



## 第 5 回公開シンポジウム（国際）開催報告

田原太平（理研、領域代表；計画研究代表者）  
藤井正明（東工大、領域事務局：計画研究代表者）

本学術領域研究「柔らかな分子系」では毎年 1 回、広く一般の方々に領域の研究活動を知っていただきため公開シンポジウムを開催している。この度、第 5 回公開シンポジウムを平成 29 年 6 月 24 日～26 日の 3 日間、北海道札幌市の中に位置するロイトン札幌で開催した。平成 27 年度に東京の未来館ホールで開催した第 3 回公開シンポジウムに続いて国際シンポジウムとし、計画班・公募班すべての研究代表者が各自の研究成果について英語で発表を行なった。

シンポジウムでは領域代表による全体説明のあと、A01 班、A02 班、A03 班の班ごとに、班長による各班における研究活動の説明に続いて、班長を含む 8 名の班員による口頭発表が行なわれた。これら口頭発表の内容はどれも素晴らしい、個々の班員が大変高いレベルで研究を推進していることが確認された。さらにこれに加えて各班長から班内および班間で共同研究が極めて活発に進められていることが述べられた。すでにこの新学術領域研究において班内・班間で進められている共同研究の数は 145 にのぼり、そのうちの 38 についてはすでに論文化にされている。これらの口頭発表の他、3 日目には研究代表者、連携研究者、研究協力者、班友などによる 93 件に上るポスター発表が行なわれ、活発な討論が行なわれた。今回の公開シンポジウムには領域以外からの参加もあり、これを含めて全部で 105 名の参加者があり、きわめて盛会のうちに終了した。

今回の第 5 回公開シンポジウムには、4 名の外国人評議員（米国・ノースイースタン大の P. Champion 教授、英国・イーストアングリア大の S. R. Meech 教授、イスラエル・ワイズマン研究の M. Sheves 教授、米国・ボストン大学の J. E. Straub 教授）をお招きして、招待講演をお願いするとともにすべての班員の研究発表を聞いていただき、われわれの領域の研究活動に対する評価とアドバイスをいただいた。またそのために総括班では領域の活動に関する資料を用意し、研究自体はもちろん、合宿班会議、ワークショップ開催に関する援助やニュースレター発行等の研究支援活動、さらには国際活動支援やアウトリーチ活動に至るまで詳しく説明した。すべての班員のレベルの高い発表を

聞き、また我々の領域が行なっている活動を知った 4 名の国際評議員全員から、我々が推進する「柔らかな分子系」研究に大変高い評価をいただいた。国際評議員の方々は国際シンポジウム終了後も 2 日間にわたって熱心に議論して下さり、我々の新学術領域に関するレポートをまとめてくれた。その中では幾つかのトピックスが取り上げられているが、レポートの冒頭部に “All IAB (IAB, International Advisory Board) members (中略) were greatly impressed by the productivity and scope of the research presented, as well as by the full range of scientific work, collaboration, and outreach conducted during the project.” と書かれており、すべての班員の研究活動および異なるバックグラウンドをもつ班員間の共同研究が高く評価された。また同様に、今回の公開シンポジウムに参加してくださった 3 名の国内評議員の方々からも大変高い評価と暖かい激励の言葉をいただいた。

2013 年に始まったこの新学術領域研究「柔らかな分子系」も、いよいよ今年度が最終年度となった。ただしこれは見方を変えれば、まだもう 1 年ある、ということでもある。我々の研究はこれからも続く。この新学術領域研究で始めた新しい研究の流れと作り上げた自由闊達な研究者のネットワークをさらに発展させて将来につなげよう、残り 1 年邁進しようという気持ちを参加者が強くもった公開シンポジウムであった。



国際評議員の Sheves 教授、Champion 教授、Meech 教授、Straub 教授（左から）。



第 5 回公開シンポジウム（国際）の参加者



## 業績紹介：時間領域ラマン分光法による PYP 光反応初期過程における超高速水素結合ダイナミクスの観測と最初の光サイクル中間体の構造の決定

倉持 光 (理研・A02 計画研究連携研究者)  
竹内 佐年 (理研・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：" Probing the early stages of photoreception in photoactive yellow protein with ultrafast time-domain Raman spectroscopy "

著者 : Hikaru Kuramochi, Satoshi Takeuchi, Kento Yonezawa, Hironari Kamikubo, Mikio Kataoka, Tahei Tahara

雑誌巻号 : *Nat. Chem.* 9, 660-666 (2017)

イエロープロテイン (Photoactive Yellow Protein: PYP) は紅色光合成細菌より単離された光受容タンパク質で、青色の光に応答して負の走光性を誘起すると考えられている。PYP の機能は発色団 p- クマル酸 (pCA) のフェムト秒～ピコ秒スケールで進行する trans-cis 光異性化により始まり、多くの過渡種を伴ったミリ秒に渡る光サイクルを通じて発現する。構造・機能相関の観点からこの光サイクル中における PYP の構造変化に興味が持たれており、これまで様々な手法を用いて詳細な研究がなされてきた。しかしながら機能発現機構の解明において最も重要である初期過程、すなわちフェムト秒～ピコ秒における構造ダイナミクスに関する包括的な理解は実験的な困難により未だに得られていない。我々は独自の時間分解インパルシブルマン分光法<sup>1</sup>を用いて PYP の光反応初期過程における構造ダイナミクスを詳細に検証した。

