

(1) シーケンス、立体構造、分子量が制御されたポリマーの合成

(阪大院理) 青島 貞人、金澤 有紘

「目的」

これまで我々は、新しいリビングカチオン重合系やビニル付加・開環同時カチオン共重合系を詳細に検討し、多様な機能性ポリマーを精密合成してきた。本年度は特に配列制御を目指した重合系を中心に検討を行い、配列組み込みモノマーの合成と ABC 型定序配列ポリマーのワンポット合成、スチレン類とアルデヒド類を用いたカチオン共重合による交互ポリマーの合成、ケイ素含有環状アセタールを用いた配列制御型三元共重合体の精密合成等を試みた。

「結果と考察」

(1) 2種のモノマーを原料とする環状アセタールの選択的な合成反応を設計し、生成した配列組み込みモノマーをビニルモノマーと交互共重合させるワンポットでの配列制御重合法を開発した。具体的には、オキシランとカルボニル化合物の環化二量化反応により配列組み込み環状アセタールを系中で選択的に合成し、ここに続けてビニルエーテルを添加し交互共重合を進行させた。生成したポリマーは分子量、末端構造、分子配列が制御されていることがわかった。

(2) 二官能性芳香族アルデヒドの *o*-フタルアルデヒドに着目し、その環状生長カチオンの小さな立体障害と高い重合活性を生かした新しい共重合系を構築した。本年度は、組み合わせるスチレン系モノマーの構造や反応性が共重合挙動に及ぼす影響について系統的に調べ、交互共重合系やリビング重合系を見いだした。一方、スチレン類として *p*-アルキルスチレンを用いてベンズアルデヒド類とカチオン共重合を行った場合、最適条件下では制御重合が進行し、交互性の高い共重合体を得られることがわかった。生成ポリマーは、トリフルオロ酢酸との反応により分子量数百まで選択的に分解された。

また、ケイ素含有環状アセタールの 1,3-ジオキサ-2-シラシクロアルカンを 2-クロロエチルビニルエーテルと共重合を行うと、ジブロックポリマーしか得られなかったが、アルデヒドを加えて三元共重合を試みたところ、3万程度の M_n を有する ABC 型交互配列に近い共重合体を得られることを見いだした。

「文献」

1. Maruyama, K.; Kanazawa, A.; Aoshima, S. *Macromolecules* **2022**, *55*, 799–809.
2. Hayashi, K.; Kanazawa, A.; Aoshima, S. *Macromolecules* **2022**, *55*, 1365–1375.

(2) 金属錯体を骨格に持つ拡張型ポリペプチドに関する研究

(阪大院理) 鬼塚 清孝、岡村 高明、神林 直哉

「目的」

酵素の高選択性、高機能性は、精緻に組み立てられた立体構造によりもたらされると考えられる。蛋白質は、光学活性なアミノ酸から成る生体高分子であり、 α 炭素周りの二面角 (ϕ , ψ) により構造が決定される。これに剛直なスペーサーを組み合わせて、概念を発展させたのが拡張型ポリペプチドである。これまで、使用するアミノ酸側鎖の僅かな違いにより2次構造が異なることを明らかにしてきた。本研究では、溶液中で2次構造を形成する拡張型ポリペプチドの合理的な合成法の確立と機能への発展を目指す。

