



書籍執筆出版の御案内 担当項目

Construction of Cyclic Peptide-libraries Immobilized on Gel-type Supports for Screening towards Discovery of Interacting Peptides

Kiyoshi Nokihara, Takeshi Kasama, Atsushi Kitagawa, Yuki Tominaga, Victor Wray and Toru Sasaki

HiPep Laboratories, Kyoto, 602-8158, JAPAN

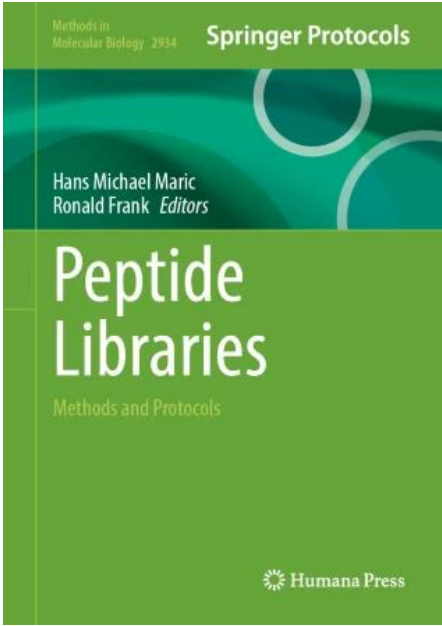
Phone +81-75-813-2101; email: PepTenChip@hipep.jp

URL: <https://hipep.jp> JAPANESE <https://hipep.com> ENGLISH

約1年前ハイベップ研究所の軒原のドイツ時代の同僚(Dr. Ronald Frank)が、最近の軒原らの論文を評価し、当人が編集する、Springer Nature社の書籍Methods in Molecular Biologyシリーズ、Peptide Librariesの執筆依頼を受けた。このシリーズは35年以上にわたり、生物科学の研究者から絶賛され信頼され、すべての生物医学プロトコル出版の標準となってきた書籍である。

Peptide Libraries : Methods and Protocolsの巻の各プロトコルは、すぐに再現可能なステップ・バイ・ステップで記載され、序論、実験に必要な材料と試薬・手順が構成要素である。この分野の研究者にとって包括的なガイドとなることを目指している。

軒原らが担当した部分は、教科書的技術解説で、ペプチド・ライブラリーの作製と応用のための、新規かつ新たな方法をまとめたものである。各章は、ライブラリーとスクリーニングの新しい道を示す方法と技術に焦点を当てた。ハイベップ研究所の有する技術ノウハウ（分子認識、ライブラリー構築、探索スクリーニング、1粒上に固定化されたペプチドの配列解析、その応用等）を記載した。創薬探索のための研究開発の一助となれば幸いである。



創薬探索：相互作用ペプチド探索のためにゲル様担体に固定化された環状ペプチドライブラリーの構築

教科書MMBシリーズ Springer Nature Book: 978-1-0716 Maric/Frank(編集) "Peptide Libraries" 2025

軒原清史 (corresponding author*), 笠間健嗣、北川篤、富永祐希、WRAY Victor、佐々木亨

ハイベップ研究所 email*: PepTenChip@hipep.jp URL: <https://hipep.jp> (和) <https://hipep.com> (英)

記述概要 OPOBは表面にペプチド誘導体を化学結合させた高分子ゲル粒子である。各ビーズにはすべて異なる1種類だけの高純度ペプチドが約80pmol固定化されており、タンパク質や細胞と相互作用するペプチドを発見するための優れたツールである。親水性が高いため、タンパク質溶液や、浮遊細胞のような試料と混合し、相互作用するビーズを拾い出すことができる。選択されたビーズ上のペプチドの構造は、質量分析などの方法により解析する。ハイベップ研究所ではライブラリーとして2つのタイプのOPOBを準備した。ひとつは、天然アミノ酸19種と非天然アミノ酸5種で構成した6残基ペプチドを、システイン2残基のジスルフィド結合により環状化してビーズ表面に固定化しており、その多様性は約2億種となる。もう一種は、医薬品開発を主眼に非天然アミノ酸12種で構成した6残基ペプチドを、ジスルフィドあるいはチオエーテル結合で環状化した。その多様性は約300万種であり、翻訳系に依存したディスプレイ法の欠点を補うライブラリーとして、目的に応じた構成で、短期間で調製が可能である。これらのライブラリーから発見されたペプチド誘導体は、医薬のリードとしてだけでなく、標的分子の精製に用いるアフィニティプローブ、細胞特異的検出のための蛍光標識体、多様な薬物を搭載できる細胞標的複合体（「ペプチド・ビークル」と呼称）等様々な用途に応用できる。

