

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23655118

研究課題名(和文) 配位結合駆動型メタロペプチドフォルダマーの創製

研究課題名(英文) Construction of Coordination-Driven Metallopeptide Foldamers

研究代表者

田代 省平 (Tashiro, Shohei)

東京大学・理学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80420230

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生体高分子の一つであるポリペプチドの構造多様性、機能性を飛躍的に向上させる新規なペプチド型機能性分子モチーフを創製することを目指し、水素結合に代えて多点金属配位によって高次構造へとフォールディングするメタロペプチドフォルダマーを構築することを目標とした。実際に、主鎖にオキシム基を組み込んだオキシムペプチドを新たに合成することにより、金属錯体形成反応を介して様々な単核・多核錯体型二次構造へと一義的にフォールディングすることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Polypeptides, which are one of the typical biopolymers, show excellent molecular functions such as molecular recognitions and catalytic reactions based on the elaborate folding structures. In this research, we aimed at the construction of peptide-based functional molecules with unique structural diversity and functions by designing "metallopeptide foldamers" that can fold into various secondary structures through metal coordination as substitute for hydrogen bonding. Indeed, we revealed that a series of an artificial oxime-peptide which was newly synthesized by us formed several mononuclear and multinuclear metal complexes with unique secondary structures through metal coordination.

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：超分子化学 自己組織化 錯体化学 ペプチド 多核金属錯体

## 1. 研究開始当初の背景

代表的な生体高分子の一つであるポリペプチドは優れた機能性分子とみなせることから、様々な化学分野における有用な構造モチーフの一つである。種々の $\alpha$ -アミノ酸がアミド結合で連結された天然ペプチドは、その鎖上に官能基を配列できるとともに、主鎖間の水素結合によって様々な二次構造（ヘリックス、シート、ターン）や三次構造を形成できることから、多様な官能基を高次構造の内孔および外表面へと精密に空間配置できる。ペプチドが有するこれらの特徴は、分子認識や分子変換反応、分子・イオン配列および超分子会合構造の形成など様々な方面へ展開されている。近年、これら天然ペプチド構造をさらに多様化、多機能化させることを目的として、 $\alpha$ -アミノ酸類似モノマーをオリゴマー化させた擬ペプチドフォルダマーを人工設計する試みが盛んに行われている。得られるフォルダマーでは、主に水素結合によって特徴的な二次構造を形成し、これら高次構造内外に様々な官能基を空間配置できることから、その有用性が認められている。ペプチドフォルダマーの代表的な先行研究として、 $\beta$ -ペプチドやペプトイド類などの擬ペプチド鎖によるペプチド様高次構造の形成が挙げられる。これらは、天然ペプチドの主鎖骨格をわずかに化学修飾しただけであるが、多様な高次構造を形成することが知られている。また、得られる高次構造外周部に官能基を配列できることから、分子認識や分子変換反応、タンパク質間相互作用の阻害剤や、液晶のビルディングブロックとしての活用など多方面への応用が報告されている。

## 2. 研究の目的

本研究では上記の研究背景に基づき、従来型ペプチドの構造多様性と機能性を飛躍的に向上させ得る新規なペプチド型機能分子モチーフを新たに創製することを目指し、ペプチドフォールディングの駆動力である水素結合を配位結合へと置き換えたメタロペプチドフォルダマーを設計することを考えた。具体的には、ペプチド主鎖部に高い金属配位能を付与することで、多核錯体形成を介してペプチド高次構造が形成される金属錯体型ペプチド構造モチーフを De novo 設計する。この結果、以下に挙げる三つの優れた特徴を有する人工ペプチドフォルダマーを創製できると考えた。第一に、フォールディングに伴い金属イオンを高次構造内に配列できることから、生成する多核金属中心が即、機能中心となり得ることが挙げられる。第二に、水素結合に比べて多彩な結合様式を示す配位結合では、形成する高次構造のバリエーションを著しく増加させることが可能となる。第三に、系中で金属イオンの配位数を可逆的に変化させることで、動的な高次構造変

