



業績紹介：脂質単分子膜内の弱く水素結合した水の観測

野嶋 優妃 (埼玉大・助教)
鈴木 雄大 (埼玉大・博士前期課程学生)
山口 祥一 (埼玉大・A02 計画研究分担者)

論文題目："Weakly Hydrogen-Bonded Water Inside Charged Lipid Monolayer Observed with Heterodyne-Detected Vibrational Sum Frequency Generation Spectroscopy"

著者：Yuki Nojima, Yudai Suzuki, Shoichi Yamaguchi

雑誌巻号：*J. Phys. Chem. C* **121**, 2173 (2017).

生体膜の構成要素である脂質の単分子膜中に、バルク水の水素結合ネットワークから断絶した水分子が存在することを、*J. Phys. Chem. C* に原著論文として報告した。脂質は水面上で図 1 右の模式図に示すように単分子膜を形成する。脂質親水基の“下側”的水の配向と水素結合の強さは、ヘテロダイイン検出和周波発生 (HD-SFG) 分光によって明らかにされている [1]。すなわち、水分子の配向は親水基の電荷と水の永久双極子モーメントとの静電相互作用によって決まる。例えば、図 1 下の DPTAP のように親水基が正に帯電していれば、水はプロトンを（平均して）“下”に向けて配向し、図 1 上の DPPG のように負であれば水は“上向き”に配向する。これらは、図 1 の HD-SFG スペクトルの $3100 \sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ の水素結合 OH 伸縮振動バンドの符号から導かれる。また、そのように配向した水分

子の水素結合の強さは、配向とは無関係であり、バルクの水のそれと同程度であることが、OH 伸縮振動バンドのピーク波数から結論されている [1]。

今回我々は、高波数領域の HD-SFG 測定 [2] を行い、親水基下側の水とは逆に配向する水を見出した。図 1 の HD-SFG スペクトルの 3600 cm^{-1} 付近のバンドは、正・負帯電のどちらの脂質についても、水素結合 OH バンド ($3100 \sim 3400 \text{ cm}^{-1}$) と逆の符号を有している。これは、図 1 右の模式図に示すように、親水基“上側”に存在する脂質単分子膜中の水に帰せられる。親水基の電荷による静電場の向きがバルク水側と脂質炭化水素鎖側で逆になるため、水分子の配向も逆になる。 3600 cm^{-1} という高い波数は、水と脂質のカルボニル基、グリセロール基の酸素の間の弱い水素結合を意味することが、別に行った IR 測定から分かった。

これまで、脂質単分子膜内の水分子の配向は、カルボニル基との水素結合に支配されていると考えられていた。今回の実験結果から、親水基下側の水の場合と同様に、上側の水の配向もやはり親水基の電荷の符号によって決まっていることがはつきりと示された。

【参考文献】[1] S. Nihonyanagi, J. A. Mondal, S. Yamaguchi and T. Tahara, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **64**, 579 (2013). [2] S. Yamaguchi, *J. Chem. Phys.* **143**, 034202 (2015).

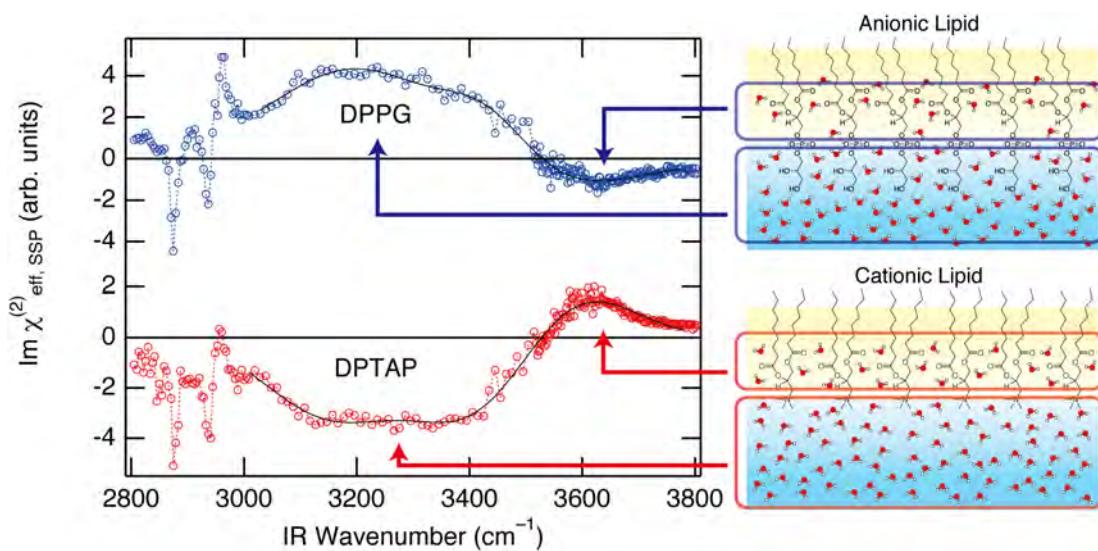


図 1. 脂質 (DPPG, DPTAP) / 水 (H_2O) 界面の HD-SFG スペクトル (二次非線形光学感受率の虚部)。



業績紹介：水の最表面での振動カップリング

鈴木 雄大 (埼玉大・博士前期課程学生)
野嶋 優妃 (埼玉大・助教)
山口 祥一 (埼玉大・A02 計画研究分担者)

論文題目："Vibrational Coupling at the Topmost Surface of Water Revealed by Heterodyne-Detected Sum Frequency Generation Spectroscopy"

著者 : Yudai Suzuki, Yuki Nojima, Shoichi Yamaguchi

雑誌巻号 : *J. Phys. Chem. Lett.* **8**, 1396 (2017).

液体の水の表面の振動スペクトルは、長い間 OH 伸縮が最も徹底的に研究され、さらに最近では HOH 変角や libration の研究も報告されている。そのような中で、フリーOH (dangling OH) 伸縮バンドの低波数側 3640 cm⁻¹ 付近の幅の広い小さなバンドの帰属は不明のまま残されていた。Benderskii らは、D₂O 表面の 2680 cm⁻¹ 付近のバンド (H₂O の 3640 cm⁻¹ バンドに相当) を tentative に DDA 種 (水素結合を 2 つ供与し 1 つ受容している水分子) の水素結合 OH の逆対称伸縮に帰属した [1]。今回我々は、H₂O と同位体希釈水の表面のヘテロダイイン検出と周波発生 (HD-SFG) 分光を行い、3640 cm⁻¹ バンドの conclusive な帰属を得た。

