

## 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 タンパク質の構造機能相関の解明を目的とし, Aer2 タンパク質の X 線結晶構造解析を行った。アミノ酸配列から推定される Aer2 のドメイン構造は, N 末から HAMP, PAS, HAMP, MCP の各ドメインが連続していると考えられている。本年度の研究では, HAMP-PAS-HAMP ドメイン部分, および PAS-HAMP ドメイン部分の結晶構造解析に成功した。N 末および PAS ドメインの後方に存在する HAMP ドメインはそれぞれ, 三つおよび二つの HAMP ユニットが連結した poly-HAMP 構造を有している。HAMP ドメインと PAS ドメインは直線状に連結されており, 両者の間で直接的なタンパク質間相互作用は存在していないことが分かった。酸素センサーの本体として機能するヘムは, PAS ドメイン中に存在している。本研究において構造決定した Aer2 は, いずれの場合もシアン結合型である。ヘム鉄に配位した CN<sup>-</sup> には Trp283 が相互作用していることが分かった。シアン結合型を酸素結合型のモデルとして考えることができるとすれば, Aer2 に酸素が結合した場合には, ヘムに結合した酸素分子に Trp283 が水素結合しているものと推定される。Trp283L 変異体は, 安定な酸素結合型を形成しないことが分かった。このことから, Trp283 が酸素と水素結合を形成し, 酸素結合型 Aer2 の安定化に寄与しているというモデルは妥当なものであると考えられる。Trp283 は, PAS ドメインの下流に存在する HAMP ドメインとのリンカーに連結している PAS ドメインの最も C 末側の β シート中に存在している。したがって, ヘムに対する酸素分子の結合の有無, すなわち Trp283 と酸素間での水素結合の有無が, Trp283 のコンフォメーション変化を誘起し, そのコンフォメーション変化がダイレクトに C 末側 HAMP ドメインならびに MCP ドメインのコンフォメーション変化へと繋がることにより分子間シグナル伝達反応が進行しているものと考えられる。
- 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は, 乳酸菌中で過剰なヘムを感知し, ヘム排出に関与するタンパク質群の発現制御を行っている転写調節因子 HrtR (以前の名称では YgfC) タンパク質の X 線結晶構造解析を行うとともに, ヘム分子による HrtR の機能制御機構の解明を行った。HrtR はホモダイマーとして存在しており, その全体構造は, 転写調節因子 TetR ファミリーの構造に類似しており, N 末領域には DNA 結合ドメインを, C 末領域にはヘム結合ドメインを有していた。本研究では, ヘムを結合したホロ型, およびヘムを結合していないアポ型, 両方の構造を決定した。ヘムは, His72 および His149 を軸配位子として HrtR に結合し, 6 配位構造

を取ることが分かった。HtrR の標的 DNA 配列の同定にも成功し、アポ型 HtrR のみが標的 DNA に結合可能であることを明らかにした。標的 DNA と複合体を形成した HtrR にヘムを添加すると、HtrR が DNA から解離することが分かった。これらの結果と、X線結晶構造解析により得られた構造情報を総合し、ヘム分子による HtrR の機能制御分子機構の解明を行った。その結果、HtrR にヘムが結合することにより、HtrR ヘム結合ドメインの最も N 末側に存在しているヘリックス・ループ・ヘリック構造部分にコイル・ヘリックス転移が誘起され、さらにこの構造変化により DNA 結合ドメイン全体の相対配置が変化することにより HtrR の DNA 結合能が失われることを明らかにした。

#### B-1) 学術論文

**N. FUJIEDA, T. IKEDA, M. MURATA, S. YANAGISAWA, S. AONO, K. OKUBO, S. NAGANO, T. OGURA, S. HIROTA, S. FUKUZUMI, Y. NAKAMURA, Y. HATA and S. ITO**, “Post-Translational His-Cys Cross-Linkage Formation in Tyrosinase Induced by Copper(II)-Peroxo Species,” *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 1180–1183 (2011).

**E. PINAKOULAKI, C. KOUTSOUPAKIS, H. SAWAI, A. PAVLOU, Y. KATO, Y. ASANO and S. AONO**, “Aldoxime Dehydratase: Probing the Heme Environment Involved in the Synthesis of the Carbon–Nitrogen Triple Bond,” *J. Phys. Chem. B* **115**, 13012–13018 (2011).

#### B-4) 招待講演

**S. AONO**, “Structure and function of oxygen sensor proteins adopting a heme-containing PAS domain as a sensor for aerotaxis control,” 3rd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences Experiments and Simulations, Jeju (Korea), March 2011.

**S. AONO**, “Biological Sensing and Signal Transduction Systems with a Heme,” 15th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC-15), Vancouver (Canada), August 2011.

青野重利, 「ヘムをシグナル分子とする生体機能制御の分子機構」第108回触媒学会, 北見, 2011年9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).

ノバルティス科学振興財団研究奨励金,「ガス分子により駆動される生体内シグナル伝達の分子機構解明」青野重利 (2010年).

野田産業科学研究所研究助成,「ヘムをシグナル分子とする*Lactococcus lactis*における遺伝子発現制御」青野重利 (2011年).

科研費挑戦的萌芽研究,「環境汚染物質検出用の高感度蛍光プローブを装備したホーミングセルの創製」青野重利 (2011年-2012年).

科研費基盤研究(B),「ガス分子による生体機能制御に関与するセンサータンパク質の構造と機能」青野重利 (2011年-2013年).

## C) 研究活動の課題と展望

当研究室では、酸素、一酸化炭素などの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。これらの研究に加え、本年度からはヘム分子がエフェクター分子として機能し、細胞内ヘム濃度の恒常性維持に関与している転写調節因子に関する研究にも取り組み始めた。本研究は、細胞中における遷移金属イオン濃度の恒常性維持機構の解明という、大きな研究目標への出発点ともいえる研究である。今後は、構造生物学的、ならびに生化学・分子生物学的な実験手法を活用し、ヘムを含む遷移金属イオンの細胞内濃度恒常性維持に関与するタンパク質群の構造機能相関解明を進めて行きたいと考えている。

## 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) モルテン・グロビュール状態オレイン酸複合体の抗腫瘍活性
- b) OspA のフォールディング機構
- c) ミニシャペロンの分子シャペロン活性とアミロイド形成
- d) GroEL/GroES 複合体の構造揺らぎと生物機能
- e) GroEL/GroES 複合体形成の熱力学的解析

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  $\alpha$  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  $\alpha$  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，安定なモルテン・グロビュール状態を形成する他の蛋白質 (イヌ乳リゾチーム，アポ・ミオグロビン， $\beta_2$  ミクログロブリン) とオレイン酸との複合体を作製し，それらの抗腫瘍細胞活性を調べた。その結果，作製した複合体は  $\alpha$  ラクトアルブミン - オレイン酸複合体と同様な抗腫瘍細胞活性を示した。モルテン・グロビュール状態の蛋白質とオレイン酸との複合体の抗腫瘍活性は，オレイン酸によりもたらされており，蛋白質部分はオレイン酸を選択的に腫瘍細胞に導く担体 (carrier) として働いていると考えられる。
- b) 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  $\beta$  シート領域を持つ特徴的な双ドメイン蛋白質であり， $\beta$  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。昨年の蛍光と円二色性ストップフローを用いた解析から，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。これに基づいて N 末端と C 末端ドメインを単独でそれぞれ作製し，それらの巻き戻り過程を調べた。N 末端ドメイン単独ではアンフォールディング速度が加速し，安定性が減少していることが明らかになった。
- c) 大腸菌シャペロニン GroEL の頂上ドメインを遺伝子工学的に単離した蛋白質はミニシャペロンと呼ばれ，それ自身で独立に折り畳まる。ミニシャペロンは，天然条件下では， $\beta_2$  ミクログロブリンのアミロイド形成を抑制するなど，不完全ながらも分子シャペロンとしての働きを有する。しかし，ミニシャペロンの一次配列を Trovato 等が開発した PASTA で解析すると，アミロイド形成能の高い領域の存在することがわかった。そこで，チオフラビン T 結合に伴う蛍光測定，透過型電顕観察等の手法を用いて，さまざまな条件下でアミロイド形成を調べた。その結果，酸性条件下では，ミニシャペロン自身がアミロイド線維を形成することが明らかとなった。また，酸性条件下で  $\beta_2$  ミクログロブリンも共存させると，反応初期には  $\beta_2$  ミクログロブリンのアミロイドを抑制する分子シャペロンとしての働きも有するので，ミニシャペロンはそれ自身アミロイド形成能を持ちながら分子シャペロンとしても働く二面性を持っている。
- d) シャペロニン複合体 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。昨年は，GroES 単独での H/D 交換反応を TROSY-NMR 法を用いて追跡した (20 mM KCl, 25 mM リン酸緩衝液, pH 6.5, 25 °C)。その結果，GroES 複合体のコア領域の交換反応は追跡できたが，モバイルループ領域は交換が速く追跡が不可能であった。交換速度の速いアミド水素の交換反応を解

析するため、天然条件下で水素交換反応を行った後、DMSO 停止 H/D 交換二次元 NMR 法と 920 MHz NMR 装置を用いて、各反応時間における残存アミド・プロトン強度を測定した。また、重水素化 DMSO 中の GroES の約 70 個のアミド水素の帰属を終えており、これらの帰属に基づいて各アミド水素の H/D 交換反応を解析している。

- e) ADP や ATP 等のヌクレオチド存在下では、GroEL は GroES と 1:1 の複合体を形成して分子シャペロンとしての完全な機能を発現する。しかし、GroEL と GroES の結合の熱力学パラメータについては、未だ十分に知られてはいない。<sup>15</sup>N 標識した GroES7 量体の二次元 HSQC NMR スペクトルは、GroES モバイルループにあるアミド水素の明確なクロスピークを示すが、ADP 存在下で GroEL と結合するとクロスピークが消失する。この性質を利用して、GroEL と GroES との結合の熱力学的解析を行っている。また、分子研に設置されている超高感度滴定型熱量計を用いた結合の熱力学的解析も合わせて行い、二次元 NMR を用いた結果と比較する。

#### B-1) 学術論文

**J. CHEN, K. MAKABE, T. NAKAMURA, T. INOBE and K. KUWAJIMA**, “Dissecting a Bimolecular Process of MgATP<sup>2-</sup> Binding to the Chaperonin GroEL,” *J. Mol. Biol.* **410**, 343–356 (2011).

