



業績紹介： $\pi$  共役系を拡張した含窒素型の  
環状芳香族化合物の合成と結晶構造解析

“Synthesis and Structures of  $\pi$ -Extended  $[n]$ Cyclo-para-phenylenes ( $n = 12, 16, 20$ )  
Containing  $n/2$  Nitrogen Atoms”

Koki Ikemoto, Masahiro Fujita, Pei Chui Too, Ya Lin Tnay,  
Sota Sato, Shunsuke Chiba, and Hiroyuki Isobe

*Chem. Lett.*, 45, in press (2016), DOI: [10.1246/cl.160258](https://doi.org/10.1246/cl.160258)

佐藤宗太

(東北大学 WPI-AIMR・A02  
計画研究代表者)



環状の芳香族分子は、中心部にナノサイズの空隙を有する特異構造の分子であり、湾曲した $\pi$ 平面が示す分子認識による超分子の構築、縮退した電子状態に由来する機能発現が期待される興味深い分子である。なかでも $[n]$ シクロパラフェニレン ( $[n]$ CPP) は、ベンゼン環をユニットとして用い、パラ位で環状に連結した構造の化合物であり、近年注目を集めている。我々は、フェニレンをさらに $\pi$ 伸長した多環式芳香族化合物ユニットを用い、剛直な筒状構造を有する化合物の合成と構造化学を報告してきている。今回、含窒素型の $\pi$ 伸長 $[n]$ CPP ( $n = 12, 16, 20$ ) の合成に成功し、その構造を単結晶 X 線構造解析によって明らかにしたので報告する。

前駆体として、ジアザピレン部位を含むジボリル体を新規に合成し、CsF 存在下 PtCl<sub>2</sub>(cod) との錯形成反応を行った後、PPh<sub>3</sub> を加えて還元的脱離反応を行った。この反応は、配位結合能を有する窒素原子が存在しても問題なく進行し、含窒素 $\pi$ 伸長 $[n]$ CPP ( $n = 12, 16, 20$ ) をそれぞれ収率 4%、11%、3%で得ることができた。

含窒素 $\pi$ 伸長 $[16]$ CPP は、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 溶液から良質な単結晶を得ることができ、KEK PF BL17A ビームラインにて測定を検討した。さまざまなクライオプロテクタントを検討したが、凍結による結晶性の著しい

劣化が避けられず、キャピラリー封入した試料を室温で測定して得たデータを用い、X 線構造を明らかにできた。直径 21.3 Å の筒状構造をとることがわかり、8 つのアルキル基が環内に相互に編み込まれるようにパッキングすることで、1 次元のナノチャンネルが構成されていた (図 1)。この空孔内に多数の溶媒が充填されているために、液体窒素温度での瞬間凍結法によっても結晶性の劣化を避けられなかったと考えている。

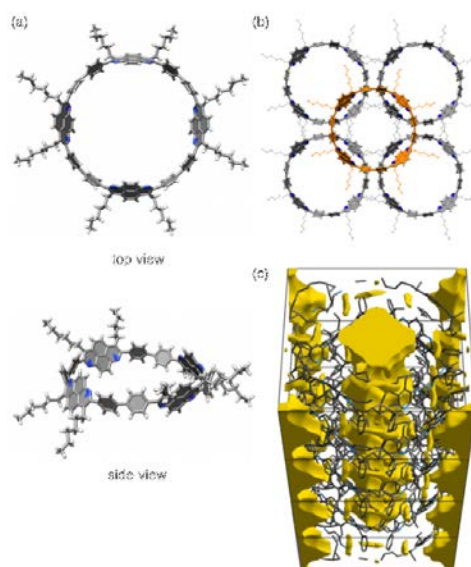


図 1：含窒素 $\pi$ 伸長 $[16]$ CPP の結晶構造。(a) 分子構造。(b) アルキル鎖が編み込まれたパッキング構造。(c) 細孔構造 (黄色)。

なお、本研究成果を記載した論文は選考の結果、Editor's Choice に採択された。



業績紹介：構成成分の運動性が高分子[2]ロタキサンの物性に与える影響

“Effect of Component Mobility on the Properties of Macromolecular [2]Rotaxane”

