

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02697

研究課題名(和文)自己集合化学とペプチド化学の協奏による人工酵素の創出

研究課題名(英文)Creation of artificial enzymes by combining metal-induced self-assembly and peptide chemistry

研究代表者

澤田 知久 (Sawada, Tomohisa)

東京工業大学・科学技術創成研究院・准教授

研究者番号：70625467

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：短いペプチドと金属イオンを混合することで高次ペプチド構造が自発的に組み上がる。本研究では、ペプチド配列設計に基づく高次ペプチド構造の新規探索を行うとともに、高次ペプチド構造の有する特異なナノ空間を活用した分子認識・反応探索を実施した。細孔性結晶の1次元チャネルを利用することで、有機化合物の不斉配座の誘起や不斉反応を実現するとともに、溶液系での高次構造構築と分子認識挙動の解明も達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において見出した、高次ペプチド構造の高効率合成法とナノ空間としての機能は、将来、生体系に匹敵するような人工酵素の実現に向けた重要な第一歩となりうる。

研究成果の概要(英文)：Metal-induced folding and assembly of short peptides can construct higher-order peptide nanostructures. In this study, exploration of new peptidic nanostructures based on sequence design was conducted, and also molecular recognition/reaction properties of their unique nanocavities were investigated.

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 ナノ空間 分子認識 不斉反応 トポロジー

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

自然界の酵素が示す高度な分子認識や温和な条件下での高効率反応は、アミノ酸側鎖の官能基が精密に配置された空孔（酵素ポケット）によって実現されている。数百残基の長いポリペプチド鎖が複雑に折り畳まれてできる酵素を一から化学合成することは、現状のペプチド化学においても未だ不可能である。一方、合成化学の分野において、分子に働く弱い化学結合をデザインすることで分子集合体を構築し、そのナノ空間を酵素ポケットになぞらえて分子認識や反応場として利用する試みが行われてきた。その場合においても外部溶媒環境からの空間的な仕切りの効果が主であり、天然の酵素ポケットのように空孔内に官能基を精密配置できるような人工ホスト分子はほとんど未開拓であった。

2. 研究の目的

アミノ酸側鎖が精密に配置されたナノ空間を効率的に人工合成する方法を確立することを目的とした。さらに、得られたナノ空間を用いた分子認識や不斉反応を探索することを目的とした。これにより、自己集合化学とペプチド化学を融合した新たなものづくり手法の創出を目指した。

3. 研究の方法

まず、3～5残基のペプチド配列を設計し、その両末端へ金属イオンに配位するピリジル基を導入したペプチド配位子を合成した。その後、直線二配位の銀イオンと錯形成させることで、ペプチドのフォールディングと自己集合を引き起こし、生成したナノ構造をNMR測定および単結晶X線構造解析によって明らかにした（図1）。続いて、生成したナノ構造の空孔サイズに適したさまざまな有機小分子を混合し、内包挙動を調査した。



図1 本研究で実施した高次ペプチド構造の合成スキーム。

4. 研究成果

(1) コラーゲンに見られる繰り返し配列から着想を得た G-P-P 配列の配位子 **1a** (図 2a) と銀イオンを水/エタノール溶媒中で錯形成することで、細孔性結晶 **2a** が生成することを以前に報告している (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7228.). **2a** は直径 2.2 nm の巨大な 1 次元チャンネルを持ち、キラルな有機分子の内包や緩やかな不斉認識挙動を示したものの、より高選択的な分子認識の実現を目指し、チャンネル構造の改変を検討した。Aib-P-P 配列 (Aib: 2-アミノイソ酪酸) の配位子 **1b** を合成し、銀イオンとの錯形成により細孔性結晶 **2b** を得た (図 2b)。 **2b** はペプチド配座が **2a** の場合と少し異なるために 1.7 x 0.7 nm² の 1 次元チャンネルを形成していた。この単結晶を (*S*)-1,2-propanediol に 4 日間浸し、X 線構造解析を行ったところ、チャンネルへの内包が確認された。 *R* 体を用いた場合には、チャンネル内の別のサイトに捕捉されたため、チャンネル内には複数の不斉認識サイトが存在することがわかった。続いて、ケト・エノール互変異性のあるアセト酢酸メチルの液体へ単結晶を浸した場合には、チャンネル内にケト体のみが誘起され、 *P* 巻きの不斉配座のみが誘起された。さらに、ピルビン酸メチルの液体へ単結晶を浸した場合には、チャンネル内で溶媒のエタノールの付加反応が起こり、 *S* 体のヘミアセタールが特異的に生成した (図 2c)。このような鎖状のヘミアセタールは不安定のため単離や単結晶 X 線構造解析を行うことは困難である。以上の結果より、 **2b** のペプチド性ナノ空間がさまざまな有機化合物の不斉変換を可能にすることを明らかにした。

