

## ゲノムデータベースから抗菌ペプチドを網羅的に探索する方法の開発

### －新興・再興感染症に対する新たな研究基盤の構築に向けて－

2020年7月29日

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

#### ■ ポイント ■

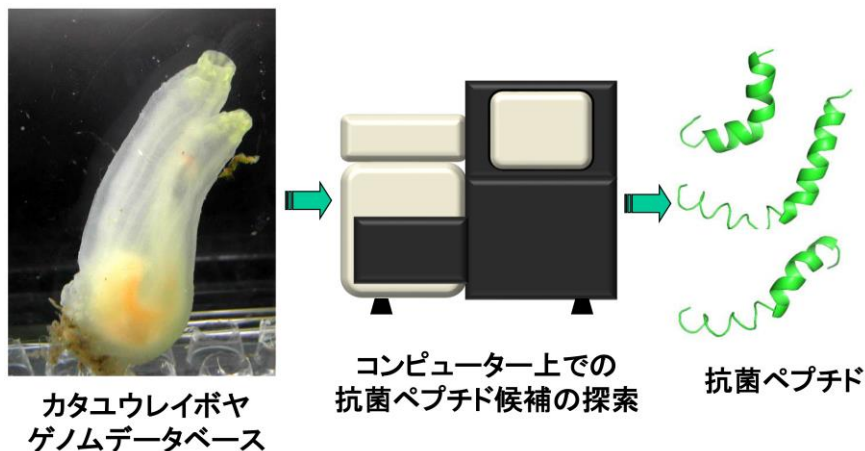
- ・カタユウレイボヤ・ゲノムデータから抗菌ペプチドを網羅的に探索する新たな方法を開発
- ・多様な生物種のゲノムデータ(ネツタイツメガエルなど)に対しても本法は適用可能
- ・新興・再興感染症に対する新たな抗菌剤の開発が望まれる中、本法は抗菌性物質の新たな探索法として期待
- ・多様な生物種からユニークな抗菌性物質を探索することで、感染症に対する有効な解決策を提供

#### ■ 概要 ■

国立研究開発法人 産業技術総合研究所【理事長 石村 和彦】(以下「産総研」という)、バイオメディカル研究部門【研究部門長 大西 芳秋】、脳機能調節因子研究グループ【研究グループ長 波平 昌一】の大塚幸雄主任研究員と稲垣英利主任研究員は、カタユウレイボヤ・ゲノムデータから抗菌ペプチドを網羅的に探索する新たな方法を開発した。

今回、カタユウレイボヤ・ゲノムデータから、ペプチドの大きさ、分泌性、物理化学的性質などを予測する複数のコンピューター・プログラムを組み合わせることによって、抗菌ペプチドの探索を行った。その結果、既知のものを含む 22 種類の抗菌ペプチド候補を予測し、複数のバクテリアに対して抗菌性を示す 5 種類の新規抗菌ペプチドを発見することに成功した。さらに、ネツタイツメガエルのゲノムデータベースに本法を適用したところ、新たな抗菌ペプチドの候補が見つかり、この方法の汎用性も示された。

なお、本成果は、2020年7月28日に科学誌 Scientific Reports にオンライン掲載された。



ゲノムデータベースから抗菌ペプチドを網羅的に探索する方法の概略図

## ■ 開発の社会的背景 ■

抗菌ペプチドは、病原体が生体内に侵入したときに最前線で働く自然免疫システムの重要な分子である。この中で LCAMP (Linear Cationic  $\alpha$ -helical AntiMicrobial Peptides) とよばれる一群の抗菌ペプチドは、抗菌活性にバリエーションが大きく、構造が単純で化学合成が容易であることから次世代抗菌薬の候補として注目されている。これまで、LCAMP の探索は生物種間で遺伝子配列の類似性が低いことから生化学的な解析に頼らざるを得ず、新規 LCAMP を見つけることは困難であった。近年、ゲノム解読が急速に進んで大量に遺伝子情報が蓄積されていく中、ゲノム情報から遺伝子配列の類似性以外の指標を手掛かりとした LCAMP の探索方法の開発が求められていた。また、既知の抗菌ペプチドの多くは血清中で抗菌活性を示さないため、生理的塩濃度で活性のある抗菌ペプチドの発見・開発が望まれていた。

## ■ 研究の経緯 ■

産総研は、「細胞機能の理解や解明に基づく創薬のための基盤技術の開発」を推進してきた。この中で、所属研究グループは生体機能において重要な役割を担っているタンパク質や生理活性ペプチドの同定・解析に取り組んできた。本研究では、ゲノム情報からの抗菌ペプチドの網羅的探索法を開発をとおして、新規抗菌性物質の探索に資する基盤技術の開発を目指した。

## ■ 研究の内容 ■

海産動物の抗菌ペプチドは高塩濃度存在下でも抗菌活性を示すと考えられる。そこで、カタユウレイボヤ・ゲノムデータに由来する 21,975 種類のペプチドおよびタンパク質のアミノ酸配列から、予想される分子の大きさ、分泌性、両親媒性を指標として、80 種類の配列を抗菌ペプチド候補として絞り込んだ。これらが膜タンパク質ではないことを確認した後、特徴的な立体構造 ( $\alpha$ ヘリックス構造) の有無、可溶性、細胞内局在の予測を行い、最終的に既知の 9 種類を含む 22 種類の抗菌ペプチド候補を選択することに成功した (図 1)。

