



業績紹介：自己集合のメカニズムを明らかにする新手法
— 金属錯体型分子カプセルの形成における律速段階の解明 —

“Rate-determining Step in the Self-assembly Process of
Supramolecular coordination capsules”

Yuya Tsujimoto, Tatsuo Kojima, and Shuichi Hiraoka

Chem. Sci., in press (2014) DOI: 10.1039/c4sc01652a

平岡秀一

(東京大学大学院総合文化研
究科・A02 計画研究代表者)



自己集合は生命の機能発現に欠かせない現象の一つである。また、物質開発においても精巧なナノ構造を効率よく形成するために必要不可欠な技術である。自己集合体は構成要素となる分子間に働く相互作用により安定化されていることから、その形成の多くは熱力学安定性から説明される。一方、それぞれの構成要素がどのように集まり、最終的な構造体を導くかという「自己集合のメカニズム」については、特別な場合を除き、殆ど未解明のままである。自己集合過程を最も直接的に調べるためには、途中で生成する種「フラグメント種」を時間追跡すればよいが、自己集合では、多数のフラグメント種が生成し、これらの寿命が短いことに加え、さらにそれらの構造が最終生成物に比べ低対称化されていることが多いことから、分光学的にフラグメント種を定量することは実質的に不可能である。本研究では、金属錯体型の自己集合におけるメカニズムを追跡するための新手法を開発し、カプセル状の分子の律速段階を明らかにすることに成功した。

上記のように、フラグメント種を追跡することが難しいことから、我々はフラグメント種以外の全ての種を定量することで、ある時刻に存在するフラグメント種の平均組成を明らかにし、これの時間変化を追跡することで自己集合のメカニズムを明らかにできないかと考えた。この方法では、フラグメント種を直接調べる必要がなくなった反面、得られるデータは「フラグメント種の平均組成」となることに注意が必要である。原理的に本手法の適用範囲は広いが、本研究では金属錯体型自己集合体の形成メカニズムに対する適用性を検証した。配位結合を利用した自己集合は東京大学の

藤田誠先生が配位結合の特異な方向性と可逆性に着目し、世界に先駆けてその有用性を示した手法で、その後多くの研究者がこの手法により自己集合体を開発している。通常この自己集合系では、金属イオン(M^{n+})と有機多座配位子(L)を構成要素として用いるが、本研究では、フラグメント種以外の全てを定量するために、金属イオンに分光学的に追跡可能な単座配位子を結合した単核錯体を利用する点がポイントである。これにより、NMR 測定によりフラグメント種以外の全 4 成分が追跡可能となる。この解析手法を筆者らが以前に報告した正八面体型 Pd_6L_8 錯体に適用したところ、その律速段階が構造体形成の最終段階であることが明らかとなった。また、有機配位子のわずかな構造変化により律速段階が変化することも明らかとなった。今後は律速段階のみならず、自己集合経路の解明を進め、本手法を様々な自己集合性錯体へ適用するとともに、新規自己集合体の開発へ展開したいと考えている。

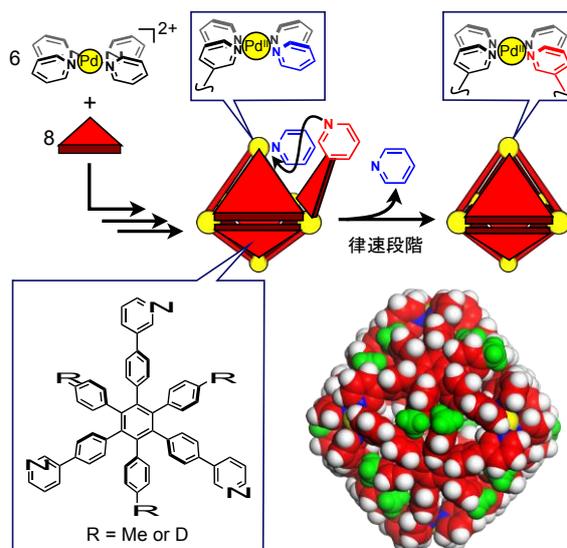


図 1: 有機三座配位子と Pd(II)イオンから形成される正八面体型 Pd_6L_8 錯体の形成とその律速段階



業績紹介:新しい有機リチウム試薬の開発と
ヘキサフェニルベンゼン骨格の実用的な選択的交互型修飾法の確立

" Mesityllithium and *p*-(dimethylamino)Phenyllithium

for the Selective Alternate Trilithiation of the Hexaphenylbenzene Framework "

