

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 7 月 16 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22550120

研究課題名（和文）らせんペプチド型分子機械の創製と機能化

研究課題名（英文）Design and Functionality of Molecular Machines based on Peptide Helices

## 研究代表者

稲井 嘉人 (INAI YOSHIHI TO)

名古屋工業大学・工学研究科・教授

研究者番号：60223210

研究成果の概要（和文）：本研究では刺激に応答する様々ならせん型分子機械を設計した。これらのらせん型分子機械は蛋白質を模倣したペプチド骨格を基盤とする。設計したらせん分子は、生体関連物質に偏在するキラル添加剤などの外部刺激に応じて、その巻きを駆動できる。その駆動の方向や偏りの大きさは、ペプチドの分子構造や添加剤の種類などによって大きく依存することが分かった。らせん駆動はペプチド固有のキラル信号として観測できるため、外部刺激を認識できる機能性分子材料への展開が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In the present study, a variety of helix-based molecular machines that response to stimulus have been designed. These helical molecular machines based on protein-mimicking peptide backbones can induce a screw sense through external stimuli such as chiral additives, which are frequently found in bio-related compounds. The induced screw sense and its bias have been shown to depend largely on several factors such as peptide molecular structures and types of chiral additives. Here chiral signals generated in induction of such a helical screw sense can be detected. Thus the present findings can also lead to design of functional molecular materials for sensing external stimuli.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：分子機械、ペプチド、らせん、キラル、分光学的測定、計算機化学

## 1. 研究開始当初の背景

(※ 本研究課題の申請書より、適宜抜粋)

生体機能の中心である蛋白質は、高度に制御された分子サイズの機械といえる。特定の外部刺激によって、特定の構造変化や機能発現(分子認識、情報伝播、物質変換など)を可能にしている。構造および機能のスイッチが

蛋白質の最も優れた特性の一つである。

化学者は、この生体系の精巧な機能性機械に憧れ、それを模倣するために様々な人工系分子の設計に取り組んできた。なかでも「分子機械(分子マシン)」は、複雑な蛋白質構造の代わりに、単純化した分子構造による機能の模倣や超越を目指しており、多くの研

研究者によって概念やモデルが提唱されてきた(Kottas, G. S.; Clarke, L. I.; Horinek, D.; Michl, J. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1281; Feringa, B. L. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 504; Kinbara, K.; Aida, T. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1377; Kelly, T. R. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 514)。特定の外部刺激によって一定の分子運動を誘発し、その変換された構造を通して機能をスイッチする。人工分子系骨格を基盤としているため、その機能は刺激応答、分子認識、センサー、メモリ、触媒など多様である。

蛋白質を超越した新規分子機械の開拓は、機能性化学や生命科学の分野で次世代のブレークスルーになることが期待できる。

分子機械やスイッチのための骨格として、人工らせんが有効であることが多くの研究から立証されている(Yashima, E.; Maeda, K.; Iida, H.; Furusho, Y.; Nagai, K. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6102)。例えば、光学不活性らせん高分子はキラル添加剤などの外部刺激により、自身の巻きを駆動(スイッチ)でき、同時に発生するキラル信号から外部刺激の検出や記憶に成功している(Yashima, E.; Maeda, K.; Okamoto, Y. *Nature* **1999**, *399*, 449)。

## 2. 研究の目的

(※ 本研究課題の申請書より、適宜抜粋)

本研究では、外部刺激によりらせん分子の構造制御を可能にするペプチド型分子機械を提唱する。

この分子機械はキラル分子等の部位特異的認識を引き金として、らせん軸を駆動し、巻き情報を鎖に沿って伝播する。誘起された巻き情報は特定の分子信号を出力するため、分子識別などの機能も期待できる。

本研究の最大の特徴は、異常 $\alpha$ -アミノ酸等による光学不活性らせん鎖の利用と、多種類の官能基配列を可能にする縮合系ペプチド骨格にある。さらに、 $\alpha$ -アミノ酸を基板とするため、「蛋白質模倣らせん」モデルに関する動的構造変化の知見も得ることができる。

一連の研究を通して、外部刺激によるらせん駆動型のペプチド系分子機械の概念を提唱し、機能化のための基礎データを構築するのが主目的である。

既に、我々の研究グループは光学不活性らせんを基盤とするペプチドを合成し、キラル添加剤による巻きの発現、制御に成功している。特に、外部分子がらせん末端に作用して起こるドミノ型らせん制御を提唱した(*Chem. Rec.* **2007**, *7*, 191; *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1429)。

