

非天然分岐鎖アミノ酸を含む新規基質ペプチドによるエラスターゼ活性への影響

(九工大生命体工) ○川上 奈織・山脇 裕貴・油布 智規・佐藤 大輔・加藤 珠樹

The Effect of Novel Substrate Peptides Containing Nonnatural Branched Chain Amino Acids on Elastase Activity (*Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology*) ○Nao Kawakami, Yuuki Yamawaki, Tomoki Yufu, Daisuke Sato, Tamaki Kato

The detection of protease activity using the reaction specificity to the substrate peptide is expected to be used not only for biochemical applications but also for medical applications. Although 20 natural amino acids are generally used in studies of substrate specificity, studies using non-natural amino acids will provide information on the reaction specificity (selectivity) of a wider range of individual proteases, which will allow us to find better substrates and inhibitors.

Last year, we examined the cleavage activity of chymotrypsin using a peptide containing the unnatural branched-chain amino acid AEH(2-amino-4-ethylhexanoic acid), and found that the activity was lower than that of the peptide containing the natural branched-chain amino acid (Leu). Since chymotrypsin also cleaves peptides containing cyclohexylalanine, we expected that chymotrypsin would also cleave peptides containing AEH, but the results were different. It suggests that the side chain of AEH does not extend upward like cyclohexylalanine, but rather spreads horizontally. To investigate the effect of AEH, we measured the elastase activity to the substrate peptide containing AEH, and investigated the correlation between the structure of the amino acid residues and the activity.

Keywords : *Peptide, Newly Synthetic Amino Acid, Fluorescence, Protease Activity, Elastase*

基質ペプチドへの反応特異性を利用したプロテアーゼ活性検出は、生化学的利用のみならず医療現場への応用も期待される。基質特異性を調べる研究では一般的に 20 種類の天然アミノ酸が用いられているが、非天然アミノ酸を用いた研究により、より広く個別のプロテアーゼの反応特異性（選択性）情報が得られ、より良い基質や阻害剤を見出すことができると考えられる。

一昨年、非天然分岐鎖アミノ酸 AEH(2-アミノ-4-エチルヘキサン酸)を導入したペプチドを用いてキモトリプシンの切断活性を調べたところ、天然分岐鎖アミノ酸(Leu)を導入したものよりも活性が低いという結果が得られた。キモトリプシンはシクロヘキシルアラニンを導入したペプチドも切断するため部分構造である AEH を含むペプチドも切断すると予想していたが結果は異なったため、AEH の側鎖はシクロヘキシルアラニンのように上には伸びず、横に広がる構造をしていると考えられる。エラスターゼは一般に小型の側鎖を持つアミノ酸に特異性が高いが、側鎖が横に広がる AEH はこの特異性に対してどう作用するかを調べるため、これを導入した基質ペプチドに対するエラスターゼ活性を測定し、アミノ酸残基の構造と活性の相関について調べた。