

最終講義

2019.3.12@野依記念物質科学研究館

研究室スタッフ

荘司長三 (准教授)、愛場雄一郎 (助教)、有安真也 (助教)、笠井千枝 (技術職員)
宮地優子 (秘書)

旧研究室スタッフ

小崎 紳一 (山口大)、小江 誠司 (九大)、上野 隆史 (東工大)、中島 洋 (阪市大)、福嶋 貴 (京大WPI)、小谷 明 (金沢大)、廣田 俊 (奈良先端)

博士研究員

中井 英隆 (近大)、叢 志奇 (中国科学院)、川上 了史 (慶大)、竹澤 悠典 (東大)、高谷 信之 (名大)、佐竹 由 宇 (京セラ)、山本 啓介 (Green Earth Inst.)、宮崎 総司 (京セラ)

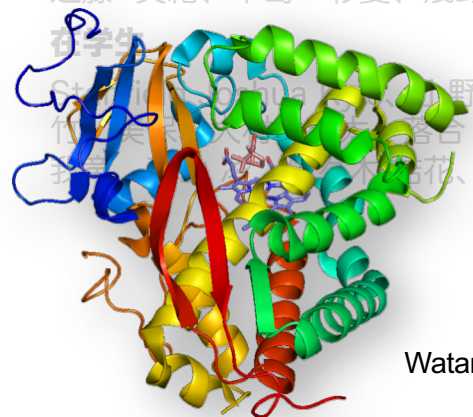
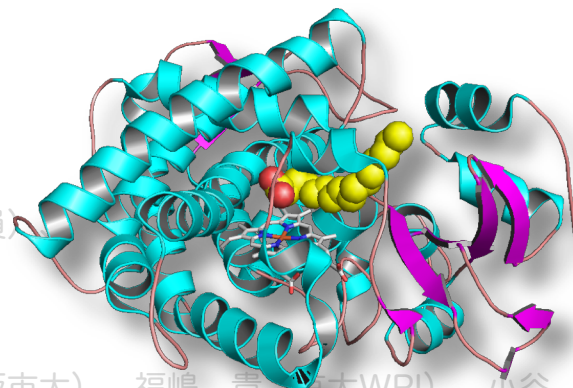
卒業生 (含 受託研究生)

松井 敏高、後藤 義夫、鈴木 和治、油 努、小宮 一晃、山原 亮、大橋 雅卓、山本 夕、長屋 貴量、横井 紀彦、青柳 博樹、安部 聡、越山 友美、鈴木 理子、亀山 (伊東) 満子、伴 紀孝、大木 崇宏、上島 綾香、川場 直美、渡邊 貴大、堀 あゆ美、愛知 平達、三浦 友紀、藤城 貴史、吉満 匡平、田中 翔太、小澤 優、稲葉 央、木本 洋、佐藤 加奈、杉 直紀、森本 禎子、森 奈都美、東條 謙祐、西尾 洸祐、伊藤 誉明、山下 実都喜、伊豆 仁、寺田 光良、三浦 由紀夫、早村 真生、池田 衿奈、田内 翔子、山田 智美、白瀧 千夏子、岩井 佑介、加納 由紀子、塩田 泰広、横堀 純、中尾 貴大、吉田 珠里、上原 弘夢、柳 芳人、小柳津 美沙、Sam S. C. Chien、折居 潤、近藤 美緒、中島 彩夏、浅野 沙也佳、中村 大介、中森 山田 志歩、吉村 麻実、國松 辰弥

金属蛋白質と係わって40年

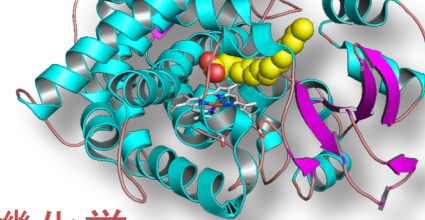
在校生

野田 浩宜、四坂 勇磨、日比野 柁、鈴木 和人、URBINA SANCHEZ Gerardo Augusto、大 唐澤 昌之、榊原 えりか、河内 奈緒美、児玉 侑朔、林 哲子、松本 彩香、米村 開、上田 花、安山 成基、柴田 将成



Watanabe et al, J. Biol. Chem., 286, 29941 (2011)

金属蛋白質と係わって40年



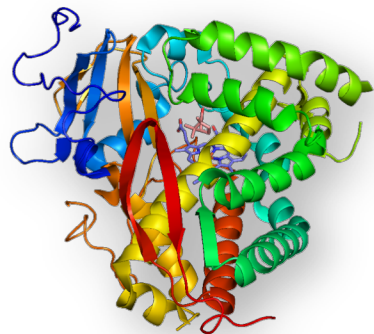
- 1976 東北大学理学部化学科 卒 -----
- 1982 筑波大学化学系 博士 -----
- 1982 Michigan大 博士研究員 -----
- 1985 Princeton大 主任研究員 -----
- 1987 慶応大学医学部 助手 -----
- 1988 工業技術院化学技術研究所 主任研究員 -----
- 1990 京都大学工学部分子工学専攻 助教授 -----
- 1994 分子科学研究所 教授 -----
- 2002 名古屋大学 教授 -----
- 2009 同 副総長兼務
- 2012 同 理事・副総長

有機化学

酵素の
モデル錯体

ヘム蛋白

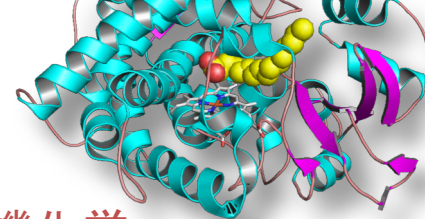
有機金属酵素



渡辺先生は、飽きっぽいのですか？ それとも、組織と上手く付き合うのが下手なのですか？



1976 東北大学理学部化学科 卒
1982 筑波大学化学系 博士



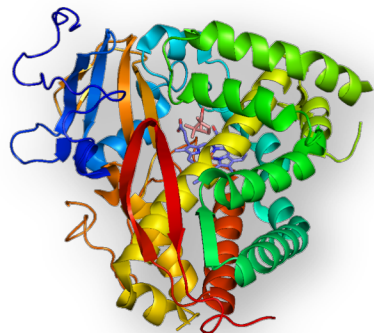
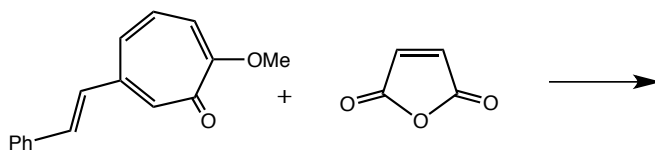
有機化学

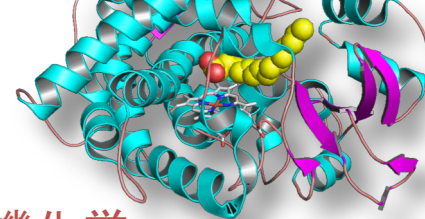
酵素の
モデル錯体

ヘム蛋白

有機金属酵素

東北大学 (1972入学) で卒研





1976 東北大学理学部化学科 卒 -----
1982 筑波大学化学系 博士 -----

有機化学

酵素の
モデル錯体

ヘム蛋白

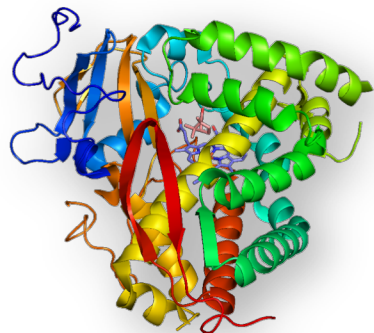
有機金属酵素

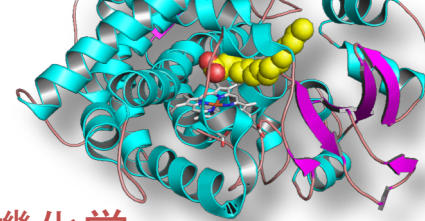
東北大学 (1972入学)

- ・ 1971年度後期、授業料値上げ反対で、全学ストライキ
後期試験の大量ボイコット

→ 大量の留年生 (1975年度の4年生数：約120名 (定員80名))

大学院定員 約35名 (現役4年生でから20名程度の合格)





1976 東北大学理学部化学科 卒

1982 筑波大学化学系 博士

有機化学

酵素の
モデル錯体

ヘム蛋白

有機金属酵素

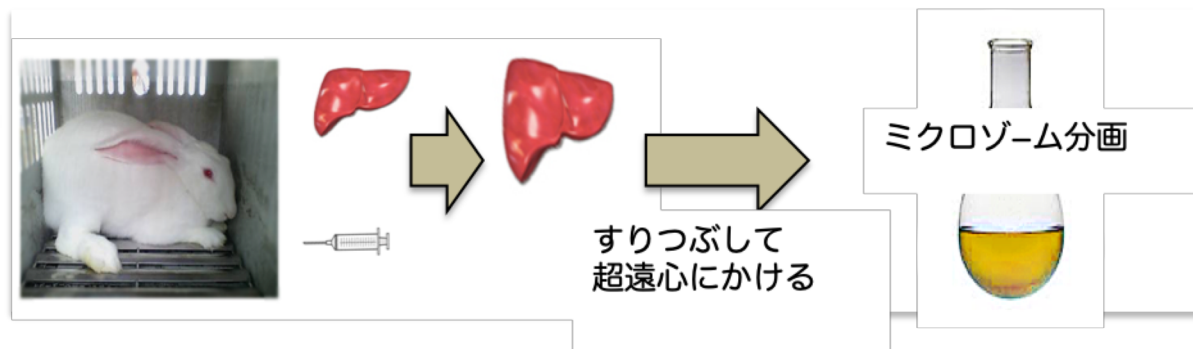
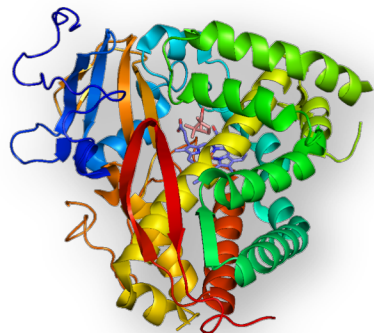
筑波大学へ

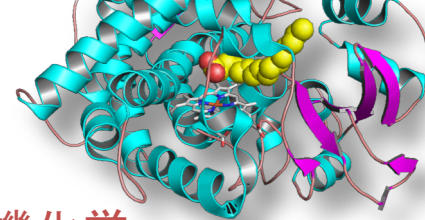
- ・化学業界の異端児 大饗茂の視線
- ・懐かしのスライド係
- ・海外ゲスト Derek Barton, E.J. Corey, Barry Sharpless



ヘム蛋白質・酵素 (P450) との出会い

- ・肝臓で有機化合物を酸化して代謝する酵素に、P450というのがあるそうだ。蛋白の中に鉄が入っている面白そうな酵素だ。医学部に井柳先生という助教授がいて、その研究をしているそうだ。渡辺君、ちょっと行って話を聞いてきなさい。





1976 東北大学理学部化学科 卒 -----

1982 筑波大学化学系 博士 -----

有機化学

酵素の
モデル錯体

ヘム蛋白

有機金属酵素

筑波大学へ

- ・化学業界の異端児 大饗茂の視線
- ・懐かしのスライド係
- ・海外ゲスト Derek Barton, E.J. Corey, Barry Sharpless



ヘム蛋白質・酵素 (P450) との出会い

- ・肝臓で有機化合物を酸化して代謝する酵素に、P450というのがあるそうだ。蛋白の中に鉄が入っている面白そうな酵素だ。医学部に井柳先生という助教授がいて、その研究をしているそうだ。渡辺君、ちょっと行って話を聞いてきなさい。

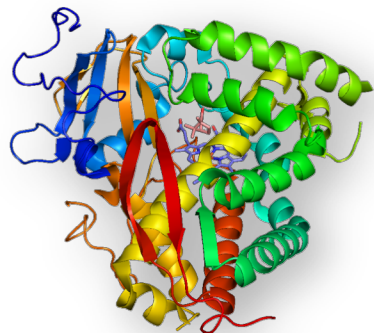
→ 構造も作用機構も良く分からない。

P450のモデル研究で論文を数報出していたミシガン大学のGroves教授に手紙を書く。

「ポスドクに雇ってもらえませんか？」

手紙を出してから2週間たらずでOKの返事。

これが人生の大きな起点になる。



1982 Michigan大 博士研究員

1985 Princeton大 主任研究員

(1982-87)



酵素の
モデル錯体

ヘム蛋白

有機金属酵素



全国中継されるカレッジフットボール



9万収容のミシガン大学スタジアム

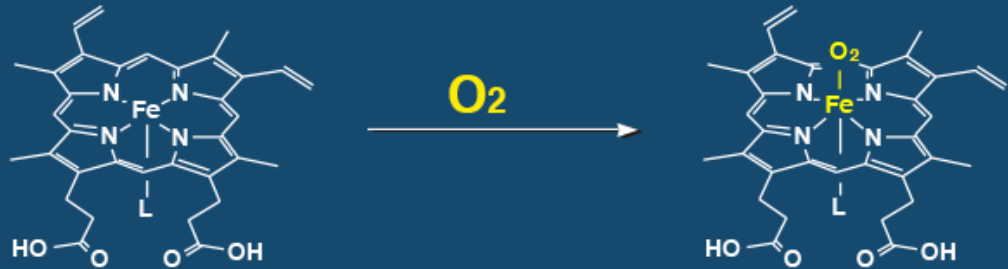
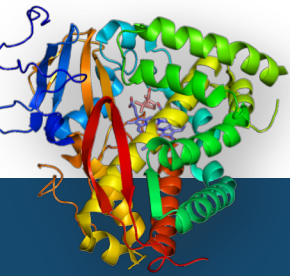
ミシガン・プリンストン時代

- ・自分の研究に必要なものは全て購入
- ・常識の違い
- ・Drの学生が自分のコスト意識を持っている
- ・ポスドクは、独立後の研究計画をポスドク時代に温める

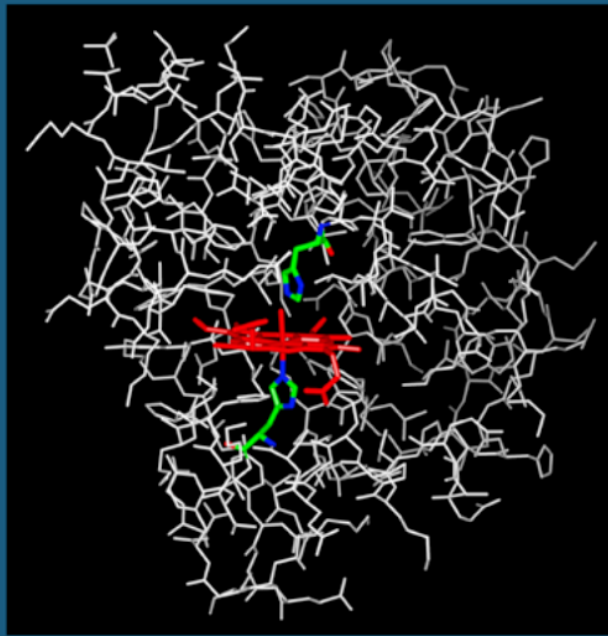


岩波新書139の表紙

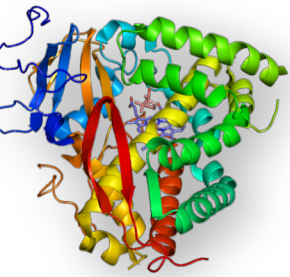
ヘム蛋白質の生体機能



ミオグロビンの結晶構造

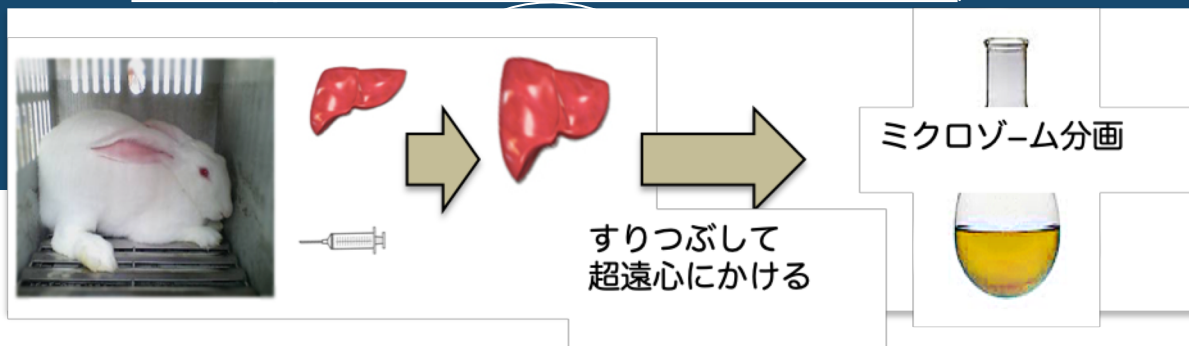
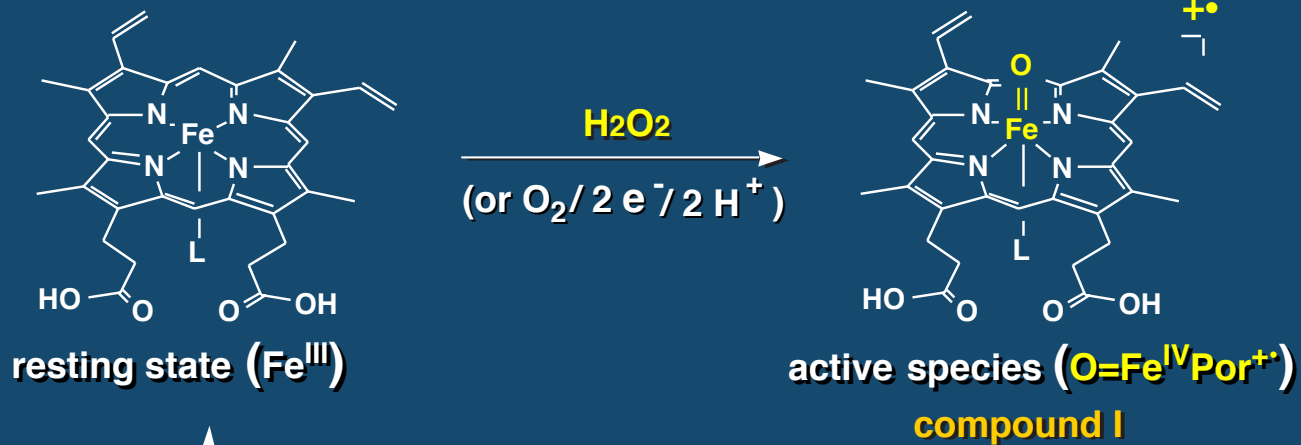


酸素の運搬・貯蔵	ヘモグロビン・ミオグロビン
呼吸	シトクロームオキシダーゼ
一原子酸素添加反応	シトクロームP450
過酸化水素の活性化	ペルオキシダーゼ
過酸化水素の分解	カタラーゼ
一酸化窒素の合成	NO合成酵素
一酸化窒素の還元	NO還元酵素
ヘムの分解代謝	ヘム酸化酵素
センシング	FixL, CooA 等



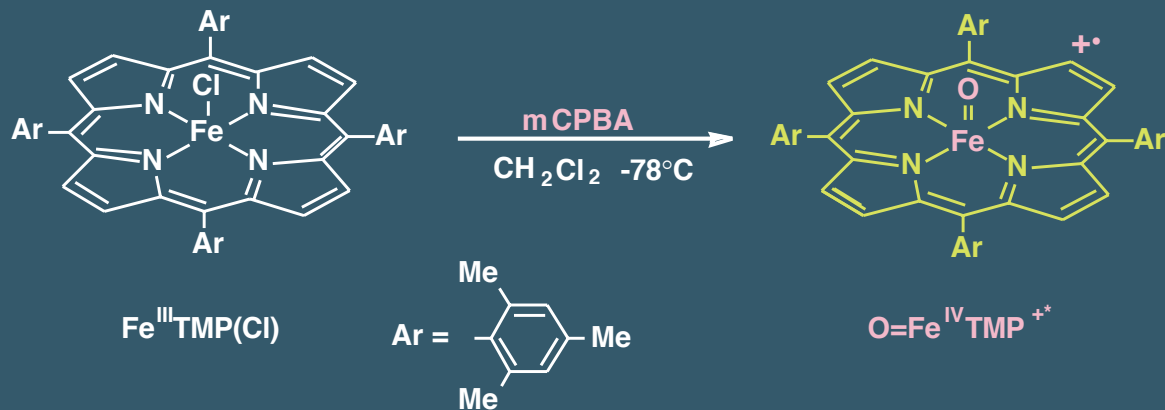
Compound I が重要な活性種

Enzyme	Function
Peroxidase	Oxidation
Catalase	Dismutation of H ₂ O ₂
P-450	Monooxygenation





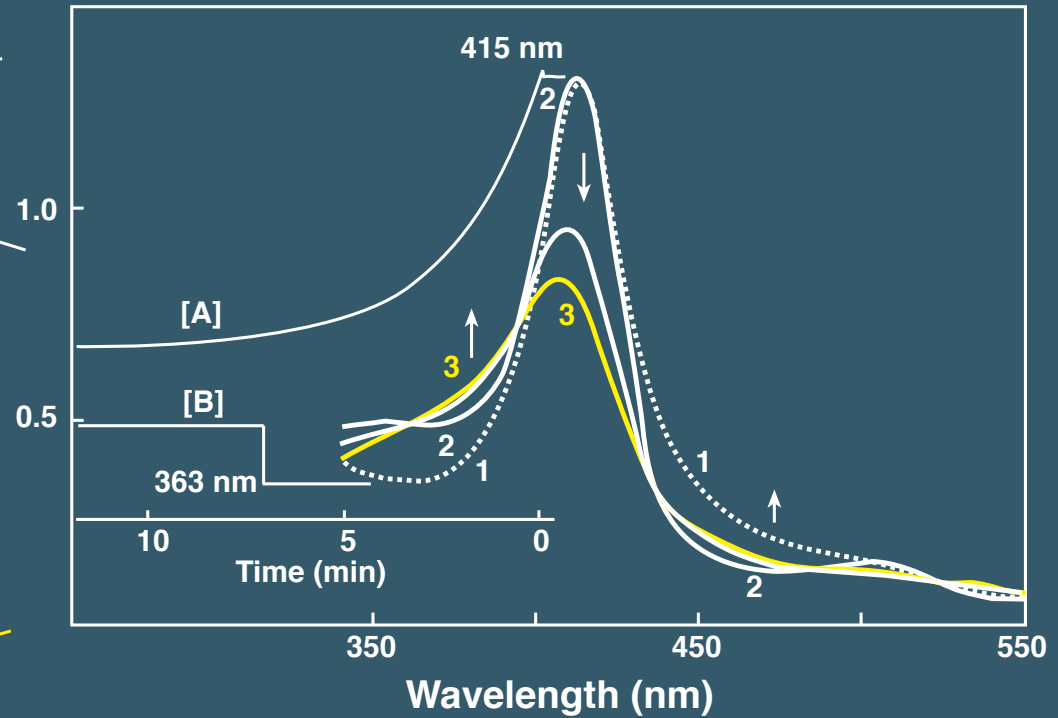
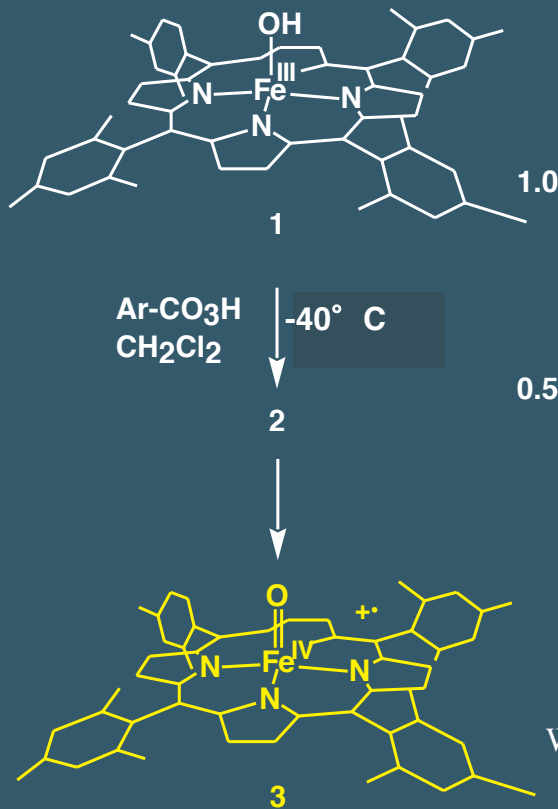
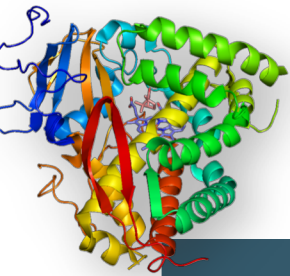
Compound Iの最初のモデル化合物 Groves教授の論文



Groves, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2884.

