



業績紹介：動的秩序化した環状芳香族化合物の結晶は新しい高性能な
リチウム電池材料に ～構造と電池性能との相関を解き明かす～

"Carbon-rich Active Materials with Macrocyclic Nanochannels for High-Capacity Negative
Electrodes in All-Solid-State Lithium Rechargeable Battery"

Sota Sato, Atsushi Unemoto, Takuji Ikeda, Shin-ichi Orimo, and Hiroyuki Isobe

Small, 12, in press, (2016), DOI: [10.1002/sml.201600916](https://doi.org/10.1002/sml.201600916)

佐藤宗太
(東北大学 WPI-AIMR・A02
計画研究代表者)



中心部にナノサイズの孔を有する環状の芳香族分子の特異な構造に着目して研究を展開しており、今回、高効率なリチウム電池の負極材料として有用であることを見いだしたので報告する。用いた分子は、ナフタレンが環状に6量化した分子([6]CNAP)であり、磯部研究室で2011年に合成された(図1上)。638℃に及ぶ高い熱安定性と化学的安定性を有するために過酷な条件で用いることができ、また縮退した電子状態に由来する機能発現が期待される。

[6]CNAPを単純に真空中で昇華するのではなく、溶媒から再結晶してから電池動作(充放電)によって溶媒を除く多段階の動的秩序化の手法を用いることで、中心部の孔が1次元ナノ細孔を構成する試料調製法を見いだした。[6]CNAPは $C_{60}H_{36}$ 組成をもつ C_{60} フラーレンよりも大きく複雑な構造の分子であるが、SPring-8 BL02B2 ビームラインや Rigaku SmartLab といった最新鋭の粉末X線回折装置を用い、リートベルト解析を行うことで、粉末状態での分子充填構造を明確に構造決定できた。

[6]CNAPは、リチウム電池の負極材料として一般に用いられる黒鉛(グラフェン)の部分構造を持つことに着目し、分子からなる電極材料と相性のよい全固体リチウム電池の構成を用いて、その負極材料としての性能を評価した。その結果、黒鉛電極の2倍以上もの電気容量を実現し、その大容量は65回の充放電後にも保たれることがわかった。また、構造が分子レベル

で明確に決定できることの利点を活かして詳細に解析を行い、重なり合うナフタレンの隙間にリチウムが貯蓄される際に、1次元ナノ細孔が、粉体の奥までリチウムイオンを運搬する「通り道」として有用であることがわかった。さらに、この細孔はリチウムを「貯蔵」し、大きな電気容量を実現する場所としても使われる機構も見いだした(図1下)。

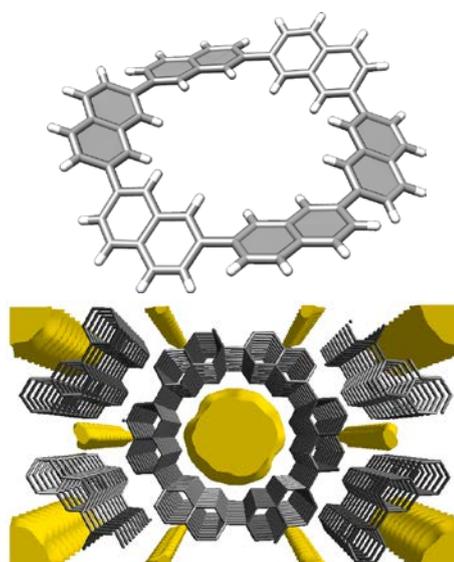


図1：(上) [6]CNAPの分子構造。(下) 新負電極分子材料「穴あきグラフェン分子(CNAP)」固体中の「リチウムの蓄積場所兼通り道(黄色部分)」。

なお、本成果は Small 誌の裏表紙に採択され、またプレスリリースを行った(東北大学 AIMR、JST、SPring-8)。



業績紹介：かご状タンパク質内部空間への異種金属錯体固定化による
タンデム反応触媒の創成

“Immobilization of Two Organometallic Complexes into a Single Cage to Construct
Protein-based Microcompartments”

Basudev Maity, Kazuki Fukumori, Satoshi Abe, and Takafumi Ueno

Chem. Commun., **52**, 5463-5466, (2016), DOI: [10.1039/C6CC00679E](https://doi.org/10.1039/C6CC00679E)

上野隆史

(東京工業大学 生命理工学
院・A02 公募研究代表者)



