

(1) 緻密に分解性が制御された種々のポリマーの設計および合成

(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検討し、様々な機能性ポリマーを精密合成してきた。本年度は、新しい高速重合系や配列制御重合系の開発、選択的分解性ポリマーの新規合成を目指して、メタルフリー重合系の光照射による超加速、多様な温度応答性ポリマー合成、アルコキシフタリドやジオキサランを用いた選択的かつ特異的な共重合、環状三量化反応を基盤とした配列制御ポリマーの合成を試みた。

「結果と考察」

(1) 当研究室では以前、ジアリールヨードニウム塩を有機ルイス酸として用いたビニルエーテル (VE) のメタルフリーリビングカチオン重合系を開発した。この重合中に光を照射すると、リビング性を保ったまま重合が数百倍加速されることを見いだしたので、この系の反応機構を考察するとともに、種々の VE や低カチオン重合性のスチレン類の光照射による高速制御重合を検討した。

一方、刺激応答性ポリマー合成検討として、脂肪族及び芳香族カルボン酸イオンを持つ種々のイミダゾリウム系イオン液体構造を側鎖に有する VE ポリマーを精密合成し、水中での LCST 型や UCST 型相分離挙動を見いだした。また、アルデヒドとの交互共重合体の選択的分解性も検討した。

(2) 単独カチオン重合性を示さない環状ヘミアセタールエステル構造を有する 3-アルコキシフタリドや 1,3-ジオキサラン-4-オンを用いた共重合を検討した。その結果、前者の系からはオキシランとの共重合や VE を加えた系でモノマーの繋がる順番が一方向に制御された三元共重合が可能なが示された。後者の環状アセタールとの共重合では、従来の機構とは異なる活性化モノマー機構やアセタール交換反応を伴う交差生長反応で共重合することがわかった。

また、単独重合性が極めて低く解重合しやすい γ -ブチロラク톤を用い環状アセタールと共重合を行い、減圧や温度変化により配列制御や分解を検討した。

(3) VE とジアルデヒド化合物の環状三量化反応により配列組み込み型モノマーを選択的に合成し、これを用いた重付加により 2 種類の置換基が環状アセタール上に交互に配列した ABAC 型周期配列ポリ環状アセタールを合成した。また、環状三量体と VE とのビニル付加・開環同時カチオン共重合を行い、交互ポリマーや 83%が ABCC 型周期配列に制御されたポリマーを合成した。

(2) 精密重合反応を基盤とした π スタック高分子の合成と機能開拓

(阪大院理) 鬼塚 清孝、岡村 高明、神林 直哉

「目的」

我々は、*o*-アレニルアリアルイソシアニドのリビング環化共重合反応を開発し、新規高分子であるポリ(キノリレン-2,3-メチレン) (PQM)の合成に成功している。また、PQMの側鎖にアラニン誘導体を導入した場合に、主鎖のキノリン環がらせん状に積層した π スタック型構造を形成することを見出している。本研究では、PQMを土台とした π スタック高分子の精密合成を行うことで、 π スタック構造に基づく機能性高分子の開発を目指す。

「結果と考察」

様々なアミノ酸誘導体を持つモノマーを合成し、重合を行い、得られた高分子を各種分光測定により調査したところ、得られた π スタック型らせん高分子の安定性はアミノ酸置換基の形状に大きく依存し、特に嵩高いシクロヘキシルアラニンを側鎖置換基として持つ場合には、温度や極性溶媒(ジメチルスルホキシドなど)に対して高い安定性を示した¹。更に、これらの安定性の違いは、重合挙動にも影響を与え、安定な π スタック構造を形成するシクロヘキシルアラニン、ロイシン誘導体を側鎖に持つ場合、重合初期に主鎖が絡まった準安定状態を形成し、その後不可逆な構造変化を経て、熱力学的に安定な核となるらせん状の π スタック構造を形成後、重合の進行とともにらせん構造が伸長することを明らかとした。また、これらの重合挙動は、構造を安定に形成しないアラニン誘導体の場合は観測されなかった。このことから、側鎖のアミノ酸置換基が熱力学的に最も安定ならせん構造を決定していることが明らかとなった。

