

生物に学ぶ分子認識

Molecular Recognition, Living Systems as a Model

大 月 穰*・荒 木 孝 二*
Joe OTSUKI and Koji ARAKI

生物を分子レベルでみると、特異的な分子間相互作用によって、分子を認識する過程が本質的に重要であることがわかる。生体の分子認識機能を学ぶことによって、人工の優れた認識（ホスト）化合物が数多く合成されている。ここではまず、生体における分子認識の役割を概観し、次に筆者らが進めているサンドイッチ型ホスト分子の研究を中心に、人工系での分子認識に基づいて形成される超分子、分子組織体についての研究を概説する。

1. はじめに

生物は、原料とエネルギーを取り入れ、原料を変換して自らの構造を構築しつつ、動いたり、あるものは考えたりしながら、不要物や熱を放出する。構造の構築が一段落すると、自己を複製して、再び同じサイクルを繰り返す。この過程をもう少し詳しく分子のレベルで見ることにしよう。

まず原料となるのは非常に多種類の分子である。この中から必要な分子だけを反応させて変換しなければならない。酵素と呼ばれる蛋白質が、基質を選択的に見分けて、特定の分子の特定の部位の反応を触媒している。エネルギー源となるのは、植物では太陽の光エネルギーである。分子が規則的に配置した、光合成反応中心という分子組織体が中心的な役割を果たしている。また生体内の情報伝達をつかさどる神経系でも、ある神経細胞から放出された分子が、別の神経細胞に存在するレセプターと呼ばれる分子に結合することで情報の伝達が行われている。自己複製のための遺伝情報を持っているのは DNA という高分子で、DNA 中の核酸塩基の配列を分子識別することで情報の読み出しが行われ、また細胞分裂時には、全く同じ DNA 分子が複製される。

以上のことがらに共通していることは、分子が他の分子を選択的に見分けて、非共有結合（分子間相互作用）によって結合するという分子認識^{1), 2)}の過程である。つまるところ、酵素と基質の相互作用や、分子の自発的な組織化による分子組織体形成、はては生命活動自体が、分子認識に依存しているということになるであろう。

一方で、合成分子系での分子認識が、20年ほど前から、生体に学ぶという観点から研究されはじめていたが、10

年ほど前から特に注目されるようになってきた。ターゲット分子（ゲスト）を認識する分子（ホスト）を設計、合成し、さらにある機能を付与しようとする研究である。これまでに、非常に数多くのホスト分子が合成されているし、まだまだ増えつつある。これらの研究を通じて、分子間相互作用の種類や配置と分子認識能の関わりが明らかにされてきた。生体をみると明らかのように、分子認識によって形成された分子複合体（超分子）や分子組織体は、単独分子にはない新しい機能を示す場合がある。最近では、さらに積極的に機能分子を導入することで新しい分子素子としての応用が検討されようとしている。

本稿ではまず、分子認識が生体においていかに重要な役割を担っているかを、二つの例、すなわち酵素反応と光合成システムについて具体的に説明する。次に、人工分子での分子認識研究の意義を考察し、上の二例に対応したホスト-ゲスト系の例を紹介した後、われわれが行っている新しいホスト分子の研究を解説する。最後に人工系での研究の将来展望を述べる。

2. 生体における分子認識

2.1. 酵素

私達化学者がフラスコの中で行う合成反応と、私達自身の体の中で行われている代謝反応を比較してみよう。化学者が合成を行う場合は、原料は可能な限り純粋なものが望ましいと考える。原料以外の成分、つまり不純物が存在すると、望ましくない副反応が起こったり、ある場合は、主反応が進まなくなったりするからである。原料を精製して純粋にしたとしても、まだ不十分である。原料化合物の中に、二ヶ所以上反応活性な基が存在すると、これまた、副反応が起こって、複雑な生成物を前に途方に暮れることになるであろう。このような場合

*東京大学生産技術研究所 第4部

は、反応して欲しくない基を保護基で保護して、反応を行った後、保護基を外すことによって、望みの反応を行わせることができる。このような手間をかけてやっと一段階の反応をすることができる。もちろん、次の反応に使うためにはこの生成物を精製しなければならない。