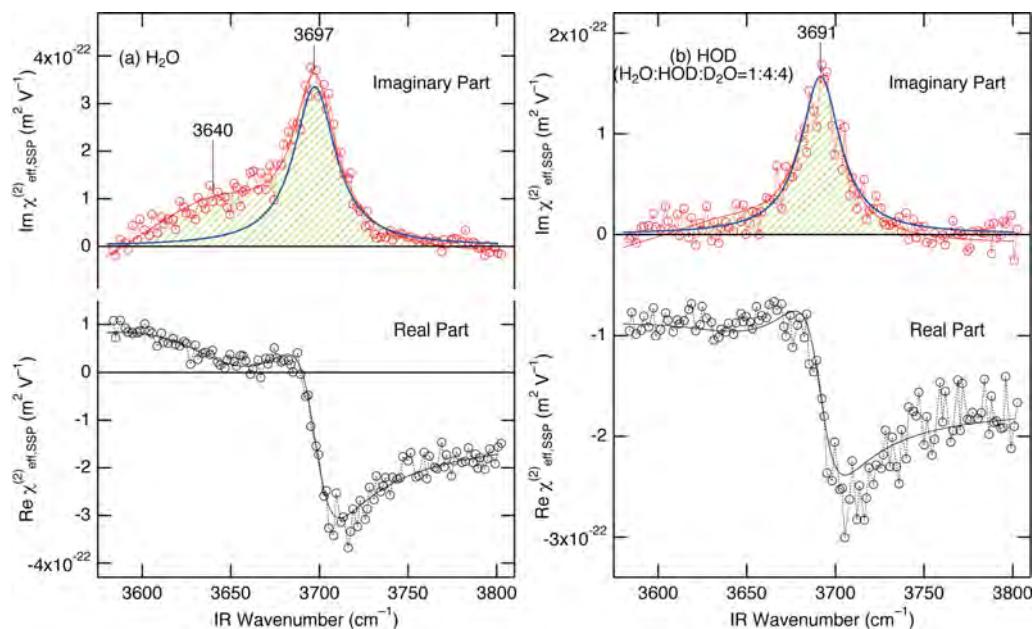


図 1. (a) 水 (H₂O) と (b) 同位体希釈水 (H₂O を D₂O で 3 倍希釈) の表面の HD-SFG スペクトル (二次非線形光学感受率の虚部 (赤丸) と実部 (黒丸))。黒と赤の実線はグローバルフィット。青の実線はフリーOH に 対応する単一のローレンツ関数。

図 1(a) は H₂O 表面の HD-SFG スペクトルである。3697 cm⁻¹ のフリーOH バンドの低波数側に問題の 3640 cm⁻¹ バンドが見られる。D₂O で 3 倍希釈した表面のスペクトル (図 1(b)) では、3640 cm⁻¹ バンドはほぼ消失している。フィットによって得たフリーOH の単一ピーク (図中の青実線) の面積比 (希釈水/純水) は 0.49 となった。これは希釈比から期待される値 1/3 を大きく超え、一見矛盾であるが、図 1(a) の 3640 cm⁻¹ バンドまで含めて (緑斜線の領域の) 面積比をとると 0.31 となり、希釈比と整合する。このことは、3640 cm⁻¹ バンドがフリーOH から強度を借りて現れていることを意味する。この intensity borrowing の最も自然な機構は、結合音とフリーOH の間のフェルミ共鳴である。ここで結合音とは、~3450 cm⁻¹ の水素結合 OH の伸縮と~200 cm⁻¹ の低波数分子間振動の結合音である。このフェルミ共鳴は、1 つのフリーOH を有し水素結合を 1 つ供与している最表面の水分子でのみ可能なカップリングである。3640 cm⁻¹ バンドは、この結合音がフェルミ共鳴によって現れているものと帰属される。

【参考文献】[1] I. V. Stiopkin, C. Weeraman, P. A. Pieniazek, F. Y. Shalhout, J. L. Skinner, and A. V. Benderskii, *Nature* **474**, 192 (2011).



業績紹介：分子進化的にユニークで熱に対して極めて安定な光駆動プロトンポンプ

金原 加苗 (岡山大・研究協力者: 学部4年生)
須藤 雄氣 (岡山大・A02計画研究分担者)

論文題目："A phylogenetically distinctive and extremely heat stable light-driven proton pump from the eubacterium *Rubrobacter xylanophilus* DSM9941^T"

著者 : Kanae Kanehara, Susumu Yoshizawa, Takashi Tsukamoto and *Yuki Sudo

雜誌卷號：*Sci Rep.* 7, 44427 (2017).

ロドプシンは、7回膜貫通ドメインに発色団レチナールが結合した膜タンパク質であり、エネルギー変換や光情報伝達を司っている。ゲノム解析の進歩によって、ロドプシンは生物界の三大ドメイン（真正細菌、古細菌、真核生物）すべてに幅広く分布していることが知られている [1]。ロドプシンは色やその変化で、活性を簡便に確かめることができるために、光受容体のみならず膜タンパク質のモデルとして盛んに研究が行われている。私たちのグループでは、自然界から新しい機能や性質を有するロドプシンを探索しており、その一貫として 2013 年に米国の温泉から新規ロドプシンを発見し、サーモフィリックロドプシン (TR) と命名した [2]。好熱性の生物には、ロドプシンは無いとされてきたため、TR の発見はこれまでの常識を覆すものであったと同時に、高い安定性を保持するロドプシンとして、基礎および応用面で注目されている。

本研究では、真正細菌 *Rubrobacter xylanophilus* DSM9941^T 株のゲノム上に存在する推定ロドプシン (*R. xylanophilus* rhodopsin: RxR と命名) に着目した。RxR は、真正細菌由来にも関わらず、分子進化系統樹上、古細菌型と真核生物型のロドプシンの中間に位置する (図 A)。この進化的な特徴に加え、*R. xylanophilus* は英国のカーペット工場の熱水フィルターから発見された細菌であるため、熱に対して安定であることが期待された。そこで、RxR の機能や分光学的性質を明らかにすることを目的に本研究を行った。

大腸菌コドンに最適化させた RxR 遺伝子を全合成し、大腸菌に異種発現させた。この大腸菌に光を照射したところ、細胞内から細胞外に濃度勾配に逆らってプロトンを輸送する光駆動外向きプロトンポンプであることがわかった。次に、RxR を精製して界面活性剤・n-dodecyl- β -D-maltoside (DDM) 中で分光学的性質を調

べた。その結果、RxR の極大吸収波長およびモル吸光係数は、それぞれ 541 nm、 $5.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であり、また、結合するレチナールはほぼ 100 % が all-trans 体であることが明らかとなった。これらの性質は、真核生物型のロドプシンに近いものであった。次に荷電性アミノ酸の pK_a を求めるため、pH 滴定実験を行った。その結果、RxR の極大吸収は酸性下では赤色側に、塩基性下では青色側にシフトし、それらの変化を 1 成分の回帰曲線でフィッティングした結果から、プロトン化シップ塩基 (K209) の pK_a が 10.7 ± 0.03 、対イオン (D74) の pK_a が 1.3 ± 0.17 とそれぞれ推定された。これらの値は、他のロドプシンに比べて数ユニット小さなため RxR に特徴的な性質であった。

