

6-5 生命・錯体分子科学研究領域

生体分子機能研究部門

青野重利(教授)(2002年5月1日着任)

A-1) 専門領域：生物無機化学

A-2) 研究課題：

- a) ヘム含有型気体分子センサータンパク質の構造と機能に関する研究
- b) ヘムをシグナル分子とする新規な転写調節因子の構造と機能に関する研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) の酸素に対する走化性 (Aerotaxis) 制御系において酸素センサーとして機能するシグナルトランスデューサータンパク質である Aer2 タンパク質が、ヘムを活性中心とする新規な酸素センサータンパク質であることを見出した。Aer2 タンパク質では、分子中に存在する PAS ドメインがセンサードメインとして機能しており、PAS ドメイン中にヘムが含まれていることが分かった。ヘム含有 PAS ドメインを有するセンサータンパク質は、これまでにいくつか報告されている。代表的なものとして、FixL, EcDOS などがある。これらのヘム含有 PAS ドメインと Aer2 の PAS ドメインのアミノ酸配列を比較すると、Aer2 のアミノ酸配列中で、FixL, EcDOS においてヘム近位側軸配位子として機能している His に対応する位置に His (His234) が保存されている。His234 を Ala に置換した H234A 変異体は、ヘムをほとんど含まないアポ体として発現することが分かった。これらの結果より、Aer2 では His234 がヘム近位側軸配位子として機能していると考えられる。共鳴ラマン分光法を用いて Aer2 のヘム近傍構造の解析を行い、ヘムに配位した酸素あるいは一酸化炭素と相互作用するアミノ酸残基の同定を行った。
- b) 乳酸菌 (*Lactococcus lactis*) はヘム生合成系を欠損しているが、外部からヘム分子を取込むことにより酸素呼吸により生育可能である。しかし、必要量以上に取り込まれたヘム分子は、活性酸素産生などにより細胞毒性を示すため、細胞内のヘム濃度は厳密な制御を受けている。本年度の研究において、YgfC タンパク質が乳酸菌細胞内のヘム濃度制御に重要な役割を果たしていることを明らかにした。YgfC は、ヘムをシグナル分子 (エフェクター分子) とする転写調節因子であり、その DNA 結合活性がヘムの有無により制御されていることを明らかにした。ヘムを含まないアポ型 YgfC は、DNA 結合活性を有しており、リプレッサーとして機能していると考えられる。一方、ヘムが結合することにより、YgfC は DNA 結合活性を失うことが分かった。

B-1) 学術論文

H. SAWAI, S. YOSHIOKA, T. UCHIDA, M. HYODO, Y. HAYAKAWA, K. ISHIMORI and S. AONO, "Molecular Oxygen Regulates the Enzymatic Activity of a Heme-Containing Diguanylate Cyclase (HemDGC) for the Synthesis of Cyclic Di-GMP," *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **1804**, 166–172 (2010).

H. NAKAJIMA, N. TAKATANI, K. YOSHIMURA, M. ITO, S. AONO, Y. TAKAHASHI and Y. WATANABE, "The Role of the Fe-S Cluster in the Sensory Domain of Nitrogenase Transcriptional Activator VnfA from *Azotobacter vinelandii*," *FEBS J.* **277**, 817–832 (2010).

B-4) 招待講演

S. AONO, "A new oxygen sensor protein adopting a heme-containing PAS domain as a sensor for aerotaxis control," Pacificchem 2010, Honolulu (U.S.A.), December 2010.

S. AONO, "Trap of the Michaelis Complex of a Novel Heme Enzyme, Aldox Dehydrogenase," 6th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-6), New Mexico (U.S.A.), July 2010.

澤井仁美, 杉本宏, 加藤康夫, 浅野泰久, 城宜嗣, 青野重利, 「ヘム蛋白質の新規な構造と機能: アルドキシム脱水酵素の活性制御機構」日本蛋白質科学会2010年度年会, 札幌, 2010年6月.

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

触媒学会生体関連触媒研究会世話人 (2002-).

日本化学会生体機能関連化学部会幹事 (2007-).

日本化学会東海支部常任幹事 (2009-2010).

学会の組織委員等

第14回国際生物無機化学会議組織委員会総務委員長 (2009).

Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations 組織委員 (2008-2010).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員 (2005-2007).

日本学術振興会国際事業委員会書面審査員 (2005-2007).

日本学術振興会科学研究費委員会専門委員 (2010-).

学会誌編集委員

J. Biol. Inorg. Chem., Editorial Advisory Board (2002-2004).

Biosensors, Editorial Board (2010-).

B-10) 競争的資金

科研費特定領域研究(公募研究)「一酸化炭素をエフェクターとする転写調節因子の一酸化炭素応答およびDNA認識機構」青野重利 (1998年-2000年).

科研費基盤研究(C)「シグナルセンサーとしてのヘムを有する転写調節因子の構造と機能に関する研究」青野重利 (2000年-2001年).

科研費特定領域研究(計画研究)「一酸化炭素センサーとして機能する転写調節因子CooAの構造と機能」青野重利 (2000年-2004年).

科研費基盤研究(B)「ヘムを活性中心とする気体分子センサータンパク質の構造と機能」青野重利 (2002年-2003年).

科研費萌芽研究「気体分子センサータンパク質の構造機能解析とそのバイオ素子への応用」青野重利 (2002年-2003年).

東レ科学振興会科学技術研究助成金「気体分子による生体機能制御のケミカルバイオロジー」青野重利 (2003年).

科研費基盤研究(B)「生体機能制御に関与する気体分子センサータンパク質の構造と機能」青野重利 (2004年-2006年).

科研費若手研究(B)「新規な金属中心を有する酸素センサータンパク質の構造とシグナル伝達機構」吉岡資郎 (2005年-2006年).

科研費特定領域研究(公募研究)「タンパク質配位空間を利用した気体分子センシングとシグナル伝達」青野重利(2005年-2007年).

内藤記念科学振興財団内藤記念科学奨励金(研究助成)「気体分子による生体機能制御のケミカルバイオロジー」青野重利(2006年).

倉田記念日立科学技術財団倉田奨励金(研究助成)「一酸化炭素,一酸化窒素,酸素による遺伝子発現制御の分子機構」青野重利(2006年).

科研費若手研究(B)「新規な機能を有する酸素センサータンパク質における機能発現機構の解明」吉岡資郎(2007年-2008年).

科研費基盤研究(B)「気体分子を生理的エフェクターとする金属含有センサータンパク質の構造と機能」青野重利(2007年-2009年).

科研費特別研究員奨励費「ヘムを活性中心とする気体センサータンパク質の構造と機能の相関」澤井仁美(2007年-2009年).

科研費特定領域研究(公募研究)「ガス分子により駆動される新規なセンサータンパク質の機能発現機構」青野重利(2007年-2010年).

科研費若手研究(スタートアップ)「ヘム結晶化の分子機構解明」石川春人(2009年).

科研費研究活動スタート支援「ヘム含有PASドメインをセンサーとする新規なシグナル伝達タンパク質の構造と機能」澤井仁美(2010年-2011年).

C) 研究活動の課題と展望

近年,酸素(O₂),一酸化炭素(CO),一酸化窒素(NO)などの気体分子が生理的なエフェクター分子として機能し,遺伝子発現制御,走化性制御,セカンドメッセンジャー(cyclic di-GMP)の合成/分解制御など様々な生理機能制御に関与していることが報告され,気体分子の新規生理機能として大きな注目を集めている。当研究室では,これら気体分子が生理機能を発揮するために必要不可欠な気体分子センサータンパク質を研究対象とし,それらの構造機能相関ならびに機能発現機構を分子レベルで明らかにすることを目的として研究を進めている。今後は,構造生物学的な実験手法を活用し,これら気体分子センサータンパク質のより詳細な構造機能相関解明を進めるとともに,気体分子以外の小分子,金属イオン等のセンサータンパク質に関する研究にも取り組みたいと考えている。

桑 島 邦 博 (教授) (2007 年 1 月 1 日 着 任)

A-1) 専門領域：蛋白質科学，生物物理学，生体分子科学

A-2) 研究課題：

- a) α ラクトアルブミンのモルテン・グロビュール状態の特性と生物機能
- b) ヒト及びヤギ α ラクトアルブミン変異体の結晶構造解析
- c) OspA のフォールディング機構
- d) 大腸菌シャペロニン GroEL の ATP 結合の速度論
- e) GroEL/GroES 複合体の構造揺らぎと生物機能
- f) tRNA メチル基転移酵素の前定常状態速度論

A-3) 研究活動の概要と主な成果

- a) 腫瘍細胞選択的細胞死活性を持つ α ラクトアルブミン - 脂肪酸 (オレイン酸) 複合体は，蛋白質のフォールディング中間体 (モルテン・グロビュール) が脂肪酸と複合体を形成することによって新規な生物活性を発現する例であり，活性発現の分子機構に興味を持たれる。NMR を用いた昨年度までの研究で，ヤギとヒト α ラクトアルブミンのオレイン酸結合部位の同定に成功している。本年は，ヤギ α ラクトアルブミン - 脂肪酸複合体のオリゴマー形成を磁場勾配 NMR 法を用いて解析した。その結果，生理的条件下では複合体のモノマーと 10 量体程度のオリゴマーが共存していた。
- b) 大腸菌中で発現した組換え体 α ラクトアルブミンは乳より調製した真性体よりも著しく不安定であり，不安定化の分子機構に興味を持たれる。そこで，本年は，ヤギ α ラクトアルブミン N 末端残基欠失変異体 (E1M) と組み換え型ヒト α ラクトアルブミンの結晶構造を，それぞれ 1.60 Å, 1.81 Å の分解能で決定した。E1M の立体構造は真性体ヤギ α ラクトアルブミンの立体構造とほぼ一致していた。一方，組み換え型ヒト α ラクトアルブミンの立体構造は，N 末端領域のみが真性体とは顕著に異なっていた。昨年度までのヒト α ラクトアルブミン変異体 (K1M) の結果も含めて，ヤギおよびヒト α ラクトアルブミン組換え体は，いずれも，N 末端への Met 残基付加によって，N 末端域に局在化した立体構造変化が起こる，このような立体構造変化が蛋白質を著しく不安定化させる，N 末端残基欠失変異体 (E1M と K1M) では Met 残基付加によって N 末端の位置が真性体の位置に戻るため，立体構造も真性体の構造に戻り，安定性も回復することが分かった。
- c) ボレリア菌由来 Outer Surface Protein A (OspA) は N 末端ドメインと C 末端ドメイン間に単層 β シート領域を持つ特徴的な双ドメイン蛋白質であり， β シートそのものの物理化学的特性を調べる上で有用なモデルである。OspA のフォールディング機構を明らかにするため，尿素による変性状態からの巻き戻り反応をストップフロー法により調査している。昨年のストップフロー蛍光スペクトルによる解析に引き続き ストップフロー円二色性 (CD) を用いた解析を行った。巻き戻り反応に伴う CD 変化は 2 つの指数関数で表され，N 末端ドメインのみが形成した経路上の中間体を経由する，三状態の巻き戻り過程であることが明らかとなった。
- d) 大腸菌のシャペロニン GroEL は代表的な分子シャペロンであり 二重リング構造を持つ 14 量体の超分子複合体である。GroEL は ATP-Mg²⁺ との結合に伴って協同的な構造転移 (アロステリック転移) を示し，この転移がその機能発現にとって重要である。GroEL にトリプトファン残基を導入した変異体 (Y485W) の蛍光スペクトルを利用して，その ATP-Mg²⁺ 結合とアロステリック転移の速度論的な研究を行っている。本年は，蛍光ストップフロー法を用いて Y485W の

ATP-Mg²⁺ 結合過程を測定した。K⁺ 非存在下で、ATP-Mg²⁺ の結合に伴う蛍光強度変化が観察された。この反応は二分子反応として良く表され、結合と解離の反応速度定数を決定することが出来た。これらの速度定数から求められた結合定数は、等温滴定型熱量計により決定した結合定数と一致した。結合速度定数のアイリングプロットから求めた活性化エンタルピーは 14–15 kcal/mol と十分大きいので、ATP-Mg²⁺ の GroEL への結合は、拡散律速的な遭遇複合体形成の後、高エネルギーの遷移状態を通して進行することが分かった。

- e) シャペロン複合体 GroEL/GroES の構造揺らぎと機能発現との関係を明らかにするために水素 / 重水素 (H/D) 交換二次元 NMR を用いた研究を行っている。本年は GroES 単独での H/D 交換反応を TROSY-NMR 法を用いて追跡した。結果、モバイルループ領域の大きな構造揺らぎが観察された。しかし、交換速度が速いため、DMSO 停止 H/D 交換二次元 NMR 法による測定結果と合わせて解析する必要があり、現在、その測定を進めている。
- f) tRNA (Gm18) メチル基転移酵素 (TrmH) は、S アデノシルメチオニンから tRNA の G18 へのメチル基転移を触媒する。酵素反応速度論、ゲルシフトアッセイ、さまざまな tRNA^{Phē} 変異体を用いた阻害実験などから、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* の TrmH によるグアニン塩基認識部位の柔軟性や、認識部位の原子団に関する知見が得られていた。酵素による基質認識の分子機構をさらに明らかにするため、ストップフロー蛍光スペクトルを用いて、前定常状態における酵素反応の速度論的解析を行った。その結果、TrmH と tRNA との結合反応は少なくとも 3 段階より成り、最初の 2 分子結合反応の後、2 段の 1 分子反応的な誘導適合 (induced-fit) 過程の起こることが分かった。

B-1) 学術論文

T. KANZAKI, S. USHIOKU, A. NAKAGAWA, T. OKA, K. TAKAHASHI, T. NAKAMURA, K. KUWAJIMA, A. YAMAGISHI and M. YOYODA, “Adaptation of a Hyperthermophilic Group II Chaperonin to Relatively Moderate Temperatures,” *Protein Eng., Des. Sel.* **23**, 393–402 (2010).

