

1A1a 液液界面において自発的に生成する AOT 逆ミセルの in situ 顕微測定

広島大院理)

○獅野裕一・塚原聡・岡本泰明・藤原照文

【緒言】 近年、タンパク質のような生体高分子の分離・精製方法として、例えば AOT(sodium bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate)逆ミセルを用いた溶媒抽出法が提案され、研究されている。この抽出では、物質が液液界面を通過する過程が重要であると考えられる。我々は、液液界面で自発的に生成・消滅する AOT 逆ミセルを直接顕微測定することに成功した¹⁾。このような液液界面近傍でのみ起こる逆ミセルの自発的な生成・消滅過程は、生体高分子等の抽出機構と深い関わりがあると予想される。本研究では、観測された AOT 逆ミセルの物性や生成・消滅過程について検討する。

【実験】 有機相-水相界面を顕微鏡で直接測定するために、薄層二相マイクロセルを用いた (Fig.1)。このセルは、厚さ 1 mm のスライドガラス 2 枚にそれぞれ直径 3 mm と 5 mm の穴を空け、厚さ 0.17 mm のカバーガラスの上にこの順で重ねて接着したものである。セルの下の穴に水相を約 7 mm³ 注入し、続いてその上に 1 × 10⁻² M の AOT を溶解したドデカン相約 20 mm³ を静かに注いで界面を作り、カバーガラス

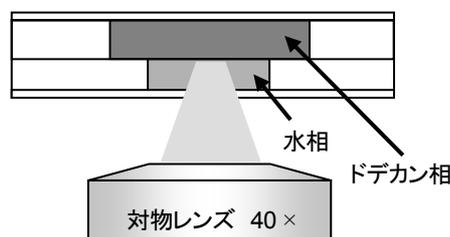


Fig.1 薄層二相マイクロセルの模式図 (断面図)

でふたをして、密閉した。この界面の近傍を 40 倍の対物レンズを備えた顕微鏡で観察し、得られた画像を CCD カメラを介してビデオに記録した。また、予め AOT が分配平衡に達したドデカン相と水相をマイクロセル内で同様の操作により再接触させた。全ての実験は 25°C で行った。

【結果と考察】 1 × 10⁻² M の AOT を含んだドデカン相と水相を接触させたとき、水相には何もみられなかったが、ドデカン-水界面は接触直後から対流し、数分後には自発的に生成した逆ミセルが徐々に見られるようになった。この逆ミセルはブラウン運動しており、界面で生成と消滅を繰り返していた。消滅しなかったものはドデカン相へ拡散していった。また接触から数時間経過すると、界面近傍のドデカン相では 1 画面 (19 μm × 25 μm) あたり十数個の逆ミセルが確認できた (Fig.2)。このとき、界面の対流はほとんどなくなっており、逆ミセルの生成・消滅もほとんど見られなかった。この状態で AOT は、ほぼ分配平衡に達していた。ドデカン-水系の AOT の 分配定数は 0.20 と求められた²⁾。

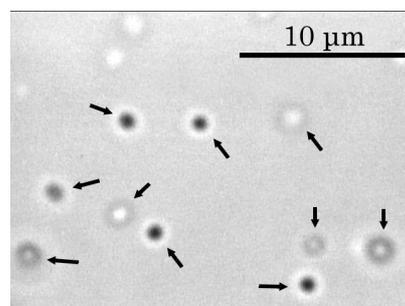


Fig.2 界面近傍の顕微画像

1 × 10⁻² M AOT ドデカン-水界面, 24 時間後
矢印は逆ミセルを示している

一方、分配平衡に達した溶液を再接触したとき、その直後の界面における逆ミセルの生成やドデカン相中の逆ミセルは認められなかった。さらに再接触から数時間経過しても、ドデカン相中に 1 画面あたり数個の逆ミセルしか観測されなかった。以上のことから、AOT が分配平衡に達した溶液を接触させても、界面において逆ミセルが自発的にほとんど生成しないことがわかった。分配平衡に達するために AOT がドデカン相から水相へ界面を通過するが、このことが逆ミセルの自発的生成の機構に対して重要だと考えられる。

1) 獅野裕一, 塚原聡, 岡本泰明, 藤原照文: 日本分析化学会第 65 回分析化学討論会要旨集, p42(2004)

2) 獅野裕一, 塚原聡, 岡本泰明, 藤原照文: 日本溶媒抽出学会第 21 回日本溶媒抽出討論会要旨集 (2004)

1A2b

クロロホルムとジオキサンの会合に関する赤外分光研究

(広島大院理・広島大 QuLiS)

○高尾 導司・菅田 宏・大野 啓一

【序論】クロロホルムとジオキサンとの間の C-H...O 水素結合は古くからよく知られている¹⁾。しかし、その溶液中における平衡を含めての詳細な構造についてはまだ明らかではない。そこで本研究では、1,3-ジオキサンと 1,4-ジオキサンをとりあげ、クロロホルム-ジオキサン混合液体の赤外スペクトルの測定・解析から溶液中における化学平衡を明らかにするとともに、理論計算から得られる会合体の構造と安定性についての比較検討から溶液中における分子間水素結合の形態を明らかにした。

【実験・解析法】各種モル比のクロロホルム-ジオキサン混合液体を調製し、C-H 伸縮振動の倍音領域の近赤外スペクトルを測定した(図 1,図 2)。スペクトルの濃度変化について、化学平衡モデルを仮定して非線形最小二乗法による多成分平衡系のスペクトル解析を行った²⁾。また、理論計算から安定な会合構造の決定を行った。なお、赤外スペクトル測定は Brucker IFS66V を用い、分子軌道計算には、Gaussian プログラムを使用し、密度汎関数法(B3LYP/6-311++G**)を用いた。

【結果・考察】図 1 に 1,3-ジオキサン、図 2 に 1,4-ジオキサンのクロロホルムとの混合溶液の近赤外スペクトルを示す。5910cm⁻¹ 付近のシャープなクロロホルムの C-H 伸縮振動の倍音は、ジオキサンの添加とともに分子間水素結合形成による連続的な低波数シフトを示すが、5850~5750cm⁻¹ 領域におけるジオキサンの C-H 伸縮振動の倍音はクロロホルム添加とともに水素結合形成により連続的な高波数シフトする。しかし、会合状態に帰属できる新たなピークは見出せない。そこで、会合モデルを仮定して、多成分平衡系のスペクトル解析を行い、化学平衡系の決定を試みた²⁾。

【参考文献】

- 1) Nikolay Goutev and Hiroatsu Matsuura *J. Phys. Chem. A*, **105**, 4741-4748 (2001).
- 2) Hiromu Sugeta, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**, 3706-3710 (1981).

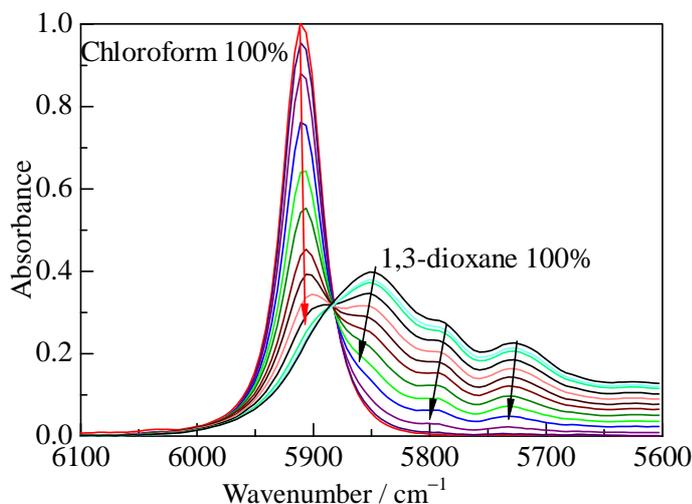


図 1. クロロホルムと 1,3-ジオキサンの混合溶液の赤外スペクトル

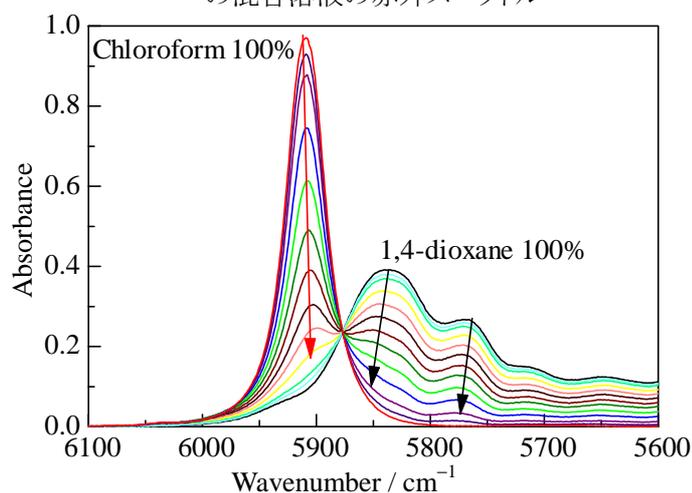


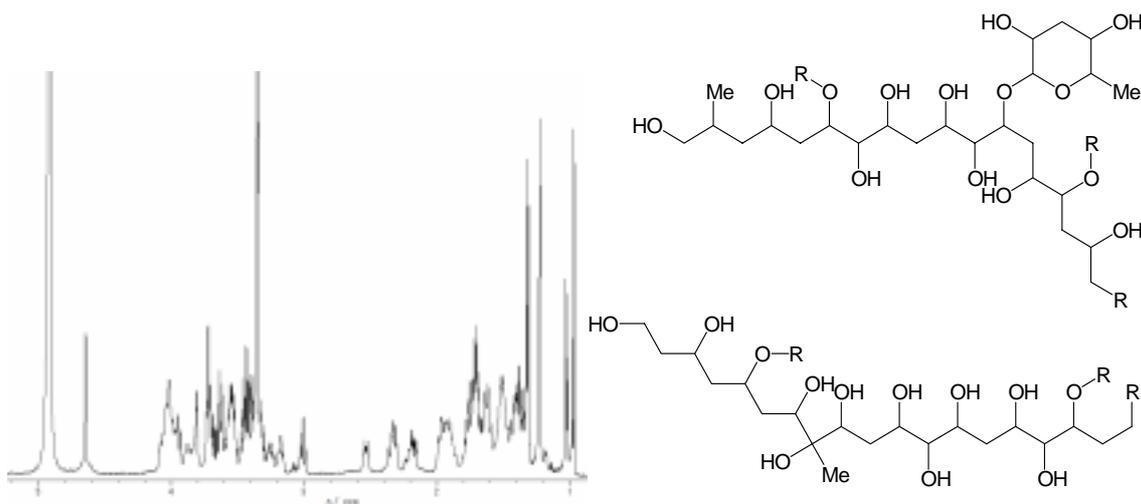
図 2. クロロホルムと 1,4-ジオキサンの混合溶液の赤外スペクトル

1A3b 赤潮プランクトン，ヘテロカプサから単離した ヘテロカプサトキシン A のオゾン分解生成物の 構造解析

(広島大院理)

鹿野達也・山平和也・平賀良知・大方勝男

渦鞭毛藻ヘテロカプサ(*Heterocapsa circularisquama*) は、カキなどの二枚貝を斃死させる赤潮プランクトンである。このプランクトンに含まれる毒性物質の単離・構造決定を行った。培養したヘテロカプサ藻体を *n*-BuOH-MeOH 混合溶媒で抽出した。得られた *n*-BuOH 可溶画分を 80% MeOH と hexane で分配し、MeOH 抽出物を得た。カキ致死活性を指標に MeOH 抽出物を逆相シリカゲルおよびシリカゲルカラムクロマトグラフィー、次いでゲルろ過を用いて分画した。さらに逆相 HPLC で精製することによって、活性物質としてヘテロカプサトキシン A (HTX-A) を単離した。HTX-A は分子量約 5,000 (MALDI-MS, positive) であった。¹H NMR および ¹³C NMR スペクトルから、HTX-A は二重結合および酸素官能基を含むことが示された。構造決定を行うため、HTX-A のオゾン分解を行なった。分解生成物として分子量 1,024 (FAB-MS, positive) の HTX-A₁ と分子量約 4,000 (FAB-MS, positive) の HTX-A₂ を得た。HTX-A₁ は、その各種 2 次元 NMR を解析することによって、以下の部分構造を推定した。

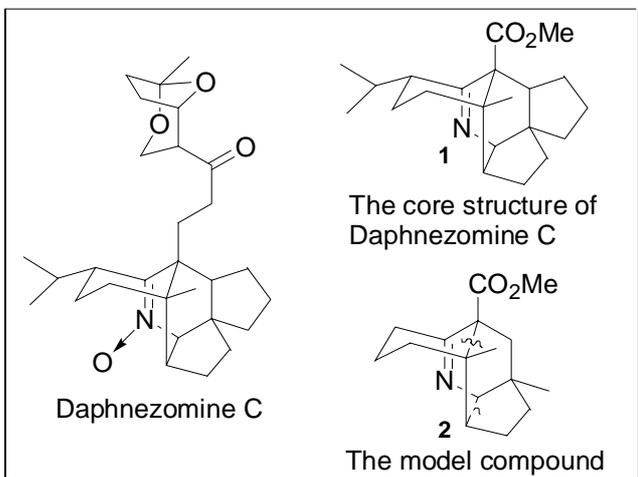


オゾン分解物 HTX-A₁ の ¹H NMR スペクトル(CD₃OD)と推定部分構造

1 A4b Daphnezomine C の多環骨格の構築法の検討

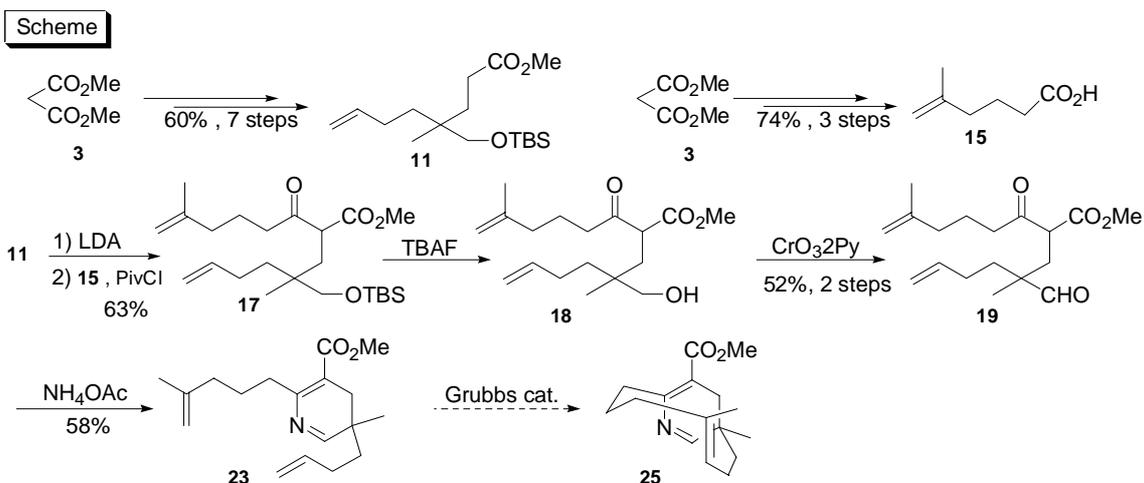
(広島大院理・広島大 QuLis)

田邊和久・藤江綾子・大森直樹・小島聡志・大方勝男



Daphnezomine C は複雑でユニークな環構造を有するユズリハアルカロイドの一つであり 1999 年に単離・構造決定された¹⁾。この複雑な環構造は興味深く、我々は環構造部分である化合物 1 を連続的な RCM と Diels-Alder 反応を鍵反応として用いることにより構築することを考えた。そこで環構造部分の構造上のモデルとして化合物 2 を挙げ、その合成の検討を行うことにした。

合成は以下の Scheme に従って行った。出発物質としてマロン酸ジメチル 3 を用い、増炭、酸化・還元反応、保護・脱保護などを行い、エステル 11 を 7 段階、収率 60% で得た。一方で、同じくマロン酸ジメチル 3 を出発原料として 3 段階、収率 74% でカルボン酸 15 を得た。このカルボン酸 15 と PivCl を反応させて系中で得られる混合酸無水物を 11 のエノラートと反応させることにより 17 を収率 63% で得た。この 17 を TBAF で脱保護し、精製することなく CrO₃・2Py で酸化することによりアルデヒド 19 が得られた。アルデヒド 19 をアミノ化することにより RCM の前駆体 23 を得た。この環化体 23 について Grubbs 触媒による RCM 反応を現在検討中である。



Reference

1) H. Morita, N. Yoshida, and J. Kobayashi, *Tetrahedron*, **1999**, 55, 12549-12556.

1B1a

局所射影分子軌道摂動展開による 分子間相互作用エネルギー計算

(広島大 QuLiS)

岩田末廣.

