

【相補性ペプチドの自動設計プログラム】

相補性評価値の算出指標：

- ① アンチセンスアミノ酸。
- ② 疎水性パターン。
- ③ 対位するアミノ酸側鎖の容積 (bulkiness) 対応性。
- ④ ペプチド骨格のバックボーン並列性 (Backbone alignment)。

自動設計手順：

- ① 任意の候補ペプチドを標的ペプチドに対する相補性を評価してその評価値をコンピュータメモリーに記録。
- ② 上記候補ペプチドのアミノ酸配列をスクランブルして別の配列に変えたり、アミノ酸の置換も任意に行い別の候補ペプチドを設計し、標的ペプチドに対する相補性評価値をコンピュータメモリーに記録。これを連続して繰り返す。
- ③ 得点の高いものからソートした一覧表として打ち出す。

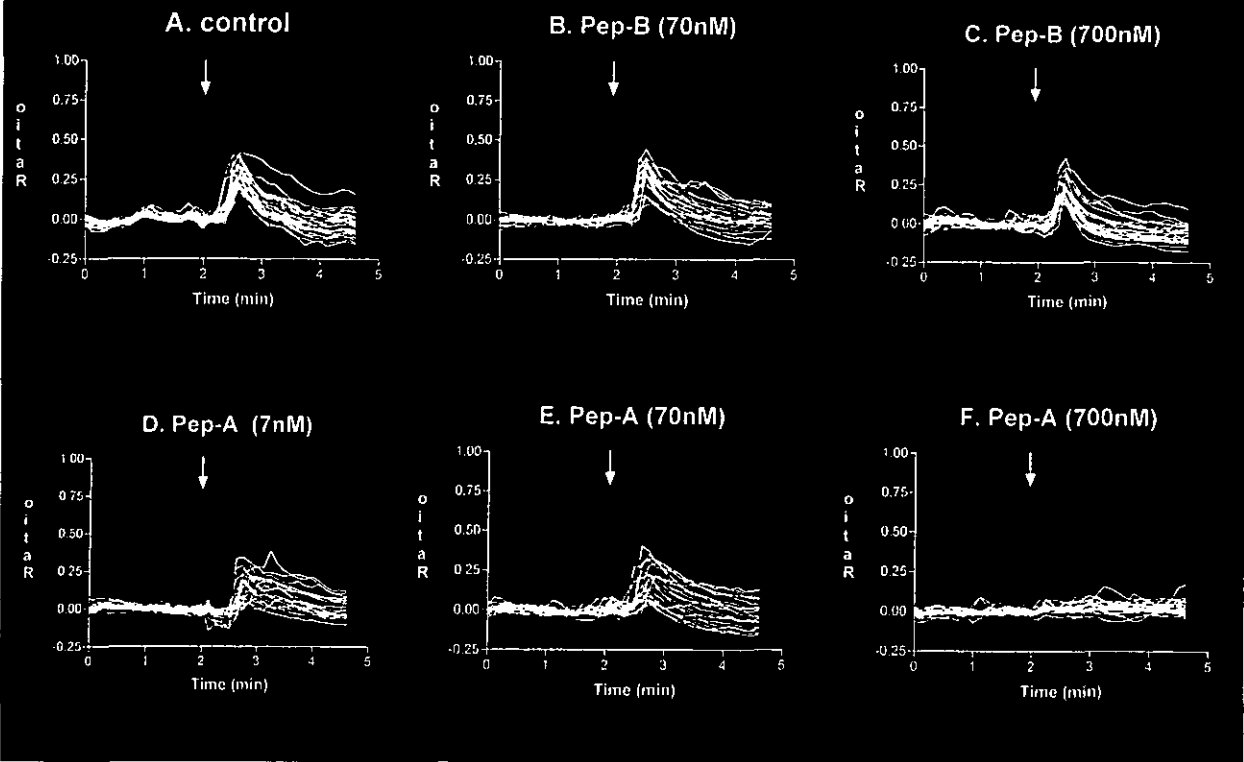
Peptide Sequences

PL37 RAARISLGPRCIKAFTE

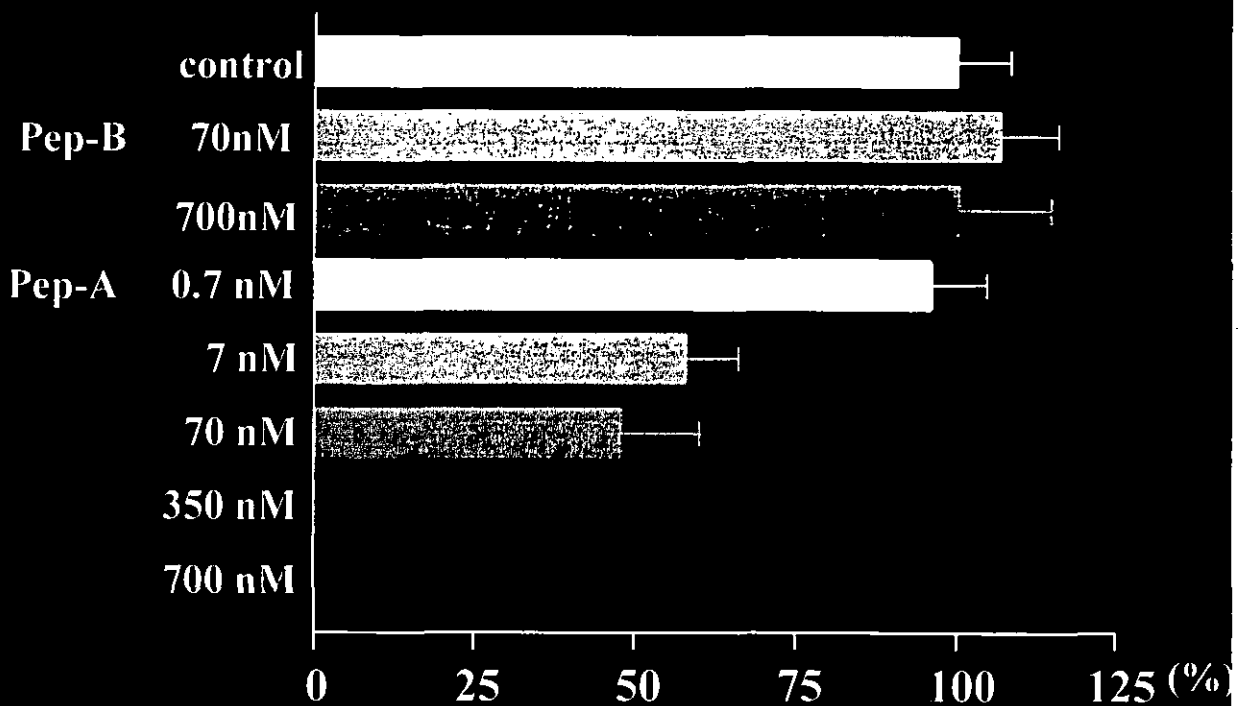
Pep-A ASGAPAPGPAGPLRPMF

Pep-B ASTAPARAGLPRLPKFF

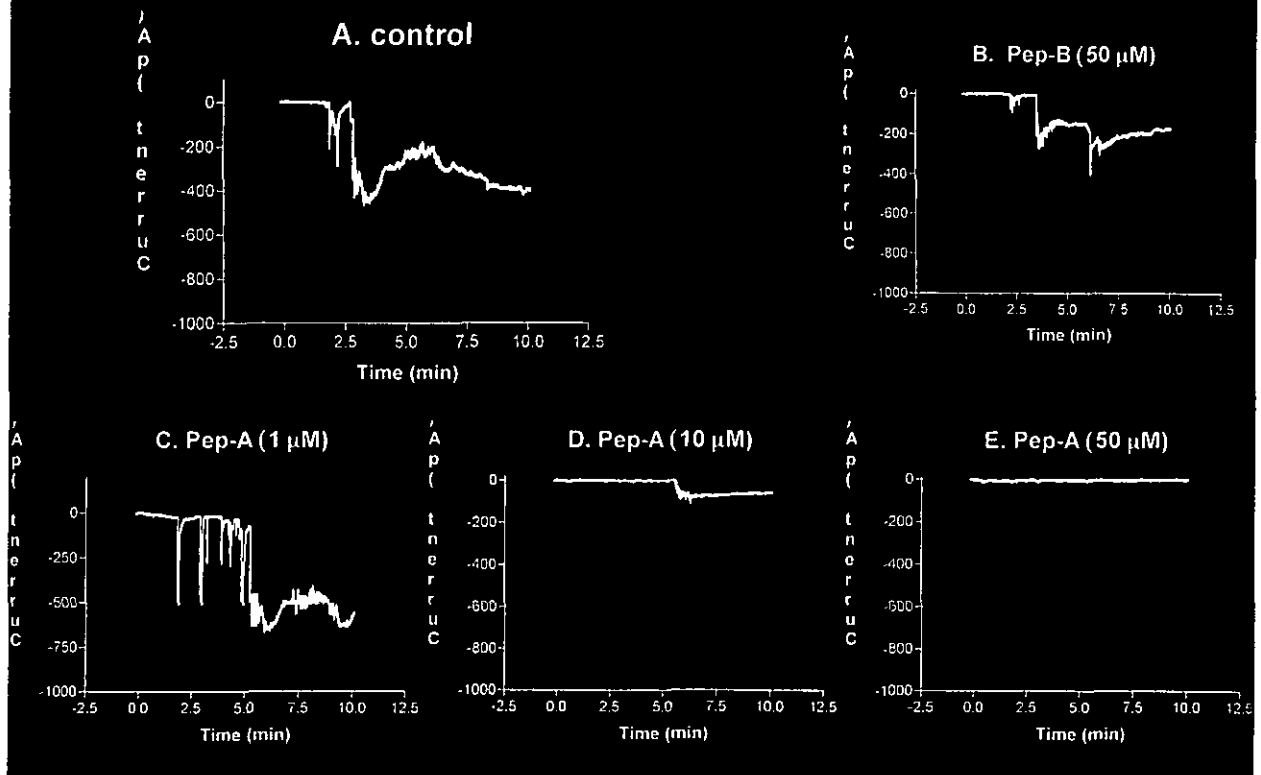
Effects of C-peptides Induced Ca^{++} Influx in Neutrophils with 0.7nM C5a