**T. RATHNAYAKA, M. TAWA, T. NAKAMURA, S. SOHYA, K. KUWAJIMA, M. YOHDA and Y. KURODA**, “Solubilization and Folding of a Fully Active Recombinant *Gaussia* Luciferase with Native Disulfide Bonds by Using a SEP-Tag,” *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **1814**, 1775–1778 (2011).

#### B-4) 招待講演

**A. MUKAIYAMA, K. MAKI, T. NAKAMURA, K. MAKABE, Y. GOTO and K. KUWAJIMA**, “Folding mechanism of  $\beta_2$ -microglobulin and its relationship to dialysis-related amyloidosis,” 3rd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Lotte Hotel Jeju, Jeju (Korea), February–March 2011.

**T. NAKAMURA, K. MAKABE, T. AIZAWA, K. KAWANO, M. DEMURA and K. KUWAJIMA**, “NMR and biological studies of anti-tumor complex between oleic acid and protein in the molten globule state,” 3rd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Lotte Hotel Jeju, Jeju (Korea), February–March 2011.

**J. CHEN, K. MAKABE and K. KUWAJIMA**, “Dissecting a bimolecular process of ATP binding to the chaperonin GroEL,” 3rd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Lotte Hotel Jeju, Jeju (Korea), February–March 2011.

**C. KOBAYASHI, T. OROGUCHI, M. IKEGUCHI, T. NAKAMURA, K. MAKABE, K. KUWAJIMA and S. SAITO**, “A theoretical study of unfolding pathway of canine milk lysozyme,” 3rd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Lotte Hotel Jeju, Jeju (Korea), February–March 2011.

**K. MAKABE, S. KOIDE and K. KUWAJIMA**, “Structure and folding of a  $\beta$ -sheet rich model protein,” 3rd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Lotte Hotel Jeju, Jeju (Korea), February–March 2011.

**K. KUWAJIMA**, “Molecular Mechanisms of the *Escherichia coli* Chaperonin Function,” The 3rd Asia Pacific Protein Association (APPA) Conference in conjunction with the 3rd Symposium of the Chinese Protein Society (CPS), Shanghai University, Shanghai (China), May 2011.

**K. KUWAJIMA**, “Molecular Mechanisms of the *Escherichia coli* Chaperonin Function,” The 11th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Korea Institute for Advanced Study (KIAS), Seoul (Korea), October 2011.

M. CHANDAK, "Dynamic structural fluctuation of free heptameric GroES studied by the use of hydrogen-exchange technique and 2D NMR," 総合研究大学院大学第8回生命科学リトリート, ヤマハリゾートつま恋, 掛川市, 2011年12月.

B-5) 特許出願

特願 2011-238611, 「球状蛋白質の準安定状態を用いた抗癌細胞作用のある分子の作成」桑島邦博, 中村敬, 真壁幸樹(大学共同利用機関法人自然科学研究機構) 2011年.

B-6) 受賞, 表彰

真壁幸樹, 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 (2009-2010).

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 (2004-2011).

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 $\alpha$ 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。昨年の研究からモルテン・グロビュール状態を示す他の蛋白質、イヌ乳リゾチーム、アポミオグロビン、 $\beta_2$ ミクログロブリンなどでも、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の発現されることが明らかとなった。モルテン・グロビュール状態にある蛋白質は、オレイン酸を腫瘍細胞選択的に運ぶ担体として働いていると考えられる。この仮説が正しいならば、オレイン酸のみならず、抗がん剤をモルテン・グロビュール状態の蛋白質に結合させ、腫瘍細胞選択的にこれを導入することが可能と考えられる。今後このような観点からも研究に取り組みたい。既に、TROSY-NMR法とDMSO停止H/D交換二次元NMR法を用いて、遊離7量体GroESのH/D交換プロフィールを得ている。DMSO停止H/D交換二次元NMR法を用いることにより、GroEL/GroES複合体中のGroES部分の水素交換反応を追跡し、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) コピキチンが Lys48 を介して連結された重合体は、プロテアソームによるタンパク質分解の目印として機能している。これまで、Lys48 連結型のコピキチン 2 量体については、分子表面の疎水性領域がドメイン間相互作用により遮蔽された閉構造が主に形成されているものと報告されてきた。本研究では、試験管内酵素反応を工夫することによって調製した野生型コピキチン 2 量体と、2 つのイソペプチド結合を介して環状構造を形成したコピキチン 2 量体の立体構造解析を行った。コピキチンの単量体と環状 2 量体をそれぞれ開構造と閉構造のモデルとして、野生型 2 量体との NMR 化学シフトを比較した結果、Lys48 を介して連結された野生型コピキチン 2 量体の 75% は、pH7.0 において開構造を形成していることが示された。さらに、溶液 pH を下げるにつれて開構造の占める割合は増大し、pH4.5 では専ら開構造のみとなった。すなわち、Lys48 を介して連結されたコピキチン 2 量体は、従来考えられていたのとは異なり、水溶液中で疎水表面を露出した開構造を専ら呈していることが明らかとなった。
- b) 免疫グロブリン G (IgG) の Fc 領域には N 型糖鎖が結合している。この糖鎖上の  $\alpha$ 1,6 フコース残基を欠損させると、Fc $\gamma$  レセプター IIIa (Fc $\gamma$ RIIIa) に対する IgG-Fc の親和性が有意に増大し、その結果、NK 細胞を介した抗体依存性細胞障害活性 ADCC が劇的に向上することが示されている。我々は細胞外領域のみからなる可溶性 Fc $\gamma$ RIIIa (sFc $\gamma$ RIIIa) と Fc の非フコシル体の複合体の結晶構造を 2.2 Å 分解能で決定することに成功した。これにより、Fc と sFc $\gamma$ RIIIa の複合体は、タンパク質間相互作用のみならず、糖鎖とタンパク質の間の相互作用、さらには糖鎖同士の相互作用により安定化されていることが明らかとなった。しかしながら、Fc の糖鎖がフコシル化されると sFc $\gamma$ RIIIa の Asn162 糖鎖に対して立体障害を生じることが示された。このことが、フコースの除去に伴って IgG の Fc $\gamma$ RIIIa への親和性が増大し、ADCC 活性が向上することの理由の 1 つである。また、これまで我々は NMR 解析により、Fc 非フコシル体の Tyr296 はレセプター非存在下では複数のコンフォメーションをとっていることを示していたが、本研究で明らかにした複合体中では、Tyr296 の側鎖芳香環が sFc $\gamma$ RIIIa の糖鎖と Lys128 に挟まれるかたちで複合体の安定化に寄与していた。これに対して、フコシル化された Fc では、フコースが Tyr296 と分子内で相互作用してその動きを拘束しており、Fc と sFc $\gamma$ RIIIa との相互作用に対して抑制的にはたらくている。このこともフコースの除去に伴って Fc $\gamma$ RIIIa との親和性が向上する要因であると考えられる。本研究により、IgG の Fc 上のフコース残基は、糖鎖間の相互作用およびアミノ酸残基の運動性を制御することによって、ADCC 活性に劇的な影響を与えていることが示された。
- c) タンパク質の 4 次構造の動態を解明することは、その機能発現機構やサブユニット会合機構を理解するうえで重要である。我々は、タンパク質の重水素標識を利用した中性子小角散乱 (SANS) 法により、ホモオリゴマータンパク質のサブユニット交換の速度論解析を行う方法を開発した。具体的には、重水素標識を施したプロテアソーム  $\alpha$ 7 サブユニットのホモ 14 量体を調製し、これを非標識 14 量体と混合した後の SANS プロファイルの経時変化を追跡した。速度論解析の結果、交換可能なサブユニットはホモ 14 量体中で 2 つのみに限られ、それらのサブユニット交換は 2 段階の過程からなっ

ていることが示された。これまではプロテアソームの  $\alpha 7$  サブユニットは、ホモ 14 量体中で等価な構造をしているとみなされていたが、サブユニット交換の速度論解析からその 4 次構造の非対称性が浮かび上がってきた。本方法は今後様々なオリゴマータンパク質に応用可能であり、4 次構造の揺らぎに関する有用な知見をもたらすことが期待される。また、アミロイド  $\beta$  ( $A\beta$ ) がガングリオシド GM1 のクラスター上で  $\alpha$  ヘリックス構造から  $\beta$  構造へと転移する過程に関する構造的知見を得るため、NMR 法と真空紫外円二色法による構造解析を行った。これにより、 $A\beta$  が GM1 ミセル上に高密度に存在している条件下では、C 末端部での分子間相互作用を介した  $\beta$  構造形成が促されることが示された。

#### B-1) 学術論文

**M. YAGI-UTSUMI, K. MATSUO, K. YANAGISAWA, K. GEKKO and K. KATO**, “Spectroscopic Characterization of Intermolecular Interaction of  $A\beta$  Molecules Promoted on GM1 Micelles,” *Int. J. Alzheimer’s Dis.* **2011**, e925073 (8 pages) (2011).