実験ではまず光反応を開始させるための励起光 (450 nm, 290 fs) により電子励起状態を生成させた。任意の遅延時間  $\Delta T$  の後、PYP の誘導放出遷移 ( $S_1 \rightarrow S_0$ ) に共鳴する極短ラマン励起光、プローブ光 (520-700 nm, <7 fs) を照射し、励起状態の分子振動を時間領域で観測した (Fig. 1A)。これら時間領域信号をフーリエ変換することでフェムト秒時間分解ラマンスペクトルを得た。観測されたバンドは励起状態の寿命 (~2.4 ps) に対応して 10 ps にかけて減衰するが、この間において指紋領域のスペクトル形状に大きな変化は見られなかった。すなわち、励起状態において大きな骨格構造の変化は起こっておらず、元の trans 構造が保たれていることが示唆された。一方で、低波数領域に着目すると、135

$\text{cm}^{-1}$  のバンドが励起直後には大きな強度を持つが、他のバンドより素速く 1 ps 以内に減衰する様子が観測された (Fig. 1B)。変異体に対する参照実験との比較や計算科学から得られる知見と合わせて解析を行い、この観測は発色団とそれに隣接するアミノ酸残基との間の水素結合強度の低下に由来すると結論した。

また、我々は光反応の最初の中間体  $I_0$  状態のラマンスペクトルを得ることにも成功した。このスペクトルは 630  $\text{cm}^{-1}$  付近のバンドが極めて強く現れる特徴的な形状を示す (Fig. 1C)。我々は結晶構造をベースとした量子化学計算を援用することによって、この  $I_0$  状態は異性化が既に完了した cis 体ではありながら分子骨格が大きく面外にねじれた構造をとっていると結論した。興味深いことに、この PYP の光反応の最初の中間体の構造は大型放射光を用いた 2 つの時間分解 X 線結晶構造解析による研究が同じ実験・解析手法を用いながらも全く異なる構造を報告するなど論争になっていた。我々のデータはこのうち一方の構造を支持しており、この結果は時間分解インパルシブルマン分光法が最先端の時間分解 X 線結晶構造解析でも捉えきれない、速い、小さな構造変化を検出することが出来る強力な手法であることを示している。

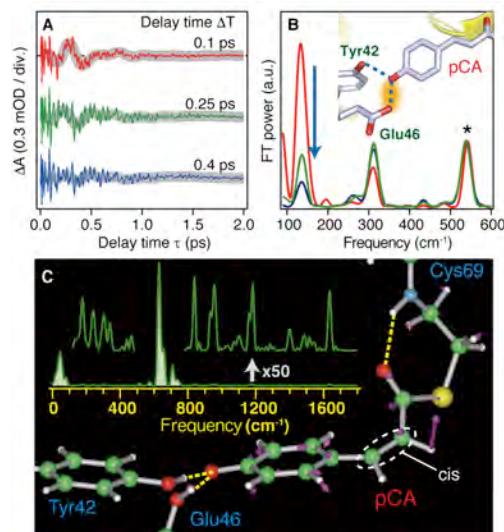


Fig. 1 (A) 光励起後各遅延時刻において得られた PYP の時間分解インパルシブルマン信号。 (B) 水素結合構造の変化に伴ったフーリエスペクトルの変化 (\*で示した 538  $\text{cm}^{-1}$  のバンドで規格化済み)。 (C) 光反応中間体、 $I_0$  状態のラマンスペクトルと量子化学計算から示唆された対応する中間体の構造。

### 【参考文献】

- (1) H. Kuramochi, S. Takeuchi, and T. Tahara, *Rev. Sci. Instrum.* 87, 043107 (2016).



## 業績紹介：我々はどうやって青色を見ているのか？

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

論文題目："Spectral tuning mechanism of primate blue-sensitive visual pigment elucidated by FTIR spectroscopy"

著者：Kota Katayama, Yuki Nonaka, Kei Tsutsui, Hiroo Imai, Hideki Kandori

雑誌巻号：*Sci. Rep.* 7, 4904 (2017).

我々の眼の中には青・緑・赤の「光の三原色」に対応した光センサーランタンパク質が存在する。これらは11シス型レチナールという全く同一の分子を使って異なる色の光を吸収しており（図上）、波長制御機構の解明は重要な分子科学的課題である。しかしながら、1) 試料調製が困難、2) 限られた試料に対する構造解析手法が存在しない、3) 実験操作のすべてを暗室で行わないといけないことから構造研究は皆無であり、私たちが色を見分けるという当たり前のことを、分子レベルで説明できなかつたのである。

そのような状況の中、我々は10年前に赤外分光法を用いたサル色覚視物質の構造研究を開始した。哺乳類ガン細胞を用いたタンパク質の大量発現と高精度低温赤外分光法を組み合わせることで、2010年に初めて霊長類赤・緑センサーランタンパク質の構造解析に成功し、2012年、2015年の論文により我々が赤と緑を見分ける分子機構の解明に成功した[1-3]。一方、青センサーランタンパク質は、過去の文献によれば、赤・緑センサーランタンパク質よりも一桁近く発現量が少ないことが知られており、神取グループの手法を持ってしても構造解析は不可能であると考えられていた。