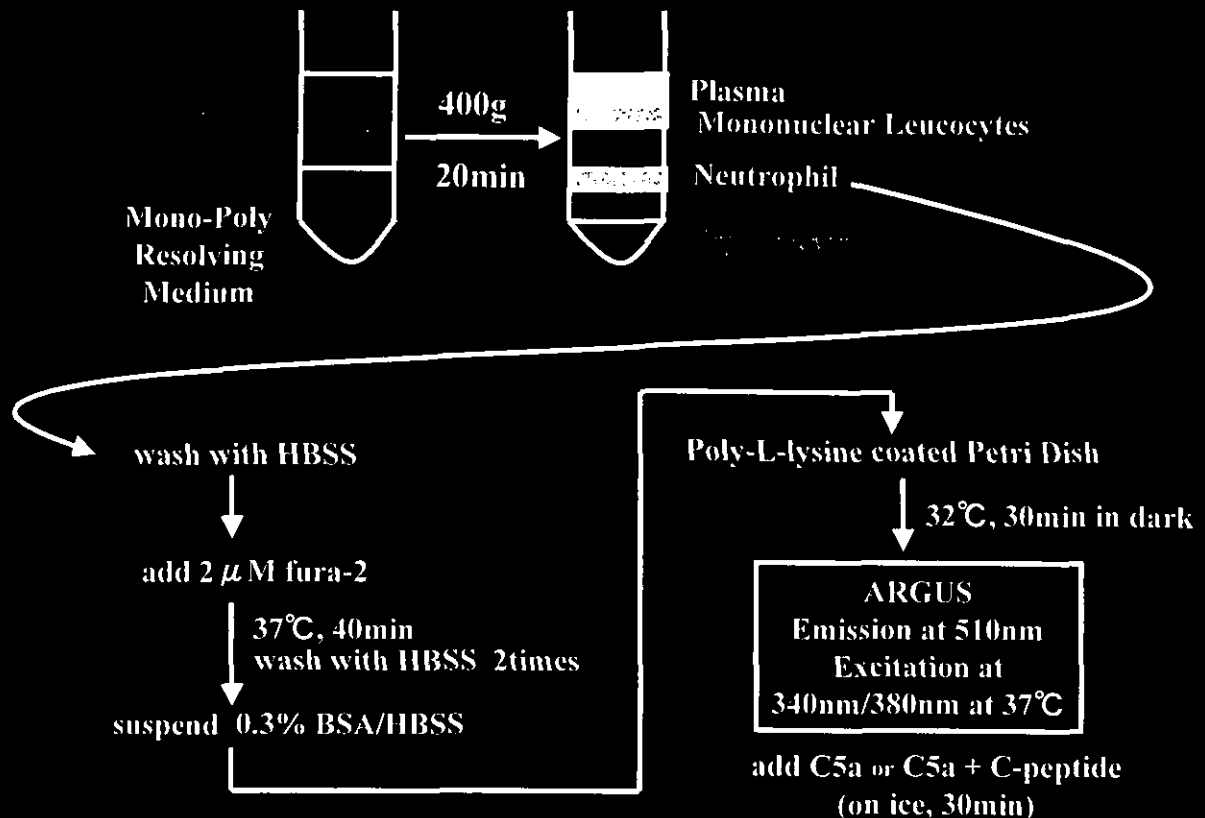
Effects of C-peptides Induced Ca^{++} Influx in Neutrophils with 0.7nM C5a



