

Newsletter No.5  
May 2021

2019–2023 年度 文部科学省科学研究費助成事業  
Non-equilibrium-state molecular movies and their applications  
高速分子動画法によるタンパク質非平衡状態構造解析と  
分子制御への応用

目次	
領域代表より . . . . .	2
「高速分子動画」技術解説	3
イベント情報 . . . . .	8
ハイライト研究紹介 . . . . .	9
これまでの領域活動 . . . . .	11
総括班よりお知らせ . . . . .	12

## 領域代表より

4月2日に新学術領域「高速分子動画」Web セミナー「構造生物学・化学・計算科学を融合させたウイルス・パンデミックに対する取り組み」が行われました。領域内および関連の7人の先生を講師に招き4時間にわたって、コロナおよび他ウイルスに関係した構造生物学・ケミカルバイオロジー・プロテインエンジニアリング・計算科学のお話を伺いました。新学術領域で行った小規模なセミナーにもかかわらず、合計で243人の聴衆を集め大盛況のうちに終わることができました。これは現在のコロナに対する関心の高さをしめしていると共に、学会等でなく我々のような小規模な集団でも多くの人に有益な情報をもたらす活動を機動的に行うことができることを確信させる意義のあるイベントだったと思います。

新学術領域の肝はネットワーキングにあると思います。そういう意味で次の大事なイベントは5月18日に行う領域会議です。残念ながらオンラインの開催となりますが、前日17日の午後にポスターセッションの代わりとなるショートトークセッションを設けることにしました。ショートトークはグループごとに1演題となりますが、是非とも最新の成果を共有していただければと思います。対面で実施した去年秋の淡路島領域会議は非常に有意義で、私自身も共同研究を新たに開始し既に成果が出ているものもあります。コロナの3密による感染は避けたいのですが、研究者同士の密なコミュニケーションにより新しい共同研究のネットワークを爆発的に構築できたらと思います。新しい生活様式の中で新しい方法でネットワークを築いていきましょう。



領域代表 岩田想（京都大学医学研究科）

ホームページを2019年9月より立ち上げ、事務局で更新中。記事や情報を募集中！

【 HP 】 <http://www.molmovies.med.kyoto-u.ac.jp>

Facebook を2019年9月より開始。だれでも更新OKなので、希望者は事務局（mol\_movie@mfour.med.kyoto-u.ac.jp）にご連絡ください。

【 Facebook 】 <https://www.facebook.com/MolMovies/>

# 「高速分子動画」技術解説！

## ケージド化合物の光化学の基礎

古田 寿昭 (東邦大学・A01)



ケージド化合物は、鍵のかかったケージ (cage) の中に機能を閉じ込めた分子の総称です。ケージの鍵は光で開くので、光照射によってスイッチ・オンになる分子といえます。光応答性分子の化学は、1960年代から有機合成に利用されてきました。分子機能の光制御を意識した研究は、1977年の Engels らによる細胞膜透過性 cAMP 誘導体 (NB-cAMP) [1], および、1978年の Kaplan らによるケージド ATP (NPE-ATP) が始まりです [2] (図 1)。機能 (活性) をケージに閉じ込めた "Caged" という名前は、Kaplan が名付けたものです。

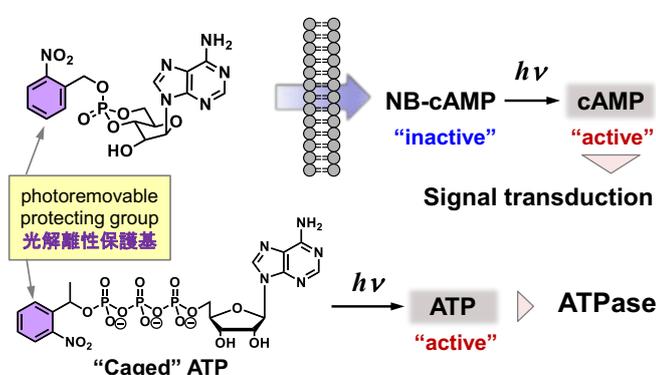


図 1 最初の報告はケージドヌクレオチド

### ケージド化合物に変換できる化学種

これまでに報告されたケージド化合物は、概ね次の3つの化学種に分けられます (図 2)。一つ目は修飾可能な官能基を持つ有機化合物です。代表的な官能基としてアミノ基 (-NHR), ヒドロキシ基 (-OH), カルボキシ基 (-COOH), リン酸基 (-O-P(O)OROH) が挙げられます。これらの官能基が分子の機能に欠かせないものであれば、これを光解離性保護基で修飾してケージド化合物に変換できます [3]。対象とする分子は、DNA, RNA, タンパク質のような高分子から、低分子量のシグナル分子、酵素の基質、阻害剤、活性化剤、受容体リガンドなど多岐にわたります [4]。合理的に分子設計できることは利点ですが、修飾できる官能基がないとケージド化合物を作れません。二つ目はガス状分子です [5]。例として一酸化窒素 (NO), 一酸化炭素 (CO), 二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>), 硫化水素 (H<sub>2</sub>S) が挙げられます。光解離性保護基を使わずに、分解して目的分子を生成する前駆体の中から、光応答性のものを探します。三つ目はカチオン種です。ケージドプロトン (H<sup>+</sup>) とケージドカルシウムイオン (Ca<sup>2+</sup>) は市販されています。ケ-

ジドプロトンを使って系の pH を下げることはできませんが、逆に pH を一気に上げるもの、ケージドプロトンスポンジのような分子は報告されていません。カルシウムイオン関連のケージド化合物はよく研究されていて、ケージドカルシウムとカルシウムキレーターのいずれも手に入るので、濃度上昇と下降のどちらも光制御可能です。