開始末端にアントラセン誘導体を導入した π スタック型PQMを合成し、エネルギー移動特性を評価した。得られたPQMは、主鎖のキノリン環の励起波長に対して開始末端由来の発光を示し、この発光は主鎖のキノリン環から開始末端のアントラセン部位への分子内エネルギー移動に由来することを明らかにした²。さらに、エネルギー移動には、 π スタック構造の安定性が重要であることがわかった。

「文献」

- 1) Kanbayashi, N.; Kataoka, Y.; Okamura, T.; Onitsuka, K., *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 6080.
- 2) Kanbayashi, N.; Nishio, M.; Okamura, T.; Onitsuka, K., *Polym. Chem.* **2023**, *14*, 412.

(3) 分子認識に基づく機能性超分子の合成とその機能解析

(超分子機能化学研究室) 山口浩靖・小林裕一郎

【目的】 環状高分子は直鎖状高分子に比べて絡み合いが抑制されるため、粘度の低下、および拡散係数の増加、光異性化反応の反応速度定数の増加などが報告されている。また、環状分子には末端が存在しないことから、分子鎖末端の運動による自由体積効果やミセルの不安定化が抑制されるため、ガラス転移温度の増加、自己組織化・集積によるミセルの熱安定性、高い耐性など、線状高分子とは異なる物性を有する。環状高分子を得るには、線状高分子の末端を分子内で結合させる必要があるが、高濃度では分子間結合が分子内結合より優先されるため、低濃度でなければ環化できない。本研究では高濃度条件下でも高収率で環状高分子を合成できる特異的な超分子反応場を探索した。

【結果と考察】 複数の環状分子の空洞部に二本の高分子鎖を並べた擬ポリロタキサン(pPRx)を調製することで、末端を効率よく接近させ、その末端を連結することによって環状高分子を合成した。チオール α エン反応による環化反応を行った系では、高分子を束縛する環状分子非添加系では1%未満であったのに対し、環状分子添加系では14%となり、収率の向上とともに10倍以上高い濃度での合成が可能となった。

閉環法の末端連結反応として光二量化反応を行った系では、末端に桂皮酸誘導体を導入したポリエチレングリコールを用いた。水によく溶ける環状分子により線状高分子と可溶性のpPRxを形成させ、ここに紫外線を照射すると鎖延長反応生成物の割合が少なくなるとともに、環状高分子の生成収率が43%に達した。環化に末端同士が直接反応する一分子反応を選択したことで、他のpPRx中の高分子との反応が抑制されたことにより環状高分子の生成率が向上したと考えられる。

(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」

一般的な線形粘弾性測定には市販のレオメーターが利用されるが、装置の共振のために、角周波数領域は 100 rad s^{-1} 以下に限られている。高分子メルトの場合には、時間温度換算則を利用して周波数域の拡大が可能であるが、高分子水溶液の場合には温度変化による構造変化が伴う場合があり、測定周波数の拡大が望まれる。近年、種々の高周波数粘弾性測定法が提案されており、本研究では各測定法の適用範囲と信頼性に関して検討する。

「結果と考察」

動的散乱法、粒子追跡法、水晶振動子マイクロバランス (QCM) 法を、種々の水溶性高分子溶液に適用し、その適用範囲と信頼性について検討を行った。特に、プローブサイズと系の不均一性の関係について検討した。主な結果を以下に記す。

1) 汎用水晶振動子マイクロバランスを用いて、た 10 MHz 域の動的粘性率評価系の測定について、その信頼性について検討する。

[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機能

(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。2022年度は、CuAAC 重合によって、立体規則性高密度トリアゾール均一オリゴマーを合成し、得られた均一オリゴマーの特性を固体状態および溶液中で評価した。

