

October, 2015

業績紹介:高分子鎖の機械的結合による分岐-線状トポロジー変換

"Star/Linear Polymer Topology Transformation Facilitated by Mechanical Linking of Polymer Chains"

Daisuke Aoki, Satoshi Uchida, and Toshikazu Takata

Angew. Chem. Int. Ed., 54, 6770-6774, (2015), DOI: 10.1002/anie.201500578

高田十志和(東京工業大学・ 有機・高分子物質専攻・ A01 公募研究代表者)



高分子は同じ組成であっても、線状・分岐状・環状 などその一次構造(トポロジー)の違いにより異なる 構造や物性を示す。例えば、線状と分岐状の高分子の 場合、溶液状態では広がりや粘度が異なり、固体状態 では結晶性や絡まり合いが異なるために強度も異なる。 もし、特定の刺激に応じてトポロジーが変化する高分 子が生まれれば、トポロジーに依存した特性を示す新 しい刺激応答材料となる。しかし、1 つの分子で複数 の構造を相互変換できるものは存在しない。そこで筆 者らは、動的なコンポーネントを有するロタキサン構 造に注目し、ロタキサン構造を高分子鎖の連結点に有 する空間結合型分岐高分子をデザインした。ロタキサ ン構造をもつ高分子はポリロタキサンと呼ばれ、すで に多くの研究があるが、低分子のロタキサンのように 任意に構成成分の数や運動性が制御可能なポリロタキ サンはこれまでなかった。筆者らはクラウンエーテル/ アンモニウム塩型ロタキサンの合成法を高分子へと展 開することで、高分子鎖1本に1つの輪成分が導入さ れた高分子[2]ロタキサンの合成法を確立し(ACS Macro Lett., 2013, 2, 461-465)、さらにクラウンエーテ ル/アンモニウム塩、クラウンエーテル/ウレタン結合 という2つの引力的相互作用を利用することで構成成 分の位置を制御することにも成功している(Polvm. J., 2014,46,546-552)。本論文では、分岐状と線状の高分 子の相互変換とそれに基づくマクロな物性変換につい て述べている。すなわち、2 つの重合開始点を有する アンモニウム塩と1つの重合開始点を有するクラウン エーテルから成る貫通錯体(3-OH)を重合の開始剤と し、その3つの重合開始点からポリマー鎖を成長させ た後、成長末端(OH)を嵩高いイソシアネートで封鎖 することにより軸末端にウレタン結合を導入した (Star)。続いて、アンモニウム塩部位をアセチル化す ることでクラウンエーテルとの相互作用を切断した。 アセチル化により相互作用する場所を失った輪成分は、 次に相互作用しやすいウレタン末端上へ移動し、分岐

構造から線状構造へとトポロジー変換された(Linear)。 モデルポリマーとして合成した分岐状、線状の共有結 合型高分子とトポロジー変換前後の溶液物性がよく一 致したことも高分子鎖のトポロジー変換を裏づけた。 本研究は、ロタキサン構造の動的特性を高分子と結び つけることにより、ミクロな分子構造変換を、マクロ な物性変換に結びつけたもので、高分子のトポロジー 変換を利用した刺激応答材料の初めての例であるとと もに、動的な秩序制御による機能発現に関する重要な 知見を与えるものと期待される。





October, 2015

業績紹介:メガダルトンオーダーの超巨大蛋白質会合体のX線結晶構造解析

"Crystal Structure of the 3.8 MDa Respiratory Supermolecule Hemocyanin at 3.0 Å Resolution"

Zuoqi Gai, Asuka Matsuno, Koji Kato, Sanae Kato, Md Rafiqul Islam Khan, Takeshi Shimizu, Takeya Yoshioka, Yuki Kato, Hideki Kishimura, Gaku Kanno, Yoshikatsu Miyabe, Tohru Terada, Yoshikazu

Tanaka, and Min Yao

Structure, in press, (2015)

"Crystallization and Preliminary X-ray Crystallographic Study of a 3.8-MDa Respiratory Supermolecule Hemocyanin"

Asuka Matsuno, Zuoqi Gai, Miyuki Tanaka, Koji Kato, Sanae Kato, Tsuyoshi Katoh, Takeshi Shimizu, Takeya Yoshioka, Hideki Kishimura, Yoshikazu Tanaka, and Min Yao *J. Struct. Biol.,* **190**, 379-382, (2015), <u>DOI: 10.1016/j.jsb.2015.04.015</u>

田中良和

(北海道大学大学院先端生命科 学研究院・A01公募研究代表者)



イカの血液は青い。それは、軟体動

物はヘモシアニンという銅含有蛋白質を用いて酸素を 運搬するためである。ヘモシアニンは青いだけでなく、 巨大超分子会合体であるという大きな特徴がある。イ カ由来ヘモシアニンは、約 50kDa の機能ドメインが 8 個連結した約 400kDa のポリペプチドの10 量体であり、 その分子量は 3.8MDa に及ぶ。興味深いことに、ヘモシ アニンはその大きさを利用し、ハプテンのキャリア蛋 白質やワクチン投与の際の免疫活性化剤として用いら れている。このように医工学的に応用される一方で、 その分子レベルでの解析は驚くほど進んでいない。こ れは、その大きさと解離しやすい性質から、これまで のヘモシアニンの構造学的研究は電子顕微鏡による低 分解能の解析が中心であったためである。本研究では、 X線結晶構造解析により、3.8MDa のスルメイカ由来へ モシアニンの全体構造を 3.0Å の分解能で決定した。

