



## 計画班ワークショップ 開催報告

神取 秀樹 (名工大院工・総括班)

本新学術領域においては、比較的、少人数でテーマを絞って行うワークショップの開催が大きな特徴であり、班員の自由な発案をもとに会場費や旅費が総括班から援助される。初年度には 2 回、平成 26 年度には 7 回のワークショップが開催されており、本年度もさまざまな企画が検討されている。

平成 27 年度、最初の企画として計画班ワークショップが 5 月 1 日（金）、2 日（土）に静岡県御殿場市の時之栖で開催された。このワークショップは、今年度に予定されている当新学術領域の中間評価に向けて、各計画班員が当初計画に基づき現況を報告し、ハイライトとなる達成内容を討論することを目的とした。同時に共同研究に関する進捗を報告し、さらなる展開の可能性を検討することも予定していた。

ゴールデンウイークの晴天の中、美しい富士山を横目に見ながら会場に集結した計画班員は、1 日の午後 1 時から会議室に缶詰めになってワークショップを行った（写真左）。領域代表・田原氏のあいさつ、事務局・藤井氏からの中間評価に関する説明に続いて、A01 の 3 名（北尾氏、林氏、森田氏）、A02 の 4 名（水谷氏、田原氏、高橋氏、藤井氏）、A03 の 4 名（神取、村橋氏、中西氏+吉沢氏）の計画研究の進捗状況を検討した。具体的には、申請した計画とその達成度、さらには共同研究について計画班員が 10 分程度で説明した後、質疑を行ったわけであるが、富士山を眺めるための十分な休憩時間を確保していたにも関わらず、実際には議論が白熱して、トイレ休憩の確保がやっとであった。計画班員は準備期間も入れると 3 年近く仲間意



識を共有しており、なごやかな雰囲気はある一方、中間評価が迫っていることもある、プレゼンや質疑には緊張感が感じられた。10 グループの計画研究はいずれもすでに高い達成度を示しており、科研費の実績報告書的には、「当初の計画以上」か「おおむね順調」であることが確認できた。

夕食までの時間は個別の研究の検討だけに費やしたため、研究ハイライトや共同研究の議論をすべく午後 8 時過ぎに宿泊用のコッテージに集合して討議を継続した。そのためのスクリーンは準備していなかったものの、幸い円形のコッテージ内の白壁に映写することができた（写真右）。共同研究担当の立場としては、計画班員がそれぞれに積極的な共同研究を展開していることに好感が持たれた。特に、2 グループによる（文字通りの）共同研究だけでなく 3 グループによる展開（線から面への拡がり）がいくつか見られていたが、その中でも中西尚氏の試料を軸とした理論（倉重氏）と高速分光（高屋氏）に NMR 分光（川村氏）が加わって 4 グループの共同研究に進展していることは特筆できる。計画班員である中西尚氏に 3 名の公募班員が加わっての研究展開は、新学術領域における共同研究の理想の姿として高く評価したい。ちなみに夜の部が終了した時間は、すでに二日目に日付がかわっていた。

ワークショップ二日目は、比較的余裕をもった日程のもと、参加者が富士山を眺めながら自由討論を行い、個々の共同研究の課題や解決法などを議論した。

5 月末には中間評価資料をもとにコアメンバーが取りまとめを行い、7 月の国際シンポジウムにおいて評価委員からコメントをいただいた上で中間評価に臨むことになる。





## 業績紹介：SFG 分光の偏光測定と表面分子配向の関係とは？ — メタノールのメチル基の表面配向

石山 達也 (富山大工・A01 計画研究分担者)  
森田 明弘 (東北大理・A01 計画研究代表者)

論文題目："Surface Structure of Methanol/Water Solutions via Sum-Frequency Orientational Analysis and Molecular Dynamics Simulation"  
著者 : T. Ishihara, T. Ishiyama, and A. Morita\*  
雑誌巻号 : *J. Phys. Chem. C* **119**, 9879-9889 (2015).

液体の表面では異方的な環境のため、分子は一般に片寄った配向を示す。その分子配向は表面構造の最も基本的な特徴であり、界面分光測定からも盛んに議論されてきた。和周波発生(SFG)分光では、光の偏光による違いを利用して分子配向を測ることが一般的である。

(平たくいえば、光の偏光面が分子配向に合致したときに強いシグナルが出るようになる。) しかし SFG の偏光測定から分子レベルの表面配向角を導出することはそれほど単純ではなく、これまでの実験解析には多くの仮定が必要とされてきた。その一方、本研究グループでは分子動力学(MD) シミュレーションによって SFG スペクトルを計算することを可能としてきた。MD を用いれば、液体界面の分子配向も、そこから得られる SFG シグナルの偏光依存性も、共通の構造から計算できるメリットを生かして、両者の関係を曖昧さなく明らかにすることができる。

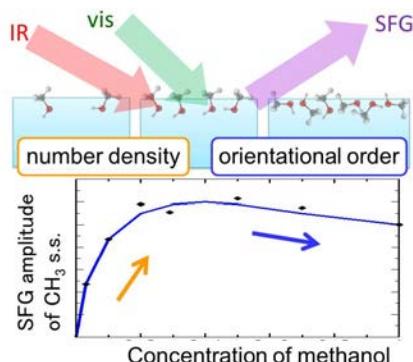
配向測定の検討は、水とメタノールの混合溶液で行った。水とメタノールは歴史的にも初めて SFG スペクトルが観測された液体で、我々の理論研究でスペクトル構造が詳細に解明されている。とくにメチル基の配向は、他のアルキル基や有機分子配向の指標として多く用いられており、そこでメチル基の配向を検討した。

メタノール水溶液でのメチル基の C-H 対称伸縮シグナルは数多くの実験測定例があり、一般にメタノールのモル分率  $x$  をあげていくと強度が上昇するが、高濃度( $x > 0.5$ )になると強度が下がるようになる。この turn-over の振る舞いを説明するには、初めメタノールの表面濃度が高くなつてシグナル強度が上昇するが、やがて表面で飽和すると分子配向が乱れしていくため(シナリオ 1)と考えられた。しかし SFG の偏光測定によると、偏光面を変えた強度比(ssp/ssp)はモル分率  $x$  を変えてても一定のままで、分子配向角には変化がない

と結論された[1]。そのため高濃度で SFG 強度が減少するのは配向が乱れるためではなく、表面第 2 層が逆向きに成長するため(シナリオ 2)という説が現れた。一体どちらが正しいのだろうか？

そこで本研究においてメタノール水溶液でモル分率  $x$  を系統的に変化させて SFG を計算してみたところ、上の実験的な特徴 2 つ(SFG 強度の turn-over および一定の偏光強度比)が確かに計算で再現された。さらに MD で得られた表面配向を直接調べたところ、高濃度でメチル基配向が乱れていく傾向が明らかで、表面第 2 層が逆向きに成長することはないことも示された。これは上のシナリオ 1 を支持している。

それでは分子配向が変化するのに、SFG 偏光強度比が一定であるのはなぜなのか。そこで従来の偏光解析の手順を検討して、その中に含まれる配向角分布に関する仮定に重大な問題があることを明らかとした。従来分子配向はある典型的な角度の周りに分布をもつとして、Gauss 分布などを仮定した解析がなされていたが、メタノールの配向には全く当てはまらず、誤った結論を導いてしまう。さらにメタノールのメチル基 CH<sub>3</sub> では、隣接 OH のために 3 回対称軸が破れ、従来の C<sub>3v</sub> 対称性に基づく超分極率の分子モデルからのずれが大きいことも明らかとなった。本研究は、これまで SFG 分光で広く用いられてきた配向解析に限界があり、信頼できる配向結果を得るには精密化する必要を示している。



メタノール水溶液でモル分率を変えた際の  
C-H 対称伸縮振動の turn-over

### 引用文献

- [1] J. Sung et al. *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 18507.



## 業績紹介：発光強度が温度に依存するランタノイド化合物 ～発光・消光過程におけるエネルギー・構造変化を簡便に計算する～

畠中 美穂  
(近大理工・A01 公募研究代表者)

論文題目："Exploring the Reaction Coordinates for f-f Emission and Quenching of Lanthanide Complexes – Thermosensitivity of Terbium(III) Luminescence"

著者：Miho Hatanaka and Keiji Morokuma

雑誌巻号：*J. Chem. Theory Comput.* **10**, 4184-4188 (2014).

ランタノイド(Ln)を用いる発光材料は、照明、ディスプレイ、生体内プローブなど、様々な分野で用いられている。これらの分野に対する理論化学の貢献は多くなく、理論的分子設計は、ほとんど行われていなかった。Ln 発光材料には、多くの場合、開殻 4f 軌道間の電子遷移 (f-f 遷移) が用いられる。この 4f 電子が曲者で、開殻電子であるにも関わらず、閉殻 5s・5p 電子に外側から遮蔽されるため、周囲環境の変化の影響をほとんど受けない。そのため、f-f 遷移による発光波長は周囲環境の変化によらず、ほぼ一定で、孤立イオンと同様のシャープなピークを持つ。この性質を巧みに利用した発光材料の一つに温度センサーがある。例えば Tb<sup>3+</sup>錯体の場合、<sup>5</sup>D<sub>4</sub>→<sup>7</sup>F<sub>2</sub> に起因する緑色発光を示すが、温度が変化しても発光色は変わらず、発光強度だけが変化する。しかも、この発光強度の温度に対する変化率は、配位子に大きく依存する。<sup>1</sup> このような温度に対する発光強度の変化を理解するためには、図 1 に示す Ln 錯体の発光・消光過程を理解する必要がある。

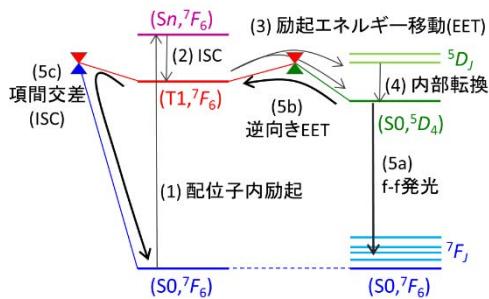


図 1 : Tb<sup>3+</sup>錯体の発光・消光過程

まず、配位子の吸光により一重項励起状態に励起(1)された後、三重項状態に緩和する(2)。その後、配位子から Tb<sup>3+</sup>への励起エネルギー移動(EET; 3)が起こることで Tb<sup>3+</sup>のみが励起された状態に至る。ここからの発光を一般に f-f 発光(5a)と呼ぶが、f-f 発光はパリティ禁

制であるため、寿命が非常に長い。そのため、Tb<sup>3+</sup>から配位子への逆向き EET(5b)や、配位子の三重項から一重項基底状態への項間交差(5c)が発光よりも速く進めば消光してしまう。ここで、(5a)-(5c)のうち速度が温度に依存するのは、(5b)と(5c)の過程のみである。つまり、発光強度の温度依存性を理解するには、消光の反応障壁を決める(5b)(5c)における分子構造とエネルギーを明らかにすれば良い。