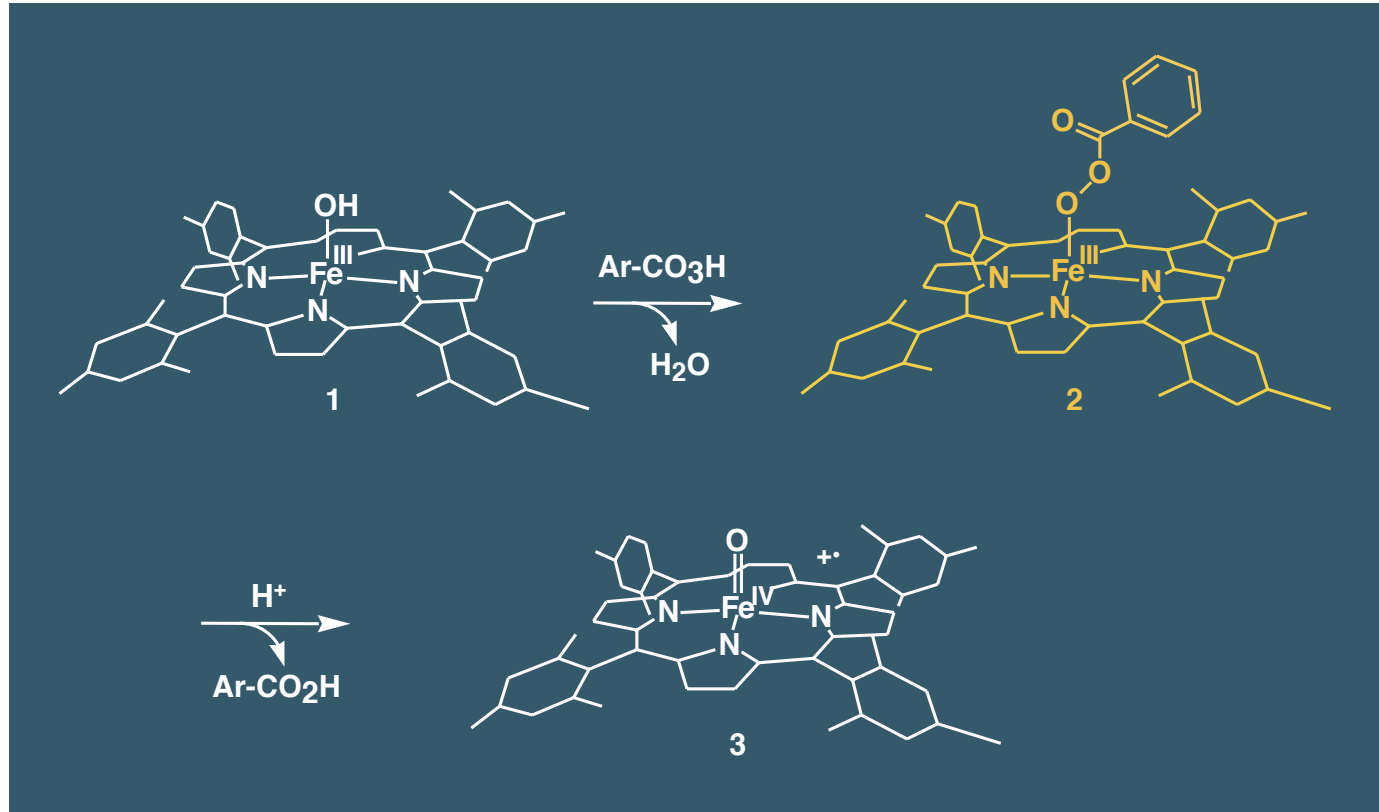
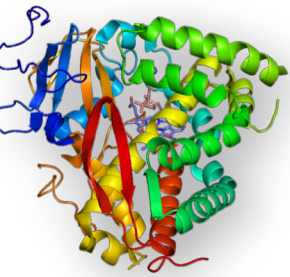


JT Groves (Princeton U)

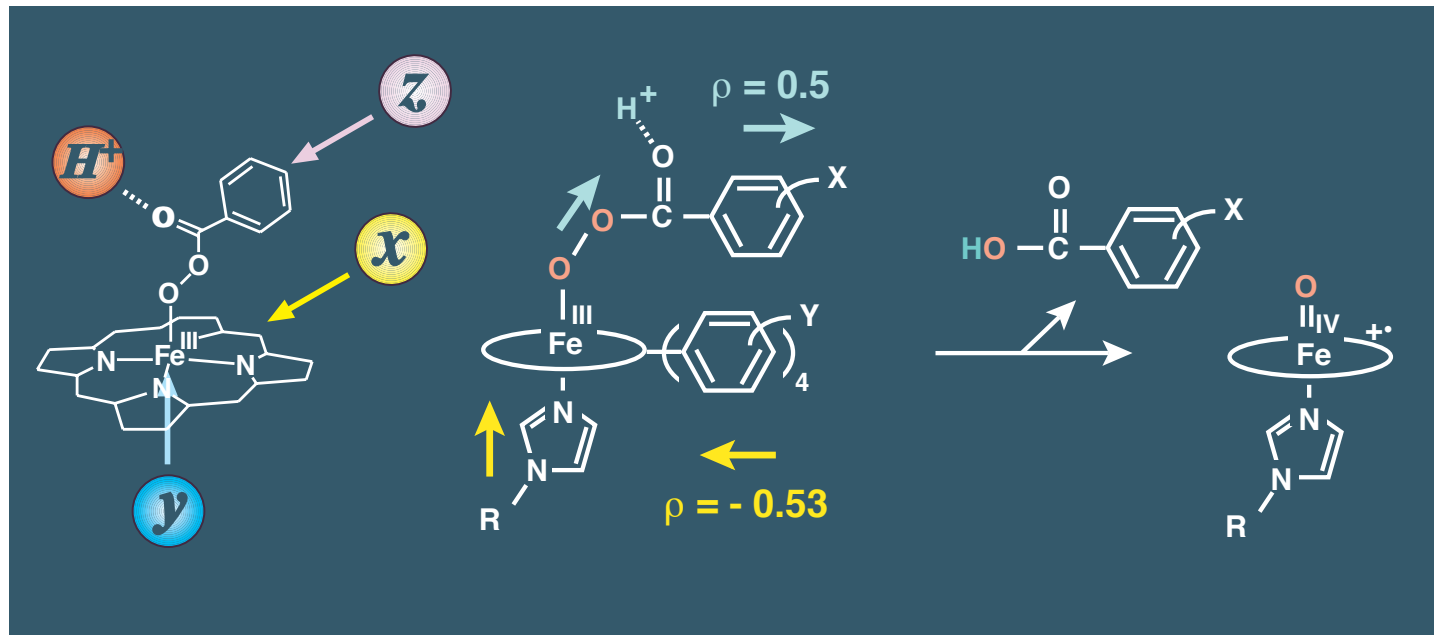
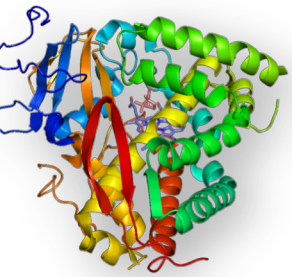


Watanabe et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7834 and **1988**, *110*, 8443.

アメリカ時代の研究成果-1



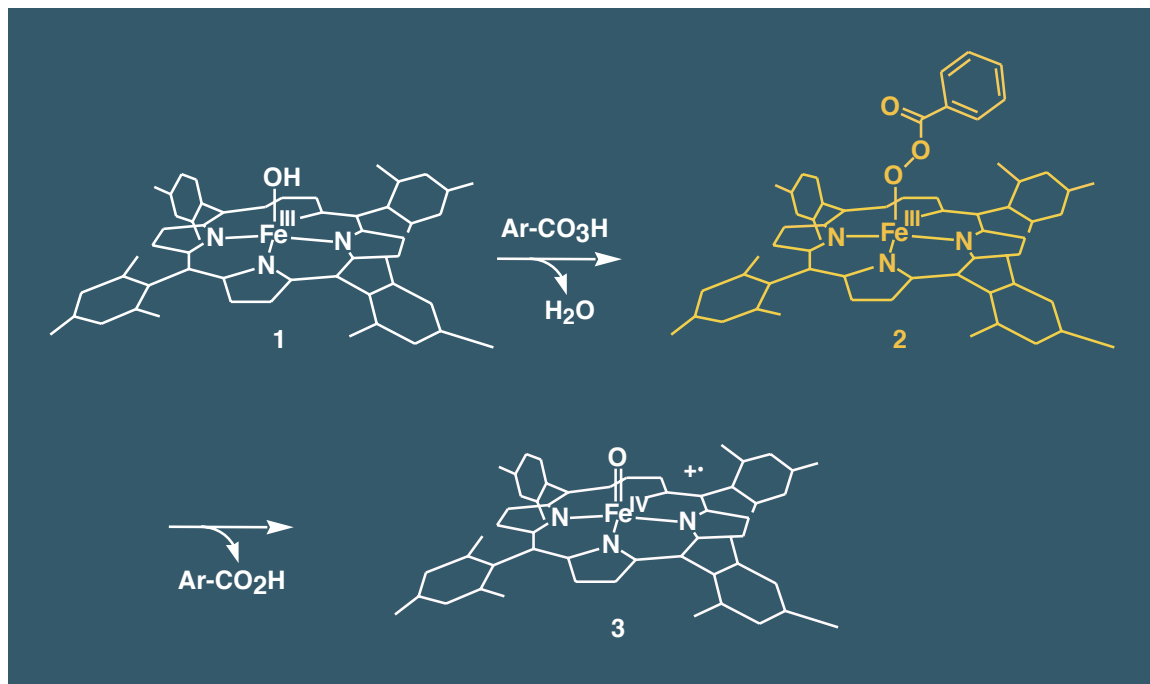
アメリカ時代の研究成果-2



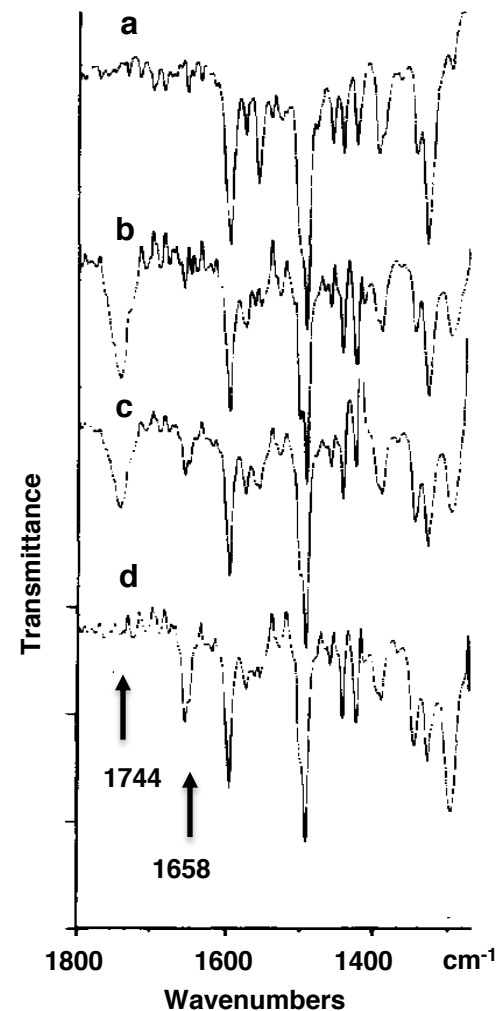
Groves教授から学んだこと

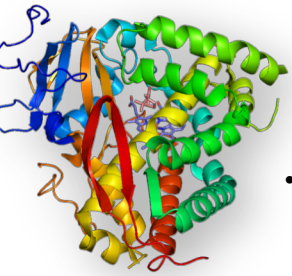


- トップジャーナルへの投稿 (審査委員よりもボスを説得する方が難しい)
推論の段階では投稿しない 実験的な証拠 (三つの異なる方向からの確信)
- 三年間寝かされた研究結果 (NIHやNSFへのResearch proposalは具体的?)
(米国滞在期間1982.4 - 1987.2)



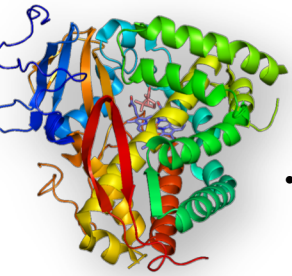
Watanabe et al., *Inorg. Chem.*, 26, 785-786, 1987





- ・ トップジャーナルへの投稿（審査委員よりもボスを説得する方が難しい）
推論の段階では投稿しない 実験的な証拠（三つの異なる方向からの確信）
- ・ 三年間寝かされた研究結果（NIHやNSFへのResearch proposalは具体的？）
（米国滞在期間1982.4 – 1987.2）

1. Groves JT, Watanabe Y, McMurry TJ, “*Oxygen activation by Metalloporphyrins. Formation and Decomposition of an Acylperoxomanganese(III) Complex.*” *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 4489-4490, **1983**.



- 初めての総説が シリーズで刊行されていた *The Enzymes*

約50ページの総説執筆は、英語で論文を書き上げる良い経験

当該分野で注目される単行本に著書として加わることにより、自分自身の研究も知られるようになる

- Y. Watanabe, J.T. Groves, "*Molecular Mechanism of Oxygen Activation by Cytochrome P-450.*" In: Boyer PD, Sigman DS, ed. *The Enzymes* vol 20, 405-452 (1992). New York: Academic Press.

1987 慶応大学医学部 助手

1988 工業技術院化学技術研究所
(1987-90)

主任研究員 -----

へム蛋白

有機金属酵素

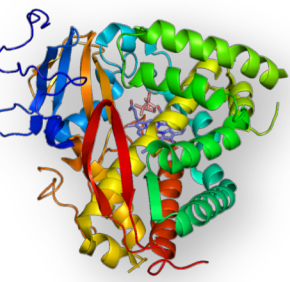
慶応大学医学部

- ・ 医化学教室 Department of Biochemistry :
医局制度を引きずっているので、
教授1、助教授2、講師3、助手3の大所帯
医博や生命系の教員の中に、化学者が一人 → 分子生物学の威力を知る
- ・ アメリカから持ち帰ったMacのソフトにみんなが驚き、多くの化学者が感染
(MS Word, ChemDraw, SuperPaint, etc)

工業技術院化学技術研究所 (現 産総研)

- ・ 「Macintoshによる科学論文の仕上げ方」
(講談社サイエンティフィック)
慶応病院 (信濃町) 産総研 (つくば)





Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 86, pp. 7823–7827, October 1989
Biochemistry

Uncoupling of the cytochrome P-450cam monooxygenase reaction by a single mutation, threonine-252 to alanine or valine: A possible role of the hydroxy amino acid in oxygen activation

(hemoprotein/peroxo intermediate/site-directed mutagenesis)

MICHIYO IMAI*, HIDEO SHIMADA*, YOSHIHITO WATANABE*, YUKO MATSUSHIMA-HIBIYA*, RYU MAKINO*, HIDEO KOGA†, TADA0 HORIUCHI†, AND YUZURU ISHIMURA*‡

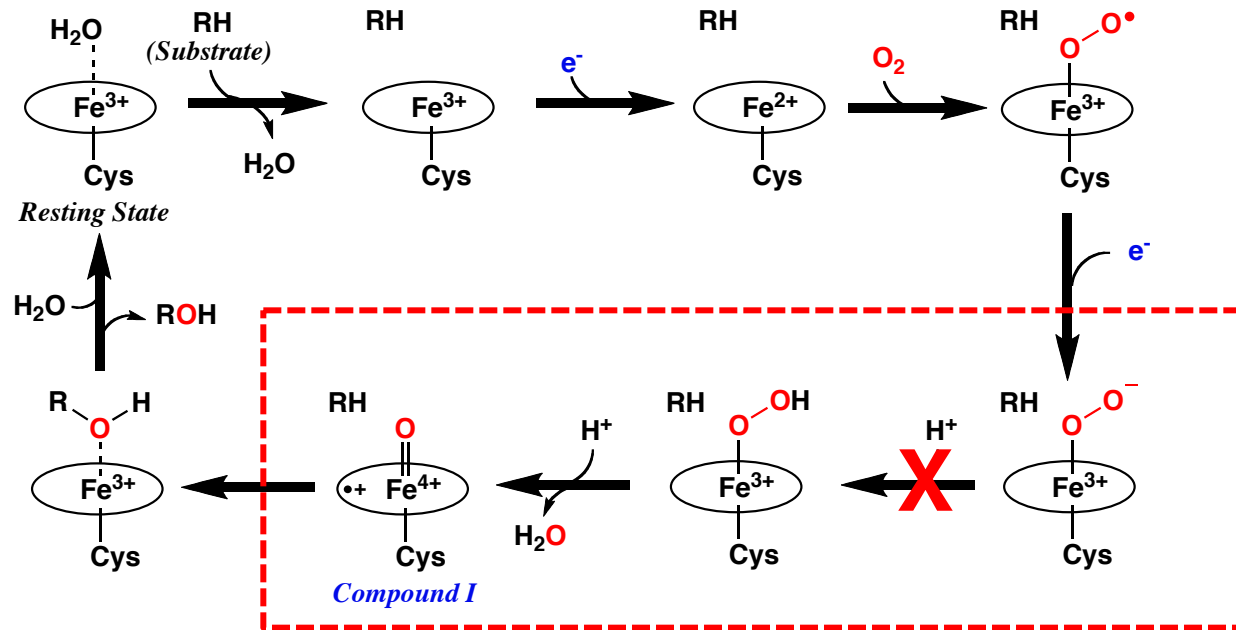
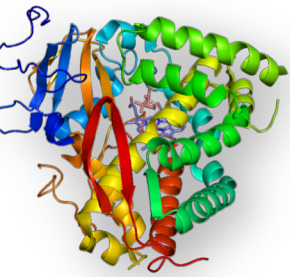
*Department of Biochemistry, School of Medicine, Keio University, Tokyo 160, and †Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan

Communicated by Ronald W. Estabrook, July 25, 1989 (received for review April 29, 1989)

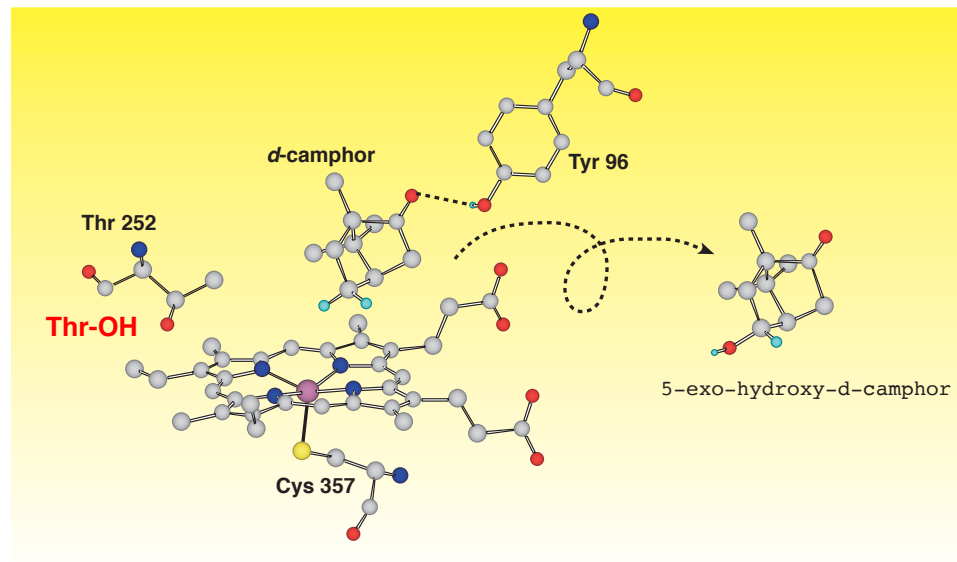


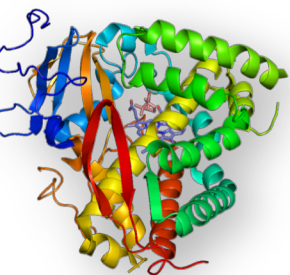
化学者である私をバイオの世界に誘った
石村 巽 教授
(慶応大学 当時)

