

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H05804

研究課題名(和文) タンパク質キャビティーを反応場として駆使する新触媒の創製

研究課題名(英文) Construction of a New Catalyst Having a Protein Cavity as a Reaction Scaffold

研究代表者

林 高史(Hayashi, Takashi)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：20222226

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 92,600,000円

研究成果の概要(和文)：天然には多くの金属酵素が存在し、難易度の高い酸化還元反応や加水分解に関わり、生体内での生合成や代謝分解を支援している。活性中心の金属錯体は、タンパク質キャビティーに結合し、キャビティーを構成しているアミノ酸残基が配位圏として作用して、反応の活性や選択性を制御している。この金属酵素の構造に学び、人工金属補因子とタンパク質反応場の相互作用を介した新しい生体触媒の設計と創製を実施した。具体的にはC-H結合の活性化やC-C結合形成、水素発生などの反応に焦点をあて、非天然の金属補因子とアポヘムタンパク質の複合体を触媒とする高難度物質変換を実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

酵素は温和な条件下で難しい反応を加速する優れた触媒であるが、反応の種類や基質の選択性で多くの制限がある。研究代表者は、この課題を克服するために、合成金属錯体をタンパク質の空洞に挿入し、新しい生体金属触媒を開発した。本研究では、高難度の反応をつかさどる生体触媒の構築とともに、その反応の中間体の検出を行い、学術的には生物無機化学の分野の中で近年注目されている人工金属酵素の創成に大きく貢献した。また、人工金属補因子を結合するタンパク質マトリクスの構造を遺伝子工学的にチューニングすることにより、反応の加速だけでなく、選択性を制御することを実践し、物質変換を担う生体触媒への提案を行った。

研究成果の概要(英文)：Many metalloenzymes exist in nature and are responsible for various redox reactions and hydrolysis that support biosynthesis and metabolic degradation. The active centers are formed by unique metal cofactors which bind to the protein cavities, and the amino acid residues constituting the cavity act as a coordination sphere, controlling the activity and selectivity of the catalytic reactions. Learning from the structure of the metalloenzymes, our group has designed and created new biocatalysts consisting of artificial metal cofactors and protein reaction fields. These biocatalysts are found to promote several reactions, which may be highly difficult to convert substrates into products via C-H bond activation, C-C bond formation, or hydrogen generation.

研究分野：生物無機化学

キーワード：反応場 人工金属酵素 生体触媒 ヘム 補因子 高難度変換反応

1. 研究開始当初の背景

既存の有機合成では難易度の高い反応を非常に穏和な条件下で進行させる酵素については、今日の物質変換化学においても、学ぶべき点が数多くある。たとえば、酵素は不安定な活性種を水中で発生させながら、本来不活性な分子の変換を巧みにこなし、さらに基質特異性や生成物の立体制御なども示す。したがって、今までに得られた酵素の知見を化学の立場から改めて眺め、酵素のもつユニークな反応場に注目して、我々の手でタンパク質を化学的に改変することは、新しい生体触媒の創製につながり、高難度有機合成に貢献可能と考えられる。

特に、生体内には多くの金属酵素（金属錯体が活性中心となる生体触媒）が存在する。これらの金属酵素も、難易度の高い酸化反応や加水分解に関わり、生体内での生合成や代謝分解を支援している。活性中心の金属錯体は、タンパク質キャビティーに結合し、キャビティーを構成しているアミノ酸残基が配位圏として作用して、反応の活性や選択性を制御している。したがって、このタンパク質キャビティーを反応場としてとらえ、金属錯体とタンパク質反応場の相互作用を利用した生体触媒の設計と創製は、新しい人工金属酵素として、天然に見られない反応、通常のフラスコ内では容易に進行しない反応を支援する可能性を秘めている。

本研究代表者のグループでは、上記の課題を意識し、いち早く金属酵素の機能改変・向上を図るべく、ヘムタンパク質の化学的改変を施してきた。具体的に活性中心のヘムを非天然の合成補欠分子に置換し、さらにヘム周囲のアミノ酸を自在に変換することにより、ヘムタンパク質の反応性を制御し、より活性の高い生体触媒の創製に挑戦し、その成果を報告している（例えば *J. Am. Chem. Soc.* 2013）。海外でも、近年、欧米の幾つかのグループが、タンパク質の空孔にそれぞれの金属錯体を挿入し、様々な有機反応の触媒として用いる報告がなされており、新しい錯体化学とタンパク質工学の学際領域的分野として国内外で注目され始めている。したがって研究開始当初から、様々なタンパク質反応場を駆使した新しい触媒の創製例を示すことを目標とした。