換が可能となる。そこで本研究では、本目的を達成するための端緒として、高い金属配位能を有する合成ペプチドを新規に開発し、種々の金属塩との錯体形成反応を検討することにより、多様な二次構造を有する配位結合駆動型ペプチドフォルダマーを構築することを目指した。

## 3. 研究の方法

主鎖で金属イオンに多点配位できる人工ペプチド鎖（図1）の候補として、本研究では様々なペプチド様オリゴマーを設計・合成した。具体的には、天然 $\alpha$ -アミノ酸の主鎖骨格内にオキシム部位を組み込んだオキシムアミノ酸を単位構造として新たに設計した。オキシムアミノ酸をペプチド結合によって逐次縮合することにより、主鎖骨格内にオキシム部位とアミド部位が交互配列したオキシムペプチドを合成した。一方で、アミド結合を介さずに全てオキシム基で連結されたオリゴマーについても設計・合成を行った。

合成したオリゴマーに対して様々な金属イオンを適切な溶媒中で加えることにより、錯体形成反応を介してオリゴマーが自発的に折りたたまれた金属錯体型フォルダマーを構築することを試みた。得られた生成物の評価は、核磁気共鳴 (NMR) 測定や質量分析 (MS) 測定に加え、単結晶 X 線構造解析によって行った。

構築した金属錯体型フォルダマーの立体構造評価については、主に以下の2つの手法を用いた。結晶構造中での構造評価は、上述した単結晶 X 線構造解析によって行った。一方で溶液中における立体構造については、二次元 NMR 測定にて各水素原子間における核オーバーハウザー効果 (NOE) を見積もることにより評価した。最終段階として、結晶中と溶液中で決定された各二次構造を総合的に考察した。

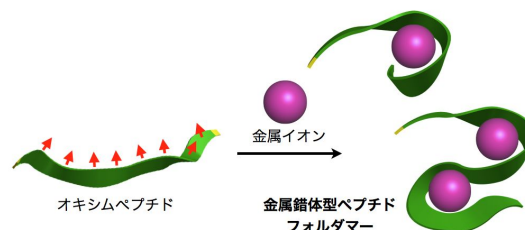


図1. 本研究の概念図。

## 4. 研究成果

ペプチド主鎖にオキシム基を導入したオキシムペプチドについては、ジペプチドとテトラペプチドを有機合成し、その錯体形成挙動について検討を行った。例えばジペプチドとパラジウム塩をアセトニトリル中で混合したところ、錯体形成を介してペプチド鎖が折りたたまれた単核錯体型フォルダマーが形成することを見出した。また、ジペプチド

のC末端保護基や、用いるパラジウム塩の対アニオンを変更することにより、異なる二次構造を作り分けることができた。これらの構造はNMRやMS、単結晶X線回折測定より明らかにされた(図2)。

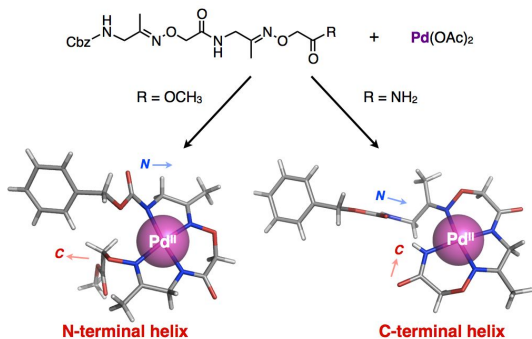


図2. ジペプチドと酢酸パラジウムからなる二種の単核錯体型フォルダマーの形成。

ペプチド鎖を伸ばしたテトラペプチド鎖について同様の検討を行ったところ、二当量のパラジウムイオンと錯体形成することにより、二核錯体型フォルダマーが定量的に得られることを見出した。生成した立体構造について、NMRおよび単結晶X線回折測定を用いて評価を行ったところ、溶液中および結晶中ともに、パラジウムイオンを介してペプチド鎖が折りたたまれた二重ヘアピン構造を形成していることが明らかとなった(図3)。