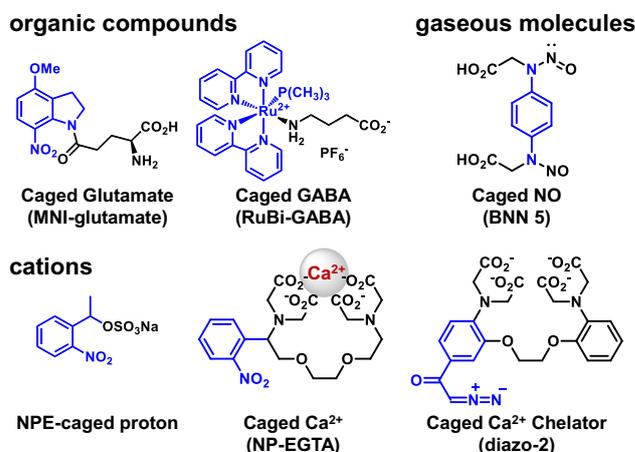


図 2 市販されているケージド化合物の例

### ケージド化合物の性質を規定するパラメーター

光解離性保護基の光物理学的、および化学的性質は、吸収極大波長 ( $\lambda_{max}$ ), 光反応速度定数 ( $k$ ), 光反応の量子収率 ( $\phi$ ), および、光反応効率 ( $\epsilon\phi$ ) の4つで評価できます。どの用途にも使える万能なケージド化合物は無く、それぞれに特徴があるので、目的に応じて選択することが肝要です。さらに、実際の使用に際して、暗所水溶液中での安定性も問題になります。一般に次の順に安定性が低下します。安定性の高いものから並べると、アルキルアミン>エーテル>カーバメート>カーボネート>エステル順になります。カルボン酸エステル型のケージド化合物の中には、pH 7 の緩衝溶液中の半減期が10分程度のものであるので、使用にあたり注意が必要です。

### 代表的な光解離性保護基

ここでは、多様な官能基を保護できて汎用性の高い光解離性保護基を4つ選んで、その光解離機構を中心に特徴をみることにします。

#### (1) 2-ニトロベンジル基 (2-NB)

これまでもっとも報告例が多く、市販品も殆どこれを

用いています。他の光解離性保護基とは異なり、光解離に水などの求核性溶媒を必要としないので、低極性媒質中で光反応性を示すことも利点の一つです。対応するアルキルアミン、あるいは、エーテルでも光解離することも他にはない特徴です。アミノ基とヒドロキシ基を持つ分子を水溶液中でも長時間安定なケージド化合物に変換するには、この保護基がファーストチョイスです。図3に光解離の反応機構を示しました。四角で囲った部分が光で生じた励起状態から起こる化学変化です。ここはナノ秒で起こり、これに続く熱反応による結合の組み換えを経て目的の分子 (HX) が放出されます。最後の律速段階の反応速度定数は最大でも  $10^4 \text{ s}^{-1}$  程度と報告されています。光解離に伴ってプロトン ( $\text{H}^+$ ) が放出されることからケージドプロトンにも利用されています。

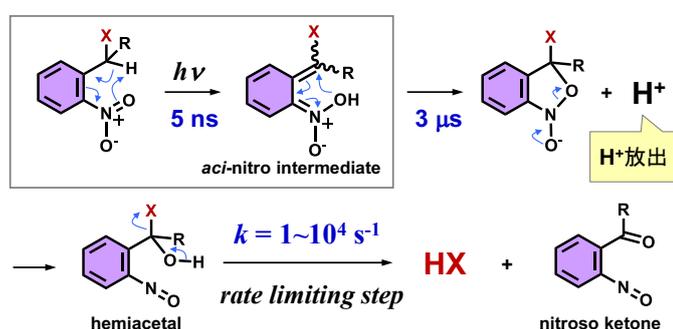


図3 2-NB ケージド化合物の光解離機構

(2) *p*-ヒドロキシフェナシル *p*-HP (特徴：反応速度) フェナシル基の光反応は他とは異なる特徴があります。三重項励起状態から C-X 結合のホモリシスによって  $\text{X}^\cdot$  がラジカル種として放出されます。電子移動とプロトン化を経て目的分子 HX が生成します。この過程の反応速度定数は  $10^8 \sim 10^9 \text{ s}^{-1}$  と報告されています (図4) [6]。光反応に伴う副生成物のクロモフォア構造が元のケージド化合物とは異なることもこの分子の特徴です。π共役系が切れて吸収の短波長シフトとモル吸光係数の低下を伴うので、高濃度使用時に問題になる副生成物のフィルタ効果回避できる可能性があります。

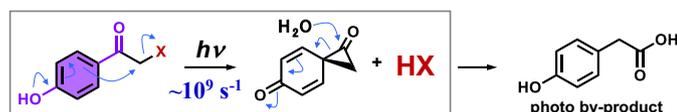


図4 *p*-HP ケージド化合物の光解離機構

(3) クマリニルメチル Bhc, DEACM (特徴：反応速度, 光反応効率)

クマリンは蛍光性分子として知られています。Givensらはクマリンの4位にメチレン ( $\text{CH}_2$ ) を介して脱離基

X を繋ぐと光分解することを報告しました[7]。その約10年後に我々のグループが、クマリニルメチル基を持つケージド cAMP は、光反応効率 ( $\epsilon\phi$ ) が高いことを見出しました[8]。この2つの報告を機に、その後分子修飾による改良が進み、500 nm 以上の可視光で励起できるものも報告されています[9]。光解離機構は、1重項または3重項励起状態から C-X 結合が解離して、目的の分子種 ( $\text{X}^\cdot$ ) が放出されます (図5)。この時の光反応速度定数は  $\sim 10^9 \text{ s}^{-1}$  であることも報告されています[10]。