Key Words : Cyclic peptide library, Drug discovery, Mass spectrometry, One-Peptide-on-One-Bead, Peptide vehicle, Cell Targeting, Sequence analysis

提案する2種のライブラリーの特徴（構築工程とデコンボリューションプロセスとに迅速性をもたらした）

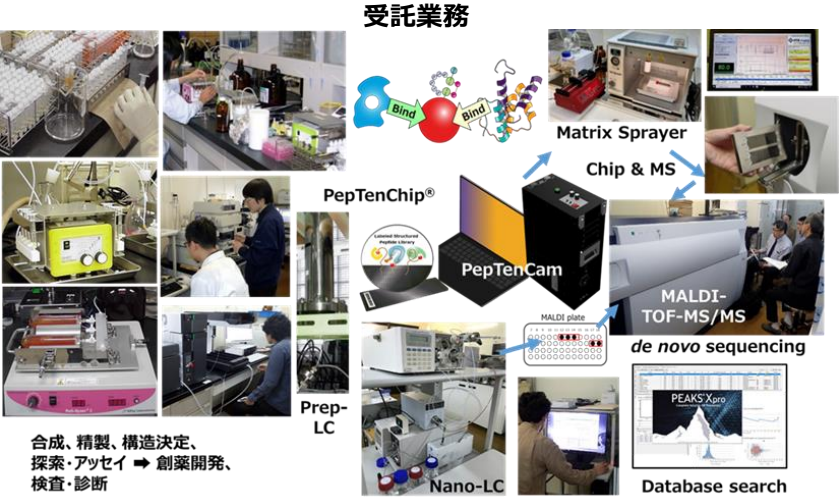
P/N	CP240B	新製品 CP12FB (PAT.P)
構成ビルディングユニット	24 AA (19 天然アミノ酸 + 5 非タンパク質性アミノ酸【創薬でしばしば用いられる】Cha, Hyp, Nle, Nva, Phg)を使用PPIの解析に有用	過去の創薬で用いられた厳選12 アミノ酸、同一分子量のビルディングユニットは併用しない、ダイバーシティの拡充で3つのグループを考案した主に非天然型、ライブラリーの各構成物が、極めて薬物様構造
多様性	24 ⁶ = 2 億種類 PPI (タンパク質相互作用) 解明が主眼	12 ⁶ = 300万種類 創薬探索が主眼
配列解析	① エドマン分解：難＝N末端ブロック ② 部分加水分解 → MS/MS：難＝配列特異的分解収率と末端の正確な解析 ③ 直接切り離して構造決定 新規技術 高性能MALDI-TOF-MS/MSでLeu vs. Ile; Nva vs. Valの区別が可能	特異的化学開裂反応で担体から標的ペプチドを効率よく切り離し 質量分析で迅速に配列決定が可能 LC 精製不要：直接開裂 → MS/MS
仕様	Size : 90 μm, 0.27 mmol/g Loading : 80~100 pmol/bead	
研究用販売	最低供給量 1 g (ca 200万種・粒) 試薬として販売、コミットメント無、有償受託解析有	受注生産、全量供給【ただしライブラリーだけの販売は行いません】 構造解析サービスを伴います。 成功報酬はマイルストーン方式です。



MMB Book中に使用されている関連製品各種のご案内 当社では、下記の通り論文に関連する製品を取り扱っております。論文中の実験をされたい場合、下記の製品をご案内いたします。また、**ライセンスアウト、実習をともなうコンサルテーション、技術導出**もお受けしております。どうぞお気軽にお問い合わせください。