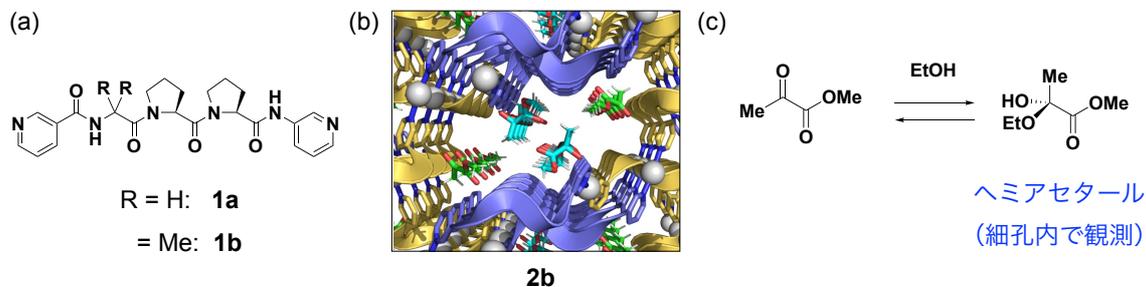


図2 (a)トリペプチド配位子 **1a/1b**, (b)細孔性結晶 **2b**, (c)細孔内で起きた不斉ヘミアセタール生成.

(2) 溶液中における高次ペプチド構造の構築を検討した。まず、最もシンプルなトリペプチド配列である G-G-G 配列のペプチド配位子 **3a** と銀イオンをニトロメタン中で錯形成すると、トーラス結び目構造 **4a** が形成することを見出した (図3)。得られた分子構造は、高度な絡まりトポロジーをもち、その交点数 (絡まりの度合いを示す指標) は7に達した (初の化学合成例)。 **4a** の構造中では、7つの配位子 **3a** は銀イオンを介して、head-to-tail 様式に揃って配列し、さらにその連結様式の場合においても存在しうる他のジアステレオマーも生成しなかったことから、本手法による構造形成には極めて高い選択性が備わることがわかった。一方、溶液中では8つの **3a** と銀イオンから形成した8交点数のトーラス結び目 **5a** が平衡混合物として生成することを明らかにした。さらに、エチル基を側鎖にもつ Abu を用いた Abu-G-G 配列 (Abu: アミノブタン酸) の配位子 **3b** からは、中央の空孔における側鎖同士の立体反発により環状構造が拡張され、9および10交点数のトーラス結び目分子構造 **4b** および **5b** が生成することも明らかにした。以上により、多重の絡まり構造を基に溶液中での高次ペプチド構造の構築が可能であることを示した。

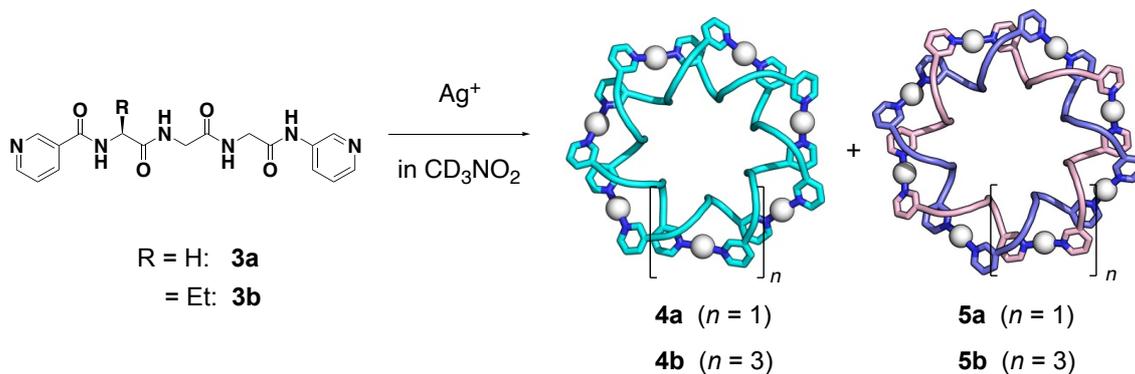


図3 銀イオンとトリペプチド配位子 **3a/4b** から組み上がるトーラス結び目構造 **4a/4b** と **5a/5b**.

