



業績紹介：コロイド微粒子はやわらかいほど速く基板上に吸着する

“Fast Adsorption of Soft Hydrogel Microspheres on Solid Surfaces in Aqueous Solution”

Shusuke Matsui, Takuma Kureha, Seina Hiroshige, Mikihiro Shibata,
Takayuki Uchihashi*, and Daisuke Suzuki*

Angew. Chem. Int. Ed., in press, (2017), DOI: [10.1002/ange.201705808](https://doi.org/10.1002/ange.201705808)

鈴木大介

(信州大学 繊維学部

・A02 公募研究代表者)



内橋貴之

(名古屋大学 理学研究科

・A01 公募研究代表者)



水溶液中に分散するコロイド微粒子の固体基板上への吸着挙動の制御は、コーティング等の産業応用から、薬剤送達システム等のバイオ応用に至るまで、コロイド微粒子が関与する広範な分野で重要である。これまでの報告では、ファンデルワールス力や静電相互作用のみで議論されてきた。本論文では、それら相互作用の議論に加え、新たに微粒子の『やわらかさ』が大きく影響している事を発見した。

我々は、液中の現象をリアルタイムで視覚化できる高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)に注目し、コロイド微粒子が固体基板上に吸着する瞬間を捉えることで、吸着挙動の理解の深化を目指してきた。

用いたコロイド微粒子の素材は、硬質のポリスチレン、ゴム状のポリエチルアクリレート、そして、水ドロゲルである。いずれの場合も、基板との間に静電的引力が働かないと、積極的に吸着しなかった。一方、静電的引力が働く場合には、微粒子がやわらかいほど基板上に速く吸着する傾向を示した。

特に、水ドロゲル微粒子の架橋度を変化させた場合、吸着速度は大きく変化した。架橋度が 1 mol.% の場合には瞬時(数秒以内)に飽和吸着に達したが、5 mol.%

の際には、飽和吸着に達するまでには、数分以上の時間を要した(図 1)。

架橋度が低い水ドロゲル微粒子は、吸着と共に、大きく形態を変化させた。水中で約 300 nm の球状体が、基板上に吸着後には、高さが~20 nm まで減少した。

今回の発見には、名古屋大学 内橋研独自の技術である HS-AFM が欠かせなかった。実験開始当初、水で膨潤し、明確な界面を持たない水ドロゲル微粒子の観察は極めて難しかったが、内橋研の技術と、実際に実験に取り組んだ D2 松井秀介君(信州大・鈴木研)の粘り強さが、本結論を導いたのだと感じる。

生体分子の HS-AFM 観察は広く知れ渡ってきた中で、本論文は人工的なコロイド微粒子を適用した最初の論文となった。分子スケールの像をリアルタイムで可視化できる本手法を、合成高分子化学や超分子化学、微粒子集積の分野へ適用を進めていくことで、新たな原理原則の発見に繋がる事が期待される。

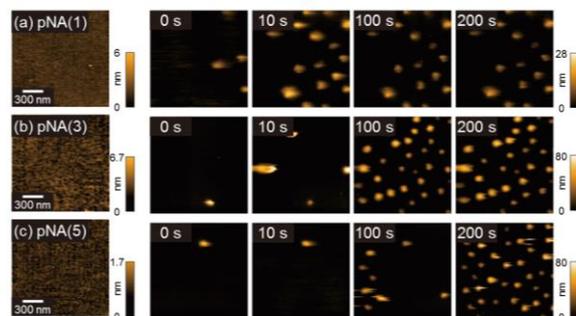


図 1：高速原子間力顕微鏡観察画像。架橋度が低く、やわらかい水ドロゲル微粒子ほど、基板上に速く吸着する。



業績紹介：脂質パッキングのゆるみが膜透過ペプチドの細胞内移行を促進する

“Loosening of Lipid Packing Promotes Oligoarginine Entry into Cells”

Tomo Murayama, Toshihiro Masuda, Sergii Afonin, Kenichi Kawano, Tomoka Takatani-Nakase, Hiroki Ida, Yasufumi Takahashi, Takeshi Fukuma, Anne S. Ulrich, and Shiroh Futaki
Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **56**, 7644–7647, (2017), DOI: [10.1002/anie.201703578](https://doi.org/10.1002/anie.201703578)

二木史朗

(京都大学化学研究所・
A02 公募研究代表者)