我々はまず、北海道近海で得られるスルメイカ、ヤ リイカ、ミズダコのヘモシアニンを用いて結晶化スク リーニングを行った。その結果、スルメイカヘモシア ニンでのみ結晶を得る事ができた。糖鎖修飾を調べた ところ、スルメイカヘモシアニンでは全糖鎖の90%以 上が2種類の糖鎖だけで占められていたのに対し、他 のものでは、様々な糖鎖が混在していたことから、ス ルメイカでのみ結晶が得られたのは、糖鎖修飾の均一 性が高かったためと考えている。次に、我々は良質な 結晶の作製に向け、精製条件を検討した。驚いた事に、 生け捕りしたスルメイカから採取した血リンパを、精 製せずに用いる事で最も良い結晶を得る事ができた。 更に、個体により結晶の質が大きく異なる事が判明し、 2014 年 11 月に採取した 1 つの個体から良質な結晶を 得ることができた。

このような試行錯誤を経て、最終的に 28,470 残基、 80 の Cu₂O₂クラスター、50 個の糖鎖修飾により構成さ れる、10 量体のヘモシアニンの全体構造を決定した。 明らかになった構造からは、80 個の類似した機能ドメ インがメガダルトンオーダーの超巨大分子へと階層的 に会合する機構や、糖鎖修飾のサブユニット会合やア ロステリック効果への関与、分子進化の過程が明らか になった。



図1:スルメイカヘモシアニンの全体構造



October, 2015

業績紹介:固体 NMR と分子動力学計算による抗生物質アラメシチンの リン脂質二分子膜中での構造と配向の解明

"Structure and Orientation of Antibiotic Peptide Alamethicin in Phospholipid Bilayers as Revealed by Chemical Shift Oscillation Analysis of Solid State Nuclear Magnetic Resonance and Molecular Dynamics Simulation"

Takashi Nagao, Daisuke Mishima, Namsrai Javkhlantugs, Jun. Wang, Daisuke Ishioka, Kiyonobu Yokota, Kazushi, Norisada, Izuru Kawamura, Kazuyoshi Ueda, and Akira Naito *Biochim. Biophys. Acta-Biomembrane,* **1848**, 2789-2798,(2015),

DOI: 10.1016/j.bbamem.2015.07.019

内藤 晶 (横浜国立大学大学院工 学研究院・A01 公募研究 代表者)



アラメシチンは Trichoderma viride 由来の抗生物質で あり、20アミノ酸残基から形成されている。そのア ミノ酸配列は、

Ac-Aib-Pro-Aib-Ala-Aib-Ala-Gln-Aib-Val-Aib-Gly-Leu-A ib-Pro-Val-Aib-Aib-Gln-Gln-Phol であり、8つの Aib を 含んでいるのが特徴である。アラメシチンは電位駆動 型イオンチャネル活性を持っていることが知られてお り、アラメチシンの膜に対する配向や構造の精密解析 はイオンチャネル活性を理解するのに重要である。



図1:アラメチシンの各カルボニル基の化学シフト 異方性のプロット(化学シフト振動パターン)

本研究では固体 NMR を用いて各アミノ酸残基のカ ルボニル炭素の ¹³C NMR スペクトルの異方性を観測 し、化学シフト振動パターンをプロットした(図1)。 このとき、液晶状態の脂質二分子膜に結合したペプチ ドは脂質二分子膜法線の周りを回転している運動状態 であることを考慮した解析を行った。このプロットか ら、N-端はα-ヘリックスを形成しており、ヘリックス 軸は膜法線から 17°傾いており、C-端は 310-ヘリックス を形成して、そのヘリックス軸は膜法線から 32°傾い た構造と配向を持つことが判明した。この情報と4点 の C-N 原子間の距離制約条件を用いて、図2に示すア ラメチチンの動的な膜結合 NMR 構造を決定した。こ の結果、折れ曲がり角が 165°であることも判明した。

リン脂質二分子膜中でのアラメシチンの構造を分 子動力学計算によっても決定した。この結果、40 ns 計算後の MD 構造は図2に示すように固体 NMR 構造 と非常によい一致が見られた。



図 2 : リン脂質二分子膜に結合したアラメチシ NMR 構造(左側)と MD 構造(右側)



October, 2015

業績紹介:光応答性一酸化炭素放出タンパク質ケージによる 細胞機能制御

"A Photoactive Carbon-Monoxide-Releasing Protein Cage for Dose-Regulated Delivery in Living Cells" Kenta Fujita, Yuya Tanaka, Satoshi Abe, and Takafumi Ueno Angew. Chem. Int. Ed., (2015), DOI: 10.1002/anie.201506738

上野隆史

(東京工業大学 大学院生命理工 学研究科・A02公募研究代表者)



我々の体内には、呼吸系において利用されている酸 素以外にも、一酸化炭素(CO)や一酸化窒素(NO)、硫化 水素(H₂S)などの生体ガス分子が存在する。生体ガス分 子は、細胞内で金属タンパク質などに結合することに よって、シグナル伝達分子として機能し、細胞保護作 用を示す。これらガス分子の中でも特に CO ガスは、 反応性が低く、細胞内での挙動を追跡することが困難 であり、詳細なシグナル伝達機構が明らかにされてい なかったが、近年、CO 放出分子(CO releasing molecules; CORMs)と呼ばれる金属カルボニル錯体からの CO 放 出反応を利用して、細胞内へ CO を輸送する手法が開 発され、徐々に機能が解明されてきた。しかし、CORMs の細胞内での反応性を人工的にコントロールすること は困難であり、CO 放出のタイミングや量と細胞機能 との関連を見出すことは達成されていなかった。

