

平成22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
- 14603
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
- 若手研究(B)
4. 研究期間
- 平成22年度～平成23年度
5. 課題番号
- 22750156
6. 研究課題名
- インターエレメント化学の要素を取り入れた金属タンパク質デザイン
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	まつお	たかし	物質創成科学研究科		准教授
								松尾	貴史			

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。

金属タンパク質の*de novo*デザインにおいて主要な金属配位形式は、窒素、酸素あるいは硫黄配位であるが、これには限定されない金属配位形式を適用すれば、新しい金属タンパク質デザインのアプローチが提案できる。そこで、本年度はC配位錯体をタンパク質デザインに適用することを試みた。タンパク質ドメインの割れ目部分は、立体選択的合成にキラル環境でありながら、基質が触媒部位にアクセスしやすく、生成物が放出されやすいという特性が期待できる。このことに着目し、セリンプロテアーゼの阻害機構を利用できる「グラブス触媒部位を有するプロテアーゼ阻害剤」を設計した。本阻害剤の設計にあたっては、素材タンパク質の基質認識機構により、タンパク質内に取り込まれ、セリンプロテアーゼの活性部位に存在するヒスチジン残基をアルキル化するように、疎水性アミノ酸側鎖およびクロメチルケトン部位を、グラブス触媒のNHC配位子部位に導入した。クロメチルケトン部位の構築はHIV-1プロテアーゼ阻害剤合成の方法を応用し、反応および精製条件を検討することでグラムスケールの合成が可能となった。また、グラブス触媒部位とのアミド結合を介したコンジュゲートについては、縮合剤を用い方法では錯体の分解が見られ、低温での混合酸無水物法が有効であることが分かった。このように阻害剤合成法を確立したのち、セリンプロテアーゼへの導入を試みた。導入方法および精製法を検討した結果、精製中の錯体の分解を抑制するためには塩化カリウムなどの塩化物イオンを共存させることが必須であり、また錯体を含んだタンパク質は、通常の陽イオン交換カラムを用いる方法で精製可能であることが分かった。カラム精製においては、錯体の有無にかかわらず、ほぼ同程度の塩濃度で溶出され、化学修飾によってタンパク質の立体構造は大きく影響を受けていないことが分かり、本研究アプローチの有用性が示された。

10. キーワード

(1) インターエレメント	(2) タンパク質デザイン	(3) 有機金属
(4) 触媒反応	(5)	(6)
(7)	(8)	(裏面に続く)

11.研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 1 ）件 うち査読付論文 計（ 1 ）件

著 者 名		論 文 標 題						
Tomokazu Shibata, Satoshi Nagao, Masashi Fukaya, Hulin Tai, Shigenori Nagatomo, Kenji Morihashi, Takashi Matsuo, Shun Hirota, Akihiro Suzuki, Kiyohiro Imai, Yasuhiko Yamamoto		Effect of Heme Modification on Oxygen Affinity of Myoglobin and Equilibrium of the Acid-Alkaline Transition in Metmyoglobin						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発 行 年				最初と最後の頁
J. Am. Chem. Soc.		有	132,	2	0	1	0	6091-6098

著 者 名		論 文 標 題						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発 行 年				最初と最後の頁

著 者 名	論 文 標 題									
雑 誌 名					査読の有無	巻	発 行 年			最初と最後の頁

〔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, Chie Imai, Takefumi Yoshida, Akira Fujii, Takashi Saito, Takashi Hayashi, Shun Hirota	Creation of Artificial Organometallic Enzyme by Using Intrinsic Mechanism of Parent Protein					
学 会 等 名	発表年月日			発 表 場 所		
5th Asian Bioinorganic Chemistry Conference (AsBIC-V)	2010年11月4日			Ambassador hotel, Kaohsiung, Taiwan		

発 表 者 名	発 表 標 題					
藤井亮、松尾貴史、廣田俊	タンパク質の構造変化に基づくスイッチング機能を有する生体分子の創成					
学 会 等 名	発表年月日			発 表 場 所		
日本化学会第 91 春季年会	2011年3月26日			神奈川大学、横浜 (東日本大震災のため、学会中止、要旨原稿提出をもって発表成立)		

発 表 者 名	発 表 標 題					
吉田武史、松尾貴史、今井千絵、廣田俊	プロテアーゼの機能メカニズムに基づく有機金属錯体含有タンパク質の創成					
学 会 等 名	発表年月日			発 表 場 所		
日本化学会第 91 春季年会	2011年3月26日			神奈川大学、横浜 (東日本大震災のため、学会中止、要旨原稿提出をもって発表成立)		

〔図 書〕 計（ 0 ）件

著 者 名	出 版 社			
書 名			発 行 年	総ページ数

12. 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

13. 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w e b ページがある場合は、U R Lを記載すること。

http://mswebs.naist.jp/LABs/hirota/tmatsuo/matsuo_jpn.html
--