**M. KANAGAWA, T. SATOH, A. IKEDA, Y. NAKANO, H. YAGI, K. KATO, K. KOJIMA-AIKAWA and Y. YAMAGUCHI**, “Crystal Structures of Human Secretory Proteins ZG16p and ZG16b Reveal a Jacalin-Related  $\beta$ -Prism Fold,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **404**, 201–205 (2011).

**N. SRIWILAIJAROEN, S. KONDO, H. YAGI, N. TAKEMAE, T. SAITO, H. HIRAMATSU, K. KATO and Y. SUZUKI**, “N-Glycans from Porcine Trachea and Lung: Predominant NeuAc $\alpha$ 2-6Gal Could Be a Selective Pressure for Influenza Variants in Favor of Human-Type Receptor,” *PLoS ONE* **6**, e16302 (8 pages) (2011).

**K. ASAMITSU, Y. HIBI, K. IMAI, A. F. B. VICTORIANO, E. KURIMOTO, K. KATO and T. OKAMOTO**, “Functional Characterization of Human Cyclin T1 N-Terminal Region for Human Immunodeficiency Virus-1 Tat Transcriptional Activation,” *J. Mol. Biol.* **410**, 887–895 (2011).

**Y. KAMIYA, S. YAMAMOTO, Y. CHIBA, Y. JIGAMI and K. KATO**, “Overexpression of a Homogeneous Oligosaccharide with  $^{13}\text{C}$  Labeling by Genetically Engineered Yeast Strain,” *J. Biomol. NMR* **50**, 397–401 (2011).

**S. YAMAMOTO, T. YAMAGUCHI, M. ERDÉLYI, C. GRIESINGER and K. KATO**, “Paramagnetic Lanthanide Tagging for NMR Conformational Analyses of N-Linked Oligosaccharides,” *Chem. –Eur. J.* **17**, 9280–9282 (2011).

**S. HANASHIMA, K. KATO and Y. YAMAGUCHI**, “ $^{13}\text{C}$ -NMR Quantification of Proton Exchange at LewisX Hydroxyl Groups in Water,” *Chem. Commun.* **47**, 10800–10802 (2011).

**M. SUGIYAMA, E. KURIMOTO, H. YAGI, K. MORI, T. FUKUNAGA, M. HIRAI, G. ZACCAI and K. KATO**, “Kinetic Asymmetry of Subunit Exchange of Homooligomeric Protein as Revealed by Deuteration-Assisted Small-Angle Neutron Scattering,” *Biophys. J.* **101**, 2037–2042 (2011).

**T. HIRANO, O. SERVE, M. YAGI-UTSUMI, E. TAKEMOTO, T. HIROMOTO, T. SATOH, T. MIZUSHIMA and K. KATO**, “Conformational Dynamics of Wild-Type Lys-48-Linked Diubiquitin in Solution,” *J. Biol. Chem.* **286**, 37496–37502 (2011).

**T. MIZUSHIMA, H. YAGI, E. TAKEMOTO, M. SHIBATA-KOYAMA, Y. ISODA, S. IIDA, K. MASUDA, M. SATOH and K. KATO**, “Structural Basis for Improved Efficacy of Therapeutic Antibodies on Defucosylation of Their Fc Glycans,” *Genes Cells* **16**, 1071–1080 (2011).

**H. YAGI, E. OHNO, S. KONDO, A. YOSHIDA and K. KATO**, “Development and Application of Multidimensional HPLC Mapping Method for O-Linked Oligosaccharides,” *Biomolecules* **1**, 48–62 (2011).

B-2) 国際会議のプロシーディングス

**Y. UEKUSA, M. KAMIHARA-ISHIJIMA, O. SUGIMOTO, T. ISHII, S. KUMAZAWA, K. NAKAMURA, K. TANJI, K. KATO, A. NAITO and T. NAKAYAMA**, “The study of catechin-phospholipid membranes interaction by solution and solid-state NMR spectroscopy,” *Proceedings of The 4th International Conference on O-CHA (Tea) Culture and Science (ICOS 2010)*, HB-P-28 (2011).

B-3) 総説, 著書

**K. KATO**, “Systematic structural analyses of glycoconjugates: NMR and sugar library approaches,” *高分子* **60**, 116 (2011).  
**O. SERVE, Y. KAMIYA and K. KATO**, “Redox-dependent chaperoning, following PDI footsteps,” in *Protein Folding*, E. C. Walters, Ed., NOVA Science Publishers, 489–500 (2011).

加藤晃一, 「920MHz超高磁場NMR装置を用いた神経変性疾患関連タンパク質の構造解析」*Nanotech Japan Bulletin*, **Vol. 4**, No. 2 (2011).

**Y. KAMIYA, M. YAGI-UTSUMI, H. YAGI and K. KATO**, “Structural and molecular basis of carbohydrate–protein interaction systems as potential therapeutic targets,” *Curr. Pharm. Des.* **17**, 1672–1684 (2011).

高橋禮子, 近藤幸子, 加藤晃一, 「多次元糖鎖マップ法とウェブアプリケーション“ GALAXY ”」*生物薬科学実験講座 第4巻 糖質 II ]糖タンパク質実験法* 川寄敏祐編, 廣川書店, 64–76 (2011).

矢木宏和, 加藤晃一, 「多次元HPLC マッピングによる糖タンパク質糖鎖の定量的プロファイリング」*バイオ医薬品開発における糖鎖技術* 早川堯夫, 掛樋一晃, 平林淳監修, シーエムシー出版, 242–252 (2011).

B-4) 招待講演

**K. KATO**, “Sugar–protein interaction systems as potential therapeutic targets,” 98<sup>th</sup> Indian Science Congress, Chennai (India), January 2011.

**H. YAGI, N. TAKAHASHI and K. KATO**, “Development of multi-dimensional HPLC mapping for N-glycans and its application for functional glycomics,” 98<sup>th</sup> Indian Science Congress, Chennai (India), January 2011.

**T. YAMAGUCHI, S. YAMAMOTO, M. ERDÉLYI, C. GRIESINGER and K. KATO**, “NMR conformational analysis of N-linked oligosaccharides by paramagnetic tagging,” 98<sup>th</sup> Indian Science Congress, Chennai (India), January 2011.

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」*技術情報協会セミナー「バイオ / 抗体医薬品における特性解析技術と免疫原性評価法*」東京, 2011年1月.

**K. KATO**, “Structural Glycomic Approaches to Molecular Recognition Events on Cell Surfaces,” IX<sup>th</sup> International Symposium on “Biochemical Roles of Eukaryotic Cell Surface Macromolecules,” Trivandrum (India), January 2011.

**K. KATO, H. YAGI, Y. KAMIYA, M. NISHIO, T. YAMAGUCHI, S. YAMAMOTO, M. YAGI-UTSUMI and T. MIZUSHIMA**, “A systematic approach to structural glycobiology,” Third Korea-Japan Seminar on Biomolecular Sciences-Experiments and Simulations, Jeju (Korea), February 2011.

加藤晃一, 「複合糖質の構造生物学」*岡崎統合バイオサイエンスセンター10周年記念シンポジウム*, 岡崎, 2011年2月.

矢木真穂, 「ガングリオシドクラスターに結合したアミロイドβペプチドのNMR構造解析」*立命館グローバル・イノベーション研究機構「蛋白質のフォールディングおよびフォールディング病発症機構の解明のための統合研究」*セミナー, 草津, 2011年3月.

加藤晃一,「天然及び非天然変性状態にあるタンパク質のNMR 研究の実際」新学術領域研究「天然変性タンパク質の分子認識と機能発現」第二回若手育成講習会,大阪,2011年4月.

加藤晃一,「糖鎖によるタンパク質の運命と機能の制御」第27回日本DDS学会,東京,2011年6月.

加藤晃一,「Molecular mechanisms underlying neurodegenerative disorders as studied by NMR spectroscopy(NMR で探る神経変性疾患の分子メカニズム)」第8回原子・分子・光科学(AMO)討論会,東京,2011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23年度合同班会議,夕張,2011年6月.

