



Title	疎水性アミノ酸を用いたカリックス[6]アレーンの機能化および自己組織化
Author(s)	塚本, 効司
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47257
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	塚 本 効 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 0 9 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科分子薬科学専攻
学 位 論 文 名	疎水性アミノ酸を用いたカリックス [6] アレーンの機能化および自己組織化
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 田 中 徹 明 (副査) 教 授 宇 野 公 之 教 授 今 西 武 教 授 小 林 資 正

論 文 内 容 の 要 旨

超分子化学およびホストゲスト化学におけるホスト分子として広く知られているカリックスアレーンは、適切な化学修飾を施すことにより様々な超分子や機能性分子に応用可能である。その化学修飾法のひとつとして、アミノ酸やペプチドを導入する手法が近年注目されている。生体内において、ペプチドやタンパク質はアミノ酸残基の非共有結合を利用して自己組織化や分子認識を行っており、このような機能性を有するアミノ酸残基をカリックスアレーンに導入すれば高機能な機能性分子や超分子構造体を創り出すことができると考えられる。このような観点から、近年アミノ酸やペプチドで化学修飾したカリックスアレーンが種々合成され、その有用性が示されつつある。しかしながら、このようなアミノ酸やペプチドで機能化する研究は最も環サイズが小さく分子設計や構造解析が比較的容易なカリックス [4] アレーンを中心に行われており、環サイズが一回り大きいカリックス [6] アレーンにおいてはほとんど行われていない。カリックス [6] アレーンはカリックス [4] アレーンと比較して環サイズが大きく高度なフレキシビリティを有しているため、カリックス [4] アレーンでは捉えることのできない大きな、あるいは複雑なゲストを包接したり、カリックス [4] アレーンでは形成できない立体構造や超分子構造を形成できる可能性を秘めており、アミノ酸やペプチドで修飾されたカリックス [6] アレーンの構造的性質を詳細に解明することは高度な機能性分子の設計、開発に繋がる重要な研究課題である。

そこで申請者は、原子レベルでの立体構造解析が可能な X 線結晶構造解析を中心としたカリックス [6] アレーン-アミノ酸複合体およびペプチド複合体の構造的性質の解明を行い、以下に示す基礎的知見を得た。

これまでにカリックス [6] アレーン-アミノ酸複合体の X 線結晶構造解析が行われた例は報告されておらず、その詳細な構造的性質は明らかにされていなかった。その原因の一つとして、アミノ酸複合体の分子量が大きいために X 線結晶構造解析における位相決定が困難であることが考えられた。そこで、位相決定を容易にするために重原子である臭素原子を有したパラブロモフェニルアラニンと結合させたカリックス [6] アレーンを合成し、放射光を用いることによってその X 線結晶構造解析に成功した。その結果、カリックスアレーン部分は flattened コーン構造を安定に取るのに対し、アミノ酸部分は非常にフレキシビリティが高いという構造的性質を有することが明らかになった。これは、アミノ酸複合体に今後ペプチドを導入する際に自由なペプチド鎖相互作用を得るために適切な構造的性質であり、カリックス [6] アレーン-ペプチド複合体の基本構造として有用であると考えられる。

一方で、そのアミノ酸複合体を炭酸カリウムで中和しカリウム塩とするとカリウムイオンの回りにアミノ酸残基が分子間で集合し、内部に空間を有する八量体ケージ構造を形成することが X 線結晶構造解析により明らかになった。ケージ内部の空間は体積 $890-1160 \text{ \AA}^3$ で親水性を示し、結晶化溶媒であるメタノールおよび水を多数包接していた。このような内部に大きな空間を有するケージ構造は、分子認識や人工酵素、不安定化学種の保存など様々な用途に応用可能であり、本構造がどのような機能を有するかに今後興味が持たれる。