HIV-1 TAT ペプチドやオリゴアルギニンなどのアルギニンに富む塩基性ペプチドが効率的に細胞膜を透過することや、これらのペプチドとのコンジュゲーションによりタンパク質やペプチドをはじめとする様々な分子が細胞内に送達され、生理活性を発揮することが知られています。これらのペプチドは cell-penetrating peptides (CPPs)とも総称され、細胞生物学・ケミカルバイオロジー的な研究ツールとして、あるいは医薬品の送達法として興味を持たれています。しかし、何故、このように親水性で塩基性の高いペプチドが細胞膜を透過出来るのかに関しては、よく分かっていません。

筆者らは以前に EpN18 という膜曲率誘導能をもつペプチド存在下にオリゴアルギニンの膜透過が亢進されることを報告しています。生体膜にはリン脂質のパッキングの隙間(packing defect)が存在すると考えられており、膜に曲率が誘導されると、このパッキングの隙間は増加・増大すると考えられます(図1A)。アルギニンは一般に塩基性で親水性の高いアミノ酸と認識されています。確かに、そのグアニジノ基は親水性が高いですが、主鎖部分と主鎖につながる側鎖のメチレン鎖の部分は決して親水性が高いとは言えません(図1B)。オリゴアルギニンが膜を透過しようとする際には、ペプチド主鎖が膜を透過しなければいけません。脂質のパッキングが緩めばこの間隙も増加します。このことによって、ペプチド主鎖と膜深部との相互作用も容易になり、膜透過も促進されるのではないかと筆者らは考えました

環境感受性色素 di-4-ANEPPDHQ を用いて細胞膜の脂質パッキング状態を観察すると、EpN18 存在下にパッキングが緩むことが分かりました。疎水性対イオンである pyrenebutyrate (PyB) で細胞を処理すると、オリゴアルギニンの膜透過が大きく亢進することが知られていましたが、PyB には膜曲率誘導能や脂質パッキングを緩める効果があることも分かりました。これらにより、オリゴアルギニンの膜透過における膜のパッキング状態の重要性、あるいはその膜曲率との関連等に関して世界に先駆けて指摘することが出来ました。大変嬉しいことに本論文は ACIE 誌の Hot Paper (編集委員が特に重要性を認めた論文)に選ばれ、また、Chemistry Views などでも取り上げられました。

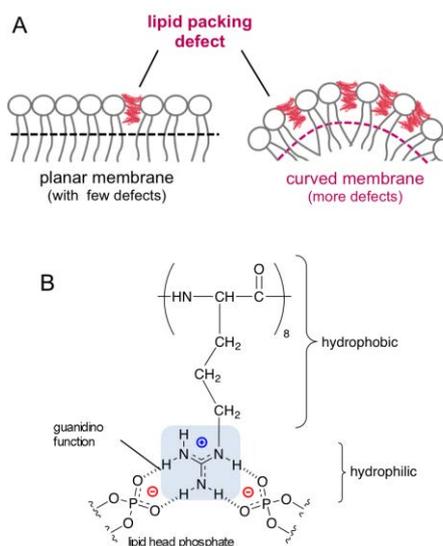


図1：(A)膜曲率と細胞膜の脂質パッキング；(B)オリゴアルギニンの主鎖部分は実はそれほど親水性ではない？



業績紹介： クモ毒を改良し抗体を細胞内へ輸送
—細胞は壊さず出入り口のみを開く分子の作製—

“Cytosolic Antibody Delivery by Lipid-sensitive Endosomolytic Peptide”

Misao Akishiba, Toshihide Takeuchi, Yoshimasa Kawaguchi, Kentarou Sakamoto, Hao-Hsin Yu, Ikuhiko Nakase, Tomoka Takatani-Nakase, Fatemeh Madani, Astrid Gräslund, and Shiroh Futaki

Nature Chem., 9, 751–761, (2017), DOI: [10.1038/nchem.2779](https://doi.org/10.1038/nchem.2779)

二木史朗
(京都大学化学研究所・
A02 公募研究代表者)



抗体は、その高い認識能力と結合力から生命科学研究のツールとして盛んに利用されています。また、近年、バイオ医薬品としての抗体もますます重要視されています。抗体を生きた細胞の中で働かせることができれば、細胞内の特定のタンパク質の分布の確認や生理活性の調節が可能になり、細胞内で特定のタンパク質が果たしている役割を詳しく知ることができます。