矢木真穂,加藤晃一,「ガングリオシドクラスターを舞台とするアミロイドβの構造転移と分子間相互作用」第11回日本蛋白質科学会年会,大阪,2011年6月.

矢木真穂,「GM1 クラスターを舞台とするアミロイドβの重合開始機構」第12回若手NMR研究会,滋賀,2011年6月.

神谷由紀子,「糖タンパク質の細胞内運命決定機構の構造基盤」生化学若い研究者の会第3回名古屋支部セミナー,名古屋,2011年8月.

加藤晃一,「糖鎖が広げるタンパク質の世界」科学技術振興機構研究開発戦略センター俯瞰ワークショップ「構造生命科学」東京,2011年9月.

**K. KATO**, “Structural and molecular basis of carbohydrate-protein interaction systems as potential therapeutic targets,” The 31<sup>st</sup> Naito Conference: Glycan Expression and Regulation [II] Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond, Sapporo, September 2011.

**K. KATO**, “Conformational fluctuations of oligomeric proteins involved in the ubiquitin-proteasome system,” The 49<sup>th</sup> Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Himeji, September 2011.

**K. KATO**, “Structural and dynamics views of the ubiquitin-proteasome system,” The 11<sup>th</sup> KIAS Conference on Protein Structure and Function, Seoul (Korea), October 2011.

**K. KATO**, “A Systematic Approach for Structural Glycoproteomics,” The 23<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology, Seoul (Korea), October 2011.

**K. KATO, H. YAGI, T. YAMAGUCHI, S. YAMAMOTO, Y. KAMIYA and M. YAGI-UTSUMI**, “NMR analyses of carbohydrate-protein interaction systems as potential therapeutic targets,” Glycobiology Japan-Netherlands Joint Seminar 2011, Nagoya, October 2011.

**K. KATO**, “Structural views of functional and pathological roles of sugar chains,” The 71<sup>st</sup> Okazaki Conference on “New perspectives on molecular science of glycoconjugates,” Okazaki, October 2011.

**K. KATO**, “Structural views of biological functions of sugar chains,” Shenyang Pharmaceutical University Special Seminar, Shenyang (China), October 2011.

**M. YAGI-UTSUMI**, “Conformational transition and intermolecular interaction of amyloid β molecules promoted on GM1 clusters,” Shenyang Pharmaceutical University Special Seminar, Shenyang (China), October 2011.

西尾美穂,神谷由紀子,佐藤匡史,内海真穂,加藤晃一,「レクチンとカルシウム結合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」糖鎖科学名古屋拠点第9回若手のカフォーラム,岐阜,2011年10月.

**Y. KAMIYA**, “Molecular basis of glycoprotein-fate determination through interactions with intracellular lectins,” Global COE Mini-Symposium: Toward Systems Glycobiology “Biosynthesis and catabolism of glycoproteins,” Nagoya, November 2011.

加藤晃一,「多次元HPLC法およびNMR法による糖鎖解析技術」技術情報協会セミナー「抗体/バイオ医薬品における各種分析手法とバリデーション」東京,2011年11月.

加藤晃一,「IgGとFc $\gamma$ レセプターIIIの相互作用における糖鎖の役割」第9回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム,名古屋,2011年11月.

加藤晃一,「第3の生命鎖=糖鎖の分子科学」計算分子科学研究拠点第1回実験化学との交流シンポジウム,京都,2011年11月.

神谷由紀子,「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」2011年度特定領域「タンパク質の社会」全体班会議,大分,2011年11月.

#### 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).

加藤晃一,日本薬学会学術振興賞(2011).

矢木真穂,第11回蛋白質科学会年会若手奨励賞(2011).

山本さよこ,The International Symposium on Nuclear Magnetic Resonance 2011 (ISNMR 2011) 若手ポスター賞(2011).

加藤晃一,第48回ベルツ賞(2011).

#### 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-).

##### 学会の組織委員等

The 71st Okazaki Conference "New perspectives on molecular science of glycoconjugates" 組織委員(2011).

##### 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-).

生物系特定産業技術研究支援センターイノベーション創出基礎的研究推進事業書類審査専門委員(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–).

*Glycobiology*, Editorial board member (2011–).

#### 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」2011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」2011年.

理化学研究所, 客員研究員, 2009年 4月–.

総合研究大学院大学統合生命科学教育プログラム, 「生体分子科学」2011年.

国立長寿医療研究センター認知症先進医療開発センター, 客員研究員, 2011年 4月–.

#### B-10) 競争的資金

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).

科学技術振興機構プラザ育成研究調査, 「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バ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「揺らぎが機能を決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連関の探査」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(研究活動スタート支援)「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-2010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-).

科研費研究活動スタート支援「アミロイド線維末端の特異構造の解明に基づく線維伸長メカニズムの理解」矢木真穂(2011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(2011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(2011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(2011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(2011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(2011年).

#### C) 研究活動の課題と展望

生命システムを構成する分子集団の原子レベルでのミクロな振る舞いが、一定の秩序のもとに自己組織化して細胞の活動を制御し、精神活動をはじめとする高次生体機能を発動する仕組みを統合的に理解することを模索する。そのために、生体高分子の局所的なダイナミクスへの摂動が、巨視的な構造・機能の変化へと展開する仕組みを解明するための、適切なモデル系の構築とアプローチ法の開発に力を注ぐ。特に、糖鎖が担う生命情報を解読するために、その分子動態を精密に解析するための分光学的実験手法を理論的アプローチと統合し、より複雑な糖鎖認識システムへと研究対象を拡張することを目指す。一方、生体分子の自己組織化のメカニズムを理解するために、アミロイド形成やプロテアソームの4次構造形成を対象として、新たな実験手法の開発を行いつつ、秩序ある分子集合体の構築原理を理解することを目指した研究を展開する。さらに、神経変性疾患のように、生命システムの秩序の破綻がもたらす病気のメカニズムの解明を目指した研究も一層推進する。

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) 高原子価ヘム酵素反応中間体の機能発現の分子機構の研究
- b) サレン錯体による混合原子価状態の電子構造の研究
- c) 白血球の抗菌に関わる酵素反応中間体の研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 高原子価鉄オキソ錯体は，さまざまな酸化反応に関わる金属酵素の活性種であると考えられている。例えばオキソ鉄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。オキソ鉄4価ポルフィリン カチオンラジカル錯体は，不活性な炭化水素類を酸化できるため高い酸化還元電位を持っていると考えられてきた。しかし錯体の不安定性からその電気化学的特性は明らかになっていなかった。我々は，低温での電気化学測定を可能にするため，セルの開発を行った。その結果，さまざまなオキソ鉄4価ポルフィリン カチオンラジカル錯体の電気化学測定に成功した。実験の結果，オキソ鉄4価ポルフィリン カチオンラジカル錯体は，予想外に酸化電位が低いことがわかった。また，酸化還元電位から酸化反応の反応機構を詳細に解明することができた。
- b) サレン錯体は，合成の容易さやその物性の多様性から光学材料，磁性材料，不斉酸化触媒など広く利用されている。我々は，サレン錯体を用いて生体内の金属酵素や Jacobsen 触媒と呼ばれる不斉エポキシ化触媒の反応活性種や反応機構の研究を行ってきた。今回我々は，マンガン3価およびニッケル2価サレン錯体の一電子酸化生成物の研究を行った。その結果，金属イオンは酸化を受けず，配位子のサレンのフェノール基が一電子酸化を受けたマンガン3価およびニッケル2価サレンラジカル錯体を生成していることが見いだした。サレンは分子内に2つのフェノール基を有しているため，そこから生成したサレンラジカル錯体は混合原子価状態となる。混合原子価状態に由来する吸収を正しく帰属するため，非対称なサレン錯体を合成した。非対称サレン錯体を一電子酸化すると，先に記した対称サレン錯体と同様にサレンラジカル錯体を生成した。対象なサレンラジカル錯体の分光学的データと比較することにより混合原子価由来のピークを正確に帰属することができた。
- c) 生体内の白血球は，外部から細菌などが体内に侵入すると細菌を取り囲み，白血球中のミエロペルオキシダーゼという酵素が塩素イオンから次亜塩素酸を作り出し細菌を撃退している。ミエロペルオキシダーゼがどのようにして次亜塩素酸を作り出しているかは未解明である。これまでの研究で，酵素が過酸化水素と反応して，高原子価オキソヘム錯体を形成することが知られていて，これが塩素イオンを酸化して次亜塩素酸を合成していると考えられている。我々は，高原子価オキソヘム錯体のモデルとなるオキソ鉄4価ポルフィリン カチオンラジカル錯体を合成し，塩素イオンとの反応を研究した。電子供与性の強いオキソ鉄4価ポルフィリン カチオンラジカル錯体は塩素イオンを添加しても反応はまったく起こらないが，電子吸引性の強いオキソ鉄4価ポルフィリン カチオンラジカル錯体では塩素イオンと迅速に反応することを見いだした。反応生成物を解析した結果，オキソ鉄4価ポルフィリン錯体を生成していることがわかった。さらに反応過程を速度論的手法により研究を行った結果，反応中間体として鉄3価次亜塩素酸錯体を經由し，それがラジカル的に分解してオキソ鉄4価ポルフィリン錯体を生成していることを提案することができた。

B-1) 学術論文

**T. KURAHASHI and H. FUJII**, “One-Electron Oxidation of Electronically-Diverse Manganese(III) and Nickel(II) Salen Complexes: Transition from Localized to Delocalized Mixed-Valence Ligand Radicals,” *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 8307–8316 (2011).