上記のような八量体形成のように、アミノ酸残基は未知の機能性を発揮する可能性を十分に秘めている。このことから、合成したカリックス [6] アレーン-アミノ酸複合体のアミノ酸残基をさらに延長しペプチドとしたとき、新たな構造や機能が発揮されるとともに、今後ペプチドを利用して機能性分子を創製するための重要な知見が得られると考えられる。よって、カリックス [6] アレーン-パラブロモフェニルアラニン複合体の各アミノ酸残基にロイシン 1 残基ずつを導入したペプチド複合体を合成し、その構造的性質を調べた。その結果、ペプチド複合体を炭酸カリウムで中和したカリウム塩が疎水性環境中ではカリウムイオンを分子内に包接するのに対し、親水性環境中ではペプチド鎖がランダムな構造を取りカリウムイオンを分子外へ放出する機構を有することが X 線結晶構造解析により明らかになった。このような極性環境の変化による構造変化は膜輸送体に応用できる機能であり、得られた原子レベルの構造はそのような機能性分子の設計に有用な構造情報になるものと期待できる。

次に、上記のペプチド鎖複合体の結晶構造中ではペプチド鎖同士の相補的な水素結合が観測されていたため、ペプチド鎖をさらに延長させると水素結合によるペプチド鎖の自己組織化が起こり、タンパク質のように特定の高次構造を形成するのではないかと考えた。そこで、カリックス [6] アレーン-パラブロモフェニルアラニン複合体の各アミノ酸残基にトリロイシンおよびペンタロイシンを導入した化合物を合成し、その立体構造を X 線結晶構造解析により解明した。その結果、トリロイシン複合体は分子間で逆平行 β シートを形成することにより三量化し、多数の水分子を包接したかご状の超分子構造を形成することが明らかになった。一方、ペンタロイシン複合体は分子内平行 β シート形成および分子間逆平行 β シート形成によって四量化し、内部に溶媒分子のジオキサンを包接した β バレル状の超分子構造を形成することが明らかになった。カリックスアレーンに限らず、鋳型分子に結合させたペプチド鎖は、比較的少ない残基数でタンパク質のような様々な構造や機能を発揮できる可能性を秘めているが、その原子レベルの立体構造がほとんど明らかにされておらず、その自己組織化能や機能性には未知の部分が多い。今回の構造解析により、カリックス [6] アレーンと数残基のペプチド鎖のみで高次構造を形成できることが示され、今回見出した立体構造は人工タンパク質やペプチド性分子カプセルなどの設計に応用できると考えられる。

論文審査の結果の要旨

超分子化学およびホストゲスト化学におけるホスト分子として広く知られているカリックスアレーンは、アミノ酸やペプチドが導入されると分子認識能や超分子形成能などの高度な機能性を獲得することが最近の研究で示されつつある。しかしながら、そのような研究は最も環サイズが小さく分子設計や構造解析が比較的容易なカリックス [4] アレーンを中心に行われており、環サイズが一回り大きいためにさらに高度な機能性を発現する可能性を秘めているカリックス [6] アレーンにおいてはほとんど行われていない。申請者はこの現状の要因の一つとして、カリックス [6] アレーン誘導体の精密な構造情報の報告例がカリックス [4] アレーンのものと比べて圧倒的に少なく分子設計が困難であるためと考え、様々なカリックス [6] アレーン-アミノ酸複合体およびペプチド複合体の精密な構造的性質を、X 線結晶構造解析を利用して解明することとした。

これまでにカリックス [6] アレーン-アミノ酸複合体の X 線結晶構造解析例は報告されていなかったが、申請者は X 線解析を容易にする重原子を有したアミノ酸をカリックス [6] アレーンに導入することでその X 線解析に成功し、その詳細な構造的性質を解明した。さらにそのカリウム塩が新規八量体ケージ構造を形成することを明らかにした。また、それにロイシンを導入したペプチド複合体のカリウム塩が、周囲の極性環境の変化によってカリウムを包接したり放出したりする機能を有することを明らかにした。このような分子の「動き」を X 線解析で捉えた例は珍しく、その原子レベルの情報は新たな機能性分子の設計に利用できる可能性がある。そして、さらにペプチド鎖を延長

したオリゴイシン複合体がタンパク様の人工構造モチーフと言うべき、新規超分子構造を形成することを明らかにした。ペプチド複合体の X 線解析については、カリックス [4] アレーンにおいても報告例が無く全く新規な構造情報を与えており、カリックスアレーン化学のみならず鋳型分子を用いた人工タンパクの開発においても有用な知見になると考えられる。

以上の成果は、博士（薬学）学位論文としてふさわしい内容であると認める。