

ATR-FTIR による合成ペプチドアナログの構造解析—配位子置換が Ca^{2+} 配位構造に及ぼす影響

(医科歯科大教養¹・青山学院大理工²・京大院生命³・東大院農生科⁴) ○奈良 雅之¹・森井 尚之¹・坂本 章²・宮川 拓也³・田之倉 優⁴

ATR-FTIR analysis of the structure of synthetic peptide analogs: Effect of amino-acid replacement on the Ca^{2+} coordination structure (¹*Liberal Arts and Sciences Division, Tokyo Medical and Dental University*, ²*College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*, ³*Graduate School of Biostudies, Kyoto University*, ⁴*Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo*) ○Masayuki Nara,¹ Hisayuki Morii,¹ Akira Sakamoto,² Takuya Miyakawa,³ Masaru Tanokura⁴

EF-hand motif (helix-loop-helix) is a Ca^{2+} -binding domain in common between many intracellular Ca^{2+} -binding proteins such as parvalbumin and troponin C (TnC). ATR-FTIR was applied to examine the Ca^{2+} coordination structure of site III (103-114) of rabbit skeletal muscle TnC. The 17-residue synthetic peptide analog of the site III (Ac-DRNADGYIDAEELAEIF-NH₂) showed a band at about 1552 cm⁻¹, whereas the mutated peptide of the site III (N105D and D107S) showed a band at about 1546 cm⁻¹. We found that the mutated peptide of the site III (N105D and D107Hse), where homoserine (Hse) was substituted for Ser, showed no band over the range of 1555-1545 cm⁻¹, suggesting that this peptide had less affinity for Ca^{2+} .

Keywords : Coordination Structure; Infrared Spectroscopy; Calcium Binding Protein; Synthetic Peptide Analog

EF ハンドモチーフ (helix-loop-helix) はパルブアルブミン、トロポニン C (TnC) などに共通する Ca^{2+} 結合ドメインである。 Ca^{2+} 結合部位はアミノ酸 12 残基からなり、N 端側から 1 位、3 位、5 位、7 位、9 位、12 位のアミノ酸残基が Ca^{2+} の配位子に関わっている。その中で 12 位の Glu 側鎖の COO⁻ 基は Ca^{2+} と二座配位型で配位し、その COO⁻ 逆対称伸縮モードは 1555-1550 cm⁻¹ にバンドを示す¹⁾。 Ca^{2+} 結合部位のモデル化合物として、ウサギ骨格筋 TnC の Ca^{2+} 結合部位 III に相当する 17 残基合成ペプチドアナログ Ac-DRNADGYIDAEELAEIF-NH₂ の赤外スペクトルを解析すると、 Ca^{2+} 結合に伴い 12 位の Glu 側鎖 COO⁻ 基の逆対称伸縮振動が 1552 cm⁻¹ 付近にピークを示した。配位子として関わる 1 位の Asp を Ser に置換すると、このバンドは 1560 cm⁻¹ に高波数シフトしたので、12 位の Glu が二座配位型を保つためには、1 位の Asp は欠かせないものと考えられる。一方、5 位の Asp を Ser に置換すると、このバンドは 1546 cm⁻¹ に低波数シフトした。 Ca^{2+} 配位構造が八面体形をとると考えたとき、5 位と 12 位は同じ軸上に位置するので、5 位に負電荷がなくなると、12 位の Glu の COO⁻ と Ca^{2+} との相互作用がより強くなるのが考えられる。次に、Ser の代わりに、メチレン基が 1 つ多いホモセリン (Hse) を用いると、 Ca^{2+} 負荷状態において 12 位の Glu 側鎖 COO⁻ 基は 1555-1545 cm⁻¹ にバンドを示さなかった。従って、5 位の Ser の OH 基にメチレン基を 1 つ増やすと、 Ca^{2+} 結合性に影響を及ぼすことが示唆された。EF ハンドモチーフタンパク質の Ca^{2+} 配位構造を解析する上で、合成ペプチドアナログのアミノ酸置換によるアプローチの意義について議論する。

1) Nara, M., Morii, H., and Tanokura, M. (2013) *Biochim. Biophys. Acta* **1828**, 2319-2327.