

平成 22 年 4 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2007～2010
課題番号：19350082
研究課題名（和文） 有機合成化学を基盤とする光受容色素蛋白質フィトクロムの構造と機能の解明
研究課題名（英文） Elucidation of the structure and function of photoreceptive chromoprotein phytochromes based on the synthetic organic chemistry
研究代表者
猪股 勝彦（INOMATA KATSUHIKO）
金沢大学・物質化学系・教授
研究者番号：50110599

研究代表者の専門分野：有機合成化学
科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学
キーワード：受容体化学，植物，蛋白質，フィトクロム，発色団，合成，光分子スイッチ

1. 研究計画の概要

本研究は、植物の光形態形成を制御している光受容色素蛋白質フィトクロムの発色団である開環状テトラピロール（ピリン系化合物）の合成を基盤として、フィトクロムの構造と機能を解明するものであり、最終的には農産物の増産などに寄与しうものと考えられる。具体的な研究計画としては、

(1) フィトクロム発色団の AB 環及び CD 環部位の立体化学を固定したビリベルジン (BV) 誘導体を合成し、再構成実験により Pr 型及び Pfr 型フィトクロムの立体化学の解明を目指す。

(2) フィトクロム発色団の CD 環部位を固定した BV 型発色団を用いる Pr 型及び Pfr 型フィトクロムの結晶化と X 線結晶構造解析を目指す。

(3) AB 環及び CD 環部位の立体化学を固定したフィコシアノピリン (PCB) 誘導体の合成と試験管内及び発色団欠損変異株を用いる生体内再構成並びに表現型 (phenotype) の解明を目指す。

(4) 植物フィトクロムの簡便精製法の実現を目指して、ピリン系発色団担持型アフィニティー・クロマトグラフィーを確立する。

(5) 光学活性な PCB 発色団の新規一般合成法の確立を目指す。

2. 研究の進捗状況

上記の具体的かつ先導的な研究計画に関して、それぞれ次のような成果が得られた。

(1) 我々のこれまでの研究により、バクテリ

オフィトクロム中における Pr 型及び Pfr 型発色団の 15 位の立体化学はそれぞれ *Z-anti* 及び *E-anti* であることを世界で初めて解明したが、AB 環 5 位の立体化学は不明であった。そこで、5 位の立体化学を固定した発色団や 5 位及び 15 位をともに立体固定した BV 型発色団を合成し、バクテリオフィトクロム Agp1 及び Agp2 中における Pr 型発色団の立体化学はともに *5Z-syn*, *15Z-anti* であり Pfr 型は Agp1 では *5Z-anti*, *15E-anti*, Agp2 では *5E-anti*, *15E-anti* であることを解明した。

(2) Pr 型で立体固定した光異性化を起こさない合成発色団を用いて Agp1-M15 の結晶化と X 線構造解析に成功した。現在、さらに Pfr 型発色団を用いるホロ蛋白質の結晶化にチャレンジしている。

(3) CD 環部位の立体化学を固定した PCB 誘導体の合成に成功し、現在、植物フィトクロムの表現型やシグナル伝達機構の解明に向けた基礎的知見を得るために、試験管内及び発色団欠損変異株を用いる生体内再構成について検討中である。

(4) 植物フィトクロムの X 線結晶構造解析を実現するためには、純粋なホロ蛋白質を単離・精製する必要がある。そこでまず、アポ蛋白質と共有結合できないように分子設計した発色団を合成した。さらに樹脂への固定に関して、発色団の結合部位並びに結合法に関する新知見を得た。

(5) これまでに合成した PCB 型発色団はラセミ体であったが、光学活性カラムを用いる光学分割に成功し、ラセミ化条件に関する重要な知見を得ることができた。今後、これらの新知見に基づき、高効率・高エナンチオ選択的な光学活性 PCB 誘導体の合成法を確立

するとともに、光学活性発色団を用いる再構成並びに発色団を修飾したフィトクロムの機能について探究する予定である。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由)

上記の研究計画は、先行するデータや知見がないため、多くの困難が予想された。しかし、立体化学を固定した BV 型及び PCB 型フィトクロム発色団の一般合成法の確立に成功しただけでなく、生物学者の協力により、再構成実験と立体化学の解明、ホロ蛋白質の結晶化、さらに X 線構造解析に成功など、予想以上の成果を上げることができたため。さらに、これらの業績に対して日本化学会学術賞を受賞するとともに、世界的な評価を得ることができた。

