

(1) 高分子の一次構造制御に向けたカチオン共重合系の創出

(阪大院理) 金澤 有紘

[目的]

高分子合成において、分子量、末端構造、モノマー配列などの一次構造の精密制御は、優れた性質・機能を発揮する高分子の創出のために非常に重要であり、我々はこれまで、カチオン（共）重合系の開発による高分子の一次構造制御を目的に研究を行ってきた。本年度は、双環構造をもつスピロオルトエステル（SOE）とビニルエーテル（VE）のビニル付加・開環カチオン共重合による分解性・交互配列高分子の合成、環状エステルと環状ヘミアセタールエステルのカチオン開環共重合系の構築、VE・スチレン（St）類・アルデヒドの制御カチオン三元共重合による配列制御型分解性高分子の合成などを目的として研究を推進した。

[結果]

- [i] SOE と VE のカチオン共重合を適切な開始剤を用いて行くと、高頻度な交差生長反応を伴って進行し、交互に近い配列の共重合体が生成することを見出した。共重合体は VE から SOE への交差生長反応に伴うアセタール構造を主鎖にもつため、酸により低分子量化合物に分解された。また、オキシエチレン部位をもつ VE との共重合では、水溶性・温度応答性を示す共重合体が得られた。
- [ii] ϵ -カプロラクトンなどの環状エステルと五員環および六員環の環状ヘミアセタールエステルのカチオン開環共重合系を設計し、 $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ などの適切な酸触媒を用いることで、モノマー活性化機構とアセタール交換反応などの主鎖部位の交換反応による共重合が進行することを見出した。この手法により、酸により容易に分解される部位をもつポリエステルが合成された。
- [iii] VE, St 類, アルデヒドの反応性差に着目してモノマーを選択し、適切な条件下でカチオン三元共重合を行うことで、反応性差に応じて VE-アルデヒド交差部位と St 類-アルデヒド交差部位をブロック型やランダム型に主鎖に有する三元共重合体を合成する手法を設計した。これらの交差部位は異なる酸分解性を示すため、三元共重合体の選択的な酸分解についても見出した。

[文献]

1. Tanaka, I.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *Polym. Chem.* **2025**, *16*, 2211–2215 (doi.org/10.1039/D5PY00204D)
2. Higashibata, N.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *Polym. Chem.* **2025**, *16*, 3119–3128 (doi.org/10.1039/D5PY00255A)
3. Nomura, K.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *Macromolecules* **2025**, *58*, 7397–7405 (doi.org/10.1021/acs.macromol.5c01333)
4. Yamada, H.; Aoshima, S.; Kanazawa, A. *Macromolecules* **2025**, *58*, 8225–8234 (doi.org/10.1021/acs.macromol.5c01350)

(2) 金属蛋白質活性部位の特異な疎水的環境に関する研究

(阪大院理) 鬼塚 清孝、岡村 高明

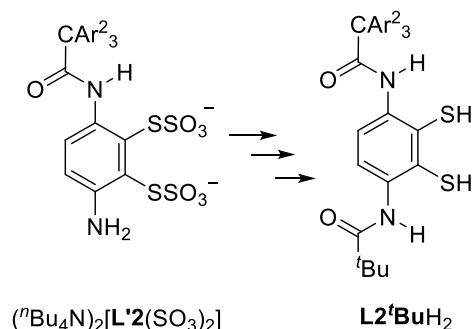
[目的]

高機能高分子錯体である金属蛋白質は、水中であっても、その活性中心を疎水的環境にすることで、水素結合のような弱い相互作用を効果的に保ち、活性な準安定構造を維持している。このような疎水的環境（疎水空間）が、基質の取り込み、認識や活性化を行う特異な反応場を創り出している。活性中心のみを再現した低分子モデル錯体の反応性は酵素に遠く及ばず、周辺の蛋白質が創り出す反応場が重要である事は言うまでもない。本研究は、金属蛋白質活性部位の疎水空間、配位子、立体障害、水素結合などの要素を抽出し、緻密な設計により再現したモデル錯体を合成し、金属蛋白質の高機能の起源や活性制御機構を明らかにする事を目的とする。

[結果と考察]