Tatsuo Kojima, and Shuichi Hiraoka

Chem. Commun., in press (2014) DOI: 10.1039/c4cc04520c

平岡秀一

(東京大学大学院総合文化研究科・A02 計画研究代表者)



我々は、ヘキサフェニルベンゼン (HPB) を基本骨格とした歯車状分子が水中で、疎水効果と van der Waals 力を駆動力として自己集合し、箱型 6 量体”ナノキューブ”を一義的に形成することを見出している (図 1)。本領域ではさまざまな歯車状分子を設計し、会合挙動の詳細な理解や生体系におけるナノキューブの活用を目指している。

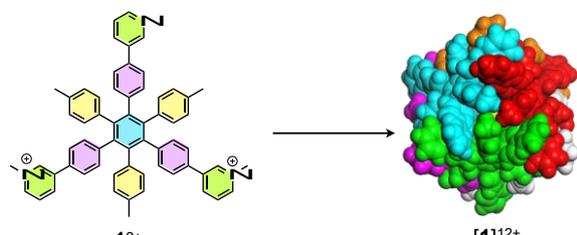


図 1: 6 つの歯車状分子からなるナノキューブの形成

この歯車状分子の特徴的な会合挙動は、HPB 骨格の交互型の置換様式に由来している。しかし、このような置換様式は従来の合成手法では構築が困難であった。最近我々はこの制約を取り払うべく、HPB 骨格の選択的交互型修飾法 (図 2a) を開発した (*Org. Lett.* **2014**, *16*, 1024 および本 Newsletter vol.4)。この反応は、臭素化された HPB 誘導体に対し、有機リチウム試薬として *t*-BuLi を加えることで、HPB 骨格の 6 つの末端のうち、交互型になるように 3 つの末端を選択的に Li で置換して活性化する方法である。しかし、この反応は、(1) 電子供与性の置換基を有する分子には適用できない、(2) 空気に触れると容易に発火する危険試薬 *t*-BuLi を用いなければならない、(3) リチウム試薬の当量の厳密な制御が必要である、など改良の余地を残していた。

今回我々は *t*-BuLi に代わる新しい有機リチウム試薬として、メシチルリチウム (MesLi) と *p*-(ジメチルアミノ)フェニルリチウム (MapLi) を開発した (図 2b)。これらの有機リチウム試薬は、ベンゼン環上に導入された置換基によってその反応性が調節されており、反応系における十分な安定性と高い反応性をあわせ持っている。これらの試薬を用いることで、*t*-BuLi を用いた従来法が適用できなかった、電子供与性の置換基を有する HPB 誘導体に関しても、選択的交互型修飾に成功した。また、MapLi は他の有機リチウム試薬とは異なり、必要量以上の試薬を加えても、HPB 骨格の 4 カ所目の Li 置換が起こらないという特異的な反応性を有することを見出した。この知見をもとに、我々は、*t*-BuLi の使用、および有機リチウム試薬の厳密な当量制御を回避した、迅速かつ安全な実用的手法の確立に至った (特許出願中)。本手法により、我々の研究の要である、歯車状分子の分子デザインの幅が大きく広がったとともに、合成が大きく効率化され、歯車状分子の会合挙動解明や新しいナノキューブ創製へ向けて大きく弾みがついた。

