『アミノ酸80残基、88残基のペプチド合成にSyro *Wave*、ChemMatrixを使用』

広島大学大学院総合科学研究科の浮穴和義准教授の研究室では、2つの新規遺伝子とそれらの翻訳産物である2つのペプチドの生理機能について研究しています。ラットやニワトリのヒナを用いて、遺伝子の局在や様々なエネルギー代謝状態での発現変動、ペプチド投与後の行動変化や代謝関連因子の発現変動を解析しており、そのペプチド合成の際にSyro *Wave* 及びChemMatrixを活用していただいています。今回は浮穴准教授と、博士課程後期2年の益田恵子さんにお話をうかがいました。

―― まず、先生のご研究について教えてください。

浮穴先生「われわれは脳内に、未知の機能物質が存在しているのではないかと考え、脳内からペプチド性の伝達物質をコード(指定)している遺伝子を探そうと取り組んでいました。
そして、2008年7月に、ニワトリの脳の視床下部から2つの新規遺伝子を見つけたのですが、それらの遺伝子がアミノ酸80 残基、88 残基の進化的には類似したペプチドをそれぞれコードすることを発見しました。

そこで今度はこの2 種類のペプチドの生理機能を知るために、80 残基、88 残基のペプチドを用いて生理活性を確認する必要がありました。
当初は大腸菌を使って組み換えタンパク質を作っていましたが、収量が十分でなかったり、C 末端をアミド化する酵素が販売中止になってしまったりといった状況でした。そこでペプチドを化学合成するしかないということになりました。」

長いペプチドを作ることができるのが利点

―― そこでSyro *Wave* を導入していただいたわけですが、その経緯を教えてください。

浮穴先生「今まで扱っていたペプチドは長くても20 残基程度でしたので、一般的なペプチド合成装置を用いて合成を行なうことができました。しかし、80、88 残基というペプチドは非常に長く、また構造も複雑だったためほとんど合成できませんでした。長いペプチドの合成は非常に難しいのです。」

―― なぜ通常の合成装置では長いペプチドを作ることが難しいのでしょうか?

浮穴先生「室温のままでは合成できない部分がどうしてもでてきてしまいます。そこでマイクロウェーブだったら作れるのではと思い、新機種の導入を検討し始めました。

広島大学大学院総合科学研究科
人間科学部門生命科学研究領域脳科学分野
浮穴 和義 准教授

全自動マイクロウェーブ&
パラレルペプチド合成装置 Syro *Wave*™

色々な会社のペプチド合成装置をデモし、実際に80 残基のペプチドの合成を行ないました。
その際にマイクロウェーブを用いると80 残基も合成できると確信しましたが機種選定にはまだ迷っていました。
バイオタージさんには半マニュアルタイプのマイクロウェーブペプチド合成装置をデモしていただきました。しかし80 残基をマニュアルで合成するのはとても大変でして。これは使えないと諦めていたのですが、その頃にSyro *Wave* が発売になるということで、学会の帰りに東京のバイオタージのオフィスへ寄りSyro *Wave* を実際に見せていただきました。

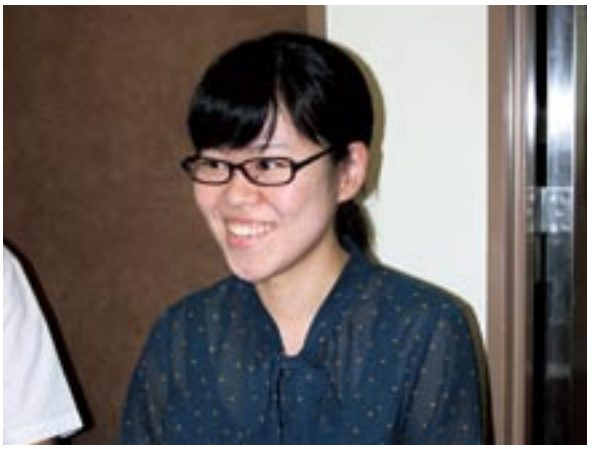
最終的には全自動という点がとても気に入り、導入することになりました。当時はまだ発売されたばかりで、日本で3台目に導入したというのは鼻が高かったです。」