抗体のようなバイオ高分子の細胞内導入には、細胞への養分取りこみを司るエンドサイトーシス経路の利用が現実的です。この場合、エンドソーム内に取り込まれた抗体がリソソームに運ばれて分解される以前に、効果的にエンドソームから細胞内（サイトゾル）に放出されることが必要になります。しかし、これまでの手法ではこの放出効率が低く、期待される効力を発揮できないという問題がありました。

そこで私達は、細胞膜を不安定化する性質を持つクモ毒由来の溶血ペプチド M-lycotoxin の配列に見直しを加え、エンドソームを効果的に不安定化するペプチド L17E を開発しました。M-lycotoxin は塩基性両親媒性構造を取り、細胞膜と相互作用することで、膜構造を強く攪乱します。今回の研究では M-lycotoxin の疎水面に位置する 17 位のロイシンを酸性アミノ酸グルタミン酸に置換することで、細胞表面では顕著な膜傷害性を示さず、エンドソームの膜を効果的に不安定化させる性質を持たせることに成功しました (図 1)。これまでに、細胞外とエンドソーム内の pH 差を感知して

エンドソーム膜を不安定化するペプチドや高分子が数多く開発されてきました。L17E は顕著な pH 感受性を示さない一方、エンドソーム膜にみられるような酸性リン脂質を多く含む膜を選択的に傷害することでエンドソーム内包物のサイトゾルへの放出を達成することが示唆されました。また、マクロピノサイトーシスを誘導する、つまりエンドサイトーシス自体を活性化させることによって、エンドソーム内への細胞内送達物質 (抗体など) の取込量を高め、結果的にサイトゾルへの放出量を高めている可能性も示唆されました。L17E を用いて、効果的な抗体の細胞内移行が達成され、細胞外から導入した抗体による特定のタンパク質の細胞内局在の可視化や、細胞内情報伝達の制御が可能であることも示されました。この成果は、京都大学 HP、日本経済新聞電子版、京都新聞 (2017 年 5 月 23 日 25 面)、Nature Chemistry 誌 News and Views、米国化学会 Chemical & Engineering News 等において紹介されました。

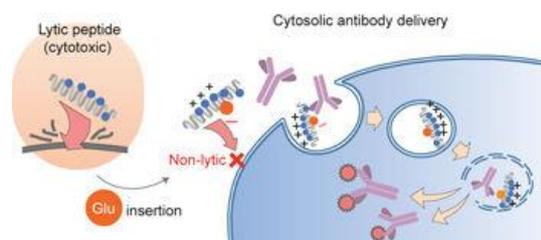


図 1：クモ毒由来の溶血性ペプチドの疎水面にグルタミン酸を導入することで、エンドソーム膜を効果的に不安定化する新しいタイプの細胞内送達ペプチドが得られた。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 48

August, 2017

活動報告

蛋白質科学会ワークショップ開催 「蛋白質動的秩序の マルチプローブを用いた統合的解析」

上久保裕生

(奈良先端科学技術大学院大
学・A01 計画研究代表者)



杉山正明

(京都大学原子炉実験所・
A03 公募研究代表者)



2017年6月20日～22日、第17回日本蛋白質科学会年会(仙台国際センター)において、本新学術領域研究共催のワークショップ「タンパク質動的秩序のマルチプローブを用いた統合的解析」(世話人:上久保裕生・杉山正明)を開催しましたので報告させていただきます。

蛋白質科学会ではワークピア横浜(第14回年会)に続き2回目のワークショップ開催となります。今回は、領域を立ち上げた直後に開催され、講演は計画研究代表者がそれまでに行ってきた研究、今後の展望を紹介する内容になっており、お披露目の様相を呈していました(Newsletter Vol.11)。この原稿を書くに当たり、当時の記事を見返してみると、皆がそれぞれ異なった捉え方をしている「動的秩序」に対して、どのように領域全体で取り組んでいくのか、その期待感と不安感が相まみえる様子がうかがえます。領域の最終年度に開催された今回のワークショップは、すでに気心の知れたメンバーで行ってきた研究成果を紹介する絶好の機会であり、何をなしたのかを示す良い機会になったのではないかと思います。

