

(1) カチオン重合における副反応や立体構造の制御

(阪大院理) 青島 貞人、金澤 有紘

「目的」

当研究室ではこれまで、新規機能性ポリマーの精密合成を目指して、種々のリビングカチオン重合やビニル付加・開環同時カチオン共重合を開拓してきた。令和2年度は、カチオン重合における副反応や立体構造の制御に着目し、立体特異性とリビング性を有する重合系、スチレン類を用いたビニル付加・開環同時カチオン共重合系、ドーマント種の生成によるシクロヘキセンオキシドのリビングカチオン重合系などを検討した。

「結果と考察」

(1) 以前に見いだした *N*-ビニルカルバゾール誘導体の立体特異性リビングカチオン重合とは異なる立体特異性重合手法として、生長カルボカチオンと対アニオン間の立体反発、添加物や配位子の設計による重合活性の制御を検討した。その結果、酒石酸から誘導される TADDOL と TiCl_4 を組み合わせた開始剤を用いたイソブチルビニルエーテルなどの立体特異性カチオン重合を見いだした(文献1)。さらに、温度や配位子置換基効果の検討により、この TADDOL/ TiCl_4 系を用いた立体特異性重合のリビング重合の可能性を明らかにした。

(2) 新しいビニル付加・開環同時カチオン共重合系として、スチレン類と 2,2-二置換オキシランの重合系を検討し、両モノマー間の交差反応を伴った共重合を見いだした(文献2)。例えば、*p*-メトキシスチレンと 2-エチルヘキシル β -メチルグリシジルエーテルまたは *p*-メチルスチレンと β -メチルエピクロロヒドリンなどの組み合わせでは、最適条件下でマルチブロックコポリマーが得られた。

また、これまで困難とされてきたオキシランの開環リビング重合系として、適切な塩基性の環状エーテルを添加物として用いてドーマント種を生成させることにより、シクロヘキセンオキシドなどのリビングカチオン重合系を設計し、その重合機構について詳しく調べた。

「文献」

1. Watanabe, H.; Yamamoto, T.; Kanazawa, A.; Aoshima, S. *Polym. Chem.* **2020**, *11*, 3398–3403.
2. Kanazawa, A.; Aoshima, S. *Macromolecules* **2020**, *53*, 5255–5265.

(2) イソシアニドとアレンの環化共重合反応を基盤とした新規 π 積層型高分子の構築

(阪大院理) 鬼塚 清孝、岡村 高明、神林 直哉

「目的」

DNAに見られるような、分子内に π スタック構造を持つ高分子は特徴的なエネルギー移動特性や吸収発光特性を示すことが知られており、新たな分子エレクトロニクス基盤材料として応用が期待される。しかしながら、このような π スタック高分子を人工的に設計するうえで、従来広く研究されているビニル高分子では、主鎖構造が柔軟であり、 π スタック構造を安定に維持することが困難である。これらを解決するためには、根本的に新しい概念に基づく高分子主鎖構造の設計とその合成法の開発が必要不可欠である。本研究では、我々は以前に報告しているリビング環化共重合反応¹を基盤として、新たな π スタック型高分子の合成法の開発を目的とする。

「結果と考察」

イソシアニド-アレンのリビング環化共重合反応によって得られるポリ(キノリレン-2,3-メチレン)は主鎖のキノリン環がメチレンで架橋された構造をとっており、2残基先のキノリン環どうしが近接できる構造を有している。そこで、ポリ(キノリレン-2,3-メチレン)の側鎖にアラニン由来の置換基を導入することで、側鎖間の水素結合を誘起し、主鎖のキノリン環が積層した、新しい π スタック型高分子の構築を目指した。側鎖にアラニン誘導体を有するイソシアニド-アレン二官能性モノマーを合成し、パラジウム錯体開始剤として環化共重合反応を行ったところ、重合は定量的に進行し、任意の分子量で目的の高分子を得ることができた。得られたポリマーの各種スペクトル測定及び、理論計算の結果、ポリマーは溶液中で、主鎖のキノリン環がらせん状に積層した二次構造を構築することが明らかとなった²。また、この構造は原子間力顕微鏡測定によっても確認することができた。

「文献」

- 1) Kanbayashi, N.; Okamura, T.; Onitsuka, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*, 15307-15317
- 2) Kataoka, K.; Kanbayashi, N.; Fujii, N.; Okamura, T.; Haino, T.; Onitsuka, K., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 10286-10291.