Effects of C-peptides Induced Current in TGW Cells with 500nM PL37-MAP

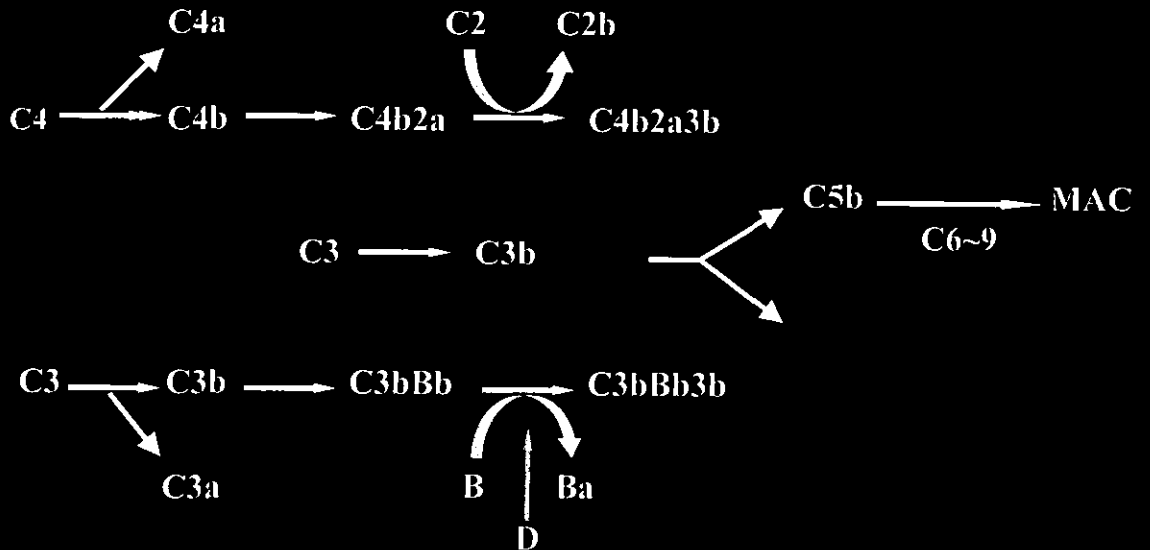


Intracellular Ca^{++} Mobilization Measurement



Complement Activation Cascade