今回、我々は青センサーランタンパク質の構造解析に向けて霊長類間での種の選択やタンパク質の可溶化・精製条件の再検討を行い、赤外スペクトルを測定するのに十分量の精製試料を得ることに成功した。その結果、研究開始から10年が経過した今年になって、ついに青センサーランタンパク質の構造解析が実現したのである。

得られた青センサーランタンパク質の赤外スペクトルは、レチナールやタンパク質の振動モードが赤・緑センサーランタンパク質とは大きく異なっていた。特に顕著な違いが観察されたのが内部結合水の信号である。本実験では重水中、77 Kでの光照射により基底状態と異性化

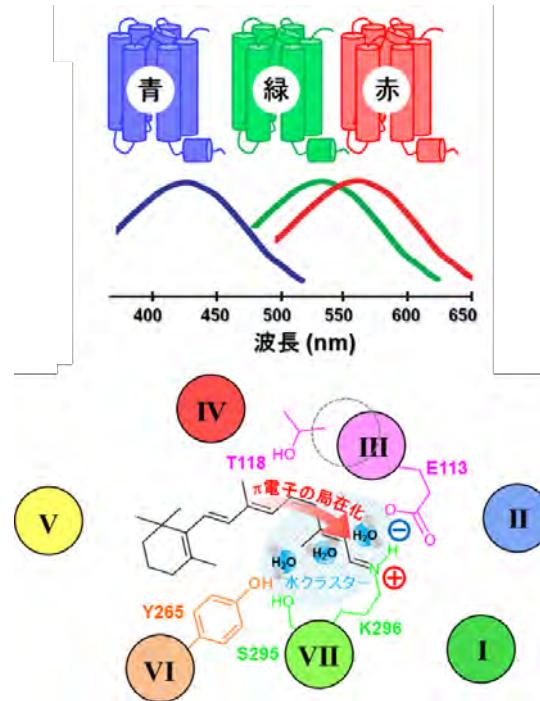
後の中間体との赤外差スペクトルを測定しているが、赤・緑センサーランタンパク質には6~8個の水のO-D伸縮がシャープなピークとして観察された[2]。青センサーランタンパク質の場合、基底状態に4個、異性化中間体に3個と数は少なかったものの、2500 cm<sup>-1</sup>付近に半値幅が40 cm<sup>-1</sup>を超えるブロードで強度の大きな水のバンドが含まれていた。神取グループで系統的に行ってきました様々なロドプシンの内部結合水解析においてもこのような信号が得られたことはなかった。

我々は青センサーランタンパク質中において、疎水的なレチナール分子の近傍に複数の水分子が集合体を形成していると解釈した。さらに波長制御に重要な役割を及ぼすE113とY265の変異体で水の信号が減少したことから、水分子の集合体構造がレチナールのポリエン鎖上のπ電子の局在化を引き起こすことによって青色光吸収をもたらすものと考えている（図下）。疎水部に点在する水分子は赤と緑を見分けるため[2]、水クラスターは青色を見るために働く。タンパク質構造の柔らかさが水と油（=レチナール）の絶妙な関係を生み出し、その結果として我々の「可視光」が決まったものと考えられる。

[1] K. Katayama et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**, 891 (2010).

[2] K. Katayama et al. *Biochemistry* **51**, 1126 (2012).

[3] K. Katayama et al. *J. Phys. Chem. Lett.* **6**, 1130 (2015).





## 業績紹介：ジアゾ酢酸エステルの重合における高分子量ポリマーの合成と立体構造制御を可能とする重合開始剤系の開発

井原 栄治（愛媛大院理工・A03 公募研究代表者）

論文題目："Polymerization of Alkyl Diazoacetates Initiated by Amidinate/Pd System: Efficient Synthesis of High Molecular Weight Poly(alkoxycarbonylmethylene)s with Moderate Stereoregularity"

著者：Hiroaki Shimomoto, Junya Kawamata, Hirokazu Murakami, Kazuki Yamashita, Tomomichi Itoh, and Eiji Ihara\*

雑誌巻号：*Polym. Chem.* **8**, 4030-4037 (2017).

ジアゾ酢酸エステルの重合による、主鎖のすべての炭素にアルコキシカルボニル基（エステル）が結合したポリマーの合成を開発してきた[1]。そして、この手法によって得られるポリマー[ポリ(置換メチレン)]の、エステル部の置換基が主鎖の周囲に高密度に集積しているという重要な構造的特徴を、新規な機能性高分子開発に応用することを本研究プロジェクトの目的としている。

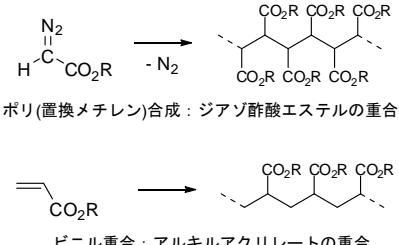


図 1 ポリ(置換メチレン合成)とビニル重合

機能性発現のための各種の官能基を導入したモノマーの合成と重合についてはある程度の成果を達成しつつある。例えばピレンを有するモノマーの重合により得られたポリ(置換メチレン)では、対応するピレン含有ビニルポリマーに比べてエキシマー形成効率が格段に向上升すという官能基集積効果を確認しており、さらなる応用を検討中である。

