

文部科学省科学研究費補助金「新学術領域研究(研究領域提案型)
 π造形科学: 電子と構造のダイナミズム制御による新機能創出領域略称名「π造形」
 領域番号2601(平成26~30年度)



π造形科学 NEWS Vol. 54

研究ハイライト

自己選別する分子 生越 友樹博士(金沢大学)

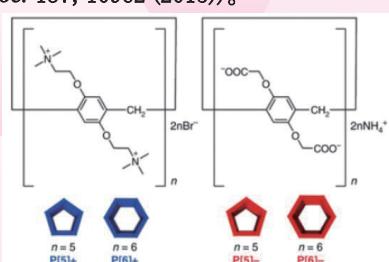


高分子化学研究室のみなさん

形がしっかりと決まっていて、豊富な π 電子を持つ芳香族化合物は、超分子化学の分野において重要な地位を占めてきました。本領域の生越友樹博士が開発したピラーアレーン類は、そうした化合物の中でも近年特に注目が集まり、文字通りこの分野の柱のひとつに成長した感があります。

ピラーアレーンは、メチレン基を介して複数のベンゼン環がパラ位で連結し、大環状化合物となったものです。類似化合物のカリックスアレーンが盃状の形をとるのに対し、ピラーアレーンは筒状の構造をとるのでこの名があります。芳香環の数を角括弧に入れて「ピラー-[n]アレーン」と表記され、 $n=5$ または6のものがよく用いられます。

生越博士は、ピラーアレーンそのものを素材とした集合体を構築する研究も進めています。これまでに、カチオン性及びアニオン性ピラーアレーンの溶液に交互に基板を浸することで、基板上に長い筒状の構造体を作り出すことに成功しています(*J. Am. Chem. Soc.* 137, 10962 (2015))。

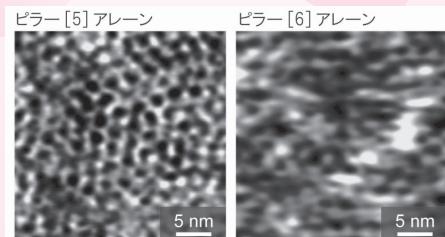


今回同グループでは、このピラーアレーンの積層化は、極めて精密な分子認識のもとで進行することを実証しました(*Commun. Chem.* 1, 92 (2018))。アニオン性ピラー-[6]アレーンを積層させた基板を、カチオン性ピラー-[6]アレーン溶液に浸すとスムーズに積層が進行します。しかし、ピラーアレーンのサイズが異なる場合には、積層は見られませんでした。五角形型と六角形型のピラーアレーンはお互いを精密に見分け、同じ形の相手とだけ結合するというわけです。

自己ソーティングを行なう化合物は今までにも知られていましたが、ほとんどは方向性のある水素結合を利用したものでした。方向性のないイオン間相互作用で、リングサイズのみを認識して精密なソーティングが起きたことは特筆すべき点です。

基板に対して垂直な積層が起きていることは、福島孝典博士らが角度依存的UV吸収測定や微少角入射X線回折測定を行ない、多田朋史博士らによるピラーアレーンの遷移モーメントの計算結果と合わせて証明しています。

また、積層した基板を原子間力顕微鏡(AFM(金沢大学浅川雅博士・福間剛士博士との共同研究))によって観察したところ、意外な事実がわかりました。ピラー-[5]アレーンの方が、ピラー-[6]アレーンに比べて周期性の高い配列を有していたのです。直感的には、隙間のない敷き詰め可能な六角形の方が周期性の高い構造になりそうですので、当初はサンプルを取り違えたのかと思ったそうです。



これに関してモンテカルロシミュレーション(近畿大学堂寺知成博士らとの共同研究)を行なった結果、ピラーアレーン同士には引力($\pi-\pi$ 相互作用)と斥力(イオン間の静電反発)がはたらいており、六角形の場合は斥力によってドメインの成長が乱されるのに対し、五角形は空間ができるうまく斥力を逃し、規則的なパターンを作ることが示唆されました。