【序】 局在軌道を用いた摂動展開は、大きな系の高速計算のために、いくつかの研究グループが取り組んでいる。おおくの場合、励起軌道を「原子軌道」を被占軌道に直交化して局在化しているために、励起軌道に対するフォック行列は対角的ではなく、また、励起軌道間の重なり積分も残る。そのため、摂動展開において、大次元の連立方程式を解く必要が生じる。その困難を避けるために考慮する励起軌道に制限を加える場合が多い。その結果、なめらかなポテンシャルエネルギー面を描くことができないという欠陥が生じる。

【方法】 我々が開発してきた¹局所射影分子軌道は、閉殻分子から構成されているクラスターを研究対象としている。この方法では、異なる分子間の被占軌道同士および励起軌道同士が直交していない。さらに、Fock 行列を完全には対角化していない。そのため、2次摂動展開の行列要素は複雑になる。本研究では、解く連立方程式を小さくしかつ励起の型を分類するために、 S^2 の固有関数を励起基底関数とした。

【結果】 水と HF の各 2 量体について試験計算を実行した。図 1 は電荷移動(CT)のみを加えるだけで、Counterpoise(CP)によって補正した SCF による曲線と類似の振る舞いをする事が示されている。図 2 では 2 電子励起を加えた計算と、通常の MP2 計算、CP 補正した MP2 計算を比較している。MP2 で過大評価される結合エネルギーは、本方法によって補正されることが明らかになった。

図 1 電荷移動(CT)項と CP 補正の比較

(H₂O)₂

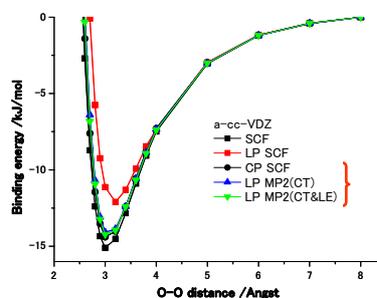
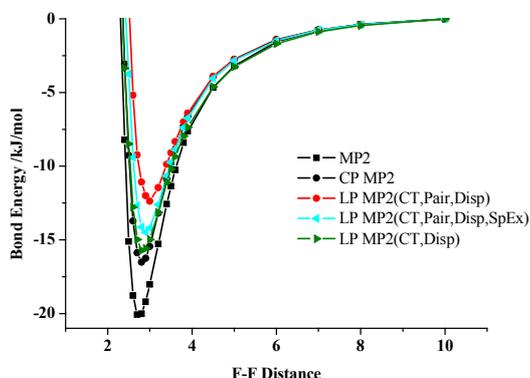
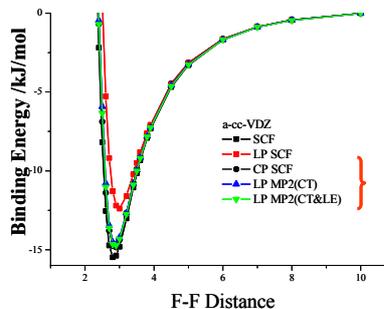


図 2 MP2 と本方法の比較((HF)₂ cc-VDZ)



(HF)₂



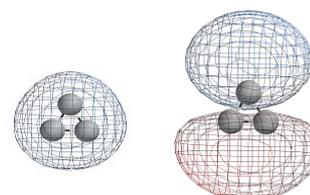
¹ T. Nagata and S. Iwata, J. Chem. Phys. 120 (2004) 3555

1B2b Direct ab initio MD 法を用いた多原子分子の 非調和性の研究

(広島大院理)

○山田朋範・相田美砂子

近年、日常的に行われている基準振動解析は、分子を調和振動子に単純化して取り扱っている。ここではこの近似のもとで生ずる実際の分子の挙動からのずれ、即ち非調和性をdirect ab initio MD を用いて考察する。この手法は各位置でab initio MO計算によってエネルギーを求め、解析的なポテンシャルの式を用いずにポテンシャル曲面を計算しながらMD計算を行っている。したがって、得られるポテンシャルエネルギーは非調和項と交差項を含んだ実際のものを再現している。このような研究は二原子分子(D₂)に関してはすでに行われているので、本研究では非直線三原子分子DH₂⁺(Figure 1)について行った。この分子を選んだ理由はかかる計算時間が少ないことと3つの振動モードがどれも縮重していないことからである。本研究では基準振動解析とMDから振動数を求めた (Table 1)。MDから振動数を求める方法は、双極子モーメントおよび速度の自己相関関数C(t)のFourier変換からそれぞれIRおよびPowerスペクトルの強度と吸収波数が得られることを利用している。



HOMO -32.945 eV
LUMO -5.205 eV

HF/6-311G**

Figure 1

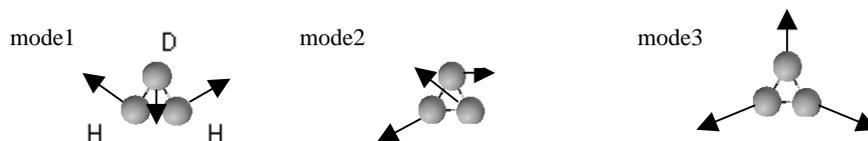
$$I(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int C(t) \exp(-i\omega t) dt \quad C(t) = \langle x(0)x(t) \rangle$$

これにより得られる振動数は分子の振動数そのもので、基準振動解析の結果得られる振動数とは異なるが、それだけでなく実測の電磁波の吸収波数とも物理的意味が異なる。¹⁾これら3種類の数値はすべて異なる意味をもっている。

Table 1 (単位はcm⁻¹, 各振動モードはFigure2に示す。)

	experimental ²⁾	normal vibrational analysis					MD
		HF		MP2		CISD	HF
		6-311G**	aug-cc-pVTZ	6-311G**	aug-cc-pVTZ	aug-cc-pVTZ	6-311G**
mode1	2205.80	2481.99	2479.38	2429.36	2437.10	2395.09	2301.59
mode2	2335.49	2612.13	2612.66	2553.38	2565.28	2519.94	2501.73
mode3	2992.41	3334.66	3309.26	3288.62	3271.68	3223.16	3135.50

Figure2



(1)G. Herzberg, Krieger Publishing Company, Molecular Spectra and Molecular Structure Volume 1, Volume 2, 1950. (2)T. Amano, J. K. G. Watson, *J. Chem. Phys.*, **81**, 2869 (1984).

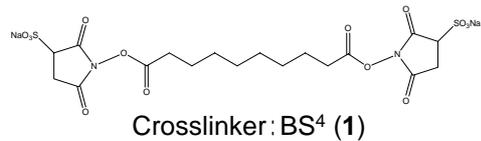
1B3b

クロスリンカーを用いた Cytochrome P450 17 α Cytochrome b₅ 複合体の質量分析によるトポロジー解析

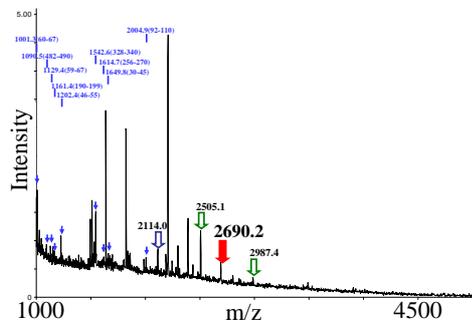
(広大院理・広大 QuLis・広大総科)

水野 初・泉 俊輔・山崎 岳・平田敏文・小南思郎

現在タンパク質の高次構造解析、特にタンパク質間やタンパク質 膜間相互作用などのトポロジー解析が注目されている。当研究室では、塩基性アミノ酸残基間に結合するクロスリンカーを使用してミクロソーム電子伝達系の膜タンパク質である Cytochrome P450 17 α (以下 P450 17 α) に化学修飾を行い、その質量変化を調べることで膜結合部位の解析を行っている。本研究では P450 17 α が基質代謝を行うときの電子伝達に関係する、膜タンパク質である Cytochrome b₅ が膜上でどのように P450 17 α 複合体を形成しているかを解析した。



大腸菌発現させた P450 17 α (guinea pig)、Cytochrome b₅ (human) をそれぞれ単離・精製し、コール酸透析法¹⁾によりホスファチジルコリンからなるリポソーム膜中に組み込んだ。P450 17 α Cytochrome b₅ 複合体中の塩基性アミノ酸であるリジンに親水性クロスリンカーである BS⁴ (Di-sulfosuccinimidyl sebacate (1)) をタンパク質モル量に対して 1000 倍を加え、クロスリンク反応



させた。反応溶液の CO 還元スペクトルを測定したところ、450 nm に P450 17 α 特有の吸収が見られたので、クロスリンク反応による P450 17 α の構造の変化は無いことが確認された。この反応溶液にアンモニア水を加えて反応を終了させ、トリプシンを加え、消化断片の質量を MALDI-TOF 質量分析計によって測定した。解析の結果、図 1 に示すように m/z 2690.2 , 8752 , 16569 のピークがそれぞれ P450 17 α と Cytochrome b₅ の間でクロスリンク結合していた。このことより P450 17 α の Lys248 と Cytochrome b₅ の Lys18、P450 17 α の Lys290 と Cytochrome b₅ の Lys23 の間でそれぞれクロスリンカーが結合していることがわかった。

図1 クロスリンク反応サンプルのMSスペクトル

これまでに P450 17 α はリポソーム膜上で P450 17 α 中のヘムを膜面に対して平行になるように存在していることがわかっている。これに今回の結果を考え合わせると、P450 17 α Cytochrome b₅ 複合体が図 2 のように膜中で存在していることがわかった。このモデルについて P450 17 α と Cytochrome b₅ の表面の電荷をみると、Cytochrome b₅ のクロスリンカーが結合した部位付近のリジン残基がちょうど P450 17 α のクロスリンカー結合部位付近の酸性アミノ酸残基の位置と対応していることがわかった。

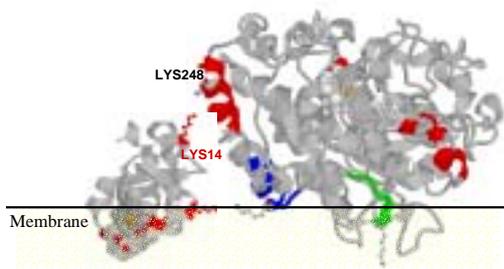


図2 P450 17 α Cytochrome b₅ 複合体の膜内トポロジー解析結果

1) Kominami, S., et al., *B.B.A.*, **985**, 293-299 (1989).

1B4b イオントラップ型質量分析計を用いたヒストンの翻訳後修飾の解明

広島大院理・量子生命科学プロジェクト研究センター)

北島幸太郎・宮下恵明・泉 俊輔・平田敏文

ヌクレオソームを構成するコアヒストン分子のN末端テールは様々な翻訳後修飾を受けることが知られている。近年、それらの修飾は幾つかが組み合わさって遺伝子の発現調節等種々の生体機能と密接に関係していることが明らかになってきている。本研究では、ヒストンの翻訳後修飾を網羅的に解析するため、ヒストンの翻訳後修飾位置を質量分析法により解析する方法論の確立を行った。さらにウニの初期胚を用いて発生の諸段階におけるヒストンH4の翻訳後修飾の解析を行った。

仔ウシ胸腺由来のヒストン画分を15%SDS PAGEにより分離し、得られた各バンドを切り出した後、定法¹⁾に従い、トリプシンを用いてゲル内消化を行った。これをCHCAおよびDHBAをマトリックスとしてMALDI-TOF MS測定を行った。その結果、分子量が1000以下のペプチドフラグメントは、マトリックスとしてCHCAを用いた場合よりもDHBAを用いた場合の方が、感度、分解能ともに良いことが明らかとなった。ヒストンテール部分は塩基性アミノ酸に富み、トリプシンによって高度に断片化されることから、ヒストンの翻訳後修飾位置の決定には、DHBAを用いて分析することとした。

発生の諸段階におけるヒストンの翻訳後修飾を明らかにするために、ウニの胞胚期と原腸胚初期の細胞からそれぞれ核を取り出し、これを硫酸抽出することで、粗ヒストン画分を得た。これを15%SDS PAGEにより分離し、ヒストンH4の翻訳後修飾をMALDI-TOF MS測定およびMS/MS測定により明らかにした。その結果、図1に示すように、胞胚期ではヒストンH4のアセチル化はN末端の4つのリジン残基で生じており、そのアセチル化にはR3のメチル化を伴わないことがわかった。一方、原腸胚初期のヒストンH4ではK5のアセチル化にはR3のメチル化が伴っていることが示された。

以上の結果より、動物において発生のごく初期にはヒストンテール部分は高頻度のアセチル化されていることが明らかになった。一方、原腸胚以降ではヒストンのメチル化は安定で、体細胞分裂時に維持されていることが示唆される。今後、H3、H2AおよびH2Bなど他のヒストンテールに関して網羅的なプロテオミクス解析を行い、発生のエピジェネティクスの解明を図りたい。

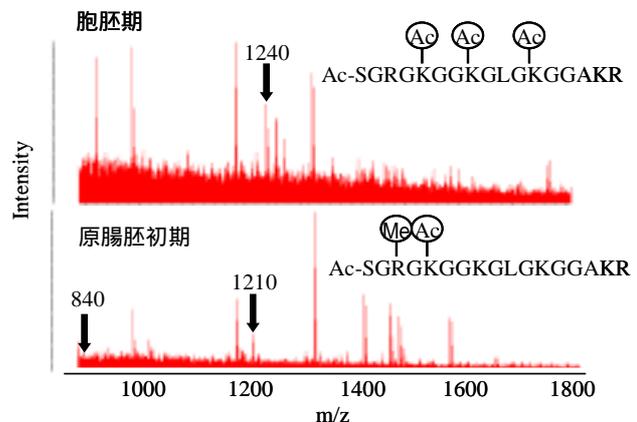


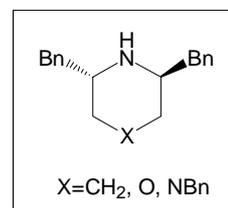
図1.胞胚期と原腸胚初期のヒストンH4のMSスペクトル

1) T. Yamasaki *et al.*, J. Bio. Chem, **279**(22), 22848 (2004).

1C2b C_2 対称キラルピペラジンの合成と応用

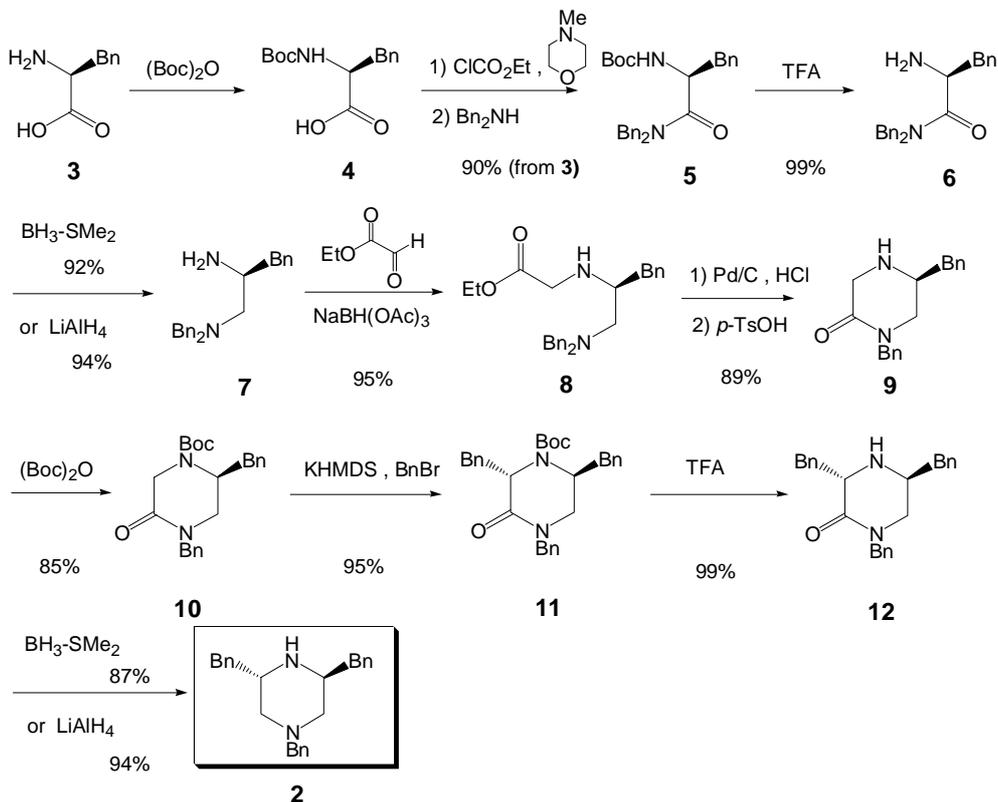
(広島大院理・広島大 QuLis) 梅田康広・茶林敬司・小島聡志・大方勝男

キラルアミンは不斉反応において有効であることが知られており、不斉配位子やキラル補助基として幅広く用いられてきたが、最近になって、プロリンなどの5員環キラルアミン自身が不斉触媒として働く例が報告されるようになってきた。しかしながら、フェニル基の π -スタッキング相互作用が期待される1の形の C_2 対称の6員環アミンの報告例はなかった。キラルピペラジン2はBn置換の窒素も官能基化が可能であり、広がり期待できると考えられる。そこで、Scheme 1 に示す経路で(L)-フェニルアラニンを出発物質として合成した。



1

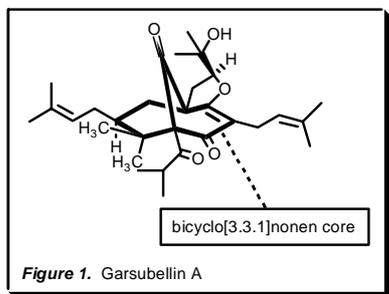
Scheme 1



2

6 から 7 および 12 から 2 への還元では、当初 BH_3-SMe_2 を用いていたが、THF 還流下 $LiAlH_4$ を用いても反応が効率よく進行することが分かった。10 から 11 のアルキル化では単一のジアステレオマーのみが得られた。このようにして目的生成物 2 を 11 段階、収率 53% で合成できた。また、5 に対応する *N*-モノベンジルアミドを経るルートも検討したが効率よくジアミンを得ることができなかった。現在、2 を用いた不斉反応への応用を検討中である。

(広島大院理) 美和有希子・練苧喬士・高木隆吉・大方勝男



ビスクロ[3.3.1]ノネン骨格は Garsubellin A のような生理活性天然物にみられる基本骨格である(Figure 1)。さまざまな2-シクロヘキセノン誘導体とアクリル酸誘導体との連続的な Michael 反応によるビスクロ[3.3.1]ノネン骨格の構築法を検討した。

Scheme 1.

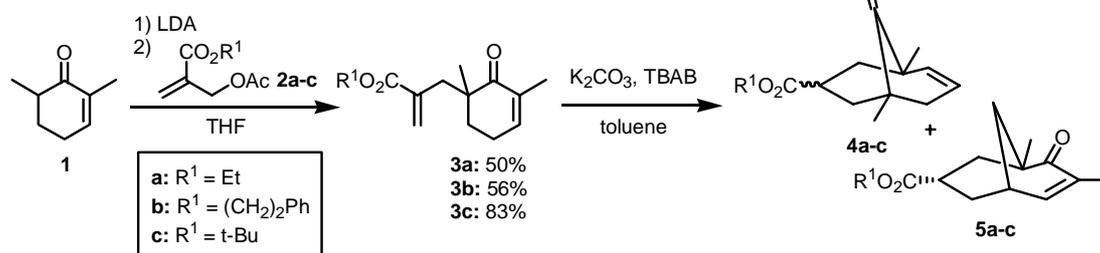


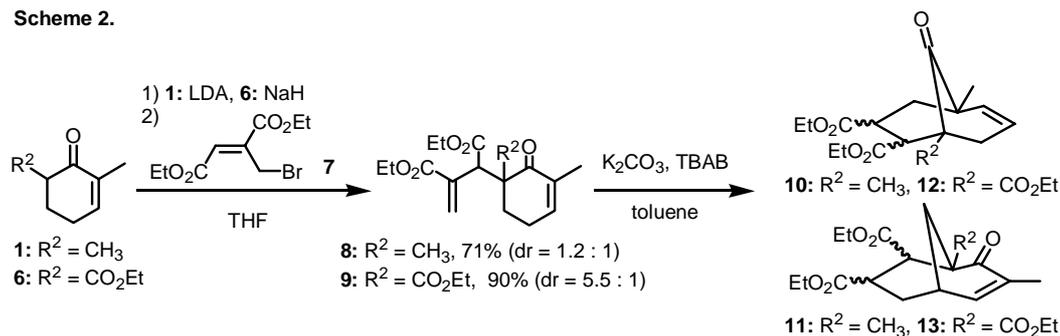
Table 1.

conditions	substrate	yield
80°C, 6 h	3a	4a: 78% (63 : 13)* 5a: 4%
90°C, 9 h	3b	4b: 62% (49 : 13)* 5b: 6%
90°C, 23 h	3c	4c: 91% (91 : 0)* 5c: —

*diastereomer ratio

2,6-ジメチルシクロヘキセノン 1 とアクリル酸誘導体 2a-c との Michael 反応により環化前駆体 3a-c を得た。これに塩基として炭酸カリウム、テトラブチルアンモニウムプロマイドを用いて加熱したところ、位で環化反応が進行して生成したビスクロ化合物 4a-c と位で環化反応が進行して生成したビスクロ化合物 5a-c が得られた(Scheme 1, Table 1)¹⁾。

Scheme 2.