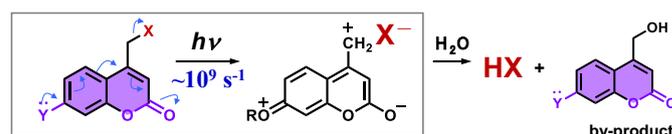


図5 クマリニルメチルケージド化合物の光解離機構

(4) BODIPY (特徴：波長チューニング, 光反応効率) クマリンケージの開発に触発されて (おそらく), 既存の蛍光性分子を利用する新しい光解離性保護基の探索が進んでいます。その中で近年もっとも成功を収めているのが BODIPY をクロモフォアにするケージド化合物です。蛍光性分子と脱離基 X をメチレンで繋ぐ分子設計はクマリンと同じです (図6)。吸収極大波長の異なる蛍光性 BODIPY 誘導体が報告されている利点を活かして、近赤外光に近い領域まで吸収極大波長が拡張されたケージド化合物が報告されています[11]。

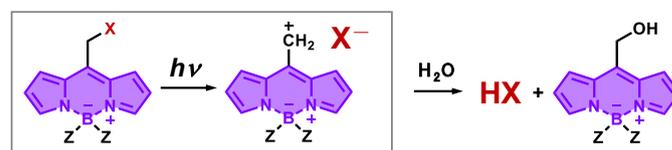


図6 BODIPY ケージド化合物の光解離反応

光物理学的および化学的パラメーターをまとめると表1のようになります。いずれもコアのクロモフォア構造に施された修飾に依存するので、報告されている最大値を表記しました。ご参考まで。

表1 代表的な光解離性保護基の光化学的性質

	2-NB	<i>p</i> -HP	coumarins	BODIPY
$\lambda_{max}$ (nm)	260-350	280-400	370-520	500-700
$\epsilon_{max}$ ( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )	6,000	14,000	20,000	100,000
$\phi$	0.8	0.7	0.8	0.3
$k$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$10^5$	$10^9$	$10^9$	-

## 量子収率と反応速度は官能基にも依存する

量子収率は、(反応した分子数)/(吸収した光子数)で定義されます。吸収した光をどの程度の効率で利用できたかを定量的に表したものです。光反応性がなければ0、数字が大きいほど効率が高く、特別な場合を除いて、吸収した全ての光子を利用できれば1になります。量子収率はC-X結合の構造に依存することが知られています。同じ光解離性保護基を用いても保護する官能基により量子収率は異なります。一般に、脱離基X<sup>-</sup>が弱塩基であるほど光解離には有利で、リン酸エステル>カルボン酸エステル>カーボネート≒カーバメートの順に量子収率が小さくなります。たとえば、リン酸エステル型のBhc-cAMPの量子収率は0.11であるのに対し[12]、カーバメート型のBhcmoc-dAは0.084に低下します[13]。

NOのようなケージドガス状分子の量子収率は1を超えるものが報告されています。これは、BNN-5のように、1分子の光分解で2分子のNOが放出されることによります(量子収率1.87)[14]。

## 量子収率を鵜呑みにするのは危険かも

論文記載の量子収率を参考にしないのですが、異なるラボで測定した絶対値の大小をそのまま比較するのは危険な場合もあるので注意が必要です。特にニトロベンジル系のケージド化合物の量子収率は、過大評価していると思われる報告が散見されるので、同一のセットアップで比較した相対値を信用するのがよいと考えています。

## 高速分子動画のトリガーとしてのケージド化合物の可能性

使用にあたっては、光反応の量子収率、反応効率、反応速度定数、さらに、暗所安定性を十分に吟味して選択する必要があります。量子収率が大きくても、モル吸光係数が小さければ系内のごく一部の分子しか反応しないことも考えられます。解決策として、光強度を上げるか、高濃度のケージド化合物の使用が挙げられますが、いずれも限界があります。できるだけ光反応効率が高いものを選択するのがよいと考えられます。反応速度の速いトリガーを選んでも、一部の分子しか反応しない条件では、反応が同期しないためにトリガーの速さを十分に活かすことができません。

光トリガーにケージド化合物を用いる利点の一つは、多様性と汎用性にあると考えます。光制御する系に応じてテーラーメイドでトリガーの作成が可能です。励起波長も紫外から近赤外光に近い可視光まで選択できます。

欠点もあります。まず、有機合成に多大な時間と労力がかかります。必要な機能性部位をモジュール化して、合成の労力を軽減する試みを進めています[15]。さらに、例えば文字通りカゴ状のコンテナ分子を開発して、多様な積荷を自由に選んで積み込めるような工夫も必要と考えています。ただそうすると、分子サイズの巨大化は避けられないので、用途が限定される可能性はあります。また、共有結合の開裂に起因すると思われませんが、報告されている最大の光反応速度定数は $10^9 \text{ s}^{-1}$ にとどまります。用途に応じてアゾベンゼンなどの光スイッチと相補的に用いるのがよいと考えられます。我々有機化学者に求められるのは、両者のレパートリーを拡げることで、選択肢を増やすことなのだと思います。

## 参考文献

1. Engels, J. et al. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 907-11.
2. Kaplan, J. H. et al. *Biochemistry* **1978**, *17*, 1929-35.
3. Klan, P. et al. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 119-191.
4. Ankenbruck, N. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 2768-2798.
5. Nakagawa, H. *Yakugaku Zasshi*, **2016**, *136*, 29-35.
6. Givens, R. S. et al. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 472-488.
7. Givens, R. S. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6860-6861.
8. Furuta, T. et al. *Chem. Lett.* **1993**, 1179-82.
9. Lin, Q. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 3722-3726.
10. Schmidt, R. et al. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5768-74.
11. Peterson, J. A. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 7343-7346.
12. Furuta, T. et al. *ChemBioChem* **2004**, *5*, 1119-28.
13. Furuta, T. et al. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4717-4720.
14. Namiki, S. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3840-3841.
15. Suzuki, A. Z. et al. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 451-454.

