

固体 NMR 解析手法を駆使したクモ牽引糸の特徴的連鎖構造とダイナミクスに関する研究

(農工大院・工) ○朝倉哲郎、松田裕生、片岡奈緒美、内藤晶

<緒言>

クモ牽引糸は、高強度を担うアラニン連鎖領域と高弾性を担うグリシンの多い領域が交互に繰り返された構造を有し、高強度・高弾性の優れた物性を有する。現在、その特性を生かして新規材料を創生する研究が活発に行われている。これまで、クモ糸のアラニン連鎖領域は逆平行 β シート構造を有することは知られていたが、そのパッキング構造の情報は殆ど得られてこなかった。我々は、固体 NMR を駆使して、そのパッキング構造は、層方向の重なり構造が異なる 2 種類のパッキング構造、すなわち、 β シート面がずれずに重なった Rectangular (R と略) 構造と交互にずれて重なった Staggered (S と略) 構造、の混合であることを報告し、その割合を天然クモ糸とリコンビナントクモ糸について決定してきた。^{1,2}

本研究は、これらのクモ糸の特異なパッキング構造とダイナミクスを、詳細に解明するために、クモ糸 (*Nephila clavata*) のアラニン残基のメチル基の ^{13}C ラベル化と特徴的な連鎖構造を有する各種 ^{13}C ラベルモデルペプチドを合成し、 ^{13}C 固体 NMR を用いて解析を進めたので報告する。

<実験>

本学構内で採取した女郎ゴモに、 $[3-^{13}\text{C}]$ アラニン水溶液を飲ませた後、クモ糸を採取、アラニン連鎖領域の $^{13}\text{C}\beta$ ラベル化を行った。人工クモ糸のアラニン $^{13}\text{C}\beta$ ラベル化の場合は、スパイパー (株) において、培養時に $[3-^{13}\text{C}]$ アラニンを添加して生産、精製後、恵与された。また、適宜、 $^{13}\text{C}\beta$ ラベルモデル化合物を合成し、ダイナミクス挙動を比較した。クモ糸の乾燥状態と含水状態の ^{13}C 固体 NMR ならびにスピン-格子緩和時間、 T_1 の測定は、Bruker Avance 400 NMR 装置を用いて行った。

<結果と考察>

$[3-^{13}\text{C}]\text{Ala-N.clavata}$ クモ糸の ^{13}C CP/MAS NMR スペクトルのメチル信号領域を Fig.1(a) に示した。ランダムコイル (16.6 ppm の黄色破線) と低磁場の β シート構造 (赤色実線) を表す信号に分離され、さらに後者は 49% の R パッキング構造 (20.2 ppm の紫色破線) と 51% の S パッキング構造 (22.9 ppm と 19.5 ppm から成る青色破線) 信号に分離される。² 25°C での ^{13}C 固体 NMR スピン-格子緩和の測定 (Fig.1(b)) から求めた T_1 値は、各々、0.61 s (16.6 ppm), 0.57 s (20.2 ppm) および 0.93 s (22.9 ppm) であった。測定温度の上昇につれて、すべての T_1 値は増加することから、 T_1 値が大きいほど、メチル基の早い回転が起こっていることがわかる。³ 特に、22.9 ppm の回転速度は非常に早い。以前報告した S 構造の詳細な固体 NMR 構造解析および分子動力学計算^{4,5} から、22.9 ppm のピークを与えるアラニン残基のメチル基同士は密に接近していることから、二つのメチル基が、かみ合った歯車のように同期した非常に速いホッピング運動を行っている と推測した (Fig.1(c))。

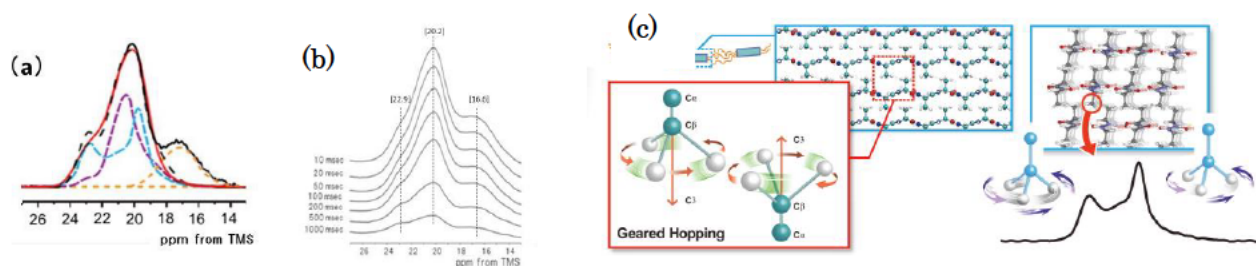


Fig.1 Dynamics of Ala methyl groups in polyalanine sequences in spider dragline silk fiber studied using ^{13}C CP/MAS NMR.

さらに、クモ糸のアラニン連鎖ならびにグリシンリッチ領域に特徴的な連鎖構造を有する各種 ^{13}C ラベルモデルペプチドを合成、 ^{13}C 固体 NMR を用いて詳細な構造解析やダイナミクス解析を行った。⁵⁻⁷ その結果については、講演にて述べる。

<参考文献>

1. Asakura, T et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 1212.
2. Asakura, T. et al., *Macromolecules* **2018**, *51*, 1058.
3. Asakura, T. et al. *Macromolecules* **2018**, *51*, 6746.
4. Asakura, T. et al., *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 1965.
5. Naito, A. et al., *J. Phys. Chem. B.*, **2018**, *122*, 6511.
6. Asakura, T. et al. *Macromolecules* **2018**, *51*, 3608.
7. Asakura, T. et al., *Biomacromolecules* **2018**, *19*, 4396.

Solid-state NMR Study about the Unique Structure and Dynamics of Spider Dragline Silk Fiber,
Tetsuo ASAKURA, Hironori MATSUDA, Naomi KATAOKA and Akira NAITO:

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588,
Japan, Tel: 042-383-7733, E-mail: asakura@cc.tuat.ac.jp