酵素(P450)による反応機構



Thr 252
↓
Ala252, Val252, Ser252

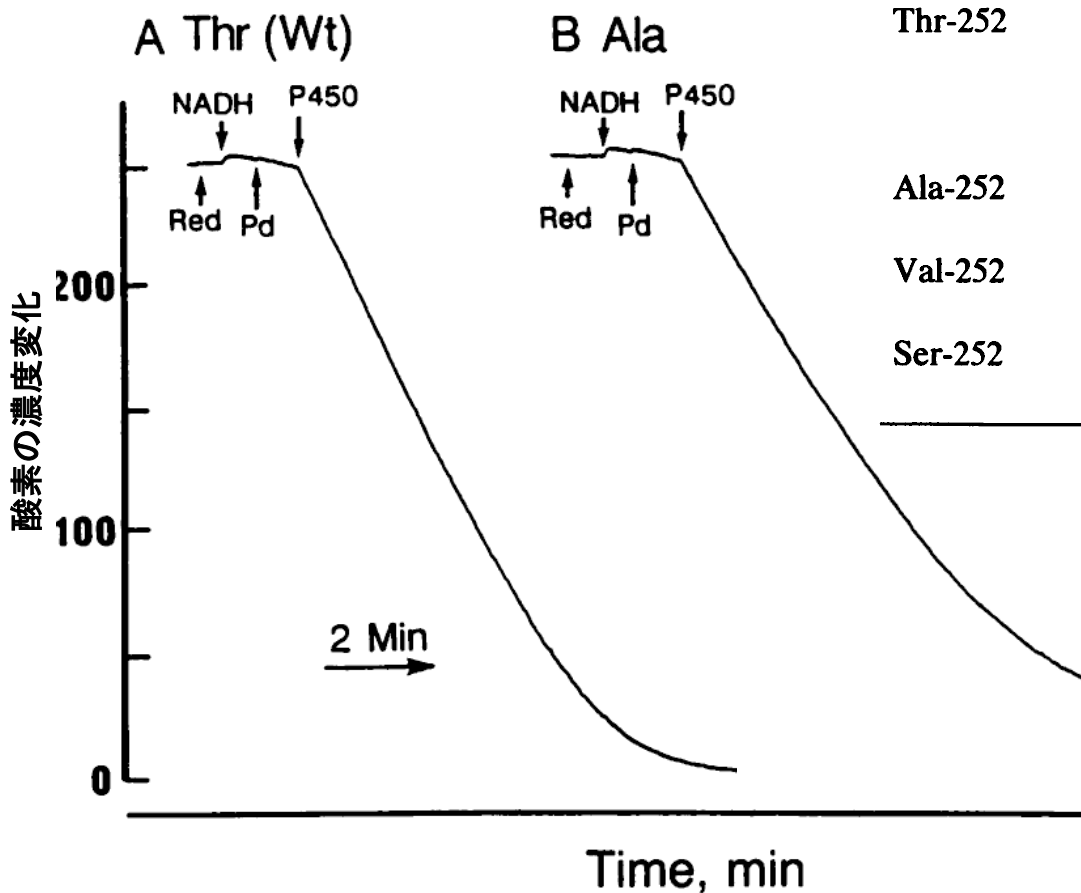




プロトン供給をブロックした酵素の研究

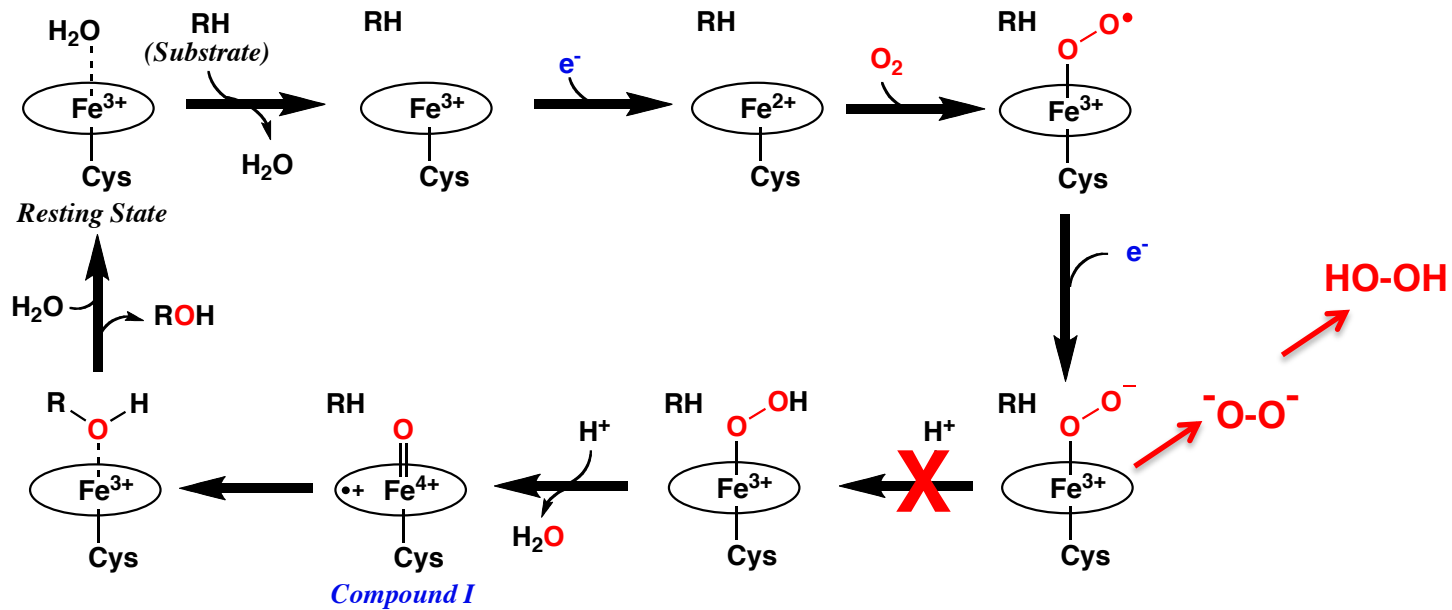
Table 1. Rate of oxygen consumption and the amount of products formed

P-450cam species	Catalase	O ₂ consumption rate, $\mu\text{mol per min per } \mu\text{mol of P-450cam}$	Product per O ₂ consumed, %	
			H ₂ O ₂	ROH
Thr-252	-	1370*	2*	100*
	-	1330 [†]	5 [†]	96 [†]
Ala-252	+	1330*		
	+	1300 [†]		
Val-252	-	1100	83	6
	+	640		
Ser-252	-	420	45	22
	+	300		
Ser-252	-	1100	15	81
	+	920		



M Imai, H Shimada, Y Watanabe, Y Matsushima-Hibiya, R Makino, H Koga, T Horiuchi, and Y Ishimura, "Uncoupling of the cytochrome P-450cam monooxygenase reaction by a single mutation, threonine-252 to alanine or valine: possible role of the hydroxy amino acid in oxygen activation" Proc. Nall. Acad. Sci, USA
Vol. 86, pp. 7825, October 1989
Biochemistry

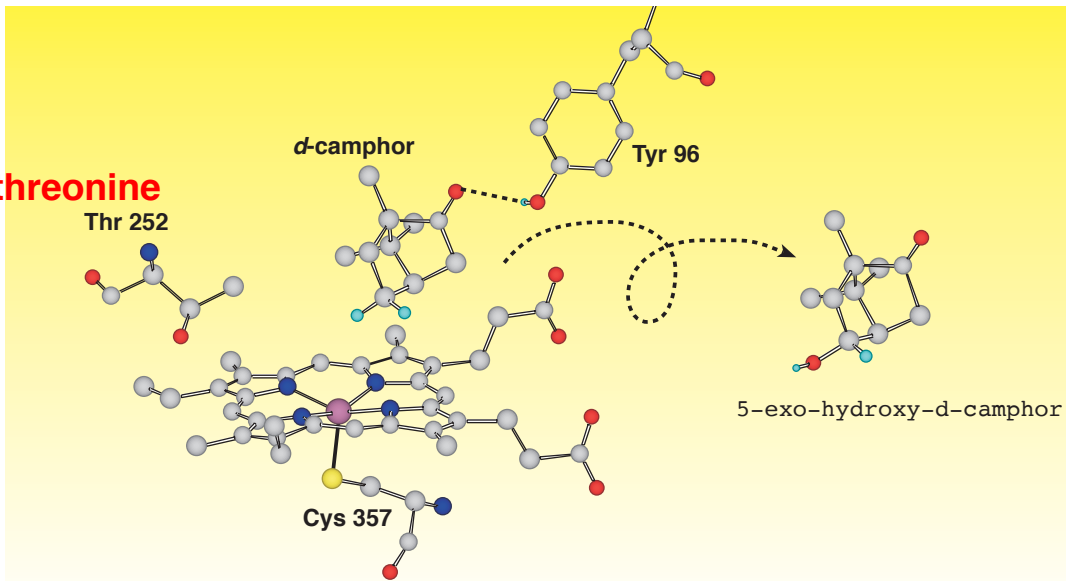
酵素(P450)による反応機構



Thr 252 **magic threonine**

↓

Ala252, Val252, Ser252





1990 京都大学工学部分子工学専攻 助教授
(1990-94)

へム蛋白

有機金属酵素

京都大学工学研究科・分子工学専攻

- ・ 森島績教授は金属蛋白質のNMRが専門（完全な物理化学）
- ・ 先代教授は、量子化学の米澤貞次郎先生（福井謙一 一門）。
米澤名誉教授がある日、「渡辺君、君がやっていることは、理論の僕にはさっぱり分らんが、好きにやって良いんだよ」と仰る。なんとうれしいお言葉！！
- ・ 森島教授「渡辺君、君らしい仕事をして、早く独立できるように頑張ってくれたまえ。」
(この考え方で、自分の研究室の若手教員を支援しているつもりなのですが・・・)



森島 績 教授
(京都大学 当時)

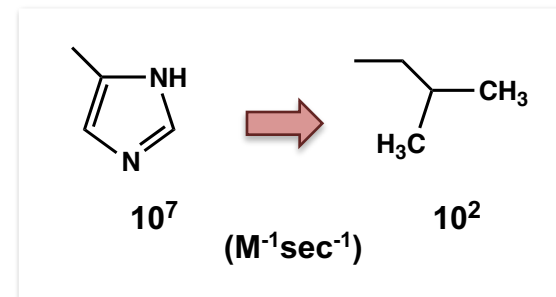
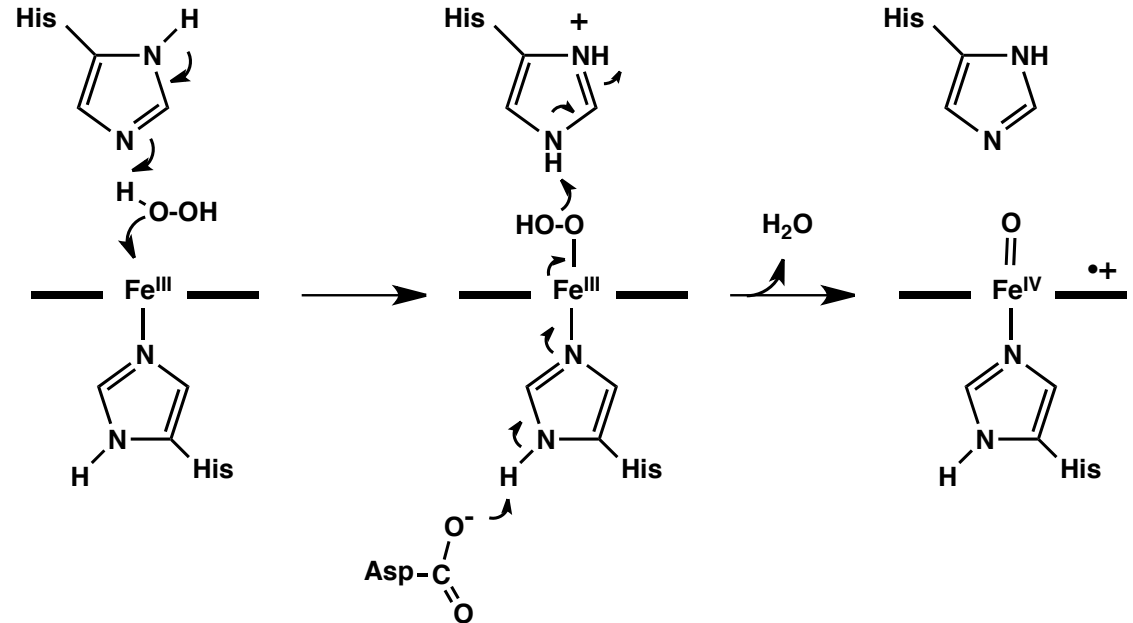
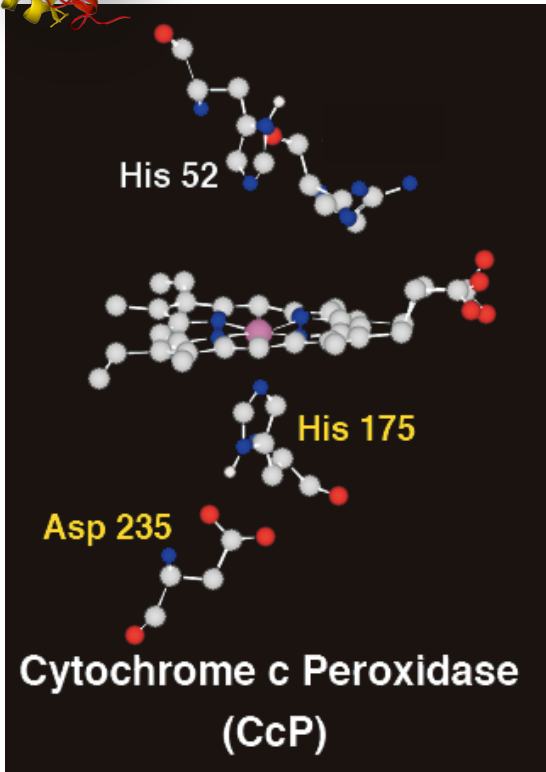
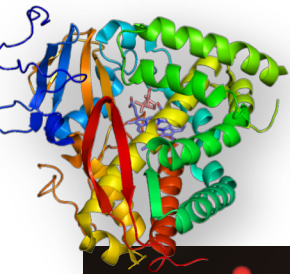
<http://www.jst.go.jp/kisoken/presto/complete/seimei/okatsu/index.html> 2019/4/8



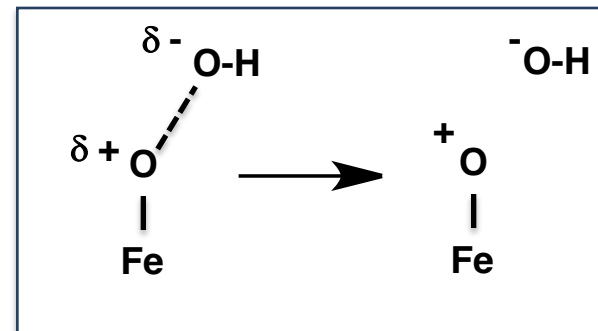
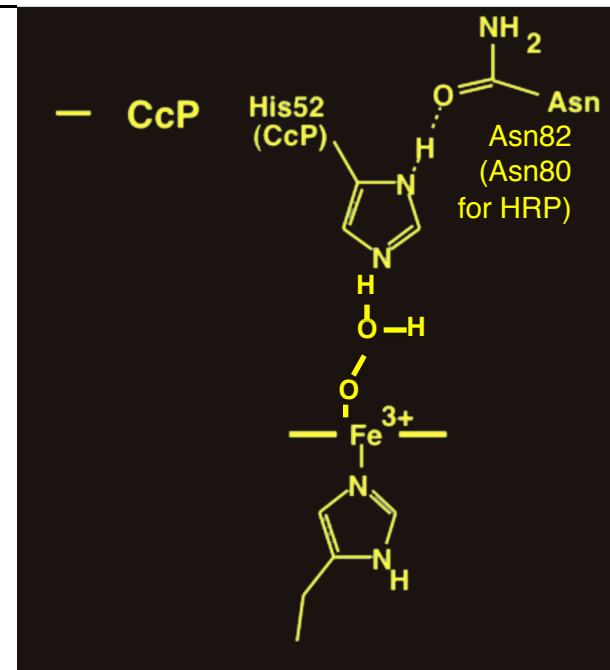
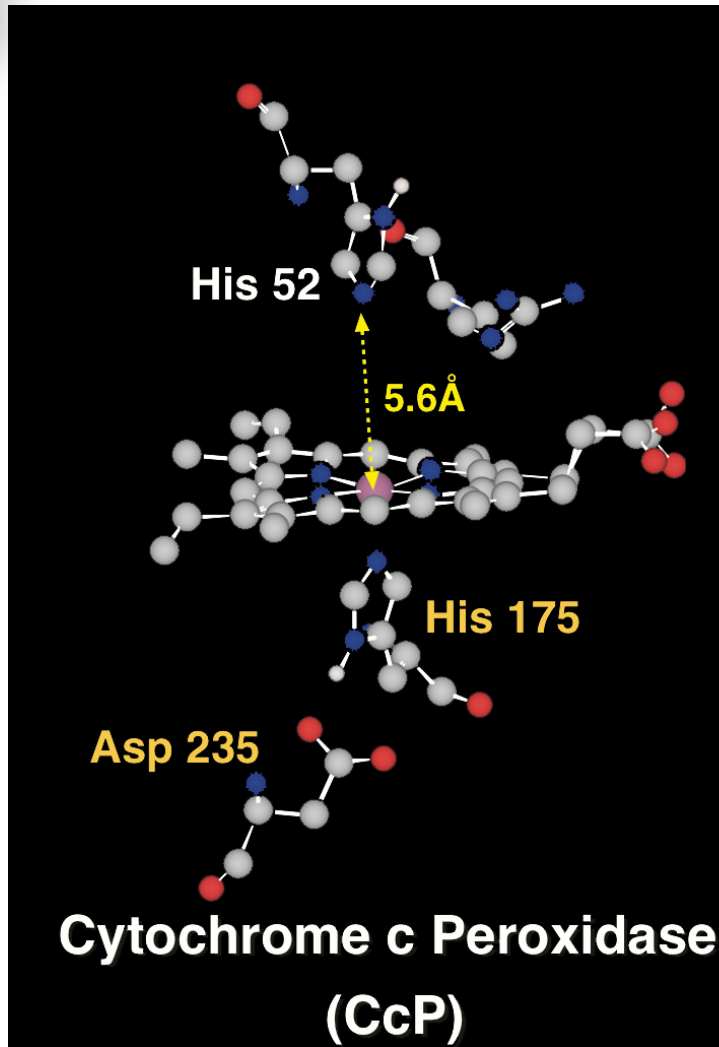
量子化学入門 (上)
(化学同人)

<https://www.amazon.co.jp/dp/4759800972> 22019/4/8

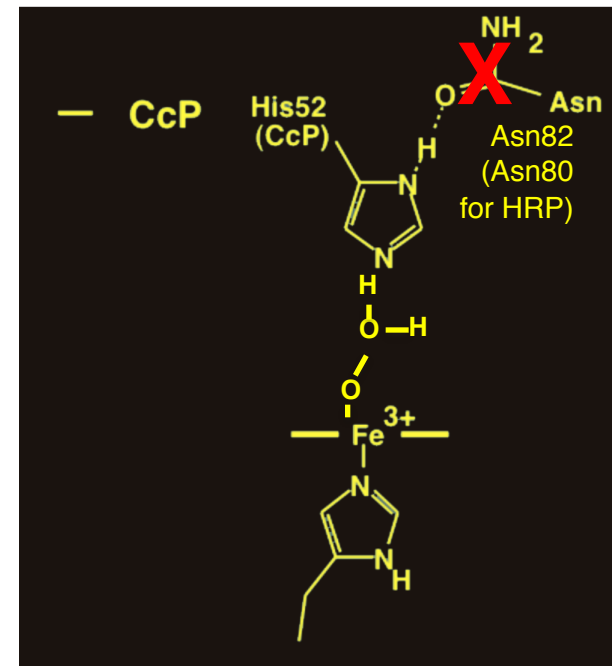
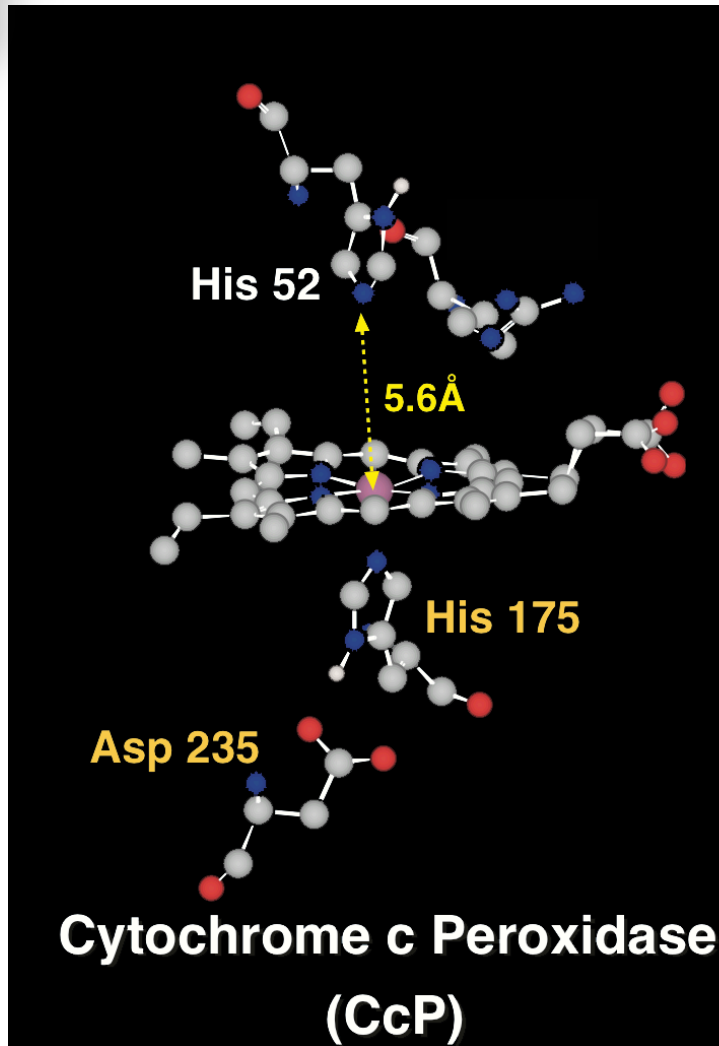
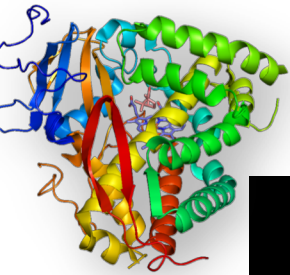
酵素反応にはプロトンが重要な役割を果たしている



アミノ酸間でプロトン供給のネットワークを構成



アミノ酸間でプロトン供給のネットワークを構成



挑戦: プロトン供給ネットワークを壊す

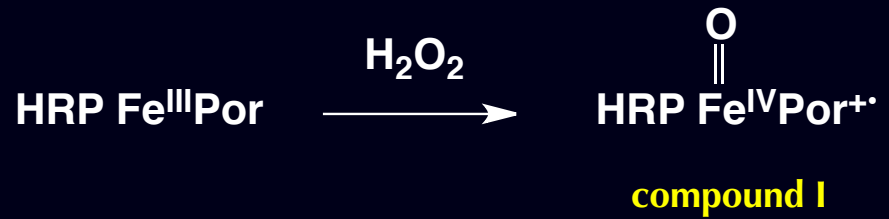
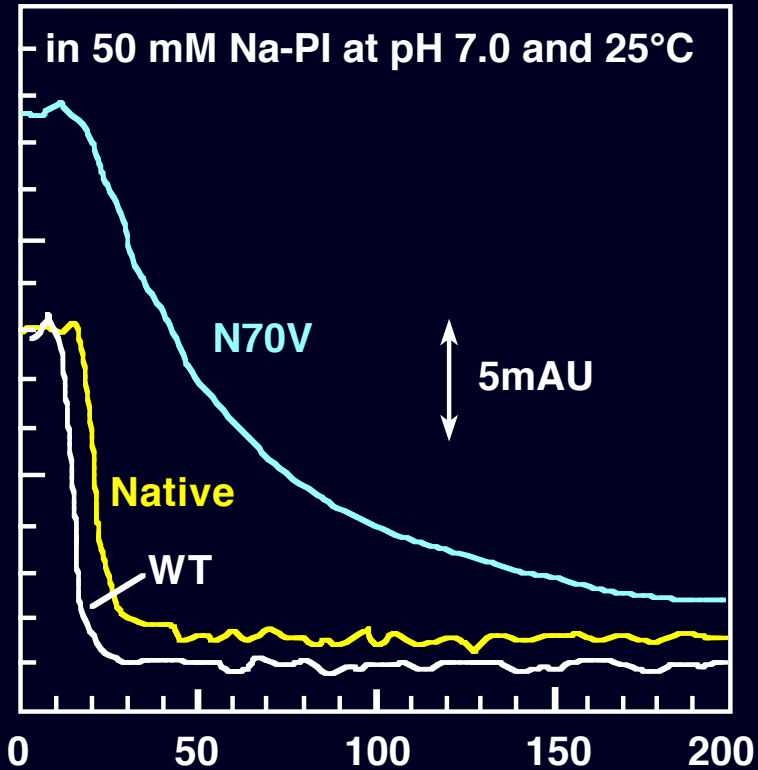


Asn80 in HRP was replaced by Val to terminate the hydrogen bond

活性種精製速度が1/20に激減



[HRP] = 2 μ M [H₂O₂] = 20 μ M



実際の酵素を使って、反応に重要なアミノ酸を除いたり、適切に配置することで反応を制御できることを実感

1994 分子科学研究所 教授
(1994-2002)

へム蛋白

有機金属酵素

分子研に移動

・面接では、色々なことが頭をよぎり、緊張。以下が実況中継：

- ・何人候補者が呼ばれているか良く分からない状況で、プレゼンと面接（控え室で約1時間待機。別な候補者がプレゼンをして居るのだろうと想像）
- ・公募分野は「**相関領域研究系**」：初代は、構造有機化学で有名な岩村秀教授。僕のような蛋白質化学は、公募時点で受入を想定していないのでは？ という不安が頭をかすめる。
- ・分子科学研究所は物理化学研究のメッカ。
ビッグネームの集まりなので、面接では、ガラにもなく緊張する（面識のある教員は、ほんの数名。他は全て研究分野が違うので、全く認識できず。研究計画に厳しい質問を受ける）。



岩村秀 教授

<https://www.chem-station.com/chemist-db/archives/2010/12/-hiizu-iwamura.php>



[http://ww1.tiki.ne.jp/~tanabe-
yo/tanabe/FujiFilm/InstMolecularScience/InstMolecularScien
ce1.html](http://ww1.tiki.ne.jp/~tanabe-
yo/tanabe/FujiFilm/InstMolecularScience/InstMolecularScien
ce1.html) 2010/4/8

分子科学研究所（岡崎）

1994 分子科学研究所 教授
(1994-2002)

分子研に移動

・分子科学研究所に赴任して、所長であった伊藤光男先生からのお言葉:

「君は、蛋白質のミューテーションなどをやっているから、DNAシークセンサーなんかも使うらしいが、決して、基礎生物学研究所や生理学研究所の装置は使わないようにしてくれよ。分子研でそんな装置が必要な研究が始まったというのは、ちょっと・・・だね。(どうやら、岡崎の三研究所では、研究分野の棲み分けをしているらしい?)

