

社団法人 日本化学会  
生体機能関連化学部会

# NEWS LETTER

*Division of Biofunctional Chemistry*  
*The Chemical Society of Japan*

Vol. 25, No.3 (2010. 12. 1)

## 目次

### ◇ 巻頭言

「化学とバイオによるものづくり」雑感 ..... 中村 聡 1

### ◇ 研究紹介

蛋白質結晶細孔空間内への金属イオン集積を利用した金属材料合成 ..... 安倍 聡 3

次世代白金制がん剤の創薬研究 ..... 米田 誠治 7

#### Molecular Hula-Hoop

ー蛍光顕微鏡によるロタキサンの単一分子回転運動観察 ..... 高島 義徳 11

新規機能性ナノ材料による光駆動型ナノデバイスの構築 ..... 梁 興国 15

### ◇ 部会行事

第4回バイオ関連化学シンポジウム開催報告 ..... 19

「第4回バイオ関連化学シンポジウム講演賞」講評 ..... 20

第25回生体機能関連化学部会若手フォーラム開催報告 ..... 21

## 「化学とバイオによるものづくり」雑感

東京工業大学大学院生命理工学研究科 中村 聡

生体機能関連化学部会の源流にあたる「酵素類似様機能をもつ有機化学反応の研究会」は、筆者にとって学生時代最後のプレゼンを行った思い出深い研究会である。今から30年ほど前の3月31日のこと、京都大学でプレゼンを終え翌日の入社式に出席するため大阪へと向かう列車の中で、学生生活にピリオドを打つ感傷に浸ったことが昨日のこのように思い出される。その後10年間の民間企業での研究生生活を経て母校に戻り、極限環境微生物が生産する極限酵素の研究に携わっているというのが筆者の経歴である。そして、筆者がまだ駆け出し教員の頃、バイオテクノロジー部会の立ち上げを目の当たりにした。当時、既に生体機能関連化学部会が存在していたにもかかわらず、なぜ類似の部会を発足させたか疑問をもたれる生体機能関連化学部会員諸兄もいらっしゃるかと思うが、科学研究費特定(重点)領域研究の立ち上げや審査員の輩出(当時は、科研費の審査員を学会から推薦できる制度となっていた)を見据えた、日本化学会の戦略であったと理解している。部会の役割が大きく変わってきた現在においては、生体機能の化学的理解を目指すのが生体機能関連化学部会であるのに対し[北川禎三, 巻頭言, 生体機能関連化学部会ニュースレター, **24(1)**, 1-2 (2009)], 化学とバイオによるものづくりを指向しているのがバイオテクノロジー部会というのが、現バイオテクノロジー部会長を拝命している筆者の認識である。もちろん、生体機能の化学的理解の先にはものづくりへの応用があり、バイオによるものづくりには生体機能の化学的理解が必須であることから、二つの部会間に境界線は引けない。

筆者がものづくりを指向するようになった根幹には、中学生時代に熱中したラジコン飛行機作りがある。ラジコン飛行機といえば、現在は樹脂製の機体、モーター、ラジコンメカがセットされた完成品が比較的安価で手に入り、イージーに飛行が楽しめる時代になっている。ところが、当時は完成品など販売されておらず、木製の機体キットから自分自身で作り上げていく必要があった。また、当時のラジコン飛行機は高価であり、小遣いやお年玉を貯めては機体のキット、エンジン、ラジコンメカなどを少しずつ購入し、組み立てていったものである。作っていくときの苦労はあるものの、完成したときの達成感は一とおで、初飛行の日は気持ちの高まりも絶頂を迎える。無事に初飛行に成功したときの喜びは容易に想像していただければよい。ところが緊張のあまり、こともあろうにラジコンの送信機のスイッチを入れ忘れ、離陸後の機体は見事な宙返りの後、墜落大破というほろ苦い経験をしたこともあった。また、初飛行の際にうまくエンジンがかからず、帰宅する際に公衆電話ボックスの扉に主翼を引っ掛け真二つに折り、その晩は一晚中泣きはらしたという友人もいた。それでも、完成までのプロセスの(苦労を含めた)楽しさと達成感、さらには初飛行の緊張感と成功したときの絶頂感を忘れられず、私とその友人はラジコン飛行機作りをやめることはなかった。筆者が自分自身でものを作ることの醍醐味を知り、そして失敗しても懲りない精神と折れない精神力を養ったのは、間違いなく多感なこの時期である。

最近の日本の青少年の元気のなさが懸念されている[大倉一郎, 化学教育徒然草, 化学と教育, **58**, 243 (2010)]。ものづくりを体験させる, 実験を通じて感動を与える, 海外経験を積ませるなど, 青少年がもっと元気を出せる環境作りの重要性を指摘しているが, 筆者も同感である。そのような中, 元気な日本の青少年(未満?)の存在を再確認する機会に恵まれた。筆者はここ数年来, 「夢・化学・21夏休み子ども化学実験ショー なぜナニ化学クイズショー」の実施に参画している。このショーは主に小学生を対象に毎年夏休み期間にお台場の日本科学未来館で開催され, クイズに答えながら化学のおもしろさを体験できるイベントである。小学校から大学院に至るまでの教員, さらには民間企業の

研究者といった多彩なメンバーから構成されるタスクグループによる手作りのショーであるが、見栄えのする実験を配し、化学の本質にも迫るなかなか本格的な内容であると自負している。ショーの当日、クイズの正解が発表された際、子どもたちが一斉に両腕を突き上げガッツポーズをとる姿に、日本人のパワーを感じたのは筆者だけではなかったと思う。もちろん、このショーだけで子どもたちに化学の本質を理解させることは不可能であるが、少なくとも参加した子どもたちに大きな刺激と感動を与えたことは間違いない。そして、このショーイベントを通じ、子どもたちに元気をもらったというのが、タスクグループメンバー一同の偽らざる実感である。

筆者も定年まで後 10 年を残すのみとなった。疲れ切った大人で満ちあふれた日本の社会状況にあつて、大学教員の疲弊ぶりも例外ではない。そのような中で、研究室の若い学生たちの新しい発見に自らも感動しながら、生体機能関連化学部会とバイオテクノロジー部会を両輪とする学術活動を展開していきたい。そして、両部会の健全なる発展、ならびに両部会員諸兄のご研究のますますのご発展を願ってやまない。

## 蛋白質結晶細孔空間内への金属イオン集積を利用した金属材料合成

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 安部 聡

### 1. はじめに

ウイルスやフェリチンなど、蛋白質単量体が自己集積して形成される筒状やかご状の蛋白質複合体は、特異な孤立空間を有し、金属錯体や金属クラスター、金属酸化物、触媒、磁性、光学物性など、様々な機能をもつ金属材料の合成場、反応場として用いられている。<sup>1</sup> もし、この空間を固体材料として利用することができれば、蛋白質複合体の機能拡張性はさらに高まると考えられる。そこで、我々は、新たな蛋白質反応空間として蛋白質結晶に着目した。

蛋白質結晶は、蛋白質単量体が規則正しく集積することによって、サイズや形状が特徴的な多孔性ナノ空間を形成する。この細孔は、従来の多孔性材料に匹敵する細孔特性を有しており、その細孔表面は、-SH、-OH、NH<sub>2</sub>やイミダゾールなどの官能基を側鎖にもつアミノ酸残基が規則正しく配列した機能性表面といえる。<sup>2</sup> したがって、アミノ酸側鎖の配位や化学修飾を利用することにより、金属イオンや金属錯体の集積が可能となる環境となっている。しかしながら、蛋白質結晶はこのような特徴を持ちながらも固体材料としての利用はほとんどされてこなかった。そこで、本研究では、蛋白質結晶細孔空間の機能化をめざし、細孔表面への金属イオン集積と細孔内部空間での金属材料合成を行った。具体的には、加水分解酵素である鶏卵白リゾチーム（HEWL）結晶を用いて、金属イオンの集積過程をX線結晶構造解析により追跡した。さらに、内部に集積された金属イオンを還元することによってHEWL結晶細孔の特異な空間内で磁性材料合成を行った。特に結晶系が異なる3種類のHEWL結晶を用いた磁性ナノ粒子の構造と物性の違いについて検討した。

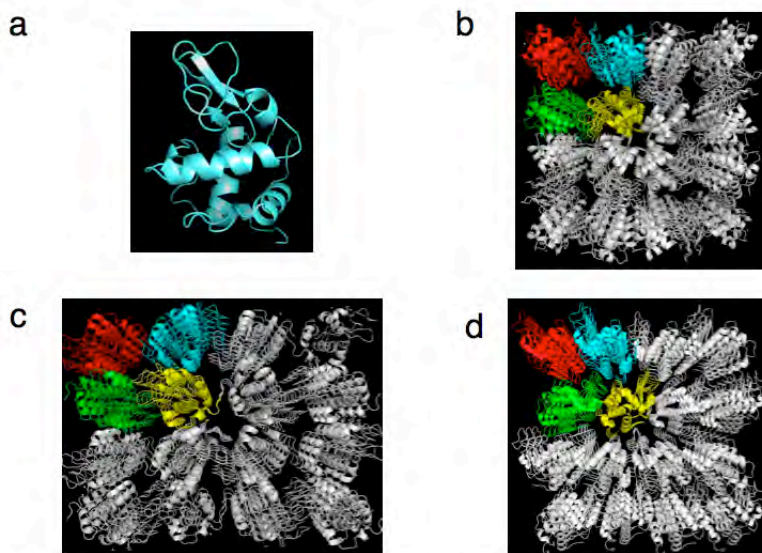


図1. リゾチームの(a)単量体、(b)正方晶、(c)斜方晶、(d)単斜晶結晶のパッキング構造

### 2. 金属イオン集積反応過程の観察<sup>3</sup>

貝殻や真珠、骨や歯などの無機鉱物をつくりだすバイオミネラル化では、蛋白質などの有機物をテンプレートとして、シリカや炭酸カルシウム、リン酸カルシウムなどの無機結晶成長が制御され、人工的には合成不可能な構造体を形成している。近年では、これらの生物機能を模倣し、蛋白質やペプチドを用いたバイオミネラル合成の研究が盛んに行われている。しかしながら、これらの反応過程の原子レベルでの理解に基づいた材料作成には至っていない。我々は、バイオミネラル化の初期過程である蛋白質表面への金属イオンの集積反応が無機結晶の成長や構造制御に重要と考え、蛋白質結晶の細孔表面をモデル表面とし、蛋白質表面への金属イオンの集積反応過程を追跡した。具体的には、鶏卵白リゾチーム（HEWL）の正方晶結晶（図1b）を用いて、細孔内部表面へのRhイオン集積過程をX線結晶構造解析によって追跡した（図2a）。<sup>3</sup>



Rh イオンは、多核のアクア錯体を形成しやすく、また配位子交換反応が他の金属イオンと比較して遅いため、結晶構造解析による集積過程の追跡が容易と考えられる。まず、正方晶結晶を 100 mM Rh イオンを含む緩衝液に 2 日間浸し、結晶構造解析により細孔内部の集積構造を決定した。その結果、Rh イオンは、HEWL 結晶の細孔表面に規則正しく集積し、リゾチーム単量体あたり 5 ヶ所の結合サイトがあることがわかった (図 2b, c)。各結合サイトでは、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギンなどのアミノ酸残基の配位や Rh イオンに配位する水分子と周辺のアミノ酸残基との水素結合ネットワークによって細孔表面に固定化されていることがわかった (図 2b, c)。