一方、ポリ(置換メチレン)に高度な機能を付与するためには、アイソタクチック、シンジオタクチックといった主鎖の立体構造を制御することが極めて重要である。その理由は、ビニルポリマーとは異なり、ポリ(置換メチレン)では置換基がすべての炭素に結合しているために、主鎖の tacticity が、らせんや平面ジグザグ

といったポリマー 2 次構造に直接影響を与えることが確認されているからである[2]。従って、ジアゾ酢酸エステルの立体特異性重合を実現すると、エステル部の官能基の空間配置を厳密に制御することが可能になり、例えば、光機能性官能基間の主鎖に沿ったエネルギー移動の制御等への応用が期待できる。しかしながら、これまでに開発してきた Pd 錯体を用いる開始剤系では tacticity の制御は不可能であった。

今回、新たに開発した開始剤系では、amidinate と呼ばれる配位子を有する Pd 錯体を用いている。この amidinate 配位子の構造は、高活性を示すが atactic なポリマーを与える従来の開始剤系[3]で用いた  $\pi$ -allylPdCl 錯体の  $\pi$ -allyl 部を元にして、この骨格に 2 つの窒素原子を導入したものである。この構造的修飾により、活性中心となる Pd の電子状態および立体構造が変化するはずであり、それが重合開始能や重合の立体特異性に影響を与えることを期待した。

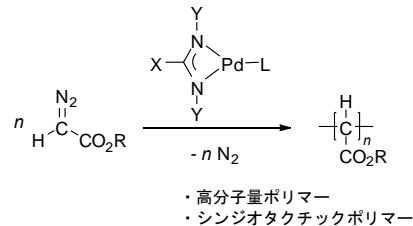


図 2 Amidinate/Pd 系によるジアゾ酢酸エステルの重合

実際のところ、今回、この amidinate/Pd 系によるジアゾ酢酸エステルの重合においては、1) シンジオタクチックな主鎖構造に富むポリマーを与える、2) 分子量 4 万程度と、 $\pi$ -allylPdCl 系の開始剤に比べて、かなり分子量の高いポリマーを与える、3) ジアゾ酢酸ベンジル、ジアゾ酢酸 n-ヘキシルの重合において、分子量 10 万に近い高分子量体を低収率ながら与える、という特徴が確認できた。開始剤系として用いる Pd 錯体の構造を変えることにより、その重合開始能を向上することができるということを示す、重要な成果でとなった。

### 引用文献

- [1] E. Ihara, *Adv. Polym. Sci.* **231**, 191-231 (2010).
- [2] V. K. Aggarwal et al., *Nature* **513**, 183-188 (2014).
- [3] E. Ihara, H. Shimomoto et al., *Macromolecules* **45**, 6869-6877 (2014).



## 第 23 回 ワークショップ「蛋白質の柔らかさと機能」開催報告

水谷 泰久 (阪大院理・A02 計画研究代表者)

本新学術領域研究の第 23 回ワークショップ「蛋白質の柔らかさと機能」が、平成 29 年 6 月 20 日（火）に、仙台国際センター（仙台市青葉区）で開催された。本ワークショップは、20 日～22 日開催の第 17 回日本蛋白質科学会年会（実行委員長は、本領域 A02 班 高橋聰氏）の一環として行われたものである。蛋白質は、その立体構造を柔らかくに変化させることで機能し、生命現象を支えている。本ワークショップでは、最先端の理論・計測・創成研究から明らかになってきた、蛋白質の柔らかさと柔らかさが生み出すタンパク質の機能発現メカニズムについて議論した。

最初に、オーガナイザーの水谷から、蛋白質の柔らかさと機能の関係およびワークショップの開催趣旨についての説明が行われた。その後引き続いて、水谷は共鳴ラマン分光法による構造解析と Phos-tag 電気泳動法による機能解析を組み合わせた、酸素センサータンパク質の研究成果について報告した。神取秀樹氏（名工大院工）は、光駆動イオンポンプのアミノ酸置換による機能転換のユニークな成果について発表した。松尾貴史氏（奈良先端大・物質創成）は、蛋白質に結合した金属イオンの性質と全体の構造柔軟性の相関関係について述べた。カルシウムイオン結合サイトの占有状態によって、蛋白質全体の構造柔軟性に違いがある



ことをさまざまな実験から示された。田原太平氏（理研）は、独自に開発された新手法を紹介し、これによって計測したタンパク質ダイナミクスについて議論した。伊藤優志氏（東北大院理）は、一分子計測によって明らかになった、がん抑制蛋白質 p53 の DNA 鎖上の移動機構について発表した。伊藤氏は本ワークショップの講演者では唯一の大学院生であったが、それを感じさせない、これまでの一連の研究をまとめた立派な発表であった。北尾彰朗氏（東大分生研）は、蛋白質のレイアウトを効率的にシミュレートする新手法を紹介し、この手法によって明らかになった蛋白質の離合集散メカニズムについて述べた。