7 を用いた場合でも同様に環化反応は進行した。R = CH₃ (1) の場合、位で環化反応が進行したビスクロ化合物 10 は 39%、位で環化反応が進行したビスクロ化合物 11 は 42% で生成した。R = CO₂Et (6) の場合、12 は 54%、13 は 12% で生成した。ここで、環化生成物はエステルの向きが異なる数種類の異性体の混合物であった。

これらの反応はワンポットでも同様に進行し、環化生成物を与えた。

1) Ryukichi Takagi, Takashi Nerio, Yukiko Miwa, Shuji Matsumura and Katsuo Ohkata, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 7401-7405.

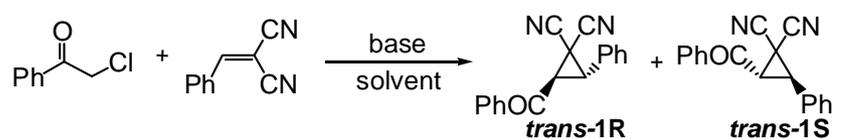
1C4b シンコナルカロイドを不斉源とした

触媒不斉シクロプロパン化反応の検討

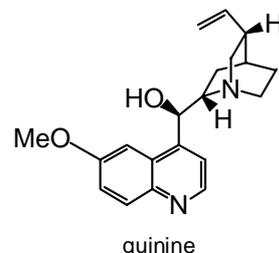
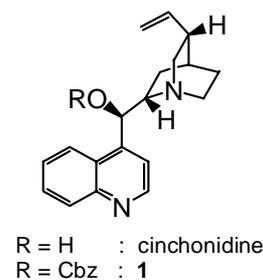
(広島大院理・広島大 QuLiS) 鈴木麻希・渡邊亜希人・小島聡志・大方勝男

シクロプロパン化合物はその著しく歪んだ構造のため反応性に富んでおり、合成中間体として広く用いられている。当研究室では、8-フェニルメントールおよび 8-フェニルメンチルアミンを不斉源としてジアステレオ選択的シクロプロパン化反応について報告してきたが、今回不斉プレンステッド塩基をメディエーターあるいは触媒として用いた反応を検討したので発表する。

クロロアセトフェノンとフェニルメチリデンマロノニトリルとのシクロプロパン化反応において Na_2CO_3 (excess) と 1,8-ジアザビシクロオクタン (20 mol%) を用いると 0 で反応が進行することが見出された。そこで、類似の橋頭窒素をもつシンコナルカロイドに着目し不斉反応を検討した。塩基としてキニン、溶媒として MeCN および DMF を用いたところ不斉が誘導されなかったが、溶媒として CH_2Cl_2 およびトルエンを用いたところそれぞれ 24, 30 %ee で生成物が得られた。塩基としてシンコニジンを用いた場合に若干の選択性の向上 (34 %ee) が見られた。また、シンコニジンを触媒量 (20 mol%) にして Na_2CO_3 (excess) とともに用いた場合 52 %ee となった。シンコニジンの水酸基の影響を調べるために誘導體 1 を合成し、同様に検討したが、エナンチオ選択比が低下する結果となった。そのことから、水酸基による水素結合効果が重要であると現在考えている。今後は、選択性向上のために、さらに別のシンコニジン誘導體の検討を行う予定である。



entry	base	solvent	temp	yield	enantiomeric ratio ¹⁾
1	quinine	MeCN	0	89%	53 : 47
2	quinine	DMF	0	46%	51 : 49
3	quinine	CH_2Cl_2	0	71%	62 : 38
4	quinine	Toluene	0	34%	65 : 35
5	cinchonidine	CH_2Cl_2	0	56%	67 : 33
6	cinchonidine, Na_2CO_3	MeCN	r.t.	64%	50 : 50
7	cinchonidine, Na_2CO_3	CH_2Cl_2	r.t.	65%	76 : 24
8	1	MeCN	0	45%	53 : 47
9	1	CH_2Cl_2	0	71%	54 : 46



1) Absolute stereochemistry has not yet been determined.

1D1a

水クラスター異性体の相対的安定性： 化学ポテンシャルのシミュレーションによる算出

広大院理・広島大 QuLiS
○三宅敏子・相田美砂子

1. 序

水クラスター(H_2O)_nは、水分子が水素結合によって凝集し、水素結合のネットワークを形成した分子集積系である。水素結合は方向性を持ち、水素結合パターンの組み合わせに起因する多くの異性体が存在する。有限温度における異性体の分布を表現する物理量は、熱力学ポテンシャルである化学ポテンシャルである。本研究では、モンテカルロシミュレーションによって各異性体の化学ポテンシャルを算出した。

2. 水クラスターの水素結合パターン

水クラスターのトポロジ的に可能な異性体は、水素結合パターンを表す有向グラフ(Fig. 1)を数学的に数え上げることによって全てを網羅することができる。これまでに、(H_2O)_n, n=3-8 について、水素結合パターンの数え上げを行った([1], [2])。水3分子系の場合、可能な水素結合パターンは Fig. 2, A-Gの7通りのみである。

3. 化学ポテンシャルの算出

本研究では、モンテカルロシミュレーションによって水クラスターの NVT アンサンブルを生成し、得られたアンサンブルを水素結合パターンによって分類した。また、各異性体の平均エネルギー、化学ポテンシャル等の熱力学量を算出した。水3分子系のポテンシャルエネルギー面において、A, C, E の水素結合パターンを持つ local minima が存在する。B, F, G の水素結合パターンに相当する local minima は存在しないが、これらはある温度において化学ポテンシャルが低くなり、相対的に安定となる水クラスターの異性体である。このように、有限温度において相対的に安定である異性体は、構造最適化によって得られる異性体とは異なる。

[1]“Enumeration of topology-distinct structures of hydrogen bonded water clusters,”
T. Miyake and M. Aida, Chem. Phys. Lett., 363, 106–110 (2002).

[2] “Hydrogen Bonding Patterns in Water Clusters: Trimer, Tetramer and Pentamer,”
T. Miyake and M. Aida, Internet Electronic Journal of Molecular Design, 2, 24–32 (2003)

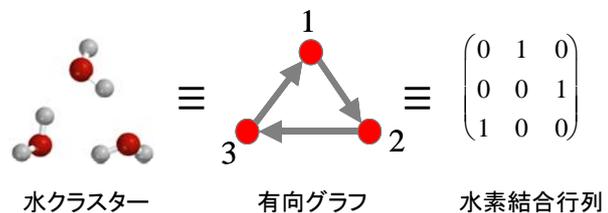


Fig.1 水クラスターの水素結合パターンを表す有向グラフと、等価な行列表現

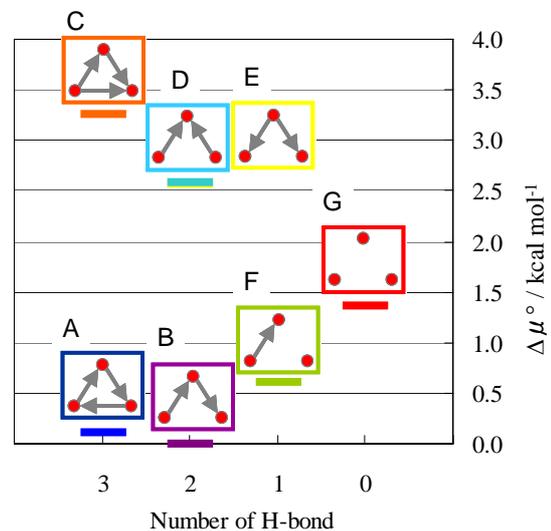


Fig. 2 250Kにおける化学ポテンシャルの相対的な数値

このように、有限温度において相対的に安定である異性体は、構造最適化によって得られる異性体とは異なる。

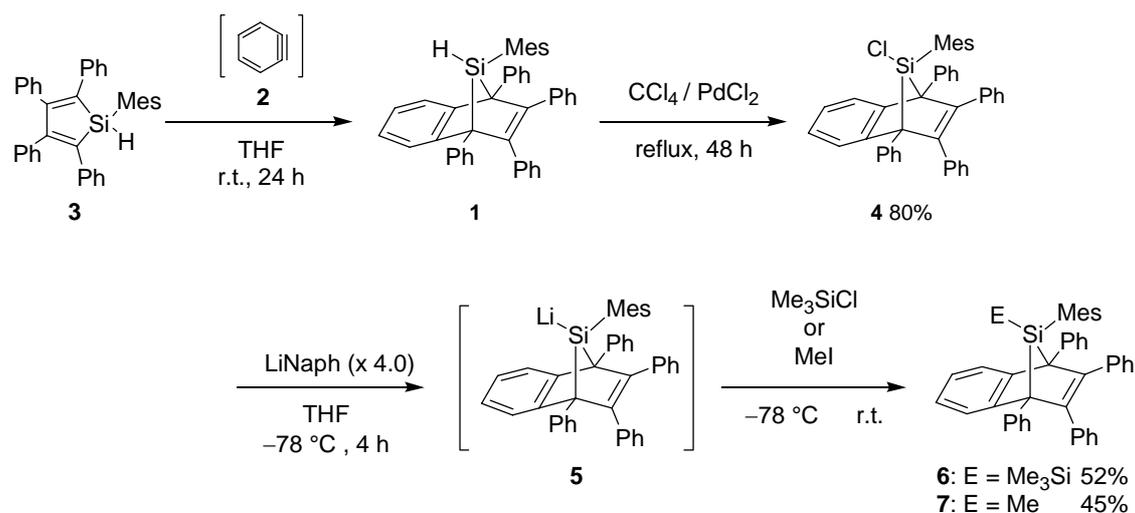
1D2b 7-シラノルボルナジエン誘導体の合成と反応

(広島大院理) 河内 敦 沖本真広・山本陽介

7-シラノルボルナジエン化合物は熱または光照射するとシリレンを発生することで知られている。また求核試剤を作用させると、芳香族分子の脱離をともなって系中でシリルアニオン種を発生させることができる。このように 7-シラノルボルナジエン化合物はケイ素活性種の前駆体として有用な化合物である。しかし、これまでそのケイ素原子上の官能基の種類は限られていた。そこで本研究では、7-ヒドロ-7-シラノルボルナジエン **1** のケイ素原子上の官能基変換について検討をおこなった。

既知の方法に従い、*o*-プロモフルオロベンゼンとマグネシウムとから発生させたベンザイン **2** を系中でシロール **3** と反応させ、メシチル基を有するヒドロシラン **1** を合成した (Scheme 1)。¹ **1** のケイ素原子上の水素原子は、塩化パラジウム存在下、四塩化炭素との反応により塩素原子へと良好な収率で変換することができた。さらに、得られたクロロシラン **4** にリチウムナフタレニド (LiNaph) (4.0 モル量) を THF 中、 -78°C で作用させると、シリルリチウム **5** が生成した。シリルリチウム **5** はクロロトリメチルシランやヨウ化メチルと反応し、ジシラン **6** およびメチルシラン **7** をそれぞれ与えた。クロロシラン **4** と種々の求核試剤との反応についても検討をおこなったので併せて報告する。

Scheme 1



1) J. Schuppan, B. Herrschaft, T. Müller, *Organometallics*, **20**, 4584 (2001).

1D3a タンパク質 - DNA の特異的認識への計算化学からの取り組み：

側鎖 - 塩基対間の相互作用自由エネルギーマップ

(広島大院理¹・広島大QuLiS²・九工大情報工³)

吉田智喜^{1,2}・相田美砂子^{1,2}・皿井明倫³

DNA 結合タンパク質による DNA の特異的認識は、遺伝子の発現と制御において重要な役割を果たしている。近年、タンパク質と DNA との複合体構造が、X 線や NMR といった実験的手法によって数多く明らかにされているが、DNA 結合タンパク質がなぜ特定の塩基配列を認識することができるのかは未だによくわかっていない。アミノ酸側鎖による核酸塩基対の直接認識は、タンパク質による DNA の特異的認識において重要な要素である。しかし、複合体構造において、側鎖と塩基対との相互作用には、数多くのパターンが存在している。すなわち、タンパク質-DNA 相互作用を考えるにおいて、アミノ酸側鎖の構造的自由度を考慮した計算が必要となる。そこで我々は、タンパク質-DNA 相互作用を側鎖と塩基対との相互作用のレベルから明らかにすることを目指し、側鎖と塩基対 (あるいは塩基配列) との間の相互作用自由エネルギー ($\Delta\Delta G$) マップの計算を行っている。

ここでは、アスパラギン (Asn) あるいはセリン (Ser) 側鎖と塩基対 (あるいは塩基配列) との間の $\Delta\Delta G$ マップの計算によって明らかになった、タンパク質-DNA 間の特異的認識の特徴および予測可能性について報告する。

側鎖と一塩基対との相互作用 Asn、あるいはSer側鎖と塩基対との $\Delta\Delta G$ マップを計算した。これらの側鎖はA-T塩基対のまわりよりもG-C塩基対のまわりに存在したほうが自由エネルギー的に有利であることがわかった。

側鎖と塩基配列との相互作用 全 32 通りの独立な三塩基対長の塩基配列とAsn、あるいはSerとの $\Delta\Delta G$ マップを計算した。どちらの側鎖においても、上下にどのような塩基対が存在するかによって $\Delta\Delta G$ マップに違いが見られ、配列依存性が存在していることが明らかとなった。また、塩基配列のまわりにおいて同程度のエネルギーを持った構造が数多く存在していた。このことは、単一の相互作用構造に対する相互作用エネルギーではなく、相互作用の自由エネルギー ($\Delta\Delta G$) を考慮する必要があることを示している。

$\Delta\Delta G$ マップの応用 (DNA 上における側鎖の結合位置の予測) 側鎖と三塩基対長の塩基配列との相互作用に対する $\Delta\Delta G$ マップを組み合わせることでDNAまわりの $\Delta\Delta G$ 等値面を描き、PDBデータと比較した。その結果自由エネルギー的に安定な領域に、側鎖のC_α原子が存在していた。本手法により、DNA上でのアミノ酸側鎖の認識部位を予測することができる可能性があることがわかった。

[参考文献]

[1] Pichierri, F.; Aida, M.; Gromiha, M. M.; Sarai, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 6152-6157, 1999.

[2] Yoshida, T.; Nishimura, T.; Aida, M.; Pichierri, F.; Gromiha, M., M.; Sarai, A., *Biopolymers*, **61**, 84-95, 2002.

株式会社 島津製作所 ライフサイエンス研究所/プロテオーム解析センター
大阪大学 蛋白質研究所 プロテオミクス総合研究センター
西村 紀

ヒトゲノムの解読が終わり、ライフサイエンスの新しい時代が始まっています。ポストゲノム時代の幕開け、蛋白質の時代であると思います。今後は、ゲノム情報に基づく生命そのものを担うこの蛋白質の機能解明の研究がますます重要になってくることは疑う余地がありません。なぜなら、ゲノムが「生命の設計図」であるとするなら、蛋白質は「生命の実体」そのものであると言えるからです。私達が、生きているという証は、この蛋白質が担っています。私は長く、製薬企業の基礎研究部門に身を置き、ゲノム情報をベースとする創薬（ゲノム創薬）研究に従事してきました。

ゲノム創薬を推進していく上で、ゲノムの情報は、重要で、かつ必須であることはもちろんです。しかしながらこれだけでは十分ではありません。遺伝子（ゲノム）レベルの研究だけでは大きな壁に突き当たり、これをどうしても越えることが出来ないことを数多くの事例で経験してきました。この隘路を突破する方策は何か？それは生命そのものを担う蛋白質の研究です。先に述べたように、創薬研究のターゲットとなるのも大部分が蛋白質（酵素、抗体、受容体、等）です。個々の遺伝子が、どのような蛋白質を作り、それがいつ生体の何処でどのような機能を営むかが、ますます重要な問題として問われています。

現在、疾患で特異的に変動する遺伝子をターゲットとするゲノム創薬研究が急激な展開を見せています。これを強力かつ効率的に推進していく上で、ゲノム情報に加えて必須のツールとなるのは網羅的な蛋白質の変動解析を行うプロテオーム解析です。特に、疾患に関わる蛋白質のダイナミックな変化を知らせる情報が、疾患特異的な変動遺伝子からのゲノム創薬研究を進めていく上で最も重要でかつ不可欠です。

プロテオーム解析を進めていく上での必須の機器は言うまでもなく質量分析装置（MS）です。一昨年のノーベル化学賞が、「ソフトレーザー脱離イオン化法」の開発者、田中耕一フェロー等に贈られたことは、大変意義深く、今後のMSのポストゲノム時代における重要性を示すものとして象徴的なことです。

このあたりを十分に踏まえた上で、本講演では、現在のゲノム創薬が直面している隘路を突破する方策とその方向性について私なりの考えをお話ししてみたいと考えています。

1F1a 質量分析データを用いたゲノム配列へのマッピング

Direct Mapping of Mass Spectrometric Data onto Genomic DNA Sequence

(広島大院理・QuLiS¹, 理研², 徳島大分子酵素セ³)

石野洋子^{1,2}・岡田ひとみ²・谷口寿章^{2,3}

質量分析 (MS) とデータベース (DB) 検索を組み合わせたプロテオーム解析により、細胞や組織で発現している数千種類のタンパク質を同定することが可能となった。そこでは通常、質量分析で得られるペプチドの部分配列情報を用い、タンパク質アミノ酸配列の DB に対して確率統計的な考えに基づく検索を行うことで、試料中のタンパク質の同定を行っている。多くのモデル生物でゲノム DNA 配列が明らかになることで DB の整備が進み、ゲノム DNA とそれらがコードする多くのタンパク質との対応が明らかになることで、この手法が生まれたといえる。しかし、この方法だけでは、DB 上の遺伝子の配列やアノテーションに間違いがある場合に同定精度が落ちる可能性があり、また、まだアノテーションされていない新規の遺伝子は発見できないなどの不十分な面がある。