次に、Rh イオンの集積過程を観察するため、0, 1, 5, 10, 30, 100 mM の異なる Rh イオン濃度の緩衝液に正方晶結晶をソーキングした結晶を解析した。その結果、Rh イオンの濃度を高くしていくと、集積していく Rh イオンの数が徐々に増加していく。特に顕著に構造変化が見られたサイト B を図 3 に示す。このサイト B

では、Rh イオンをソーキングする前は、Asn19 の側鎖のコンフォメーションが水分子との水素結合ネットワークによって固定化されている。Rh イオンの濃度を増加させていくと水素結合ネットワークが開裂し、アミノ酸側鎖のコンフォメーション変化を伴い、Rh イオンの配位が誘起されていくことがわかった。また、ソーキング溶液の pH を変化させることにより集積する Rh イオンの構造が大きく変わることも見いだした。これらの結果は、蛋白質表面上のアミノ酸側鎖の構造変化と水素結合ネットワークの再配列の協同効果により金属イオンの集積が達成されることを示している。

### 3. 蛋白質細孔内部での CoPt ナノ粒子の作成と磁性制御

上記 2 の結果より、金属イオンが蛋白質結晶の細孔表面へ規則正しく集積することがわかった。この限られた細孔空間内で金属材料を合成すれば、特異な物性の発現が期待される。さらに、蛋白質結

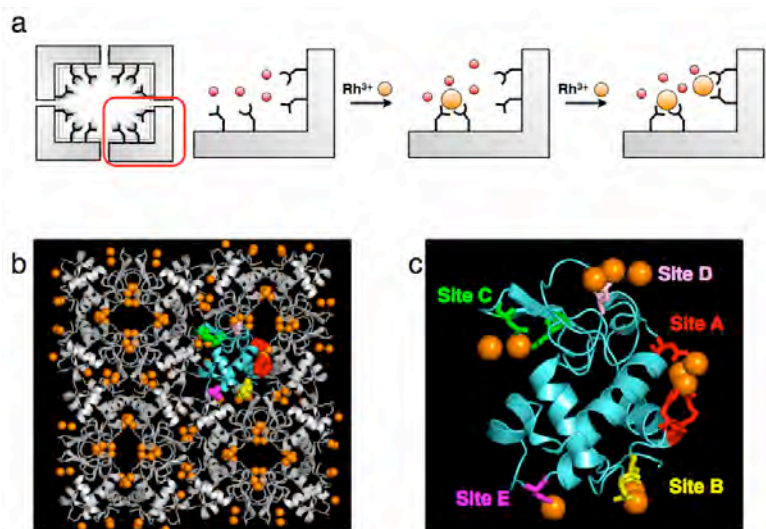


図 2. (a) 蛋白質細孔表面への金属イオンの Rh イオン集積過程, Rh イオンが集積したリゾチームの (b) 正方晶パッキング構造と (c) 単量体構造

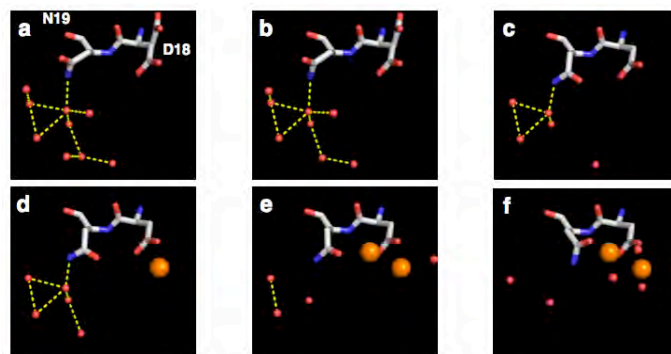


図 3. サイト B における Rh イオンの集積過程, (a) 0, (b) 1, (c) 5, (d) 10, (e) 30, (f) 100 mM Rh イオン溶液をソーキングした結晶の構造 (Rh イオンをオレンジ, 水分子の酸素原子を赤, 水素結合を黄色の点線で示す)。

晶の結晶系の違いにより細孔表面の性質が異なれば、金属イオンの集積構造にも影響し、金属微粒子の物性も変化すると考えられる。そこで、異なる結晶化条件によって作成した3つのリゾチーム結晶を用いてCoPt磁性ナノ粒子の作成を行った。リゾチームは、結晶化条件によって正方晶、斜方晶、単斜晶の結晶を作り分けることができる(図1b, 1c, 1d)。これら

の3種類の結晶系では、細孔のサイズや形状が異なっており、斜方晶結晶が最も大きく、単斜晶結晶が一番小さい。さらに、細孔表面のアミノ酸残基の配列も異なる。例えば、Coイオンに配位するAspは、斜方晶では大きな細孔表面に多く位置しているが、正方晶や単斜晶では、小さな細孔表面に多く存在している。これらの性質の異なる細孔を利用することによって、CoPt粒子のサイズや形状、Co, Ptの組成比をコントロール可能と考えた。

まず、蛋白質結晶は、結晶化条件以外の溶液中では溶けてしまうため、様々な水溶液条件や還元に対して安定に結晶を保つ必要がある。結晶をグルタルアルデヒド溶液に浸すことによって、結晶を架橋化し、水中や乾燥状態でも安定な結晶状態を保つ結晶を作成した(図4a)。

正方晶(Tetragonal, T), 斜方晶(Orthorhombic, O), 単斜晶(Monoclinic, M)の架橋化結晶(CL-HEWL) 50 mgを50 mM CoCl<sub>2</sub>, 50 mM K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub>の0.1 M 酢酸ナトリウムバッファー(pH8.0)に浸し、Co, Ptイオンを細孔表面に集積させた。その後、水で洗浄し、集積していない金属イオンを除去し、NaBH<sub>4</sub>で還元することにより、CoPt粒子を作成した(図4b)。

CoPt•CL-HEWLsのCoとPtの組成比を蛍光X線で算出したところ、Co:PtがCoPt•CL-T-HEWL, CoPt•CL-O-HEWL, CoPt•CL-M-HEWLで3.8:96.2, 7.7:92.3, 6.3:93.7であり、どの結晶系においてもCoよりPtのほうが組成比が高いことがわかった。これは、HEWL結晶の細孔表面へPtイオンの方がCoイオンより集積しやすいためである。このことは、それぞれの金属イオンをソーキングした結晶の構造解析の結果からPtイオンの集積数が多いことからとも言える。さらに、3つの結晶系のなかで斜方晶結晶でCoの比が最も高いことがわかった。斜方晶結晶で、Coイオンに配位するAspが正方晶や単斜晶と比較して大きな細孔表面に位置しているため、Coの集積量が多く、Coの比が大きくなったと考えられる。

粒子の大きさや形状をTEM観察により、正方晶と単斜晶では平均粒径が1.3, 1.6 nm程度の球形をした粒子が多く観測された。一方、斜方晶結晶を用いた場合、最も大きな平均1.9 nmの粒径の粒子が観測され、その形状は、楕円形のような形状異方性の高い粒子が多く観測された。この大きさや形状の違いは、結晶の細孔の形状やサイズが反映されている。

次に、SQUIDを用いてこれらのCoPt•CL-HEWLsの磁化測定を行った。5Kの低温においていずれの結晶を用いた場合でもヒステリシスをともなった強磁性挙動を示すことがわかった。その磁性ナノ粒子の磁気物性の一つである保磁力が3つの結晶系によって異なることがわかった。正方晶で1600 Oe, 斜方晶で4600 Oe, 単斜晶で2900 Oeとなり斜方晶で最も大きいことがわかった。CoPt粒子は、Co:Ptの比が25:75の組成比をピークにCoの比が増加すると保磁力が増加し、形状異方性が高いほど保磁力が高くなることが報告されている。蛍光X線やTEMの結果から斜方晶結晶でCoの組成比が最も大

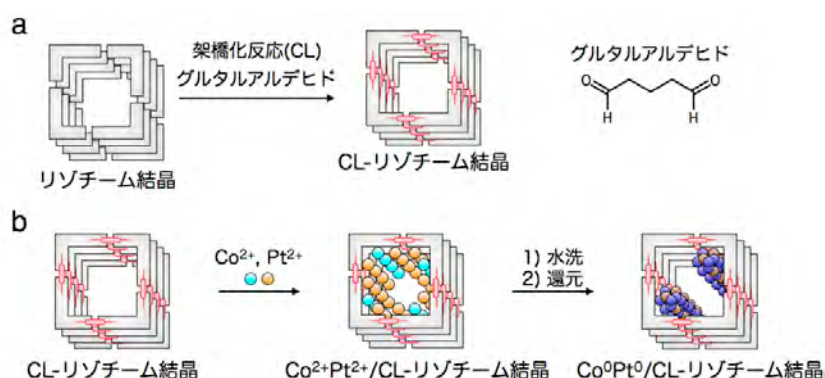


図4. (a) リゾチーム結晶の架橋化反応, (b) Co, Pt イオンの集積と還元反応によるCoPt粒子の作成。

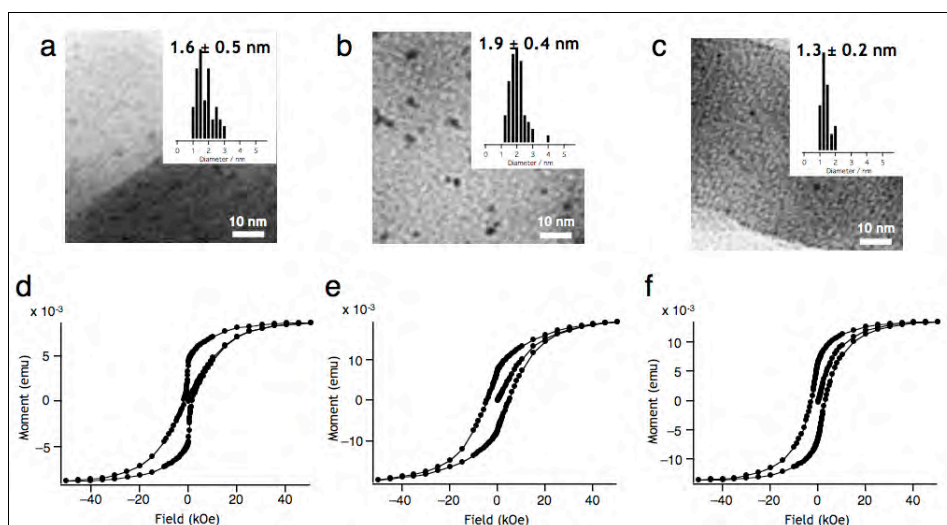


図 5. CoPt·HEWL の TEM 像と磁化曲線, (a, d) 正方晶結晶, (b, e) 斜方晶結晶, (c, f) 単斜晶結晶

大きく、形状の異方性が高い粒子が作成できたため、保磁力が大きい粒子ができたと考えられる。リゾチームバッファー溶液中で同様に CoPt 粒子を作成してもこのような大きな保磁力は生じない。また、従来の球状やチューブ状蛋白質内部や外部表面での CoPt ナノ粒子の保磁力は、低温において~ 1100 Oe と報告されている。斜方晶の 4600 Oe は、蛋白質を鋳型として作成された CoPt 微粒子の示す保磁力で最も大きな値となった。蛋白質結晶の特異な細孔の空間効果によって、大きな保磁力が得られ、CoPt の磁氣的性質が変化することが明らかとなった。従って、蛋白質結晶空間が金属材料の機能を制御する分子テンプレートとして有用であることが示された。