しかし、Ln 錯体の励起状態計算は非常に難しい。励起状態計算を回避して、簡便に(5b)(5c)を求ることはできないだろうか？ここで、4f 電子が周囲環境の影響を受けにくいことに着目しよう。まず 4f<sup>8</sup> 準位間のエネルギー差は系に依存せずほぼ一定値を持つ。また 4f<sup>8</sup> 準位の PES の形は、4f 軌道内の電子配置が変わってもほぼ変わらない。そこで、図 1 の Tb<sup>3+</sup>の <sup>5</sup>D<sub>4</sub> 励起状態の PES は、<sup>7</sup>F<sub>6</sub> 基底状態の PES を励起エネルギー(実験値)分シフトさせることで近似的に記述できると考えた。(図 2) この近似により、求める 3 状態の Tb<sup>3+</sup>の電子状態は全て <sup>7</sup>F<sub>6</sub> となる。そのため、Tb<sup>3+</sup>の 4f<sup>8</sup> 電子を有効内殻ポテンシャルに含めてしまえば、求める 3 状態は一重項・三重項基底状態で表現される、つまり、簡便な基底状態計算法で記述できることになる。

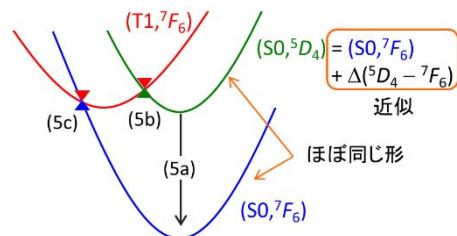


図 2 : 消光過程に関わる PES とその交差点

この方法を用いて、3 種の配位子を持つ Tb<sup>3+</sup>錯体の発光温度依存性<sup>1</sup>について調べた。配位子が β-ジケトンの場合(i)、温度上昇に対して発光強度が減少するが、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の場合(ii)は、発光強度が微増する。この理由が発光・消光過程の律速段階の違いに起因することが分かった。(i)では配位子の項間交差(5c)が消光過程の反応障壁になるが、(ii)では EET(3)が発光過程の障壁になっていた。今後はこの計算方法を Ln 多核錯体に拡張し、温度に対する発光強度の変化率の異なる配位子を理論的に設計することを目指していく。

引用[1] S. Katagiri, Y. Hasegawa, S. Yanagida, *Chem. Lett.* **33**, 1438 (2004).



## 業績紹介：2 次元ヘテロダイン検出和周波発生分光法を用いた 帯電した界面における水の超高速振動ダイナミクスの研究

井上 賢一（理研・A02 計画研究協力者）  
二本柳 聰史（理研・A02 計画研究協力者）  
山口 祥一（埼玉大院理工・A02 計画研究分担者）  
田原 太平（理研・A02 計画研究代表者）

論文題目："2D heterodyne-detected sum frequency generation study on the ultrafast vibrational dynamics of H<sub>2</sub>O and HOD water at charged interfaces"

著者：Ken-ichi Inoue, Satoshi Nihonyanagi, Prashant C. Singh, Shoichi Yamaguchi, and Tahei Tahara

雑誌巻号：*J. Chem. Phys.* **142**, 212431 (2015).

帯電した水界面は、生体膜界面や電極界面など身近に存在し、表面電荷と対イオンが形成する電気二重層の影響を受けた水の分子レベルでの構造やダイナミクスは非常に興味深い。本研究では、カチオン性界面活性剤 CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) で形成したモデル水界面に対して、界面選択的な分光法である 2 次元ヘテロダイン検出和周波発生分光法を用いた振動ダイナミクス測定とそのシミュレーションを行った。その結果、帯電した界面における水の超高速振動ダイナミクスの統一的な理解が得られた。

CTAB/H<sub>2</sub>O 界面の OH 伸縮振動領域の定常スペクトル(図 1 (b))は 3200 cm<sup>-1</sup> と 3400 cm<sup>-1</sup> に 2 つのピークを持つ。これらのピークは、当初それぞれ "ice-like" と "liquid-like" という 2 つの構造の異なる水分子に由来すると考えられていた。しかし、D<sub>2</sub>O を用いて同位体希釈した HOD-D<sub>2</sub>O を用いて分子内・分子間結合の寄与を取り除くと 3400 cm<sup>-1</sup> に単一のピークとなる(図 1 (a))。これは、CTAB/H<sub>2</sub>O 界面の 2 つのピークは水分子の構造の違いではなく、OH 伸縮振動が変角振動の倍

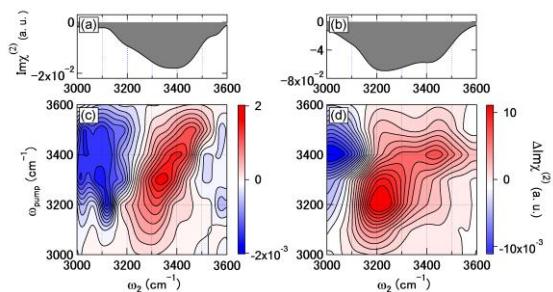


図 1. 定常スペクトルと 2 次元スペクトル(遅延時間 0.0 ps)。  
(a) (c) CTAB/HOD-D<sub>2</sub>O 界面, (b) (d) CTAB/H<sub>2</sub>O 界面

音とのフェルミ共鳴によって分裂しているということを示唆している[1]。

CTAB/HOD-D<sub>2</sub>O 界面の 2 次元スペクトル(図 1 (c))には、OH 伸縮振動の  $\nu = 0 \rightarrow 1$  遷移のブリーチ(赤)と  $\nu = 1 \rightarrow 2$  遷移に相当するホットバンド(青)が観測された。ブリーチは励起波数依存性を反映して傾いており、OH 伸縮振動バンドが不均一に広がっていることを示している。この傾きの時間変化の解析から、水素結合の再構成や OH 伸縮振動間のエネルギー移動によって 0.3 ピコ秒程度の時間スケールでスペクトル拡散が起こることが分かった。

一方、CTAB/H<sub>2</sub>O 界面の 2 次元スペクトル(図 1 (d))では、定常スペクトルのピークに対応する( $\omega_{\text{pump}}$ ,  $\omega_2$ )=(3200 cm<sup>-1</sup>, 3200 cm<sup>-1</sup>)と(3400 cm<sup>-1</sup>, 3400 cm<sup>-1</sup>)に 2 つの対角成分と( $\omega_{\text{pump}}$ ,  $\omega_2$ )=(3400 cm<sup>-1</sup>, 3200 cm<sup>-1</sup>)と(3200 cm<sup>-1</sup>, 3400 cm<sup>-1</sup>)に 2 つの非対角成分を持つブリーチが観測された。この複雑なスペクトルは、定常スペクトルで議論してきたフェルミ共鳴と CTAB/HOD-D<sub>2</sub>O 界面で観測された不均一広がりを考慮したモデルを用いたシミュレーションを基に理解することができる。フェルミ共鳴なしのシミュレーションで得られた定常・2 次元スペクトル(図 2 (a) (c))は、分子内・分子間結合の弱い CTAB/HOD-D<sub>2</sub>O 界面の実験結果と一致する。そして、フェルミ共鳴を考慮すると、図 2 (b) (d) に示す通り CTAB/H<sub>2</sub>O 界面で得られた実験結果の特徴をよく捉えて定常・2 次元スペクトルを再現できる。このように、帯電した界面における H<sub>2</sub>O と HOD の 2 次元スペクトルはフェルミ共鳴と不均一広がりで統一的に解釈できることが明らかとなった。

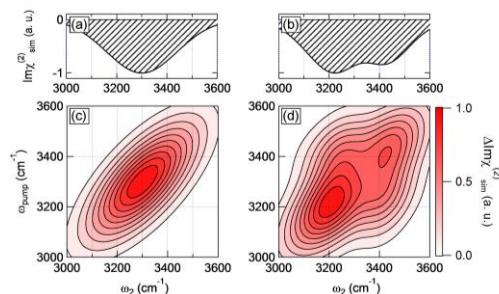


図 2. 定常スペクトルと 2 次元スペクトル(遅延時間 0.0 ps)のシミュレーション結果。  
(a) (c) フェルミ共鳴なし, (b) (d) フェルミ共鳴あり

### 引用文献

- [1] S. Nihonyanagi, et al., *JACS* **132**, 6867 (2010).



## 業績紹介：高速一分子蛍光計測により明らかにした BdpA の フォールディング運動の複雑さ

小井川浩之（東北大学・A02 計画研究連携研究者）

鎌形清人（東北大学・A02 計画研究連携研究者）

新井宗仁（東京大学・A03 班友）

高橋 聰（東北大学・A02 計画研究代表者）

論文題目：“Complexity of the Folding Transition of the B domain of Protein A Revealed by the High-Speed Tracking of Single-Molecule Fluorescence Time Series”

著者：Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, Munehito Arai and Satoshi Takahashi

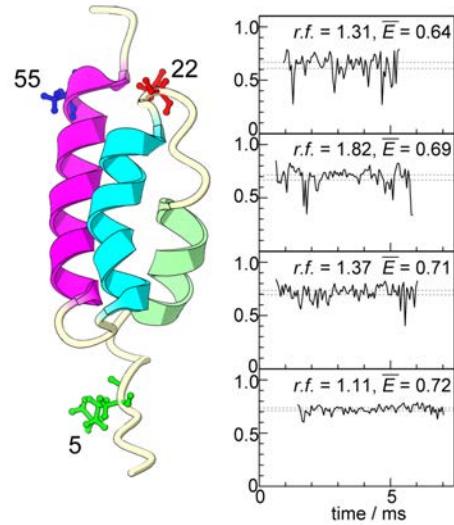
雑誌巻号：*J. Phys. Chem. B*, **119**, 6081–6091 (2015).

