



業績紹介：「積み荷」の内包によって、カプセルーカプセル変換
を起こす自己集合系の創出

“Capsule–Capsule Conversion by Guest Encapsulation”

Shitao Wang, Tomohisa Sawada, Kazuaki Ohara, Kentaro Yamaguchi, and Makoto Fujita

Angew. Chem., Int. Ed., in press, (2016), DOI: [10.1002/anie.201509278](https://doi.org/10.1002/anie.201509278)

澤田知久

(東京大学工学系研究
科・A02 公募研究代表者)



本論文では、空の6面体（ここでは、三方両錐形）カプセル分子に対して、ある特定のゲスト分子（“積み荷”）を加えると、構造変換が起こり、ゲスト分子を内包した正8面体カプセル分子になる動的な系を報告している。金属イオンと有機分子の自己集合系では、動的な構造変換を起こす例が知られているものの、閉じたカプセルから閉じたカプセルへと構造変換する（珍しい）系を今回創出した。

“留め金”となるパラジウムイオン (M) と、6カ所で配位結合できる“三角形パネル”配位子 (L) を、3 : 1 の比で水中に混合すると、 $M_{18}L_6$ 組成の6面体カプセルが定量的に組み上がる。この6面体カプセルの内部のナノ空間へ、ゲスト分子を内包させるべく様々な形や大きさの有機分子を混合してみたものの、まるで“閉じた貝”のごとく、何も内包されなかった。そこで、三角形パネルの中心を、ベンゼン環から電子欠乏のピリミジン環へ再設計した。この新パネル (L') を使って6面体カプセルを構築すると、6カ所のパラジウムイオンの配位によって、各パネルはより電子欠乏になり、電子豊富な有機分子との π - π 相互作用が強まると期待したためである。実際に、新パネル配位子 (L') を使って $M_{18}L'_6$ 6面体カプセルを自己集合させた後、ゲスト分子としてアセナフチレンを加えて70 °Cで攪拌すると、カプセル内への包接が見られた。しかしこのとき、一回り大きな $M_{24}L'_8$ 組成の正8面体カプセルへの構造変換が起こっており、その内部に4分子のアセナフチレンが包接されていた。70 °Cでは配位結合が切れやすくなり、6面体カプセルが一時的に開き、ゲスト分子を内包するとともに正8面体へ構造変換したと考えられる。また両カプセル構造は、どちらも2.5

nmの直径であるものの、内部空間の有効体積は、 381 \AA^3 から 943 \AA^3 へと約2.5倍に増えていると見積もられた。

内包されたゲスト分子は、クロロホルムによる抽出により取り出すことができた。これを20 °Cで行った場合、ゲスト分子は正8面体カプセルに強固に守られて、全く抽出されなかった。一方、70 °Cで行うと、ゲスト分子はクロロホルム相へ完全に抽出されると共に、カプセルは正8面体から6面体へと完全に戻ることが分かった。

以上、本論文では、ゲスト分子の内包によってカプセルーカプセル変換を起こす自己集合系を実現した。

“積み荷”を内包するときだけ効率的に膨らむ分子カプセルであると言える。本領域A02班の実現目標となっている「人工輸送小胞」というには、大きさや精巧さなど、まだまだ物足りない点ばかりだが、今後のヒントとなればと考えている。

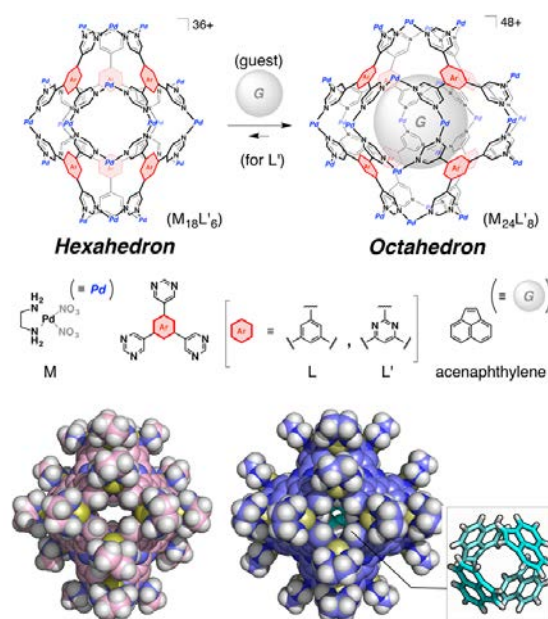


図1：構造式と各カプセルの結晶構造



業績紹介：『静』と『動』の変換スイッチング
—キラル金属錯体からなる多段階秩序創生と動的変換プログラミング—

"Redox-Triggered Helicity Inversion in Chiral Cobalt Complexes
in Combination with H⁺ and NO₃⁻ Stimuli"