モリブデン酵素である亜硫酸オキシダーゼ (SO)、キサンチンオキシダーゼ (XO) のモデル錯体の合成に重点を置いて研究を進めた。新たな試みとして SO、XO 活性部位近傍のアミノ酸残基側鎖（活性制御官能基と呼ぶ）を含む配位空間の再現を目指し、非常に嵩高い疎水性アシルアミノ基を用いて溶解度の向上と反応性制御を行うことで新奇非対称ベンゼンジチオラート配位子の合成を検討した。最初にアミノ酸ではなく取り扱いが容易なピバロイル基で合成方法の確立を行った。適切な嵩高さを持つ Ar^2 (3,5-ジイソプロピルフェニル基) を用いることで片方のみ非常に嵩高い疎水性アシル基を持つ $(^n\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{L}'\mathbf{2}(\text{SO}_3)_2]$ が単離でき、これを非対称ジチオラートへと変換した（下図）。目的のジチオール $\text{L}\mathbf{2}'\text{BuH}_2$ の単離に成功したが、嵩高さが比較的小さい $^t\text{BuCONH}$ 基は隣接するチオールとの間で徐々に脱水・環化反応が進行しベンゾチアゾール骨格へと変換された。ジチオールと $(\text{Et}_4\text{N})_2[\text{MoO}_4]$ から脱水反応で $(\text{Et}_4\text{N})_2[\text{MoO}_3(\text{L}\mathbf{2}'\text{Bu})_2]$ が生成するが、僅かに残存した水で $(\text{Et}_4\text{N})[\text{L}\mathbf{2}'\text{BuH}]$ と $1/2(\text{Et}_4\text{N})_2[\text{Mo}_2\text{O}_7]$ を与え、単離には至らなかった。

別途合成した $(\text{Et}_4\text{N})[\text{L}\mathbf{2}'\text{BuH}]$ と $(\text{Ph}_3\text{C})(\text{BF}_4)$ を用いる水を副生しない合成法によりモデル錯体の単離が行えると期待できる。



(3) 超分子科学的相互作用を駆使したスマートポリマーの創製

(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きた。本年度は環状分子と線状分子からなる特殊形状超分子錯体の高収率合成法を構築した。

【結果と考察】 線状分子が環状分子を貫通し、その両端にかさ高い部位を結合させることで環状分子が外れないようになった分子集合体(ロタキサン)は、最も基本的な機械的連結分子の一つであり、分子モーター、分子コンピュータやドラッグデリバリーシステムへの展開が期待されている。1967年に最初のロタキサン合成がされて以来、図 1a に示したようないくつかのロタキサン合成戦略が確立された。しかし、これらの方法論でのロタキサン収率は高くなく、簡便性、効率性、機能性を兼ね備えたロタキサン合成法は未だ改良の余地がある。我々は刺激応答によるトポロジー変換を介して、ロタキサンにおける機械的連結と解錠を可逆的に実現する方法論(図 1b)を構築した。このロタキサン合成法の適用により 99%以上の変換率と 92%の単離収率を達成することに成功した。

本研究で設計した環状分子は、UV 照射により 8 の字型の環へとトポロジー変換を起こす。結果として生じる小さな空洞は環状分子が線状分子末端から滑り出ることを阻止する。このワンポットでのロタキサン化は、触媒やストッパーなどの外部試薬を添加することなく高変換率・高単離収率で進行することがわかった。逆に、熱によって誘発される逆トポロジー変換は環状分子の空洞サイズの拡大を

もたらすため、機械的解錠を誘発してロタキサンを擬ロタキサンに戻すことができた。

本研究で開発したトポロジー変換法は、複雑な機械的インターロック構造体の創製を可能にし、熱や光などの外部刺激に応答して作動する分子マシンや新規超分子材料の構成ユニットとして利用できると期待している。