#### 4. おわりに

本研究では、蛋白質結晶の細孔空間の機能化を目指し、金属イオンの集積や集積した金属イオンの還元反応による材料合成を行った。これまで蛋白質結晶を固体材料として機能化する試みは行われてこなかった。我々は、蛋白質結晶の高い細孔性と内部表面への金属イオン集積能に着目をし、金属イオンの集積反応を X 線結晶構造解析で追跡をし、高い保磁力を有する CoPt 粒子を合成することに成功した。今後は、蛋白質結晶細孔の不斉空間を利用した不斉触媒など、さらなる蛋白質結晶の機能化を行っていきたい。

#### 謝辞

本研究は、京都大学物質-細胞統合システム拠点北川グループで、北川進教授、上野隆史准教授のもと行われました。北川先生、上野先生のご厚意と日々のご指導に厚く御礼申し上げます。また、X 線結晶構造解析では、名古屋大学日影達夫氏、SQUID による磁気測定には、九州大学大場正昭教授、米田宏博士に多大なご協力を頂きました。ここに深く感謝致します。

#### 文献

1. M. Uchida *et al.*, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 1025-1042, T. Ueno, S. Abe *et al.*, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 2717-2731, S. Abe *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10512-10514, S. Abe *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6958-6960.
2. A. L. Margolin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2204-2222.
3. T. Ueno, S. Abe, *et al.*, *Chem. Eur. J.*, **2010**, 2730-2740.

## 次世代白金制がん剤の創薬研究

鈴鹿医療科学大学 薬学部 機器分析学研究室 米田誠治

### 1. はじめに

1978年に白金錯体であるシスプラチン（図1左上段）が米国FDAに制がん剤として承認されて以来、金属錯体を積極的に臨床応用するという機運が一気に高まった。シスプラチンは、現在においても最も広く用いられている制がん剤の一つであり、がん化学療法には欠かせない薬剤である。白金制がん剤の年間世界市場は、現在も年率20%以上の割合で増加し続けていることから、副作用等の欠点は存在するものの、白金制がん剤の高い治療効果とその需要を押し上げていることがわかる。近年、我々はシスプラチン耐性がんの有効な制がん剤の開発を念頭に、一連のアゾラト架橋白金(II)二核錯体（図1中央および右）を分子設計し、その創薬基盤を構築した<sup>[1-4]</sup>。

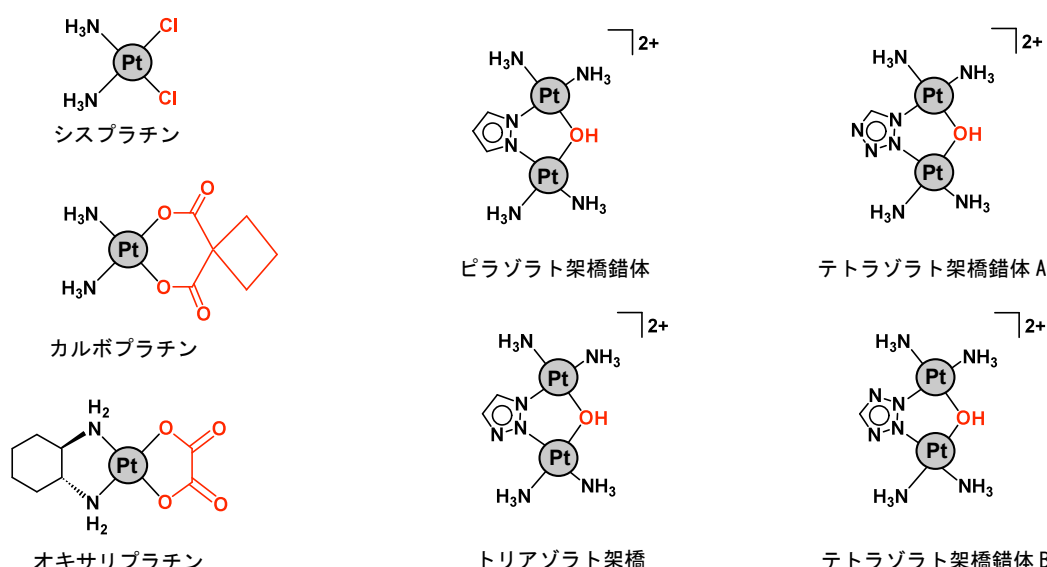


図1 臨床白金制がん剤（左）とシスプラチン耐性がんの有効なアゾラト架橋白金(II)二核錯体（中央、右）  
赤で示された官能基はDNAと共有結合性付加物を形成する際に脱離する配位子（リービンググループ）である。

### 2. 共有結合性相互作用

シスプラチンの制がん作用は、シスプラチンがDNA上で1,2-鎖内架橋（隣接する二つのプリン塩基の架橋）を形成することに起因すると考えられている（図2上段）。シスプラチンと同様のDNA付加物を形成するシスプラチン類似化合物は、シスプラチンに対して交叉耐性を示す。この事実と近年の研究結果から、シスプラチンとは異なるDNA付加物を形成する白金錯体がシスプラチン耐性がんの有効であるということが明らかになりつつある<sup>[5]</sup>。シスプラチンの1,2-鎖内架橋はDNAを局部的に大きく歪めることが知られている。この架橋形成は制がん活性発現に必要であるが、歪みによってDNA付加物が一連のDNA修復酵素に認識されやすくなるのではないかと考え方が提案されている<sup>[6]</sup>。我々が分子設計したピラゾラト架橋錯体はDNAにほとんど歪みを与えることなく1,2-鎖内架橋を形成し（図2下段）<sup>[7]</sup>、シスプラチン耐性がん細胞に対して強い増殖抑制活性を発揮する<sup>[3]</sup>。このことから、制がん作用を開始するには1,2-鎖内架橋の形成のみが必要で、DNAの歪みは必ずしも必要ないのかもしれない。

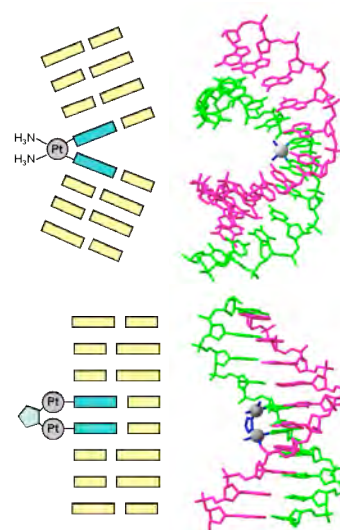


図2 シスプラチンおよびアゾラト架橋錯体の共有結合性DNA付加物の模式図（左）と立体構造（右）



### 3. 分子内転位反応

アゾラト架橋白金(II)二核錯体は中央のヒドロキソ架橋がグアニン塩基に直接置換され、最終的に二分子のプリン塩基と複合体を形成する(図3上段)。ピラゾラト架橋錯体に結合した9-エチルグアニンは head-to-head 型でスタッキングを形成することから、ピラゾラト架橋が DNA にほとんど歪みを与えることなく 1,2-鎖内架橋を形成する際のモデル錯体として議論されてきた。一方、トリアゾラト架橋錯体の場合、9-エチルグアニンとの結合に伴って、N2 位に結合している白金原子が N3 位に転位し、複合体の異性化が起こる(図3二段目)<sup>[3]</sup>。言い換えると、この異性化反応は N3 位の窒素原子が N2 位の窒素原子を置換する反応である。ウェルナー型の平面正方形型金属錯体の配位子置換反応は、axial 位における求核試薬の配位によって形成される比較的安定な五配位錯体を経て配位子の交換が起こる会合置換であると理解されている。しかしながら、トリアゾラト架橋錯体で見られる置換反応については、N3 窒素原子の axial 位への配位が困難であるため、前述の五配位錯体の形成を経ることなく配位子交換が進行すると考えられる。つまり、トリアゾラト架橋錯体で見られる異性化反応は、ウェルナー型白金(II)錯体としては非常に珍しいものであると言える。異性化前後の DNA 付加物(1,2-鎖内架橋)の構造を比較するために、分子モデリングを用いた検討がなされたが、異性化による DNA の構造変化は非常に小さいことが報告されている<sup>[8]</sup>。また、この異性化反応によってトリアゾラト架橋錯体は 1,2-鎖内架橋だけでなく、鎖間架橋など多様な DNA 付加物を形成することが電気泳動を用いた実験によって確認されている<sup>[9]</sup>。

