

提出日：2019年 5月 17日

平成30年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	人工設計ペプチドナノファイバーのクライオ電顕による観測	
研究代表者	氏名	田村 厚夫
	所属機関名・部局名	神戸大学・大学院理学研究科
	職名	准教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
		超高磁場NMR 共同利用研究課題
	○	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	岩崎 憲治	
<p>ペプチドおよびその集合体を人工設計することで、自在に「ナノ構造と機能をデザイン」するペプチドデザイン技術を開発して来た。設計したペプチド集合体は、省エネルギーかつ低環境負荷など現代社会で必要とされる要素を持つとともに、生体分子の特徴である高い選択性を伴った機能を有している。この中には、天然の蛋白質では存在しない有用な新機能を含む。この機能発現機構を、ナノ構造の詳細に基いて解明するため、各種分光法や原子間力顕微鏡による観測と解析を行って来た。ところが、ナノ構造体は結晶性のないフィラメント構造であるため、高い空間分解能を持つX線結晶回折法や核磁気共鳴法の適用が困難であった。そこで、このような系に最適なクライオ電顕を用いて高分解能の構造解析を行うこととした。</p> <p>まず、ナノファイバーやナノチューブ構造を形成するペプチド群を各種設計した。基本構造単位としては、1) αヘリックス型、2) βシート型、3) 環状ペプチド型、4) 未知構造型、の4種に分類される。形成したナノ構造体について、神戸大学にて各種分光測定および原子間力顕微鏡による観測を行い、電顕観測に適するものを選抜した。次に、大阪大学にて透過型電顕によって観測した所、生体内でカルシウムに対する結合能および配列能を持った蛋白質と同様の機能を有するペプチド分子 CaRP1 および CaRP2 のナノ構造体がクライオ電顕に適した形態を有していることが明らかになった。この構造体は、長さが数 μm、幅が 10nm ほどで均一度の高いナノファイバー形状であり、CaRP1 のピッチが 140nm 前後、CaRP2 のピッチが 100nm 前後のらせん状になっていることが分かった。次にクライオ電子顕微鏡による観測を行い、二次元平均画像および三次元構造の再構築を行った。現時点での空間分解能は最高 6Åほどとなっており、CaRP1、CaRP2 で得られた二次元平均画像をフーリエ変換したところ、分子間の水素結合が 4.9Åと 4.8Åであることが分かった。これはβシート構造の水素結合の距離と一致している。このことから、CaRP1、CaRP2 は共に構造単位であるペプチド分子がβストランドとなり、分子同士は2) のβシート型で結びついたナノファイバー構造を形成し、さらにこれらがバンドル化した多層構造を取っていることが示唆された。現在、より高い分解能を目指して解析中であり、他のナノ構造体についても観測および解析が進行中となっている。</p>		

まず、ナノファイバーやナノチューブ構造を形成するペプチド群を各種設計した。基本構造単位としては、1) α ヘリックス型、2) β シート型、3) 環状ペプチド型、4) 未知構造型、の4種に分類される。形成したナノ構造体について、神戸大学にて各種分光測定および原子間力顕微鏡による観測を行い、電顕観測に適するものを選抜した。次に、大阪大学にて透過型電顕によって観測した所、生体内でカルシウムに対する結合能および配列能を持った蛋白質と同様の機能を有するペプチド分子 CaRP1 および CaRP2 のナノ構造体がクライオ電顕に適した特性を有していることが明らかになった。この構造体は、長さが数 μm 、幅が 10nm ほどで均一度の高いナノファイバー形状であることが分かった。CaRP1 のピッチが 140nm 前後、CaRP2 のピッチが 100nm 前後のらせん状になっていることも分かった。次にクライオ電子顕微鏡による観測を行い、CaRP1 は二次元平均画像まで、CaRP2 は三次元構造の再構築まで進んでいる。分解能は 6Å ほどで解析が行われ、CaRP1、CaRP2 の得られた二次元平均画像をフーリエ変換したところ、分子間の水素結合が 4.9Å と 4.8Å であることが分かった。これは β シート構造の水素結合の距離と一致している。このことから、CaRP1、CaRP2 共に構造単位のペプチド分子が β ストランドから構成されるナノファイバーを形成し、これがバンドル化した構造に近いことが示唆された。現在、より高い分解能を目指して解析中であり、他のナノ構造体についても観測および解析が進行中となっている。