

抗 D-β-Asp 含有ペプチド抗体の性格

Characterization of anti D-β-Asp containing peptide antibody

○安岐健三, 斉藤剛, 藤井智彦, 藤井紀子 (京都大学)

Kenzo Aki, Takeshi Saito, Nrihiko Fujii, Noriko Fujii

Kyoto University

【背景】アミノ酸を化学合成すると、不斉合成をしない限り L 型と D 型が 1:1 で得られる。L 型と D 型アミノ酸は原始地球上でも同様にラセミ体混合物として存在していたと考えられるが、生命体が構成されるまでの化学進化の過程でなぜか L-アミノ酸が生命体の構成要素として選択されてきた。それゆえ蛋白質はすべて L-アミノ酸から構成されているが加齢やストレスによりアスパラギン酸(Asp)残基が部位特異的に D 体化(このうち 70-85%が D-β-体化)し、その量が加齢とともに増加することが知られている。当研究室では D-Asp 含有蛋白質を網羅的に生体組織より検出するために Asp の異性化が顕著に起こることが報告されているヒトの αA-クリスタリンの Asp151 周辺の配列をモデルとする D-β-Asp 含有ペプチドを化学合成し、これを抗原とする抗 D-β-Asp 含有ペプチド抗体を作成した。しかし、本抗体が標的蛋白質中のどの部位を認識しているかは明らかになっていなかった。そこで本研究ではこの抗体が認識するエピトープの配列特異性について検討した。

【実験】様々な配列をもつ複数の Asp 含有ペプチドを選択し、それぞれのペプチド中の Asp 残基を通常の L-α-, に加えて L-β-, D-α-, D-β-Asp に置換したペプチドを合成し、これに対し抗 D-β-Asp 抗体で ELISA を行い、本抗体の反応性を検討した。

【結果】抗 D-β-Asp 含有ペプチド抗体は合成したすべてのペプチドにおいて Asp 残基が D-β-体のペプチドにのみ反応し、L-α-, L-β-, D-α-体のペプチドには全く反応しなかった。D-β-Asp 含有ペプチドでは Asp の C 側隣接残基が Ala のときのみ反応し、Ala を他のアミノ酸に置換すると反応しなかった。

【考察】本抗体は X-D-β-Asp-Ala という配列を持つペプチド又は蛋白質を特異的に検出することが明らかとなった。Ala は立体障害が小さく、これが C 側隣接残基に存在することは Asp のスクシンイミドを経由する異性化には有利であるため、種々の生体内の蛋白質において、Asp が異性化しているのであれば Asp-Ala の配列上の Asp が特異的な異性化部位である可能性が高い。よって、本抗体は生体組織から D-Asp 含有ペプチドを検出するのに非常に有用であると考えられる。