天然では、マイクロコンパートメントとよばれるタンパク質のかご状集積構造の内部に複数種類の酵素を内包することにより、カスケード反応を効率よく触媒している。これまでもこの反応システムを参考にし、ウイルスケージなどに複数の酵素を内包したカスケード反応研究が報告されているものの、酵素の活性が低下してしまうといった問題点があった。

我々は、これまでかご型タンパク質フェリチンの内部空間に有機金属錯体を配位固定化することにより、フェリチン内部での触媒反応を達成してきた。フェリチンは、24個のサブユニットからなるかご型タンパク質集合体で内径 8nm の内部空間を有している (図 1a, b)。内部表面には、金属集積サイトとよばれる His, Cys, Glu などの金属に配位可能なアミノ酸残基が多数存在しており、様々な金属イオンの固定化が可能と考えられる。そこで、フェリチン内部に複数種類の金属錯体を固定化することができれば、内部空間で2種類の触媒反応を促進させる人工金属酵素を構築できると考えた (図 1c)。

本研究では、フェリチン内部に水素転移反応を触媒する $[\text{IrCp}^*\text{Cl}_2]_2$ 錯体、鈴木-宮浦カップリング反応を触媒する $[\text{Pd}(\text{allyl})\text{Cl}]_2$ 錯体を固定化することにより、水素転移反応と鈴木-宮浦カップリング反応のタンデム反応を触媒するタンパク質ナノケージを構築した。

まず、アポフェリチンに対して、85当量の $[\text{IrCp}^*\text{Cl}_2]_2$ 錯体を 50°C、1時間反応させ、透析、ゲルろ過カラムクロマトグラフィーで精製し、 $\text{IrCp}^*\text{apo-Fr}$ を合成した。複合体を 1.56Å の分解能で解析した結果、 IrCp^* 錯体は、フェリチンの金属集積サイトの Cys48 や His49 などに配位結合することがわかった (図 2 a-c)。次に、 $\text{IrCp}^*\text{apo-Fr}$ 複合体に 100 当量の $[\text{Pd}(\text{allyl})\text{Cl}]_2$ 錯体を反応し、同様に精製することにより、 $\text{IrCp}^*/\text{Pd}(\text{allyl})\text{apo-Fr}$ 複合体を合成した。複合体の構造解析により、 $\text{IrCp}^*\text{apo-Fr}$ では、Ir 錯体が固定化していた Cys48 に $\text{Pd}(\text{allyl})$ 錯体が配位結合し、 IrCp^* 錯体と $\text{Pd}(\text{allyl})$ 錯体が同時に一つのフェリチン内部空間に固定化されていることがわかった (図 2 d-e)。興味深いことに、 IrCp^* と $\text{Pd}(\text{allyl})$ 錯体の反応する順番を変えると沈殿が生じてしまい、複合体を得ることができず、

反応順序も重要であることがわかった。

合成した $\text{IrCp}^*/\text{Pd}(\text{allyl})\text{apo-Fr}$ を用いて、4-ヨードアセトフェノンを基質とし、ケトンの水素化反応とフェニルボロン酸との鈴木-宮浦カップリング反応を行ったところ、両方の反応の進行を確認した。一つのタンパク質内部に複数の金属錯体を固定化した人工金属酵素の構築は、これまでに例がなく、新たな発展が期待される。

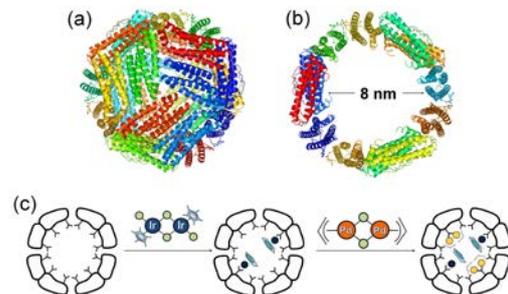


図 1 : (a), (b) フェリチンの結晶構造、
(c) $\text{IrCp}^*/\text{Pd}(\text{allyl})\text{apo-Fr}$ 複合体の合成

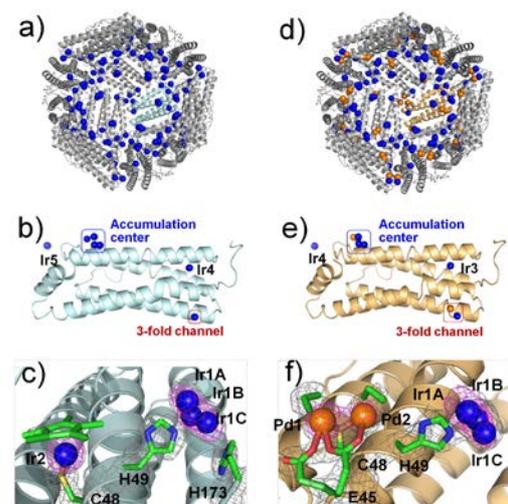


図 2. (a), (b), (c) $\text{IrCp}^*\text{apo-Fr}$ の結晶構造、
(d), (e), (f) $\text{IrCp}^*/\text{Pd}(\text{allyl})\text{apo-Fr}$ の結晶構造



