

令和元年6月15日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05481

研究課題名(和文) ペプチド結晶内空間への生体高分子の包接とその応用

研究課題名(英文) Inclusion of biopolymers within porous peptide crystals and their applications

研究代表者

澤田 知久 (Sawada, Tomohisa)

東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授

研究者番号：70625467

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,900,000円

研究成果の概要(和文)：短いペプチドと金属イオンを混ぜ合わせることで自発的に組み上がる細孔性ペプチド結晶は、簡便な合成法ながら精密なナノ空間を有する。本研究では、用いるペプチドの化学修飾により、ナノ空間のサイズを1.5～2.8ナノメートルまで系統的に作り分けることに成功し、そのサイズに応じた分子包接挙動を明らかにした。さらに、ペプチド配列設計に基づき、ユニークな絡まり構造をもつ分子や天然に存在するβ-バレル構造の精密模倣構造の創出にも新たに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然界のタンパク質の精密かつ機能的な分子構造は、長いペプチド鎖の非常に複雑な自己組織化過程を経て構築され、これを人工的に模倣することは合成学的に未だ不可能である。本研究では、短いペプチド鎖と金属イオンを混ぜ合わせる独自の自己組織化方法を考案し、簡便な合成法ながら様々な新奇ナノ構造の構築に成功した。これらはタンパク質の精密な模倣を可能にするとともに、前例のないユニークなトポロジー構造も含まれ、ナノ構造構築における革新的な合成手法としての学術的意義を示すものである。

研究成果の概要(英文)：A porous peptide crystal, spontaneously self-assembled by simple mixing of a short peptide and a metal ion, has a precise nano-cavity via the facile synthesis. In this work, we succeeded in syntheses of a series of such porous crystals from 1.5 to 2.8 nanometer-sized cavities via chemical modifications of peptides, and revealed their molecular inclusion properties based on their cavity sizes. Furthermore, we also succeeded in creation of uniquely entangled molecules and a precise mimic of natural β-barrels via peptide sequence designs.

研究分野：超分子化学

キーワード：自己組織化 ペプチド 配位結合 フォールディング ナノ構造

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質、核酸、そして糖鎖などの複雑な生体高分子の構造や相互作用を簡便かつ精密に明らかにする技術の開発は、重要かつ挑戦的な課題である。もし、生体高分子を包接できる単結晶があれば、その X 線回折測定を行うことで、結晶内に内包される生体高分子の構造や、高分子鎖間に働く相互作用などを、精密に解明できると考えられる。特に、代表的な生体分子である、ペプチドを骨格に組み込んだ細孔性結晶を創出できれば、さまざまな生体高分子の認識場として最適であることが期待される。我々はそのような考えのもと、本研究開始当初、トリペプチド配位子と銀イオンの錯形成から得られる細孔性ペプチド結晶を一例創出しており、上記の大きな目標に向けてこれを発展させることを目指した。この結晶材料は、ペプチドらせんと銀イオンから成る一次元鎖がハニカム状に絡まり合うことで生じた、直径 2 ナノメートルにおよぶ巨大な一次元ヘリカルチャネル構造を有しており (図 1)、短いペプチド配位子と金属イオンを混合するだけの簡便さにもかかわらず、ペプチド骨格で囲まれた精密なナノ空間を構築できる特徴があった。

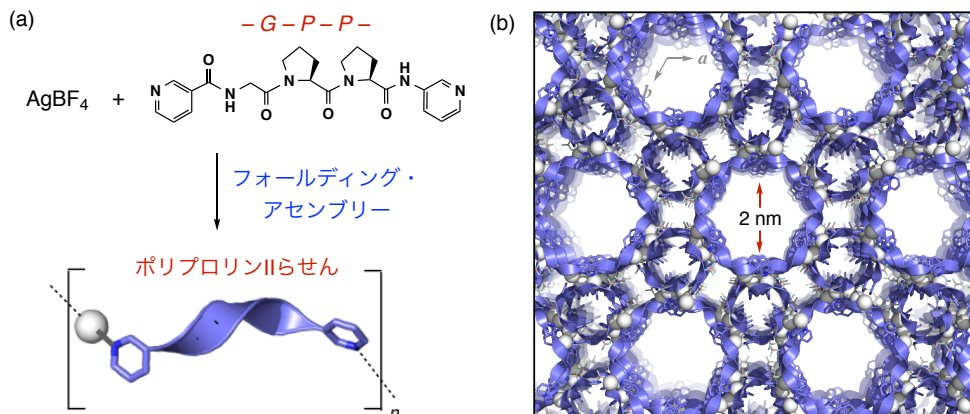


図 1(a) 銀塩とトリペプチド配位子の錯形成のスキーム (G-P-P 配列のペプチド鎖がポリプロリン II らせん配座をとりながら一次元鎖を形成する), (b) 細孔性ペプチド結晶の分子構造