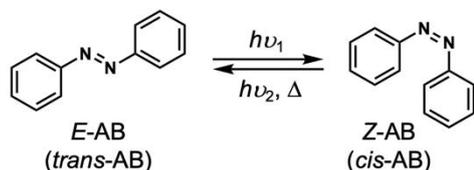
# 「高速分子動画」技術解説！ ケミカルバイオロジー研究の分子ツールとしての光スイッチング分子 アゾベンゼン

堂浦 智裕 (名古屋大学・A01)

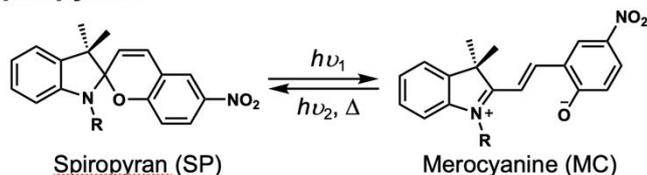


レチナールのように光異性化に伴う分子の構造変化によりタンパク質のような生体分子の機能を任意に制御することができれば、研究対象とする生体分子の機能解明をサポートする技術になると考えられます。レチナールのような光異性化により構造変化する分子は「光スイッチング分子」とも呼ばれ、アゾベンゼンやスピロピラン、ジアリールエテンなどが代表的な光スイッチング分子として知られています (図1)。

## Azobenzenes (ABs)



## Spiroyrans



## Diarylethenes

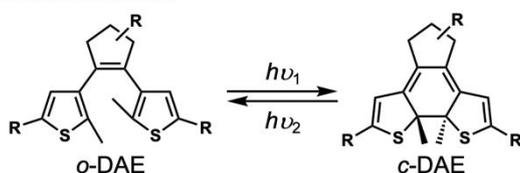


図1 代表的な光スイッチング分子

アゾベンゼンは単純な構造ですが、光異性化により大きな幾何学的変化を生み出せるため、現状では最も広く用いられている光スイッチング分子です。アゾベンゼンにはトランス体 (*E*体) とシス体 (*Z*体) が存在しますが、*E*体の方が熱力学的に安定であるため、光を照射しない暗室条件下では *E*体のみとなります。アゾベンゼンは2つの主要な電子遷移を示します。1つは $\pi\text{-}\pi^*$ 遷移であり、 $S_0\text{-}S_2$ 遷移に相当し、310-360 nmの紫外光領域にあり、*E*体から*Z*体への光異性化に利用されます。もう1つは $n\text{-}\pi^*$ 遷移であり、 $S_0\text{-}S_1$ 遷移に相当し、400-480 nmの可視光領域にあり、*Z*体から*E*体への光異性化に利用されます。吸収帯の強度は異なるものの、*E*体と*Z*体は共にこれら2つの遷移吸収帯を持つため、吸収帯中の特定波長を持続的に照射すると *E*体と*Z*体の双方向の異性化が平衡に達します。このよう

な状態を光定常状態あるいは光平衡状態

(photostationary state, PSS) と呼び、照射する光の波長に依存した *E*体と *Z*体の混合物を与えます。例えば、アゾベンゼンに 313 nm の光を照射した場合の PSS では *E*体が 20%、*Z*体が 80%の混合物になりますが、436 nm の光を照射した場合には *E*体が 90%、*Z*体が 10%の混合物になります (図2) [1,2]。また、アゾベンゼンの光異性化は 1 ps 程度で進行します[2]。アゾベンゼンの光異性化における量子収率は $\pi\text{-}\pi^*$ 遷移を用いた *E-Z*光異性化において 0.1-0.3、 $n\text{-}\pi^*$ 遷移を用いた *Z-E*光異性化において 0.3-0.6 であり、 $n\text{-}\pi^*$ 遷移 ( $S_0\text{-}S_1$  遷移) の方が $\pi\text{-}\pi^*$ 遷移よりも高い量子収率を示します[2]。

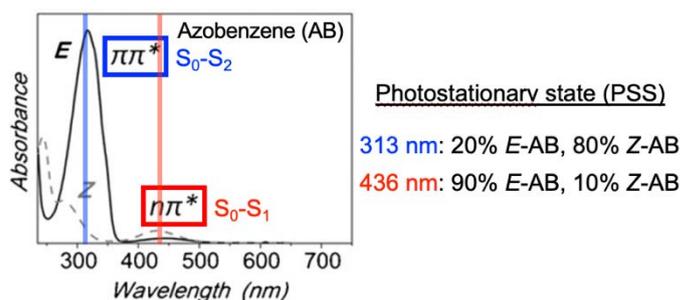


図2 アゾベンゼンの遷移吸収帯と光定常状態

アゾベンゼンの光異性化機構については、回転 (rotation)、反転 (inversion)、協奏的な反転 (concerted inversion)、反転補助回転 (inversion-assisted rotation) などの機構が提唱されていますが、完全な解明には至っていません[2]。アゾベンゼンの光異性化が  $S_1$  状態で進行する点についてはほぼ一致していますが、その後の異性化過程についての統一した見解がなく、解明にはこれまでの研究手法 (計算化学、超高速時間分解分光法) とは異なるアプローチが必要かもしれません。

