

29【P1】Ⅲ-125

放線菌由来抗 HIV 蛋白質 actinohivin の構造活性相関

○高橋 淳¹, 猪腰 淳嗣¹, 千葉 春美¹, 大村 智², 田中 晴雄¹(¹北里大薬,²北里大北里生命科学研)

【目的】Actinohivin (AH) は新種の放線菌 *Longispora albida* gen. nov., sp. nov. が生産する 114 アミノ酸残基からなる蛋白質である。我々はこれまでに、AH を構成する 3 つのセグメントと活性の関連性について検討した結果、AH が強い活性を示すためには 3 つのセグメントで構成される構造が必要であることを報告した。ここでは、1 つのセグメントをモデルとして、9 種類の 1 アミノ酸置換変異体を調製し、その活性を評価することで活性発現に関与するアミノ酸残基の同定を試みた。

【方法】各種 AH 変異体の遺伝子は PCR 法で作成した。変異体の発現及び精製は、すでに確立した大腸菌による AH 生産系¹⁾を用いた。また、変異体の活性は、HIV エンベロープ発現細胞と受容体発現細胞を用いる合胞体形成のレポーター遺伝・アッセイ系²⁾を用いて測定した。

【結果及び考察】各セグメントの C 末側に存在する QXW 配列は carbohydrate binding module family 13 に共通するモチーフであり、Gln が活性発現に重要であることが明らかにされている。そこで、各セグメントの Gln(³³Q、⁷¹Q 及び ¹⁰⁹Q) を 1 つずつ Ala に置換したところ、いずれの変異体でも活性が低下した。次に、Gln 以外に AH の活性に影響すると推定されるアミノ酸残基について、セグメント 1 をモデルとして Ala 置換変異体を作成し、合胞体形成阻害活性を調べた結果、4 つのアミノ酸残基(¹⁵D、²³Y、²⁸N 及び ³²Y)で活性の低下が認められた。その他の変異体の活性についても合わせて報告する。

1) Inokoshi J, et al: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2001) 281: 1261-1265.

2) Chiba H, et al: *J. Antibiot.* (2001) 54: 818-26.