T. NAKAMURA, K. MAKABE, K. TOMOYORI, K. MAKI, A. MUKAIYAMA and K. KUWAJIMA, “Different Folding Pathways Taken by Highly Homologous Proteins, Goat α -Lactalbumin and Canine Milk Lysozyme,” *J. Mol. Biol.* **396**, 1361–1378 (2010).

A. OCHI, K. MAKABE, K. KUWAJIMA and H. HORI, “Flexible Recognition of the tRNA G18 Methylation Target Site by TrmH Methyltransferase through First Binding and Induced Fit Processes,” *J. Biol. Chem.* **285**, 9018–9029 (2010).

B-3) 総説, 著書

中村敬, 真壁幸樹, 桑島邦博, 「何がタンパク質のフォールディング経路を決めるのか?」*MedicalBio* 10月別冊「揺らぎと生体機能」寺嶋正秀監修, オーム社, pp. 49–54 (2010).

B-4) 招待講演

K. KUWAJIMA, “Hydrogen-exchange kinetics of the *Escherichia coli* chaperonin complex,” 2nd Japan–Korea Seminar on Biomolecular Science—Experiments and Simulations (Asian Core Program by JSPS), Symposium Hall, Nagoya University, December 2009.

K. MAKABE, “Role of the Main-Chain Hydrogen Bonding in β -Sheet Register,” 2nd Japan–Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations (Asian Core Program by JSPS), Symposium Hall, Nagoya University, December 2009.

T. NAKAMURA, “The molten globule state and its biological function in α -lactalbumin,” 2nd Japan–Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations (Asian Core Program by JSPS), Symposium Hall, Nagoya University, December 2009.

J. CHEN, “A Potassium Switch of ATP-Induced GroEL Conformational Changes,” 2nd Japan–Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations (Asian Core Program by JSPS), Symposium Hall, Nagoya University, December 2009.

K. KUWAJIMA, “Molecular mechanisms of protein folding,” 2010 Annual Meeting of Asian CORE Program “Frontiers of Materials, Photo-, and Theoretical Molecular Sciences,” Institute of Atomic and Molecular Sciences, Academia Sinica, Taipei (Taiwan), February–March 2010.

K. KUWAJIMA, “Is the Folding Pathway Conserved in Homologous Proteins?” Bit Life Science’s 3rd Annual Protein and Peptide Conference “After a Solution of the Machines of Life,” Beijing International Convention Center, Beijing (China), March 2010.

桑島邦博, 「蛋白質フォールディング問題とバイオサイエンス」蛋白質研 - 統合バイオ共同セミナー, 大阪大学蛋白質研究所, 2010年4月.

K. KUWAJIMA, “Identification of fatty-acid binding site in the anti-tumor complex of α -lactalbumin by 920-MHz NMR spectroscopy,” IPR Seminar “Cooperation in Protein Science between Asian and Pacific Countries,” the Institute for Protein Research, Osaka University, June 2010.

桑島邦博, 「蛋白質フォールディング経路の速度論的理解」2010年日本物理学会秋季大会シンポジウム「揺らぎが決める生体分子の構造形成と機能発現」大阪府立大学・中百舌鳥キャンパス, 2010年9月.

K. KUWAJIMA, “Identification of fatty-acid binding site in the anti-tumor complex of α -lactalbumin by 920-MHz NMR spectroscopy,” The 10th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Korea Institute for Advanced Study (KIAS), Seoul (Korea), September–October 2010.

J. CHEN, “Alpha-crystallin domain assembly and GroEL dynamics,” Workshop on Recent Advances in Protein Folding and Molecular Chaperones, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing (China), October 2010.

K. KUWAJIMA, “Molecular Mechanisms of Protein Folding,” The Overseas Sokendai Lecture in Bangkok FY2010 & The Inaugural CU-IMS Joint Symposium, Chulalongkorn University, Bangkok (Thailand), October 2010.

B-6) 受賞, 表彰

眞壁幸樹, 2009年度日本蛋白質科学会若手奨励賞 (2009).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本蛋白質科学会会長 (2010–).

日本蛋白質科学会副会長 (2008–2009).

日本生物物理学会中部支部長 (2009–).

日本蛋白質科学会理事 (2001.4–2005.3).

日本生物物理学会運営委員 (1992–1993, 1999–2000).

The Protein Society, Executive Council (2005.8–2007.7).

日本生化学会評議員 (2005–).

学会の組織委員等

第24回谷口国際シンポジウム“ Old and New Views of Protein Folding, ”木更津(かずさアカデミアパーク)世話人 (1999).

The 1st International Conference on Biomedical Spectroscopy: From Molecule to Men, Cardiff (U.K.), 組織委員 (2002).

The 1st Pasific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama (Japan), 組織委員 (2004).

KIAS Conference on Protein Structure and Function, Seoul (Korea), 組織委員 (2001–).

日本生物物理学会第45回年会, 横浜(パシフィコ横浜) 年会長 (2007).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会科学研究費委員会専門委員 (2009, 2010).

文部科学省科学研究費審査部会専門委員会委員 (2002, 2004, 2009).

JST 若手個人研究推進事業(CREST)領域アドバイザー (2001–2005).

JST 戦略的創造研究推進事業評価委員 (2004, 2005).

学会誌編集委員

Folding & Design, Editorial Board (1996–1998).

Biochimica et Biophysica Acta, Editorial Board (1998–2003).

J. Biochem. (Tokyo), Editorial Board (1997–2002).

Protein Science, Editorial Board (2001–2006).

Proteins: Structure, Function & Bioinformatics, Editorial Board (1993–).

J. Mol. Biol., Associate Editor (2004–).

BIOPHYSICS, Associate Editor (2005–).

Spectroscopy—Biomedical Applications, Editorial Board (2002–).

競争的資金等の領域長等

特定領域研究「水と生体分子が織り成す生命現象の化学」領域代表者 (2003–2007).

その他

総合研究大学院大学物理科学研究科長 (2008.4–2010.3).

大阪大学蛋白質研究所外部評価委員 (2000, 2007).

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(B), 「高圧温度ジャンプ法と計算機シミュレーションによる蛋白質フォールディング研究」桑島邦博 (2000年–2002年).

科研費基盤研究(C)(企画調査)「蛋白質フォールディング研究の企画調査」桑島邦博 (2001年).

科研費特定領域研究「蛋白質一生」(公募研究)「大腸菌シャペロニンの機能発現の速度論」桑島邦博 (2002年–2003年).

科研費特定領域研究「ゲノム情報科学」(公募研究)「蛋白質フォールディングの物理化学的解析」桑島邦博 (2002年).

科研費特定領域研究「水と生体分子」(計画研究(2))「蛋白質フォールディング機構の物理化学的解明」桑島邦博 (2003年–2007年).

科研費特定領域研究「水と生体分子」(計画研究(1))「水と生体分子が織り成す生命現象の化学に関する研究の総括」桑島邦博 (2003年–2007年).

科研費基盤研究(B),「シャペロニンの機能発現の速度論的解析」桑島邦博(2005年-2007年).

科研費特定領域研究(成果取りまとめ)「水と生体分子」,「水と生体分子が織り成す生命現象の化学に関する研究の総括」桑島邦博(2008年).

科研費基盤研究(B),「シャペロニン GroEL の第二の ATP 結合部位とその機能的役割」桑島邦博(2008年-2010年).

科研費新学術領域「揺らぎと生体機能」(計画研究)「シャペロニンの構造揺らぎとフォールディング介助機能」桑島邦博(2008年-).

科研費若手研究(スタートアップ)「蛋白質デザインによる自己組織化ナノ繊維形成過程の解明」真壁幸樹(2008年-2009年).

科研費基盤研究(S) 分担(代表 東北大学大学院 熊谷泉)「ナノ世界のインターフェースとしてのタンパク質工学的デザイン学」真壁幸樹(2010年-).

アステラス病態代謝研究会,「蛋白質工学的なアプローチによるアミロイドの基本骨格構造形成の物理化学的基盤の解明」真壁幸樹(2010年-2011年).

C) 研究活動の課題と展望

蛋白質のフォールディング問題は物理化学としても興味深い,生命科学や医学とも深い関わりを持っている。特に,フォールディング中間体であるモルテン・グロビュール状態の α ラクトアルブミンが脂肪酸(オレイン酸)と複合体を形成すると抗腫瘍活性を発現するのは興味深い現象である。現在までの研究から,われわれはヤギ α ラクトアルブミン-オレイン酸複合体(GAMLET)とヒト α ラクトアルブミン-オレイン酸複合体(HAMLET)を二次元NMRを用いて調べ,それぞれの蛋白質でオレイン酸結合部位を同定することに成功している。今後は,水素/重水素(H/D)交換二次元NMR法の手法を用いて,GAMLETとHAMLETの複合体の構造揺らぎを調べ,構造揺らぎと複合体の抗腫瘍活性との関連性について調べる。複合体の状態でのH/D交換反応を行なった後,DMSOで反応を停止し,ペプチドアミドプロトンの交換挙動を二次元NMRを用いて追跡する。このようにして得られた複合体の蛋白質部分のH/D交換プロフィールを,遊離した α ラクトアルブミンのモルテン・グロビュール状態のH/D交換プロフィールと比較し,両者で構造揺らぎに大きな違いがあるか否か,またあるとすれば,それは複合体の抗腫瘍活性に関係があるかないかなどを検討する。また,もし蛋白質部分が「運び屋」として働いているだけならば,他のモルテン・グロビュール状態を示す蛋白質,例えば,アポミオグロビン,シトクロームc,カルボニックアンヒドラーゼなどでも,オレイン酸と複合体を形成することにより同様の抗腫瘍活性が発現される可能性がある。培養腫瘍細胞を用いた実験によりこれらの複合体の抗腫瘍活性についても調べる。

既に,DMSO中のGroESの94個のアミドプロトン中70個のNMRシグナルの帰属を終え,遊離7量体GroESのH/D交換プロフィールを得ている。また,新たな知見として,GroELへのATP結合の二分子反応速度過程の定量的解析を終えている。今後,さまざまな機能的に異なるGroEL/GroES複合体のアミドプロトンのH/D交換反応を二次元NMRを用いて追跡するとともに,ATP結合により誘導されるGroELのアロステリック転移の速度論的解析を進める。シャペロニン複合体の機能発現にその構造揺らぎがどのように関わっているかを明らかにする。

加藤 晃一 (教授) (2008年4月1日着任)

A-1) 専門領域：構造生物学，タンパク質科学，糖鎖生物学，NMR 分光学

A-2) 研究課題：

- a) NMR 分光法をはじめとする物理化学的手法による複合糖質およびタンパク質の構造・ダイナミクス・相互作用の解析
- b) 生化学・分子生物学的アプローチによる複合糖質およびタンパク質の機能解析
- c) ナノテクノロジーと構造生物学の融合による生命分子科学研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 天然変性タンパク質を対象に超高磁場 NMR 解析を行った。 α -synuclein は生理的条件下で立体構造を形成していない、天然変性タンパク質の1つであり、本タンパク質の会合体はパーキンソン病や他のシヌクレイン病に特徴的な filamentous inclusion の主要な構成成分となっていることが知られている。ポリフェノール化合物はこの会合を数 mM オーダーの IC₅₀ 値で阻害できることが報告されており、そのような条件下では α -synuclein は非毒性で可溶性のオリゴマーを形成することが示されていた。しかしながら、これらポリフェノール化合物と α -synuclein のオリゴマー形成の詳細なメカニズムはこれまで不明であった。そこで私たちはポリフェノールおよびその類縁体である exifone, gossypetin, dopamine 存在下で α -synuclein 2 量体を調製して、阻害剤が結合した α -synuclein のオリゴマー構造を 920MHz NMR 装置を用いて解析し、これらの化合物による阻害メカニズムを明らかにした。

