

**エレクトロスプレー・冷却イオントラップ法による
アドレナリン受容体部分ペプチド(SIVSF) - リガンド複合体の気相分光
-分子認識へのボトムアップアプローチ-**

東工大・化生研

○関口翼, 田村将人, 石内俊一, 藤井正明

**Gas phase spectroscopy of a partial peptide of adrenoceptor (SIVSF) -
ligands complexes by electrospray / cold ion trap technique**

-Bottom-up approach for molecular recognition-

○Tsubasa Sekiguchi, Masato Tamura, Shun-ichi Ishiuchi, Masaaki Fujii
Laboratory for Chemistry and Life Science, Tokyo Institute of Technology.

【Abstract】 In the neurotransmission process, a neurotransmitter molecule binds to its receptor and is recognized. Elucidation of its mechanism is a fundamental issue. The crystal structure of a complex of β_2 -adrenergic receptor with adrenaline has been solved. However, it is still difficult to answer why other ligands are not recognized. To understand the origin of molecular selectivity, we propose the bottom-up approach, in which gas phase spectroscopic techniques are applied to complexes of several ligands (proper and non-proper ligands for the β_2 -adrenergic receptor) and SIVSF peptide that is a binding motif of the receptor to interrogate their structures. In this work, UV and IR spectra of the complexes of SIVSF peptide with the proper or non-proper ligands were measured.

【序】 神経伝達物質は受容体タンパク質に分子選択的に結合し、神経シグナルを伝達する。この分子認識機構の基本原理の解明は基礎科学のみならず、創薬においても極めて重要な課題である。最近、アドレナリン (AdH^+) とその受容体タンパク質 β_2 -アドレナリン受容体との複合体の X 線結晶構造が明らかになった[1]。しかし分子選択性の起源を解明するには、他の分子認識されない分子がどうして不都合なのかを明らかにする必要がある。だが、その様な分子との複合体の結晶化は難しく、X 線構造解析は困難である。そこで私たちは結合部位が局所的である事に着目し、結合部位だけを切り出した部分ペプチドと様々な分子との複合体の構造を気相分光の手法を用いて調べるボトムアップアプローチを着想した[2]。本研究では、この手法を AdH^+ のカテコール結合モチーフである SIVSF の両末端保護したペプチド Ac-SIVSF-NHMe (Fig. 1, 以降 SIVSF) と様々な分子との複合体に適用し、それぞれの結合様式を明らかにする事を目的とした。

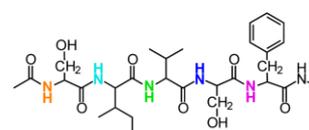


Fig. 1. A partial peptide, SIVSF

【実験】 プロトン付加した分子と SIVSF の複合体をエレクトロスプレー法で真空中に導入し、冷却イオントラップ内に捕捉した。ここに紫外光を導入し、生成したフラグメントイオンを飛行時間型質量分析器で検出した。紫外光を波長掃引する事で、紫外光解離 (UVPD) スペクトルを測定した。UVPD スペクトルに観測された特定のバ

ンドに紫外光の波長を固定し、赤外光を照射・波長掃引する事で異性体選別した赤外スペクトル (IR dip スペクトル) を測定した (Fig.2)。

【結果・考察】ボトムアップアプローチの第一歩として、適切なりガンド分子である AdH^+ と SIVSF の複合体を測定した。まず UVPD スペクトルを測定したところ、2つの吸収帯 (a, b)

が観測された (Fig. 3 上)。それぞれのバンドに紫外光の波長を固定して IR dip スペクトルを測定したところ、両者は異なる赤外スペクトルを与えた事から (Fig. 3 下)、吸収帯 a と b は別々の異性体に由来する事が明らかになった。これらの構造を明らかにするために赤外スペクトルの帰属を試みた。振動数から $3550\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ を OH 伸縮振動、 $3100\text{-}3550\text{ cm}^{-1}$ を NH 伸縮振動と帰属した。OH 伸縮振動の帰属は、 AdH^+ および SIVSF 単体の IR dip スペクトルと比較する事で容易にできる事を昨年報告した[3]。その結果、異性体 a では AdH^+ 単体と同様にカテコールの分子内水素結合が保持されているのに対し、異性体 b では分子内水素結合が消滅し、両 OH 基が SIVSF と強い水素結合を形成している事が明らかになった。