Classical pathway



Alternative pathway

Antisense Interaction between C5a and C5aR

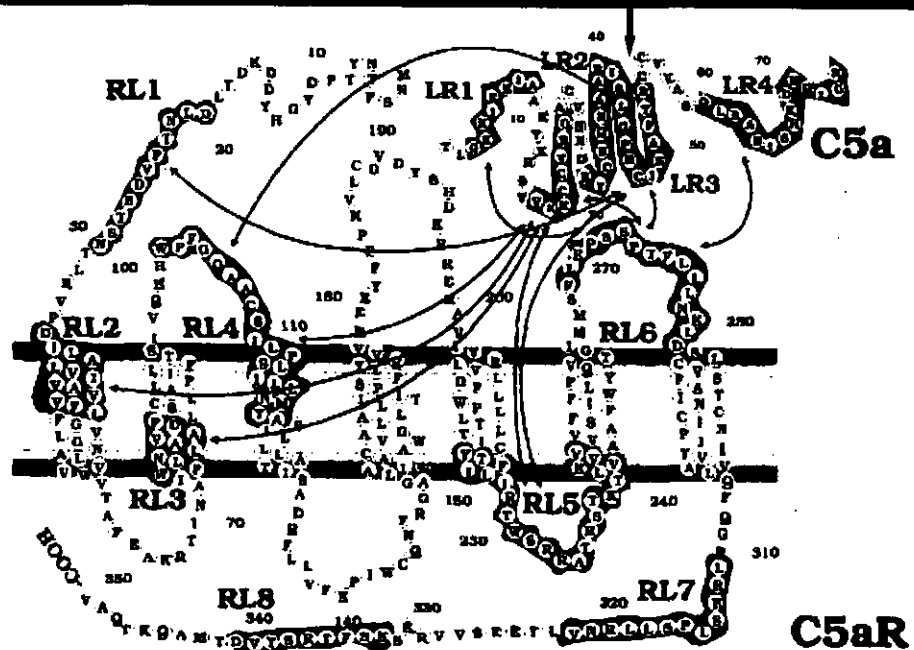
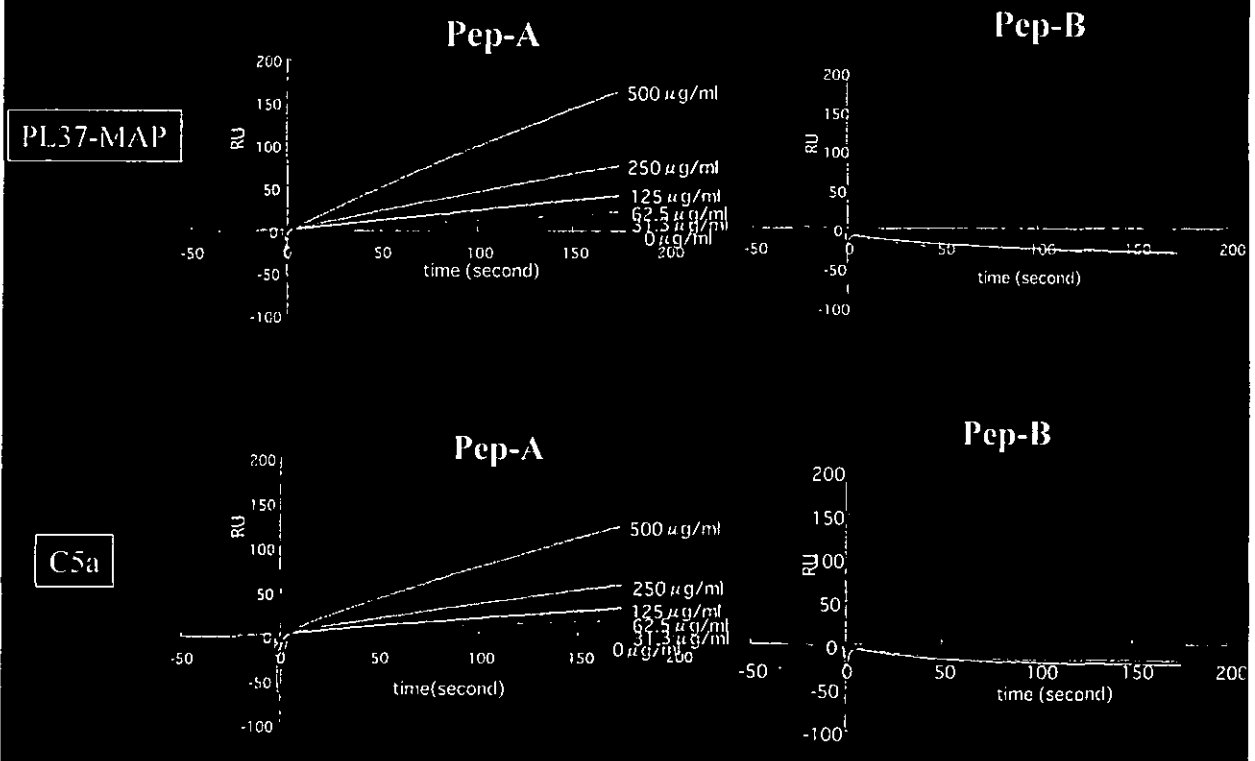
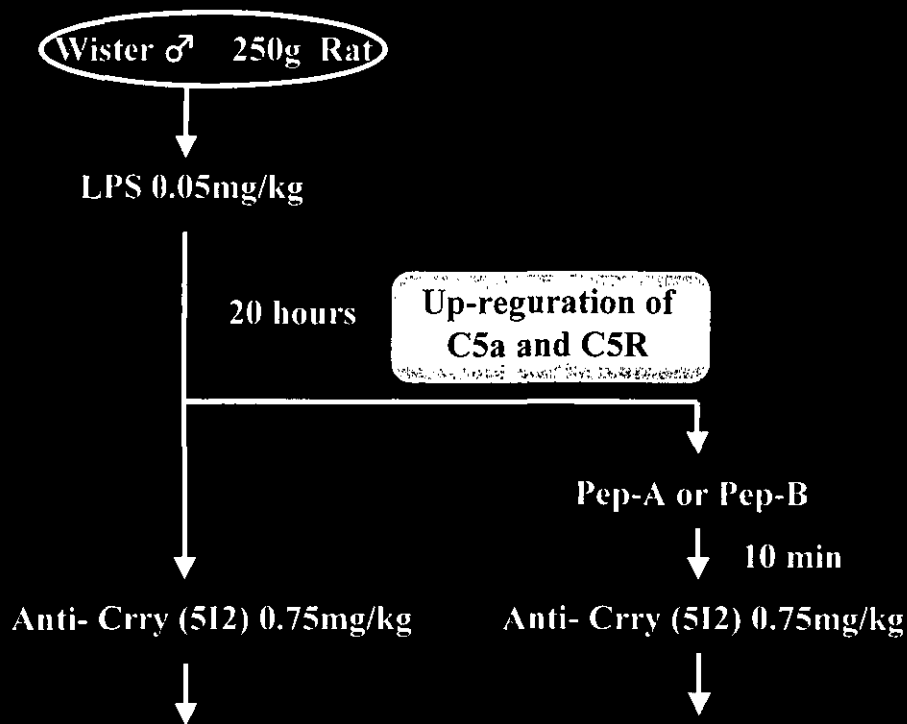


