

(1) 多様な制御を可能とするカチオン重合系の開発

(阪大院理) 金澤 有紘

[目的]

我々はこれまで、多様なカチオン重合系の開発を通して高分子の一次構造を制御することを目指し研究を行ってきた。本年度は、新たなモノマーの組み合わせによる二元・三元共重合系の設計、開環リビングカチオン重合系の設計、新しいカチオン重合性環状モノマーの設計などを目的として研究を推進した。とくに、スチレン類・オキシラン・アルデヒドの配列制御カチオン三元共重合、種々のオキシランのリビングカチオン重合系の設計、フルフラール由来アルコキシフラノンのカチオン共重合、低反応性スチレン類のジアリールヨードニウム塩触媒による制御カチオン重合などを検討した。

[結果]

- [i] スチレン誘導体、オキシラン、芳香族アルデヒドのカチオン三元共重合系を新たに設計した。適切な反応性のモノマーを用いると一方向の交差生長反応により三元共重合が進行した。さらに、最適系では ABC 型周期配列をもつ三元共重合体が生成した。生成ポリマーは第二級ベンジルエーテル構造を主鎖に有し、酸あるいは酸化剤での分解が可能であった。
- [ii] 五員環環状ヘミアセタールエステルはカチオン単独重合性は示さないが、オキシランとの二元共重合、VE を加えた三元共重合は進行する。これまでに 2 種類の五員環環状ヘミアセタールエステルを用いてきたが、今回新たに、フルフラールから合成可能な 5-アルコキシ-2(5H)-フラノンを検討した。オキシランとの共重合は交差生長反応を伴って進行し、共重合体が生成した。生成ポリマーは主鎖中に β 置換-アクリレート構造をもつため、thiol-ene 反応による修飾反応も可能であった。
- [iii] ジアリールヨードニウム塩 (DAI 塩) は光カチオン重合開始剤および有機ルイス酸触媒として用いられる。DAI 塩を有機ルイス酸触媒として用いて反応性側鎖をもつスチレン類の重合を行い、その最中に光照射すると、側鎖での副反応が抑制されつつ重合が高速化された。また、生成ポリマーの分子量は計算値に近かった。現在、この重合機構について詳細に調べるとともに、このような系を発展させた重合系の構築を検討している。

[文献]

1. Kamigaki, K.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *ACS Macro Lett.* **2024**, *13*, 754–760.
2. Katto, A.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *Macromolecules* **2024**, *57*, 6255–6266.
3. Maruyama, N.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *Polym. Chem.* **2025**, *16*, 1792–1797.
4. Eguchi, Y.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *Macromolecules* **2025**, in press (DOI: 10.1021/acs.macromol.5c00535)

(2) リビング環化共重合反応を基盤とした らせん状ポリ(キノリン-2,3-ジイルメチレン)の配向制御

(阪大院理) 鬼塚 清孝、岡村 高明、神林 直哉

「目的」

新規機能性マテリアルの創出を目指し、多様な高性能・高機能高分子の新規合成法の開発が求められている。近年、我々は *o*-アレニルアリールイソシアニドをモノマーとするリビング環化共重合反応により、新しい主鎖骨格を有するポリ(キノリン-2,3-ジイルメチレン) (以下、PQM と略記) の合成に成功している。また、側鎖にアミノ酸由来の光学活性置換基を導入することにより、キノリン環がらせん状に積層する二次構造の形成を見出している。PQM は、リビング重合およびモノマー設計に基づき、鎖長、両末端構造、側鎖置換基の設計自由度が高く、PQM を基盤とした新たな機能や構造制御が期待される。本研究では、これらの知見を基に、機能性高分子創製に向けた PQM の空間構造制御に取り組んだ。

「結果と考察」

重合後に PQM の末端に存在するパラジウム錯体を一酸化炭素によりアシルパラジウム錯体へと変換し、続いてシステイン誘導体を添加した。その結果、システインの SH 基が優先的に錯体と反応してチオエステルを形成し、さらに S→N アシルシフトによりアミド結合が生成された。これにより、SH 基を保持したまま PQM の鎖末端にシステイン誘導体を導入することが可能となった。得られた PQM に対して、金と SH 基との特異的な結合性を活用し、金基板上への自己組織化単分子膜 (SAM) 形成を試みたところ、らせん状の PQM 分子が基板上に立った単分子膜の構築に成功した。

