

糸状菌メロテルペノイドの複雑骨格構築に関わる α -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼの構造機能解析

中嶋 優¹、千田 美紀²、千田 俊哉²、阿部 郁朗¹

1. 東大薬院 2. KEK・IMSS・SBRC

世界初の抗生物質として知られるペニシリンを初めとして、糸状菌(カビ類)由来の天然物は、医薬品シード資源として重要な役割を果たしている。しかしながら、これらの多くは複雑な骨格を有しており、有機合成的にこれらの化合物を供給することは困難を伴うことが知られている。一方で、これら生産菌のゲノム解読が進むにつれ、天然物の生成に関わる多くの生合成遺伝子の存在が明らかになってきている。それに伴い、天然物の複雑骨格形成に中心的役割を担う生合成酵素の発見が相次いでいる。これら生合成酵素の触媒機能を理解し利用することができれば有用生理活性物質の創製に繋がることが期待される。特に、糸状菌が生産するメロテルペノイドは抗がん活性や免疫抑制作用など様々な生理活性を示す化合物群として知られており、重要な研究テーマの一つとなっている。糸状菌由来メロテルペノイドの生合成研究に関しては抗がん作用を持つ berkeleydione や austinol を含む複数のメロテルペノイド生合成遺伝子とその生合成経路が同定され、これらの複雑構造の構築を担う生合成酵素群が明らかになってきている。その中でも、複雑骨格の形成に中心的な役割を果たす酵素として α -ケトグルタル酸(α KG)依存性ジオキシゲナーゼの存在が明らかとなってきた。興味深い事に、メロテルペノイド生合成に寄与する α KG 依存性ジオキシゲナーゼの多くは多段階の酵素反応を触媒する多機能性を有しており、反応機構、基質の認識機構は既存の酵素群とは大きく異なるのではないかと考えられた。しかしながら、これら多機能性 α KG 依存性ジオキシゲナーゼの詳細な機能解析は殆ど行われていないのが現状であった。今回、これまでに見出したメロテルペノイド生合成に関与する α KG 依存性ジオキシゲナーゼの触媒能の詳細な機能解明を行うべく、X 線結晶構造解析に着手し、類似酵素間の比較検討を試みた。酵素基質複合体の取得や酵素構造の比較検討を行った結果、酵素活性に重要なアミノ酸残基を見出し、その変異酵素を作製することで酵素の機能改変に成功した。多段階酸化反応を引き起こす酵素の結晶構造解析の報告例は極めて少なく、構造解析を基に生み出された変異酵素は他に類を見ない新規な酸化能を獲得したといえる。

Yu Nakashima *et al*, Structure function and engineering of multifunctional non-heme iron dependent oxygenases in fungal meroterpenoid biosynthesis, *Nat Commun.* **9**, 104 (2018).

M-salen 錯体の一電子酸化体の構造と電子状態の相関

Geometric and Electronic Structures Relationship of the One-electron Oxidized M-salen Complexes

大下宏美¹、鈴木崇¹、阿部仁²、森聖治¹、島崎優一¹
(1 茨城大院理工、 2 KEK-PF)

アルコールをアルデヒドへと変換するガラクトースオキシダーゼ(GO)の活性種は、Cu(II)-thiophenoxyl radical 種であることが知られている。その近傍にはトリプトファンがスタッキング相互作用する形で存在しており、活性種の安定化に寄与していると考えられている。GO の Cu(II)-thiophenoxyl radical 種の電子状態については、これまでに様々な金属錯体で研究されているが、thiophenoxyl radical の詳細な電子状態についての知見は少ない。また、トリプトファンによるスタッキング相互作用がラジカル部位に及ぼす影響、その電子状態についても詳細は不明である。そこで、本研究では thiophenoxyl radical 種の詳細な電子状態について検討するため、M(MeS-salen)錯体(M = Ni, Cu, Pd)の一電子酸化体を合成し、その電子状態について X 線吸収スペクトルおよび DFT 計算によって検討した。さらに、配位子に側鎖基 X(X = indole, methyl, phenyl)を導入することで、スタッキング相互作用のラジカル部位への影響も検討した。

これまでの実験および DFT 計算から、合成したすべての salen 錯体の一電子酸化体は、M(II)-phenoxyl radical であることがわかった。Ni, Pd(MeS-salene) 錯体の金属の XANES より、酸化前後で金属の価数に大きな変化は見られなかった。しかしながら、Cu(MeS-salen)錯体では酸化後のスペクトルが低エネルギー側にシフトしていることが明らかとなった。これは、Cu 周辺の構造の微細な変化が影響していると考えている。本ポスターでは、これらの詳細な結果について、DFT 計算の結果とともに報告する。