「講演タイトル」(所属・講演者):「重水素化を活用した中性子溶液散乱による動的タンパク質の構造解析」(京大・杉山)、「超分子質量分析による蛋白質複合体の形成過程の解明」(岡崎統合バイオ・石井)、「アミロ

イド形成における蛋白質分子集合プロセスの観察」(神戸大・茶谷)、「細菌の細胞分裂タンパク質の動的秩序解析」(立命館大・松村)、「高速原子間力顕微鏡で可視化するタンパク質の動的秩序」(名古屋大学・内橋)、「複数の蛋白質複合体を含む多成分系平衡状態の構造解析」(奈良先端大・上久保)

タイトルだけ見ると、銘々が得意な対象や手法に関する研究成果を、個々に発表したように見えますが、実際の発表では、すべての発表の中で、講演者を互いに共同研究者とする一体感のある発表でした。「動的秩序」は、ナノスケールの構成要素間の相互作用が弱い結果、構成要素の集合離散を伴うメソスケールで生じる現象です。必然的に測定対象は不均一系となり、系中に含まれる様々な分子種を同定し、その動態を解析する必要があります。中性子・X線散乱、高速AFM、超分子質量分析、超遠心分析はメソスケールの物性を知る上で、それぞれ強みのある測定手法です。しかしながら、個々の測定手法だけでは不均一系が示す「動的秩序」の全容を理解することはできません。当然、下位階層に位置するナノスケールの情報は結晶学や分光学などの助けを必要とします。ワークショップで見られた一体感は、対象とするタンパク質集団が異なっても、「動的秩序」という現象を探索し続けた結果、これらの様々な測定手法の組み合わせ方が収斂してきたことによってもたらされたものと考えています。今回のワークショップでは、従来、手のつけようがなかった「分子システムが示す動的秩序」をどのように調べればいいのか、その具体的な方法を示せたのではないかと思います。「この」手段は今や当たり前のこととなり、我々はこの手段を武器として手に取り、より複雑なシステム、すなわち、現実に存在するありのままの分子システムを対象とした研究の入り口によりやくたどり着いたのではとの思いを強くしています。



セッション演者と会場にて



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 48

August, 2017

「溶液における分子認識と自己集合の原理:分子間相互作用」を執筆して

平岡秀一

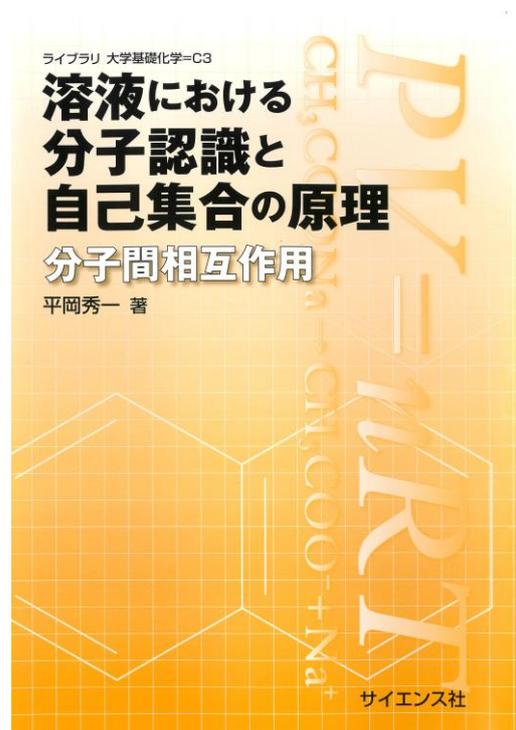
(東京大学 総合文化研究科・
A02計画研究代表者)



この度「溶液における分子認識と自己集合の原理:分子間相互作用」(ライブラリ 大学基礎化学)という教科書をサイエンス社より出版いたしました。本書は理論化学者で東京大学名誉教授である高塚和夫先生(現在、京都大学福井謙一記念センター・リサーチリーダー)が編纂された「ライブラリ大学基礎化学」の中の1冊にあたります。2年ほど前に高塚先生より「自己組織化という現象とその魅力を大学の学部生にもわかりやすく伝えられるような教科書が必要である」と尻を叩かれ、執筆することになりました。分子認識や自己組織化は、弱い分子間相互作用に基づくため、本書でも分子間相互作用の説明に力点をおきました。分子間相互作用は、物理化学の教科書の後半の1章で取り上げられることが多いですが、有機化学、錯体化学、高分子化学、生命化学など、様々な分野とも密に関わる現代の超分子化学で必要な情報が十分に提供されているというわけではありません。また、共有結合やイオン結合も含め、あらゆる化学結合との比較を通して眺めることで、分子間相互作用に対する理解が深まるのではないかと考え、分子軌道論にも触れました。本書は下記の全5章からなります。