そこで本研究では、光に応答して CO を放出するマ ンガンカルボニル錯体 (図 1a) の細胞内輸送に着目し、 CO の放出のタイミングや量をコントロールすること を目指した。我々のグループは以前の研究で、かご型 タンパク質集合体フェリチン(Ferritin, Fr) (図 1b) へ CORMs を内包することで、金属錯体の細胞への低い 取り込み効率や細胞内での低い安定性が改善されるこ とを見出しており、マンガンカルボニル錯体をフェリ チン内部に集積させた複合体(MnCO-Fr)による、細胞 内光応答性 CO 放出系の構築を行った。

pH 8 の緩衝溶液中で MnCO-Fr を合成し、タンパク 質単結晶 X 線結晶構造解析により、Fr 内部への Mn の 集積を確認した(図 1c)。また、赤外分光により CO リガンドの配位構造も同定した。CO 放出特性を評価 したところ、可視光の照射時にのみ複合体から CO が 放出され、照射時間に依存して放出量が変化すること を見出した(図 1d)。MnCO-Fr をヒト胎児腎臓細胞

(HEK293 細胞) へ導入し、CO 検出蛍光プローブを用いた細胞イメージングを行ったところ、細胞内環境においても可視光に応答して CO が放出されることが確認された。そこで、細胞内での機能を評価するために、

抗炎症作用を示す核転写因子 nuclear factor кB (NF-кB) の活性変化に着目した。NF-кB 活性化サイトカインで ある tumor necrosis factor α (TNF-α)の存在下、光照射に よって、CO 放出タイミングと量を変化させることで、 COのNF-κB活性化に対する影響を評価した。実験結 果として、NF-κBを効率的に活性化させるには、(1) CO による信号が伝達された後に、NF-кB の活性化因 子である TNF-αの刺激が加えられることと、(2) よ り多くの CO が放出されることが重要であると分かっ た。これらの効果は、マンガンカルボニル錯体のみで は見出されなかったことから、光刺激による CO 放出 とフェリチンによる輸送を組み合わせることではじめ て、細胞内シグナル伝達のスイッチとして機能するよ うな分子の開発に成功したといえる。今後は、TNF-α とNF-κB以外のシグナル伝達系に視点を変え、より詳 細に CO の作用機構を明らかにしていく。



図1: (a) マンガンカルボニル錯体の構造、(b) アポFr のX線結晶構造。(c) **MnCO-Fr**のX線結晶構造。(d) 光 照射時間に対するCO放出量の変化。



October, 2015

業績紹介: PDIの酸化還元状態に依存した基質認識メカニズムの構造基盤

"Structural Basis of Redox-dependent Substrate Binding of Protein Disulfide Isomerase"

Maho Yagi-Utsumi, Tadashi Satoh, and Koichi Kato Scientific Reports, 5:13909,(2015), DOI: 10.1038/srep13909

矢木真穂

(自然科学研究機構 岡崎統合 バイオサイエンスセンター・A03 計画研究分担者)



佐藤匡史 (名古屋市立大学・A03 計画研究 分担者)

加藤晃一

(自然科学研究機構 岡崎統合 バイオサイエンスセンター・A03 計画研究代表者)



マルチドメインタンパク質は、分子内の複数のドメ インが協調的に働くことにより、生物学的な機能を発 揮している。また、こうしたタンパク質では、ドメイ ン間の相対配置が変わるような大規模かつダイナミッ クなコンフォメーション変化がしばしば起こり得る。 したがって、マルチドメインタンパク質のダイナミッ クな立体構造変化のドライビングフォースやエナジェ ティクスの詳細、さらに、そうした構造変化と機能発 現との関連には興味が持たれる。そこで本研究では、 マルチドメインタンパク質である小胞体のフォール ディング補助酵素プロテインジスルフィドイソメラー ゼ (PDI) および天然変性タンパク質である αシヌク レイン (αSN) をモデル系として、X線結晶構造解析 および NMR 分光法を用いて、分子シャペロンの基質 認識メカニズムの構造基盤を解明することを試みた。

NMR 解析の結果、aSN はアミノ酸配列上でN 末端 領域に位置する疎水性残基クラスターを介して、PDI の基質結合部位に結合し得ることが明らかとなった。 ただし、この結合は PDI の活性部位の酸化還元状態に 依存しており、基質結合部位の疎水性パッチが溶媒に 露出した酸化条件下においてのみ相互作用が観察され た。さらに、X線結晶構造解析により、酸化型 PDIと aSN の複合体の構造を得ることに成功し、両者の相互 作用様式を原子レベルの分解能で解明した。これらの 結果から、PDI は活性部位の酸化還元状態に依存して ドメイン配置をダイナミックに変化させることにより、 基質結合部位の溶媒への露出を制御しており、開構造 をとる酸化型 PDI に捕捉された基質は、PDI が閉構造 をとるとともにリリースされるメカニズムを提唱する に至った(図1)。

今後は、さらに、PDI上の活性部位のミクロな環境 変化が、どのようにドメイン空間配置の変動というマ クロな変化を引き起こすのか?というミクロ変化とマ クロ変化の相関、およびその過程を解明することが重 要な課題であると考えている。



図1:基質の結合は PDI の活性部位の酸化還元状態に 依存しており、ドメイン間が開いた構造、すなわち、 疎水界面が溶媒に露出した酸化条件下においてのみ基 質と相互作用することが明らかとなった。実際、還元 型 PDI の構造上に基質を配置すると、b'ドメイン上の 基質は a'ドメインとぶつかることが X 線結晶構造解 析の結果から示された。



