高分子鎖を用いた分子配列制御

宍戸 昌彦

Masahiko Sisido, 東京工業大学資源化学研究所

1. 分子を並べる化学

分子素子、生物素子、分子認識・応答素子、人工酵素など生物を模倣した多くの人工分子組織体が提案されている。これらの組織体では多種の機能分子（基）が一定の空間構造を保って固定されているものと想定されている。実際、生体分子はDNAやタンパク質に見られるように一定の空間構造を取っており、そのことが機能発現に本質的な役割を果たしている。いろいろな機能基を設計どおりに空間固定する方法が確立すれば、上述の生体模倣人工分子の分野は大きく進展するに違いない。

高分子化学は分子を並べる化学の老舗であるが、一般の高分子は溶液や固体中で無秩序な構造をとっており、分子レベルでの規則性を示さない。また多種類のモノマーを、あらかじめ指定した一定の順序でつなぐことも一般的には不可能である。しかしながら高分子は、本質的に一次元系であり、平面的にしか分子を並べることでできないLB膜法に比べても、より大きな可能性を秘めている。本稿では高分子による分子配列制御の過去の試みと現状、および将来発展すべき方向について展望したい。

2. 1種あるいは数種の機能基を規則的に並べる

同じ分子集合体でもアモルファスと結晶とでは性質が異なる。ビニル高分子でもイソタクチックな結晶性ポリビニルカルバゾールはアタクチックなものより大きな光電導性を示す。一般に剛直な高分子主鎖骨格につながった側鎖機能基は規則的な空間配置に保たれている。ポリイソシアニド $[-C(=NR)-]$ 、ポリアセチレン $[-C\equiv C-C(R)=C(R)-]$ などはそのような例である。また、かさ高い側鎖をもつイソタクチックポリメタクリル酸エステルやポリアクリルアミドは一定のらせん構造を溶媒中でも保つことが明らかにされて

いる。これらの例では単に1種類の機能基の規則配列が見られるだけであるが、この配向固定により非線形光学材料としての応用などの新しい応用分野が開けてくる。

数種の側鎖置換基を一定の順序で並べることができれば、学問的、応用的な可能性は格段に広がる。配位重合による交互共重合を用いれば、ビニル高分子に沿って一定の周期で機能基を導入することができる。Webber¹⁾や森島ら²⁾は、2-ビニルナフタレンとメタクリル酸との共重合体を合成した。この交互共重合体に沿った励起エネルギー移動は、ランダム共重合体より起こりやすいと報告している。田附ら³⁾は、電子ドナー(D)とアクセプター(A)とをいろいろな間隔で交互に並べたポリエステル、ポリアミドを合成した。DとAの間隔が適合した場合、これらのポリマーは発色基濃度にして 10^{-5} Mの低濃度でも分子間会合を起こすことが示されている。これは相互作用基の配置の重要性を示す結果である。ただし、これらの高分子では空間構造まで固定されているわけではない。

3. 多種類の機能基を指定した空間配置で並べる

分子を並べる化学の第一の到達目標は、この標題のように分子レベルでの空間配置を思いのまま制御することである。剛直な骨格をもち、モノマーを1個ずつ逐次に延長できる縮合系高分子だけがこの可能性をもっている。種々のポリエステル、ポリアミド系が考え

宍戸昌彦 東京工業大学資源化学研究所(227 横浜市緑区長津田町4259)助教授、工博
1967年京大工学部卒、1972年大学院博士課程修了。1972年京大工学部助手、1981年京大医用高分子研究センター助教授、1987年東工大資源研助教授。研究歴は、高分子合成、高分子分子内反応、光機能性高分子、生体高分子、＜趣味＞パソコンいじり、レコード鑑賞

Molecular Arrangement Constrained by a Polymer Chain

図 1 I の予想コンホメーション

られるが、現在のところポリペプチドを凌ぐ系は見当たらない。アミノ酸の逐次縮合によるポリペプチド合成は成熟した段階にあり、アミノ酸数にして 20 個程度つなぐのは比較的容易である。ポリペプチドは溶液や固体中での α -ヘリックスなどの剛直な不斉規則構造をとるので、その側鎖置換基も非常に制約され、かつ不斉な空間配置に固定される。