・錯体化学分野の田中晃二教授の一言:

「君とGrovesの仕事はすごいと思うけど、君の論文からGrovesの研究の引用がなくなるまでは、君の研究とは認めないからね」 → 「Groves研の仕事の続き(モデル錯体による研究)は、評価しないよ!」という意味です。これが、蛋白質を使う研究に集中するきっかけを作ってくれた。これが人生の二回目の大きな起点になる。

へム蛋白

有機金属酵素



伊藤光男先生の作品

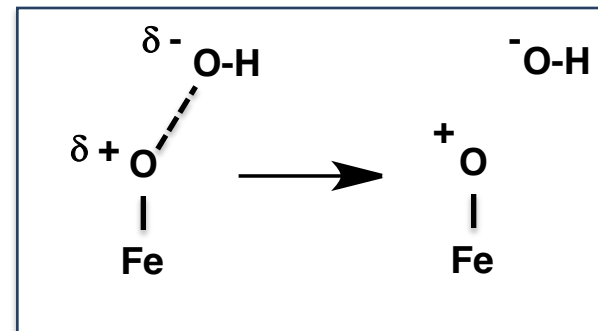
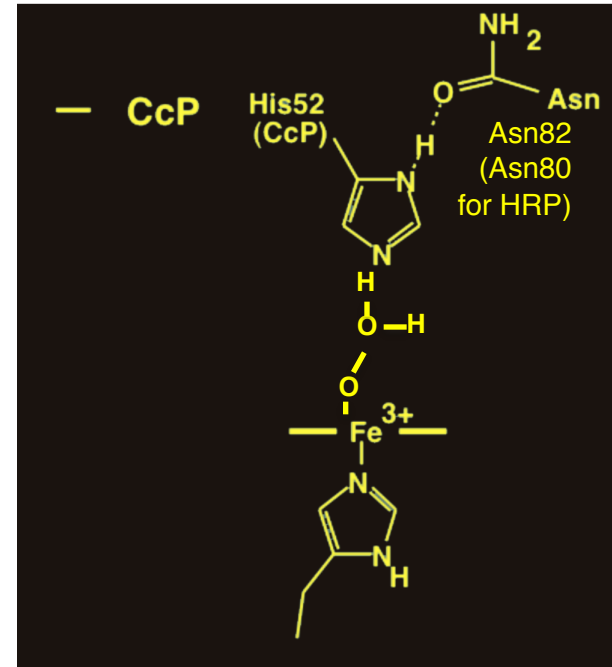
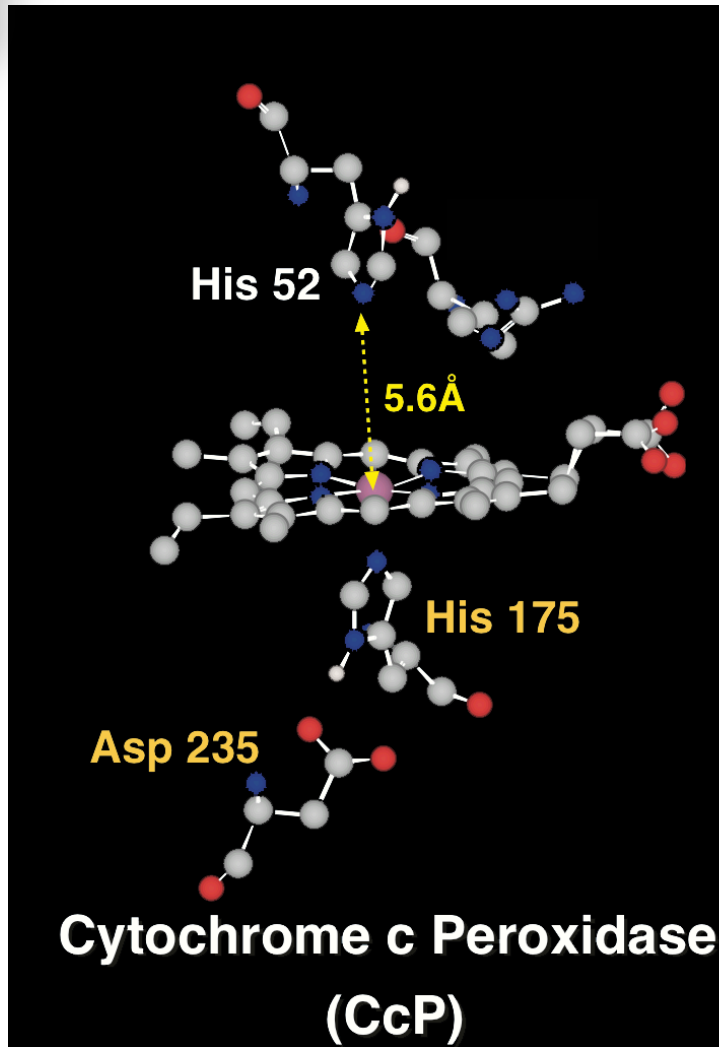
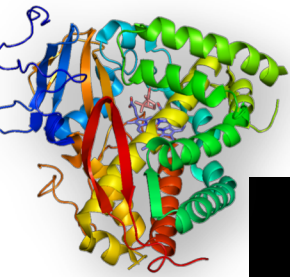


僕が全面的に信頼する田中晃二先生

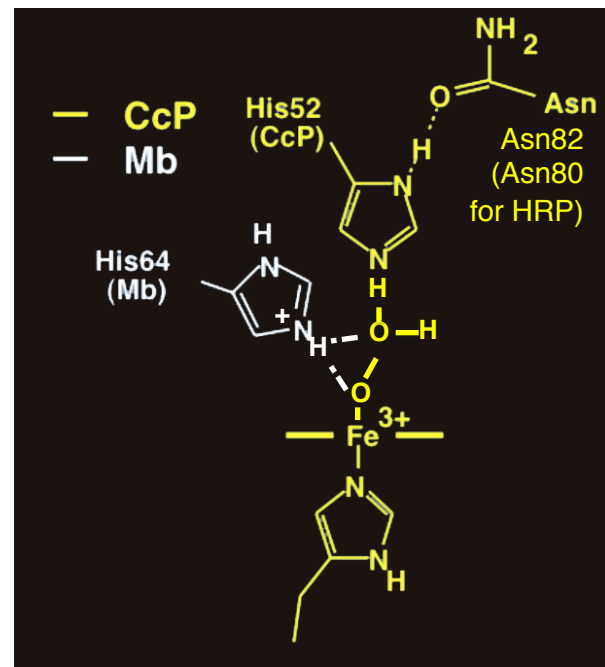
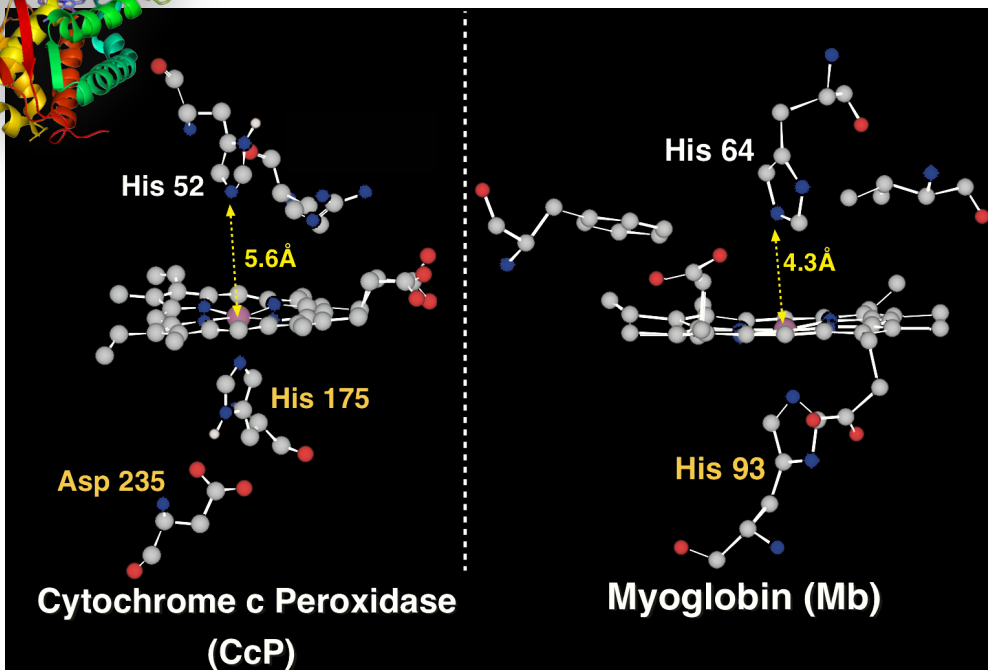
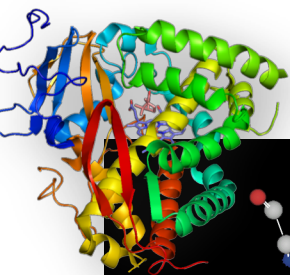
<https://www.ims.ac.jp/publications/letters56/502.pdf> 2019/4/12

https://www.ims.ac.jp/osanpo/tanaka/tanaka_2.html 2019/4/12

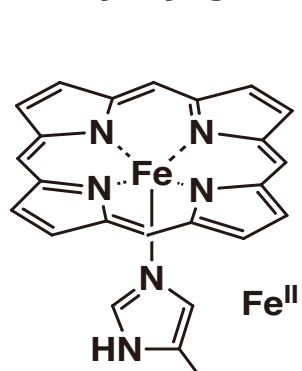
アミノ酸間でプロトン供給のネットワークを構成



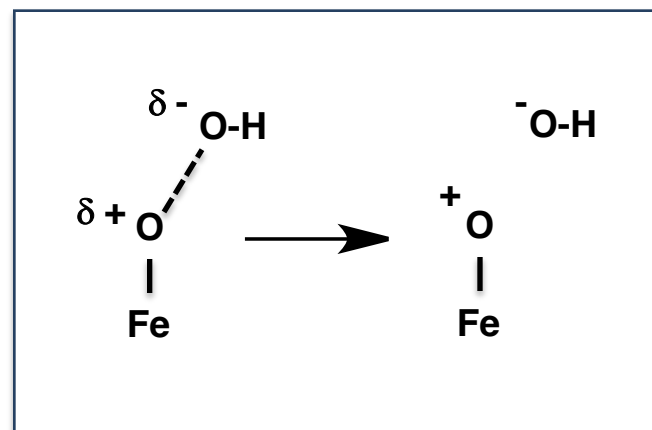
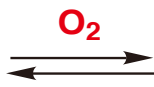
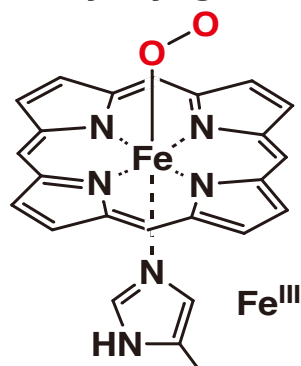
ミオグロビンとペルオキシダーゼの活性部位の比較

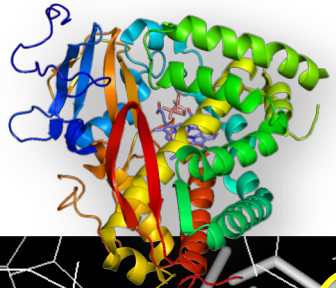


Deoxy-myoglobin

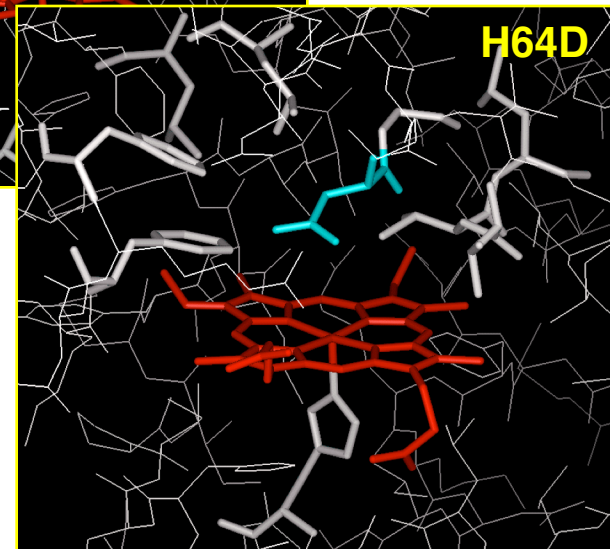
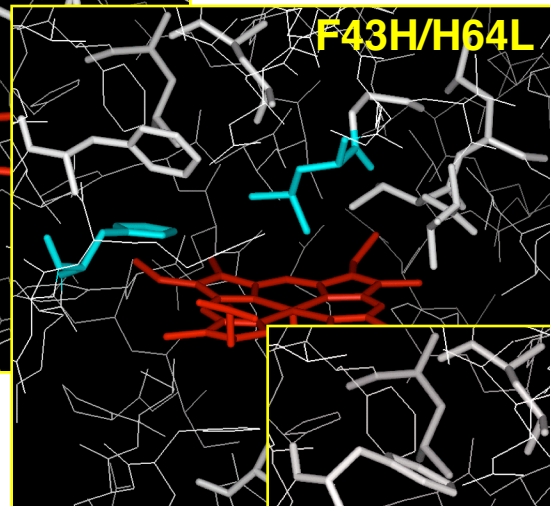
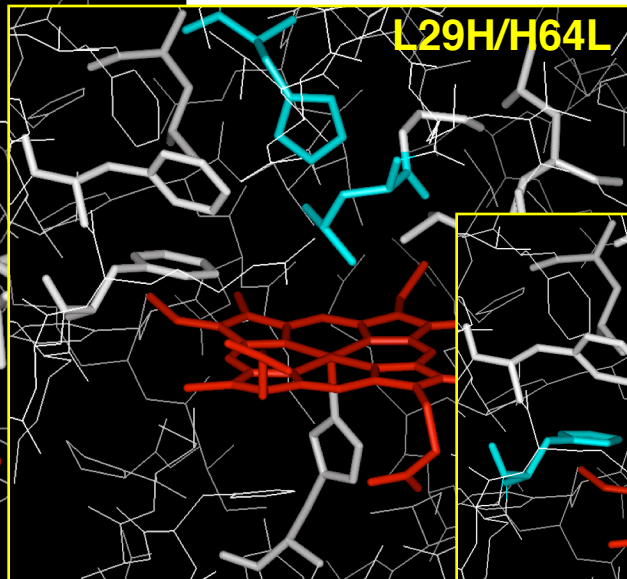
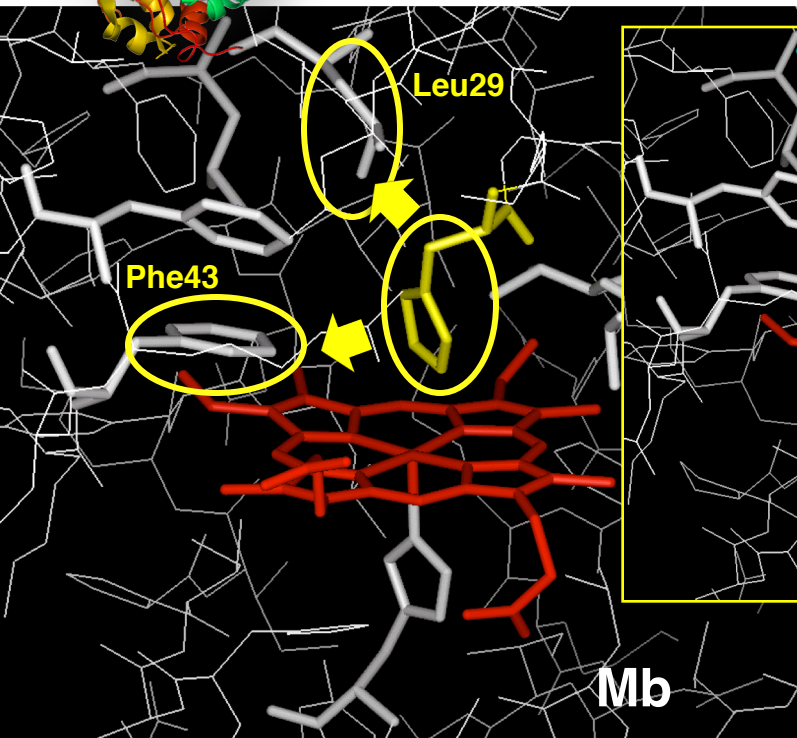


Oxy-myoglobin





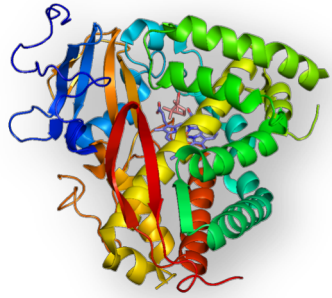
ミオグロビンにペルオキシダーゼ機能を賦与する 分子設計



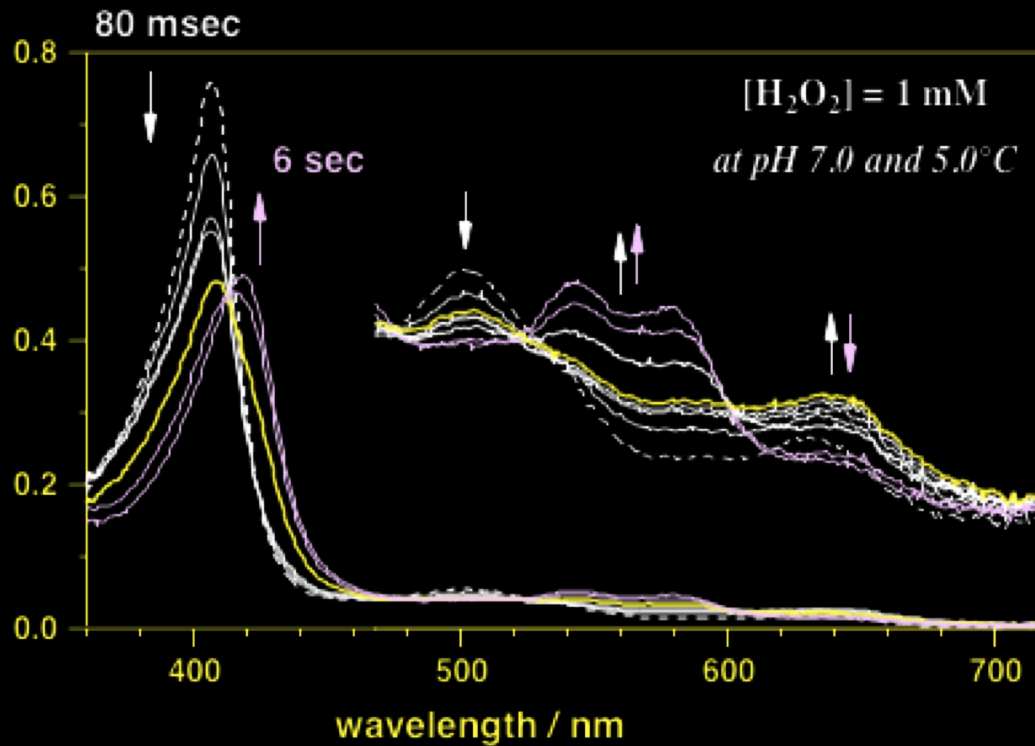
小崎 紳一
(現 山口大教授)