**A. TAKAHASHI, T. KURAHASHI and H. FUJII**, “Redox Potentials of Oxoiron(IV) Porphyrin  $\pi$ -Cation Radical Complexes: Participation of Electron Transfer Process in Oxygenation Reactions,” *Inorg. Chem.* **50**, 6922–6928 (2011).

**Z. CONG, T. KURAHASHI and H. FUJII**, “Oxidation of Chloride Ion and Subsequent Chlorination of Organic Compounds by Oxoiron(IV) Porphyrin  $\pi$ -Cation Radical Complexes,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **50**, 9935–9939 (2011).

B-4) 招待講演

**H. FUJII**, “ $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  NMR Spectroscopy of Heme-Bound Cyanide ( $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ ) in Ferric Heme Proteins,” 241<sup>st</sup> ACS National Meeting, Anaheim (U.S.A.), March 2011.

**H. FUJII**, “Functional Role of Unique Heme  $d_1$  in Nitrite Reduction by Heme-Containing Nitrite Reductase,” Japan-Korea Seminars on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Jeju (Korea), February–March 2011.

藤井 浩, 「金属酵素による酸素活性化機構と酵素機能の関わり」山形大学, 山形, 2011年9月.

藤井 浩, 「金属酵素による酸素活性化機構と酵素機能の関わり」山手イブニングセミナー, 岡崎統合バイオサイエンスセンター, 岡崎, 2011年12月.

B-6) 受賞, 表彰

高橋昭博, 日本化学会学生講演賞 (2007).

高橋昭博, 第41回酸化反応討論会ポスター賞 (2008).

王 春蘭, 第44回酸化反応討論会ポスター賞 (2011).

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–.

山形大学大学院理学専攻化学研究科, 集中講義「物質生命化学特別講義」2011年9月8日–9日.

B-10) 競争的資金

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(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).

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).

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).

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(C),「高原子価マンガノキソ錯体の精密反応制御」倉橋拓也 (2011年-2015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～2011年3月31日)\* )

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，SiO<sub>2</sub>/Si 表面上および単原子ステップ TiO<sub>2</sub> 単結晶表面上に形成した脂質二重膜中での斜入射照明法による1分子追跡を行った。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 TiO<sub>2</sub> 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 TiO<sub>2</sub>(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) 培養型プレーナーパッチクランプ法による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ばって素子開発を進める方針とした。プレーナーパッチクランプによる神経細胞ネットワークでの電流計測は世界的にも興味を集めているが成功例はまだない。成功させるためには，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。安定電極の開発と，両面エンボスによる細胞位置固定のマイクロパタン構造の形成により，安定動作のできる素子開発に成功した。レーザー刺激電流計測とカブサイシン刺激による TRPV1 チャンネル電流計測において，ホールセルモードでは，ピペットパッチクランプに匹敵する性能であることを確認した。

B-1) 学術論文

A. ANDO, H. UNO, T. ASANO, T. URISU and S. HAMAGUCHI, "Arrangement of PC12 Cells on a Silicon Chip via Extracellular Matrix (ECM) Layer Patterning by Atmospheric Pressure Plasmas," *Plasma Fusion Res.* **6**, 1306155 (4 pages) (2011).

A. ANDO, T. ASANO, T. URISU and S. HAMAGUCHI, "Micro-Pattern Formation of Extracellular Matrix (ECM) Layers by Atmospheric-Pressure Plasmas and Cell Culture on the Patterned ECMs," *J. Phys. D: Appl. Phys.* **44**, 482002 (5 pages) (2011).

R. TERO, G. SAZAKI, T. UJIHARA and T. URISU, "Anomalous Diffusion in Supported Lipid Bilayers Induced by Oxide Surface Nanostructures," *Langmuir* **27**, 9662–9665 (2011).

A. SUMINO, T. DEWA, T. TAKEUCHI, R. SUGIURA, N. SASAKI, N. MISAWA, R. TERO, T. URISU, A. T. GARDINER, R. J. COGDELL, H. HASHIMOTO and M. NANGO, "Construction and Structural Analysis of Tethered Lipid Bulayer Containg Photosynthetic Antenna Proteins for Functional Analysis," *Biomacromolecules* **12**, 2850–2858 (2011).

M. TAKEUCHI, Y. NAGAOKA, T. YAMADA, H. TAKAKURA and T. OZAWA, "Ratiometric Bioluminescence Indicators for Monitoring Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate in Live Cells Based on Luciferase-Fragment Complementation," *Anal. Chem.* **82**, 9306–9313 (2010).

B-4) 招待講演

宇理須恒雄,「ナノメデイシン ナノテクの医療応用」S-匠ナノメデイシンプロジェクト終了報告会,くびきメッセ国際会議場,島根,2011年3月.

宇理須恒雄,「神経細胞ネットワーク素子の開発——ナノメデイシンからの発想——」第60回高分子討論会,岡山大学津島キャンパス,岡山,2011年9月.

B-5) 特許出願

特願 2011-278445,「プレーナーパッチクランプ装置,該装置用電極部及び細胞イオンチャンネル電流計測方法」宇理須恒雄, Wang Zhihong, 宇野秀隆, Obuliraju Senthil Kumar (独立行政法人科学技術振興機構)2011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・自由電子レーザー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,研究囑託 (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 23<sup>rd</sup>, 24<sup>th</sup>, 25<sup>th</sup> Annual International Symposium on Microlithography, 論文委員 (1997, 1998, 1999).  
レーザー学会第19回年次大会プログラム委員 (1998–1999).  
レーザー学会第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)コスモ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

手老は2010年9月に豊橋技術科学大学に異動し,宇理須は定年後4月より名古屋大学に特任教授として異動した。異動後  
も分子科学研究所で進めていたテーマ,[A-2(a)(手老),A-2(b)宇理須]を引き続き研究をさせていただいております。分子  
研在籍中に発案し暖かくご支援いただいた研究テーマをより大きくたくましく育て,社会に還元することをめざします。

\* ) 2011年3月31日退職

2011年4月1日名古屋大学特任教授

## 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) 時間分解赤外分光法による古細菌型ロドプシンの光誘起構造変化の解明
- b) 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
- c) 全反射赤外分光法による  $Mg^{2+}$  輸送体 MgtE のイオン選択機構の解明
- d) 低収量生体試料の効率的な時間分解計測を可能にするマイクロ流体ミキサーの開発
- e) 体内時計の調節に関わる光受容タンパク質メラノプシンの機能発現機構の解明
- f) 各種イオンチャネルタンパク質の解析に向けた大量発現系の構築

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 古細菌型ロドプシンは光駆動プロトンポンプとして機能するバクテリオロドプシンや塩化物イオンポンプであるハロロドプシンなどがあり、最近ではオプトジェネティクス分野で利用が進んでいる光開閉チャネルであるチャンネルロドプシンなど、細胞膜のイオン透過に重要な役割を果たすものが知られている。一方、これらのイオン輸送過程の分子機構はバクテリオロドプシン以外ではあまりよく分かっていないのが現状である。時間分解赤外分光計測を適用することでタンパク質の構造変化を解明することを目指した研究を進めている。今年度は、ハロロドプシンについて解析が進んでおり、光反応中間体での構造変化をタンパク質骨格の amide A (N-H 伸縮) から明らかにした研究について論文執筆中である。
- b) 金ナノ粒子や金薄膜などを利用した表面増強分光法が近年着目を集めている。全反射赤外分光計測用のシリコンブリズム表面に ~10 nm 程度の厚みで金薄膜を形成させ、膜タンパク質であるハロロドプシンの表面増強赤外分光計測を試みている。これまでに測定に最適な厚みが ~10 nm 程度であることを確認し、金薄膜上へのハロロドプシンの固定を His タグと Ni-NTA との錯体形成を利用することで実現している。N 末および C 末に His タグを導入したハロロドプシンや  $\beta$  シート構造を欠落した変異体などを用いて増強赤外吸収バンドの帰属を進めている。
- c) MgtE は、細胞内  $Mg^{2+}$  イオン濃度の恒常性維持に関わる膜輸送蛋白質であり、 $Mg^{2+}$  濃度依存的なゲート開閉により輸送活性調節を行っている。 $Mg^{2+}$  に対する MgtE の高いイオン選択性の分子機構を明らかにすることを目的として、脂質二重膜に再構成した MgtE に対して、 $Mg^{2+}$  もしくは  $Ca^{2+}$  を含んだ緩衝液を交換することでイオン交換誘起赤外差スペクトルを全反射赤外分光法 (ATR-FTIR) を用いて測定を行っている。また、変異体についても同様の測定を行うことで  $Mg^{2+}$  結合サイトの同定も行い、加えて野生型に滴定実験を行うことで、膜貫通ドメインに存在する  $Mg^{2+}$  結合サイトにおいては  $Mg^{2+}$  の方が  $Ca^{2+}$  よりも約 30 倍高い親和性を持っていることを明らかにした。
- d) 生体分子の分子機構を明らかにするためには、刻一刻と変化するコンフォメーションを実時間観察することが重要である。しかし、溶液の混合によって反応を開始する既存の方法では大量の試料を必要とするために対象にできる生体試料が限定されてしまう。そこで新規のマイクロ流体連続フローミキサーを装置開発室と共に開発し、顕微分光法と組み合わせることによって、試料の消費量を抑制した新規の計測系を構築している。現在、蛍光分子が高效率で混合されていることを蛍光顕微鏡で確認しており、蛍光標識した低収量生体試料 (特に膜蛋白質) の機能発現に伴うダイナミクスあるいは自己組織化の実時間観察へと展開していく予定である。
- e) 動物は外界の光情報を、視覚のみならず体内時計の調節にも用いている。近年、メラノプシンという光受容タンパク質が、ヒトやマウスにおける体内時計の光による調節に関わることが明らかになった。しかし試料調製の困難さから