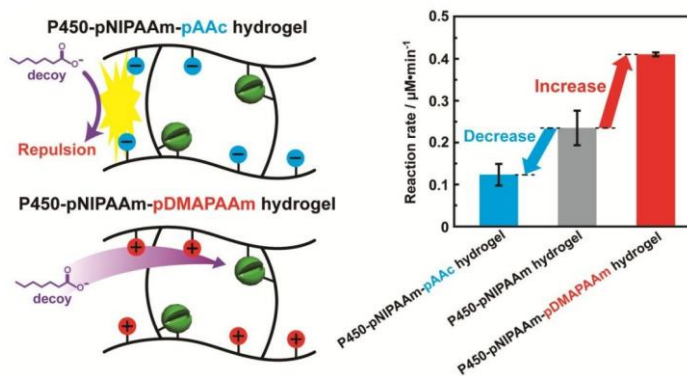
(3) 生体高分子と遷移金属錯体または合成高分子とのハイブリッド化による機能性超分子触媒の合成

(超分子機能化学研究室) 山口浩靖・小林裕一郎

【目的】 酵素は生体内で高効率かつ高選択的に化学反応を触媒する。その優れた触媒作用を活かして、酵素と合成高分子を組み合わせることによって、それぞれの特長を活かした機能性材料の創製が期待される。シトクロム P450 は脂肪酸を典型的な基質として位置選択的にヒドロキシ化する酵素で有機合成への応用が期待されているが、高い基質選択性により非天然基質への適用は困難とされてきた。近年、ヘプタン酸のような低級脂肪酸存在下で過酸化水素により長鎖脂肪酸以外の非天然基質に対しても酸化反応を触媒することが見出された。本研究では、P450 の触媒活性を制御する新たなハイブリッド触媒創製を目的として、アクリルアミド (AAM)、*N*-イソプロピルアクリルアミド (NIPAM)、あるいは側鎖に解離基を有するアクリルモノマーからなるヒドロゲルに P450 を導入し、酵素反応の温度応答性や反応速度を調査した。

【結果と考察】 酵素導入ヒドロゲルは、P450 に *N*-アクリロイルスクシンイミドを導入し、これを AAM、NIPAM、もしくはそれらの誘導体、及びメチレンビスアクリルアミドとラジカル共重合することで合成した。これらのゲル存在下、グアイアコールの酸化反応を観測した。酸化剤として過酸化水素を用い、ヘプタン酸存在下で酸化反応生成物をモニターした。室温では pNIPAM、pAAM ゲルいずれも酵素反応が進行したが、37°Cでは pAAM ゲルは酵素反応が進行したのに対して、pNIPAM ゲルでは酵素反応が進行しなかった。pNIPAM 鎖がゲル内で凝集することで基質の取り込みが制限されたためであると考えられる。

架橋密度の異なるゲルや側鎖に官能基を導入したモノマーから合成したゲルに P450 を導入することによる触媒活性への影響も調査した。架橋密度の上昇に伴い、反応速度が上昇した。また、ヒドロゲル中に低級脂肪酸との相互作用部位を導入することにより酸化反応が加速されることを見出した。



【参考文献】 Kobayashi, Y.; Kohara, K.; Kiuchi, Y.; Onoda, H.; Shoji, O.; Yamaguchi, H. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 6723-6726.