プロテイン A の B ドメイン (BdpA) は、ヘリックスが三つ束ねた構造を持つ小タンパク質である（図）。BdpA は、変性状態と折り畳まれた状態の二状態間のフォールディング転移を示す代表例の一つであり、変性剤がない条件では  $10^5 \text{ s}^{-1}$  を越えるフォールディング速度を示す。そのため、フォールディング研究のモデルタンパク質の一つとして、実験および理論による研究が積み重ねられている。本研究では、当グループが開発した高速一分子蛍光測定装置を用いることで、BdpA が示すフォールディング転移を詳細に調べた。

我々は、タンパク質に蛍光共鳴エネルギー移動のドナーおよびアクセプターとして働く蛍光色素をラベルし、色素間のエネルギー移動を一分子レベルで観測する実験を続けている。特に、マイクロ流路とライン共焦点顕微鏡を組み合わせることで、単位時間当たりに得られる蛍光光子数を増やし、従来の装置の時間分解能（ミリ秒程度）を劇的に向上させ、最短で 20 マイクロ秒の時間分解能での一分子観察を可能にした。また、エネルギー移動効率をより正確に見積もることも可能にした[1]。

蛍光色素をラベルする位置を変えた二つの試料を用意し、180 マイクロ秒の時間分解能で多数の時系列データを取得した。データを詳細に解釈することで、通常の実験では二状態的な転移を示す BdpA が、一分子レベルでは複雑な運動を示すことが明らかとなった。

本研究の過程で我々が最も驚いたのは、変性状



図：(左) BdpA の構造。残基番号 22 と 55 に色素をラベルした試料 1 と番号 5 と 55 にラベルした試料 2 を用意した。(右) 時系列データの例。試料 1 が変性状態にある条件にて得られた。表題の文献の図を一部改変して作図した。

態の構造の不均一性である。図に示すように、変性状態における時系列データは、分子毎にわずかに異なるエネルギー移動効率を示している。一般に、変性状態のタンパク質鎖は数十ナノ秒の時間領域における揺らぎ運動を行うと考えられている。そのため、我々の時間分解能では構造間の平均化が起こり、変性状態でも单一の移動効率のみが観察されるはずである。このような常識に反し、我々のデータは、変性状態における構造の不均一性は、マイクロ秒よりも長い時間スケールでも残っていることを示している。これは、変性状態のタンパク質の描像を変える可能性のある観察である。

今後、他のタンパク質についての観測やより高時間分解能での観察を行い、構造の不均一性の一般性や、フォールディング機構における意義を追求する予定である。

### 引用文献

- [1] Oikawa, H.; Suzuki, Y.; Saito, M.; Kamagata, K.; Arai, M.; Takahashi, S. *Sci. Rep.* **3**, 2151 (2013).



## 業績紹介：空気/水界面におけるタンパク質の

## ヘテロダイン検出アキラルおよびキラル振動和周波発生分光

奥野 将成（筑波大・A02 公募研究連携研究者）  
石橋 孝章（筑波大・A02 公募研究代表者）

論文題目：“Heterodyne-Detected Achiral and Chiral Vibrational Sum Frequency Generation of Proteins at Air/Water Interface”

著者：Masanari Okuno and Taka-aki Ishibashi

雑誌巻号：*J. Phys. Chem. C*, **119**, 9947-9954 (2015).

振動和周波発生 (VSFG) 分光法は高い界面選択性を持つことから、界面分子を研究する手法として非常に強力である。これまでにホモダイン検出VSFG法を用いて、さまざまな界面におけるタンパク質の研究が多数行われてきた。さらに近年、界面におけるタンパク質の二次構造を調べる新たな手法として、キラル VSFGが注目を集めている[1]。キラルVSFGは電気双極子に基づく光学遷移を用いるため、信号強度が大きく高感度であり、単分子膜レベルからの信号の取得が可能である。我々は以前、キラルVSFG信号をヘテロダイン検出するヘテロダイン検出キラル振動和周波発生 (HD-キラルVSFG) 分光法を開発したことを報告した[2]。本研究では、HD-キラルVSFGを空気/水界面におけるたんぱく質に応用し、高感度にタンパク質の二次構造の情報を得ることを目指した。また、アキラルなHD-VSFGスペクトルからタンパク質および周辺水分子の配向情報を得た。測定対象として、溶液中の二次構造が他手法でよく調べられている牛血清アルブミン、ペプシン、コンカナバリンA、α-キモトリプシンを取り上げ、その水溶液表面のCH~OH伸縮振動およびアミドI領域のVSFGスペクトルを、電子非共鳴条件となる波長630 nmの可視プローブ波長を用いて反射配置で測定した。

アキラルなHD-VSFGスペクトルは、タンパク質の種類によらず類似した共通の形状を持っていたのに対し、キラルなHD-VSFGは含有する二次構造に応じた特徴を持つスペクトルを与えた。例として、コンカナバリンA水溶液表面のアキラルおよびキラル HD-VSFGスペクトルを図1に示す。キラルなアミドIバンドは1630 cm<sup>-1</sup>付近に観測され、1650 cm<sup>-1</sup>付近に観測されたアキラルなピーク位置と大幅に異なってい

た。この結果はキラルVSFG信号が反平行βシート構造に由来していることを反映していると考えられる。また、キラルHD-VSFG信号の電場の位相から、信号はバルク相からではなく界面に由来していることが分かった。この研究は、電子非共鳴条件下のタンパク質水溶液表面のキラルVSFG信号が、空気/水界面のタンパク質によることを分光学的に示した最初の報告である。

さらに、ヘテロダイン検出法による高感度化を活かし、α-キモトリプシン溶液の空気界面におけるキラルなHD-VSFGスペクトルの実時間変化の測定に成功した。界面が生成した直後はキラルなNH伸縮振動およびアミドIバンドが観測されたが、約1時間後には両バンドとともに著しく減少した。これは、空気/水溶液界面に吸着した時点では反平行βシート構造を持っていたα-キモトリプシンが、時間が経過するに伴い界面において二次構造変化を起こし、フォールディングが失われたと解釈することができる。

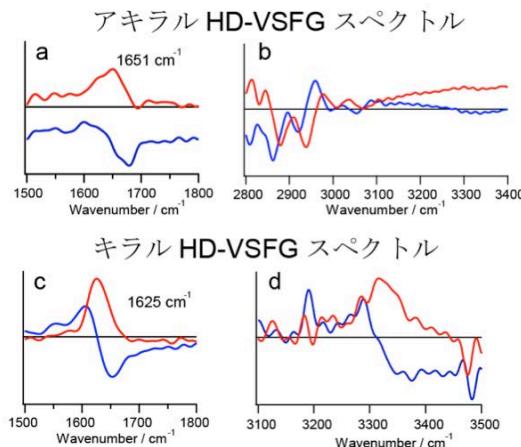


図1 コンカナバリンA水溶液の空気界面から得た HD-VSFGスペクトルの虚部（赤）および実部（青）。(a) アミドIおよび(b) CH~OH伸縮振動領域のアキラルスペクトル および(c) アミドIおよび(d) NH伸縮振動領域のキラルスペクトル。

## 引用文献

- [1] E. C. Y. Yan, L. Fu, Z. Wang and W. Liu, *Chem. Rev.* **114**, 8471-8498 (2014).  
[2] M. Okuno and T. Ishibashi, *J. Phys. Chem. Lett.*, **5**, 2874-2878 (2014).



## 業績紹介：光駆動ナトリウムポンプによる輸送機構の提唱

神取 秀樹（名工大・A03 計画研究代表者）  
井上 圭一（名工大・A03 計画研究連携研究者）

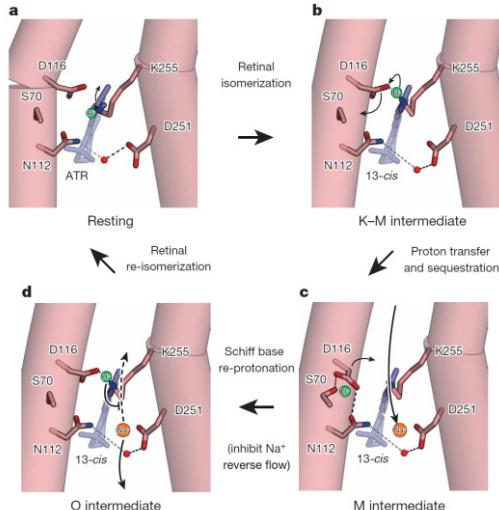
論文題目：" Structural basis for  $\text{Na}^+$  transport mechanism by a light-driven  $\text{Na}^+$  pump "

著者：Hideaki E. Kato, Keiichi Inoue, Rei Abe-Yoshizumi, Yoshitaka Kato, Hikaru Ono, Masaë Konno, Toru Ishizuka, Mohammad Razuanul Hoque, Shoko Hososhima, Hirohumi Kunitomo, Jumpei Ito, Susumu Yoshizawa, Keitaro Yamashita, Mizuki Takemoto, Tomohiro Nishizawa, Reiya Taniguchi, Kazuhiro Kogure, Andrés D. Maturana, Yuichi Iino, Hiromu Yawo, Ryuichiro Ishitani, Hideki Kandori, Osamu Nureki

雑誌巻号：*Nature* 521, 48-53 (2015).

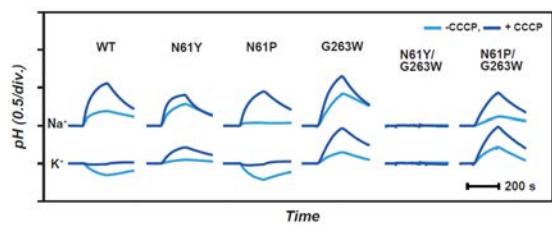
光のエネルギーを使ってイオンをポンプする膜タンパク質は 1970 年代に報告された外向き  $\text{H}^+$ ポンプと内向き  $\text{Cl}^-$ ポンプ以外には存在しないというのがロドブシン分野の常識だった[1]。光吸収を担う全トランスクレチナールのシップ塩基がプロトン化して正電荷を持つため、 $\text{Na}^+$ などはレチナール近傍に結合できず、結合できなければ光のエネルギーを使って輸送できないと考えられていたためである。従って光駆動  $\text{Na}^+$ ポンプの発見は分野に大きな驚きを与えた[2]。面白いことに、 $\text{Na}^+$ は予想通りレチナール近傍には結合せずポンプの出口側表面に結合していたが、この結合部位を変異によってなくしても外向き  $\text{Na}^+$ ポンプは機能した[2]。

分子メカニズムを議論するためには立体構造の情報が必要となるが、本論文において東大・濡木研究室の加藤博士らは酸性条件での光駆動  $\text{Na}^+$ ポンプ KR2 の結晶化と構造解析に成功した。彼らはそれを中性の液に浸して色を変化させた結晶の構造解析を行ったところ、タンパク質構造はほとんど変化がなかった一方、対イオンとしてはたらく D116 の向きが変わった rotamer 状態を観察した。酸性では D116 はプロトン化、中性では解離していると考えられるので、我々はこの結果をもとに図のような輸送モデルを提唱した。Resting 状態では、レチナールシップ塩基と D116 がイオン対を形成するのに対して、光反応の過程で M 中間体が生成してシップ塩基から D116 にプロトンが移動すると、D116 が向きを変えて S70, N112 と水素結合を形成する結果、 $\text{Na}^+$ の取込みが可能になるというものである。得られた構造は光反応中間体のものではないが、実際に機能解析を行ってみると S70A と N112A で



$\text{Na}^+$ ポンプ活性がなくなり、S70T, N112D では  $\text{Na}^+$ をポンプした。水素結合との対応関係はこのモデルの正しさを強く支持する。

私は井上さんと 2014 年 1 月に濡木教授室で D116 が向きを変える構造を見たとき、Nature に出せる仕事だろうと直感したのだが、実際には難産であった。7 月上旬に投稿したところ 2 名のレフェリーは絶賛した一方、残る 1 名が応用研究の必要性を主張したため、我々は KR2 がオプトジェネティクスのツールとして使えることを示すとともに新たな機能創成にも挑んだ（これは本領域における私のテーマである）。その結果、神経細胞や線虫における光制御を達成する一方、天然には存在しない  $\text{K}^+$ ポンプを創り出すことに成功し（図）、



2015 年 2 月 11 日によくアセプトとなった。長い時間と大きな労力を要した仕事であったが、結果的に構造解析から機能解析、光遺伝学応用から機能創成のすべてを含む重厚な論文をオールジャパン（7 グループの 23 名）で成し遂げることができよかったですと思っている。 $\text{K}^+$ ポンプの創成は「柔らかな分子系」の成果であり、KR2 について本領域で複数の共同研究が進行していることを付記しておきたい。

[1] O. Ernst et al. *Chem. Rev.* 114, 126 (2014).