Janusz Gregoliński, Masahiro Hikita, Tatsuya Sakamoto, Hideki Sugimoto,
Hiroshi Tsukube, and Hiroyuki Miyake

Inorg. Chem., **55**, 633–643 (2016), DOI: 10.1021/acs.inorgchem.5b01902

三宅弘之

(大阪市立大学理学研究科・
A02 公募研究代表者)



生体内では必要なときに必要な機能が発現する。その過程において、外部環境の変化（外部刺激）を検知して生体分子や集合体の構造が次々と変化し、機能発現へ向けて情報が伝搬していく。しかも、外部刺激がある特定の組み合わせになった時のみに応答するロジックゲート型の『動的』変換システムであることが多く、組み合わせが外れた場合は何ら構造変化しない『静』の状態である。

一方、置換活性な金属錯体は、らせん構造の構築に適した配位立体構造と、柔軟に脱着可能な配位結合を有し、超分子レベルでのスイッチングユニットとして期待される。我々は、置換活性なキラル金属錯体を活用した、動的なアニオン応答型らせん反転システムを報告してきた。また、キラルな鎖状「配座数可変型配位子」からなる Co(II)錯体では、酸-塩基刺激により、折りたたみ構造と伸びた構造とを可逆的に変換できることを見いだした。本研究では、種々の末端配位部を導入したコバルト錯体のレドックス反応を検討し、コバルト中心の酸化・還元刺激により静的な Co(III)錯体から多段階の構造変換のできる動的な状態へと瞬時にスイッチできることを見いだした。

左巻き折りたたみ構造の“置換不活性な” Co(III)錯体 (Folded-Λ_{ox}) を合成し (Figure 1)、この錯体溶液に還元剤を加えると、折りたたみ構造を保ったまま“置換活性な” Co(II)錯体へ誘導できた。その溶液に CF₃SO₃H を添加すると、伸びた左巻き型構造 (Extended-Λ) を得た。

引き続き過剰量の Bu₄NNO₃ を加えると、らせん方向が逆転した Extended-Δ 型錯体へと順に誘導できた。

これら一連の伸縮分子運動を“置換不活性な” Co(III)錯体から瞬時に達成することを試みた。Folded-Λ_{ox} Co(III)錯体に CF₃SO₃H を加えても構造変化はおこらなかったが、そこへ還元剤を加えるとコバルト中心が Co(II)へ還元され、Extended-Λ 型錯体へ瞬時に誘導できた。また、CF₃SO₃H と Bu₄NNO₃ の存在下に還元剤を加えると、Extended-Δ 型錯体へ誘導できた。どちらの伸びた錯体も塩基と酸化剤を加えると、再び“置換不活性な” Folded-Λ_{ox} 型 Co(III)錯体へ戻すことができた。

このように、金属錯体のレドックスを活用すると、複数の外部刺激と連動して、静的な状態とマルチ運動の可能な動的な状態とを瞬時にスイッチできるようになった。これらの結果は分子メモリーなど情報変換分子素子の開発につながると期待される。

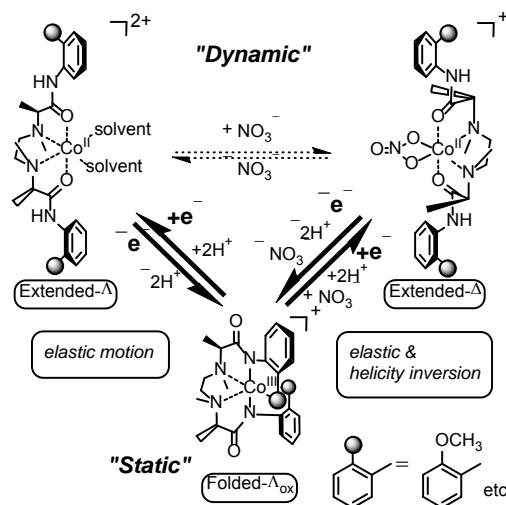


図1：外部刺激の組み合わせに応答した『静』と『動』のスイッチング



業績紹介： 上皮細胞の力覚応答の新たな分子機構：Rho-GEF Solo と中間径フィラメントの相互作用が鍵を握る

"Interplay between Solo and Keratin Filaments is Crucial
for Mechanical Force-induced Stress Fiber Reinforcement"