2. 研究の目的

本研究では、上記の背景のもと、独自の細孔性ペプチド結晶材料を開発しさまざまな分子の包接とその包接結晶の X 線回折測定の実現を目的とした。以下の 2 つの目標を設定した。

まず 1 つ目の目標として、結晶材料の骨格に用いるペプチド配位子の長さや配列、用いる金属塩との組み合わせを、ペプチド化学や錯体化学の観点から系統的に変化させ、得られる結晶材料のチャネル形状や性質の精密なコントロールを目指した。さらに構築した結晶のチャネル径に応じて、さまざまな分子の包接とその X 線回折測定を実施することとした。

2 つ目の目標として、ペプチド結晶材料の合成において、我々独自の合成コンセプトの確立を目指した。既存の結晶性材料は、剛直な有機配位子と金属イオンの自己集合から構築されるのに対し、本研究では柔軟な短いペプチド配位子と金属イオンの組み合わせを選択した。これによりペプチドのもつユニークな配座に基づいたナノ構造をもつ、独自の結晶材料の構築が可能となると考えたためである。その自己集合過程では、ペプチド配位子のフォールディング (折れたたまり) とアセンブリー (精密集積) の両者を同時に実現する必要があり、さまざまなペプチド配列に応じたナノ構造構築を行うことで、コンセプトの実証を目指した。

3. 研究の方法

トリペプチド G-P-P 配列の両末端に金属配位部位を導入したトリペプチド配位子と銀塩を混合することで、細孔性ペプチド結晶を合成した。ゲストとして包接する分子や高分子を溶かしたアルコール溶液に、ペプチド結晶を浸すことで細孔性ペプチド結晶のナノ空間内へゲスト包接を行った。合成した細孔性ペプチド結晶やゲスト分子を内包した結晶に対して、X 線構造解析を実施することで、その詳細な分子構造を明らかにした。また、トリペプチド配位子と銀塩の組み合わせに対して、銀塩の選択、非天然型アミノ酸残基の導入、官能基の導入などのさまざまな変化を加えることにより (図 2a)、細孔性ペプチド結晶の構造を大きく変化させる試みも行った。

4. 研究成果

(1) ペプチド配位子の化学修飾による細孔性ペプチド結晶の構造制御とゲスト包接

まず、結晶化に用いる銀塩を AgBF_4 から AgNTf_2 へ変更することで、1.5 ナノメートル径の四角形状のネットワーク構造へ構造制御できることを明らかにした(図 2b 左)。この得られたネットワーク構造では、ペプチド配位子の片方のピリジル基へ官能基を導入することで、チャンネル内面の官能基化も可能であることも明らかにした。また、ペプチド配位子中の一つのプロリンの五員環を六員環へ化学的に変異させた場合には、対称性の下がった類似のチャンネル構造が構築できることも明らかにした。銀塩とピリジル基へ導入する官能基の組み合わせによって、さらなる構造制御も可能となった。たとえば、 AgSbF_6 とアミド官能基を導入した場合には、2.8 ナノメートルもの巨大な六角形状チャンネルの形成に至った(図 2b 右)。DNA 二重らせん(約 2.5 ナノメートル径)をも包接可能なサイズのチャンネルをもつ細孔性ペプチド結晶の構築に成功したといえる。

また、構築した様々な細孔性ペプチド結晶へのゲスト分子の包接も検討した。1.5 ナノメートル以下の小さめのチャンネルをもつペプチド結晶を用いた場合、糖アルコールやフッ素化されたアルコールなどがチャンネル内に精密に認識され、X線観察することができた(図 2c)。一方、2 ナノメートルを超える大きめのチャンネルをもつペプチド結晶には、ポリビニルピロリドンを始めとする親水性高分子が包接されることも明らかにした。