そこで、本研究では、直接ゲノム DNA の塩基配列 DB に対して確率統計的な検索を行い、検索で得られたペプチドをゲノム配列上にマップすることを試みた。これにより、1) ペプチドの位置と既存のアノテーションとを比較することで配列やアノテーションの間違いを検出する、2) 単純な遺伝子検出プログラムを組み合わせることで新規遺伝子を予測する、という 2 つを可能にした。具体的には、質量分析データの DB 検索エンジンとして Matrix Science 社の Mascot を使用し、統計的な見地からペプチドごとに算出される確からしさのスコアを利用した情報処理を行い、上述の 1)、2) を実施した。

現在までに、枯草菌、分裂酵母等でこの手法を試みているが、今回は、光合成細菌 *Synechocystis* sp. PCC6803 でこの解析を行った結果を示す。異なる光強度下で培養した菌体の可溶性画分と膜画分を試料とし、高速液体クロマトグラフィーを組み込んだ四重極-飛行時間ハイブリッド型質量分析装置 (LC-MS/MS) により分析されたデータを、情報解析に用いた。ゲノム配列とアノテーションは GenBank に登録されているものを用いた。その結果、幾つかの新規遺伝子とともにアノテーションの誤りが多く見出されたが、後者の大部分は CyanoBase (<http://www.kazusa.or.jp/cyano/>) に含まれる新しいアノテーションでは訂正されていた。これらの結果は、プロテオミクスのデータを用いたゲノム解析への応用が有効であることを示している。

(参考文献)

- [1] Choudhary, J.S. *et al.*, Matching peptide mass spectra to EST and genomic DNA databases, *Trends in Biotechnology* 2001, 19, S17-22.
- [2] Dandekar, T. *et al.*, Re-annotating the *Mycoplasma pneumoniae* genome sequence: adding value, function and reading frames, *Nucleic Acids Res.* 2000, 28, 3278-3288.
- [3] Himmelreich, R. *et al.*, Complete sequence analysis of the genome of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae*, *Nucleic Acids Res.* 1996, 24, 4420-4449.
- [4] Jaffe, J.D., Berg, H.C., Church, G.M., Proteogenomic mapping as a complementary method to perform genome annotation, *Proteomics* 2004, 4, 59-77.
- [5] Kuster, B., Mortensen, P., Andersen, J.S., Mann, M., Mass spectrometry allows direct identification of proteins in large genomes, *Proteomics* 2001, 1, 641-650.
- [6] Link, A.J. *et al.*, Direct analysis of protein complexes using mass spectrometry, *Nature Biotechnology* 1999, 17, 676-682.

1F2b

質量分析法によるポリ-L-グルタミン酸 ヘリックスの H/D 交換の研究

広島大・QuLiS¹、広島大院理²
山本竜也¹、泉 俊輔^{1,2}、月向邦彦²

我々はこれまで質量分析法により蛋白質のH/D交換を調べ、構造の揺らぎに二次構造が大きく関与していることを明らかにしてきた。特に α -ヘリックスのH/D交換は、その配列や周辺環境、またリガンドの結合に大きく依存し、その揺らぎが機能発現に関わっている可能性が示唆された¹⁻³。揺らぎに及ぼす α -ヘリックスの鎖長依存性を知ることは、蛋白質の揺らぎを理解する上での基礎として重要である。本研究では、モデルポリペプチドとしてポリ-L-グルタミン酸を用い、様々な鎖長を有する α -ヘリックスのH/D交換反応を質量分析法により追跡し、 α -ヘリックスの鎖長と揺らぎの関係について調べた。

pH 4.4 でヘリックス構造をとらせたポリ-L-グルタミン酸(M.W.750 ~ 4,000)水溶液に 10 倍量の重水を混合することにより H/D 交換反応を開始し(pH4.8、15)、各時間ごとに pH を 2.8 まで下げ液体窒素で凍結することにより反応をクエンチし、MALDI-TOF-MS を用いて質量を測定した。

その結果、試料に含まれる 7~43 残基からなるすべての鎖長のポリペプチド鎖について H/D 交換を観測することができ、一次反応式でフィッティングすることにより速度論的パラメータを算出した。短いペプチドは高い交換量と交換速度を示しており、特に 7 残基のペプチドは初期の段階で完全に交換していることから、安定なヘリックスを形成していないことがわかった。また、鎖長が長くなるにつれ交換量・交換速度ともに減少するが、その鎖長依存性は単調ではなく、22 残基と 38 残基前後に変曲点が存在することがわかった。このことはポリグルタミン酸のヘリックス構造がこれらの鎖長で変化していることを示している。これらの結果をもとに、蛋白質内における α -ヘリックスと揺らぎの関係について考察する。

(参考文献)

1. Yamamoto *et al.* *The Journal of Biochemistry*, **135**(1) (2004) 17–24
2. Yamamoto *et al.* *The Journal of Biochemistry*, **135**(4) (2004) 478–494
3. Yamamoto *et al.* *The Journal of Biochemistry*, **135**(6) (2004) 663–671

1F3b

アルキル鎖で結ばれた発色団の間の振動エネルギー 移動メカニズムの解明

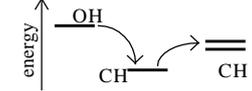
(東北大院理¹⁾, 広島大院理²⁾)

山田勇治¹⁾, 三上直彦¹⁾, 江幡孝之²⁾

【序】分子内振動エネルギー再分配 (IVR) は化学反応などのダイナミクスに於いて重要な役割を担い、そのため多くの研究がなされてきた。近年、DlottらのグループによってアルコールのOH伸縮振動のIVR機構が研究され、化学結合を介して振動緩和する”through bond transfer”であるか、あるいは振動モード間の共鳴による緩和、”vibrational cascade”、であるかの議論がなされている(図1)。しかしながら、凝集相での研究では不可避である溶媒の影響という問題点が残っている。そこで本研究では、ピコ秒時間分解赤外・紫外ポンブプローブ法を溶媒効果が無い孤立気相分子フェニルアルコール類 {Ph-(CH₂)_n-OH} に適用し、OH伸縮振動のIVR過程とアルキル鎖の延伸との相関を調べ、分子内振動緩和メカニズムの解明を試みた。

【実験】フェニルアルコール類 {Ph-(CH₂)_n-OH : n=1-6} のOH伸縮振動のIVRをピコ秒時間分解赤外・紫外ポンブプローブ法によって観測した(図2)。パルス幅12psの赤外パルスで超音速分子線中の孤立気相分子のOH伸縮振動準位に励起し、その後遅延時間において紫外プローブパルスを入射し、0-0バンド付近に現れるブロードなv'-v''遷移を利用した共鳴二光子イオン化で、振動緩和後のベンゼン環の振動状態が”hot”になる時間変化を観測した。

Through bond transfer
HO-CH₂-CH₃



Vibrational cascade
HO-CH₂-CH₃

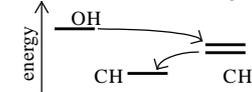


図1 2つの振動緩和機構

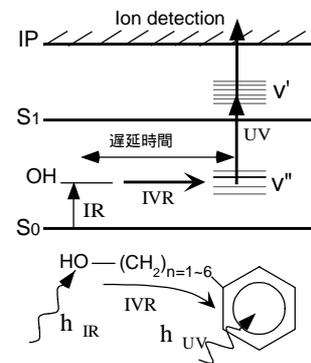


図2 励起スキームと概念図

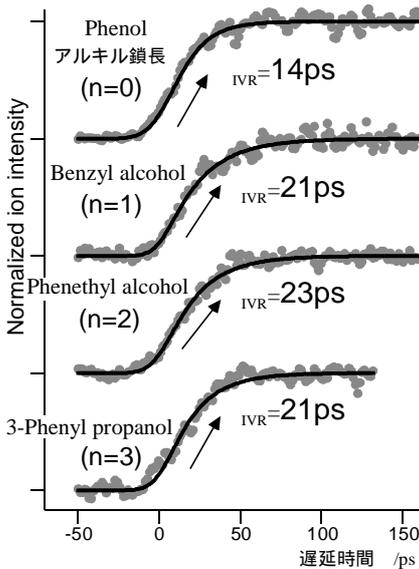


図3 各分子に於けるバンド強度の時間発展

【結果】図3に各アルキル鎖長でのOH伸縮振動励起後のv'-v''遷移バンド強度の時間発展と単一指数関数でコンボリューションを行った結果(実線)を示す。その結果、OH基とベンゼン環の間にアルキル基が入ると、IVRが1.5倍も遅くなることが分かり、CH₂基による空間的な距離がこの緩和メカニズムに影響を与えていると考えられる。つまり、OH伸縮振動エネルギーは、アルキル基を最初のパスとして、それを經由してベンゼン環周りの振動モードへ流れる”through bond transfer”であると結論される。しかしながら、更にアルキル鎖を伸ばしても大きな変化が見られない。これは、CH₂基同士のモード間で強い共鳴があり、アルキル鎖全体で一つのパスとして働いているため、振動緩和の速さにそれ程影響を与えないと考えられる。

(参考文献) [2] Z. Wang, A. Pakoulev, and D.D. Dlott, *Science* **296** 2201 (2002).

1F4b

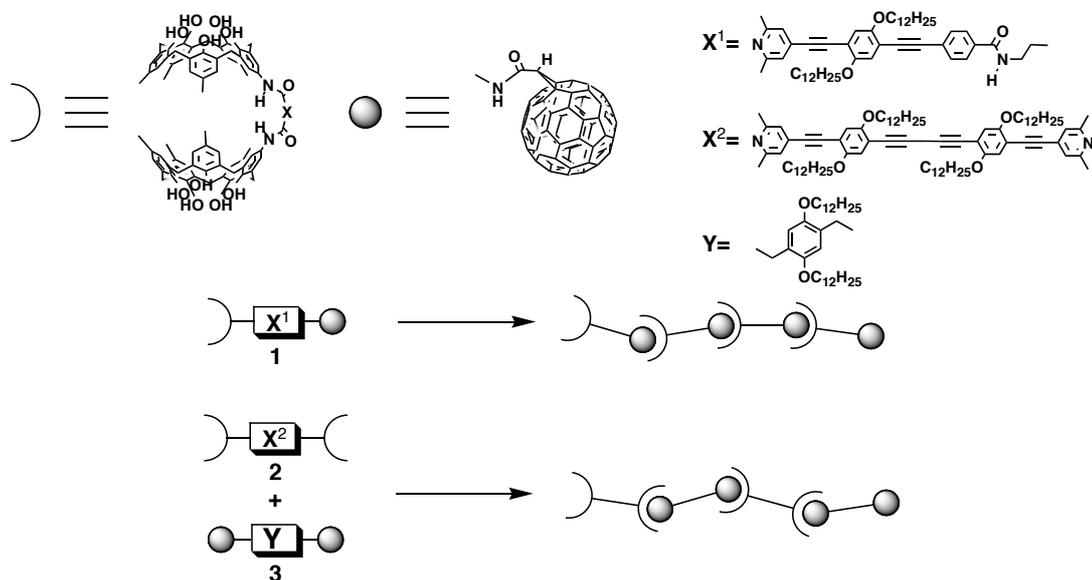
カリックス[5]アレーンとフラーレンのホスト-ゲスト相互作用を利用した自己集合ポリマーの合成

(広島大院理) ○松本陽子・灰野岳晴・深澤義正

近年、ナノテクノロジーの発展に伴い、ボトムアップの手法を用いたナノスケールへのアプローチに超分子化学の利用が注目を集めている。

これまでに我々の研究室では、カリックス[5]アレーンがフラーレンを選択的に強く包接することを報告してきている。そこで今回我々は、カリックス[5]アレーンとフラーレンのホスト-ゲスト相互作用を利用して自己組織化されたナノ構造体を開発しようと考えた。実際にカリックス[5]アレーンとフラーレンを剛直なリンカーで結合した化合物 **1** を設計し合成を行った。しかしこの化合物 **1** は通常の有機溶媒には難溶であったため、期待するようなポリマーの形成を確認することはできなかった。

そこで、両末端に認識部位を有するテトラキスカリックス[5]アレーン誘導体 **2** とビスフラーレン誘導体 **3** の合成を行った。**2** に 1 当量の **3** を加えたところ、カリックス[5]アレーンの架橋メチレンプロトンの $^1\text{H-NMR}$ シグナルが二つに分裂した。これは、カリックス[5]アレーンとフラーレンが包接したことを示す特徴的なスペクトル変化であり、**2** と **3** の会合が起こっていることを示している。また、**2** と **3** の混合溶液を 85°C から 25°C に降温したところ 390 nm 付近の吸収バンドが減少し、 420 nm 付近の吸収バンドが増加していった。またこのスペクトル変化は等吸収点を与えた。このスペクトル変化はフラーレンとカリックス[5]アレーンの包接においてすでに我々が観測しているものと一致することから、**2** と **3** の会合は紫外-可視スペクトルによっても確認された。引き続き、固体状態でのポリマー形成を検討した。**2** と **3** の 1 : 1 混合溶液から溶媒を除去して得られるフィルムを SEM 及び AFM を用いて観測をしたところ、ポリマーの形成に由来する繊維状構造の形成が確認された。現在溶液中の会合体の形成挙動について検討中である。



1G1a

新規両性イオン微粒子の開発と DNA 精製への応用

産業技術総合研究所生物機能工学研究部門 分子認識研究グループ
 (ナノバイオ分野人材養成ユニット)

○平 修・杜 永忠・江口 優・小高 正人

高分子構造内にカチオン性、アニオン性、両官能基を導入した微粒子（高分子）は、pH 依存的に強酸、強アルカリ側でそれぞれカチオン、アニオン性を示す両性イオン微粒子と呼ばれる。これらは、タンパク質の捕捉・放出等に応用が試みられている。

従来、微粒子内に存在する両性イオンに関わる官能基（アミノ基、カルボキシル基）が極端に少なく、アミノ基とカルボキシル基の存在比が 1:1 であるため、強酸、強アルカリ以外では微粒子は無電荷の状態になってしまう。また、極端にどちらかの官能基が多いと電荷状態が広い pH 領域で偏ってしまう。これらの条件では、静電的効果を利用した生体物質の捕捉・放出を効率良く行うことができない。

演者らは、高分子を用いて多点相互作用により生体物質を取り込む方法が、低分子化合物を用いるよりも効率が良く、また、高分子が水に可溶化しない微粒子であれば、懸濁した状態で目的物質を捕捉・放出でき、特に微粒子が等電点を中性～弱アルカリ付近でのみ持つように設計することで簡便に目的物質の捕捉・放出が行えると考えた。重合方法として、単分散に微粒子が得られる懸濁重合法の water-in-oil(W/O)法を用いた。Ethylene glycol diglycidyl ether (EGDGE)と L-Lysine をモノマーとして微粒子を調製した。得られた微粒子は、くり返し単位内のアミノ基とカルボキシル基の存在比が 2:1 である(Fig.1)。ゼータ電位測定の結果、pH8.7 を等電点として酸性側でカチオン、アルカリ側でアニオン性を示した。また、本微粒子は酸性側で DNA を捕捉し、溶液の pH をアルカリ性にするすることで、捕捉した DNA を完全に放出した (Fig 2)。簡便に微粒子を調製し、構造内のアミノ基とカルボキシル基の存在比を 2:1 にしたことで、狭い範囲で微粒子の電荷を制御することに成功した。また、DNA の捕捉・放出を pH 変化のみで行えることからイオン交換カラムや、バイオセンサーへの応用が考えられる。

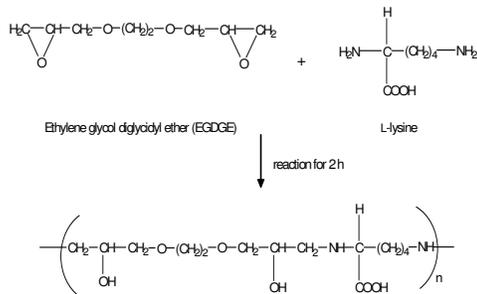


Fig. 1 Preparation of EGDGE-L-lysine copolymer

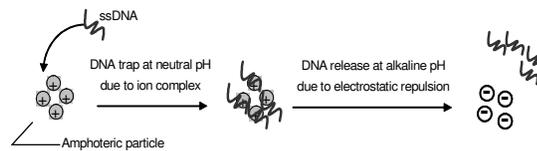


Fig. 2 ssDNA trap and release using pH-responsive amphoteric particles

広島大院理)

○西川綾佳・塚原聡・岡本泰明・藤原照文

【緒言】 DNA の分離分析法には、ゲル電気泳動のように DNA をサイズ分離するものが一般的に使用されている。しかし、この方法は 40 kbp(bp: 塩基対)を超える大きな DNA には適用するのが難しいため、大きな DNA を分離するための効率的な分離分析法を確立する必要がある。本研究ではこの試みのために、DNA の顕微誘電泳動に着目した。誘電泳動とは、不均一な電場内に存在する微粒子に誘起された双極子と電場との相互作用を駆動力とする泳動である。DNA を染色する色素や、DNA 溶液中に添加した界面活性剤が及ぼす影響について基礎検討を行った。

【実験】 λ DNA(48 kbp)と T4DNA(166 kbp)を、acridine orange(AO)または 4',6-diamidino-2-phenylindole(DAPI)で蛍光染色した。用いた平面マイクロ四重極電極の顕微画像を Fig.1 に示す。これは、フォトリソグラフィにより作製した。電極間距離は 200 μm である。対向する電極が交流電源の同じ極になるように配線し、1 kHz–10 MHz, 10 V を印加した。この電極内における DNA の誘電泳動挙動を蛍光顕微鏡を用いて測定した。泳動の様子をビデオに録画して、各静止画において DNA と電極中心の間の距離 R を測定し、 $\ln R$ を時間 t に対してプロットすると直線関係が得られる。この直線の傾きから誘電泳動移動度 α を求めた。さらに DNA 溶液に陽イオン性、陰イオン性界面活性剤を添加して、DNA の誘電泳動挙動に及ぼす影響を検討した。