[2] K. Inoue et al. *Nature Commun.* 4, 1678 (2013).



## 業績紹介：靈長類が赤と緑を見分けるメカニズムの解明

神取 秀樹（名工大・A03 計画研究代表者）

論文題目："Identical hydrogen-bonding strength of the retinal Schiff base between primate green- and red-sensitive pigments: New insight into color tuning mechanism"

著者: Kota Katayama, Takashi Okitsu, Hiroo Imai, Akimori Wada, Hideki Kandori

雑誌巻号: *J. Phys. Chem. Lett.* **6**, 1130-1133 (2015).

魚類や鳥類は 4 種類の色覚視物質を持つのに対して、哺乳類は 2 個の遺伝子を失ったため限られた色覚しか持たない。夜行性であったためと考えられているが、例外的な哺乳類として我々ヒトなどの靈長類が挙げられる。靈長類は長波長側の 1 つの遺伝子を重複させた結果、赤と緑を区別して緑の森林で赤い果実を見つけることができるようになった。このため 2 つのタンパク質は 98 % を超えるアミノ酸の一一致度を示すが、緑 ( $\lambda_{\text{max}} \sim 530 \text{ nm}$ ) と赤 ( $\lambda_{\text{max}} \sim 560 \text{ nm}$ ) の 30 nm の違いは何に由来するのであろうか？

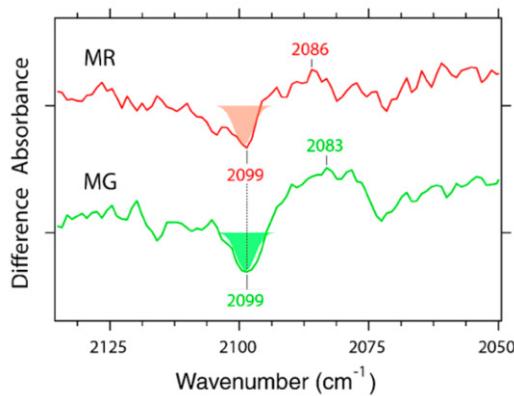
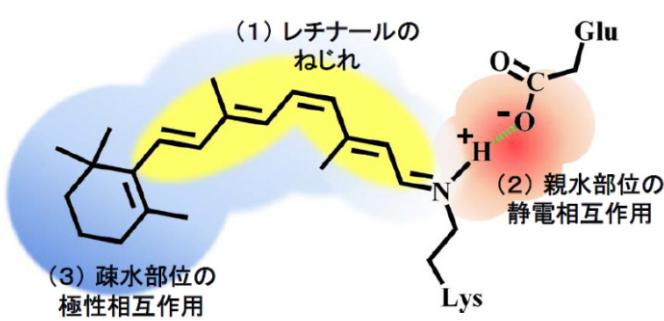
視物質の吸収波長はレチナールとタンパク質との相互作用によって決まるが、具体的に (1) レチナールのねじれ、(2) 親水部位の静電相互作用、(3) 疎水部位の極性相互作用などが関わると考えられている（図左）[1]。これを実験的に明らかにするためには、タンパク質の構造情報が不可欠であるが、明暗視の視物質ロドプシンが X 線結晶構造解析まで完了しているのに対して、色覚視物質の構造解析は最近まで皆無であった。その理由としては、ヒトやサルの試料調製が困難であること、光を当てると色を失ってしまうため暗室での作業が必要であることに加えて、限られた量の試料では X 線結晶構造解析や NMR といった通常の構造解析手法が利用できなかったためである。そんな中、我々はヒトの培養細胞を用いてサルが赤色、緑色

を感じるタンパク質を大量に作製、高精度の低温赤外分光計測を用いて 2010 年に初めて色覚視物質の構造解析を実現した[2]。その結果、レチナールのねじれには違いがなかった。赤と緑で異なるアミノ酸は疎水部位に存在することが予想されているが、(2) の電気的な相互作用は (3) よりもはるかに強いため、(2) と (3) がどう影響しているかは不明であった。

発色団であるレチナールシップ塩基はプロトン化して正電荷を持っており、負電荷を持った対イオンとの相互作用を調べることで赤と緑の比較が可能になる。シップ塩基の N-H 伸縮振動が最も直接的なプローブとなるが、我々は様々な微生物型ロドプシンに対して重水中での N-D 伸縮の振動数を決定してきた[3]。この場合、大腸菌でタンパク質を作製する際に、リジンの窒素原子を  $^{15}\text{N}$  標識することで帰属することができる。しかし、ヒト培養細胞では窒素原子の標識が確立していないかったため、窒素に隣り合うレチナールの C15 位を重水素化することでシップ塩基の N-D 伸縮振動を帰属することに成功した。その結果、赤と緑における N-D 伸縮の振動数は完全に一致し（図右）、(2) の静電的な相互作用は赤と緑で同じであることがわかった。

今回の研究成果により、光を吸収する分子の構造歪みや正電荷と負電荷の相互作用ではなく、第三の弱い極性相互作用だけが赤と緑を見分けるのに使われていることが明らかになった。計算科学の驚異的な進歩にも関わらず、未だに我々が見分ける色の波長をコンピュータで決めるることはできない。今回の赤と緑の色識別の解明により、計算科学のさらなる発展が促され、レチナールの吸収波長を決定するタンパク質との相互作用の全容解明が期待される。

- [1] O. Ernst et al. *Chem. Rev.* **114**, 126 (2014).  
[2] K. Katayama et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**, 891 (2010).  
[3] H. Kandori et al. *Biochemistry* **41**, 6026 (2002).



業績紹介： $\beta$ -カロテン金属クラスターの創製と構造解明

村橋 哲郎 (東工大・A03 計画研究代表者)  
 山本 浩二 (分子研・A03 計画研究分担者)  
 倉重 佑輝 (分子研・A01 公募研究代表者)

論文題目："Multinuclear metal-binding ability of a carotene"

著者 : Shinnosuke Horiuchi, Yuki Tachibana, Mitsuki Yamashita, Koji Yamamoto, Kohei Masai, Kohei Takase, Teruo Matsutani, Shiori Kawamata, Yuki Kurashige, Takeshi Yanai, Tetsuro Murahashi

雑誌巻号 : *Nature Commun.* **6**, 6742 (2015).

我々のグループでは $\pi$ -共役系不飽和炭化水素類と金属-金属結合種との間に形成される連続的な多点 $\pi$ -配位結合の柔軟な結合組み替え能を解明し、これを活用した p $\pi$ -電子系-d 電子系複合体の創製を目指して研究を進めている。今回、長鎖 $\pi$ -共役系ポリエン配位子を用いた長鎖一次元金属鎖錯体の合成に関する成果について論文発表した。

我々は、長鎖 $\pi$ -共役系ポリエン配位子として、天然に豊富に存在し入手容易な $\beta$ -カロテンを選択し、前例のない大きさの連続多点 $\pi$ -配位結合構造を持つ長鎖一次元金属鎖構造の構築を目指した。 $\beta$ -カロテンを連続多点 $\pi$ -配位型配位子として用いて、最大で 10 核金属鎖を構築できることを明らかにした。

$\beta$ -カロテン配位子を  $Pd_2(dbu)_3 \cdot C_6H_6$  および  $[Pd_2(CH_3CN)_6][BF_4]_2$  と反応させることにより、パラジウム 10 核鎖錯体 **1-meso** および **1-rac** が生成することがわかった(図 1(a))。多数の金属が収束的にカロテン

間に集合してクラスターを形成していることが特徴である。10 核鎖錯体は 2 種類の異性体混合物として得られるが、溶解性の違いを利用して分離可能である。錯体 **1-meso** と **1-rac** の分子構造は X 線結晶構造解析により決定した(**1-meso** の構造を図 1(b)に示す)。 $\beta$ -カロテン配位子は 11 個の共役二重結合のすべてを用いて 10 核パラジウム鎖に対して配位しており、各 Pd-Pd 結合距離はパルク中の Pd-Pd 結合距離(2.76 Å)より短い。

ビス( $\beta$ -カロテン)パラジウム錯体は、脱メタル化・メタル化反応を起こすことともわかった(図 1(c))。すなわち、パラジウム 10 核鎖錯体 **1-meso** に対して CO を反応させることにより減核反応が進行し、金属不充填型の  $Pd_5$  鎖錯体 **2** が生成した。金属を再充填することも可能であり、再充填の際に Pt(0)種を用いた場合には、パラジウム 5 核-白金 3 核からなる異種金属混合 8 核クラスター錯体 **3** が生成する。錯体 **3** に対して Pd(0)種を反応させると、異種金属混合 10 核鎖錯体 **4** が生成する。

また、理論計算により、今回得られた化合物の多点連続 $\pi$ -配位結合構造を解明した。ビス( $\beta$ -カロテン)パラジウム錯体は、核数に依存した色の変化を示すが、この理由についても、分子軌道解析によって明らかにした。

本研究成果は、本新学術領域の実験 (A03 班) と理論 (A01 班) の共同研究による成果である。また、本成果はプレスリリースされ、「科学新聞」(2015 年 5 月 1 日号一面)等において報道された。

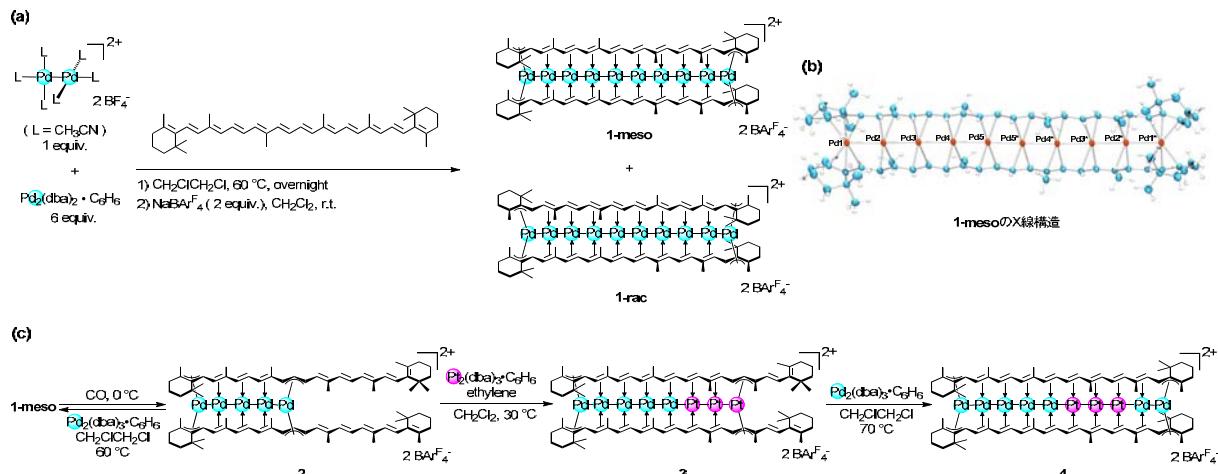


図 1. (a) パラジウム 10 核鎖錯体の合成. (b) 錯体 **1-meso** の X 線構造. (c) 錯体 **1-meso** の脱メタル化による減核反応およびメタル化による増加反応.