最後に、DDM 中における RxR の熱に対する安定性を TR およびバクテリオロドプシン (HsBR) と比較した。残存活性は可視吸光および光反応性の 2 つの指標でモニターした。その結果、RxR は TR より約 16 倍、HsBR より約 200 倍安定であることがわかった。また、ロドプシンのモデルとして広く研究されている天然膜中の HsBR (PM) よりも約 4 倍安定であった。従って、RxR は現在最も熱に対して安定なロドプシンであると言える (図 B)。このように、私たちは分子進化上ユニークなロドプシン・RxR を見出し、極めて高い熱安定性を保持することを明らかにした。今後は、熱安定化のメカニズムを解明するとともに、ロドプシンを材料とした生命医工学研究への応用を行っていきたい。

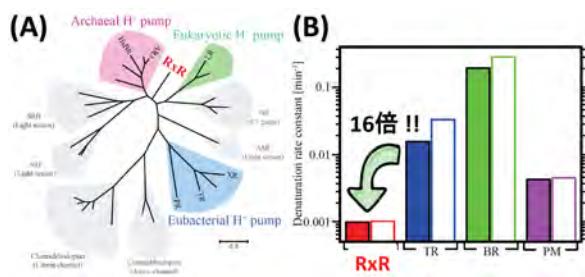


図 RxR の特徴 : (A) RxR は分子進化系統樹上でユニークな位置に存在する。(B) RxR は極めて高い熱安定性を示す。

引用文献

- [1] Kurihara M, & *Sudo Y., *Biophys. Physicobiol.*, **12**, 121 (2015) [review].
 [2] Tsukamoto T, et al., *J. Biol. Chem.* **288**, 21581 (2013).



業績紹介：固体 VCD 法による 2 つのキラルセンターをもつイソロイシンの構造解析

佐藤 久子（愛媛大・A02 公募研究代表者）
川村 出（横浜国大・A02 公募研究代表者）

論文題目："Solid-state Vibrational Circular Dichroism Spectra of Isoleucine and Its Related Compounds: Effects of Interplay between Two Chiral Centers"

著者：Hisako Sato, Izuru Kawamura, Akihiko Yamagishi and Fumi Sato

雑誌巻号：*Chem. Lett.* 46(4), 449-452 (2017).
(Editor's Choice)

本プロジェクトでは、次元拡張型振動円二色性分光装置(VCD)の開発を行い、それを用いて生体中のペプチドオリゴマーに含まれる D-アミノ酸の検出を目指している。

上の目的のもとに、本年度から横浜国立大学川村出准教授(A02)との共同研究を開始した。共同研究として、キバラスズガエルの皮膚分泌物に含まれる 20 残基のアミノ酸で構成されているペプチド(BombininH4)をとりあげた。このペプチドでは、N 末端から 2 番目のアミノ酸が L 体のイソロイシン(2S,3S)から D-アロイソロイシン(2R,3S)に変換することにより抗菌作用が発現する。アミノ酸の DL 変換は、この他にも疾病(アルツハイマー病における神経変性など)の発生、加齢やストレス等の結果においても見ることができる。生体中における DL 変換の機構や D-アミノ酸の由来は未だ未知の部分が多い。これらを解明するために、ペプチド中の D-アミノ酸残基を直接検出することが望まれている状況にある。

そのための第一歩として、本論文ではアミノ酸のキラリティ分析に対する固体 VCD 法の有効性を検討した。これまでに我々は、高感度化をめざした振動円二色性分光法と表面反射との VCD-RAS コンカレント測定装置の開発を行ってきた。その結果 VCD-RAS 手法が、溶液、膜、ゲルあるいは固体試料に見られる分子集合体の示す超分子キラリティ解析に対して新しい手段となり得ることを示してきた。この手法をアミノ酸に適用する場合には、アミノ酸が水溶媒にしか溶けないという問題が生じた。そこで、発想を変えて、まず、固体状態での測定を試みることにした。しかしながら、

固体状態の測定では、直線二色性による偽シグナルの影響などもあり、真のシグナルの検証が困難である。このため我々は反対のエナンチオマーで対称なシグナルが得られること、透明なサンプルを作成できること、ラセミ体ではシグナルがないこと、サンプルを回転させてもシグナルが反転しないことなどで検証をおこなった。いくつかのアミノ酸で試みた結果、幸運にもロイシンや、イソロイシンは良好なシグナルが得られることがわかった。イソロイシンは二つの不斉炭素を有する。特性吸収の符号がそれらキラル中心の絶対配置にどのように影響するかを調べた。測定結果と第 1 原理計算による結果の比較から、特定の官能基に由来する VCD 吸収の符号が、二つのキラリティの組み合わせに依存していることがわかった(図 1)。これはペプチド中のアミノ酸の RS を同定する上で、着目する分子の VCD 吸収の符号に対して隣接したアミノ酸のキラリティが影響を与える可能性があることを示している。微弱 VCD シグナルを十分の精度で測定できたことも、このような結論を導き出すことができた要因である。これらの結果が評価されて、今回 Editor's Choice ということで受理された。

今後はさらに共同研究を発展させて、抗菌ペプチド中の D-アロイソロイシンの構造に関して検討中である。

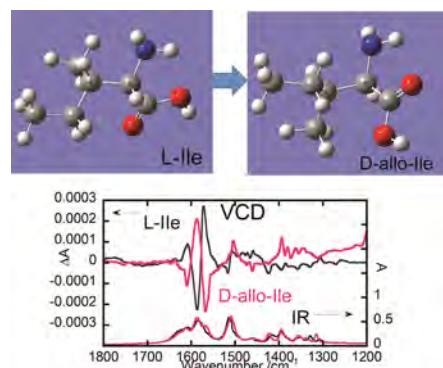


図 1 L-Ile および D-allo-Ile の VCD と IR
シグナル：C=O 伸縮振動は絶対配置によって反転しているが、NH 変角振動はとなりのキラリティの影響をうけて同じ符号となっている。



業績紹介：多環芳香族分子ピンセットの合成と幅広い分子捕捉能

城野圭佑（東工大化生研・修士課程学生）
吉沢道人（東工大化生研・A03 分担研究者）

論文題目："A Polyaromatic Molecular Clip That Enables the Binding of Planar, Tubular, and Dendritic Compounds"
著者：Keisuke Jono, Akira Suzuki, Munetaka Akita, Ken Albrecht, Kimihisa Yamamoto, and Michito Yoshizawa*
雑誌巻号：*Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, *56*, 3570–3574.