(4) 半屈曲性高分子の粘弾性と複屈折

(阪大院理)井上正志、浦川 理

「目的」

高分子のからみ合いは、位相幾何学的相互作用に由来するもので、高分子の物性を理解するために重要な概念である。からみ合いを特徴付けるパラメーターとして、粘弾性測定よりゴム状平坦弾性率 G_N を求めることができる。 G_N と分子構造の関係は、屈曲性高分子に関してはこれまでに調べられており、Lin-Noolandi 理論が知られている。この理論では、からみ合いは高分子鎖の接触で生じると考え、ガウス鎖の接触確率を考える。分子構造との関係は、ガウス鎖を特徴づける Kuhn 長 L_K を通じて記述される。しかしながらこの考え方は、多糖など半屈曲性高分子では成り立たず、その詳細は明らかにされていない。本研究では、半屈曲性高分子を用いてからみ合いに対する剛直性の効果を調べた。

「結果と考察」

DNA 緩衝溶液、ゼンサン水溶液について粘弾性測定を行い、 G_N の濃度依存性を求めた。さらに、セルロース等の多糖溶液の G_N と L_K を文献調査から集めた。その結果、 G_N を換算弾性率 $\tilde{G}_N \equiv (k_B T)^{-1} G_N L_K^3$ に、重量濃度 c を換算濃度 $\tilde{c} \equiv c L_K^2 M_L^{-1}$ に換算することで、高分子種によらない普遍的な $\tilde{G}_N - \tilde{c}$ 関係が得られることを実験的に初めて明らかにすることができた。ここで M_L は単位経路長あたりの高分子鎖のモル質量である。 \tilde{G}_N と \tilde{c} は、それぞれ L_K を一辺とする体積内のからみ合い数と高分子の数を表しており、 $\tilde{c} < 1$ では、 $\tilde{G}_N \propto \tilde{c}^{2.3}$ となっており、屈曲性高分子の挙動を示した。一方、 $\tilde{c} > 1$ では、 $\tilde{G}_N \propto \tilde{c}^{1.4}$ となり、高濃度域では指数が変わることがわかった。 $\tilde{c} < 1$ では、セグメントの近傍には他のセグメントがほとんどいないことを表しており、この場合の接触確率は、ガウス鎖の接触で決まる (Lin-Noolandi-Colby 型)。 $\tilde{c} \gg 1$ の場合は、セグメントの近傍に多数のセグメントが存在し、この場合の接触確率は、セグメント濃度の 2 乗で決まることになるが、 L_K の長さでは高分子は湾曲しているため、2 乗より弱い指数 (Morse 型) を示すことになる。屈曲性高分子では鎖の太さ d が L_K と同程度であるため、 $\tilde{c} \gg 1$ とはならない。半屈曲性高分子では、 $d \ll L_K$ が可能であるから、 $\tilde{c} \gg 1$ が実現可能となる。得られた成果は、ボトルブラシ状ポリマクロモノマーなどの剛直な高分子の物性理解¹⁾にも、今後活用できると期待される。

[1] H. Iwawaki, O. Urakawa, T. Inoue, Y. Nakamura, Y. Matsuyama, H. Watanabe, *Macromolecules*, **2020**, 53, 7096-7106

(5) 新規高密度トリアゾールポリマーの合成と物性評価

(阪大院理) 橋爪 章仁・香門 悠里

「目的」

われわれは、高分子が重要な役割を担っている理由を詳細に解明することを目的とし、独自に設計、合成した精密高分子を用いて高分子性の理解を目指している。また、高分子性を利用した高性能高分子の開発も目指している。特に、われわれは、クリックケミストリーの中心的な反応である銅 (I) 触媒アジドアルキン環化付加 (CuAAC) に着目し、アジドとアルキンを有するポリマーから高密度トリアゾールポリマーの合成を行っている。2020年度は、CuAAC 重合によって、ポリ(エチレングリコール) (PEG) と高密度 1,2,3-トリアゾールポリマーとのトリブロック共重合体を合成し、得られたポリマーが自己修復性熱可塑性エラストマーとして振る舞うことを明らかとした¹⁾。