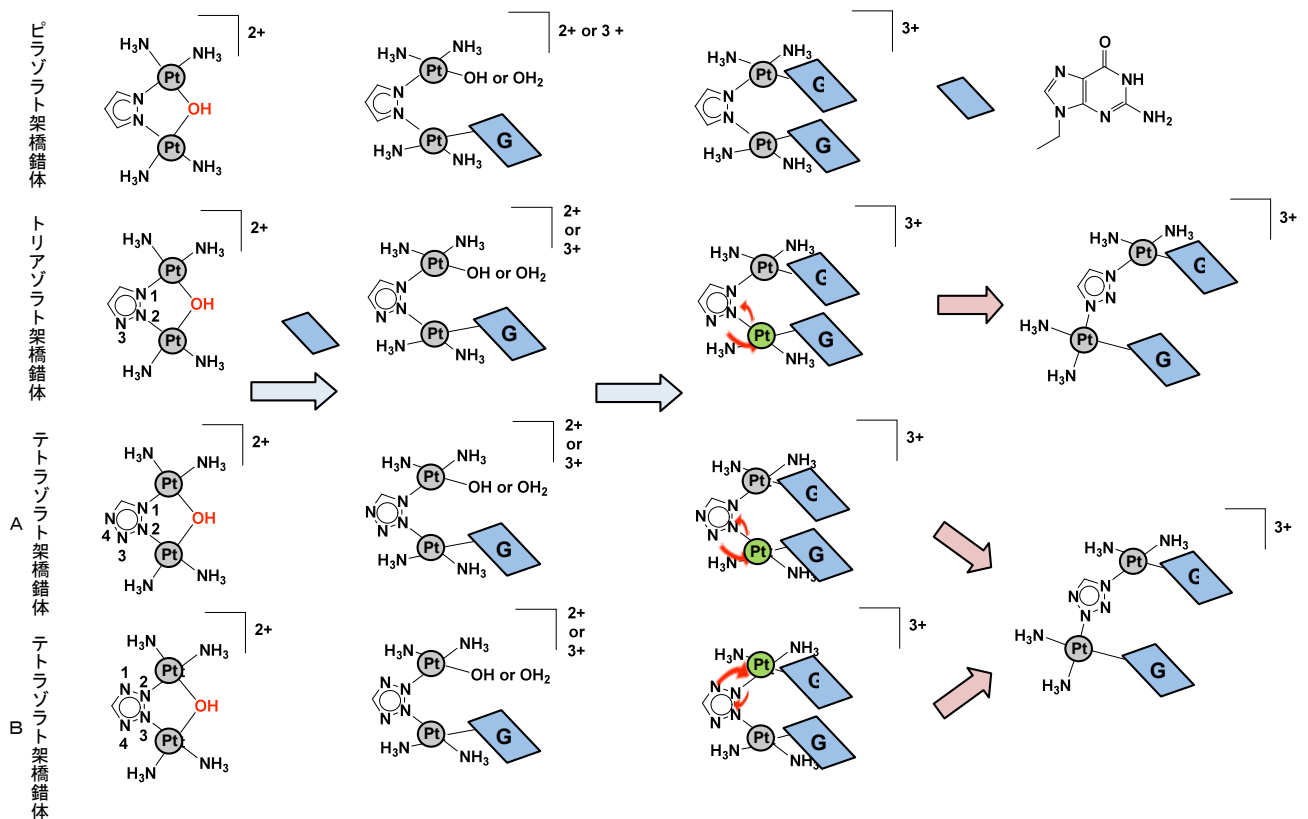


図3 アゾラト架橋錯体と9-エチルグアニン(2当量)の反応機構

構造異性体であるテトラゾラト架橋錯体 A および B も二分子の 9EtG と複合体を形成する際に、トリアゾラト架橋錯体と類似の異性化反応を伴うことが確認された。テトラゾラト架橋錯体 A の場合、N2 に結合している白金原子が N3 へ、テトラゾラト架橋錯体 B においては N2(N3)から N1(N4)へそれぞれ転位することによって、最終的に同一の複合体を形成することが分かった。このことから、テトラゾラト架橋錯体も多様な DNA 付加物を形成する可能性が高いと考えられる。

#### 4. 非共有結合性相互作用

シスプラチンは電氣的に中性の分子であるが、アゾラト架橋白金(II)二核錯体は二価のカチオンである。このことから、これらの白金(II)二核錯体はDNAと共有結合性の付加物を形成する前段階として、DNAと静電的な非共有結合性の相互作用を経る可能性が高く、非共有結合性相互作用もアゾラト架橋白金(II)複核錯体の制がんメカニズムに関与していると推定される<sup>[10, 11]</sup>。そこで、これらの相互作用様式を明らかにするため、自己相補型二重らせんDNA [d(CGCGAATTCGCG)]<sub>2</sub>とピラゾラト架橋錯体をモル濃度比 1 : 1で共結晶化し、Pt···DNA付加物の構造をX線結晶解析により明らかにした。結晶中では、ピラゾラト架橋錯体はDNAのA-T塩基対のマイナーグループに選択的に結合し、非共有結合性DNA付加物を形成している(図4)。つまり、AMPZは共有結合性付加物だけでなく非共有結合性のDNA付加物も形成する。また、子牛胸腺DNAにアゾラト架橋錯体を添加し、そのCDスペクトルを経時的に観察した結果、すべてのアゾラト架橋錯体は添加混合後すぐに、B型DNAからC型DNAへのコンフォメーション変化を引き起こすことが明らかとなった<sup>[12]</sup>。アゾラト架橋錯体の共有結合性付加物の生成速度は



図4 ピラゾラト架橋錯体の非共有結合性DNA付加物のX線構造

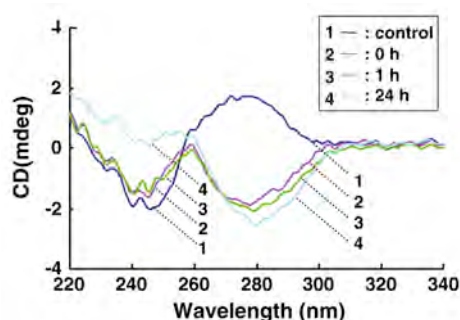


図5 トリアゾラト架橋錯体を添加した子牛胸腺DNAの経時的なCDスペクトル変化

シスプラチンのそれよりも遙かに遅いことが知られており<sup>[3, 13]</sup>、このコンフォメーション変化はアゾラト架橋錯体とDNAの非共有結合性の相互作用に由来するものと推定される。アゾラト架橋錯体とDNAの共有結合性および非共有結合性相互作用のうち、どちらの相互作用が制がん作用により深く関与しているかは、まだ決定的な証拠は得られていない。

#### 5. 臨床応用に向けて

ピラゾラト架橋錯体およびトリアゾラト架橋錯体は、数種のヒト由来がん細胞に対してシスプラチンよりも高い *in vitro* 細胞増殖抑制活性を示し、シスプラチンに対する交叉耐性も克服することが知られている<sup>[2, 3]</sup>。テトラゾラト架橋錯体も前述二種のアゾラト架橋錯体と同様の活性を示す。ごく最近、テトラゾラト架橋錯体BがPanc-1膵がん移植ヌードマウス実験において非常に高い *in vivo* 抗腫瘍効果を発揮することが確認された(図6)。また、マウスの有意な体重変化も観測されないことから(図7)、テトラゾラト架橋錯体Bの投与による慢性毒性は低いと考えられる。ポジティブコントロールに用いたゲムシタピンは膵臓がん治療の第一選択薬である。テトラゾラト架橋錯体Bがゲムシタピンよりもはるかに高い抗腫瘍効果を示したことは特筆すべきことであり、今後の臨床応用が大いに期待される。

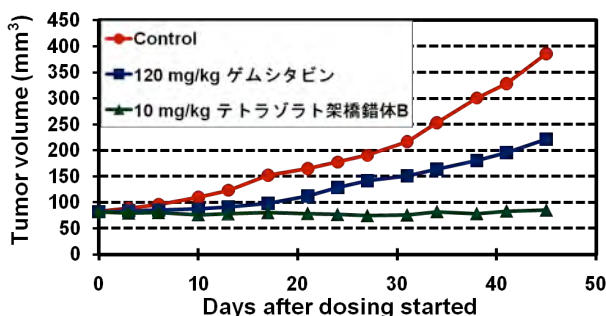


図6 ゲムシタピンおよびテトラゾラト架橋錯体Bの *in vivo* 抗腫瘍効果 (n = 6)

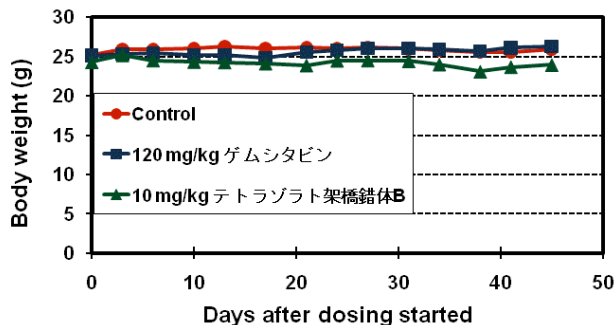


図7 ゲムシタピンおよびテトラゾラト架橋錯体B投与によるマウスの体重変化 (n = 6)

## 6. おわりに

我々の研究室では、アゾラト架橋白金(II)二核錯体の構造活性相関を構築するために、様々な白金(II)錯体の合成を行い、それらと生体分子との親和性および結合様式を調べている。これらの成果と生物学的な実験データを勘案し、制がん作用の引き金となる生体高分子とその相互作用様式を見出したいと考えている。現在承認されている医薬品のほとんどは有機化合物に由来するものであり、医薬品全体に占める含金属化合物の割合は非常に小さい。しかしながら、含金属化合物には有機化合物には見られない薬理作用が今後も見出される可能性が高く、研究対象としては非常に興味深い。つまり、含金属化合物を用いた創薬はまだ開拓余地が大きい分野であり、その創薬基盤を確立するためには生物無機化学分野における基礎研究が不可欠であると考えられる。

## 謝辞

本研究は、大阪薬科大学千熊正彦教授、金沢大学小谷明教授、ヴァージニア連邦大学 Nicholas P. Farrell 教授およびジョージア工科大 Loren D. Williams 教授の御指導のもとに行われました。また、研究遂行においては、多くの研究者の方々にご助力いただきました。ここに深く御礼申し上げます。

## 参考文献

- [1] S. Komeda, H. Ohishi, H. Yamane, M. Harikawa, K. -i. Sakaguchi, M. Chikuma, *J Chem Soc Dalton Trans: Inorg Chem* **1999**, 2959.
- [2] S. Komeda, M. Lutz, A. L. Spek, M. Chikuma, J. Reedijk, *Inorg Chem* **2000**, *39*, 4230.
- [3] S. Komeda, M. Lutz, A. L. Spek, Y. Yamanaka, T. Sato, M. Chikuma, J. Reedijk, *J Am Chem Soc* **2002**, *124*, 4738.
- [4] S. Komeda, G. V. Kalayda, M. Lutz, A. L. Spek, Y. Yamanaka, T. Sato, M. Chikuma, J. Reedijk, *J Med Chem* **2003**, *46*, 1210.
- [5] N. Farrell, Y. Qu, L. Feng, B. Van Houten, *Biochemistry* **1990**, *29*, 9522.
- [6] A. Eastman, N. Schulte, *Biochemistry* **1988**, *27*, 4730.
- [7] S. Teletchea, S. Komeda, J. M. Teuben, M. A. Elizondo-Riojas, J. Reedijk, J. Kozelka, *Chemistry* **2006**, *12*, 3741.
- [8] A. Magistrato, P. Ruggerone, K. Spiegel, P. Carloni, J. Reedijk, *J Phys Chem B* **2006**, *110*, 3604.
- [9] S. Komeda, S. Bombard, S. Perrier, J. Reedijk, J. Kozelka, *J Inorg Biochem* **2003**, *96*, 357.
- [10] S. Komeda, T. Moulaei, K. K. Woods, M. Chikuma, N. P. Farrell, L. D. Williams, *J Am Chem Soc* **2006**, *128*, 16092.
- [11] S. Komeda, T. Moulaei, M. Chikuma, A. Odani, R. Kipping, N. P. Farrell, L. D. Williams, *Nucleic Acids Res* **2010**, in press.
- [12] N. Kida, Y. Katsuda, Y. Yoshikawa, S. Komeda, T. Sato, Y. Saito, M. Chikuma, M. Suzuki, T. Imanaka, K. Yoshikawa, *J Biol Inorg Chem* **2010**, *15*, 701.
- [13] S. Komeda, H. Yamane, M. Chikuma, J. Reedijk, *Eur J Inorg Chem* **2004**, 4828.