「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-ヘキシシン酸誘導体である 4-アジド-5-ヘキシシン酸 *t*-ブチル (tBuAH) の2種類の光学活性前駆体を合成し、連続的な CuAAC によって立体規則性均一オリゴマーを合成した。得られた立体規則性均一オリゴマーについて、固体状態では粉末 X線回折 (PXRD) により、溶液状態ではパルス磁場勾配スピネコー (PGSE) NMR、紫外吸収および円二色性 (CD) 分光法によって評価した。アセトニトリル中で測定した均一オリゴマーの CD スペクトルから、R 体からなる均一オリゴマーと S 体からなる均一オリゴマーは、励起子カップリングに基づく顕著な鏡像シグナルを示し、隣接する二つの 1,2,3-トリアゾール残基がキラル配置を取っていることがわかった。一方、R 体と S 体が交互に配列された均一オリゴマーは、1,2,3-トリアゾール残基に基づく弱い CD シグナルしか示さなかった。また、立体規則性 8 量体の溶解性を一般的な有機溶媒を用いて調べたところ、トルエン、テトラヒドロフラン (THF)、アセトン、メタノールなどの溶媒でゲル化が観察された。

「文献」

1) Kamon, Y.; Miura, J.; Okuno, K.; Yamasaki, S.; Nakahata, M.; Hashidzume, A. *Macromolecules* **2023**, *56*, 292-304.

(6) III型輸送 ATPase 複合体の動的構造 (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、べん毛基部のモーターと繊維状で中空の軸構造体で構成される。菌体内で合成された軸構造体を構成する蛋白質は、輸送はプロトン駆動力と ATP 加水分解をエネルギー源とする III 型輸送装置により構築中のべん毛中へ輸送される。III 型輸送装置の ATPase 複合体の構成蛋白質は F/V 型 ATPase と似た構造を持つことから、F/V 型 ATPase と同様の回転触媒機構により作動すると考えられている。そこで今年度は、輸送 ATPase 複合体の構造と構造変化を解析し、III 型輸送装置の ATPase 複合体の作動メカニズムを解明に取組んだ。

【結果と考察】

野生型 FliI6 量体は不安定だが、最近安定な 6 量体を形成する FliI 変異体が見つかった。そこでこの FliI 変異体の大量発現・精製法を確立し、高速原子間力顕微鏡および電子顕微鏡を用いて集合体構造と構造変化を観察した。その結果、FliI6 量体が 6 回回転対称リング構造だけではなく、3 回回転対称を持つクローバ状リング構造や一部が開裂した非対称リング構造も持つこと、ヌクレオチドや Mg の結合状態により 6 量体の形状が大きく異なることがわかった。また、高速原子間力顕微鏡による動的観察によりリングの開閉や、ATP の加水分解に伴うと考えられる 6 角形と 3 角形の間の変化も観察された。このことから、FliI6 量体は F/V 型 ATPase よりもダイナミックな構造変化を伴って作動することが示唆された。現在、これら各構造の解析およびヌクレオチド等の添加に伴う構造変化について詳しく解析を行なっている。尚、以前より取り組んでいるべん毛モーター固定子の構造、べん毛固定子による回転負荷センシングの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}。

1. Structure of MotA, a Flagellar Sator Protein, from Hyperthermophile. Nishikino, T.; Takekawa, N.; Tran, DP.; Kishikawa, JI.; Hirose, M.; Onoe, S.; Kojima, S.; Homma, M.; Kitao, A.; Kato, T.; Imada K. *Biochem Biophys Res Comm.* **2022**, *631*, 78-85.
2. Interference of flagellar rotation up-regulates the expression of small RNA contributing to *Bordetella pertussis* infection. Hiramatsu, Y.; Nishida, T.; Nugraha, DK.; Osada-Oka, M.; Nakane, D.; Imada, K.; Horiguchi, Y. *Sci. Adv.* **2022**, *8*, eade8971.