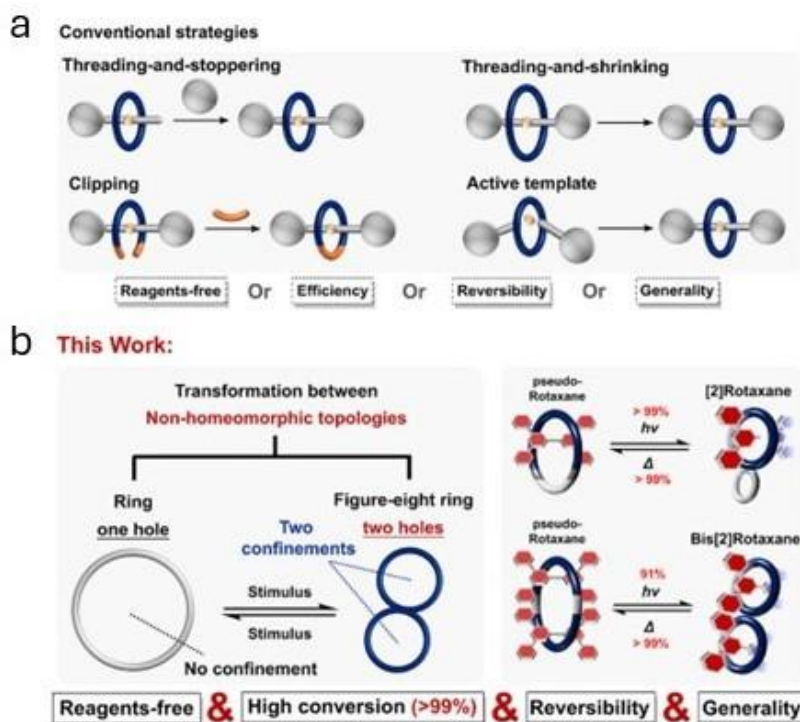


図 1. 従来のロタキサン合成法(a)と本研究におけるロタキサンの可逆的合成法(b)

本研究成果に関する文献: Reversible Mechanical Interlocking via Stimuli-Triggered Nonhomeomorphic Topology Transformation Enables Highly Efficient Rotaxane Synthesis, Xiao, C.; Li, X.; Okamoto, N.; Kobayashi, Y.; Nishiuchi, T.; Tani, Y.; Yamaguchi, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2025**, 64, e202513783 (DOI:10.1002/anie.202513783)

【目的】本研究では、環境負荷の低い高性能補強材料の設計指針を得ることを目的として、セルロースナノクリスタル (CNC) やカーボンナノチューブの高分子中での補強機構を検討した。特に、繊維を単なる剛直棒状フィラーとして扱うのではなく、熱運動により揺らいだ半屈曲性高分子として捉え、その内部緩和がポリスチレン (PS) 複合材料の粘弾性に及ぼす影響を明らかにすることを目指した。

【結果と考察】PS をマトリックスとし、CNC 含有量の異なる複合フィルムを作製して、動的粘弾性、動的複屈折、DSC 測定を行った。DSC では、CNC を 15 vol% まで添加してもガラス転移温度はほとんど変化せず、PS と CNC の間に強い特異的相互作用は認められなかった。一方、比熱容量の低下から、CNC 表面近傍に運動性の低いガラス化ポリマー相が形成されることが示唆された。

動的粘弾性測定では、CNC の添加により複素弾性率が増加し、特にゴム状領域で顕著な補強効果が観察された。低濃度では補強は比較的小さいが、1 vol% 付近から CNC 同士の重なりまたは接触に由来する第二平坦部が現れ、緩和の遅延が明瞭となった。さらに、ガラス-ゴム転移領域では CNC 濃度の増加に伴って G' と G'' の周波数依存性が近づき、半屈曲性高分子に特徴的な張力モードの寄与が強まることが分かった。従来の Halpin-Tsai 型の補強理論は CNC を剛直棒として扱うため、実験で観察された緩和時間の広がりや周波数に依存した補強を十分に説明できなかった。これに対し、Morse 理論を粘弾性媒質中の半屈曲性高分子へ拡張して解析すると、CNC の熱揺らぎに起因する張力モードが主要な補強因子であることが明らかになった。

繊維としてカーボンナノチューブ SWCNT を用い、結果の普遍性を調べた。類似の結果が得られたが、ガラス状領域の補強効果は小さく、SWCNT の弾性率が高くないことが示唆された。

本研究成果に関する文献：Dynamic Viscoelastic Properties of Polystyrene Composites Reinforced with Cellulose Nanocrystals, Hiroaki NOBUOKA, Reina TANAKA, Osamu URAKAWA, Tadashi INOUE, *Macromolecules* 2025, **58**, 1380–1389 (DOI: [10.1021/acs.macromol.4c03221](https://doi.org/10.1021/acs.macromol.4c03221))