機能性ポリペプチドを合成するとき、原料アミノ酸として天然には 20 種程度しかなく、それらの機能も限られていることが制約となる。筆者らは種々の発色基を側鎖にもつ光学活性人工アミノ酸を合成し、それらを含ませることによってポリペプチドに人工的な光・電子機能を付与する試みを行っている⁴⁾。

図 1 は α -ヘリックス主鎖に沿って 1 対の電子ドナー (L-*p*-ジメチルアミノフェニルアラニン, D) とアクセプター (L-1-ピレニルアラニン, P) とを含むポリペプチド (I) のコンホメーションを示す (構造式 I)。

図 1 は経験的ポテンシャルエネルギーを用いた計算から予想されるコンホメーションで、D と P との発色基中心間距離は $m=0$ と 1 の場合それぞれ 13.2, 9.3 Å, 最近接原子間距離は 9.4, 5.5 Å となった。このポリペプチドにパルス光を照射してピレニル基だけ

を励起すると D から P* への電子移動が認められた。その移動速度定数は $m=0$ で 10^7 (1/秒), $m=1$ で 10^5 (1/秒) のオーダーであった。このように電子供与基や受容基を空間的に固定すると、発色基間の間隔によって電子移動の道筋が制御できることが示された⁵⁾。

ポリペプチド鎖による発色基の空間固定は、このほかにナフチル基やアントリル基の 1 次元配列、ナフチル基とジメチルアニリノ基の交互配列の例が報告されている⁶⁾。西野らはカルバゾリル基を 1 次元配列させたポリペプチドを合成している⁷⁾。

262 頁のカットは光エネルギー補集素子としてのアントリル基の 1 次元配列と光駆動電荷分離反応中心 (ジメチルアニリン-アントラセン-ベンゾキノン) とを縦横に組み合わせた光電変換素子の設計図である。この分子設計には電子移動や励起エネルギー移動の距離、配向依存性などの高分子光物理学の研究成果と、ポリペプチドのコンホメーションの研究成果、さらにポリペプチドの合成に関する知識がすべて盛り込まれている。

4. 分子設計, 機能設計をいかに行うか

カットのような分子設計が可能になるためには、まず化学構造 (ポリペプチドの場合はアミノ酸のシーケンス) が与えられたとき、その空間構造を予想することが必要である。これは計算化学の主要命題の一つであり、経験的エネルギーパラメーターを駆使した分子力場 (Molecular Mechanics) 法によって行うことができる。特に Allinger の MM2 プログラムは広く用いられ、パソコン版も入手できる⁸⁾。一般の MM 法では分子回転角だけでなく結合長、結合角も変数としているため、ポリペプチドのような大きな分子系には不適当である。ポリペプチドには回転角のみを変数とした Scheraga らの ECEPP などがよく用いられる⁹⁾。アミノ酸のシーケンスを入力するだけで最も可能性の高いコンホメーションの分子図形が出力されることが理想であるが、実際にはエネルギー的には同程度のいくつ (あるいは数多く) のコンホメーションが得られることが多い。ただし合成ポリペプチドの場合、あらかじめ α -ヘリックス構造をとりやすいアミノ酸だ

構造式 I

けを導入するなどの方法で、とりうるコンホメーションの自由度を減らしておくことができるので、予測の精度を高くすることができる。

以上のように、化学構造から空間構造の予測は現在でもある程度可能である。しかし、機能設計を行うためにはその逆過程、すなわち特定の機能を果たすための機能基の空間配置が与えられたときに、それを実現する化学構造の予測を行うことが必要となる。これは現在まだほとんど手のつけられていない計算化学の分野であるが、分子を並べる化学が実用的に役立つためにはぜひとも必要である。

5. 空間構造をいかにして調べるか

機能基の空間配置を調べることは、分子を並べる化学のもう一つの要である。単結晶が得られる場合はX線解析法が最もよいことはいうまでもないが、一般的ではない。また結晶中での構造が実際に機能する溶液や膜中での構造と一致する保証もない。溶液中の構造決定はNMR法が最も一般的であろう。特に2次元NOESYスペクトルでは2~5Åのオーダーの核間距離に関する情報が直接得られるので有用である。実際、アミノ酸数58のポリペプチド(BPTI)の構造がNOESYとX線との両者が独立に調べられ、一致する結果が得られている¹⁰⁾。