(7) 水溶液中における星型ポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) 会合挙動

(阪大院理) 寺尾 憲

「目的」

水溶液中 LCST 型の相分離挙動を示すポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) やポリ (*N,N*-ジエチルアクリルアミド) (PDEA) は相分離とともに可視光の波長以上の凝集体を形成するため、溶液は白濁する。これに対し、星型 PNIPAM および PDEA の水溶液は光散乱強度の上昇はみられるが白濁には至らないことを見出した。溶液中にナノサイズの微粒子が形成していることが推察される。そこで本研究ではいくつかの星型試料について様々な温度条件下で小角 X 線散乱 (SAXS) 測定を行い、星型鎖の鎖長、末端基、そして温度変化条件が微粒子形成にどのような影響を与えるのか調べた。

「結果と考察」

45 °C における星型 PNIPAM の形状因子 $P(q)$ には、多くの試料溶液に球状粒子に特徴的な振動がみられた。実際、狭い分子量分布を考慮した球に対する計算値は実験値をほぼ定量的に再現した。星型 PNIPAM については、温度変化条件によらず、比較的会合数が少なく (10 – 50) で粒径分布の小さいナノ粒子の形成が確認された。またこれらの微粒子は負のゼータ電位をもち、静電相互作用により安定化されていることを確認している。他方、星型 PDEA については温度をゆっくりと変化させた場合には、特に低濃度において非常に大きく分布も広い粒子の形成が確認された。これら星型 PDEA ナノ微粒子についても星型 PNIPAM と同程度のゼータ電位が得られた。

線状の PNIPAM と PDEA のこれまでの研究より、水溶液中における高分子の相互作用パラメータ χ は温度上昇に伴い PNIPAM の方が相分離温度付近で顕著に増加すると推定されている。すなわち、PNIPAM の相図の共存組成曲線とスピノーダルは近く、星型 PNIPAM の相分離の初期過程がスピノーダル分解であることが狭い粒径の理由と考えられる。実際、星型 PDEA についても水溶液を急加熱することにより、星型 PNIPAM に匹敵する粒径分布が狭くサイズの小さい微粒子が形成されることも確認された。

(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、高分子材料内部の分子レベルの架橋設計とマイクロ構造設計に着目し、新たな高分子材料の創製を目的としている。架橋設計には可逆性架橋、もしくは可動性架橋を高分子鎖間に導入し、各架橋点の分子運動性や熱力学的安定性について調査した。2022年度は(1)新たな可動性架橋材料の開発と架橋点をもつ緩和特性と破壊エネルギーの相関解明、(2)特異な架橋構造をもったネットワーク材料の構築、(3)特異な応力緩和特性を持った細胞培地の開発、などについて試みた。

【経過】(1)可動性架橋により異種高分子間を連結した材料の開発を行った。得られた材料において、長い可動距離に基づく効率的な応力分散による強靱化に成功した。加えて、非相溶の Poly(ethyl acrylate) (PEA) と Polystyrene (PS) を可動性架橋で連結することにより、更なる強靱化とヤング率の向上を達成した。PEA 相は高い運動性に基づき応力分散性を付与し、PS 相はハードドメインとして寄与し、混合相により複数相の協奏的な働きを実現した¹⁾。

(2) ビニル基修飾シクロデキストリン (CD) と適切なサイズの主鎖モノマーの混合溶液を塊状重合することで、可逆性架橋材料や主鎖ポリマーが側鎖の CD 環を貫通した可動性架橋材料 (Single-movable cross-network : SC) を得た。SC 材料は従来の化学架橋材料よりもタフネスが向上した。さらに可動性架橋材料である SC 材料に、もう一つの可動性架橋ネットワークを編み込んだ DC 材料 (Dual-movable cross-networks : DC) を作製した。非常に小さい相分離構造を有した DC 材料は SC 材料よりも飛躍的にタフネスが向上した²⁾。

1. Ikura, R.; Murayama, S.; Park, J.; Ikemoto, Y.; Osaki, M.; Yamaguchi, H.; Harada, A.; Matsuba, G.; Takashima, Y. *Molecular Systems Design & Engineering* **2022**, *7*, 733-745.
2. Kawai, Y.; Park, J.; Ishii, Y.; Urakawa, O.; Murayama, S.; Ikura, R.; Osaki, M.; Ikemoto, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A.; Inoue, T.; Washizu, H.; Matsuba, G.; Takashima, Y. *NPG Asia Mater.* **2022**, *14*, 32.