業績紹介：末梢組織で発現する新たな分子 Shootin1b の発見

"Identification of a Shootin1 Isoform Expressed in Peripheral Tissues"

Yasuna Higashiguchi, Kazuhiro Katsuta, Takunori Minegishi, Shigenobu Yonemura,

Akihiro Urasaki, and Naoyuki Inagaki

Cell Tissue Res, in press, (2016), [DOI 10.1007/s00441-016-2415-9](https://doi.org/10.1007/s00441-016-2415-9)

稲垣直之

(奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・A03 計画研究代表者)



我々の脳では、神経細胞が軸索と呼ばれる長い突起を適切な場所に伸ばし、適切な神経細胞と結合し、ネットワークを形成する。この脳内の情報ネットワークは、脳の機能を発揮するために極めて重要で、その破綻は脳機能障害に繋がる。神経軸索は誘引物質あるいは忌避物質を認識して正しい方向に伸長する。軸索伸長のための力を生み出すための仕組みは長らくわかっていなかった。我々のグループは、軸索伸長に関わる分子である Shootin1 を見出し、Shootin1 が軸索先端で重合・脱重合を繰り返すアクチン線維と細胞接着分子 L1_CAM を連結することによって、軸索の伸長のための駆動力を生み出すことを明らかにした。一方、Shootin1 が軸索伸長以外の機能に関与するのはこれまでわかっていない。

今回の研究により、Shootin1 遺伝子は選択的スプライシングにより少なくとも2種類のたんぱく質を生じることが明らかになった。そこで、これまで研究されてきたタンパク質を Shootin1a、今回の研究で新たに見出されたタンパク質を Shootin1b と名付けた。Shootin1b 特異的抗体を作製し、ウエスタンブロッティングおよび免疫組織化学染色により、Shootin1b の発現を調べた。その結果、Shootin1b が、肺、肝臓、胃、脾臓、膵臓、腎臓、皮膚など脳以外の組織でも発現していることがわかった(図1)。一方、Shootin1a は発生過程の脳に良く発現しており、脳以外の組織ではほとんど発現していないことが知られている。この様に、Shootin1b は Shootin1a とは異なる発現パターンを持つことがわかった。

また、Shootin1b は、上皮組織および培養細胞にお

ける細胞-細胞接着部位において、E-cadherin やアクチン結合タンパク質 Cortactin と共局在していた。これまでの研究で、Shootin1a は Cortactin と直接相互作用することが知られており、その相互作用に必要なドメインは Shootin1b にも保存されている。これらのことから、Shootin1b は Cortactin との相互作用を通じて、カドヘリンを介した細胞接着を制御している可能性が示唆される。

今回の成果は、Shootin1 が脳内の軸索伸長に関わるだけでなく、脳以外の組織でも働いている可能性を示唆するものである。また、Shootin1 を介した力の発生の仕組みが、組織形成、免疫細胞やがん細胞の移動などに関わっていれば、発生学、免疫学、がん研究などの分野でも新たな研究の発展が期待できると考える。

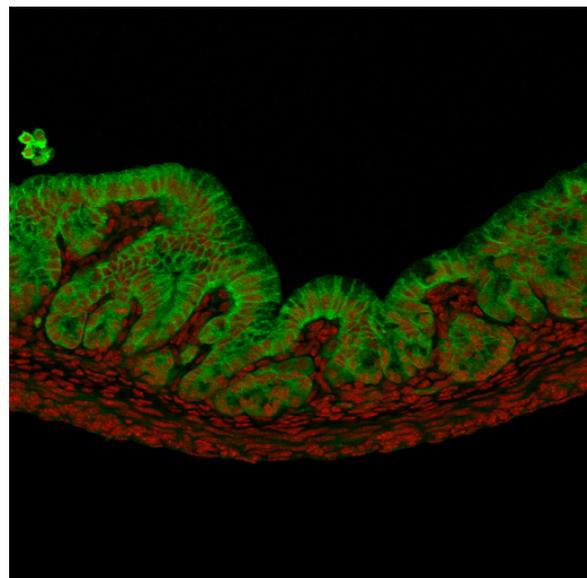


図1：受精後18.5日目のマウス胃における Shootin1b の免疫組織化学染色像。緑は Shootin1b、赤は核 (DAPI 染色) を表す。



業績紹介：一次元水分子列を流れるプロトン流に発見された整流性

“Rectified Proton Grotthuss Conduction Across a Long Water-Wire in the Test Nanotube of the Polytheonamide B Channel”