ピンセット型のホスト化合物は、分子チューブやカプセルと異なり、非環状構造に由来した幅広い分子捕捉能が期待できる。しかしながら、既報の分子ピンセットの多くは、有機溶媒中での電子不足な化合物などの限定された捕捉能を示す^[1]。一方、水溶性の分子ピンセットは難溶性分子の捕捉による水溶化などが期待できる。我々のグループでは、2つのアントラセン環を含むV型の両親媒性分子 $\mathbf{2}$ の水中でのカプセル形成と分子内包を報告している^[2]。今回、この2つの両親媒性分子 $\mathbf{2}$ をビフェニル鎖で連結した、C型の親水性分子ピンセット $\mathbf{1}$ （図1）を新規に合成し、その幅広い分子捕捉能を明らかにしたので紹介する。

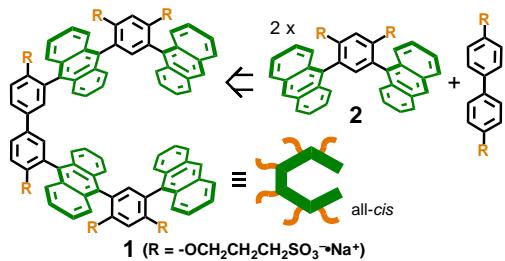


図1. 多環芳香族骨格を有する分子ピンセット $\mathbf{1}$ の分子設計

分子ピンセット $\mathbf{1}$ は官能基化と段階的なクロスカッピングによりその異性体混合物を合成し、水中での熱異性化により立体選択的にC型の目的化合物を得た。その構造は、各種NMR, MS, DLSおよびAFMにより決定した。粒径測定の結果から、 $\mathbf{1}$ は水中でモノマー状態にあることが明らかになった。

得られた分子ピンセットの水溶液に平面状顔料のペリレン誘導体 $\mathbf{3}$ （図2a）の固体を加え、超音波照射を行った後、余剰の $\mathbf{3}$ をろ過したところ、オレンジ色の均一溶液を得た。その吸収スペクトルにおいて、捕捉された $\mathbf{3}$ に由来する吸収帯が420–600 nmに新たに現れた（図2b）。得られたホスト–ゲスト錯体は、低濃度条件（約5 μM）においてもその構造を維持していた。

同様の簡便な実験操作で、巨大な筒状化合物である单層カーボンナノチューブ $\mathbf{4}$ の水中での捕捉に成功した。得られた黒色溶液の吸収スペクトルにおいて、 $\mathbf{4}$ に由来するプロードな吸収帯が明確に観測された（図2b）。その水溶液をマイカ基板上に滴下してAFM測定を行ったところ、 $\mathbf{4}$ の纖維状の像が観察され、単分散化が示された（図2c）。一方で、多層カーボンナノチューブは捕捉されなかった。さらに、高分岐型化合物の第2, 4世代カルバゾールデンドリマー $\mathbf{5a}$, $\mathbf{5b}$ （図2a）も分子ピンセット $\mathbf{1}$ の捕捉により水溶化を達成した（図2b）。AFM測定では、4 nmの $\mathbf{5a}$ の球状の構造が明確に観察された（図2d）。

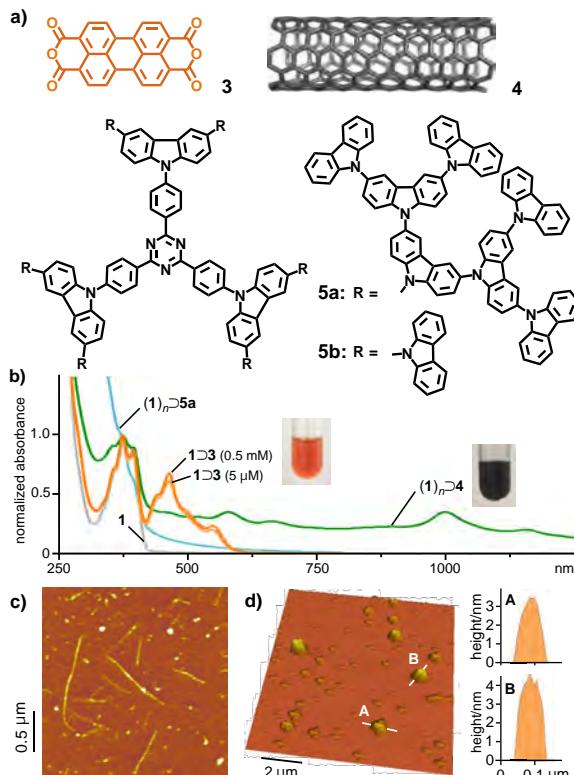


図2. a) 捕捉された分子と b) 捕捉体の水溶液の吸収スペクトル。水溶化した c) 单層カーボンナノチューブおよび d) デンドリマーのAFM画像

以上のように、水中で平面状、筒状、分岐型の化合物に対して幅広い分子捕捉能を示す、多環芳香族骨格を有する分子ピンセットの開発に成功した。

参考文献：[1] M. Sallé *et al.*, *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 30–43 (2011); [2] K. Kondo, M. Yoshizawa, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, 2308–2312 (2013).



業績紹介：シクロファンが凝集相で示す刺激応答発光特性の鎖長依存性

相良 剛光（北大電子研・A03 公募研究代表者）

論文題目："Tuning the thermo- and mechanoresponsive behavior of luminescent cyclophanes"

著者：Yoshimitsu Sagara, Christoph Weder and Nobuyuki Tamaoki

雑誌巻号：RSC Adv. **6**, 80408-80414 (2016).

近年、外部刺激に応答して分子集合構造が変化し、内部の蛍光団の相関配置が変化することで材料の発光特性が変化する化合物が盛んに報告されている[1]。この原理に基づく刺激応答性発光材料を構築するうえで一番重要な点は、当たり前ではあるが、変換可能な二種類以上の分子集合状態を同じ環境下で凝集相として構築できなければならない点である。これは一見困難に見えるが、最近の当該分野の進展に伴って、二種類以上の熱力学的に（準）安定な分子集合状態を得るために汎用性の高い手法がいくつか確立されつつある。

最近我々のグループは新しい手法の一つとして、「蛍光団に環状構造を導入する」というアプローチが汎用性の高い手法の一つとなりうることを見出している[2]。この論文では、分子内に蛍光団として二つの9,10-bis(phenylethynyl)anthracene部位を持つ蛍光性シクロファンの発光色が熱刺激と機械的刺激に応答して固相で変化することを報告している。しかし、環状化合物であるシクロファンに対して、固相での刺激応答発光特性を調べた研究はほとんど行われておらず、さらなる知見の集積が必要であった。

そこで本研究では、二つの蛍光団間のリンカー鎖長の変化が、外部刺激応答発光特性にどのような影響を及ぼすかを調べた。具体的には、リンカーとしてテトラエチレンジコールの代わりにヘキサエチレンジコールを持つ化合物を設計・合成し、その外部刺激応答性を精査した。

当初は多少リンカーの長さを変化させたところで、外部刺激応答特性にはほとんど影響を及ぼさないのではないかと考えていたが、新しく合成したシクロファンは先行研究のシクロファンとは大きく異なる外部刺激応答特性を示した。まず、先行研究のシクロファンでは250 °Cでアニーリング処理を行うと結晶—結晶相転移を起こし、紫外光照射下の発光色が黄色 ($\lambda_{\text{em,max}} = 555 \text{ nm}$) から赤橙色 ($\lambda_{\text{em,max}} = 614 \text{ nm}$) に変化したが、