Sachiko Fujiwara, Kazumasa Ohashi, Toshiya Mashiko, Hiroshi Kondo, and Kensaku Mizuno

Mol. Bio. Cell., in press, (2016), DOI: [10.1091/mbc.E15-06-0417](https://doi.org/10.1091/mbc.E15-06-0417)

水野健作

(東北大学生命科学研究科・
A03 公募研究代表者)



生体が動的秩序を形成し高次機能を発現するためには、機械的刺激に対する細胞の適正な応答が必須である。機械的な力刺激は主に細胞間接着あるいは細胞-基質間接着部位で受容され、化学的シグナルに変換された結果、力学的環境へ適応すべく様々な応答が引き起こされる(力覚応答)。これらの応答においてアクチン骨格や中間径フィラメントなどの細胞骨格の再構築が重要なプロセスであるが、力の感知から細胞骨格の再構築に至る分子機構については不明な点が多い。

低分子量 G タンパク質 Rho ファミリーはアクチン骨格の再構築において重要な役割を果たす。私たちは最近、Rho ファミリー活性化因子である GTP-GDP 交換因子(Rho-GEF)に着目し、血管内皮細胞の力覚応答に必要な Rho-GEF を網羅的に探索した結果、複数の Rho-GEF の同定に成功した(Abiko H et al., *J. Cell. Sci.*, 128, 1683-1695, 2015)。同定した Rho-GEF の1つである Solo は、RhoA/RhoC に対する GEF 活性を持ち、ゼブラフィッシュの胚発生では Solo のオルソログが原腸陥入に関与することが報告されている。私たちは Solo に着目して、上皮細胞の力覚応答を制御する新たなシグナル伝達機構の解明を試みた。

まず、Solo の結合タンパク質をプロテオミクス解析により探索し、上皮細胞における主要な中間径フィラメントであるケラチン 8/18 を同定した(図 1)。さらに、Solo とケラチンの結合を生化学的に解析し、Solo は少なくとも 3ヶ所のケラチン結合ドメインを有することを明らかにした。

一般に、細胞は外力を負荷されると、外力に応じてストレスファイバーを強化させることが知られている。

上皮細胞に対する引張力負荷試験システムを構築し、新生・強化されるストレスファイバーの数を測定した

ところ、Solo やケラチンの発現抑制によって、引張刺激依存的なストレスファイバー形成が抑制された(図 2)。また、フィブロネクチンをコートした磁気ビーズを細胞に接着させ、磁気によって細胞に張力を負荷すると RhoA が活性化されるが、Solo やケラチンの発現抑制によって力負荷依存的な RhoA の活性化が抑制された。

以上の結果から、Solo はケラチン繊維と相互作用することによって、力刺激依存的な RhoA の活性化に関与し、アクチン繊維とケラチン繊維の強化に寄与することが明らかとなった。本研究の成果は、上皮細胞の力覚応答における Rho-GEF と中間径フィラメントの相互作用の重要性を解明し、力覚応答の新たなシグナル伝達機構の存在(図 2D)を明らかにしたものである。