## Molecular Hula-Hoop

### 蛍光顕微鏡によるロタキサンの単一分子回転運動観察

大阪大学大学院・理学研究科 高島 義徳

#### 1. はじめに

生体中には $F_0F_1$ ATP合成酵素に代表される生体分子モーターが多く存在する。近年、これらの生体分子モーターを直接観察した研究が報告され<sup>1)</sup>、非常に多くの科学者を魅了した。超分子科学においては、ロタキサンは輪分子と軸分子からなり、人工分子モーターに最も近い構造と考えられてきた。しかし、実際に輪分子の直接観察した例に限らず、回転運動を観察した例はない。輪成分の並進・回転運動を核磁気共鳴スペクトル(NMR)や円偏光二色性測定などのスペクトル測定によって評価する方法が一般的である。これまでに人工分子モーターとしてB. L. Feringaらは嵩高い置換基を持つ4置換オレフィンがらせんの様なねじれた構造の4種の異性体を生成することを見出している。これらの構造が光の波長や熱に応じて制御が可能であり、一方向への回転運動としてスペクトル観察に成功している<sup>2)</sup>。一方で、回転運動は円偏光二色性スペクトル測定にて評価しており、分子が小さすぎることもあり、一分子観察は困難である。一分子の直接観察として、代表的な手法に原子間力顕微鏡や走査トンネル顕微鏡が考えられる<sup>3)</sup>。これらの手法では基板上に固定化された単一分子の観察が可能となるが、回転運動をリアルタイムイメージングを実現するには、顕微鏡技術において、高速スキャンを行う必要があり、時間分解能を向上させる代わりに、空間分解能が低下する。分子の回転運動を評価できる程度に両者の分解能を向上するには低温にするなど、特殊な条件と技術力も必要となる。

我々は人工分子モーターの回転運動を観察する目的で輪分子として $\alpha$ -シクロデキストリン( $\alpha$ -CD; Table 1)を用いて、水溶液中の[2]ロタキサンの回転運動をNMRを用いて観察を行った<sup>4)</sup>。(図2)その結果、極低温(-60 °C)では相対回転運動の低下は観察されたが、溶液中ではロタキサン分子自身の拡散運動の障害と常温ではNMR時間スケールよりも速い回転運動であった。このようなロタキサンの回転運動を直接観察するには、特殊な観測技術が必要と考えられる。我々は回転運動の観察に蛍光顕微鏡を用い、ガラス基板上に[2]ロタキサンを固定化し、蛍光分子を修飾したCD単一分子の回転運動をデフォーカス蛍光顕微鏡法を用いて三次元配向として直接計測に成功したので紹介する。

Table 1.  $\alpha$ -CD の化学構造.

	$\alpha$ -CD
Molecular Weight	972
No. of Glucose Units	6
Cavity Diameter (nm)	0.47
Height of Torus (nm)	0.79

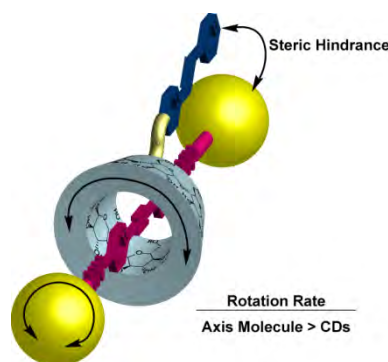


図 1. ロタキサンにおける  $\alpha$ -CD の回転運動



## 2. ガラス基板上へのロタキサンの修飾

ロタキサン修飾ガラス基板の作成方法を図 2 に示した。ロタキサンの軸分子となる Diphenyl acetylene をガラス基板に疎に修飾した後、蛍光観測にて使用する Rhodamine B が修飾された  $\alpha$ -CD(6-RhB- $\alpha$ -CD) の水溶液に浸漬させることにより擬ロタキサンが修飾されたガラス基板 (G-pseudo-R-CD) を作成した。G-pseudo-R-CD に修飾された擬ロタキサンは嵩高いストッパー分子が修飾されていないため、水や有機溶媒による洗浄操作で容易に解離し、蛍光顕微鏡観察においては修飾濃度に依存した蛍光スポットを確認することはできなかった。一方で軸分子の Diphenyl acetylene に修飾されたアミノ基に対して選択的に反応する Isophthalic diacid isothiocyanate を 6-RhB- $\alpha$ -CD に対する嵩高い置換基 (ストッパー分子) として反応させた後には、6-RhB- $\alpha$ -CD の濃度に応じた蛍光スポットが確認され、ガラス基板上にロタキサンが形成されたことを確認した (G-R-CD)。

## 3. 蛍光顕微鏡によるロタキサン単一分子の観察 ～デフォーカス蛍光顕微鏡法の利用～

蛍光顕微鏡による観測のため、ガラス基板上に修飾されたロタキサンにおいても、6-RhB- $\alpha$ -CD に注目して観測している。一方で光学顕微鏡であるため、可視光領域における蛍光スポットの一個の輝点のサイズは約 200 nm になる。このままのイメージでたとえ 6-RhB- $\alpha$ -CD が軸分子周辺を回転していたとしても、Rh-B 分子の立体的な嵩高さが蛍光スポットイメージに反映されることはない。そこで我々はデフォーカス蛍光顕微鏡法を採用することとした。デフォーカス蛍光顕微鏡法は蛍光分子の遷移双極子モーメントに対応した特徴的な蛍光イメージが得られる方法であり、三次元空間内での位置座標 ( $x, y, z$ )、さらに分子の配向方向 (遷移双極子モーメントの方向) を表す極座標パラメータ ( $\theta, \phi$ ) の情報を同時かつ逐次的に記録することにより分子運動の状態を完全に追跡することが可能になる。

デフォーカス像を取得するにはサンプルステージを約 1  $\mu\text{m}$  動かす。このステージの移動距離と分子の配向方向 (極角:  $\theta$ ) との関係の理論計算結果を図 4 に示す。得られたデフォーカス像はステージの移動距離だけでなく、極角:  $\theta$  にも依存した特異的な像を示す。さらにステージの移動距離を 900 nm に固定した場合には、分子の配向方向 (極角:  $\theta$ , 方位角:  $\phi$ ) に依存したイメージを示し、これによって分子の配向方向を決定できる<sup>5)</sup>。

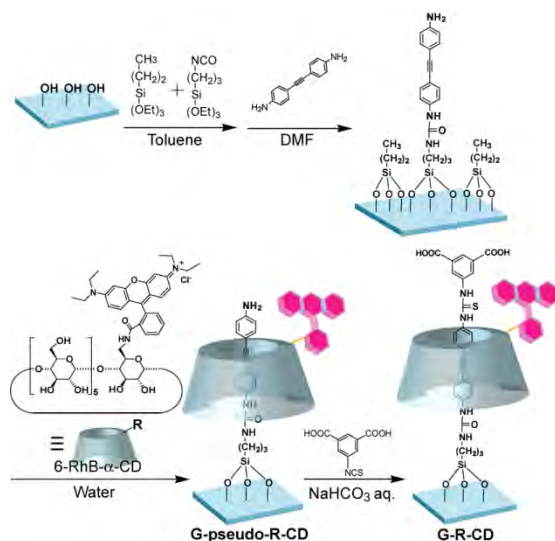


図 2. ガラス基板上へのロタキサンの修飾

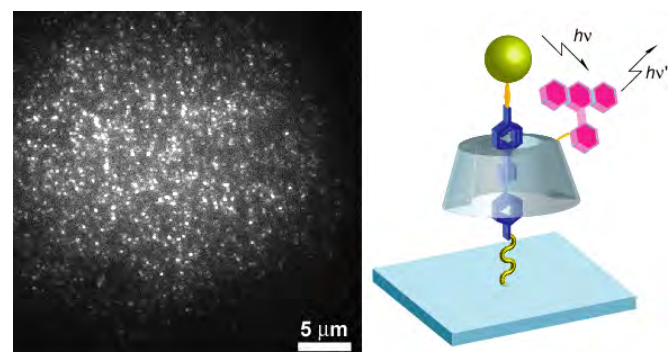


図 3. ガラス基板上へ修飾されたロタキサンの蛍光観察

最初にガラス基板上に作成したロタキサンにおける6-RhB- $\alpha$ -CDの単一分子観察を行った。フォーカス状態にて得られた蛍光スポットは明滅を繰り返す。この輝点の褪色過程は、急激な階段状である量子褪色を示した。さらに、図5に示すように、ブリンキングを起こす輝点も複数観測された。また輝点数はガラス基板へのロタキサンの修飾濃度に依存した。以上のことから、ガラス基板上に構築したロタキサンを単一分子レベルにて直接観察することに成功した。

ガラス基板上に作成したロタキサンにおける6-RhB- $\alpha$ -CDの分子配向をデフォーカス法により評価した。ガラス基板が乾燥状態においてデフォーカス測定したところ、観測された蛍光スポットは明確な溝に加えて、二つの発光の帯が観測された。視野内にはこの観測されたデフォーカス像のパターンはほぼ一様に観測され、ブリンキングはするものの、観測時間中にはパターンに変化は見られなかった。(図6(a))。観測されたデフォーカスイメージを理論計算へパターンマッチングさせたところ、Rhodamine Bの遷移双極子モーメントの配向はほぼ基盤平面と平行 ( $\theta \approx 75^\circ$ ) であることが明らかとなった。このことから乾燥状態においては6-RhB- $\alpha$ -CDの回転運動が停止していることが明らかとなった。一方でガラス基盤に水を滴下したところ、乾燥状態とはまったく異なる同心円状のイメージが全体に観測された(図6(b))。観測されたデフォーカスイメージをパターンマッチングさせたところ、( $\theta \approx 75^\circ$ ) であるが、CCDカメラの露光時間 (300 ms間隔にてデータ取得) よりも速い回転運動をしているために、全方位角にて発光していることが明らかとなった(図6(d), all-around)。以上の結果から、乾燥状態においてはロタキサンにおける6-RhB- $\alpha$ -CDの回転は停止する一方で、湿潤状態においては300 ms/360°より速い回転運動をしていることが明らかとなった(図7)<sup>6)</sup>。

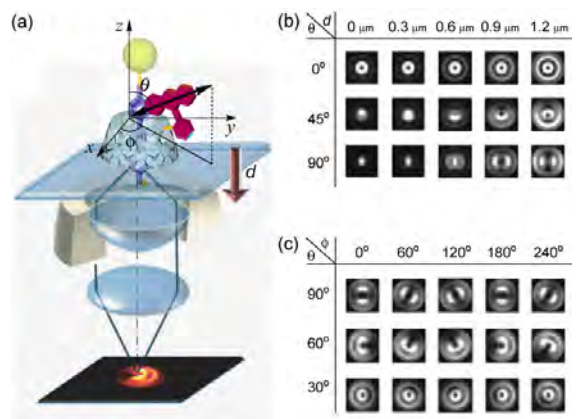


図 4. 三次元空間内での位置座標 ( $x, y, z$ ) と分子の配向方向 (極角:  $\theta$ , 方位角:  $\phi$ ) の関係の模式図(a)。ステージの移動距離と極角 ( $\theta$ ) の関係から計算される結像(b)。極角 ( $\theta$ ) と方位角 ( $\phi$ ) の関係から計算される結像(c)。

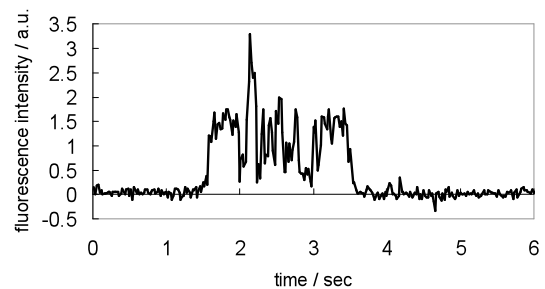


図 5. 代表的な輝点について蛍光強度を時間に対してプロットした図。(1枚あたり露光 20 ms)