本研究で開発したシクロファンでは、150 °Cでアニーリング処理を行うと結晶—結晶相転移を起こし、発光色が黄色（Y-form, $\lambda_{\text{em,max}} = 567 \text{ nm}$ ）から黄緑色（YG-form, $\lambda_{\text{em,max}} = 560 \text{ nm}$ ）に変化した（図1）。すなわち熱刺激による発光スペクトルのシフト方向が逆転した。さらに二つの結晶相（Y-form、YG-form）に対し、機械的刺激を印加すると、いずれの場合もアモルファス（Am-form）となり、発光色も橙色となることがわかった。

また、この化合物に対して偏光顕微鏡観察を行ったところ、170 °C以上の温度範囲でシュリーレンテクスチャ（図2）が観察され、このシクロファンがこの温度範囲でネマチック相と呼ばれる液晶相を示すことを見出した。文献を調べると、オリゴエチレンギリコール鎖を持つシクロファンが液晶性を示す報告例が数報存在しており、得られた結果は妥当であるといえる。今後は液晶性を示す温度範囲を拡大することを念頭に置きつつ、刺激に応答する新しいシクロファンを開発したい。

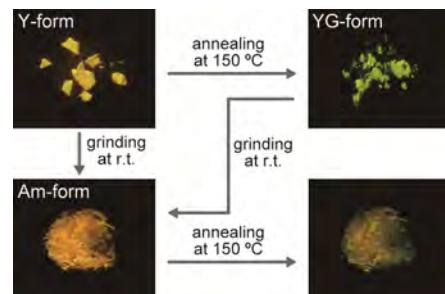


図1：新しく開発したシクロファンが固相で示す外部刺激応答性発光特性

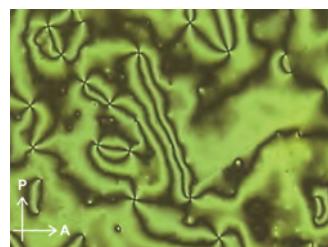


図2：観察されたシュリーレンテクスチャ

引用文献

[1] Y. Sagara, S. Yamane, M. Mitani, C. Weder and T. Kato, *Adv. Mater.* **28**, 1073-1095 (2016).

[2] Y. Sagara, Y. C. Simon, N. Tamaoki and C. Weder, *Chem. Commun.* **52**, 5694-5697 (2016).



業績紹介：こする温度で発光スペクトル変化が劇的に変わる化合物

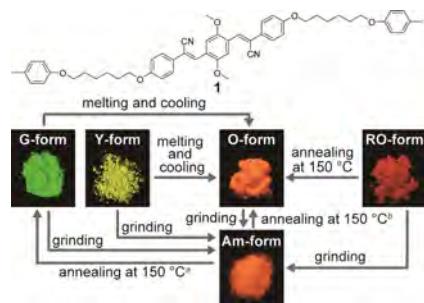
相良 剛光（北大電子研・A03 公募研究代表者）

論文題目："Temperature-Dependent Mechanochromic Behavior of Mechanoresponsive Luminescent Compounds"

著者：Yoshimitsu Sagara, Kazuya Kubo, Takayoshi Nakamura, Nobuyuki Tamaoki and Christoph Weder

雑誌巻号：*Chem. Mater.* **29**, 1273-1278 (2017).

近年、外部刺激に応答して分子集合構造が変化し、内部の蛍光団の相関配置が変化することで材料の発光特性が変化する化合物が盛んに報告されている[1]。この原理に基づく刺激応答性発光材料を構築するためのアプローチの一つとして、様々な分子間相互作用を競合させて熱力学的に準安定な分子集合状態を作り出すという手法がある。最近我々は、この手法を用い、固相で 5 種類の異なる発光状態を示す、シアノ基置換オリゴフェニレンビニレン誘導体 (cyano-OPV) **1** (図 1) を開発した[2]。観察された 5 種類の集合状態のうちのいくつかは、熱刺激や機械的刺激によって相互に変換することが可能であった。

図 1：先行研究の cyano-OPV 誘導体 **1** が示す多色変化

本研究では、**1** の末端に導入していたメチル基の効果を調べるために、アルキル鎖に導入したトリル基をフェニル基に変更した cyano-OPV 誘導体 **2** を新たに合成し、その刺激応答特性を詳細に検討した。

計画当初は類似の相変化が観察されるのではないかと考えていたが、予想に反して、**2** の相転移挙動や外部刺激応答性は **1** とは全く異なることが分かった。まず、**2** は **1** と異なり様々な溶媒から再結晶を行うと黄色の発光色を示す Y-form のみが得られ (**1** では溶媒を変えて G, Y, O-form を作り分けることができた)、この分子集合状態は **1** のどの分子集合構造とも異なることが分かった。研究とは予想通りにはいかないもので、最初は落胆していたが、気を取り直してどうにか他の

発光状態を作り出すことができないかを検討していたところ、面白い現象が見つかった。Y-form は室温で機械的刺激を印加するとアモルファスとなり赤橙色の発光色を示すのだが (レッドシフト)、100 °C付近で機械的刺激を印加すると発光色が赤橙色とはならず、黄緑色になることが分かった (ブルーシフト) (図 2)。すなわち、機械的刺激を印加した際の発光スペクトルのシフト方向が温度によって逆転したのである。

図 2：cyano-OPV 誘導体 **2** が示す機械的刺激による発光スペクトルのシフト方向の逆転現象

これまで機械的刺激応答性発光材料の研究分野では、機械的刺激は主に室温で印加されており、高温における機械的刺激応答性はあまり研究されてこなかった。本研究で得られた成果は、温度と機械的刺激という外部刺激を同時にインプットすることで、これまでに発見されていない相を他の多数の化合物で見つけることができる可能性を示唆している。

最後に、熱刺激と機械的刺激に応答して発光色が変化する超分子ポリマー (図 3) についても最近報告したので[3]、是非一読していただければ幸いである。

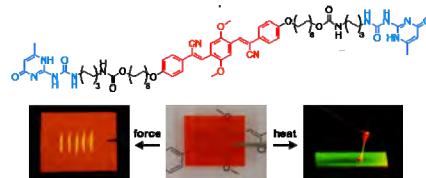


図 3：熱刺激・機械的刺激に応答して発光色が変化する超分子ポリマー

引用文献

- [1] Y. Sagara, S. Yamane, M. Mitani, C. Weder and T. Kato, *Adv. Mater.* **28**, 1073-1095 (2016).
- [2] Y. Sagara, A. Lavrenova, A. Crochet, Y. C. Simon, K. M. Fromm and C. Weder, *Chem. Eur. J.* **22**, 4374-4378 (2016).
- [3] A. Lavrenova, D. W. R. Balkenende, Y. Sagara, S. Schrettl, Y. C. Simon and C. Weder, *J. Am. Chem. Soc.*, in press. DOI: 10.1021/jacs.7b00342



業績紹介：タンパク質のカゴの中で踊る金原子を観る

安部 聰（東工大・A03 公募研究代表者）

論文題目："Observation of gold sub-nanocluster nucleation within a crystalline protein cage"

著者：Basudev Maity, Satoshi Abe and Takafumi Ueno

雑誌巻号：*Nat. Commun.* **8**, 14820, (2017).