【結果と考察】 DNA は電場の強い電極方向へ向かって泳動した。得られた α は Fig.2 に示すように低周波数側で大きく、高周波数になるに従って小さくなった。また低周波数領域で T4DNA の方が λ DNA より泳動速度が大きかった。 λ DNA では色素による違いはほとんど現れなかったが、T4DNA では低周波数領域で AO を用いたときの方が DAPI を用いたときより泳動速度が大きかった。この蛍光色素の影響の違いは、DNA との結合様式が両色素間で異なるためであると考えられる。¹⁾

SDS(ドデシル硫酸ナトリウム)を添加すると、DNA の α はわずかに小さくなったものの大きな効果はなかった。CTAC(塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム)を添加した場合は、CTAC が DNA と強く結合するため、蛍光色素との結合が阻害され DNA の検出が難しかった。

¹⁾ 西川綾佳・塚原聡・岡本泰明・藤原照文：日本分析化学討論会要旨集 p62(2004)

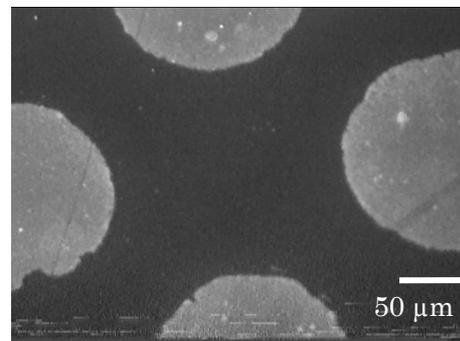


Fig.1 作製した平面マイクロ四重極電極
白色の部分が電極

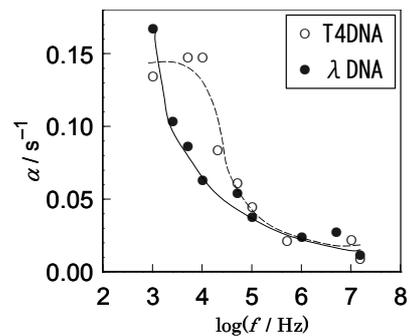


Fig.2 DNA の誘電泳動移動度 α の
周波数(f)依存性。色素 AO, 電圧 10 V

1G3b

シチジン脱アミノ化酵素の反応機構に関する 理論化学的研究

(広島大院理、広島大 QuLiS)

○石倉 正志・松原 世明・相田 美砂子

【序】 シチジンデアミナーゼ(CDA)はシチジンのC4位をヒドロキシル攻撃し、C4位のアミノ基を脱離させることでシチジンからウリジンへの反応を容易にする酵素である。この反応機構の中間体としてC4位にヒドロキシル基とアミノ基を持った四面体中間体(THI)があるとされているが、その反応機構は明確に解明されていない。この反応にはCDAの活性部位にある Zn^{2+} が関わっているとされている。

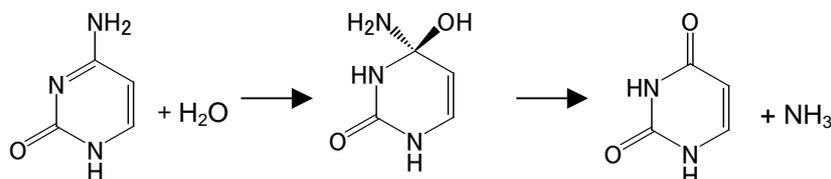


図1 仮定されている酵素内の反応

【計算方法】本研究で用いるモデル分子は以下の通りである。

基質に関して

シチジン→シトシン

ウリジン→ウラシル

THI (塩基のみ)

活性部位の亜鉛配位子に関して

Cys→HS⁻

His→NH₃

さらに活性部位周辺の側鎖として

Glu (主鎖 (中性) を含む) はモデル化せず側鎖の全てを計算対象とした。

計算レベルは HF/6-31G*、HF/6-31G**, MP2/6-31G*、B3LYP/6-31G* である。

計算プログラムは Spartan, GAMESS を用いた。

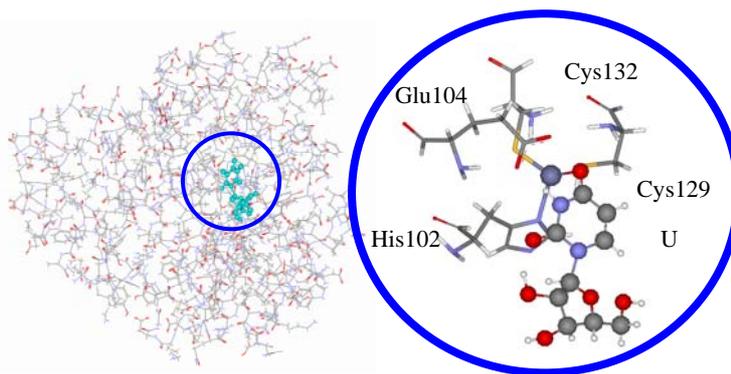
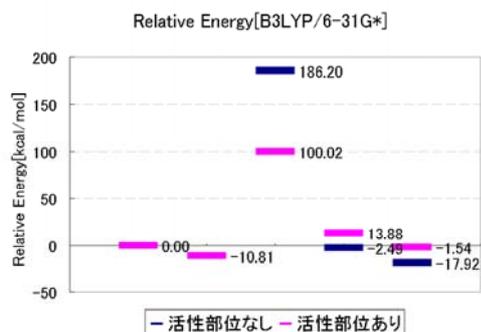


図2 CDA (左) と活性部位 (右)

【結果】 酵素の活性部位を含む場合と含まない場合の反応過程における中間体の相対エネルギーを比較した。亜鉛配位子が存在することによって図1で示した反応過程においてエネルギーの高い中間体をたどらないことがわかった。酵素と基質の全て含んだ系の構造を議論するために ONIOM 計算を計算中である。



1G4b

ONIOM法を用いたバクテリオロドプシン中の レチナルシッフ塩基の基準振動解析

(広島大院理¹・広島大QuLiS²)

原田隆範^{1,2}, 橋本貴世¹, 松原世明^{1,2}, 吉田 弘^{1,2}

【序】バクテリオロドプシン(bR)中のレチナルシッフ塩基の解析は、bRにおけるプロトン輸送の過程を解明するうえで数多く行われており、その手法として振動分光法が主に用いられてきた。一方、量子化学計算によるレチナルシッフ塩基の基準振動解析¹⁾も行われているが、それはモデル分子を対象としたものが多い。しかし、実際の解析には周囲との相互作用を考慮することが重要である。そこで本研究では、周辺のアミノ酸残基との相互作用を取り込むための手法としてONIOM法を用い、bR中のレチナルシッフ塩基について基準振動解析を行った。また、得られた構造および波数値についてレチナルシッフ塩基のみの場合と比較した。

【計算】計算に用いた構造は、all-trans形のプロトン化したレチナルシッフ塩基(all-trans PSB(図1))、bRの結晶構造(PDB code: 1C3W²⁾)に基づいて作成したall-trans PSBまわりの20残基を切り出したもの(原子数419)である。これらの構造について、構造最適化および振動計算をGaussian03を用いて行った。ここで、¹⁾については全系をHF法またはB3LYP法で計算し、²⁾についてはONIOM法を適用し、all-trans PSB部分にはHF法またはB3LYP法を、周辺のアミノ酸残基および水分子についてはAMBER力場を用いて計算した。基底関数は全て6-31G(d)を用いた。

【結果】構造最適化により得られたall-trans PSBおよび20残基のbRモデル分子のそれぞれのレチナルの構造を比較すると、いずれの計算方法においても、ポリエーテル鎖部分はall-trans PSBのみの場合はほぼ平面構造であるが、bRモデル分子中においては結晶構造²⁾と同様ややねじれた構造をとった。したがって、ポリエーテル鎖のねじれは周辺のアミノ酸残基との相互作用により生じるといえる。また、それぞれの分子の計算波数値を比較すると、B3LYP法を用いた場合にC=N伸縮振動の波数値が大きくシフトした(表1)。このような波数値の大きなシフトはC=C伸縮振動においても現れており、レチナルシッフ塩基のポリエーテル鎖部分の構造の違いや周囲からの相互作用を反映した結果が得られた。

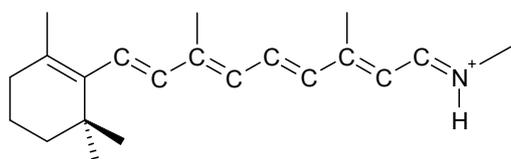


図1 all-trans PSBの構造

表1 それぞれの分子のC=N伸縮振動の
計算波数値(cm⁻¹)

	HF	B3LYP
all-trans PSB	1843	1707
20残基モデル	1848	1729

(波数値は非スケール値)

1) S. Masuda *et al.*, *J. Phys. Chem.* **100**, 15328 (1996).

2) H. Luecke *et al.*, *J. Mol. Biol.* **291**, 899 (1999).

1 H1a 膜タンパク質の二次元結晶化にともなう構造とダイナミクス変化

姫路工大院理¹、広島大量子生命²、横浜国大院工³
山本和俊¹・辻暁¹・○斉藤肇²・川村出³・内藤晶³

膜タンパク質は細胞膜中にあり、細胞外部からの光や化学信号の認識と受容、その情報の細胞内部への伝達、プロトン、イオンなどの物質輸送、酵素としての反応触媒など、数多くの局面で重要な役割をはたしている。それらの機能の理解には、三次元構造とダイナミクスの両面からの知識が必要とはいえ、同時に得ることが困難である。すなわち、分子に揺らぎがあればX線回折などによる三次元構造は、ぼやけるか消滅してしまう。実際、膜タンパク質は生理的条件下では、脂質二重相といういわば油の中にあり、低温X線回折から理解しがちな剛体としての描像とは程遠い。紫膜のバクテリオロドプシン (bR) は、三量体構造を単位とする天然の二次元結晶である。大量発現の容易さから bR は典型的膜タンパク質として、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) と同様の7本の α ヘリックスからなるモデル系である。

われわれは、 ^{13}C 標識 bR の動的構造を ^{13}C 固体高分解能 NMR によって検討し、膜貫通ヘリックス、表面ループ、C 末端部位が、それぞれ異なる周波数で揺らぐ不均一構造であると提唱した。しかし、膜タンパク質は必ずしも二次元結晶をとると限らず、界面活性剤中や脂質二重相に再構成した場合は、単量体として扱わなければならない。そこで bR および変異株について、単量体と二次元結晶におけるスペクトルを比較し、二次元結晶の生成がタンパク質構造とダイナミクスにどのような影響を与えるかを調べた。図1に示すように、 $[3\text{-}^{13}\text{C}]\text{Ala}$ -標識野生株 bR の ^{13}C NMR スペクトルは、二次元結晶 (D) に比べて単量体 (C) の場合、プロトンデカップリング周波数すなわち 10^5Hz に近い揺らぎが生じ、一部の膜貫通ヘリックスおよびループ信号が完全に消滅することがわかる。また、D85N の中性 (B) および光サイクルの M 中間体様構造をとる pH 10 (A) では動的構造変化のために、二次元結晶中では野生株に比べて顕著なスペクトル変化をもたらすが、単量体ではその差は現れていない。この点は bR に限らず種々の膜タンパク質の脂質二重相への再構成系を部位特異固体高分解能 NMR により検討する場合、常に考慮する必要がある。一方、 $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{Val}$ 標識 bR を対象にする場合、 10^5Hz の揺らぎによっても信号が消滅せず、三量体構造におけるヘリックス-ヘリックス相互作用の有無によって、膜貫通ヘリックスおよびループにおける構造変化が明瞭に調べられる。このような骨格構造およびその揺らぎの意義、およびタンパク質-タンパク質、タンパク質-脂質相互作用によってうける変調は、bR のみならず、光走行性を制御するセンサーロドプシン、そのトランスデューサータンパク質との複合体、大腸酵素ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) など、多くの膜タンパク質系に共通する性質であることが明らかになった。

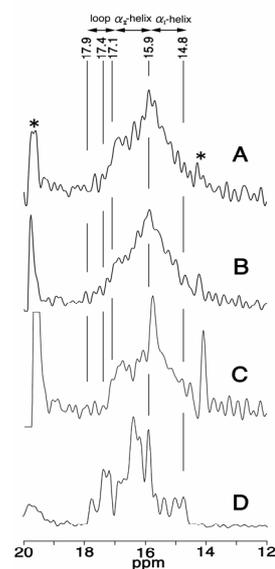


図1 $[3\text{-}^{13}\text{C}]\text{Ala}$ -bR、変異体の ^{13}C 固体高分解能 NMR

(¹広島大院理, ²広島大院生物圏科学, ³広島大 QuLiS)
紙谷 康則^{1,3}・堀 貫治²・月向 邦彦¹・片柳 克夫^{1,3}

海藻由来のレクチンは既知のレクチンとは一次構造レベルで全く異なり 新規のレクチンファミリーに属する。その多くは単糖を認識せず複合糖質の糖鎖を認識し, ユニークで厳密な糖鎖認識能を持つことから 立体構造的にも既知レクチンとは異なっていると考えられる。そこで我々は, その中でも紅藻から抽出され, 高マンノース型糖鎖に選択的に結合するレクチン, ESA-2 を構造解析の対象とした。このレクチンは最近, 発ガン性マウスに対する経口投与実験からも極めて強い抗ガン作用が観測されている。

結晶化は, 20 においてハンギングドロップ蒸気拡散法にて, 沈殿剤として PEG8000 を用いた系で行い, 幾重にも重なり合った微小板状結晶を得た。このままでは X 線回折実験に不適なため, ついでマイクロシーディングを行い, 厚さ約 10 μ , 0.3 x 0.5mm 程度の面積をもつ板状の結晶を得た。硬 X 線による回折実験は, 高エネルギー加速器研究機構のフotonファクトリーの BL6A, BL18B および SPring-8 の BL44XU, BL40B2 の各大型放射光ビームラインにおいて行った。空間群は $P2_1$, 格子定数はそれぞれ $a = 42.20$, $b = 62.43$, $c = 48.53$, $\beta = 110.34^\circ$ であった。また $V_m = 2.1$ で非対称単位あたり 1 分子を含んでいた。厚みがわずかに 10 μ であるにもかかわらず, 高分解能の回折点が観測され, ベンディングマグネットでは 1.7 \AA , アンジュレーター光で 1.5 \AA 分解能の回折点が観測されている。 R_{merge} は前者で 0.062, 後者で 0.093 であった。

重原子同型置換法により世界で初めて明らかにされた新規ファミリーレクチンである ESA-2 の立体構造は, 今までのサブユニット構造を持つ高等動植物由来のレクチンに比べると極めてユニークなものであった。すなわち, 1 次配列では 4 つの繰り返し配列を持っていたが, それらの配列は側鎖構造を含め極めてよく重ねあわせが可能であった。さらに, その 2 つずつが domain swap して バレル構造を形成し, 1 次構造上の 4 つの繰り返し配列が立体構造的には 2 つの相同なドメインを形成していることがはじめてわかった。

高分解能な回折点が得られる結晶であるため, ESA-2 に特有な糖認識機構を考える上での詳細な構造が得られることが期待でき, 糖基質との複合体の結晶化条件も探索中である。

(参考文献)

Kamiya, Y., Hori, K., Gekko, K. & Katayanagi, K The 8th Conference on Biology and Synchrotron Radiation, Sept. 2004, Himeji (Japan), p742.

片柳克夫, 紙谷康則, 月向邦彦, 堀 貫治 第 77 回日本生化学会 (横浜) W74-13 (4P-106)

エチレングリコールの構造異性化と 振動スペクトルについての ab initio MO 法および direct ab initio MD 法による理論化学的研究

(広島大院理・広島大 QuLiS)

○坂宗和明・相田美砂子

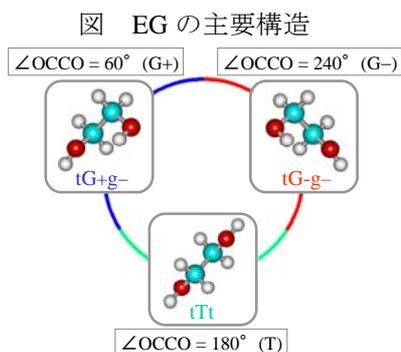
1. 序

エタン誘導体のひとつであるエチレングリコール(EG : HOCH₂CH₂OH)は分子内水素結合が可能であるため多様な構造をとりうる。また、Arマトリックス中の実験において、赤外光による振動励起によって∠OCCOの配座がG⇌Tと変化し、構造異性化が起こることが知られている¹⁾。本研究は、この構造異性化の経路と異性化に必要な条件を特定することを目的としている。

そこで、まず ab initio MO 法計算による EG の安定構造・遷移状態構造の計算、ポテンシャルエネルギーマップと IRC により構造異性化の経路を確認した。次に、代表的な2つの構造を初期構造として、MD 法計算の1ステップごとに ab initio MO 法計算を行う direct ab initio MD 法計算を行い、EG の赤外光による構造異性化についてのシミュレーションを行い、さらに、MD の結果を用いて振動スペクトル解析を行った。

2. 計算方法

ab initio MO 法計算は Gaussian03, HONDO, GAMESS, HyperChem, SPARTAN を、direct ab initio MD 法計算では HONDO を用いた。計算レベルは HF/6-31G* と MP2/6-31G*、初期構造には最安定構造である tG+g- と、∠OCCO の配座が trans のもので最安定な構造である tTt を用いた(下図)。24 個ある各基準振動の方向に初期速度を与え、全エネルギー一定、0.1fs/step, 160,000steps の計算を各初期構造について行った。



3. 結果

これまでの direct ab initio MD 法計算によって、∠OCCO = 0° の障壁を越える際(G+⇌G-)には、ab initio MO 法計算で予測された分子内水素結合を持った IRC 的な経路を通ること、∠OCCO = 120°, 240° の障壁を越える際(G+⇌T⇌G-)は、IRC 的な経路を通ることが多いが、分子内水素結合を持たない非 IRC 的な経路を通ることもあることが分かっている。また、熱エネルギーを各原子にランダムに与えた場合、∠OCCO の配座の変化を伴う異性化は起こりにくい。

今回のMDの結果、24 個すべての基準振動について振動方向に零点振動に相当するエネルギーを与えた場合(+58kcal/mol)では、∠OCCOの配座の変化を伴う異性化は起こらなかった。しかし、零点振動に加えて、実験で用いられた赤外光の範囲である 4000~600cm⁻¹に該当する 19 個の基準振動についてそれらの振動方向に過剰のエネルギーを与えた場合(+280kcal/mol)、異性化はG+⇌G-, G+⇌T⇌G-共に頻繁に観測された。

また、4000~2800cm⁻¹の 6 個の基準振動(O-H,C-H伸縮振動)について過剰なエネルギーを与えた場合(+180kcal/mol)では、激しいO-H伸縮振動が見られ、G+⇌T⇌G-の異性化が多く観測された。同様に 2800~600cm⁻¹の 13 個の基準振動(C-O,C-C伸縮振動、各種変角振動)について過剰なエネルギーを与えた場合(+160kcal/mol)では、揺れの大きい∠OCCOのねじれ振動が見られ、G+⇌G-の異性化が多く観測された上、与えたエネルギーは比較的少ないにもかかわらず異性化の回数が多かった。

(参考文献)

1) Park C G, Tasumi M, J. Phys. Chem. **1991**, 95, 2757-2762.