アゾベンゼンへの置換基の導入はアゾベンゼンの光異性化に大きな影響を及ぼします。アルキル基やアミド基などを導入したアゾベンゼンの場合、置換基を持たないアゾベンゼンと同様に $\pi\text{-}\pi^*$ 遷移と  $n\text{-}\pi^*$ 遷移の吸収帯は分離されていますが、電子供与性のアミノ基を持つアミノアゾベンゼンでは $\pi\text{-}\pi^*$ 遷移吸収帯が長波長シフトし、 $n\text{-}\pi^*$ 遷移吸収帯と重なるため、PSS における *Z*体の存在比が低下します。また、電子供与性基と電子求引性基を持つ push-pull 型のアゾベンゼンでもアミノアゾベンゼン

ンと同様に $\pi$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯が長波長シフトし、 $n$ - $\pi^*$ 遷移とほとんど重なるために PSS における Z 体の存在比は低くなります[2]。

また、アゾベンゼンの Z 体は E 体へ熱異性化することが知られており、置換基を持たないアゾベンゼンの場合、その活性化障壁は約 95 kJmol<sup>-1</sup> であり、Z 体の半減期は約 2 日です。アゾベンゼンへの置換基の導入は熱異性化にも影響を及ぼします。一般的に置換基の導入は熱異性化の活性化障壁を低下させ、熱異性化を速くする傾向があります。アミノアゾベンゼンの場合、電子供与性基が反結合性の $\pi^*$ 軌道の電子密度を高めて熱異性化の活性化障壁を低下させるため熱異性化はかなり速くなります。Push-pull 型のアゾベンゼンの熱異性化も非常に速いことが知られており、Z 体の熱異性化はミリ秒から秒単位で進行します[2]。

アゾベンゼンを光スイッチとするリガンドを設計する際には、可能な限り原型となるリガンドの構造にアゾベンゼンを組み込むようにして原型となるリガンドの性質をできるだけ維持するようにします。例えば、微小管重合の光スイッチング阻害剤である photostatin (PST) は微小管重合阻害剤として知られる combretastatin A4 (CA4) を原型として設計されました。CA4 のスチルベン構造が微小管重合阻害能に重要であるため、スチルベンをアゾベンゼンに変換することによって E 体と Z 体の割合を可逆的に任意のタイミングで制御することが可能となり、光による微小管ダイナミクスの制御が可能となりました (図 3) [3]。

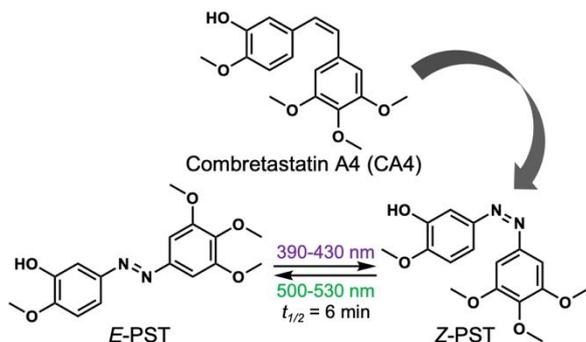


図 3 光スイッチ型微小管重合阻害剤の設計

上述のように、多くのアゾベンゼン誘導体において、 $\pi$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯は紫外光領域にあり、電子供与性基の導入により E 体の $\pi$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯を長波長化すると Z 体の  $n$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯と重なり光スイッチング能が低下します。しかしながら、可視光領域の E 体と Z 体とで重なっている  $n$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯を分離することができれば、光スイッチング能を低下させることなく可視光で E-Z 光異性化と Z-E 光異性化を制御可能になると考え

られます。この考えに基づき、アゾ基のオルト位をフッ素原子に置換した 4FAB では、アゾ基の 2 つの窒素原子の孤立電子対間の反発によって高くなっている  $n$  軌道のエネルギーを、フッ素原子の誘起効果により  $n$  電子の密度を減少させることによって低下させ、Z 体の  $n$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯を短波長シフトさせることにより  $n$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯を分離しています (図 4) [4,5]。また、一般的にアゾベンゼンへの置換基の導入は熱異性化を速くしますが、4FAB の場合はフッ素原子の誘起効果によって Z 体が安定化されるため、例外的に熱異性化が遅くしており、Z-4FAB の半減期は約 2 年であることがわかっています。

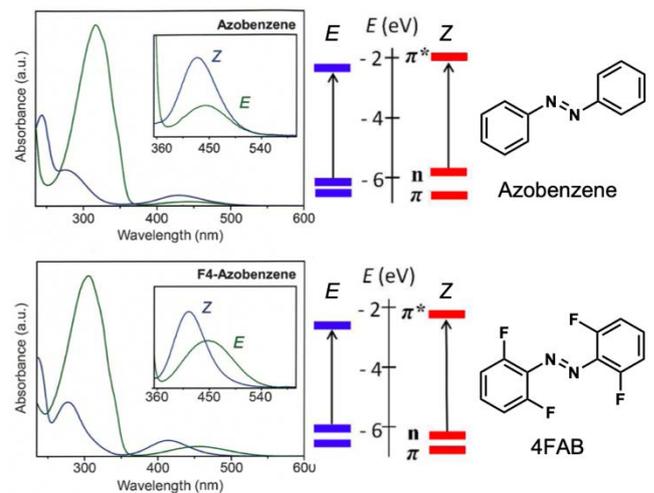


図 4 4FAB における  $n$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯の分離

これまでに紹介してきたアゾベンゼン誘導体は、全て E 体の方が Z 体よりも熱力学的に安定でしたが、それらとは対照的にアゾ基のオルト位がアルキルリンカーによって架橋されている架橋アゾベンゼンは Z 体の方が E 体よりも熱力学的に安定です。これは、中心部分の環状構造のために取り得る立体配座が厳しく制限され、その結果 E 体の方が Z 体よりも高いエネルギーを持つためです。最もよく知られている架橋アゾベンゼンは、アゾ基のオルト位がエチレンリンカーで架橋されているジアゾシンです (図 5)。ジアゾシンではエチレンリンカーのために E 体であってもアゾベンゼンのように平面状になることができず、ねじれた構造になっており、そのため 4FAB のように E 体と Z 体の  $n$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯が分離されており、可視光による双方向の異性化が可能になっています (図 5) [6]。また、475 nm より長波長域では E 体の  $n$ - $\pi^*$ 遷移吸収帯のみが存在するため、この波長域の光を照射すると Z 体のジアゾシンのみを生成することができます (図 5) [6]。ジアゾシンのヘキサソル溶液中での Z-E 光異性化の量子収率は 0.72、E-Z 光