学位を持つ専門知識豊富なペプチドケミストがサポート

―― 実際にSyro *Wave* を使われていかがでしたか。

益田さん「マイクロウェーブのおかげでようやく80 残基のペプチドを合成できるようになりました。一般的に、ペプチドが長くなるほど二次構造を形成しやすくなり、反応点が隠れるなどして反応効率が落ちますが、マイクロウェーブのおかげでその点を克服できたのだと思います。

パラレル合成できる点もとても便利です。80 残基のペプチド以外にも、短くて配列が少しずつ異なる複数種類のペプチドを合成することがありますので、一度に合成できるのは助かります。それに、何種類作るにしても必要な試薬はまとめて調製すれば良いので準備が楽です。



広島大学大学院総合科学研究科
人間科学部門 生命科学研究領域
脳科学分野　浮穴和義研究室　博士後期2年
益田 恵子さん

マイクロウェーブでの合成は以前よりも合成時間が短くてすむ点も良いです。80 残基作ろうとすれば、通常の合成だと1残基が1時間くらいなので単純計算で80 時間くらいですが、マイクロウェーブを使うと半分以下で出来ます。」

―― ペプチド合成が研究目的ではないですからね。

益田さん「はい、ペプチドの生理活性を解析するのが研究室のメインの目的です。合成は準備段階のようなものですので、時間を割いていられません。」

浮穴先生「サポートの面でも、バイオタージさんはドクター（博士号）を持っているペプチドケミストという専門家が、装置をはじめ合成に関するサポートもしてくださいます。いい意味で外資系っぽくない気さくな方で、気にかけていただいており連絡も頻繁にくださいます。」

—— 弊社のペプチドケミストはどのようなサポートをしていますか?

益田さん「この研究室の専門は生物学で、ペプチド合成の専門知識を持っている人があまり身近にいません。どういう所を条件検討すればいいか、論文をひきながらいろいろと試していますが、専門的な部分が理解できなかったり行き詰まったりするときがあります。
困った時にペプチドケミストさんに相談してアドバイスをもらっています。学会でお会いした際は私たちの発表を聞きに来てくださいました。」

ペプチド合成用PEGレジン ChemMatrix

—— ChemMatrix もご使用いただいていますが、いかがですか?

益田さん「膨潤性が高く、溶媒や試薬がよく浸透し、ペプチドのアグリゲーションも起きにくいと聞いてSyro *Wave* と一緒に導入しました。その後に、ChemMatrix 以外のPEGレジンも一回検討してみたのですが、ChemMatrix の方が膨潤性が高く合成結果も良かったです。」

—— ペプチド合成している企業や先生には使っていただいていますが、こうした生物研究の方に使っていただけるのはうれしいですね。

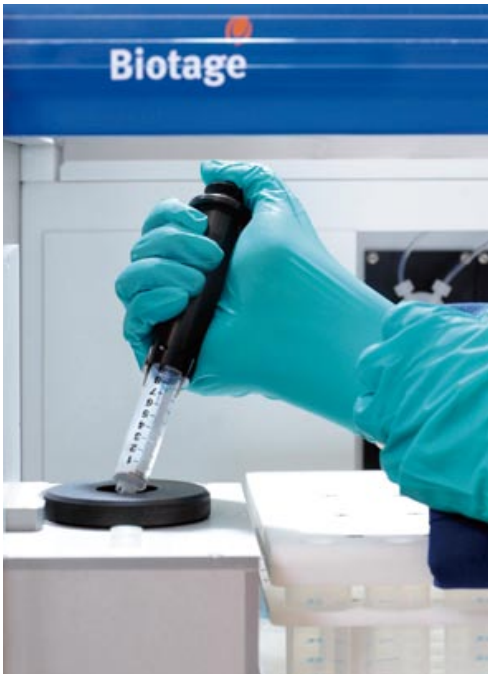
浮穴先生「Syro *Wave* の最大の特徴は、専門外の人でも使えるという事だと思います。」

国内ユーザーの声をフィードバックさせた装置に

—— その他、何かご意見はありますか?