1 H 4 b

Ethylene glycol mono-*n*-butyl ether 水溶液の赤外スペクトル解析

(広島大院理) 小松裕之・勝本之晶・大野啓一

【序論】 Ethylene glycol mono-*n*-butyl ether(C_4E_1OH)水溶液は閉ループ型の相図を示すことで知られており¹⁾, アルコールの一種として, また C_nE_mOH 非イオン性界面活性剤のモデル化合物として興味もたれてきた。非イオン性界面活性剤 - 水系の相図はこれまで多くの系について調べられており様々な議論があるが, 微視的な分子レベルのどのような変化が系の巨視的な相変化を引き起こすかについての詳細は, 未だ解明されていない。アルコール水溶液においても, 巨視的な物理量の変化と振動スペクトル変化の関連については未解明な部分が多い。本研究では, C_4E_1OH 水溶液の濃度変化スペクトルを解析し, 水溶液中における C_4E_1OH の相互作用とコンホメーションについて議論する。

【実験】 C_4E_1OH (WAKO)を用い 0 ~ 100 wt%水溶液を 10 wt%ごとに調製した。赤外スペクトルは全反射吸収測定法を用い, BRUKER 社製 IFS86(検出器:MCT)にて測定した。

【結果と考察】 図1に C_4E_1OH のスペクトルの濃度変化を示す。 C_4E_1OH 濃度の増加に伴い, メチルおよびメチレン基のCH伸縮バンドの低波数シフトが観測された(図1(A))。図1(B)に示したように, CH変角バンドも濃度変化に伴い, 低波数にシフトすることがわかった。これらのシフトは, 主にブチル基と水の相互作用やコンホメーションの変化に起因すると考えられる。しかし, C_4E_1OH には5個のメチレン基があり, これらの観測されたシフトがどのメチレン基に由来するのかを判断することは難しい。したがって, その一部分を重水素ラベルした C_4E_1OH を合成して赤外スペクトルを測定し, 水溶液中の相互作用やコンホメーションを議論する。

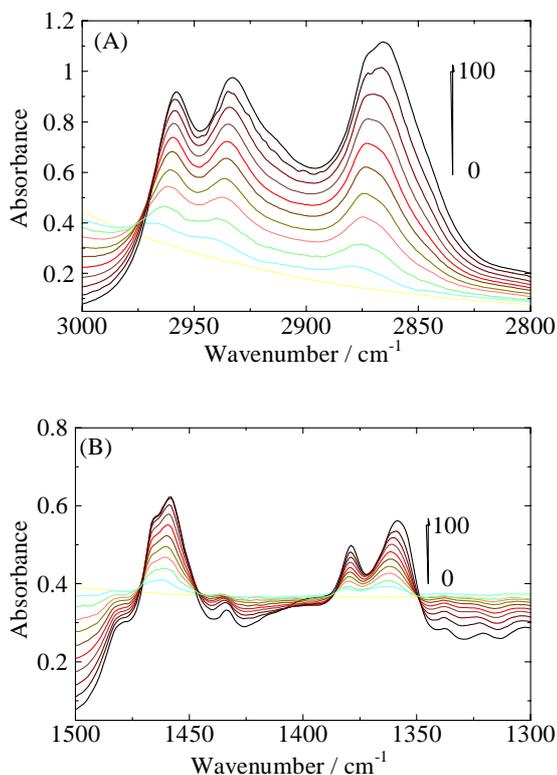


図1. C_4E_1OH の濃度変化スペクトル
(A) 3000 - 2800 cm^{-1} 領域
(B) 1500 - 1300 cm^{-1} 領域

1) H.L. Cox and L.H. Cretcher, *J. Am. Chem. Soc.* **48**, 451 - 453(1926).

2A1a

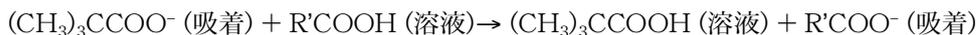
単結晶二酸化チタン上の有機単分子膜の 作製と評価

(広島大院理・J R 東海*・神戸大理**)

○石橋孝章・上塚洋*・Chi Lun Pang**・大西洋**

はじめに 我々は、ルチル型二酸化チタン単結晶 (110)面上に有機単分子膜を作製する新しい手法の検討を行っている。我々の手法は、溶液中での反応を利用するため、蒸気圧が無いような分子量の大きな分子に適用可能である点に特徴がある。赤外可視和周波発生分光法 (SFG) と走査型トンネル電子顕微鏡 (STM) で評価した結果、作製した有機膜は原子レベルでの平坦性を保った基板上に面外方向に秩序のある膜として形成されていることがわかった。

実験 超高真空下で作製したルチル TiO_2 (110)(1×1)面をピバル酸 ($(\text{CH}_3)_3\text{CCOOH}$) ガスに曝露し、ピバル酸イオンによる(2×1)単分子層を作製した。カルボキシル基を持つ有機酸 ($\text{R}'\text{COOH}$) の溶液に、この表面を浸漬することで、次式に示す交換反応による有機単分子膜の作製を試みた。



溶液から取出した表面は、溶媒で洗浄し乾燥させた。作製した有機単分子膜は、SFG と STM で評価した。有機酸としてレチノイック酸 (図1) を、溶媒はアセトンを使用した。

結果と考察 レチノイック酸イオンを吸着させた表面の SFG スペクトルを図2に示す。測定に使用した可視プローブの波長は、480 nm である。スペクトルには、振動非共鳴バックグラウンド上に 1581 cm^{-1} と 1406 cm^{-1} に強いレチノイック酸と同じ骨格を持つレチナールの溶液中での共鳴ラマンスペクトルとの比較から、1581 cm^{-1} バンドは C=C 二重結合伸縮振動に帰属した。1406 cm^{-1} バンドは、二酸化チタン上に吸着した COO 基の対称伸縮振動によると帰属した。SFG の選択率によれば、ランダムな配向を持つ分子層は SFG 信号を与えない。色素分子由来の強い SFG 信号が得られていることは、作製した色素薄膜の構造に秩序があることを示している。さらに、作製した膜を STM によって観察したところ、原子レベルで平坦なテラス上にレチノイック酸イオンと思われる粒子が観測された。しかし、粒子の配置に面内の秩序は観測されなかった。これは、レチノイック酸イオンが隣接するカルボン酸イオンの吸着サイトの間隔より大きいためであると考えられる。

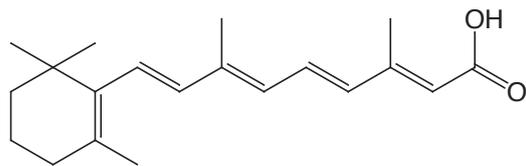


図1. レチノイック酸

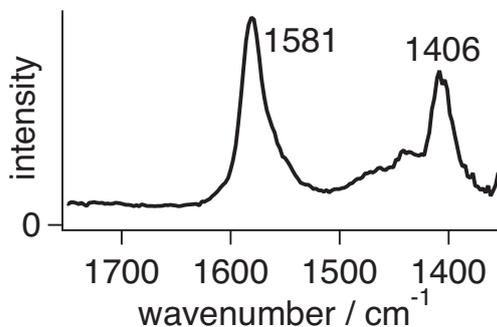


図2. TiO_2 (110) 面上のレチノイック酸イオンの SFG スペクトル
可視プローブ波長 480 nm

2A2b 立体制御されたアクリルアミド系高分子の赤外分光法による局所構造の研究 (広島大院理) ○小山美沙緒, 勝本之晶, 大野啓一

【序論】Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNiPA) 水溶液は温度変化、溶媒変化、塩添加、pH など様々な摂動によってコイル・グロビュール転移を起こすことが知られている。この転移現象においては、高分子の局所構造と溶媒との相互作用が重要であると考えられており、赤外分光法を用いたアミド基の水和の研究もさかんに行われてきた。一方、PNiPA 水溶液に関して、高分子鎖の立体規則性が相転移温度に大きな影響を及ぼすことが報告されている。これは、高分子の溶解性が高分子鎖の局所的なコンホメーションに依存することを示していると考えられる。我々は、これまで官能基レベルの変化に鋭敏な赤外分光法を用いて、PNiPA のコイル・グロビュール転移を溶媒和や局所構造の観点から研究してきた。本研究では、立体制御した PNiPA を合成し、局所構造の変化が赤外スペクトルにどのような影響を与えるか議論する。

【実験】 PNiPA はメタノール中で開始剤に \cdot , α -azobisisobutyronitrile を使い、60°C で *N*-isopropylacrylamide をラジカル重合して得た。タクティシティの制御は、Okamoto らの方法を用い¹、ポリマー合成時にルイス酸を 0.20M となるように添加した。溶液の IR スペクトル測定は全反射吸収測定法を用い、BRUKER 社製 IFS66 (検出器：MCT) にて行った。フィルム状態の測定については Nicolet 社製 Impact400 (検出器：TGS) を用いた。

【結果と考察】 図 1. に PNiPA のフィルム状態での IR スペクトルを示す。(a)、(b)、(c) のスペクトルはそれぞれ合成時に、ルイス酸未添加、Sc(OTf)₃ 添加、Y(OTf)₃ 添加した PNiPA のものである。¹H NMR 測定によりダイアド比を確認したところ、c>b>a の順に meso の割合が大きくなっていった。図 1. よりアミド I のバンドに少なくとも 2 つのピークが存在し、meso の割合が大きくなるにつれて 1650 cm⁻¹ の強度が小さくなり、1630 cm⁻¹ のピークは大きくなっていった。アミド II のバンドについては meso の割合が増加するにつれ

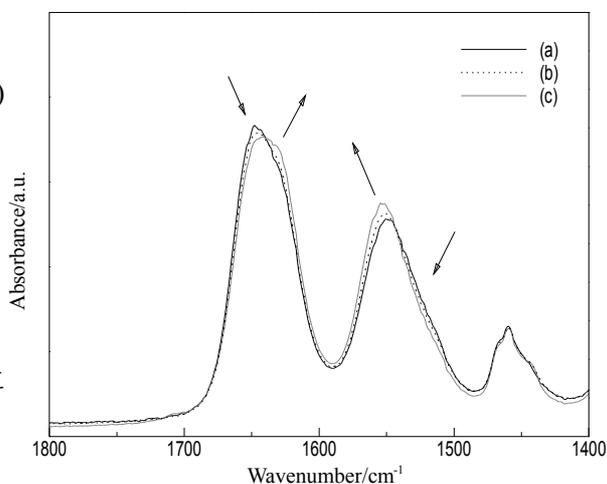


図 1. PNiPA の IR スペクトル
(a) Lewis acid 未添加、(b) Sc(OTf)₃ 添加
(c) Y(OTf)₃ 添加

て 1550 cm⁻¹ のピークが強くなり、1520 cm⁻¹ 辺りのピークは小さくなった。これらの結果から高分子の局所構造の違いが IR バンドの変化として観測されることが明らかになった。当日は溶液中における立体制御された PNiPA の赤外スペクトルについても議論する。

1. Y. Okamoto, S. Habaue, Y. Isobe, and Y. Suito, *Macromol. Symp.* **195**, 75–80 (2003)

2A3a

アルカリ金属イオン水溶液系におけるイオン - 溶媒水分子間の相互作用に関する理論化学的研究

(広島大院理・広島大 QuLiS)

○田中雅人・相田美砂子

はじめに

イオンの水和については、これまでに様々なポテンシャルパラメータや水分子のモデルを用いたMD法やMC法による計算が行われ、その構造や性質が議論されてきた。しかし、これらのイオン・分子を古典的に取り扱った計算では、軌道相互作用等の量子化学的な効果は考慮されていない。本研究では、イオン - 溶媒水分子間の軌道相互作用はどの範囲まで広がっているのか、また、イオンが異なることで相互作用にどのような違いが現れるのかを明らかにすることを目的とする。そのために、*ab initio* MO法を用いてアルカリ金属イオン M^+ ($M=Li, Na, K$) 水溶液系について解析を行った。

計算方法

はじめにQM/MM法を用いてイオン(QM)から半径約 10\AA までの水分子(MM)171 個を含めた系全体の構造最適化を行った。次に、得られた最適化構造を用いて、半径 9\AA までの水分子(130 個)をQM分子に置き換えた計算を行い、電荷分布および軌道相互作用の解析を行った。軌道相互作用は、溶媒分子をイオンからの距離によって水和層に分割して、次式のように定義した平均overlap population $W_k(I)$ によって解析した。

$$W_k(I) = \frac{1}{N_I} \sum_{i_{wat}}^{N_I} \sum_{\mu \in k} \sum_{\nu \in I_{wat}} Q_{\mu\nu}$$

ここで、 k はイオンの軌道、 I は水和層、 N_I は水和層 I に含まれる水分子の数、 i_{wat} は水和層 I に含まれる水分子を表している。また、 $Q_{\mu\nu}$ は軌道 μ, ν 間のoverlap populationである。計算レベルはHF/6-31G*を用い、計算プログラムはHONDO, Gaussian98 を用いた。

結果と考察

解析の結果、イオン - 溶媒水分子間のoverlap populationへの寄与は、イオンの最外殻軌道が主であることが分かった。Fig. 1 に $\Delta r = 0.52\text{\AA}$ ごとに溶媒水分子を水和層に分割した場合の、イオンの最外殻軌道と溶媒水分子間の平均overlap population $W_n(r)$ ($n=2,3,4$) を示した(n はイオンの最外殻軌道の主量子数)。各イオンともに最近接水分子に対応するピークが最も大きく、その大きさは $Li^+ > Na^+ > K^+$ となっている。そして、イオンからの距離に対して指数関数的に減少しており、 $Li^+ < Na^+ < K^+$ の順に遠方まで広がっている。その距離は Li^+, Na^+, K^+ に対して、それぞれ約 $6\text{\AA}, 7\text{\AA}, 9\text{\AA}$ 程度であることが分かった。さらに、この軌道相互作用エネルギーについて解析を行った。

参考文献: M. Tanaka and M. Aida, *J. Solution Chem.* **33**, 887-901 (2004)

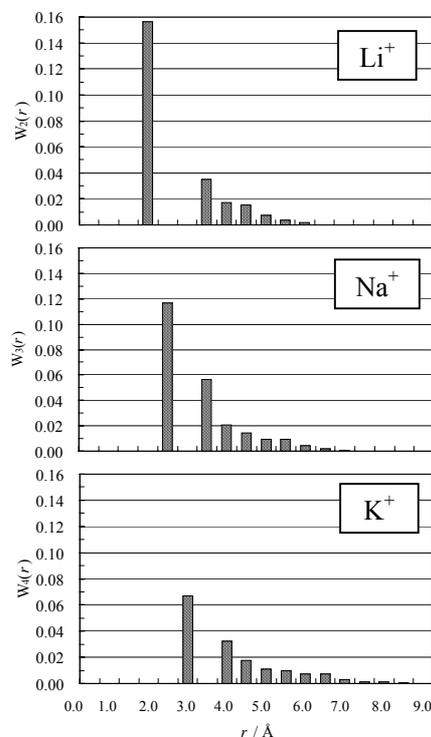


Fig. 1. Average overlap population between an ion and water molecules in the layer at r ($\Delta r = 0.52\text{\AA}$).

(広島大QuLiS¹・広島大院理²)赤井伸行¹・吉田弘^{1,2}・大野啓一²・相田美砂子^{1,2}

【序】アニリンなどの芳香族アミンの多くには DNA 突然変異誘発性があることが指摘されているが、芳香族アミン自身の反応性や反応中間体の性質などは明らかになっていない。そこで、低温希ガスマトリックス単離赤外分光法と分子軌道法計算を用いて、芳香族アミンの光反応機構や反応性を明らかにすることを目的とした。

【実験】試料にはトルイジン (メチルアニリン) およびジアミノベンゼンを用いた。試料蒸気をアルゴン気体で約 1500 倍に希釈して、12 Kまで冷却したCsI基板に吹きつけマトリックス試料を作成した。FTIRを用いて分解能 1 cm⁻¹、積算回数 100 回で赤外吸収スペクトルを測定した。分子軌道法計算はGaussian03 プログラムを用いて、密度汎関数法(DFT)のB3LYP/6-31++G**レベルで構造最適化と振動数計算を行った。

【結果と考察】マトリックス単離した *p*-トルイジンに紫外光 (300 nm) を照射したところ複数の反応生成物のバンドが観測された。光反応生成物はマトリックス試料をアニーリングすることで、2 種類の分子種に分けることができた。図 1(a)にマトリックス単離した *p*-トルイジンに紫外光を 30 分間照射した後、28 K のアニーリング前後で測定した差スペクトルを示す。上向き(+)のバンドはアニーリングによって生成した分子種であり、下向き(-)のバンドは減少した分子種である。図 1(b)は DFT 計算によって得られた *p*-トルイジン(上向き)と 4-メチルアニリノラジカル(下向き)のスペクトルパターンである。下向きのスペクトルパターンは実測スペクトルとよく一致していることから、アニーリングによって減少した分子種を 4-メチルアニリノラジカルと同定した。また、生成物のうち×印をつけたバンドは、光照射前の実測値および DFT 計算との比較から *p*-トルイジンと同定した。一方、印をつけたバンドは 300 nm の紫外光照射によっても生成する分子種で 4-メチル-2,4-シクロヘキサジエン-1-イミンと同定された。本研究により明らかになった *p*-トルイジンの光反応機構を図 2 に示す。当日は他の芳香族アミンについても報告する。