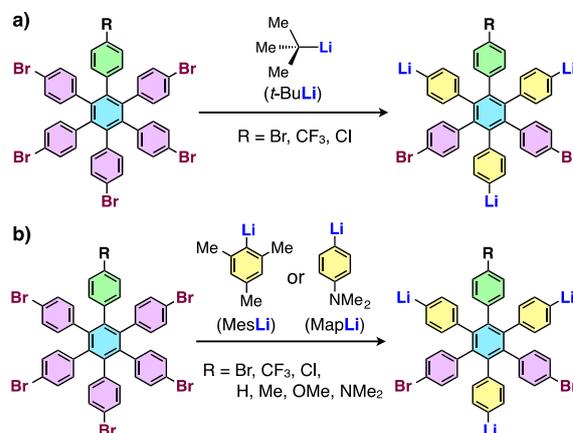


図 2: HPB 骨格の選択的交互型修飾の従来法 (a) と改良法 (b)



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 12

August, 2014

業績紹介：1 ナノメートルの人工分子マシン1個を「見て、触る」： 光学顕微鏡による1分子モーションキャプチャ

"Motion Capture and Manipulation of Single Synthetic Molecular Rotors by Optical Microscopy"

Tomohiro Ikeda, Takahiro Tsukahara, Ryota Iino, Masayuki Takeuchi, and Hiroyuki Noji

Angew. Chem. Int. Ed., in press (2014) DOI: [10.1002/anie.201403091](https://doi.org/10.1002/anie.201403091)

飯野亮太

(自然科学研究機構・
岡崎統合バイオサイエンス
センター・A02 公募研究代表者)



直径数 100 nm の比較的大きなビーズを生体分子マシンの可動部分にとりつけ、ビーズの動きを介して生体分子マシンの運動を検出する「ビーズプローブ光学顕微鏡1分子運動計測法(1分子モーションキャプチャ法)」は、1個の生体分子マシンを「見て、触る」ことができる手法です。これまでに、生体分子モーターの運動方向や一歩で進む(回る)サイズ、発生する力、エネルギー変換効率といったこの方法でしか解らない多くのことが明らかにされてきました。最近人工分子マシンを創生する試みが数多くなされており、1分子モーションキャプチャ法の人工分子マシンへの適用が待たれていました。しかしながらこれまで、本手法の適用範囲は、大きさ 10 nm 程度の分子としては比較的大きい生体分子マシンに限られていました。

我々は今回、1分子モーションキャプチャ法を大きさ 1 nm の人工分子マシンに拡張しました。具体的な計測対象はダブルデッカーポルフィリン(DD)です(図1上)。DDは、分子内の2枚のポルフィリンが互いにホイールのように回転することが知られており、人工分子ベアリングとも呼ばれています。DDの1分子モーションキャプチャを行うため、従来法を一から見直しました。まず、DDの固定部分と回転部分をそれぞれ2点以上の化学結合で基板とビーズの表面に固定する必要があります。DDは生体分子マシンより小さいため、DDが多点で反応できるように従来よりも高密度に官能基修飾した基板を開発しました。また、観察中は基板とビーズの距離が1 nm と小さくなるため、これらの表面同士にはたらく相互作用がビーズの回転運動を妨げる可能性があります。このため従来の水

中ではなく、相互作用を弱めることができる有機溶媒中での観察手順を構築しました。こうして、DDの一方の板をガラス基板に固定化し、もう一方の板を 200 nm のビーズに結合させ、結合したビーズの回転運動を光学顕微鏡で可視化することに成功しました。観察の結果、ビーズは 90° 間隔の一過的な停止角度を示しつつ回転拡散運動を行うことが明らかとなりました(図1下)。この挙動はDD分子の構造対称性から予想されていましたが、今回の観察で初めて実証されました。さらに、磁性体でできたビーズに外から磁場を加えることで、1個のDDの回転を強制的に操作することにも成功しました。