異性化の量子収率は 0.50 であり、アゾベンゼンよりも高い量子収率を示します[6]。

多くの場合、*E*体の光スイッチングリガンドが生物活性を示します。ジアゾシンは *Z*体の方が安定であるため、光スイッチングリガンドが 100%不活性な状態を作り出すことができます。一例として、グルタミン酸にジアゾシンを連結した光スイッチングリガンド LAB-Glu の *Z*体はイオンチャネル型グルタミン酸受容体に結合しませんが、*E*体の LAB-Glu は受容体に結合して受容体を開口させるため、光照射により *E*体の LAB-Glu が生成した時のみ CA1 錐体細胞に興奮性シナプス後電流を発生させることが示されています[7]。

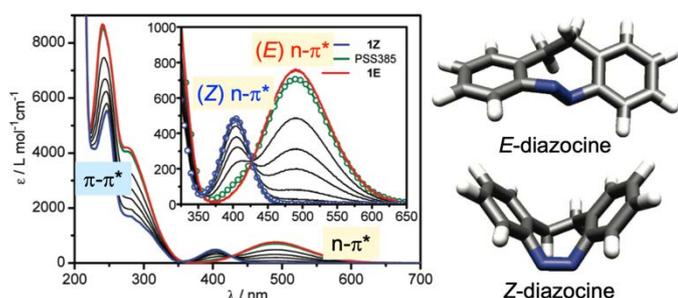


図 5 ジアゾシンの構造と遷移吸収帯

今回の記事ではアゾベンゼンの光異性化に関する基礎的な知見と、これらをケミカルバイオロジー研究の分子

ツールとして利用した研究例について紹介させていただきました。アゾベンゼンを組み込んだ光スイッチング分子を個々の研究の分子ツールとして設計・活用する際には、(a) 光異性化に用いる光の波長、(b) PSS における *E*体と *Z*体の存在比、(c) 熱異性化などを考慮する必要があります。様々なアゾベンゼン誘導体に関する光化学的な知見から、目的に応じた機能を持つアゾベンゼンの構造をある程度選択することが可能になっており、できるだけこれらの知見を活用して光スイッチングリガンドを設計することが重要だと考えられます。光スイッチングリガンドを活用した優れた研究により、今後さらに医学や生物学が発展することを期待しています。

1. Bleger, D., et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015. 54: p. 11338-11349.
2. Bandara, H. M.D., et al., *Chem. Soc. Rev.*, 2012. 41: p. 1809-1825.
3. Borowiak, M., et al., *Cell*, 2015. 162: p. 403-411.
4. Bleger, D., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2012. 134: p. 20597-20600.
5. Knie, C., et al., *Chem. Eur. J.*, 2014. 20: p. 16492-16501.
6. Siewertsen, R., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2009. 131: p. 15594-15595.
7. Thapaliya, E. R., et al., *ACS Chem. Neurosci.*, 2019. 10: p. 2481-2488.

## イベント情報

- |                       |                                    |
|-----------------------|------------------------------------|
| 2021年5月17日(月)～18日(火)  | 「高速分子動画」領域会議 (Online開催)            |
| 2021年5月18日(火)         | 第16回総括班会議 (Web)                    |
| 2021年6月4日(金)～5日(土)    | 第47回生体分子科学討論会・共催 (オンライン)           |
| 2021年6月14日(月)～16日(水)  | 第77回顕微鏡学会講演会・シンポジウム共催 (つくば)        |
| 2021年6月16日(水)～18日(金)  | 第21回日本蛋白質科学会年会・ワークショップ共催 (オンライン)   |
| 2021年9-10月            | 「高速分子動画」領域会議 (淡路・Onlineハイブリット開催予定) |
| 2021年11月3日(水)～5日(金)   | 第94回日本生化学会大会 (横浜)                  |
| 2021年11月25日(木)～27日(土) | 第59回日本生物物理学会年会 (仙台)                |

# ハイライト研究紹介ー膜タンパク質の構造生物学

## 岩田 想 (京都大学・A01 班)



現在、京都大学大学院医学研究科の研究室と理化学研究所放射光科学研究センターの研究室の二つを運営しています。京大では主に膜タンパク質の構造生物学の研究を、理研では自由電子レーザーを用いた時間分割X線構造解析の研究を行っています。両方の研究室の技術を組み合わせて膜タンパク質の動的構造解析とそれをベースにしたタンパク質制御法の開発の研究を行っています(図)。今回は京都大学の研究室で行っている研究を主に紹介したいと思います。

生体の恒常性維持や病態発生といった医学的にも重要なさまざまな生命現象の素過程は、微視的には生体分子の「かたち」や分子間相互作用を基盤として成り立っています。当研究室では、種々のヒト疾患の発症機構に関わりかつ多くの医薬品の作用点となっている膜タンパク質やその複合体を主な対象とし、X線結晶構造解析と低温電子顕微鏡単粒子解析の手法を用いて構造研究を進めています。解析した構造をもとに、計算機を用いた新規医薬品の合理的な分子設計・探索、分子構造の動きのシミュレーションなどの研究にも意欲的に取り組んでいます。また、多くの共同研究者と共にタンパク質の機能解析を行うことにより、物質構造科学の立場から細胞機能制御の原理を理解することを目指しています。