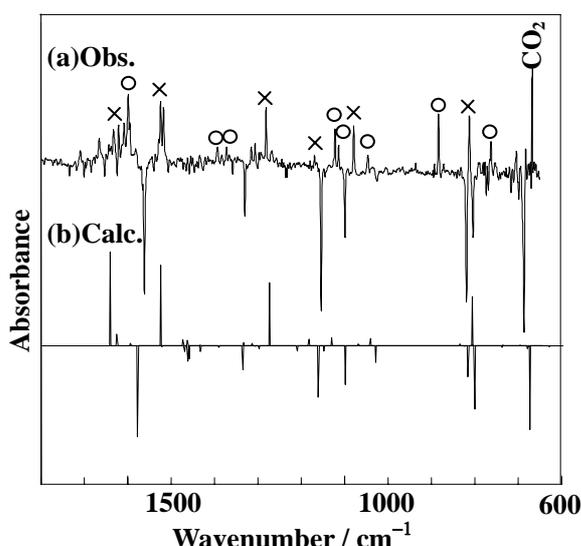
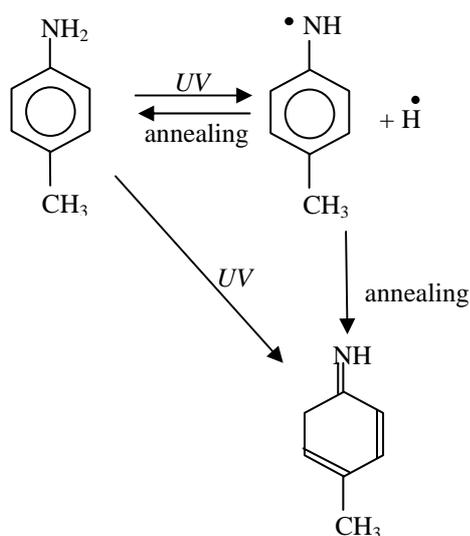


図1 アニーリング前後の差スペクトル

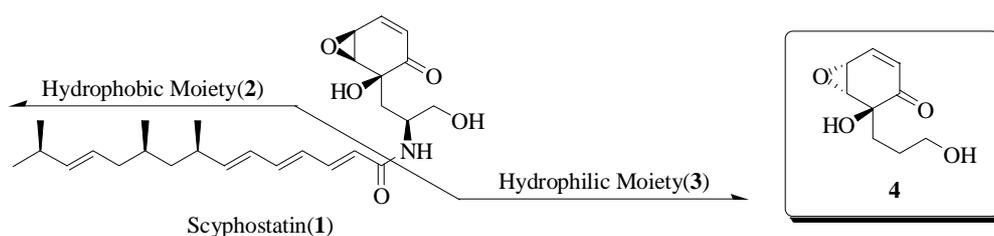
図2 *p*-トルイジンの光反応機構

2B2b

Scyphostatin の親水性部分の類縁化合物の合成研究

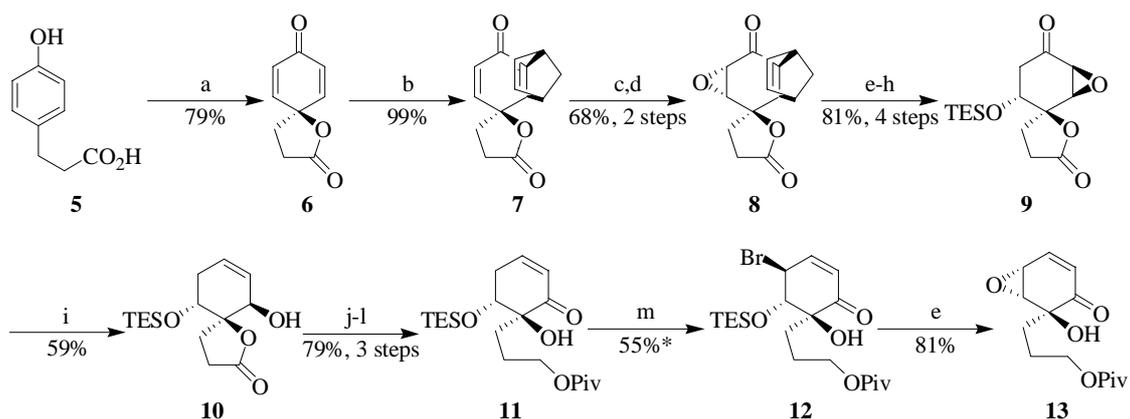
(広島大院理) 東條健剛・岩田昌門・宮永渉・高木隆吉・大方勝男

天然物 Scyphostatin(1)は 1997 年に罌菌類に属する糸状菌から単離、構造決定された生理活性物質である。当研究室では、1 を疎水性部分 2 と親水性部分 3 から得ようと考え、合成検討を行っている(Scheme 1)。本研究では、この親水性部分の類縁化合物として 4 の立体選択的合成法について検討した。



Scheme 1. Retrosynthetic Analysis of Scyphostatin

市販化合物 5 から合成されたスピロラクトン 6 を用いて、シクロペンタジエンとの高面選択的な Diels-Alder 反応と立体選択的なエポキシ化反応を経て、化合物 8 を得た(Scheme 2)。次に、8 をエポキシドの還元的開裂と保護、逆 Diels-Alder 反応、続くエポキシ化反応により、化合物 9 を得た。さらに、9 を Wharton 転位によって化合物 10 へと変換した。次に、10 にラクトン環の還元と保護、酸化を行い、不飽和ケトン 11 を得た。続いて、11 に目的物のエポキシド構築に必要な脱離基の導入を行った。すると、ラジカル臭素化によって、立体選択的に臭素の導入された化合物 12 が得られた。そして、12 に TBAF を反応させると、TES 基の脱保護と同時にエポキシ化が進行し、14 段階、全収率 8% で目的の類縁化合物 13 を得ることができた。

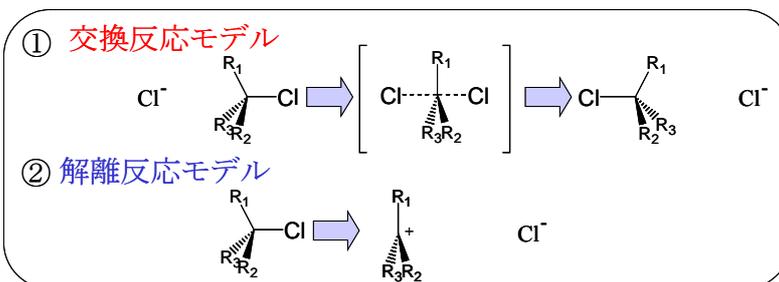


Scheme 2. Reagents and Conditions: (a) $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, CH_3CN , r.t.; (b) cyclopentadiene, CH_2Cl_2 , r.t.; (c) H_2O_2 , LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 0°C ; (d) WSCI , CH_2Cl_2 , r.t.; (e) SmI_2 , MeOH , THF , -78°C ; (f) TESCl , imidazole, CH_2Cl_2 , r.t.; (g) H_2O_2 , LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 0°C ; (h) H_2O_2 , LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 0°C ; (i) $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, AcOH , MeOH , r.t.; (j) LiAlH_4 , Et_2O , 0°C ; (k) PivCl , pyridine, 0°C ; (l) IBX , DMSO , r.t.; (m) NBS , AIBN , CCl_4 , 80°C ; (n) TBAF , THF , 0°C . * Conversion yield

2B3a

水溶液中におけるハロゲン交換反応の
自由エネルギー変化(広島大院理¹・広島大QuLiS²・立教大学³)○大久真幸^{1,2}・相田美砂子^{1,2}・山高博³

<序> 一般に有機化学反応には溶液が大きく関与している。また、溶媒分子が多数存在すれば、エンタルピー項だけでなくエントロピー項も重要になってくるために、自由エネルギーを求める必要がある。本研究は溶媒効果が重要であるといわれている $\text{Cl}^- + \text{CR}_3\text{Cl} + 100\text{H}_2\text{O}$ ($\text{R} = \text{H}$ or CH_3), を計算モデルとし、反応の進行に伴う自由エネルギーの変化と溶媒分子の分布の変化を求める。反応のモデルとしては右のような交換反応モデルと解離反応モデルの2種を用いる。



<手法> 100個の水分子をすべてQMで取り扱うことは困難であるためにQM/MM法を用いた。溶質分子をHF/6-31G(d)で、溶媒水分子をTIP3Pで取り扱った。また、自由エネルギーはモンテカルロ法(統計熱力学的手法)と摂動法と併用することによって求めた。モンテカルロ法はNVT一定($T=298\text{K}$)で行い、自由エネルギー計算には溶媒の配座を20,000,000回発生させた。また、平均水素結合数は200,000,000回のモンテカルロステップによって求めた。

<結果> 交換反応の進行に伴う自由エネルギー変化を、溶質のみの場合、及び溶媒のある場合について計算した(表1)。 $\Delta G_{\text{sol}} - \Delta G_{\text{gas}}$ の値がメチル置換基数の増大につれて減少している。このことから、メチル置換基数が増大するにつれて、遷移状態の溶媒和の寄与が大きくなっていることが分かる。これは溶質のみの場合の遷移状態のCl電荷と対応がある。遷移状態における平均水素結合数はメチル置換基数の増大につれて大きくなっている。このことから自由エネルギーの変化と溶媒分子の分布の変化に相関があることが分かる。

表1

メチル置換基数	0	1	2	3
遷移状態における(溶質のみ)C-Cl間距離(Å)	2.38	2.47	2.59	2.98
遷移状態における(溶質のみ)Clの電荷	-0.74	-0.78	-0.82	-0.91
$\Delta G_{\text{sol}} - \Delta G_{\text{gas}}$ (kcal/mol)	5.86	1.88	-2.30	-8.93
平均水素結合数	3.50	3.73	3.76	4.57

2C1a THF クラスレートハイドレートの低振動数ラマン散乱

(広島大 QuLiS・青学大理工・広島大院理)

高須雄一・西尾泉・吉田弘

【序】 クラスレートハイドレートは、包含するゲスト分子の大きさによって I 型および II 型を形成することが知られている。I 型のクラスレートハイドレートの結晶型は cubic (fcc) で、ユニットセルは 46 水分子からなる 2 個の 5^{12} および 6 個の $5^{12}6^2$ で構成され、II 型のクラスレートハイドレートの結晶型は cubic (ダイヤモンド) で、ユニットセルは 136 水分子からなる 16 個の 5^{12} および 8 個の $5^{12}6^4$ で構成されることが分かっている。本研究では、II 型の代表的なゲスト分子である tetrahydrofuran (THF)、acetone、1,3-dioxalane、propylene oxide、および I 型のゲスト分子である trimethylene oxide を用いて、これらのクラスレートハイドレートの低振動数ラマン散乱実験を行った¹⁾。この中で特に THF 分子を用いて詳しい測定を行った。また水分子が形成する多面体 (12 面体、14 面体、16 面体) について、密度汎関数法 (DFT) による基準振動計算を行い、ラマンスペクトルに見出されたクラスレートハイドレートに特徴的なプロファイルの起源を明らかにする。

【方法】 サンプルは内径 1.7mm のマイクロピペットに封入し、温度コントロールされたプレートに設置した。測定は顕微鏡下で行った。温度コントロールは、過冷却を避けるために測定温度以下にした後、昇温によって設定した。光源は波長 488.0nm のアルゴンイオンレーザー (NEC GLG3480) を出力 300mW で使用し、分光器は Ramanor U-1000 (Jobin-Yvon) を用いて測定した。計算は、Gaussian03 を用いて 12 面体、14 面体、16 面体について DFT によって構造最適化および基準振動計算を行った。

【結果と考察】 クラスレートハイドレート状態の低振動数ラマンスペクトルにおいて最も重要な結果は 60cm^{-1} 付近に鋭いピークが観測されたことである。溶媒を H_2O から D_2O 、 H_2^{18}O に変えて同位体水置換効果を観測したところ、このピークは水分子起源の振動であることが分かった。さらに、Gaussian03 を用いた振動計算を行ったところ、 50cm^{-1} 付近に鋭いピークが存在することが分かった。以上の結果から、ラマンスペクトルで観測された 60cm^{-1} のピークはクラスレートハイドレートを構成する水分子の形成するカゴ状構造に起因すると結論付けた。

クラスレートハイドレートと氷 I_h の共存相におけるラマンスペクトルは、純粋なクラスレートハイドレートのスペクトルと氷 I_h のスペクトルの線形結合でうまく再現できる。ところが、液体状態におけるラマンスペクトルは水と THF 原液との線形結合では再現されない。これは水分子と THF 分子との間に相互作用が存在するためであると考えられる。この相互作用を考慮して、二成分のラマンスペクトルに振動関数 (ローレンツ関数) を加えた線形結合解析を行った結果、過剰振動モードの固有振動数は約 $60 \sim 70\text{cm}^{-1}$ となった。これはクラスレートハイドレートのラマンスペクトルに特徴的なピークの振動数に非常に近い。氷から水への転移に伴う低振動数スペクトルの変化との類似性から、液体状態のスペクトルに見出された過剰振動モードは、クラスレートハイドレートのカゴ状構造の前駆体であると結論付けた。

さらに、クラスレートハイドレート純水、0.1 モル分率 THF 水溶液、氷 I_h のラマンスペクトルを用いて線形結合解析を行うと、共存相の状態を量的に見積もることができる。その結果、唯一つの濃度における温度依存性のラマン測定を行うだけで相境界を求めることができた。

【文献】 Y. Takasu, K. Iwai and I. Nishio, *J. Phys. Soc. Jpn* **72**, 1287 (2003); Y. Takasu and I. Nishio, *J. Phys. Soc. Jpn* **72**, 2106 (2003).

2C2b

ピリジン-2,6-ジカルボキシアミドで連結した ビスポルフィリンの自己組織化

(広島大院理) ○藤井隆吏・灰野岳晴・深澤義正

ポルフィリン及びその類縁体は生体内の多様な機能発現に関わっていることから、現在までにポルフィリンを利用した機能性人工分子の開発が盛んに行われてきた。我々はポルフィリンの広い π 平面に着目し、この平面を効果的に利用してゲスト分子を包接する機能性ホスト分子を開発しようと考えた。今回設計した分子は二つのポルフィリン環をピリジン-2,6-ジカルボキシアミドで架橋した分子 **1** である。この分子は二つのポルフィリンのスタッキング相互作用を利用して平面ゲストを包接することが期待される。

合成した化合物 **1** の $^1\text{H-NMR}$ を測定したところ、架橋部分のプロトン H_1 , H_2 , H_3 の化学シフトは濃度依存性を示した。 H_1 の化学シフトを濃度に対してプロットすると、非線形曲線を与えた。二量体の生成を仮定して非線形解析を行ったところ、よいフィッティングが得られたことから単量体 **1** と二量体 **1•1** の平衡の存在が示唆された。これは ESI-MS によっても支持された。また、架橋部分のプロトンに大きな高磁場シフトが観測されたことから、二量体 **1•1** の構造はピリジン部分が二つのポルフィリン間に挟まれた構造であることが示唆された。

次に、ホスト分子 **1** のゲスト包接能について検討した。ゲスト分子には電子受容性分子であるテトラシアノベンゼンを用いて UV 滴定実験を行うことにした。ホストの濃度が $2 \times 10^{-5}\text{M}$ (単量体 99.4%) のクロロホルム溶液中にゲスト分子を添加すると、442nm と 668nm 付近にホスト-ゲスト錯体に由来する新たな吸収帯が観測された。また $^1\text{H-NMR}$ 滴定実験においても、ゲスト分子のプロトンはホスト分子 **1** の添加に伴い、大きく高磁場にシフトした。このことより、ビスポルフィリン **1** はシアノベンゼンのような電子受容性ゲストを、二つのポルフィリン間で強く包接することがわかった。

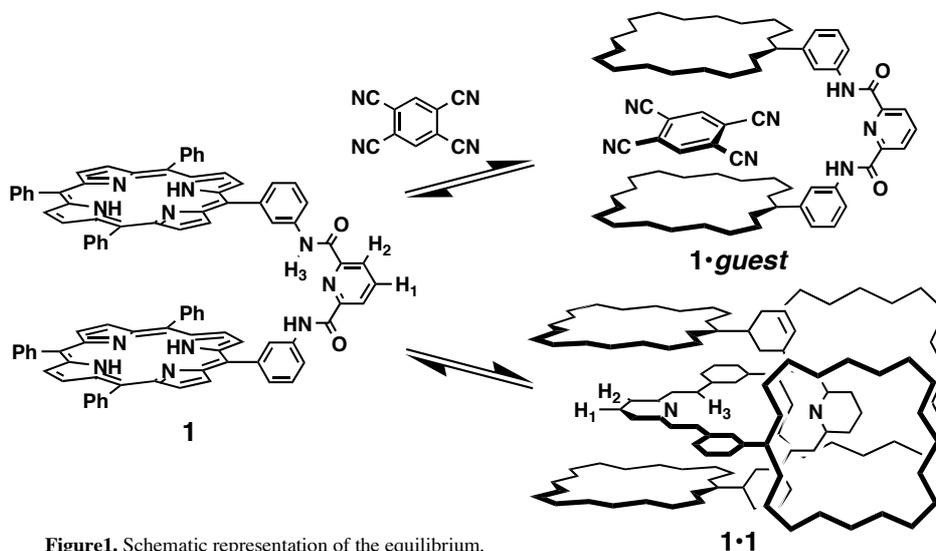


Figure1. Schematic representation of the equilibrium.

2C3b

8-フェニルメンチルアミンをキラル補助基とした

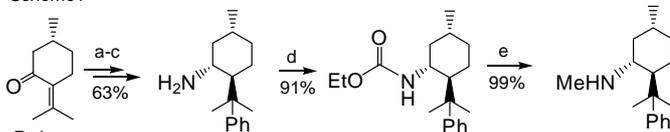
ジアステレオ選択的シクロプロパン化反応の検討

(広島大院理・広島大 QuLis) 村上正晃・廣池恭子・

小島聡志・大方勝男.