ポリペプチドのようにキラルな構造をもつ場合は、円二色性(CD)スペクトルも有効である。特に複数の発色基が側鎖に固定されている場合、励起子相互作用によって強いCDが誘起される。2個の発色基間の相互作用の場合、CDの符号と空間構造は励起子キラリティ則によって関係づけられている¹¹⁾、3個以上の場合は定性則はなく、CDパターンを構造に結びつけるためには量子力学計算を行わなければならない。

CDスペクトル法にも最近いくつかの進歩が見られた。一つは赤外吸収領域でのCD測定が可能となり、可視・紫外領域に吸収をもたない試料についても情報が得られるようになった。また芳香族基をもつポリペプチドについても、側鎖吸収による妨害をうけずに主鎖コンホメーションが決定できるようになった¹²⁾。また円偏光蛍光スペクトル(CPF)の実用化により、励起状態、例えばエキシマーの不斉構造を明らかにできるようになった¹³⁾。CD法はNMR法より遠距離(5~10Å)の構造情報を与えるので、分子集合構造を議論するのにより適当である。ポリペプチド、二分子膜、あるいはLB膜系で集合構造の変化がCDスペクトルに最も顕著に現われることは、このことを証明している。

構造式 II

6. 生物の助けを借りて分子を並べる

タンパク質や核酸の空間構造、あるいは生体膜などの組織構造などのように、生体系は分子組織構造のシヨールームである。これらを模倣して人工の組織構造を作ろうというのが前節までの主題であった。一方、生体分子と機能分子との複合体を作って機能分子を組織化しようという考えも有効である。

タンパク質の化学修飾によって機能基を導入する試みは古くから行われている。最近の光・電子機能関連の研究に限定しても、電子伝達性のフェロセンをグルコースオキシダーゼに結合させ、電極による酵素活性の制御を行った例や¹⁴⁾、チトクロームに電子アクセプターを結合させ、ヘムからアクセプターへの電子移動を行わせたりする例が報告されている¹⁵⁾。

横山、宮澤らはヒト上皮細胞成長因子(hEGF)だけを産生するように改変された大腸菌を、非天然アミノ酸であるノルロイシン存在下で培養するとhEGF中の21番目のアミノ酸であるメチオンの代りにノルロイシンが入った変異タンパク質ができることを見いだした¹⁶⁾(構造式II)。このような方法が一般化すれば、タンパク質の特定のアミノ酸を機能性の人工アミノ酸で置換できる可能性があり、今後の発展が期待される。

モノクローン抗体を利用すれば種々の機能分子を抗原結合部位に取り込ませることができる。ピレン誘導体を抗原とする抗体もすでに作製されている¹⁷⁾。最近、化学反応の遷移状態に似た構造の化合物の抗体を作製すると、それはその化学反応のよい触媒となることが示され話題となった¹⁸⁾。

泉屋らのグループは、ピレンルアラニンを含むエンケファリンアナログを合成し、それがオピオイドレセプターにうまく適合することを見いだしている¹⁹⁾。

遺伝子工学的に生産されたタンパク質や単クローン抗体は、化学的に純粋な単一ポリペプチドであり、高分子化学の研究対象として好適である。これらを人工

図2 抗体タンパク質の2次元結晶作製法²⁰⁾

機能化する試みは、今後、基礎、応用の両面においてますます重要になると考えられる。

7. 分子機能素子を並べて階層組織構造を作る

機能化ポリペプチドやタンパク質を機能素子と見ると、それらをさらに配列させて組織構造を作らせることが機能を引き出すために必要である。このような階層構造は生体分子ではよく見られるところであるが、そこで主役を果たしている自己組織形成能を利用すれば、人工的な構造を作ることもできる。Uzgirir と Kornberg は脂質ハプテン、*N*-ジニトロフェニル(DNP)-ホスファチジルエタノールアミンを含む単分子膜の上に抗DNP抗体を2次元結晶として配列させることに成功した(図2)²⁰⁾。光・電子機能化ポリペプチドやタンパク質などの生物素子を用いて、分子コンピューターやインターフェースを構成するためには、それら素子を指定した配置に組織化することが必要である。タンパク質2次元結晶化技術はその突破口となる可能性をもっている。