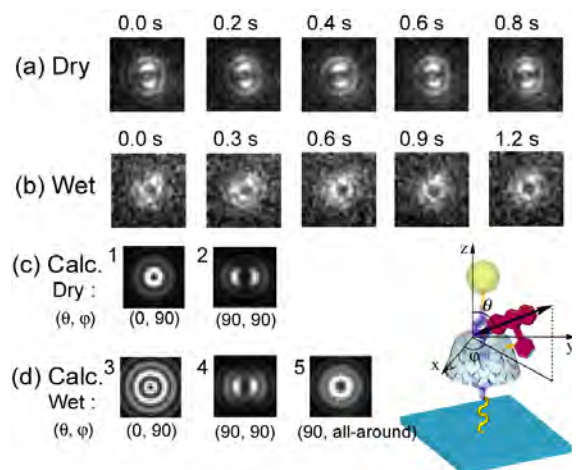


図 6. 代表的なデフォーカスイメージ像の実測結果。乾燥状態(a)と湿潤状態(b)。乾燥状態(c)と湿潤状態(d)におけるデフォーカス像の理論計算結果。乾燥状態(a)においては 6-RhB- $\alpha$ -CD が  $\theta \approx 75^\circ$ ,  $\phi \approx 10^\circ$  に配向している。一方、湿潤状態では  $\theta \approx 75^\circ$  にて速い回転運動であった。

#### 4. 高解像度観察とリアルタイムイメージングへの挑戦

CCD カメラのビデオレートで観測可能なリアルタイムでのスローな回転運動の観察を目的に、水溶液の粘性を上げることにより、回転速度の減速を試みた。ローター分子に 6-RhB- $\alpha$ -CD を選択し、Poly(acrylic acid) (PAA; Mw: 25k)をガラス基板の上に添加したが、PAA 添加濃度 1-5wt%と変化させてもビデオレートより速い回転運動を示す結果となった。この結果は Rh B 自身が小さいこともあるが、より積極的にポリマー分子と相互作用させる必要性を示した。またより高解像度にてイメージングを行うには高い発光強度を有し、長寿命な蛍光分子が望ましい。そこで我々は蛍光分子に Perylene diimide (PDI)を選択し、PDI にて架橋された  $\alpha$ -CD dimer (PDI- $\alpha$ -CD<sub>2</sub>)をローター分子に選択した。その結果、PAA 添加濃度 4wt%においては速い回転運動を示したが、5wt%においては回転運動の停止が確認された。今後、4-5wt%の間で濃度を振ることはもちろんで有るが、測定温度による効果などについて検討する。さらに Azobenzenn 修飾 PAA を用いて、光スイッチングによる回転運動の ON/OFF を試みる(図 8)。

#### 謝辞

本研究は大阪大学大学院理学研究科の原田明教授、山口浩靖講師のご指導のもとに行われました。この場をお借りいたしまして、厚く御礼申し上げます。蛍光顕微鏡観察におきましては、京都大学大学院工学研究科の伊藤伸三郎教授、青木裕之准教授のご指導のものを行いました。特にデフォーカスイメージングに関しましては、測定結果の解析にあたり、青木准教授に多大なご指導を賜りました。厚く御礼申し上げます。本研究遂行にあたりましては本研究科大学院生の西村大氏に助力頂きました。心から御礼申し上げます。

#### 参考文献

1. H. Noji, R. Yasuda, M. Yoshida, K. Kinoshita., *Nature*, 386, 299 (1997).
2. N. Koumura, R. W. J. Zijlstra, R. A. van Delden, N. Harada, B. L. Feringa, *Nature*, 41, 152 (1999).
3. J. Michl et al, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 4540 (2004).
4. D. Nishimura, Y. Takashima, H. Yamaguchi, A. Harada *J. Org. Chem.*, 73, 249 (2008).
5. (a) J. Hofkens et al., *Polymer*, 47, 2511 (2006). (b) J. Hofkens *Adv. Mater.* 21, 1079 (2009).
6. D. Nishimura, Y. TAKASHIMA, H. AOKI, H. Yamaguchi, S. ITO, A. HARADA et.al *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 6077 (2008).

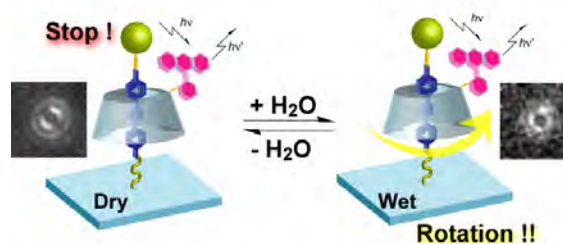


図 7. ガラス基板の上に修飾したロタキサンにおける 6-RhB- $\alpha$ -CD の回転運動挙動。

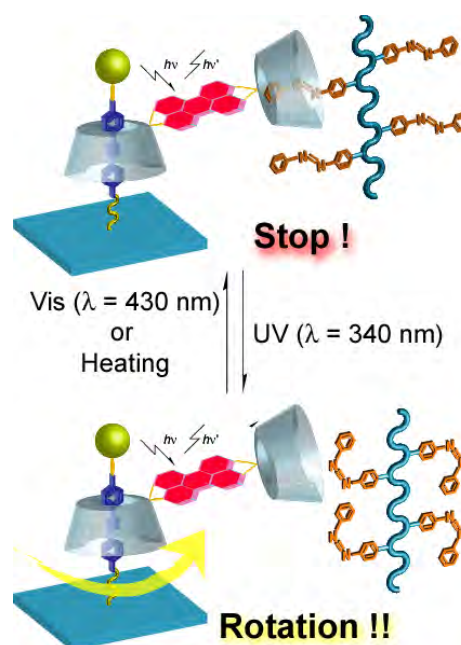


図 8. 光応答性ゲストポリマーの添加による回転速度の制御



## 新規機能性ナノ材料による光駆動型ナノデバイスの構築

名古屋大学・工学研究科 梁 興国

### 1. はじめに

近年、分子レベルでの成形・加工プロセスとして、ナノ構造を自己組織的に形成する“bottom-up”ナノテクノロジーが急速に発展している。既に、有機分子、金属錯体、 dendリマー、生体高分子、合成高分子などを材料とし、自己組織化により様々な形のナノ構造が設計・構築された。更に、ナノバイオテクノロジーと言う新しい分野は、従来のライフサイエンスとバイオテクノロジーが物質・材料科学と融合して生まれた。生体内では、自己組織化により形成された精密なナノデバイスにより生体反応、シグナルの伝達、分子の運搬などが効率よく行なわれている。生体分子を材料とし、生体プロセスを模倣すれば、人工的に高度なナノデバイスを構築することが期待できる。将来的には、薬物送達（DDS）や細胞内治療、環境モニタリング・浄化などの課題の解決に繋がると考えられる。

DNA は非常に優れた分子認識能と規則正しい二重螺旋構造を有するので、プログラム化により複雑なナノ構造やナノデバイスを構築する最適なナノ材料であると言われている。既に精密な 3D 構造や、様々な動きが可能な DNA ナノデバイスが構築された<sup>1)</sup>。しかし、未だに DNA ナノ構造やナノマシンの実用化に関する報告例はほとんどなく、ナノバイオテクノロジーの応用への展開は未熟である。実用化可能なナノデバイスを構築するためには、新規機能性分子材料の開発が求められている。

一方、修飾した生体高分子や人工二重螺旋など、高次構造の形成可能なナノ材料が数多く報告された<sup>2)</sup>。しかし、これらのナノ材料は、機能性や分子認識能、高次構造の規則性などの面で、生体分子を超えるものがほとんどない。そこで我々は、「長年で進化してきた生体分子のしくみに謙虚に学び、人工的な機能性ナノ材料を開発する」研究に取り組んだ。具体的には、生体分子である DNA の優れた分子認識能やプログラム化によりナノ構造を設計できる性能などを維持したままで、機能性分子から構成されるナノ材料を開発する。本稿では、光応答性分子であるアゾベンゼンと塩基対が交互に並ぶ形の人工二重螺旋の構築及び機能性ナノマシンの作製について紹介する。

### 2. 新規人工二重螺旋の作製と性能評価

筆者らは既に光応答性分子であるアゾベンゼンを D-threosinol を介して DNA に導入することで、DNA の様々なバイオロジカル機能の光制御を実現した<sup>3)</sup>。興味深いことに、アゾベンゼンの *trans-cis* 異性化により、DNA 二重螺旋の形成と解離を可逆的に光制御することにも成功した。この DNA 修飾方法の特徴はアゾベンゼンユニットを DNA の主鎖に付加的に導入していることである。ホスホアミダイド法を利用しているため、機能性分子であるアゾベンゼンを任意の場所に、任意の数で導入することが可能であった。しかし、今までは、天然の DNA や RNA をターゲットとしたため、アゾベンゼンを片方の鎖に導入する必要があった。その結果、二重螺旋を形成する際に非対称な構造になり、ナノ構造を構築するナノ材料として適切ではなかった。そこで、新規なナノ材料を作製するために図 1 に示すような分子設計を行った。機能性分子を相補的な二本の鎖に二塩基おき

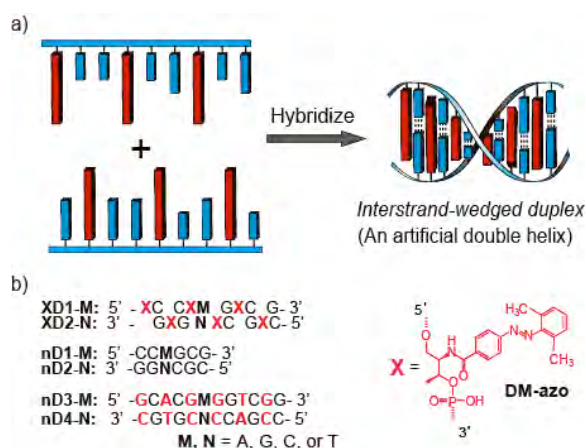


図 1 機能性人工二重螺旋の分子設計



に多数導入するので、機能性分子と塩基対が交互に並ぶ形になる (図 1a)。この設計では、以下のようなメリットがあると考えられる。1) 対称性が良いので、ナノ材料として必要な規則正しい二重螺旋構造が形成できる。2) 平面性を持つ、塩基対と同じサイズの機能性分子を用いれば、非常に安定な人工二重螺旋の作製が可能である。3) 塩基対形成の分子認識能 (Full match と Mismatch の大きな安定性の差) の維持が期待できる。4) 光応答性や蛍光, リガンドの付加など, 天然 DNA のない機能性の付与が可能である。5) 核酸を分解するヌクレアーゼなどへの酵素耐性の向上が期待できる。

まず, 無置換アゾベンゼン (Azobenzene) より優れた光制御能を持つ 2'6'-dimethylazobenzene (DM-azo) を用いて人工二重螺旋を作製した。合成した人工核酸の配列を図 1b に示す。二本の鎖 (例えば XD1-A と XD2-T) がハイブリダイズすると, 6 塩基対と 6 個の DM-azo が交互にスタッキングしている二重鎖が形成すると考えられる。