一方、細胞の中では、数知れぬ化合物がうごめいている、一見混とんとした状態の中で反応が進められているにもかかわらず、決まった化合物の決まった部位が整然と反応している。しかも多段階の反応が同じ細胞のなかで連続的に行われている。かつ、多種類の反応が同時進行している。どうしてこのようなことが可能なのであろうか。それは、生体内での反応が、蛋白質によって触媒される酵素反応だからである。酵素は、分子間相互作用によって基質を“認識”する。認識するというのは、特定の基質を、特定の位置、配向に捕まえるということである。認識した基質に対してだけ（選択的）、しかも特定の部位に対してだけ（特異的）反応を起こすため、原料を精製する必要もなければ、保護基を用いる必要もないのである。そして、反応が終わると生成物を放出する。

酵素が基質をどのように認識しているか、具体的な例をみてみよう。カルボキシペプチダーゼAはポリペプチドのC末端のペプチド結合を加水分解する酵素である³⁾。図1に基質と結合した様子を模式的に示した。基質のペプチドを認識するのにさまざまな非共有結合性の分子間相互作用が用いられていることが見てとれる。疎水結合によって酵素のポケットと基質のヒドロキシフェニル基が、静電相互作用によって、アルギニン145とカルボキシル基が、水素結合によって、チロシン248とアミドおよびアミノプロトンが、そして配位結合によって亜鉛とカルボニルが相互作用している。このように多点で認識することによって、強く、決まった配向で基質を捕える。これが酵素反応における選択性、特異性発現のメカニズムである。

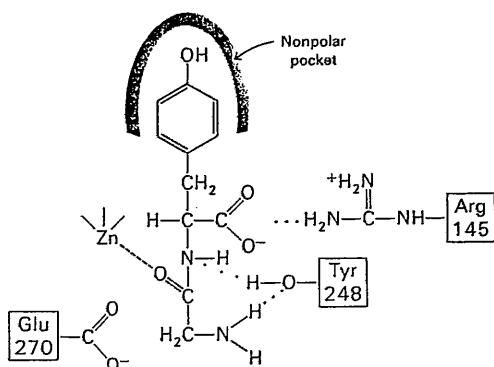


図1³⁾ グルシルチロニンがカルボキシペプチダーゼAに結合した模式図。

2.2. 光合成

今度は、色素 (S)、電子受容体 (アクセプター, A)、電子供与体 (ドナー, D) の入った溶液をガラスセルの中に入れて、光を当てると何が起こるか考えてみよう。光を吸収した色素は励起され、励起電子とホールが生じる。この励起状態の寿命の間に、アクセプターと出会えば、色素の電子がアクセプターに移り、 S^+ 、 A^- という状態になり、ドナーと出会えば、ドナーの電子が色素に移り、 D^+ 、 S^- となる。どちらとも出会わなければ、蛍光を出すか熱を出すかして、再び基底状態に戻る。 $S^+ \cdot A^-$ あるいは $D^+ \cdot S^-$ という状態は、エネルギーが高いので、電子が戻りやすく、大部分はもとの状態に戻ってしまうであろう。たまたまうまく、 S^+ とD、または、 S^- とAが出会えば、 $D^+ \cdot S \cdot A^-$ という、電荷分離状態が達成される。しかし、この状態もやはり電子が逆戻りしやすく、結局もとの状態に戻ってしまう。つまり、色素、アクセプター、ドナーの均一溶液に光を当てても、発熱や発光以外は何も起こらないというのが正解である。

ところで、植物の葉緑体膜や、細菌の細胞膜に存在する光合成反応中心は、やはり、色素、アクセプター、ドナーからなるシステムであるが、吸収した光子に対して、ほぼ100%の効率で電荷分離を実現し、後続の酸化還元反応のエネルギーを供給している^{4),5)}。逆電子移動が事実上起こらないのである。なぜこのようなことが可能であるかという、それは、色素や電子伝達体が、膜上で一定の位置、配向に固定されているためと考えられている。このような光、電子活性な分子を膜中に固定しているのは、やはり蛋白質であり、分子間相互作用によって、これらの分子を認識している。つまり、分子認識によって、いかに正確に色素や電子伝達体を特定の位置、配向に固定できるかに、光電荷分離の効率がかかっていると見える。