(9) 変性セルロースを用いるポリウレタンの高性能化

(阪大院工) 宇山 浩、徐 于懿

「目的」

ポリウレタンはエラストマー、フォーム、接着剤などに幅広く利用されている。ポリウレタンを環境対応かつ高性能化する手法としてバイオ繊維との複合化が考えられる。我々はセルロースのクエン酸変性によりポリプロピレンやポリ乳酸の高性能化に適したフィラーを開発してきた。本研究ではクエン酸変性およびその二次変性によりポリウレタンの強度向上を目指す。特にポリウレタンへの生分解性付与を目的として、ポリカプロラクトンジオール(PCL-diol)をソフトセグメントとするポリウレタンに着目し、クエン酸変性セルロース(CAC)の添加効果を検証した。また、石臼式摩砕機を用いて解繊 CAC (FCAC)を作製し、繊維径の影響を調べた。

「結果と考察」

PCL-diol/セルロース懸濁液は静置後すぐに相分離したが、PCL-diol/CAC 懸濁液は時間経過による相分離が起こらなかったため、クエン酸変性によりセルロースと PCL-diol の親和性が改善されたことが示唆された。ポリウレタン/改質セルロース複合材料の機械的特性をヤング率から評価したところ、セルロース未添加<セルロース<CAC<FCAC の順となり、FCAC の添加においてポリウレタンが最も高強度化した。引張試験後の破断面のモルフォロジーを走査型電子顕微鏡により調べたところ、ポリウレタン/セルロースの破断面では、樹脂と繊維間の空隙やセルロースの凝集が観察されたが、PU/FCAC の破断面ではセルロースがポリウレタン中に良好に分散しており、さらにマトリクス/フィラー界面が不明瞭であった。

作製した複合材料の動的粘弾性測定から、ガラス転移温度以下での貯蔵弾性率は、FCAC の添加によりフィラー未添加 PU の約 1.7 倍の値を示した。セルロース未添加のポリウレタンのガラス転移温度は-48.0℃であり、セルロース添加により-46.4℃、FCAC 添加により-38.1℃に上昇した。この結果からセルロース表面のカルボキシ基と PU の相互作用によって PU の分子運動が拘束されたことが示唆された。

以上の結果から、生分解性 PCL-diol をソフトセグメントとするポリウレタンと CAC の複合化において、ポリウレタンとセルロース間の界面親和性を向上させることで高強度化ができることがわかった。

(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。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行った。

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ている。今回、従来の手法を改良し、より短時間で精度良く電子密度に対してアミノ酸残基種をアサインできる手法を開発した。この方法は、1800 残基程度のタンパク質について 25 秒程度で計算でき、また、これまでに開発した手法に比べて平均で 23.5%の精度向上を示し、現在利用可能な他のプログラムに比べても、短時間により優れた結果を得ることできる (Godó *et al.* IEEE Access, 2022)。

「文献」

Godó, A.; Aoki, K.; Nakagawa, A.; Yagi, Y. Single Shot Residue Localization and Classification in Crystallographic Electron Density Map. IEEE Access 2022, 10, 108354-108365.