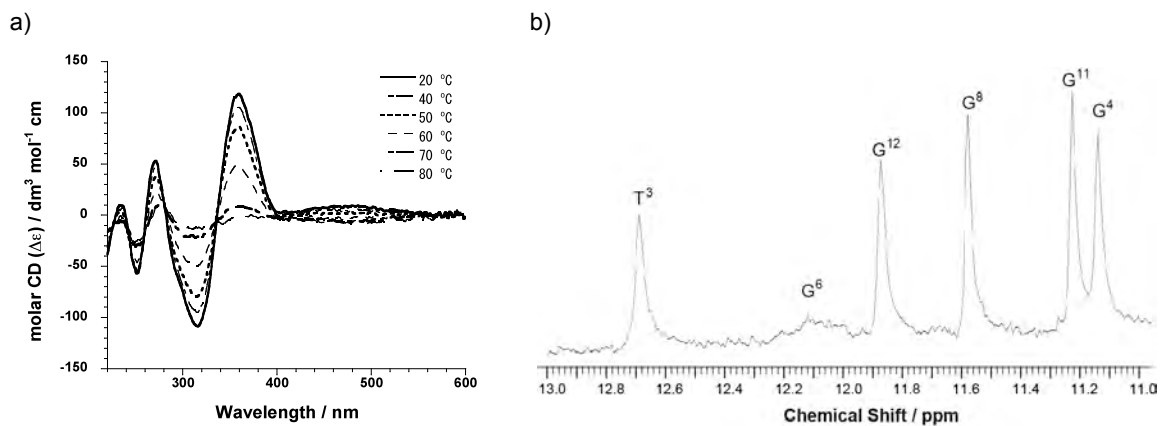


図 2 円偏光二色性 (a) と NMR (b) による人工二重螺旋 XD1-A/XD2-T の構造解析  
(二重鎖 5'-XC<sup>1</sup>C<sup>2</sup>XT<sup>3</sup>G<sup>4</sup>XC<sup>5</sup>G<sup>6</sup>-3'/3'-G<sup>12</sup>XG<sup>11</sup>A<sup>10</sup>XC<sup>9</sup>G<sup>8</sup>XC<sup>7</sup>-5'を使用)

二重鎖 XD1-A/XD2-T の安定性を調べたところ, その  $T_m$  (*trans* 体) が 62.3°C と, 同じ塩基配列を持つ天然二重鎖 (nD1-A/nD2-T,  $T_m=28.9^\circ\text{C}$ ) より約 33.4°C も上昇し, 二重鎖が大きく安定化したことが分った。興味深いことに, DM-azo をシス体に異性化した場合では, 25 度以上の温度において, 二重鎖が完全に解離した。即ち, この新規二重螺旋は非常に優れた光制御能を持っていることが分かった<sup>4)</sup>。また, 二重鎖 XD1-A/XD2-T の CD スペクトルを測定したところ, アゾベンゼンの吸収領域である 330 nm 付近に強い正負のコットン効果が観測され, 右螺旋が形成することが示唆された (図 2a)。更に, 1D の <sup>1</sup>H NMR を測定したところ, 6 塩基対のうち, 5 本のイミノプロトンのシグナルが観測された (図 2b)。即ち, 末端に露出した GC 塩基対以外の, 全ての塩基対が形成していることが分かった。興味深いことに, 全てのイミノプロトンのケミカルシフトは天然の DNA 二重鎖の場合より 0.3-1.0 ppm 高磁場にシフトした。これは, 塩基対の上下に存在しているアゾベンゼンのベンゼン環の環電流効果によると考えられる。また, 各イミノプロトン間に NOE が観測されなかったことから, 塩基対の間にアゾベンゼンを挟んでいると分かった。分子モデリングを行った結果, 天然の B 型 DNA に比べ遜色ない綺麗な二重螺旋が得られた (図 3)。即ち, ナノ材料に最適な規則正しい構造が形成していることが分かった。更に, 塩基対と Azobenzene ペア (二つの Azobenzene 同

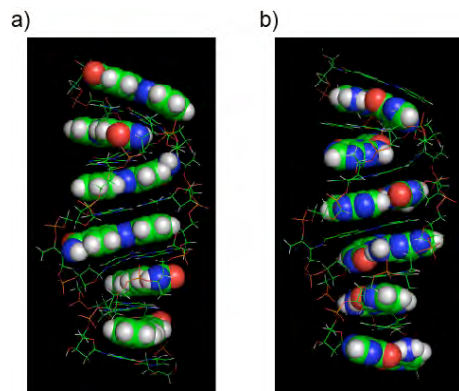


図 3 二重鎖 XD1-T/XD2-A の分子モデリング構造。 a) Azo がハイライト, b) 塩基対がハイライトされた。

士が Stacking により形成) が交互に並ぶ人工二重螺旋の構築にも成功した<sup>5)</sup>。

表 1 に示すように、16 種類の二重鎖の安定性を系統的に測定し、人工二重螺旋中に塩基対形成の特異性を調べた。その結果、ほとんどの Mismatch 二重鎖は Full match と比べ  $T_m$  が 10°C 以上低くなった。また、Full match の場合の  $T_m$  がほぼ同じである 12 塩基対の天然 DNA 二重鎖 (nD3-M/nD4-N) と比べても、ほとんどの場合、人工二重螺旋の分子認識能が優れていることが分かった (表 1)。以上のことから、構築した新規二重螺旋は非常に優れたナノ材料であると分かった。

表 1 二重鎖 XD1-M/XD2-N と nD3-M/nD4-N の  $T_m$  (括弧の中では天然 DNA の結果)

M N	M			
	A	C	G	T
A	37.2 (49.5)	36.6 (51.4)	49.0 (55.3)	<b>61.9</b> (61.0)
C	35.7 (48.1)	39.1 (45.9)	<b>63.9</b> (62.6)	38.4 (47.6)
G	44.5 (52.7)	<b>64.0</b> (65.1)	54.4 (54.3)	50.0 (54.5)
T	<b>62.3</b> (60.3)	41.1 (48.2)	53.6 (52.4)	53.8 (50.6)

### 3. 新規ナノ材料による光応答性ナノ構造の構築

2008 年に Mao のグループは 3 本の DNA から自己組織化によりサッカーボール形のナノカプセルを構築した<sup>6)</sup>。本研究では、アゾベンゼンを自己組織化に用いたパーツの粘着末端に導入し、光応答性ナノカプセルを作製した (図 4)。一つのパーツには、4 塩基からなる粘着末端 (2 種類, 6 個) がある。図 4b に示すように、それぞれの末端に二つのアゾベンゼンを導入している。粘着末端同士がハイブリダイズすると、アゾベンゼンと塩基対交互に並び、対称性の良い構造が形成する。自己組織化した結果、大きさ 200 nm のナノカプセルを鮮明に観察された (図 4c)。即ち、アゾベンゼンを導入しても、精密なナノ構造が構築できると分かった。

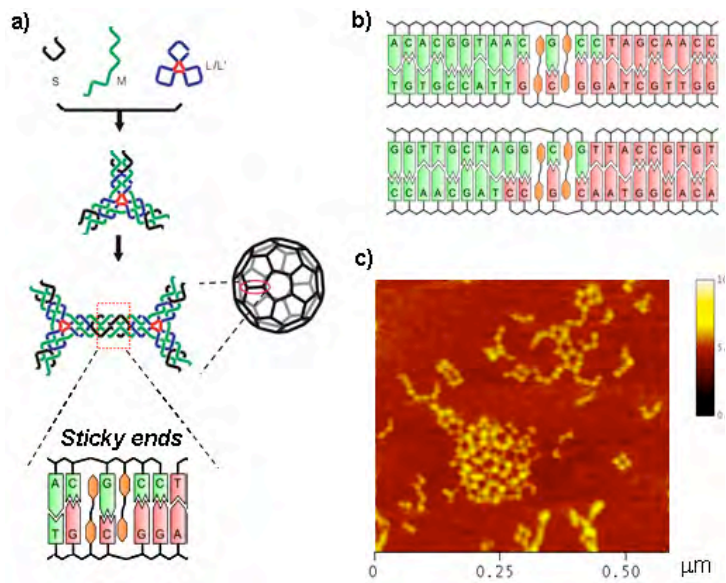


図 4 光応答性ナノカプセルの分子設計 (a), 塩基配列 (b) とその AFM イメージ (c)

更に、粘着末端にアゾベンゼンを二つずつ導入し、優れた光応答性を持つナノカプセルを構築した。この場合は、粘着末端が結合すると、アゾベンゼン同士がペアの形になる (図 5)。高速 AFM により、リアルタイム観察したところ、UV 光を 1 分 6 秒で照射すると、カプセルが破壊したことが分かった<sup>7)</sup>。このように、新規ナノ材料を用い、機能性ナノ構造の構築に成功した。将来的には薬物送達 (DDS) などへの応用が期待できる。

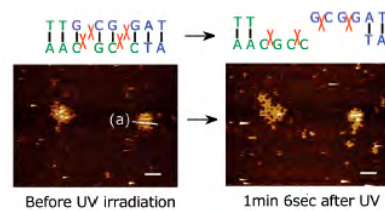


図 5 UV 光照射によるナノカプセル破壊のリアルタイム観察

### 4. 光駆動型ナノマシンの構築

1990 年代に In vitro selection 法により RNA 切断機能を持つ天然 DNA 配列が発見された。本稿では、モデル系である DNAzyme 10-23 の RNA 切断反応の光制御可能な機能性ナノマシンの構築を目指した。図 6 に示すように、DNAzyme の両末端に Azobenzene を含む人工核酸を導入している。相補的な配列を持つので、トランス体 (可視光照射後, Vis) の場合には二重鎖が形成し、ヘアピンの形になる。一

方、UV 光を照射した場合は Azobenzene がシス体に異性化し、ヘアピンが開く形になる。即ち、「光で DNAzyme のトポロジカル構造を制御することにより、その機能を光制御する」分子設計である。ヘアピンが Close している場合、基質 RNA が Binding しても、切断に必要なコンフォメーションを取りにくいので、切断できない。一方、Open の状態では、Wild type の DNAzyme と同じコンフォメーションになるので、効率良く切断できる (図 6)。RNA 切断反応を行った結果、光照射により、切断効率が大きく変化した。即ち、この設計により、RNA 切断の完全な ON-OFF 光スイッチングを実現した (図 7)。

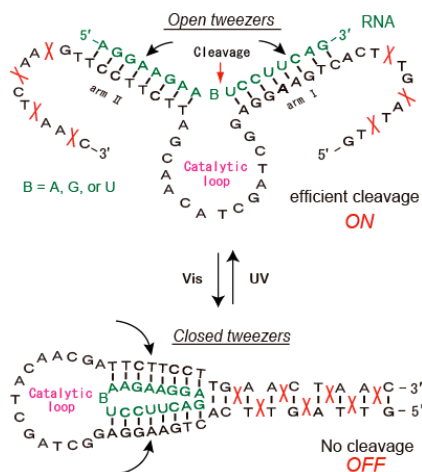


図 6 光駆動型 DNAzyme の分子設計

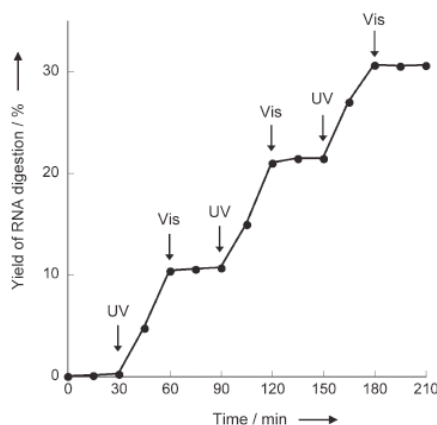


図 7 光駆動型 DNAzyme による RNA 切断反応の光スイッチング

## 5. おわりに

近い将来、応用可能な機能性ナノ構造の作製を目的とする「分子技術」の時代が到来すると言われている。本研究では、天然塩基の分子認識能を利用し、光応答性を持つ新規機能性ナノ材料を作製した。更に、この「分子技術」を巧く利用し、光応答性ナノカプセルと光駆動型のナノマシンの構築に成功した。興味深いことに、機能性核酸のトポロジカル構造を光でコントロールすることにより、RNA 切断反応の光制御も実現した。本研究により、Bottom-up ナノ技術の応用に向けて大きな一歩と踏み出したと言える。