「結果と考察」

金属-配位子結合は溶液中で解離平衡にあり、両末端にピリジル基を持つ拡張型アミノ酸を銀(I)イオンの配位により高分子化する場合、溶媒の選択が肝要である。クロロホルムのような非配位性の非極性溶媒を用いることで配位結合は安定化される。アミノ酸側鎖に嵩高い疎水基 Ar_3C ($\text{Ar} = 4\text{-}t\text{-BuC}_6\text{H}_4$) を導入することで溶解度の向上に成功した。 $^1\text{H NMR}$ を用いた解析により、拡張型アミノ酸は頭-頭、尾-尾の連結で繋がり、CD スペクトルは側鎖の長さが CH_2 1つ異なるだけで2次構造が変化することを示唆した。NMR はブロードなシグナルのみを与え、構造解析は困難であったが、DFT を用いた理論計算と TD-DFT による CD スペクトルのシミュレーションから溶液構造を求めた¹⁾。一方、平面4配位構造をとる白金(II)錯体を用いた場合、3座と単座の配位を持つ非対称な配位子を設計することで頭-尾結合を選択的に導入できた。3座キレート部分の配位原子を NNN、CNN、CNC と変化させることで白金錯体部分の価数を+2 価から0 価まで変更でき、対イオンと組み合わせることで溶解度の調整も可能である。先の Ar_3C や長鎖アルキル基の導入、またはカチオン性錯体の場合は対イオンの選択により非極性溶媒への可溶化に成功した。強固な白金-アセチリド結合を用いることで極性溶媒中でも安定な拡張型ポリペプチドの合成にも成功した。TD-DFT 計算は CD スペクトルを良く再現し、溶液構造を明らかにできた。

「文献」

- 1) Okamura, T.; Tsubouchi, K.; Okada, A.; Onitsuka, K. *Polymer J.* **2022**, *54*. DOI: 10.1038/s41428-022-00645-9.

(3) 持続可能な社会の実現に向けた機能性高分子・超分子の創製

(超分子機能化学研究室) 山口浩靖・小林裕一郎

[目的]

持続可能な社会実現に向けて、低環境負荷生産に向けた資源消費最小化と反応プロセスの高効率化は世界的に取り組まねばならない課題である。副生成物の発生量を低減する化学技術や省資源・省エネを実現する優れた触媒の開発が望まれる。水系でマイルドな条件においてエネルギーを変換でき、目的の生成物を立体選択的に得ることが可能な高機能性触媒、並びに環境応答性高分子・超分子材料の開発は SDGs 達成に大いに貢献できると考えられる。本年度は色素周りの環境制御が可能な合成高分子を探索し、そのハイブリッド材料を利用した色素増感エネルギー変換システムの開発を行った。

[結果と考察]

ポリビニルピロリドン(PVP)が電子供与体であるテトラフェニルポルフィリンテトラスルホン酸(TPPS)およびその亜鉛錯体(ZnTPPS)とそれぞれ水素結合または配位結合によって錯体を形成することを見出した。TPPS または ZnTPPS の水溶液に電子受容体の一種メチルビオロゲン(MV²⁺)を添加すると、UV-Vis スペクトルにおいてポルフィリンの吸収帯の長波長シフトが観察された。PVP 存在下ではそのような波長シフトは見られなかった。これらの水溶液に可視光を照射すると、PVP 存在下でもポルフィリンから MV²⁺への電子移動に基づくポルフィリンの蛍光強度減少が見られたことから、PVP 添加系では TPPS または ZnTPPS から MV²⁺への長距離電子移動が起こっていると考えられる。MV²⁺はポルフィリンから電子を受け取るとカチオンラジカルとなり、605 nm に吸収極大を与える青色の水溶液となる。この吸光度の経時変化をモニターした結果、PVP 存在下で多くの電子移動生成物を与えることがわかった。PVP が光エネルギーから化学エネルギーへの変換に重要な役割を果たしていることがわかった。PVP とポルフィリンとの特異的な相互作用を高分子間架橋ユニットとして材料に組み込み、上記の長距離電子移動反応を活用することにより、新たな反応制御システムが構築できる可能性がある。

(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」

鎖長 L が持続長 L_p と同程度の半屈曲性高分子の粘弾性には、高分子の配向緩和モードに加えて、曲げモードと伸長モードが寄与する。さらに、有限濃度域では、これらのモードに対して、流体力学的相合作用、からみ合い効果が影響する。本研究では、PBLG 溶液をモデル系として、粘弾性測定と複屈折測定から、配向緩和、曲げ、伸長モードの定量的分離を行う。それぞれのモードの分子量依存性、濃度依存性を明らかにし、粘弾性に対する高分子の剛直性と濃度の効果を明らかにする。

