



秋吉 一成

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

プロフィール：1985年九州大学大学院工学研究科博士課程修了。米国 Purdue大学博士研究員を経て、1987年長崎大学工学部講師、1989年京都大学工学部助手、1993年京都大学大学院工学研究科助教、2002年より現職。専門：ナノバイオマテリアル 趣味：ドライブ、映画鑑賞。

動的な高分子ナノ組織体による生体高分子の認識・応答・機能制御

要旨

次世代の高機能性材料開発には、ナノスケール領域での自己組織体の構造・機能を自在に制御する技術が不可欠である。その手本となる生体系における高分子のナノ組織体では、動的で、柔軟性があることが、高次の機能発現に本質的に重要である。一方、人工系では高分子を単位とする自己組織化や特に高分子間での動的な会合制御に関する研究はその複雑さもあって、充分になされていないのが現状である。本研究では、分子や外部刺激に応答して動的に構造変換が可能で、生体高分子（タンパク質や核酸）に対して、認識、応答、機能制御し得る新しい動的な高分子ナノ組織体を創製することを目的としている。特に、タンパク質のフォールディングと会合の制御や熱安定化機能を有する人工分子シャペロンシステムの創製とバイオテクノロジーでの利用について研究を行った。

刺激応答性自己組織化ナノゲル微粒子の創製

生体系での階層的な自己組織化現象にインスパイアされた動的なナノバイオマテリアルの構築とその利用に関して研究を展開した。我々は、多糖に部分的疎水基を導入した水溶性多糖類が希薄水溶液中で自己組織的に会合し、単分散なナノゲルを形成することを見出していた。本研究では、他の種々の高分子系へと展開するとともに、会合性因子として疎水基に基づく疎水的な会合力以外に、配位結合を利用したシステムや熱・光の刺激により動的に構造を変化しうる動的なナノゲルへと展開した。水溶性ポリアミノ酸などの高分子電解質やポリイソプロピルアクリルアミドなどの合成高分子さらに異種の疎水化高分子間とのハイブリッドナノゲルの開発に成功した。また、金属配位子としてピリジン基やイミダゾール基を有する多糖が金属イオンとの配位結合により会合し、金属イオンの酸化・還元により可逆的な会合制御が可能であること、さらに光や熱により分子の極性が制御しうる光応答性スピロピラン分子を架橋点とする会合性ナノゲルが光・熱刺激により動的に会合制御が可能であることを明らかにした。

人工分子シャペロンとしての動的なナノゲルの機能

分子シャペロンは、ATPの加水分解反応と共役してその構造を動的に変化させることで、非天然のタンパク質の選択的捕捉と解離を制御して、立体構造形成を助けている巧妙な生体ナノマシンである。バイオテクノロジーや薬学・医療分野においてタンパク質のフォールディングは大きな問題となっている。特に、遺伝子操作により大量に発現させたタンパク質は正しく折り畳まれずに凝集してしまう場合が多く、いかに効率のよいリフォールディングシステムを実現しうるかが大きな課題である。我々は、天然の分子シャペロン機能発現の基本原理を発想の源とした人工分子シャペロンの設計と機能に関する研究を行ってきた。疎水化多糖のナノゲルが非天然タンパク質を選択的に相互作用しうること、さらにシクロデキストリンを会合制御分子として用いたシステムにおいて、天然の分子シャペロンと類似の機構により、加熱によるタンパク質・酵素の凝集や活性低下を防ぐ機能を有することを明らかにした。本研究においては、特に化学変性したモデル酵素のリフォールディングにおける人工分子シャペロンの効果とその制御因子を考察した。このシステムは、遺伝子改変により作り出される人工タンパク質発現系にしばしばみられる発現タンパク質の凝集塊からのタンパク質再生系に適用出来る点で重要である。種々の疎水化高分子から形成されるナノゲルの疎水性やシクロデキストリンの種類や濃度により種々のタンパク質のリフォールディング効率が大きく変化することが明らかになり、種々のタンパク質に適用可能なシステムを設計可能であるという指針が得られた。大腸菌由来のある種の封入体タンパク質の再生にも成功している。また、細胞外タンパク質合成系において疎水化多糖ナノゲルが人工分子シャペロンとして機能しうるということが明らかになった。製品化を視野に検討を進めている。さらに、先に述べた自己組織化ナノゲル法により開発した新規動的なナノゲルのシャペロン作用を検討し、ソフトナノマシンへと進化させる試みを行った。例えば、光応答性のスピロピラン基を架橋点とするナノゲルは、光刺激により化学変性タンパク質のリフォールディングを制御しうる光応答性分子シャペロンとして機能することも明らかになった。さきがけ研究21を通して、より一般的なタンパク質再生システムの構築へと展開する基礎的知見が得られた。本システムの実現は、ポストゲノム時代の蛋白質の構造、機能研究さらに工業利用に際し、多大な貢献が期待される。

