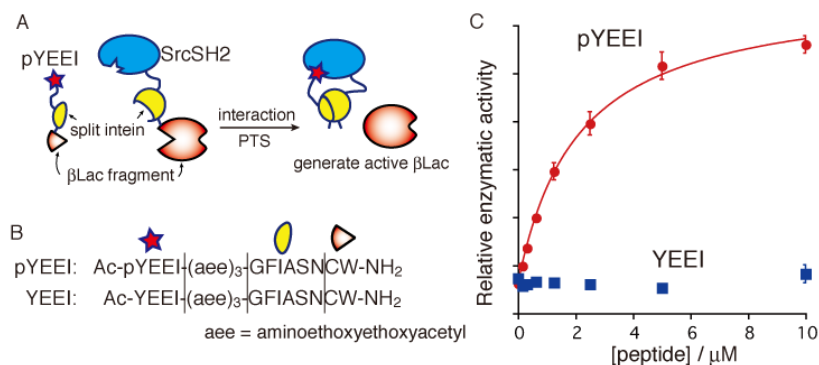


図. (A) 分割型 β Lac とインティンを用いた相互作用検出の模式図. (B) 設計したペプチドのアミノ酸配列. (C) ペプチド濃度に依存した β Lac 活性の発現.