「結果と考察」

二種類のポリ- γ -ベンジル-L-グルタミン酸 (PBLG)($M_w = 1.11 \times 10^5$ g/mol, 2.31×10^5 g/mol)を用いて種々の濃度の m -クレゾール溶液を準備した。粘弾性測定と動的複屈折測定を行い、複素弾性率 $G^*(\omega)$ と複素歪光学係数 $K^*(\omega)$ を濃度の関数として求めた。ここで、 $G^*(\omega)$ には、配向緩和成分 $G_{or}^*(\omega)$ 、曲げモード

$G_{curv}^*(\omega)$ 、伸長モード $G_{tens}^*(\omega)$ が含まれる。 $K^*(\omega)$ には、配向緩和成分 $K_{or}^*(\omega)$ と曲げモード $K_{curv}^*(\omega)$ が含まれる。

低濃度域では、 $G^*(\omega)/c$ と $K^*(\omega)/c$ は、それぞれ濃度に依存しなくなったので、これを無限希釈での固有値 $[G^*(\omega)]$ と $[K^*(\omega)]$ とみなした。得られた $[G^*(\omega)]$ と $[K^*(\omega)]$ は $L < L_p$ の高分子に対する Morse らの理論と良く一致した。次に有限濃度域では、

$$G^*(\omega) = c[G_{or}^*(a_{tp}\omega)] + c[G_{curv}^*(a_{hd}\omega)] + c[G_{tens}^*(a_{hd}\omega)]$$

と仮定して解析を行った。ここで、 a_{tp} と a_{hd} は、分子運動の遅延を表すパラメーターで、前者は位相幾何学的相互作用を、後者は流体力学的相互作用に由来する。得られた a_{tp} と a_{hd} は c/c^* の関数として表すことができ、既存の理論と矛盾しなかった。より高濃度域では、 $G_{curv}^*(a_{hd}\omega)$ のモード分布が変化し、からみ合いに由来する曲げモードが出現することがわかった。

[1] T. Inoue, N. Furusawa, O. Urakawa, *Macromolecules*, **2021**, 54, 11360-11371

(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・中畑 雅樹

「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。2021年度は、CuAAC 重合によって、種々の溶媒に可溶性高密度トリアゾールポリマーを開発し、得られたポリマーの溶液中でのいくつかの性質を評価した。

「結果と考察」

当研究室で独自に設計した 3-アジド-1-プロピン酸誘導体である 4-アジド-5-ヘキシニン酸誘導体である 4-アジド-5-ヘキシニン酸 *t*-ブチル (tBuAH)、および、4-アジド-5-ヘキシニンアミド (AHA) 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た。

tBuAH から得られた高密度トリアゾールポリマーのエステル基を加水分解したポリ(4-アジド-5-ヘキシニン酸) (poly(AH)) は塩基性条件下 (pH > 7) で水によく溶解した¹。金属イオン吸着試験の結果、poly(AH) のナトリウム塩は、調査した金属イオン (Cu²⁺、Pb²⁺、Li⁺、および Fe³⁺) のうち、Fe³⁺をもっとも強く吸着することが示された。

二級アミド側鎖を有する AHA 誘導体ポリマーは、ジメチルスルホキシド、*N,N*-ジメチルホルムアミドなどの極性有機溶媒にのみ可溶であったのに対し、三級アミド側鎖を有する AHA 誘導体ポリマーは、種々の溶媒に可溶であった。特に 4-アジド-*N*-エチル-*N*-メチル-5-ヘキシニンアミドから得られたポリマーは水に可溶性で、その水溶液は下限臨界溶液型相分離を起こすことが明らかとなった²。

「文献」

- 1) Xu, L.; Kamon, Y.; Hashidzume, A. *Polymers* **2021**, *13*, 1614.
- 2) Okuno, K.; Arisawa, T.; Kamon, Y.; Hashidzume, A.; Winnik, F. M. *Langmuir* **2022**, *38*, 5156-5165.