現在では、いくつかのバクテリアの光合成反応中心の構造、したがって、色素や電子伝達体の位置および配向が明らかにされている。紅色細菌 *Rb. sphaeroides* の光合成反応中心の構造を図2に示す⁶⁾。この図は、色素類の配置がわかりやすいように、それを認識している蛋白質は省いてある。この付近にアンテナ複合体とよばれるものが存在し、光はまずそのアンテナ色素を励起する。それから150fs以内に、バクテリオクロフィルa二量体 ($BChl_2$) にエネルギー移動が起こる。この励起電子は、2.8psでL側 (図の右側) のバクテリオフェオフィチンa (BPh_eL) に、200psでL側のユビキノン (UQ_A) に、さらに0.1msのうちにM側のユビキノン (UQ_B) に移動する。短時間のうちに正負の分離電荷 ($BChl_2^+ - UQ_A^-$) 間の距離は3.5nmに達し、逆電子移動はほとんど起こらない。このサイクルを二回行って、

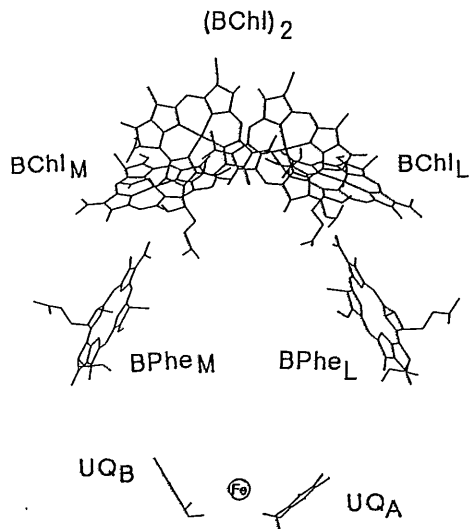


図 2⁶⁾ *Rb. sphaeroides* R26 の反応中心の色素類の構造と配置. BChl, バクテリオクロフィル a; BPhe, バクテリオフェオフィチン a; UQ, ユビキノン.

二電子還元された UQ_B は、蛋白質から離れてゆき、その電子を後続の電子受容体に渡す。このようにすべての機能性分子を静的に固定しているだけではなく、基質 (UQ_B) の取り込みや放出も行っている。

この反応中心蛋白質複合体が存在しているのは、脂質二分子膜上である。二分子膜は、分子認識ほど特異的ではないが、疎水性相互作用によって集まった、ある程度の構造性を持つ分子集合体である。このような分子集合体は、分子組織体が存在するためのマトリックスとしてやはり重要である。

3. 合成分子による分子認識

3.1. 研究の意義

分子認識をつかさどっている蛋白質などの分子の立体構造が明らかになると、分子認識のための十分条件が明らかになったことになる。しかし一般的には、必要条件は明らかではない。つまり、蛋白質の複雑な認識部位のうち、どの部分が認識にどの程度必要なのかといったことや、認識能（結合定数で表される）と、相互作用の種類、大きさ、方向の相関などは調べられない。生体分子を用いるかぎり、分子構造を自在に変化させて研究するのは困難であり、要因が複雑すぎる場合が多い。ここに、人工の合成分子による分子認識の研究の第一の意義がある。合成分子であれば、ホスト分子の性質、たとえば、分子のかたさ、あるいはドナー性などを順次変化させて、認識能との関連を定量的に探ることが可能である。このように、人工のモデル化合物によって、生体機能の解明を計ることが可能であり、実際多くの低分子ホスト