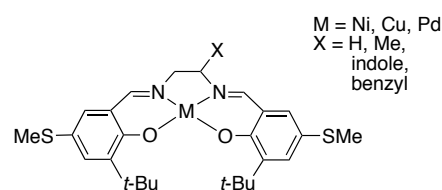


Fig 1. M(MeS-salen)錯体

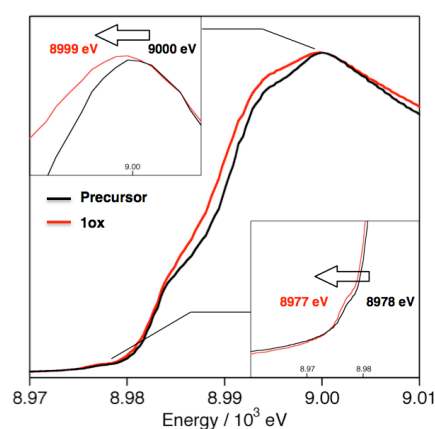


Fig 2. Cu(MeS-salen)の Cu の K 吸収端 X 線吸収スペクトル

衝撃実験から迫る AlCuFe 準結晶鉱物の形成起源

Experimental study on the formation of Al-Cu-Fe natural quasicrystal under meteorite collision condition

○高木 壮大^{1,2}, 一柳 光平², 深谷 亮², 野澤 俊介², 川合 伸明³,
興野 純¹, 船守 展正², 足立 伸一²
¹筑波大学, ²KEK PF, ³熊本大学

1. はじめに

準結晶とは結晶でも非晶質でもない原子配列を持つものである[Shechtman et al., 1984]. 天然で準結晶構造を持つ鉱物としては, 隕石中から Icosahedrite ($\text{Al}_{63}\text{Cu}_{24}\text{Fe}_{13}$)と Decagonite ($\text{Al}_{71}\text{Ni}_{24}\text{Fe}_5$)が報告されているのみである[Bindi et al., 2011; 2015]. Khatyrka 隕石が隕石衝突による衝撃を経験した証拠を持つことから準結晶鉱物が瞬間的な高温高圧で形成されたことが示唆され[Hollister et al., 2014], 衝撃回収実験から準結晶構造が限られた条件で形成されることが報告された[Asimow et al., 2017]. しかしながら, 未だその形成起源の解明には至っていない. 本研究では, 実験から準結晶鉱物が形成され得る温度-圧力-時間を明らかにし, 準結晶鉱物の形成起源を解明する事を目指し, Al-Cu-Fe 系試料に対しレーザー衝撃実験とガス銃を用いた衝撃回収実験を行なった.

2. 実験方法

試料はまず, 単体の Al, Cu, Fe 箔を測定し, その後 Al-Cu-Fe 混合粉末を測定した. レーザー衝撃実験では, PF-AR NW14A のガラスレーザーシステム(パルス幅 12 ns, パルスエネルギー16 J/pulse)を用いて衝撃状態を再現した. 衝撃下での結晶構造変化を時間分解 XRD (TR-XRD)により観察した, さらに, レーザー速度干渉計を整備することで, 衝撃波による試料表面速度変化から圧力値を見積もった. 衝撃回収実験は, 熊本大学の火薬銃を用いて行なった. Al-Cu-Fe 混合粉末を Cu カプセルに封入し, 衝突速度 983 m/s (カプセル圧 20.5 GPa)で Cu プレートと衝突させた. 回収試料は電子顕微鏡で観察を行なった.

3. 結果

Al のレーザー衝撃実験から, レーザー照射により少なくとも 30 GPa のピーク圧力を持ち, 数 10 ns で減衰していく衝撃波が発生することを確認した. また, Fe の TR-XRD 結果から, 圧縮されている約 10 ns 間にのみ高圧相の相が観察され, 圧縮下での相転移も観察可能であることが確認された. Al-Cu-Fe 試料について, 同レーザー衝撃下での TR-XRD から, 10 GPa の衝撃圧力を受けて圧縮される様子が観察されたが, 圧縮から解放に至るまで Al, Cu, Fe それぞれは構造を保ち, 新しい相は形成されなかった. 衝撃銃による衝撃回収実験からも反応の痕跡は観察されず, これまでに行なった圧力-時間条件では準結晶鉱物は形成されない事が明らかになった.