### プログラム

- はじめに
- ガスセンサーダンパク質の機能発現機構 ○水谷 泰久 (阪大院理)
- 光応答性タンパク質の機能転換が明らかにする柔らかな構造機能相関 ○神取 秀樹 (名工大院工)
- タンパク質内部の遷移金属イオンの性質とタンパク質構造柔軟性：チオールサブチリシンをモデルタンパク質とした相関関係の実験的検討 ○松尾 貴史、菖蒲 勇、石田 昌也、河野 尊匡、廣田 俊 (奈良先端大・物質創成)
- 二次元蛍光寿命相關分光によるタンパク質のマイクロ秒ダイナミクスの研究 ○田原 太平 (理研)
- 多分子及び一分子蛍光分光法によるがん抑制タンパク質 p53 の超高セグメント間移動の解明 ○伊藤 優志<sup>1,2</sup>、村田 崇人<sup>1,2</sup>、高橋 聰<sup>1</sup>、鎌形 清人<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東北大・多元研、<sup>2</sup>東北大院理)
- PaCS-MD でみる蛋白質の柔らかさ・離合集散と機能 ○北尾 彰朗 (東大・分生研)
- 終わりに

ワークショップには大勢の参加者があり、蛋白質の柔らかさと機能について活発な討論が行われた。



## 国際共同研究・招聘報告：Dillip K. Chand 教授

吉沢道人（東工大化生研・A03 分担研究者）  
矢崎晃平（山梨大工・特任助教）

本新学術領域の国際共同研究・外国人研究者招聘支援制度を活用して、2017 年 6 月 19 日から 7 月 2 日まで、インド工科大学 (IIT) マドラス校 化学科の Dillip K. Chand 教授を招聘しましたので、国際共同研究の成果とともに報告致します。

今回の招聘では、Dillip K. Chand 教授は東工大の吉沢グループを拠点として、NIMS(ホスト: 中西尚志 博士)、東大(藤田 誠 教授)、山梨大(矢崎)を訪問し、共同研究に関する研究討論を行うとともに、最近の研究成果を含む講演会「Cavity in a Cage or Cavities in a Cage?」を開催した(図 1)。また、本領域の研究者との研究交流を深めるため、札幌での国際シンポジウム(6 月 26-28 日)にも参加し、ポスター発表「Making of the Double-decker Coordination Cages」をしました。東工大では、Chand 教授と若手スタッフとの個別の研究討論に加え、博士および修士課程の学生(合計約 15 人)との個別ディスカッションも行い、様々な研究交流の場も用意した。また、国際シンポジウムでは、吉沢の急な病欠により、Chand 教授一人での札幌出張に加えて、最新の共同研究成果を代わりに口頭発表して頂きました。



図 1. 東工大での講演会後(前列右から 2 番目が Chand 教授)

私達の研究グループでは、2015 年に本領域の若手研究者の海外派遣支援を受けて、メンバーの矢崎が Chand 教授の研究室に短期留学した。その際、両グループから共同研究テーマを 1 つずつ提案し、矢崎および Prusty 君が実験を開始した。研究の途中経過はメールで互いに確認し、必要な構造解析は分担して行うことで、2 つの研究テーマは順調に進行した。ほぼ同時

期に 2 つ論文を投稿することが出来た。吉沢グループが中心で進めた共同研究では、配位結合を駆動力として、2 つの孤立ナノ空間を持つ分子ダブルカプセルの構築と、それとフラーーゲンとのπ-スタッキング相互作用を駆動力としたピーナッツ型ナノ構造体の構築に成功した(図 2)。これらの研究成果「Polyaromatic Molecular Peanuts」は、6 月 28 日付で *Nature Commun.* 誌に web 掲載された<sup>[1]</sup>。

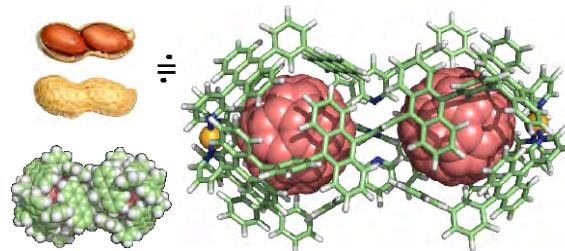


図 2. ピーナッツ型ナノ構造体の構築(共同研究成果 1)

また、Chand グループ中心の共同研究では、配位結合を利用した多成分自己集合により、複雑なスター型ナノ構造体の一義構築を達成した(図 3)。この研究成果「A Truncated Molecular Star」は、招聘期間中の 6 月 22 日に *Chem. Eur. J.* 誌に論文受理された<sup>[2]</sup>。

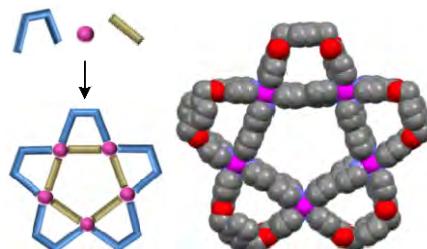


図 3. スター型ナノ構造体の構築(共同研究成果 2)

以上のように、本領域の若手研究者の海外派遣支援からスタートした Dillip K. Chand 教授との 2 つの国際共同研究は、今回の招聘でタイミング良く結実し、また、次の共同研究に向けて十分な研究討論が出来た。今回のご支援にこの場を借りて、御礼申し上げます。

参考文献 : [1] Kohei Yazaki, Munetaka Akita, Soumyakanta Prusty, Dillip K. Chand, Takashi Kikuchi, Hiroyasu Sato, and Michito Yoshizawa\*, *Nature Commun.*, **8**, 15914 (2017); [2] Soumyakanta Prusty, Kohei Yazaki, Michito Yoshizawa, and Dillip K. Chand\*, *Chem. Eur. J.*, **23**, in press (2017).