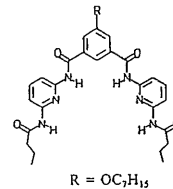
化合物が合成され、上に述べたような認識能と相互作用の関係が明らかにされている。

人工の分子認識化合物の合成は、このような生体機能の解明に有用であるが、それにまして面白いのは、生体の分子の原理を学ぶことにより設計した人工化合物に、生体分子を越える能力を持たせるという可能性が期待できることである。地球上の生命は、ある一つの進化の過程を経て、現在存在している。生物はこの進化の過程で、アミノ酸、核酸、脂質といった、多くの化合物の中のごく一部の限られた化合物だけを利用してきた。また生物は、生きるために必要な多くの仕事をバランス良くこなさねばならない。このような多くの制限のもとに発達してきたシステムであるがゆえに、特にある特定の機能に着目した場合、ベストなものとはなっていない可能性が高い。したがって、最初は生体の物真似から始まっても、生体を越える機能を持つ分子（たとえば人工酵素）、さらにそういう分子をシステムとして組み合わせた分子システム（たとえば、人工光合成）などができる可能性があるということである。

3.2. 遷移状態の認識による触媒

合成分子による分子認識の研究は、特に最近非常に例が多いが、ここでは、生体系の解説に対応させて、人工の分子認識系での触媒反応、光電子移動に関連した最近の研究例をそれぞれ一つずつ紹介する。

酵素が反応の出発物質や生成物よりもその反応の遷移状態と強く結合し、安定化することが知られている。したがって、遷移状態を強く認識するホスト化合物を合成すれば、反応を促進するはずである。このような考えに基づいて、Hamilton らは化合物 1 を合成した⁷⁾。彼ら



は生物学的に重要なリン酸転移反応のモデル反応として、塩化ホスホロジアミドの加アミノ分解反応を取り上げた。この反応の反応中間体は平面三角形構造をとることから、1 と反応中間体は図 3 のような相補的水素結合を形成し、反応を促進するであろうと考えられた。実際、1 存在下で反応は、酵素同様のミカエリス-メンテン式に従い、基質を認識して反応を加速することが明らかになった。まだまだ天然の酵素に比較して、性能ははるかに劣るが、遷移状態の認識、安定化という酵素反応の原理を人工系で再現できたことは、人工酵素の開発へ向けて、明るい一歩を踏み出したということだろう。

3.3. 分子認識系における光電子移動

光電子移動が、光合成の重要な初期課程であり、色素

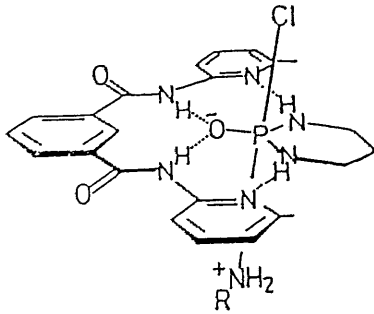


図 3⁷⁾ 1 と遷移状態の基質との錯体の推定構造.

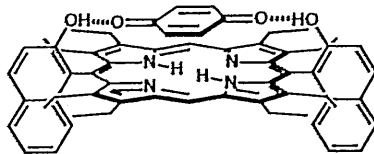
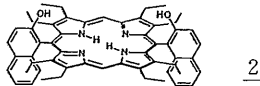


図 4⁹⁾ ポルフィリンを含むホストと電子受容体(p-ベンゾキノン)の錯体.

および電子伝達体の位置、配向がその速度、効率を支配していることを前に述べた。このような分子間の位置、配向の影響を系統的に調べるのは、合成化学的アプローチの最も得意とするところである。これまでに位置、配向を共有結合によって固定したさまざまな色素—電子伝達体複合体が合成され、電子移動速度および効率が測定されている⁸⁾。最近、分子認識系での光電子移動の研究がいくつか現れはじめた⁸⁾。共有結合によるアプローチでは一つの合成した分子について、一つの情報しか得られないのに対し、分子認識系では、一つの合成したホストについて、たとえばゲストを系統的に変えることによってその数だけの情報が得られるという利点がある。

青山らは、ナフトール残基を持つポルフィリン 2 を合成した⁹⁾。これは図 4 に示すように、2 点水素結合に



よって p-キノロン類を認識する。この超分子種を含む溶液に光照射してポルフィリンを励起したところ、非常に効率よく (ほぼ100%) キノンに電子移動が起こることが確かめられた。このポルフィリンを含むホストは、p-キノロンであれば置換基によらず認識することができるので、一連のキノロン (16種) に対しての電子移動が一挙に調べられた。光電子移動の研究において、分子認識によるアプローチの有用性を示した例ということができる。

3.4. 新規なサンドイッチ型ホスト分子の開発

図 5 に示すようなサンドイッチ型ホスト分子は、ゲストをぐるりと取り囲む環状化合物 (非常に例が多い) に

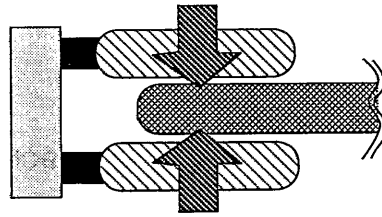


図 5 片側をスペーサーでつないだ、サンドイッチ型ホスト化合物.