<http://www.agr.yamaguchi-u.ac.jp/member/ozaki/index.html> 2019/4/12

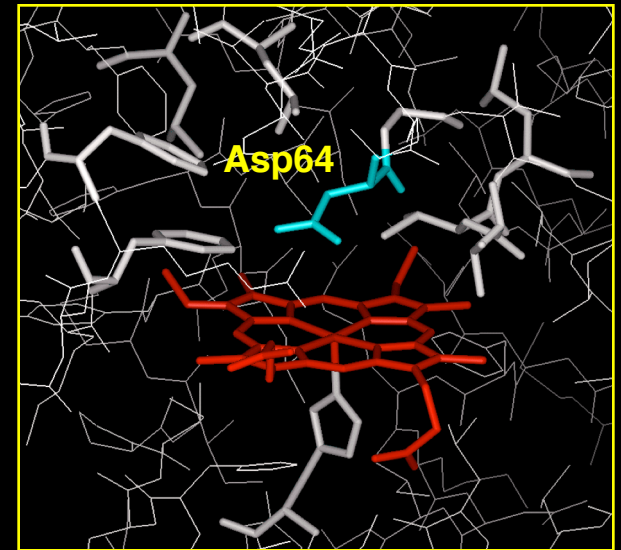
ミオグロビンで酸化活性種 Compound Iを観測

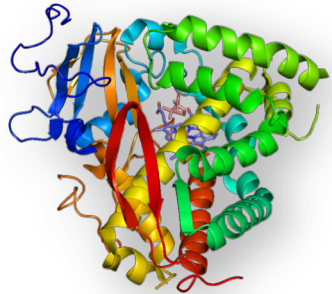


H64D Mb + H₂O₂

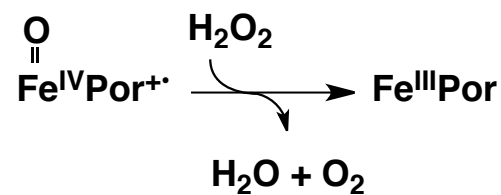
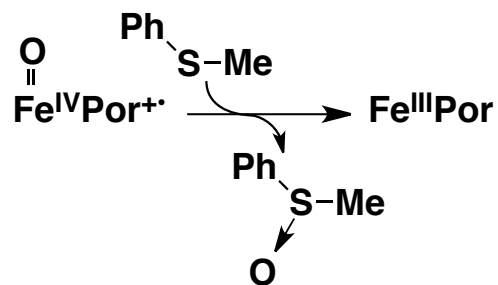
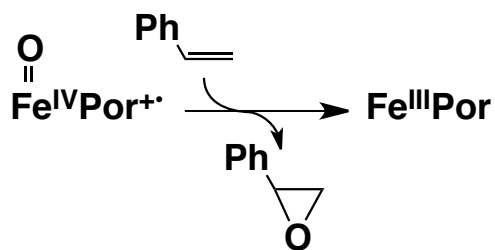
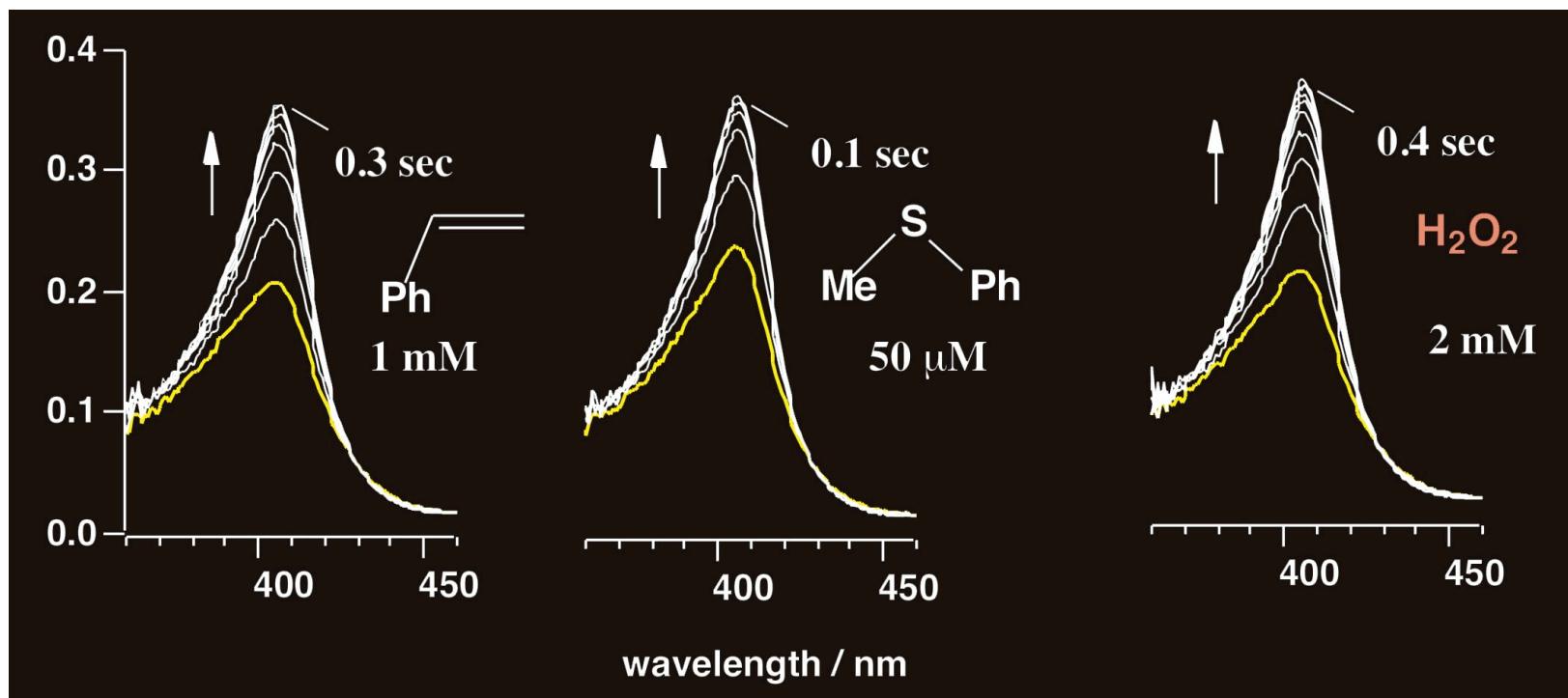


H64D Mb





ミオグロビン Compound I と有機分子の反応を 直接観測

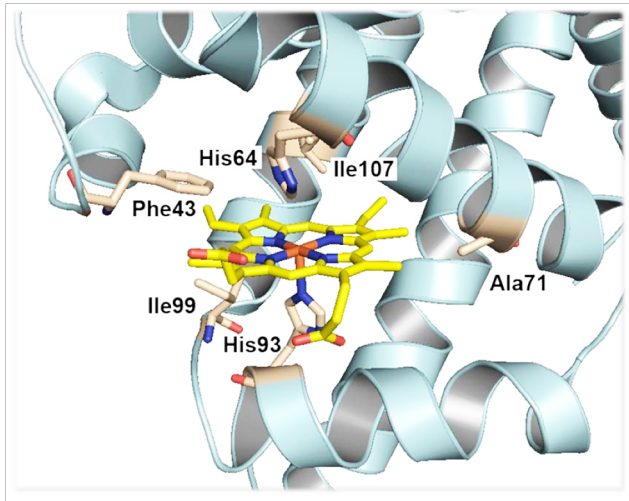


2001 名古屋大学 併任
2002 教授

野依先生は怖そうだったけど、僕の研究を応援してくれました。

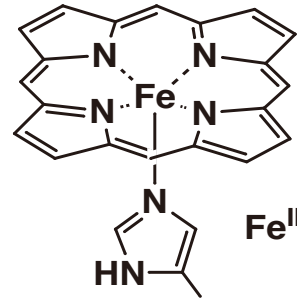
多謝



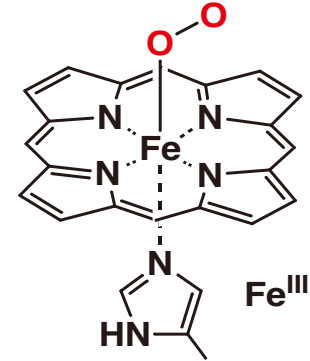


ミオグロビン (Mb)

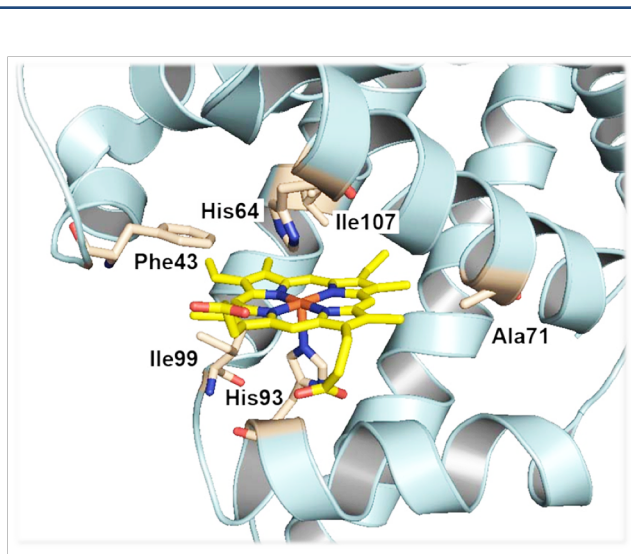
Deoxy-myoglobin



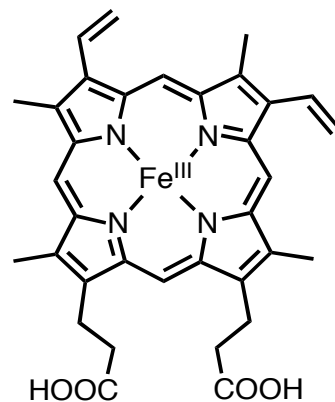
Oxy-myoglobin



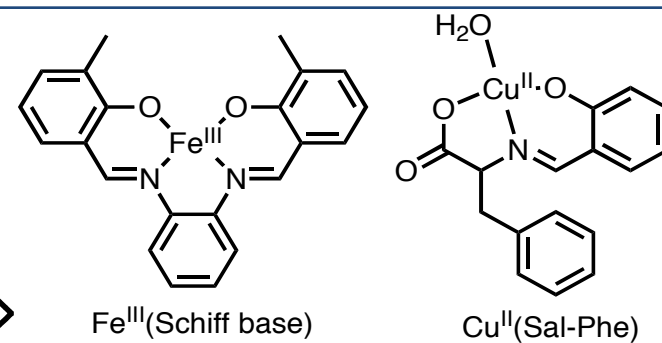
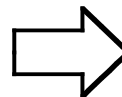
様々な金属錯体に置き換える



ミオグロビン (Mb)

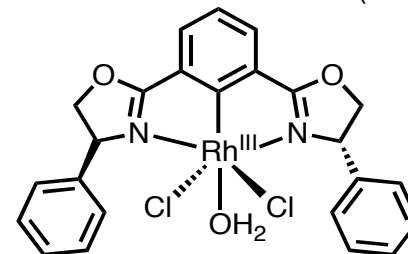


Heme



Fe^{III}(Schiff base)

Cu^{II}(Sal-Phe)

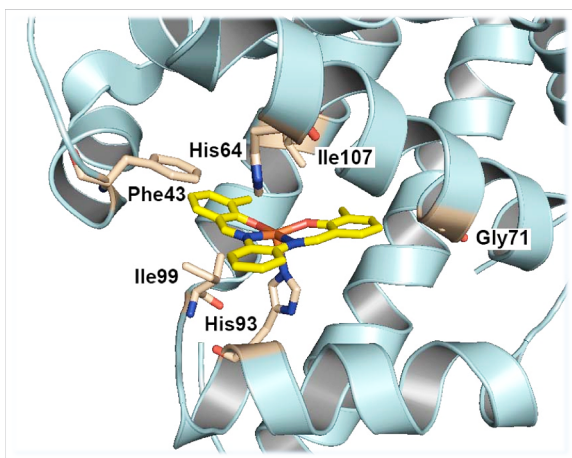
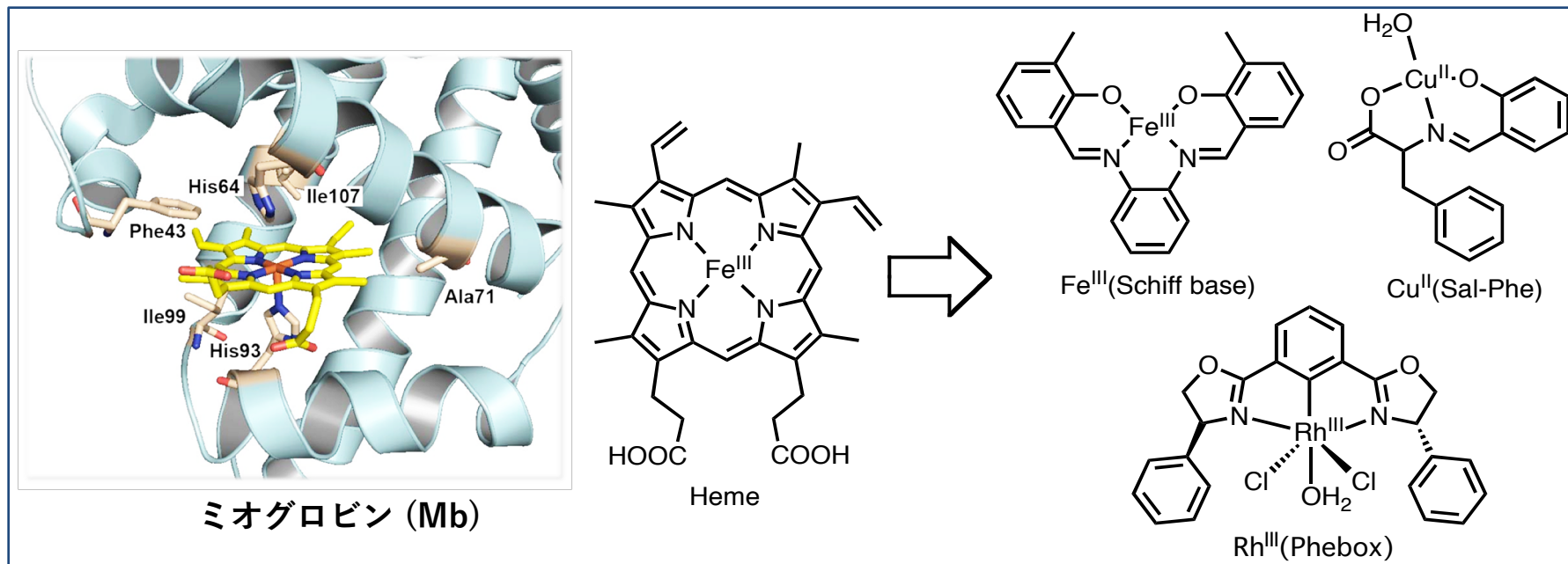


Rh^{III}(Phebox)

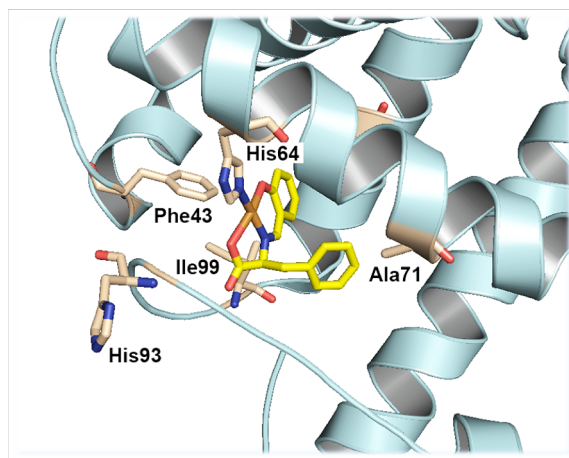


上野 隆史
(現 東工大教授)

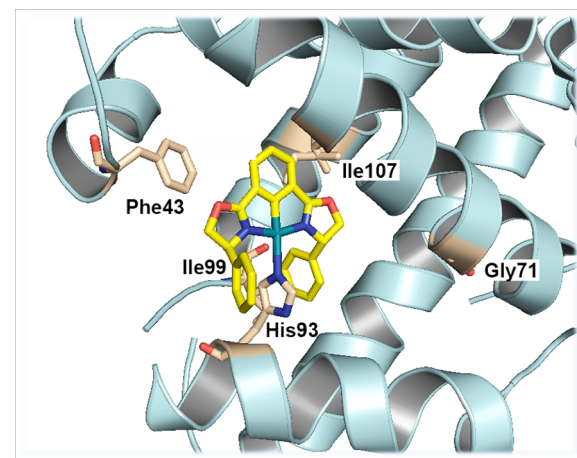
様々な金属錯体に置き換える



Mb·Fe^{III}(Schiff base)



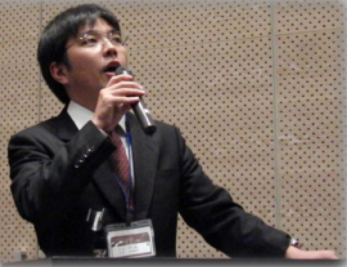
Mb·Cu^{II}(Sal-Phe)



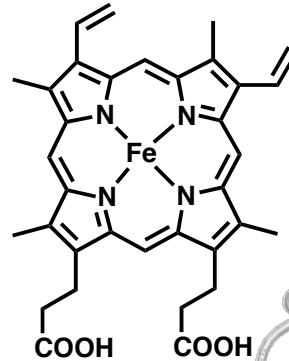
Mb·Rh^{III}(Phebox)

緑膿菌の Heme acquisition system (ヘム獲得システム)

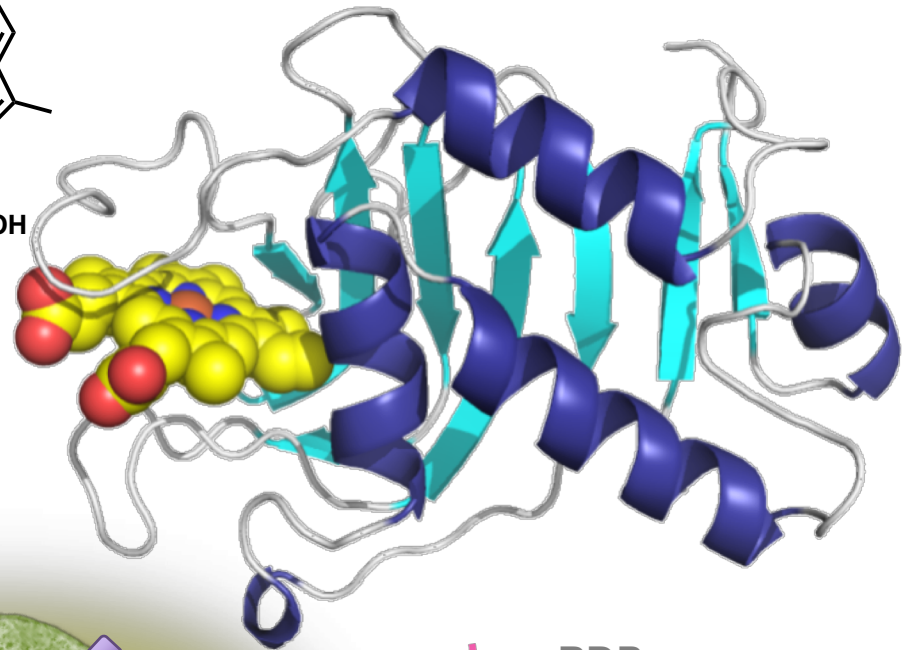
莊司 長三
(名大 准教授)



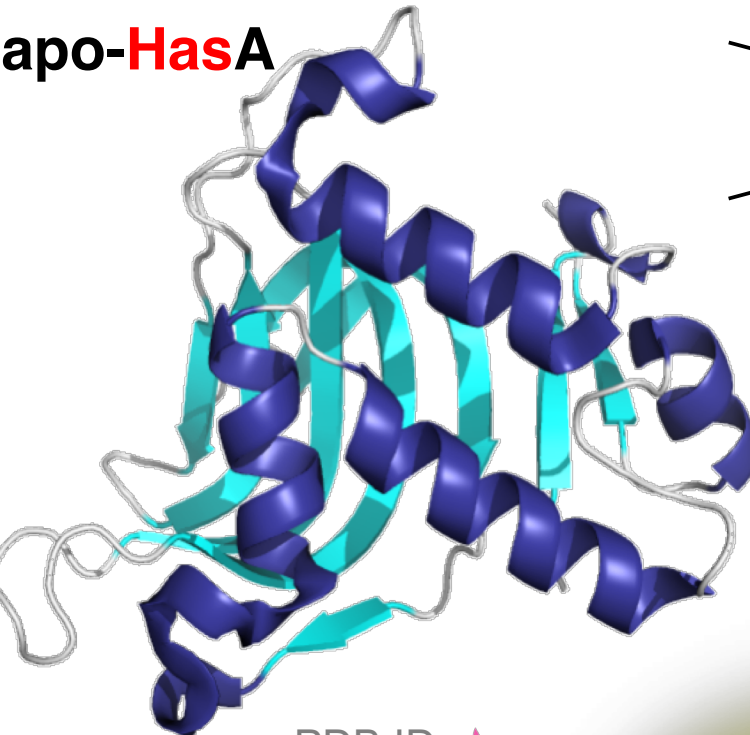
heme



holo-HasA

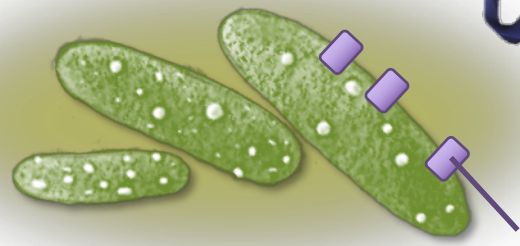


apo-HasA



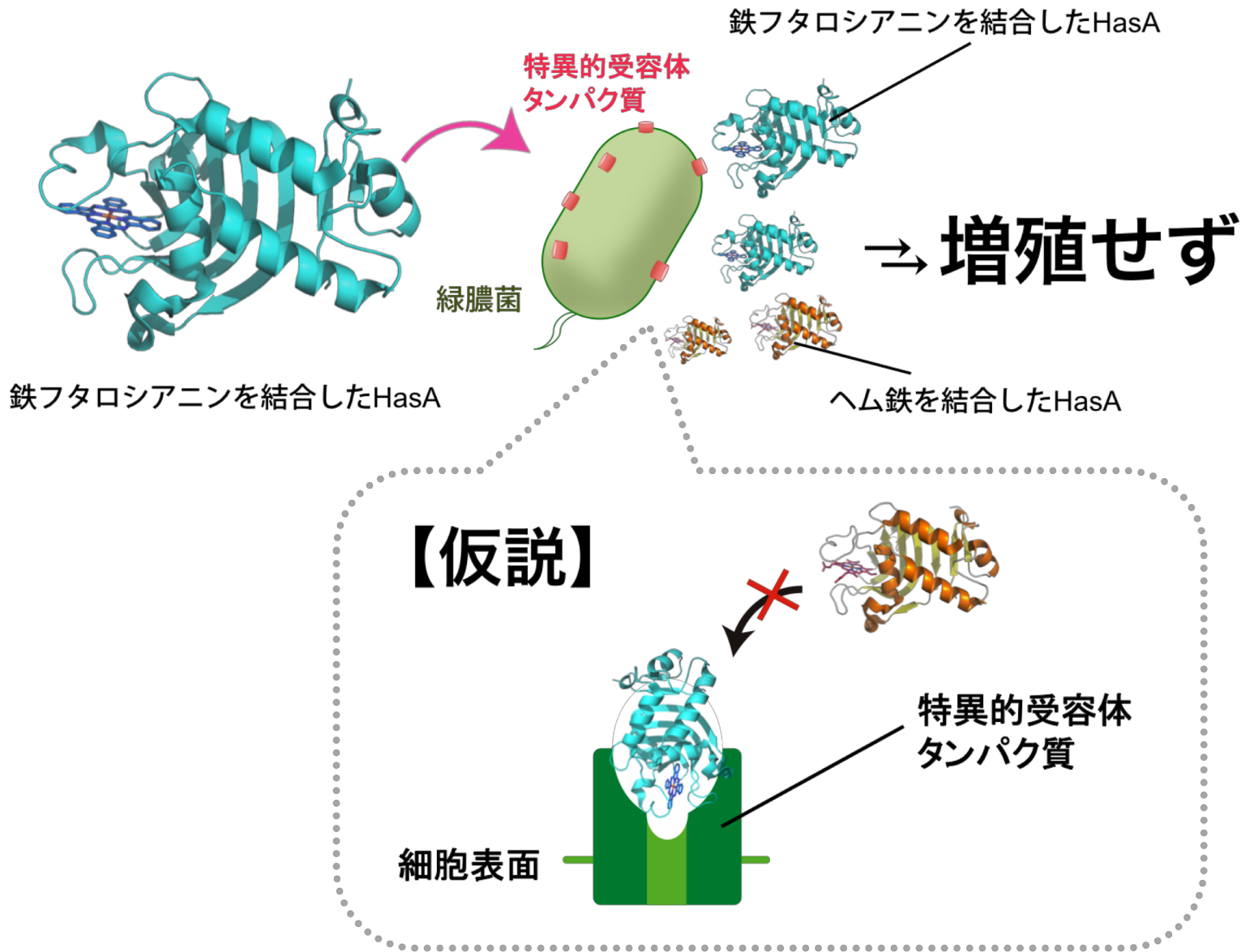
PDB ID:
3MOK

PDB
ID:
3ELL



緑膿菌

特異的レセプター (HasR)