(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、高分子が発現する特異な物性や機能の本質を明らかにすることを目的とし、構造が厳密に制御された精密高分子の設計・合成を行っている。特に、銅(I)触媒アジド・アルキン環化付加 (CuAAC) 反応を基盤とする高密度 1,2,3-トリアゾール骨格ポリマーの創製に注力している。本年度は、側鎖にアミノ酸残基を導入した新規水溶性高密度トリアゾールポリマーを設計し、重金属イオンとの相互作用および吸着特性を明らかにすることを目的とした。とりわけ、システイン残基を有するポリマーを合成し、カルボキシ基・チオール基・トリアゾール骨格が協同して金属イオンと相互作用する可能性を検証した。

[結果と考察]

本研究では、トリチル基と *t*-ブチル基でそれぞれチオール基とカルボキシ基を保護した *N*-(4-アジド-5-ヘキシノイル)システインの CuAAC 重合により高密度トリアゾールポリマーを合成した。保護基の除去および中和により、水溶性のナトリウム塩 poly(AC)Na を得た。比較対象としてポリ(4-アジド-5-ヘキシノ酸ナトリウム) (poly(AH)Na) も用いた。Tris-HCl 緩衝液中において、限外ろ過とカドミウム比色定量法を用いて Cd^{2+} 吸着量を評価した。その結果、poly(AC)Na および poly(AH)Na の Cd^{2+} 吸着容量は 4.8 および 10 mmol g^{-1} に達し、既報の吸着材料と同等以上の値を示した。また、モノマー単位あたりの Cd^{2+} 結合数は、チオール基とカルボキシル基のみでは説明できない高い値を示したことから、高密度トリアゾール骨格の金属結合部位としての寄与が示唆された。 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} との相互作用を等温滴定熱量測定により解析したところ、poly(AC)Na および poly(AH)Na と Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} の解離定数は $10^{-5} - 10^{-4} \text{ M}$ で、グルタチオンなどの生体金属結合分子に匹敵する結合強度を示した。さらに、透過率測定の結果、poly(AC)Na では Cd^{2+} の添加によりポリマー鎖間の会合が進行し、相分離が生じたのに対し、poly(AH)Na では Zn^{2+} の添加により相分離が生じた。この結果は、分子設計によって金属イオン選択性が制御できることを示している。

[文献]

1) Ejima, R.; Nakahata, M.; Kamon, Y.; Hashidzume, A. *J. Polym. Sci.* **2025**, 63 (7), 1570-1579 (DOI: 10.1002/pol.20240752).

(6) 高輝度単量体赤色蛍光蛋白質の開発

(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といった生体深部のイメージングには、光毒性が低く組織透過性に優れる長波長の単量体蛍光蛋白質が適する。しかし、天然赤色蛍光蛋白質 (RFP) は 4 量体である上に暗く、天然 RFP に基づいて変異導入により開発された既存の RFP も単量体化したものは暗い。我々は緑色蛍光蛋白質 (GFP) である AzamiGreen に 29 個の変異を導入することで明るい人工 RFP (AR1.0) の作成に成功した。しかし AR1.0 は 4 量体であり、これを単量体化した mARs1 は天然 RFP に基づいた蛍光蛋白質と同様に暗くなる。そこで、単量体化した人工 RFP の結晶構造解析および構造に基づく変異導入実験により、単量体化により暗くなる原因を解明し、高性能 RFP の創出へつなげることを目的とした研究に取り組んだ。

【結果と考察】

AzamiGreen の単量体化で用いられた変異と同じ 3 残基の変異を AR1.0 に導入すると、単量体化したものの蛍光は喪失した。ここに 18 残基の変異と C 端側の 7 残基を除去することで赤色蛍光を回復した mARs1 (蛍光 peak 波長 : 598 nm) を得た。しかし、mARs1 の量子収率は AR1.0 の 40% まで落ちた。そこで、これらの結晶化を行ったところ、3 残基の変異で蛍光を喪失した変異体の結晶は得られなかったが、mARs1 は様々な溶液条件から結晶が析出し、pH7.5 で結晶化した赤色の結晶について 2.02 Å 分解能で構造解明に成功した。mARs1 は F63 と蛍光団の間に主鎖が切断されていて AR1.0 と異なる蛍光団が生成していた。この蛍光団の構造は、イソギンチャクの蛍光蛋白質 asFP595 から作成された KFP と類似していた。主鎖切断の進行が pH や時間経過の影響を受けないことから、mARs1 の蛍光団は AR1.0 とは違った経路で形成されと考えられる。結晶構造から Y84、Q106、S108 が主鎖の切断に関わると考えられた。現在、これらの残基に変異を導入し、mARs1 の蛍光団形成の鍵となる残基の特定を進めている。また、以前より取り組んでいるべん毛蛋白質輸送装置の構造に関する論文が掲載された¹。