Yuka Matsuki, Masayuki Iwamoto, Kenichiro Mita, Kenji Shigemi, Shigeki Matsunaga,
and Shigetoshi Oiki

J. Am. Chem. Soc., **138**, 4168-4177, (2016), DOI: [10.1021/jacs.5b13377](https://doi.org/10.1021/jacs.5b13377)

老木成稔

(福井大学・医学部

・A03 公募研究代表者)



水溶液中のプロトン移動様式はプロトンジャンプ (Grotthuss 機構) と呼ばれており、その機構は詳細に研究されてきた。それでは一次元に並べた水分子鎖 (one dimensional water-wire) 上をプロトンはどう流れるのだろうか。この問題は普遍的な化学の課題であるが実験的アプローチは容易ではない。試験管の中で水分子を一次元に並べることが難しいからである。しかしこの課題は生物学の問題でもある。生物界にはプロトンチャンネルが多種類存在する (電位依存性プロトンチャンネル・インフルエンザ M2 チャンネルなど) が共通してプロトン透過路は水分子が一行に並ぶ太さしかない。発想を逆転すると、プロトンチャンネルをナノ “試験管” (nano “test” tube) として使えばプロトンの移動様式を一分子レベルで測定できるのである。

水溶液中の水分子が作る 3 次元の水素結合ネットワークとは異なり、1 次元の水の場合、考慮すべき点がある。プロトンが一次元水分子鎖をジャンプする (ホップ過程) と水分子がすべて向きを反転し、次のプロトンを受け入れるには水分子の向きが元に戻る (ターン過程) 必要がある。一次元であるがゆえの制約がプロトン移動様式に加わるのである。

私達はプロトン透過チャンネルとして海綿由来ペプチドである polytheonamide B (pTB) を用いた。pTB は 48 残基のペプチドで、D 体、L 体のアミノ酸残基が交互に並び、内径が 4 Å の $\beta^{6,3}$ -ヘリックスというチューブ構造を取る (図 1 A,B)。長さが約 40 Å あるので膜を貫通し、チャンネル活性を示す。このチャンネルを脂質平面膜に再構成し、単一チャンネル電流を測定した。pTB チャンネルは高いプロトン透過性 (~2 nS; 現在までに測定された最大のプロトン透過速度) を示した。

今回私達は pTB チャンネルが整流性を示すことを発見した。C 末端側から N 末端側へのプロトン流が逆向きよりも 1.6 倍程度大きいことが単一チャンネル電流一

電圧関係から明らかになった。この整流性はチューブ内の一次元水分子鎖上で起こっていることを証明した。実験結果をモデル解析した結果、整流性の原因はターン過程の非対称性であることを明らかにした (図 1 C)。

それでは水分子のターンを制御するものは何か? pTB チャンネルのポア構造はペプチド骨格のアミド双極子がポア軸方向に交互に向きを並べているので、ポア骨格として正味の双極子モーメントはゼロである。一方、側鎖がポアの外側で水素結合鎖を形成しており (図 1 A,B)、双極子モーメントをもつ。これがポア内の一次元水分子鎖と相互作用している可能性がある。

今回の結果は、生体に多種類存在するプロトンチャンネルの透過機構を明らかにするために不可欠な情報である。またプロトン流の向きを制御できる手掛かりが得られたので、燃料電池などに必要なプロトン透過膜への応用も考えられる。

なお本論文は“ACS Select”の nanoreactors 関連トピックスにも掲載される。

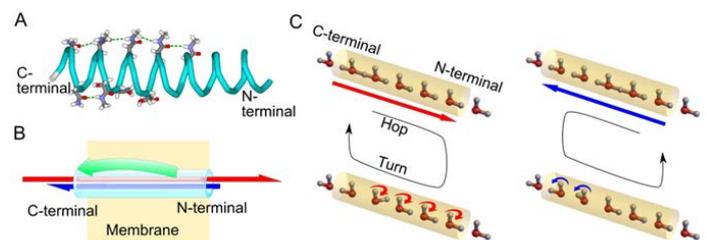


図 1: Polytheonamide B の構造と整流性プロトン透過機構。A. $\beta^{6,3}$ -helix 構造。螺旋の外側に周期的に並ぶアスパラギンなどの側鎖が水素結合し (緑鎖線)、水素結合ストランドを形成する。B. pTB チャンネルの模式図と整流性。緑の矢印は水素結合ストランド。矢印頭が双極子の正側を示す。C. プロトン透過の hop-and-turn 機構。プロトン hop 後の水 turn 過程に非対称性がある (turn 速度が向きによって異なる) ことが整流性の原因である。