緑膿菌のヘム鉄獲得システムの阻害

生活習慣病

高齢期

がん

女性

子ども

その他の病気 ▾

地域医療 ▾

健康 ▾


コラム ▾

企

[トップ](#) > 記事詳細

○ 名大リケジョ、菌と闘う

(2014年2月5日) 【中日新聞】 【朝刊】 【その他】

 この記事を印刷する おすすめ 151 ツイート 0 g+1 0

緑膿菌実験担当の白瀧さん

名古屋大大学院などの研究チームが、緑膿（りょくのう）菌の増殖を抑える研究成果を発表したのは1月28日。くしくも理化学研究所の小保方（おぼかた）晴子さん（30）が新たな万能細胞の作製を発表した日と同じだった。チーム7人のうち唯一の女性で大学院生の白瀧千夏子さん（28）は、時の人となった小保方さんの姿に「若手女性研究者の活躍する姿に勇気づけられた」と話す。（北島忠輔）

[【関連記事】 緑膿菌 抗生物質使わず増殖抑制](#)

6年前、信州大から名大大学院に進学。研究分野を生物から化学の世界に移した。小保方さんも化学から再生医療への転身組。「インパクトは全然違います」と控えめに話すが、緑膿菌の研究では、増殖を抑えるフタロシアニンという色素分子を混ぜて培養する、核心部分の実験を担った。

実験を始めたのは4年前。試験管を揺らす日々を「暗闇の中を手探りで進む毎日だった」と振り返る。緑膿菌の殺菌は抗生物質の投与が主流。実験データをもとに論文を書いたが、認められるか不安だった。化学誌に提出してから3カ月後に届いたコメントには「現象の証明が足りない」とあった。

突貫工事で、緑膿菌が増殖する度合いを示す実験を繰り返した。「カビの研究をしていた大学時代の経験が役立った」と振り返る。

こつこつ続ければ、いつかは花開く。違う分野への挑戦はプラスになる。小保方さんの姿は、そのまま自分の歩みに重なる。

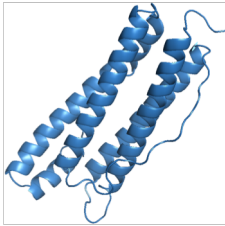
就職を前に、次の一步を悩んでいるという白瀧さん。世界が目にした小保方さんの活躍を目の当たりにし、「世界の不思議を探求していきたい」という気持ちが高まるのを感じている。



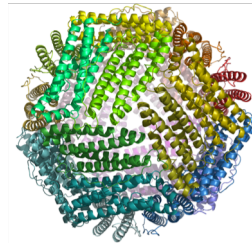
研究に取り組む白瀧千夏子さんは4日、名古屋市千種区の名古屋大で

Ferritin (Fr): 脾臓で鉄イオンを貯蔵

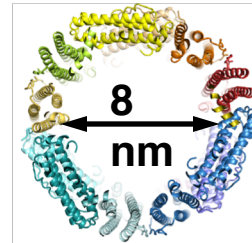
サブユニット



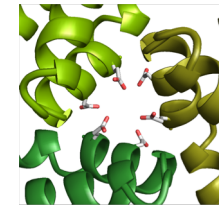
24量体



分子量48万

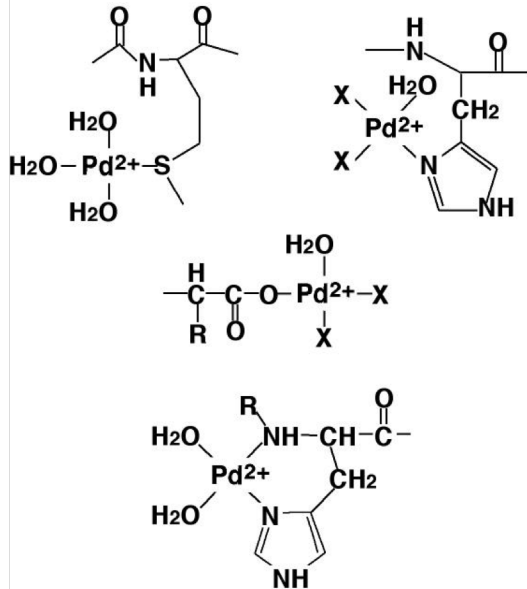


三回対称

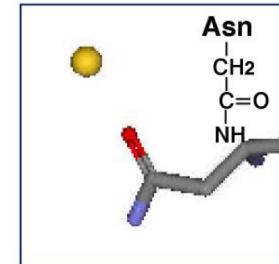
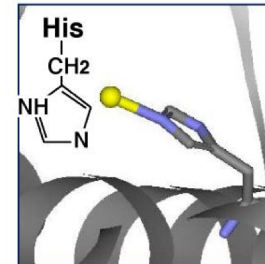
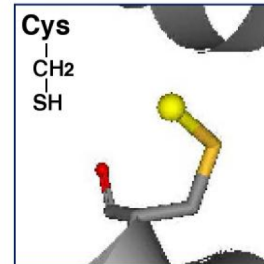


金属イオンと結合するアミノ酸は多い

Pd



Au



PDB:1a52,1hug

Free Residues interior of Apo-ferritin

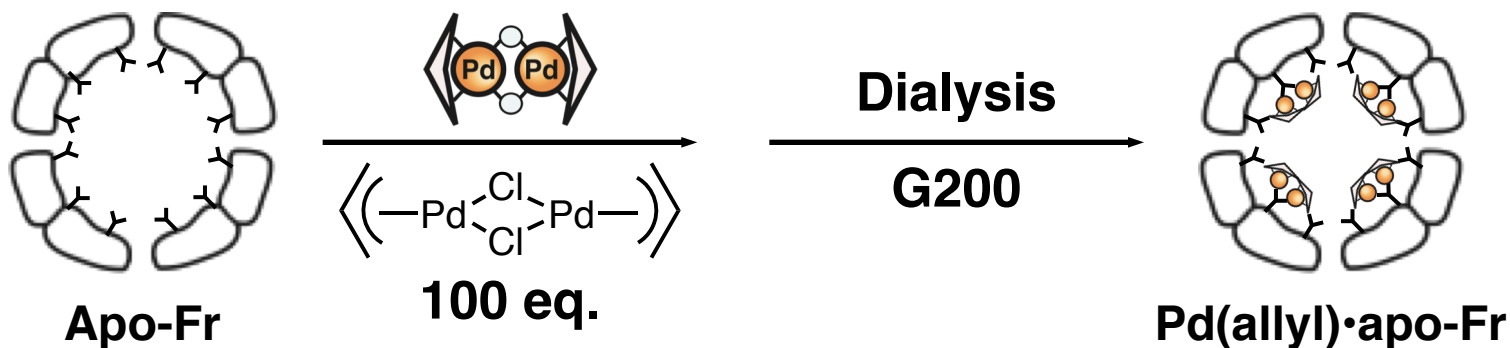
Cys 24
Met 72

His 72
Asn 24
Asp, Glu 120

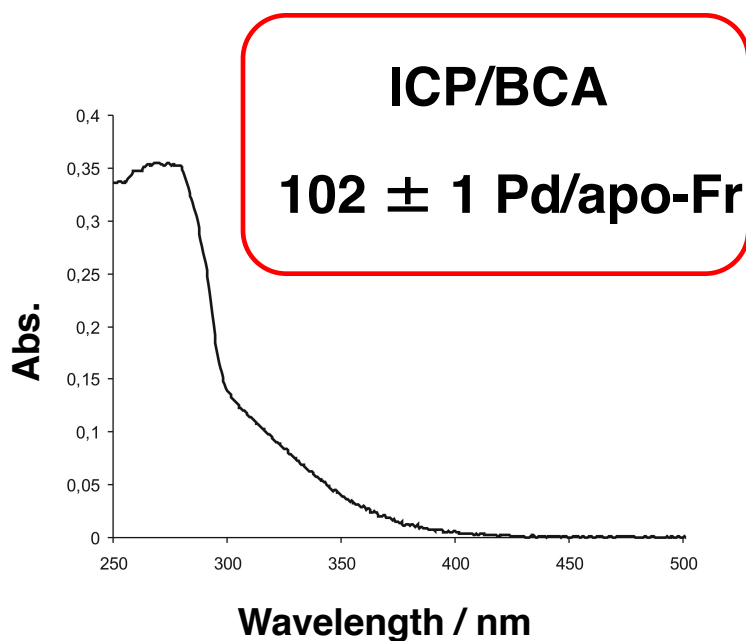


上野 隆史
(現 東工大教授)

Pd²⁺ (allyl)をFr内部に導入

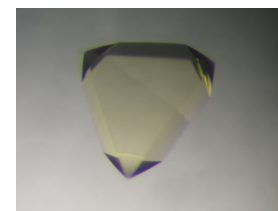


Conditions: [Apo-Fr] = 10 mM, [[Pd(C₃H₅)Cl]₂] = 1 mM, in 50 mM Tris/HCl pH8.0, 25° C, 1h



Crystallization

**Hanging-Drop Vapor
Diffusion Method**

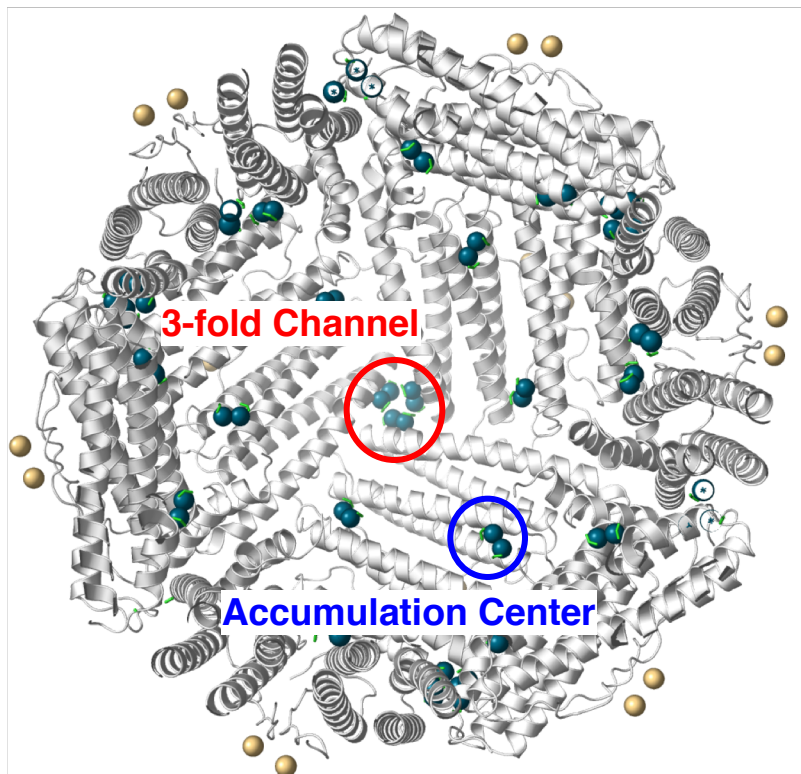


**0.25 - 0.5 M (NH₄)₂SO₄
10 - 15 mM CdSO₄ at 20° C**

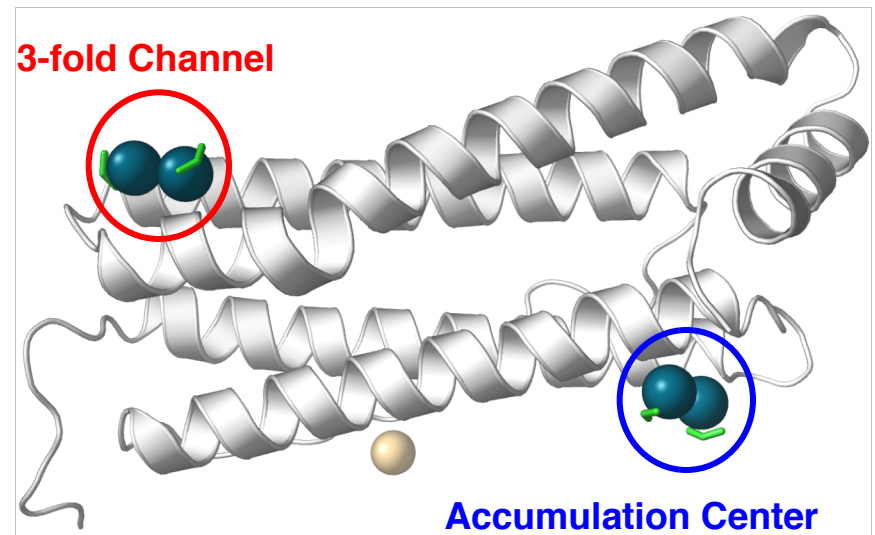
Pd²⁺(allyl)を内包したFrの結晶構造

- 1.70 Å Resolution Structure
- RMSD (root mean square deviation) from apo-Fr : 0.47
- Pd Binding Site: Anomalous Peak at 1.5418 Å Wavelength

96 Pd/apo-Fr

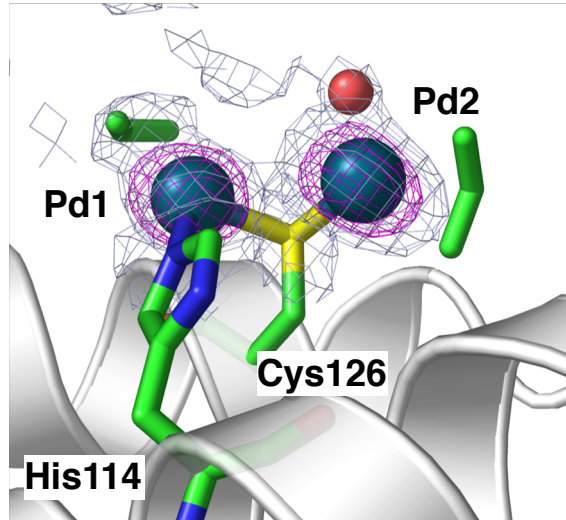


4 Pd/Monomer

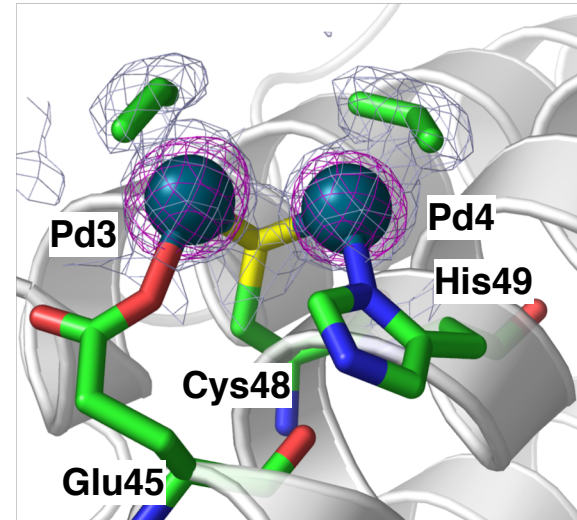


Pd²⁺(allyl) 内包Frの詳細構造

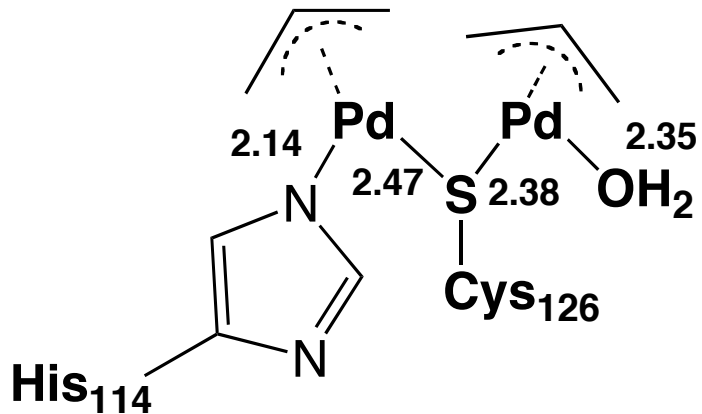
3-fold Channel



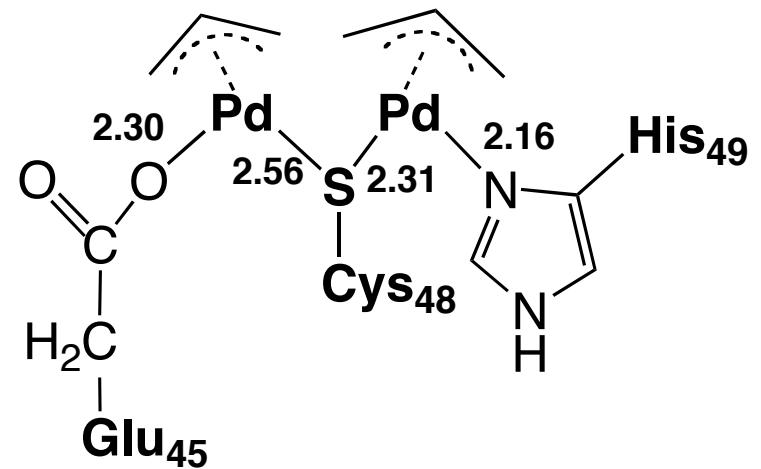
Accumulation Center



Pd-Pd : 3.68

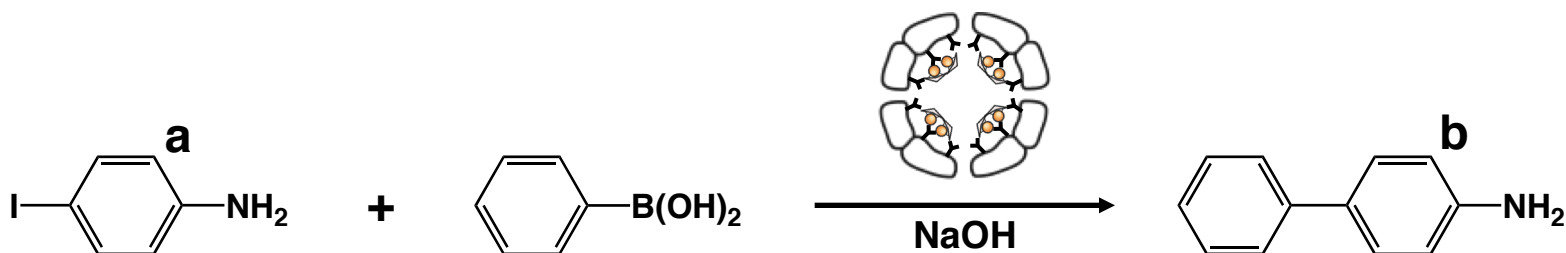


Pd-Pd : 3.12

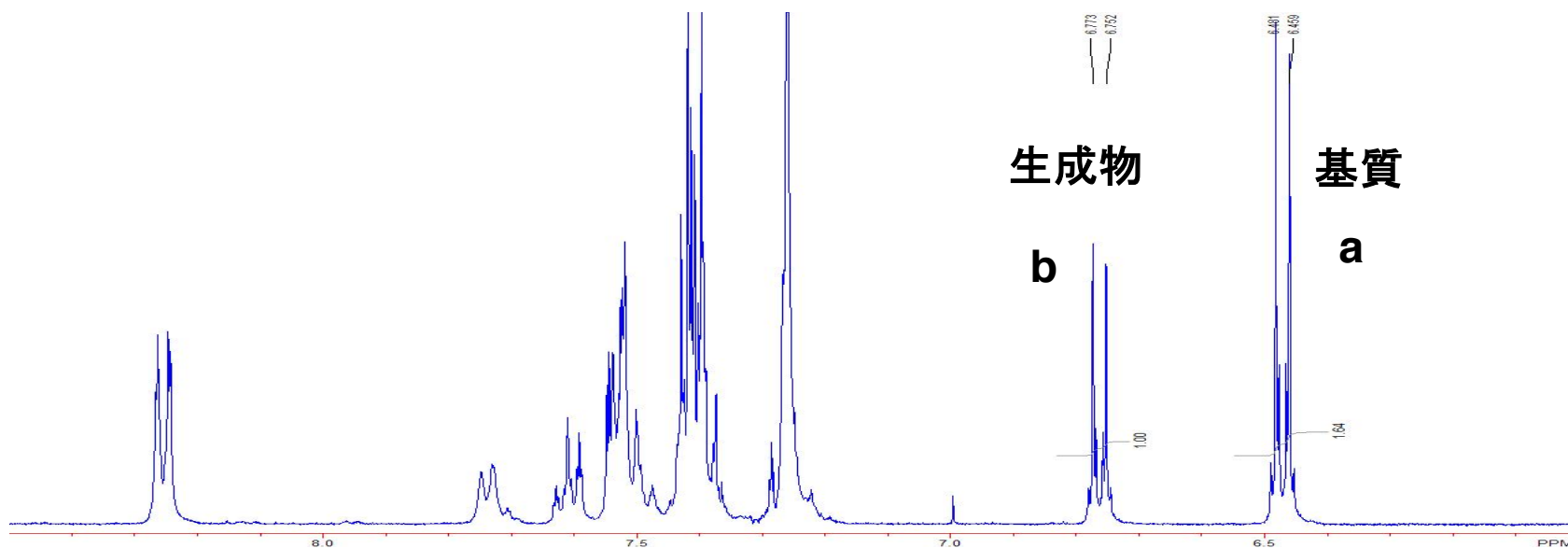


Coordination Environment : Square-Planar Structure

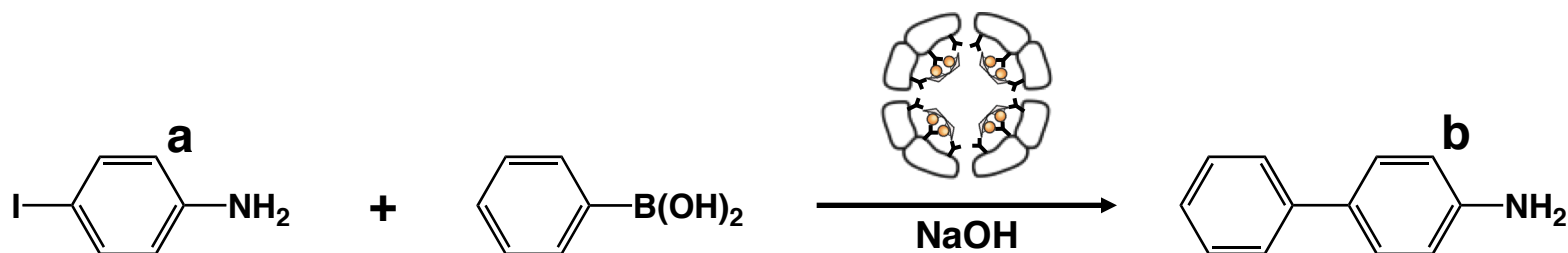
Pd²⁺(allyl)内包 Fr が触媒する鈴木カップリング反応



Conditions : [Pd(allyl)·apo-Frs] = 0.025 μM , [IPhNH₂] = 2.5 mM, [PhB(OH)₂] = 2.5 mM, [NaOH] = 4.5 mM, in 0.15 M NaCl (pH9-10) at 50° C for 12h.



Pd²⁺(allyl)内包 Fr が触媒する鈴木カップリング反応



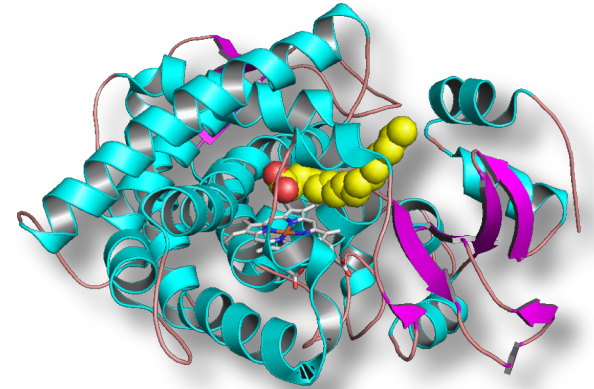
Conditions : [Pd(allyl)·apo-Frs] = 0.025 μM, [I_{Ph}NH₂] = 2.5 mM, [PhB(OH)₂] = 2.5 mM, [NaOH] = 4.5 mM, in 0.15 M NaCl (pH9-10) at 50 ° C for 12h.