一方、オステオポンチン (OPN) は細胞外マトリクスタンパク質として細胞接着性を介した生体機能調節を行っている天然変性タンパク質である。本タンパク質は分子の中央部にインテグリン結合配列を有しており、その C 末端側近傍にトロンピンによる切断される領域を有している。この切断をうけるとインテグリンに対する結合活性が上昇する。我々は常磁性効果を利用した NMR 解析により OPN が溶液中で C 末端部が N 末端側に空間的に近接したコンフォメーションを取り得ることを明らかとした。OPN がトロンピンによる切断をうけると、このような分子内相互作用が消失し、その結果、インテグリンが OPN 上の結合部位に対してアプローチし易くなるものと考察される。

- b) ERGIC-53 と MCFD2 は複合体を形成することによって糖タンパク質である血液凝固第 V・第 VIII 因子の細胞内輸送を司る分子装置として機能している。これら 2 つのタンパク質の変異による細胞内輸送障害は先天性の止血異常症である血液凝固第 V 第 VIII 因子欠乏症の病因となる。ERGIC-53 は糖鎖認識ドメイン (CRD) を有する I 型膜タンパク質であり、MCFD2 はカルモジュリン様の EF ハンド構造を有する Ca²⁺ 結合型タンパク質である。我々は、ERGIC-53-CRD と MCFD2 の複合体による血液凝固因子の輸送機構を明らかとするため、X線結晶構造解析、超遠心解析、NMR 解析を駆使してこれら 2 つのタンパク質の複合体の 3 次元構造を決定した。興味深いことに、MCFD2 上の ERGIC-53-CRD との相互作用部位は EF ハンド構造を有するタンパク質に共通するリガンド結合部位とは異なっていた。さらに、ERGIC-53-CRD が結合することによって MCFD2 に、特にその EF ハンドタンパク質に共通するリガンド結合部位において立体構造変化が誘起されることも判明した。これらのことから MCFD2 は ERGIC-53 と結合することにより構造変化が誘起され、血液凝固因子に対する結合能を新たに獲得する可能性が示唆された。また、これまでに報告されている MCFD2 の遺伝子変異は、ERGIC-53 との相互作用部位に相当する部位に集中していることから、両タンパク質の相互作用が損なわれることが、血液凝固第 V 第 VIII 因子欠乏症をもたらしていることが示された。

また、4 つのユビキチンが全て Lys48 を介したイソペプチド結合により連結された環状テトラユビキチンの結晶構造を明らかにすることに成功した。

c) 糖鎖およびその集合体を対象に、NMR を利用して立体構造情報を取得する方法を開発した。*N,N'*-ジアセチルキトビオースの還元末端に EDTA 誘導体を導入し、それに種々のランタニドイオンを配位することによって糖鎖の NMR 信号に誘起される擬コンタクトシフトを観測した。それによって糖鎖の 3 次元構造モデルを構築することが可能となった。本方法の応用範囲をより複雑な糖鎖の構造解析に拡張するために、マンノース 8 残基と *N*-アセチルグルコサミン 2 残基からなる高マンノース型糖鎖について試料の大量調製法を検討した。糖鎖のプロセッシング経路にかかわる酵素をコードする遺伝子 (*Och1*, *Mnn1*, *Mnn4*) を欠損した酵母変異体を、¹³C で標識したグルコースを唯一の炭素源とする培地中で培養することにより、目的の高マンノース型糖鎖を ¹³C 標識体として大量に調製することに成功した。一方、超高磁場 NMR を用いてガングリオシドクラスターとアミロイド β (Aβ) の相互作用を解析した。Lyso-GM1 ミセルに由来する NMR 信号の帰属を完了し、核オーバーハウザー効果もたらす距離情報に基づいて、その糖鎖部分の 3 次元構造を決定した。さらに、スピラベル化した Aβ を用いて、lyso-GM1 ミセルの NMR 信号に誘起される常磁性効果を観測した。これにより両者の相互作用様式を明らかにすることができた。

B-1) 学術論文

E. SAKATA, T. SATOH, S. YAMAMOTO, Y. YAMAGUCHI, M. YAGI-UTSUMI, E. KURIMOTO, K. TANAKA, S. WAKATSUKI and K. KATO, “Crystal Structure of UbcH5b~Ubiquitin Intermediate: Insight into the Formation of the Self-Assembled E2~Ub Conjugates,” *Structure* **18**, 138–147 (2010).

Y. YAMAGUCHI, M. MASUDA, H. SASAKAWA, T. NONAKA, S. HANASHIMA, S.-I. HISANAGA, K. KATO and M. HASEGAWA, “Characterization of Inhibitor-Bound α-Synuclein Dimer: Role of α-Synuclein N-Terminal Region in Dimerization and Inhibitor Binding,” *J. Mol. Biol.* **395**, 445–456 (2010).

H. YAGI, M. YAMAMOTO, S.-Y. YU, N. TAKAHASHI, K.-H. KHOO, Y. C. LEE and K. KATO, “*N*-Glycosylation Profiling of Turtle Egg Yolk: Expression of Galabiose Structure,” *Carbohydr. Res.* **345**, 442–448 (2010).

O. SERVE, Y. KAMIYA, A. MAENO, M. NAKANO, C. MURAKAMI, H. SASAKAWA, Y. YAMAGUCHI, T. HARADA, E. KURIMOTO, M. YAGI-UTSUMI, T. IGUCHI, K. INABA, J. KIKUCHI, O. ASAMI, T. KAJINO, T. OKA, M. NAKASAKO and K. KATO, “Redox-Dependent Domain Rearrangement of Protein Disulfide Isomerase Coupled with Exposure of Its Substrate-Binding Hydrophobic Surface,” *J. Mol. Biol.* **396**, 361–374 (2010).

M. YAGI-UTSUMI, T. KAMEDA, Y. YAMAGUCHI and K. KATO, “NMR Characterization of the Interactions between Lyso-GM1 Aqueous Micelles and Amyloid β,” *FEBS Lett.* **584**, 831–836 (2010).

T. DOJIMA, T. NISHINA, T. KATO, T. UNO, H. YAGI, K. KATO, H. UEDA and E. Y. PARK, “Improved Secretion of Molecular Chaperone-Assisted Human IgG in Silkworm, and No Alterations in Their *N*-Linked Glycan Structures,” *Biotechnol. Prog.* **26**, 232–238 (2010).

M. NISHIO, Y. KAMIYA, T. MIZUSHIMA, S. WAKATSUKI, H. SASAKAWA, K. YAMAMOTO, S. UCHIYAMA, M. NODA, A. R. MCKAY, K. FUKUI, H.-P. HAURI and K. KATO, “Structural Basis for the Cooperative Interplay between the Two Causative Gene Products of Combined Factor V and Factor VIII Deficiency,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107**, 4034–4039 (2010).

N. TAKEMAE, R. RUTTANAPUMMA, S. PARCHARIYANON, S. YONEYAMA, T. HAYASHI, H. HIRAMATSU, N. SRIWILALJAROEN, Y. UCHIDA, S. KONDO, H. YAGI, K. KATO, Y. SUZUKI and T. SAITO, “Alteration in Receptor-Binding Properties of Swine Influenza Viruses of the H1 Subtype after Isolation in Embryonated Chicken Eggs,” *J. Gen. Virol.* **91**, 938–948 (2010).

- Y. YAMAGUCHI, S. HANASHIMA, H. YAGI, Y. TAKAHASHI, H. SASAKAWA, E. KURIMOTO, T. IGUCHI, S. KON, T. UEDE and K. KATO**, “NMR Characterization of Intramolecular Interaction of Osteopontin, an Intrinsically Disordered Protein with Cryptic Integrin-Binding Motifs,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **393**, 487–4918 (2010).
- S. SATO, O. MOROHARA, D. FUJITA, Y. YAMAGUCHI, K. KATO and M. FUJITA**, “Parallel-Stacked Aromatic Hosts for Orienting Small Molecules in a Magnetic Field: Induced Residual Dipolar Coupling by Encapsulation,” *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 3670–3671 (2010).
- Y. WADA, A. DELL, S. M. HASLAM, B. TISSOT, K. CANIS, P. AZADI, M. BÄCKSTRÖM, C. E. COSTELLO, G. C. HANSSON, Y. HIKI, M. ISHIHARA, H. ITO, K. KAKEHI, N. KARLSSON, C. E. HAYES, K. KATO, N. KAWASAKI, K.-H. KHOO, K. KOBAYASHI, D. KOLARICH, A. KONDO, C. LEBRILLA, M. NAKANO, H. NARIMATSU, J. NOVAK, M. V. NOVOTNY, E. OHNO, N. H. PACKER, E. PALAIMA, M. B. RENFROW, M. TAJIRI, K. A. THOMSSON, H. YAGI, S.-Y. YU and N. TANIGUCHI**, “Comparison of Methods for Profiling *O*-Glycosylation: Human Proteome Organization Human Disease Glycomics/Proteome Initiative Multi-Institutional Study of IgA1,” *Mol. Cell Proteomics* **9**, 719–727 (2010).
- J. HOSEKI, H. SASAKAWA, Y. YAMAGUCHI, M. MAEDA, H. KUBOTA, K. KATO and K. NAGATA**, “Solution Structure and Dynamics of Mouse ARMET,” *FEBS Lett.* **584**, 1536–1542 (2010).
- C. A. SANDOVAL, F. BIE, A. MATSUOKA, Y. YAMAGUCHI, H. NAKA, Y. LI, K. KATO, N. UTSUMI, K. TUTSUMI, T. OHKUMA, K. MURATA and R. NOYORI**, “Chiral η^6 -Arene/*N*-Tosylethylenediamine–Ruthenium(II) Complexes: Solution Behavior and Catalytic Activity for Asymmetric Hydrogenation,” *Chem. –Asian J.* **5**, 806–816 (2010).
- N. HOSOKAWA, L. O. TREMBLAY, B. SLENO, Y. KAMIYA, I. WADA, K. NAGATA, K. KATO and A. HERSCOVICS**, “EDEMI Accelerates the Trimming of α 1,2-Linked Mannose on the C Branch of *N*-Glycans,” *Glycobiology* **20**, 567–575 (2010).
- S. KIM, Y. SAEKI, K. FUKUNAGA, A. SUZUKI, K. TAKAGI, T. YAMANE, K. TANAKA, T. MIZUSHIMA and K. KATO**, “Crystal Structure of Yeast Rpn14, a Chaperone of the 19 S Regulatory Particle of the Proteasome,” *J. Biol. Chem.* **285**, 15159–15166 (2010).
- H. YAGI, M. YANAGISAWA, K. KATO and R. K. YU**, “Lysosome-Associated Membrane Protein 1 Is a Major SSEA-1-Carrier Protein in Mouse Neural Stem Cells,” *Glycobiology* **20**, 976–981 (2010).
- K. MASUDA, Y. YAMAGUCHI, N. TAKAHASHI, R. JEFFERIS and K. KATO**, “Mutational Deglycosylation of the Fc Portion of Immunoglobulin G Causes *O*-Sulfation of Tyrosine Adjacently Preceding the Originally Glycosylated Site,” *FEBS Lett.* **584**, 3474–3479 (2010).
- M. NAKASAKO, A. MAENO, E. KURIMOTO, T. HARADA, Y. YAMAGUCHI, T. OKA, Y. TAKAYAMA, A. IWATA and K. KATO**, “Redox-Dependent Domain Rearrangement of Protein Disulfide Isomerase from a Thermophilic Fungus,” *Biochemistry* **49**, 6953–6962 (2010).
- T. SATOH, E. SAKATA, S. YAMAMOTO, Y. YAMAGUCHI, A. SUMIYOSHI, S. WAKATSUKI and K. KATO**, “Crystal Structure of Cyclic Lys48-Linked Tetraubiquitin,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **400**, 329–333 (2010).
- T. NAKAGAWA, S. TAKEISHI, A. KAMEYAMA, H. YAGI, T. YOSHIOKA, K. MORIWAKI, T. MASUDA, H. MATSUMOTO, K. KATO, H. NARIMATSU, N. TANIGUCHI and E. MIYOSHI**, “Glycomic Analyses of Glycoproteins in Bile and Serum During Rat Hepatocarcinogenesis,” *J. Proteome Res.* **9**, 4888–4896 (2010).

M. SUGIYAMA, E. KURIMOTO, H. SAHASHI, E. SAKATA, Y. MORIMOTO, K. ITOH, K. MORI, T. FUKUNAGA, Y. MINAMI and K. KATO, "SANS Investigation of Assembly State of Proteasome Activator 28 and the 20S Proteasome," *J. Phys.: Conf. Series* **247**, 012020 (2010).

H. YAGI, M. YANAGISAWA, Y. SUZUKI, Y. NAKATANI, T. ARIGA, K. KATO and R. K. YU, "HNK-1 Epitope-Carrying Tenascin-C Spliced Variant Regulates the Proliferation of Mouse Embryonic Neural Stem Cells," *J. Biol. Chem.* **285**, 37293–37301 (2010).

B-3) 総説, 著書

神谷由紀子, 加藤晃一, 「糖鎖によるタンパク質社会の秩序維持」*化学工業* **61**, 23–31 (2010).