(3) ペプチドの多重の絡まり構造を利用し、さらなる高次ペプチド構造の構築を追求した。プロリンを豊富に含む5残基の P-P-X-A-P 配列 (X: 3-アミノ安息香酸) のペプチド配位子 **6a** と銀イオンをニトロメタン中で自己集合させると $\text{Ag}_{24}(\mathbf{6a})_{24}$ 組成の巨大な球状構造 **7a** が定量的に生成した (図4a)。結晶構造解析からその分子構造は、外径 3.7 nm、内径 1.6 nm のカプセル構造であった。ペプチド鎖が複雑に絡まり合う構造 (交点数 24 は合成分子としては現チャンピオンレコード) によって、柔軟なペプチド鎖にも関わらずこのような巨大な中空構造を安定に形成できたと考えられる (図4b)。約 3200 \AA^3 の巨大な内部空孔に着目すると (図4c)、アラニン残基の側鎖が空孔内に配置されていたことから、側鎖の変更による **7a** の内部空孔の改変も試みた。24ヶ所の疎水性のアルキル側鎖や親水性のアミド基などによる内部官能基化が可能であった。さらに尿素官能基をもつ P-P-X-Cit-P 配列 (Cit: シトルリン) の配位子 **6b** から構築した球状構造 **7b** は、水素結合を駆動力としてカルボン酸ゲストを内包することを明らかにした (図4d)。以上により、アミノ酸側鎖で修飾可能な精密ナノ空間の人工合成を達成した。

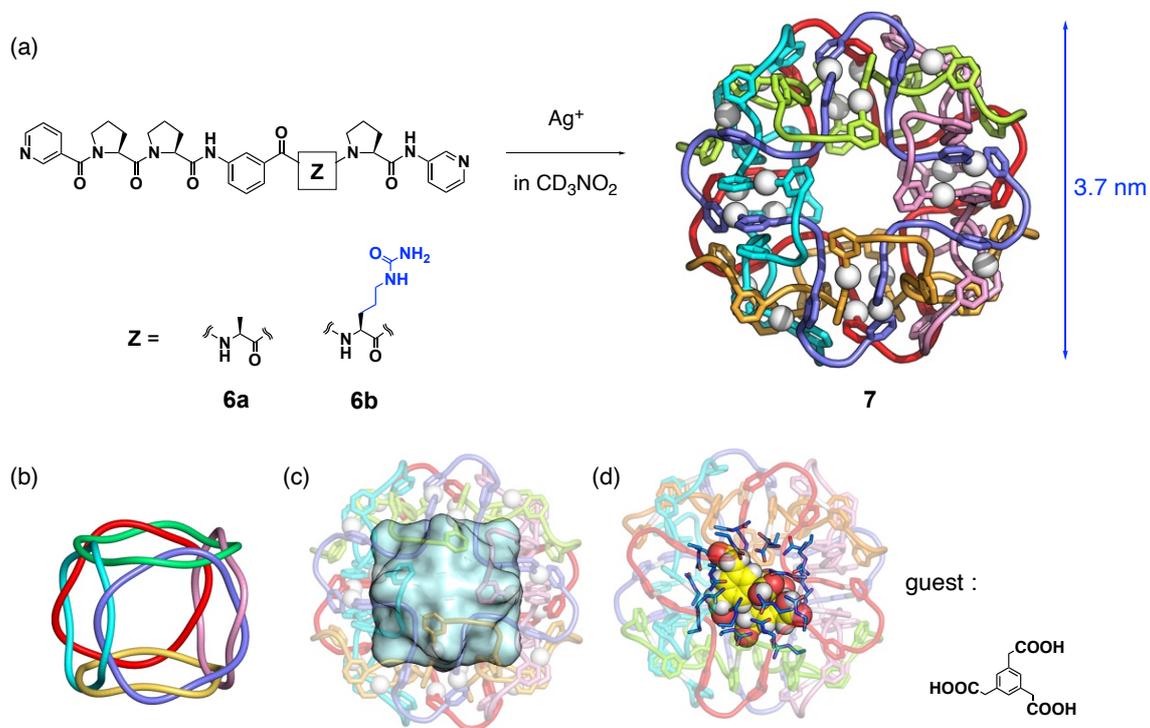


図4 (a)ペンタペプチド配位子 **6a/6b** と巨大カプセル構造 **7a/7b**, (b)絡まりトポロジー, (c) **7a** の内部空間, (d)配位子 **6b** から生成した尿素官能基化カプセル **7b** へのゲスト分子の内包の様子 (分子モデリング図).

