

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 15 日

2019 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		川本晃大	
研究代表者は、ペプチド分子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。設計したペプチドは、省エネルギーかつ生分解性で低環境負荷など現代社会に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高度な機能を有している。この中には天然の蛋白質では存在しない新機能を含み、例えば金と結合して導電性をもたらすもの、レアメタルとの結合回収能を有するもの、及び薬剤を内包するドラッグデリバリー担体となり得るもの、などが挙げられる。これらペプチド分子が集合したナノ構造体は、αヘリックス型やβシート型を基本単位にしたものに加え、環状ペプチドによるナノチューブ構造や分光学的に未知の二次構造単位から成るファイバー構造を含み、その詳細な構造と機能化の要因の解明が待たれる所である。 この解明のため、まず神戸大学において、ペプチドナノファイバー（ナノチューブ）の設計を行った。ここでは、構造モチーフとしては、解析が先行しているβシート型構造体について述べる。神戸大学にて原子間力顕微鏡を用いて、ナノファイバー構造を形成する条件を確定するとともに、溶液中の構造を円二色性、赤外、核磁気共鳴などの分光測定を行うことで確定した。これらの構造単位を持つナノファイバーを大阪大学蛋白質研究所に持参し、ネガティブ染色法による電子顕微鏡観察を行い、クライオ電顕観測に資するかどうかの判定を行った。この結果、クライオ電顕観測可能なサンプルを数種類確定することができ、実際にクライオ電顕観測を行い解析を進めた。 具体的には、まず先行する1つのペプチド（名称：CaRP2）について、撮影画像907枚から、particleとして891,071個抽出し、3次元解析を行った。この結果、分解能3.3Åという高分解能で平面状の構造単位が美しく積み重なっている構造が見て取れ、それぞれの面間距離（rise）は4.77Åとなった。この距離は、ペプチド主鎖間水素結合距離と一致しており、分子間でβシート型水素結合をしているものと推定される。さらに詳細に分析すると、ファイバー構造様式として6つのグループに分類されることがわかった。これは、分子同士の積層様式の差異、あるいは分子構造自体の差異を反映している可能性が考えられる。 今後は、実際のアミノ酸配列を取り入れた分子のモデリングを行い、分子構造とその集合様式を解明する。このことで、例えば今回示したβシート型構造のペプチドナノファイバーが、アミロイド線維などの生体で良く見られる医学生物学的に重要な構造のモデルとなることにつながる。さらに、進行中である人工設計でしか得ることが難しいα型などのナノファイバー構造を決定することは、学術的新規性の高さが期待される。			