【文献】

1. A β -cap on the FlpQ protein-export channel acts as the cap for initial flagellar rod assembly. Kinoshita, M.; Miyata, T.; Makino, F.; Imada, K.; Namba, K.; Minamino, T. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **2025**, *122*, e2507221122. (DOI: 10.1073/pnas.2507221122)

(7) 両親媒性多糖誘導体の合成とミセル構造形成

(阪大院理) 寺尾 憲・高橋倫太郎

[目的]

無水コハク酸により両親媒性が付与された多糖誘導体は、オクテニルコハク酸デンプンに代表されるように、界面活性剤や乳化剤として広く利用されている。しかし、従来の合成法では水系媒体中での不均一な反応により、形成されるミセルの構造分布が広くなり、詳細な構造解析が困難であるという課題があった。本研究では、多糖のカルバメート誘導体合成に用いられる溶媒系を適用することで、プルランにデシルコハク酸 (DSA) を導入した PulDS を新たに合成し、構造が精密に制御された均一なミセル形成を試みた。解析にあたっては、小角 X 線散乱 (SAXS) を中心とした溶液散乱実験および SEC-MALS を用い、化学構造や外部環境 (pH) がミセルの凝集形態に与える影響を分子レベルで明らかにすることを目的とした。

[結果と考察]

SAXS 測定の結果、PulDS は水溶液中において、一本のポリマー鎖に複数の疎水性コアが連なったフラワーネックス型ミセルを形成していることが明らかになった。散乱データの解析により、疎水性コアの周囲を両親媒性の PulDS 鎖がループ状に覆う花型ミセル構造が特定され、このモデルを用いることで実験データが正確に再現された。本手法で合成された PulDS は、従来の多糖誘導体と比較して極めて狭い粒径分布を有しており、ユニットミセルのサイズは多糖主鎖の長さや置換度に依存せずほぼ一定であった。また、水溶液の pH を 7 から 10 に変化させたところ、糖の水酸基の一部が部分的にイオン化することに伴い、より小さなミセルへと変化する挙動が観測された。この多糖誘導体は疎水性の高いデシル基を持ちながら、同時に導入されたカルボキシ基の負電荷による静電反発と疎水性相互作用のバランスにより、異なる pH 条件下においても安定なナノ構造を保持していることが示唆された。

本研究成果に関する文献 : Highly soluble and well-defined polysaccharide-based micelle in aqueous media: Decyl succinic anhydride-modified pullulan. Suenaga, R.; Komuro, Y. Terao, K. *Carbohydr. Polym.*, **2025**, 358, 123504. (DOI: [10.1016/j.carbpol.2025.123504](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123504))

(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、高分子鎖間に導入した可動性架橋 (movable cross-links) により、力学特性と分解性を両立する高分子材料の設計を目的とする。特に、シクロデキストリン (CD) を基盤とした可動性架橋構造に着目し、分子運動性および高分子構造の制御を通じて、材料の高強度化と資源循環性の統合を目指す。2025 年度は、(1) 可動性架橋と酵素反応を組み合わせた高分子の分解・再資源化、(2) 構造設計に基づく力学特性および機能性の制御、について検討を行った。

【経過】(1) 可動性架橋と酵素反応を組み合わせた高分子資源循環系の構築
可動性架橋を導入したポリウレタンに対し酵素反応を適用し、分解と再構築を統合した材料設計を検討した。CD の嵩高い構造により高分子鎖の凝集が緩和され、酵素分解効率が向上することを明らかにした。さらに、反応条件の制御により分子量が一時的に増加し、力学特性が向上する酵素的強化を見出した。これにより、分解、再重合 (リサイクル) およびアップサイクルが可能な高分子資源循環系を構築した。