Zhen Chen, Daisuke Aoki, Satoshi Uchida, Hironori Marubayashi, Shuichi Nojima,  
and Toshikazu Takata

Angew. Chem. Int. Ed., 55, 2778-2781, (2016), DOI: 10.1002/anie.201510953

高田十志和  
(東京工業大学 物質理工学院・A01 公募研究代表者)



青木大輔  
(東京工業大学 物質理工学院・A01 公募研究連携研究者)



1本の高分子鎖中に多数の輪成分を貫通したポリロタキサンでは、貫通した輪成分の運動性が軸ポリマーのパッキングや運動性を阻害し、軸ポリマーの物性に大きく影響を与える。このようなポリロタキサンの運動性がもたらす動的特性を解明・制御できれば、ポリロタキサンを新規機能材料へと昇華させる基盤技術が獲得できる。しかし、通常ポリロタキサンは多くの輪成分を有し、また輪成分の運動性も不明確であるためその特異な動的特性に関する詳細な解析は困難であった。このような背景のもと筆者らは、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することに成功した (*ACS Macro Lett.*, **2013**, *2*, 461-465)。本研究では、この構造明確なポリロタキサンの一つである高分子[2]ロタキサンの軸成分の組織化(結晶性)をプローブとし、輪成分の運動性が軸成分の特性に与える影響を解析することでポリロタキサンの特異な物性発現メカニズムの解明を目指した。

クラウンエーテル/アンモニウム塩間の引力的相互作用で輪成分が軸末端に固定されている **M2R-F** と、その相互作用がなく構成成分の運動性の高い **M2R-M** をそれぞれ合成し、示差走査熱量測定 (DSC) から軸成分の結晶化挙動を評価した (Figure 1)。その結果、貫通した輪成分の運動が結晶性軸成分であるポリ( $\delta$ -バレロラクトン) (PVL)の結晶化を阻害していることがわかった。興味深いことに PVL の重合度が 17 程度の軸成分

を用いた場合、結晶性 (**M2R-F**) から非晶性 (**M2R-M**) へと転移することがわかった (Figure 1)。また、PVL の重合度が大きい ( $n = 50$ ) 場合、**M2R-F** と **M2R-M** の等温結晶化挙動からも、輪成分の運動性の上昇が軸成分の結晶化を大きく阻害することが明らかとなった (Figure 2)。このように、構造明確な高分子[2]ロタキサンを用いて軸成分の結晶化挙動を検証することでポリロタキサンの特異な物性発現メカニズムを明らかにし、従来困難であったポリロタキサンの動的特性の制御に対する指針を得た。本研究は輪成分の運動性という分子の微視的变化を相転移や結晶化といったマクロな自己組織化挙動の変化に結びつけたもので、その動的な秩序制御による機能発現に関する重要な知見が得られたものと言える。

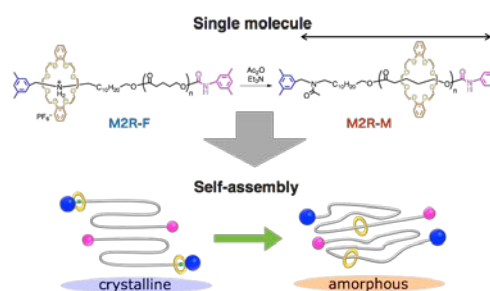


Figure 1. Structure of **M2R-F** and **M2R-M**, and schematic illustration of their self-assembly ( $n = 17$ ).

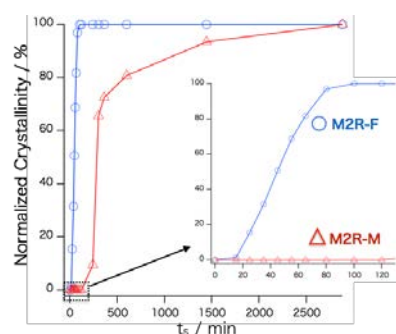


Figure 2. Time-dependent normalized crystallinity of **M2R-F** and **M2R-M** ( $n = 50$ ) at 34 °C.