リンカー分子として、置換基の位置や数を調整可能なテトラフェニルポルフィリン (TPP) 骨格に着目し、複数の PQM 鎖を TPP で連結することで、らせん構造の空間配置制御を試みた。NMR DOSY 法により得られた拡散係数から流体力学半径を算出し、これを分子量とともにプロットすることで、各構造の分子形状を検討した。その結果、TPP への連結の方向および本数によって分子形状が大きく変化することが明らかとなった。特に 4 本の PQM 鎖を TPP で連結した場合、各らせん鎖が束状に集合し、棒状構造を形成していることが示唆された。

本研究成果に関する文献: "Direct Introduction of Cysteine Derivatives into the Chain-End of Helical Poly(quinoline-2,3-diylmethylenes): Densely Packed Monolayers on Au Substrates" Kanbayashi, N.; Odagaki, S.; Kobayakawa, N.; Kato, S. H.; Onitsuka, K. *Macromolecules*, **2024**, *57*, 7787–7797. DOI: 10.1021/acs.macromol.4c00561.

(3) 分子間相互作用制御に基づく機能性高分子・超分子の創製

(阪大院理) 山口 浩靖、小林 裕一郎

【目的】当研究グループではさまざまな分子間相互作用を利用して分子を特異的に組織化させることにより機能性触媒や材料を開発している。本年度は外部刺激により基質が能動輸送される自己組織化超分子材料の創製を行った。

【結果と考察】生体組織内での基質輸送は生命の維持に重要な役割を果たしている。本研究では、分子認識と刺激応答性基質を利用してゲル中で人工的に基質を能動輸送可能なシステムを開発した。 α -シクロデキストリン(α -CD)と β -シクロデキストリン(β -CD)の2種類のホスト分子、アダマンタンをゲスト分子として2種類のゲルを合成した(図1)。これらのゲルはホスト-ゲスト相互作用により接着可能であった。この自己組織化ゲルの一方に光応答性色素であるアゾベンゼン誘導体を導入し、光を照射すると2つのゲル間で色素が移動し始め、もう一方のゲル中の基質濃度が高くなることを見出した(図2)²。このような現象は比較用ゲルを用いた系では見られず、基質移動が光応答性分子とホスト分子との相互作用の強さに応じて可逆的に起こることがわかった。

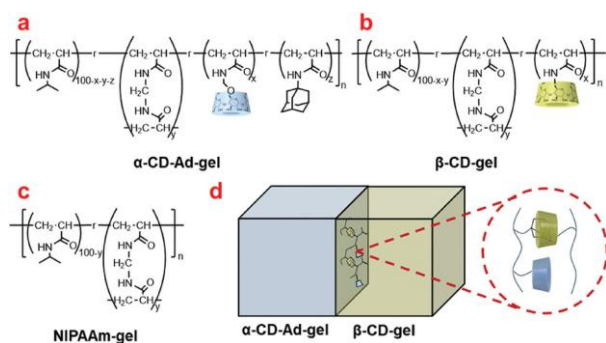


図1. α -CDとアダマンタンを導入したゲル(a)、アダマンタンと錯体を形成する β -CDを含むゲル(b)、ホスト分子・ゲスト分子を含まない比較用ゲル(c)、およびホスト-ゲスト相互作用による2種ゲルの接着(d)。