N. HOSOKAWA, Y. KAMIYA and K. KATO, "The Role of MRH Domain-Containing Lectins in ERAD," *Glycobiology* **20**, 651–660 (2010).

K. KATO, Y. YAMAGUCHI and Y. ARATA, "Stable-Isotope-Assisted NMR Approaches to Glycoproteins Using Immunoglobulin G as a Model System," *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **56**, 346–359 (2010).

K. MATSUZAKI, K. KATO and K. YANAGISAWA, "A β Polymerization through Interaction with Membrane Gangliosides," *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* **1801**, 868–877 (2010).

Y. YAMAGUCHI and K. KATO, "Dynamics and Interactions of Glycoconjugates Probed by Stable-Isotope-Assisted NMR Spectroscopy," *Methods in Enzymology* **478**, 305–322 (2010).

N. HOSOKAWA, K. KATO and Y. KAMIYA, "Mannose 6-Phosphate Receptor Homology Domain-Containing Lectins in Mammalian Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation," *Methods in Enzymology* **480**, 181–197 (2010).

加藤晃一, 矢木真穂, 「神経変性疾患にかかわる天然変性タンパク質の分子構造ダイナミクス」*Medical Bio 別冊 揺らぎと生体機能* 寺嶋正秀編, オーム社, 32–37 (2010).

坂田絵理, 佐藤匡史, 山口芳樹, 若槻壮市, 加藤晃一, 「細胞の中の不要なタンパク質に目印をつける仕組み」*日本結晶学会誌* **52**, 255–261 (2010).

坂田絵理, 佐藤匡史, 山口芳樹, 若槻壮市, 加藤晃一, 「コヒキチン鎖伸長の構造的基盤」*PF NEWS* **3**, 20–24 (2010).

B-4) 招待講演

加藤晃一, 「タンパク質の細胞内品質管理における分子センシング機構」平成21年度「バイオ分子センサー」連携研究公開シンポジウム, 岡崎, 2010年1月.

加藤晃一, 山口拓実, 神谷由紀子, 「超高磁場NMR分光法による天然変性タンパク質および糖脂質クラスターの構造解析」自然科学研究機構分子科学研究所分子スケールナノサイエンスセンター運営委員会(第11回)岡崎, 2010年3月.

加藤晃一, 「抗体医薬の開発に向けた多次元HPLC法およびNMR法による糖鎖解析技術」抗体/バイオ医薬品開発に向けたタンパク質・糖鎖・抗体価の分析・測定, 東京, 2010年3月.

加藤晃一, 「複合糖質の構造・機能解析の体系的な研究戦略」蛋白研-統合バイオ合同セミナー, 大阪, 2010年4月.

西尾美穂, 神谷由紀子, 水島恒裕, 若槻壮市, 笹川拓昭, 山本一夫, 内山 進, 野田勝紀, A. R. McKay, 福井希一, H. P. Hauri, 加藤晃一, 「レクチンとEFハンドタンパク質の協働的相互作用による血液凝固因子の細胞内輸送の構造基盤」第10回日本蛋白質科学会年会, 札幌, 2010年6月.

加藤晃一, 神谷由紀子, 「真核細胞発現系を用いた糖タンパク質の安定同位体標識」第10回日本蛋白質科学会年会, 札幌, 2010年6月.

加藤晃一,「NMR を利用したタンパク質・複合糖質の揺らぎの検出とその機能関連の探査」新学術領域「揺らぎと生体機能」平成22年度合同班会議,加賀,2010年6月.

矢木真穂,加藤晃一,「ガングリオシドクラスターに結合したアミロイドβのNMR構造解析」平成22年度生理学研究所研究会 糖鎖機能研究会——分子レベルでの解明を目指して,岡崎,2010年7月.

K. KATO, “NMR characterization of the interactions between amyloid β and gangliosidic micelles,” Max Planck Institute for Biophysical Chemistry Seminar, Göttingen (Germany), July 2010.

K. KATO, “A systematic structural glycobiology by NMR in conjunction with X-ray crystallography and sugar library approaches,” The Chinese University of Hong Kong Seminar, Hong Kong (China), July 2010.

K. KATO, “A systematic structural glycobiology by NMR in conjunction with X-ray crystallography and sugar library approaches,” Hong Kong University Seminar, Hong Kong (China), July 2010.

K. KATO, “Structural Glycomics by NMR and Sugar Library Approaches,” WCU Special Seminar, Seoul (Korea), July 2010.

K. KATO, “A systematic approaches of structural glycobiology based on NMR and sugar library,” International Workshop on Glycan Structure Analysis of Therapeutic Recombinant Glycoproteins, Bucheon (Korea), July 2010.

加藤晃一,「超高磁場NMRによる複合糖質の動的構造・相互作用解析」大阪大学蛋白質研究所セミナー,吹田,2010年7月.

K. KATO, “NMR Characterization of Conformations, Dynamics, and Interactions of Glycoconjugates,” The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Tokyo, August 2010.

加藤晃一,「複合糖質の構造・機能解析」岡崎統合バイオサイエンスセンター・サマースクール,岡崎,2010年8月.

加藤晃一,「920MHz NMR装置を利用した複合糖質の構造・ダイナミクス・相互作用の解析」ナノネット機能別会合(分子物質合成・極限環境)岡崎,2010年9月.

加藤晃一,「複合糖質の体系的構造解析:NMRと糖鎖ライブラリーによるアプローチ」第59回高分子討論会,札幌,2010年9月.

K. KATO, “Structural and functional glycomics based on HPLC database, sugar library, and NMR spectroscopy,” BIT’s 8th Annual Congress of International Drug Discovery Science and Technology (IDDST2010), Beijing (China), October 2010.

K. KATO, “Structural and Functional Analyses of Post-Translationally Diversified Proteins,” The 1st Yosei-IMS Joint Workshop, Jeju (Korea), November 2010.

水島恒裕,加藤晃一,森本幸生,田中啓二,「プロテアソームの構造生物学」BMB2010,神戸,2010年12月.

K. KATO and T. MIZUSHIMA, “Structural views of the ubiquitin-proteasome system,” The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010), Honolulu (U.S.A.), December 2010.

B-6) 受賞,表彰

加藤晃一,日本薬学会奨励賞(2000).

神谷由紀子,特定領域研究「タンパク質の社会」全体班会議ポスター優秀賞(2008).

西尾美穂,第73回日本生化学会中部支部例会奨励賞(2009).

神谷由紀子,糖鎖科学名古屋拠点若手研究者奨励賞(2009).

矢木真穂,第74回日本生化学会中部支部例会奨励賞(2010).

西尾美穂,糖鎖科学名古屋拠点第8回「若手のカフォーラム」奨励賞(2010).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

- 日本バイオイメージング学会評議員 (1995-).
- 日本生化学学会評議員 (2002-).
- 日本糖質学会評議員 (2003-).
- 日本核磁気共鳴学会評議員 (2006-), 理事 (2008-2009).
- NPO バイオものづくり中部理事 (2008-).
- 日本蛋白質科学会理事 (2010-).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

- 日本学術振興会科学研究費委員会専門委員 (2009-).
- 日本学術振興会先端科学シンポジウム事業委員会 プランニング・グループ・メンバー (2009-).

学会誌編集委員

- Open Glycoscience*, Editorial board member (2008-).
- Glycoconjugate Journal*, Editorial board member (2009-).
- World Journal of Biological Chemistry*, Editorial board member (2010-).
- Journal of Glycomics & Lipidomics*, Editorial board member (2010-).

その他

- (株)グライエンス 科学技術顧問 (2004-2005).
- (株)グライエンス 取締役 (2005-).

B-8) 大学での講義, 客員

- お茶の水女子大学, 客員教授, 2006年6月-.
- 名古屋市立大学薬学部, 大学院薬学研究科, 特任教授, 2008年4月-.
- 名古屋市立大学薬学部, 「構造生物学」「薬学物理化学II」「生命薬科学入門」「薬学概論」「テーマ科目 薬と生命」「免疫学」「バイオインフォマティクス」「創薬科学・知的財産活用論」2010年.
- 名古屋市立大学大学院薬学研究科, 「創薬生命科学基礎II」「生命分子構造学特論」2010年.
- 理化学研究所, 客員研究員, 2009年4月-.

B-10) 競争的資金

- 武田科学振興財団薬学系研究奨励金, 「構造生物学的アプローチによる免疫系複合糖質の立体構造形成と分子認識機構の解析」加藤晃一 (2001年).
- 山田科学振興財団研究援助金, 「糖タンパク質の立体構造形成および分子認識機構の構造生物学的解析」加藤晃一 (2001年).
- 島津科学技術振興財団研究開発助成金, 「生体分子間相互作用および生体超分子の計測を指向したエレクトロスプレーイオン化質量分析装置の開発」加藤晃一 (2001年).
- 内藤記念科学振興財団研究助成金, 「多機能型シャペロン・カルレティキュリンの分子認識機構の解明」加藤晃一 (2001年).
- (財)病態代謝研究会研究助成金, 「神経変性疾患に関与する細胞内タンパク質品質管理システムの構造生物学的研究」加藤晃一 (2001年).

名古屋市立大学特別研究奨励費,「NMR を利用したオステオポンチンの分子構造解析」加藤晃一 (2001年).

科研費基盤研究(B),「免疫系で機能する複合糖質の立体構造形成と分子認識機構に関する構造生物学的研究」加藤晃一 (2001年-2002年).

(財)水谷糖質科学振興財団研究助成金,「NMR を利用した糖タンパク質の機能発現メカニズムの解析」加藤晃一 (2002年).

科研費特定領域研究「タンパク質の一生」,「タンパク質社会における糖鎖の機能解明を目指したNMR 構造生物学」加藤晃一 (2003年-2004年).

科研費特定領域研究「ゲノム情報科学」,「糖タンパク質の構造グライコミクスを展開するためのデータベース構築」加藤晃一 (2003年-2004年).

(財)科学技術交流財団,「糖鎖科学名古屋拠点研究会」加藤晃一 (2003年-2004年).

科学技術振興機構ブラザ育成研究調査,「糖鎖ライブラリーを活用したグライコミクス解析システムの開発」加藤晃一 (2004年).

経済産業省中部経済産業局地域新生コンソーシアム研究開発事業,「糖鎖ライブラリーを活用した新規マイクロアレーの開発」加藤晃一 (2004年-2005年)

特定非営利活動法人パイオものづくり中部,「糖鎖分科会」加藤晃一 (2005年-2006年).

科研費特定領域研究「グライコミクス」,「NMR を利用した構造グライコミクス」加藤晃一 (2005年-2006年).

科研費萌芽研究,「味覚修飾タンパク質クルクリンの機能発現メカニズムの解明と応用」加藤晃一 (2005年-2006年).

ノバルティス研究奨励金,「NMR 構造生物学によるパーキンソン病発症メカニズムの解明」加藤晃一 (2006年).

科研費基盤研究(B),「タンパク質分解における糖鎖修飾系とユビキチン修飾系のクロストークの構造的基盤」加藤晃一 (2006年-2007年).

科研費新学術領域研究「揺らぎが機能を定める生命分子の科学」,「NMR を利用したタンパク質および複合糖質の揺らぎの検出とその機能関連の探査」加藤晃一 (2008年-).

科研費基盤研究(B)「ポスト小胞体品質管理における細胞内レクチンの分子認識と超分子形成の構造基盤の解明」加藤晃一 (2009年-).

科研費若手研究(スタートアップ)「細胞内レクチンとCa 結合タンパク質との連携による生体機能発現の分子基盤の探究」神谷由紀子 (2009年-2010年).

科研費若手研究(スタートアップ)「オリゴ糖鎖ナノクラスターの精密構築と生体分子認識機構の解明」山口拓実 (2009年-).

科研費特定領域研究「タンパク質社会」(公募研究)「糖鎖認識を介したタンパク質社会の秩序維持機構の構造基盤の解明」, 神谷由紀子 (2010年-).

B-11) 産学連携

協和発酵キリン(株)抗体研究所,「ヒトIgG1 とヒトFc 受容体 IIIa との結合状態の構造解析」加藤晃一 (2010年).

味の素(株)ライフサイエンス研究所,「味覚変調蛋白質の立体構造形成と機能発現に関する研究」加藤晃一 (2010年).

(株)豊田中央研究所,「耐熱性カピプロテインジスルフィドイソメラーゼのNMRによる高次構造解析」加藤晃一 (2010年).

大陽日酸(株)「タンパク質の安定同位体標識技術の開発」加藤晃一 (2010年).

(株)グライエンス,取締役兼科学技術顧問として研究開発連携,加藤晃一 (2010年).