(6) べん毛軸構造の形成機構

(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分子複合体で、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でパイプ様構造を持つ軸構造体を回転することで細菌は運動する。菌体内で合成された軸蛋白質はパイプ内を通過して先端まで運ばれ、先端のキャップ蛋白質複合体の直下でべん毛に組込まれる。軸構造各部の形成には、それぞれに対応するキャップが働く。そこで今年度は、各軸構造形成中のべん毛先端の試料を作成し、べん毛軸構造形成の分子機構解明に取り組んだ。

【結果と考察】

フィラメント欠損変異体からジャンクション中間体べん毛を単離精製し、クライオ電子顕微鏡像の単粒子解析を行った。その結果、FliD キャップ-ジャンクション結合部は約 4 Å 分解能の密度図が得られ、構造モデルを構築中である。また、FlgK 蛋白質欠損変異体を用い、FlgD キャップが結合した状態で成長が停止したべん毛試料の大量精製法を確立し、クライオ電子顕微鏡撮影を行った。現在、単粒子解析を行っている。これらの試料の撮影では外膜断片の混入が問題になるため、現在は強アルカリ処理を行なっている。しかし、微妙な条件の違いで、試料に大きな損傷を与えたり、大量の外膜混入が起きたりする。そこで、タグによる試料精製を目指し、基部体蛋白質にタグを導入した変異蛋白質を発現するプラスミドを作成し、発現蛋白質の混入による影響と予備的な精製を行った。その結果、FliM に His タグを導入した試料が有望であることがわかった。尚、2019 年度の課題であったべん毛モーター MS リング、C リング構成蛋白質 FliM、回転制御蛋白質 ZomB の構造と機能に関する論文を今年度に作成・投稿し、掲載された^{1,2,3}。

1. Native flagellar MS ring is formed by 34 subunits with 23-fold and 11-fold subsymmetries. Kawamoto A, Miyata T, Makino F, Kinoshita M, Minamino T, Imada K, Kato T, Namba K. *Nat Commun.* **2021**, *12*, 4223.
2. A slight bending of an α -helix in FliM creates a counterclockwise-locked structure of the flagellar motor in *Vibrio*. Takekawa N, Nishikino T, Yamashita T, Hori K, Onoue Y, Ihara K, Kojima S, Homma M.; Imada, K. *J Biochem.* **2021**, *170*, 531–538.
3. ZomB is essential for chemotaxis of *Vibrio alginolyticus* by the rotational direction control of the polar flagellar motor. Takekawa N, Nishikino T, Hori K, Kojima S, Imada K, Homma M. *Genes Cells.* **2021**, *26*, 927–937.

(7) 感熱応答性高分子ポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) 水溶液の相分離挙動

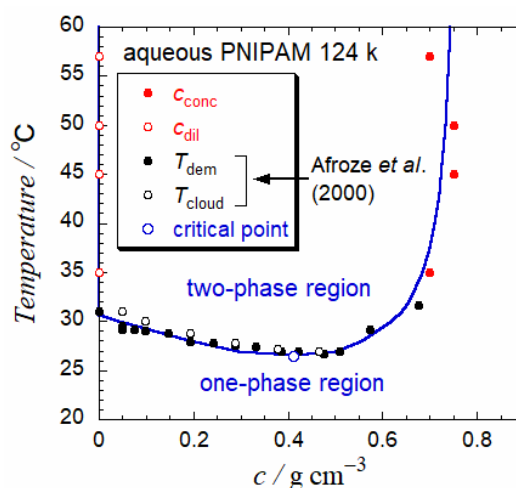
(阪大院理) 佐藤尚弘、寺尾 憲

「目的」

ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) は、最もよく研究されている感熱応答性高分子の代表例で、その水溶液やヒドロゲルは様々なスマートマテリアル、生体医療材料などへの応用が期待されている。この PNIPAM 水溶液は、約 30°C 以上に昇温すると相分離して白濁するが巨視的な相分離は起こさず、昇温時と降温時で濁度に温度履歴が観察され、さらには相分離温度がしばしば理論の予想とは逆の分子量依存性を呈するなど、通常の熱力学では説明できない多くの相分離挙動がこれまでに報告されている。同水溶液・ヒドロゲルを様々な分野で応用する際に、その相分離挙動を理解しておくことは重要である。そこで本研究では、高温で相分離している PNIPAM 水溶液中で希薄相と共存している濃厚相コロイド液滴の分散状態を小角 X 線散乱法 (SAXS) および静的・動的散乱法 (SLS・DLS) により特性化した。