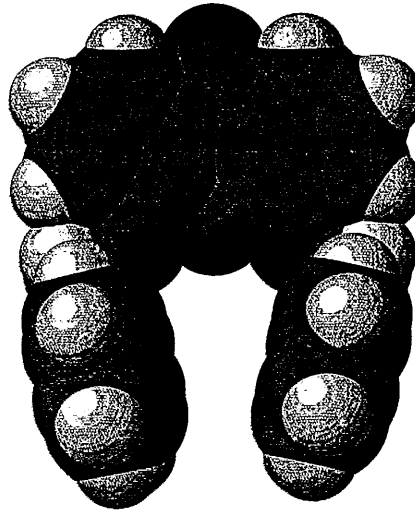
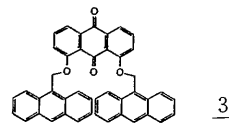


図 6 MOPAC の PM3 法を用いて求めた 3 の最適化構造.

比べいくつかの利点を持っている。まず、図でいえば右側が開いているので、無限に大きなゲストであったとしても認識できることがある¹⁰⁾。したがって、DNA などの高分子にしても、インターカレートすることによって、ホストとして働くことができるはずである。また一般的には、環状化合物よりも、比較的容易に合成ができ、色々な誘導体化が行いやすい。

二つの認識部位が協同的に働くには、スペーサーによってこの二つの相対位置、配向をある程度固定する必要があるであろう。このような考えに基づき、われわれは二つのアントラセンがアントラキノンをスペーサーとして結合した 1,8-ジアントリメトキシアントラキン (DAMAQ, 3) を合成した¹¹⁾。この分子の、MOPAC



の PM3 パラメータ¹²⁾を用いて最適化した立体構造を図 6 に示す。二つのアントラセンが溝を作っているようすがわかる。各種スペクトルの測定より、分子内アントラ

セン間の相互作用はほとんどないこと、また、環電流効果(後述)によるアントラセンプロトンのケミカルシフト変化も比較的小さいことからこの構造は支持される。

アントラセンなどの電子供与体が、ニトロフルオレンンなどの電子受容体と電荷移動相互作用をすることはよく知られているが、DAMAQはモノアントリル体と比較してトリニトロフルオレンン(TNF)との錯形成が、30倍以上強いことが明らかになった。図7にニトロフルオレンン類と混合したときに現われる電荷移動吸収帯を示す。この電荷移動吸収を用いて滴定し、錯形成定数を求めた結果、TNFとは $2.89 \times 10^2 \text{M}^{-1}$ 、テトラ置換体とは $2.2 \times 10^3 \text{M}^{-1}$ であった。これに対しモノアントリル体とTNFとの錯形成定数は10以下であった。

このようにサンドイッチ型ジアントリル誘導体の錯形成定数が大きいのはニトロフルオレンン類が、溝の中に入り込むことによって、二つのアントラセンと同時に相互作用するため、つまりサンドイッチ構造をとるためであると考えられる。溶液中でこのような構造をとっていることを証明するため、錯形成による ^1H NMRのケミカルシフトの変化を求めた。図8にTNFについての結果を分子構造と共に示す。アントラセンのような芳香環に外部磁場が与えられると、環に沿って電流が流れ(環電流)、その周りの磁場が変化する。この変化の大きさは、量子化学的に計算でき^{13),14)}、芳香環に対する相対的位置で一義的に決まる量であり、ケミカルシフトの変化量で表される。図9に、DAMAQのアントリル部のモデルとしてメチルアントラセンから、芳香環の面が完全に重なったときの距離である3.4Å離れた平面上でのシフトの大きさを示した。この結果から明らかなように、TNFプロトンのシフトの大きさは、接触面積が最大になるように重なったとしても、一つのアントラセンでは説明できない量であり、したがって、この電荷移動錯体はTNFが二つのアントラセンの間に入ったサンドイッチ型の構造であることが証明された。

