



# AmyI-1-18, a cationic $\alpha$ -helical antimicrobial octadecapeptide derived from $\alpha$ -amylase in rice, inhibits the translation and folding processes in a protein synthesis system

コメ  $\alpha$ -アミラーゼ由来のカチオン性抗菌ペプチドである AmyI-1-18 は、タンパク質合成系において翻訳とフォールディング過程を阻害する

(JBB, Vol. 122, No. 4, 385–392, 2016)

谷口 正之<sup>1\*</sup>・落合 秋人<sup>1</sup>・福田 駿<sup>1</sup>・佐藤 哲平<sup>1</sup>  
齋藤 英一<sup>2</sup>・加藤 哲男<sup>3</sup>・田中 孝明<sup>1</sup>

AmyI-1-18は、コメの $\alpha$ -アミラーゼの部分配列であり、18残基のアミノ酸からなる抗菌ペプチドである。アミノ酸配列 (HLNKRVRQRELIGWLDWLK) からわかるように、AmyI-1-18はリジンとアルギニンを有しており、またロイシンやトリプトファンなどを含んでいることから、カチオン性かつ両親媒性である。

筆者らは、AmyI-1-18が *Porphyromonas gingivalis* や *Pseudomonas aeruginosa* などのグラム陰性菌、*Propionibacterium acnes* や *Streptococcus mutans* などのグラム陽性菌、および真菌である *Candida albicans* に対して抗菌活性を示すことを報告している<sup>1)</sup>。これまでの研究において、抗菌ペプチドの作用機構として、細胞膜に作用する場合と細胞内標的に作用する場合が報告されている<sup>2)</sup>。AmyI-1-18の抗菌の作用機構を、膜ポテンシャル感受性プローブ (diSC<sub>3-5</sub>) を用いた細胞膜脱分極アッセイおよび核酸染色蛍光色素 (propidium iodide) を用いた細胞膜損傷アッセイによって検討した。その結果、*P. aeruginosa* と *S. mutans* に対しては、細胞膜損傷作用を示したが、一方、*P. gingivalis* と *C. albicans* に対する AmyI-1-18の細胞膜破壊作用は弱かった。そこで、筆者らは AmyI-1-18のタンパク質合成系への作用を検討することにした。

抗菌ペプチドによるタンパク質合成の阻害に関しては、すでに buforin 2 や pyrrocoricin などについて報告されている。しかし、その機構に関しては pyrrocoricin によるフォールディング過程の阻害以外は、詳細には解明されていない。また、ペプチドによるタンパク質合成阻害を、生細胞による [<sup>3</sup>H]thymidine, [<sup>3</sup>H]uridine などの放射性標識化合物の取込みを指標にして検討した結果が報告されているが、ペプチドの細胞質内への移行はそ

の濃度に大きく依存しており、タンパク質合成阻害の機構を解明することは困難である。そこで、筆者らは、無細胞タンパク質合成系の利用に着目した<sup>3)</sup>。すでに、無細胞タンパク質合成系を用いて、lactoferricin B がタンパク質合成を阻害することが報告されていたが、どの過程を阻害するかは解明されていなかった<sup>4)</sup>。

筆者らは大腸菌の無細胞タンパク質合成システム (a cell-free rapid translation system, RTS) を用いたアッセイ系、および分子シャペロンによる luciferase のフォールディング作用を用いたアッセイ系を利用して、AmyI-1-18のタンパク質合成の阻害過程を解明することにした。最初に、作用機構が既知の抗生物質と抗菌ペプチドを用いて、これらのアッセイ系の有用性を明らかにした。また、RTSを用いることによって、AmyI-1-18は、pyrrocoricinと同じように、翻訳過程とフォールディング過程を阻害することによって、タンパク質合成を阻害することがわかった。さらに、アガロースゲル遅延度アッセイと生体分子間相互作用 (Biacore) 解析の結果から、AmyI-1-18は、翻訳過程においてRNAに、フォールディング過程においてDnaKにそれぞれ作用して、タンパク質合成を阻害している可能性が示唆されたが、全容は解明されていない。

現在、AmyI-1-18を固定化したアフィニティ磁気ビーズを用いて、親和性を有する細胞内標的分子を精製・同定することを試みているところである。

- 1) Taniguchi, M. et al.: *Peptide Sci.*, **104**, 73 (2015).
- 2) Nguyen, L. T., et al.: *Trends Biotechnol.*, **29**, 464 (2011).
- 3) Taniguchi, M. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **121**, 591 (2016).
- 4) Ulvante, H. et al.: *FEMS Microbiol. Lett.*, **237**, 377 (2004).

\* 著者紹介 新潟大学自然科学系 (工学部) (教授) E-mail: mtanig@eng.niigata-u.ac.jp

<sup>1</sup>新潟大学自然科学系, <sup>2</sup>新潟工科大学工学部, <sup>3</sup>東京歯科大学化学教室  
生物工学 第96巻 第2号 (2018)