

公益財団法人 立松財団 御中
様式 2021A1,A2,B

2026年 1月 16日

所属：名古屋大学大学院創薬科学研究科

氏名：辰川 英樹 印

2022年度 助成 研究 経過・**終了** 報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	タンパク質分子間を架橋する酵素反応を捉えるバイオセンサーの開発と制御法探索
研究の結果	<p>様々なタンパク質のグルタミン残基とリジン残基の間のイソペプチド結合形成を触媒するタンパク質ファミリーであるトランスグルタミナーゼ(TGs)の作用機序を解明し、新たな治療戦略を開発するため、これまで十分に研究されてこなかった各 TG アイソザイムの活性を特異的に調べることでできるバイオセンサーの開発を行った。</p> <p>申請者がこれまでに同定した各 TGase により特異的に架橋されるペプチド配列情報に基づき、グルタミン(Q)およびリジン(K)残基を含むペプチドを蛍光標識したプローブを合成した。FITC 標識 Gln 基質ペプチド(FITC-K5 および FITC-T26)とローダミン B 標識 Lys 基質ペプチド(RhoB-Kpep)を調製した。これらが TGs により架橋されると、2つの蛍光分子の距離が近接して蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)が起こり、蛍光波長が変化する。この波長変化を捉えることにより各 TGase による架橋反応が起こる程度を簡便に定量することを計画した。また、各 TGs のアイソザイム特異的な架橋活性を調べることを目的として、以前に申請者らが見出した各 TGase アイソザイム特異的に認識され、架橋される Q 側の配列を用いた検証も行った。</p> <p>各ペプチド配列に蛍光分子を標識し、高効率に FRET が起こる分子設計について、基質ペプチドやリンカー長、蛍光分子の標識位置が異なる種々のプローブを合成し、最適化した。プローブ比率や濃度、反応条件、濃度、類似酵素による反応特異性を検証した。結果として、TGs により架橋反応が起こる際に効率よく架橋されるプローブペアを得た。分子プローブの作製後、本学所有の化合物ライブラリーを用いて各 TGase アイソザイム特異的な架橋反応を制御する化合物を探索した。得られた候補化合物について、構造活性相関研究や培養細胞を用いた解析を進め、制御化合物の最適化により有用な分子ツールを取得した。</p> <p>本研究課題において、TG アイソザイム特異的な活性を迅速かつ簡便に測定できるペプチドベースのバイオセンサーを開発することができた。</p>
研究発表 (実績)	<p>(1)原著論文 Tatsukawa H, Aoyama R, Hitomi K, (2023): Development of peptide-based biosensors for detecting cross-linking and deamidation activities of transglutaminases. <i>Amino Acids</i>. 5(6):807-819, 2023 査読有</p> <p>(2)総説(本、紀要) 辰川英樹、人見清隆(5. 細胞外マトリクス 項目の執筆分担)、(2023)実験医学別冊 もっとよくわかる! シリーズ「もっとよくわかる! 線維化と疾患」-炎症・慢性疾患の初期からはじまるダイナミックな過程をたどる、羊土社、50-58 (2023年09月20日発行)</p> <p>(3)学会発表(国内会議) 1. 辰川 英樹, 人見 清隆, 2AS-17-05 架橋酵素トランスグルタミナーゼによる細胞外マトリクスの制御(2AS-17 シンポジウム: 間質細胞から生じる生理・病的機能の解明に向けて), 第47回日本分子生物学会年会, 2024/11/28, 福岡 2. 辰川 英樹, 篠田 祥希, 人見 清隆, 2S10m-06 架橋酵素トランスグルタミナーゼによる細胞外マトリクスの制御(2S10m シンポジウム: 間葉系間質細胞の病的・生理的機能の解明に向けて), 第96回日本生化学会大会, 2023/11/1, 福岡</p> <p>(4)学会発表(国際会議) 1. Tatsukawa H, Research on the induction mechanism of fibrosis initiated by TG2. FEBS Workshop 2024 - Transglutaminases in Human Disease Processes, 2024/5/21, Bertinoro, Bologna, Italy, 2. Tatsukawa H, Shinoda Y, Hitomi K. Crosslinking Enzyme Plays an Essential Role in Macrophage Polarization, Leading to Renal Fibrosis. JSICR/MMCB2023 Joint Symposium 2023/5/24-25, Wakayama</p>

提出期限：研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。