また、このように二つの電子供与体をスペーサーで結

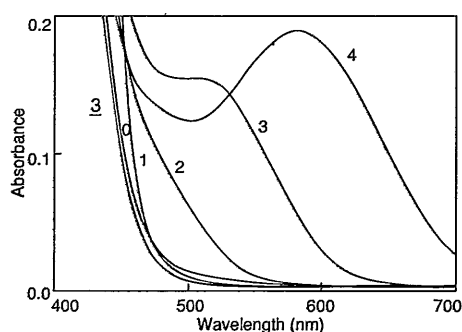


図7 3とニトロフルオレンンによる電荷移動吸収帯。図中の数字はフルオレンン分子中のニトロ基の数。

ぶことで、供与体と受容体が交互に積み重なった高次構造の形成が著しく促進されることを示唆する実験結果も得られている。これは分子認識に基づいて、マクロな構造、性質を制御するという観点^{2),15),16)}から興味深い。

この比較的シンプルな分子3について得られた知見と、サンドイッチ型であることの特徴をもとに次のような展開を現在検討中である。まず、3が平面分子をはさみ込むこと、サンドイッチ型の利点である高分子を認識できることを考えると、DNAビスインターカレータとしての可能性に興味もたれる。実際天然には3と似た形をもつキノキサリンと呼ばれるDNAインターカレータが存在する。ただこの場合は水溶性である必要があり、3のままでは使えないので、現在水溶性の誘導体を合成中

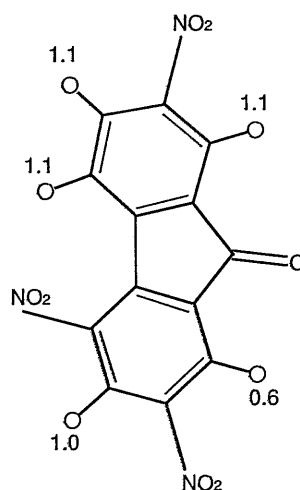


図8 トリニトロフルオレンンの錯形成による ^1H NMRの高磁場シフトの大きさ(ppm)。

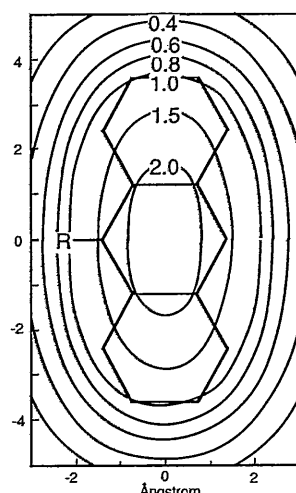


図9 量子化学的な環電流理論により計算したメチルアントラセンから3.4Å離れた平面での高磁場シフトの大きさ(ppm)。図8と同縮尺。

である。

また、3は電子受容体を認識するのであるが、このことは基質の酸化還元状態に敏感であることを意味する。すなわち酸化状態にある基質は認識するが、還元状態にある基質は認識しない。これは光合成反応中心のキノンの結合部位と同じ性質であり、光電子移動反応過程に、サンドイッチ型分子を用いることを検討中である。

その他、分子認識に関連して、糖と金属の特異的相互作用^{17),18)}を利用した。糖質認識分子の開発や、金属錯体^{18),19)}を用いた陰イオンの選択的能動輸送、また光活性な分子および分子集合体を用いたアミノ酸の能動輸送などの研究を行っている。これらについては時を改めて紹介したい。

4. お わ り に

酵素は、基質を認識して、選択的、特異的に反応を触媒することを述べた。また機能分子が、膜蛋白質によって認識され、一定の位置、配向に固定されることが光合成に必須であることを述べた。そしてこれらの酵素や光電子移動に対応する人工系での研究例と、あわせてわれわれの研究を紹介した。