2. 研究の目的

生体内での生合成や代謝反応の多くは、酵素が介在し、温和な条件下で速やかな反応が立体制御と基質選択性を伴いながら進行している。酵素が優れた触媒である主な要因は、長い年月の進化を経て最適化された活性中心とその周辺近傍の精密な分子構造が形成する反応場を有することにある。したがって、我々が新しい触媒を構築する際には、酵素の精巧な反応場を学び、活用することは極めて有意義である。即ち、タンパク質そのものを取り扱い、新たな触媒を構築することは、酵素を超えた反応場を構築するブレークスルーとなりうる。本研究課題では、タンパク質の空孔に非天然金属錯体を挿入した新しい反応場を構築し、天然の金属酵素の活性を凌駕する人工生体触媒の構築や、天然では見られない有機反応を触媒する新しい金属酵素の開発をめざした。また本研究課題では、これまでの研究の単なる延長ではなく、タンパク質のキャビティーを反応場として意識して、金属錯体が生み出す活性種とタンパク質の相互作用を十分に考慮したハイブリッド触媒の創成を目的とした。本研究の遂行に際し、特に、第二配位圏となるタンパク質の立体的、電子的効果を強く意識し、化学者の立場に立脚した生体触媒創製の開拓を実施することを目標として定めた。具体的には、タンパク質空孔内で M-C、M-H、M-N、M-O 結合等の活性種生成を介した水中での新反応の開拓や、生体内で通常見られないような反応を有機金属を含有するハイブリッド触媒を用いて実践することを心がけた。

3. 研究の方法

本課題研究の基本戦略は、ユニークな空孔を有するタンパク質に金属錯体を挿入した複合体を合成し、その触媒活性や反応の立体選択性を評価することにある。その中でも特にどのような空孔を有するタンパク質を選択するか、あるいはさらに一步踏み込んで、選択したタンパク質の空孔を遺伝子組み換え技術を駆使して、反応に有利な空孔に改変することも視野に入れた。具体的には、研究代表者がこれまでに扱ってきたヘムタンパク質に着目した。ヘムタンパク質の多くは、ヘム（鉄ポルフィリン錯体）が非共有結合で結合しているため、酸処理によってヘ

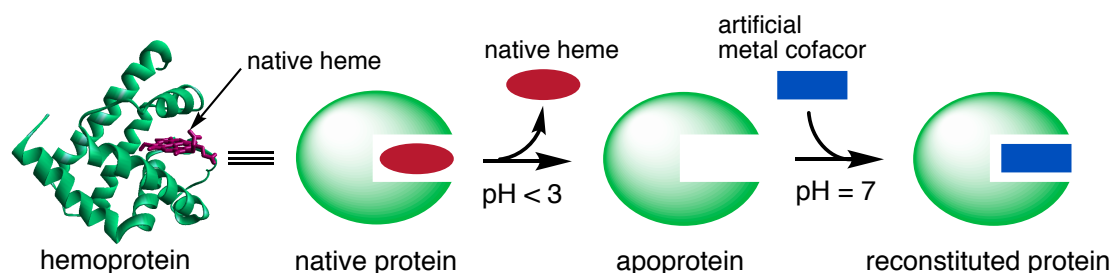


Figure 1. Representative scheme of the construction of new biohybrid catalysts using an apohemoprotein and artificial metal cofactor.

ムを除去し、アポ化することによって、ユニークな空孔を有するタンパク質を得ることが可能である。このアポ体に合成金属錯体を挿入することにより、新しい金属触媒を導いた。また、金属錯体に関しては、錯体の種類とタンパク質空孔に固定化するための形状（金属配位子の分子構造や、空孔と接続するリンカーの鎖長など）を吟味し、より適切な金属錯体の設計と合成を行った。その上で、両者を複合化（ハイブリッドタンパク質を調製）し、難易度の高い物質変換反応の生体触媒としての検証を実施した（Fig. 1）。

4. 研究成果

(1) シクロプロパン化反応

代表的なヘムタンパク質であるミオグロビンは、酸素貯蔵タンパク質として古くから良く知られている。一方、ミオグロビンは比較的安定で、大腸菌を用いた変異体の発現も容易であるが、触媒活性は殆ど示さない。我々のグループでは、ヘムを鉄ポルフィセン（ポルフィリンの構造異性体）と置換したミオグロビンを調製し、得られた再構成体をスチレンのシクロプロパン化反応の触媒として評価した（Fig. 2）。