(2) 可動性架橋高分子の構造—物性相関と多機能化

可動性架橋ポリウレタンにおいて、化学構造を系統的に設計することで、力学特性および分解性の制御を検討した。少量の可動性架橋の導入により、エネルギー散逸が促進され、強度と伸長性を同時に向上できることを明らかにした。また、ポリマー構造の設計により、剛直材料から高伸長材料まで特性制御が可能であることを示した。さらに、形状記憶や接着などの機能を付与し、多機能高分子材料としての展開可能性を示した。

1. Liu, J.; Ikura, R.; Yamaoka, K.; Sugawara, A.; Takahashi, Y.; Kure, B.; Takenaka, N.; Park, J.; Uyama, H.; Takashima, Y. *Chem* **2025**, *11*, 102327. (DOI:10.1016/j.chempr.2024.09.026)
2. Liu, J.; Yamaoka, K.; Ikura, R.; Sugawara, A.; Takahashi, Y.; Kure, B.; Takenaka, N.; Uyama, H.; Takashima, Y. *Macromolecules* **2025**, *58*, 12306-12316. (DOI:10.1021/acs.macromol.5c02606)

(9) タンニン酸添加による脂肪族ポリエステルの物性制御

(阪大院工) 宇山 浩、徐 于懿、菅原章秀

「目的」

ポリ(ϵ -カプロラクトン) (PCL) に代表される脂肪族ポリエステルは、優れた生分解性と加工性を有する環境低減型の高分子材料として期待されている。しかし、多くの脂肪族ポリエステルはガラス転移温度 (T_g) が室温以下と低いため、アモルファス相の分子運動性が高く、広範な温度域での熱的安定性や機械的強度の維持に課題がある。一般に T_g の上昇には化学架橋や充填剤の導入が検討されるが、本研究では天然由来の多価フェノールであるタンニン酸 (TA) に着目した。TA は多数のフェノール性水酸基を有し、様々な物質と強力な水素結合を形成する特性を持つ。本研究の目的は、TA を高性能添加剤として脂肪族ポリエステルに熔融混練により導入し、ポリエステルのカルボニル基と TA の水酸基との間に多点的な水素結合ネットワークを形成させることである。これにより、分子鎖の運動性を物理的に拘束し、材料の熱的性質を飛躍的に向上させるとともに、TA 由来の機能付与を行う手法の確立を目指す。

「結果と考察」

PCL、ポリブチレンアジペートテレフタレート、ポリブチレンサクシネート、ポリ(3-ヒドロキシ酪酸-co-3-ヒドロキシヘキサン酸)、ポリ乳酸 (PLA) の 5 種類の脂肪族ポリエステルに対し、TA を 10 phr 添加して熔融混練を行った。DMA の結果、PLA を除く全ての試料において TA の添加に伴う T_g の顕著な上昇が確認された。特に PCL では、 T_g が約-60°Cから約-10°Cへと 50°C近く上昇した。これは TA のフェノール性水酸基とポリエステルのカルボニル基との間に形成された強固な水素結合が物理的な架橋点として機能し、アモルファス相の分子運動を効果的に抑制したためである。DSC 測定では、TA 添加量の増大に伴い PCL の結晶化温度および結晶化度が低下する傾向が見られた。これは強固な水素結合ネットワークが分子鎖の再配列を阻害したことを示唆している。引張試験では、TA を 20 phr まで添加しても純粋なポリエステルと同等の機械的強度を維持することを確認した。生分解試験では、TA の親水性により水接触角は低下したものの、TA を 20 phr 添加した PCL の重量減少率は 8 日間で 0.9% (未添加は 27%) と、分解が劇的に抑制された。これは高密度のネットワーク形成が分解酵素のアクセスや分解生成物の溶出を物理的に遮断したためと考えられる。さらに、TA 由来の優れた抗菌性や抗酸化能の付与も確認され、熱的安定性と多機能性を両立した複合材料の創製に成功した。

Effects of the Addition of Tannic Acid on the Mechanical and Thermal Properties of Biodegradable Polyesters, M. Hayashi, A. Sugawara, Y.-I Hsu, H. Uyama, J. Networkpolym. Jpn., 2025, 46, 196-201, https://doi.org/10.11364/networkedpolymer.46.4_196