バイオミネラルとよばれる貝殻や真珠、歯や骨などの無機材料は、タンパク質や微生物によって作り出され、生命活動を支えている。これらのバイオミネラルは、金属イオンがタンパク質表面に集積し、いくつかの反応を経由して合成される。近年では、これらの金属集積化反応をヒントに、カゴ型タンパク質「フェリチン」や、ウイルスの内部で金、パラジウム、白金、酸化鉄、硫化カドミウムなど様々な金属化合物が作製されている[1]。これらは、触媒、光学、磁気機能やイメージング能を有するバイオマテリアルとして利用され、材料分野のみならず医薬分野でも利用されている。

タンパク質内で合成されるこれらの金属微粒子は、金属表面への集積と核化反応により形成されると考えられている。しかしながら、これらの反応過程におけるナノレベルでの詳細な形成過程については、構造情報を追跡することが困難なため、明らかにされていない。

本研究では、X線結晶構造解析により、タンパク質「フェリチン」(図1) のカゴの中で金イオンが化学反応により、サブナノクラスターと呼ばれる塊を形成する様子を観察することに成功した。フェリチンは内部に8ナノメートル(nm)の空洞を持つカゴ型タンパク質で、多数の金属イオンや金属錯体を取り込むことができる。

今回、フェリチン内部での金属イオンの動きを観察するため、金イオンを含んだフェリチン複合体を作成し、結晶化した。一般に、タンパク質結晶は非常に脆く、化学反応などで容易に分解してしまう。そこで、結晶内の隣り合うフェリチン分子同士をグルタルアルデヒドで架橋化することにより、水中での化学反応においても溶けない結晶を作製した。架橋した結晶を2.5、5、250mMの濃度が異なる水素化ホウ素ナトリウム溶液に浸漬させ、金イオンを還元した。その結晶のX線結晶構造解析を大型放射光施設SPring-8にて行い、還元前の構造との比較を行った(図1)。

還元前、還元後、計4種類のフェリチン複合体をX線結晶構造解析した結果、フェリチン内部の3つの単量体で形成される3回対称軸チャネルで、還元剤の濃度をあげていくと、アミノ酸残基に固定化されていた金イオンが3回対称軸を中心に集積し、サブナノクラスターを形成する様子が観察された。またその際、還元前に金イオンが結合していたヒスチジン残基の側鎖の向きが変わることで、サブナノクラスターを安定化

していることがわかった(図2)。

本手法は、金属イオンを内包するフェリチン結晶を架橋安定化することにより、還元反応による金属イオンの動きを追跡することにはじめて成功した。

タンパク質と結合する金属は、金属酵素の活性中心を形成する金属クラスターなどの反応触媒を形成したり、ミネラルの貯蔵や骨など生体無機材料の形成にも重要な役割を果たす。今回得られた成果は、これらの反応メカニズムの解明につながると期待される。

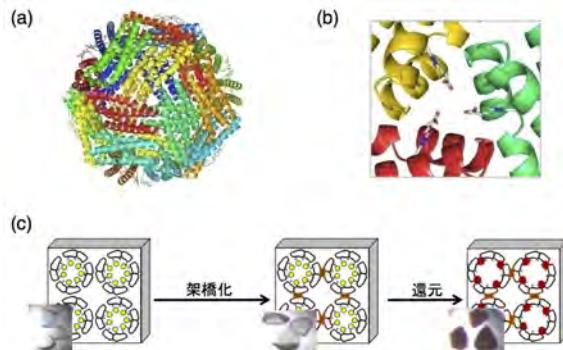


図1. フェリチンの結晶構造 (a)全体構造と(b)3回対称軸チャネル、(c)金イオンを内包したフェリチン結晶の架橋化と還元反応

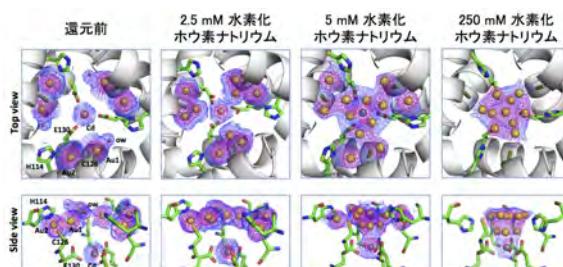


図2. フェリチン3回対称軸チャネルにおける金イオン還元反応の構造変化の詳細。還元前はアミノ酸側鎖に結合していた金イオンが還元により、3回対称軸チャネルの中心に移動している様子が確認できる。

引用文献

- [1] S. Abe, M. Basudev and T. Ueno, *Chem. Commun.* 2016, **52**, 6496-6512.



A02 石橋グループの奥野将成さんが日本分光学会奨励賞を受賞しました

石橋 孝章（筑波大数理・A02 公募研究代表者）

柔らかな分子系 A02 公募班の石橋グループ（筑波大学数理物質系化学域）の連係研究者である奥野将成博士が、平成 28 年度日本分光学会奨励賞を受賞しました。受賞日は平成 28 年 5 月 24 日、受賞の題目は、「新規線形および非線形振動分光手法の開発と応用」です。本賞は、分光学およびその関連分野に関する優れた研究成果を得た 39 歳以下の日本分光学会会員に与えられる賞です。本年度は、奥野氏を含めて 2 名の研究者が受賞しました。

受賞対象となった研究業績は、(1)多焦点共焦点顕微ラマン分光法、(2)サブナノ秒スーパーコンティナム光を利用した CARS 顕微分光法、(3)ヘテロダイイン検出キラル振動 SFG 分光法という三つの高効率な振動分光法手法の開発とそれを応用した研究です。赤外吸収やラマン散乱などの振動分光法は、分子構造の変化に鋭敏に応答する情報量の多い手法ですが、一方で電子吸収分光や蛍光分光などに比べて感度が低いという欠点を持っています。奥野博士が開発した手法は、いずれも信号取得の多重化を通して感度の向上や情報量の増大を実現するもので、振動分光の有用性や応用範囲を広げることに大いに貢献するものです。(1)と(2)は東京大学大学院理学系研究科の院生時代（濱口宏夫研究室）の成果です。一方、(3)のキラル振動 SFG 分光は、筑波大学の我々のグループでの仕事で、柔らかな分子系からも支援を得て進めている研究です。新学術領域に感謝したいと思います。以下に研究内容を簡単に紹介します。

(1)多焦点共焦点顕微ラマン分光法 ラマン分光法の高感度化に最も有効な手法は、信号取得の多重化（マルチプレックス化）です。これまでのラマン分光法は、振動数の次元と空間次元のどちらかのみの多重化が利用されてきました。これに対して奥野氏は、レンズアレイとピンホールアレイ、バンドル光ファイバー、2 次元マルチチャンネル検出器付き分光器を巧みに組み合わせることで、振動数と空間の両方の次元についてのマルチプレックス化を実現した顕微ラマン分光法を開発しました。空間中の多くの点（48 点）からの広い波数範囲のラマンスペクトルが同時に得られるので、データの取得速度が約 50 倍となり、これまで非常に困難だった生細胞中の分子の三次元ラマンスペクトル像の取得を可能にしました。