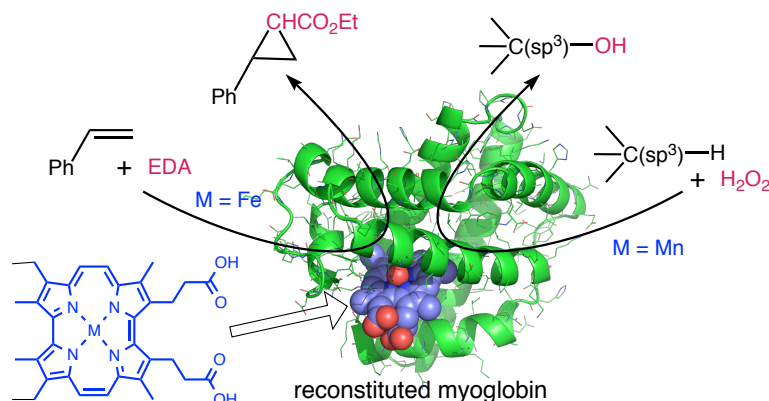


Figure 2. Hydroxylation and cyclopropanation catalyzed by myoglobin reconstituted with metalloporphycene.

ジアゾ酢酸エチル(EDA)を用いたシクロプロパン化反応において、再構成体は天然のミグロビンよりも、反応初期のTONにおいて34倍、また k_{cat} 値において28倍の加速が見られた。さらに、ストップドフロー解析により、中間体の鉄カルベノイド種の検出にも成功した。また、理論計算から、鉄ポルフィセンが中間体の鉄カルベノイド錯体の生成に有利であることも示された。

(2) C-H結合の活性化

ヘム酵素として最も有名なチトクロム P450の代表的な反応は不活性アルカンの水酸化である。ミオグロビンも同じヘムを有するが、アルカンの水酸化に対する活性は全く見られない。一方、我々のグループではマンガンポルフィセンを補因子とするミオグロビンを触媒として用いることによって、 $C(sp^3)-H$ 結合の活性化を伴うアルカンの直接的水酸化が進行することを見出した（Fig. 2）（Fig. 3）。たとえば、過酸化水素を用いて酸化反応を実施することにより、エチルベンゼンから1-フェニルエタノールが選択的に得られた。タンパク質を用いないマンガンポルフィセンの錯体そのものでは、この触媒活性を示さないことから、ヘムポケットが、過酸化水素によるマンガン錯体の活性化に深く関与していることが示唆された。また、ストップドフロー測定装置やEPR測定から、反応活性種は、 $Mn(V)$ オキソ種であることを明らかにした（Fig. 3）。一方、エチルベンゼンの水酸化に対して得られるアルコールの立体選択性は、用いるミオグロビンの変異体（ヘムポケットのアミノ酸の変異導入）によって大きく依存し、天然のタンパク質を反応場とした場合、生成物のアルコールは、15% ee (S)であったが、適した変異体では69% ee (S)のアルコールが得られた。この結果は、非天然の補欠分子によって困難な反応を加速すると共に、周囲のアミノ酸の配置（反応場）の吟味によってエナンチオ選択的な反応の進行を促すことが明らかとなった。現在、さらにヘキサンやプロパンを基質とする、より高難度の水酸化反応にも手がけている。

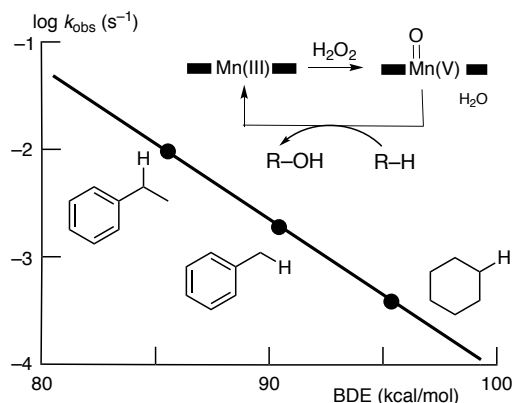


Figure 3. Relationship between BDE and rate constants of the alkane hydroxylation catalyzed by myoglobin reconstituted with Mn porphycene.

(3) 水素発生触媒

ヒドロゲナーゼは、主に嫌気性生物の中で、分子状水素の可逆的な酸化還元反応を触媒する酵素である。様々なタイプのヒドロゲナーゼが存在するが、その多くは非常に複雑で、かつ不安定なものが多い。一方、酵素反応および、酵素の活性中心の金属錯体はきわめて興味深く、これまで数多くのヒドロゲナーゼ構造・機能モデルが提案されている。その中でも、鉄二核中心を有する $[Fe_2Fe]$ ヒドロゲナーゼについては、様々な鉄カルボニル錯体がモデルとして提案されているが、そのほとんどは、実際に水素発生活性がごくわずかであったり、水に不安定で可