主要なターゲットとしては受容体や輸送体などの膜タンパク質を多く扱っており、例えば神経伝達物質の受容体などを多く研究しています。抗アレルギー薬のターゲットであるヒスタミンの受容体の構造を化合物との複合体として解析することにより、薬の違いによる効果や副作用の違いを合理的に説明する研究などを行っています。

また、単に構造解析を行うだけでなく、その技術開発にも重点を置いています。力を入れているのが膜タンパ

ク質の構造認識抗体の作成とその応用です。もともとは結晶化しにくい膜タンパク質の結晶性の向上を図るためにターゲットの膜タンパク質と安定な複合体を形成できる抗体のフラグメントを作成していたのですが、最近になって、受容体などの小さい膜タンパク質の低温電子顕微鏡単粒子解析にも抗体フラグメントが非常に有効であることがわかってきました。膜タンパク質は界面活性剤や脂質のミセルに包まれた状態で可溶化されてくるので、電子顕微鏡で観察した時に、膜貫通部分とそれを囲むミセルの間のコントラストが弱く、どちらの方向から分子を観ているのかわかりにくい傾向があります。受容体などの小さい膜タンパク質ではこの傾向が顕著です。これらの膜タンパク質の溶媒に露出している表面に抗体フラグメントを結合させて形に特徴をつけてやることにより、単粒子解析法で構造を決定することが容易になります。

また、構造認識抗体はターゲットの膜タンパク質の構造を固定する傾向があるため、しばしばその機能に影響を与える機能性抗体として作用する場合があります。例えば、当研究室でも受容体の不活性型や活性型を安定化するような抗体が得られていますが、これらは抗体医薬として臨床応用に用いることができる可能性があります。

これらの膜タンパク質に対して、理化学研究所において放射光施設SPring-8、自由電子レーザーSACLAそして低温電子顕微鏡を用いた構造解析を行っています。とくにSACLAを用いた構造解析は、結晶中で非常に高い時間分解能で構造変化や化学反応を追跡できるという他にはない特徴をもっています。われわれはこの手法で得られた動的情報をもとに、新たな機能をもったタンパク質を開発したり、タンパク質を制御できる化合物を共同研究を通じて開発したりすることを新学術領域の研究として行っています。

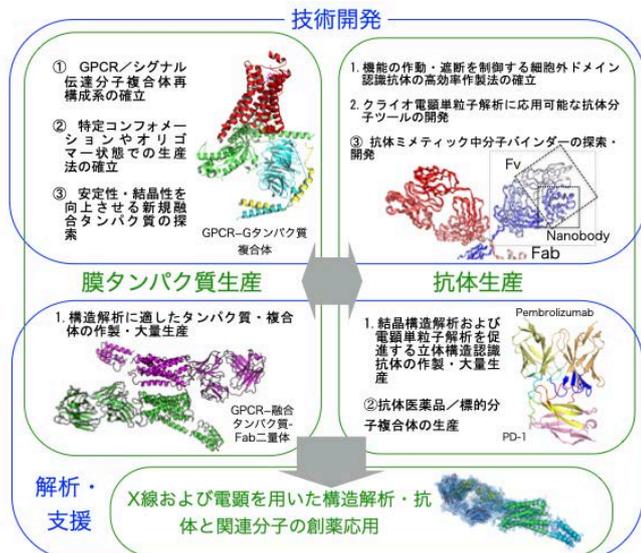


図. 研究内容のまとめ

## ハイライト研究紹介－原点に戻る

### 南後恵理子（東北大学・理研・B01 班）



2020年4月、私は東北大学多元物質科学研究所（多元研）に着任し、新たな研究室をスタートさせました。宮城県仙台市は私の生まれ故郷で、転勤族の父によりその後秋田、千葉、東京と各地を転々とするのですが、母方の実家や親戚も多く、まさか東北大にご縁があるとは驚くばかりでした。

ただ、新しい生活の始まりは波乱に満ちておりました。着任から一週間後に第一回目の緊急事態宣言が発令され、何もない研究室を眺めては、これからどうなるのだろうと不安に思ったことを思い出します。まあ来年には落ち着くのだろうと高を括っておりましたが、ご存じの通り、状況はむしろ悪くなり、これから第三回目の緊急事態宣言が発令されようとしています（4月22日現在）。今回は、研究室紹介とのことで新しく立ち上げた研究室のことを中心に少し昔を振り返って綴りたいと思います。

所属先である多元研は、有機・生命科学、無機材料、プロセスシステム工学、計測など7つの部門と2つのセンターからなる研究所で、約50名の教授が在籍しています。その中で女性教授は長らく一人しかおらず、私は二人目の女性教授となりました。今までは幸いなことに周囲に女性の先輩が多かったのですさほど意識してきませんでしたが、確かに日本では女性の管理職が少ないのです。私もできれば管理職になりたくないなあと思いつつも、数少ない周囲の女性リーダーの姿が大いに刺激になっていました。今度は自分が若い方の励みになれるように頑張っていきたいと思います。

さて、附置研究所にいるので研究が中心となりますが、大学院化学専攻と化学科が有する留学生コースであるAdvanced Molecular Chemistry (AMC)コースの兼担として教育にも関わっています。私は元々化学科の出身なので、化学科での教育に貢献できることを大変嬉しく思っています。AMCコースは10人程度の少数精鋭のコースで、主にアジアからの留学生が在籍しています。今年は、留学生2名と大学院生1名が研究室に所属しています。小規模ながらも研究室らしくなってきました。留学生の割合が多い状況を見ると、SACLAで海外の研究者グループと実験や共同研究を行ってきた経験が大変役立っていること実感します。

