

ファージディスプレイ法によるプログラム細胞死誘導物質の探索

大田 悠里¹, 宮本 龍樹¹, 横田 亜紀子², 佐々木 章², 常田 聡¹, 野田 尚宏^{1,2}

¹早大院・生命医科, ²産総研・バイオメディカル

【目的】プログラム細胞死は多細胞生物の発生や恒常性維持のために不可欠な生体機構であり、微生物においても個のみならず、集団維持のための制御機構としての役割が明らかになりつつある。微生物においてプログラム細胞死に関与している機構の一つとしてToxin-Antitoxin system (TA system) が知られている。TA systemは毒性タンパクであるToxinと抗毒性タンパクであるAntitoxinからなり、通常は、微生物細胞内でToxin-Antitoxin複合体を形成することでToxinの毒性が抑制されているが、外部ストレス等によってAntitoxinが分解されることでToxinが遊離し、微生物の細胞死が誘導される。そこで我々は、Toxinタンパクの毒性発現を外部から人為的に誘導できれば特定の微生物の生死を制御できるのではないかと考え、Toxin-Antitoxin複合体の結合部位に作用することで複合体形成を阻害する短鎖ペプチドを新たにデザインし、細胞内に導入することで特定微生物の細胞死を誘導することを目的とした。本ペプチドは有害微生物に対する新しい抗菌物質となることが期待される。本研究では病原性微生物の一種であるStaphylococcus aureusが保有するToxin-Antitoxin機構を対象とした。【方法】Staphylococcus aureus

が保有するToxinとAntitoxinの遺伝子配列を用いて、大腸菌に発現させたりコンビナントタンパクを調製し、その活性測定を行った。取得したタンパクを標的としてファージディスプレイ法を行い、標的タンパクに選択的に結合するペプチドのスクリーニングを行った。【結果・考察】取得したタンパクに関してSDS-

PAGEによ

って分子量の測定を

行い、活性測定で濃度依存的な活性を持

つことを確認した。10⁹

種類のペプチドライブラリをスクリーニングソースとしてファージディスプレイ法を行った結果、特定ペプチドの濃縮を見出すことができた。今後は選別したペプチドに関してクラスタリングを行い、異なるクラスタに属するペプチドにおけるToxin-

Antitoxinの結合阻害活性を蛍光共鳴エネルギー移動や蛍光相関分光法によって評価する。

keywords: Programmed cell death, Toxin-Antitoxin system, Antimicrobial peptide