溶な有機溶媒中でのみの議論にすぎなかった。そこで、今回本研究代表者のグループでは、水中で働く触媒として、ニトロバインディン（一酸化窒素を結合するヘムタンパク質）が有するβバレル空孔に鉄二核錯体を導入した水素発生触媒モデルを合成した。具体的には、マレイミド基を側鎖に有する鉄二核カルボニル錯体(μ -S) $_2$ Fe $_2$ (CO) $_6$ を、ニトロバインディン Q96C 変異体と反応させ、鉄二核錯体がβバレル内のシステイン残基と結合し、安定なバイオハイブリッド触媒を得た。次に系中に[Ru(bpy) $_3$] $^{2+}$ 錯体を光触媒とし、犠牲試薬を共存させ、光照射を行うことにより、ニトロバインディン中の鉄二核錯体に電子が供給され、触媒的に水素ガスが発生することを確認した。さらに、第2配位圏（反応場）にプロトンの受け渡しを担う官能基やアミノ酸を配置することにより、水素発生が飛躍的に向上することを見出した。本系でも、反応場の役割が極めて重要であることが示された。

(4) 重合触媒

生体内では有機金属化学で頻繁に見られるような炭素—炭素結合形成や炭素—水素結合活性化反応は殆ど見られない。したがって、我々のグループでは、天然に存在する酵素では通常みられない反応を触媒する新型の人工生体分子触媒を設計し、水中・温和な条件下で新しい触媒反応を立体選択的に進行させることを試みている。ここではニトロバインディン Q96C 変異体に、マレイミド基を側鎖に有する

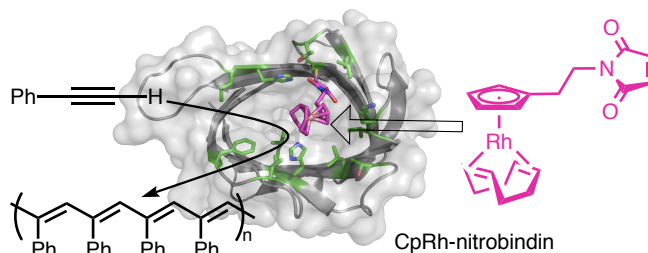


Figure 4. Phenylacetylene polymerization catalyzed by CpRh(I)-linked nitrobindin.

RhCp 錯体を導入したバイオハイブリッド触媒を調製した。βバレル構造を有する上述のニトロバインディン(NB)空孔内に合成したロジウム錯体を共有結合で固定化して、フェニルアセチレンの触媒的重合を実施した(Fig. 4)。その結果、本来は *cis* のポリマーが得られる反応において、生成物ポリマーの *trans/cis* 比を評価したところ、53 : 47 の比を得た。さらに錯体の周囲（反応場）のアミノ酸の配置を変換することにより、*trans* 体の比が7割近くまで向上した。本系でも、配位場の構造により生成物の立体選択性を制御することが明らかとなった。

(5) イソキノリン合成

Cp*Rh(III)錯体による炭素—水素結合活性化反応は、Concerted Metalation-Deprotonation (CMD) という反応機構を経由して進行する。このような反応機構で炭素—水素結合活性化反応を触媒する酵素は、未だ自然界に発見されておらず、Cp*Rh(III)錯体を活性中心に含むバイオハイブリッド触媒の構築は、生体触媒の反応レパートリーを拡張する有用なアプローチとなることが期待される。そこで我々は、Cp*Rh(III)錯体を、ニトロバインディンの疎水的空孔内部に導入したバイオハイブリッド触媒を調製した。さらに、本バイオハイブリッド触媒の炭素—水素結合活性化反応における触媒活性を向上させるべく、指向性進化法を駆使したタンパク質反応場の改変を実施した(Fig. 5)。指向性進化法とは、自然界の進化モデルを模倣したタンパク質改変手法である。本手法を駆使し、ニトロバインディンの疎水的空孔内に位置する Cp*Rh(III)錯体近傍の23か所のアミノ酸残基を網羅的に改変することで、炭素—水素結合活性化を経由するイソキノリン合成反応において、触媒活性を4.9倍に向上させることに成功した。

