

超高磁場下超高速試料回転¹H固体NMRによる ペプチドおよび絹タンパク質の精密¹H位置決定

利用者：^a東京農工大学, ^b分子科学研究所 朝倉哲郎^{a,b}, 矢澤宏次^a, 大畑卓也^a, 鈴木悠^a, 西村勝之^b
研究支援者：分子科学研究所 横山利彦, 西村勝之, 中野路子

【研究目的】

¹H核は分子の外側に位置するため、本質的に分子間構造に敏感であり、固体試料の分子間構造の研究に固体¹H-NMRは、極めて有効であると考えられる。しかし、有機固体試料の¹H-NMRは、主に¹H同種核間磁気双極子相互作用に起因する広幅なスペクトルを与えるため、従来、殆ど、その構造解析には用いられて来なかった。

本研究では、920MHz超高磁場NMRに、超高速回転マジックアングルスピニング(MAS)プローブを組み合わせることにより、固体¹H-NMRスペクトルを先鋭化させて正確な¹H化学シフト値と分子間距離情報を得、分子間構造を解析する手法を開発、それをアラニンペプチドおよび絹たんぱく質の精密構造解析に適用した。

【成果】

一例として、逆平行・平行βシート構造を持つアラニントリペプチドについて、920MHz超高磁場NMR、70kHzの超高速試料回転下で¹H固体NMRスペクトルを測定した。超高速MASによって¹H同種核間磁気双極子相互作用に代表される異方的相互作用を効率的に平均化、Fig.1に示すように、これまでに無い先鋭な¹H信号を得た。次に、¹HDQ-MAS法を適用することにより、同試料の全ての¹H信号の帰属に成功した(Fig.2)。さらに、Fig.3にまとめたように、アミド基の¹H化学シフト値から分子間水素結合距離を決定できる関係図を導出した。最終的に、¹H化学シフトの実測値とGIPAW¹H化学シフト値の計算結果を合わせて、同分子中の正確な水素結合構造および¹H位置を決定することに成功した。さらに、この手法を絹タンパク質の繊維化前の¹H位置を含む精密構造の決定に適用することができた。

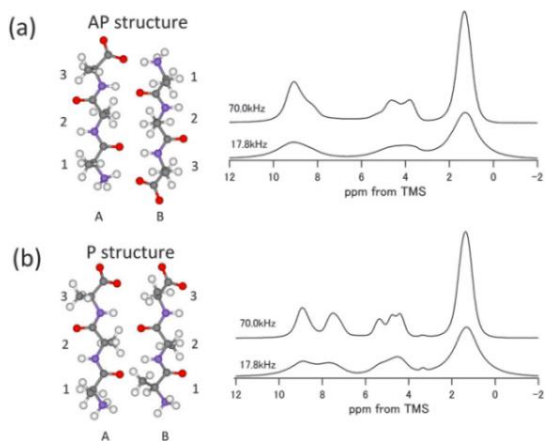


Fig.1 (a)逆平行、(b)平行βシート構造を持つアラニントリペプチドの超高磁場下での超高速MASによる¹H固体NMR MASスペクトルの分解能向上の様子。

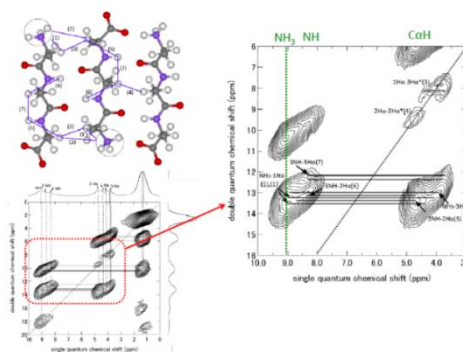


Fig.2 超高速MAS下でのDQ-MAS法による¹H固体NMRピークの帰属。

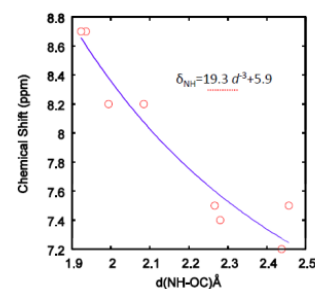


Fig.3 平行および逆平行βシート構造を持つアラニントリペプチド構造から実験的に決定されたアミド¹H化学シフト値と分子間水素結合距離との関係図。

【支援実施機関からのコメント】

本課題はもともとナノテクネットワークプログラムにおいて、NIMS超高磁場NMR支援により遂行する予定であったが、東日本大震災によりNIMSが被災し実施不可能となったため、震災復興支援枠として分子研が引き継ぐ形で始められた研究である。装置の設計を含む大きな課題であったが、超高磁場と超高速試料回転を実現し、これまでに得られなかった先鋭なNMRシグナルを得ることに成功し、絹タンパク質の繊維化前の¹H位置を含む精密構造の決定が行えたことから、数ある分子研実施課題のうち最も優れた成果に選ばせていただいた。

【参考文献等】

- [1] *Chem. Commun.*, 48, 11199, 2012. [2] *Macromolecules*, 469, 8046, 2013. [3] *Biopolymers*, 101, 13, 2014.
[4] *Macromolecules*, 48, 28, 2015. [5] *Macromolecules*, 50, 2871, 2017.
[6] <http://web.tuat.ac.jp/~asakura/>