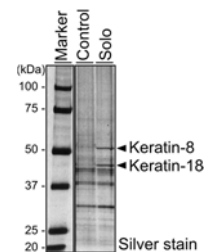


図 1. Solo 結合タンパク質の同定

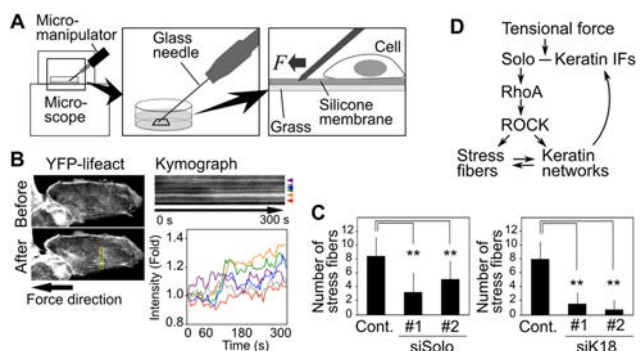


図 2. A) 引張刺激によるストレスファイバー形成の実験系。ガラス微細針でシリコン膜を動かすことで、引張刺激を加える。B) YFP-lifect でアクチンを可視化した細胞の応答。右は黄枠内の kymograph と蛍光強度変化。ストレスファイバーの増強が認められる。C) 引張り刺激により増強・新生されたストレスファイバー数。Solo やケラチン(K18)の発現抑制は、この応答を有意に抑制した。D) 本研究成果から提案する力覚応答機構。Solo とケラチンの相互作用が、力の感知・伝達および応答に重要な役割を持つ。

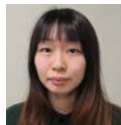


研究紹介:

球状ウイルス様高分子複合ゲル微粒子
の創製

小林千玲

(信州大学繊維学部・M2)



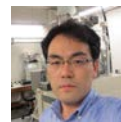
鈴木大介

(信州大学繊維学部・A02 公募研究
代表者)



村田和義

(自然科学研究機構生理学研
究所・A03 公募研究代表者)



シード乳化重合は、既存の粒子（シード：種）に対して、油性モノマー、水性開始剤、乳化剤を加え、水溶液を用いて乳化重合を行う手法である。これまでシード乳化重合で用いられてきたシードの化学種は、*polystyrene* などの固体状高分子微粒子がほとんどであった。信州大・鈴木（公募 A02 班）らのグループは、ヒドロゲル微粒子（*poly(N-isopropylacrylamide)*、*pNIPAm*）をシードとしたシード乳化重合について検討を進めてきた。ヒドロゲル微粒子は水膨潤するため、これを水溶液で行う乳化重合のシードに用いると、水に溶解した油性モノマーや開始剤がヒドロゲル微粒子内部に拡散し、粒子表面だけでなく粒子内部でもポリマーが形成されると予想されるが、詳細については明らかになっていなかった。

本論文ではカルボキシ基を有する *methacrylic acid* を共重合した温度・pH マルチ応答性の *poly(NIPAm-co-methacrylic acid)* ゲル微粒子をシードとして選択した。このゲル微粒子はアルカリ条件下においてはカルボキシ基がイオン化し、重合条件（70 °C）でも収縮せず膨潤状態を維持できるため、溶解した油性モノマーがシード内部に拡散し、シードの内部でもポリマーが形成されると考えた。実際にアルカリ条件でスチレンを用いてシード乳化重合を行ったところ、予想に反して、シード内部での *polystyrene* の複合化は起きておらず、100 nm 以下の *polystyrene* 微粒子がシード表面にのみ局在化したラズベリー様複合ゲル微粒子が得られた（図 1: Ultrathin Cross Section）。また、得ら

れた複合微粒子はシードと同様に刺激応答性を有していた。得られた複合ゲル微粒子を生理研・村田（公募 A03 班）らの技術を活かし、水和状態を保ったまま *cryo-TEM* により観察すると、表面に複合した *polystyrene* 微粒子は互いに間隔をあけて複合化しており（図 1: *Cryo-TEM* image）、この *polystyrene* 微粒子の間から水が入り出すことで複合ゲル微粒子もシードと同様に刺激応答性を示すことがわかった。今までは、真空下で乾燥した粒子しか評価できていなかったが、今回、*cryo-TEM* で観察することで水中での複合状態の可視化が可能になった。これは水中で機能を発するヒドロゲル微粒子の評価法の 1 つとして重要であると考えられる。

今回得られた結果より、シードであるヒドロゲル微粒子が水を含んで膨潤している場合、油性モノマーはシード内部に拡散しにくく、シード内部での重合がほとんど起こらないことが明らかになった。それに加え、これまで我々のグループで行ってきた検討結果を踏まえると、ヒドロゲル微粒子内部における油性モノマーの重合には、その内部に疎水的な分子の集合体の存在が重要であることがわかった。結果的に、球状ウイルス様の高分子複合ゲル微粒子が得られており、一連の設計技術を活かす事で、バイオメテリックな応用展開を進めてゆく。