こうした知見は、たとえば幾何学の分野にも示唆を与えそうです。多角柱型の分子は前例が少なく、その形状を利用した造形にはまだまだ大きな可能性がありそうです。

本領域では、領域外の博士課程学生や若手研究者向けのインターンシップとして
 ピ造形スクールを開校します。詳しくは、本領域ウェブサイトをご覧下さい。
<http://pi-figuration.jp>

研究ハイライト

タンパク質を正しく仕上げる 村岡 貴博 博士(東京農工大学)



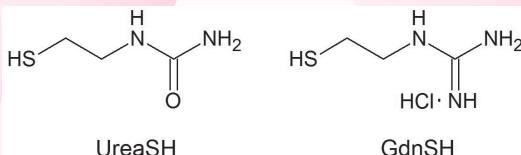
岡田さん(左)と村岡博士(右)

大腸菌によるタンパク質発現や、ペプチド合成技術などの進歩により、以前に比べて各種タンパク質の入手は格段に容易になりました。これが、現代の生物学研究やバイオ医薬の進展を支える基盤になっていることは、今さら改めて述べるまでもないでしょう。

しかし、タンパク質合成にはまだいくつか問題も残されています。そのひとつが、複数のS-S結合を含んだタンパク質の合成です。アミノ酸配列が正しくとも、間違った組み合わせでS-S結合を作ってしまったものは、タンパク質としての機能を果たしません。

合成したポリペプチドを放置しておくだけで、自然と熱力学的に最も安定な配座をとり、正しいS-S結合を形成してくれるケースもあります。しかしその途中で、間違った組み合わせのS-S結合ができてしまうと簡単に正しい組み合わせには戻せず、凝集体を作ってしまうようなことも少なくありません。S-S結合の数が多いタンパク質では、この問題はさらに深刻になります。

この、間違ったS-S結合の再編成を促すため、ジチオスレートル(DTT)などのチオール系試薬が用いられます。これらはタンパク質のS-S結合を攻撃してSH基へ還元し、熱力学的に安定な配座への再結合を促進します。ただし、これらは折り畳まつたタンパク質内部のS-S結合には届きにくく、完全な組み換えは難しいという弱点がありました。

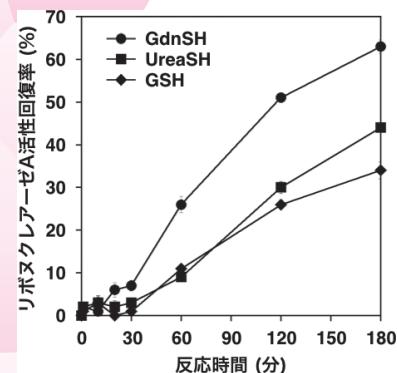


本領域の村岡貴博博士と、大学院生の岡田隼輔さんは、この弱点を解消するための新たな試薬をデザインしました。タンパク質の変性剤としてよく用いられる尿素やグアニジンを、チオールまたはジスルフィドと共有結合で結びつけることで、効率のよい

S-S結合の再編成を促すというアイディアです。

4ヶ所のS-S結合を還元し、変性させたリボヌクレアーゼAを基質とし、生体内でS-S結合の酸化剤としてはたらぐグルタチオンジスルフィド(GSSG)を酸化剤とした系で評価実験が行なわれました。グルタチオン(GSH)、UreaSH、GdnSHをそれぞれ加えて、完全なリボヌクレアーゼAの生成速度を測定したところ、UreaSHはGSHより若干速く、GdnSHはGSHを大幅に上回るという結果が得られました。

また基質として、3ヶ所のS-S結合を還元したウシ肺臍トリプシンインヒビター(BPTI)を用いた実験も行なわれました。結果、60分後にGSHでは収率24%でBPTIを再生したのみでしたが、UreaSHでは26%、GdnSHでは51%のBPTIが得られるという結果になりました。



GdnSHが優れた結果を与えたのは、その求核性の高さにより、タンパク質のS-S結合を効率的に切断する効果が大きいと考えられます。また、GdnSHがGSSGと反応して生ずるジスルフィドが高い酸化能を持っていることが、酸化反応であるフォールディングプロセス全体を加速していると考察されています。

この手法は、抗体医薬をはじめとしたバイオ医薬の製造にも適用可能と考えられます。シンプルかつ有力なアイディアであり、今後広く応用されることになりそうです。

もっと詳しく→ <http://pi-figuration.jp>