研究成果

論文

1. K. Akiyoshi, E.-C. Kang, S. Kurumada, J. Sunamoto, T. Principi, and F. M. Winnik, Controlled Association of Amphiphilic

- Polymers in Water; Thermosensitive Nanoparticles formed by Self-assembly of Hydrophobically Modified Pullulan and Poly(N-isopropylacrylamides), *Macromolecules*, 33, 3244-3249 (2000).
2. K. Akiyoshi, A. Ueminami, S. Kurumada, and Y. Nomura, Self-Association of Cholesterol-Bearing Poly(L-lysine) in Water and Control of its Secondary Structure by Host-Guest Interaction with Cyclodextrin, *Macromolecules*, 33, 6752-6756 (2000).
 3. S. Ghosh, S. J. Lee, K. Ito, K. Akiyoshi, J. Sunamoto, Y. Nakatani, and G. Ourisson, Molecular Recognition on Giant Vesicles: Coating of Phytol Phosphate Vesicles with a Polysaccharide Bearing Phytol Chains, *Chem. Commun.*, 267-268 (2000).
 4. H. Shiku, L.J. Wang, Y. Ikuta, T. Okugawa, M. Schmitt, X. G. Gu, K. Akiyoshi, J. Sunamoto, and H. Nakamura, Development of a Cancer Vaccine: Peptides, Proteins, and DNA, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 46, S77-S82 (2000).
 5. K. Akiyoshi, S. Kobayashi, and J. Sunamoto, Interaction between Proteins and Self-Assembled Nanoparticles of Hydrophobized Pullulan with Insulin: Host-Guest Interaction in *Macromolecules*, *Koubunshi Ronbunshu*, 58, 209-212 (2001).
 6. K. Akiyoshi, M. Ikeda, Y. Sasaki, and J. Sunamoto, Controlled Association between Amphiphilic Polymers and Enzyme by Cyclodextrins in Heat Denatured Process: Artificial Molecular Chaperone, *Studies in Surface Science and Catalysis*, 132, 89-92 (2001).
 7. K. Akiyoshi, N. Maruichi, M. Kohara, S. Kitamura, Amphiphilic block copolymer with a molecular recognition site: induction of a novel binding characteristic of amylose by self-assembly of poly(ethylene oxide)-block-amylose in chloroform. *Biomacromolecules*, 3, 280-83 (2002).
 8. K. Kuroda, K. Fujimoto, J. Sunamoto, K. Akiyoshi, Hierarchical self-assembly of hydrophobically modified pullulan in water: gelation by networks of nanoparticles. *Langmuir*, 18, 3780-86 (2002).
 9. E-C. Kang, T. Miyahara, K. Akiyoshi, J. Sunamoto, Partitioning of ganglioside -reconstituted liposomes in aqueous two-phase systems. *J Bioactive and Compatible Polymers*, 17, 87-104 (2002).
 10. Y. Ikuta, N. Katayama, L. Wang, T. Okugawa, Y. Takahashi, M. Schmitt, X. Gu, M. Watanabe, K. Akiyoshi, H. Nakamura, K. Kuribayashi, J. Sunamoto, H. Shiku. Presentation of a major histocompatibility complex class I-binding peptide by monocyte-derived dendritic cells incorporating hydrophobized polysaccharide-truncated HER2 protein complex: implications for a polyvalent immuno-cell therapy. *Blood*, 99(10), 3717-24 (2002).

解説

1. 秋吉一成、疎水化多糖の集合体形成と機能、*油化学*、49、463-469 (2000).
2. 秋吉一成、自己組織化多糖ナノゲル微粒子の設計と機能、*化学総説* 48、糖鎖分子の設計と生理機能、79-85 (2001).
3. 秋吉一成、分子シャペロン—高分子の構造形成と変換を制御する動的分子システム—、*化学フロンティア5 生命化学のニューセントラルドグマ*、化学同人、15章160-170、2002.
4. 秋吉一成、野村雄太、タンパク質の機能性ナノキャリアーとしての分子シャペロン、*DDS学会誌*、印刷中