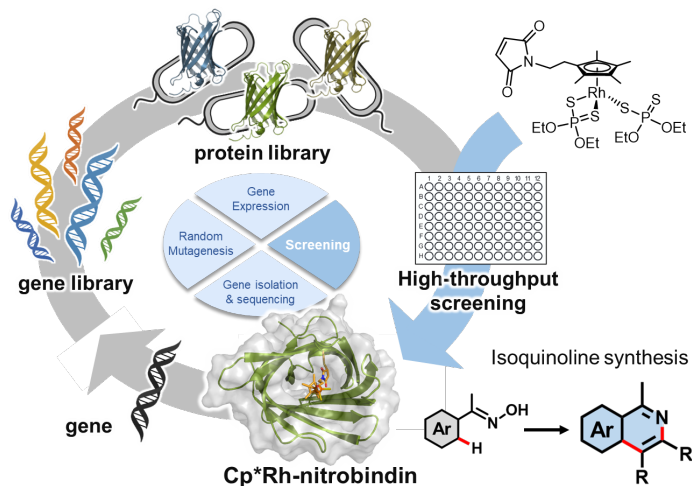


Figure 5. Directed evolution of Cp*Rh(III)-linked nitrobindin for isoquinoline synthesis.

以上、ミオグロビンやニトロバインディンは、本来は酵素活性を示さないヘムタンパク質であるが、補因子ヘムを除去したアポ体に対して、適した非天然金属錯体を導入することにより、人工金属酵素として働くことを示した。さらに金属錯体の周囲のタンパク質の構造を遺伝子操作によってチューニングすることにより、活性の向上や生成物の立体選択性の制御が自在に可能であることが明らかとなり、本バイオハイブリッド触媒の有用性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計35件（うち査読付論文 35件 / うち国際共著 9件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kato Shunsuke, Onoda Akira, Taniguchi Naomasa, Schwaneberg Ulrich, Hayashi Takashi	4. 巻 22
2. 論文標題 Directed Evolution of a Cp*Rh(III) Linked Biohybrid Catalyst Based on a Screening Platform with Affinity Purification	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 679 ~ 685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.202000681	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kato Shunsuke, Onoda Akira, Grimm Alexander R., Schwaneberg Ulrich, Hayashi Takashi	4. 巻 216
2. 論文標題 Construction of a whole-cell biohybrid catalyst using a Cp*Rh(III)-dithiophosphate complex as a precursor of a metal cofactor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Inorganic Biochemistry	6. 最初と最後の頁 111352 ~ 111352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jinorgbio.2020.111352	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 50
2. 論文標題 Myoglobins engineered with artificial cofactors serve as artificial metalloenzymes and models of natural enzymes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dalton Transactions	6. 最初と最後の頁 1940 ~ 1949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0DT03597A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oohora Koji, Hirayama Shota, Uchihashi Takayuki, Hayashi Takashi	4. 巻 49
2. 論文標題 Construction of a Hexameric Hemoprotein Sheet and Direct Observation of Dynamic Processes of Its Formation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 186 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.190855	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirayama Shota, Oohora Koji, Uchihashi Takayuki, Hayashi Takashi	4. 巻 142
2. 論文標題 Thermoresponsive Micellar Assembly Constructed from a Hexameric Hemoprotein Modified with Poly(N-isopropylacrylamide) toward an Artificial Light-Harvesting System	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 1822 ~ 1831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.9b10080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Yuta, Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 59
2. 論文標題 Methane Generation and Reductive Debromination of Benzylic Position by Reconstituted Myoglobin Containing Nickel Tetrahydrocorrins as a Model of Methyl-coenzyme M Reductase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 11995 ~ 12004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.0c00901	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Shunsuke, Onoda Akira, Grimm Alexander R., Tachikawa Kengo, Schwaneberg Ulrich, Hayashi Takashi	4. 巻 59
2. 論文標題 Incorporation of a Cp [*] Rh(III)-dithiophosphate Cofactor with Latent Activity into a Protein Scaffold Generates a Biohybrid Catalyst Promoting C(sp ²) ₂ H Bond Functionalization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 14457 ~ 14463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.0c02245	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oohora Koji, Onoda Akira, Hayashi Takashi	4. 巻 52
2. 論文標題 Hemoproteins Reconstituted with Artificial Metal Complexes as Biohybrid Catalysts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Accounts of Chemical Research	6. 最初と最後の頁 945 ~ 954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.accounts.8b00676	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oohora Koji, Kajihara Ryota, Jiromaru Misa, Kitagishi Hiroaki, Hayashi Takashi	4. 巻 48
2. 論文標題 Arginine Residues Provide a Multivalent Effect for Cellular Uptake of a Hemoprotein Assembly	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 295 ~ 298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.180897	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oohora Koji, Miyazaki Yuta, Hayashi Takashi	4. 巻 58
2. 論文標題 Myoglobin Reconstituted with Ni Tetrahydrocorrin as a Methane Generating Model of Methyl coenzyme M Reductase	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 13813 ~ 13817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201907584	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Yuta, Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 901
2. 論文標題 Methane generation via intraprotein C?S bond cleavage in cytochrome b562 reconstituted with nickel didehydrocorrin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Organometallic Chemistry	6. 最初と最後の頁 120945 ~ 120945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jorganchem.2019.120945	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oohora Koji, Fujimaki Nishiki, Kajihara Ryota, Watanabe Hiroki, Uchihashi Takayuki, Hayashi Takashi	4. 巻 140
2. 論文標題 Supramolecular Hemoprotein Assembly with a Periodic Structure Showing Heme-Heme Exciton Coupling	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 10145 ~ 10148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.8b06690	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Ayumu, Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 57