この人工系での分子認識は今後どのような方向に進むであろうか。現在、多点認識することによってより大きな結合定数、より大きな選択性を持ったホスト化合物が合成されている。また、認識にとどまらず、プラスαの機能を持ったホスト化合物も多くある。分子を認識すると色(吸収、発光波長)が変わるとか、光によって、認識のオン・オフを制御するものなどをわれわれも検討中である。さらに最近では、分子認識によって、高次構造を形成させたり^{2),15),16)}、自己複製する分子²⁰⁾まで現われた。このような単独のホスト化合物はますます精密さを増して、高機能性分子が新たに合成されていくであろう。そして、人工レセプターとしてセンサーに、人工酵素として触媒に応用されていくだろう。

もっと大きな目標ではあるが、認識によって高度に組織化された配置をもつ機能性分子群(分子システム)により、エネルギー変換や情報処理などを効率よく行えないうか(図10)。現在の太陽電池、電子計算機などは、いずれも電子の流れを利用したシステムである。これに対し、生体は分子をメディエータとして利用し、その分子構造の認識や変換(化学反応)によりエネルギー変換や情報処理を行っている。生体システムは、驚くほど高効率に、そして超精密に働いているが、前に述べたように、特に特定の機能に注目したときに、これが最良のものであるとは限らないのであるから、よりベストに近いシステムが人工的に構築できるかも知れない。人

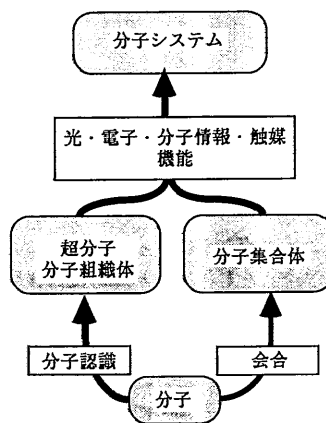


図10 分子システム概念。

間の手でどこまで分子の潜在能力を引き出せるか、興味の尽きないところであり、われわれも、分子システムへの研究の展開に寄与したいと考えている。

(1992年7月10日受理)

参 考 文 献

- 1) 小宮山真, 荒木孝二, 分子認識と生体機能(1989), 浅倉書店.
- 2) J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **27**, 89 (1988); **29**, 1304 (1990).
- 3) L. Stryer, *Biochemistry*, 2nd ed. (1981), W. H. Freeman.
- 4) 小林正美, 渡辺正, *生産研究*, **41**, 159 (1989).
- 5) J. R. Norris, M. Schiffer, *Chem. Eng. News*, **68** (31), 22 (1990).
- 6) C. H. Chang, D. M. Tiede, J. Tang, J. R. Norris, M. Schiffer, *FEBS Lett.*, **205**, 82 (1986).
- 7) P. Tecilla, S. K. Chang, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 9586 (1990).
- 8) M. R. Wasielewski, *Chem. Rev.*, **92**, 435 (1992).
- 9) Y. Aoyama, M. Asakawa, Y. Matsui, H. Ogoshi, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 6233 (1991).
- 10) S. C. Zimmerman, C. M. VanZyl, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 7894 (1987).
- 11) J. Otsuki, Dissertation (1991).
- 12) J. J. P. Stewart, *J. Compt. Chem.*, **10**, 209; 221 (1989).
- 13) R. McWeeny, *Molec. Phys.*, **1**, 311 (1958).
- 14) C. W. Haigh, R. B. Mallion, *Molec. Phys.*, **22**, 955 (1971).
- 15) 加藤隆史, *化学と工業*, **45**, 269 (1992).
- 16) R. Dagani, *Chem. Eng. News*, **69** (21), 24 (1991).
- 17) K. Araki, S. Shiraishi, *Chem. Lett.*, **1989**, 1323.
- 18) 荒木孝二, 白石振作, *生産研究*, **41**, 151 (1989).
- 19) 荒木孝二, 李成吉, 大月穰, 妹尾学, 日本化学会第63春期年会, 講演予稿集, 664 (1992).
- 20) J. I. Hong, Q. Feng, V. Rotello, J. Rebek Jr., *Science*, **255**, 848 (1992).