



能化法によって、化学反応の遷移状態に結合するが生成物との結合能は低い分子認識能を付加することにより、テラーメイド酵素が作製できると考えられる。現在までに、リン酸化チロシン含有アミノ酸配列に結合するリボヌクレオペプチドの作製には成功しており、今後、リン酸化チロシン含有アミノ酸配列の加水分解遷移状態アナログにも結合するようにペプチドサブユニットの段階的機能進化を試みる。

#### (4) タンパク質ドメインを用いた機能性組織体のデザイン

約120アミノ酸からなる安定なタンパク質PHドメインを二つのサブユニットに分割して、それぞれにコイルドコイルを付加したスプリットPHドメインを作製した。再構築したスプリットPHドメインはイノシトール三リン酸 (IP<sub>3</sub>) に対して強く結合し、かつL-IP<sub>3</sub>とは結合しないという、もとのPHドメインと同じ結合特性を示した。これにより、スプリットPHドメインを用いて、RNA-ペプチド複合体で用いた段階的機能化法が適用できる可能性が示された。また、スプリットPHドメインの土台となるタンパク質PHドメインに蛍光分子を導入することにより、水溶液中で使用可能な蛍光性IP<sub>3</sub>センサーを初めて作製した。このIP<sub>3</sub>センサーに細胞導入ペプチド(9つのアルギニン配列)を付加することにより、細胞内でIP<sub>3</sub>を可視・定量化できることが明らかになり、刺激に応じて細胞内カルシウム濃度と連動した細胞内IP<sub>3</sub>濃度変化を検出することに成功した。

### 3. 主な論文

1. A new fluorescent biosensor for inositol trisphosphate. Morii, T., Sugimoto, K., Makino, K., Otsuka, M., Imoto, K., Mori, Y., J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 1139-1140.
2. In vitro selection of ATP-binding receptors using a ribonucleopeptide Complex. Morii, T., Hagihara, M., Sato, S., Makino, K., J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 4617-4622.
3. Functional reassembly of a split PH domain. Sugimoto, K., Mori, Y., Makino, K., Ohkubo, K., Morii, T., J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 5000-5004.
4. Amplification of receptor signalling by Ca<sup>2+</sup> entry-mediated translocation and activation of PLC $\beta$ 2 in B lymphocytes. Nishida, N., Sugimoto, K., Hara, Y., Mori, E., Morii, T., Kurosaki, T., Mori, Y., EMBO J. 2003, in press.

### 4. その他

招待講演 国内2件、海外3件、特許4件