業績紹介：悪性腫瘍の増殖と薬剤耐性に関わる  
タンパク質のユニークな構造を解明

“Haem-dependent Dimerization of PGRMC1/sigma-2 Receptor Facilitates Cancer Proliferation and Chemoresistance”

Yasuaki Kabe, Takanori Nakane, Ikko Koike, Tatsuya Yamamoto, Yuki Sugiura, Erisa Harada, Kenji Sugase, Tatsuro Shimamura, Mitsuyo Ohmura, Kazumi Muraoka, Ayumi Yamamoto, Takeshi Uchida, So Iwata, Yuki Yamaguchi, Elena Krayukhina, Masanori Noda, Hiroshi Handa, Koichiro Ishimori, Susumu Uchiyama, Takuya Kobayashi, and Makoto Suematsu

*Nature Communications* 7, 11030, (2016), DOI: [10.1038/ncomms11030](https://doi.org/10.1038/ncomms11030)

内山 進

(大阪大学工学研究科、自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター、華南理工大学・A03 公募研究代表者)



近年、PGRMC1 (progesterone receptor membrane associated component 1) と呼ばれるタンパク質が、乳がん、卵巣がん、などの多くの難治性がんを高発現していることが報告されましたが、その生理機能は長らく不明でした。PGRMC1 はがん細胞を認識して細胞機能に変化を生じさせる物質であることが分かっており、がん増殖に関わる PGRMC1 の機能解明が期待されていました。慶應大学のグループは、一酸化炭素(CO)などの生体内ガスに応答する未知のヘムタンパク質について、独自のアフィニティ精製システムを用いた網羅的な探索を行っていました。このスクリーニングにより同定された新規の CO 応答性ヘムタンパク質が PGRMC1 であったため、このがん細胞の機能制御について解析を進める発端となりました。本研究では、X線結晶構造解析により PGRMC1 の詳細な分子構造が明らかとなりました。PGRMC1 は、チロシン残基を介した珍しい様式でヘムと配位していましたが、ヘムはタンパク質表面上に突出した構造を取っており、PGRMC1 は突出したヘム同士が重なり合った特異なヘム重合体構造を形成していました(図 1)。内山らのグループによる超遠心沈降速度法と非変性質量分析の結果が最終的な決め手となり、PGRMC1 はヘムのない状態ではアボ体として単量体で存在し、一方、ヘムと結

合すると 2 量体化する、ことが明らかになりました。このようなタンパク質中のヘムを介した重合化は真核生物では初めて見いだされた新規の構造制御の様式です。生体内ガス分子である CO は、がん細胞が抗がん剤、放射線治療、低酸素などにさらされると体内の酵素ヘムオキシゲナーゼが誘導されて増加します。超遠心沈降速度法から、この CO が PGRMC1 上のヘムに結合するとヘム同士の重合が解離して PGRMC1 の機能が消失することも見いだしました。

なお、その他の解析から PGRMC1 はがん増殖シグナルを増強すること、また、重合化した PGRMC1 は抗がん剤の分解活性を増強して、がん細胞の薬剤耐性を促進することも分かりました。本研究の解析により、PGRMC1 はがん細胞内のヘム濃度に応答して重合化することによって活性化し、がん細胞の増殖促進や抗がん剤耐性獲得に関与するという、動的な構造変換により機能していることが明らかとなりました。

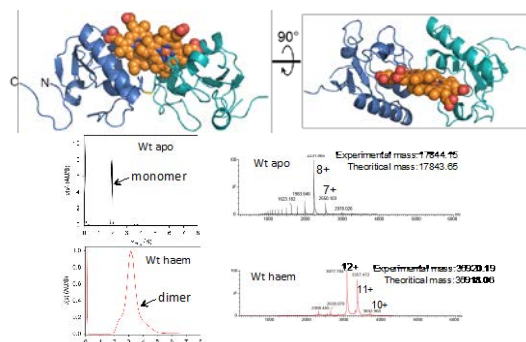


図 1：PGRMC1 のヘムを介したダイマー形成 (上) 結晶構造 (中・下) 沈降速度法 (左) と非変性質量超分析 (右) によるダイマー化の検出



研究紹介:

体の左右を決める繊毛の構造解析と  
コンピューターシミュレーションにより  
繊毛が回転運動するしくみを解明

篠原恭介

(東京農工大学工学研究院生  
命工学専攻・A01 公募研究連携  
研究者)



養王田正文

(東京農工大学工学研究院生命工学専攻  
・A01 公募研究代表者)

われわれヒトに最も近いモデル動物であるマウスにおいて体の左右は受精後 8 日目に決定される。この時期、体の正中線上に現れるノードと呼ばれる 200 の細胞群がもつ繊毛(長さ 2-5  $\mu\text{m}$  の運動性をもつ細胞から突き出た構造)が時計回りに回転し将来の体の右側から左側へ向かう流れ(ノード流)を発生させ、この流れがノードの左右で発現していた遺伝子の対称性を破ることで体の左右を決めると考えられているが、繊毛が時計回りに回転運動するしくみについては不明な点が多い。

研究成果: 今回、抗がん剤であるタキソール(微小管重合に作用する)をマウス胚に処理するとノード繊毛の運動パターンが乱れるという現象を発見した。繊毛の構造を大阪大学超高压電子顕微鏡センターの保有する超高压電子顕微鏡により調べた所、通常ノード繊毛の微小管は膜近傍に規則正しく配置されているのに対しタキソール処理をしたノード繊毛では微小管の配置の規則性が乱れる事が分かった。さらに構造と運動パターンの因果関係を明らかにするため、電子顕微鏡の実験データを元にした繊毛運動のコンピューターシミュレーションを行った所、微小管の配置が異常となると運動パターンも乱れる事が分かった。この事からノード繊毛が安定に一方に回転運動をするためには微小管の規則正しい配置が必要である事が分かった(図 1)。マウス運動繊毛は中心構造を持たないノード繊毛(9+0 タイプ)と中心対微小管・ラジアルスポークを持つ運動繊毛(気管・卵管・脳室など 9+2 タイプ)の 2 種類の運動繊毛を持つ。ノード繊毛がタキソール処理によって構造が変化してしまうのは、微小管配置を支える役割を担う中央構造を元々持たないためであるという仮説をたてその検証を行った。まず野生型マウス気

管繊毛にタキソール処理を行った所、繊毛運動や構造に変化は認められなかった。次に中心構造ラジアルスポークの頭部のタンパク質をコードする遺伝子を破壊したノックアウトマウス(*Rsph4a* KO マウス)を作製した。気管繊毛運動を観察した所、野生型マウスでは平面内に運動するのに対してノックアウトマウスの気管繊毛はノード繊毛と同様に時計回りに回転運動をしていた。最後にこのノックアウトマウスの気管繊毛にタキソールを処理したところ、繊毛の微小管に配置がタキソールに反応する事で乱れ、時計回りの回転運動が方向の定まらない回転運動に変化した。これらの事から、ラジアルスポークが周辺微小管と中心構造を物理的につなぐ事により周辺微小管の規則正しい配置を安定に維持している事が示唆された。ノード繊毛はマウス胚の前後極性の情報を元に左右極性を作り出す必要がある。そのためには平面運動ではなく回転運動が必須となるため、進化の中で中心構造をあえて失ったと考えている。

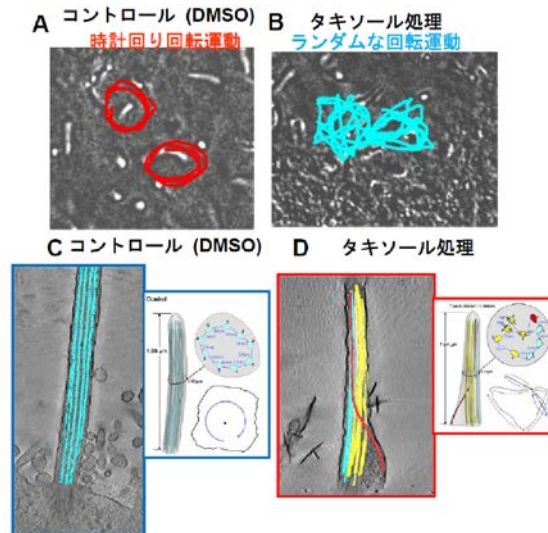


図 1: マウス胚の左右を決めるノード繊毛の運動と構造

上記研究は *Developmental Cell* に発表されました。

"Absence of Radial Spokes in Mouse Node Cilia Is Required for Rotational Movement but Confers Ultrastructural Instability as a Trade-Off"