1 nm という大きさは、人工合成された分子も含め、マシンとしての機能を持つ分子の最小サイズです。本成果により、生体分子マシン、人工分子マシン問わず、全ての分子マシン1個の運動を1分子モーションキャプチャ法で検出、操作できることが示されました。

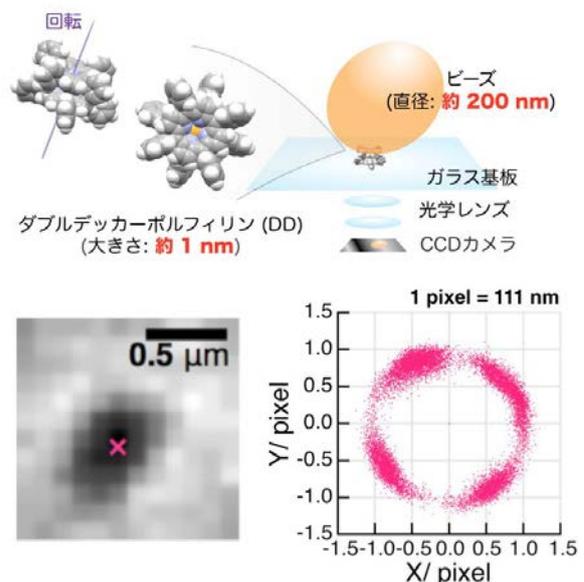


図1：(上) 実験の模式図。(下) 観察したビーズの像とその重心の軌跡。



業績紹介：プロテアソーム α リング形成過程における
アッセンブリーシャペロン Pba3-Pba4 の機能解析

“Pba3-Pba4 Heterodimer Acts as a Molecular Matchmaker in Proteasome α -ring Formation”

Kenji Takagi, Yasushi Saeki, Hideki Yashiroda, Hirokazu Yagi, Ai Kaiho, Shigeo Murata,
Takashi Yamane, Keiji Tanaka, Tsunehiro Mizushima, and Koichi Kato

Biochem. Biophys. Res. Commun., **450**, 1110–1114 (2014) DOI: [10.1016/j.bbrc.2014.06.119](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.06.119)

加藤晃一

(自然科学研究機構 岡崎統合
バイオサイエンスセンター・
A03 計画研究代表者)



プロテアソームは細胞内タンパク質の分解装置であり、細胞周期の制御やタンパク質品質管理など様々な高次機能に関わる巨大な分解酵素複合体である。本複合体は $\alpha\beta\alpha$ 4 層のリングで構成される 20S 触媒部位 (CP) と 19S 制御部位 (RP) からなり、約 70 のサブユニットが秩序だって厳密に配置することでタンパク質分解装置としての高度な機能を発揮している。これら多数のサブユニットは自発的には四次構造を形成せず、これを補助する複数のシャペロン分子の介助を受けて集合していることが明らかになってきた。

私たちはこれまでに、CP のアッセンブリーシャペロンである Pba3-Pba4 ヘテロ 2 量体と CP の構成サブユニットである $\alpha 5$ との複合体の結晶構造を決定した[1]。この複合体構造と CP の結晶構造を用いたドッキングモデルを構築したところ、Pba3-Pba4 は α リング形成において $\alpha 5$ のみならず、それと隣接する $\alpha 4$ とも相互作用する可能性が示された。そこで私たちは、 α リング形成における Pba3-Pba4 の機能解明に取り組んだ。

Pba3-Pba4 欠損酵母において蓄積される異常中間体を質量分析により解析した。その結果、Pba3-Pba4 の欠損により α リングから $\alpha 4$ サブユニットが欠失し、それと構造が類似した $\alpha 2$ が代わりに組み込まれることを見出した。この結果と先のドッキングモデルを合わせて考察すると、Pba3-Pba4 と $\alpha 4$ サブユニットの相互作用は、 α リング形成過程において当該サブユニットが欠落することを抑制するという可能性が考えられた。実際に、 $\alpha 4$ および $\alpha 5$ サブユニットとの相互作用

