

課題名 (タイトル) :

## アゾベンゼン修飾ペプチドの最適化

利用者氏名 : 長島 敏雄

所属 : ライフサイエンス技術基盤研究センター NMR 施設

## 1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

ペプチドやタンパク質のフォールディング過程を研究する新たな手段を確立するために、立体構造を人工的に操作できる分子デバイスとしてアゾベンゼンを利用した研究を行っている<sup>1,2</sup>。アゾベンゼンは UV または青色光で *trans-cis* の双方向の異性化反応を繰り返し起こすことができる。アゾベンゼン両端をタンパク質に結合することで、異性化に伴う結合点の距離変調がタンパク質構造に与える影響を調べている。この際のアゾベンゼンの異性化反応をタンパク質構造変化へ伝えるために、アゾベンゼンの距離変化を正確に見積もることを目的にした。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

アゾベンゼン誘導体の構造最適化により *trans-cis* 異性体の両端の距離を正確に見積もり、タンパク質へ結合させる際の距離情報として用いた。汎関数に B3LYP、基底関数に Def2TZVP を用いて、GAUSSIAN で DFT 計算を行った。両端のアセチル基のメチル炭素間距離が、*trans* と *cis* で 16.6 と 10.7 Å と確認できた。

## 3. 結果

これをもとにタンパク質上でアゾベンゼンを結合させるためのシステイン変異を 2 か所入れた変異体を 6 種類用意した。それぞれにアゾベンゼンを結合し、光異性化反応を行ったところ、3 つの変異体でタンパク質構造変化が NMR により確認できた。NMR 信号帰属を行った結果、1 つの変異体でアゾベンゼンの異性化に伴って天然構造と変性構造を往復できていることが分かった。

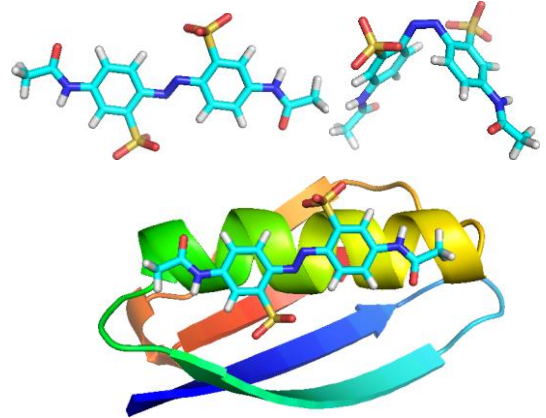


図 構造最適化されたアゾベンゼン誘導体 *trans* 構造(左上) *cis* 構造(右上)。アゾベンゼン誘導体を共有結合したタンパク質のモデル構造(下)

## 4. 今後の計画・展望

NMR による構造解析から、温度依存的に 2 形のタンパク質変異構造が見つかった。2 つの変異構造の生成過程を NMR や他の実験と組み合わせ、明らかにしたいと考えている。同時に、計算機シミュレーションで構造変換過程を再現することを計画している。

## 参考文献

- (1) 長島敏雄; 植田啓介; 西村千秋; 山崎俊夫. 分光研究 **2016**, 65 (5), 258–260.
- (2) Nagashima, T.; Ueda, K.; Nishimura, C.; Yamazaki, T. *Anal. Chem.* **2015**, 87 (22), 11544–11552.