Kyosuke Shinohara, Duanduan Chen, Tomoki Nishida, Kazuyo Misaki, Shigenobu Yonemura, and Hiroshi Hamada

*Developmental Cell*, 35, 236-246, (2015), DOI: [10.1016/j.devcel.2015.10.001](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.10.001)



## “Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 33

May, 2016

### 国際活動報告

#### National Institute of Health (アメリカ) への訪問

榮 慶丈

(名古屋大学大学院理学  
研究科・特任助教)



岡本祐幸

(名古屋大学院理学研究科  
・A03 計画研究代表者)

国際共同研究加速基金(国際活動支援班)のご支援により、今年の1月4日から3月4日の2ヶ月間、アメリカの政府機関である国立衛生研究所 National Institute of Health (NIH) に属している Biochemistry and Biophysics Center の研究室の1つ LCB (The Laboratory of Computational Biology) を訪問させていただきました。この研究室では生体高分子を主な対象とする分子シミュレーションプログラム CHARMM (<https://www.charmm.org/charmm/>) の開発を中心とし、シミュレーション手法の開発や様々な分子へ適用する研究がおこなわれています。私はこれまで加藤晃一教授、山口拓実准教授らと共同研究をおこなってきた糖鎖分子を対象とし、CHARMM デベロッパらによって開発された分子モデル及び手法を用いた新規研究課題の開拓を主な目的として滞在しました。

滞在当初は、滞在を許可してくださった Bernard Brooks 氏からこちらでおこなわれている研究やスタッフの紹介をしていただいたり、研究室でおこなわれているセミナーにて私自身のこれまでおこなってきた研究の紹介をしたり、研究室で主に使われている CHARMM プログラムをはじめ、いくつかのソフトウェアについて教えていただきました。

また本研究室は、シミュレーション主体の研究室であり、常勤している研究者及び外部の CHARMM デベロッパの研究室からの利用者を含めると常に10~20人ほどのユーザが計算機システムを利用しており、2人の技術者が常に管理・運営している大規模な計算機システムがありました。実際に Brooks 氏や管理者の Tim Miller 氏、John Legato 氏からサーバ室を見せていただき、計算機システムの構成や管理体制についてたいへん興味深い話を聞くことができました。

私の研究課題については、まずはセミナーの時間に

簡単に対象分子やその研究現状について説明し、参加者の皆さんに意見やアドバイスを求めることとしました。その後、主に分子モデル(力場)の開発をされている Jing Huang 氏、主に手法開発をされている Xiongwu Wu 氏から具体的なアイデアをそれぞれいただきました。Huang 氏の提案は、私が現在所属している岡本祐幸教授の研究室で開発が進められているレプリカ交換法と同種のものであったため、新しい研究課題の開拓という立場から、Wu 氏が開発したシミュレーション手法である Self-guided Langevin dynamics 法を用いることにしました。

その後、対象とする糖鎖分子については山口准教授、シミュレーション手法やその解析手順については Wu 氏、CHARMM プログラムの使い方はスタッフの Richard Venable 氏らと具体的な研究手順の議論をしつつ、約2ヶ月間充実した研究生生活を送ることができました。滞在期間内に一区切りの結果を出すことはできたつもりではありますが、Brooks 氏から追加としていくつか提案された課題もあるので、帰国した後も継続してこの研究課題を続けております。

その他滞在期間中は、慣れない海外での生活ということもあり、研究以外のことで時間を取られてしまうこともあったのですが、研究室の皆さんがとても親切で、研究以外の細かな生活の情報についてもいろいろと教えていただきました。そして日本へ戻る最後の約1週間は、アメリカ生物物理学会にも参加させていただき、こちらでも貴重な情報収集の場となりました。