C) 研究活動の課題と展望

糖鎖が担う生命情報を解読するために、分子レベルの精密構造解析の一層の進展をはかるとともに、細胞・組織・個体レベルでの機能解析を推進する。酵母変異体を利用して、均一にあるいは選択的に安定同位体標識を施した高マンノース型糖鎖に常磁性プローブを導入して超高磁場NMR解析を行なうことにより、複雑な多分岐糖鎖の3次元構造をコンフォメーションの揺らぎも含めて解き明かす。特に、小胞体とゴルジ体間の糖タンパク質輸送にかかわる分子間の動的相互作用を原子レベルで解明し、血液凝固因子欠損症等の細胞内輸送機構の破綻が引き起こす疾患の発症機構の構造基盤を明らかにする。また、化学的に設計した糖鎖クラスター上でのA β の分子間相互作用および糖鎖間の相互作用をNMRを利用して捉え、神経変性疾患の分子基盤を理解することを目指す。さらに、神経系における糖鎖機能の解明のために、キシロース転移酵素の候補遺伝子をノックアウトしたマウスの系統的な表現型解析を実施する。このように、神経系における糖鎖機能のマイクロ-マクロの統合的理解を目指す。

藤 井 浩 (准教授) (1998年3月1日着任)

A-1) 専門領域：生物無機化学，物理化学

A-2) 研究課題：

- a) ヘム酵素反応中間体の機能発現の分子機構の研究
- b) Jacobsen 触媒の不斉誘起機構の研究
- c) シアンイオンを NMR プローブとしたヘムタンパク質の機能解明

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 酸化反応に関わる金属酵素の機能制御機構を解明するため，高酸化反応中間体のモデル錯体を合成し，電子構造と反応性の関わりを研究した。オキソ鉄4価ポルフィリン カチオンラジカル錯体は，チトクローム P450 の活性反応中間体として知られ，さまざまな炭化水素の水酸化反応を行う。シトクローム P450 によるアルカンの水酸化反応における水素原子のトンネル効果の作用機構を解明するため，オキソ鉄四価ポルフィリン - カチオンラジカル錯体を低温で合成し，ベンジル位に水素を持つ炭化水素の水酸化反応の反応過程を研究した。反応速度の温度依存性や H-D 同位体効果から，水素原子のトンネル効果について考察した。モデル錯体に結合する軸位の配位子を変化させることにより，モデル錯体の活性を変化させ水素原子トンネル効果への影響を研究した。また，異なる C-H 解離エネルギーをもつ炭化水素を用いて，C-H 結合エネルギーと水素原子トンネル効果に関わりを検討した。これらの実験から，水素原子トンネル効果を制御する因子を解明した。
- b) 不斉酸化能を有するマンガン3価サレン錯体の反応選択性の機構を研究した。エチレンジアミン部位に不斉を導入したマンガンサレン錯体は，Jacobsen 触媒として知られ，不斉エポキシ化反応を可能にする。我々は，Jacobsen 触媒がどのような機構で不斉エポキシ化反応を誘起しているのかを，活性反応中間体から研究を行ってきた。これまでの研究で，マンガンイオンが3価から4価に酸化されると，サレン骨格が不斉歪みを起こすこと，軸配位子の配位力の強さが不斉歪みを制御する因子であることを見出した。本年度は，エポキシ化反応の活性種と考えられているマンガンオキソ錯体の同定と反応性の解明に成功した。マンガン4価オキソ錯体を合成し，種々の分光法で同定することができた。マンガン4価オキソ錯体は，非常に容易にプロトン化を受けマンガン4価ヒドロキシ錯体を生成することを示した。これらオキソ錯体とヒドロキシ錯体の反応性を比較した結果，オキソ錯体が高い反応性を有することを見出すことができた。
- c) 金属酵素と強く結合するシアンイオンをプローブとした金属酵素の構造・機能測定法の開発を行った。我々はこれまで，ヘムタンパク質に結合したシアンイオンの ^{13}C ， ^{15}N NMR シグナルがヘム近傍の構造や水素結合ネットワークを検索する優れたプローブであることを明らかにした。この手法をペルオキシダーゼの変異体に適応した。ヘム近傍のアミノ酸を置換したさまざまな変異体を作成し，水素結合ネットワークと酵素機能の関わりを研究した。その結果，ヘムの軸位に配位するヒスチジン残基からの電子供与性効果と過酸化水素との反応により生成する活性種の生成速度が相関することを見出した。この相関がどのような機構で発現しているかを研究した結果，ヒスチジン残基からの電子供与性がヘム近傍の水分子とヘム鉄の結合の強さを変化させ，これが過酸化水素との反応速度を制御しているという新しい制御機構を提案することができた。

B-1) 学術論文

T. KURAHASHI, A. KIKUCHI, Y. SHIRO, M. HADA and H. FUJII, “Unique Property and Reactivity of High-Valent Manganese-Oxo versus Manganese-Hydroxo in the Salen Platform,” *Inorg. Chem.* **49**, 6664–6672 (2010).

H. ISHIMARU, H. FUJII and T. OGURA, “Resonance Raman Study of a High-Valent Fe=O Porphyrin Complex as a Model for Peroxidase Compound II,” *Chem. Lett.* **39**, 332–333 (2010).

S. NOZAWA, T. SATO, M. CHOLLET, K. ICHIYANAGI, A. TOMITA, H. FUJII, S. ADACHI and S. KOSHIHARA, “Direct Probing of Spin State Dynamics Coupled with Electronic and Structural Modifications by Picosecond Time-Resolved XAFS,” *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 61–63 (2010).

D. NONAKA, H. WARIISHI, K. G. WELINDER and . FUJII, “Paramagnetic ^{13}C and ^{15}N NMR Analyses of the Push- and Pull-Effects in Cytochrome *c* Peroxidase and *Coprinus cinereus* Peroxidase Variants: Functional Roles of Highly-Conserved Amino Acids around Heme,” *Biochemistry* **49**, 49–57 (2010).

B-4) 招待講演

H. FUJII and S. MOCHIZUKI, “Functional Role of Unique Heme d_1 in Nitrite Reduction by Heme-Containing Nitrite Reductase,” 60th Anniversary Conference on Coordination Chemistry, Osaka (Japan), September 2010.

T. KURAHASHI and H. FUJII, “Critical Factors for the Formation of a Chiral Conformation in Manganese Salen Complexes, Related to Enantioselective Epoxidation,” 60th Anniversary Conference on Coordination Chemistry, Osaka (Japan), September 2010.

藤井 浩, 「アキシャル位配位子による高原子価 salen マンガン錯体の電子構造と反応性の制御」日本化学会第4回関東支部大会, 筑波大学, 筑波, 2010年8月.

藤井 浩, 「酸化反応を触媒する金属酵素の反応中間体の電子構造」第4回生物物質科学フォーラム, 東京工業大学, 東京, 2010年5月.

H. FUJII and D. NONAKA, “ ^{13}C and ^{15}N NMR Spectroscopy of Heme-Bound Cyanide ($^{13}\text{C}^{15}\text{N}$) in Ferric Heme Peroxidases,” Japan–Korea Seminars on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Nagoya (Japan), December 2009.

B-8) 大学での講義, 客員

兵庫県立大学大学院生命理学研究科, 客員准教授, 2007年2月–.

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(B), 「高原子価オキソ金属錯体の反応性と反応選択性を制御する分子機構の解明」藤井 浩 (2010年–2013年).

科研費基盤研究(B), 「立体構造にもとづく基質結合サイトの再構築による酵素反応選択性の制御」藤井 浩 (2004年–2007年).

科研費基盤研究(B), 「単核非ヘム酵素反応中間体としての高酸化オキソ錯体の合成と反応性の研究」藤井 浩 (2002年–2004年).

科研費基盤研究(C), 「合成ヘムとミオグロビン変異体による亜硝酸還元酵素モデルの構築と反応機構の研究」藤井 浩 (2000年–2002年).

科研費特定領域研究「配位空間（公募研究）」金属酵素のナノ反応空間における基質の配向および反応選択性の制御」藤井 浩 (2005年–2006年).

大幸財団海外学術交流助成金、「第3回ポルフィリンとフタロシアニンに関する国際会議での研究発表」藤井 浩 (2004年).

内藤財団科学奨励金、「ヘムオキシゲナーゼによる位置特異的ヘム代謝機構の解明」藤井 浩 (2000年).

C) 研究活動の課題と展望

生体内の金属酵素の構造と機能の関わりを、酵素反応中間体の電子構造から研究している。金属酵素の機能をより深く理解するためには、反応中間体の電子状態だけでなく、それを取り囲むタンパク質の反応場の機能を解明することも重要であると考え。これまでの基礎研究で取得した知見や手法をさらに発展させて、酵素、タンパクのつくる反応場の特質と反応性の関係を解明していきたいと考える。また、これらの研究を通して得られた知見を基に、酵素機能変換法の新概念を確立できるよう研究を進めたいと考える。

生体分子情報研究部門

宇理須 恒 雄 (教授) (1992年5月1日着任)

A-1) 専門領域：電子シンクロトロン放射光光化学反応，ナノバイオエレクトロニクス

A-2) 研究課題：

- a) 生体材料の AFM，SIMS，赤外反射吸収分光 (BML-IRRAS) による評価
- b) 神経細胞ネットワーク素子開発と生体情報システムの分子科学

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 脂質二重膜 / 膜タンパク集積系は，細胞の基本的機能を支配する，脂質 - タンパクやタンパク - タンパク相互作用を調べる興味深い反応場と言える。この構造と機能の研究は分子科学の新分野であるとともに，上記の素子構造形成にも重要である。2010年度も引き続き，固体基板表面が人工細胞膜系に及ぼす影響を原子分子レベルで理解することを目的とし，SiO₂/Si 表面上および単原子ステップ TiO₂ 単結晶表面上での斜入射照明法による 1 分子追跡法を行った。斜入射照明法により，中性リン脂質であるフォスファチジルコリン (PC) の二重膜中での蛍光色素ラベル脂質の分子拡散を不透明な Si 基板上および高屈折率の TiO₂ 基板上でその場観察した。視野全体を通常のビデオレートで観察するための均一照明用の励起光路に加えて，励起光を試料位置で集光するための光路を装置中に加えることで最大 2000 fps (frames per second) の高速観察を実現した。これらの 2 つの照明系を用いることでミリ秒・100 nm オーダーから秒・μm オーダーまでの幅広い時間・空間スケールにおいて，脂質分子の拡散挙動を捉えることができるようになった。幅約 200 nm の単原子ステップピットを持つ TiO₂(100) 表面上では，ピット内での 100 nm オーダーの距離では脂質の拡散が速く，ピット間をまたいで移動する μm オーダーの距離では拡散係数が減少することを明らかにした。細胞膜内で起きている異常拡散現象を 基板表面ナノ構造を利用して人為的に誘起しうることが示された。
- b) 神経細胞ネットワーク素子の応用として，物理化学の観点から細胞核内反応を調べることに的をしぼって素子開発を進める方針とした。このような研究はこれまでほとんど調べられていない，そのためには，まず安定した測定のできる実用性の高い素子の開発が必須であると考え，2010 年は，超安定電極の開発，小型で集光性能の良いレーザープローブの開発，細胞の位置合わせの容易で確実なマイクロ流路の形成，上面にマイクロ流路，下面にピペット溶液溜めの構造を有するプラスチック基板作成のための，両面ホットエンボス技術の開発，微細貫通孔形成のための Deep X-ray Lithography 技術の開発を進め，これらの技術開発をほぼ完成し，4 チャンネル素子の作成を達成した。素子動作の確認を 2011 年 3 月末までに行う。

B-1) 学術論文

Z. G. SHANG, Y. LI MAO, R. TERO, T. HOSHINO, M. TANAKA and T. URISU, "Clustering Effects of GM1 and Formation Mechanisms of Interdigitated Liquid Disordered Domains in GM1/SM/CHOL-Supported Planar Bilayers on Mica Surface," *Chem. Phys. Lett.* **497**, 108–114 (2010).

T. C. HE, C. S. WANG, T. URISU, T. NAGAIRO, R. TERO and R. XIA, "The PDMS-Based Microfluidic Channel Fabricated by Synchrotron Radiation Stimulated Etching," *Opt. Express* **18**, 9733–9738 (2010).

Y. L. MAO, Z. G. SHANG, Y. IMAI, T. HOSHINO, R. TERO, M. TANAKA, N. YAMAMOTO, K. YANAGISAWA and T. URISU, "Surface-Induced Phase Separation of a Sphingomyelin/Cholesterol/Ganglioside GM1-Planar Bilayer on Mica Surfaces and Microdomain Molecular Conformation that Accelerate A β Oligomerization," *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* **1798**, 1090–1099 (2010).

T. Y. CHIANG, T. MAKIMURA, T. C. HE, S. TORII, T. YOSHIDA, R. TERO, C. S. WANG and T. URISU, "Synchrotron-Radiation-Stimulated Etching of Polydimethylsiloxane (PDMS) Using XeF₂ as a Reaction Gas," *J. Synchrotron Radiat.* **17**, 69–74 (2010).

S. TAKAKUSAGI, K. I. FUKUI, R. TERO, K. ASAKURA and Y. IWASAWA, "First Direct Visualization of Spillover Species Emitted from Pt Nanoparticles," *Langmuir* **26**, 16392–16396 (2010).