## 業績紹介：背面配位子効果を活用したパラジウムクラスターの反応制御

村橋 哲郎 (東工大・A03 計画研究代表者)

山本 浩二 (分子研・A03 計画研究分担者)

倉重 佑輝 (分子研・A01 公募研究代表者)

論文題目："Modulation of Benzene or Naphthalene Binding to Palladium Cluster Sites by the Backside-Ligand Effect"

著者：Yuki Ishikawa, Seita Kimura, Kohei Takase, Koji Yamamoto, Yuki Kurashige, Takeshi Yanai, Tetsuro Murahashi

雑誌巻号：*Angew. Chem. Int. Ed.* **54**, 2482 (2015).

パラジウム—アレーン錯体はアレーン類の分子変換反応における重要な鍵中間体と考えられており、その配位挙動について興味が持たれている。しかしながら、アレーン類のパラジウム中心に対する配位力は弱く、溶液中でパラジウム—アレーン錯体が安定に存在するかどうかはわかつていなかった。実際に、単核や2核パラジウム金属種に対してアレーン類が配位することは知られているものの、これらの錯体は、溶液中で安定に存在しない。我々のグループは、パラジウムクラスターがアレーン類を溶液中で安定にバインドする能力を持つ可能性に着目し、検討をおこなった。その結果、パラジウムクラスターの背面配位子を適切に選択することにより、溶液中でベンゼンやナフタレンを安定にバインドするパラジウムクラスターを初めて開発することに成功した。

パラジウム3核クラスター上にアレーン類を配位させるにあたって、パラジウム3核中心の背面配位子がアレーンのバインド能に大きく寄与するのではないかと考え、種々の環状不飽和炭化水素を背面配位子として用いて検討した。その結果、シクロオクタテトラエン(COT)を用いた場合にパラジウム3核中心上にベンゼンが配位した錯体**1**が生成することを明らかにした(式1)。錯体**1**の分子構造はX線結晶構造解析によって明らかにした(図1)。一方、ベンゼンやシクロヘプタトリエンは、背面配位子として有効に機能しなかった。3核錯体**1**は溶液中においてもベンゼン配位子を安定に保持する。錯体**1**をピリジンやホスフィン配位子と反応させると、錯体**1**のエカトリアル位の配位子の交換反応が進行するが、パラジウム3核面上に配位したベンゼン配位子は容易に交換されない。

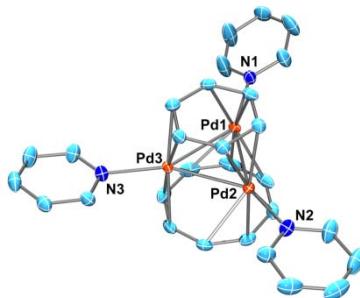
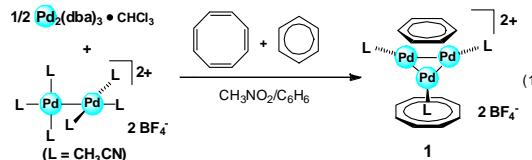
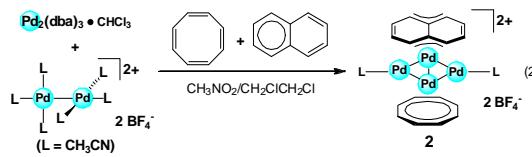


図1. 錯体**1**(L = ピリジン)のX線構造図

パラジウム3核クラスターがベンゼンをバインドする際に、COTが背面配位子として有効に働く現象は、理論計算により考察した。錯体**1**とビス(ベンゼン)パラジウム3核のモデル錯体のエネルギー計算を行った結果、これらの錯体におけるベンゼンの解離エネルギーはそれぞれ 105 kcal mol<sup>-1</sup> および 88 kcal mol<sup>-1</sup> であった。このことはベンゼンよりもCOTを背面配位子として用いた方が、パラジウム3核上のベンゼン配位子をより強固にバインドすることを示している。背面配位子のパラジウムクラスターに供与する電子数が、パラジウムクラスターの電子構造および幾何構造に大きく影響を与えることも判明した。

さらに我々は、COT配位子を用いることで、パラジウム4核中心上にナフタレンをバインドすることを明らかにした(式2)。この反応においても、背面配位子として用いたCOTの役割は重要であると考えられる。



本研究成果は、本新学術領域の実験(A03班)と理論(A01班)の共同研究による成果である。また、本成果はプレスリリースされ、「化学工業日報」(2015年2月10日号一面)において報道された。



## 業績紹介：結晶伸縮挙動を示す柔らかなニッケル錯体分子結晶の開発

佐藤 治（九大先導研・A03 公募研究代表者）

論文題目："Molecular motor-driven abrupt anisotropic shape change in a single crystal of a Ni complex"

著者：Zi-Shuo Yao, Masaki Mito, Takashi Kamachi, Yoshihito Shiota, Kazunari Yoshizawa, Nobuaki Azuma, Yuji Miyazaki, Kazuyuki Takahashi, Kuirun Zhang, Takumi Nakanishi, Soonchul Kang, Shinji Kanegawa, Osamu Sato

雑誌巻号：*Nature Chem.*, 6, 1079-1083 (2014).

生体関連物質に学び、優れた機能を有する動的な分子集合システムを設計・開発することは物質化学における重要な研究課題である。我々はこれまで、金属間電子移動やスピinn转移により中心金属の酸化数・スピnn状態がダイナミックに変化する電子的に柔らかな金属錯体分子結晶を開発してきた[1]。本研究では分子配向の変化やナノスケールレベルの分子の変位・回転がマクロな機械的機能に変換される柔らかな金属錯体分子結晶を開発することを目指し検討を行った。その結果、ニッケル錯体  $[Ni^{II}(en)_3](ox)$  (**1**; en = ethylenediamine, ox<sup>2-</sup> = oxalate anion) が強弾性相転移を示し、相転移温度で異方的な結晶伸縮を示すことを見出した。

ニッケル錯体 **1** は  $Ni^{II}(ox)$  の水溶液に en を加えることで得た。得られた紫色結晶について単結晶 X 線構造解析、熱量測定、顕微鏡観察、DFT 計算を行い、構造および物性について検討した。

熱量測定から、錯体 **1** が約 260 K で構造相転移を示すことがわかった。相転移に伴う構造変化を明らかにするために、高温相と低温相の結晶構造を測定した。その結果、ニッケル錯体とシュウ酸イオンが交互に配列した水素結合ネットワークを形成していることがわかった。相転移温度前後の単結晶構造解析の結果を比較したところ、相転移点でシュウ酸イオンが 90 度回転し、c 軸方向のニッケル錯体間の分子間距離が 0.519 Å 变化することが分かった（図）。

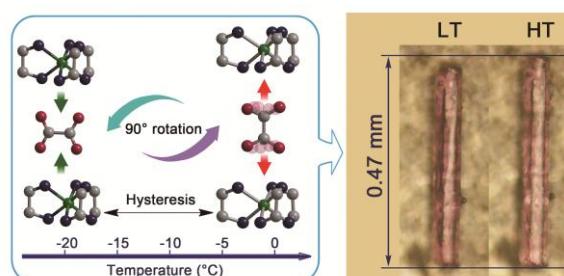
この物質の熱容量を測定したところ、相転移温度でシャープなピークが観測され、エンタルピーとエントロピーの変化がそれぞれ、 $\Delta H = 6.322 \pm 0.020 \text{ kJ mol}^{-1}$  と  $\Delta S = 23.70 \pm 0.07 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  であることがわかった。エネルギー的に縮重した状態 (W) は  $\Delta S = R$

In W より 17 であると見積もることができた（阪大構造熱科学研究センターグループとの共同研究）。

図に錯体 **1** の結晶伸縮の顕微鏡写真を示した。b 軸と c 軸方向は相転移温度で正の熱膨張を示すのに対し、a 軸方向は負の熱膨張を示すことがわかった。また、分子結晶中でシュウ酸イオンの分子回転が協同的に誘起されるため、回転に基づくサブナノメーターの変化が増幅し、数十ミクロンオーダーのダイナミックな結晶伸縮が観測されることが分かった。c 軸方向の結晶伸縮の大きさは結晶サイズの約 5% であった。

錯体 **1** の en の水素を重水素置換した物質  $[Ni^{II}(en-N-d_4)_3](ox)$  においても錯体 **1** と同様の結晶変形が観測された。相転移温度は 4 K 程度錯体 **1** より高温側にシフトした。このことは、ニッケル錯体とシュウ酸イオン間の水素結合が協同的な結晶変形に重要な役割を果たしていることを示している。

結晶変形に関する実験結果は、DFT 計算（九大先導研・吉澤教授グループとの共同研究）によっても支持された。また、相転移が二段階で起きていることが示唆された。



図（左）ニッケル錯体 **1** の相転移温度前後の結晶構造の変化（シュウ酸イオンが 90 度回転している）。  
（右）ニッケル錯体単結晶の結晶伸縮の顕微鏡写真。  
(LT = 低温相、HT = 高温相)

## 引用文献

- [1] T. Liu, H. Zheng, S. Kang, Y. Shiota, S. Hayami, M. Mito, O. Sato, K. Yoshizawa, S. Kanegawa, C. Duan, *Nature Commun.* **4**, 2826 (2013).



