

分子はどのようにして結晶化するのだろうか？

中村 栄一(化学専攻 教授)
原野 幸治(化学専攻 助教)

有機分子の結晶化は、生体現象や工業プロセスのみならず日常生活においても観測される現象である。しかし、ひとつの分子がマクロな結晶へと成長していく過程は、分子レベルのスケールでは未解明であった。今回われわれは、物質表面に化学結合したひとつの有機分子の上に集まったたくさんの分子のうち、わずかに10億分の1の分子が突如として結晶へと成長していく過程を観測した。この結果は、結晶成長の基本原理に関わるだけでなく、有機太陽電池の高性能化や医薬品の薬効向上といった技術課題の解決につながると期待される。

過飽和溶液中で物質の表面から結晶が生成する現象は身近に見られるが、生体現象や工業プロセスとも深く関わっている。たとえば、尿酸の結晶化が引き起こす痛風のように、分子の結晶化が関与する疾患が知られている。しかし、これまでは小さな分子が表面で結晶を形成する過程を観察する手法がなく、分子スケールでの結晶化のメカニズムは未解明であった。

今回、われわれの研究グループでは、分子スケールの精度で指定した固体表面の反応箇所に結晶化のタネとなる有機分子一分子を結合し、そのタネ分子から大きな結晶が成長する過程を直接観測した。その結果、タネ分子一分子を起点として、およそ10の16乗個程度の分子が結晶へと成長する様子を初めて明らかにした。

結晶が生成する過程を観察するために、直径およそ100ナノメートル(1000万分の1メートル)のナノ炭素材料であるアミノカーボンナノホーンの表面に、Y字型をした有機分子(タネ分子)をまばらに結合させた。Y字型をした有機分子(Y分子)の過飽和溶液にこの試料を浸漬して結晶化を試みたところ、数日の間にカーボンナノホーンの表面からY分子の結晶が選択的に成長した。つまり、タネ分子がY分子の結晶化を仲介す

る役割を果たしていた。

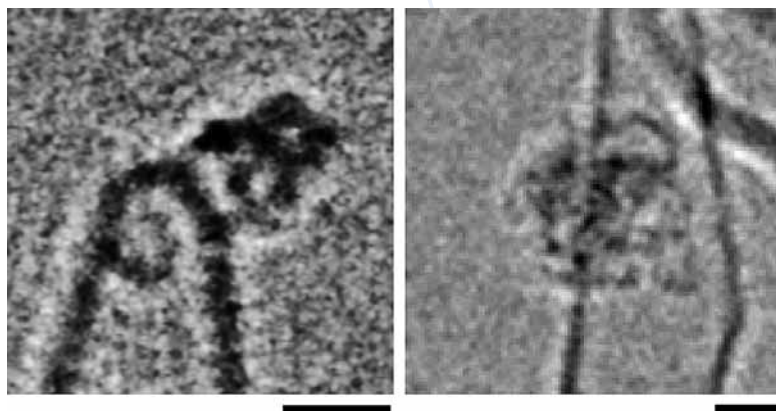
結晶化後のカーボンナノホーンの先端を単分子実時間電子顕微鏡(SMRT-TEM)によりひとつひとつ観察することで、タネ分子が大きな結晶へと成長する途中の分子集合体の構造およびこれらの集合体が結晶へと成長する確率を明らかにした。通常、結晶では分子は規則正しい周期構造をもつが、その前駆体である集合体がランダムな構造をとること、そして、その集合体のうち数千万から数十億分の1というごく一部のみが結晶へ成長することが初めて実験的に示された。この割合は、フラスコ内の集合体の時々刻々と変化する構造が、たまたま規則的な構造をとった瞬間に結晶核となり結晶成長するという、核形成の確率そのものである。実際に今回の実験では、10の19乗個の分子から生成した結晶は千個程度とひじょうに少なかった。これは、食塩水を皿の上でゆっくりと乾燥させるとほんの少ない数の結晶が生成するという日常体験とも符合する。

物質の性質は、物質を形成する分子の性質および分子集合体である結晶の性質の両方で決まるため、結晶の形や性質を制御することは新材料の創製のために欠かせない技術である。

本手法を用いてさまざまな分子の結晶化機構を明らかにすることで、望みの形や性質をもった結晶を自在に作製することができ、有機太陽電池などの有機電子デバイスや医薬品の設計・製造をより効率的に達成できると期待される。

本成果は産業技術総合研究所ナノチューブ応用研究センターの末永和知上席研究員、同研究センターカーボン計測評価チーム越野雅至研究員ら、およびパリ市立工業物理化学大学院大学のL.ライブラー(Ludwik Leibler)教授との共同研究で得られたものであり、K. Harano *et al.*, *Nature Materials* 11, 877 (2012) に掲載された。

(2012年9月13日プレスリリース)



分子はどのようにして結晶になるのか？(左)3分子からなる集合体のSMRT-TEM像。(右)およそ15分子からなる集合体のSMRT-TEM像。これら集合体形成が核形成の前段階であり、集合体のごく一部(およそ数千万から数十億分の1)のみが結晶へと成長する。各図下の横線は1ナノメートル(10億分の1メートル)。

遺伝性骨疾患の発症メカニズムの一端を解明

加藤 一希 (生物化学専攻 博士課程1年)
 濡木 理 (生物化学専攻 教授)