B-2) 国際会議のプロシーディングス

A. ANDO, M. A. SAYED, T. ASANO, R. TERO, K. KITANO, T. URISU and S. HAMAGUCHI, "Protein Patterning by Atmospheric-Pressure Plasmas," *J. Phys.: Conf. Series* **232**, 012019 (5 pages) (2010).

B-3) 総説, 著書

高田紀子, 水谷伸雄, 青山正樹, 鈴井光一, 宇理須恒雄, 「多チャンネル神経細胞ネットワーク素子の開発」 *Molecular Electronics and Bioelectronics*, **21**, 243–246 (2010).

B-4) 招待講演

T. URISU, "Development of *in vitro* Neural Network Device with Photo-Stimulations and Precise Nanofabrication Technologies," 先端ナノバイオフォーラム, 姫路キャスパールホール, 2010年11月.

T. URISU, "Development of Neural Network Functional Analysis Device based on the Multi-Channel Planar Patch Clamp Method," 4th International Symposium of Nanomedicine, Okazaki (Japan), November–December 2010.

手老龍吾, 「支持脂質二重膜内での微小構造の形成と分子拡散挙動への影響」 第48回日本生物物理学会年会, 東北大学, 仙台, 2010年10月.

手老龍吾, 「酸化物基板表面上の平面支持脂質二重膜内での分子拡散挙動のその場観察」 膜シンポジウム2010, 京都大学, 京都, 2010年11月.

B-5) 特許出願

特願 2010-204326, 「神経細胞機能解析素子およびイオンチャンネル電流の測定方法」 宇理須恒雄, 鈴井光一, 青山正樹, 高田紀子, 王 志宏, 宇野秀隆(大学共同利用機関法人自然科学研究機構) 2010年.

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

レーザー学会評議員 (1983–1985).

日本放射光学学会評議員 (1993–1994, 1997–1998, 2001–2002).

電気学会, 放射光励起プロセス技術調査専門委員会幹事 (1992–1994).

電気学会, 放射光による材料加工技術調査専門委員会委員長 (1994–1997).
大型放射光施設安全性検討委員会委員 (1993–2010).
東北大学電気通信研究所研究外部評価委員 (1995–).
日本工業技術振興協会, 放射光の半導体への応用技術研究委員会顧問委員 (1995–2000).
新機能素子研究開発協会, 新世紀素子等製造評価技術の予測委員会 / ハードフォトン技術研究部会委員 (1995).
姫路工業大学ニュースパル利用検討委員会委員 (1996–1998).
姫路工業大学ニュースパル新素材開発利用専門委員会委員 (1999–2000).
近畿通産局, 超次世代原子デバイスの自己形成技術に関する調査委員会委員 (1997–1998).
電気学会, 放射光・自由電子レーザプロセス技術調査専門委員会委員 (1997–1999).
放射線利用振興協会, 放射線利用技術指導研究員 (1997.11.18–20).
日本原子力研究所, 研究嘱託 (1998.4–2002.3).
科学技術庁, 「顕微光電子分光法による材料, デバイスの高度分析評価技術に関する調査」調査推進委員会委員 (1998–1998).
科学技術庁, 「顕微光電子分光法による材料, デバイスの高度分析評価技術に関する調査」研究推進委員会委員 (1999–2000).
日本原子力研究所, 博士研究員研究業績評価委員 (1998–1999).
佐賀県シンクロトン光応用研究施設整備推進委員会委員 (2000–2001).
科学技術振興調整費「顕微光電子分光法による材料・デバイスの高度分析評価技術に関する研究」研究推進委員 (1999–2002).
科学技術振興調整費「カーボンナノチューブエレクトロニクス研究」外部運営委員 (2001–2003).
日本学術振興会学術創生研究費書面審査委員 (2001).
科学技術交流財団「ナノ反応場とバイオエレクトロニクスインターフェイス制御研究会」座長 (2001.4–2003.3).
日本原子力研究所研究評価委員会, 光科学研究専門部会専門委員 (2002.11.1–2003.3.31).
電気学会「量子放射ビームを用いたナノ・バイオプロセッシング技術調査専門委員会」アドバイザー (2004.5–).
日本表面科学会評議員 (2003.4–).
日本放射光学会評議員 (2003.4–2006.12).
(財)放射線利用振興協会, 放射線利用技術指導研究員 (2006.3.28–29).
ナノ学会副会長 (2008.4–).
表面科学会ソフトナノテクノロジー部会会長 (2008.4–2010.3).
日本ナノメディシン交流協会会長 (2006.4–).

学会の組織委員等

マイクロプロセス国際会議論文委員 (1992–2010).
第1回光励起プロセスと応用国際会議論文委員 (1993).
VUV-11組織委員会, プログラム委員会委員 (1993–1995).
International Workshop on X-ray and Extreme Ultraviolet Lithography, 顧問委員 (1995–2000).
SRI97組織委員会プログラム委員会委員 (1995–1997).
SPIE's 23rd, 24th, 25th Annual International Symposium on Microlithography, 論文委員 (1997, 1998, 1999).

レーザ学会第19回年次大会プログラム委員 (1998–1999).
レーザ学会第23回年次大会プログラム委員 (2002–2003).
UK-JAPAN International Seminar, 組織委員長 (1999, 2000).
Pacifichem 2000, Symposium on Chemical Applications of Synchrotron Radiation, 組織委員 (2000).
MB-ITR2005, 2006, 2007, 組織委員長 (2005, 2006, 2007).
International Symposium on Nanomedicine 組織委員長 (2007, 2009).

学会誌編集委員

JJAP 特集論文特別編集委員 (1992–1993).
電気学会, 電子情報システム部門誌特集号編集委員 (1995–1996).
JJAP 特集論文特別編集委員 (1998).
Appl. Surf. Sci., 編集委員 (2001–2003).
e-Journal of Surface Science and Nanotechnology, Advisory Board (2003).
日本真空協会「真空」誌編集部会委員 (2004–2006).
日本表面科学会出版委員 (2005.6–2007.5).

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(B), 「放射光励起反応による新ナノ反応場の構築とSTMによる評価」宇理須恒雄 (2000年–2003年).
総合研究大学院大学, 共同研究, 「シリコン基板上への生体機能物質の集積——ナノバイオエレクトロニクスの構築——」宇理須恒雄 (2001年–2003年).
科研費特定領域研究(公募研究)「放射光赤外反射吸収分光による膜タンパク・脂質二重膜表面反応場の極微構造解析」宇理須恒雄 (2005年–2006年).
科研費特定領域研究(公募研究)「イオンチャンネルレコーディング固体素子の開発とペインプロテオーム時空間解析応用」宇理須恒雄 (2006年).
科研費特定領域研究(公募研究)「イオンチャンネルに着目したアルツハイマー発症初期過程の網羅的探索」宇理須恒雄 (2007年–2008年).
科研費基盤研究(A), 「イオンチャンネルバイオセンサーの単一神経細胞解析への応用」宇理須恒雄 (2007年–2010年).
科学技術振興機構CREST研究, 「光神経電子集積回路開発と機能解析応用」宇理須恒雄 (2009年10月–2015年3月).
(財)コスメトロジー研究振興財団第16回研究助成, 「二酸化チタン上に形成した脂質二重膜への表面特性の影響およびUV照射効果」手老龍吾 (2005年–2006年).
(財)花王芸術・科学財団平成18年度研究助成, 「固体表面機能を利用した平面脂質二重膜の物性制御とその評価」手老龍吾 (2006年–2007年).
科研費若手研究(B), 「固体表面機能を活用した脂質二重膜の構造・物性・非対称性制御とその評価」手老龍吾 (2006年–2008年).
科研費若手研究(A), 「固液界面の脂質二重膜に形成される非平衡・非対称ドメイン内部での分子挙動の解明」手老龍吾, (2009年–2010年).
科研費特定領域研究(公募研究)「外場が誘起する脂質二重膜の非平衡相分離挙動の解明」手老龍吾, (2009年–2010年).
科研費新学術領域研究(研究領域提案型)(公募研究)「脂質膜の過渡的相分離過程における構造・物性とその機構」手老龍吾, (2009年–2010年).

C) 研究活動の課題と展望

2001年よりシリコン表面への生体物質集積の研究を開始し、2007年度に、アルツハイマー病発症機構に関係してアミロイドペータ(A β)の凝集がガングリオシドGM1の分子構造および周辺脂質分子のドメイン構造の違いによって反応速度が大きく変わることの発見、イオンチャンネルバイオセンサー素子内に細胞を培養する機能を付与することを発案し、これにより、従来は創薬スクリーニング応用に限られていたイオンチャンネルバイオセンサーが神経細胞の機能計測など学術研究に応用できる道が開かれた、というブレイクスルーがあった。2008年度はこれらの成果をうけて、A β を非常に速い速度で凝集させるGM1の分子構造の決定および、神経細胞ネットワーク解析素子に欠かせない活動電位発生細胞について、光受容体イオンチャンネルであるチャンネルロドプシン(ChR2)を利用する事がかりを得た。これらの二つの成果を結びつけ「生体情報システム分子科学」という新しい学術領域の開拓をめざすことを明確にできた。2009年度は本イオンチャンネルバイオセンサーが「長期間経過観察が可能、多チャンネル観測が可能」という、当該分野において従来に無い新しい重要な特性を有することを実証できた。2010年度は、開発する素子をどのように応用するかを検討し、神経細胞の核内反応と神経細胞ネットワーク機能との相関をしらべることに的がしぼられた。このような系の研究はほとんど未開拓であるが、脳科学や脳の難病の研究に非常に有用と考えられる。そのためには、開発する素子の安定動作が重要で、超安定電極、小型レーザープローブ、マイクロ流路による細胞パターンニング、などの技術開発の他、多チャンネル用プラスチック基板の開発などを進めた。4月以降、私は名古屋大学の革新ナノバイオデバイス研究センターに移る予定であるが、引き続き神経細胞ネットワーク素子の開発を続ける予定である。名古屋大学医学部脳神経外科の研究グループとの共同研究が具体化しつつあり、この共同研究を通して、神経細胞核内反応の研究を全力で進めたいと考えている。

古谷祐詞(准教授)(2009年3月1日着任)

A-1) 専門領域：生物物理学, 生体分子科学

A-2) 研究課題：

- a) 全反射赤外分光法による膜タンパク質とイオンとの相互作用の研究
- b) 時間分解赤外分光法によるバクテリオロドプシンおよびハロロドプシンのタンパク質内水素結合変化の実時間計測
- c) 急速溶液混合法と時間分解赤外分光法を組み合わせた膜タンパク質の構造変化解析法の開発
- d) 表面増強赤外分光法による膜タンパク質の構造変化計測系の構築
- e) 赤・緑視物質の波長制御機構および視物質ロドプシンの熱雑音発生機構に関する研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 膜タンパク質は、細胞膜に存在し、細胞外と細胞内とを橋渡しする重要な役割を担っている。特にイオン輸送タンパク質は、電気信号の発生、電気化学ポテンシャルの形成など生体にとって非常に重要な役割を担っている。膜タンパク質分子とイオンとの相互作用を、タンパク質の分子振動変化として観測するのに、全反射(ATR)赤外分光法は有効である。9回反射型ATR結晶に5 μ L(タンパク質濃度は1 mg/ml程度)を滴下し、乾燥後に任意の緩衝液を流すことで、様々な膜タンパク質のイオン交換誘起赤外差スペクトルの計測を実現している。現在、カリウムイオンチャンネルKcsAやATP駆動型Na⁺輸送タンパク質(V-ATPase)について論文準備中である。
- b) ロドプシンは発色団レチナルを結合し、その光異性化反応によりタンパク質の構造を変化させ、光情報を伝達したり、プロトンやイオンを輸送したりする機能を持つ。分子科学研究所に赴任した際に、新規にBruker社製VERTEX80を導入し、試料室や試料ホルダーを改造することで、レーザー光誘起の時間分解赤外分光計測系を立ち上げた。最初のプロトン移動が起きるM中間体だけでなく、これまで情報の乏しい最終中間体Oについても、水素結合変化の詳細な情報が得られるものと期待している。また、塩化物イオンポンプであるハロロドプシンについても同様の計測を行い、プロトンと塩化物イオンの輸送機構の違いについて研究を進めている。
- c) 助教の木村哲就氏が2009年12月に赴任し、a)の課題をさらに発展させるべく、急速溶液混合法(ストップフロー法および連続混合法)と赤外分光法を組み合わせた新規計測法の開発を行っている。膜タンパク質のイオン結合に伴う構造変化を実時間で捉える挑戦的な試みである。現在、急速溶液混合法の組込方法について議論し、試作品を用いた予備実験を行い、装置の設計に本格的に取りかかっている段階である。
- d) 全反射赤外分光用のシリコン結晶表面に20 nm程度の金薄膜を真空蒸着法により形成しNi-NTAで表面処理を行い、His-tagをもつ膜タンパク質を表面に固定化することで単一分子層からの赤外吸収スペクトルを計測することが可能となる。さらに界面活性剤を脂質と置き換えることで、膜タンパク質が脂質二重膜一層に埋め込まれた状況での計測が可能となる。現在、様々な金薄膜を調製し、膜タンパク質の構造変化計測に最適な条件を検討している段階である。
- e) 名古屋工業大学の神取秀樹教授および京都大学霊長類研究所今井啓雄准教授との共同研究である色覚ではたらく緑および赤視物質の波長制御機構の研究に協力した(Katayama *et al.*, *Angew. Chem., Int. Ed.*)。また、視物質ロドプシンのレチナル近傍に存在するThr118のH/D交換反応を赤外分光法で追跡することを提案し、熱揺らぎの熱力学パラメーターの解析および熱雑音の発生機構を明らかにすることに貢献した(V. A. Lorentz-Fonfria *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*)。

B-1) 学術論文

K. KATAYAMA, Y. FURUTANI, H. IMAI and H. KANDORI, “An FTIR Study of Monkey Green- and Red-Sensitive Visual Pigments,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **49**, 891–894 (2010).

