

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：82108

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26620139

研究課題名(和文)ペプチド金属錯体アレイをベースとしたシート阻害剤の設計

研究課題名(英文)Design of beta-sheet inhibitors based on peptide metal complex arrays

## 研究代表者

田代 健太郎 (TASHIRO, KENTARO)

国立研究開発法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトニクス研究拠点・MANA研究者

研究者番号：40332598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：複数の金属錯体部位を側鎖に有するペプチド(ペプチド金属錯体アレイ)に水溶性を付与し、その自己集合挙動を調べた結果、通常のアミノ酸やペプチドの示すアニオン依存性(Hofmeister則)と異なる振る舞いを示すことが分かった。さらに得られた水溶性ペプチド金属錯体アレイがある種のペプチドのアミロイド化を阻害し、すでに形成されたアミロイド繊維を分解する性質を有していることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Design of water-soluble peptide metal complex arrays and studies on their self-assembling behaviors revealed their unique dependency on the co-existent anions, which is clearly different from the general tendency of peptides and proteins, known as "Hofmeister series". A water-soluble peptide metal complex array was found to inhibit the amyloid fibril formation of an amyloidogenic peptide and digest its preformed amyloid fibers.

研究分野：金属錯体化学

キーワード：多核金属錯体 ペプチド 自己集合 アミロイド アニオン依存性

## 1. 研究開始当初の背景

「シート阻害剤」は、タンパク質/ペプチドの代表的二次構造であるシート構造の形成を阻害する分子の総称であり、タンパク質高次構造の制御による生命現象の制御の観点から、その開発はますます重要となっている。とりわけアルツハイマー症等の疾患においては、シート構造の形成を介して進行するタンパク質の会合が決定的な役割を果たすと考えられており、シート阻害剤の開発による有効な対処法の確立は高齢化社会を迎えた日本にとって特に社会的要請の大きい課題である。実際、これまでに多数の分子が阻害剤として検討され、その多くはペプチドをベースとした小分子であった。一方、近年金属錯体のシート構造阻害効果について検討が始まり、注目を浴びている。しかし、ほぼ全てのケースは単純な単核錯体を用いた初歩的な検討にとどまっており、複数の錯体種を同一分子内に部位特異的に導入し、構造の精密制御により系統的な検討を行った例は皆無であった。研究代表者は、ペプチドの側鎖に複数の金属錯体が部位特異的に導入されたペプチド金属錯体アレイの新規合成手法を近年開拓し、その性質について検討を行っている。本研究ではペプチド金属錯体アレイのシート構造阻害能に焦点をあてた検討を行い、抗アルツハイマー薬やタンパク質高次構造の制御剤としての潜在的可能性を探る。

## 2. 研究の目的

本研究の当初の目的は以下に示す3項目である。

- (1) 水溶性を付与したペプチド金属錯体アレイライブラリーの作成
- (2) 種々のアミロイド形成ペプチドに対するアレイライブラリーのシート構造阻害能の評価および阻害能と分子構造との相関の解明
- (3) アミロイド形成タンパク質の会合抑制や部位選択的シート構造阻害によるタンパク質高次構造の精密制御の可能性の探索

## 3. 研究の方法

以下の3項目の取り組みを行う。

- (1) アレイ内のアミノ酸残基やペプチドN末端に水溶性置換機を配置することにより、水溶性を付与したペプチド金属錯体アレイのライブラリーを構築する。水溶液中における自己組織化挙動や高次構造についてCD、IR測定やSEM・TEM観察を通じて知見を得る。
- (2) TTR1 やアミロイド<sub>1-42</sub>などのアミロイ

ド形成ペプチドと構築した水溶性ペプチド金属錯体アレイライブラリーを種々混合し、吸収・蛍光色素を用いたアッセイによるアミロイド線維の定量やTEM観察などを通じて、それらのシート構造阻害能を評価する。特にアレイ構造内の金属中心シーケンズが及ぼす影響に焦点を当てる。

- (3) アルブミンやトランスサイレチン(TTR)など、アミロイド線維化の際のタンパク質の高次構造変化の詳細が知られているタンパク質を用いた検討を行い、水溶性ペプチド金属錯体アレイがタンパク質の高次構造を精緻にコントロールするための新たな手段となる可能性を探る。

## 4. 研究成果

- (1) 水溶性を付与したペプチド金属錯体アレイライブラリーの構築

金属錯体部位を側鎖に有するアミノ酸部位の隣にグルタミン酸、ペプチドのN末端にトリエチレングリコール鎖をそれぞれ導入する分子デザインによりRuPtRh及びRuPtPtシーケンズを有する水溶性アレイの合成を行った。

- (2) 水溶性ペプチド金属錯体アレイの自己集合挙動における非Hofmeister的アニオン依存性の発見

上記の分子デザイン戦略により設計したRuPtRhシーケンズを有するアレイの水溶液中での自己組織化挙動を検討した結果、ペプチドやタンパク質が示す一般的なアニオン依存性とは異なる自己会合挙動を示すことを見出した。すなわち、ペプチドやタンパク質が通常示すアニオン依存性(ホフマイスターシリーズ)とは異なり、RuPtRhシーケンズを有するペプチドアレイは塩化物アニオン存在下、リン酸アニオンの共存により自己会合が抑制された。アレイの側鎖に存在するRu<sup>2+</sup>やPt<sup>+</sup>などのカチオン性金属錯体部位とアニオンとの相互作用が非Hofmeister的アニオン依存性をもたらしているものと考えられる。