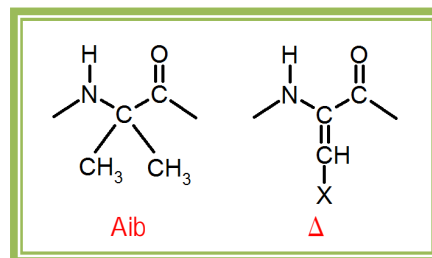
従って、本研究ではペプチド系らせんにおけるらせん駆動を様々なペプチド系で調べることにより、らせん型分子機械のためのデ

ータを構築する。

## 3. 研究の方法

### ① ペプチド分子の設計と合成

光学不活性らせん鎖として、アキラル異常アミノ酸[ $\alpha$ -アミノイソ酪酸 (Aib)および $\alpha$ 、 $\beta$ -デヒドロアミノ酸( $\Delta$ )]を含むシーケンスを用いた。



これらのアミノ酸を含むペプチドは光学不活性らせんを示すことが分かっている(*Chem. Rec.* **2007**, *7*, 191; *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1429)。

本研究では、様々なシーケンスを有するアキラルペプチドおよびキラルアミノ酸残基等を導入したペプチドを取り上げた。特に、X部分を改変したデヒドロアミノ酸を用いてシーケンスのバリエーションを増やした。

設計した各々のシーケンスに対して、液相法による合成を行った。 $\Delta$ 残基の導入は、基本的に既報(*J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 1429)に従い、相当する $\beta$ 置換セリンをペプチドに組み込み、アズラクトン環の形成-開環を経由する方法を取った。適宜、カラムクロマトグラフィーなどによる精製を行った。

NMR、赤外分光、MALDI-TOF Massなどの機器分析により目的物の確認を行った。

### ③ ペプチドの立体構造の検証

ペプチドのコンホメーション(主としてらせん構造)の確認は主に赤外吸収やNMR測定によって調べた。また、キラルペプチドや不斉誘導されたペプチドは円偏光二色性(CD)測定によってその巻き方向等の情報を明らかにした。

さらに、並行して理論計算によりペプチドの安定構造を推定した。各安定構造に対するスペクトルシミュレーションもを行い、実験系との対比によりらせん構造などのコンホメーションを推定した。

### ④ らせん駆動の検証

ペプチド中の光学不活性らせんセグメントが外部刺激によって発現・制御される巻き方向を調べた。

ペプチドシーケンス、デヒドロアミノ酸の化学構造、キラル添加剤の種類、濃度、溶媒などの様々な因子とらせん駆動の関係を検証した。巻きの駆動は、CD測定により明らか

にした。また、蛍光色素をラベルしたペプチドシーケンスについては蛍光測定も行った。

#### ⑤ ペプチド系らせん分子材料の設計

らせん型分子機械の材料化を目指すため、らせん性ペプチドを汎用高分子や特殊形態高分子に導入することを試みた。さらに、ペプチドを両親媒性化させることでミセル系やさらに会合系への展開も試みた。

### 4. 研究成果

本研究のテーマに沿って、外部刺激を感受し、その形態をスイッチできるペプチド系らせん型分子機械を提唱し、機能性材料設計のための基礎的情報を集積することに努めてきた。成果は次のように概説できる。

#### ①、② ペプチド合成について

Aibや $\Delta$ 残基を含有する3量体~13量体の様々なシーケンスのペプチドを合成することに成功した。

また、これら異常アミノ酸シーケンスの末端などの特定部位に置換基/官能基を自在に導入できた。即ち、設計通りのペプチド骨格を液相法で合成できることから、多様なペプチド系分子機械の創製が可能となる。

#### ③ ペプチドの立体構造の検証

ペプチドのコンホメーション、特にらせん構造の証明は赤外吸収スペクトルより行った。らせん性ペプチドは特有のアミド領域の吸収パターンを示した。また、幾つかのペプチドについては、シーケンス中のNH化学シフトの温度あるいは添加剤の依存性から分子内水素結合のスキームを見積もった。

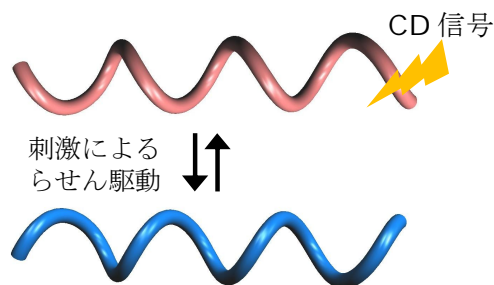
一方、コンホメーションを理論的見地から予測するために量子化学計算を用いてその構造を見積もった。さらに、得られた安定構造に対する赤外吸収スペクトルやCDスペクトルを予測した。理論的に再現したスペクトルは実験系とほぼ類似のパターンを示し、理論構造の妥当性が支持された。