J. Am. Chem. Soc., 130, 10512-10514 (2008)



鈴木 章先生 (北大)

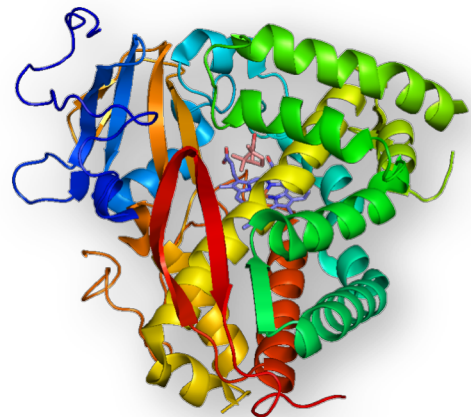
祝 ノベル化学賞 2010年



酵素の基質特異性を自在に制御できないか？

ダミー分子（デコイ分子）という発想

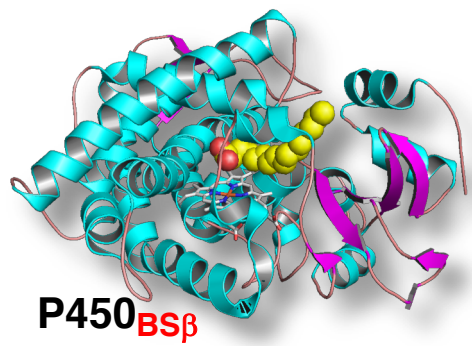
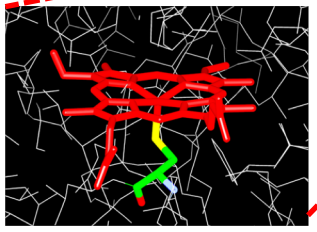
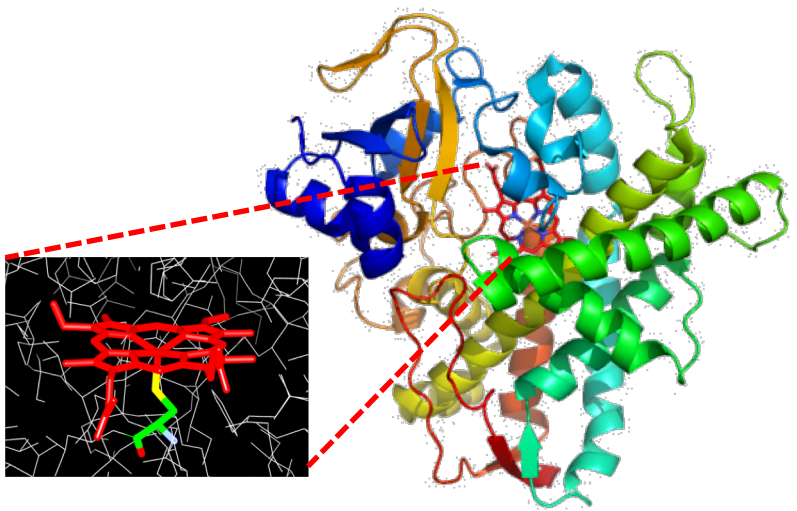
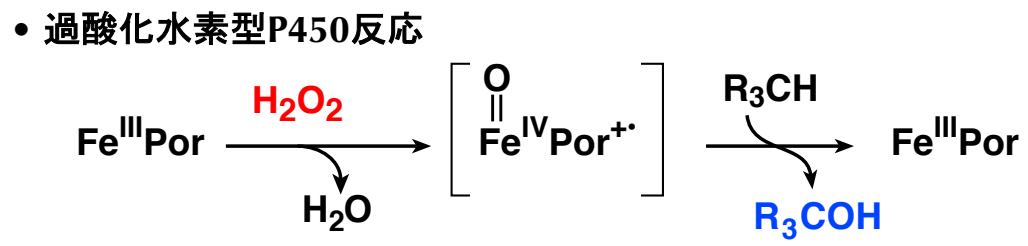
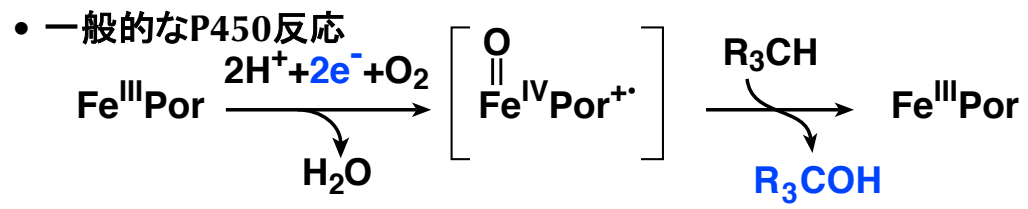
デコイ（decoy）：狩猟で罠に使う鳥の模型。
これが元来の意味である。



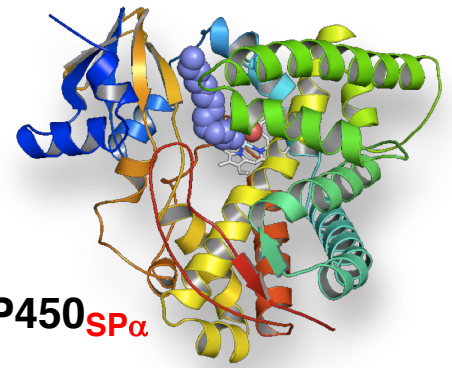
ターゲットは水酸化反応を触媒する P450



庄司 長三
(名大准教授)

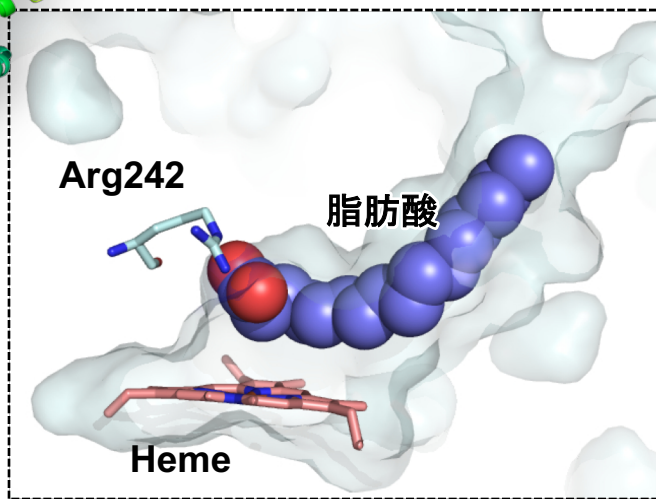
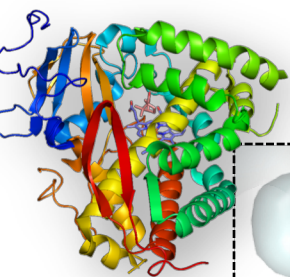


P450_{BSβ}

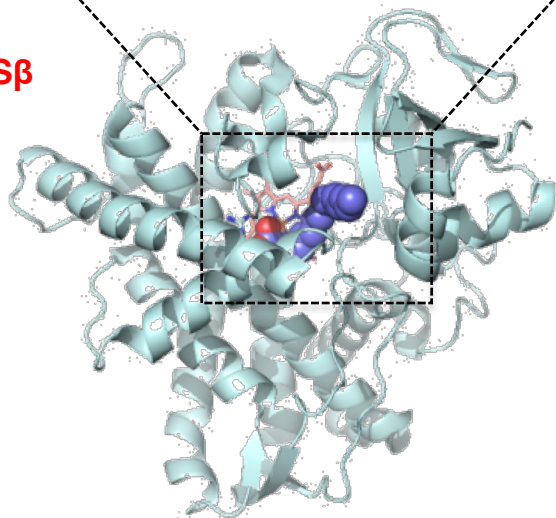


P450_{SPα}

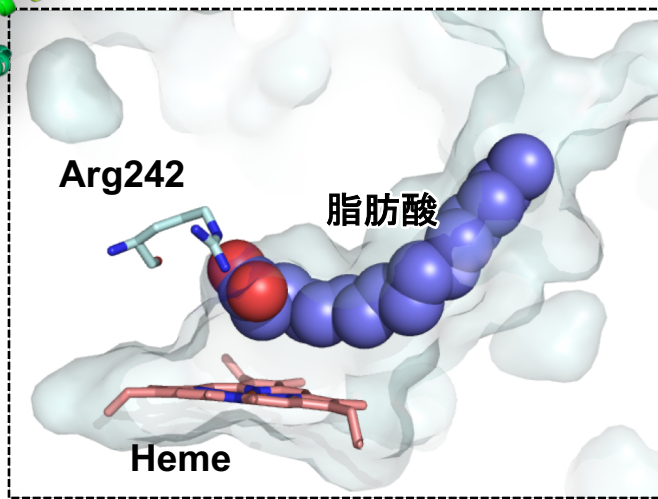
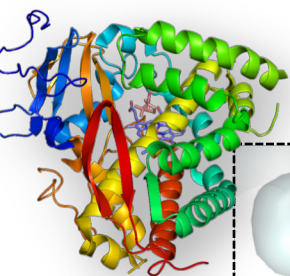
P450_{BSβ}は脂肪酸を選択的に取り込んで酸化



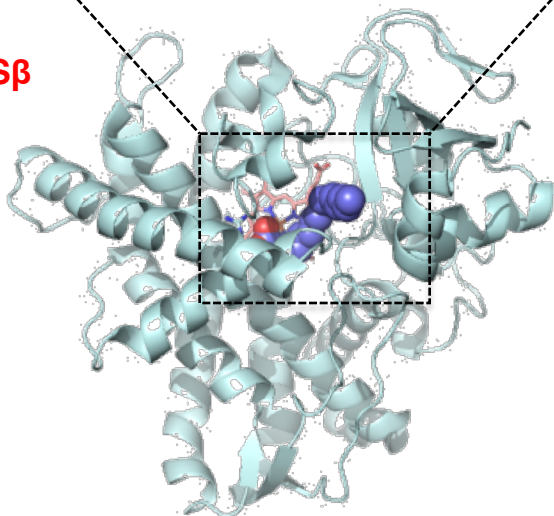
P450_{BSβ}



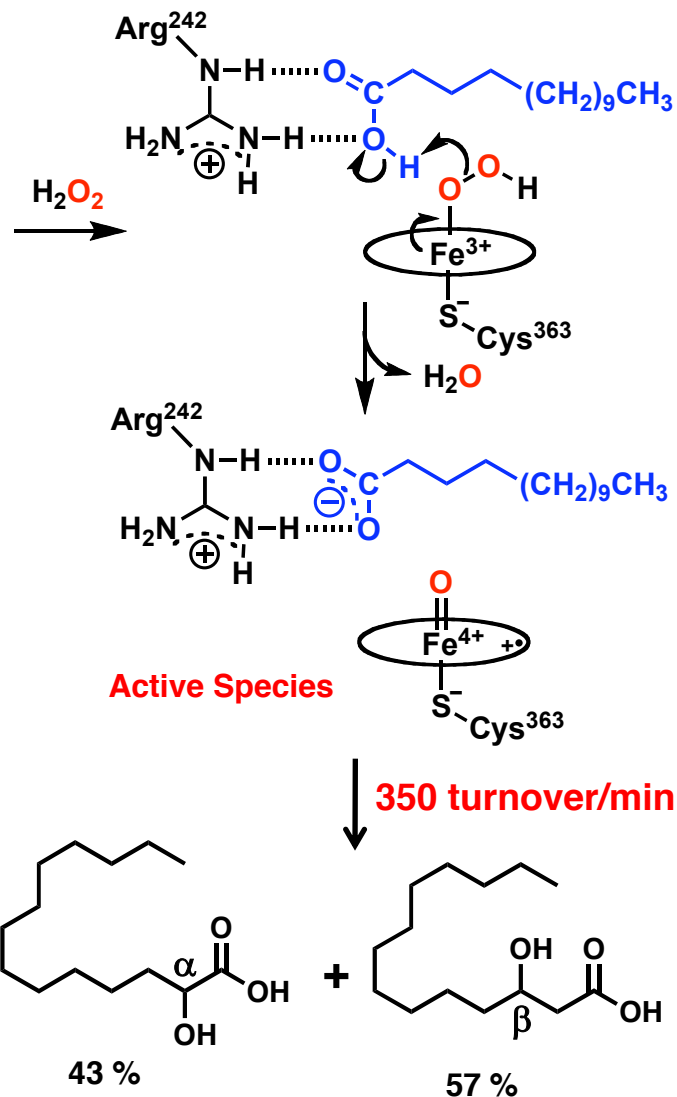
P450_{BSβ}は脂肪酸を選択的に取り込んで酸化



P450_{BSβ}



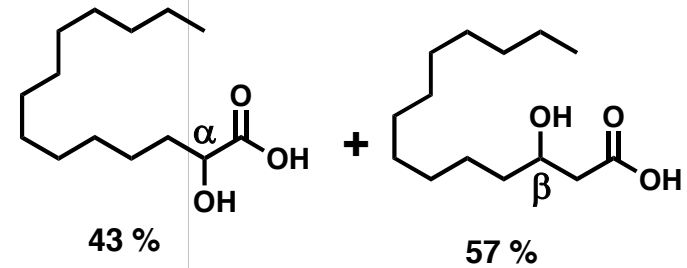
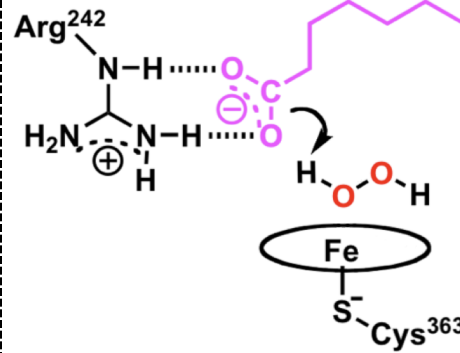
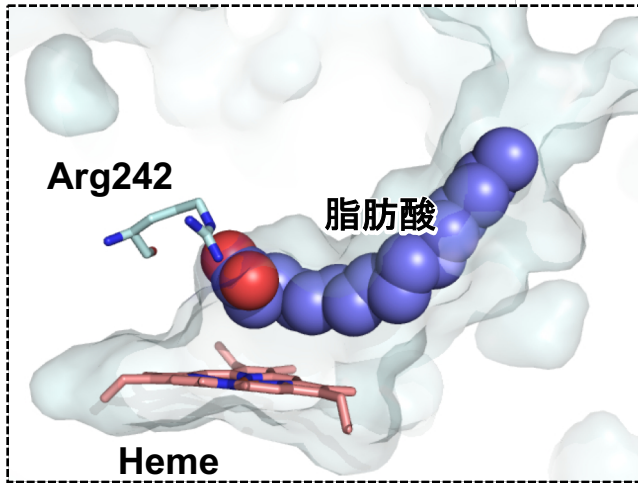
general acid-base catalyst



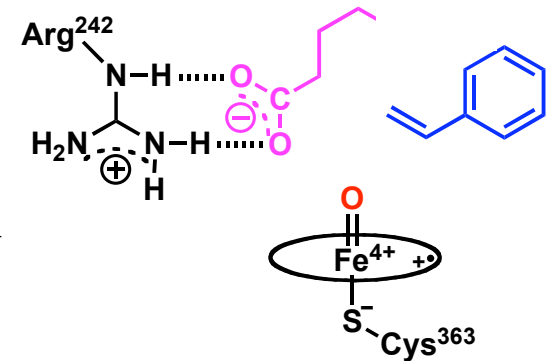
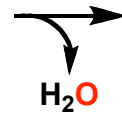
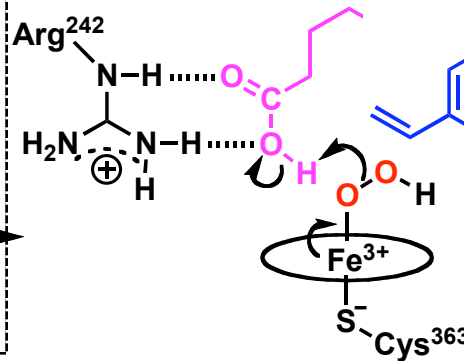
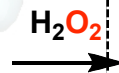
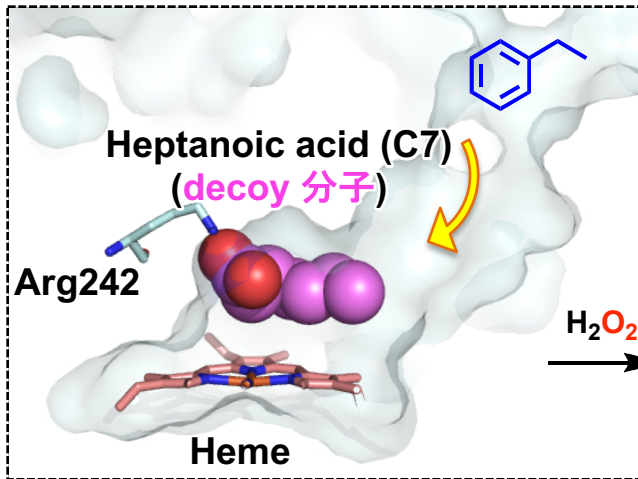
水酸化されたミリスチン酸

脂肪酸を特異的に酸化するP450_{BSβ}

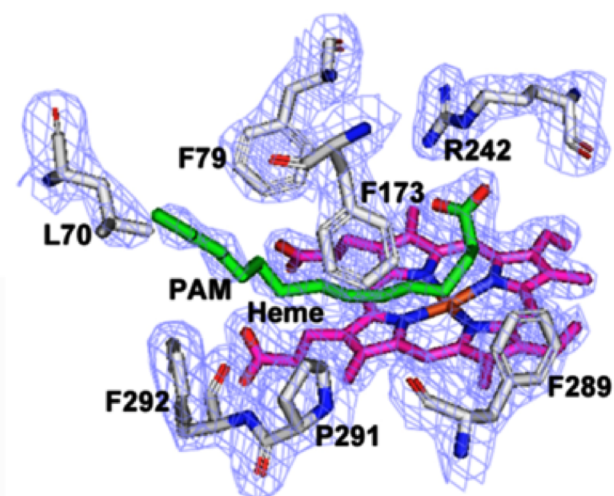
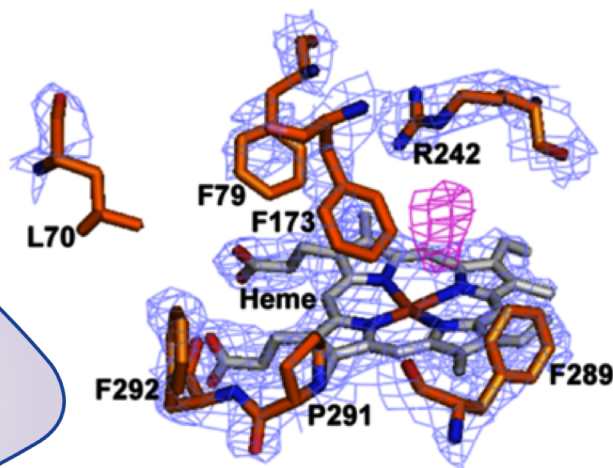
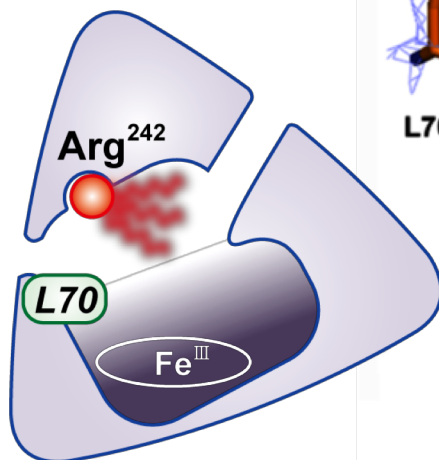
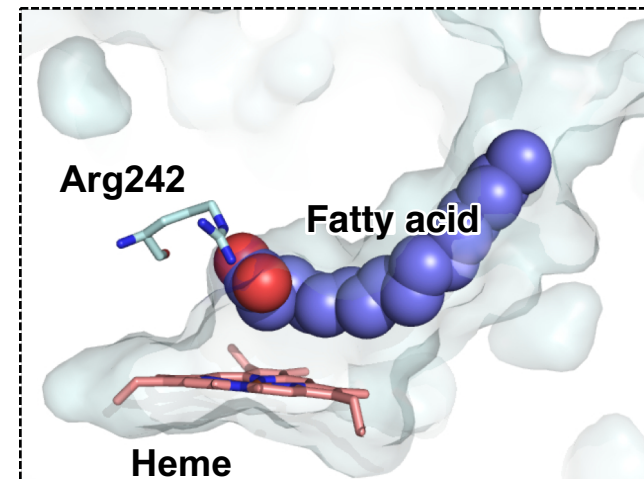
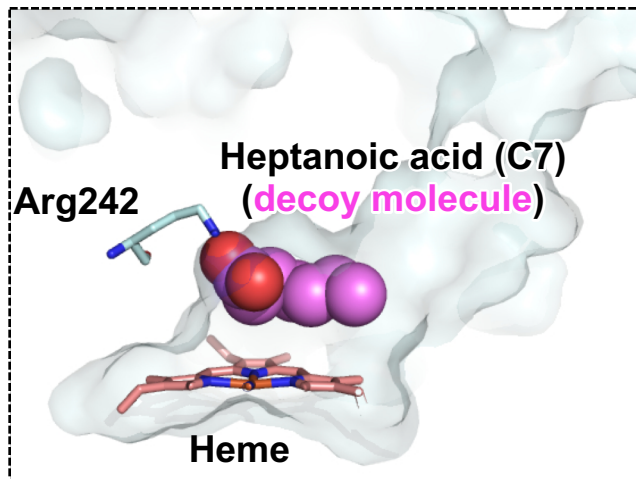
Decoy分子というコンセプト



hydroxylated myristic acid



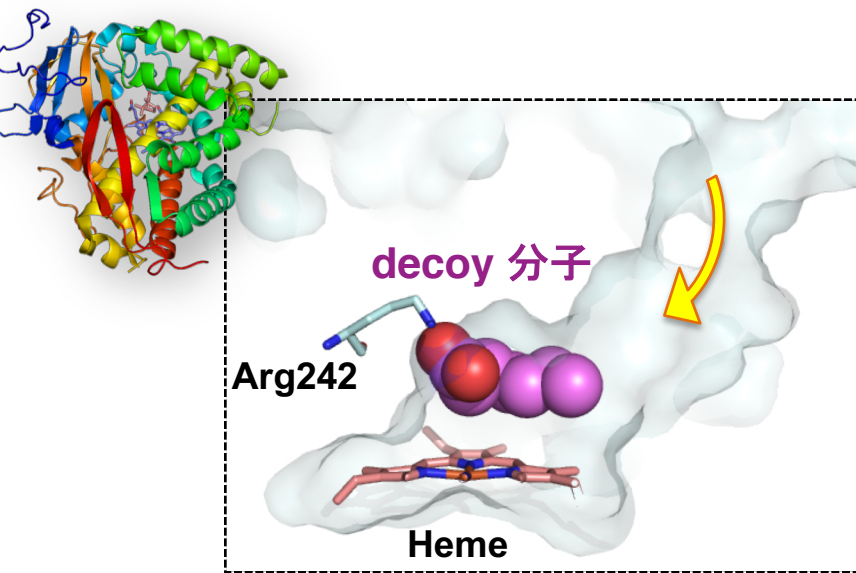
Decoy分子を取り込んだ P450^{BSβ} cの結晶構造



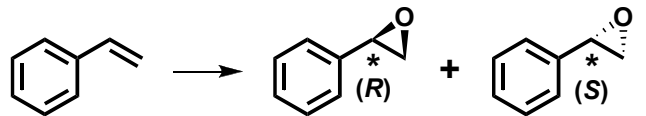
$2Fo - Fc \sigma = 1.5$

P450^{BSβ} に触媒される酸化反応

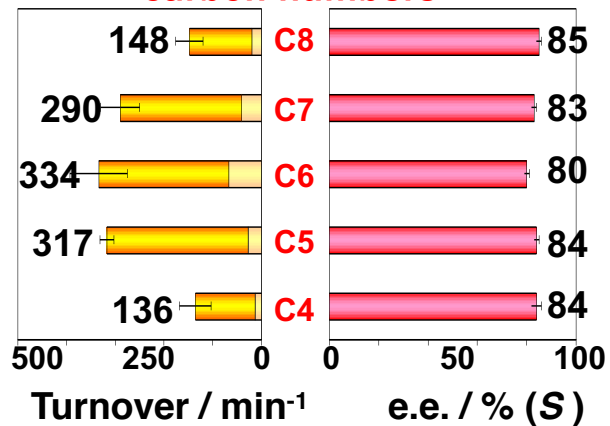
: Decoy分子の威力



Styrene Epoxidation

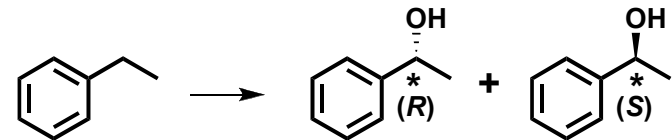


carbon numbers

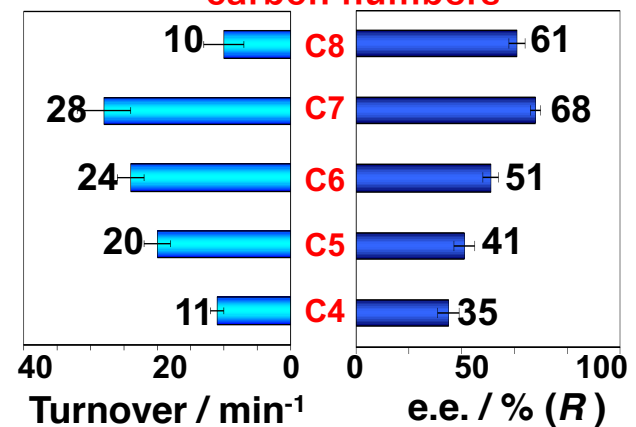


■ Styrene oxide □ Phenylacetaldehyde (side product)