- (3) TTR1 ペプチドに対してシート構造阻害能を有する水溶性ペプチド金属錯体アレイの実現

輸送タンパク質として血液中に存在するトランスサイレチン(TTR)の部分シーケンズであるTTR1ペプチドのアミロイド化に対し、RuPtRhシーケンズを有するペプチドアレイが阻害効果を有することが分かった。さらに、あらかじめ線維化を進行させたTTR1ペプチドを分解することも明らかとなった。CDスペクトル測定の結果、これらのアミロイド生成阻害・分解効果は、TTR1ペプチドのシート構造の形成阻害・破壊により発現することが示された。さらに、アミノ酸

部位を持たない Ru や Pt 錯体単体、あるいは RuPt シークエンスを有するペプチドアレイを用いた比較実験の結果、TTR1 ペプチドのアミロイド線維生成阻害にはアレイの持つペプチド構造の存在が重要な役割を果たしていることが示唆された。

(4) アミロイド ペプチドと水溶性ペプチド金属錯体アレイ間の相互作用の詳細の解明

アミロイド ペプチドと RuPtRh シークエンスを有するペプチドアレイを混合すると、両者の会合が進行し凝集体が形成された。この現象は、アミノ酸部位を持たない Ru や Pt 錯体単体、あるいは RuPtPt や RuPt シークエンスを有するペプチドアレイと比較して RuPtRh シークエンスに特に顕著であった。コンゴレッド及びチオフラビン T を用いたアミロイド線維の定量を行ったところ、Ru 錯体部位を有する試料において両アッセイの結果が異なり（前者は線維の存在、後者は不在）蛍光色素を用いた後者のアッセイは Ru 錯体による蛍光クエンチの影響で適用が難しいことが示唆された。アミロイド ペプチドと RuPtRh シークエンスを有するペプチドアレイの TEM 観察では、アミロイド ペプチドのアミロイド線維と RuPtRh アレイの球状自己会合体がさらに凝集した構造が確認され、表面電荷がそれぞれ負、正のアミロイド線維とアレイの自己会合体が静電的な相互作用で凝集体を形成すると理解される。研究の当初の目的とは異なるが、RuPtRh アレイが示したアミロイド線維を凝集させる性質は、アミロイド線維から遊離したアミロイド ペプチドが最も毒性の高いオリゴマーを形成する過程のブロックに利用可能であり、興味深い。

5. 主な発表論文等

（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 2 件)

- (1) A water-soluble metal-organic complex array as a multinuclear heterometallic peptide amphiphile that shows unconventional anion dependency in its self-assembly, P. K. Sukul, P. Bose, T. Takei, O. M. Yaghi, Y. He, M. Lee, \*K. Tashiro, *Chem. Commun.*, **52**, 1579-1581 (2016). 査読有
- (2) Synthesis of a water-soluble metal-organic complex array, P. Bose, P. K. Sukul, O. M. Yaghi, \*K. Tashiro, *Journal of Visualized Experiments*, accepted (2016). 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

- (1) Anti-Amyloid Activity of Peptide Metal Complex Arrays, 田代健太郎, 第 65 回高分子学会年次大会、2016 年 5 月 26 日、

神戸国際会議場、神戸（一般講演）

- (2) Anti-Amyloid Activity of Peptide Metal Complex Arrays, 田代健太郎, 日本化学会第 96 回春季年会、2016 年 3 月 27 日、同志社大学、京都（一般講演）
- (3) Solid-Phase Synthesis of Multi-metallated Peptide Arrays and Their Applications for Biomedical Issues, K. Tashiro, V<sup>th</sup> National Symposium on Advances in Chemical Sciences, 2016, 2, 2. Guru Nanak Dev Univ., Amritsar, India（招待講演）
- (4) Solid-Phase Synthesis of Multi-metallated Peptide Arrays and Their Applications for Biomedical Issues, K. Tashiro, Pacificchem 2015, 2015, 12, 19. Honolulu, Hawaii（一般講演）
- (5) ペプチド固相合成法を利用した金属錯体ネットワークの構築と応用, 田代健太郎, JAI セミナー大阪, 2015 年 12 月 4 日、ブリーゼプラザ, 大阪（招待講演）
- (6) ペプチド固相合成法を利用した金属錯体ネットワークの構築と応用, 田代健太郎, JAI セミナー東京, 2015 年 11 月 20 日、朝日生命ビル, 東京（招待講演）
- (7) ペプチド金属錯体アレイの固相合成と生物医学的応用, 田代健太郎, 日本セラミックス協会第 28 回秋季シンポジウム, 2015 年 9 月 17 日、富山大学, 富山（招待講演）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: アミロイド線維の形成を抑制する抑制剤、アミロイド線維を分解する分解剤、神経変性疾患の予防、治療および/または進展抑制のための医薬、ならびに、抑制剤および分解剤の製造方法

発明者: 田代健太郎、スクル・クマル・プラディップ

権利者: 物質・材料研究機構

種類: 特許

番号: 特願 2015-023490

出願年月日: 2015 年 02 月 09 日

国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nims.go.jp/reticular/Japanese.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田代 健太郎 (TASHIRO KENTARO)  
国立研究開発法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトゥクス研究拠点・MANA  
研究者  
研究者番号：40332598

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし