

29

ペプチド中のアミノ酸のラセミ化反応速度の pH 依存性

The pH dependence of rate constant of racemization of
Amino acid in elastin mimic peptide

○安岐 健三, 森 雄平, 藤井 智彦, 藤井 紀子(京都大学)

○Kenzo Aki, Yuhei Mori, Nrihiko Fujii, Noriko Fujii

(Kyoto University)

緒言 エラスチンは細胞外マトリックスを形成する線維蛋白質で生体内に広く存在している。このうち、大動脈、靱帯、肺、皮膚に存在するエラスチン中では加齢とともにアスパラギン酸(Asp)残基が L-体から D-体へとラセミ化していることが知られている。エラスチンには 3 残基の Asp しか存在しないが、我々は以前の研究でエラスチン中に存在する 3 残基の Asp 残基周辺と同一配列のペプチドと同一配列のペプチドを 3 種類合成し、これらの合成ペプチド中における Asp 残基のラセミ化反応速度定数と活性化エネルギーを求めた。その結果、3つのペプチド間において差はあるものの、どの Asp も生理的条件下でヒトの一生の間(50-100 年)にラセミ化を受けやすいことが明らかとなった。本研究ではエラスチンペプチド中のアミノ酸残基のラセミ化反応速度に及ぼす pH の影響について検討することを目的とした。

実験 エラスチン合成ペプチド(Exon 6: GVADAAAA, Exon 26A-1:REGDPSSS, Exon 26A-2: AGADEGVR)を酸性(pH4.2), 中性(pH7.3), 塩基性(pH10.4)の buffer に溶かし、40 μ g/ml に調製し 50, 60, 70, 80, 90°C でインキュベートし、一定時間ごとに取り出し、加水分解後、これらペプチド中の Asp 残基と Glu 残基の D/L 比を測定し、各温度における Asp 残基と Glu 残基のラセミ化反応速度定数を決定した。次にアレニウスプロットにより、各 pH におけるペプチド中の Asp 残基と Glu 残基のラセミ化反応の活性化エネルギーを算出した。次いでこれらの値から 37°C でのラセミ化速度定数を外挿し、各 pH によるそれぞれのペプチド中の Asp 残基と Glu 残基のラセミ化反応速度定数を求めた。

結果 Exon26A-2 の Asp 残基と Glu 残基の 37°C でのラセミ化速度は塩基性条件(pH10.4)のとき最も速く、次いで酸性(pH4.2)条件のときとなり、最も遅いものが中性条件(pH7.3)のときであるということが明らかとなった。Exon6 中の Asp 残基のラセミ化速度定数の pH 依存性も Exon26A-2 と同様の結果になった。また Exon26A-1 中の Asp 残基は中性条件ではほとんどラセミ化が進行しておらず、酸性条件ではペプチドが分解していた。

考察 Exon26A-2 と Exon6 の結果はエラスチン中の Asp または Glu のラセミ化が周辺の pH に大きく影響されることを示唆している。また Exon26A-1 が中性条件下でラセミ化が進行しなかったり、酸性条件下において分解したのは Asp の隣にペプチド結合の窒素にプロトンがない Pro が存在するため、Asp がラセミ化するのに必要な succinimide 構造をとれないためであると考えられる。