(2)サブナノ秒スーパーコンティナム光を利用した CARS 顕微分光法 非線形ラマン過程である CARS 過程を利用した顕微振動分光は、自発ラマンに比べて信号強度が大き

く、信号がレーザー光強度の三乗に比例するため空間分解能が高いという長所を持っています。奥野氏は、波長 1064 nm の高繰り返し（33 kHz）サブナノ秒レーザー（ ω_1 ）とフォトニッククリスタルファイバーによって発生させた超広帯域スーパーコンティナム光（ ω_2 ）を利用したマルチプレックス CARS 方式（振動数次元について信号取得の多重化）を導入することで、この分光法の測定効率を一気に向上させました。開発した装置は、測定波数範囲、波数分解能、生体試料へのレーザーによる損傷、吸収や散乱による妨害の受けにくさなどの点で、従来の装置よりも優れています。奥野氏はこの装置を使用して、世界で初めて生細胞の詳細な CARS スペクトルを得ることに成功しました。

(3)ヘテロダイイン検出キラル振動 SFG 分光法 振動 SFG 分光法は、二次の非線形光学過程に基づく分光法です。二次の過程の「反転対称性を持つ系に対して禁制」という選択率を活かし、界面選択性的な測定手法として広く利用されています。一方で、系が光学活性である場合にも反転対称性が破れ許容となるため、SFG 過程は分子や界面のキラリティの検出にも有効です。奥野氏は、世界で初めてマルチプレックス方式のヘテロダイイン検出キラル振動 SFG 分光装置を開発し、この分光法の測定効率と情報量を向上させました。さらに、開発した装置を利用して、気液界面のタンパク質の信号の高感度測定と位相決定に基づく信号の発生位置（界面とバルクのどちらなのか）の特定、電子共鳴増強効果による超微量試料のキラリティ検出、水上ラングミュア単分子膜のキラリティ検出と位相情報に基づく信号発生機構解析など、着目すべき研究成果を挙げつつあります。キラル振動 SFG 分光法は、学術的にも汎用的な分析手法としても、今後大いに発展すると思われます。奥野氏の今後の活躍が期待されます。



授賞式の様子、奥野将成氏と尾崎日本分光学会会長



A02 山方グループの松永大典さんが電気化学会北海道東海支部合同シンポジウムと第 16 回日本表面科学会中部支部学術講演会で受賞しました

山方 啓（豊田工大・A02 公募班、研究代表者）

A02 柔らかな分子系計測公募班の山方グループ（豊田工大）の松永大典さん（M2）が、平成 28 年 11 月 23 日（水）から 24 日（木）に北海道大学で開催された電気化学会北海道支部・東海支部合同シンポジウムにて優秀ポスター賞を受賞しました。また、平成 28 年 12 月 17 日（土）に名古屋大学で開催された第 16 回日本表面科学会中部支部学術講演会にて講演奨励賞を受賞しました。研究内容の概要を以下に紹介します。

松永さんの発表内容は「フェムト秒時間分解分光法による酸化チタン光触媒のキャリアダイナミクス」です。酸化チタンは光触媒として広く用いられている材料で、その結晶構造にはアナターゼとルチルが良く知られています。一般にアナターゼは高い還元活性を有しているのに対して、ルチルは酸化活性が高いことが知られていました。しかし、この原因はまだ十分に解明されていませんでした。そこで、本研究では可視から中赤外領域の過渡吸収をフェムト秒からミリ秒の時間領域で測定することで、アナターゼとルチル粉末の中に生成した電子と正孔の挙動を調べました。

酸化チタン粉末に紫外光レーザーパルスを照射し、可視から中赤外域の過渡吸収スペクトルをマイクロ秒領域で測定したところ、アナターゼ粉末の場合には、 4000 cm^{-1} 以下に伝導帯に励起された自由電子のバンド内遷移、あるいは、伝導帯のすぐ下に形成された浅い欠陥準位から伝導帯の遷移に帰属される吸収が強く観察されました。一方、ルチル粉末の場合には、この自由電子由来の吸収は観察されず、 22000 cm^{-1} と 13000 cm^{-1} にそれぞれトラップ正孔とトラップ電子に帰属される吸収が強く観察されました。この結果は、ルチルの場合、マイクロ秒領域では自由電子が欠陥に深くトラップされていることを意味しています。

次に、ピコ秒領域において自由電子とトラップ電子、正孔の減衰過程を測定しました。アナターゼ粉末の場合には、自由電子とトラップ電子、正孔が同じような速さで減衰することがわかりました。しかし、ルチル粉末の場合、励起された自由電子は数ピコ秒で急速に減少すると同時にトラップ電子の数が増加し、トラップ電子とトラップ正孔がほぼ同じ速度で減衰することが分かりました。これはルチル粉末の場合、伝導帯に励起された自由電子が数ピコ秒で深い欠陥にトラップされ、このトラップ電子が正孔と再結合することを意味しています。つまり、アナターゼはルチルよりも反応活性が高い自由電子の寿命が長いので還元活性が高いことが分かりました。一方、電子が深くトラップされると正孔との衝突確率が減少するので正孔の寿命は長くなります。その結果、ルチルの方がアナターゼよりも酸化活性が高いことが分かりました。

粉末の表面には電子や正孔をトラップする欠陥が多数存在します。ルチルとアナターゼとではこの欠陥準位が異なるので電子と正孔の反応活性が異なることを明らかにしました。このような欠陥における電子や正孔の動きやエネルギー状態の違いが光触媒活性を支配していることを明らかにしました。

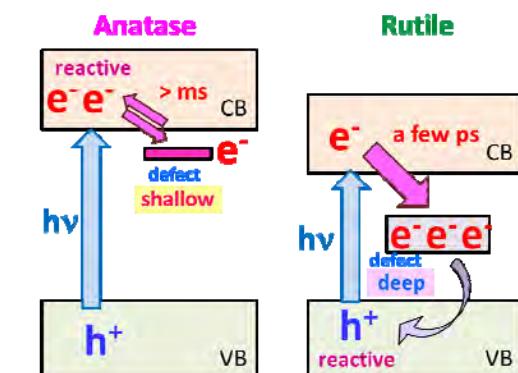


図 1 アナターゼとルチルの電子トラップ準位の違い



写真 二つの賞を受賞した松永大典君



サイエンスカフェにてタンパク質の柔らかさを解説

水谷 泰久 (阪大院理・A02 計画研究代表者)

3月4日（土）大阪大学総合学術博物館で開催されたサイエンスカフェにて、「タンパク質の不思議への挑戦」と題する講演を行った。大阪大学総合学術博物館は、1931年の大学創立以来収集保存してきた多数の学術標本を保管、展示している。ここでは社会貢献・地域連携活動の一環として、大阪大学で行われている最新の研究を、くつろいだ雰囲気で紹介する「サイエンスカフェ@待兼山」を2008年から行っている。土曜日の午後にほぼ毎週開催されており、総合学術博物館のイベントとして地域の方々に親しまれている。