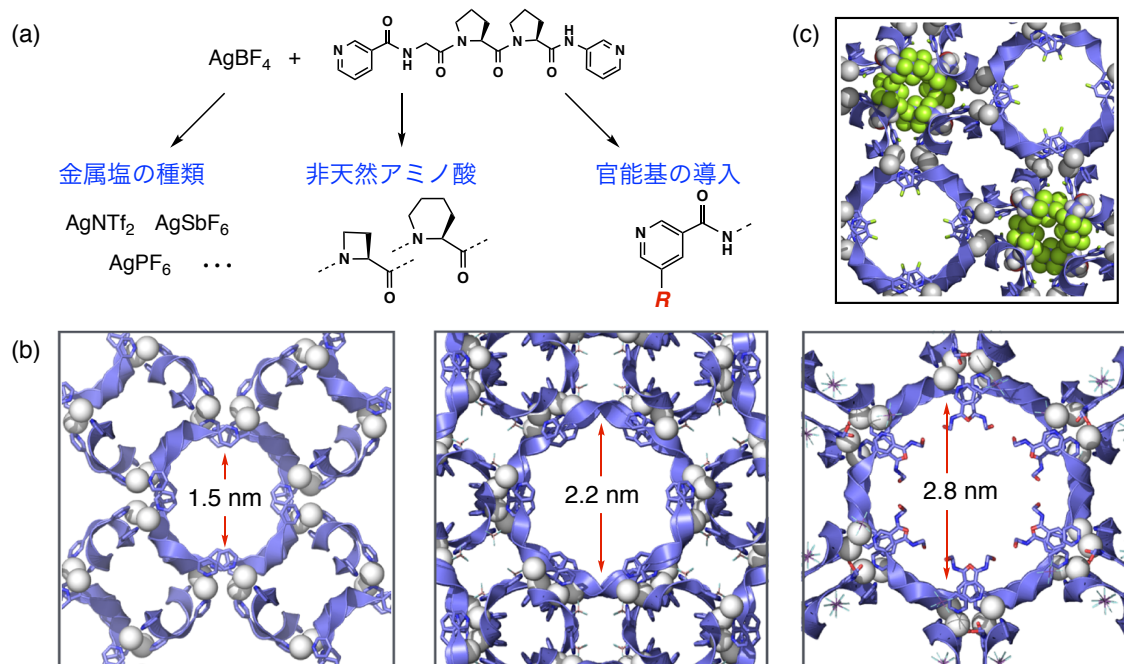


図 2(a) 化学修飾による細孔性ペプチド結晶の構造変換の方法, (b) 1.5~2.8 ナノメートル径の細孔性ペプチド結晶の結晶構造, (c) チャンネル内へゲスト分子が包接された結晶構造 (ゲスト: 3, 3, 4, 4, 5, 5, 6, 6-nonafluorohexan-1-ol を空間充填表示で示してある)

(2) 絡まりトポロジー構造の創出

トリペプチド配位子の配列設計を変えた場合には、細孔性ペプチド結晶とは異なり、ユニークな構造をもった分子が構築できることを見出した。たとえば、前例にない複雑な絡まりトポロジー構造が合成可能であることを見出した。P-G-P 配列のトリペプチド配位子と AgBF_4 の錯形成により、4つのリング構造が正四面体状に絡まった[4]カテナン分子の合成に成功した(図 3a 左)。これは合計 12 回もの絡まり交点をもつトポロジーであり、合成分子のもつ絡まり回数におけるチャンピオンレコードとなった。これは、P-G-P 配列がとる特異なループ配座が絡まりを生みやすいためであるといえる。さらに、T-P-P 配列のトリペプチド配位子からは、リング数 4 と絡まり交点数 12 は同一にも関わらず、絡まり方が全く異なる別のトポロジー構造を与えることを明らかにした(図 3a 右)。すなわち、ペプチド配列の選択により、複雑なトポロジー構造の選択的合成が可能であることを示すことに成功した。

(3) 精密 β バレル構造の人工構築

生体系に見られる重要なタンパク質である β バレルの精密な立体構造を、人工的に構築することにも成功した。 β ストランド配座を取りやすい F-V-F-V 配列とループ配座を取りやすい P-G-P 配列を、スペーサーを介して連結したオクタペプチド配位子を合成し、 ZnI_2 との錯形成によって β バレル構造の構築に成功した(図 3b)。X線構造解析により、6本の β ストランドが

