

## 自己評価報告書

平成 23 年 3 月 31 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2011

課題番号：20510207

研究課題名(和文) プロペプチドの分子内シャペロン機能の解明と新規生理活性ペプチドの創作

研究課題名(英文) Role of Propeptide Region of Peptide Hormone and its Application to *de novo* Design of Biologically Active Novel Peptide.

研究代表者

日高 雄二 (HIDAKA YUJI)

近畿大学・理工学部・准教授

研究者番号：70212165

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：フォールディング、生理活性ペプチド、プロペプチド、前駆体、ウログアニリン

## 1. 研究計画の概要

殆どのペプチドホルモンは、生体内で、前駆体タンパク質として産生し、その後、変換酵素により、生理活性ペプチドに成熟する。しかし、この時、切断されるプロ領域あるいは前駆体そのものの機能については全く研究が進んでいない。

我々は、ペプチドホルモンの正しい生理活性構造の構築には、その前駆体蛋白質中のプロ領域が分子内シャペロンとして必須であることをウログアニリンについて証明した。そこで、プロ領域による生理活性構造の構築機構、即ち、分子内シャペロン機能の解明を目的とし、本研究を行っている。

その手法として、(1)変異前駆体の立体構造形成および結晶構造について調査する。

また、(2)前駆体中に存在するペプチドホルモンの立体構造が生理活性構造そのものに相関することから、プロ領域により捕獲されるペプチドの立体構造を指標とし、新規生理活性ペプチドの *de novo* デザインを行う。

## 2. 研究の進捗状況

(1)野生型およびセレノメチオニン変異体を用いたプロウログアニリンの結晶構造解析により、既に、最終立体構造を得ることができた。また、変異前駆体を用いた立体構造形成の検討により、前駆体蛋白質の立体構造形成と進化の過程における生理活性構造の成熟化について密接な相関があることが分かった。このことについて、現在、更に検討を行っている。

(2)また、既に、新規生理活性ペプチドの作成に成功し、その立体構造形成に対するプロ領域の役割および構造形成経路について検討を行っている。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

結晶構造解析により得られたプロウログアニリンの立体構造を精査した結果、当初我々が予想した結果とは幾分異なるものであった。しかし、その結果は、生理活性ペプチドの成熟化に対する重要な指針を与えるものであり、更なる発展が期待できる。当初の4年間の計画とは僅かに異なる内容に発展しているが、現在、当初予定の全研究計画の8割以上を達成できたものと考えている。

## 4. 今後の研究の推進方策

前駆体蛋白質の立体構造形成と生理活性構造の形成に密接な関係があること、即ち、非常に局在化した部分構造と前駆体全構造の形成には相関があり、その相関に沿って進化が行われたものと予想している。今後、この進化の過程において分子内シャペロン機能がいかに関与したのか、あるいは生理活性構造の保持がどのように行われ、不都合な変異がどのように排除されたのかを、種々の変異前駆体の立体構造形成を検討することで明らかにする。

## 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 18 件)

① Len Ito, Yuji Hidaka (責任者), Masaki Okumura, Hironori Konishi, Adermann Knut, and Hiroshi Yamaguchi, Crystallization and Preliminary X-ray Structural Studies of Human Prouroguanylin, *Acta Crystallogr. Sect F Struct Biol Cryst Commun.*, 64(8), 771-772 (2008) 査読有

② Masatoshi Saiki, Mayumi Watase, Hironori

出願年月日：2010年12月3日  
国内外の別：国内

- Matsubayashi, and Yuji Hidaka (責任者), Recognition of the N-Terminal Histone H2A and H4 Peptides by Peptidylarginine Deiminase IV, *Protein and Peptide Letters*, 16, 1012-1016 (2009) 査読有
- ③ Nobuyuki Fukushima, Daisuke Furuta, Yuji Hidaka, Ryutaro Moriyama, and Toshifumi Tsujiuchi, Post-translational Modifications of Tubulin in the Nervous System, *Journal of Neurochemistry*, 109, 683-693 (2009) 査読有
- ④ Yuji Hidaka (責任者), Ko-ichi Kontani, Rina Taniguchi, Masatoshi Saiki, Sayoko Yokoi, Kenji Yukuhiro, Hiroshi Yamaguchi, and Mitsuhiro Miyazawa, Fiber Formation of a Synthetic Spider Peptide Derived from *Nephila Clavata*, *Biopolymers*, 96(2), 222-227 (2011) 査読有
- ⑤ Masaki Okumura, Masatoshi Saiki, Hiroshi Yamaguchi, and Yuji Hidaka (責任者), Acceleration of Disulfide-Coupled Protein Folding Using Glutathione Derivatives, *FEBS Journal*, 278, 1137-1144 (2011) 査読有
- 他 13 報 (いずれも査読有)

[学会発表] (計 34 件)

- ① Yuji Hidaka, Heparin-Induced Conformational Changes in the Extracellular Domain of  $\beta$ -Amyloid Precursor Protein, 5<sup>th</sup> International Peptide Symposium, 2010年12月5日, 京都
- ② Yuji Hidaka, Role of Leu66 in the Folding of Uroguanylin Assisted by the Pro-peptide Region, 5<sup>th</sup> International Peptide Symposium, 2010年12月5日, 京都
- ③ Yuji Hidaka, Fiber Formation of Peptide Fragments Derived from Spider Dragline Silk Protein, 5<sup>th</sup> International Peptide Symposium, 2010年12月5日, 京都
- ④ Yuji Hidaka, Novel Reagent for Disulfide-Coupled Protein Folding, 5<sup>th</sup> International Peptide Symposium, 2010年12月5日, 京都
- ⑤ Yuji Hidaka, Oxidative Folding of Prouroguanylin, 5<sup>th</sup> International Peptide Symposium, 2010年12月6日, 京都

他 29 件 (全て代表者)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：ジスルフィド結合交換反応を利用した蛋白質の立体構造形成促進試薬  
発明者：日高雄二  
権利者：同上  
種類：特許  
番号：特願 2010-270195