以上、本研究では、アミノ酸側鎖が精密に配置されたナノ空間を効率的に人工合成する方法を確立するとともに、得られたナノ空間を利用した分子認識・不斉反応を実現した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Y. Inomata, T. Sawada, M. Fujita	4. 巻 143
2. 論文標題 Metal-Peptide Nonafold Knots and Decafold Supercoils	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Am. Chem. Soc.	6. 最初と最後の頁 16734-16739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c08094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 T. Sawada, W. Iwasaki, M. Yamagami, M. Fujita	4. 巻 1
2. 論文標題 Parallel and antiparallel peptide double -helices controlled by metal-induced folding and assembly	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Sci.	6. 最初と最後の頁 e10008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ntls.10008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 T. Sawada, M. Fujita	4. 巻 94
2. 論文標題 Orderly Entangled Nanostructures of Metal-Peptide Strands	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. Jpn	6. 最初と最後の頁 2342-2350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20210218	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ami Saito, Tomohisa Sawada, Makoto Fujita	4. 巻 59
2. 論文標題 X ray Crystallographic Observation of Chiral Transformations within a Metal-Peptide Pore	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed.	6. 最初と最後の頁 20367-20370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202007731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomohisa Sawada, Makoto Fujita	4. 巻 6
2. 論文標題 Folding and Assembly of Metal-Linked Peptidic Nanostructures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem	6. 最初と最後の頁 1861-1876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chempr.2020.07.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomohisa Sawada, Wataru Iwasaki, Motoya Yamagami, Makoto Fujita	4. 巻 1
2. 論文標題 Parallel and antiparallel peptide double -helices controlled by metal-induced folding and assembly	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Natural Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ntls.10008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 澤田 知久
2. 発表標題 金属と短いペプチドが織りなす球状集合体
3. 学会等名 高分子学会 21-2 超分子研究会「球状集合体の世界 - 数ナノから数百ナノサイズまで -」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomohisa Sawada
2. 発表標題 Metal-induced peptide folding and assembly
3. 学会等名 International Conference on Metal-Binding Peptides: Methodologies and Applications (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuuki Inomata, Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
2. 発表標題 Construction of Highly Entangled Torus Topologies via Folding and Assembly of Metal-Peptide Strands
3. 学会等名 ACS publications symposium: The Power of Chemical Transformations (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 Modular conformational change in a metal-peptide link by proline cis-trans isomerization
3. 学会等名 錯体化学会第71討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恒川 英介、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 Construction of precise parallel β -sheet nanostructures via metal-induced folding and assembly
3. 学会等名 錯体化学会第71討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 早川 寛博、猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 配位部位への化学修飾に基づくペプチドトラス結び目錯体の構造制御
3. 学会等名 錯体化学会第71討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野塚 凌、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 フォールディング集合法による動的 パレル錯体の構築
3. 学会等名 錯体化学会第71 討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 60交点の絡まりトポロジーをもつ巨大金属ペプチド球殻構造の合成
3. 学会等名 日本化学会第102 春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小熊 蒼汰、猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 金属ペプチド絡まりネットワークにおける有限・無限変換
3. 学会等名 日本化学会第102 春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 早川 覚博、猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 ペプチドトラス結び目錯体のトポジカル不斉の制御
3. 学会等名 日本化学会第102 春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 恒川 英介、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 Dアミノ酸の導入による シート二重螺旋構造のフォールディング集合
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小野塚 凌、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 人工 バレル錯体の内面官能基化
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土屋 俊介、恒川 英介、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 細孔性ペプチド錯体内でのDiels-Alder付加体のX線観察
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中川 崇弘、早川 覚博、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 チロシン側鎖の改変による絡まりペプチド錯体の構造制御
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ami Saito, Tomohisa Sawada, Makoto Fujita
2. 発表標題 A series of highly entangled metal-peptide frameworks based on a three-crossing unit
3. 学会等名 錯体化学会第70討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 杏実、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 細孔性ペプチド錯体結晶によるキラルなヘミアセタールの捕捉とそのX線観察
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 杏実、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 ペプチド三交差ユニットを経由する配位誘起フォールディング集合
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 金属連結ペプチド鎖の絡まり特性を利用した高次トールス分子トポロジーの創出
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩崎 航、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 配位駆動フォールディング集合法による ヘリックス二重鎖の構造制御
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小熊 蒼汰、猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 人工ペプチドカプセル内における空孔内側鎖の官能基化
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 早川 寛博、猪俣 祐貴、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 ペプチド配位子修飾による7および8交点トラス結び目の構造制御
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恒川 英介、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 側鎖の立体的噛み合い構造を利用した シート性配位ナノチューブの精密集積
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野塚 凌、岩崎 航、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 配位駆動フォールディング集合による パレル構造の拡張と機能化
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宗 柏伶、齋藤 杏実、澤田 知久、藤田 誠
2. 発表標題 細孔性ペプチド錯体内で誘起されたキラルな構造のX線観察
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

吉沢・澤田研究室HP http://www.res.titech.ac.jp/~smart/nospace.html 藤田研究室HP http://fujitalab.t.u-tokyo.ac.jp

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------