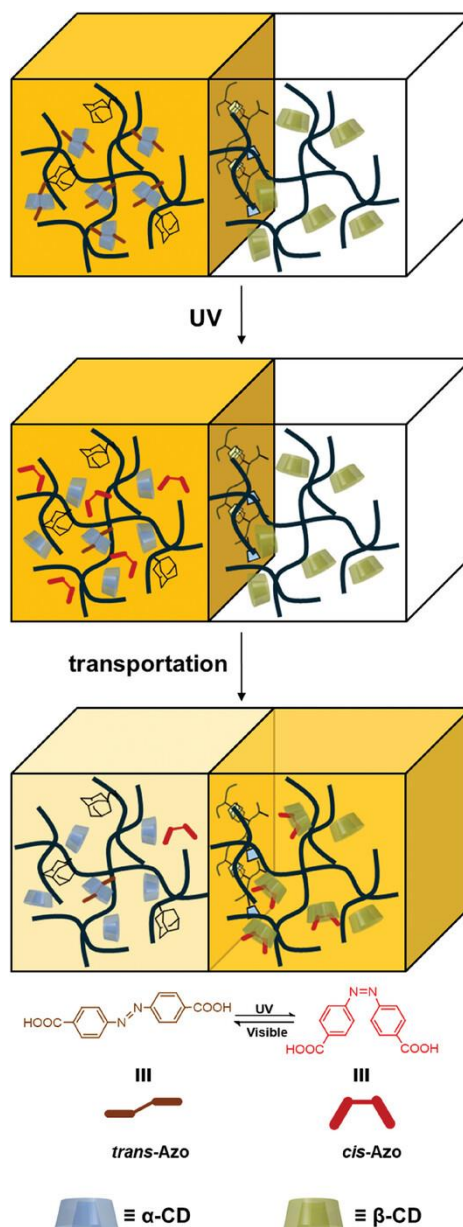


図2. 接着したゲル内での基質の能動輸送。 α -CD含有ゲル(左側の立方体)にアゾベンゼンを添加し、ここに光を照射すると β -CDゲル(右側)にアゾベンゼンが移動。

本研究成果に関する文献: Self-Assembled Supramolecular Materials for Substrate Transport by External Stimuli, Li, X.; Kobayashi, Y.; Harada, A.; Yamaguchi, H. *Macromol. Mater. Eng.* **2024**, 2400395 (DOI:10.1002/mame.202400395)

(4) ポリウレタンの粘弾性と水素結合

(阪大院理) 井上正志、浦川 理

【目的】 高分子材料の物性は分子間相互作用の影響を強く受けるが、特に水素結合は $5\sim 30 \text{ kJ mol}^{-1}$ と比較的高い結合エネルギーをもち、ファンデルワールス力に比べて数百倍強い。水素結合は温度や濃度によって結合の強さや割合が変化するため、これを利用した高分子物性の制御が注目されてきた。しかし、水素結合の導入によりガラス転移温度 (T_g) の上昇や緩和時間の遅延、さらに分子間凝集によるミクロ相分離が生じることもあり、それらが複雑に絡み合うことで、物性変化と水素結合の関係を定量的に評価した研究は少ないのが現状である。そこで本研究では、水素結合を形成するウレタン基を有するポリウレタン (PU) をモデル高分子として、分子構造を系統的に変化させた試料を用い、水素結合が粘弾性緩和挙動に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【結果と考察】 本研究では、ウレタン基含有率および分子量の異なるポリカーボネートポリウレタン (PC-PU) を系統的に合成し、水素結合と粘弾性緩和の関係を明らかにした。赤外分光法による波形分離解析の結果、PC-PU 中ではウレタン基の NH が、ウレタン基同士 (U-U 間) またはカーボネート基 (U-C 間) と水素結合していることを確認した。さらに、ウレタン基の含有率が高くなるにつれて、U-U 間の水素結合の割合が増加することを示した。動的粘弾性測定の結果、複素弾性率の周波数依存性から、二段階の緩和挙動が明確に観察された。高周波側の緩和は高分子鎖のからみ合いに起因し、低周波側の緩和は水素結合の解離によるものであると結論づけた。緩和時間 τ の分子量 M に対する依存性を解析したところ、からみ合いによる緩和は $\tau \propto M^{3.4}$ 、水素結合の動的解離に起因する緩和は $\tau \propto M^7$ という強い依存性を示した。また、ポリカーボネートポリエステル(PC-PEs)やポリテトラヒドロフランポリウレタン(PTHF-PU)との比較により、PC-PU ではウレタン基およびカーボネート基の双方の水素結合が粘弾性緩和特性に大きく寄与していることを明らかにした。

(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。2024 年度は、CuAAC 重合によって高密度トリアゾール骨格を有する両親媒性交互共重合体を合成し、得られたポリマーの水溶液中におけるシクロデキストリン (CD) との相互作用を調査した。