は Pba3-Pba4 によって介助されており、Pba3-Pba4 を欠失させるとプロテアソームに組み込まれなかった $\alpha 4$ が細胞内で凝集体を形成することを変異実験により明らかにした。すなわち、アッセンブリーシャペロン Pba3-Pba4 の役割は、凝集体を形成しやすい性質を有する $\alpha 4$ を、 $\alpha 5$ との複合体として安定化することであるということを示すことができた (図 1)。

このように、構造の類似したプロテアソームサブユニットが秩序だって配置されるためには、アッセンブリーシャペロン Pba3-Pba4 が ‘molecular matchmaker’ として機能していることが明らかになった。

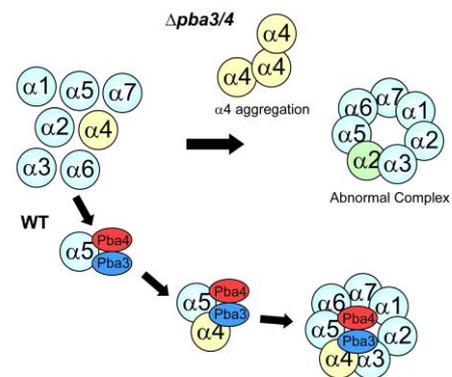


図 1：プロテアソーム α リング形成過程における
Pba3-Pba4 の役割

参考文献

[1] H. Yashiroda et al. *Nat Struct Mol Biol*, **15**, 228-236 (2008).



業績紹介：超音波によるアミロイド線維の破壊：
非平衡分子動力学シミュレーション

“Amyloid Fibril Disruption by Ultrasonic Cavitation:
Nonequilibrium Molecular Dynamics Simulations”

Hisashi Okumura, and Satoru G. Itoh

J. Am. Chem. Soc., **136**, 10549-10552 (2014) DOI: [10.1021/ja502749f](https://doi.org/10.1021/ja502749f)

奥村久士

(分子科学研究所
計算科学研究センター
・A03 公募研究代表者)



アミロイド線維はタンパク質が間違っただけで折りたたみ、凝集することによってできた不溶性の線維である。アミロイド線維は 20 種類以上の病気の原因と考えられている。例えばアルツハイマー病はアミロイドβペプチドが凝集してできたアミロイド線維が原因ではないかと言われている。近年、超音波を使ってアミロイド線維を破壊する実験報告がいくつかなされている。その破壊メカニズムはキャビテーション（気泡生成）によるものではないかと指摘されているが、水中の気泡がどのようにアミロイド線維を破壊するのか原子レベルでの詳細は分かっていない。そこで我々はアミロイドβペプチドからなるアミロイド線維にサインカーブ状に時間変化する圧力をかけた非平衡分子動力学シミュレーションを行った。

シミュレーションの結果を図 1 に示す。圧力が正の時はアミロイドや水の構造に大きな変化は見られないが、負になった時にアミロイドの周りに気泡が生じた。この気泡は膜貫通領域（29-42 番目のアミノ酸残基）の疎水性残基の周りに生じることが多かった。アミロイドの周りの水がほぼ蒸発し気泡に包まれてもアミロイドは壊れなかった。その後圧力が再び正になると、気泡が崩壊し水の液滴がアミロイドにぶつかり、アミロイドが破壊された。この時、水は主に非膜貫通領域（17-28 番目のアミノ酸残基）の親水性残基めがけて飛んでくるのが分かった。

異なる長さのアミロイド線維についても同様のシミュレーションを行ったところ、アミロイド線維が短いほど気泡はできにくく、アミロイド線維が壊れにく

いことが分かった。A03 班の公募研究代表者である茶谷絵理神戸大学准教授らはアミロイド線維を超音波で断片化すると、その長さがほぼ等しくなることを発見している。我々のシミュレーション結果はこの実験事実を次のように説明できる。超音波をかけると、ある程度長いアミロイド線維は気泡ができて破壊されるが、短いアミロイド線維は気泡ができないので破壊されない。そのため、超音波をかけるとアミロイド線維の長さがそろるのである。

