

平成23年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

      2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 新学術領域研究      4. 研究期間 平成23年度～平成24年度
5. 課題番号 

1	1	0	0	1	7	9	3
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 タンパク質反応場を基盤とする生体分子・有機金属ハイブリッド物質変換システムの構築

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
50432521	まつお たかし 松尾 貴史	物質創成科学研究科	准教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

本研究では、有機金属錯体が媒介する反応においてタンパク質固有の性質、反応場環境(L-アミノ酸からなるキラル環境、ヘリックス構造)を生かした物質変換システムを構築することを目指している。23年度は、自然界に存在する酵素にはないタイプの反応を媒介する人工酵素の構築を行った。具体的には、 $\alpha$ -キモトリプシン(加水分解酵素)中にホベイダ-グラブス錯体を導入し、構築したタンパク質の精製法の確立、吸収スペクトル、CDスペクトルによる溶液構造の検討、ジオレフィン基質の閉環メタセシス反応の観測を行った。錯体を導入する方策として、 $\alpha$ -キモトリプシン固有の阻害機構を利用し、ホベイダ-グラブス錯体をタンパク質の割れ目構造部分に位置選択的に導入するために、LもしくはD-フェニルアラニルクロロメチルケトンとホベイダ-グラブス錯体とをスクシニルリンカーを介して結合させたセリンプロテアーゼ阻害剤を合成し、 $\alpha$ -キモトリプシンに作用させた。その結果、L体の阻害剤を作用させた場合のみ、 $\alpha$ -キモトリプシン本来の加水分解活性は消失した。また、ESI-MSおよびMALDI-MSにより、阻害剤1分子のみが共有結合的にタンパク質に結合していることが明らかとなった。以上のことから、当初の計画通り、素材タンパク質の本来の性質により人工酵素が構築されたことが示された。また、構築した酵素によるジオレフィン基質の閉環メタセシス反応においては、カチオン性あるいは疎水性の基質よりも、グルコース部位を有するが最も高い活性を示すことが分かった。このような基質間での活性の違いは、タンパク質に取り込まれていない錯体による触媒反応よりも顕著に表れており、以上のことから、タンパク質の表面電荷状態により、触媒活性の制御を簡便に行えることが示された。

10. キーワード

- (1) セリンプロテアーゼ      (2) 阻害機構      (3) メタセシス      (4) 有機金属タンパク質  
 (5)                                      (6)                                      (7)                                      (8)

## 11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。  
 <区分>①当初の計画以上に進展している。②おおむね順調に進展している。③やや遅れている。④遅れている。

(区分) ②おおむね順調に進展している
(理由) 当初の計画通り、タンパク質固有の性質を利用して、有機金属錯体を有するタンパク質の構築に成功した。

## 12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

今年度の研究で用いた阻害剤中のホベイダグラブス錯体部位は、溶液中における吸収スペクトルおよび CD スペクトルより、中心金属周辺の配位構造は保たれており、錯体部位がタンパク質中に導入されていることが示唆されたが、タンパク質のどの部分に位置しているのかを詳細な結晶構造解析等により詳細に解析したい。
--

## 13. 研究発表 (平成 23 年度の研究成果)

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

〔雑誌論文〕 計 ( 2 ) 件      うち査読付論文 計 ( 2 ) 件

著者名	論文標題				
Takashi Matsuo, Chie Imai, Takefumi Yoshida, Takashi Saito, Takashi Hayashi, Shun Hirota	Creation of an Artificial Metalloprotein with a Hoveyda-Grubbs Catalyst Moiety through the Intrinsic Inhibition Mechanism of alpha-Chymotrypsin				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Chem. Commun.	有	48	2	0	1 2
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					
10.1039/C2CC16898G					

著者名	論文標題				
Yuji Mikata, Kyoko Takahashi, Yuka Noguchi, Masami Naemura, Anna Ugai, Saori Itami, Keiko Yasuda, Satoshi Tamotsu, Takashi Matsuo, Tim Storr	Synthesis of Rhenium(I) Tricarbonyl Complexes with Carbohydrate-Pendant Tridentate Ligands and their Cellular Uptake				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Eur. J. Inorg. Chem.	有	2012	2	0	1 2
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					
10.1002/ejic.201100953					

〔学会発表〕 計 ( 3 ) 件      うち招待講演 計 ( 0 ) 件

発表者名	発表標題	
Takashi Matsuo, Takefumi Yoshida, Chie Imai, Shun Hirota	Incorporation of Grubbs catalyst into protein through protease inhibition mechanism	
学会等名	発表年月日	発表場所
15th International Conference of Biological Inorganic Chemistry (ICBIC-15)	2011年8月8日	University of British Columbia (Vancouver, Canada)

発表者名	発表標題		
吉田武史、松尾貴史、廣田俊	水溶性グラブスホベイダ錯体の構造および触媒活性に対するpH・塩濃度効果		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第61回錯体化学討論会	2011年9月18日	岡山理科大学 (岡山市)	

発表者名	発表標題		
川原慶也、松尾貴史、吉田武史、廣田俊	ホベイダーグラブス触媒部位を有する化学修飾 $\alpha$ -キモトリプシンのキャラクターリゼーションと反応性		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本化学会第92春季年会	2012年3月27日	慶應義塾大学日吉キャンパス (横浜市)	

〔図書〕 計 ( 0 ) 件

著者名	出版社			
	書名	発行年	総ページ数	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計 ( 0 ) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計 ( 0 ) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

<a href="http://mswebs.naist.jp/LABs/hirota/tmatsuo/matsuo_jpn.html">http://mswebs.naist.jp/LABs/hirota/tmatsuo/matsuo_jpn.html</a>
---