東北大のラボでは助教の藤原孝彰さん、所属の学生達と分子動画解析するための試料調製、その解析に現在取り組んでいます。ダメだと思っていた試料でも結晶を出したりと、若い人は思いもかけない結果を持ってきたりするものが刺激になっています。こちらのラボでは、動的構造をヒントに新たな分子デザインする方向に広がっていきたくと思っています。

一方、分子動画解析の技術開発は理研に常駐する岩田グループと引き続き仕事を行っています。岩田グループ

はSACLAのSFXの多くの実験をスムーズに実施できるように数か月前からの準備をして支えています。生物試料は一つずつ取り扱いが異なり、様々な試料で測定できるようにするのは容易ではありませんが、それが可能になりつつあるのは、日頃多くの試料を取り扱う岩田グループの技術と知見が装置や測定技術に反映されているからと自負しています。

岩田グループから独立して東北大でラボを持ったことは、SACLAが遠くなったという点では辛いところではあります。しかし、そうはいつでも多元研の中での関わりや、化学科の学生への教育に携わることは、大いに自身の研究を深化させるだろうと思うのです。最近、量子化学を授業で教えているのですが、分子の挙動を示す数々の式を見るたびに、ああ、これもまた高速分子動画の根幹となる学問だなとしみじみ思います。また、化学科の学生は分子動画の話に興味を持ってくれることが多いと感じるのですが、その所以は化学とは“分子”に着目した学問であるからなのでしょう。かつて、自分も化学科で、徹底的に分子の構造とそれに関する理論的解析や分析する方法を学びました。私自身は、天然有機化合物の複雑な構造に魅せられ、その生合成酵素がどうやって化合物を作るのかを深く知りたくて、結晶構造解析を学びながら問い続けた結果、その解が今の高速分子動画につながりました。これからも、高速分子動画を極める(!?)ため、二つのラボメンバーと共に歩み続けたいと思っています。今後ともご指導ご鞭撻のほどよろしくお願い致します。



東北大南後研のメンバー(実験室にて)



岩田グループのメンバー(理研にて)

## 2021年1月以降の領域活動

- 2021年4月27日(火) 第8回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:高田 彰二先生・京都大, 松井 敏高先生・東北大)  
高田 彰二先生:1分子計測と生体分子シミュレーションのデータ同化の試み  
松井 敏高先生:ケージド基質を利用したヘム分解酵素の機構解明
- 2021年4月8日(木) 第15回総括班会議(Web)
- 2021年4月2日(金) 新学術領域「高速分子動画」Webセミナー「構造生物学・化学・計算科学を融合させたウイルス・パンデミックに対する取り組み」  
開催報告や講演動画についてはこちらをご覧ください。  
<https://www.molmovies.med.kyoto-u.ac.jp/active/>
- 2021年3月31日(水) 第7回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:古田 寿昭先生・東邦大, 堂浦 智裕先生・名古屋大)  
古田 寿昭先生:ケージド化合物の光化学の基礎  
堂浦 智裕先生:光スイッチング分子アゾベンゼンのケミカルバイオロジーへの応用
- 2021年3月29日(月) 日本薬学会第141年会・一般シンポジウム(オンライン開催)
- 2021年3月16日(火) 第6回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:山下 恵太郎先生・MRC, 松尾 和哉先生・北海道大)  
山下 恵太郎先生:電子顕微鏡単粒子解析法における逆空間での構造精密化とマップ計算  
松尾 和哉先生:細胞分裂における光薬理学的アプローチ
- 2021年2月25日(木) 第14回総括班会議(Web)
- 2021年2月16日(火) 第5回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:篠田 恵子先生・東京大, 志甫谷 渉先生・東京大)  
篠田 恵子先生:膜タンパク質の分子動力学シミュレーション  
志甫谷 渉先生:非古典的ロドプシンの構造と機能
- 2021年1月26日(火) 第4回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:林 重彦先生・京都大, 島 扶美先生・神戸大)  
林 重彦先生:ハイブリッド自由エネルギー最適化法によるタンパク質機能活性化の理論的解明  
島 扶美先生:低分子量G蛋白質Rasの酵素触媒反応の可視化:新規抗がん剤開発のための創薬基盤情報の収集
- 2021年1月13日(水) 第13回総括班会議(Web)
- 2021年1月12日(火) 第3回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:櫻庭 俊先生・量研, 山元 淳平先生・大阪大)  
櫻庭 俊先生:分子シミュレーションを予測に使う  
山元 淳平先生:(6-4)光回復酵素によるDNA修復反応の分子動画撮影への試み

## 総括班よりお知らせ

### 学術調査官

- 田中 良和  
東北大学・大学院生命科学研究科・教授
- 東 雅大  
京都大学・大学院工学研究科・准教授

### 総括班評価者

- 上田 実 東北大学大学院生命科学研究科・教授
- 中川 敦史 大阪大学蛋白質研究所・教授
- 中村 春木 大阪大学蛋白質研究所・名誉教授
- 松田 道行 京都大学大学院医学研究科・教授

### 総括班の役割分担

	担当者	項目
班長	岩田	研究全体方針、企画調整、共同研究調整
庶務・会計	岩田/南後	会議開催、書類とりまとめ、会計
広報	岩田/宮下	HP 作成、ニュースレター企画、facebook 企画
ワークショップ	清中/永野	ワークショップ企画、学会共催企画（国内）
渉外	久保/朴	海外派遣企画、海外招聘企画、国際会議企画（国外）
アウトリーチ	山本/足立	SPring-8・KEK 併設企画、学会での展示企画