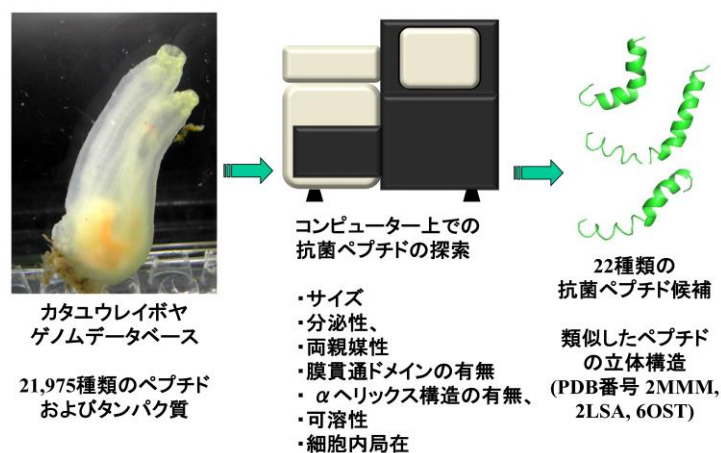


図 1 ゲノムデータベースから抗菌ペプチドを網羅的に探索する方法

この中から新規のペプチド 5 種類を化学合成し、抗菌アッセイに供したところ、5 種類全てが生理的塩濃度で大腸菌、ブドウ球菌に対して強い活性を、一部が緑膿菌、酵母に対しても活性を示した。また、一部のペプチドは高い塩濃度 (0.5M NaCl) 存在下においても抗菌性を維持するなど、実用化を目指す上で優れた性質を示すものもあった。さらに、4 種類のペプチドの遺伝子は、カタユウレイボヤの細菌感染のモデル系において、感染後に発現が誘導された。このことは、4 種類のペプチドが、カタユウレイボヤの自然免疫系において抗菌ペプチドとして機能しているこ

とを示していた（図2）。

また、ネットアイツメガエルのゲノムデータベースに本法を適用したところ、既知の抗菌ペプチドを含む11種類の抗菌ペプチド候補が見つかり、この方法の汎用性も示された。

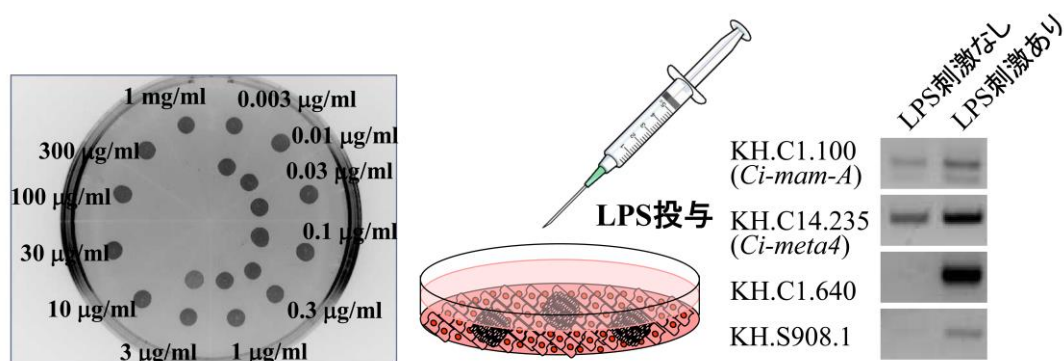


図2 抗菌アッセイと細菌感染のモデル系(LPS 刺激)による抗菌ペプチド候補の遺伝子の発現誘導  
ブドウ球菌の培養上に2種類の抗菌ペプチド候補を滴下したところ、菌が死滅して透明となった。カタユウレイボヤ血球細胞に大腸菌の細胞壁を構成するリポ多糖(LPS)を投与したところ、この刺激によって、抗菌ペプチド候補の遺伝子の発現が誘導された。

#### ■ 今後の予定 ■

近年、多くの新興・再興感染症が蔓延し、人類に大きな脅威を与えている。このような感染症の中にはウイルスや原虫を原因とするものもあり、既存の薬剤のみでは対処できないものも多く、新たな薬剤の開発が望まれている。一方、抗菌ペプチドは多様な構造と作用機序を持ち、抗ウイルス活性や抗原虫活性を有するものもある。今後は多くの生物のゲノムデータベースから抗菌ペプチドを探索し、発見したペプチドの幅広い生物活性を明らかにすることで次世代抗菌薬の開発に貢献していきたい。

## 【用語の説明】

### ◆カタユレイボヤ

脊椎動物に最も近縁な海産無脊椎動物。脊椎動物の生命現象を理解するモデルとして用いられている。

### ◆ $\alpha$ ヘリックス構造

ペプチドやタンパク質の立体構造を決定づけるらせん構造のこと。

### ◆遺伝子発現

生体を構成するペプチドやタンパク質は、設計図である DNA から mRNA という物質が作られた後、mRNA をもとにしてペプチドやタンパク質が合成される。生体内におけるペプチドやタンパク質の量の違いや時間的な変化は、DNA から RNA が作られるときの RNA の量に大きく依存する。遺伝子発現とは、この RNA 量の空間的な違いや時間的な変化を示す。

### ◆自然免疫

生体の免疫系は、大きく自然免疫と獲得免疫に分けられる。自然免疫系は抗体反応を伴わず、病原体が感染した時に、最初に働く生来の免疫系を示す。