◆◆◆ Enpp1 タンパク質はピロリン酸を産生することで、過剰な骨形成を抑える役割を担っており、Enpp1 の遺伝子変異は重篤な骨疾患を引き起こすことが知られていた。しかし、Enpp1 の変異が骨疾患を引き起こすメカニズムに関してはほとんど不明であった。今回われわれは生化学的解析と X 線結晶構造解析をおこない、Enpp1 の遺伝子変異によって引き起こされる骨疾患の発症メカニズムを明らかにした。本研究の成果は、Enpp1 が関与する骨疾患の病態のさらなる理解や骨疾患をターゲットとした創薬の基盤となることが期待される。

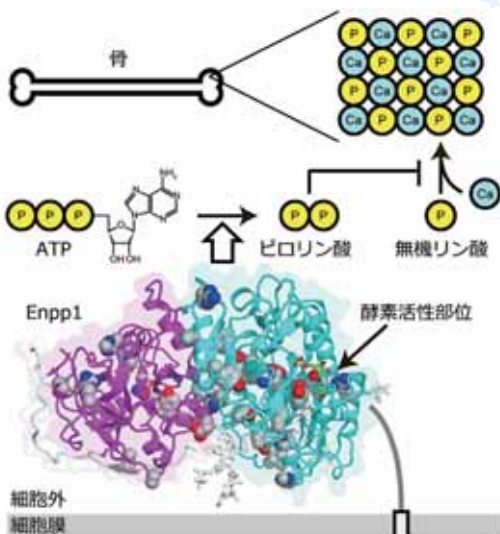
◆◆◆ 骨はカルシウムイオンと無機リン酸が結合してできるハイドロキシアパタイトを核として形成され、骨の形成はカルシウムイオン、無機リン酸、および、ピロリン酸の濃度のバランスによってコントロールされている (図)。カルシウムイオンと無機リン酸は骨形成を促進するいっぽうで、無機リン酸が2つ連なった構造のピロリン酸は骨形成を抑制する。Enpp1 タンパク質はヌクレオチド^(注)を加水分解しピロリン酸を産生することで過剰な骨形成を抑える役割をもつ。Enpp1 の遺伝子に変異が入ると幼児全身動脈石灰化や後縦靭帯骨化症といった重篤な骨疾患につながるということが知られている。しかし、Enpp1 がどのようにヌクレオチドからピロリン酸を産生し、また Enpp1 の変異がどのように骨疾患の発症に関わっているかということについてはほとんど分かっていなかった。そこでわれ

われは、生化学的解析、および、X 線結晶構造解析によってこれらの問題を解明することを試みた。

まずわれわれは Enpp1 タンパク質を用いて、その性質を詳細に調べた。その結果、Enpp1 はアデノシンをもつヌクレオチド三リン酸 (ATP) を最も効率よく加水分解し、ピロリン酸を産生することが明らかとなった。さらに、X 線結晶構造解析により、Enpp1 とヌクレオチドの複合体の立体構造を調べたところ、ヌクレオチドの加水分解がおこなわれる活性部位は、ATP を特異的に認識するような構造をしていた (図)。これらの結果から、Enpp1 が細胞外に豊富に存在する ATP を加水分解し、ピロリン酸を効率良く産生する分子機構が明らかとなった。また骨疾患と関連する遺伝子変異は、Enpp1 のアミノ酸残基を別のアミノ酸に置き換えてしまうことで、Enpp1 の立体構造を不安定化させることがわかった (図)。すなわち、これらの遺伝子変異が起きると Enpp1 は正しい立体構造をとることができなくなり、ピロリン酸の産生活性が低下し、骨疾患の発症に至ると考えられた。

大規模な遺伝子解析によって Enpp1 の遺伝子変異が骨疾患や糖尿病を引き起こすことは 10 年以上前から知られていたものの、Enpp1 の遺伝子変異が病態につながる分子機構はほとんど分かっていなかった。本研究により、Enpp1 が骨形成に関わる分子機構、および、Enpp1 の遺伝子変異が骨疾患と関連する分子機構が初めて明らかとなった。今回得られた知見は、Enpp1 が関与する疾患の治療薬の創薬基盤となることが期待される。本研究は K. Kato *et al.*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 16876 (2012) に掲載された。

(2012 年 10 月 1 日プレスリリース)



骨の形成と Enpp1 の立体構造。骨は細胞外に存在するカルシウムイオンと無機リン酸によって形成されるが、Enpp1 は ATP を加水分解してピロリン酸を産生し、骨の形成を抑制する。ピロリン酸の産生をおこなう触媒ドメイン (青色) を他のドメイン (紫色) が支えており、Enpp1 の活性部位はアデノシン特異的な相互作用によって ATP を認識していた。骨疾患と関連するアミノ酸残基 (灰色) は Enpp1 の構造を安定化しており、これらの残基に変異が導入されると Enpp1 の構造がくずれてしまうと考えられる。

注) ヌクレオチドは遺伝子の構成成分であるのに加え、エネルギー代謝やシグナル伝達など生体内でさまざまな役割をもつ。ヌクレオチド三リン酸はリン酸基を3つもったヌクレオチドのことを指し、Enpp1 はこのうち2つのリン酸基をピロリン酸として分解する。