「結果と考察」

同じ昇温条件で得た PNIPAM 水溶液に対する広い散乱波数領域の SAXS と SLS の散乱関数を、濃厚相液滴 (多分散球) モデル散乱関数でフィットし、濃厚相液滴の重量平均モル質量とモル質量分布、および内部濃度を決定した (右図中の赤丸)。得られた内部濃度は、濁度及び熱測定により決定した相分離温度の結果と合わせて、広い温度・濃度にわたる相図を初めて得た。得られた相境界曲線は、臨界点付近では平坦で、高温になると急激に立ち上がるという特徴を有し、相互作用パラメータに適切な濃度・温度依存性を導入した Flory-Huggins 理論により再現され、PNIPAM 水溶液は、Type II に分類される相図を持つことが判明した。同様の実験を、PNIPAM の構造異性体であるポリ(2-*n*-プロピル-2-オキサゾリン)水溶液についても行った。



「文献」

Han, J.; Takahashi, R.; Kuang, C.; Sato, T. *Langmuir*, **2022**, *38*, 5089-5097.

(8) 可逆性・可動性架橋に基づいた高分子材料の創製

(高分子材料設計学研究室) 高島 義徳

【目的】本研究では、高分子内部の架橋構造に可逆性、もしくは可動性架橋を分子・材料設計することで、刺激応答性機能や特異な力学特性機能について研究している。これらの架橋構造の分子運動性や熱力学的安定性について理解を深める必要があり、それらの実験的データを蓄積することによって、革新的な材料機能の創製に繋げることを目的としている。2021年度は(1)各種架橋点を持つ緩和特性と破壊エネルギーの関係、(2)非共有結合形成により促進された異種材料間接着、について明らかにした。

【計画】(1)ポリアクリルアミドを主鎖とし、環状ホスト分子であるCDと相互作用のあるアダマンタンを高分子主鎖に修飾した(pAAm-βCD-Ad(x,y))。pAAm-βCD-Ad(x,y)は分子認識を通して架橋され、自己修復性を示した。pAAm-βCD-Ad(x,y)の力学特性は含水量に依存し、機能性官能基ユニットの含有量に応じて、40 wt%周辺の含水率で破壊エネルギーが最大になった。pAAm-βCD-Ad(x,y)の破壊エネルギーや材料間の接着には、最適な含水率が存在することが示された¹⁾。

(2)ホスト-ゲスト錯体形成とアミド結合形成の相乗効果を利用した異種材料接着を行った。CD/COOH修飾ヒドロゲルとアダマンタンアミン修飾ガラス基板を24時間接触させることで、包接錯体形成に基づき接着した。次いで縮合剤溶液を浸漬させてアミド結合を形成させたところ、接着強度が向上した。比較対象のCOOH修飾ヒドロゲルとNH₂修飾基板(包接錯体無し)の場合と比較して、接着強度が3倍向上した。競争阻害剤で包接錯体を解離させた場合でも、約2倍の接着強度を維持した。単なる2種の結合の合算に留まらず、ホスト-ゲスト錯体形成がアミド結合形成を促進したことが示された²⁾。

1. Osaki, M.; Yonei, S.; Ueda, C.; Ikura, R.; Park, J.; Yamaguchi, H.; Harada, A.; Tanaka, M.; Takashima, Y. *Macromolecules*, **2021**, *54*, 8067-8076.
2. Osaki, M.; Sekine, T.; Yamaguchi, H.; Takashima, Y.; Harada, A. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2021**, *3*, 2189-2196.