超音波はアミロイド線維を破壊するだけでなく、アミロイド線維の伸長を促す効果もある。今後も分子動力学シミュレーションによりアミロイド線維の離合集散のメカニズムの解明に取り組みたいと考えている。

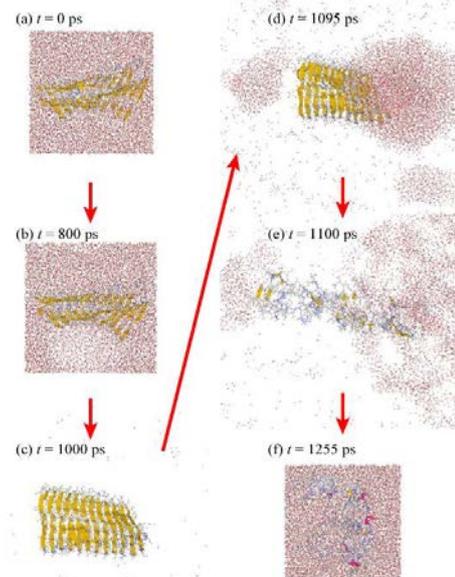


図 1：アミロイドβペプチドの非平衡分子動力学シミュレーション。気泡がつぶれるときにアミロイド線維が破壊されている。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 12

August, 2014

受賞報告

山口拓実

(分子科学研究所・A03 計画研究
分担者)



このたび、私が取組んでいる「核磁気共鳴法による糖鎖の3次元構造ダイナミクスと生物機能の連関の解明」に関して、第3回自然科学研究機構若手研究者賞を受賞し、あわせて記念講演をさせていただく機会を得ました。私たちが所属する自然科学研究機構は、国立天文台、核融合科学研究所、基礎生物学研究所、生理学研究所、分子科学研究所の5研究機関を中核として構成される、多様な自然科学の分野にわたる大学共同利用機関の連合体です。本賞は、これら5機関の若手研究者を対象に、新しい自然科学の創成への取組みを評価して贈られるものです。私は前任地において超分子化学を専攻してきましたが、現在は有機化学と構造生物学という異なる分野の研究基盤を背景に、糖鎖を主な研究対象として化学と生物学の融合を目指した研究を行っています。今回、このような栄誉ある賞をいただくことができ、大変嬉しく思います。

さて、本賞のユニークな取組みの一つとして、一般の方、特に高校生を対象とした受賞記念講演会が開催される点があげられます。また、講演の後には、受賞者が自身の研究にまつわる品を用意したブースを設け、来場者と直接語り合う企画も行われます。そのため、受賞者には「最先端の学術研究に触れ、科学に対する興味をより一層持っていただくことを期待し、高校生にも分かり易く講演を行う」というミッションが与えられます。さる6月15日、東京お台場の科学未来館にて開催された記念講演会「宇宙・生命・脳・物質・エネルギー 若手研究者による Rising Sun III」にて、私は「揺らめく糖鎖のかたちとはたらき」と題した講演を行いました。この会に臨むにあたっては、講演タイトル一つをとってもどうしたら高校生に上手くメッセージを伝えられるかと、試行錯誤の日々を重ねました。こうした経験は、研究会や学会発表とは趣を異とし、日頃の研究活動を通してだけではなかなか味わえるものではなく、貴重な経験となりました。会の当日は、129名の高校生を含む200名以上の一般参加者が

来場され、会場からは研究内容に関する素朴な疑問や、ときには鋭い意見が次々に出されました。参加された方々には自然科学への興味を一層、あるいは新たに感じていただけたのではないかと思います。また私たち受賞者の学生時代の様子や、現在の研究生活、研究者を目指すための心得などについての質問もありました。将来は研究者になりたい！という多くの高校生との交流に、私も大いに刺激を受けました。今後も、このたびの受賞を励みに、広範な自然科学において異なる分野の架け橋となることを目指していききたいと思います。