FIGURE 1. Intermolecular contacts between human C5a and its receptor. Scaled amino acid sequences correspond to ABBW numbering when C5a and C5aR structure was determined. The arrows indicate regions complementary to each other.

Binding of C-peptides to PL37-MAP or C5a



Experimental Model of Rat Lethal Shock



Effect of C-peptides on Rat Lethal Shock Model

Pretreatment (in 250 μ l saline)	Survived/Total rats	Survival Rate (%)
saline	0/8	0
Pep-B 4mg/kg	0/4	0
Pep-A 4mg/kg	4/4	100
2mg/kg	2/3	67
1mg/kg	1/3	33
0.5mg/kg	3/4	75

<結語>

- anaphylatoxin C5aのR³⁷-E⁵³に対する相補性ペプチドを設計し、Pep-A、Pep-Bを合成した。
- Pep-Aは、PL37-MAP、C5aに結合し、PL37-MAPによる膜電位変化およびC5aによる細胞内Ca⁺⁺ influxを阻害した。Pep-Bには阻害活性は認められなかった。
- 補体制御膜因子Crryの活性を中和する抗体投与で発症させるラットの急性ショック死モデルにおいて、4mg/kgのpep-A投与で全例救命された。
- C5aが関与すると考えられる急性ショック病態への応用が期待される。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

岡田 則子 (研究代表者)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Otake, K., Omoto, S., Yamamoto, T., Okuyama, H., Okada, H., <u>Okada, N.</u> , Kawai, M., Saksena, N. K., and Fujii, Y. R.	HIV-1 Nef protein in the nucleus induces adipogenesis as well as viral transcription through the peroxisome proliferator-activated receptors.	AIDS	18	1-10	2004
Kawai M., He, L., Kawamura, T., Omoto, S., Fujii, Y. R., and <u>Okada, N.</u>	Chimeric human/murine monoclonal IgM antibodies to HIV-1 Nef antigen expressed on chronically infected cells.	Microbiol. Immunol.	47	247-253	2003
Yoshioka, Y., Suzuki, R., Okamoto, T., <u>Okada, N.</u> , Mukai, Y., Dshibuta, H., Tsutsumi, Y., Dohi, N., Okada, N., Nakagawa, S., and Mayumi, T.	Combination effects of complement regulatory proteins and anti-complement polymer.	B. B. A.	1624	54-59	2003
Fujita, E., Farkas, I., Campbell, W., Baranyi, L., Okada, H. and Okada, N.	Inactivation of C5a Anaphylatoxin by a Peptide Which is Complementary to a Region of C5a	J.Immunol		in press	2004
岡田則子	AIDS に対する抗体療法	Mol. Med.	40	1226-1231	2003
岡田則子	IgM 抗体と HIV 感染防御	感染・炎症・免疫	33	256-263	2003
金原紀章、土肥名月、朝井鈴佳、Yin, S., 岡田則子、岡田秀親	HIV-1感染細胞に細胞死を誘導するヒトIgMモノクローナル抗体の解析	第40回補体シンポジウム抄録集	40	59-60	2003

20030553

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。