

講演番号：3H02-06

質疑応答日時、会場：3月17日 09:30～ ミーティングルーム H

ポリフェノール修飾タンパク質に対する高親和性ペプチドの解析

Development of high-affinity peptides for polyphenol-modified proteins

○山本 広史、佐々木 栄太、板倉 正典、内田 浩二 (東大農)

○Hiroshi YAMAMOTO, Eita SASAKI, Masanori ITAKURA, Koji UCHIDA (Univ. of Tokyo)

ポリフェノールの酸化体はタンパク質を化学修飾する。一方でその生体内における機能には不明な点が多い。そこで本研究では、ペプチド提示ファージディスプレイ法を用いた、ポリフェノール修飾タンパク質と相互作用するタンパク質の同定を始めとする、ポリフェノール修飾タンパク質の生理機能解明を目的とした。赤ワイン由来のポリフェノールである Piceatannol (Pic) で修飾したウシ血清アルブミン (Pic-BSA) に対して、ランダム 15 アミノ酸を提示する T7 ファージライブラリーを結合させた。Pic-BSA と結合したファージを増幅し、この結合・増幅サイクルを繰り返すことで、Pic-BSA に高い親和性を示すペプチド配列を複数獲得した。得られた配列は高いアルギニン含有率を示したため、アルギニンを多く含む配列を有する数種のタンパク質について該当配列を緑色蛍光タンパク質に融合し、Pic-BSA との相互作用を評価した。その結果、特に血小板由来増殖因子 (PDGF) に由来する配列が Pic-BSA との高い親和性を示した。そこで PDGF との相互作用を介した Pic-BSA の生理作用を検証したところ、Pic-BSA は成熟体ヒト PDGF-AA, BB に対しても強い親和性を示した。更に Pic-BSA は PDGF の細胞への結合を阻害することで、PDGF の惹起する細胞増殖作用を抑制することが明らかとなった。以上より Pic 修飾タンパク質が PDGF を介した生理作用を発揮する可能性が示唆された。

Oxidized polyphenols react with proteins. However, the biological functions of such protein modifications remain elusive. Here, we aimed to elucidate the physiological functions of polyphenol-modified protein through the identification of proteins that interact with polyphenol-modified proteins by a phage display method. Bovine serum albumin (BSA) was incubated with piceatannol (Pic), the resulting modified protein, Pic-BSA, was applied to a T7 phage library presenting 15-mer amino acids to identify peptide sequences with a high affinity for Pic-BSA. Since sequences of the obtained peptides showed a significantly high appearance ratio of arginine residues, we focused on arginine-rich sequence regions of endogenous proteins. Sequences derived from platelet-derived growth factor (PDGF) particularly had a high affinity to Pic-BSA. Pic-BSA also interacted with recombinant human PDGF. Furthermore, Pic-BSA inhibited the binding of PDGF to cells, thereby suppressing the cell proliferation induced by PDGF. These results suggest that Pic-modified proteins may exert physiological functions through the interaction with PDGF.

Polyphenol-modified protein, Phage display, Peptide

発表責任者：内田 浩二 (a-uchida@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)