2. 論文標題 Synthesis and Characterization of meso-Substituted Cobalt Tetradehydrocorrins and Evaluation of Its Electrocatalytic Behavior Toward CO ₂ Reduction and H ₂ Evolution	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 14644 ~ 14652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.8b02333	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mashima Tsuyoshi, Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 20
2. 論文標題 Successive energy transfer within multiple photosensitizers assembled in a hexameric hemoprotein scaffold	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 3200 ~ 3209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7CP05257J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onoda Akira, Tanaka Yuta, Matsumoto Koki, Ito Minoru, Sakata Takao, Yasuda Hidehiro, Hayashi Takashi	4. 巻 8
2. 論文標題 Bimetallic M/N/C catalysts prepared from γ -expanded metal salen precursors toward an efficient oxygen reduction reaction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 2892 ~ 2899
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7ra12657c	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Ayumu, Oohora Koji, Gu Wenting, Hayashi Takashi	4. 巻 55
2. 論文標題 Electrochemical CO ₂ reduction by a cobalt bipyridine complex: decrease of an overpotential value derived from monoanionic ligand character of the porphyrinoid species	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 493 ~ 496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8CC08876D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kajihara Ryota, Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 193
2. 論文標題 Photoinduced electron transfer within supramolecular hemoprotein co-assemblies and heterodimers containing Fe and Zn porphyrins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Inorganic Biochemistry	6. 最初と最後の頁 42 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jinorgbio.2019.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sauer Daniel F, Schiffels Johannes, Hayashi Takashi, Schwaneberg Ulrich, Okuda Jun	4. 巻 14
2. 論文標題 Olefin metathesis catalysts embedded in α -barrel proteins: creating artificial metalloproteins for olefin metathesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Beilstein Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 2861 ~ 2871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3762/bjoc.14.265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Oohora Koji, Meichin Hiroyuki, Kihira Yushi, Sugimoto Hiroshi, Shiro Yoshitsugu, Hayashi Takashi	4. 巻 139
2. 論文標題 Manganese(V) Porphycene Complex Responsible for Inert C-H Bond Hydroxylation in a Myoglobin Matrix	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 18460 ~ 18463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.7b11288	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oohora Koji, Meichin Hiroyuki, Zhao Liming, Wolf Matthew W., Nakayama Akira, Hasegawa Jun-ya, Lehnert Nicolai, Hayashi Takashi	4. 巻 139
2. 論文標題 Catalytic Cyclopropanation by Myoglobin Reconstituted with Iron Porphycene: Acceleration of Catalysis due to Rapid Formation of the Carbene Species	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 17265 ~ 17268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.7b10154	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Harada Hirofumi, Onoda Akira, Uchihashi Takayuki, Watanabe Hiroki, Sunagawa Naoki, Samejima Masahiro, Igarashi Kiyohiko, Hayashi Takashi	4. 巻 8
2. 論文標題 Interdomain flip-flop motion visualized in flavocytochrome cellobiose dehydrogenase using high-speed atomic force microscopy during catalysis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 6561 ~ 6565
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7SC01672G	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taba Fargol, Onoda Akira, Hasegawa Urara, Enoki Toshiaki, Ooyama Yousuke, Ohshita Joji, Hayashi Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Mitochondria-Targeting Polyamine-Protoporphyrin Conjugates for Photodynamic Therapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ChemMedChem	6. 最初と最後の頁 15 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cmdc.201700467	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Meichin Hiroyuki, Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 472
2. 論文標題 Preparation and characterization of myoglobin reconstituted with Fe(II) oxaporphyrin: The monoanionic macrocycle provides unique cyanide binding behavior for the ferrous species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Inorganica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 184 ~ 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ica.2017.06.054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Grimm Alexander R., Sauer Daniel F., Polen Tino, Zhu Leilei, Hayashi Takashi, Okuda Jun, Schwaneberg Ulrich	4. 巻 8