Hydroxylation of Ethyl benzene

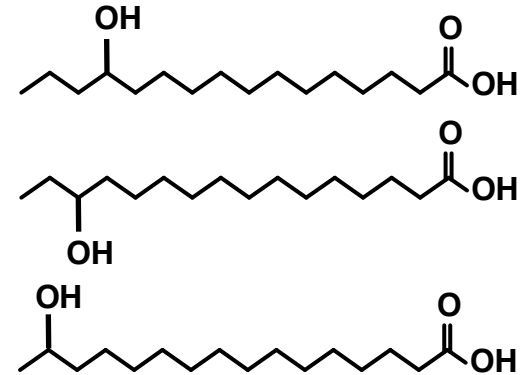
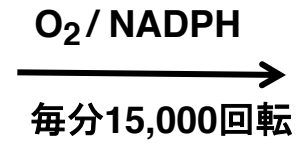
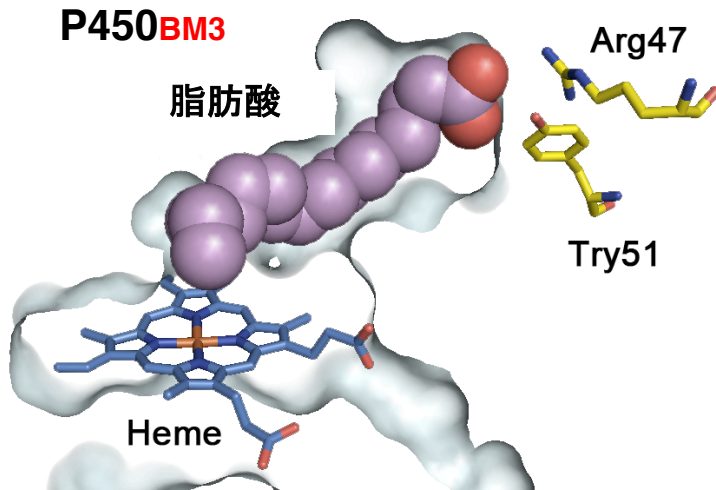


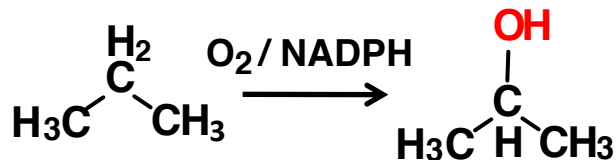
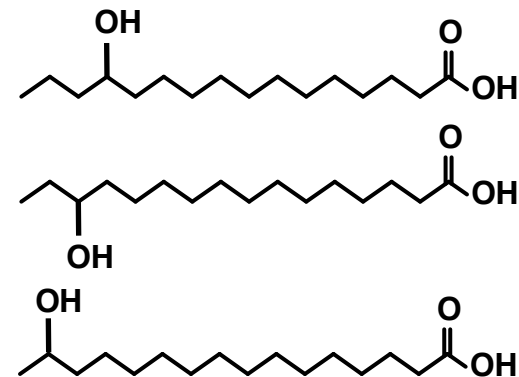
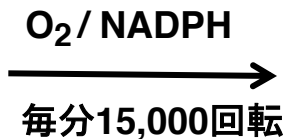
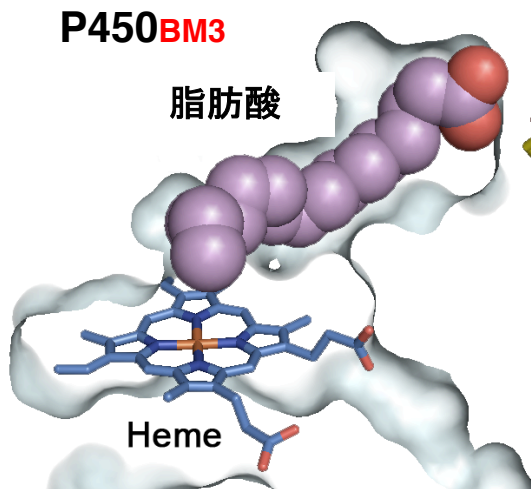
carbon numbers



Angew. Chem. Int. Ed., (2007)

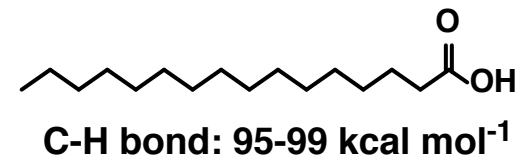
非常に酸化活性の高いP450_{BM3}





carbon numbers	oxidation rates/ min ⁻¹
----------------	---------------------------------------

PFC8	0
PFC9	24 ± 8
PFC10	67 ± 2
PFC11	40 ± 4
PFC12	25 ± 6
PFC13	11 ± 3
PFC14	0

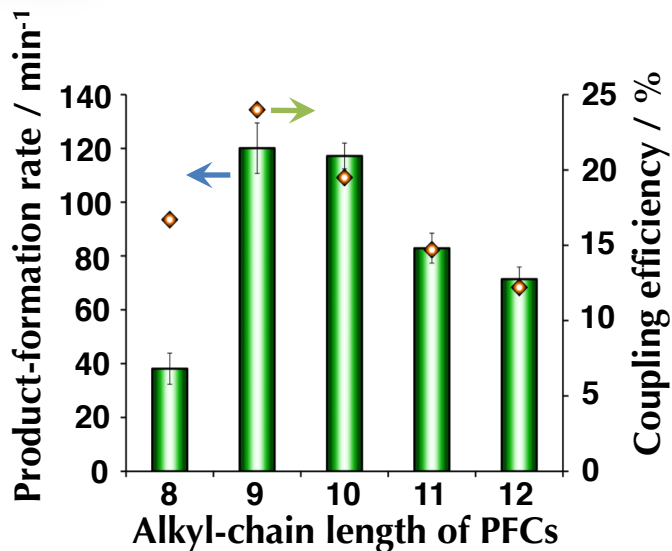
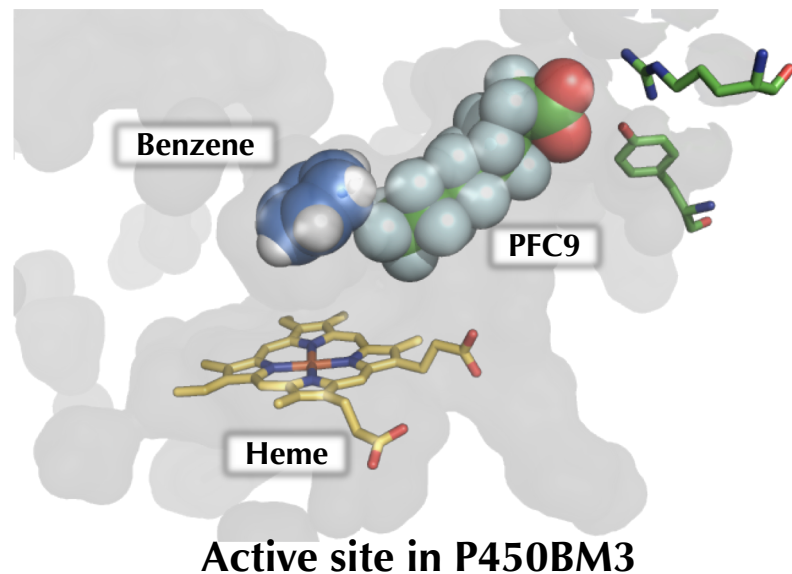
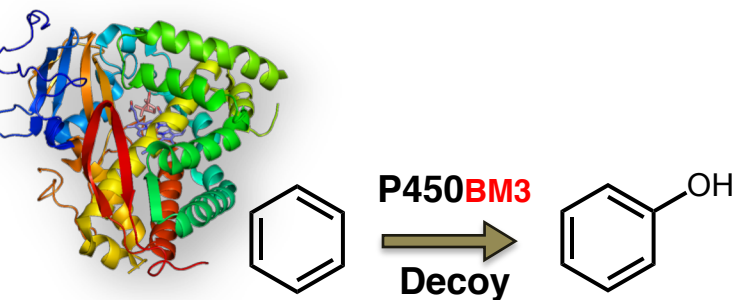


decoy molecule

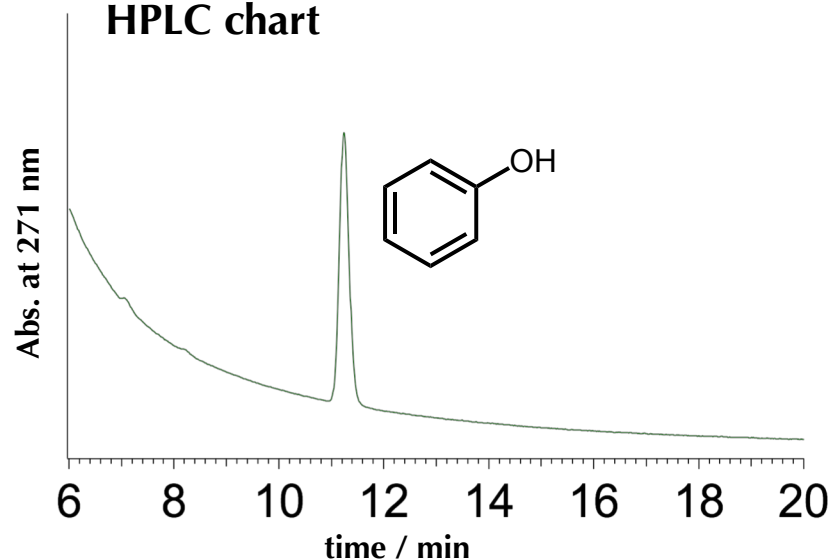


C-F bond: ~116 kcal mol⁻¹

P450BM3によるベンゼンの水酸化



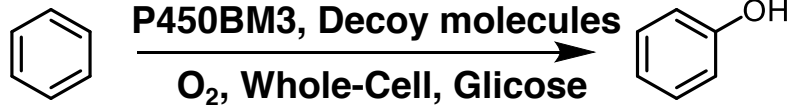
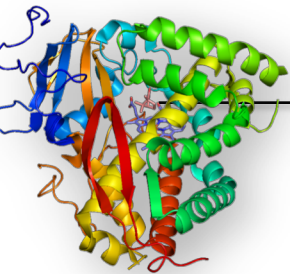
HPLC chart



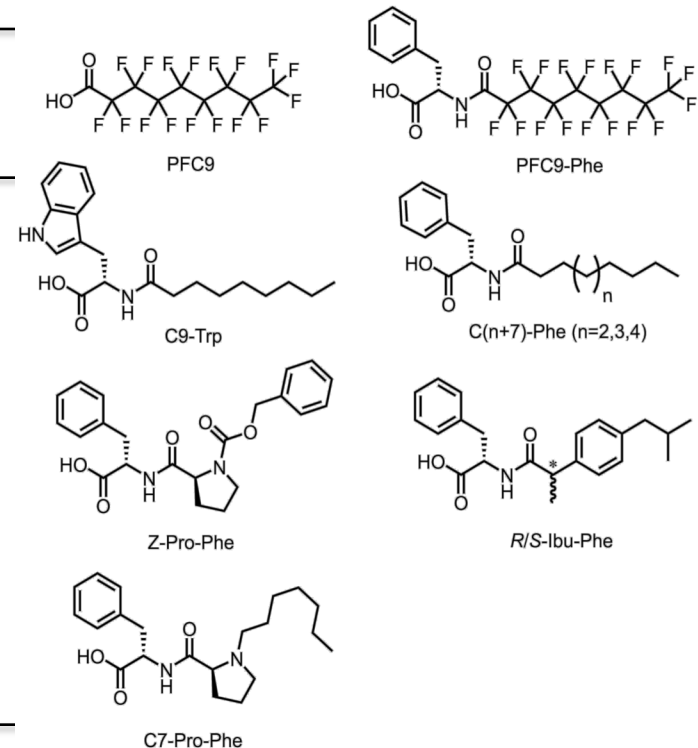
Reaction Conditions

- 1) 20 mM Tris-HCl buffer pH=7.4
- 2) 100 μ M Dummy substrate
- 3) 0.5 μ M P450BM3
- 4) 10 mM Benzene
- 5) 5 mM NADPH
- 6) Reaction time: 10 min

大腸菌自身を使うベンゼンの酸化

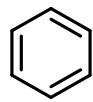
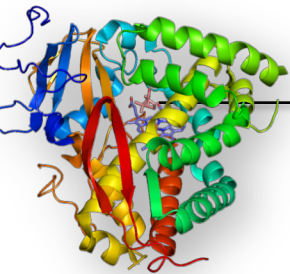


Decoy molecule	Phenol Concentration [μM] ^[b]	Yields [%] ^[c]
None	40 ± 10	0.4
PFC9	60 ± 3	0.6
PFC9-Phe	190 ± 30	1.9
C9-Trp	170 ± 20	1.7
C9-Phe	790 ± 80	7.9
C10-Phe	920 ± 50	9.2
C11-Phe	440 ± 20	4.4
R-Ibu-Phe	1960 ± 20	20
S-Ibu-Phe	3760 ± 110	38
Z-Pro-Phe	300 ± 50	3.0
C7-Pro-Phe	3810 ± 150	38

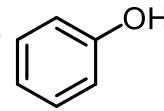


[a] Reaction conditions: *E. coli* BL21(DE3) expressing Wild-type P450BM3 (OD₆₀₀ = 6.3), decoy molecule (100 μM), benzene (10 mM), Glucose (40 mM), at 25 °C for 5 h in 110 mM phosphate buffer, pH 7.4. [b] The uncertainty is given as the standard deviation of at least three measurements using different batches of cell cultures. Phenol formation was determined by GC. [c] [Phenol]/[Initial benzene] × 100. [d] Catalytic turn over rate of *in vitro* benzene hydroxylation by P450BM3 previously reported.^[8a, 10]

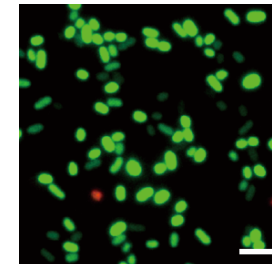
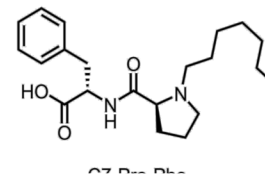
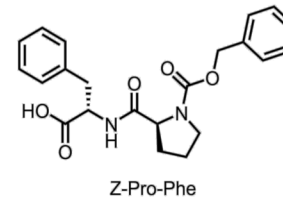
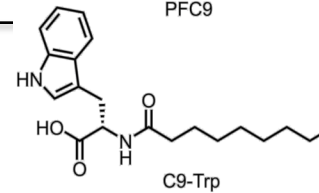
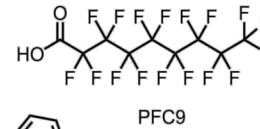
大腸菌自身を使うベンゼンの酸化



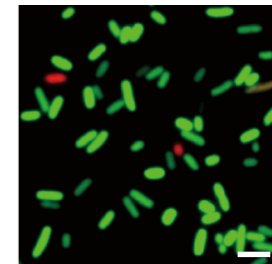
P450BM3, Decoy molecules
O₂, Whole-Cell, Glucose



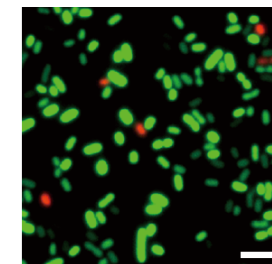
Decoy molecule	Phenol Concentration [μM] ^[b]	Yields [%] ^[c]
None	40 ± 10	0.4
PFC9	60 ± 3	0.6
PFC9-Phe	190 ± 30	1.9
C9-Trp	170 ± 20	1.7
C9-Phe	790 ± 80	7.9
C10-Phe	920 ± 50	9.2
C11-Phe	440 ± 20	4.4
R-Ibu-Phe	1960 ± 20	20
S-Ibu-Phe	3760 ± 110	38
Z-Pro-Phe	300 ± 50	3.0
C7-Pro-Phe	3810 ± 150	38



DMSO



C7-Pro-Phe



Benzene

Fluorescence microscopy images of *Escherichia coli* BL21(DE3) treated with 10 mM substrates or 100 μM **C7-Pro-Phe** for 5 h.

Images are shown as an overlay of propidium iodide (red; dead cells) and SYTO-9 (green; living cells) fluorescence. Scale bar represents 3 μm.



Meldal Watch
名大ウオッチ
辻 篤子

新聞社で長く科学報道に携わってきたジャーナリストが、
名大の今を自由な立場で覗いたエッセイ

Amazon にて
絶賛発売中

定価：本体556円 + 税

「今まで伝えられなかった
研究者の信念に触れることの
できる一冊です」

<http://www.nagoya-u.ac.jp/event/subway.html> 2019/04/15

約15年に亘って広報室長を努めてきましたが、これが最後の企画
(生協、丸善@栄、名古屋市科学館、amazonなどで購入頂けます)

辻篤子特任教授による学内報告会

記者の目を見た名古屋大学

2019年3月15日（金）10:00-11:30
会場：豊田講堂第1会議室
対象：名古屋大学教職員、学生等（参加無料・事前登録不要）

Meldal Watch
名大ウオッチ
辻 篤子

新聞社で長く科学報道
に携わってきた辻篤子
国際機構特任教授が、
ジャーナリストの視点
で見つめた名古屋大学
の今を報告します。

辻 篤子（つじ あつこ）

1976年東立大学教育学部教育学科科学史科学哲学分科卒業。79年朝日新聞社入社、科学部、アエラ発行室、アメリカ総局などで科学を中心とした報道に携わり、2004～13年、論評委員として科学技術や医療分野の社説を担当。11～12年には書評委員も務めた。2016年10月から名古屋大学国際機構特任教授。

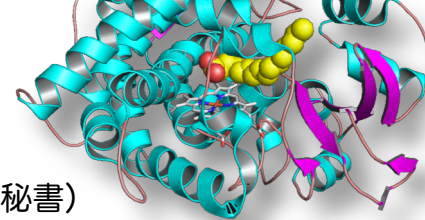
「今まで伝えられなかった
研究者の信念に触れることの
できる一冊です」

お問い合わせ先：名古屋大学教育普及部企画課 052-747-6009（内線6885）
http://www.meldalwatch.jp/ch_prevost/nagoya-u.ac.jp/

共同研究者の皆さんに感謝



名古屋大学の皆さん、お世話になりました。



研究室スタッフ

荘司長三（准教授）、愛場雄一郎（助教）、有安真也（助教）、笠井千枝（技術職員）、宮地優子（秘書）

旧研究室スタッフ

小崎 紳一（山口大）、小江 誠司（九大）、上野 隆史（東工大）、中島 洋（阪市大）、福嶋 貴（京大WPI）、小谷 明（金沢大）、廣田 俊（奈良先端）

博士研究員

中井 英隆（近大）、叢 志奇（中国科学院）、川上 了史（慶大）、竹澤 悠典（東大）、高谷 信之（名大）、佐竹 由宇（京セラ）、山本 啓介（Green Earth Inst.）、宮崎 総司（京セラ）

卒業生（含 受託研究生）

松井 敏高、後藤 義夫、鈴木 和治、油 努、小宮 一晃、山原 亮、大橋 雅卓、山本 夕、長屋 貴量、横井 紀彦、青柳 博樹、安部 聡、越山 友美、鈴木 理子、亀山（伊東）満子、伴 紀孝、大木 崇宏、上島 綾香、川場 直美、渡邊 貴大、堀 あゆ美、愛知 平達、三浦 友紀、藤城 貴史、吉満 匡平、田中 翔太、小澤 優、稲葉 央、木本 洋、佐藤 加奈、杉 直紀、森本 禎子、森 奈都美、東條 謙祐、西尾 洸祐、伊藤 誉明、山下 実都喜、伊豆 仁、國松 辰弥、寺田 光良、三浦 由紀夫、早村 真生、池田 衿奈、田内 翔子、山田 智美、白瀧 千夏子、岩井 佑介、加納 由紀子、塩田 泰広、横堀 純、中尾 貴大、吉田 珠里、上原 弘夢、柳澤 颯太、村松 篤、小柳津 美沙、Sam S. C. Chien、折居 潤、近藤 美緒、中島 彩夏、浅野 沙也佳、中村 大介、中森 祥哉、山口 華苗、山田 志歩、吉村 麻実

在学生

Stanfield Joshua Kyle、小野田 浩宜、四坂 勇磨、日比野 柁、鈴木 和人、URBINA SANCHEZ Gerardo Augusto、大竹 美保、大村 慧太、落合 祐貴、唐澤 昌之、榊原えりか、河内 奈緒美、児玉 侑朔、林 哲子、松本 彩香、米村 開、上田 我竜、高山 凌、佐々木 結花、安山 成基、柴田 将成