タンパク質からさらに話が飛ぶが、細胞を並べる試みも報告されている。ICのパターン形成技術を用いてシリコンの基板上に溝を掘り、溝に細胞接着因子(フィブロネクチン)をコートすると溝に沿って細胞が並ぶ²¹⁾。また神経細胞をパラジウムの薄膜で部分的にコートしたポリオルニチン上で培養すると、細胞はコートしていない面に沿って成長する²²⁾。このあたり

の研究はまだサイエンスとよべないような段階のものもあるが、(分子)コンピューターと神経系とのインターフェースを図るためには重要な研究であろう。

8. おわりに

高分子鎖によって分子を並べる研究の紹介をする予定が、最後には相当脱線してしまった。現在の技術水準をはるかに超える新技術のもととなる機能材料としての分子素子や人工酵素などの実現の鍵は、分子を並べる化学の発展にある。それには単にポリペプチド合成やLB膜作製技術の進歩だけでなく、分子空間構造の設計の方法や構造決定の方法の進歩が必要であると筆者は考えている。

文 献

- 1) F. Bai, C.H. Chang, S.E. Webber: *Macromolecules*, **19**, 2484 (1986)
- 2) Y. Morishima, T. Kobayashi, S. Nozakura, S.E. Webber: *Macromolecules*, **20**, 807 (1987)
- 3) S. Tazuke: *Makromol. Chem., Suppl.*, **14**, 145 (1985)
- 4) 矢戸昌彦: バイオ・高分子研究法3, バイオ・高分子機能デザインと高分子化学, 高分子学会バイオ・高分子研究会編, 学会出版センター, 第9章 (1988)
- 5) M. Sisido, R. Tanaka, Y. Inai, Y. Imanishi: 準備中
- 6) M. Sisido: Chromophoric Polypeptides—A One-Dimensional Chromophoric Assembly in Solution—, ACS Symposium, Ser. No. 358 Chap. 26, 343 (1987)
- 7) 八尋修二, 西野憲和, 藤本 勉: *Polym. Prepr. Jpn.*, **37** (3), 431 (1988)
- 8) 大沢映二, 尾崎 茂: 化学と工業, **41**, 421 (1988)
- 9) 矢戸昌彦: *Polym. Prepr. Jpn.*, **36** (6), 1772 (1987)
- 10) 荒田洋治, 稲垣冬彦: スペクトルで見るタンパク質のNMR, 講談社サイエンティフィック (1987)
- 11) 原田宣之, 中西香爾: 円二色性スペクトル, 東京化学同人 (1982)
- 12) S.C. Yasui, T.A. Keiderling, M. Sisido: *Macromolecules*, **20**, 2403 (1987)
- 13) 矢戸昌彦: 高分子実験学14, 生体高分子, 高分子学会編, 共立出版 (1985) p. 36
- 14) Y. Degani, A. Heller: *J. Phys. Chem.*, **91**, 1285 (1987)
- 15) G. McLendon: *Acc. Chem. Res.*, **21**, 160 (1988)
- 16) H. Koide, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 6237 (1988)
- 17) Lovejoy, D.A. Holowka, R.E. Cathou: *Biochemistry*, **16**, 3668 (1977)
- 18) *Chem. Eng. News*, April 6 (1987) p. 30
- 19) H. Mihara, et al.: *Int. J. Peptide Protein Res.*, **30**, 605 (1987)
- 20) E.E. Uzgirir, R.D. Kornberg: *Nature*, **301**, 125 (1983)
- 21) B.L. Giammara, et al.: Molecular Electronic Devices II, Ed. by, F.L. Carter, Marcel Dekker (1987)
- 22) P. Letourneau: *Div. Biol.*, **44**, 92 (1975)