(9) ポリ乳酸をベースとした高靱性バイオプラスチックの開発

(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。一方、ポリヒドロキシアルカン酸の一種であるポリ[(R)-3-ヒドロキシブチレート-co-4-ヒドロキシブチレート] (α -PHB) は微生物の働きで作られる海洋生分解性のアモルファスポリエステルで高い柔軟性を有する。本研究では PLA に少量の α -PHB をブレンドすることにより、PLA の高靱性化を目指す。

「結果と考察」

PLA/ α -PHB ブレンドは 2 軸混練機を用いて熔融混練法により作製した。引張試験から得られたブレンドの破断歪みと破断エネルギーの関係を評価した。PLA の破断ひずみは 8%であったが、 α -PHB をわずか 1wt%加えたところ破断歪みが 240%と急激に向上し、その後 α -PHB の添加量の増加に伴い上昇した。PLA の破断エネルギーは 0.22MJ/m^3 であったが、 α -PHB 1wt%添加により約 15 倍の値を示し、5wt%添加により最大となった。従って比較的少量の α -PHB の添加で PLA の大幅な高靱性化が可能であった。

α -PHB 添加量の変えたブレンドの耐衝撃性を評価した。 α -PHB の添加量の増加に伴い衝撃吸収エネルギーは増大し、30wt%添加したとき PLA の約 15 倍の値を示した。石油由来の耐衝撃性樹脂である ABS を上回る性能を示し、 α -PHB を添加することで PLA に実用的な衝撃強度を付与できた。また、動的粘弾性測定の結果から PLA の T_g (60.2°C)は α -PHB を 5wt%添加することで 56.7°C に低下した。ポリマーブレンドにおける T_g の低下は、両ポリマー間の相互作用を示しているため PLA と α -PHB の部分相溶性が示唆された。示差走査熱量測定の結果からは α -PHB の添加量の増加に伴い熔融エンタルピーの減少がみられた。これは α -PHB により PLA の結晶化が阻害されたためと考えられる。以上の結果から、PLA、 α -PHB 間の高い親和性と α -PHB の可塑剤としての働きが PLA の急激な機械的強度の向上に寄与すると示唆された。

α -PHB には PLA に対する部分相溶性と可塑剤効果があり、わずか 1wt%加えただけで PLA は大幅に高靱性化し、また、30wt%添加した場合には実用的な衝撃強度を有するブレンドが得られた。 α -PHB をブレンドすることで PLA の用途拡大に寄与できる高靱性バイオプラスチックが開発できた。

(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。大面積光子検出型二次元検出器と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。現在、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。

X線結晶構造解析の方法論が進化し、さらに結晶学を知らない初心者でも構造解析を行う事ができる解析ソフトウェアの開発が進んでいるが、3Å 程度以下の低い分解能の電子密度図に対して正確にモデル作製を行うことは、現時点でも自動化は進んでいない。低い分解能の電子密度図に対する正確かつ迅速な分子モデルの構築を目指し、機械学習を利用した電子密度の解釈を行うソフトウェアの開発を進めた。PDB に登録されているデータを用いてアミノ酸残基ごとの電子密度を学習させる事で、3~4Å 分解能の電子密度に対して、高い確率でアミノ酸残基種を特定できるようになった (Godó *et al.* IEEE Access, 2022)。

「文献」

Godó, A.; Aoki, K.; Nakagawa, A.; Yagi, Y. Residue Assignment in Crystallographic Protein Electron Density Maps with 3D Convolutional Networks. IEEE Access 2022, 10, 28760-28772.

(11) 新型コロナウイルス感染増強抗体の構造解析

(蛋白質研究所) 加藤貴之、岸川淳一、高崎寛子

[目的]

新型コロナウイルスの爆発的な感染拡大は、現在も続いており、ウイルスの感染メカニズムや治療薬について、日夜研究が行われている。コロナウイルスの感染は、ウイルスの外殻(エンベロープ)から突き出したスパイクタンパク質がヒトの細胞膜上に存在する ACE2 受容体に結合することから始まる。スパイクタンパク質と ACE2 受容体の結合を阻害するような抗体は、感染を抑制する中和抗体となる。一方で、コロナウイルス感染患者から単離された抗体の一部は、スパイクタンパク質と ACE2 受容体の結合を促進する、つまり、感染を増強することがわかってきた。この感染増強抗体がどのようにしてスパイクタンパク質と結合し、どのように感染を増強するのかを明らかにすることを目的にクライオ電子顕微鏡による構造解析を行った。