## 業績紹介：異常な互変異性体構造を安定に有するポルフィリノイド化合物

大洞 光司 (阪大・A03 公募研究代表者)  
林 高史 (阪大・A03 公募研究連携研究者)

論文題目："meso-Dibenzoporphycene has a Large Bathochromic Shift and a Porphyrene Framework with an Unusual *cis* Tautomeric Form"

著者 : Koji Oohora, Ayumu Ogawa, Tamaki Fukuda, Akira Onoda, Jun-ya Hasegawa and Takashi Hayashi

雑誌巻号 : *Angew. Chem. Int. Ed.* **54**, 6227-6230 (2015).

我々の研究室では、生体内に存在するヘムの配位子骨格であるポルフィリンおよびその類縁体の研究について、その物理化学的な性質や金属錯体の挙動・反応性に関する研究を展開している。特に、ポルフィリンの構造異性体の一つであるポルフィセン（図上左）に注目している。ポルフィセンは二つのビピロールがエチレン架橋によりつながった環状化合物であり、色素としてはポルフィリンよりも長波長領域の可視光を効率よく吸収できる優れた性質を有している。また金属の配位子としても非常にユニークな反応性を示し、最近ではヘムの代わりにポルフィセンマンガン錯体が挿入された補因子置換型ミオグロビンでは通常は困難な反応である C-H 活性化を伴うオレフィンの水酸化が触媒可能であることを示している[1]。

本論文では、より長波長領域に吸収を有するポルフィリノイドをめざして、二つのオレフィン架橋部位にベンゼン環を縮環したメソジベンゾポルフィセン (**mDBPc**, 図上右) の合成を行った。この **mDBPc** は長谷川らにより 2005 年に計算化学により物理化学的性質の予測のみが報告されており[2]、種々の縮環型ポルフィセンが報告されているにもかかわらず、今まで合成が達成されてこなかった化合物である。本稿では詳細は割愛するが、我々はこの化合物の合成に際して、ジホルミル化ビピロールの分子間マクマリーカップリングによる従来のポルフィセン合成とは異なるアプローチ（ヨードベンゼンを出発原料とする分子内マクマリーカップリングを用いる手法）を開発した。得られた **mDBPc** は NMR および X 線結晶構造解析により同定した。また計算化学による予測と一致するように、HOMO の大きな不安定化と LUMO の安定化により吸収波長が大きく長波長シフトしていることを電気化学測定および吸収スペクトル測定よりそれぞれ確認した。

特に最も長波長に吸収を示す 1047 nm のピークは、無置換のポルフィセンに比べて 418 nm の大きなシフトを示し、オレフィン架橋部位へのベンゼンの縮環が非常に効果的であることが明らかになった（図下）。また NMR スペクトルから、高い対称性が確認され、非常に速い分子内水素移動を起こしている。合わせて、一見剛直な構造のように感じられるが、柔らかな歪んだ鞍型構造を有していると計算化学的に予想されている。

前述の特徴に加えて、当初は予想していなかった異常な互変異性体構造を有することが、N1s エネルギー領域の X 線光電子分光および理論計算による解析から明らかになってきた。通常のポルフィリノイドは、四つのピロールが互い違いにプロトン化されたトランス体が安定であるのに対し、**mDBPc** では隣り合うピロールがプロトン化したシス体が安定であることが示唆された（図上右）。シス体がトランス体よりも安定なポルフィリノイド化合物はほとんど報告例がなく、対称性の高いポルフィセン類では、特殊な環境下を除いて、本系がはじめての例である。現在、シス体が安定である理由はわかっていないが、DFT 計算で得られているひずみを有した鞍型構造にヒントがあると考えており、今後より直接的な構造評価や特殊な分光手法を用いて研究を進めていく計画である。

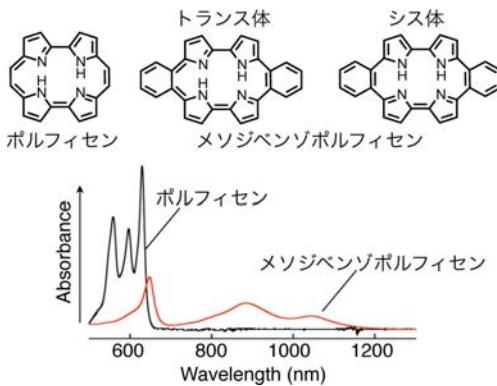


図 ポルフィセンとメソジベンゾポルフィセンの分子構造およびその考えられる互変異性体（上図）。それらの Vis-NIR 吸収スペクトル（下図）。

## 引用文献

- [1] K. Oohora, Y. Kihira, E. Mizohata, T. Inoue and T. Hayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 17282-17285 (2013).  
[2] J. Hasegawa, K. Takata, T. Miyahara, S. Neya, M. Frisch and H. Nakatsuji, *J. Phys. Chem. A* **109**, 3187-3200 (2005).



## A03 班・神取グループらの研究成果が新聞に報道される

A03 班・計画研究 神取グループ（神取班員、井上連携研究者）らの研究成果が、2015 年 4 月 7 日の日経テレコン 21、4 月 8 日の日経産業新聞、4 月 15 日の日経バイオテク、4 月 17 日の科学新聞などで報道されました。これは、光駆動ナトリウムポンプの結晶構造解析と機能解析をもとにしたポンプメカニズムの提唱に

関する成果であり、Nature 誌の Article に発表した論文中ではこのタンパク質がオプトジェネティクス（光遺伝学）のツールとして使えることを示すとともに、天然には存在しないカリウムポンプの創成にも成功しています。

年	月	日	曜日	件名
2015 年 (平成 27 年)	4 月 17 日 (金曜日)			第 3532 号

東京大学大学院理学系研究科の鶴木理教授、加藤英明特任研究員（当時）、名古屋工業大学大学院工芸学科の神取樹教授、井上圭一助教を中心とした研究グループは、光に反応してナトリウムイオンを細胞外に輸送するタンパク質、微生物型ロドブシン（KR2）の立体構造を「光が当たる前の状態」と「光が当たった後（と類似）の状態」という二つの異なる状態で決定することに成功した。これらの立体構造をもとに機能解析を行い、KR2 の持つイオンの通り道には、他のロドブシン同様正電荷を帯びた水素電子が存在しており、普段はこれがナトリウムイオン輸送を阻んでいたが、光が当たると KR2 に特有のアスペラギン酸残基がナトリウムイオンの通り道を塞いでいた水素イオノを別の場所に隔離し、これによってナトリウムイオンの輸送が可能になってしまったことを解説した。今回得た立体構造の知見をもとに KR2 のアミノ酸を改変して、自然界には存在しない、カリウムイオンを輸送する光駆動型のロドブシンを設計し、作製することに成功させた。哺乳類

東大、名工大などの研究グループ成功  
細胞外へ運び出す仕組み解明  
光によつてナトリウムイオンを

の興奮や行動が抑制されることを確認。微生物型ロドブシンは真核生物、真正細菌、古細菌の 3 種全てから単離されているが、現在までオプトジェネティクスのツールとして利用された例はない。これは専ら真核生物、また微生物型ロドブシンによる実験により、KR2 が光遺伝学のツールとして利用可能なことを示す実験である。具体的にはまず、ラットの大脳皮質の神経細胞、線虫の神経細胞にそれぞれ KR2 を発現させたぞして、ラットについてはバッチクリップ法を用いて、光照射によってドーパミンの電流が流れれるか、またドーパミンの電流が流れれるかを調べた。線虫については、光照射の前後で線虫の運動速度を測定し、KR2 由来の電流によって神経細胞の活動が抑制された結果、線虫の運動行動が抑制されるかを調べた。

光駆動型ナトリウムイオン輸送という約 40 年来にわたる問題に答えただけでなく、ロドブシンの進化に対する道標、そして神経生物学分野へ新たな影響を与えることが期待される成績である。



## 分子研研究会「膜タンパク質内部のプロトン透過を考える」報告

神取 秀樹 (名工大院工・総括班)

標記研究会が当新学術領域研究の協賛を得て開催されましたので、経緯も含めてご報告します。

私は生物系の新学術領域「運動マシンナリー」の連携研究者でもありますが、「運動マシンナリー」には『代表から質問』シリーズという名物企画があります。これは、宮田真人代表からメーリングリストを通していろんな問い合わせが発せられ、班員で討議するというものです。あるとき、「プロトン駆動のバクテリアべん毛モーターでは  $H_3O^+$  でも  $e^-$  でもなく、 $H^+$  が実際に流れていると考えられていますか？」もしそうだとして、直接の証拠は何でしょう？『 $Na^+$  駆動のものがあるから』は「直接」の証拠ではありません。」という質問がありました。それに対して私の「 $H^+$  か  $H_3O^+$  か  $(OH^-)$  か  $e^-$  か」と問われると、コメントしないわけにはいきません。いちばんよくわかっているバクテリオロドプシンの研究者として BR についてコメントしますが、「...」からスタートして、べん毛モーターのプロトン透過について難波啓一先生（阪大）と私が中心になって意見交換を行いました。そして一度、集まってべん毛モーターを含む膜タンパク質の内部を流れるプロトンやイオンについて徹底的に議論する機会を設けましょう、ということで新学術「柔らかな分子系」の仲間である北尾彰朗先生（東大）、飯野亮太先生（岡崎統合バイオ）に世話人として加わっていただき、分子研研究会として申請する運びとなりました。

世話人代表として私が最初から決めていたことは、あまり研究会のない 4 月に大会議室で 2 日間フルに行うことです。幸い、分子研研究会として採択していただいたのですが、旅費の不足分が発生したため、本領域からも協賛として旅費の支援をいただきました。ここに感謝申し上げます。

「柔らかな分子系」では、理論、先端計測、機能創成が三つ巴になっていますが、今回の研究会では、理論、構造解析、機能解析の立場から話題提供をいただき、ディスカッションを行いました。対象と

したのは、初日に水チャネル、プロトンチャネル、イオンチャネル、べん毛モーターなどチャネル型経路の膜タンパク質、二日目にロドプシン、オキシデース、ATPase、輸送体などトランスポータ型経路の膜タンパク質です。研究会には 114 名の参加者があり、29 件のポスター発表と 24 件の口頭発表がありました。本領域からは、私が趣旨説明を行った他、A01 の吉田紀生氏、北尾彰朗氏、林 重彦氏、A02 の小倉尚志氏、飯野亮太氏、A03 の井上圭一氏が話題提供を行いました。また評議委員の北川禎三先生には討論参加者としてご出席いただきました。