逆平行型βシートによって樽状に閉じたβバレル構造であることを明らかにした。このとき、βストランドの傾き角度と shear number (樽状に閉じる際に生じる残基のずれの数)の関係は、生体系に見られるβバレル構造と完全に一致した。また、βバレル内には計12個のV残基が環状に整列しており、このような精密な空孔をもつβバレルの人工構築は世界初の例である。以上の成果は、フォールディングとアセンブリーの協奏による独自の合成手法が、ナノ構造構築において革新的であることを示すものであるといえる。

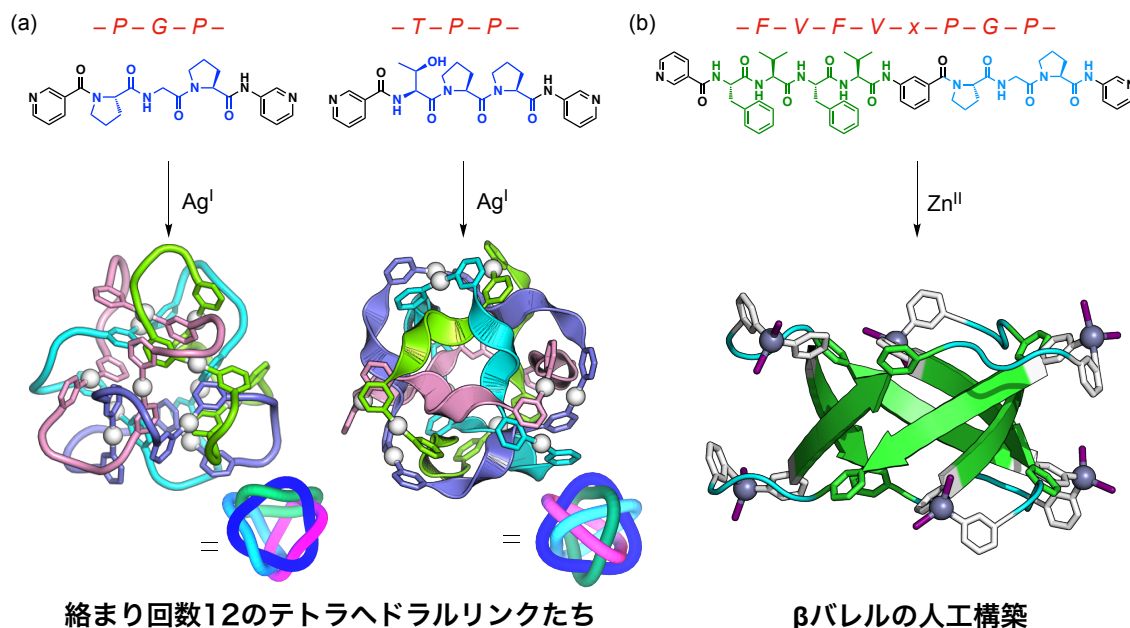


図 3(a)複雑な絡まりをもつトポロジー分子の構築 (交点数 12 回は分子の絡まり構造の現チャンピオンレコード), (b) 精密なβバレル構造の初の人工構築

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件) 全て査読有り

1. Tomohisa Sawada Ami Saito, Kenki Tamiya, Koya Shimokawa, Yutaro Hisada, Makoto Fujita
“Metal-peptide rings form highly entangled topologically inequivalent frameworks with the same ring- and crossing-numbers”
Nat. Commun. **2019**, *10*, 921. (DOI: 10.1038/s41467-019-08879-7)
2. Motoya Yamagami, Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
“Synthetic β -barrel by metal-induced folding and assembly”
J. Am. Chem. Soc. **2018**, *140*, 8644-8647. (DOI: 10.1021/jacs.8b04284)
3. Tomohisa Sawada, Yuuki Inomata, Motoya Yamagami, Makoto Fujita
“Self-Assembly of a Peptide [2]Catenane through Ω -Loop Folding”
Chem. Lett. **2017**, *46*, 1119-1121. (DOI: 10.1246/cl.170438)
4. Tomohisa Sawada, Motoya Yamagami, Shuji Akinaga, Tatsuki Miyaji, Makoto Fujita
“Porous Peptide Complexes by a Folding-and-Assembly Strategy”
Chem. Asian J. **2017**, *12*, 1715-1718. (DOI: 10.1002/asia.201700458)
5. Tomohisa Sawada, Motoya Yamagami, Kazuaki Ohara, Kentaro Yamaguchi, Makoto Fujita
“Peptide [4]Catenane by Folding and Assembly”
Angew. Chem. Int. Ed. **2016**, *55*, 4519-4522. (DOI: 10.1002/anie.201600480)