「結果と考察」

両末端にプロパルギル基を有する PEG の存在下で、3-アジド-1-プロピン (AP) の CuAAC 重合によって PEG と高密度 1,2,3-トリアゾールブロックの新しいトリブロックコポリマー (AP n -b-EG m -b-AP n) を合成した。(ここで、 m と n は重合度を表す。) AP10-b-EG68-b-AP10 の *N,N*-ジメチルホルムアミド溶液を調製したのち溶媒を留去するとエラストマーが得られた。AP10-b-EG68-b-AP10 の分子量は約 4.6×10^3 とかなり低いにもかかわらず、高密度 1,2,3-トリアゾールユニットである AP10 ブロックが双極子-双極子相互作用、および、銅イオンとの配位結合によって高分子間で会合し、広がったネットワーク構造が形成されたことを示す。このネットワークの破壊応力と破断ひずみは、25 °C で約 7.2 MPa、550% に達した。興味深いことに、このエラストマーは自己修復性を示し、切断されたネットワークは、55 °C で 24 時間静置した後、破断応力は 2.4 MPa、破断ひずみは約 400% まで回復した。

さらに、当研究室で独自に設計した AP 誘導体である 4-アジド-5-ヘキシン酸誘導体の CuAAC 重合によって種々の溶媒に可溶性ポリマーを合成し、予備的に蛍光特性を調査した。

「文献」

1) Yang, Y.; Kamon, Y.; Lynd, N. A.; Hashidzume, A. *Macromolecules* **2020**, *53*, 10323-10329.

(6) べん毛伸長端の構造解析

(阪大院理) 今田勝巳、金子文俊、川口辰也、竹川宜宏

【目的】

細菌べん毛は、約 30 種類の蛋白質が数万個集合した巨大な分子複合体である。べん毛基部のモーターがロッド、フック、フィラメントで構成される繊維状の軸構造体を回転することで細菌は運動する。それぞれ単一の蛋白質のらせん集合体である軸構造については、各部の構造が解明された。しかし、物性・機能・構造・シンメトリーが異なる各部を互いの機能を保持したまま結合するしくみ、軸構造体の各サブユニットが組込まれて伸長し、繊維形成するしくみは不明である。そこで今年度は、サブユニット組込みが起こるべん毛先端複合体の構造解明に取り組んだ。

【結果と考察】

R 型直線べん毛を形成する *Salmonella* 変異株から、べん毛発現量を調節することで短くしたべん毛 (長さ 143 ± 78 nm) を精製し、べん毛先端を低温電子顕微鏡で撮影した。撮影像から 9,900 個の先端画像を抽出し、良好な 1772 個の先端画像を用いて 3 次元再構成を行って 8.5 \AA 分解能のべん毛先端の密度図を得た。この密度図に、これまでに解明された R 型直線べん毛の構造モデルと、べん毛先端でキャップを形成する FliD 蛋白質 5 量体の結晶構造モデルを当てはめて、べん毛先端複合体の構造モデルを作成した。先端には、輸送されてきた繊維を構成する FliC サブユニットが folding するためのチャンバー構造があり、サブユニットの通り道となるべん毛中央の管との間にゲートが形成されていてチャンバーに複数の FliC 分子が入れないようになっていた。先端の 5 量体キャップは、らせん状のべん毛に沿うようにワッシャーのように歪んだ 5 量体を形成していた。5 個の FliD サブユニットのうち、4 個は同じコンフォメーションで FliC と相互作用する一方で、新しいサブユニットを組み込む場所の FliD は異なるコンフォメーションを持ち、FliC との相互作用が弱い。この相互作用の弱い部分が、新しいサブユニットを組み込むと隣へ移動することで、べん毛が伸びることが明らかになった。現在、この成果について、論文作成中である。尚、2019 年度の課題であったべん毛モーター MS リングの構造変化について今年度に論文を作成・投稿し、掲載された¹⁾。

1. Two distinct conformations in 34 FliF subunits generate three different symmetries within the flagellar MS-Ring. Takekawa N, Kawamoto A, Sakuma M, Kato T, Kojima S, Kinoshita M, Minamino T, Namba K, Homma M, Imada K. mBio. **2021** 12:e03199-20, DOI:10.1128/mBio.03199-20