(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パンデミックは世界中で甚大な被害を及ぼし、我々の生活を一変させた。現在でもさらなる変異体の発生が注視されている状況にあり、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ことができれば、感染を抑制することができる。ACE2 受容体を改変し、ACE2 受容体以上にスパイクタンパク質と強力に結合する分子は感染抑制を行う薬として利用できる。今回新たに設計された ACE2 decoy はスパイクタンパク質と高い親和性を持ち、エアロゾル吸入による投与で呼吸器感染に対する抑制効果を持つ。この ACE2 のスパイクタンパク質に対する高親和性を持つ原理とどのような結合様式でスパイクタンパク質と結合している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]

今回新たに設計開発された ACE2 decoy はスパイクタンパク質に対して野生型の ACE よりも 100 倍近い親和性を持つ変異型 ACE2 と IgG1-Fc ドメインから構成される。これは従来のモノクローナル抗体に完全に耐性を持つ XBB や BQ.1 といったオミクロンの変異体に対しても中和活性を示す。この ACE2 decoy のスパイクタンパク質に対する高い親和性を理解するために、ACE2 decoy とスパイクタンパク質の複合体を調製し、その構造解析をおこなったところ、スパイクタンパク質の RBD は非常にフレキシブルなため、複合体全体を使った構造解析では平均化によってぼやけ、詳細な構造を明らかにすることはできなかった。そこで、RBD と ACE2 decoy のみに焦点を当てて構造解析を行うことで分解能 3.1 Åでの構造解析に成功し、複合体形成に重要な残基を特定することができた。また、全体構造に対して結合様式の違いによる分類を試みたところ、スパイクタンパク質の 3つの RBD が全て up になった状態に 3つの ACE2 decoy が結合した時の割合が野生型 ACE2 に比べて圧倒的に多くなっていることがわかった。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]

E. Ueno, Y. Itoh, T Suzuki, T. Ssaki, J. Kishikawa et al. bioRxiv 2023 522275, doi : 10.1101/2022.12.29.522275

(12) 植物型フェレドキシンの精密構造解析

(阪大蛋白研) 栗栖源嗣、田中秀明、川本晃大

[目的]

葉緑体中のレドックス代謝反応の多くは、電子伝達タンパク質フェレドキシン (Fd) に依存して駆動される。Fd の高分解能 X 線構造から酸化還元に伴う構造変化を議論しようと数多くの X 線結晶構造が報告されてきたが、高分解能を目指した高強度 X 線の照射により、酸化型と還元型の混合状態であることが疑われる構造が多い。そこで精密な構造・機能相関解明のため XFEL を用いて放射線損傷のない結晶構造解析を行い、結合長と結合角などクラスター周りの精密な構造解析を実施することを目的とした。

[結果と考察]

令和 3 年度に実施した光化学系 I と Fd および電子供与体であるシトクロム c_6 の三重複合体の構造解析を令和 4 年に論文発表した¹⁾。植物型 Fd の酸化型と還元型の構造変化を精密に理解するため、分子動力学 (MD) シミュレーションと XFEL を用いた放射線損傷のない構造解析を並行して実施した。放射光 X 線による解析で指摘されていた Phe61 と Glu90 の構造変化を MD シミュレーションでも確認した²⁾。X 線照射による還元の影響を排除するため、微小結晶を用いる SFX 法を採用し回折像を統計的に処理した。微結晶化することで通常結晶と格子長が異なってしまい、放射光 X 線のデータとの差フーリエで解析することが困難となった。そこで還元型微小結晶を用いた XFEL 追加実験を計画している。

[文献]

1. J. Li, N. Hamaoka, M. Makino, A. Kawamoto, Y. Lin, M. Rögner, M. M. Nowaczyk, Y. H. Lee, K. Namba, C. Gerle*, G. Kurisu*, Structure of cyanobacterial photosystem I complexed with ferredoxin at 1.97 Å resolution. *Commun. Biol.*, **5**, 951 (2022)
2. T. Nakayoshi, Y. Ohnishi, H. Tanaka, G. Kurisu, H. X. Kondo, Y. Takano*, Effects of Active-Center Reduction of Plant-Type Ferredoxin on Its Structure and Dynamics: Computational Analysis Using Molecular Dynamics Simulations. *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 1591 (2022)