

RGGYX から成る環状ペプチドの構造解析

○藤本和久¹・山口朋也¹・永田 崇²・片平正人²・深澤海斗³・大吉崇文³ (1 九産大生命、² 京大エネ理工、³ 静大院創造)

Structural Analysis of Cyclic Peptides Consisting of RGGYX Sequences (Faculty of Life Science, Kyushu Sangyo University¹, Institute of Advanced Energy, Kyoto University², Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University³) FUJIMOTO, Kazuhisa¹; YAMAGUCHI, Tomoya¹; NAGATA, Takashi²; KATAHIRA, Masato²; FUKASAWA, Kaito³; OYOSHI, Takanori³

グアニン四重鎖構造 (G4) 結合タンパク質の多くは結晶構造が取得できたものがほとんど無く、その活性部位の構造が明らかになっていない。活性部位におけるモチーフの一つに RGG (アルギニン・グリシン・グリシン) 領域があり、この RGG 領域がβターン構造を形成していることを示唆する CD スペクトルが報告されている。そこで我々は RGG 配列をベースとした環状ペプチドを合成し、その構造や G4 との結合を調べることにした。なぜなら五残基のアミノ酸から成る環状ペプチドはβターン構造を形成しやすいことが知られているためである。今回、合成した環状ペプチドの G4 との結合能、ならびに NMR で行った構造解析の結果を報告する。

五残基のアミノ酸から成る環状ペプチドはβターン構造を形成しやすいことに加えて、L 体のアミノ酸だけでなく D 体を組み込むことで環状構造を形成しやすくなることを考慮し、環状ペプチドのアミノ酸配列を決定した。G4 結合タンパク質である TLS/FUS を参考にして、四番目のアミノ酸残基は Y とした。五番目のアミノ酸残基は X として様々なアミノ酸を導入することにした。例えば RGGY それに続く五番目のアミノ酸残基 X を K とした場合、R と Y を D 体とすると c(dRGGdYK) となる (D 体を dR、dY と表記し、c は環状であることを示す; 図左)。一方、c(dRGGdYK) に対する鏡像体は c(RGGYdK) となり、こうした環状ペプチド群を固相合成法によって合成した。

合成した環状ペプチドの中から上記の c(dRGGdYK) と c(RGGYdK) の構造を NMR によって解析した。NMR 情報に基づいた束縛条件付き分子動力学計算より得られた二つの G 残基の主鎖二面角は、c(dRGGdYK) が Type-II もしくは Type-II' のβターン構造を形成し得る可能性を示した。NMR 構造解析より得られた二つの G 残基の主鎖二面角は Type-II のβターン構造に類似していたことから、c(dRGGdYK) は Type-II のβターン構造を形成している可能性が極めて高いことがわかった (図右)。一方、鏡像体である c(RGGYdK) は、NMR 構造解析の結果から二つのコンフォマーが含まれていることが示唆されたので、現在その詳細を検証中である。また、合成した環状ペプチド群と G4 DNA との結合を Filter Binding Assay によって評価したので、その結果を含めて報告する予定である。