(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】ABDS と TPMA-COOH_x から成る有機塩を再結晶することで、ダイヤモンドネットワークを有する4種類の多孔質有機塩 (*d*-POS) を得た。単結晶 X 線構造解析から、TPMA/ABDS と TPMA-COOH¹/ABDS は同形構造であることが確認された。さらに、TPMA-COOH₂/ABDS、TPMA-COOH₃/ABDS は *d*-POS の母骨格とは別にカルボキシ基同士が水素結合を形成した構造が構築され、それぞれ 57.5%、52.1% の高い空隙率を有していた。全ての TPMA-COOH_x/ABDS で別の構造が構築された一方で空孔表面にはカルボキシ基が露出していることが判明した。

NH₃ ガスの吸着能と選択性を確認するため、ガス吸着測定 (298 K / NH₃, H₂O, CO₂, N₂, O₂, H₂) を行った (Fig.1)。結果として、NH₃ 吸着量はカルボキシ基導入後に大幅に上昇した。特筆すべきは、TPMA-COOH₃/ABDS では NH₃ 吸着量が 238 mL (STP) g⁻¹ に到達した。さらに、N₂, O₂, H₂ はほとんど吸着されず、CO₂ 吸着量もわずか 12.6 mL (STP) g⁻¹ であり、TPMA-COOH₃/ABDS は大きな NH₃ 吸着量を示す他の有機多孔質材料と比べても NH₃ の選択性が非常に高いことが判明した。(Submitted)

特願 2025-014920

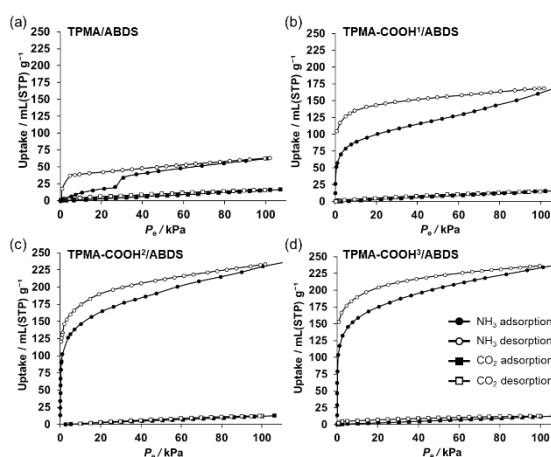


Figure 1. NH₃ and CO₂ adsorption/desorption isotherms of (a) TPMA, (b) TPMA-COOH¹, (c) TPMA-COOH², (d) TPMA-COOH³/ABDS (298 K).

(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。健常者には、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。我々は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た。これまでMexBの結晶構造は数多く報告されてきたが、抗生物質と結合したMexBの構造は報告されていなかった。本研究では、結晶化条件を見直し、弱塩基性条件下で得られた結晶を用いてクロラムフェニコールと結合した結晶構造を得た。クロラムフェニコール結合型構造において、クロラムフェニコールは結合プロトマー内の遠位結合ポケット(DBP)の奥深くに結合している(図1)。この構造に基づき、クロラムフェニコールと接触するDBP残基を特定し、MexBの1残基変異体を用いたin vitroクロラムフェニコール耐性アッセイで、それらの寄与を評価した。これらの置換は、クロラムフェニコール、ミノサイクリン、レボフロキサシン、および界面活性剤CYMAL-7の存在下での細胞増殖を減少させた。これらの結果により、DBPの奥深くにあるMexB特異的な認識サブサイトを同定し、MexBがクロラムフェニコールやその他の化学的に多様な基質の認識機構の一端を明らかにした。

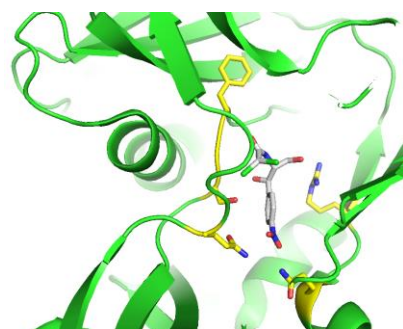


図1 MexB とクロラムフェニコールの結合構造(PDB ID: 21FP). クロラムフェニコールと接触する残基を黄色で示す。

(12) S1PR3 における G タンパク質選択性機構の構造解析

(蛋白質研究所) 加藤貴之、高崎寛子、大出真央

[目的]