## 国際共同研究・招聘報告：Partha Pratim Parui 博士

廣田 俊（奈良先端大・A03 班 公募研究代表者）

本新学術領域の国際共同研究・外国人研究者招聘プログラムにより、インド・ジャダプール大学化学科の Partha Pratim Parui 博士を招聘した。Parui 博士は 2017 年 4 月 17 日から 7 月 15 日まで奈良先端科学技術大学院大学に滞在し共同研究を行い、札幌で開催された本領域の第 5 回公開シンポジウムにて “A simple interfacial pH detection method for cationic amphiphilic self-assemblies utilizing a Schiff-base molecule” のタイトルで共同研究成果の一部をポスター発表した。

Parui 博士は 2005 年にインド科学振興協会(Indian Association for the Cultivation of Science)で博士号を取得了。学位取得後、A.B.N.シールカレッジ助教を経て、2009 年にジャダプール大学の助教となった。Parui 博士は報告者と共同研究を行ってきた。Parui 博士は 2011 年 9 月から 2012 年 8 月までの 1 年間、報告者の研究室に博士研究員として滞在し、シトクロム c の多量体がタンパク質の巻き戻り過程でドメインスワッピングにより形成することを示し、形成したシトクロム c 2 量体の立体構造を明らかにした [1]。さらに、N 末端領域のシトクロム c 変異体と C 末端領域の変異体を用い、巻き戻り過程の初期段階でシトクロム c の N 末端領域と C 末端領域が分子間で相互作用することにより、シトクロム c がドメインスワッピングすることを明らかにした。Parui 博士は 2015 年 4 月から 7 月にも本学に 3 ヶ月間滞在し、Parui 博士が考案したシップ塩基化合物を用いて両親媒性分子膜表面の pH 測定についても研究した [2]。

今回の招聘では、これまでの共同研究を発展させるとともに、シトクロム c とリン脂質二重膜との相互作用によるタンパク質と脂質膜の構造変化を調べた。シトクロム c はミトコンドリア内膜に存在するカルジオリビンと相互作用している。また、シトクロム c がミトコンドリア内膜から遊離しサイトゾルへ放出されると、アポトーシスが引き起こされることが知られている。Parui 博士との共同研究により、シトクロム c がリン脂質二重膜に結合すると膜の安定性が低下することが明らかとなった。さらに、シップ塩基化合物を用いてモデル生体膜表面の pH を見積もり、溶液 pH と膜表面 pH が大きく異なることを示した。以上のように、今回の招聘により共同研究が進展し、現在、学術論文 2 報を執筆中である。

Parui 博士は滞在中、研究室の教員および学生と積極的に交流した。研究室セミナーにも参加し、Parui 博士の滞在は研究室学生の国際感覚の向上にも役立った。

最後に、Parui 博士招聘をご支援いただきましたことに深く感謝申し上げます。



写真 1 実験室にて



写真 2 集合写真

#### 引用文献

- [1] Parui, P. P.; Deshpande, M. S.; Nagao, S.; Kamikubo, H.; Komori, H.; Higuchi, Y.; Kataoka, M.; Hirota, S. *Biochemistry* **52**, 8732-8744 (2013).
- [2] Sarkar, Y.; Das, S.; Ray, A.; Jewrajka, S. K.; Hirota, S.; Parui, P. P. *Analyst* **141**, 2030-2039 (2016).



## A03 班・神取グループ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、片山連携研究者）の「青色センサータンパク質の構造解析」に関する研究成果が、2017 年 7 月 8 日の中日新聞（下）、毎日新聞、中部経済新聞、7 月 10 日の愛媛新聞、7 月 13 日の日経産業新聞、7 月 16 日の中国新聞、7 月 24 日の日刊工業新聞の紙面で紹介されました。

さらに共同通信の原稿をもとに以下の新聞社の web ニュースで紹介されました。

北海道新聞、河北新報、東奥日報、デーリー東北、秋田魁新報、山形新聞、福島民報、日本経済新聞、上毛新聞、千葉日報、神奈川新聞、信濃毎日新聞、新潟日報、静岡新聞、岐阜新聞、福井新聞、京都新聞、神戸新聞、山陽新聞、中国新聞、日本海新聞、山陰中央新報、四国新聞、徳島新聞、高知新聞、西日本新聞、大分合同新聞、宮崎日日新聞、長崎新聞、佐賀新聞、沖縄タイムス、琉球新報、共同通信

これらに加えて、名工大ホームページの内容をもとに 7 月 13 日のマイナビニュースでも紹介されています。

ヒトを含む霊長類の目にあり、色を識別する機能がある「センサータンパク質」のうち、青色に反応するタンパク質の構造を、名古屋工業大学学院工業研究科の神取秀樹教授（生物物理学）らの研究チームが解明した。赤色、緑色のタンパク質の構造は既に分かっており、三原色に対応するタンパク質がすべて判明し、目が色を識別する仕組みの一端が解き明かされた。研究成果は七日付の英科学誌に掲載された。今後、色覚障害などの治療や医薬品開発につながることが期待される。センサータンパク質は、目