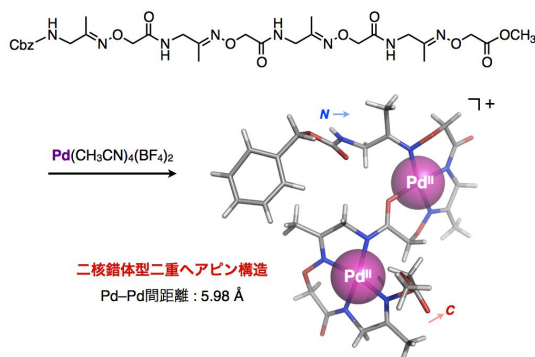


図3. テトラペプチドとパラジウム塩の錯体形成による二核錯体型二重ヘアピン構造の形成。

また本研究では、得られた金属錯体型フォルダマーが酸-塩基の添加に応じて可逆的に構造変換することも見出した(図4)。構造変換反応はジペプチド錯体およびテトラペプチド錯体ともに観測されたことから、外部刺激に基づく可逆構造変換は、本研究で設計されたオキシムペプチド金属錯体の優れた特性であると言える。

本研究で得られたこれらの成果については、後述する複数の学会発表に加え、査読付きの学術論文として *Angewandte Chemie International Edition* 誌に掲載された。さらに、本成果を含めた総説を執筆し、*Chemistry Letters* 誌に“Highlight Review”として査読付き論文として掲載された。

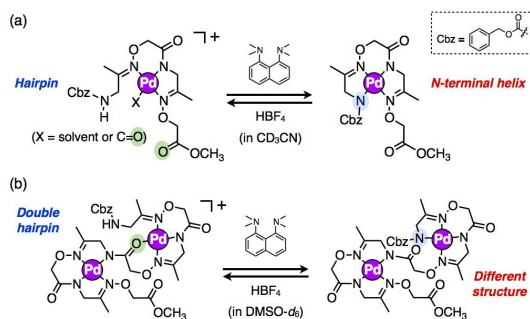


図4. ジペプチドおよびテトラペプチド錯体の酸-塩基による可逆構造変換反応。

本研究の展開として、現在では異種二核錯体型ペプチドフォルダマーの構築について研究を進めている。具体的には、ペプチド鎖に対して段階的に錯体形成反応を施すことにより、異なる二つの金属イオンを位置選択的にペプチド鎖上に導入できることを見出された。また、鎖状ペプチドだけでなく環状オキシムペプチドについても合成し、その錯体形成反応について検討を行っている。例えば環状ジペプチドのパラジウム錯体では、興味深い結晶構造を示すことがX線回折測定から示唆されており、現在はその構造と機能評価についても研究を進めている。

上述したオキシムペプチドだけでなく、全てのモノマーがオキシム基のみで連結されたオリゴオキシムについても検討を行った。以前に我々は環状テトラオキシム配位子を新たに合成し、その環中心に様々な金属イオンを取り込むことができることを明らかにした(*Inorganic Chemistry* 2009, 48, 10093)。今回、種々の銀塩との錯体形成反応を検討したところ、銀塩の対アニオンによって異なる銀錯体が形成することを見出した。例えば銀二核錯体が形成する場合は、銀イオンが銀-銀相互作用を伴って一次元状に連結された配位高分子が生成することが単結晶X線構造解析より明らかとなった(図5)。本成果は、査読付き学術論文として *Sensors* 誌に掲載された。

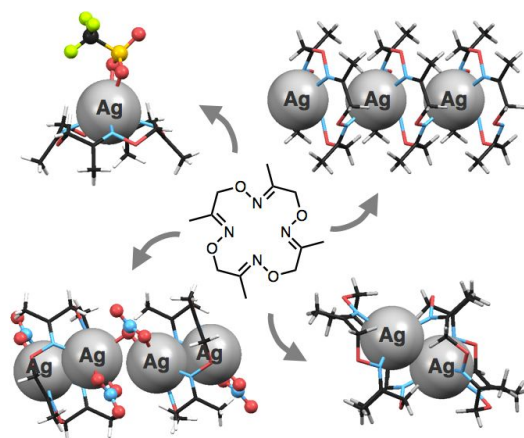


図5. 環状テトラオキシムと種々の銀塩からなる単核・二核銀錯体の結晶構造。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

田代 省平・塩谷 光彦 “Stimuli-responsive Synthetic Metallopeptides” *Chemistry Letters* **2013**, *42*, 456–462, 査読有, DOI: 10.1246/cl.130334.