「結果と考察」

CD と構造制御ポリマーとの相互作用は、高分子の認識に関する重要な知見を提供すると期待されている。しかしながら、シクロデキストリンと構造制御高分子との相互作用は、これまであまり研究されてこなかった。ここでは、交互に配置した両親媒性交互共重合体 (polyC_nAH、ここで *n* はアルキル基の炭素数を表し、*n* = 4, 8, 12) を、*N*-アルキルアミドと *t*-ブチル (tBu) エステル側鎖を持つ 4-アジド-5-ヘキシノイン酸 (AH) 誘導体のヘテロ二量体の CuAAC 重合によって合成した。その後、tBu エステルを加水分解し、polyC_nAH を得た。CD と polyC_nAH の相互作用を ¹H NMR、核オーバーハウザー効果分光法、パルスフィールド勾配スピンエコー NMR で研究した。これらの NMR 研究により、αCD は polyC₄AH と相互作用し、αCD と βCD は polyC₈AH と相互作用し、すべての CD は polyC₁₂AH と相互作用することが示された。提案された平衡モデルに基づいて、相互作用を示した二元混合物の結合定数を評価した。過去に研究された CD とマレイン酸ナトリウム／ドデシルビニルエーテル交互共重合体 (polyC₁₂M) との相互作用と比較すると、polyC₁₂AH は polyC₁₂M より不安定なミセルを形成すると結論づけられた。

「文献」

1) Yamamoto, T.; Taguchi, R.; Yan, Z.; Ejima, R.; Xu, L.; Nakahata, M.; Kamon, Y.; Hashidzume, A. *Langmuir* **2024**, *40*, 7178-7191 (DOI: [10.1021/acs.langmuir.4c00330](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.4c00330)).

(6) 赤色蛍光蛋白質の赤色化機構の解明

(阪大院理) 今田勝巳、川口辰也、竹川宜宏

【目的】

個体や組織レベルの生命現象の解明には光毒性が低く生体深部イメージングが可能な長波長蛍光を発する赤色蛍光蛋白質 (RFP) が適するが、天然 RFP に基づいて開発された既存の RFP は蛍光強度が低いため、新規の明るい RFP の開発が求められている。しかし、RFP 蛍光団が自己触媒的に生成する機構の多くが未解明である。最近、我々は人工改変により緑色蛍光蛋白質 (GFP) を RFP へ変換することに世界で初めて成功した。そこで、RFP 蛍光団を自己触媒的に生成する構造基盤を解明して高性能 RFP の創出へつなげることを目的としてこの系を用いた変異実験と結晶構造解析に取り組んだ。

【結果と考察】

1 アミノ酸残基の復帰変異で赤色蛍光が大幅に低下した変異体 4 種類を見出し、それぞれ結晶構造解析を行ない、赤色蛍光団形成に対する役割を解明した。赤色蛍光団成分由来の吸収スペクトルが大幅に低下した AR1.0(S66N) は、アシルイミンが形成されず緑型蛍光団であった。S66N には分子外部につながる cavity がなくなり、反応に必要な酸素等の出入りができなくなっていた。緑と赤の蛍光団成分の両方がほとんどなくなった AR1.0(K67R) は、K67-イミダゾリン環の水素結合が失われ、青色中間体型構造になっていた。同様に緑と赤の蛍光団成分の両方がほとんどなくなった AR1.0(T108I) は、蛍光団周囲の水素結合ネットワークが大幅に変化し、蛍光励起状態にならない E 体蛍光団が混在していた。赤色蛍光団成分が大幅減少し緑色成分が大幅上昇した AR1.0(K160M) は、赤型と緑型の蛍光団が混在した。蛍光団の負電荷を安定化していた K160 と蛍光団水素結合が失われ、赤色蛍光団特有のアシルイミンを維持できなくなった。このように、赤色化に重要な 4 個の残基の役割を特定することができ、現在、論文作成中である。また、昨年度に取り組んだナトリウムイオン駆動型べん毛モーター固定子のイオンの通過経路の解明に関する論文が掲載された¹。

1. Structural insight into sodium ion pathway in the bacterial flagellar stator from marine *Vibrio*. Nishikino, T.; Takekawa, N.; Kishikawa, J.-I.; Hirose, M.; Kojima, S.; Homma, M.; Kato, T.; Imada, K. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2025**, 122:e2415713122. DOI: 10.1073/pnas.2415713122