- 第1章: 分子認識や自己集合における化学結合
- 第2章: 分子認識や自己集合における溶媒の役割と性質
- 第3章: 分子間相互作用
- 第4章: 分子認識
- 第5章: 自己集合

第1章では本書で取り扱う分子間相互作用の特性に触れつつ、これらとの比較の意味で定性的な分子軌道の取り扱いにも触れています。第2章では溶液中における熱力学について、以降の章との関わりがある内容に絞り紹介しています。第3章以降が本論で、第3章では分子間相互作用についてそれぞれ細かく触れ、水の特性や疎水効果も取り扱っています。第4章では分子認識、第5章では自己集合について、主に水中における現象や時を経て重要と思われる事例を紹介し、第3章の理解がさらに深まることに留意しました。



超分子化学の教科書というと、主に大学院生以上を対象とし、多くの事例の紹介に多くの紙面が割かれ、その分野に身を置く大学院生や研究者にとっては役立つものの、本質を理解するための手助けとなるような原理を1冊にまとめた教科書はほとんどありませんでした。そこで、本書では重要な例示を絞りこみ、これらについて本質の理解に必要な事項をできる限り詳細に触れることにしました。また、筆者の興味の対象でもあり、生命科学との関わりが深い水溶液中における現象に焦点を絞りました。本新学術領域に加わり、生命科学に関わる多様な分野の班員の方々との対話を通して得たことで、自分自身の視野も広げられ、自ずと本書の扱う内容も広がりました。これも多様な分野の研究者を集め、真の新学術領域研究を推進しようとする本領域の精神を受けて生まれた成果の一つの形であると感じています。特に、A01班の佐藤啓文班長(京都大学)には原稿全体に目を通していただき、沢山の貴重な意見をいただき、本書は見違えるほど良くなりました。この場を借りてあらためて心より御礼を申し上げます。

本来は学部初等教育用に編纂された教科書ですが、分野の特性上、実際には大学院の講義や研究室内のセミナーなどで扱われる内容が多く含まれているのではないかと思います。これからどの分野を目指すかを考えている学部の学生や超分子化学の分野で研究を始めた大学院生にとって役立つ教科書となり、末長く使っていただければ幸いです。



飯野グループの石渡大貴君が平成 28 年度日本化学会東海支部長賞を受賞

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
分子科学研究所・A02 公募研究
代表者)



A02 公募班、飯野グループ (分子研・岡崎統合バイオ) の石渡大貴君が平成 28 年度日本化学会東海支部長賞を受賞しましたので報告いたします。日本化学会東海支部では、支部活性化と化学奨励を目的として化学系の大学、大学院及び工業高等専門学校卒業生・修了生を対象に、人物及び学業成績が優秀な者に対し支部長賞を授与しています。

授与式に賞状が間に合わないというハプニングがあり、分子研所長の川合眞紀先生からの「エアー」での授与となったのは少し残念でしたが、本人共々、非常に嬉しく思っております。また彼が受賞できたのは、本領域のご支援を頂き研究に邁進できたおかげと考えております。心より感謝いたします。以下は石渡君からの、受賞に際しての言葉です。

「平成 28 年度の総合研究大学院大学修士同等論文審査発表会にて“1 分子計測を用いたバクテリア由来セルラーゼとカビ由来セルラーゼにおけるドメインの役割解明”というタイトルで発表させていただきました。その結果、平成 28 年度日本化学会東海支部長賞として推薦して頂き、本賞を頂くことになりました。

今回の発表会では、結晶性セルロース上を一方方向に進みながら連続的に加水分解するセルラーゼの 1 分子計測を行い、結合、並進運動、解離といった反応素過程を定量的に解析した結果について発表させていただきました。セルロースは新しいバイオマス資源として