(7) 疎水化プルランの水溶液中でのミセル構造

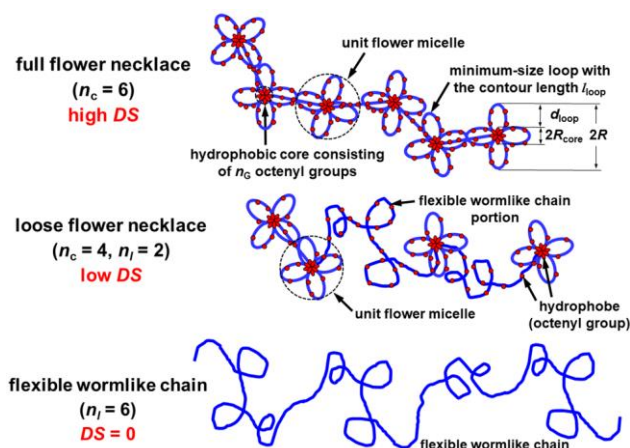
(阪大院理) 佐藤尚弘、寺尾 憲

「目的」

疎水化多糖は、水溶液中でミセルを形成し、その生体適合性により、様々な医療材料としての利用が期待されている。たとえば、ドラッグデリバリーシステムに利用する際には、薬剤がどのようにしてミセル内に内包されるかを理解するために、ミセル構造の理解は重要である。しかしながら、これまでそのミセル構造の詳細については、あまり調べられていなかった。そこで本研究では、GPC の標準物質である分子量分布の狭いプルラン試料を疎水化し、その水溶液中でのミセル構造を小角 X 線散乱、ピレンをプローブとする蛍光測定、および多角度光散乱検出器付サイズ排除クロマトグラフィーにより調べた。

「結果と考察」

オクチルコハク酸無水物により疎水化させたプルラン PUL-OSA は、塩水溶液中でほぼ一本の高分子鎖で複数の疎水性コアを有するフラワーネックレスを形成し、OSA の置換度が 1 を下回ると疎水性コアの数が少なくなった緩いフラワーネックレスとなり、ランダムコイルへと変化していくことを見出した（下図参照）。さらに、これまでに研究してきた主鎖がビニルポリマーでドデシル基を疎水性基とする両親媒性ランダム・交互共重合体が水溶液中で形成するミセルと比較すると、PUL-OSA が形成するフラワーネックレスは単位花型ミセルのサイズが小さく、ミセル全体の広がりはより大きくなることがわかった。



「文献」

- (1) Yang, J.; Sato, T. *Macromolecules*, **2020**, *53*, 7970-7979.
- (2) Yang, J.; Sato, T. *Polymer*, **2021**, *214*, 123346.

(8) 可逆性・可動性架橋に基づいた高分子材料機能の創製

(阪大高等研・院理) 高島 義徳

【目的】 高分子材料は架橋設計に応じて、様々な機能を付与できる。力学特性や刺激応答性などはその代表例である。これらの機能は高分子材料内部の架橋が変化することで発現する。本研究室では、高分子材料内部に可逆性架橋や可動性架橋を導入することで、そこから生まれる材料機能について研究を行っている。2020年度は下記の3課題において顕著な成果が見られた。これらの可逆性・可動性架橋材料の作製にあたり、環状ホスト分子のシクロデキストリン(CD)を用いた。

【結果と考察】 (1) 酸化還元応答性アクチュエータ 酸化還元応答性の Viologen を CD 修飾ポリアクリルアミドゲルに導入した¹。得られたアクリルアミドゲルは酸化還元刺激に対して、膨潤収縮性を示した。CD の空孔サイズ依存性を調べたところ、 γ CD が最も応答性が高かった。CD の導入されていないアクリルアミドゲルよりも高い力学的仕事を発現することも確認できた¹。