これまでメラノプシンがどのように光情報を受容し・伝達するのは不明であった。今年度は比較的試料調製が容易な頭索類ナメクジウオのメラノプシンに対して、さらに試料調製を容易にするため、様々な変異を導入して発現量を上げる試みを行った。その結果、野生型と比べて10倍近くにまで発現量を上げることに成功した。現在、その変異体を用いて赤外分光解析に取り組むと共に、同じ変異をヒトやマウスのメラノプシンにも導入することを試みている。

- f) イオンチャネルは、様々な細胞特に神経細胞が機能するために重要な役割を果たす膜タンパク質である。近年様々なイオンチャネルの構造解析が爆発的に進展しているが、解析が進んでいないチャネルや詳細がわかっていないメカニズムが残されている。今年度は、各種哺乳培養細胞を用いて様々なイオンチャネルタンパク質の大量発現系を構築する試みを行った。その結果、光を受容してチャネルが開閉するチャネルロドプシンの各種変異体の中で、よく発現するものを見出すことに成功した。また、その機能不全が不整脈などにかかわるイオンチャネル KCNQ の発現系の構築にも現在取り組んでいる。

#### B-1) 学術論文

**Y. FURUTANI, T. MURATA and H. KANDORI**, “Sodium or Lithium Ion-Binding-Induced Structural Changes in the K-Ring of V-ATPase from *Enterococcus hirae* Revealed by ATR-FTIR Spectroscopy,” *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 2860–2863 (2011).

**A. NAKATSUMA, T. YAMASHITA, K. SASAKI, A. KAWANABE, K. INOUE, Y. FURUTANI, Y. SHICHIDA and H. KANDORI**, “Chimeric Microbial Rhodopsins Containing the Third Cytoplasmic Loop of Bovine Rhodopsin,” *Biophys. J.* **100**, 1874–1882 (2011).

**J. SASAKI, H. TAKAHASHI, Y. FURUTANI, H. KANDORI and J. L. SPUDICH**, “Sensory Rhodopsin-I as a Bidirectional Switch: Opposite Conformational Changes from the Same Photoisomerization,” *Biophys. J.* **100**, 2178–2183 (2011).

**T. KONUMA, T. KIMURA, S. MATSUMOTO, Y. GOTO, T. FUJISAWA, A. R. FERSHT and S. TAKAHASHI**, “Time-Resolved Small-Angle X-Ray Scattering Study of the Folding Dynamics of Barnase,” *J. Mol. Biol.* **405**, 1284–1294 (2011).

**X. ZHANG, V. Q. LAM, Y. MOU, T. KIMURA, J. CHUNG, S. CHANDRASEKAR, J. R. WINKLER, S. L. MAYO and S. O. SHAN**, “Direct Visualization Reveals Dynamics of a Transient Intermediate during Protein Assembly,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, 6450–6455 (2011).

#### B-3) 総説, 著書

**A. KAWANABE, Y. FURUTANI, K.-H. JUNG and H. KANDORI**, “An inward proton transport using Anabaena sensory rhodopsin,” *J. Microbiol.* **49**, 1–6 (2011).

古谷祐詞, 「全反射赤外分光法による膜タンパク質の構造機能相関研究の現状と展望」*化学と工業* **64**, 694–695 (2011).

**S. TAKAHASHI and T. KIMURA**, “Watching Dynamics of Events in Protein Folding in the Time Domain from Submilliseconds to Seconds: Continuous-Flow Rapid-Mixing Infrared Spectroscopy,” in *Protein Folding and Misfolding: Shining Light by Infrared Spectroscopy*, 91–116 (2011).

#### B-4) 招待講演

**Y. FURUTANI**, “FTIR Studies of Membrane Proteins,” The Winter School of Sokendai/Asian CORE Program “Frontiers of Molecular Science—Life, Material, Energy, and Space,” Okazaki Conference Center, Okazaki, August 2011.

**Y. FURUTANI**, “Ion-binding-induced Structural Changes in Membrane Proteins Studied by ATR-FTIR Spectroscopy,” Third Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences: —Experiments and Simulations, Lotte Hotel Jeju, Jeju (Korea), February 2011.

古谷祐詞,「イオン輸送タンパク質の分子科学」分子科学研究所 - 豊田中央研究所研究交流会, 豊田中央研究所, 長久手, 2011年6月.

古谷祐詞,「膜タンパク質のエネルギー変換および情報変換の分子機構」自然科学研究機構教育研究評議会(第28回)自然科学研究機構, 東京, 2011年6月.

**Y. FURUTANI**, “Ion-protein interactions studied by ATR-FTIR spectroscopy,” 14th Asian Chemical Congress, Bangkok (Thailand), August 2011.

**Y. FURUTANI and T. KIMURA**, “Development of stopped-flow attenuated total reflection FTIR spectroscopy for detecting dynamic structural changes in ion transporters,” The 49th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (Symposium), University of HYOGO, Himeji (Japan), September 2011.

**Y. FURUTANI**, “Stimulus-induced difference infrared spectroscopy for receptor and transporter proteins in cell membrane,” Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing (China), October 2011.

**Y. FURUTANI**, “Stimulus-induced difference infrared spectroscopy for receptor and transporter proteins in cell membrane,” Henan University, Kaifeng (China), October 2011.

**Y. FURUTANI**, “Stimulus-induced difference infrared spectroscopy for receptor and transporter proteins in cell membrane,” 河南省物理学会第9次会員代表大会, Kaifeng (China), October 2011.

**Y. FURUTANI**, “Stimulus-induced difference infrared spectroscopy for receptor and transporter proteins in cell membrane,” College of Life Sciences Henan Normal University, Xinxiang (China), October 2011.

古谷祐詞,「偏光時間分解赤外分光法による高次分子システムではたらく水分子の構造変化解析への挑戦」特定領域研究「高次系分子科学」第12回ミニ公開シンポジウム, 松風園三谷温泉, 蒲郡, 2011年10月.

古谷祐詞,「赤外線でタンパク質内部の水素結合構造を語る」平成23年度生物構造学研究会「蛋白質中の水素・水分子の役割 - 中性子構造生物学の展望 -」テクノ交流館リコティ, 東海村, 2011年12月.

古谷祐詞,「赤外分光計測によるタンパク質研究の現状と未来」生物物理化学研究会シンポジウム「光といのち」名古屋工業大学, 名古屋, 2011年12月.

塚本寿夫,「光受容タンパク質ロドプシンの機能調節メカニズム」生化学若い研究者の会名古屋支部セミナー, 名古屋大学, 2011年8月.

#### 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

##### 学協会役員等

日本生物物理学会委員 (2010-2011).

日本生物物理学会分野別専門委員 (2010, 2011).

日本物理学会領域12運営委員 生物物理 (2011-2012).

日本化学会東海支部代議員 (2011).

##### 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).

自然科学研究機構平成22年度「若手研究者による分野間連携研究プロジェクト」膜輸送蛋白質によるイオン選択・透過・輸送の分子科学」古谷祐詞(2010年).

自然科学研究機構平成23年度「若手研究者による分野間連携研究プロジェクト」イオンチャネル蛋白質のイオン認識および開閉制御の分子機構解明」古谷祐詞(2011年).

科学技術振興機構さきがけ研究「様々な光エネルギー変換系における水分子の構造・機能相関解明」古谷祐詞(2011年-2014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).

科研費若手研究(A)「低収量生体分子の時間分解計測を目指したマイクロ流体ミキサーの開発」木村哲就(2011年-2013年).