2. 論文標題 A Whole Cell E. coli Display Platform for Artificial Metalloenzymes: Poly(phenylacetylene) Production with a Rhodium-Nitrobindin Metalloprotein	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Catalysis	6. 最初と最後の頁 2611 ~ 2614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.7b04369	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Grimm Alexander R., Sauer Daniel F., Davari Mehdi D., Zhu Leilei, Bocola Marco, Kato Shunsuke, Onoda Akira, Hayashi Takashi, Okuda Jun, Schwaneberg Ulrich	4. 巻 8
2. 論文標題 Cavity Size Engineering of a α -Barrel Protein Generates Efficient Biohybrid Catalysts for Olefin Metathesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Catalysis	6. 最初と最後の頁 3358 ~ 3364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.7b03652	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Himiyama Tomoki, Taniguchi Naomasa, Kato Shunsuke, Onoda Akira, Hayashi Takashi	4. 巻 56
2. 論文標題 A Pyrene-Linked Cavity within a α -Barrel Protein Promotes an Asymmetric Diels-Alder Reaction	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 13618 ~ 13622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201704524	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita Yoshitsugu, Oohora Koji, Mizohata Eiichi, Sawada Akiyoshi, Kamachi Takashi, Yoshizawa Kazunari, Inoue Tsuyoshi, Hayashi Takashi	4. 巻 55
2. 論文標題 Crystal Structures and Coordination Behavior of Aqua- and Cyano-Co(III) Tetrahydrocorrins in the Heme Pocket of Myoglobin	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1287 ~ 1295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.5b02598	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osseili Hassan, Sauer Daniel F, Beckerle Klaus, Arlt Marcus, Himiyama Tomoki, Polen Tino, Onoda Akira, Schwaneberg Ulrich, Hayashi Takashi, Okuda Jun	4. 巻 12
2. 論文標題 Artificial Diels-Alderase based on the transmembrane protein FhuA	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Beilstein Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 1314 ~ 1321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3762/bjoc.12.124	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Boitreil Bernard, Hijazi Ismail, Roisnel Thierry, Oohora Koji, Hayashi Takashi	4. 巻 56
2. 論文標題 Iron-Strapped Porphyrins with Carboxylic Acid Groups Hanging over the Coordination Site: Synthesis, X-ray Characterization, and Dioxygen Binding	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 7373 ~ 7383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.7b00343	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyazaki Yuta, Kahlfuss Christophe, Ogawa Ayumu, Matsumoto Takashi, Wytko Jennifer A., Oohora Koji, Hayashi Takashi, Weiss Jean	4. 巻 23
2. 論文標題 CuAAC in a Distal Pocket: Metal Active-Template Synthesis of Strapped-Porphyrin [2]Rotaxanes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chemistry - A European Journal	6. 最初と最後の頁 13579 ~ 13582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.201702553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Daniel F. Sauer, Tomoki Himiyama, Kengo Tachikawa, Kazuki Fukumoto, Akira Onoda, Eiichi Mizohata, Tsuyoshi Inoue, Marco Bocola, Ulrich Schwaneberg, Takashi Hayashi, Jun Okuda	4. 巻 5
2. 論文標題 A Highly Active Biohybrid Catalyst for Olefin Metathesis in Water: Impact of a Hydrophobic Cavity in a α -Barrel Protein	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 ACS Catal.	6. 最初と最後の頁 7519-7522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.5b01792	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Koji Oohora, Tsuyoshi Mashima, Kei Ohkubo, Shunichi Fukuzumi, Takashi Hayashi	4. 巻 51
2. 論文標題 Energy Migration within Hexameric Hemoprotein Reconstituted with Zn Porphyrinoid Molecules	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Chem. Commun.	6. 最初と最後の頁 11138-11140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C5CC02680F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomoki Himiyama, Daniel F. Sauer, Akira Onoda*, Thomas P. Spaniol, Jun Okuda, Takashi Hayashi	4. 巻 158
2. 論文標題 Construction of a hybrid biocatalyst containing a covalently-linked terpyridine metal complex within a cavity of aponitrobindin	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Inorg. Biochem.	6. 最初と最後の頁 55-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jinorgbio.2015.12.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshitsugu Morita, Koji Oohora, Akiyoshi Sawada, Kazuki Doitomi, Jun Ohbayashi, Takashi Kamachi, Kazunari Yoshizawa, Yoshio Hisaeda, Takashi Hayashi	4. 巻 45
2. 論文標題 Intraprotein Transmethylation via a CH ₃ -Co(III) Species in Myoglobin Reconstituted with a Cobalt Corrinoid Complex	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Dalton Trans.	6. 最初と最後の頁 3277-3284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C5DT04109K	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshitsugu Morita, Koji Oohora, Eiichi Mizohata, Akiyoshi Sawada, Takashi Kamachi, Kazunari Yoshizawa, Tsuyoshi Inoue, Takashi Hayashi	4. 巻 55
2. 論文標題 Crystal Structures and Coordination Behavior of Aqua- and Cyano-Co(III) Tetrahydrocorrins in the Heme Pocket of Myoglobin	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Inorg. Chem.	6. 最初と最後の頁 1287-1295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.inorgchem.5b02598	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計26件 (うち招待講演 26件 / うち国際学会 26件)