このように今回の海外滞在では、自身の新しい研究課題を見つけるだけでなく、実際に現地の研究者の方々と会って話をする中で、普段の生活では得ることの出来ない良い経験をすることができました。



学会会場のロサンゼルスコンベンションセンター



# “Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 33

May, 2016

## 国際活動報告 南京理工大学訪問

内山 進

(大阪大学工学研究科、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 公募研究代表者)



この度、国際共同研究加速基金(国際活動支援班)の支援を受けて、研究員の石井健太郎博士と共に3月15日から18日に南京理工大学(中国江蘇省南京市)のMin Zhou教授のもとを訪れた。訪問の目的は、膜タンパク質複合体の非変性質量分析について共同研究を進めるためである。Min博士は英国ケンブリッジ大学とオックスフォード大学のCarol Robinson研究室の研究員だった際に、非変性質量分析を用いてATPaseなどの膜タンパク質複合体の化学量論を世界に先駆けて決定した実績を持つ。2013年に英国より中国に帰国し、教授職に就いて学生の指導にあっている。

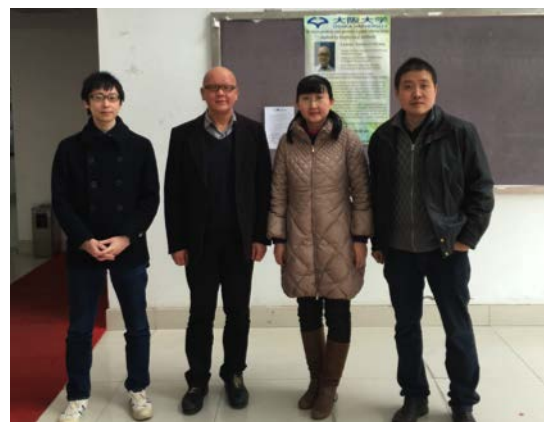
到着、打ち合わせの後、Min博士とともに膜タンパク質の非変性質量分析に取り組んだ。通常、膜タンパク質は界面活性剤存在下で精製するため、主に疎水表面に界面活性剤が結合している。しかしながら、界面活性剤のタンパク質の結合数は一様では無く、正確な質量決定の障害となる。そのため、質量分析装置内で窒素分子を衝突させることによって、タンパク質に結合している界面活性剤の解離を行う。今回の滞在では、持参した2種類の膜タンパク質について測定を実施したが、測定パラメーターを迅速かつ効率的に変更することで、双方とも界面活性剤の効果的な解離、そして非変性状態での会合状態の決定に概ね成功した。今後、日本で条件の最適化を継続し、最終的な結論を得る予定である。

最終日には「Protein-protein and protein-ligand interactions studied by biophysical methods」というタイトルで講演を行った。南京理工大学も、内山が兼任をつとめる華南理工大学と同様、海外に長期間滞在し成果を上げた若手中国人研究者が数多く帰国し、中国の研究をリードしている。そのため、スタッフは欧米の研究者と似た雰囲気を持っており、講演ではX線結晶構造解析を専門とする教授から鋭い質問を受けた。



南京理工大学での講演の様子

今回の訪中では、膜タンパク質の質量分析の最先端を直接体験する機会を得た。また次々に建設されるビルに代表されるように、中国の勢いを実際に感じた。地理的にも日本から近く、今後一層共同研究などで連携していくことになりそうである。最後になりますが、ご支援頂いた本領域の国際共同研究加速基金に深く感謝いたします。



南京理工大学生物工学院の玄関にて。左から博士研究員の石井さん、内山、Min先生、Jerry先生。



# “Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 33

May, 2016

## 国際活動報告

### 第7回日本・台湾 X線中性子散乱研究会議

杉山正明

(京都大学 原子炉実験所・  
A03 公募研究代表者)