[結果と考察]

コロナウイルスのスパイクタンパク質は N 末端ドメインである NTD、ACE2 受容体と結合する RDB、主に α -ヘリックスで構成され基盤となる S2 の 3 つに大別される。感染を抑制する中和抗体は RDB と結合することが遺伝学的な実験によって明らかとなった。これは RDB との結合を物理的に阻害することで感染を抑制していると予想される。一方感染増強抗体は ACE2 との結合とは直接関係していない NTD に結合している場合に多く見られることが明らかとなったが、なぜ感染を増強するのかについては遺伝学的な実験では説明することができなかった。クライオ電子顕微鏡による構造解析では IgG 抗体のうち結合領域である Fab 部分だけをスパイクタンパク質と結合させて構造解析を行った結果、感染増強抗体の Fab は NTD に下側(宿主と反対側)から結合していることが分かった。しかし、それ以外の部分は感染増強抗体が結合していない場合と比べ著しい構造変化を確認することはできなかった。しかしこの結果は、IgG ではなく Fab を結合させた場合には感染を増強しないという生化学的実験と矛盾しない。そのため、感染増強抗体はエンベロープ上に存在する 2 つのスパイクタンパク質をブリッジするような形で結合することで、間接的に ACE2 受容体と結合しやすい形に構造変化を誘起すると考えられた。

本研究は、大阪大学微生物病研究所との共同研究として行われた。

[文献] Liu, Y.; Soh, W.T.; Kishikawa, J.; Hirose, M.; Nakayama, E.E., et al.

(12) 光化学系 I と電子供与体との電子伝達複合体の構造解析

(阪大蛋白研) 栗栖源嗣、田中秀明、川本晃大

[目的]

光化学系 I (PSI) はチラコイド膜中に存在する巨大な膜タンパク質複合体で、内包した 100 近いクロロフィルやカロテノイド分子が光エネルギーを吸収し、その励起エネルギーを用いて電荷分離反応を引き起こす。シトクロム b_6f 複合体で還元された電子供与体が PSI に電子を供与するが、 b_6f 複合体および PSI の周辺で起きるダイナミックな電子伝達の詳細は判っていない。本研究では、 b_6f 複合体と PSI を中心に酸化還元蛋白質との複合体形成について相関構造解析を行い、複合体形成と電子伝達制御の詳細を解明することを研究目的とした。

[結果と考察]

ホウレン草から b_6f 複合体を精製すると、ほぼ 1 対 1 の割合で Ferredoxin-NADP+ Reductase (FNR) が結合してくる。そこで、別途精製した FNR をもちいて b_6f 複合体に対し等温滴定熱測定 (ITC) を実施した。その結果、FNR の結合は b_6f 複合体の可溶化にもちいる界面活性剤 (UDM) の影響を強く受けており、FNR 自体が UDM の影響で一部変性している可能性が示唆された¹⁾。次に、電子伝達に伴う機能的構造変化や、効率的な電子伝達機構を明らかにする目的で、好熱性シアノバクテリア PSI と電子受容体である Fd および電子供与体であるシトクロム c_6 (Cyt c_6) を結合した三重複合体の構造解析を行なった。各電子伝達蛋白質の酸化還元状態に留意した試料調整を行い、三重複合体の Cryo-EM 構造を 1.97 Å 分解能で構造解析することに成功した。側鎖の構造変化や、水分子を介した相互作用までも可視化することができ、特に PSI と Fd とで ITC 測定を併用したことで、複合体形成がエントロピー駆動型であることを明らかにすることができた。

[文献]

1. S. D. Zakharov, S. Savikhin, Y. Misumi, G. Kurisu, W.A. Cramer*, Isothermal titration calorimetry of membrane protein interactions: FNR and the cytochrome b_6f complex. *Biophys. J.*, **121**, 300-308 (2022)