October, 2015

業績紹介:筒状の湾曲芳香族炭化水素分子の動的挙動を 分子設計によって制御することに成功

"Belt-Shaped Cyclonaphthylenes"

Zhe Sun, Parantap Sarkar, Takuya Suenaga, Sota Sato, and Hiroyuki Isobe Angew. Chem. Int. Ed., in press, (2015), DOI: 10.1002/anie.201506424

佐藤宗太 (東北大学 WPI-AIMR・A02

計画研究代表者)



本来、平面構造をもつ芳香族化合物を湾曲するよう に環状化させると、歪みによる特異なダイナミクスが 生じる。この動的構造と縮退した電子状態とが示す、 特徴ある分子認識能の発現に興味をもって研究を進め てきている。ベンゼンが環状に連結された化合物の合 成研究は多くなされてきているが、ナフタレンの環状 化は我々の研究グループが合成した1例を含めても2 例しか知られておらず、いずれもカーボンナノチュー ブのような筒状の湾曲構造をとらない。今回、ナフタ レンの 2,6-位(*amphi* 位)を共有結合で連結することで、 環状 8 量体の[8]cyclo-amphi-naphthylene ([8]CaNAP)の 合成に成功し、筒状構造をとることを明らかにできた。

スキーム1に示す方法で、u-[8]CaNAPを合成するこ とができた。鍵となるのは、歪みがない白金の四核錯 体4を経由し、一段階の還元的脱離反応によって湾曲 した最終生成物を得る点である。u-[8]CaNAPの結晶化 を検討したところ、およそ 0.14 × 0.02 × 0.01 mm³の単 結晶が得られた。-178 ℃ でクライオマウントした試 料に対して、放射光 X 線を用いた単結晶構造解析を行 うことで、その湾曲した構造を明らかにすることがで きた (図 1)。なお、 測定は KEK フォトンファクトリー の PF-AR NE3A ビームラインで行った。構造は一見す ると単純であるが、分子量が 1,000 を越え、分子直径 はおよそ 1.7 nm にも及び、筒状構造の内部に溶媒分子 がディスオーダーして配置されることから高分解能な データを得ることが難しく、さらに軽元素だけからな るために回折強度が弱いことも回折実験を難しくした。 解析の結果、図1に示すように、(13.11)と(14.10)のカ

イラルインデックスを有する 2 種類のジアステレオ マー構造が決定され、キラルかつヘリカルなカーボン ナノチューブの部分構造であることがわかった。

また、紙面の都合上、詳細は省略するが、隣接する ナフタレン同士をメチレン鎖(-CH₂CH₂-)リンカーで 接続した b-[8]CaNAP を設計して合成したところ、動 的な挙動がリンカーによって制御され、強固に筒状構 造を維持できることがわかった。







図 1:放射光 X 線構造解析によって決定された、 u-[8]CaNAP の構造。再結晶溶媒: (a) *i*-PrOH/CHCl₃; (b) hexane/CHCl₃。



October, 2015

業績紹介:たった4度の配位子の折れ曲がり角の違いで 36 成分錯体/72 成分錯体の構造の切り替えに成功

"Finely Resolved Threshold for the Sharp M₁₂L₂₄/M₂₄L₄₈ Structural Switch in Multi-Component M_nL_{2n} Polyhedral Assemblies: X-ray, MS, NMR, and Ultracentrifugation Analyses"

Hiroyuki Yokoyama, Yoshihiro Ueda, Daishi Fujita, Sota Sato, and Makoto Fujita <u>Chem. Asian J.</u>, **10**, 2292-2295, (2015), DOI: 10.1002/asia.201500519

佐藤宗太

(東北大学 WPI-AIMR・A02 計画研究代表者)



両端に金属イオンへの配位部位を持つ、折れ曲がった有機配位子(L: ligand)と、Pd(II)イオンとの秩序化を使った多成分からなる錯体分子の化学を研究してきている。これまでに、折れ曲がりの角度を徐々に大きくすることで、Pd_nL_{2n}組成(*n* = 6, 12, 24, 30, 60)の球状錯体分子が得られることを見いだしてきている。

今回、有機合成の手法によって、折れ曲がり角度を 精密に微調整できるように配位子を分子設計すること で、36 成分からなる Pd₁₂L₂₄ 錯体と 72 成分からなる Pd₂₄L₄₈ 錯体との構造が切り替わる現象を精査した。炭 素-炭素間結合、炭素-窒素間結合、窒素-窒素間結合の 結合長のわずかな差を考慮し、理論計算による予測を 行うことで、標的とする有機配位子を設計し合成した. 得られた配位子と Pd(II)イオンとの秩序化を検討した 結果、わずか4度の違いで、生成物の構造が切り替わ り、かつその収率はいずれも 100%であることを見い だした (スキーム 1)。

生成物の構造は、各種分析法により確認し、最終的 に単結晶X線構造解析によってその立体構造を明らか にできた(図1)。分子量・分子直径ともに非常に大き く、また中空の錯体内や錯体間に多数のディスオー ダーした溶媒分子が含まれるために、高分解能な回折 点を観測することが難しく、X線照射による試料損傷 も著しい結晶試料であった。そのため、回折実験は KEK フォトンファクトリーの PF-AR NE3A ビームラ イン、および SPring-8 の BL38B1 ビームラインで行っ た。特に、72 成分からなる Pd₂₄L₄₈ 錯体は、斜方立方 八面体(rhombicuboctahedron)型の錯体骨格全体が 4 箇所にディスオーダーし、重なり合いにより配位子や 金属イオンの占有率が変化するため、解析は困難を極 めたが、最終的に理にかなった精度で構造解析を完了 することができた。