X線マイクロビームを用いた DNA 損傷に開始される 細胞周期変調のライブセルイメージング

Live-cell imaging of cell cycle modification started by DNA damage using X-ray microbeam

神長輝一^{1,2}、宇佐美德子³、横谷明德^{2,1}

1 茨城大学大学院

2 量子科学技術研究開発機構

3 KEK

近年、放射線のヒットを受けた細胞に隣接する非照射細胞にも、染色体異常や細胞死が誘発されるバースタンダー効果と呼ばれる現象が報告されているが、細胞分裂そのものの周期性に与える影響は明らかにされて来なかった。一般に、照射細胞中で DNA 損傷やタンパク質の発現、機能異常が引き起こされると、細胞周期に変調(遅延や停止)が生じることが知られている。私たちは、細胞周期へ与えるバースタンダー効果の有無の検証を試みてきた。

これまでに、PF / BL27B の X 線マイクロビーム照射装置を線源として使用し、細胞コロニー内の数個の細胞、あるいは 3 次元培養した細胞集団(スフェロイド)に対して 10G 及び 20Gy の X 線マイクロビームを照射することで、照射細胞と隣接するバースタンダー細胞をライブセル観察してきた。細胞周期を可視化するため、Fucci 処理された HeLa.S 細胞を試料として用いた。まず単層培養した試料に対し照射後 72 時間のライブセル観察を行い、個々の細胞の分裂の様子を細胞系譜図として解析を行った。その結果、照射細胞だけではなく、バースタンダー細胞の一部に細胞周期変調や細胞死が観察された。さらにスフェロイドの一部に対してマイクロビーム照射を試みる実験系の構築を行い、照射部位における細胞周期停止を観測することに成功した。

一方細胞核の DNA に対し、細胞質中に多量に存在する ATP を合成する細胞小器官であるミトコンドリアも放射線照射の重要なターゲットとして想定される。私たちは細胞周期変調の解析からさらに、ミトコンドリアの活性変化に研究対象を拡張した。ミトコンドリアの量と高膜電位部位の割合、細胞内 ATP 量の変化を指標として、細胞質あるいは核のみへの X 線照射の影響解明を試みた。6Gy の X 線を細胞質あるいは核のみに照射し、照射後 72 時間までの継時変化を解析した。その結果、ミトコンドリア量は照射後二日以降、細胞質照射で減少、核照射では逆に増加した。高膜電位部位の全ミトコンドリア面積に占める割合は、どの照射条件でも大きな違いはなかった。核照射によるミトコンドリア量の増加は DNA 損傷応答の一環として生じた可能性があり、また、細胞質照射によるミトコンドリア量の減少は、ミトコンドリアをターゲットとしたオートファジー(マイトファジー)によって誘発された可能性があるかと推察される。

スピネル型遷移金属化合物におけるスピン-軌道揺らぎに関する研究

Spin-orbital coupled fluctuation in spinel-type transition metal compounds

松浦慧介¹、徳村謙祐¹、佐賀山基²、N.D. Khanh¹、阿部伸行¹、有馬孝尚¹
¹東大新領域、²KEK 物構研

本研究課題では、強相関電子物質を対象に、特にスピン軌道相互作用に起因した現象に興味を持ち、以下の 3 つのテーマに関する研究を行った。当初は、下記[1]に関する実験を行っていたが、研究の進捗を考慮して、[2]と[3]といったテーマに関する実験も並行して行った。今回の報告では、下記の内容について本研究課題を通じて得られた結果を報告する。

[1] FeSc_2S_4

スピン軌道液体の候補物質である FeSc_2S_4 の基底状態を X 線散乱および分光学的に明らかにすることを目的として、 FeSc_2S_4 単結晶試料に対して、X 線回折実験および X 線磁気円二色性の測定を行った。

[2] $\text{Co}_4\text{Nb}_2\text{O}_9$

ハニカム反強磁性体 $\text{Co}_4\text{Nb}_2\text{O}_9$ における電気磁気効果と格子歪みの関係を超音波による音速・吸収測定及び放射光 X 線回折を用いて調べた。 $\text{Co}_4\text{Nb}_2\text{O}_9$ (空間群:P-3m1)は、磁気転移点 $T_N=27$ K において比較的大きな電気分極が出現することで知られている。超音波測定を行ったところ、 $T=T_N$ 以下で 10 % もの弾性定数の減少が観測された。そこで、より微視的な観点から調べるために、PF BL-3A において、X 線回折実験を行った。 c グライドの破れを示す(0 0 2k+1)反射に関して温度・磁場依存性を調べた。

[3] YFeO_3

$T_N=650$ K 以下で Fe^{3+} が a 軸方向に反強磁性的に配列し、DM 相互作用により c 軸方向に弱強磁性モーメントを有する。 YFeO_3 では c 軸方向の磁化と Fe^{3+} スピンの反強磁性配列の位相が結びついている。磁気秩序の位相情報は、通常の中性子による磁気散乱では得ることはできない。そこで、本研究では、 YFeO_3 を対象にして、円偏光 X 線回折実験によって、電荷散乱と磁気散乱の干渉を観測することで、DM ベクトルの符号決定を行った。