田代 省平・谷平 潤一郎・山田 美穂子・塩谷 光彦 “Discrete and Polymeric, Mono- and Dinuclear Silver Complexes of a Macrocyclic Tetraoxime Ligand with Ag<sup>1</sup>-Ag<sup>1</sup> Interactions” *Sensors* **2013**, *13*, 5671–5685, 査読有, DOI: 10.3390/s130505671.

田代 省平・松岡 晃司・蓑田 愛・塩谷 光彦 “Metallo-Foldamers with Backbone-Coordinative Oxime Peptides: Control of Secondary Structures” *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51*, 13123–13127, 査読有, DOI: 10.1002/anie.20126968.

〔学会発表〕(計 10 件)

高松 紀仁・田代 省平・塩谷 光彦 “人工オキシムペプチド配位子による異種多核金属錯体の選択的合成と可逆構造変換” 日本化学会第 94 春季年会, 2014 年 3 月 27 日–30 日, 名古屋大学 (愛知).

田代 省平・高松 紀仁・大坪 主弥・北川 宏・塩谷 光彦 “環状オキシムペプチド金属錯体の水和物結晶における水の二次元レイヤー構造” 日本化学会第 94 春季年会, 2014 年 3 月 27 日–30 日, 名古屋大学 (愛知).

高松 紀仁・田代 省平・塩谷 光彦 “オキシムペプチド錯体の逐次伸長化による異種二核フォルダマーの構築” 錯体化学会第 63 回討論会, 2013 年 11 月 2 日–4 日, 琉球大学 (沖縄).

田代 省平・松岡 晃司・高松 紀仁・蓑田 愛・塩谷 光彦 “金属配位を介してフォールディングする人工オキシムペプチドの開発” 第 7 回バイオ関連化学シンポジウム, 2013 年 9 月 27 日–29 日, 名古屋大学 (愛知).

田代 省平 “金属イオンで分子を折りたたむ 複雑な超分子構造へのアプローチ” 錯体化学若手の会 関東支部勉強会, 2013 年 6 月 15 日, 立教大学 (東京).

田代 省平・松岡 晃司・塩谷 光彦 “人工オキシムペプチドを用いた金属配位駆動型メタロフォルダマーの構築と可逆な構造変換” 日本化学会第 93 春季年会,

2013 年 3 月 22 日–25 日, 立命館大学 (滋賀).

高松 紀仁・松岡 晃司・田代 省平・塩谷 光彦 “水溶性オキシムペプチドによる多種金属錯体型メタロフォルダマーの構築” 日本化学会第 93 春季年会, 2013 年 3 月 22 日–25 日, 立命館大学 (滋賀).

高松 紀仁・松岡 晃司・田代 省平・塩谷 光彦 “人工メタロペプチドを指向した水溶性オキシムペプチドの合成とその錯体形成” 日本化学会第 92 春季年会, 2012 年 3 月 25 日–28 日, 慶応義塾大学 (神奈川).

田代 省平・松岡 晃司・塩谷 光彦 “Construction of Metallo-Foldamers via Metal Complexation of Backbone-Coordinative Oxime-Peptides” 第 21 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム, 2011 年 5 月 30 日–31 日, 千葉大学 (千葉).

田代 省平・松岡 晃司・塩谷 光彦 “人工オキシムペプチドによる金属配位駆動型フォルダマーの構築” 第 7 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2011 年 5 月 28 日–29 日, 広島大学 (広島).

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

田代 省平 (TASHIRO Shohei)  
東京大学・大学院理学系研究科・助教  
研究者番号: 80420230