なお、本研究では、A02 班の平岡秀一先生と共同で 超遠心解析を実施し、本成果に至ったことを付記する。



スキーム 1:36 成分錯体 3 と 72 成分錯体 4 の合成ルート。出発物質の折れ曲がり角度がたった 4 度違うだけで、生成物の構造が大きく切り替わった。



図1:放射光 X 線構造解析によって決定された錯体の 分子構造。



October, 2015

業績紹介:鞭毛の振動運動を担うモーター分子ダイニンの出す力は 外力に依存して方向が切り替わる

"Dynein Arms Are Strain-Dependent Direction-Switching Force Generators"

Chikako Shingyoji, Izumi Nakano, Yuichi Inoue, and Hideo Higuchi *Cytoskeleton,* in press, (2015), <u>DOI: 10.1002/cm.21232</u>

真行寺千佳子 (東京大学・大学院理学系研 究科・生物科学専攻・A03 公募研究代表者)



真核生物の鞭毛の特徴である振動運動を生み出して いるのは、鞭毛軸糸を構成する微小管(ダブレット) 上に並ぶダイニン分子の高度に組織化された運動制御 機構である。ダイニンは、ATPを加水分解して力を出 し微小管上を動くだけでなく、外部から与えられる力 学情報に反応する。したがって、ダイニン分子自体が、 鞭毛の振動運動の制御の基本を担う可能性がある。注 目される点は、ダイニンの力発生の方向が切り替わる か否かである。ダイニンは、通常、微小管のマイナス 端方向へと移動するように力を出すが、これを順方向 とした時に、逆方向へ動くような力発生をするのだろ うか。もしそうだとすると、それはどのような時に起 こるのだろうか。

本論文では、ウニ精子鞭毛のダイニンの出す力を2 つの手法で測定し、力の方向が切り替わること、切り 替えには、外部から一定方向の力が加えられることが 重要であることを見いだした。鞭毛から単離精製した ダイニンを用いた力測定では、図1Aのように、直径1 μm のビーズにつけたダイニンを微小管に作用させた 時の力を光りピンセットを用いてナノ計測した。この 結果、ダイニンは一方向に力を出すだけでなく、両方 向に変動する力の発生が見られた。しかし、高い周波 数の振動 (Nature, 1998) は見られなかった。2つ目 の手法では、図1Bのようにダブレット上に並んだダイ ニンを用いた。鞭毛から滑り運動により取り出したダ ブレットをガラス上に固定し、ダブレット上のダイニ ン分子に直角に微小管を作用させ、微小管につけた ビーズを操作してダイニンの出す力を計測した。図 1B-D では右方向が、グラフでは正の方向が微小管のプ ラス端方向に対応する。溶液中の1 mM cagedATP から UV 照射により ATP を投与し、ダイニンによる力をナノ 計測した。図1Bは、通常の順方向の力発生(a→b)を 示す。

ダブレット上のダイニンによる力測定においても周 期的切り替えが見られ、高い周波数の力の振動も両方 向で記録された。逆方向の力発生は、単独で見られる こともあったが、頻度は低かった(4%)。しかし、顕微 鏡ステージを動かしてダイニンに外力を与えると、そ の後の方向逆転の頻度が上がることがわかった(28%, n=63)。さらに、外力を与える向きが微小管のマイナス 端方向の場合は、逆向きの力発生はわずかに高まる (11%)のに対し、外力がプラス端方向に与えられると (図 1C, D)逆向きの力発生頻度は増大した(42%, n=26)。

この結果は、ダイニンが、多様な力発生モードをも つ分子であり、力学的変形を感知して力の方向を切り 替えること、この切り替えが、鞭毛の振動機構の基本 であることを示す。



図 1:ダイニン分子の力の測定(模式図)と力発生。 単離ダイニン(A)とダブレット上のダイニン(B-D)。



October, 2015

上野班員の研究成果が掲載される

A02 公募研究代表者の上野隆史班員の研究成果が化学工業日報(9月11日)に掲載されました。

【配信番号 7144☆ 10/20 東京工業大学大学院、カゴ状分子開発 ◎化学工業日報 2015年09月1	P】No.7 光照射で細胞内CO放出 1日 朝刊公 4面	■ELclip2 2015年 9月11日 6:39 「大学情報FAXスタンダード(M)」
	東工大、 東工大、 で一酸化炭素(CO)を たいころのガボ分子を開 が出タイミングや量が加 のたんぱく の方形 FーkBの活性化に にの方によって、炎症 の活性化にくの力	光 授 討 で 初
	カゴ状分子開発 を果たしていることも明 らかにした。生体におけ るCOガスによる信号伝 連機構解明への活用が期 特される。 開発したカゴ状分子 開発したカゴ状分子 開発したカゴ状分子	NA C D 次 出
	への放出スイッチとして機 でなく、光照射時間を変 えることで放出スイッチとして機 でする、次出タイミングだけ でなく、光照射時間を変 たることで放出量も制御 を実証した。その結果、 との結果、 ことが分かった。 である	持つカゴ状たんぱく買フ