研究紹介:
**プレフォルディン-2型シャペロニン
システムにおける新規相互作用領域と
タンパク質輸送に対する影響**

山本陽平

(東京農工大学工学府生命工
学専攻 D3)



養王田正文

(東京農工大学工学府生命工
学専攻・A01 公募研究代表者)



プレフォルディン-2型シャペロニンシステムは細胞において、タンパク質のフォールディングを補助するシステムの1つである。2型シャペロニンは8種類のサブユニットからなるリングが2つ重なった2重リング構造を持ち、各リングにある大きな空洞にタンパク質を捕捉・隔離することで、捕捉タンパク質のフォールディングを促進する。プレフォルディンは α 型のサブユニット2つと β 型のサブユニット4つからなる $\alpha_2\beta_4$ の6量体構造を持ち、非天然状態にあるタンパク質を捕捉し、2型シャペロニンに受け渡すことで、2型シャペロニンによるタンパク質フォールディングを効率化する。これまでプレフォルディン-シャペロニン間の相互作用は、プレフォルディン β サブユニットのC末端とシャペロニンサブユニットの先端に位置するapicalドメイン間の静電相互作用が知られていた。一方で、2型シャペロニンのC末端領域は高いフレキシビリティを持つことが知られているが、NMRを用いた解析より、プレフォルディン-シャペロニン複合体においても同領域の可動性は高く、この領域がプレフォルディン-シャペロニン間の協調性に与ることが示唆されていた。

本論文では、プレフォルディン-2型シャペロニン間相互作用への関与が示唆されているシャペロニンC末端領域の機能について解析した(図1)。相互作用および捕捉タンパク質の輸送への影響を調べるため、2型シャペロニンC末端6AA欠損変異体(CPNTc6)を作製し、プレフォルディンとの相互作用を解析した。作製

したCPNTc6は、プレフォルディン非存在下でのタンパク質の捕捉能及びフォールディング活性については野生型2型シャペロニンと同等の活性を有していた。一方で、表面プラズモン共鳴法を用いた解析により、CPNTc6はプレフォルディンとの相互作用が弱まっていることが示された。また、FRETを用いた解析より、プレフォルディンから2型シャペロニンへの捕捉タンパク質の受け渡し効率及びその後のタンパク質フォールディング効率が低下していることも示された。2型シャペロニンのC末端領域には疎水性アミノ酸残基が多く存在し、プレフォルディンN末端の疎水性残基と相互作用している事が考えられる。この結果はプレフォルディン-2型シャペロニン間の相互作用がエントロピー駆動であることを示した過去の研究とも一致する。本結果は、プレフォルディンとの結合、タンパク質の受け渡し及びタンパク質のフォールディングなど一連の相互作用に対する2型シャペロニンC末端領域の新規機能を提唱するものである。

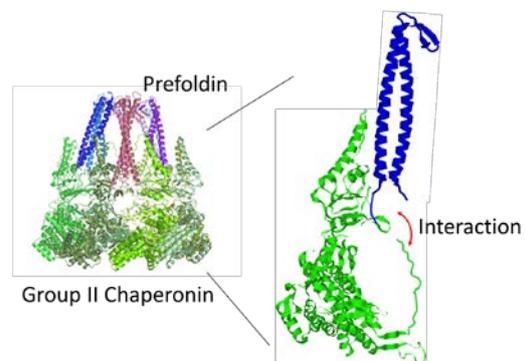


図1: 2型シャペロニンC末端とプレフォルディン β サブユニット間の結合を表した模式図。

上記研究は *J. Mol. Biol.* に発表されました。

"Contribution of the C-Terminal Region of a Group II Chaperonin to its Interaction with Prefoldin and Substrate Transfer", Tamotsu Zako, Muhamad Sahlan, Sayaka Fujii, Yohei Y. Yamamoto, Phan The Tai, Kotaro Sakai, Mizuo Maeda, and Masafumi Yohda, *J. Mol. Biol.*, in press, (2016), DOI:10.1016/j.jmb.2016.04.006