授賞式の様子。前列右端が筆者。



講演会での一幕(上)。持参した分子模型を手に、講演会終了後も企画ブースにて熱弁をふるう(下)。



活動報告

山本武志

(京都大学理学研究科・A01 計画研究分担者)

佐藤啓文

(京都大学工学研究科・A01 計画研究代表者)

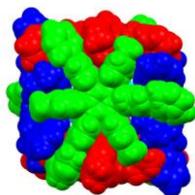
立川仁典

(横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学
研究科・A01 公募研究分担者)

平岡秀一

(東京大学大学院 総合文化研究科・A02 計画
研究代表者)

最近のニュースレター(第9号、2014年5月発行)で、A02班・平岡班員の研究室で開発しているヘキサフェニルベンゼン骨格に3つの3-ピリジル基と3つのメチル基を持つ歯車状両親媒性分子の自己組織化「ナノキューブの形成」過程について、A01班の立川班員との共同研究の成果報告があったことは記憶に新しいところだが、佐藤班員・山本班員の研究グループもこの系に興味をもち、両グループと連携しながら研究を進めている。



こうした中、去る7月12日に平岡班員のアレンジにより東京大学駒場キャンパスに三つのグループのメンバーが一堂に会して勉強会を開催した。今回は実際に研究を進めている学生諸氏に登壇してもらい、自己紹介を兼ねて自身の研究の進捗について説明してもらう形式を取った。トップバッターは平岡グループの田中成氏であり、ナノキューブの概要をおさらいし、種々の条件下でのNMRチャートを見ながら、現在進めている解析の一端を紹介してくれた。またモノマー間の相互作用を理解するために開発されたコノリー面に基づいた解析法(Surface Analysis with Varying Probe Radius: SAVPR法)についても解説があった。引き続き、立川グループの増子貴子氏が、冒頭に述べた分子動力学計算の成果とともに、現在進めている溶媒和構

造に関する解析結果を紹介してくれた。佐藤グループの吉田悠一郎氏は、同系を取り扱うために独自に開発した粗視化モデルを用いたシミュレーションを進めており、その経過を説明した。同じく松村祥宏氏は、液体の積分方程式理論を用いたウィルスカプシドのモデル系の計算と、マスター方程式を用いて同系の形成過程を追跡する試みについて紹介した。学生最後の登壇者は山本グループの桐原亮平氏であり、量子化学に基づくナノキューブの結合エネルギーの高精度計算および、3D-RISM法に基づいた精密な溶媒和自由エネルギーや溶媒分布の計算結果を示した。また山本班員がこれらの結果を踏まえ、形成の熱力学が概ね理解できつつあることを報告した。

初めての試みで手探りだったこともあり、企画段階ではとりあえず半日程度の予定でやってみましょうと相談をしていたのだが、各人の発表に対して質問が続出し、期待以上の大変活発な議論となった。このため途中から出来る限り議論を圧縮して進めたのだが、それでも当初予定より2時間近くも終了時刻が遅くずれ込んでしまった。

日帰り旅程の慌ただしい一日ではあったが、平岡、立川、佐藤、山本の各班員だけでなく、それぞれの学生諸君も直接親交を深めることができ、濃密で有意義な機会であった。何よりもいわゆる生データを見せ、完成途上にある解釈も俎上にあげて互いに議論し合うことは、「完成」された学術論文だけを介した理解とは抜本的に違う、大きな影響を及ぼし合う。こうした交流の機会を今後も積極的に設けて、互いに刺激し合いながら新しいサイエンスを築いていきたい。

常に学生諸君を励まし、適切なアドバイスを下さった長嶋雲兵先生(AIST)に御礼申し上げます。



討論終了後の一コマ。京都組は最終の新幹線に間に合わせねばならず、残念ながら1時間余りで(泣く泣く)途中退席することとなった。