イオンそのものが輸送される  $Na^+$  や  $Cl^-$  と違い、プロトンは  $H_3O^+$  や  $OH^-$  として輸送される他に、水の水素結合を介した玉突き的輸送 (Grothuss 機構) が可能です。私自身は膜内では Grothuss 機構が支配的であろうと思っていたところ、べん毛モーターに関する北尾グループの研究で  $H_3O^+$  が実際に移動する過程が重要であるという提案がなされました（驚きました）。話題提供者には 5 分間の討論時間を残すことをお願いしていましたが、活発な質疑討論が行われ、討論参加者として参加の吉田賢右先生が飛び入りでプレゼンをされるなど、きわめて充実した研究会となりました。

膜タンパク質内部のイオン透過が深く議論できる時代になったことを参加者一同、確認することができ、理工系と生物系の 2 つの新学術領域が協賛した研究会が成功したという意味でも意義深いものとなりました。





## A03 班・中西尚志氏の作品が科学技術の「美」パネル展で優秀賞

A03 班・計画研究 中西グループの作品「青色に光る新しい液体材料」が、科学技術週間における第 9 回『科学技術の「美」パネル展』において優秀賞を受賞しました。この作品は、有機蛍光色素のアントラセンを基に、中西の特異とするアルキル- $\pi$  エンジニアリング技術を使って常温液化した青色発光液体の写真です。これに関する研究成果は、*Nature Communications*, 2013, 4:1969 に発表している。ここで利用された画像作品は、平成 26 年「第 55 回科学技術週間」における行事の一

つとして、科学技術団体連合が開催した「科学技術の『美』パネル展」(一般の方々と『美』の感動を共有しながら科学技術への興味を広げてもらう)での展示作品になり、来場者の投票により優秀賞に選出された。

平成 27 年 4 月 13 日に独立行政法人科学技術振興機構東京本部会館において表彰式が行われ、科学技術団体連合の有馬朗人会長より、賞状および記念品の楯が贈られました。



「青色に光る新しい液体材料」表彰式（左：中西尚志、右：有馬朗人会長）、ならびに優秀賞を受賞したパネル作品画像（紫外光照射下で青色に発光する常温アントラセン液体）



## University of Wisconsin 訪問及び 249th ACS National Meeting 参加報告

内田 芳裕 (京大院理・A01 林グループ・研究協力者 D3)

私は、去る 2015 年 3 月 19 日～28 日に本領域の海外派遣の支援を受け、アメリカ合衆国に渡航した。目的は、University of Wisconsin, Madison の Qiang Cui 教授のグループで研究発表を行うことと Denver で開催された 249th ACS National Meeting & Exposition に参加することだ。私にとって、西洋に渡航することも、一人で海外渡航をすることも始めてであったため、渡航する前は不安も少なからずあったが、初めての経験に興奮もしていた。

ウィスコンシン州マディソンは、4 つの湖に囲まれた静かな町で、その中心に University of Wisconsin は位置する。大学スポーツのシーズンの最中ということもあり、構内は学生の活気に満ちていた。その中の化学棟の一角にある Qiang Cui 教授の研究室を 3 月 20 日に訪問した。そこで、「蛍光タンパク質(EGFP)の蛍光スペクトルについてのシミュレーション研究」の成果について発表を行った。特にタンパク質の熱揺らぎと発色団の蛍光特性の間の静電気相互作用に基づく相関について紹介した。質疑応答の時間では、タンパク質の構造揺らぎを考慮することの重要性やそのサンプリングの計算コストや収束性などについて質問が寄せられた。タンパク質の構造緩和を考慮するのにかかる計算コストは非常に大きいものの、タンパク質中の蛍光（や反応）を取り扱う上でそれらは非常に重要なことが伝えられたと思う。私の英語能力はまだ発展途上ではあるが、1 時間の研究発表を無事終えたことで、英語で発表を行い、議論を行うという点で私の自信に繋がった。

また、このグループの主要な研究テーマの一つである DFTB(Density Functional based Tight-Binding) の手法についてポスドクや学生から実際の研究内容に沿って、紹介してもらった。DFTB は半経験的なパラメータを用いることにより小さな計算コストで電子状態計算を行うことができる方法である。巨視的なタンパク質の揺らぎと、蛍光や反応といった微視的なスケールで起こる化学の相関をみる際に、小さな計算コストで電子状態計算を行うことは必須であるので、私たちの研究に応用できないかということを念頭に話を聞いた。互いの研究の困難などを話に交えながら、5, 6

人のメンバーとの議論は大いに盛り上がった。

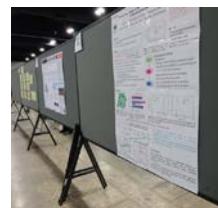
次の日、私は ACS National Meeting (2015 年 3 月 22 日～26 日) に参加するためコロラド州デンバーに移動した。デンバーは標高約 1 マイル (約 1,609 m) にある広大な平原の只中に位置し、豊富な鉱物資源とともに発展した町である。そのため、今回の学会も "Chemistry of Natural Resources" というテーマの下に持続可能な社会を目指した研究、展示が多くなされていた。私は、物理、計算化学の分野を中心に、「生体（凝縮）系」、「エネルギー、電子移動」、「振動-電子相互作用」といったキーワードに沿って、多くの講演を拝聴した。ユニークな着眼点や新奇で精緻な計算手法の研究を多く聞き、とても刺激を受けた。

この学会で私は、3 目目に "Theoretical study on the fluorescent spectrum of enhanced green fluorescent protein" という題目でポスター発表を行った。ポスター会場には自分と同じ若手の研究者が多く来場しており、互いの研究テーマの目的や困難、面白さについて楽しく話し合った。本当に楽しく、とても充実した時間を過ごすことができたと思う。

私は今回の渡航で、一人で海外渡航を無事に遂行するというだけでなく、研究発表をし、活発に議論を行うという貴重な経験を得ることができた。このような経験は、何物にも変えがたく、私の視点を多様なものにするとともに、私に大きな自信を与えた。最後に、私を暖かく迎えてくださった Qiang Cui 教授を始めとするグループのみなさま、私の渡航の手続きの後押しをしてくださった総括班、事務局のみなさまにお礼を申し上げます。



University of Wisconsin の風景



左：学会会場の外観。右：筆者のポスター



## NIH Eaton, Best 研究室訪問報告

伊藤 真志保（京大院理・A01 高田グループ・研究協力者 D3）

本学術領域における海外渡航費支援を受け、2014年11月19日から26日まで米国 National Institute of Health の W. A. Eaton, R. Best らを訪問し行ったので報告させていただきます。

私は現在、粗視化分子動力学 (MD) シミュレーションを用いたタンパク質 folding 研究を行っています。私の研究はさまざまな構造のタンパク質を folding させ、その Transition path time をシミュレーション上で計測し、その時間とタンパク質構造の間の関連性を見出すというものです。今回 Eaton 先生と Best 先生を訪問したのは、両先生がこの Transition path の問題に関して多くの理論・実験的研究を行っており、私の研究についてご意見を伺う事と、この研究に関して全原子シミュレーションの結果を追加して考えるためです。

訪問は 11 月だったのですが、たまたま米国に寒波が到来し気温が -7°C 程度まで下がり、外を歩くのには冬物のコートが必須のきびしい気候でした。

NIH という研究機関について印象的なことは、いわゆる大学に比べてかなりセキュリティが厳しいという事でした。毎日入り口のゲートで荷物のチェックが行われ、パスポートをチェックしていました。このあたりはやはり危険な感染症も扱う組織という感じがしました。ちょうど私の滞在した頃に、エボラ出血熱の患者がひとり NIH で治療中だったようです。

残念ながら Eaton 先生は多忙のためあまり話せなかつたのですが、Best 先生には大変親身にご相談にのっていただき、当初予定していた私の理論の全原子シミュレーションのデータとの照合のみならず、MD simulation のデータに対し diffusion analysis という解析を行う手法についてご指導いただきました。この解析では Best 先生が自身で作成しているプログラムを用いて、あるタンパク質の folding 経路上の自由エネルギーおよび拡散係数を求めるというものです。

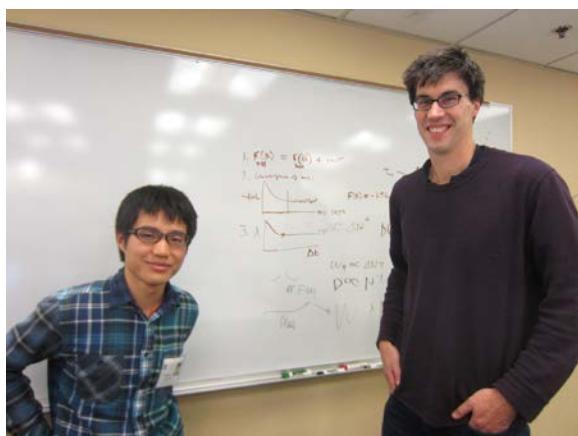
これらの解析を私のデータおよび全原子シミュレーションのデータに適用することで、当初考えていたよりも高度に folding の transition path を理解することが出来るようになりました。

またタンパク質間の transition path time の普遍性に関して元々私が考えていた理論に対してもより本質的なアイデアをいただきました。

私が英語に不得手なせいで少々コミュニケーションに手間取ることがあったのですが、先生やラボの皆さんには大変親切にしていただきました。

滞在中に行われた NIH でのセミナーや研究室内での論文輪読会に参加させていただきましたが、ここでは本当に世界各国から多くの研究者が集まって議論が行われているのだと感心いたしました。

余談ですが、帰りの飛行機でシカゴを経由した際、到着前に腕時計を見て「一時間も遅延しているじゃないか、日本行きの飛行機に乗り遅れてしまう」と焦ったのですが、空港の時計を見たら正規の到着時刻だったという事がありました。ワシントンとシカゴには一時間の時差があるとそこで気づいたのですが、国内でも時差があるという事はちょっと日本人には思いもよらない事ですね。





## International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems 2014 (ICMRBS) 参加報告

山置 佑大（京大エネルギー理工学研究所・A03  
片平グループ・研究協力者 D3）

2014 年 8 月 24 日から 29 日まで、アメリカ・テキサス州ダラスで開催された 16th International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS 2014)に参加致しました。今回の学会参加にあたり、本新学術領域研究より若手研究者の研究促進のための海外派遣支援制度を通して多大なご支援を賜りました。関係者の方々にこの場をお借りして感謝申し上げます。

ICMRBS はタンパク質、核酸、脂質膜といった生体高分子に関してその構造、ダイナミクスなどを NMR や EPR、MRI を用いて研究している研究者が一堂に会する非常に刺激的な国際会議であり、1964 年から 2 年毎に開催されています。