窒素含有芳香族有機分子と金属表面の 界面における電子相互作用の測定

Measurements of electron interaction at the interface between nitrogen-containing aromatic organic molecules and a metal surface

宮澤徹也¹, 小澤健一², 金井要³, 櫻井岳暁⁴, 栗原真志⁵, 間瀬一彦^{1,6}
¹総研大, ²東工大, ³東理大, ⁴筑波大, ⁵横国大, ⁶KEK 物構研

有機/金属界面の電子状態や構造は有機薄膜太陽電池、ペロブスカイト太陽電池、ペロブスカイト単結晶を用いた X 線検出器などのデバイス特性と密接に関わる[1, 2]。例えば、バソクプロイン(BCP)のような窒素含有芳香族有機分子を有機/金属界面に緩衝層として挿入することで有機薄膜太陽電池の変換効率は向上することが知られている[3]。しかし BCP は耐久性が低いという欠点がある[4]。変換効率高く耐久性もある緩衝材料を選定するためには、有機/金属界面について詳細な研究を行う必要がある。そこで、ピリジンやピラジンなどの窒素を含有した構造の簡単な有機分子と、Au(111)表面との電子状態や構造を放射光 X 線光電子分光などの方法で分析を行った(図 1)。

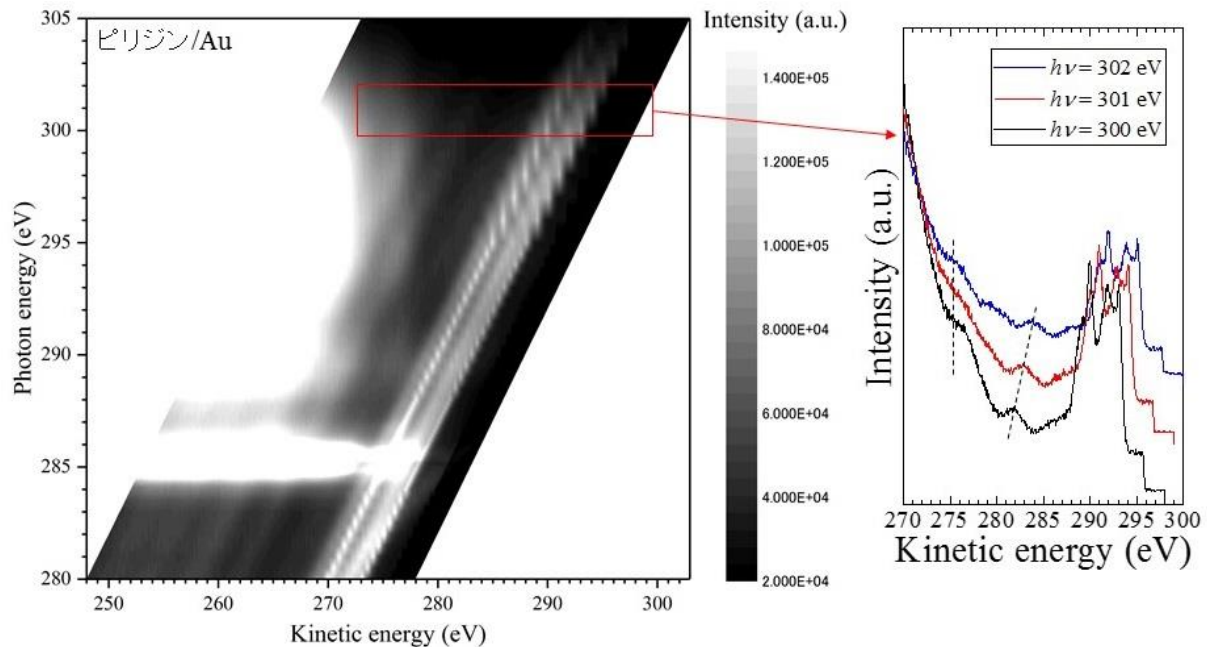


図1:ピリジン(単分子)/Au(111)の Core-hole clock 分光測定の結果

- [1] H. Zhou *et al.*, Science. **345**, 542 (2014).
- [2] H. Wei *et al.*, nature photonics. **10**, 333 (2016).
- [3] P. Peuman *et al.*, Appl. Phys. Lett. **76**, 2650 (2000).
- [4] M. F. Lo *et al.*, Appl. Phys. Lett. **97**, 143304 (2010).