スフィンゴシン-1-リン酸受容体 3 (S1PR3) は、脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) を認識する G タンパク質共役型受容体 (GPCR) の一種である。S1PR3 は血管機能の調節や免疫応答の制御、さらには炎症反応など多岐にわたる生理プロセスに関与しており、有力な創薬標的として注目されている。GPCR は細胞外のシグナルを細胞内の G タンパク質へと伝達する際、特定のサブタイプの G タンパク質を選択的に認識・活性化するが、S1PR3 がどのようにして Gq タンパク質を特異的に認識し、シグナルを伝達するのか、その詳細な分子機構は十分に解明されていなかった。本研究では、ヒト由来 S1PR3 と Gq タンパク質複合体の構造をクライオ電子顕微鏡 (cryo-EM) を用いて高分解能で解析し、受容体による G タンパク質選択性の決定要因および活性化メカニズム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、ヒト S1PR3 と Gq タンパク質複合体の cryo-EM 構造解析を行い、その詳細な立体構造を明らかにした。解析の結果、S1P が結合した活性型受容体の細胞内領域に形成されるポケットに対し、G α q サブユニットの C 末端 (α 5 ヘリックス) が深く嵌入して相互作用している様子が捉えられた。特に、受容体の細胞内ループやヘリックス領域と G α q サブユニットとの間に形成される特異的な結合界面が、他の G タンパク質サブタイプではなく Gq を選択的に認識するための決定因子であることが示された。また、リガンドである S1P の結合に伴い、受容体のトランス膜ヘリックスが大きく再構成されることで細胞内側に G タンパク質結合ポケットが形成される、GPCR 特有の活性化メカニズムも構造的に実証された。既知の S1P 受容体ファミリー (S1PR1 等) との比較解析からは、S1PR3 に特有のアミノ酸残基が Gq 選択性に寄与していることが示唆された。これらの知見は、GPCR のシグナル伝達における選択性決定の理解を深めるだけでなく、S1PR3 を標的とした副作用の少ない高機能な新規治療薬のデザインに向けた重要な構造基盤を提供するものである。

[文献]

Structural basis for Gq coupling selectivity of sphingosine-1-phosphate receptor 3, Yamauchi, M.; Im, D.; Maeda, S.; Ikuta, T.; Toyomoto, M.; Asada, H.; Sugita, Y.; Kishikawa, J. I.; Noda, T.; Kato, T.; Inoue, A.; Iwata, S.; Hagiwara, M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2025, 122(47), e2507421122 (DOI: 10.1073/pnas.2507421122).

(13) 植物型フェレドキシンの中性子構造解析

(阪大蛋白研) 栗栖源嗣、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、水素原子の位置を可視化することは難しい。そこで原子番号に依存せずに重水素原子が炭素原子と同等の原子散乱長を示す中性子構造解析を行い、酸化還元に伴う Fd に依存した電子伝達を厳密に記述することを目的とした。

[結果と考察]

好熱性藍藻 *Thermosynechococcus vestitus* がもつ Fd をサンプルとして中性子回折用の大型結晶を作成した。酸化型 *T. vestitus* Fd については 1 mm³ 以上の大型結晶の作成に成功し 1.1 Å 分解能という極めて高分解能で回折データを収集できた。鉄硫黄錯体周りの水素原子の位置を実験的に初めて特定し、Fd の酸化還元電位の調節に重要な[ND (H)...S]水素結合や酸化還元に伴い変化すると考えられている水素結合ネットワークを確認した。しかし、還元型の大型結晶の作成と回折実験には至っておらず継続して実験中である。そこで、大型の還元型 Fd 結晶が得られる前に、常温性藍藻 *Anabaena* PCC7119 がもつ Fd の酸化型と還元型 X 線構造 (既報だが水素原子の位置は推測) を用いた分子動力学シミュレーションにより、1 電子還元に伴う構造変化を予測した。14.6 μs の長時間シミュレーションにより、Cys46 と Ser47 の間のペプチド結合のフリップや C 末端の短いヘリックスの運動性が著しく上昇する事を見出した¹⁾。

[文献]

1. T. Nakayoshi, Y. Ohnishi, H. Tanaka, G. Kurisu, Y. Takano*, Reduction-induced Structural and Motional Changes of Plant-Type Ferredoxin Using Molecular Dynamics and Umbrella Sampling Simulation. *J. Comput. Chem.*, **46**, e70180 (2025) (DOI:10.1002/jcc.70180)