今回、私は RNA の柔軟な構造変化を利用した標的タンパク質の捕捉活性および酵素活性のスイッチングについて議論させていただきました。NMR による RNA 構造解析によって得られた原子レベルの立体構造情報および構造変化に関する知見を利用し、RNA 新たに活性スイッチング機能を付与するという内容です。標的タンパク質への結合活性や標的 RNA 切断活性を示す機能性 RNA に対し、カリウムイオンを特異的に認識して柔軟に構造を変化させる RNA 配列を組み込むことでこれらの活性をカリウムイオン依存的に制御する人工設計機能性 RNA の開発についてディスカッションさせていただくことができました。これらの新規 RNA の改良、応用利用、活性スイッチングメカニズムなどについて示唆に富んだご意見をいただき大きな刺激を受けることができました。

本会議には日本では珍しい NMR による核酸の構造解析、ダイナミクス解析を主軸に活躍されている研究者の方が大勢参加されており、有意義なディスカッションをさせていただくことができました。これまで主に国内での学会に参加していたこともあり、英語でじっくりとディスカッションさせていただく機会はあまり多くはありませんでした。今回、私自身の研究はもちろんのこと、様々な研究内容についてじっくりとディスカッションする機会を得られたことは今後の研究生活において重要な経験であると感じております。

また、今回の海外渡航では会期中に University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas の Jose Rizo-Rey 教授にお時間をいただき、先生の研究内容および私の研究についてディスカッションさせていただく機会を得ました。先生は神經伝達物質の放出メカニズム、特にこの際に起こるベシクルの膜融合のメカニズムを研究されておられます。とりわけベシクルの膜融合制御に関わる SNARE 蛋白質複合体の構造解析などで非常に著名な先生です。分野も異なっていたためこれまで面識はなく、会期中のお忙しい身であったにも関わらず丁寧に研究の内容をご説明くださいり、私の拙い英語でのディスカッションにも親切にお答えくださいました。タンパク質を用いた脂質膜の制御に関する知見は今後私の研究にも取り入れていくことができるのではないかと感じました。

今回の海外渡航では普段国内では出会うことのない多くの方と交流をもつ機会に恵まれ、貴重なご意見、アドバイスを頂きました。また、一からアポイントメントを取り、これまで接点のなかった先生を訪問しディスカッションさせていただくといった貴重な経験もさせていただくことができました。研究そのものだけでなく、研究者として成長するためにも非常に実り多い体験となりました。これもひとえに我々若手研究者へのご指導に力を注いでくださる本新学術領域研究関係者の皆様のおかげに他なりません。改めて深く感謝申し上げます。今回得られました経験を活かし、今後一層の努力を重ね精進していく所存です。今後ともご指導・ご鞭撻の程どうかよろしくお願ひ致します。



ポスター会場前にて



## 26th ICMRBS 参加報告

神庭 圭佑（京大エネルギー理工学研究所・A03  
片平グループ・研究協力者 D3）

2014 年 8 月 24 日から 29 日まで、アメリカ・ダラスで開催された 26th International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems

(ICMRBS) に片平正人教授、D3 の山置佑大さんと参加しました。今回のアメリカ出張にあたり、本学術領域の若手研究者海外派遣プログラムに採択され、旅費支援をしていただきました。ICMRBS は生体分子を対象とした核磁気共鳴(NMR)分野の研究者と関連企業が一堂に会する国際会議で、2 年毎に開催されています。26 回目となる今回は、25ヶ国から研究者が集まり 400 件を超える発表が行われ、6 日間にわたり議論を交わしました。演題登録当初は当研究室からは片平教授がポスター発表を行う予定でしたが、片平教授のご厚意と本領域の支援をいただけたということもあり、私が発表を行う機会をいただきました。ポスターは大会 2 日目から 5 日目まで掲載されており、私はそのうち 3 日目と 5 日目に発表を行いました。

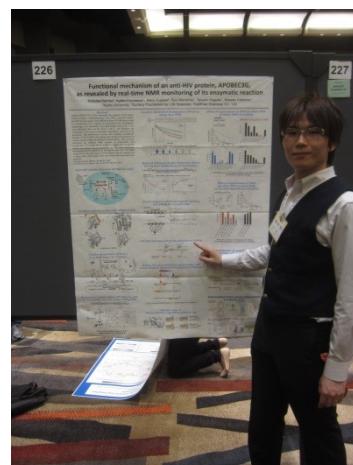
私は「Functional mechanism of an anti-HIV protein, APOBEC3G, as revealed by real-time NMR monitoring of its enzymatic reaction」という題目でポスター発表を行いました。APOBEC3G タンパク質(A3G)は HIV を初めとしたレトロウイルスのゲノムに変異を導入し無力化する抗ウイルス因子です。A3G は一本鎖 DNA 中の CC 配列中のシトシンを選択的にウラシル(CU)に脱アミノ化します。この変異が蓄積することによりウイルスのゲノム情報が破壊されます。A3G は 5' 側に近いシチジンほど高い脱アミノ化活性を示します。この性質は A3G は特定の配列に強く結合することにより静的な複合体を形成する訳ではなく、高度に動的であることに起因しています。従って A3G と DNA の相互作用に関する知見を得るのが困難です。本学会では、当研究室で確立した実時間 NMR 法を活用し、A3G-DNA 相互作用の知見を報告しました。A3G の酵素活性をプローブとすることにより、A3G の基質認識部位を同定しました。さらに 5' 側に近いシチジンほど高い脱アミノ化活性を示す現象は A3G が DNA をスライディングすることに起因していることを明らかにしました(詳細は下記論文を参照)。会場では HIV 研究の専門家である Dmitri Ivanov 助教、伊島理枝子准教授らと議論を行いました。この機会を十二分に生

かすべく、関連分野内外を問わず発表を聞き、議論を行いました。さらに当会中ルームメイトとなった Ph. D. student の Ryan Slack 氏とお互いの研究について議論を交わし、親交を深めました。このように多くの海外の研究者と議論を交わすことができ、大変大きな収穫でした。

学会終了後に、本会のオーガナイザーで、磁気共鳴イメージング(MRI)の専門家である Dean Sherry 教授の研究室を訪問しました。Dean Sherry 教授は 2 つの研究機関で研究室を運営しており、今回は The University of Texas Southwestern Medical Center (UT Southwestern)の研究室を訪問しました。先生とは事前にメールで打ち合わせをし、学会のレセプションで落ち合い詳細な内容を詰める運びで、大変緊張しました。学会会場から Dean Sherry 教授の車に乗せてもらい、研究室に移動しました。先生の研究室は 50 人近い構成員と数フロアにまたがる各種実験室、居室を備えており、規模の大きさに大変驚きました。加えて最先端の研究用の MRI 装置を含む 15 台の MRI 装置を管理、利用されており、特別にこれらの施設を見学させていただきました。Dean Sherry 研究室では高橋昌哉准教授に話を伺うことができ、高橋先生から先生の研究からキャリア、アメリでの研究について等、様々なことを教えていただきました。

末筆となりますが、今回の海外と渡航を通じて多くの方々と関わる機会をいただきました。海外での発表を経験することができ、大いに成長することができました。さらに海外の研究室に実際に行き、話をすることで世界が広がったと思います。ICMRBS で行った議論を受けて研究

が進み、論文を発表することができました  
(Kamba et al.  
2015 PLoS One)。  
このように貴重な成長の機会を設けていただき  
た関係者各位に  
この場をお借りして心より御礼  
申し上げます。





## ICBS 2014 参加および UCSF 研究室訪問報告

沼澤 宏治（東大院薬・A03 花岡グループ・研究協力者(D2)）

2014年11月17日から19日までサンフランシスコで行われた International Chemical Biology Society (ICBS) 2014に参加しました。今回の学会参加にあたって、本学術領域から若手研究者海外渡航支援という形で旅費を支援して頂きました。この場を借りて感謝申し上げます。

ICBS はケミカルバイオロジーの分野における研究の促進と教育機会の拡充に寄与する非営利組織であり、毎年1回、学術領域、企業、政府機関などあらゆる領域のケミカルバイオロジストの情報交換の場として学会を開催しています。2014年で4回目になる本学会は、世界各国からケミカルバイオロジー分野の第一線の研究者が集まり、開催期間中は朝の早い時間から夜までセッションが組まれ、ケミカルバイオロジーの多様な分野を網羅する非常に内容の濃い学会でした。

私は「Development of a fluorescence probe for folate receptors on the cell membrane (細胞膜上の葉酸受容体を可視化する蛍光プローブの開発)」の題目でポスター発表をしました。本研究は、葉酸受容体に結合したプローブがエンドサイトーシスによる細胞内取り込みを引き金として蛍光を発するのではなく、細胞膜上に存在する葉酸受容体に結合することで蛍光シグナルが変化する蛍光プローブを開発し、早いタイムスケールで葉酸受容体を選択的に可視化することを目的としています。今回は、イメージングに最適な色素骨格の検討とその知見を活かしたプローブの長波長化、そしてプローブの蛍光寿命の変化によって細胞膜上の葉酸受容体を選択的に可視化できることを報告しました。

英語でのポスタークリーフィングおよび学会発表は今回が初めてでした。準備してきたセリフは言えてもとっさに言いたい内容が英語のフレーズとして出ず、ディスカッションはかなり苦労しました。英語でコミュニケーションを取れることの重要性を痛感した一方で、拙い英語でも伝えようとすれば相手は理解しようと努めてくれるので、それに応えようとすることが大事だということも強く感じました。ポスターセッションでは蛍光イメージングを中心に他の発表者の方の発表を聴いてディスカッションすることができ、情報収

集に加えて非常に良い経験になりました。

また、学会最終日の翌日には東京医科歯科大学准教授の平野智也先生に同行して University of California San Francisco (UCSF) の Kevan Shokat 先生の研究室および Zachary Knight 先生の研究室を訪問しました。Shokat 研は、タンパク質の遺伝子改変技術と有機合成とを組み合わせてケミカルツールを開発し、シグナルネットワークの理解や個々のキナーゼの機能解明を目指す研究に取り組んでおり、多様な分野をカバーする様々な研究施設を見学させて頂きました。一方 Knight 研ではマウスの摂食や行動をコントロールする神経回路を対象とした研究を行っており、実際にマウスの脳の神経活動を見る実験の様子を拝見させて頂きました。

また、それぞれの研究室で平野先生の研究成果についてのディスカッションに参加させていただきました。両先生とも非常にフランクな方で、ディスカッションは次から次へとアイディアやサジェストションが飛び出し、とても活発なものでした。UCSF は敷地全域でユーモアに溢れるオブジェや開放感がある作りの建物が多く、そうしたものに象徴されるような自由な雰囲気が最先端の研究を生み出す土壤になっているのだなと感じました。

今回の渡航では、日本では感じることのできない雰囲気を体験し、様々な経験を積むことができました。この経験を刺激にして今後の研究により一層取り組んでいきたいです。



写真：今回訪問させて頂いた Shokat 先生と Knight 先生の研究室がある UCSF