

Retro-aldol 反応の触媒を目指した β シート性 de novo ペプチド触媒の設計

○橋本匡浩¹・三木卓幸^{1,2}・Korendovych Ivan V.³・三原久和¹ (¹東工大生命理工、²東大院工、³シラキュース大)

De novo design of β -sheet peptide catalysts for retro-aldol reaction (School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology¹, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo², Department of Chemistry, Syracuse University³) HASHIMOTO, Masahiro¹; MIKI, Takayuki^{1,2}; KORENDOVYCH, Ivan V.³; MIHARA, Hisakazu¹

天然の酵素はそのほとんどが 100 残基以上からなり、特定の三次構造を形成するが、生命の進化の過程を考えると、酵素活性を示す最適な配列・構造に至ったメカニズムはほとんど不明である。一方で、わずか数残基からなるペプチドが自己集合してアミロイド様繊維を形成し、加水分解反応や酸化反応など様々な反応を触媒することが知られている¹⁾。このことから初期の酵素は、 β シートのような単純な二次構造を形成するペプチドが自己集合してできた高次構造体であると考えられている。そのため、このようなペプチド触媒を設計・開発することは、現代の酵素への進化の過程を理解する上で重要な課題である。そこで本研究では、触媒活性を示す De novo ペプチドの開発を目指した。具体的には、天然アミノ酸のみからなり、 β シート構造を形成して自己集合し、Retro-aldol 反応を触媒するペプチド触媒の開発を目指した。

自己集合によって触媒活性を示すペプチドを開発するためにも、当研究室で開発された Y15 ペプチド (YEYKYEYKYEYKYEY) を基軸として配列を設計した²⁾。Y15 ペプチドは疎水性の Tyr と親水性の Glu や Lys を繰り返した β シート設計の De novo ペプチドであり、水溶液中で自己集合し、フィブリルを形成する。また、Y15 ペプチドをタグとして融合したタンパク質は細胞内で集合体を形成することが見出されている。さらに、Y15 ペプチドの Tyr を別の疎水性残基に置換した様々な De novo ペプチドを設計しており、同様に細胞内でタンパク質を集合させるタグとして機能することを見出している³⁾。

Retro-aldol 反応の触媒には、クラスター化した Lys 側鎖が重要であることが知られる。Lys がクラスター化することで側鎖アミノ基の pKa が下がり、求核攻撃が進行する (図 1)。そこで、先行研究で開発した De novo ペプチドタグの親水性残基を全て Lys に置き換えたペプチドを合成・精製し、触媒活性を評価した。その結果、Phe と Lys を繰り返した FK13 ペプチド (FKFKFKFKFKFKF) が、methodol を基質とした retro-aldol 反応を触媒することがわかった。また、アミロイド様繊維の疎水部分に結合して蛍光を発する ThT を加えたところ、蛍光強度の上昇が見られず、FK13 ペプチドはアミロイド様繊維とは異なる高次構造を形成している可能性が示唆された。

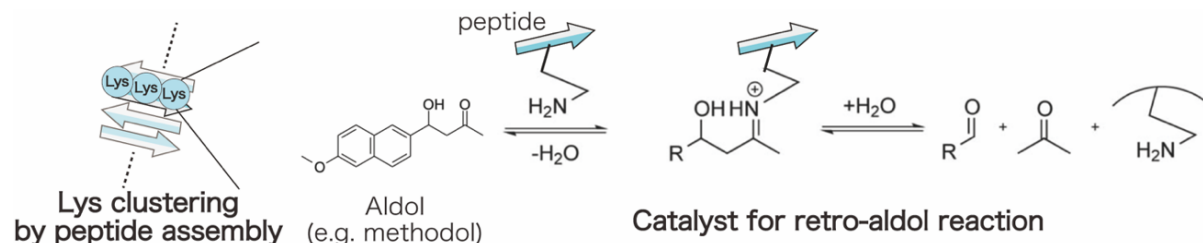


図 1. Lys がクラスター化した De novo ペプチドによる retro-aldol 反応の触媒

[参考文献]

- 1) L. R. Marshall, I. V. Korendovych, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2021**, 64, 145.
- 2) T. Miki, T. Nakai, M. Hashimoto, K. Kajiwara, H. Tsutsumi and H. Mihara, *Nat. Commun.*, **2021**, 12, 3412.
- 3) T. Miki, K. Kajiwara, S. Nakayama, M. Hashimoto and H. Mihara, *ACS. Synth. Biol.*, **2022**, 11, 2144.