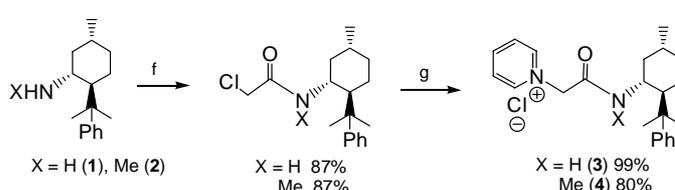
シクロプロパン化合物はその著しく歪んだ構造のため反応性に富んでおり、光学活性なものは農薬医薬中間体として有用であり、不斉合成も盛んに研究されている。以前、当研究室では8-phenylmenthyl基をキラル補助基とする β -ピリジニウム酢酸エステルと置換メチリデンマロノニトリルとの不斉シクロプロパン化反応を検討したが、今回は同様のアミドについて検討したので発表する。Scheme 1, 2 に示すように8-フェニルメンチルアミンおよびその誘

Scheme 1



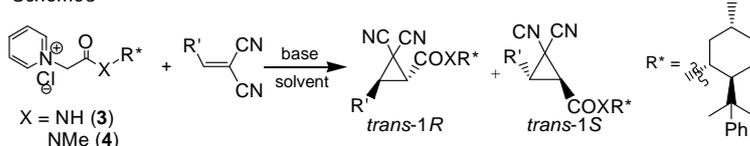
(a) i. PhMgBr, CuI, Et₂O, -20 °C; ii. 2N-HCl; iii. KOH, EtOH reflux; (b) NH₂OH HCl, pyridine, EtOH, MS3A, reflux; (c) Na, EtOH, reflux; (d) EtOCOCl, pyridine, benzene, reflux; (e) LiAlH₄, THF, reflux

Scheme 2



(f) ClCH₂COCl, C₆H₅N(CH₃)₂, ether, reflux; (g) pyridine, reflux

Scheme 3



導体はプレゴンから合成し、それぞれのピリジニウム塩に誘導した。

これらを用いて不斉シクロプロパン化反応を行ったところエステルの場合と比べて立体化学が逆の生成物が優先して得られる結果となった。また NH のアミドと比べ N-Me のアミドの方が選択性が高い傾向にあった。

以上の結果より、エステルとアミドで立体化学が逆転したのは立体的な要因のためであると考えている。

Table 1

entry	R'	X	base	solvent	yield (%)	diastereomeric ratio 1R : 1S
1	<i>t</i> -Bu	O	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	99	86 : 14
2		NH	NEt ₃	CH ₃ CN	59	2 : 98
3		NMe	NEt ₃	CH ₃ CN	62	2 : 98
4	Ph	O	LiH	CH ₂ Cl ₂	97	83 : 17
5		NH	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	86	62 : 38
6		NMe	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	99	34 : 66
7	4-Py	O	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	82	84 : 16
8		NH	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	52	47 : 53
9		NMe	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	80	26 : 74
10	2-ClPh	NH	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	quant.	36 : 64
11		NMe	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	93	17 : 83

2C4b 酵母由来の新規リパーゼを用いた 1,3-プロパンジオールの非対称不斉エステル化反応

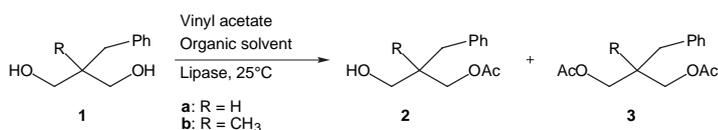
(広島大院理・独立行政法人酒類総合研究所)

蘭 春蕾・田谷幸一・平賀良知・正木和夫・

家藤治幸・大方勝男

プロキラルなジオールを酵素触媒によって非対称化する研究は、合成化学的に興味もたれている。本研究では、酵母由来の新規リパーゼ(CSL)および豚膵臓リパーゼ(PPL)を用いた 1,3-プロパンジオールの非対称不斉エステル化反応について検討した。

1,3-プロパンジオール (1a, b) のリパーゼによる非対称不斉エステル化を行なった(表 1)。ジオール 1a を基



Scheme 1.

Table 1. Lipase-catalysed acetylation of 1a and 1b

Entry	Diol ^a	Enzyme ^b	Yield ^c		E.e. of 2 ^d	[α] _D ²⁵ of 2
			2	3		
1	1a ^e	CSL ^h	78 (76)	2	21	-6.5 (S)
2	1b ^f	CSL ^h	48 (47)	1	43	+7.4 (R)
3	1a ^g	PPL ⁱ	51 (51)	49 (46)	42	-12.8 (S)
4	1b ^f	PPL ⁱ	54 (54)	1	33	-5.6 (S)

^a The concentration of 1a was 0.1 M. For other details see the experimental part.

^b Weight of CSL and PPL was 1.5 and 6.0 w/w of substrate, respectively.

^c On the basis of ¹H NMR analysis. The isolated yields are given in parentheses.

^d On the basis of analyses by HPLC using a Daisel CHIRALCEL AD (hexane-*i*PrOH 30:1).

^e Reaction time is 1 d. ^f Reaction time is 3 d. ^g Reaction time is 12 h. ^h 2 equiv of vinyl acetate as acyl donor was added. ⁱ 6 equiv of vinyl acetate as acyl donor was added.

質とした場合、リパーゼ CSL においても PPL においても同じ立体化学のモノアセチル化体(S)-2a が主エナンチオマーであった。一方、ジオール 1b を基質とした場合、CSL においては(R)-2b が主エナンチオマーであったのに対し、PPL においては主エナンチオマーが(S)-2b であった。

次に、リパーゼ CSL による非対称不斉エステル化における溶媒効果について検討した(表 2)。ジイソプロピルエーテルおよびジエチルエーテルを溶媒として用いた際、最も高いエナンチオ選択性が認められた。リパーゼ CSL によるモノアセチル化体 2b の収率は、用いた溶媒の疎水性と良い相関が認められた。

現在、リパーゼ CSL による不斉収率の向上のための条件検討を行なうとともに、CSL の非対称不斉エステル化における一般性を明らかにするため、種々のジオールに対する非対称不斉エステル化反応を行なっている。

Table 2. CSL-catalyzed monoacetylation of 1b in different organic solvents^a

Entry	Solvent ^b	LogP ^c	Yield ^d		E.e. of 2 ^e
			2	3	
1	Hexane	3.5	42 (40)	<1	14
2	CCl ₄	3.0	56 (55)	<1	11
3	Toluene	2.5	48 (48)	<1	12
4	Benzene	2.0	54 (54)	<1	11
5	<i>i</i> Pr ₂ O	1.9	48 (47)	1	43
6	Et ₂ O	0.85	30 (28)	<1	43
7	CH ₂ Cl ₂	0.60	12 (11)	<1	38
8	MeCN	-0.33	6 (4)	<1	19

^a Reaction time is 3 d. The concentration of 1b was 0.1 M. For other details see the experimental part.

^b 2 equiv of vinyl acetate as acyl donor was added.

^c Logarithm of the octanol-water partition coefficient of the solvent. Source data were cited in reference.¹⁷

^d On the basis of ¹H NMR analysis. The isolated yields are given in parentheses.

^e On the basis of analyses by HPLC using a Daisel CHIRALCEL AD (hexane-*i*PrOH 30:1).

強磁場の影響を受けるゾウリムシの泳動とその磁場強度依存性

(広島大院理)

藤原好恒・富重昌彦・伊藤泰宏・小阪敏和・細谷浩史・
谷本能文

「序」これまで単細胞で体内に葉緑体をもつミドリムシやクロレラを共生するミドリゾウリムシを対象に、その泳動の8テスラ(T)の強磁場の影響を調べてきた。ミドリムシは磁場の強い方向へ集まる正の走磁性を持ち、しかも磁力線方向に対し垂直に泳動した。これらは生体の構成組織の磁気配向と不均一な磁気力に原因があると考えられた。¹⁾ 一方、ミドリゾウリムシは磁力線方向に対し平行に泳動し、クロレラとの関連が示唆された。²⁾ これらの結果を踏まえ、今回はこのような強磁場の影響の普遍性を明確にすることとそのメカニズムの解明の糸口を探すことを目的に、体内には葉緑体やクロレラを持たないゾウリムシの泳動について強磁場の影響を調べた。

【実験】ゾウリムシを入れたガラス容器を、垂直なボアをもつ最大15 Tの縦型超伝導磁石、或いは水平なボアを持つ最大8 Tの横型超伝導磁石内に静置し、泳動の様子をCCDカメラにて録画した。

【結果と考察】図1は0 Tと縦型超伝導磁石中の中心磁場15 Tにおけるゾウリムシの泳動の動画のスナップショットである。磁力線は図の縦方向に通っていて、この縦型磁石の場合それは重力方向と平行である。黒い点がゾウリムシを表し、またその側に付した矢印は泳動方向を示している。図の矢印が示すように、15 Tでは磁石内に静置した直後からほとんどすべての細胞の泳動方向が図の縦方向(鉛直方向)に揃うのが観測された。しかし、磁石から取り出すと即座に泳動方向は乱れた。さらに現れるまでにはある程度の時間を要するものの泳動速度の減速も観測された。この減速は泳動方向が鉛直になる現象とは異なり、磁石

から取り出しても長時間にわたり継続して観測された。一方、8 Tの水平磁場においても磁力線方向と平行に泳動した。ところが、1 T付近では泳動方向が磁力線方向と垂直になる傾向が観測された。つまり、ゾウリムシには強磁場下の泳動方向に磁場強度依存性があることがわかった。この1 Tでの結果は中岡らによる結果³⁾と一致するが、彼らがその原因としたトリコシストの磁気配向では今回の磁場強度依存性は説明ができない。発表では可能性のあるメカニズムについても触れたい。

【参考文献】

- 1) 谷本 等, *環境科学会誌*, **13**, 61 (2000).
- 2) Y. Fujiwara, et al., *Jpn. J. Protozool.*, **35**, 75 (2002).
- 3) Y. Nakaoka et al., *Bioelectromagnetics*, **23**, 607 (2002).

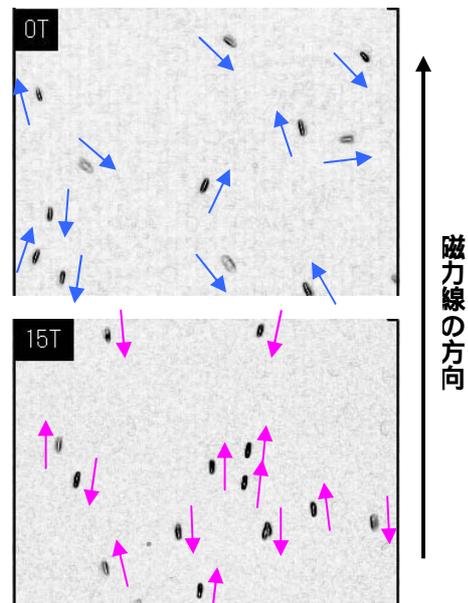


図1 0 Tと縦型超伝導磁石内(垂直磁場)15 Tでのゾウリムシ(体長0.2-0.3mm)の泳動のスナップショット。各矢印は泳動方向を表す。

2D2b 分子シミュレーションによるポリ乳酸加水分解酵素の解析

(広島大院理¹・広島大QuLiS²・産総研³・酒総研⁴)

○榮 慶丈^{1,2}・相田美砂子^{1,2}・近藤英昌³・正木和夫⁴・家藤治幸⁴

自然界において、微生物が関与し、低分子化合物に分解される生分解性プラスチックと呼ばれる物質が注目されている。最近、生分解性プラスチックの一つであるポリ乳酸(図1)を強く分解する酵素(*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ)が酒類総合研究所の正木らにより発見された。しかしながら、この酵素の触媒反応のメカニズムについてはまだほとんど分かっていない。そこで本研究では、酵素(*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ)による触媒反応機構を計算化学的アプローチにより明らかにすることを目的とした。

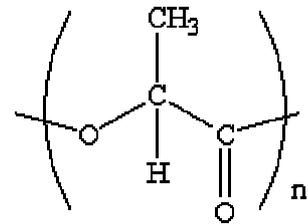


図1 ポリ乳酸

我々は触媒反応機構を理解するための手順として、まず酵素(*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ)と基質(ポリ乳酸)の結合したときの構造を予測することとした。これを実現するため、酵素とポリ乳酸(n=2)の複合体に対し、古典力学モデルによる分子動力学シミュレーションをおこなった(AMBER7を使用)。その結果、すでに実験により触媒反応に関わることが知られている3つのアミノ酸(Ser85, His180, Asp165)の他に、Thr17がポリ乳酸(n=2)の結合時の安定性に寄与している可能性がみられた(図2)。

次に、分子動力学シミュレーションより得られた活性部位付近の構造を触媒反応の初期構造と考え、Ser85によるポリ乳酸(n=2)の切断反応過程のエネルギー変化をThr17を考慮した場合とそうでない場合について求めた(Gaussian98を使用)。その結果Thr17が存在することによって、この反応が進行しやすくなることがわかった。この結果より、触媒反応へのThr17の関わりがさらに裏付けられた。

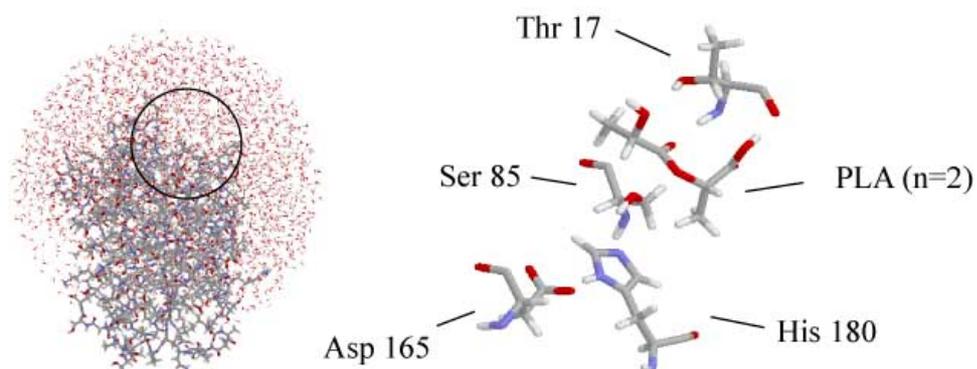


図2 シミュレーションをおこなった系の全体図(左)と活性部位付近の原子群(右)

磁気光学特性

(広島大院理・分子研)

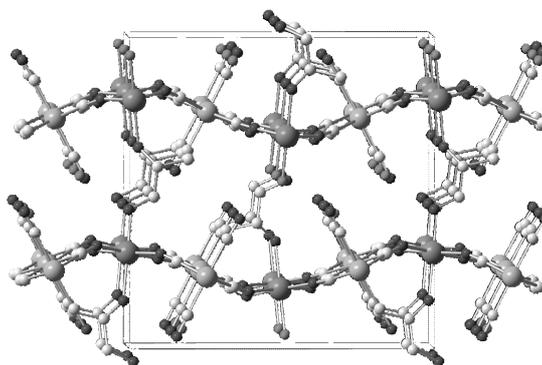
○山田公一・吉田祐輔・今井宏之・井上克也

磁性体が示す光学的性質は、現在、光磁気ディスク等に利用され、その研究も盛んに行われている。とくに近年、Rikken らにより、光学活性体が示す特異な磁気光学効果である磁気不斉二色性 (MChD) が初めて実験的に確認され、光学活性な磁性体の示す磁気光学効果が注目されている¹⁾。通常の光学活性 (NCD) や、ファラデー効果 (MCD) が偏光に対する効果なのに対し、この両者が共存する系で観測される MChD は、通常の光の吸光度が磁場の向きによって変化するという興味深い現象である。Rikken らの系ではサンプルが常磁性体であったため、検出された MChD の効果は小さかったが、サンプル自身が磁性体の場合、大きな MChD を示すことが期待される。

現在、磁気光学効果が広く研究されている金属酸化物等の無機物は、化学的な修飾が難しく、特に光学活性な構造を得るのは非常に困難である。これに対し、分子磁性体は、金属と有機物を合目的に配列させることで、磁性、光学的性質等の様々な性質を比較的容易に制御できるだけでなく、光学活性な構造を得ることも可能である。さらに、光に対して適度な透過性を持つことから、新しい磁気光学材料への発展が期待される。

当研究室ではこれまでに、不斉源として光学活性な配位子 (*S*)-1,2-diaminopropane を用い、 $T_c = 38$ K の 2 次元シート構造を有するシアノ架橋キラルフェリ磁性体 $[\{\text{Cr}(\text{CN})_6\}\{\text{Mn}(\text{S})\text{-pnH}(\text{H}_2\text{O})\}](\text{H}_2\text{O})$ (pn=1,2-diaminopropane) (以下(*S*)-1 と略す) の合成に成功している(図 1)²⁾。

今回、逆の絶対配置を持つ (*R*)-1,2-diaminopropane を原料に用いることで、(*S*)-1 の光学異性体である(*R*)-1 を合成し、両異性体の磁気光学的性質の比較をおこなった。他のシアノ架橋キラル磁性体の磁気光学的性質についても併せて報告する

図 1 (*S*)-1 の結晶構造1) G. L. J. A. Rikken, E. Raupach, *Nature* **1997**, 390, 493.2) K. Inoue, K. Kikuchi, M. Ohba and H. Okawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 4810.

2D4b

長鎖アルキルで結ばれた2座ホスフィンを有するコバルト(II)錯体の結晶構造

(広島大院理・京都大院工*)

○水田勉 今村友紀 三吉克彦 依光英樹* 大畠幸一郎*

$\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_6\text{PPh}_2$ (以後 dpph と略) は、最長約 19 \AA のサイズの2座ホスフィン配位子である。この配位子の2つの配位座は、フレキシブルな長鎖アルキルで結ばれている。このような柔軟な配位子が、鎖を折りたたんで1つのメタルにキレート配位するか、あるいは、2つのメタルを結ぶナノサイズの架橋配位子としてはらくかという点は、ナノサイズの分子を設計する上で重要な情報である。一方、最近大畠らは、コバルトを触媒とした Heck 反応において dpph 配位子を加えると、鎖長の短いジホスフィン配位子を加えた場合に比べて収率が向上することを見出している。この触媒系で生成すると考えられるコバルトと dpph からなる錯体の構造には興味を持たれる。そこで、本研究ではコバルト(II)と dpph からなる錯体の構造を明らかにすることを目的とした。

塩化コバルト(II)と dpph を THF を溶媒として 1 : 2 の比で反応させると青色の生成物が得られる。生成物の吸収スペクトルは、コバルト(II)に Cl が2つとリン配位子が2つ結合した4配位の錯体の特徴を示していた。この生成物は、難溶性であったので再結晶による単結晶化は困難であった。そこで、コバルト(II)のアセトン溶液と dpph のアセトン溶液を拡散により徐々に混合することにより、単結晶を得ることにした。その結果、青色針状の主生成物と、立方体状の濃青色結晶を得た。

X線結晶解析の結果、前者は、結晶溶媒としてアセトンを取り込んだ $[\text{Co}_2\text{Cl}_4(\text{dpph})_2]_2 \cdot (\text{Me}_2\text{CO})$ の組成をもつことが判った。結晶構造を右図に示す。結晶中には独立な2つの分子が存在し、もう1つの分子も図の構造とほぼ同一の構造である。 dpph 配位子は、キレート鎖が全てトランスとなり2つのコバルトを架橋している。コバルト周りは2つのリン原子と2つの塩化物イオンにより四面体構造となっている。一方マイナー生成物の方は、未だ解析の精度は良くないが、骨格の構造は、 $[\text{CoCl}_2(\text{dpph})]_n$ と書き表される無限鎖構造であった。この場合も、 dpph 配位子は、2つのコバルトを架橋する配位子として働いていた。