## 青識別の謎解明

### 目のタンパク質解析

名工大チーム  
研究チームは二〇〇九年に赤、緑色のタンパク質の構造解析に成功。青色のタンパク質は生成が難しくて壊れやすく、解析ができなかつた。チームは、南米などに生息する小型のサル「マーモセツ」の遺伝子を使い、青色センサータンパク質を大量に生成することに成功。赤外線を照射する手法で構造を割り出した。



## 飯野グループの石渡大貴君が平成 28 年度日本化学会東海支部長賞を受賞

飯野亮太（分子研・岡崎統合バイオ・A02 公募班代表者）

A02 公募班、飯野グループ（分子研・岡崎統合バイオ）の石渡大貴君が平成 28 年度日本化学会東海支部長賞を受賞しましたので報告いたします。日本化学会東海支部では、支部活性化と化学奨励を目的として化学系の大学、大学院及び工業高等専門学校の卒業生・修了生を対象に、人物及び学業成績が優秀なものに対し支部長賞を授与しています。

授与式に賞状が間に合わないというハプニングがあり、分子研所長の川合眞紀先生からの「エアー」での授与となったのは少し残念でしたが、本人共々、非常に嬉しく思っております。また彼が受賞できたのは、本領域のご支援を頂き研究に邁進できたおかげと考えております。心より感謝いたします。以下は石渡君からの、受賞に際しての言葉です。

「平成 28 年度の総合研究大学院大学修士同等論文審査発表会にて “1 分子計測を用いたバクテリア由来セルラーゼとカビ由来セルラーゼにおけるドメインの役割解明” というタイトルで発表させていただきました。その結果、平成 28 年度日本化学会東海支部長賞として推薦して頂き、本賞を頂くことになりました。

今回の発表会では、結晶性セルロース上を一方向に進みながら連続的に加水分解するセルラーゼの 1 分子計測を行い、結合、並進運動、解離といった反応素過程を定量的に解析した結果について発表させていただきました。セルロースは新しいバイオマス資源として知られていますが、物理的・化学的に安定であるため産業化には多くの課題が残されています。そこで注目されているのが、温和な条件化でセルロースを加水分解するセルラーゼです。しかし、加水分解速度は産業化には不十分であり、セルラーゼの加水分解機構の解明が求められています。今回の研究では反応素過程の解析だけでなく、異なる 2 つのセルラーゼのドメインを入れ替えたハイブリッドセルラーゼの作製も行ないました。いくつかのハイブリッドセルラーゼが加水分解活性を持つことは確認できましたが、残念ながら目標としていた野性型を越える活性は達成できませんでした。野性型を大きく越える活性を有するセルラーゼが作製され、産業利用されることを願っております。

今回このような賞をいただくことができたのは、日

頃から支えてくださった飯野グループの皆様のおかげです。大変感謝しております。最後に、研究に対する議論、アドバイスを何度もしてくださった飯野亮太教授、中村彰彦助教には本当にお世話になりました。心より御礼を申し上げます。」





## A02 川村グループの尾澤夢実さんが 第 3 回 D アミノ酸研究国際会議 IDAR2017 において Best Young Researcher Award を受賞しました

川村 出 (横国大・A02 公募班 研究代表者)  
佐藤 久子 (愛媛大・A02 公募班 研究代表者)

A02 柔らかな分子系計測 公募研究 川村グループ (横浜国立大学)の横浜国立大学 大学院工学府の尾澤夢実さん(修士 1 年)が、平成 29 年 7 月 10 日(月)から 13 日(木)の期間に、イタリア ヴァレーゼのインスピリア大学で開催された第 3 回 D アミノ酸研究国際会議 The 3rd International Conference of D-Amino Acid Research (IDAR2017)において、Best Young Researcher Award を受賞されました。

D アミノ酸の基礎から応用にわたる研究は飛躍的に発展している。例えば、脳の記憶を司る高次機能には D 体のセリンの動態が深く関わっている。また、水晶体のクリスタリンタンパク質中の特定のアスパラギン酸が異性化することにより、白内障などの病気に関与するなど、D 体アミノ酸が決定的な働きを示す報告は近年増加し、そのメカニズムの解明とともに、D アミノ酸の迅速かつ微量検出を可能とする技術の発展は極めて重要な課題となっている。その中で 最先端の D アミノ酸分析技術の開発や D アミノ酸に関する秀でた研究成果を蓄積し続け、日本が牽引している分野である。

今回の会議では、日本、欧州、米国などから 150 人ほどの参加者が集い、Weizmann Institute の Meir Lahav 先生による IUBMB メダル記念講演から始まり、Astrobiology, Chemical and physical analytical methods, Neurobiology など 10 のセッションで会議は素晴らしい雰囲気で進み、それに関連する多くのポスター発表が行われた。受賞のニュースレター記事の中で恐縮だが、川村も D アミノ酸残基が含まれる両生類由来の抗菌ペチド ボンビニン H4 の構造解析について口頭発表の機会をいただいた。

尾澤さんの発表内容は、同じく A02 班の愛媛大学の佐藤先生と開始した共同研究の一つであるフェニルアラニンを基盤とした自己組織化ペプチドファイバーの固体 NMR および固体 VCD による構造解析である。特に、D 体のフェニルアラニンを導入し、ビルディング