私は、タンパク質という分子のもつ不思議さ、その不思議の解明に向けた研究者の挑戦について講演した。講演は次の言葉の引用から始めた。

ふしげだと思うこと
これが科学の芽です
よく観察してたしかめ
そして考えること
これが科学の茎です
そうして最後になぞがとける
これが科学の花です

これは朝永振一郎先生の言葉である。科学研究は不思議と感ずることから始まり、それに対する答えが得られることをもって終わり、そして次の研究を生み出す。一般の人々にとって、華々しい研究成果を報道で知ることはあっても、そこに至る科学研究のプロセスを知る機会は少ない。そこで、この講演ではタンパク質科学研究のエピソードを織り交ぜながら、新しい研究がどのように生まれるのかを解説した。

まずイントロダクションとして、栄養素としてのタンパク質から説明を始め、タンパク質がアミノ酸からできた直鎖の高分子であること、その高分子は水中で特有の形に折れたたむことを説明した。タンパク質の立体構造は全体的にみると複雑であるが、部分的にみると α ヘリックスと呼ばれる規則的な構造がある。この規則構造を予測したライナス・ポーリングのエピソードを紹介し、またポーリング自身が手描きしたモデル図を折り紙の要領で折り、水素結合が“支柱”となつた安定ならせん構造ができるこことを実感してもら

った。次に、マックス・ペルーツらによるタンパク質の構造解析の研究を紹介した。ペルーツがX線回折による研究を始めて、ヘモグロビンの最初の論文を出すまでに20年以上の時間がかかったことを紹介すると、多くの方が驚きの反応を示した。そしてこのようななかなか光の見えないチャレンジングな研究を理解し支援し続けたローレンス・プラッギの見識と先見性についても言及した。その後、タンパク質分子が働くときにその形を柔軟に変化させることを説明し、その変化を観測するために多くの研究者がさまざまな実験手法を開発したことを紹介した。特に、レーザー光の短パルス化の歴史について詳しく述べた。

当日は抽選で選ばれた約30名の参加者があり、その内訳は2割が高校生で、8割が主に50代以上であった。90分という一般の方にとってみれば長い講演時間であったろうが、大変熱心に聴いていただいた。講演後には多くの質問があり、うれしかったとともに内容を理解していただけたこともわかり安心した。なかでも、「若い人の人生観に影響を与えると思う」という感想をいただいたのは望外の喜びであった。また、取材のため小学館の方も参加されており、他所でのアウトリーチ活動についてお話を伺えたのも有益だった。一般向けの講演ということで、専門用語をできるだけ避け、また構造式は炭素原子、水素原子も省略せず描くなど、スライドの準備は予想外に大変であったものの、得るもの大きかった講演であった。

大阪大学総合学術博物館は、現在約600点の学術標本資料を展示し、なかでも世界最大級のワニの化石（約50万年前の北摂地域に生息していたものの化石で、理学部本館建築現場から発掘された）はかなりの迫力である。この他にも、大阪大学で開発された国産第1号の電子顕微鏡、蛋白質研究所を中心に行われた構造科学研究によるタンパク質模型など本領域にも身近な展示が多くある。また、湯川秀樹先生、土星型原子模型で知られる長岡半太郎先生（大阪大学初代総長）、漆の主成分ウルシオールの構造決定および合成を行い日本の有機化学研究を牽引した真島利行先生（初代理学部長）、八木アンテナで知られる八木秀次先生など、大阪大学創成期の研究者たちの業績が紹介されている。総合学術博物館は、阪急石橋駅から豊中キャンパスに入る阪大坂の登り口にある。出張で豊中キャンパスに来られた際はぜひお立ち寄りいただきたい。



The 7th Asia Pacific NMR Symposium 2017 (APNMR-2017) report

万里 (Li Wan, 京大エネルギー理工学研究所 片平 G·A03 公募研究協力者 D3)

The Asia Pacific NMR symposium (APNMR) is an international forum for showcasing the advanced developments in all aspects of magnetic resonance in but not limited the Asia-Pacific region. The 1st APNMR was held in Japan in 2005, then Taiwan, South Korea, China, Australia, and Hong Kong. APNMR was held every two years and the 7th APNMR was held on Feb. 16-19, in Bangalore, India in 2017.

Supported by Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, Japan, I attended APNMR-2017, which attracted numerous professional researchers and experts from all over the world and everyone shared and discussed their advance researches and excellent ideas.

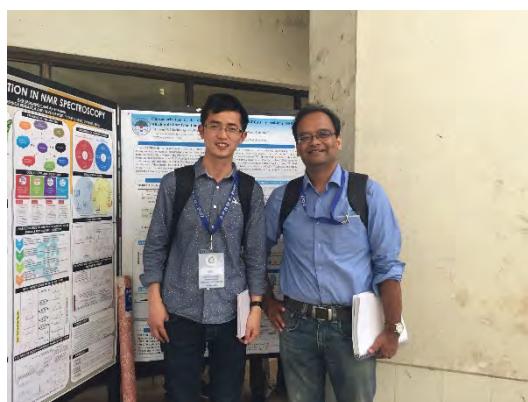
In the symposium, I made a poster presentation about the deamination mechanism of human APOBEC3B (A3B) analyzed by real-time NMR method, as well as other biochemical methods. A3B is a cancer-related enzyme. In my poster presentation, I introduced that A3B shows unique deamination characteristics comparing to A3G, another deaminase belonging to the same family of A3B. A3B efficiently deaminates a cytosine in short single-stranded (ss) DNA and it also shows higher deaminase activity toward the cytosine located near the centre of ssDNA than the one located near the 5'- or 3'-end. On basis of the weak binding affinity of A3B to ssDNA, these results are rationally interpreted that during the sliding of A3B along ssDNA, most A3B dissociates from ssDNA and diffuses into the solution, only a small amount of A3B could reach the target site.

This is my first time to attend the international conference abroad and I cherish this opportunities. During my

poster section, many researchers came to the poster and come up with their questions, comments, or their thoughts. I learned a lot from this kind of communication and also made some friends. It is really unforgettable experience for me.

During the symposium, I visited the lab of Prof. Mahavir Singh at Indian Institute of Science. Prof. Singh mainly focuses on the proteins interaction, structure and functions. He introduced his lab to me and also came to the poster. We discussed in details about how to get soluble protein for NMR experiment, as well as how to proceed the experiment of protein-nucleic acid interaction, which provided me a new insight into this kinds of researches.

It was not just an excellent platform for us to share our thoughts and ideas. It also contributed to improve my communication skills, especially the proficient in English. It is my honor to attend this symposium. As a researcher, it is not enough to just concentrate on the research, much more important point is to know how to share ideas with peers. This symposium plays such a role. I am motivated very much this time and I wish I could do much better about my research.



Photograph with Prof. Mahavir Singh at the poster section