[学会発表] (計 17 件)

1. Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
6th International Conference on Metal-Organic Frameworks and Open Framework Compounds (2018年12月)
“Metal-peptide nanostructures with unique entanglements”
2. Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
International Congress on Pure and Applied Chemistry 2018 (2018年11月)
“Unique peptide nanostructures via metal-directed folding and assembly”
3. Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
Bordeaux 2018 Symposium on Foldamers (2018年9月)

- “Higher-order peptide nanostructures via metal-induced folding and assembly”
4. Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
43rd International Conference on Coordination Chemistry (2018年8月)
“Peptide-entangled polyhedra by folding and assembly”
 5. Tomohisa Sawada
The Wolf Prize Symposium (2018年5月)
“Concerted folding-and-assembly of short peptides via coordination”
 6. Tomohisa Sawada
日本化学会第98春季年会 (2018年3月)
“Creation of Higher-order Peptidic Nanostructures by Concerted Folding and Assembly”
 7. Tomohisa Sawada, Motoya Yamagami, Shuji Akinaga, Ami Saito, Yuuki Inomata, Makoto Fujita
The 6th International Symposium “Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions” (2018年1月)
“Unique entangled nanostructures via metal-directed folding-and-assembly”
 8. Tomohisa Sawada
Symposium on Frontier of Biofunctional Chemistry (ISBC 2017 Pre-symposium Meeting) (2017年12月)
“Metal-peptide nanostructures with unique entanglements”
 9. 澤田 知久
最先端光計測とライフサイエンスの近未来 -Bio. Phys. Chem. 三重点の探索- (2017年光化学討論会 共催シンポジウム) (2017年9月)
「配位結合とペプチド配座を利用した新奇ナノ構造の創出」
 10. Tomohisa Sawada, Motoya Yamagami, Shuji Akinaga, Tatsuki Miyaji, Makoto Fujita
第67回錯体化学討論会 (2017年9月)
“Porous peptide complexes based on polyproline II helices”
 11. Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
The 12th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry (in conjugation with ISACS) (2017年7月)
“Concerted folding-and-assembly of short peptides via coordination”
 12. Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
Gordon Research Conference “Self-Assembly & Supramolecular Chemistry” (2017年5月)
“Metal-peptide nanostructures via concerted folding-and-assembly”
 13. Tomohisa Sawada, Motoya Yamagami, Shuji Akinaga, Tatsuki Miyaji, Makoto Fujita
The 5th International Symposium “Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions” (2017年1月)
“A Synthetic Protein-like Tetragonal Scaffold”
 14. Tomohisa Sawada, Asami Matsumoto, Motoya Yamagami, Makoto Fujita
Pacifichem 2015 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (2015年12月)
“Metal-directed short peptide folding and assembly for unique entangled nanostructures”
 15. Tomohisa Sawada, Motoya Yamagami, Yusuke Otsubo, Asami Matsumoto, Makoto Fujita
The 4th International Symposium “Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions” (2015年11月)
“Artificial Peptide-Based Nanostructures via Coordination-driven Folding and Assembly”
 16. Tomohisa Sawada, Asami Matsumoto, Motoya Yamagami, Makoto Fujita
10-International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry (2015年7月)
“Entangled peptide nanostructures *via* metal-directed folding and assembly”
 17. Tomohisa Sawada
Supramolecular Dynamics at the Interface of Chemistry and Biology (2015年6月)
“Metal-Directed Short Peptide Folding and Assembly”

[その他]

アウトリーチ活動 (計 3 件) :

サイエンスカフェでの講演・体験実験 (2 件)、高校生への講義 (1 件)

ホームページ : <http://fujitalab.t.u-tokyo.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。