概して、異常アミノ酸Aibおよび $\Delta$ を含むシーケンスはらせん形成性を示すことが分かった。

#### ④ らせん駆動の検証

外部刺激によるらせん駆動を調べるために、合成したらせん性ペプチドの溶液に対するCDスペクトルを測定した。

CD信号は、鏡像関係にある構造の片方が多いときに観測できる。全てアキラル残基からなるらせんペプチドの場合、単独ではCD信号を実質的に示さなかった。ここでは右巻きと左巻きらせんが等量存在しており、CD信号が打ち合っている状態といえる。



Drawn with ArgusLab (Thompson, M. A. Planiaria Software, 2004).

ここにキラル添加剤を混合すると、ペプチド鎖中のデヒドロアミノ酸残基のUV吸収領域に顕著なCD信号が観測された。多くの場合、そのCDパターンは分裂型となった。その分裂CDの符号と強度から、駆動したらせんの巻きとそのらせんの偏りが推定できた。

その結果、らせんの駆動性は、次の点によって主に支配されることが分かった。

- ・ らせん性ペプチドの構造（シーケンス、鎖長、デヒドロアミノ酸の構造、末端官能基など）
- ・ キラル添加剤の種類（カルボン酸系、ペプチド系、環状系など）
- ・ 添加剤の濃度

即ち、らせん性ペプチドの構造とキラル添加剤の種類の組み合わせによってらせん駆動の方向と偏りを制御できることを示す。

また、キラルペプチドについては溶媒効果によるらせんの巻きの制御にも成功している。さらに、蛍光色素を導入したペプチドについて、溶媒変化による発光特性の制御も可能にすることが出来た。

#### ⑤ ペプチド系らせん分子材料への展開

らせん型分子機械を含む機能化の一環として、らせん性ペプチドを汎用高分子や特殊形態高分子への導入を試みた。その結果、らせん性ペプチドを効率よく高分子鎖中に組み込むことが出来た。

また、疎水性ペプチドの末端を親水性化させることで両親媒性とし、ミセル集合体形成を試みた。また、キラル添加剤によるペプチドの不斉誘起や集合状態の制御を試みた。

さらに、異常アミノ酸の低分子オリゴペプチドの自己会合体を調べた。キラル会合体において、末端に導入したキラル残基が影響することが示唆された。

このように、異常アミノ酸系ペプチドは縮合合成系であり水素結合性基を有するため、比較的容易に材料系に組み込んだり、集合体系に展開することが可能といえる。

※ まとめ

一連の研究を通して、ペプチドラせん型分

子機械とその機能化に繋がる基礎的知見を得ることができた。前述したように、人工らせん高分子系を用いた分子機械やスイッチの研究は精力的に行われている。

一方、蛋白質模倣らせん骨格を用いた分子機械の研究は十分遂行されていない。これは天然の $\alpha$ -アミノ酸シーケンスがキラルであるため、既に片巻きを強く優先している。従って、通常の蛋白質らせんは外部の刺激で逆向きに駆動させるのは困難である。

このため、本研究では異常 $\alpha$ -アミノ酸によって構成された光学不活性ペプチドらせんを用いた。本研究開始時の我々の研究結果から、新規な光学不活性ペプチドに発展させ、そのらせん駆動に関する幅広いデータ収集を行うことが出来た。

これらの結果は、蛋白質らせんキラリテイの本質の理解に役立つとともに、多様な刺激応答型ペプチド系らせんに展開できる。特に、ペプチド骨格は、特定の機能性アミノ酸を部位特異的に導入できる利点を有するため、多彩なシーケンスを自在に設計・合成できる。従って、本研究の成果は、人工ペプチドらせんを基盤とした刺激応答性材料の研究の進展に寄与することが期待できる。

これらの研究成果より、現時点までに、15件の学会発表を行っている(うち1件は招待講演)。未発表のものや本成果を基に展開された結果は今後の学会で発表する予定である。なお、研究成果の幾つかについては、論文原稿を準備中である。

#### ※ 謝辞

本研究課題の遂行において、研究室の学生諸氏に多くの協力を頂いた。彼らの支援に心より御礼を申し上げたい。

さらに、貴重な研究資金をご提供頂いた国民の皆様ならびに採択頂いた文部科学省・日本学術振興会の関係各位に深く感謝致します。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