(7) 多糖誘導体水溶液の相分離挙動と低分子化合物との相互作用

(阪大院理) 寺尾 憲・高橋倫太郎

「目的」

水溶液中で温度変化に伴い相分離する高分子は温度応答性高分子とよばれ、食品、化粧品、医薬品、細胞培養の足場材料など幅広い応用が期待されることから、広く研究されている。これまでに、合成高分子に加えて多糖誘導体においても、温度応答性を示す例がいくつか報告されている。最近、我々は、部分置換アミロースエチルカルバメート (AEC) が 10 °C から 50 °C の温度範囲で LCST 型の相分離挙動を示すことを明らかにした。本研究では、同様の手法を用いて高度分岐環状デキストリン (HBCD) の部分置換エチルカルバメート誘導体 (HEC) を調製したところ、LCST 型の相分離を示すことを見出した。そこで、本研究では、分岐構造が水和特性および相分離挙動に与える影響を明らかにすることを目的とし、小角 X 線散乱 (SAXS) や粘度測定による分子形態の解析、相図の作成、さらに分光測定による低分子との相互作用の評価を行った。

「結果と考察」

SAXS および粘度測定の結果、HEC は典型的な高度分岐構造を有し、対応する線状鎖よりもコンパクトな構造をとることが確認された。さらに、ヨウ素、1-アニリノナフタレン-8-スルホン酸 (ANS)、ピレンとの相互作用をスペクトル測定により評価した結果、HEC 内部には、AEC と比較してより疎水的な環境が存在することが明らかとなった。一方、ヨウ素により誘起されるらせん構造の形成は、線状鎖に比べ短く、これは、短い分岐鎖と高いセグメント密度の影響によるものと考えられる。

また、DS (置換度) が 0.88、1.05、1.22 の試料において LCST 型の相分離が観察された。一般に、分岐高分子の溶液は対応する線状高分子のそれよりも広い一相領域を示すことが知られているが、HEC 水溶液では対応する線状鎖とほぼ同じ相図が観測された。この結果は、HEC の分岐構造による効果が水和特性の変化によって相殺され、結果として線状高分子の相図に近い挙動になったことを示している。

「文献」

(1) Kobayashi, A.; Terao, K. *Carbohydr. Polym.*, **2024**, 343, 122473. DOI: 10.1016/j.carbpol.2024.122473

(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。2024年度は(1)可逆性架橋ゲルの粘弾性挙動の制御、(2)可動性架橋を用いた光刺激応答性の易解体接着材料、一軸延伸測定を行いながら分光分析やX線散乱解析、などについて試みた。

【経過】(1) β -Cyclodextrin (β CD)と Adamantane (Ad)が形成するホスト-ゲスト錯体を架橋点に導入したゲルの粘弾性挙動を制御することで、強靱性や自己修復性を向上できた。ホスト-ゲスト錯体を可逆性架橋として導入したゲルを、水/グリセリン混合溶媒の溶媒組成を変えて作製した。溶媒のグリセリン濃度 (c_g)が増加すると、鎖の流動に由来する粘弾性挙動が観察された。 c_g が増加すると β CDとAdの会合定数が低下し、鎖の運動性が向上したためである。鎖の運動性を高くすることで、自己修復性を向上させることに成功した。¹⁻²⁾

(2) 可動性架橋高分子材料に UV 照射により酸を発生させる光酸発生剤を混合することで、光刺激により架橋点を切断可能な高分子材料を作製した。EAと酸分解性の結合を有するアセチル化 γ CDモノマー(TAc γ CD)を光酸発生剤である存在下で塊状重合することで、光分解性可動性架橋材料(PEA-TAc γ CD/BCSD)を得た。UV照射により可動性架橋点を切断することでヤング率が大きく減少した。PEA-TAc γ CD/BCSDを同種または異種基板と接着させ、UV照射により接着強度を低下させることに成功した。可動性架橋の導入に加え、光刺激での切断により、高い接着安定性と易解体性を両立した。³⁾

1. Qian, Y.; Kosaba, S.; Ikura, R.; Yamaoka, K.; Takashima, Y. *Polym. J.* **2025**, *57*, 491-512. (DOI:10.1038/s41428-024-01011-7)
2. Yamaoka, K.; Ikura, R.; Takashima, Y.; et al., *Polym. J.* **2024**, *56*, 1031-1039. (DOI:10.1038/s41428-024-00932-7)
3. Matsumura, Y.; Yamaoka, K.; Ikura, R.; Takashima, Y.; et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2025**, *17*, 20261-20269. (DOI:10.1021/acsami.5c01169).

(9) 耐水性バイオベースフィルムの開発

(阪大院工) 宇山 浩、徐 于懿、菅原章秀

「目的」

セルロースナノファイバーは高強度かつ軽量の機能材料であるが、湿潤環境下ではヒドロキシ基と水分子との相互作用により繊維間の水素結合が阻害されることで強度が低下するといった課題がある。キトサン (CS) はセルロースに次いで二番目に多く存在する天然高分子であるキチンの脱アセチル化誘導体であり、生体適合性・生分解性を有するカチオン性多糖類である。本研究ではアニオン性の酸化セルロースナノファイバー (OCNF) とカチオン性の CS を複合化することで多糖類を基盤とした優れた耐水性を示す複合フィルムを開発する。

「結果と考察」

pH10 に調製した次亜塩素酸ナトリウム水溶液にセルロース粉末を添加し、pH 値を維持しながら 30℃で 1 時間反応させ、固形物を脱イオン水で洗浄後、ラボミキサーを用いて解繊することで 2wt%の OCNF 分散液を調製した。OCNF 分散液と、酢酸水溶液に溶解した 1wt%の CS 溶液を所定の比率で混合し、キャスト法により 25℃で一晩乾燥させることで OCNF/CS 複合フィルムを作製した。純水に浸漬したフィルムの経過時間ごとの重量変化を測定し、膨潤率を算出することで耐水性を評価した。OCNF の IR スペクトルには 1600 cm⁻¹付近に C=O 伸縮振動に由来するピークがみられたことから酸化反応によるカルボキシ基の導入が支持された。また、電気伝導度滴定により算出したカルボキシ基導入量は約 0.7 mmol/g であった。これらの結果から、セルロースの酸化反応の進行が支持された。OCNF 単体で作製したフィルムと OCNF/CS フィルムを純水に浸漬したところ、OCNF フィルムは浸漬後 15 分で 900%以上の膨潤率を示し、フィルムの形状を維持できなかった。一方、OCNF/CS フィルムの膨潤率はおおよそ 200%と低く、24 時間浸漬後においてもフィルムの形状に顕著な変化はみられなかった。これらの結果は、OCNF のカルボキシ基と CS のアミノ基との間でイオン性相互作用を形成することで、フィルムの膨潤を効果的に抑制したためであると考えられる。引張試験によって OCNF フィルムと CS フィルム、OCNF/CS フィルムの乾燥状態の機械的強度を評価したところ、OCNF/CS フィルムにおいて最大応力の著しい向上がみられた。このことから、OCNF/CS 間で形成されるイオン性相互作用がフィルムの機械的強度の向上に寄与していることが示された。

本研究成果に関する文献 : Enhanced physical properties and water resistance of films using modified starch blend with poly(vinyl alcohol), Yao, Y.; Hsu, Y. -I.; Uyama, H. *Industrial Crops and Products*, **2024**, 222, 119870 (DOI:10.1016/j.indcrop.2024.119870)

(10) 改質超分子有機多孔質材料の開発

(阪大院工) 藤内 謙光、中村 彰太郎

【目的】無機系の多孔質材料は古くから貯蔵、分離、精製、触媒など様々な用途で広く利用されてきた。一方でこの20年余り、高機能化の観点から有機分子をその構成要素に用いた有機多孔質材料の研究開発が精力的に行われている。さらに我々はそこに分解性、再生性を組み込むために超分子化学的なアプローチによって多孔質材料を設計構築している。本研究では、温室効果ガスである二酸化炭素を選択的に吸着分離することのできる多孔質有機塩の構築を目指す。さらに空孔表面を様々な元素や置換基で修飾することによって、ガス分子をはじめとする化学種への選択性の制御とそのメカニズムを解明する。

【結果と考察】本研究では、全有機構成要素からなるポーラス有機塩 (POS) の一種「ダイヤモンド状ポーラス有機塩 (d-POSS)」において、高い撥水性と水安定性を有するナノ空間の構築と、それによるプロトン伝導性の発現を初めて達成した。三種類のフッ素化トリフェニルメチルアミン誘導体 (TPMA-F、TPMA-2F、TPMA-3F) を合成し、テトラヘドラル構造のスルホン酸 (MTBPS) と組み合わせることで、フッ素密度の異なる3種の d-POS を構築した。特に TPMA-3F/MTBPS は、単位体積あたり 9.2 個/1000 Å³ という高いフッ素密度を持ち、ナノ空間の表面に密にフッ素原子を露出させた結果、通常の POS が水中で容易に構造崩壊を起こすのに対し、この構造は1週間の水浸漬にも耐える極めて高い水安定性を示した。さらにこの構造は、25°C・Pe/P0=0.90 の条件で 160 mL(STP)/g の水蒸気を吸着できることが示され、疎水性ナノ空間でありながら水分子を取り込めることが明らかになった。注目すべきは、このナノ空間に吸着された水分子がプロトン源として機能し、90°C・95%RH の条件下で 1.34×10^{-2} S/cm という、従来の全有機系材料を凌駕する高いプロトン伝導性を示した点である。活性化エネルギーの測定結果から、このプロトン伝導は水素結合ネットワークを介さない「ビークル機構」によるものと考えられ、これはフッ素によって表面の水素結合形成が抑制されたことによる。全有機系材料における高フッ素密度・高疎水性ナノ空間でのプロトン伝導の実現は初の成果であり、将来的には燃料電池の電解質膜や水中で使用可能な多機能性材料への応用が期待される。

1) Highly Fluorinated Nanospace in Porous Organic Salts with High Water Stability/Capability and Proton Conductivity, T. Ami, K. Oka, S. Kitajima, N. Tohnai, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2024**, e202407484 (10.1002/anie.202407484)

(11) 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、山下栄樹、松田真

[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」

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は、水中や土中などの自然環境に広く分布しており、健康な人の腸管などに保菌されていることも知られている。健康者には、通常、病原性を示さない弱毒細菌の一つであるが、一方で、感染防御能力の低下した患者においては病原性を発揮して、日和見感染症を引き起こす原因菌として問題となる。特に、複数の抗生物質に耐性を持つ多剤耐性緑膿菌による院内感染症の発生は、しばしば大きな社会問題となっている。緑膿菌の薬剤耐性化機構の1つとして、RND (Resistance-Nodulation-Division) 型の多剤排出トランスポーターの過剰発現が知られている。RNDトランスポーターは、内膜に存在して基質 (異物) 認識と薬剤排出を担うRND、外膜に存在しチャネルとして働くOuter Membrane Factor (OMF)、ペリプラズムにし、RNDとOMFをつなぐ役割を担うMembrane Fusion Protein (MFP) からなる三者複合体である。これまでの研究で、緑膿菌でもっとも多く発現し、研究が進んでいるMexAB-OprMの構造決定に成功しているが、さらにRNDトランスポーターファミリーにおける基質 (異物) 認識機構の特異性の解明を目指し、各種RNDタンパク質の構造解析を目指した研究を進めている。緑膿菌中には12種類のRND型薬剤排出トランスポーター複合体が存在しており、それぞれが多様な薬剤を排出する。それらの中でもMexXY-OprMは臨床試験で多用されているアミノグリコシド系薬剤を含む数種類の薬剤を排出することができる唯一のRND型トランスポーター複合体である。MexXY-OprMの薬剤認識の根幹を担うMexYに関しては、これまで結晶化の過程で機能体である三量体が解離した単量体としての結晶構造しか得られていない。そこでMexYの三量体構造及び薬剤結合型構造を解明することで薬剤の結合様式を明らかにすることを目的として研究を進めた。様々な条件で可溶化・精製を試みたが、野生型MexYが三量体を形成する条件を見つけることができず、三量体を安定化するFoldonとの融合タンパク質を用いることで、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析によりMexY三量体の構造を決定に成功した。

「文献」

Mori, Y.; Yamashita, E.; Nakagawa, A.; Matsuzawa, T.; Inagaki, M.; Aiba, Y.; Tanaka, S.; Hatori, S.; Maeda A.; Takeda S. Determination of the three-dimensional structure of bacteriophage Mu(-) tail fiber and its characterization. *Virology*, 2024, 583, 110017
doi: 10.1016/j.virol.2024.110017

(12) *Paenibacillus* 由来ベン毛モーター固定子複合体の構造解析

(蛋白質研究所) 加藤貴之、高崎寛子、大出真央

[目的]

細菌の運動を司るベン毛モーターは、回転運動を生み出す分子モーターの代表例であり、その構造と機能の解明は、細菌の感染メカニズムの理解や新規抗生剤の創出に直結する重要な課題である。ベン毛モーターは回転子と固定子から構成されており、特に固定子はイオンチャンネルとして機能し、外部からのイオン流を回転運動に変換する役割を担っている。しかし、これまで回転分子モーターはその“回転する”という性質から結晶化が困難で、構造解析には大きな困難が伴ってきた。近年、クライオ電子顕微鏡(cryo-EM)技術の進展により、高分解能での構造解析が可能となり、多くの回転モーター構造が報告されている。そこで本研究では、*Paenibacillus* sp. TCA20 由来の固定子タンパク質である MotA1/MotB1 複合体を対象に、cryo-EM を用いてその構造解析を行い、ベン毛モーターの動作メカニズムや薬剤標的としての可能性を探ることを目的とした。

