

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 27 年度）

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 挑戦的萌芽研究 4. 補助事業期間 平成 27 年度～平成 28 年度

5. 課題番号

1	5	K	1	3	6	6	0
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 セレノアミノ酸の特性に着目した高活性生体金属触媒の創成

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 4 3 2 5 2 1	マツオ タカシ 松尾 貴史	物質創成科学研究科	准教授

8. 研究分担者

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

セレノ配位遷移金属錯体は水素活性化などの有用な触媒活性を示すことが知られている。そこで、本研究では、コンパクトな構造で高難度な反応を触媒する生体金属触媒として、セレノ-遷移金属錯体を活性中心に有する新規生体触媒を構築する。27年度は、サブチリシンカルスバークの活性部位セリン残基をセレノシステインに変換し、セレノサブチリシンを調製するプロトコルを研究グループ内で確立した。タンパク質の精製は、これまでサブチリシンで用いられていた陽イオン交換カラムでなく、チオール基を担持したコバレントクロマトグラフィーが有効であり、得られたタンパク質の二次構造は、元のタンパク質とほとんど変わらないことをCDスペクトルによって確認した。また、Cu²⁺等の遷移金属イオンが、セレノシステイン部位に配位することを質量分析によって確認した。サブチリシンの熱安定性を支配するカルシウムイオンの有無により、セレノサブチリシンについても熱安定性を制御できることを尿素変性実験によって明らかにした。

また、タンパク質の実験と並行して、セレノサブチリシンに導入するターピリジンおよびジピロメタンを配位子とするルテニウム錯体の合成も実施し、タンパク質に取り込まれることを、MALDI-MSによって確認した。懸念されていた錯体の水溶性は低いものであったが、DMSO等の有機溶媒を5%を最大として添加すれば、コンジュゲーションに十分な溶解度を保持できることも確認できた。

10. キーワード

(1) 合成化学

(2) 酵素反応

(3) 触媒・化学プロセス

(4) ヘテロ元素

(5)

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの進捗状況

(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、入手容易なサブチリシンから化学修飾によってセレノシステインを導入するプロトコルを確立し、アミノ酸置換によってもタンパク質の全体構造は保持されていることが確認された。また、触媒中心となる金属錯体の合成を実施し、この錯体がタンパク質に導入できることを質量分析によって確認した。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

セレノシステインが配位子として機能している実験的証拠を得るために、Se-NMRを測定するとともに、還元剤存在下での反応中間体の検出、触媒反応活性の観測を試みる。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

学外実験を予定していたが、学内での実験で完結したことで、機器メンテナンスが、予定よりも少額で済んだため。

(使用計画)

タンパク質プロトコルが確立し、タンパク質精製実験が本格化するので、主として消耗品購入のための物品費に充当する。

(課題番号： 15K13660)

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件/うち査読付論文 計(1)件/うち国際共著 計(0)件/うちオープンアクセス 計(1)件

著者名		論文標題				
Takashi Matsuo, Keita Yamada, Masaya Ishida, Yoshiyuki Miura, Masaru Yamanaka, Shun Hirota		Effect of a Procaspase-activating Compound on the Catalytic Activity of Mature Caspase-3				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Bulletin of the Chemical Society of Japan	有	88	2015	1221-1229	-	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1246/bcsj.20150139						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

(学会発表) 計(1)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(0)件

発表者名		発表標題	
Takashi Matsuo, Masaya Ishida, Takamasa Kono, Shun Hirota		Correlation between the reactivity of a metal complex in a protein core and the global flexibility of the protein: Mechanistic study using thiol-subtilisin as a model protein	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本化学会第96春季年会	2016年03月24日 ~ 2016年03月27日	同志社大学(京都府京田辺市)	

(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

(課題番号: 15K13660)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(3/4)

(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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: -

17. 備考

松尾貴史 ホームページ
http://mswebs.naist.jp/LABs/hirota/tmatsuo/matsuo_jpn.html