(2) 複合材料から高靱性・自己修復性機能の創製 これまでにポリエチルアクリレート (PEA) にて可逆性結合を導入することで自己修復性機能の付与に成功している。より高強度・高靱性機能の達成を目指して、大阪大学宇山浩先生が開発されたクエン酸変性セルロースナノファイバー(CAC)との複合化を試みた。CAC との複合化により、強度の向上に加えて、水素結合と疎水作用を組み合わせることで、自己修復性機能を付与することに成功した²。

(3) 迅速に摩擦傷が回復する自己修復性材料の作製 これまで CD 修飾 PEA とゲスト分子修飾 PEA を混合しただけでは自己修復性は達成されていなかった。より強い攪拌力にて、分子レベルで混合すれば、二つのポリマーを疎水作用により架橋することは可能と考え、ボールミルにて混合した。ボールミルにて混合された材料は CD とゲスト分子の導入室に応じて、弾性率が上昇し、溶液攪拌では見られない高い靱性を示し、靱性と自己修復性の間に相関がみられた³。

【文献】

- (1) Aramoto, H.; Osaki, M.; Konishi, S.; Ueda, C.; Takashima, Y.; Harada, A.; Yamaguchi, H. *Chem.Sci.* **2020**, *11*, 4322-4331
- (2) Sinawang, G.; Asoh, T.; Osaki, M.; Yamaguchi, H.; Harada, A.; Uyama, H.; Takashima, Y. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2020**, *2*, 2274-2283.
- (3) Park, J.; Murayama, S.; Osaki, M.; Yamaguchi, H.; Harada, A.; Matsuba, G.; Takashima, Y. *Adv. Mater.* **2020**, *32*, 2002008.

(9) トチュウエラストマーによるポリ乳酸の強靱化

(阪大院工) 宇山 浩、麻生隆彬、徐 于懿

「目的」

ポリ乳酸 (PLA) は生分解性を持つ植物由来樹脂であり、石油由来樹脂の代替として期待されているが、PLA は硬くて脆い性質を有するため応用範囲が制限されている。植物由来であるトチュウエラストマー (EuTPI) はトランス体の 1,4-イソプレン構造を繰り返し持ち、優れた衝撃性、高延性を示す。本研究では PLA に優れた耐衝撃性や高延性を示す EuTPI を添加し、さらに過酸化物を加えた動的架橋によりブレンドすることで PLA の機械的強度を改善した。

「結果と考察」

PLA と EuTPI (重量比 90:10) を熔融混練によりブレンドサンプルを作製した。動的架橋は過酸化物の添加により行った。過酸化物を添加したサンプルはクロロホルムに一部が不溶となり、架橋反応の進行が示唆された。機械的強度は引張試験及びアイゾット衝撃試験により評価した。PLA と比べて、PLA/EuTPI では靱性及び耐衝撃性がともに 3 倍に向上した。さらに動的架橋では靱性は 10 倍に上昇した。耐衝撃性は 13 倍の約 30 kJ/m^2 を示し、石油由来樹脂である ABS と同等であった。走査型電子顕微鏡でアイゾット衝撃試験後の破断面を観察すると、未架橋物で見られた EuTPI 粒子の欠陥に由来する空孔が動的架橋物ではほとんど観察されなかった。これは過酸化物の添加により架橋反応が進行したことで、PLA と均一分散した EuTPI 粒子との界面親和性が向上したためだと考えられる。以上の結果から、PLA に EuTPI 及び過酸化物を添加し、動的架橋によりブレンド樹脂を作製することで PLA の機械的強度が向上した。

これら以外に PLA の高性能化をクエン酸変性セルロースの添加によっても達成した。クエン酸由来のカルボン酸基が PLA のエステル基と相互作用することでセルロースのフィラーとしての性能が高まったと考えている。クエン酸変性セルロースは PP、PE、エポキシ樹脂、ポリウレタンの物性向上にも優れた効果を示した。エポキシ樹脂についてはクエン酸由来のカルボン酸基が硬化反応に関与することで反応性フィラーと作用し、エポキシ樹脂の欠点である靱性が大幅に向上した。