October, 2015

最近の動き

<u>雑誌論文</u>

- J. Sawada, D. Aoki, S. Uchida, H, Otsuka, <u>*T. Takata</u>, "Synthesis of Vinylic Macromolecular Rotaxane Cross-linkers Endowing Network Polymers with Toughness" *Acs Macro Lett.*, 4, 598-601, (2015), <u>10.1021/acsmacrolett.5b00242</u>
- R. Sasaki, S. Kitazawa, R. Kitahara, H. Nakazawa, <u>Y. Tanaka</u>, I. Kumagai, M. Umetsu, *K. Makabe, "Zinc ion-binding activity of an anti-ZnO VHH antibody, 4F2", *Chem. Letters*, in press, (2015), <u>10.1246/cl.150537</u>
- K. Oshima, A. Shigeta, Y. Makino, *I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, T. Iwasa, *<u>A. Naito</u>, "Characterization of Photo-intermediates in the Photo-reaction Pathways of a Bacteriorhodopsin Y185F Mutant Using in Situ Photo-irradiation Solid-state NMR Spectroscopy", *Photoche. Photobiol. Sci.*, **14**, 1694-1702, (2015), <u>10.1039/c5pp00154d</u>
- T. Nagao, D. Mishima, N. Javkahlantugs, J. Wang, D. Ishioka, K. Yokota, K. Norisada, I. Kawamura, K. Ueda, *<u>A. Naito</u>, "Structure and Orientation of Antibiotic Peptide Alamethicin in Phospholipid Bilayers as Revealed by Chemical Shift Oscillation Analysis of Solid State Nuclear Magnetic Resonance and Molecular Dynamics Simulation", *Biochim. Biophys. Acta*, in press,

(2015) ,<u>10.1016/j.bbamem.2015.07.019</u>

- H. Shibata, H. Tsuchikawa, T. Hayashi, <u>N.</u> <u>Matsumori</u>, *M. Murata, T. Usui. "Modification of bafilomycin structure to efficiently synthesize solid-state NMR probes that selectively bind to vacuolar-type ATPase." *Chem. Asian J.* 10, 915-924, (2015), <u>10.1002/asia.201403299</u>
- J. Cui, S. Matsuoka, M. Kinoshita, <u>N.</u> <u>Matsumori</u>, F. Sato, *M. Murata, J. Ando, H. Yamakoshi, K. Dodo, M. Sodeoka. "Novel Raman-tagged sphingomyelin that closely mimics original raft-forming behavior." *Bioorg. Med. Chem.* 23, 2989-2994, (2015), 10.1016/j.bmc.2015.05.014
- *<u>N. Matsumori</u>, T. Yamaguchi, Y. Maeta, M. Murata. "Orientation and Order of the Amide Group of Sphingomyelin in Bilayers Determined by Solid-State NMR." *Biophys. J.* 108, 2816-2824, (2015), 10.1016/j.bpj.2015.05.011
- *M. Murata, S. Sugiyama, S. Matsuoka, <u>N.</u> <u>Matsumori</u>. "Bioactive Structure of Membrane Lipids and Natural Products Elucidated by a Chemistry-Based Approach." *Chem. Rec.* 15, 675-690, (2015), <u>10.1002/tcr.201402097</u>
- T. Yamamoto, Y. Umegawa, H. Tsuchikawa, <u>N. Matsumori</u>, S. Hanashima, *M. Murata, R. Haser, B.J. Rawlings, P. Caffrey P. "Role of Polyol Moiety of Amphotericin B in Ion



Channel Formation and Sterol Selectivity in Bilayer Membrane." *Bioorg. Med. Chem.* 23, 5782-5788, (2015), 10.1016/j.bmc.2015.07.00

- S. Hitosugi, K. Ohkubo, Y. Kawashima, T. Matsuno, S. Kamata, K. Nakamura, H. Kono, <u>S. Sato</u>, S. *Fukuzumi, *H. Isobe, "Modulation of Energy Conversion Processes in Carbonaceous Molecular Bearings", *Chem. Asian J.*, **10**, in press, (2015), <u>10.1002/asia.201500673</u>
- *M. Kobayashi, T. Okuhara, H. Kato, <u>S. Sato</u>, M. Kakihana, "Novel Titanium Complexes with a Reversible Structure Change on Solvent Adsorption and Desorption", *Chem. Lett.*, 44, 1050-1052, (2015), <u>10.1246/cl.150393</u>
- P. Bonakdarzadeh, F. Topić, E. Kalenius, S. Bhowmik, <u>S. Sato</u>, M. Groessl, R. Knochenmuss, *K. Rissanen, "DOSY NMR, X-ray Structural and Ion-Mobility Mass Spectrometric Studies on Electron-Deficient and Electron-Rich M6L4 Coordination Cages", *Inorg. Chem.*, **54**, 6055-6061, (2015), <u>10.1021/acs.inorgchem.5b01082</u>
- H. Yokoyama, Y. Ueda, D. Fujita, <u>S. Sato</u>,
 *M. Fujita, "Finely Resolved Threshold for the Sharp M₁₂L₂₄/M₂₄L₄₈ Structural Switch in Multi-Component M_nL_{2n} Polyhedral Assemblies: X-ray, MS, NMR, and Ultracentrifugation Analyses", *Chem. Asian J.*, **10**, in press (2015),
 <u>10.1002/asia.201500519</u>
- 14. *<u>S. Sato</u>, M. Ikemi, T. Kikuchi, S.