K. HASHIMOTO, A. R. CHOI, Y. FURUTANI, K.-H. JUNG and H. KANDORI, “Low-Temperature FTIR Study of Gloeobacter Rhodopsin: Presence of Strongly Hydrogen-Bonded Water and Long-Range Structural Protein Perturbation upon Retinal Photoisomerization,” *Biochemistry* **49**, 3343–3350 (2010).

V. A. LORENZ-FONFRIA, Y. FURUTANI, T. OTA, K. IDO and H. KANDORI, “Protein Fluctuations as the Possible Origin of the Thermal Activation of Rod Photoreceptors in the Dark,” *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 5693–5703 (2010).

K. KATAYAMA, Y. FURUTANI and H. KANDORI, “An FTIR Study of the Photoreaction of Bovine Rhodopsin in the Presence of Hydroxylamine,” *J. Phys. Chem. B* **114**, 9039–9046 (2010).

S. NEYA, M. SUZUKI, T. HOSHINO, H. ODE, K. IMAI, T. KOMATSU, A. IKEZAKI, M. NAKAMURA, Y. FURUTANI and H. KANDORI, “Molecular Insight into Intrinsic Heme Distortion in Ligand Binding in Hemoprotein,” *Biochemistry* **49**, 5642–5650 (2010).

B-3) 総説, 著書

H. KANDORI, Y. SUDO and Y. FURUTANI, “Protein–Protein Interaction Changes in an Archaeal Light-Signal Transduction,” *J. Biomed. Biotech.* Article ID 424760, 14 pages (2010).

B-4) 招待講演

古谷祐詞, 「X-H, X-D 伸縮振動領域の赤外分光法から何が分かるか?」分子研研究会「拡がるロドプシンの仲間から“何が分かるか” “何をもちたらずか”」岡崎コンファレンスセンター, 岡崎, 2010年3月.

Y. FURUTANI, “Interaction between Membrane Proteins and Ions Studied by ATR-FTIR Spectroscopy: A Potential Tool for Drug Screening,” BIT’s 1st Annual International Conference of Medicchem-2010, Beijing International Convention Center, Beijing (China), May 2010.

古谷祐詞, 「赤外分光法によるイオン輸送蛋白質の構造変化解析」アドバンス生命理学特論:世話人;須藤雄気 准教授(名大・院理)名古屋大学,名古屋,2010年7月.

古谷祐詞, 「ロドプシン-KcsA 融合蛋白質の発現とFTIRによる構造変化解析」特定領域研究「高次系分子科学」第9回ミニ公開シンポジウム,サギセミナーセンター,広島県三原市,2010年8月.

T. KIMURA, “In vitro protein folding dynamics in the microsecond to millisecond timescale,” The 48th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Advanced Insight into Protein Motions; in silico, in vitro and in vivo Studies, Tohoku University, Sendai (Japan), September 2010.

Y. FURUTANI, “Stimulus-Induced Difference Infrared Spectroscopy for Membrane Proteins; Visual and Archaeal-Type Rhodopsins, and Flagella Motor Protein,” Indo–Japan Joint Workshop on “New Frontiers of Molecular Spectroscopy; from Gas Phase to Proteins,” Hotel Kitano Plaza Rokkoso, Kobe (Japan), September 2010.

B-6) 受賞, 表彰

古谷祐詞, 平成19年度名古屋工業大学職員褒賞優秀賞 (2007).

B-7) 学会および社会的活動

学会誌編集委員

生物物理中部地区編集委員 (2007, 2010).

B-10) 競争的資金

科研費若手研究 (スタートアップ)「ATR-FTIR 分光法によるロドプシンのタンパク質間相互作用の解析」古谷祐詞 (2006年).

科研費特定領域研究「革新的ナノバイオ」(公募研究)「光駆動プロトンポンプの動作機構の解明」古谷祐詞 (2007年-2008年).

科研費特定領域研究「細胞感覚」(公募研究)「古細菌型ロドプシンの新奇情報伝達機構の解明」古谷祐詞 (2007年-2008年).

科研費特定領域研究「高次系分子科学」(公募研究)「孤立ナノ空間に形成された水クラスターの水素結合ダイナミクス解析」古谷祐詞 (2008年-2009年).

科研費特定領域研究「革新的ナノバイオ」(公募研究)「光駆動イオン輸送蛋白質の動作機構の解明」古谷祐詞 (2009年-2010年).

科研費特定領域研究「細胞感覚」(公募研究)「古細菌型ロドプシンの新奇情報伝達機構の解明と光応答性カリウムチャネルの開発」古谷祐詞 (2009年-2010年).

科研費特定領域研究「高次系分子科学」(公募研究)「孤立ナノ空間を有する有機金属錯体での特異な光化学反応の分光解析」古谷祐詞 (2010年-2011年).

科研費若手研究(B)「赤外差スペクトル法によるイオン輸送蛋白質の分子機構解明」古谷祐詞 (2010年-2011年).

科研費研究活動スタート支援「時間分解赤外分光法を用いた膜蛋白質フォールディング機構の解明」木村哲就 (2010年-2011年).

C) 研究活動の課題と展望

タンパク質の機能発現に関係する構造変化を赤外分光法で捉える手法は、光を反応のトリガーとして使える光受容タンパク質において発展してきた。これまでロドプシンを中心として、光反応中間体を低温で安定化することで、精密な光誘起赤外差スペクトルを計測し、4000-1800 cm^{-1} の領域に現れる水素結合ドナー (N-H や O-H 基) の伸縮振動の情報から、様々な機能発現に重要な構造変化を見いだしてきた。今後、これらの手法を時間分解計測に発展させることで、低温で安定化できない過渡的な中間体の水素結合変化の情報を得ることを目指す。また、光に応答しないタンパク質についても、液中での計測が容易な全反射法 (ATR 法) を利用することで、イオンや化合物の結合による赤外スペクトル変化を計測し、様々な膜タンパク質における機能発現機構を明らかにすることを目指す。特に急速溶液混合法と赤外分光法を組み合わせた手法を発展させることで、微細な赤外吸収スペクトル変化 (0.001 程度以下の吸光度変化) を実時間で計測し、膜タンパク質が機能する過程でダイナミックに変化する姿を捉えたいと考えている。さらに、表面増強赤外分光法により、一層の脂質二重膜中の膜タンパク質の構造変化を時間分解計測する研究にも発展させたい。

錯体触媒研究部門

魚 住 泰 広 (教授) (2000年4月1日着任)

A-1) 専門領域：有機合成化学，有機金属化学

A-2) 研究課題：

- a) 完全水系メディア中での触媒反応
- b) 高機能ハイブリッド金属錯体触媒・金属ナノ触媒の設計・開発
- c) 新しい遷移金属錯体の創製

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) パラジウム錯体触媒，ロジウム錯体触媒などを両親媒性高分子によって機能修飾することで，これら遷移金属錯体触媒有機変換工程の多くを完全水系メディア中で実施することに成功した。水中不均一での高立体選択的触媒反応の開発を世界にさきがけて成功した。
- b) 高分子分散型ナノ粒子金属触媒（有機高分子 - 金属粒子のハイブリッド），メソポーラスシリカ担持分子性遷移金属錯体（無機担体 - 有機金属のハイブリッド），金属架橋高分子の自己集積触媒（架橋構造と触媒機能のハイブリッド）を開発した。マイクロ流路内の層流界面での自己集積錯体触媒膜の創製に成功した。
- c) 新しいピンサー錯体の合成方法論を確立した。新方法論によって従来にない全く新しいピンサー錯体合成が可能となり，その物性，反応性を明らかとしつつある。

B-1) 学術論文

Y. HIRAI and Y. UOZUMI, "Clean Synthesis of Triarylamines: Buchwald-Hartwig Reaction in Water with Amphiphilic Resin-Supported Palladium Complexes," *Chem. Commun.* **46**, 1103–1105 (2010).

C. K. JIN, Y. M. A. YAMADA and Y. UOZUMI, "Chemoselective Oxidation of Sulfides Promoted by a Tightly Convuluted Polypyridinium Phosphotungstate Catalyst with H₂O₂," *Bull. Korean Chem. Soc.* **31**, 547–548 (2010).

T. OSAKO and Y. UOZUMI, "A Self-Supported Palladium-Bipyridyl Catalyst for the Suzuki-Miyaura Coupling in Water," *Heterocycles* **80**, 505–514 (2010).

T. SUZUKA, Y. OKADA, K. OOSHIRO and Y. UOZUMI, "Copper-Free Sonogashira Coupling in Water with an Amphiphilic Resin-Supported Palladium Complex," *Tetrahedron* **66**, 1064–1069 (2010).

Y. HIRAI and Y. UOZUMI, "Heterogeneous Aromatic Amination of Aryl Halides with Arylamines in Water with PS-PEG Resin-Supported Palladium Complexes," *Chem. –Asian J.* **5**, 1788–1795 (2010).

Y. UOZUMI, "Green Chemistry—A New Paradigm of Organic Synthesis," *Synlett* 1988–1989 (2010).

Y. M. A. YAMADA, T. WATANABE, T. BEPPU, F. NAOSHI, T. KAORU and Y. UOZUMI, "Palladium Membrane-Installed Microchannel Deviced for Instantaneous Suzuki-Miyaura Cross-Coupling," *Chem. –Eur. J.* **16**, 11311–11319 (2010).

Y. M. A. YAMADA, C. K. JIN and Y. UOZUMI, "H₂O₂-Oxidation of Alcohols Promoted by Polymeric Phosphotungstate Catalysts," *Org. Lett.* **12**, 4540–4543 (2010).

B-4) 招待講演

Y. UOZUMI, “Organic Transformations in Water with Polymer-Supported Palladium Catalysts,” 2010 Annual Meeting of Asian Core Program Frontiers of Materials, Photo-, and Theoretical Molecular Sciences, Taipei (Taiwan), March 2010.

魚住泰広, 「水中で有機反応は可能か——不均一パラジウム触媒による精密化学変換——」日本学術振興会創造機能化学講演会, 東京, 2010年6月.

魚住泰広, 「水中不均一での不斉Pd触媒反応」第22回万有札幌シンポジウム構築的有機合成化学: 医療そして材料科学の未来へ, 札幌, 2010年7月.

魚住泰広, 「水中不均一でのPd触媒反応」第43回有機金属若手の会夏の学校, 志賀島, 2010年7月.

Y. UOZUMI, “Organic Molecular Transformations in Water with Recyclable Transition Metal Catalysts,” NIMS 2010 Conference Challenges of Nanomaterials Science: Towards the Solution of Environment and Energy Problems, Tsukuba (Japan), July 2010.

Y. UOZUMI, “Organic Molecular Transformations in Water with Recyclable Transition Metal Catalysts,” McGill-RIKEN Scientific Workshop on Nanotechnology and Green Chemistry, Quebec (Canada), September 2010.

Y. UOZUMI, “Asymmetric Suzuki-Miyaura Coupling in Water with Polymer-Supported Palladium Complexes,” China–Japan Symposium on Catalytic Organic Synthesis, Tianjin (China), September 2010.

Y. UOZUMI, “Asymmetric Suzuki-Miyaura Coupling in Water with a Chiral Palladium Catalyst Supported on an Amphiphilic Resin,” Japan–Korea Symposium on Organometallic Chemistry, Nara (Japan), October 2010.

魚住泰広, 「クリーン有機合成を実現する水中機能性固定化遷移金属触媒」日本プロセス化学会2010ウインターシンポジウム, 名古屋, 2010年12月.

B-6) 受賞, 表彰

魚住泰広, 有機合成化学協会研究企画賞 (1992).

魚住泰広, 日本薬学会奨励賞 (1997).

山田陽一, 日本薬学会奨励賞 (2005).

魚住泰広, 第6回グリーン・サステイナブル・ケミストリー賞, 文部科学大臣賞 (2007).

魚住泰広, 平成18年度日本化学会学術賞 (2007).

山田陽一, 文部科学大臣表彰若手科学者賞 (2008).

山田陽一, Thieme Chemistry Journal Award (2008).