製品名	用途	特徴
TentaGel®	ライブラリー構築用固相担体	使用目的に応じた様々なタイプのレジンを取りそろえております。
Fmocアミノ酸	ライブラリー構築用合成試薬	受託合成サービスで使用している高品質なFmocアミノ酸誘導体です。
縮合剤	ライブラリー構築用合成試薬	受託合成サービスで使用する高品質な縮合剤です。高効率合成用もあります。
PetiSyzer®	パーソナル合成器(～ 5 mL)	楕円旋回方式による震盪撹拌で高効率反応を実現します。
PetiSyzer® II	パーソナル合成器(～ 50 mL)	反応カラムを横位置で全体を加熱しながら往復（レシプロ）震盪により、より大量のサンプルを高濃度反応で高効率処理できます。
AHST	サンプルの誘導体化、加水分解	高精度な加熱装置と、シンプル操作の封印器具がセットになった製品です。失敗のない簡単な封印方法は、従来の裸火によるアンプル封印から解放されます。

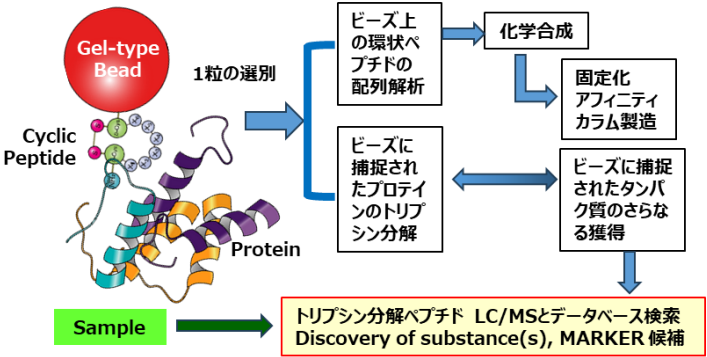
各種受託サービスのご案内： ペプチドの受託合成(各種修飾にも対応いたします)や、各種受託分析(LC-MS, MALDI-TOFMS, アミノ酸組成分析、GC-FIDによるアミノ酸のDL分析など)、受託スクリーニング等も承ります。また、当社では習熟が不可欠（データの解釈）で、装置およびその維持費が高額である、質量分析システムを駆使したビーズ上のアミノ酸配列解析も受託しています。是非お問い合わせください。



不確実な配列解析は時として確認のために必要な二次ライブラリーの数が増加する

参考書：
和文：ペプチド医薬品開発のためのスクリーニング・安定化・製剤化技術 第1章 10節・ペプチドビーズライブラリーを用いた標的探索 pp 50-58, 2017 技術情報協会
英文 編集：Maric/Frank; “Peptide Libraries” (2025) MMB-Book: Springer Nature 978-1-0716

OPOBライブラリーの探索での応用



- 1. 混合分割法で2億種類あるいは300万種類の2種類のライブラリーを構築
- 2. 高純度で均一性の高いTentaGel®に固定化した環状ペプチドライブラリー、OPOB 2種類を製造販売
- 3. 分子間相互作用により、たんぱく質はOPOBで捕捉できる：創薬探索に有用
- 4. 簡便迅速な配列解析手法を開発した
- 5. 受託解析も実施

OPOBは、“Multiple-to-Multiple”探索でも有用である。例：the mixture of anti-venom toxins 創製

Selected References 以下はハイペップ研軒原らが著者です。ご要望あればメール送付いたします

- Nokihara K, et.al., (2016). Amino Acids 48: 2491. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2269-1>
- Kasama T, Nokihara K (2024). Analytical Sciences 40, 1219. <https://doi.org/10.1007/s44211-024-00594-8>
- Sasaki T, Kasama T, Nokihara K (2023) Chem Biol Drug Des 102: 1327. <https://doi.org/10.1111/cbdd.14331>
- Nokihara K, et.al., (2012) Sakaguchi K (Ed), Peptide Science 2011, 73
- Hirata A, Nokihara K (2014) Tetrahedron Lett 55: 4091 <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.05.086>
- Nokihara K, Ando E, (1994), Okada Y (Ed). Peptide Chemistry 1993, 25.