次に NH 伸縮振動のバンドをアミノ酸の同位体 (^{15}N) 置換により帰属した。Fig. 4 に ^{15}N 置換により帰属した AdH^+ 複合体および量子化学計算により帰属された SIVSF 単体の IR dip スペクトルを各アミノ酸ごとに色分けして示す。まず複合体 a 及び b で対応するアミノ酸の NH 振動数が大きく異なっており、両者のペプチド主鎖構造は全く異なっている事が明らかになった。さらに SIVSF 単体と比較したところ、複合体 a は SIVSF 単体の異性体 x, y のいずれとも対応するアミノ酸の NH 振動数は異なり、それらの順序が入れ替わっている。即ち、複合体 a のペプチド主鎖構造はペプチド単体とは大きく異なっている。一方、複合体 b では、Phe, Ser⁽⁴⁾, Val に対応する NH 伸縮振動が SIVSF 単体の x と同じ順序かつ近い振動数に観測されている。これらの NH 基は、 SIVSF 単体ではペプチド主鎖構造を規定する $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ 水素結合を形成している (Fig. 5) [4]。従って、複合体 b では AdH^+ が結合しても SIVSF 単体の異性体 x と同じペプチド主鎖構造を保持していると考えられる。

以上の結果をまとめると、複合体 b では SIVSF 単体の構造を保ったまま AdH^+ の両カテコール OH が SIVSF と水素結合を形成した構造である事が明らかになった。 SIVSF は受容体中ではカテコール OH 基との結合モチーフであるため、異性体 b が観測されたという事は、ボトムアップアプローチが有効であることを示唆している。講演では、本来分子認識されない分子である (例えばノルアドレナリン) や、 AdH^+ より強く結合する分子と SIVSF との複合体の結果についても議論する。

【参考文献】 [1] A. M. Ring et al., *Nature* **502**, 575 (2013). [2] S. Ishiuchi et al., *PCCP* **18**, 23277 (2016). [3] 関口他, 第 10 回分子科学討論会, 1A17 (2016). [4] 大場他, 8 回分子科学討論会, 3P010 (2014).

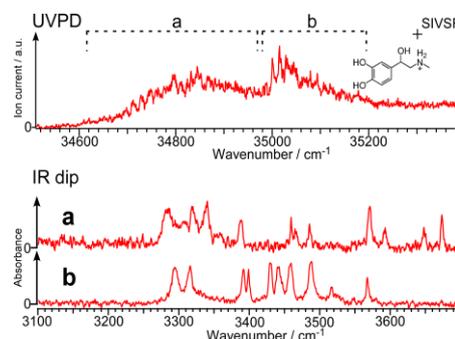
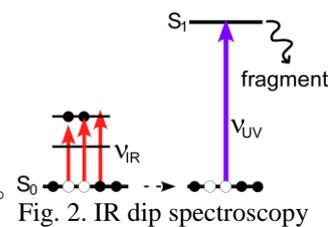


Fig. 3. UVPD spectrum of AdH^+ complex and IR dip spectra of AdH^+ complex

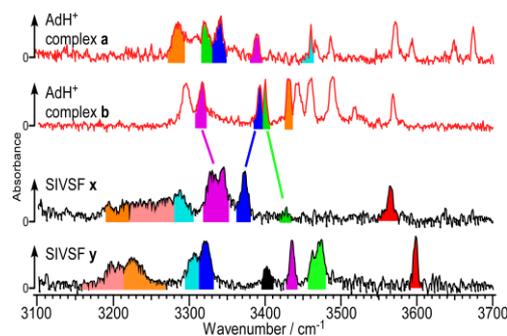


Fig. 4. IR spectra of AdH^+ complex assigned by isotope labeling (^{15}N) and IR spectra of SIVSF assigned by calculation spectra shown in color coded for each amino acid

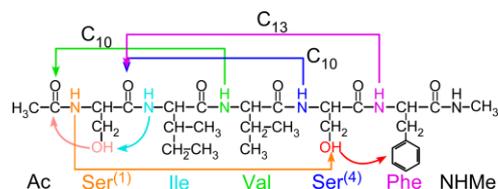


Fig. 5. Hydrogen bonding pattern of SIVSF x