魚住泰広, 井上学術賞 (2010).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

地球環境産業技術研究機構 (RITE) 技術評価分科会委員会 (2002–2004).

コンビナトリアル・ケミストリー研究会代表幹事 (1998–2009).

有機合成化学協会支部幹事 (1998–).

学会の組織委員等

名古屋メダル実行委員 (2000–).

International Conference on Organic Synthesis 実行委員 (2002–2004).

IUPAC meeting “Polymer in Organic Chemistry 2006” 実行委員 (2004–2006).

OMCOS 14 組織委員 (2006–2007).

触媒学会創設50周年記念国際シンポジウム組織委員 (2007–).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会第116委員会委員 (1998–).

日本学術振興会科学研究費補助金第一次審査員 (2002–2006).

科学振興調整費審査委員 (2003–2004).

振興調整費「新機能材料開発に資する強磁場固体NMR」研究運営委員 (2004–2007).

学会誌編集委員

日本化学会速報誌編集委員 (2001–2002).

SYNLETT 誌アジア地区編集主幹 (2002–).

Tetrahedron Asymmetry 誌アドバイザー - ボード (2002–).

SYNFACTS 誌編集委員 (2005–).

ACS Combinatorial Science 誌エディトリアルアドバイザーボード (2010–).

その他

科学技術振興機構CREST 研究「水中での精密分子変換を実現するナノ遷移金属触媒創製」研究リーダー (2002–2007).

理化学研究所研究チームリーダー (2007–).

経済産業省グリーン・サステナブルケミカルプロセス基盤技術開発プロジェクト 研究チームリーダー (2008–).

B-8) 大学での講義, 客員

東京工業大学大学院理工学研究科, 連携教授, 2010年4月–.

B-9) 学位授与

渡部敏裕, 「Development of Catalytic Membrane-Installed Microchannel Devices and Their Application to Organic Transformations」2010年9月, 博士(理学)

B-10) 競争的資金

科研費特定領域研究(公募研究: 領域番号412)「高い不斉誘起能を持つ新規複素環ユニット開発」魚住泰広 (2001年–2003年).

科研費特定領域研究(計画研究: 領域番号420)「完全水系中での遷移金属触媒反応場」魚住泰広 (2002年–2005年).

科研費基盤研究(A)(一般研究)「水中で機能する高分子分散型複合金属ナノ触媒の創製」魚住泰広 (2003年–2006年).

科研費特定領域研究(計画研究: 研究項目番号A03)「理想化学変換プロセスを実現する新しい水中機能性個体触媒の開発」魚住泰広 (2006年–2009年).

科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「触媒膜導入マイクロ流路反応デバイスの創製」魚住泰広 (2010年–2011年).

受託研究(RITE)「優秀研究企画」魚住泰広 (2001年–2002年).

受託研究(マイクロ化学プロセス組合: NEDO・再委託)魚住泰広 (2002年–2004年).

受託研究(日本化学会: 科学振興調整費・再委託)魚住泰広 (2000年).

経済産業省・戦略的技術開発グリーンサステナブルケミカルプロセス基盤技術開発,「高機能不均一触媒の開発と環境調和型化学プロセスの研究開発」魚住泰広(2009年-2012年).

科学技術振興機構CREST研究,「水中での精密分子変換を実現するナノ遷移金属触媒創造」魚住泰広(2002年-2008年).

科研費若手研究(B),「高活性な相間移動固相触媒の創製と有機合成反応への展開」山田陽一(2002年).

科研費若手研究(B),「高分子マトリックス化金属固相触媒の創製」山田陽一(2004年-2007年).

科研費若手研究(B),「水中分子変換を実現する高分子担持銅触媒の創製」大迫隆男(2010年-2011年).

C) 研究活動の課題と展望

2000年にゼロからのスタートを切った精密有機分子変換反応のaqueous-switching, heterogeneous-switchingの試みも十分な成果と蓄積を得て、現時点では高度な立体選択機能を合わせ持った触媒の開発に至り、さらには数段階の炭素-炭素結合形成を経る多段階有機合成の全工程・全操作を有機溶剤を全く用いず実現しつつある。その過程で従来の有機合成手法では獲得し得ない疎水性相互作用に立脚した新規な反応駆動概念を提案することができた。特に均一触媒系でさえ未開拓であった高立体選択的不斉Suzukiカップリング反応を水中不均一で達成したことは大きな成果である。またナノパラジウム粒子の高分子マトリクス内での発生・分散と固定化に成功し、アルコール酸化やハロゲン化芳香族の脱ハロゲン反応など、グリーン化学の中心課題を解決してきた。他の金属種(W, Ru, Rh, Cu)に適用範囲を拡張しつつある。今後さらに基礎科学的論証を重ねる予定である。さらに金属架橋高分子の自己集積触媒の開発に注力しつつあり、マイクロ流路内の層流界面での自己集積錯体触媒膜の創製に成功した。

独自に開発した高立体選択的不斉ユニットであるpyrroloimidazolone骨格ならではの有効な利用を推進しつつあり、上述の水中不斉触媒プロセスの達成に加えて、新しいピンサー型錯体触媒の設計・開発に至っている。その過程で見いだしたりガンド導入法によるピンサー錯体構築は従来の種々のピンサー型錯体調製と全く異なる錯体形成経路を経ることから、従来法では合成困難であった立体規制に富むピンサー型錯体の自在調製に道筋をつけた。発展に注力したい。現時点では競争的研究資金の獲得も順調であり、研究設備などは充足している。大学院生ならびに博士研究員の確保も問題ない。水中機能性固定化触媒に関するCREST研究が2008年3月に終了し、続いてその成果を実践的に発展させるため経済産業省(NEDO)プロジェクトを2008年9月に開始した。また、自己集積錯体触媒研究は理化学研究所フロンティア研究に指名され同研究所に場所を移して展開中である。すなわち、魚住グループの大きな研究の柱はCREST-NEDO、理研へと発展的に移行している。今後、魚住の本拠地である分子科学研究所に於いては、次の研究の萌芽を見いだし育てる研究に注力しており、幾つかの新機軸候補課題の中から大きな発展に繋がる新課題を見いだしたいと考えている。現状の環境・活力を維持する上で今こそ従来以上の基礎的学術研究への集中こそが重要である。

錯体物性研究部門

田 中 晃 二 (教授) (1990 年 3 月 16 日 着 任)

A-1) 専門領域：錯体化学

A-2) 研究課題：

- a) 金属錯体を触媒とする二酸化炭素の多電子還元反応
- b) オキシシルおよびアミノラジカルによる新規酸化反応活性種の創造
- c) 化学エネルギーと電気エネルギーの相互変換を目指した反応系の開発

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 二酸化炭素由来の Ru-CO 結合のカルボニル炭素に連続して二つのヒドリド供給が可能な Ru 錯体の合成に成功した。
- b) Ru-アンミン錯体からのプロトン解離による Ru-アミノラジカル錯体の生成を証明し、アミノラジカル錯体を活性種とするアルコール酸化反応を見出した。
- c) 電気化学的に 2 電子 1 プロトンの酸化還元反応が可能な配位子の合成により、単核 Ru 錯体での光誘起 2, 4, 6 電子還元反応が可能となった。
- d) 水の 4 電子酸化反応での酸素 - 酸素生成過程の測定に成功。

B-1) 学術論文

Y. TSUKAHARA, T. WADA and K. TANAKA, "Redox Behavior of Ruthenium(bipyridine)(terpyridine)(carbonyl) Complex-Modified Carbon Electrode and Reactivity toward Electrochemical Reduction of CO₂," *Chem. Lett.* **39**, 1134–1135 (2010).

T. FUKUSHIMA, T. WADA, H. OHTSU and K. TANAKA, "Photoinduced Four- and Six-Electron Reduction of Mononuclear Ruthenium Complexes Having NAD⁺ Analogous Ligand," *Dalton Trans.* **39**, 11526–11534 (2010).

T. FUKUSHIMA, E. FUJITA, J. MUCKERMAN, E. DOMITRY, T. WADA and K. TANAKA, "Photochemical Stereospecific Hydrogenation of a Ru Complex with an NAD⁺/NADH Type Ligand," *Inorg. Chem.* **48**, 11510–11512 (2010).

S. FUKUI, N. SUZUKI, T. WADA, K. TANAKA and H. NAGAO, "Formation and Structure of an (Iminium)Ruthenium Complex and Reaction of the Iminium Ion Moiety with Alcohols," *Organometallics* **29**, 1534–1536 (2010).

B-4) 招待講演

K. TANAKA, "Electronic structures of dinuclear Ru-dioxolene complexes and reactivity toward four-electron oxidation of water," 11th Eurasia Conference on Chemical Sciences EuAsC₂S-11, The Dead Sea (Jordan), October 2010.

K. TANAKA, "Four-Electron Oxidation of Water Catalyzed by Dinuclear Ru Complexes," Inaugural (1st) International Conference on Molecular and Functional Catalysts, Singapore (Singapore), July 2010.

K. TANAKA, "Development of Metal Complexes Aimed at Storage and Conversion of Chemical Energy," 240th Annual Meeting of American Chemical Society, Boston (U.S.A.), August 2010.

K. TANAKA, “Reversible Conversion between Chemical Energy and Electrical One Mediated with Metal Complexes,” 8th Japan–China Metal-Cluster Symposium, Xian (China), August 2010.

K. TANAKA, “Photo-Induced Multi-Electron Transfer Catalyzed by Ru Complexes,” Pacificchem 2010, Honolulu (U.S.A.), December 2010.

K. TANAKA, “Four-Electron Water Oxidation Catalyzed by Ru Complexes,” Pacificchem 2010, Honolulu (U.S.A.), December 2010.

田中晃二, 「錯体触媒による二酸化炭素の多電子還元反応を目指して」日本化学会春季年会, 東京, 2010年3月.

B-6) 受賞, 表彰

田中晃二, 日本化学会学術賞 (1999).

田中晃二, 錯体化学会賞 (2008).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

地球環境関連研究動向の調査化学委員会委員 (1990–1993).

錯体化学会事務局長 (1990–2008).

錯体化学会会長 (2008–).

学会の組織委員等

第30回錯体化学国際会議事務局長 (1990–1994).

第8回生物無機化学国際会議組織委員 (1995–1997).

第1回アジア錯体会議計画委員 (2006–2007).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術会議連携会員 (2006–).

日本化学会錯体・有機金属ディビジョン主査 (2006–2010).

日本学術振興会学術センター・化学調査班委員 (2007–2010).

文部科学省理工系委員会委員 (2007–2010).

研究員等審査会専門委員 (1995–1996).

学術審議会専門委員(科学研究費分科会)(1992–1994, 2003–).

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員 (1996–1997, 2001–).

次世代研究探索研究会・物質科学系委員会委員 (1997).

社団法人近畿化学協会評議員 (1999–2006).

NEDO 技術委員 (2001–2002).

競争的資金等の領域長等

科学技術振興事業団・戦略的基礎研究「分子複合系の構築と機能」研究代表者 (2000–2005).

文部省重点領域研究「生物無機化学」班長 (1992–1994).

その他

総合研究大学院大学先導科学研究科構造分子科学専攻長 (2005–2008).

B-10) 競争的資金

科学技術振興機構CREST 研究,「化学エネルギー変換素子の構築」,田中晃二 (2001年度-2005年度).

科研費基盤研究(A),「電気エネルギー貯蔵のための二酸化炭素の多電子還元反応」,田中晃二 (2005年度-2007年度).

科研費特定領域研究,「化学エネルギー変換のための新規酸化反応活性種の創造」,田中晃二 (2007年度-2008年度).

科研費特別推進研究,「金属錯体触媒による電気エネルギーと化学エネルギーの相互変換反応の開発」,田中晃二 (2008年度-2011年度).

C) 研究活動の課題と展望

遷移金属上での一酸化炭素と求核試薬との反応は有機合成の最も重要な素反応の一つである。二酸化炭素は金属- η^1 -CO₂錯体を形成させると速やかに金属-CO錯体に変換可能であるが,二酸化炭素還元条件下では金属-CO結合の還元的開裂のためにCOが発生する。したがって,二酸化炭素を有機合成のC1源とするためにはCO₂由来の金属-CO結合を開裂させることなく各種の試薬と反応させる方法論の開発にかかっている。還元型の配位子をCO₂還元の電子貯蔵庫として使用するのみならず金属-CO結合へのヒドリドの供給により,金属-CO結合の還元を目指している。さらにCO₂の多電子還元反応は,電気エネルギーから化学エネルギーへの変換手段としても大きな期待がかけられる。

アコおよびアミノ金属錯体に酸化還元活性な配位子を導入し,プロトン解離で生じる負電荷を,その配位子上に収容すると,酸素あるいは窒素原子上に不対スピンを有するオキシルまたはアミニルラジカル金属錯体が生成する。それらの金属錯体を触媒とする有機化合物の酸化反応を行うことで,化学エネルギーから電気エネルギーへのエネルギー変換を目指している。