October, 2015

Matsumura, *K. Shiba, *M. Fujita, "Bridging Adhesion of a Protein onto an Inorganic Surface Using Self-Assembled Dual Functionalized Spheres", *J. Am. Chem. Soc.*, **137**, in press, (2015), <u>10.1021/jacs.5b06184</u>

- E. Takahashi, K. Kamata, Y. Kikukawa, <u>S.</u> <u>Sato</u>, K. Suzuki, K. Yamaguchi, *N. Mizuno, "Synthesis and Oxidation Catalysis of a Ti-Substituted Phosphotungstate, and Identification of the Active Oxygen Species", *Catal. Sci. Technol.*, **5**, in press, (2015), <u>10.1039/C5CY01031D</u>
- K. Inagaki, T. Satoh, M. Yagi-Utsumi, A.C. Gulluche, T. Anzai, Y. Uekusa, <u>Y. Kamiya</u>, *<u>K. Kato</u>, "Redox-coupled Structural Changes of the Catalytic a' domain of Protein Disulfide Isomerase", *FEBS Lett.*, 589, 2690-2694, (2015), <u>10.1016/j.febslet.2015.07.041</u>
- Y. Kuroda, N. *Kato-Kogoe, E. Tasaki, M. Yuasa-Sunagawa, K. Yamanegi, K. Nakasyo, I. Nakase, <u>S. Futaki</u>, Y. Tohyama, M. Hirose, "Suppressive Effect of Membrane-permeable Peptides Derived from Autophosphorylation Sites of the IGF-1 Receptor on Breast Cancer Cells", *Eur. J. Pharmacol.*, **765**, EJP41801, (2015),<u>10.1016/j.eiphar.2015.08.004</u>
- I. Nakase, <u>T. Takeuchi</u>, *<u>S. Futaki</u>, "Cell Penetrating Peptides for Chemical Biological Studies", *Methods Mol. Biol.* **1324**, 387-396, (2015), <u>10.1007/978-1-4939-2806-4_26</u>
- A.Uyeda, T. Watanabe, Y. Kato, H. Watanabe, T. Yomo, *<u>T. Hohsaka</u>, *<u>T. Matsuura</u>, "Liposome-Based in Vitro Evolution of



Aminoacyl-tRNA Synthetase for Enhanced Pyrrolysine Derivative Incorporation", *Chembiochem*, **16**, 1797-1802, (2015), <u>10.1002/cbic.201500174</u>

- S. Fujii, <u>T. Matsuura</u>, *T. Yomo, "Membrane Curvature Affects the Formation of alpha-Hemolysin Nanopores", *ACS Chem Biol*, **10**,1694-1701, (2015), <u>10.1021/acschembio.5b00107</u>
- K. Tahara, M. Tsukui, T. Maeno, <u>N. Inagaki</u>,
 *J. Kikuchi, "Efficient Solid-Phase Gene Delivery Mediated by Cerasome: Effect of Reverse Procedure on Transfection Performances in Comparison with Solution-Based Method", *Chem. Lett.*, in press, (2015)
- R. Poonperm, H. Takata, T. Hamano, A. Matsuda, <u>S. Uchiyama</u>, Y. Hiraoka,
 *K.Fukui, "Chromosome Scaffold is a Double-Stranded Assembly of Scaffold Proteins" *Sci. Rep.* **5**,11916, (2015), <u>10.1038/srep11916</u>
- H. Zhao, <u>S. Uchiyama, *</u>P.Schuck,
 "Multilaboratory Comparison of Calibration Accuracy and the Performance of External References in Analytical Ultracentrifugation" *PLoS ONE* 10(5), e0126420., (2015), 10.1371/journal.pone.0126420
- *<u>S. Oiki</u>, "Channel Function Reconstitution and Re-animation: A Single-channel Strategy in the Post-crystal Age", *J. Physiol.* **593**, 2553-2573, (2015), <u>10.1113/JP270025</u>
- 25. A. Yamakata, H. Shimizu, *<u>S. Oiki</u>,
 "Surface-Enhanced IR Absorption Spectroscopy of the KcsA Potassium

October, 2015

Channel upon Application of an Electric Field", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **17**, 21104 – 21111, (2015), <u>10.y1039/C5CP02681D</u>

- Y. Furutani, H. Shimizu, Y. Asai, *<u>S. Oiki</u>, H. Kandori, "Specific Interactions between Alkali Metal Cations and the KcsA Channel Studied Using ATR-FTIR Spectroscopy", *Biophysics and Physicobiology* 12, 37-45, (2015), <u>10.2142/biophysico.12.0_37</u>
- H. Nishizawa, *<u>H. Okumura</u>, "Comparison of Replica-permutation Molecular Dynamics Simulations with and without Detailed Balance Condition" *J. Phys. Soc. Jpn.* 84, 074801 (6 pages), (2015), <u>10.7566/JPSJ.84.074801</u>
- S. G. Itoh, *<u>H. Okumura</u>, "Replica-permutation Method to Enhance Sampling Efficiency" *Mol. Sim.* 41, 1021-1026, (2015), <u>10.1080/08927022.2014.923576</u>
- Y. Mori, *<u>H. Okumura</u>, "Molecular Dynamics Simulation Study on the High-pressure Behaviour of an AK16 Peptide" *Mol. Sim.*,**41**, 1035-1040, (2015), <u>10.1080/08927022.2014.938071</u>
- S. Iwata, K. Masuhara, N. Umeki, <u>Y. Sako</u>, *S. Maruta, "Interaction of a Novel fluorescent GTP Analogue with the Small G-protein K-Ras" *J. Biochem.*, in press, (2015), <u>10.1093/jb/mvv071</u>
- M.Yanagawa, K. Kojima, T. Yamashita, Y. Imamoto, T. Matsuyama, K. Nakanishi, Y. Yamano, A. Wada, <u>Y. Sako</u>, *Y. Shichida, "Origin of the Low Thermal Isomerization Rate of Rhodopsin Chromophore" *Sci. Rep.*