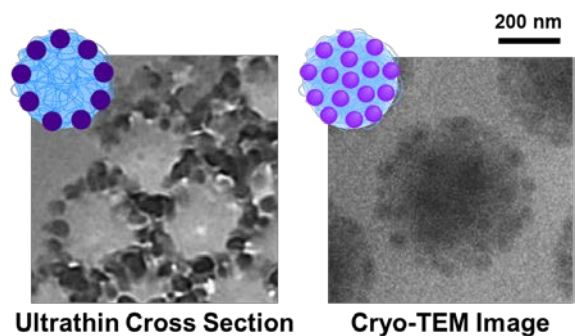


図 1: シード乳化重合によって得られた球状ウイルス様複合ゲル微粒子。ポリスチレン微粒子がゲルシード(種)表面のみに、間隔をあけて複合化。

上記研究は *Langmuir* に発表されました。

“Localization of Polystyrene Particles on the Surface of *Poly(N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid)* Microgels Prepared by Seeded Emulsion Polymerization of Styrene”

Chiaki Kobayashi, Takumi Watanabe, Kazuyoshi Murata, Takuma Kureha, and Daisuke Suzuki

Langmuir, in press., DOI: [10.1021/acs.langmuir.5b03698](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b03698)



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 30

February, 2016

国際学会開催報告 Distinguished Service Award 受賞報告

内藤 晶

(横浜国立大学工学研究院・
A01 公募研究代表者)



2015年12月15-20日にかけてハワイ州、ホノルルでPacifichem2015(2015環太平洋国際化学会議)が開催されました。この会議は5年に一度環太平洋諸国の化学会が主催者となり開かれる化学全般の分野に亘る国際会議です。この国際会議において、Akira Naito, Michele Auger, Toshimichi Fujiwara, Yongae Kim, Ayyalusamy Ramamoorthy, Frances Separovic がオーガナイザーとなり Advances in Biological Solid-State NMR Symposium を開催しました。

シンポジウムでは次に示す5つの分野で31名の招待講演、11名の一般講演、7件のポスター発表があり、活発な議論がなされました。

- 1) Supromolecular complexes and fibril formation.
Jacob Scafer, Jerry Chan, David Weliky, Tatyana Polenova, Isabelle Marcotte, Yoshitaka Ishii, Lynette Cegeiski, Katsuyuki Nishimura (加藤班共同研究者), Robert Griffin.
- 2) Technical developments
Yoh Matsui, Jean-Paul Amoureux, Ryosuke Kusumi, Luke O'Dell, Akira Naito(班員), Rachel Martin, Gang Wu, William Price, Alexander Nevzolov, Yusuke Nishiyama, David Doty.
- 3) Structure determination of membrane peptide & proteins
Sag Ho Park, Gary Lorigan, Makoto Demura, Rasmus Linser, Francesca Marassi, Stanly Opella, Toshimichi Fujiwara, Ivan Sergeev, Vladimir Ladizhansky.
- 4) Structure-function relationship of membrane peptides

and proteins

Ayyalusamy Ramamoorthy, Mei Hong, Nobuaki Matsumori(班員), Valerie Booth, Izuru Kawamura(内藤班共同研究者), Yongae Kim, Marc-Antoine, Kaoru Nomura.

- 5) Dynamic aspects of membrane peptides and proteins.
Micael Brown, Kurt Zilm, Shuang Liang, Jozef Lewandowski, Timothy Cross.

このシンポジウムでは、結晶構造解析が難しい、アミロイド線維や膜タンパク質などの構造解析に固体NMRが有効であるとの報告がなされました。また、高速MASによる分解能の向上や、プロトン観測やDNPを用いた感度の向上など、固体NMR測定技術の最新の進歩についても活発に議論がなされました。

なお、筆者の内藤はこのシンポジウムで Distinguished Service Award を受賞いたしました。このシンポジウムを企画運営した点と生体系の固体NMR分光法の発展に貢献してきた業績が評価されての受賞となりました。



Distinguished Service AwardのPlaque



シンポジウム参加者の集合写真(シンポジウム会場のRoyal Hawaiian前)