

- 【成果情報名】** NMR及び分子モデリングによるジベレリン模倣ペプチド-抗体間相互作用の解析
- 【要約】** NMR 及び分子モデリングによると、ジベレリン模倣ペプチド-抗体間の相互作用が、ジベレリン-抗体間の相互作用と非常に類似している。これは、他の植物ホルモン等の疎水性化合物に対しても模倣ペプチドの作製が可能であることを示している。
- 【部署】** 食品総合研究所・分析科学部・状態分析研究室
- 【連絡先】** 状態分析研究室 029-838-8033 hemmi@affrc.go.jp
- 【成果区分】** 参考
- 【キーワード】** saturation transfer difference (STD)、NMR、分子間相互作用、ジベレリン模倣ペプチド、抗体、分子モデリング
-

【背景・ねらい】

これまで主にワクチンの開発のため、非ペプチド性リガントとして糖質を認識する抗体に対する模倣ペプチドについての報告がなされている。それ以外にはDNA, ビオチンそしてカビ毒のデオキシニバレノールの数種に対する模倣ペプチドが報告されている。しかしながら、疎水性化合物に対しては、これまで我々が知りうる限りその報告例はない。もし、疎水性リガントに対する模倣ペプチドが容易に得られるのであれば、それらは植物ホルモン等の各種有機化合物に対して高い結合能を有する抗体を作製するための有効な抗原として利用出来る可能性がある。最近、共同研究者らにより疎水性化合物である植物ホルモンのジベレリンを認識する抗体に対して、ジベレリンのミミックとして結合するペプチドの取得に成功した。しかし、オオムギ湖粉層プロトプラストを用いた β -アミラーゼ誘導などのアッセイ系においてジベレリンと類似の活性や抑制的效果は認められなかった。そこで、NMR及び分子モデリングにより、ジベレリン模倣ペプチドがジベレリンと同様に抗体と結合しているのかを検討した。

【成果の内容・特徴】

- 2次元NMR法により、溶液中でのジベレリン模倣ペプチドの立体構造を解析した。その結果、Leu3 - Ser6 (L3 - S6) の領域で β -ターン様構造をとることが分かった(図1)。さらに、ジベレリン模倣ペプチドに抗ジベレリン抗体を加えたサンプルを用いて、STD-NMR法によりジベレリン模倣ペプチドの抗体との相互作用部位の検出を行った。その結果、 β -ターン様構造を形成するLeu3 - Trp5 (L3 - W5) の領域において強いシグナル強度を示し、Ser6 - Cys10 (S6 - C10) の領域においては弱いシグナル強度を示した(図1)。このことから、ジベレリン模倣ペプチドは主にLeu3-Trp5の領域で抗体と相互作用することが判明した。
- 今回、2次元NMR法により得られたジベレリン模倣ペプチドの立体構造とすでに報告されている抗ジベレリン抗体の結晶構造を用いて、分子モデリング法によりジベレリン模倣ペプチド-抗ジベレリン抗体の複合体モデルを作製した。この複合体モデルにおけるジベレリン模倣ペプチドの抗体との相互作用部位は、STD-NMR法による相互作用部位と一致した。この結果から、ジベレリン模倣ペプチドは、抗体と主に疎水的な相互作用により結合し、2本の分子間水素結合を形成することが推測された(図2赤点線)。
- 今回の結果より、ジベレリン模倣ペプチドと抗体との結合様式が、すでに結晶構造解析により報告されているジベレリンと抗体との結合様式と非常に類似していることが判明した。このことより、他の植物ホルモン等の疎水性リガントに対して高い結合能を持つ抗体を作製するための有効な抗原としての模倣ペプチドを作製することが可能である。

【成果の活用面・留意点】

今回の結果により、他の植物ホルモン等の疎水性化合物に対しても模倣ペプチドの作製が可能であることが判明したが、実際には疎水性の度合いが疎水性化合物に比べ模倣ペプチドでは十分でない場合が考えられるので検討が必要である。

【具体的データ】

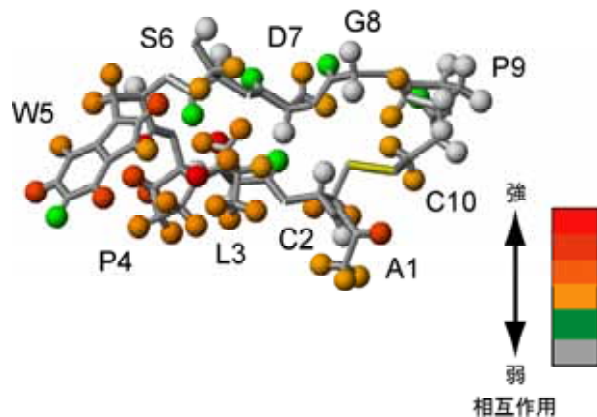


図1 ジベレリン模倣ペプチドの溶液中での立体構造及び STD-NMR 法による各プロトンシグナルのシグナル強度。

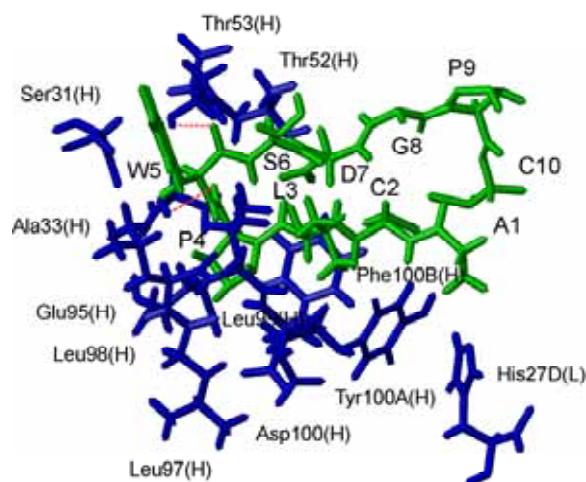


図2 分子モデリング法によるジベレリン模倣ペプチド(緑色) - 抗ジベレリン抗体(青色)複合体モデルにおける分子間相互作用領域の分子モデル。分子間水素結合は赤い点線で図示。

【その他】

研究課題名：核磁気共鳴（NMR）法による有用タンパク質の構造解析及び機能との相関の解明

予算区分：経常

研究期間：2003～2005年度（2005年度）

研究担当者：逸見光、村田貴志、中村周吾（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物情報工学研究室）、清水謙多郎（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物情報工学研究室）、鈴木義人（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物制御化学研究室）、山口五十磨（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物制御化学研究室）

発表論文等：

- 1) T. Murata *et al.*, Structure, epitope mapping, and docking simulation of a gibberellin mimic peptide as a peptidyl mimotope for a hydrophobic ligand, *the FEBS Journal (European Journal of Biochemistry)* **272**(19), 4938-4948(2005)