4. 今後の研究の推進方策

従来、バクテリオフィトクロムに関する研究を中心に行ってきたが、今後、これらの研究を通じて得られた新知見を基盤として、より困難が予想される植物フィトクロムに関する研究を推進して行く予定である。植物フィトクロムの発色団は構造的に不安定なフィトクロムobilin(PΦB)であるが、構造の類似したより安定なフィコシアノビルン(PCB)で代替できることが分かっているため、立体固定型 PCB 誘導体の合成と光学分割法の確立、さらに高効率・高エナンチオ選択的な光学活性 PCB 誘導体の合成法を確立するとともに、光学活性発色団を用いる再構成並びに発色団を修飾したフィトクロムの機能に関する研究を推進する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 21 件)

1. P. Scheerer, N. Michael, J. H. Park, S. Nagano, H.-W. Choe, K. Inomata, B. Borucki, N. Krauß, and T. Lamparter, Light Induced Conformational Changes of the Chromophore and the Protein in Phytochromes: Bacterial Phytochromes as Model Systems, *ChemPhysChem*, **10** (2010), in press, 査読有

2. L.-Y. Chen, H. Kinoshita, and K. Inomata, Synthesis of Doubly Locked 5Zs15Za-Biliverdin Derivatives and Their Unique Spectral Behavior,

Chem. Lett., **38** (2009), 602-603, 査読有

3. K. Inomata, H. Khawn, L.-Y. Chen, H. Kinoshita, B. Zienicke, I. Molina, and T. Lamparter, Assembly of *Agrobacterium* Phytochromes Agp1 and Agp2 with Doubly Locked Bilin Chromophores, *Biochemistry*, **48** (2009), 2817-2827, 査読有

4. K. Inomata, Studies on the Structure and Function of Phytochromes as Photoreceptors Based on Synthetic Organic Chemistry (Award Accounts), *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **81** (2008), 25-59, 査読有

5. S. Seibeck, B. Borucki, H. Otto, K. Inomata, H. Khawn, H. Kinoshita, N. Michael, T. Lamparter, and M. P. Heyn, Locked 5Zs-Biliverdin Blocks the Meta-R_A to Meta-R_C Transition in the Functional Cycle of Bacteriophytochrome Agp1, *FEBS Lett.*, **581** (2007), 5425-5429, 査読有

[学会発表](計 48 件)

1. Inomata, K., Studies on the Structure and Function of Phytochromes as Photoreceptors Based on Synthetic Organic Chemistry, 18th International Symposium on Fine Chemistry and Functional Polymers (FCFP-XVIII) & IUPAC 4th International Symposium on Novel Materials and Synthesis (NMS-IV), 2008. 10. 17, Zhenjiang (China),.

2. 猪股勝彦, 有機合成化学を基盤とする光受容色素蛋白質フィトクロムの構造と機能の解明, 日本化学会第 87 春季年会学術賞受賞講演, 2007 年 3 月 27 日, 関西大学(大阪府)

3. Inomata, K., Studies on the Structure and Function of Phytochromes as Photoreceptors Based on Synthetic Organic Chemistry, Ringberg Symposium, Spectroscopy of Sensory Photoreceptors, 2007. 10. 8, Tagungsstätte of the Max-Planck-Gesellschaft "Schloss Ringberg" in Bad Tegelsee (Germany)

4. Inomata, K., Studies on the Structure and Function of Phytochromes as Photoreceptors Based on Synthetic Organic Chemistry, Freising Symposium, Light-induced Dynamics of Proteins, 2007. 10. 4, under the auspices of the SFB 533, Kardinal-Döpfner-Haus, Freising, (Germany)

[図書](計 1 件)

1. 丸岡啓二他 4 名編著, 猪股勝彦 他分担執筆, 化学同人, 使える! 有機合成反応実践ガイド, 2010 年, 226-227, 288-289, 306-307 頁執筆, 総ページ数 504 頁

[その他]

ホームページ

<http://chem.s.kanazawa-u.ac.jp/org/laboratory.html>