## 謝辞

本研究は、科研費 (20750132) および立松財団研究助成を頂き、名古屋大学浅沼浩之教授の研究室にて行われたもので、この場を借りて厚く御礼申し上げます。特に研究遂行にご助力頂きました大学院生の西岡英則氏、周孟光氏、望月敏夫氏に深く感謝いたします。また、光応答性ナノカプセルについて共同研究を行った東京大学の萩谷研究室の田中文昭先生にも厚く御礼申し上げます。

## 文献

1. N.C. Seeman, P.S. Lukeman, *Rep. Prog. Phys.* **68**, 237 (2005); M.K. Beissenhirtz, I. Willner, *Org. Biomol. Chem.* **4**, 3392 (2006).
2. E. Yashima, K. Maeda, Y. Furusho, *Acc. Chem. Res.* **41**, 1166 (2008).
3. H. Asanuma, X.G. Liang, H. Nishioka, D. Matsunaga, M.Z. Liu, M. Komiyama, *Nat. Protocols* **2**, 203 (2007).
4. X.G. Liang, T. Mochizuki, H. Asanuma, *Small* **5**, 1761 (2009); X.G. Liang, H. Nishioka, T. Mochizuki, H. Asanuma, *J. Mater. Chem.* **20**, 575 (2010); H. Nishioka, X.G. Liang, H. Asanuma, *Chem. Eur. J.* **16**, 2054 (2010).
5. X.G. Liang, T. Mochizuki, T. Fujii, H. Kashida, H. Asanuma. *LNCS (Lecture Notes in Comp. Sci.)*, in press.
6. Y. He, T. Ye, M. Su, C. Zhang, A.E. Ribbe, W. Jiang, C. Mao, *Nature* **452**, 198 (2008).
7. F. Tanaka, T. Mochizuki, X.G. Liang, H. Asanuma, S. Tanaka, K. Suzuki *et al. Nano Lett.* **10**, 3560 (2010).

## 第4回 バイオ関連化学シンポジウム開催報告

実行委員長：大阪大学 深瀬浩一

本年度の同シンポジウムは、第25回生体機能関連化学シンポジウム、第13回バイオテクノロジー部会シンポジウム、第13回生命化学研究会シンポジウムの合同シンポジウムとして9月24日より26日の3日間、大阪大学共通教育管理講義棟（豊中キャンパス）で開催し、盛会裏に閉じることが出来ました。本年度より、日本化学会の生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、生体機能関連化学・バイオテクノロジーディビジョン、ならびにフロンティア生命化学研究会が主催団体として、毎年バイオ関連化学シンポジウムを開催していくこととなります。

今回は金曜日～日曜日の開催となりましたが、参加登録者数は444名（事前登録338名、当日登録106名）と、多数の方に参加いただきました。口頭発表は100件（依頼講演7件および一般口頭発表93件）ならびにポスター発表は198件（うちATPが9件）とこちらも多数になりました。なお初日の午後には「明日を拓くバイオ関連化学」と題した7件の依頼講演を実施しました。本シンポジウムならびに関連分野を今後支えていく教授になられたばかりの先生方あるいは若手の方々に、研究の現状と将来についてお話いただき、関連分野の今後の発展について貴重な討論を行うことができたものと思います。

会場には共通教育の講義棟を使用しましたので、口頭発表に使った3会場は互いに近く、またロビーを使ってポスター会場ならびに展示会場としましたので、会場間の移動は容易だったものと存じます。大阪大学豊中キャンパスは大阪の中心からは若干離れておりますが、それでもシンポジウム終了後には大阪の食文化を十分に堪能して、懇親を深めていただけたものと思います。

なお本シンポジウム開催にあたり、共同委員長である阪大工学研究科、民谷栄一教授、組織委員として阪大工学研究科、伊東忍教授、菊地和也教授、林高史教授、福住俊一教授、阪大理学研究科、原田明教授、サントリー生物有機科学研究所、島本啓子博士、実行委員として高島義徳助教、田中克典助教、野尻正樹助教、藤本ゆかり准教授、山口和也准教授、山口浩靖講師ならびに各研究室のメンバーの方の渾身のなご尽力を頂きました。

来年度は筑波大学大学院数理物質科学研究科鍋島達弥教授のお世話で、つくば市で第5回バイオ関連化学シンポジウムが開催されます。奮ってご参加いただきますようよろしくお願い申し上げます。



## 「第4回バイオ関連化学シンポジウム講演賞」講評

第25回生体機能関連化学シンポジウム・第13回バイオテクノロジー部会シンポジウム・

第13回生命化学研究会シンポジウム合同シンポジウム講演賞

審査委員長 鍋島達弥

筑波大学大学院数理物質科学研究科

筑波大学学際物質科学研究センター

本講演賞は日本化学会生体機能関連化学シンポジウムあるいはバイオ関連の合同シンポジウムにおいて3, 4件の優れた若手研究者の講演に対して授与されてきました。今回のシンポジウムは生体機能関連化学部会, バイオテクノロジー部会, 生命化学研究会が合同で行ったバイオ関連シンポジウムの講演賞となります。バイオ関連とはいえ, 分野は多岐にわたりペプチド・タンパク・酵素, 分子認識・超分子・モデル系, 遺伝子関連の三つのカテゴリーで, 三日間, 三会場で講演およびポスター発表が行われました。講演賞の応募は19件あり, どの講演も高い研究レベルで, 独創性も高く, 発表もよく工夫されたものでした。研究テーマの新規性・独創性, 実験データの質と量, 解析の妥当性, 結果の新規性, プレゼンテーション技術, 質疑応答などの観点から厳正に審査を行い, うち特に優れた4件を講演賞として選出しました。最近では異分野交流や融合領域の研究推進が奨励され, 専門の異なる人の前でプレゼンテーションを行う機会が増えてきました。その場合, 最も大切なポイントは, 研究の意義, 独創性, 結果の妥当性と波及効果を非専門の人にうまくアピールできるかとなります。研究レベルの高さはもちろん前提ですが, 審査員にその研究の真価をうまく伝えることができた発表が講演賞として選ばれたと思います。このような機会が若手の皆さんのますますの活躍につながればと願っています。

最後に, 大変お忙しい中ご協力いただいた審査員の先生方に心よりお礼申し上げます。

### 受賞講演者-発表演題(五十音順, 敬称略)

安部 聡 (京都大学物質-細胞統合システム拠点)

「蛋白質結晶細孔空間への金属イオン集積を利用した金属材料合成」

米田 誠治 (鈴鹿医療科学大学薬学部)

「制がん活性を有する白金(II)複核錯体と核酸との相互作用」

高島 義徳 (大阪大学理学研究科高分子科学専攻)

「Molecular Hula-Hoop - 蛍光顕微鏡によるロタキサンの単一分子回転運動観察」

梁 興国 (名古屋大学工学研究科)

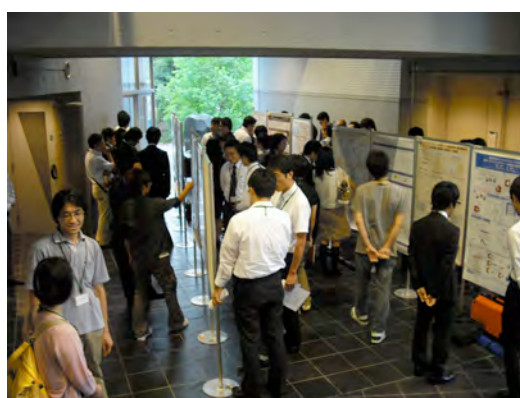
「新規機能性ナノ材料による光駆動型ナノデバイスの構築」

## 第25回生体機能関連化学部会若手フォーラム開催報告

若手フォーラム代表世話人  
大阪大学 産業科学研究所 堂野 主税

第25回生体機能関連化学部会若手フォーラムは、関西支部の堂野 主税（大阪大学産業科学研究所）、館 祥光（大阪市立大学）、佐藤 健二郎（武田薬品工業株式会社）が世話人となり、9月23日（木）に大阪大学吹田キャンパスの荒田記念館において開催いたしました。祝日（秋分の日）の開催でしたが、講師4名、一般16名、学生36名の合計56名と多数ご参加頂きました。

4名の若手の先生方を講師としてお招きし、それぞれ「一次元金属錯体アレイの分子プログラミング法の開発」（山田泰之先生，名古屋大学）、「合成化学的アプローチによる複雑多糖の機能解明」（若尾雅広先生，鹿児島大学）、「アグレッシブな研究者を目指して」（竹村隆博先生，東レ株式会社）、「放射線照射下で薬効を発現するインテリジェントドラッグの分子設計」（田邊一仁先生，京都大学）というタイトルで講演いただきました。最先端の研究発表はもちろんのこと、講師の皆様の自己紹介、研究スタイル、考え方など、非常に幅広く興味深いお話から多くの刺激を得ることができました。会場からも活発な質疑応答で議論にご参加いただき、非常に中身の濃い講演時間であったように思います。



ひき続いてのポスター発表は、気楽に率直な議論に参加できるよう、懇親会を兼ねて行ないました。25件のポスター発表の中から、一般参加者、招待講演者の投票によりポスター発表優秀賞を決定し、森本禎子さん（名古屋大学）、森本淳平さん（東京大学）、上田貴子さん（京都工芸繊維大学）に賞状と副賞を授与いたしました。懇親会を含めた2時間のポスター発表の中で、それぞれの研究内容に対する理解を深めるとともに、本フォーラムの大きな目的である研究者間交流が実現できたのではないかと考えています。

最後に、本会の運営と開催に関しましてお力添え頂きました講師、座長、若手の会、世話人の先生方、日本化学会高橋様に厚く御礼申し上げます。さらに、運営の裏方として尽力して頂いたアルバイトの学生の皆様、生体機能関連化学部会の支援に感謝致します。

ニュースレター Vol. 25, No. 3 2010年 12月 1日発行

事務局：101-8307 東京都千代田区神田駿河台1-5, 日本化学会生体機能関連化学部会

Office of the Secretary : The Chemical Society of Japan, 1-5 Kanda-Surugadai, Chiyodaku, Tokyo 101-8307, Japan

URL: <http://seitai.chemistry.or.jp/>

mail to: [seitai@chemistry.or.jp](mailto:seitai@chemistry.or.jp)

編集委員：青野重利, 片山佳樹, 塩谷光彦