(10) 巨大な生体超分子複合体の原子構造決定に関する研究

(阪大蛋白研) 中川敦史、鈴木守、山下栄樹

[目的]

X線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析は、蛋白質などの生体高分子やウイルスなどの巨大な生体超分子複合体の構造解析のための強力な手法である。本研究では、X線結晶構造解析のための SPring-8 の蛋白研ビームライン (BL44XU) の高度化とビームラインを利用した技術開発を行う。さらに、X線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により、蛋白質や生体超分子複合体の原子構造を解明し、それに基づく機能解明を目指す。

「結果と考察」

SPring-8 の蛋白研ビームライン SPring-8 の蛋白研ビームラインに関しては、巨大な生体超分子複合体や不安定な膜蛋白質結晶からの、より高精度な回折強度データ収集を目指して開発を進めている。2018年度より稼働している大面積光子検出型二次元検出器と2019年度に設置した多軸ゴニオメータを利用して、微弱な回折データの精度改善と10倍程度のデータ収集の高効率化、異常分散データの高精度なデータ収集などが可能となった。さらに、多軸ゴニオメータを利用して、目的の実験にあった結晶の方位を設定できるようなシステムの開発を継続して進めている。多軸ゴニオメータについては、Sphere of Confusion (SoC)が10 μ m以上と大きいため、調整を続けている。

マクロファージの細胞膜に存在するタンパク質 SIRP α とその貪食標的となるがん細胞の細胞膜に存在するタンパク質 CD47 が結合すると、がん細胞を標的とする抗体(がん細胞上に存在する抗原に結合)により誘導されるマクロファージのがん細胞に対する貪食能力(貪食活性)が弱められ、一方で、SIRP α と CD47 の結合を阻害するとその活性が高められることが知られていた。共同研究者らにより、SIRP α と CD47 の結合を阻害する作用をもつ環状ペプチドが発見され、その環状ペプチドと SIRP α の複合体の結晶構造を 1.36Å 分解能で決定し、環状ペプチドと SIRP α の結合様式を明らかにした。この環状ペプチドは、ヒト B リンパ腫由来がん細胞を標的とする抗体医薬であるリツキシマブやマウス由来のメラノーマ細胞を標的とする抗体 (TA-99 抗体) により誘導されるがん細胞に対するマクロファージの貪食作用を向上させることが明らかになった。さらに、メラノーマ細胞を移植した腫瘍モデルマウスに TA-99 抗体と SIRP α 結合環状ペプチドを同時に投与した場合には、それぞれの単独投与に比べ、

マウスの肺に形成されたメラノーマ細胞の腫瘍結節の数が著明に減少することが分かった。これらのことから、少なくともマウスの生体内では、SIRP α 結合環状ペプチドががん細胞を標的とする抗体医薬の抗がん作用を増強することが示された。(Hamazaki *et al.*, Cell Chem. Biol., 2020)。

「文献」

Hazama, D.; Yin, Y.; Murata, Y.; Matsuda, M.; Okamoto, T.; Tanaka, D.; Terasaka, N.; Zhao, J.; Sakamoto, M.; Kakuchi, Y.; Saito, Y.; Kotani, T.; Nishimura, Y.; Nakagawa, A.; Suga, H.; Matozaki, T. Macrocyclic Peptide-Mediated Blockade of the CD47-SIRP α Interaction as a Potential Cancer Immunotherapy. Cell Chem. Biol. 2020, 27(9), 1181-1191.e7.

Fujimoto, K.; Fukai, M.; Urano, R.; Shinoda, W.; Ishikawa, T.; Omagari, K.; Tanaka, Y.; Nakagawa, A.; Okazaki, S. Free energy profile of permeation of Entecavir through Hepatitis B virus capsid studied by molecular dynamics calculation. Pure Appl. Chem. 2020, 92(10).