益田さん「海外品なので基本は英語表記ですが、重要なエラーメッセージ等は日本語表記にしていただけると内容を正確に汲みとれますし対処がしやすいです。また、細かいパラメータを動かせるので複雑な条件検討をしたい人にとって便利だと思いますが、その分プログラムの組み方がやや複雑だったり、組んだ後の確認項目が多かったり、慣れるまで少し大変でした。その点がもう少し簡単になれば、不慣れな人も扱いやすいと思います。」

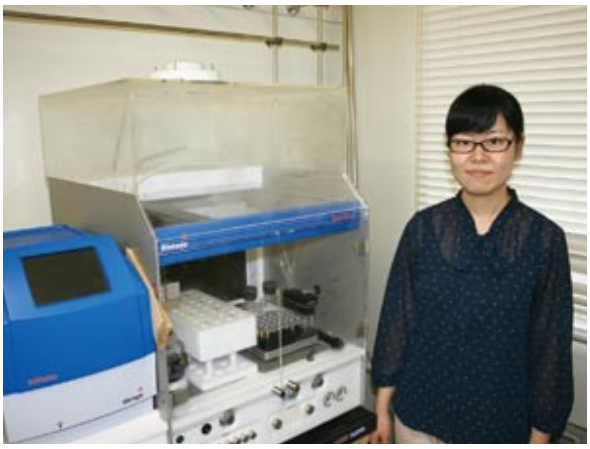
浮穴先生「益田さんがいないとプログラムができません。日本人でも簡単にプログラムを組めるようにフィードバックして頂きたいですね。」



—— 仰る通りですね。貴重なご意見ありがとうございました。今度のご予定についてお聞かせください。

益田さん「80 残基の合成はできたのですが、現在88 残基の合成検討中です。たった8残基伸びただけと思われるかもしれませんが、収率がとても低くなっています。アミノ酸組成の違いか二次構造の違いか、明確な原因は突き詰められていません。動物への投与実験ができるだけのペプチドを集めるのが最優先で、原因解明まで手が回っていないのが現状です。」

——その点も含めて、今後もできるかぎり弊社がサポートさせていただきます。本日はお忙しいところ、誠にありがとうございました。



益田さんとご使用いただいているSyro *Wave*

導入製品

『全自動マイクロウェーブ& パラレルペプチド合成装置 Syro *Wave*』

http://www.biotage.co.jp/syrowave

室温でのパラレルペプチド合成、またはマイクロウェーブ加熱を用いたシングルチャンネルでの合成が行えます。高い分注精度のピペッティングアームを備えた、コンピューター制御の全自動ペプチド合成装置です。パラレル反応ブロック上で、従来行っている固相を用いたペプチド合成をパラレルで効率よく実行し、難しいカップリングにはマイクロウェーブ反応ユニットへ一旦容器を移して効果的に反応させるという、ユニークな利用方法を提供します。

導入機関データ

国立大学法人 広島大学

http://www.hiroshima-u.ac.jp/

明治7年創立の白島学校、明治35年の広島高等師範学校、大正12年の広島高等学校など、全国で最も多くの前身校を持つ大学で、昭和24年に国立総合大学として発足しました。東広島市に約250ヘクタールという広大なキャンパスを抱え、現在は11の学部、11の大学院研究科が置かれています。学部生は約1万1000人、大学院生約4200人、教員数約1700人に上ります。大学院総合科学研究科の浮穴和義准教授の研究室では、脳科学・神経内分泌学を専門に研究されています。