##### ① Yoshihi to INAI

「Domino-type Control of Helicity of Artificial Peptides through External Chiral Stimulus」

高分子, 62巻, 5月号, p. 228 (2013年)

<http://main.spsj.or.jp/c5/kobunshi/kobunshi.php>

査読無 (会誌「高分子」の *Hot topics* 項に掲載: 学会発表⑮の招待講演に付随して依

頼されたもの)

[学会発表] (計15件)

##### ① 丸山 裕樹・稲井 嘉人(代表者)

「側鎖機能性基を有するペプチドらせん構造の外部分子による制御」  
第60回高分子学会年次大会、2011年5月27日、大阪 (大阪国際会議場)

##### ② 岩佐 知樹・稲井 嘉人(代表者)

「非天然アミノ酸を用いた分子センサーの設計と合成」第60回高分子学会年次大会、2011年5月27日、大阪 (大阪国際会議場)

##### ③ 笠田 純一郎・稲井 嘉人(代表者)

「末端に蛍光色素を持つらせんペプチドの合成とキラル応答性」  
第60回高分子学会年次大会、2011年5月27日、大阪 (大阪国際会議場)

##### ④ 中澤 陽子・稲井 嘉人(代表者)

「ピンセット型らせんのキラル刺激による制御」  
第60回高分子学会年次大会、2011年5月27日、大阪 (大阪国際会議場)

##### ⑤ 藤村 咲紀子・笠田 純一郎・稲井 嘉人(代表者)

「C末端に官能基を有するペプチドらせんの設計と合成」  
第61回高分子学会年次大会、2012年5月29日、横浜 (パシフィコ横浜)

##### ⑥ 坂野 令奈・稲井 嘉人(代表者)

「らせん性ペプチドを導入したビニル高分子の設計と合成」  
第61回高分子学会年次大会、2012年5月29日、横浜 (パシフィコ横浜)

##### ⑦ 栗田 桂輔・稲井 嘉人(代表者)

「末端に蛍光性色素を有するらせんペプチドの合成とその巻き方向」  
第61回高分子学会年次大会、2012年5月29日、横浜 (パシフィコ横浜)

##### ⑧ 今井 聡子・稲井 嘉人(代表者)

「色素含有アミノ酸により修飾された dendritic 構造の合成と表面構造に及ぼす溶媒依存性」  
第61回高分子学会年次大会、2012年5月29日、横浜 (パシフィコ横浜)

##### ⑨ 中澤 陽子・稲井 嘉人(代表者)

「C末端にキラル基を有するペプチドオリゴマーの合成とキラル構造」  
第61回高分子学会年次大会、2012年5月29日、横浜 (パシフィコ横浜)

⑩ ○今井 聡子・稲井 嘉人(代表者)

「異常アミノ酸含有ペプチドにより修飾された dendrimer の設計と界面構造」

第 61 回高分子討論会、2012 年 9 月 20 日

名古屋 (名古屋工業大学)

⑪ ○稲井 嘉人(代表者)・中澤 陽子・栗田 桂輔, 笠田 純一郎

「人工らせん性デヒドロペプチドの赤外吸収スペクトルの理論的解析」

第 61 回高分子討論会、2012 年 9 月 20 日

名古屋 (名古屋工業大学)

⑫ ○栗田 桂輔・稲井 嘉人(代表者)

「蛍光性色素を末端に有するらせんペプチドの刺激応答」

第 61 回高分子討論会、2012 年 9 月 20 日

名古屋 (名古屋工業大学)

⑬ ○坂野 令奈・稲井 嘉人(代表者)

「側鎖にらせん性ペプチドを含むビニル高分子の合成」

第 61 回高分子討論会、2012 年 9 月 20 日

名古屋 (名古屋工業大学)

⑭ ○藤村 咲紀子・笠田 純一郎・稲井 嘉人(代表者)

「C 末端官能基を有するペプチドらせんの設計とキラル情報伝達」

第 61 回高分子討論会、2012 年 9 月 21 日

名古屋 (名古屋工業大学)

⑮ ○稲井 嘉人(代表者)

「異常アミノ酸により設計されたペプチドらせんのキラル相互作用」

第 61 回高分子討論会 (※招待講演)

2012 年 9 月 21 日

名古屋 (名古屋工業大学)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲井 嘉人 (INAI YOSHIHITO)

名古屋工業大学・工学研究科・教授

研究者番号：60223210

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし