

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) 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 中に含まれる HemAT-Bs は、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り、酸素センサーの本体として機能するヘムを活性中心として有している。HemAT-Bs 中のヘムには、生理的なエフェクター分子である酸素以外に、CO も結合するが、CO が結合した場合には生理的な応答は起こらない。すなわち、HemAT-Bs は何らかの機構により、生理的なエフェクターである酸素を選択的に認識することにより、酸素センサーとして機能している。本年度の研究においては、時間分解共鳴ラマン分光法を用い、HemAT-Bs による選択的酸素センシングおよび分子内シグナル伝達の分子機構解明を目的とした研究を行った。CO 結合型 HemAT-Bs の光解離に伴って生成する反応中間体では、10 ns ~ 100 μ s の時間領域において $\nu(\text{Fe-His})$ (ヘム鉄と軸配位子であるヒスチジン間の伸縮振動モード) の位置は変化しなかった。これに対して、酸素結合型 HemAT-Bs においては、酸素の光解離後に観測される $\nu(\text{Fe-His})$ は、デオキシ型の $\nu(\text{Fe-His})$ に比べて低波数側にシフトして観測された。これらの結果は、HemAT-Bs に酸素、あるいは CO が結合した場合に、それぞれのヘム近位側のコンフォメーションが異なっていることを示唆している。また、このようなヘム近位側のコンフォメーション変化が、酸素センシングにより誘起される分子内シグナル伝達に関与しているものと考えられる。また、CO 結合型 HemAT-Bs の CO 光解離後の時間分解紫外共鳴ラマンスペクトル測定を行い、CO 結合に伴うタンパク質コンフォメーション変化を追跡した結果、気体分子の結合・解離により B-ヘリックス、G-ヘリックスのコンフォメーション変化が誘起されることが分かった。
- 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。今年度も昨年度に引き続き、*L. lactis* の細胞内ヘム濃度制御に中心的な役割を果たしている転写調節因子 HrtR の構造機能相関の解明に取り組んだ。アポ型 HrtR は、非常に高い DNA 結合能 ($K_d = 0.2$ nM) を有しており、遊離のヘム分子が存在しない条件下においてリプレッサーとして機能し、細胞外へのヘム排出に関与するトランスポーター遺伝子の発現を抑制している。細胞内の遊離ヘム濃度が上昇すると、アポ型 HrtR にヘム分子が結合することにより、HrtR は標的 DNA から解離し、ヘム排出に関与するトランスポーター遺伝子の発現が誘導される。本研究では、アポ型 HrtR と標的 DNA の複合体の結晶構造解析に成功し、その構造を 2.0 Å 分解能で決定した。HrtR は、DNA 結合モチーフとしてヘリックス・ターン・ヘリックスモチーフを有している。本モチーフ中の認識ヘリックス中に存在する Arg46 と Tyr50 の 2 残基が、HrtR による標的 DNA 配列の認識および

特異的結合に中心的な役割を果たしていることが分かった。ヘム結合に伴い、HrtR は標的 DNA から解離する。これは、ヘム結合に伴って HrtR の N 末ドメイン (DNA 結合ドメイン) の相対配置が変化し、二つのサブユニットにそれぞれ存在する DNA 認識ヘリックス間の距離が増大し、その結果、DNA 認識ヘリックスが標的 DNA の主溝に結合できなくなるためであることが分かった。

B-1) 学術論文

H. SAWAI, H. SUGIMOTO, Y. SHIRO, H. ISHIKAWA, Y. MIZUTANI and S. AONO, “Structural Basis for Oxygen Sensing and Signal Transduction of the Heme-Based Sensor Protein Aer2 from *Pseudomonas aeruginosa*,” *Chem. Commun.* **48**, 6523–6525 (2012).

S. EL-MASHTOLY, M. KUBO, Y. GU, H. SAWAI, S. NAKASIMA, T. OGURA, S. AONO and T. KITAGAWA, “Site-Specific Protein Dynamics in Communication Pathway from Sensor to Signaling Domain of Oxygen Sensor Protein, HemAT-Bs: Time-Resolved Ultraviolet Resonance Raman Study,” *J. Biol. Chem.* **287**, 19973–19984 (2012).

H. SAWAI*, M. YAMANAKA*, H. SUGIMOTO, Y. SHIRO and S. AONO, “Structural Basis for the Transcriptional Regulation of Heme Homeostasis in *Lactococcus lactis*,” *J. Biol. Chem.* **287**, 30755–30768 (2012). (* equal contribution)

Y. YOSHIDA, H. ISHIKAWA, S. AONO and Y. MIZUTANI, “Structural Dynamics of Proximal Heme Pocket in HemAT-Bs Associated with O₂ Dissociation,” *Biochem. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **1824**, 866–872 (2012).

B-3) 総説, 著書

S. AONO, “Novel bacterial gas sensor proteins with transition-metal-containing prosthetic groups as active sites,” *Antioxid. Redox Signal.* **16**, 678–686 (2012).

青野重利, 「鉄分バランスを整える—乳酸菌における細胞内ヘム濃度制御」, *化学* **67**, 68–69 (2012).

B-4) 招待講演

S. AONO, “Structural basis for the transcriptional regulation of heme homeostasis in *Lactococcus lactis*,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences Experiments and Simulations, Nara (Japan), January 2012.

S. AONO, “Transcriptional regulation by heme acting as a signaling molecule,” 221st The Electrochemical Society Meeting, Seattle (U.S.A.), May 2012.

S. AONO, “Structural basis for the transcriptional regulation of heme homeostasis in lactic acid bacterium, *Lactococcus lactis*,” 7th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-7), Jeju (Korea), July 2012.

S. AONO, “Molecular mechanism of heme-responsive transcriptional regulation,” 6th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC-6), Hong Kong (China), November 2012.

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

14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry 組織委員会総務委員長 (2009).

The first International Symposium on Biofunctional Chemistry 組織委員 (2012).

Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations 組織委員 (2008–2010, 2012).

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 (2010–2012).

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(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

生物は、様々な外部環境の変化に応答・対応しながら、生体内の恒常性を維持している。我々の研究グループでは、生物にとって最も重要な遷移金属イオンである鉄イオンの細胞内恒常性維持に興味をもち、細胞内の鉄イオンの恒常性維持機構解明を目的とした研究に取り組んでいる。なかでも、鉄イオンを含む化合物である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重点を置き、研究を進めている。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・グロビュール状態蛋白質化学療法剤複合体の抗腫瘍活性
- b) DMSO 停止水素／重水素交換二次元 NMR 法の改良
- c) GroEL/GroES 複合体の構造揺らぎと生物機能
- d) GroEL/GroES 複合体形成の熱力学的解析
- e) 質量分析を用いた野生型 GroEL の水素／重水素交換反応解析

A-3) 研究活動の概要と主な成果

- a) これまでの我々の研究から，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。そこで，今年度はモルテン・グロビュール状態の α ラクトアルブミンの運び屋としての特性を利用した新しい抗腫瘍複合体の作製を試みた。不飽和脂肪酸の代わりに抗癌剤とモルテン・グロビュール状態にある α ラクトアルブミンとの複合体を作製し，その抗腫瘍細胞活性を検討した。その結果，特にアドリマイシンやパクリタキセルと α ラクトアルブミンとの複合体は，抗癌剤単独で処理した場合に比べ顕著に高い抗腫瘍細胞活性を示したのに対して，正常細胞に対する毒性は低下した。
- b) ジメチルスルフォキシド（DMSO）停止水素／重水素（H/D）交換二次元 NMR 法は，蛋白質のペプチド・アミド水素の H/D 交換反応を実施後，重水素化 DMSO（DMSO-d₆）溶液中で H/D 交換反応を停止させ，DMSO 溶液中で変性し H/D 交換も停止した蛋白質の二次元 NMR スペクトルを取ることで，各アミド水素の交換反応を追跡する方法である。そのままでは良好な NMR スペクトルの得られない，蛋白質超分子複合体やアミロイド線維，H/D 交換反応が速すぎてアミド水素の NMR 信号が十分得られない，変性蛋白質などの H/D 交換反応測定に用いられてきた。しかし，これまでの DMSO 停止 H/D 交換法では凍結乾燥を溶媒交換に用いるため，変性剤中の蛋白質や高濃度の塩存在下の H/D 交換反応には適用できない難点があった。そこで，凍結乾燥の代わりにスピン脱塩カラムを用いることによりこの難点を克服した。6.0 M 塩酸グアニジン中で変性した ¹⁵N 標識ユビキチンの H/D 交換反応を測定し，スピン脱塩カラムを用いた方法が有効であることを確認した。
- c) 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 H/D 交換二次元 NMR を用いた研究を行っている。昨年に引き続き，GroES 単独での H/D 交換反応を DMSO 停止 H/D 交換二次元 NMR 法と 920 MHz NMR 装置を用いて追跡した（20 mM KCl，25 mM リン酸緩衝液，pH 6.5，25 °C）。その結果，GroES の 94 個のペプチド・アミド水素中 33 個の交換反応を定量的に求め，それらの水素交換保護因子を決定した。残りの 61 残基については，水素交換反応速度定数の下限が求められた。最も強く保護されているアミド水素の保護因子は 10⁶–10⁷ のオーダーであり，通常の球状蛋白質の保護因子と同程度であったが，保護因子 10⁶ 以上の非常に強く保護されたアミド水素の数はわずか 10 個で，通常の小さな球状蛋白質について知られている数よりも著しく少なかった。このことは，7 量体 GroES 中のかかなりの部分がフレキシブルで天然変性状態にあることを示している。保護因子 10⁵ 以上の強く保護されたアミノ酸残基は疎水性コアを形成する 3 本の β ストランドに集中しており，残基 17–34 の可動性ループ領域はあまり保護されていなかった。先行研究において，GroES の熱や変性剤によるアンフォールディング転移の熱力学的解析が報告されており，それらの熱力学パラメータから期待される保護因子は 10²–10⁴ のオーダーで H/D 交換で求

められた最も強く保護されている残基の保護因子よりも数桁小さいことがわかった。このことは、GroES のアンフォールディング転移が、先行研究で仮定されているような単純な二状態や三状態の転移ではないことを示している。

- d) ADP や ATP の存在下では、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。昨年度に引き続き、分子研に設置されている超高感度滴定型熱量計を用いて、GroEL の単一リング変異体 (SR1) と GroES の結合の熱力学的解析を行った。GroES を SR1 で滴定し、3 mM ADP 存在下 25.0 °C で、結合定数 $K_b = 6.4 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、エンタルピー変化 $\Delta H_b = 37 \text{ kcal/mol}$ 、エントロピー変化 $\Delta S_b = 156 \text{ cal/mol/K}$ を得た (pH 7.5, 100 mM KCl, 10 mM MgCl_2)。 ΔH_b , ΔS_b ともに正で、結合がエントロピー駆動であることがわかった。 ^{15}N 標識した GroES と二次元 NMR (HSQC) スペクトルを用いた滴定実験でも、3 mM ADP 存在下で 10^5 M^{-1} のオーダーの結合定数が得られたが、3.0 mM ATP 存在下では測定限界を超えて結合定数が大きくなった ($K_b \gg 10^6 \text{ M}^{-1}$)。
- e) H/D 交換質量分析法を用いて野生型 GroEL (分子量約 80 万) の溶液中のコンフォメーション解析を、フロリダ州立大学の Marshall 教授のグループとの共同研究として行った。アポ型 GroEL と ATP アナログ (ATP γ S) 結合 GroEL の H/D 交換反応を数残基レベルの分解能で観測し、ヌクレオチド結合に伴ったコンフォメーション変化を分子全体にわたって特徴付けることが出来た。

B-1) 学術論文

K. TOMOYORI, T. NAKAMURA, K. MAKABE, K. MAKI, K. SAEKI and K. KUWAJIMA, “Sequential Four-State Folding/Unfolding of Goat α -Lactalbumin and Its N-Terminal Variants,” *Proteins* **80**, 2192–2206 (2012).

J. CHEN, H. YAGI, P. SORMANNI, M. VENDRUSCOLO, K. MAKABE, T. NAKAMURA, Y. GOTO and K. KUWAJIMA, “Fibrillogenic Propensity of the GroEL Apical Domain: A Janus-Faced Minichaperone,” *FEBS Lett.* **586**, 1120–1127 (2012).

B-4) 招待講演

K. KUWAJIMA, “Some remaining questions about the mechanism of protein folding,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Cultural Center of Todaiji-Temple, Nara, January 2012.

T. NAKAMURA, K. MAKABE, T. AIZAWA, K. KAWANO, M. DEMURA and K. KUWAJIMA, “Structure and biological function of anti-tumor complexes between oleic acid and proteins in the molten globule state,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Cultural Center of Todaiji-Temple, Nara, January 2012.

K. MAKABE, T. NAKAMURA and K. KUWAJIMA, “Structural insights into the stability perturbations by N-terminal variations in human and goat α -lactalbumin,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Cultural Center of Todaiji-Temple, Nara, January 2012.

K. KUWAJIMA, “Some remaining questions about the mechanism of protein folding,” The International Conference on Statistical Mechanics of Liquids: From Water to Biomolecules, Okazaki Conference Center, Institute for Molecular Science, Okazaki, February 2012.

K. KUWAJIMA, “Molecular mechanisms of cytotoxicity of HAMLET and other protein-oleic acid complexes,” IGER International Symposium on Science of Molecular Assembly and Biomolecular Systems 2012, Nagoya University, Nagoya, September 2012.

K. KUWAJIMA, “Molecular mechanisms of cytotoxicity of HAMLET and other protein-oleic acid complexes,” The 12th KIAS Conference on Protein Structure, Korea Institute for Advanced Study, Seoul (Korea), October 2012.

桑島邦博, 「シャペロン超分子複合体の水素交換反応」, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「分子シャペロンの機能発現の新展開と細胞制御」, 大阪大学蛋白質研究所, 大阪, 2012年11月.

K. KUWAJIMA, “Structural fluctuations and functional expression of the chaperonin complexes,” The 6th International Symposium “Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions,” Kyoto TERRSA, Kyoto, December 2012.

K. KUWAJIMA, “The structure and function of HAMLET and its related protein complexes,” The 3rd HAMLET Conference, Lund University, Lund (Sweden), December 2012.

B-5) 特許出願

特願 2012-147492, 「蛋白質—化学療法剤複合体及びその製造方法, 並びに医薬」, 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), 岡田誠治(熊本大学), 2012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 (2010–2011).

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 Pacific-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, 2011, 2012).

文部科学省科学研究費審査部会専門委員会委員 (2002, 2004, 2009, 2011).

JST 若手個人研究推進事業(さきがけ)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 (2002–2011).

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-8) 大学での講義, 客員

総合研究大学院大学物理科学研究科, 「生体分子科学」, 2012年5月1日, 8日(統合生命科学教育プログラム授業科目を兼ねる).

総合研究大学院大学アジア冬の学校, 「Molecular Mechanisms of Protein Folding」, 岡崎コンファレンスセンター, 2012年1月12日.

The 11th KIAS Protein Folding Winter School, “Molecular Mechanisms of Protein Folding,” High1 Resort, Kanwon-do (Korea), February 5–10.

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 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。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, イス乳リゾチーム, アポミオグロビン, β_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。この仮説を確かめるため, 本年度は, アドリアマイシンやパクリタキセル等の抗癌剤をモルテン・グロビュール状態の α ラクトアルブミンに結合させた複合体を作製し, その抗腫瘍活性を調べた。その結果, 期待通りに複合体の抗腫瘍活性増強の観測された。現在共同研究先である熊本大学・エイズ学研究センター・岡田誠治教授の研究室において複合体を用いた動物実験が進行中である。

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。GroEL/GroES 複合体中のGroES部分の水素交換反応の実験も終えているので, 今後これらの実験データを解析し, 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) 糖鎖の機能を詳細に理解するためには、その立体構造を溶液中での揺らぎを含めて明らかにする必要がある。我々は、常磁性ランタニドイオンの導入によって観測される擬コンタクトシフト（PCS）を活用し、NMR 法と分子動力学（MD）計算を組み合わせた糖鎖の動的立体構造解析法を開発した。神経細胞膜上に存在する糖脂質 GM3 の糖鎖に常磁性ランタニドイオンを導入し、糖鎖の各水素および炭素原子の化学シフト変化から PCS 値を求めた。一方、MD 計算によって得られた複数のコンフォマーを考慮した立体構造モデルから PCS の理論値を算出し、実験値との比較を行った。その結果、主要なコンフォメーションのみならず、存在割合の低い安定構造を考慮することで両者がよりよく一致することが判明し、これにより溶液中での糖鎖の立体構造の揺らぎを正しく記述することに成功した。さらに、本手法を分岐型糖鎖 GM2 へと拡張し、糖残基間の相互作用を通じて立体構造の揺らぎが制御されている様子を明らかにした。
- b) タンパク質の細胞内運命の決定に関わるいくつかの分子認識メカニズムを構造生物学的アプローチによって解明した。ユビキチン（Ub）-プロテアソーム系で働くタンパク質の中には Ub と相溶性の高いドメイン（UBL）を持つものがある。いくつか存在する。例えば、NF- κ B の活性化制御を通じて免疫応答や細胞の生存など様々な生命現象に関与している直鎖状 Ub 鎖の生成を触媒する酵素複合体は、HOIL-1L の UBL と HOIP の Ub 会合ドメイン（UBA）の相互作用を通じて形成されている。また、立体構造不全の糖タンパク質から糖鎖を切り離す酵素の N 末端に位置する PUB ドメインがプロテアソーム基質運搬因子 HR23 の UBL と相互作用することを私たちは見出している。これらの分子間相互作用様式を X 線結晶構造解析と NMR 解析を通じて明らかにし、立体構造の類似した Ub/UBL が独自のパートナータンパク質との特異的相互作用を実現する仕組みの一端を明らかにすることができた。また、コラーゲン特異的な分子シャペロン Hsp47 の基質結合部位を解明することにも成功した。
- c) 自然界ではタンパク質や DNA が、ウイルス殻などの巨大なカプセル状の構造体に閉じ込められることで、その構造や機能の制御を受けている。一方、人工系では、精密構造をもつカプセル状分子の大きさに限界があり、タンパク質のような巨大な分子を閉じ込めることはこれまでできなかった。我々は、東京大学の藤田誠教授との共同研究を通じて、パラジウムイオンと有機二座配位子、計 36 個の構成成分から自己組織化した巨大な中空球状錯体を基盤として、その内面に糖鎖の有限ナノ界面を構築し、球状錯体の内部に Ub を丸ごと包接することに成功した。すなわち、分子生物学的手法と化学修飾を組み合わせることにより Ub を連結した配位子を新たに調製し、これを糖で化学修飾した有機配位子およびパラジウムイオンと混合することで、球状錯体を自己組織化生成した。NMR を利用した拡散速度の計測などを通じて、Ub が球状錯体に封入されていることを実証することができた。

B-1) 学術論文

- L. MAURI, R. CASELLATO, M. G. CIAMPA, Y. UEKUSA, K. KATO, K. KAIDA, M. MOTOYAMA, S. KUSUNOKI and S. SONNINO**, “Anti-GM1/GD1a Complex Antibodies in GBS Sera Specifically Recognize the Hybrid Dimer GM1-GD1a,” *Glycobiology* **22**, 352–360 (2012).
- D. FUJITA, K. SUZUKI, S. SATO, M. YAGI-UTSUMI, E. KURIMOTO, Y. YAMAGUCHI, K. KATO and M. FUJITA**, “Synthesis of a Bridging Ligand with a Non-Denaturated Protein Pendant: Toward Protein Encapsulation in a Coordination Cage,” *Chem. Lett.* **41**, 313–315 (2012).
- K. TAKAGI, S. KIM, H. YUKII, M. UENO, R. MORISHITA, Y. ENDO, K. KATO, K. TANAKA, Y. SAEKI and T. MIZUSHIMA**, “Structural Basis for Specific Recognition of Rpt1p, an ATPase Subunit of the 26 S Proteasome, by the Proteasome-Dedicated Chaperone Hsm3p,” *J. Biol. Chem.* **287**, 12172–12182 (2012).
- S. YAMAMOTO, Y. ZHANG, T. YAMAGUCHI, T. KAMEDA and K. KATO**, “Lanthanide-Assisted NMR Evaluation of a Dynamic Ensemble of Oligosaccharide Conformations,” *Chem. Commun.* **48**, 4752–4754 (2012).
- Y. KAMIYA, Y. UEKUSA, A. SUMIYOSHI, H. SASAKAWA, T. HIRAO, T. SUZUKI and K. KATO**, “NMR Characterization of the Interaction between the PUB Domain of Peptide:N-Glycanase and Ubiquitin-Like Domain of HR23,” *FEBS Lett.* **586**, 1141–1146 (2012).
- S. KIM, A. NISHIDA, Y. SAEKI, K. TAKAGI, K. TANAKA, K. KATO and T. MIZUSHIMA**, “New Crystal Structure of the Proteasome-Dedicated Chaperone Rpn14 at 1.6 Å Resolution,” *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.* **68**, 517–521 (2012).
- H. YAGI, K. ISHIMOTO, T. HIROMOTO, H. FUJITA, T. MIZUSHIMA, Y. UEKUSA, M. YAGI-UTSUMI, E. KURIMOTO, M. NODA, S. UCHIYAMA, F. TOKUNAGA, K. IWAI and K. KATO**, “A Non-Canonical UBA-UBL Interaction Forms the Linear-Ubiquitin-Chain Assembly Complex,” *EMBO Rep.* **13**, 462–468 (2012).
- H. YAGI, S. WATANABE, T. SUZUKI, T. TAKAHASHI, Y. SUZUKI and K. KATO**, “Comparative Analyses of N-Glycosylation Profiles of Influenza A Viruses Grown in Different Host Cells,” *Open Glycoscience* **5**, 2–12 (2012).
- N. SRIWILAIJAROEN, S. KONDO, H. YAGI, H. HIRAMATSU, S. NAKAKITA, K. YAMADA, H. ITO, J. HIRABAYASHI, H. NARIMATSU, K. KATO and Y. SUZUKI**, “Bovine Milk Whey for Preparation of Natural N-Glycans: Structural and Quantitative Analysis,” *Open Glycoscience* **5**, 41–50 (2012).
- Y. ZHANG, S. YAMAMOTO, T. YAMAGUCHI and K. KATO**, “Application of Paramagnetic NMR-Validated Molecular Dynamics Simulation to the Analysis of a Conformational Ensemble of a Branched Oligosaccharide,” *Molecules* **17**, 6658–6671 (2012).
- H. YAGI, T. SAITO, M. YANAGISAWA, R. K. YU and K. KATO**, “Lewis X-Carrying N-Glycans Regulate the Proliferation of Mouse Embryonic Neural Stem Cells via the Notch Signaling Pathway,” *J. Biol. Chem.* **287**, 24356–24364 (2012).
- Y. UEKUSA, S. MIMURA, H. SASAKAWA, E. KURIMOTO, E. SAKATA, S. OLIVIER, H. YAGI, F. TOKUNAGA, K. IWAI and K. KATO**, “Backbone and Side Chain ^1H , ^{13}C , and ^{15}N Assignments of the Ubiquitin-Like Domain of Human HOIL-1L, an Essential Component of Linear Ubiquitin Chain Assembly Complex,” *Biomol. NMR Assignments* **6**, 177–180 (2012).

M. YAGI-UTSUMI, S. YOSHIKAWA, Y. YAMAGUCHI, Y. NISHI, E. KURIMOTO, Y. ISHIDA, T. HOMMA, J. HOSEKI, Y. NISHIKAWA, T. KOIDE, K. NAGATA and K. KATO, “NMR and Mutational Identification of the Collagen-Binding Site of the Chaperone Hsp47,” *PLoS ONE* 7, e45930 (2012).

D. FUJITA, K. SUZUKI, S. SATO, M. YAGI-UTSUMI, Y. YAMAGUCHI, N. MIZUNO, T. KUMASAKA, M. TAKATA, M. NODA, S. UCHIYAMA, K. KATO and M. FUJITA, “Protein Encapsulation within Synthetic Molecular Hosts,” *Nat. Commun.* 3, 1093 (2012).

T. FUJII, M. URUSHIHARA, H. KASHIDA, H. ITO, X. LIANG, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO and H. ASANUMA, “Reversed Assembling of Dyes in an RNA Duplex Compared with Those in DNA,” *Chem. –Eur. J.* 18, 13304–13313 (2012).

B-2) 国際会議のプロシーディングス

K. KATO, “Structural glycomic approaches to molecular recognition events on cell surfaces,” *Biochemical Roles of Eukaryotic Cell Surface Macromolecules: 2011 ISCSM Proceedings (Advances in Experimental Medicine and Biology)*, P. R. Sudhakaran and A. Surolia, Eds., Springer Science+Business Media; New York, 15–32 (2012).

B-3) 総説、著書

K. KATO and Y. YAMAGUCHI, “Glycoproteins and antibodies: Solution NMR studies,” in *Encyclopedia of Magnetic Resonance*, R. K. Harris and R. E. Wasylshen, Eds. John Wiley; Chichester, 3, 1779–1790 (2012).

柳澤勝彦, 松崎勝巳, 加藤晃一, 「アミロイド蓄積開始機構の解明と治療薬開発への展開」, *最新医学* 67, 138–158 (2012).

加藤晃一, 「タンパク質の翻訳後修飾の構造生物学研究」, *薬学雑誌* 132, 563–573 (2012).

加藤晃一, 「研究戦略 YAKU 学——研究現場から臨床へ——No.38 創薬ターゲットとしての糖鎖」, *薬事日報* 11133, 8 (2012).

Y. KAMIYA, T. SATOH and K. KATO, “Molecular and structural basis for *N*-glycan-dependent determination of glycoprotein fates in cells,” *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* 1820, 1327–1337 (2012).

加藤晃一, 矢木宏和, 「バイオ／抗体医薬品における構造解析」, 「バイオ／抗体医薬品の開発・製造プロセス」, 情報機構, 173–183 (2012).

加藤晃一, 矢木宏和, 「X線とNMRによる抗体解析」, 「新機能抗体開発ハンドブック」, 浜窪隆雄監修, エヌ・ティー・エス, 65–69 (2012).

加藤明文, 矢木宏和, 加藤晃一, 飯田 茂, 中村和靖, 「糖鎖制御による抗体医薬品の差別化」, 「次世代医薬開発に向けた抗体工学の最前線」, 熊谷 泉監修, シーエムシー出版, 144–149 (2012).

加藤晃一, 矢木宏和, 「NMR法による抗体の高次構造」, 「次世代医薬開発に向けた抗体工学の最前線」, 熊谷 泉監修, シーエムシー出版, 275–283 (2012).

B-4) 招待講演

K. KATO, “Protein dynamics in the ubiquitin-proteasome system,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Science-Experiments and Simulations, Nara, January 2012.

加藤晃一, 「糖鎖の生命分子科学」, 基礎生物学研究所・生理学研究所・分子科学研究所一名古屋工業大学 第4回合同講演会, 岡崎, 2012年1月.

K. KATO, “Structural Basis for Improved Efficacy of Therapeutic Antibodies by Engineering of their Fc Glycans,” Antibodies Asia 2012, Shanghai (China), February 2012.

加藤晃一,「糖鎖機能解明への分子科学的アプローチ」,山手イブニングセミナー,岡崎,2012年5月.

K. KATO, “Structural observations on sugar chains as protein extensions for functional promotion,” 第12回日本蛋白質科学会年会,名古屋,2012年6月.

K. KATO, “Structural glycomics approaches for characterization of biotherapeutics and their application to atomic anatomy of antibodies,” BioChina 2012, Shanghai (China), June 2012.

K. KATO, “Structural views of carbohydrate-protein interaction systems as potential therapeutic targets,” The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), Madrid (Spain), July 2012.

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連関の探査」,新学術領域研究「揺らぎと生体機能」平成24年度合同班会議,作並,2012年7月.

K. KATO, “High Resolution Analysis of Protein Glycosylation,” 日本製薬工業協会バイオ医薬品委員会,東京,2012年9月.

加藤晃一,「ATP非依存性シャペロンの構造ダイナミクスと機能発現メカニズム」,新学術領域研究「揺らぎと生体機能」「水とATP」合同公開シンポジウム「ゆらぎと水——生命のエネルギーと機能の分子機構を探る」,大阪,2012年9月.

矢木真穂,「アミロイドβの構造転移と分子間相互作用」,大阪大学蛋白質研究所セミナー・包括脳ネットワーク研究会第3回神経科学と構造生物学の融合研究会,大阪,2012年10月.

加藤晃一,「糖鎖改変による抗体医薬の機能向上の構造基盤」,第4回糖鎖科学中部拠点研究会,名古屋,2012年10月.

K. KATO, “Structural biology of post-translational modifications of proteins,” Seminar in Department of Biochemistry Yonsei University, Seoul (Korea), October 2012.

K. KATO, “NMR of glycoproteins,” Pharmaceutical NMR Lecture Series in Osaka, Osaka, October 2012.

K. KATO, “Conformational dynamics and interactions of glycoconjugates of therapeutic interest,” Commemorative Symposium on the 20th Anniversary of the Mizutani Foundation for Glycoscience, Tokyo, November 2012.

加藤晃一,「複合糖質の構造生物学:創薬標的としての糖鎖」,第40回構造活性相関シンポジウム,岡崎,2012年11月.

加藤晃一,「生体分子の自己組織化プロセスの精密構造解析」,CREST「ナノ界面技術の基盤構築」研究領域第2回公開シンポジウム「ナノ界面が生み出す次世代機能」,東京,2012年12月.

K. KATO, “NMR Characterization of Conformational Fluctuations of Oligosaccharides and Glycoconjugates,” 新学術領域研究「揺らぎと生体機能」第6回公開シンポジウム,京都,2012年12月.

加藤晃一,「複合糖質の立体構造・ダイナミクス・相互作用」,第85回日本生化学会大会,福岡,2012年12月.

K. KATO, “High Resolution Analysis of Protein Glycosylation,” CASSS CMC Strategy Forum Japan 2012, Tokyo, December 2012.

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「若手の力フォーラム」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1等賞 (2011).

山口拓実, 日本化学会第92春季年会優秀講演賞(学術) (2012).

Zhang Ying, 平成24年度総合研究大学院大学学長賞 (2012).

雲井健太郎, 第12回日本蛋白質科学会年会ポスター賞 (2012).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本バイオイメーシング学会評議員 (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 (2006-2012), 理事 (2008-2012).

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).

第51回NMR 討論会運営委員 (2012).

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 (2009-2011).

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-).

大阪大学蛋白質研究所「共同利用・共同研究」委員会超高磁場NMR 共同利用・共同研究専門部会委員 (2012-).

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」,2012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」,2012年.

理化学研究所,客員研究員,2009年4月-.

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-.

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」,2012年.

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」(計画研究),「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-2011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-).

科研費挑戦的萌芽研究,「分子シャペロン機能を有するシャトル型プロテアソーム活性化因子の同定と構造機能解析」, 加藤晃一 (2012年-).

科研費若手研究(B),「常磁性金属修飾糖鎖を用いた過渡的相互作用の動的観察」, 山口拓実 (2012年-).

科研費基盤研究(A),「糖鎖認識系を標的とする創薬を目指した複合糖質機能の構造基盤の解明と分子設計」, 加藤晃一 (2012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Fcγ受容体IIIaとの結合状態の構造解析」, 加藤晃一 (2012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 (2012年).

(株)豊田中央研究所,「耐熱性カビ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 (2012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 (2012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 (2012年).

C) 研究活動の課題と展望

生命システムを構成する多数の分子素子がダイナミックな集合離散を通じて細胞の機能を制御し, 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方策を引き続き模索する。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メカニズムを実験科学と計算科学の融合を通じて解明することを目指す。特に, 細胞表層にみられる糖脂質ラフトにみられるような, 弱い相互作用を通じて集合した流動性と運動性に富んだ超分子複合体に対して分子科学的アプローチを実施するための適切なモデル系の構築と方法論の開発に一層力を注ぐ。

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) 不斉サレン錯体による不斉エポキシ化活性種の研究
- 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) ヘムタンパク質の機能発現において軸配位子がどのような役割をもつかは、古くより興味をもたれ研究が行われているが、未だ明快な解答が得られていない問題の一つである。例えば、ペルオキシダーゼではヒスチジン由来のイミダゾレートが、カタラーゼではチロシン由来のフェノレート、さらにシトクロム P450 ではシステイン由来のチオレートが配位している。これらヘム酵素は、鉄 4 価オキソポリフィリン π -カチオンラジカル (Compound I) とよばれる共通の反応活性種を用いて反応することから、軸配位子は Compound I の電子構造や反応性を大きく変化させていると考えられていた。ところが、軸配位子がどういった機構で Compound I の反応性を制御しているのかという問題は、未解明のままであった。我々は、Compound I モデル錯体を用いてこの問題の解決をめざした。反応速度論的手法や種々の分光学的手法を組み合わせることにより、軸配位子は Compound I 自体をより活性にすることにより反応性を高めているのではなく、反応後に生成する鉄 3 価状態 (resting state) の安定性を高めることにより Compound I の反応性を高めているというユニークな機構で制御していることを見いだした。
- b) 遷移金属錯体を用いた不斉酸化反応は、天然物合成、医薬品合成などさまざまな合成反応において極めて重要な反応である。そのため、多くの不斉酸化反応を行う遷移金属錯体が開発されている。それらの中で不斉マンガンサレン錯体 (Jacobsen 触媒) は、極めて有用性の高い錯体である。しかし、Jacobsen 触媒がどのような活性種を生成し、どのように不斉選択性を発現しているかは未解明の問題である。とりわけ、Jacobsen 触媒がほとんど平面的な構造であるにもかかわらずなぜ高い不斉選択性を示すのかは、多くの研究者が注目している点である。我々は、マンガン 4 価サレン錯体とヨードシリアルエンとの反応により、ヨードシリアルエン付加体の合成、単離に成功した。さらにこの錯体の構造解析にも成功した。結晶構造では、ヨードシリアルエンの配位によりサレン配位子が平面から階段状に大きく構造変化し不斉な環境を作り出していることが明らかとなった。さらにこの錯体と種々のオレフィンとの反応を行い、ヨードシリアルエン付加体が高原子価オキソ錯体を生成せず直接エポキシ化反応を行っていることを明らかにした。
- 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 価ポリフィリン π -カチオンラジカル錯体 (compound-I 錯体) を合成し、塩素イオンとの反応を研究した。プロトンの効果を解明するため、トリフルオロ酢酸存在下、compound-I 錯体と塩素イオンの反応を -90 度で行い、種々の分光法を用いて解析した。その結果、compound-I 錯体は塩素イオンと反応してメソクロロ鉄 3 価イソポリフィリン錯体に変化することを見いだした。さらにこの錯体は、

種々の有機化合物を塩素化することができることが明らかにした。これまでイソポルフィリンは不活性な錯体と考えられていたが、ポルフィリン環の置換基により活性化できることが証明された。

B-1) 学術論文

- Z. CONG, S. YANAGISAWA, T. KURAHASHI, T. OGURA, S. NAKASHIMA and H. FUJII, “Synthesis, Characterization, and Reactivity of Hypochlorito-Iron(III) Porphyrin Complexes,” *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 20617–20620 (2012).
- Z. CONG, T. KURAHASHI and H. FUJII, “Formation of Iron(III) *Meso*-Chloro-Isoporphyrin as a Reactive Chlorinating Agent from Oxoiron(IV) Porphyrin π -Cation Radical,” *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 4469–4472 (2012).
- T. KURAHASHI and H. FUJII, “Comparative Spectroscopic Studies of Iron(III) and Manganese(III) Salen Complexes Having a Weakly-Coordinating Triflate Axial Ligand,” *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **85**, 940–947 (2012).
- C. WANG, T. KURAHASHI and H. FUJII, “Structure and Reactivity of Iodosylarene Adduct of Manganese(IV) Salen Complex,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **51**, 7809–7811 (2012).
- A. TAKAHASHI, D. YAMAKI, K. IKEMURA, T. KURAHASHI, T. OGURA, M. HADA and H. FUJII, “The Effect of the Axial Ligand on the Reactivity of the Oxoiron(IV) Porphyrin π -Cation Radical Complex: Higher Stabilization of the Product State Relative to the Reactant State,” *Inorg. Chem.* **51**, 7296–7305 (2012).
- T. SATO, S. NOZAWA, A. TOMITA, M. HOSHINO, S. KOSHIHARA, H. FUJII and S. ADACHI, “Coordination and Electronic Structure of Ruthenium(II)-*tris*-2,2'-Bipyridine in the Triplet Metal-to-Ligand Charge Transfer Excited State Observed by Picosecond Time-Resolved Ru K-Edge XAFS,” *J. Phys. Chem. C* **116**, 14232–14236 (2012).
- J. ZHU, T. KURAHASHI, H. FUJII and G. WU, “Solid-State ^{17}O NMR and Computational Studies of Terminal Transition Metal Oxo Compounds,” *Chem. Sci.* **3**, 391–397 (2012).

B-4) 招待講演

- H. FUJII, “Reactions of Oxoiron(IV) Porphyrin π -Cation Radicals with Chloride Ion,” 40th International Conference on Coordination Chemistry, Valencia (Spain), September 2012.
- H. FUJII, “ ^{13}C and ^{15}N NMR Spectroscopy of Heme-Bound Cyanide ($^{13}\text{C}^{15}\text{N}$) in Ferric Heme Peroxidases,” 7th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines, Jeju (Korea), July 2012.
- H. FUJII, “Control of Regioselectivity of Heme Oxygenase by Reconstruction of Active Site,” Japan-Korea Seminars on Biomolecular Sciences-Experiments and Simulations, Nara (Japan), January 2012.
- 藤井 浩, 「生体内における常磁性金属イオンと有機ラジカルとの磁氣的相互作用について」, 分子研研究会「レーザー分光および磁気測定による分子構造探求の新展開」, 岡崎, 2012年7月.
- 倉橋拓也, 「不斉マンガンサレン触媒から生成する高原子価錯体の分光・磁気測定研究」, 分子研研究会「レーザー分光および磁気測定による分子構造探求の新展開」, 岡崎, 2012年7月.
- 藤井 浩, 「鉄イオン含有酵素の反応中間体の電子構造と反応性について」, 北陸先端大, 能美市, 2012年3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」, 筑波大学, つくば市, 2012年1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).

T. KURAHASHI and H. FUJII, BCSJ Award Article (2012).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

酸化反応討論会幹事 (2011-).

学会の組織委員等

14th International Conference on Bioinorganic Chemistry, Local Committee (2009).

B-8) 大学での講義, 客員

筑波大学大学院理学専攻化学研究科, 集中講義「無機分析化学特論」, 2012年1月24日-25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), 「高原子価マンガンオ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

秋 山 修 志（教授）（2012 年 4 月 1 日着任）

A-1) 専門領域：生物物理学，時間生物学

A-2) 研究課題：

- a) タンパク質時計が奏でる概日リズムの分子科学的解明
- b) タンパク質時計のコヒーレント制御
- c) X線溶液散乱とX線結晶構造解析を相補的に駆使した生体高分子の動的構造解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) X線小角散乱を始めとする各種分光法を用いて，時計タンパク質 KaiC の構造変化を捉えた。KaiC はドーナツを2つ積み上げたような2重のリング状構造をしており，片方のリングにある「周期を規定する ATPase」の制御状態と密に連動して，もう片方のリング半径が膨らんだり，縮んだりを繰り返す。このリズムカルな分子鼓動を蛍光分光法でリアルタイム計測することに成功した。
- b) タンパク質時計の応答を大規模スクリーニングするための実験装置を独自開発した。今後，外乱の種類や時空間的パターンについて検証を深めることで，源振の特性が導き出されるものと期待される。
- c) 散乱強度の規格化に用いる標準タンパク質の調製・品質管理法を確立することで，原点散乱強度を用いた分子量推定の精度や再現性を向上させることに成功した。また，生体高分子のX線溶液散乱計測に特化した8連セルを開発し，これによりデータ品質を損なうことなく実験時間を大幅に短縮することに成功した。

B-1) 学術論文

S. AKIYAMA, “Structural and Dynamic Aspects of Protein Clocks: How Can They Be So Slow and Stable?” *Cell. Mol. Life Sci.* **69**, 2147–2160 (2012).

B-3) 総説，著書

A. MUKAIYAMA, T. KONDO and S. AKIYAMA, “Visualization of circadian ticking of cyanobacterial clock protein KaiC in real time,” *SPRING-8 Research Frontiers* **2011**, 46–47 (2012).

B-4) 招待講演

秋山修志, 「Kai タンパク質時計の源振の分子科学的解明に向けて」, 第19回時間生物学会学術大会, 北海道大学, 2012年9月.

秋山修志, 「時計タンパク質のダイナミクス」, 放射光将来光源利用サイエンス若手シンポジウム, 東京大学, 2012年8月.

秋山修志, 「時計タンパク質 KaiC の概日性分子鼓動」, 第12回日本蛋白質科学会年会, 名古屋国際会議場, 2012年6月.

向山 厚, 尾上靖弘, 大迫政人, 近藤孝男, 秋山修志, 「シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC の ATPase に備わる自己抑制制御機構」, 第12回日本蛋白質科学会年会, 名古屋, 2012年6月.

向山 厚, 近藤孝男, 秋山修志, 「シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC が刻む概日リズム」, 第12回日本蛋白質科学会年会, 名古屋, 2012年6月.

秋山修志, 「タンパク質時計に秘められた秩序ある遅いダイナミクス～源振の分子科学的解明と新光源への期待～」, 第25回日本放射光学会年会, 鳥栖市民文化会館, 2012年1月.

S. AKIYAMA, “Circadian ticking of cyanobacterial clock protein KaiC in solution,” from Structure to Dynamics: For Our Understanding of Protein-Protein Interactions, Nagoya (Japan), March 2012.

S. AKIYAMA, “Tracking and Visualizing Intramolecular Feedback in Cyanobacterial Clock Protein KaiC,” The 12th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Seoul (Korea), October 2012.

B-6) 受賞, 表彰

S. AKIYAMA, The Protein Society Annual Poster Board Award (2002).

S. AKIYAMA, 2006 SAS Young Scientist Prize (2006).

秋山修志, 日本生物物理学会若手奨励賞 (2007).

秋山修志, 平成20年度文部科学大臣表彰若手科学者賞 (2008).

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 (2011-).

日本生物物理学会分野別専門委員 (2010, 2012).

学会の組織委員等

第18回日本時間生物学会学術大会実行委員 (2011).

第12回日本蛋白質科学会年会組織委員 (2012).

第50回日本生物物理学会年会実行委員 (2012).

学会誌編集委員

日本生物物理学会「生物物理」会誌編集委員 (2009-2011).

日本結晶学会「日本結晶学会」会誌編集委員 (2010-2012).

B-10) 競争的資金

科学技術振興機構さきがけ研究, 「時間と共に離合集散を繰り返す分子機械のX線小角散乱・動的構造解析」, 秋山修志 (2005年-2009年).

科研費若手研究(B), 「異常分散・X線小角散乱を利用した無配向生体高分子の2原子間距離計測」, 秋山修志 (2007年-2010年).

科研費若手研究(A), 「時を生み出すタンパク質 KaiC における ATPase 自己抑制・温度補償機構」, 秋山修志 (2010年-2013年).

科研費挑戦的萌芽研究, 「多チャンネル・セルを用いたハイスループットX線小角散乱」, 秋山修志 (2012年-2014年).

C) 研究活動の課題と展望

2012年4月に当研究グループを立ち上げ、それより実験室や機器類の整備、グループ構成員の拡充など、研究体制の整備に注力してきた。同年9月に着任した向山厚助教および研究補助員らの努力により、シアノバクテリアの時計タンパク質が安定的に生産・精製されるようになった。これによって生物物理学、分光学、構造生物学といった幅広い方向への研究展開が可能となるため、試料の量と質が早い段階で担保されたことは非常に意義深い。

X線溶液散乱用に開発された8連セルは安定に稼働しており、実験データの収集が大幅に簡便化された。これによって計測以外の業務に割くことのできる時間が増し、現場での試料調製やデータ解釈が十分にできるようになった。次年度は、観測ポート数を劇的に増やした多チャンネル・セルを開発し、さらなる計測効率や精度の向上に貢献したい。

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) 赤外分光法によるチャンネルロドプシンの光誘起構造変化の解明
- d) 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
- e) 哺乳動物カリウムチャンネルタンパク質の赤外分光解析
- f) 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
- g) 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

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 古細菌型ロドプシンの一種であるハロロドプシンは光駆動型塩化物イオンポンプである。今年度は光誘起の赤外差スペクトルを時分割計測し、各中間体形成時における水の O-H 伸縮振動の帰属に成功した。タンパク質内部で水素結合の相手がいない水分子の“dangling bond”の強度変化から、塩化物イオンの取込みと放出の際に、そのような水分子が増えることを明らかにした (Y. Furutani *et al.*, *J. Phys. Chem. Lett.* 3, 2964–2969 (2012))。負電荷を持ったイオンがタンパク質内部で安定化される際に水分子が積極的に関与していることを示唆する結果である。
- b) 表面増強赤外分光計測を膜タンパク質に適用するため、金薄膜の厚みの違いによる赤外吸収への影響を調べた。対象にはハロロドプシン試料を選び、タンパク質骨格の吸収を反映する amide I および amide II を観測した。その結果、厚みが 3~7 nm 程度では通常の吸収スペクトルが観測され、9~11 nm ではスペクトルに歪みが現れ、~20 nm においては正負が逆転したスペクトルを観測した。偏光子を用いた計測により、スペクトル形状の変化は s 偏光による影響であることを明らかにした (H. Guo *et al.*, *Chem. Phys.* in press)。また、光誘起構造変化を観測するため、反応中間体の寿命が 1 sec 程度と長いセンサリロドプシン2を用いた実験を行い、活性中間体形成に伴う赤外スペクトル変化の計測にも成功した。
- c) チャンネルロドプシンは、緑藻類に由来する光駆動型イオンチャンネルである。本課題は、野生型チャンネルロドプシン、ChR-1 及び ChR-2 から作成されたキメラチャンネルロドプシン、ChR-Wide Receiver (ChRWR) と ChR-Fast Receiver (ChRFR) の分子機構を明らかにすることを目的とする。哺乳培養細胞で発現させた ChRWR 及び ChRFR を精製し、脂質二重膜に再構成した上で、全反射フーリエ変換赤外分光法を用いて、光定常状態での構造変化を解析した。ChRWR 及び ChRFR の赤外差スペクトルは非常によく似ているが、ChR-2 とはいくつかの点で異なることが分かった。ChR-1 部分が多く含まれるキメラタンパク質であるため、ChR-1 の構造変化は ChR-2 とは異なっていることが示唆される。
- d) 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、これまでメラノプシンがどのような分子特性を持つことで体内時計の調節を担っているのかは不明であった。前年度に解析に成功した頭索類ナメジウオのメラノプシンに加えて、今年度はマウスなど哺乳動物のメラノプシンについても哺乳培養細胞を用いて試料を大量調製することに成功した。現在各種メラノプシンについて、分子特性の類似点・相違点を生化学的・分光学的手法を用いて明らかにすることに取り組んでいる。

- e) イオンチャネルは、様々な細胞とりわけ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、個々のチャネルの特徴がどのように生み出されているのかなど、不明な点が残っている。今年度は、哺乳動物が持つ各種カリウムチャネルのうち、20種類程度について哺乳培養細胞を用いた大量発現に取り組み、その内いくつかのチャネルタンパク質について大量調製に成功した。そして調製したイオンチャネルについて、カリウム存在条件とナトリウム存在条件との赤外差吸収スペクトルを測定することに成功した。その結果、既に赤外分光解析が進んでいるカリウムチャネル KcsA の結果 (Y. Furutani et al., *J. Phys. Chem. Lett.* 3, 3806–3810 (2012)) と類似する振動バンドを見いだした。
- f) 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、また濃度依存的なゲーティング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計測した。その結果、膜貫通ドメインに存在する Mg^{2+} 結合サイト (MgI) 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おり、またチャネルが開いた状態と閉じた状態で MgI サイトに存在するアスパラギン酸の配位状態が異なっていることが明らかになってきた。
- g) 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、顕微蛍光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た。現在、カルシウムと結合すると蛍光強度が増大する分子とカルシウムイオンとが高効率で混合されていることを蛍光顕微鏡で確認しており、蛍光相関関数を求めることによって反応時間の規格化を行っている。今後は蛍光標識した低収量生体試料（特に膜タンパク質）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たい。

B-1) 学術論文

- K. KATAYAMA, Y. FURUTANI, H. IMAI and H. KANDORI, “Protein-Bound Water Molecules in Primate Red- and Green-Sensitive Visual Pigments,” *Biochemistry* 51, 1126–1133 (2012).
- H. ITO, M. SUMII, A. KAWANABE, Y. FAN, Y. FURUTANI, L. S. BROWN and H. KANDORI, “Comparative FTIR Study of a New Fungal Rhodopsin,” *J. Phys. Chem. B* 116, 11881–11889 (2012).
- Y. FURUTANI, K. FUJIWARA, T. KIMURA, T. KIKUKAWA, M. DEMURA and H. KANDORI, “Dynamics of Dangling Bonds of Water Molecules in *pharaonis* Halorhodopsin during Chloride Ion Transportation,” *J. Phys. Chem. Lett.* 3, 2964–2969 (2012).
- Y. FURUTANI, H. SHIMIZU, Y. ASAI, T. FUKUDA, S. OIKI and H. KANDORI, “ATR-FTIR Spectroscopy Revealed the Different Vibrational Modes of the Selectivity Filter Interacting with K^+ and Na^+ in the Open and Collapsed Conformations of the KcsA Potassium Channel,” *J. Phys. Chem. Lett.* 3, 3806–3810 (2012).

B-4) 招待講演

- T. KIMURA, H. KANDORI and Y. FURUTANI, “Time-resolved infrared study on the light-driven chloride ion pump protein,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences: Experiments and Simulations, Cultural Center of Todaiji Temple, Nara (Japan), January 2012.

T. KIMURA, S. DOUKI, R. ISHITANI, O. NUREKI and Y. FURUTANI, “Ion-selective mechanism of Mg^{2+} transporter MgtE studied by ATR-FTIR spectroscopy,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences, Nara (Japan), January 2012.

古谷祐詞, 「赤外分光法でイオン輸送および情報伝達にはたらく膜タンパク質の構造変化を調べる方法」, 難治性疾患・統合創薬プロジェクト第9回セミナー, 立命館大学, 草津, 2012年1月.

古谷祐詞, 清水啓史, 浅井祐介, 福田哲也, 老木成稔, 神取秀樹, 「全反射赤外分光法による K^+ および Na^+ イオン結合に伴う KcsA イオン選択フィルターの構造変化解析」, 特定領域研究「高次系分子科学」第15回ミニ公開シンポジウム「イオンチャネル研究の現状とこれからについて考える」, 大阪大学, 吹田, 2012年1月.

古谷祐詞, 「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」, 平成23年度「若手研究者による分野間連携プロジェクト」実績報告会, 分子科学研究所, 岡崎, 2012年2月.

古谷祐詞, 「膜蛋白質の構造揺らぎと機能連関の解明に資する赤外分光計測法の開発」, 自然科学研究機構プロジェクト「脳神経情報の階層的研究」「機能生命科学における揺らぎと決定」合同シンポジウム, 岡崎コンファレンスセンター, 岡崎, 2012年2月.

古谷祐詞, 「赤外分光法の膜タンパク質への適用～過去・現在・未来～」, 分子研研究会「次世代分子科学に向けた複合研究討論会」, 分子科学研究所, 岡崎, 2012年3月.

木村哲就, 「生体分子反応の実時間観察を可能にする溶液混合装置の開発と応用例」, 2011年度技術課セミナー「フォトリソグラフィ技術の基礎と応用」, 分子科学研究所, 岡崎, 2012年3月.

Y. FURUTANI, “Ion-Protein Interactions Studied by ATR-FTIR Spectroscopy,” The 16th East Asian Workshop on Chemical Dynamics, National Tsing Hua University, Hsinchu (Taiwan), April 2012.

古谷祐詞, 「タンパク質のまちがい探し～赤外吸収差スペクトル法とは?～」, 大阪市立大学理学研究科セミナーシリーズ, 大阪市立大学, 大阪, 2012年4月.

Y. FURUTANI, “Ion-protein Interactions Studied by ATR-FTIR Spectroscopy,” 17th Malaysian Chemical Congress (17MCC) 2012, Putra World Trade Centre, Kuala Lumpur (Malaysia), October 2012.

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).

古谷祐詞, 平成24年度分子科学研究奨励森野基金 (2012).

木村哲就, 5th International symposium on Nanomedicine, The Best Poster Award (2012).

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, 2012–2013).

日本生物物理学会分野別専門委員 (2010, 2011, 2012).

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 (2011–2012).

日本分光学会中部支部幹事 (2012).

日本生物物理学会分野別専門委員 (2012). (木村哲就)

学会の組織委員等

第15回レチナルタンパク質国際会議実行委員 (2012-2013).

学会誌編集委員

日本生物物理学会生物物理中部地区編集委員 (2007, 2010).

B-8) 大学での講義, 客員

総合研究大学院大学物理科学研究科, 「分子分光学」, 2012年7月11日.

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).

科研費挑戦的萌芽研究, 「哺乳動物イオンチャネルの機能的発現と分子機構解析」, 古谷祐詞 (2012年-2013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-2010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).

B-11) 産学連携

ノバルティス科学振興財団研究奨励金, 「部位特異的蛍光標識を用いたGタンパク質共役受容体の動的構造変化の解析」, 塚本寿夫 (2012年).

C) 研究活動の課題と展望

研究室を主催してから新たに開始した表面増強赤外分光計測に関する最初の論文を発表することができた(印刷中)。現在は、金薄膜に膜タンパク質を吸着させる向きをコントロールし、細胞質側と細胞外側との構造変化を選択的に検出することを試みている。また、今のところ光受容タンパク質に対して適用しているが、将来的には各種イオンチャネルなどにも適用の範囲を広げていきたい。タンパク質内部の水分子の構造変化を時分割計測する回転セルを装置開発室と共同で開発中である。水和量を極限にまで下げる必要があるため、フローセルを使うことはできない。1回の光反応で退色する試料や元の状態に戻るのに時間の掛かる試料に最適な計測系になるものと期待している。株式会社ユニソクと共同で開発した急速溶液混合装置による時分割赤外吸収計測については、進捗に遅れがあるが、来年度から本格的に実験を行う予定である。哺乳動物細胞による膜タンパク質の大量発現系が安定して稼働しており、チャネルロドプシン、メラノプシン、哺乳動物カリウムチャネルなど様々な挑戦的な研究対象に取り組んでいる。来年度には、それぞれの実験データから機能発現機構に迫る興味深い結論が得られるものと期待している。

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がかけて成功した。
- 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. M. A. YAMADA, S. M. SARKAR and Y. UOZUMI, “Self-Assembled Poly(imidazole-palladium): Highly Active, Reusable Catalyst at Parts per Million to Parts per Billion Levels,” *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 3190–3198 (2012).

Y. M. A. YAMADA, T. WATANABE, A. OHNO and Y. UOZUMI, “Development of Polymeric Palladium-Nanoparticle Membrane-Installed Microflow Devices and their Application in Hydrodehalogenation,” *ChemSusChem* **5**, 293–299 (2012).

Y. M. A. YAMADA, S. M. SARKAR and Y. UOZUMI, “Amphiphilic Self-Assembled Polymeric Copper Catalyst to Parts per Million Levels: Click Chemistry,” *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 9285–9290 (2012).

T. OSAKO, D. PANICHAKUL and Y. UOZUMI, “Enantioselective Carbenoid Insertion into Phenolic O–H Bonds with a Chiral Copper(I) Imidazoindolephosphine Complex,” *Org. Lett.* **14**, 194–197 (2012).

K. INAMOTO, C. HASEGAWA, K. HIROYA, Y. KONDO, T. OSAKO, Y. UOZUMI and T. DOI, “Use of Dimethyl Carbonate as a Solvent Greatly Enhances the Biaryl Coupling of Aryl Iodides and Organoboron Reagents without Adding Any Transition Metal Catalysts,” *Chem. Commun.* **48**, 2912–2914 (2012).

B-3) 総説, 著書

Y. UOZUMI, “Allylic and Aromatic Substitution Reactions,” in *Science of Synthesis Water in Organic Synthesis*, 511–534 (2012).

B-4) 招待講演

魚住泰広, 「高分子担持 Pd 触媒を用いた水中有機合成」, 有機合成のニュートレンド2012, 大阪, 2012年12月.

Y. UOZUMI, “Recent Progress in the Suzuki-Miyaura Coupling: Green, Flow, Asymmetric Catalytic Systems,” 8th CRC International Symposium on Organometallics & Catalysis, Toronto (Canada), February 2012.

Y. UOZUMI, “NCN Pincer Palladium Complexes—Their Preparation via a Ligand Introduction Route and Their Catalytic Properties—,” Seminar at Faculty of Chemistry, Weizmann Institute of Science, Rehovot (Israel), April 2012.

Y. UOZUMI, “Amphiphilic Self-Assembled Polymeric Pd and Cu Catalysts: Suzuki-Miyaura Coupling and Huisgen Cycloaddition at ppm Levels,” The 6th CMDS Meeting on OMCOS 2012, Sokcho (Korea), September 2012.

魚住泰広, 「遷移金属不斉触媒の革新と展開」, 第2回CSJ 化学フェスタ2012, 東京, 2012年10月.

Y. UOZUMI, “Amphiphilic Self-Assembled Polymeric Pd and Cu Catalysts: Suzuki-Miyaura Coupling and Huisgen Cycloaddition at ppm Levels,” The 2nd Korea Forum on Organic Chemistry, Seoul (Korea), November 2012.

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).

浜坂 剛, 第1回「名古屋大学石田賞」(2012).

大迫隆男, 有機合成化学協会研究企画賞 (2012).

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 誌アドバイザリーボード (2002–).
SYNFACTS 誌編集委員 (2005–).
ACS Combinatorial Science 誌エディトリアルアドバイザリーボード (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 (2008–2012).

B-8) 大学での講義, 客員

大阪大学産業科学研究所, 客員教授, 2012 年 4 月 1 日–6 月 30 日.
日本大学大学院総合基礎科学研究科, 「次世代のクリーン化学合成を実現する高分子担持触媒の創製」, 2012 年 12 月 6 日.

B-9) 学位授与

武藤 翼, 「両親媒性ピンサー型パラジウム錯体から成るベシクル触媒の創製と水中有機分子変換反応への応用」, 2012 年 3 月, 博士(理学).

B-10) 競争的資金

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).
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製」, 魚住泰広 (2002 年–2008 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-).
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 (2012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に実現しつつある。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, 上述の水中不均一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月に終了した。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～2012 年 3 月 31 日)*)

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) 水の 4 電子酸化反応における酸素-酸素形成過程の機構解明。

B-1) 学術論文

B. COHEN, D. POLYANSKY, P. ACHORD, D. CABELLI, J. MUCKERMAN, K. TANAKA, R. THUMMEI, R. ZONG and E. FUJITA, “Steric Effects for Proton, Hydrogen-Atom, and Hydride Transfer Reactions with Geometric Isomers of NADH-Model Ruthenium Complexes,” *Faraday Discuss.* **155**, 129–144 (2012).

T. WADA, H. OHTSU and K. TANAKA, “Catalytic Four-Electron Oxidation of Water via Intramolecular Coupling of the Oxo Ligands of Bis(ruthenium-bipyridine) Complex,” *Chem. –Eur. J.* **18**, 2374–2381 (2012).

S. K. PADHI and K. TANAKA, “Photo- and Electrochemical Redox Behavior of Ru(II) Complexes Having Cyclometalated 3-Phenylbenzo[*b*][1,6]naphthyridine (phbn) Ligand,” *Inorg. Chem.* **51**, 5386–5392 (2012).

H. OHTSU and K. TANAKA, “Drastic Difference in the Photo-Driven Hydrogenation Reactions of Ruthenium Complexes Containing NAD Model Ligands,” *Chem. Commun.* **48**, 1796–1798 (2012).

K. TANAKA, H. ISOBE, S. YAMANAKA and K. YAMAGUCHI, “Similarities of Artificial Photosystems by Ruthenium Oxo Complexes and Native Water Splitting Systems between Artificial and Native Water Splitting Systems,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 15560–15564 (2012).

S. PADHI, R. FUKUDA, M. EHARA and K. TANAKA, “Comparative Study of C^ΛN and N^ΛC Type Cyclometalated Ruthenium Complexes with an NAD⁺/NADH Function,” *Inorg. Chem.* **51**, 8091–8102 (2012).

S. PADHI, R. FUKUDA, M. EHARA and K. TANAKA, “Photoisomerization and Proton-Coupled Electron Transfer (PCET) Promoted Water Oxidation by Mononuclear Cyclometalated Ruthenium Catalysts,” *Inorg. Chem.* **51**, 5386–5392 (2012).

H. OHTSU and K. TANAKA, “An Organic Hydride Transfer Reaction of a Ruthenium NAD Model Complex Leading to Carbon Dioxide Reduction,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **51**, 9792–9795 (2012).

B-4) 招待講演

田中晃二, 「錯体触媒による水の酸化反応」, 光合成シンポジウム, 東京, 2011年2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-).

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).

経済産業省委託研究, 「ソーラー水素製造プロセス技術開発(革新的光触媒)」, 田中晃二 (2012年度-2014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。

金属アクア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、酸素原子上に不対スピンを有するオキシラジカル金属錯体が生成する。オキシラジカル金属錯体を經由する水および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。

※) 2012年3月31日退職

2012年4月1日京都大学物質-細胞統合システム拠点特任教授

村 橋 哲 郎 (教授) (2012 年 4 月 1 日着任)

A-1) 専門領域：錯体化学，有機金属化学

A-2) 研究課題：

- a) 一次元金属鎖サンドイッチ錯体の創成と性状解明
- b) 二次元金属シートサンドイッチ錯体の創成と性状解明
- c) 高反応性パラジウム錯体およびパラジウムクラスターの反応性解明

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 一次元金属鎖サンドイッチ錯体内で金属鎖がレドックス誘起により可逆的に分裂することを発見。また，平行に配置された π -配位子間で可逆的に C-C 結合形成を起こすことも発見。
- b) サンドイッチ構造内に Pd₂Pt，および PdPt₂ 組成を持つ混合金属コアを固定することに初めて成功。
- c) 高い反応活性を持つ二核 Pd-Pd 結合種がアレーン類に二核付加反応を起こすことを発見。

B-1) 学術論文

T. MURAHASHI, K. SHIRATO, A. FUKUSHIMA, K. TAKASE, T. SUENOBUE, S. FUKUZUMI, S. OGOSHI and H. KUROSAWA, "Redox-Induced Reversible Metal Assembly through Translocation and Reversible Ligand Coupling in Tetranuclear Metal Sandwich Frameworks," *Nat. Chem.* **4**, 52–58 (2012).

T. MURAHASHI, K. USUI, Y. TACHIBANA, S. KIMURA and S. OGOSHI, "Selective Construction of Pd₂Pt and PdPt₂ Triangles in a Sandwich Framework: Carbocyclic Ligands as Scaffolds for a Mixed-Metal System," *Chem. –Eur. J.* **18**, 8886–8890 (2012).

B-3) 総説，著書

村橋哲郎, 「新しいサンドイッチ化合物群の誕生——点から線，面へと金属をつなげる——」, *現代化学* 42–46 (2012).

B-4) 招待講演

村橋哲郎, 「金属鎖および金属シートを持つサンドイッチ化合物の創製」, 東京大学大学院工学研究科応用化学談話会, 東京, 2012年3月.

村橋哲郎, 「サンドイッチ化合物の新展開」, 分子研研究会, 岡崎, 2012年3月.

T. MURAHASHI, "Redox-Switchable Metal Assembling and Ligand Coupling in Tetranuclear Palladium Sandwich Frameworks," The 9th Japan-China Joint Symposium on Metal Cluster Compounds, Fukuoka (Japan), August 2012.

村橋哲郎, 「サンドイッチ化合物の化学——単核から多核への展開」, 東京工業大学理工学研究科応用化学専攻セミナー, 東京, 2012年11月.

村橋哲郎, 「サンドイッチ化合物の構造次元性拡張」, 第43回中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 名古屋, 2012年11月.

T. MURAHASHI, "Chemistry of Dimensionally Extended Sandwich Compounds," RIKEN International Symposium on Frontiers of Organometallic Chemistry, Saitama (Japan), November 2012.

B-6) 受賞, 表彰

村橋哲郎, 日本化学会進歩賞 (2007).

村橋哲郎, 錯体化学会研究奨励賞 (2007).

村橋哲郎, 文部科学大臣表彰若手科学者賞 (2008).

村橋哲郎, 有機合成化学協会研究企画賞 (2008).

村橋哲郎, Royal Society of Chemistry (RSC), Dalton Lectureship Award (2010).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

錯体化学会副事務局長 (2012-).

錯体化学会理事 (2012-).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

文部科学省学術審議会専門委員会科研費審査委員 (2009-).

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, 「応化特論第一」, 2012年後期.

総合研究大学院大学物理科学研究科, 「錯体物性化学」, 2012年後期.

B-10) 競争的資金

科研費特定領域研究(公募研究), 「 π -電子空間における金属原子集合体の形成と構造制御」, 村橋哲郎 (2005年).

科研費若手研究(B), 「シート状2次元パラジウム骨格を持つ有機パラジウム錯体の創製」, 村橋哲郎 (2005年-2006年).

大阪大学FRC 若手研究者育成プログラム, 「サンドイッチ型二次元単層金属シート化合物の創出」, 村橋哲郎 (2005年).

科学技術振興機構さきがけ研究, 「炭素鋳型法による低次元性ナノ金属集合体のビルドアップ型創製」, 村橋哲郎 (2005年-2009年).

科研費特定領域研究(計画研究), 「遷移金属多核錯体の高精度金属核配列制御」, 村橋哲郎 (2006年-2009年).

科研費若手研究(B), 「メタロセン型パラジウムクラスター分子の創製および反応性」, 村橋哲郎 (2007年-2008年).

住友財団基礎科学助成, 「拡張 π -共役炭素間に固定された多核金属種の動的集合性及び反応性の解明」, 村橋哲郎 (2009年-2010年).

科学技術振興機構さきがけ研究, 「光化学的手法による天然有機色素の金属バインディング機能創出」, 村橋哲郎 (2010年-2013年).

科研費挑戦的萌芽研究, 「メタロセン型異種混合金属クラスターの創製」, 村橋哲郎 (2011年-2012年).

徳山科学技術振興財団研究助成, 「メタロセン型後周期遷移金属クラスター触媒の開発」, 村橋哲郎 (2012年-2013年).

科研費若手研究(A), 「後周期遷移金属を用いたメタロセノイドクラスターの創製と反応解明」, 村橋哲郎 (2012年-2014年).