## C) 研究活動の課題と展望

イオン輸送タンパク質や受容体などの膜タンパク質の機能発現の分子機構解明を赤外分光法などの各種分光法によって解明することを目的に研究を進めている。本年度から特任助教の塚本博士が加わり、培養細胞を用いることでGタンパク質共役型受容体(GPCR)の一種であるメラノプシンの機能的発現系の構築に成功しつつある。また、イオンチャネルについても生理研の久保義弘教授らとの共同研究を進めている。助教の木村博士も若手研究(A)の支援を受けて、低収量生体試料の効率的な時間分解計測を可能にするマイクロ流体ミキサーの開発を本格化させている。来年度は、バクテリオロドプシンやハロロドプシンの時間分解赤外分光計測やMg輸送タンパク質MgtEのイオン結合部位の赤外分光解析などの結果を原著論文にまとめる。大学院生の郭浩が博士論文研究として進めている金薄膜による表面増強効果によるハロロドプシンの赤外分光解析についても研究結果をまとめる予定である。今後の課題としては、ストップフロー法による時間分解赤外分光計測系の最適化、顕微赤外イメージングによる生細胞の動態観察などがある。

## 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。なかでもピンサー錯体分子が自発的に集積することで形成する分子集合体の三次元高次構造に立脚した新しい触媒機能システムの開拓に注力しつつある。すなわち単一の錯体分子としては触媒活性を示さない（あるいは極めて低活性な）モノマー分子がベシクル等の高次構造を化学結合を介さない自己集積によって形成し，その高次構造アーキテクチャーによって初めて高度な触媒機能が駆動されるシステムの開発を進めている。

B-1) 学術論文

**Y. OE and Y. UOZUMI**, "Tandem Olefin Migration-Aldol Condensation in Water with an Amphiphilic Resin-Supported Ruthenium Complex," *Synlett* 787–790 (2011).

**G. HAMASAKA, T. MUTO and Y. UOZUMI**, "Molecular-Architecture-Based Administration of Catalysis in Water: Self-Assembly of an Amphiphilic Palladium Pincer Complex," *Angew. Chem., Int. Ed.* **50**, 4876–4878 (2011).

**A. OHTAKA, R. KUROKI, T. TERATANI, T. SHINAGAWA, G. HAMASAKA, Y. UOZUMI, O. SHIMOMURA and R. NOMURA**, "Recovery of In Situ-Generated Pd Nanoparticles with Linear Polystyrene," *Green Sus. Chem.* **1**, 19–25 (2011).

**Y. HIRAI and Y. UOZUMI**, "C–N and C–S Bond Forming Cross Coupling in Water with Amphiphilic Resin-Supported Palladium Complexes," *Chem. Lett.* **40**, 934–935 (2011).

**H. OHTA, Y. UOZUMI and Y. M. A. YAMADA**, "Highly Active Copper-Network Catalyst for the Direct Aldol Reaction," *Chem. –Asian J.* **6**, 2545–2549 (2011).

**G. HAMASAKA, T. MUTO and Y. UOZUMI**, "A Novel Amphiphilic Pincer Palladium Complex: Design, Preparation and Self-Assembling Behavior," *Dalton Trans.* **40**, 8859–8868 (2011).

**H. OHTA, Y. YUYAMA, Y. UOZUMI and Y. M. A. YAMADA**, “In-Water Dehydrative Alkylation of Ammonia and Amines with Alcohols by a Polymeric Bimetallic Catalyst,” *Org. Lett.* **13**, 3892–3895 (2011).

**S. M. SARKER, Y. UOZUMI and Y. M. A. YAMADA**, “A Highly Active and Reusable Self-Assembled Poly (Imidazole/Palladium) Catalyst: Allylic Arylation/Alkenylation,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **50**, 9437–9441 (2011).

#### B-4) 招待講演

魚住泰広, 「水中での触媒の有機化学合成」水科学ワークショップ「水を知る, 水を活かす, 水を創る」埼玉, 2010年12月.

**Y. UOZUMI**, “Asymmetric Suzuki-Miyaura coupling,” 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu (U.S.A.), December 2010.

**Y. UOZUMI**, “Instantaneous cross-coupling using catalytic membrane-installed microchannel devices,” 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu (U.S.A.), December 2010.

**Y. UOZUMI**, “Heterogeneous catalytic asymmetric synthesis in water with polymeric palladium complexes,” 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu (U.S.A.), December 2010.

**Y. UOZUMI**, “New Aspects of Polymeric Palladium Catalysts,” A Mini Symposium of Homogenous Catalysis in Wuhan University, Wuhan (China), January 2011.

**Y. UOZUMI**, “Organic Reactions in Water with Polymeric Palladium Complexes,” Seminar to the Centre for Sustainable Chemical Processes, Durham (U.K.), March 2011.

**Y. UOZUMI**, “Water: As a Medium of Organic Transformations,” The 14<sup>th</sup> Asian Chemical Congress, Bangkok (Thailand), September 2011.

**Y. UOZUMI**, “Efficient Organic Transformations in Water with Polymer-Supported Transition Metal Catalysts,” The 14<sup>th</sup> Asian Chemical Congress, Bangkok (Thailand), September 2011.

**Y. UOZUMI**, “Catalytic Organic Transformation in Water,” The 14<sup>th</sup> Asian Chemical Congress, Bangkok (Thailand), September 2011.

魚住泰広, 「水中での有機分子変換を実現する高分子担持遷移金属触媒」第8回触媒相模セミナー, 神奈川, 2011年11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).

コンピナトリアル・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–).

The Chemical Record 編集委員 (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-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).

科学技術振興機構CREST研究,「反応媒体駆動原理の確立と革新的触媒プロセスの開発」魚住泰広(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の不斉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の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リ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、2012年2月に終了予定である。一方、環境調和型触媒反応開発からの発展としてCRETS研究「元素戦略」に採択され課題研究が2011年10月から開始されている。独自に開発してきた触媒の固定化手法を利用する「元素循環戦略」、および水中触媒機能発現において確立しつつある不均一系による触媒の高活性システムを適用した「元素減量戦略」が柱となる課題研究となる。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-CREST, 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す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) 炭素 - 水素結合から CO<sub>2</sub> へのヒドリド供給によるギ酸生成。初めての再生可能有機ヒドリド試薬。
- b) Ru- アンミン錯体からのプロトン解離と共役した電子移動反応による Ru- アミノラジカル錯体生成と、その酸化体を活性種とする触媒的なアルコール酸化反応。
- c) NAD/NADH 型の酸化還元能を有する配位子を持つ単核 Ru 錯体の光誘起 2, 4, 6 電子還元反応。
- d) 水の 4 電子酸化反応による酸素発生の前段階としての酸素 - 酸素生成過程の検出に初めて成功。

B-1) 学術論文

**T. TERATANI, T. KOIZUMI, T. YAMAMOTO, K. TANAKA and T. KANBARA**, “Deprotonation/Protonation of Coordinated Secondary Thioamide Units of Pincer Ruthenium Complexes: Modulation of Voltammetric and Spectroscopic Characterization of the Pincer Complexes,” *Dalton Trans.* **40**, 1–8 (2011).

**T. WADA, J. T. MUCKERMAN, E. FUJITA and K. TANAKA**, “Substituents Dependent Capability of Bis(ruthenium-dioxolene-terpyridine) Complexes toward Water Oxidation,” *Dalton Trans.* **40**, 2225–2233 (2011).

**H. OZAWA, T. HINI, H. OHTSU, T. WADA and K. TANAKA**, “A New Type of Electrochemical Oxidation of Alcohols Mediated with a Ruthenium-Dioxolene-Amine Complex in Neutral Water,” *Inorg. Chim. Acta* **366**, 298–302 (2011).

**S. K. PADHI and K. TANAKA**, “Proton-Induced Dynamic Equilibrium between Cyclometalated Ruthenium rNHC (Remote N-Heterocyclic Carbene) Tautomers with an NAD<sup>+</sup>/NADH Function,” *Inorg. Chem.* **50**, 5321–5323 (2011).

**S. K. PADHI and K. TANAKA**, “Photo- and Electrochemical Redox Behavior of Cyclometalated Ru(II) Complexes Having a 3-Phenylbenzo[*b*][1,6]naphthyridine Ligand,” *Inorg. Chem.* **50**, 10718–10723 (2011).

B-4) 招待講演

**K. TANAKA**, “Currents Status and Future Prospects of Coordination Chemistry, Water Oxidation by Dinuclear Ru Complexes,” Okazaki, January 2011.

**K. TANAKA**, “Catalytic Evolution of O<sub>2</sub> through Coupling of Two Oxo Group Generated by Activation of Water Molecules on Ru Dimers,” The 3<sup>rd</sup> Japan-Korea Joint Symposium on Transition Metal Complexes, Okinawa, February 2011.

**K. TANAKA**, “Ruthenium-Polypyridyl Complexes Aimed at Light-to-Chemical Energy Converter,” The 18<sup>th</sup> Annual Meeting for Korean Society of Photoscience & International Symposium on Artificial Photosynthesis, Sogang University, Seoul (Korea), June 2011.

**K. TANAKA**, “Photo-Induced Multi-Electron Transfer and Water Oxidation Aimed to Build a Sustainable Society,” France-Japan Coordination Chemistry Symposium, Rennes (France), June–July 2011.