5, 11081 (1-9), (2015), <u>10.1038/srep11081</u>

- Y. Zhou, H. Mao, B. Joddar, N. Umeki, <u>Y.</u> <u>Sako</u>, C. Nishioka, E. Takahashi, K. Wada, Y. Wang, *Y. Ito, "The Significance of Membrane Fluidity of Feeder Cell-derived Substrates for Maintenance of iPS Cell Stemness" *Sci. Rep.* 5, 11386 (1-13), (2015), <u>10.1038/srep11386</u>
- T. Okuno, K. Kato, T. Terada, M. Sasai, *G. Chikenji, "VS-APPLE: A Virtual Screening Algorithm Using Promiscuous Protein-Ligand Complexes" *J. Chem. Inf. Model.*, 55(6), 1108–1119, (2015), <u>10.1021/acs.jcim.5b00134</u>
- *<u>C..Shingyoji,</u> I. Nakano, Y. Inoue, H. Higuchi, "Dynein Arms are Strain-dependent Direction-switching Force Generators," *Cytoskeleton*, in press, (2015),<u>10.1002/cm.21232</u>
- *<u>M. Sugiyama</u>, N. Horikoshi, Y. Suzuki, H. Taguchib, T. Kujirai, R. Inoue, Y. Oba, N. Sato, A. Martel, L. Porcar, *H. Kurumizaka, "Solution Structure of Variant H2A.Z.1 Nucleosome Investigated by Small-angle X-ray and Neutron Scatterings" *Biochem. Biophys. Rep.*, **4**, 28-32, (2015), <u>10.1016/j.bbrep.2015.08.019
 </u>
- 36. *N. Sato, A. Matsumiya, Y. Higashino, S. Funaki, Y. Kitao, Y. Oba, R Inoue, F. Arisaka, Fumio, *<u>M. Sugiyama</u>, *R. Urade,
 "Molecular Assembly of Wheat Gliadins into Nanostructures: A Small-Angle X-Ray Scattering Study of Gliadins in Distilled Water over a Wide Concentration Range", *J. Agric. Food Chem.*, in press

October, 2015

- K. Satoh, K. Takanami, <u>K. Murata</u>, M. Kawata, T. Sakamoto, *H. Sakamoto, "Three-dimensional Visualization of Multiple Synapses in Thick Sections Using High-voltage Electron Microscopy in the Rat Spinal Cord", *Data Br.*, **4**,566–570, (2015), <u>10.1016/j.dib.2015.07.005</u>
- K. Satoh, K. Takanami, <u>K. Murata</u>, M. Kawata, T. Sakamoto, *H. Sakamoto, "Effective Synaptome Analysis of Itch-mediating Neurons in the Spinal Cord : A novel Immunohistochemical Methodology Using High-voltage Electron Microscopy", *Neurosci Let.*, **599**, 86–91, (2015), <u>10.1016/j.neulet.2015.05.031</u>
- *<u>S. Hiraoka</u>, *Chem. Rec.*, **15**, "What Do We Learn from the Molecular Self-Assembly Process?", *Chem. Rec.*, **15**, in press, (2015), <u>10.1002/tcr.201510005</u>
- T. Sugawara, D. Yamashita,, K. Kato, Z. Peng, J. Ueda, J. Kaneko, Y, Kamio, <u>Y</u>. <u>Tanaka</u>, Min Yao, "Structural basis for pore-forming mechanism 1 of staphylococcal α-hemolysin", *Toxicon*, in press, (2015)
- T. Uchida, M. Sasaki, <u>Y. Tanaka</u>, K. Ishimori, "A dye-decolorizing peroxidase from Vibrio cholera", *Biochemistry*, in press, (2015)
- <u>平岡秀一</u>「なぜヤモリは壁に貼りついて歩 けるのか?」、じっきょう理科資料、78、14-18, (2015)
- 43. 相模拓哉、篠田哲史、*<u>三宅弘之</u>、「希土類錯体の形態制御と発光特性」 化学工業-特集
 /希土類の機能発現と応用、化学工業社、66, 696-702, (2015)



October, 2015

- S. S. Ashwin, <u>M. Sasai</u>, "Epigenetic Dynamics of Cell Reprogramming", arXiv:1410.2337, (2014). http://arxiv.org/abs/1410.2337
- <u>田中良和</u>,黄色ブドウ球菌が産生する膜孔形 成毒素の作用機構 Isotope News 736, 7-11, (2015)
- 46. <u>田中良和</u>,黄色ブドウ球菌の2成分性膜孔形 成毒素γヘモリジンの膜孔形成メカニズム 失敗から明らかになった毒素の戦略 化学と 生物 53 (3), 136-137, (2015)
- 47. <u>鈴木大介</u> "刺激応答性ヒドロゲル微粒子の創 製と構造評価-アクリルアミド誘導体から出 発する単分散ゲル微粒子の展開-" 化学と工業 6 月号 Vol.68「ゲル微粒子ソフトな 微粒子が醸し出す豊かな機能」, (2015), 日本化 学会
- 48. <u>鈴木大介</u>, 呉羽拓真
 "ソフトヒドロゲル微粒子の表面・内部構造と 機能"
 高分子 1 月号 Vol.65「高分子科学最近の進歩」,
 (2016), 高分子学会

 Cell Penetrating Peptides for Chemical Biological Studies, I. Nakase, <u>T. Takeuchi, S.</u> <u>Futaki</u>, "In *Cell-penetrating Peptides: Methods and Protocols*", Ed. by Ülo Langel, (Humana Press, Springer, New York), 387-396, (2015)