C) 研究活動の課題と展望

これまでにない結合様式を持つ新たな分子群の存在を実証することは、化学研究における源流に位置づけられ、ここから新たな発展が導かれる。我々の研究グループではこれを最重要課題の一つとして位置づけ、独自の分子設計指針に基づく新有機金属化合物群の実証・創成研究を進めている。特に、新しいサンドイッチ化合物群の創出に力を入れている。2つの不飽和炭化水素類がその π -電子を用いて金属に配位することにより生じるサンドイッチ錯体は、代表的な有機金属化合物群の一種である。しかし、従来の概念では、安定サンドイッチ分子の構造内に固定できる金属原子の数は1つまたは2つに制限されると考えられてきた。これに対して、我々の研究グループでは、新しい錯体合成法を開発し、多数の金属原子からなる金属集合体がサンドイッチ分子内に形成・固定され、安定な分子を与えることを初めて発見している(*Science*, 2006 など)。この発見を契機として、様々なサイズ・形状を持つ多核サンドイッチ化合物が得られることを明らかにしてきており、多核サンドイッチ化合物は広く存在しうる一般性の高い新分子群であることが判明しつつある。今後、合成研究をさらに展開していくことで、オリゴマーサイズやポリマーサイズのサンドイッチ化合物が存在することを実証できる可能性がある。また、適用できる金属元素の種類を増やす検討も必要である。一方、多様な種類の多核サンドイッチ化合物が入手できるようになってきたため、多核サンドイッチ化合物の基本的物性や反応性の解明にも着手できるようになってきた。既に、いくつかの興味深い内部構造変化挙動を明らかにしており、本年に論文発表したレドックス誘起による金属鎖の可逆的分裂挙動もそのひとつである(*Nat. Chem.*, 2012)。多核サンドイッチ化合物は今後も新現象を示す可能性があり、その全貌を明らかにしていくことを目指していく。また、我々のグループでは均一系で取り扱うことのできる反応活性Pd-Pd結合錯体を合成することに成功しており、その反応機構についての研究を進めている。特に、ここ数年は、アレーン類とパラジウムクラスターとの配位結合様式および変換パターンの解明を進めている。パラジウムとアレーン類との結合相互作用は弱いため、これまでその配位結合様式は詳しく理解されていなかったが、これを解明できる可能性がある。

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) プロトン共役電子移動を利用した多電子移動反応
- 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の解明に取り組んだ。触媒と酸化剤の高速混合により得られる紫外可視吸収スペクトルの経時変化を特異値分解することにより、反応中間体と考えられる有意なスペクトル成分を得ることに成功した。その結果は、DFT/TDDFT 計算によるスペクトル予測とも一致した。以上より、触媒の3電子酸化体を経由した機構で反応が進行していることが判明した。
- 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、水溶液中における電子・プロトン授受プロセスの制御を試みた。一例として、2電子2プロトンの授受が可能なルテニウム-アクア部位と、同じく2電子2プロトンの授受が可能な2,2'-ビイミダゾールを組み合わせたルテニウム錯体を合成することにより、水溶液中、電荷の増減を伴わない四電子移動反応を実現させることに成功した。このような多電子移動反応は、人工光合成などのエネルギー貯蔵技術に応用可能である。
- c) 金属錯体の界面配列に挑戦した。具体的には、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、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を構築することに成功した。

B-1) 学術論文

M. OKAMURA, M. YOSHIDA, R. KUGA, K. SAKAI, M. KONDO and S. MASAOKA, "A Mononuclear Ruthenium Complex Showing Multiple Proton-Coupled Electron Transfer toward Multi-Electron Transfer Reactions," *Dalton Trans.* **41**, 13081–13089 (2012).

M. KOBAYASHI, S. MASAOKA and K. SAKAI, "Photoinduced Hydrogen Evolution from Water Based on a Z-Scheme Photosynthesis by a Simple Platinum(II) Terpyridine Derivative," *Angew. Chem., Int. Ed.* **51**, 7431–7434 (2012).

M. KOBAYASHI, S. MASAOKA and K. SAKAI, "Synthesis, Crystal Structure, Spectroscopic and Electrochemical Properties, and H₂-Evolving Activity of a New [PtCl(terpyridine)]⁺ Derivative with Viologen-Like Redox Properties," *Dalton Trans.* **41**, 4903–4911 (2012).

H. A. E.-GHAMRY, K. SAKAI, S. MASAOKA, K. Y. E.-BARADIE and R. M. ISSA, "Preparation, Characterization, Biological Activity and 3D Molecular Modeling of Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Pd(II) and Ru(III) Complexes of Some Sulfadiazine Schiff Bases," *Chin. J. Chem.* **30**, 881–890 (2012).

H. A. E.-GHAMRY, K. SAKAI, S. MASAOKA, K. Y. E.-BARADIE and R. M. ISSA, "Synthesis and Characterization of Self-Assembled Coordination Polymers of N-Diaminomethylene-4-(3-formyl-4-hydroxy-phenylazo)-benzenesulfonamide," *J. Coord. Chem.* **65**, 780–794 (2012).

W.-W. YANG, Y.-W. ZHONG, S. YOSHIKAWA, J.-Y. SHAO, S. MASAOKA, K. SAKAI, J. YAO and M. HAGA, "Tuning of Redox Potentials by Introducing a Cyclometalated Bond to Bis-Tridentate Ruthenium(II) Complexes Bearing Bis(Nmethylbenzimidazolyl)benzene or -pyridine Ligands," *Inorg. Chem.* **51**, 890–899 (2012).

A. KIMOTO, K. YAMAUCHI, M. YOSHIDA, S. MASAOKA and K. SAKAI, "Kinetics and DFT Studies on Water Oxidation by Ce^{4+} Catalyzed by $[\text{Ru}(\text{terpy})(\text{bpy})(\text{OH}_2)]^{2+}$," *Chem. Commun.* **48**, 239–241 (2012).

K. KUROIWA, M. YOSHIDA, S. MASAOKA, K. KANEKO, K. SAKAI and N. KIMIZUKA, "Self-Assembly of Tubular Microstructures from Mixed-Valence Metal Complexes and their Reversible Transformation via External Stimuli," *Angew. Chem., Int. Ed.* **51**, 656–659 (2012).

B-3) 総説, 著書

正岡重行, 「金属錯体を用いた水の酸化と人工光合成への挑戦」, *化学工業* **63**, 646–652 (2012).

吉田将己, 正岡重行, 「錯体型人工光合成へ向けて! ——金属錯体触媒による酸素発生反応に新展開」, *月刊「化学」* **67(6)**, 12–16 (2012).

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」, 第43回中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 名古屋工業大学, 2012年11月.

正岡重行, 「植物から学べ! 人工光合成」, 分子科学研究所一般公開, 岡崎コンファレンスセンター, 2012年10月.

正岡重行, 「金属錯体を触媒とする水の酸化反応」, 神奈川R&D推進協議会技術討論会, 旭硝子株式会社中央研究所, 2012年10月.

S. MASAOKA, "Water Oxidation Catalyzed by Mononuclear and Multinuclear Metal Complexes," Environmental Issues and Challenges: Toward Breakthrough by Bioinorganic Chemistry, 62nd JSCC Symposium, University of Toyama (Japan), September 2012.

S. MASAOKA, "A Mononuclear Ruthenium Complex Showing Multiple Proton-Coupled Electron Transfer toward Multi-Electron Transfer Reactions," Inorganic Photophysics and Photochemistry—Fundamentals and Applications: Dalton Discussion 13, University of Sheffield, Sheffield (U.K.), September 2012.

S. MASAOKA, "Water Oxidation Catalyzed by Mononuclear Ruthenium Complexes: Effect of Cerium(IV) Ion as a "Non-Innocent" Oxidant," 9th Japan-China Joint Symposium on Metal Cluster Compounds, Hilton Fukuoka Sea Hawk (Japan), August 2012.

正岡重行, 「ヘキサアザトリフェニレン(HAT)から学んだこと」, エキゾチック分子集合体の新展開, 北海道大学学術交流会館, 2012年8月.

S. MASAOKA, "Water Oxidation Catalyzed by Mononuclear Ruthenium Complexes: Effect of Cerium(IV) Ion as a "Non-Innocent" Oxidant," 2nd International Conference on Molecular and Functional Catalysis (ICMFC-2), Biopolis (Singapore), July 2012.

S. MASAOKA, "Reaction Mechanism and Activity Enhancement of Water Oxidation by Mononuclear Ruthenium Catalysts: Effect of Cerium(IV) Ion as a Non-Innocent Oxidant," 95th Canadian Chemistry Conference and Exhibition, Calgary (Canada), May 2012.

S. MASAOKA, "Paradigm Shift in Water Oxidation," Workshop on Novel Catalytic Systems and Innovative Nanomaterials, Institute for Molecular Science (Japan), April 2012.

正岡重行, 「金属錯体を用いた水の酸化と人工光合成への挑戦」, 日本化学会第92春季年会特別企画講演, 慶応大学日吉キャンパス, 2012年3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92春季年会若い世代の特別講演会, 慶応大学日吉キャンパス, 2012年3月.

正岡重行, 「錯体における光酸化還元的基础」, 第1回人工光合成基礎セミナー, 東京大学本郷キャンパス, 2012年3月.

正岡重行, 「金属錯体を触媒とする酸素発生反応」, 大阪市立大学複合先端研究機構年次総会, 大阪市立大学, 2012年3月.

S. MASAOKA, "Chemistry of Transition Metal Complexes for Artificial Photosynthesis," The 4th Winter School of Asian-Core Program, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing (China), February 2012.

正岡重行, 「人工光合成を志向した金属錯体化学」, 基生研・生理研・分子研一名工大 合同講演会, 岡崎コンファレンスセンター, 2012年1月.

B-6) 受賞, 表彰

近藤美欧, 第5回資生堂女性研究者サイエンスグラント (2012)

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

科学技術振興機構先導的物質変換領域, 「超分子クラスター触媒による水を電子源としたCO₂還元反応系の構築」, 近藤美欧 (2012年-2017年).

科研費挑戦的萌芽研究, 「二次元反応場への金属錯体集積と水を基質とする革新的多電子物質変換」, 正岡重行 (2012年-2013年).

科研費若手研究(B), 「高効率触媒界面の構築を目指した錯体プラットフォームの開発」, 近藤美欧 (2012年-2013年).

第5回資生堂女性研究者サイエンスグラント,「界面電子移動プログラミングによる水の完全光分解系の構築」, 近藤美欧 (2012年-2013年).

学融合推進センター公募研究事業事業枠③女性研究者支援,「界面電子移動反応を利用した水の完全光分解システムの創成」, 近藤美欧 (2012年).

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- π 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、①水を四電子酸化して電子を取り出す反応系の構築、②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、③水中プロトンの活性化と反応性制御、④水中ラジカル形成と反応性制御、⑤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。