[結果と考察]

本研究では、*Paenibacillus* sp. TCA20 由来の MotA1/MotB1 固定子複合体について、クライオ電子顕微鏡を用いて 3.2Å の高分解能での構造解析に成功した。解析の結果、3種類の異なるコンフォメーションを持つ構造モデルが得られ、そのうちの1つには、可溶化のために使用した界面活性剤が結合している様子が確認された。この界面活性剤の結合によって MotA1 サブユニットが大きく歪んでおり、構造の安定性や機能に影響を与えることが示唆された。特に注目すべきは、これまでに報告例のなかった、プロトン駆動型ベン毛モーターにおける基質様低分子の結合状態を初めて捉えた点である。この歪んだ構造からはモーターとしての機能は失われていると考えられ、基質結合が構造と機能に与える影響を直接的に示す重要な証拠となる。さらに、脂質の結合様式やそれに伴う構造変化は、プロトン駆動型ベン毛モーターに特化した新規抗生剤のデザインに向けた貴重な情報となる。今後は、この構造情報を基に、ベン毛モーター機能の制御を目的とした低分子の設計や抗菌作用の評価につなげていくことが期待される。

[文献]

Cryo-EM Structure of the Flagellar Motor Complex from *Paenibacillus* sp. TCA20, Sakura, O.; Nishikino, T.; Kinoshita, M.; Takekawa, N.; Minamino, T.; Imada, K.; Namba, K.; Kishikawa, J.-I.; Kato, T., *Biomolecules*, **2025**, 15(3), 435 (DOI:10.3390/biom15030435)

(13) MicroED 法による天然物構造解析

(阪大蛋白研) 栗栖源嗣、川本晃大

[目的]

MicroED (Microcrystal Electron Diffraction: 回転法による電子回折) 法は、電子顕微鏡を利用して粉末中に存在する 1 μm 未満の超微結晶から回折データを収集する方法である。X線回折法では粉末回折像しか得られないような微結晶試料からも単結晶回折パターンが得られ、複雑な天然物や合成有機分子の骨格などを構造決定できる。単結晶 X 線構造解析が困難な天然物等に着目し、MicroED 法で決定した構造の最適な精密化法の検討を目的とした。

[結果と考察]

MicroED 法は結晶化操作を必要とせず、粉末中にあるナノサイズの極微結晶から構造解析を行なうという利点を有するが、電子顕微鏡の制約から結晶を回転させる範囲に制限があるとともに、厚みのある試料からの多重散乱の影響が大きい。そこで少ない振動角でグリッド上の複数の結晶から自動で沢山の回折イメージを収集した後に、同型で多重散乱の影響の少ないイメージだけを使って構造解析する手法を開発した。R 値だけを指標とせず得られるポテンシャルマップを第一義に解釈し、CSD の既知構造の結合情報を制限情報として精密化する制限付き精密化法が現在のところ最も有効であることを示した^{1,2)}。

[文献]

1. P. Deka, S. Jaiswal, P. Sarma, D. Bora, T. Nakane, A. Kawamoto, Y. Ohnishi, G. Kurisu*, S. P. Mahanta*, K. Althubeiti, K. Ichiyanagi, T. Sasaki*, R. Thakuria*, Analysis of Solid-State Emission of the p-Bis(2,2-dicyanovinyl)benzene Analogue through Combined X-ray, Synchrotron, and Microcrystal Electron Diffraction. *Cryst. Growth Des.*, **24**, 7222-7234 (2024) (DOI: 10.1021/acs.cgd.4c00856)
2. D. Gogoi, T. Sasaki*, N. Kalita, T. Sethi, K. Ichiyanagi, T. Nakane, A. Kawamoto, D. Das, G. Kurisu*, T. Thakuria*, Tuning of a Hydrogen-Bonded Organic Framework by Liquid-Assisted Mechanosynthesis between Trans-Aconitic Acid and Isonicotinamide. *Chem. Eur. J.*, **31**, e202403427 (2025) (DOI: 10.1002/chem.202403427)