**K. TANAKA**, “Metal Complexes Aimed at Energy Conversion from Solar to Chemical one, and from Chemical to Electrical one,” The 3<sup>rd</sup> Asian Conference on Coordination Chemistry, New Delhi (India), October 2011.

#### 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–).

日本化学会錯体・有機金属ディビジョン主査 (2006–2010).

##### 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

自然エネルギーの固定・貯蔵・輸送に引き続いた他のエネルギー形態へのエネルギー変換反応の開発は持続性社会の形成にとって、最も合理的なアプローチだと思われる。その実現にとって二酸化炭素の多電子還元による触媒的な有機物生成は、第一のステップである。二酸化炭素は金属と $\eta^1$ -CO<sub>2</sub>付加体を形成すると、プロトン源存在下では速やかに金属-CO錯体を与える。一方、二酸化炭素還元条件下では金属-CO結合の還元的開裂が起こり、COが発生する。したがって、CO<sub>2</sub>由来の金属-CO結合を開裂させることなくC1源として有機合成を行うためには、再生可能な求核試薬の開発が必要不可欠である。我々は、その観点からNAD/NADH型の酸化還元能を有する金属錯体の開発を行い、再生可能な有機ヒドリド試薬合成を行っている。

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。

## 正岡重行(准教授)(2011年2月1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水の四電子酸化反応
- b) 安価な金属イオンを利用した水からの水素発生反応
- c) 金属錯体の界面集積化と機能開発

### A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) ルテニウム単核錯体を触媒とする水の四電子酸化反応の触媒反応機構を、紫外可視吸収スペクトルの経時変化の特異値分解および DFT/TDDFT 計算を駆使して解明した。その結果、触媒の3電子酸化体を經由した機構で反応が進行していることが判明し、さらにその3電子酸化体が酸素-酸素結合生成に重要な役割を果たしていることが分かった。
- b) 有機配位子上にプロトン授受サイトを有する金属錯体触媒を合成し、水溶液中におけるプロトン授受プロセスを制御することにより、水溶液中、高い水素発生触媒能を有する鉄錯体を作りだすことに成功した。これまでに、水素発生触媒として有意な活性が認められている金属錯体は、白金、ロジウムなどの貴金属を用いたものが主であったため、将来の実用化を考えると、安価でクラーク数の高い元素を用いた本研究成果は大きな進歩であるといえる。
- c) 生体膜などの自然界のナノ構造体にならい、本来相互作用を示さないルテニウム二核錯体に、対イオンとして水にも油にもなじむ性質をもつ脂質陰イオンを導入した。その結果、世界で初めて、本来並ぶことのない2種のルテニウム錯体が脂質陰イオンによって規則的に配列させられた超分子ナノ構造体が構築できた。

### B-1) 学術論文

**K. YAMAUCHI, S. MASAOKA and K. SAKAI**, "Stability of Pt(II)-Based H<sub>2</sub>-Evolving Catalysts against H<sub>2</sub> in Aqueous Solution," *Dalton Trans.* **40**, 12447–12449 (2011).

**K. KOBAYASHI, M. ISHIKUBO, K. KANAIZUKA, K. KOSUGE, S. MASAOKA, K. SAKAI, K. NOZAKI and M. HAGA**, "Proton-Induced Tuning of Metal–Metal Communication in Rack-Type Dinuclear Ru Complexes Containing Benzimidazolyl Moieties," *Chem. –Eur. J.* **17**, 6954–6963 (2011).

**M. HIRAHARA, S. MASAOKA and K. SAKAI**, "Syntheses, Characterization, and Photochemical Properties of Amidate-Bridged Pt(bpy) Dimers Tethered to Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> Derivatives," *Dalton Trans.* **40**, 3967–3978 (2011).

**G. AJAYAKUMAR, M. KOBAYASHI, S. MASAOKA and K. SAKAI**, "Light-Induced Charge Separation and Photocatalytic Hydrogen Evolution from Water using Ru<sup>II</sup>Pt<sup>II</sup>-Based Molecular Devices: Effects of Introducing Additional Donor and/or Acceptor Sites," *Dalton Trans.* **40**, 3955–3966 (2011).

**M. OGAWA, G. AJAYAKUMAR, S. MASAOKA, H.-B. KRAATZ and K. SAKAI**, "Platinum(II)-Based Hydrogen-Evolving Catalysts Linked to Multipendant Viologen Acceptors: Experimental and DFT Indications for Bimolecular Pathways," *Chem. –Eur. J.* **17**, 1148–1162 (2011).

### B-3) 総説, 著書

正岡重行,「水の四電子酸化とパラダイムシフト」*化学と工業* **64(11)**, 890 (2011).

正岡重行,「水の可視光完全分解を可能にする高活性酸素発生触媒の創製」*化学経済* **9**, 65 (2011).

正岡重行,「高効率水酸化のための金属錯体触媒」*光触媒* **34**, 24–27 (2011).

吉田将己, 正岡重行, 酒井 健,「ルテニウム単核錯体を触媒とする水からの酸素発生反応」*有機合成化学協会誌* **69**, 370–378 (2011).

正岡重行,「“いいとこ取り”で酸素発生」*月刊「化学」* **66(1)**, 61–62 (2011).

### B-4) 招待講演

正岡重行,「人工光合成を志向した金属錯体化学」錯体化学若手の会中部東海地区勉強会, 名古屋工業大学, 2011年11月.

正岡重行,「金属錯体を触媒とする水の分解反応」第5回名古屋大学物質科学フロンティアセミナー, 名古屋大学, 2011年10月.

S. MASAOKA, “Oxygen Evolution from Water Catalyzed by Mononuclear Aquaruthenium Complexes,” 3rd Asian Conference of Coordination Chemistry (ACCC-3), New Delhi (India), October 2011.

正岡重行,「高効率水酸化のための金属錯体触媒」光機能材料研究会第32回講演会, 東京大学駒場キャンパス, 2011年5月.

正岡重行,「金属錯体を触媒とする水の分解反応」日本化学会第91春季年会若い世代の特別講演会, 神奈川大学横浜キャンパス, 2011年3月.(震災のため講演会は中止)

正岡重行,「金属錯体を触媒とする水の分解反応」九州錯体化学懇談会第239回例会, 九州大学箱崎キャンパス, 2011年3月.

正岡重行,「金属錯体触媒を用いた人工光合成への挑戦」第10回化学・材料研究セミナー, 九州大学箱崎キャンパス, 2011年1月.

### B-6) 受賞, 表彰

正岡重行, 若い世代の特別講演会講演賞 (2011).

正岡重行, 第53回錯体化学討論会ポスター賞 (2003).

正岡重行, 日本化学会第83回春季年会学生講演賞 (2003).

### B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

錯体化学会若手部会事務局 (2006).

錯体化学会若手部会九州支部世話人 (2006–2010).

学会の組織委員等

錯体化学若手の会夏の学校2008主催 (2008).

分子情報科学若手セミナー主催 (2006).

### B-10) 競争的資金

科学技術振興機構さきがけ研究「光エネルギーと物質変換」領域,「水の可視光完全分解を可能にする高活性酸素発生触媒の創製」正岡重行 (2009年–2012年).

科研費若手研究(B),「水の分解反応に対する非貴金属系高活性金属錯体触媒の創製」正岡重行 (2009年–2010年).

科学技術振興機構重点地域研究開発推進プログラム「シーズ発掘試験A(発掘型)」,「有機-無機複合型超高活性酸素発生錯体触媒の創製」, 正岡重行 (2009年).

九州大学教育研究プログラム・研究拠点形成プロジェクト,「混合原子価2核錯体を用いた量子セルオートマトン材料の開発」, 正岡重行 (2009年).

(財)鉄鋼業環境保全技術開発基金第29回環境助成研究,「鉄-硫黄系金属錯体を用いた安価高活性水素発生触媒の創成」, 正岡重行 (2008年-2009年).

(財)日産科学振興財団環境研究助成,「水の完全光分解を実現可能とする高活性酸素発生触媒の創成」, 正岡重行 (2008年).  
科研費若手研究(B),「高度に組織化された球状水素発生触媒の創製」, 正岡重行 (2006年-2007年).

科研費特別研究員奨励費,「ナノスケールのd- $\pi$  複合共役電子システムの構築と分子デバイスへの応用」, 正岡重行 (2002年-2003年).

### C) 研究活動の課題と展望

エネルギー問題の解決は,人類が直面している最重要課題の一つである。本研究グループの目的は,太陽光エネルギーを貯蔵可能な化学エネルギーに変換する次世代の科学技術「人工光合成」の達成に向けて,金属錯体化学の立場から貢献することである。具体的には,水を四電子酸化して電子を取り出す反応系の構築,可視光のエネルギーを用いて水などの小分子を効率良く活性化する方法の開拓,水中プロトンの活性化と反応性制御,水中ラジカル形成と反応性制御,水の光化学的活性化を促進するための特異反応場の構築,を主題として研究を進めている。以上の研究により構築された触媒システムの反応機構を詳細に解明し,新たな触媒設計へとフィードバックさせることを繰り返し,高機能触媒の創製を目指す。将来,人類がエネルギー問題から解放される社会の到来を夢見て,人工光合成研究の発展に専心している。