(11) クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の運動性解析

(蛋白質研究所) 加藤貴之、岸川淳一、高崎寛子

[目的]

タンパク質はアミノ酸がペプチド結合によって鎖状につながった機能性高分子であり、その配列に書き込まれた情報に従って立体構造を形成する。その機能の発揮には、立体構造と熱揺らぎに基づく柔軟性が重要である。人工の機械ではこの柔軟性はエラーの原因になるが、タンパク質ではこの柔軟性はその機能の発揮に積極的に利用されており、柔軟性を失ったタンパク質はその機能を発揮しない。つまりタンパク質の熱揺らぎは人工的な機械との大きな違いであり、タンパク質の本質と考えられる。本研究では、この熱揺らぎを、クライオ電子顕微鏡によって解析されたマップから AI を使って抽出することを目指した。

[結果と考察]

クライオ電子顕微鏡の単粒子解析によって得られるマップは、数万から数十万粒子からの平均として算出されており、コンフォーメーションの違う粒子が存在する場合、そのコンフォーメーションの違う部分の密度は希薄となるが、この密度の減弱は運動性を直接反映していない。そこで、8つのクライオ電子顕微鏡によって得られたマップとその分子の分子動力学計算によって得られた運動性データを学習データとし 3D-CNN(3D convolutional neural network)を用いて学習した。この学習データをもとに学習データとして用いなかったマップを使って運動性の解析を行ったところ、高い精度で運動性の解析を定量的に行うことに成功した。また、この計算結果は、H-D exchange mass spectrometry の結果とよく一致しており、MD 計算の結果だけでなく、実際の運動性を正しく見積もることができると考えられた。この計算プログラムは DEFMap という名前で公開されている。

[文献]

S. Matsumoto, S. Ishida, M. Araki, T. Kato, K. Terayama, Y. Okuno, Extraction of protein dynamics information from cryo-EM maps using deep learning. *Nature Machine Intelligence*, **3**, 153-160(2021)

(12) フェレドキシンとヘムオキシゲナーゼ複合体に関する構造基盤の解析

(阪大蛋白研) 栗栖源嗣、田中秀明、川本晃大

[目的]

フェレドキシン (Fd) は光合成電子伝達鎖ではたらく電子伝達蛋白質である。弱いが厳密な相互作用で蛋白質複合体を形成し、複数の Fd 依存性酵素へ還元力を供給している。ヘムオキシゲナーゼ (HO) はヘムを分解し光合成色素であるフィコビリンの前駆体を合成する酵素である。HO は多くの生物種に保存されている重要な酵素であるが、高等植物型 HO だけが特徴的なアミノ酸配列を持ち、アミノ酸配列の保存性が著しく低いことが指摘されていた。我々は、Fd と HO の複合体形成に着目し、その構造—機能の相関を解明することを研究目的とした。

[結果と考察]

大豆由来 HO のヘム結合型結晶構造を 1.06Å という非常に高分解能で構造解析した。他種 HO との比較から、ヘムポケットを形成している N 末端の α -ヘリックスの直後に不規則な新しい構造領域を発見した。¹⁾この新しい構造領域の挿入により、分子内に H⁺輸送トンネルが形成されていた。さらに、ヘムポケット周辺の水素結合ネットワークや静電ポテンシャルを確認し、高等植物型 HO が他種とは異なる構造でヘム代謝反応の環境を整えていると結論づけた。高等植物型 HO が示す Fd との相互作用を確認するため、ヘム結合/非結合の二状態で ITC 測定を行った。その結果、ヘム依存的に Fd と相互作用をしていることを確認すると同時に、Fd との複合体形成はエントロピーによって駆動されることを明らかにした。残基レベルでの相互作用部位を特定するために NMR 測定を行ったところ、Fd に含まれている鉄硫黄クラスター周辺残基と HO-1 のヘム周辺で複合体界面を構成することを確認した。¹⁾

[文献]

1. R. Tohda, H. Tanaka, R. Mutoh, X. Zhang, Y.-H. Lee, T. Konuma, T. Ikegami, C. T. Migita, G. Kurisu*, Crystal structure of higher plant heme oxygenase-1 and its mechanism of interaction with ferredoxin. *J. Biol. Chem.*, **296**, 100217 (2021)