第7回日本・台湾 X線中性子散乱研究会議を本領域の国際共同研究の一環として呼び出した15名の台湾の研究者の方々にも参加して頂き、3月10日から13日の日程で京都大学原子炉実験所(京大熊取キャンパス)にて開催いたしました。本研究会は日本と台湾の X線及び中性子散乱を用いたバイオ・ソフトマターの研究者が一堂に会し、互いの最新の研究成果の議論・情報交換を行うものです。ホストは日本側・台湾側が交互に務めることになっており、今回は筆者がオーガナイザーとなり、本領域の協力も得て開催させて頂きました。研究会の詳細は下記の URL に詳しいのでご参照ください。

<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/jt-meeting2016/>

研究会では本領域からは名古屋市立大の佐藤先生が「Structural insight into molecular assembly in the proteasomal systems」と題して 20S proteasome の形成における  $\alpha 6$  と  $\alpha 7$  サブユニットの作り出す動的關係について、結晶構造解析・質量分析・EM・高

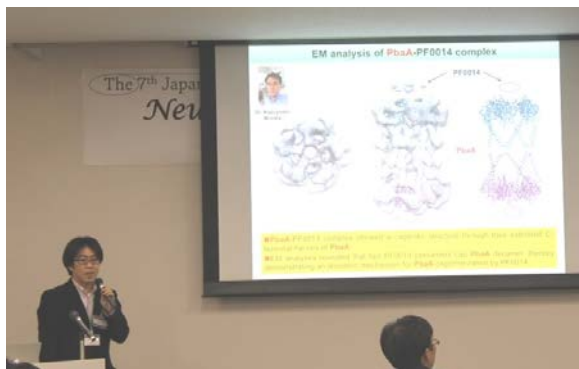


図1. 佐藤先生の多面的な視点での研究のご講演



図2. Wang 先生の結晶構造解析・SAXS を駆使した研究成果のご講演。

速 AFM を駆使して行われた研究について発表されました。動的な構造解析は多面的な視点が重要であると痛感いたしました。また、筆者の研究室からも井上先生が、本領域の成果でもある「Dynamic Quaternary Structure of  $\alpha$ -Crystallin」について講演をいたしました。本研究では重水素化によるラベリング法を用いたサブユニット交換の観測に加え、大阪大学の内山先生・分子研の石井先生にお願いして行った質量分析の結果も加え、クリスタリンの動的な構造の温度依存性について報告をいたしました。生物系の講演としては台湾側からは国立成功大学の Wang 先生が「SAXS combined with crystallography for structural studies on macromolecular complexes and functional flexibility of protein」と題して peroxide response regulator PerR とその DNA 複合体の構造について X線結晶回折と溶液 SAXS による構造解析の結果について紹介して頂きました。加えて、NSRC の Jeng 先生からは台湾のシンクロトロン施設に建設・整備されている生物用溶液小角散乱装置の紹介がありました。最新の Sec-SAXS も可能となり、大変興味深い装置でした。

生物系の講演ではありませんが、東京大学篠原先生による「Effect of Coherence on Small-Angle Scattering」と京都大学の斎藤先生による「Dynamics



## “Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 33

May, 2016

of Glass-Formers Studies by Gamma-ray quasi-elastic scattering method」はビームを用いた分光法を研究手法としている者としては大変興味深い講演でした。前者は、X線における「干渉性」について深く考察し、超小角領域での散乱現象を検討した講演でした。非常に考えさせられる内容であり、多くの質問・議論がありました。後者はX線核共鳴現象を用いたナノ-マイクロ秒スケールの新たな測定法の提案と実例の紹介でした。今後、本手法の応用範囲が広がることで本領域にて展開されている多くの研究にも適用が期待されます。



図 3. 懇親会での記念撮影。

懇親会は熊取近傍にある隠れ家的な温泉・犬鳴温泉にて行い日本的な雰囲気の中、研究及び人間的な交流も深めました。また、翌日には文化交流として茶道体験も行い台湾からの招待者のみならず日本人参加者も日本文化に触れる事ができ、有意義な経験でした。

最後になりましたが、今回の国際交流および研究会開催には領域代表の加藤先生、奈良先端技術大の上久保先生、また交流事務では京大佐藤研の番場さんに大変お世話になりました。この場を借りてお礼を申し上げます。



図 4. お茶会会場にて、茶道のお世話をくださった方々と参加者で記念撮影。