知られていますが、物理的・化学的に安定であるため産業化には多くの課題が残されています。そこで注目されているのが、温和な条件化でセルロースを加水分解するセルラーゼです。しかし、加水分解速度は産業化には不十分であり、セルラーゼの加水分解機構の解明が求められています。今回の研究では反応素過程の解析だけでなく、異なる 2 つのセルラーゼのドメインを入れ替えたハイブリッドセルラーゼの作製も行ないました。いくつかのハイブリッドセルラーゼが加水分解活性を持つことは確認できましたが、残念ながら目標としていた野性型を越える活性は達成できませんでした。野性型を大きく越える活性を有するセルラーゼが作製され、産業利用されることを願っております。

今回このような賞をいただくことができたのは、日頃から支えてくださった飯野グループの皆様のおかげです。大変感謝しております。最後に、研究に対する議論、アドバイスを何度もしていただいた飯野亮太教授、中村彰彦助教には本当にお世話になりました。心より御礼を申し上げます。」



新学術領域研究「動的秩序と機能」

今後の活動予定

- ・第 4 回「動的秩序と機能」若手研究会

日時：2017 年 11 月 7 日 (火) ～9 日 (木)

場所：アイアイランド (大阪府四条畷市) <http://www.iiland.ne.jp/>

- ・第 6 回国際シンポジウム

日時：2018 年 1 月 20 日 (土)、21 日 (日)

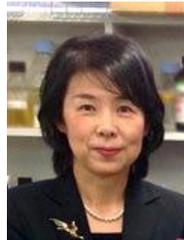
場所：浜松アクトタワー (静岡県浜松市) <http://www.act-tower.co.jp/>



寺内グループの藤本恵さんが第8回日本光合成学会年会でポスター賞受賞

寺内一姫

(立命館大学 生命科学部・
A03 公募研究代表者)

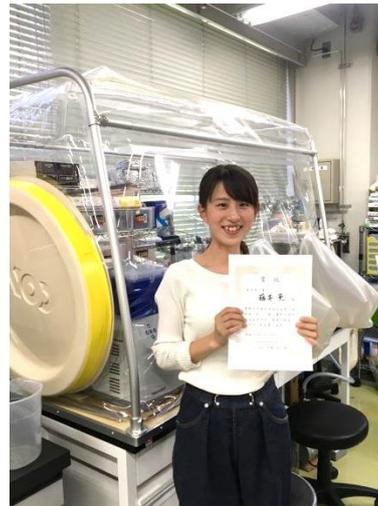


寺内グループの藤本恵さん(立命館大・院生命科学M1)が、第8回日本光合成学会年会にてポスター賞を受賞しました。本年会は2017年5月27日と28日に龍谷大学にて開催されました。日本光合成学会は、学際性の強い光合成研究分野における基礎および応用分野の研究発展を促進し研究者相互の交流を深めることを目的に、年会とシンポジウムを毎年開催しています。

今回は、滋賀県大津市にある龍谷大学の瀬田キャンパスにおいて、2つのシンポジウムとポスター発表が行われました。主に若手研究者による82演題のポスター発表があり、当研究室からは大学院生が2題発表しました。ポスター発表演題から5名に会長からポスター賞が贈られました。

藤本さんは「環境の酸素レベルによるシアノバクテリア生物時計再構成系の周期長変化」の演題でポスター発表を行いました。本研究は、時計タンパク質 KaiC を対象とし、嫌気環境下における振動についての解析結果です。時計タンパク質のユニークさと環境がもたらす変化に応答したリズムの変動に着目した点が評価されたと思います。嫌気チャンバーの中で地道な生化学実験を長時間かけて実施するというタフな研究を頑張った藤本さんと卒業生の三林芳太郎君を称えたいと思います。藤本さんの今後の活躍と研究の発展を期待します。

また、年会終了後、同じキャンパス内にある農学部の会議室に会場をうつして、光合成学会若手の会主催のセミナーが開かれました。ここでは、寺内が招待講演し、若手の院生やポスドク、助教の皆さんに、シアノバクテリアの体内時計研究の話をさせていただきました。若手の会の皆さんの益々の活躍を祈っています。



ポスター賞受賞藤本恵さん
実験に用いた嫌気チャンバーの前で賞状と共に

〈受賞者藤本さんのコメント〉

この度は、大変栄誉な賞を頂きありがとうございます。ご指導頂いた寺内先生、浅井先生、協力して頂いた研究室の皆様のおかげだと考えております。この場を借りて御礼申し上げます。今後もこの賞を励みに頑張ります。