ブロックとしての分子構造がどのように変化するか固体 NMR と固体 VCD などの方法を駆使することで明らかにしました。特に、絶対配座を決定できる固体 VCD の測定結果は重要であり、5 月に愛媛大学の佐藤先生の研究室に滞在し、何度も測定をして手に入れたデータでした。

当会議では若手をエンカレッジする目的で、3 日間のべ 5 時間以上のポスター発表の機会があった。シニアの先生も積極的に若手の発表を聞き、密にディスカッションする場面や、時にはプレゼンテーションの方法をアドバイスするなど多くの若手研究者が励ました。その中で、D アミノ酸研究の分野において重要な研究内容と優れたポスター発表をおこなった 3 人の若手研究者に対して Best Young Researcher Award を授与している。多くの発表の中からこの賞に尾澤さんが選出されました。これを弾みにさらに共同研究を活性化させて研究を進めてくれるものと考えられます。今後の益々の活躍を期待します。



### 写真

第 3 回 D アミノ酸研究国際会議 IDAR2017 で Best Young Researcher Award を受賞した尾澤夢実さん(左)とプレゼンターのインスピリア大学の Silvia Sachhi 先生(右)。



## 新井グループの岡芳樹君が第 17 回日本蛋白質科学会年会で ポスター賞を受賞

新井 宗仁（東大総合文化生命環境・A03 班友）

A03 項目の班友 新井グループ（東大）研究協力者の岡芳樹君（博士課程 1 年）が、平成 29 年 6 月 20 日（火）から 22 日（木）まで仙台国際センターで開催された第 17 回日本蛋白質科学会年会においてポスター賞を受賞しました。

岡君は今回、「合理的設計による新規抗体精製用アフィニティーリガンドの開発」について発表しました。この研究の共同研究者は、澤田泰平、渡辺尚大、工藤恒、和田愛未、河合秀信、張マリ、林勇樹、新井宗仁（全て東大の新井グループのメンバー）でした。

現在、抗体医薬品も含めた抗体の精製には、プロテイン A を結合させたゲル担体によるアフィニティー・クロマトグラフィーが利用されています。細胞培養上清をこのカラムにアプライすると、抗体はゲル上のプロテイン A に結合するため、不純物を除去して抗体のみを抽出できます（このプロテイン A のような物質のことをアフィニティーリガンドと呼びます）。しかし、最終的に抗体をプロテイン A から解離させるためには、溶液を酸性条件にしなければなりません。このときに、抗体が酸変性して凝集体を形成するリスクがあります。もし抗体医薬品の中にこのような凝集体や変性蛋白質が混入すると、重篤な副作用を生じる懸念があります。したがって、安心安全な抗体医薬品を製造するためには、蛋白質が酸変性しないような中性側の pH で抗体を精製できるアフィニティーリガンドの開発が急務となっています。

そこで我々のグループではこれまで、より中性側の pH で抗体解離が可能な新規アフィニティーリガンド「FPA」を開発してきました。FPA (= c-Fos + Protein A) は、プロテイン A の B ドメイン (BdpA) の N 末端側にヒト由来 c-Fos 蛋白質のコイルドコイル領域を連結させた融合タンパク質です。c-Fos は中性 pH において天然変性構造をとりますが、pH が低下すると、ホモダイマーのコイルドコイルを形成します。これが BdpA の隣にあれば、c-Fos の構造変化が BdpA に伝わり、BdpA の抗体解離を誘導すると期待されます。そこで、BdpA を機能領域、c-Fos を制御領域とみなし、これらを連結することにより、BdpA の抗体結合能を c-Fos によって pH 制御する新規蛋白質 FPA を合理的に設計しました。これまでの研究から、中性 pH では FPA の

c-Fos 領域は天然変性状態にあり、BdpA 領域が抗体と結合しますが、pH が 5 以下になると c-Fos 領域が FPA 分子間でコイルドコイルを形成し、その際に生じる摂動によって抗体が解離することが実験的に示されました。のことから、より中性側 pH でコイルドコイルを形成できるようにアミノ酸置換を c-Fos に導入すれば、中性側 pH で抗体を精製可能な FPA 変異体の創製に繋がると期待されました。

pH 変性は一般に、分子内部に埋もれた His 残基がプロトン化する pH 以下 (pH 5.5 以下) で起きることが多いです。そこで岡君は、pH 7 で抗体を結合し、pH 5.5 以上で抗体を解離できる FPA 変異体の創製に粘り強く取り組みました。具体的には、立体構造のモデリングやヘリックス形成能予測などの理論的手法を用いて、FPA の分子間コイルドコイル構造を安定化しうるアミノ酸置換と、分子内ヘリックス構造を安定化しうるアミノ酸置換を同時に導入した FPA 変異体を合理的に設計し、実際に作製して実験を行いました。その結果、pH 5.47 で抗体を解離できる FPA 変異体カラムの創製に成功しました。今後、この FPA 変異体を用いることにより、酸変性のリスクを回避した抗体精製が可能になると期待されます。

最近の日本蛋白質科学会では、抗体の医療利用等に興味を持つ研究者が増えてきたためか、岡君のポスターの周辺には非常に多くの人ばかりが出来てきました。今後も、FPA 変異体の更なる高性能化を目指した研究を進めていく予定です。



図. ポスター賞を受賞した岡芳樹君