1. 発表者名 Takashi Hayashi, Yuta Miyazaki, and Koji Oohora
2. 発表標題 A Functional Model of Methyl-coenzyme M Reductase Using Myoglobin Reconstituted with a Nickel Porphyrinoid Complex
3. 学会等名 2019 Korea-Taiwan-Japan Biological Inorganic Chemistry Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Hayashi and Koji Oohora
2. 発表標題 Inert Alkane Hydroxylation Catalyzed by Myoglobin Reconstituted with Manganese Porphycene as an Artificial Metallocofactor
3. 学会等名 7th Asian Conference on Coordination Chemistry (ACCC7) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Hayashi, Tsuyoshi Mashima, Ryota Kajihara, Shota Hirayama, Koji Oohora
2. 発表標題 Supramolecular Hemoprotein Assemblies
3. 学会等名 19th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC19) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Hayashi, Akira Onoda, Koji Oohora
2. 発表標題 Hemoprotein Modification Toward Artificial Biocatalyst Generation
3. 学会等名 Artzymes2.0 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Hayashi and Koji Oohora
2. 発表標題 Alkane Hydroxylation Catalyzed by Myoglobin Reconstituted with Metalloporphyrinoid
3. 学会等名 7th Georgian Bay International Conference on Bioinorganic Chemistry (CanBIC-7) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Hayashi, Tomoki Himiyama and Akira Onoda
2. 発表標題 An Artificially Created Biohybrid Catalyst Promoting Diels-Alder Reaction in the Presence of Cu(II) Ion
3. 学会等名 Copper Bioinorganic Chemistry Symposium 2018 (CuBICS 2018) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Hayashi and Koji Oohora
2. 発表標題 Hemoproteins Reconstituted with Iron and Manganese Porphycene Complexes
3. 学会等名 10th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP10) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Bioorganometallic Reactions in Protein Matrices Obtained from Hemoproteins
3. 学会等名 43rd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC43) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Biohybrid Catalyst: A Model of [FeFe]-Hydrogenase Using a Diiron Cluster Linked in a β -Barrel Protein
3. 学会等名 14th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EuroBIC14) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Supramolecular Hemoprotein Assemblies
3. 学会等名 BIONANO2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Myoglobin Reconstituted with a Corrinoid Metal Complex
3. 学会等名 9th Asian Symposium on Biological Inorganic Chemistry (AsBIC9) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Myoglobin Reconstituted with Cobalt or Nickel Tetrahydrocorrin as a Cofactor for an Enzyme Model
3. 学会等名 The 6th Georgian Bay International Conference on Bioinorganic Chemistry (CanBIC6) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Modification of Metalloproteins to Generate New Biocatalysts
3. 学会等名 14th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC14) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Hemoproteins Reconstituted with Organometallic Complexes as an Artificial Cofactor
3. 学会等名 18th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC18) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Artificial Metalloenzyme: A Hybrid between an Active Metal Complex and a Protein Having a Unique Cavity
3. 学会等名 2nd International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2017) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Hydroxylation of Inert Alkane Species via C-H Bond Activation Catalyzed by Myoglobin Reconstituted with Manganese Porphycene as an Artificial Cofactor
3. 学会等名 Aachen-Osaka Joint Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Hybrid Model of Cobalamin-Binding Domain in Methionine Synthase: Myoglobin Reconstituted with a Tetrahydrocorrins Cobalt Complex
3. 学会等名 9th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP9) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Myoglobin Reconstituted with Cobalt Corrin Derivatives: A Functional Model of Methionine Synthase
3. 学会等名 42nd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC42) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Heme Enzyme Models by Myoglobin with Artificial Metalloporphyrinoids
3. 学会等名 13th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EuroBIC 13) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Functionalization of Myoglobin by Artificial Metalloporphyrinoids
3. 学会等名 68th Southeastern Regional Meeting of the American Chemical Society (SERMACS 2016) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Biohybrid Catalysts with Organometallic Complexes
3. 学会等名 8th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC8) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takashi Hayashi
2. 発表標題 Myoglobin Reconstituted with Artificial Metalloporphyrinoids as an Enzyme Model
3. 学会等名 5th Symposium on Advanced Biological Inorganic Chemistry (SABIC2017) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hayashi, T.; Morita, Y.; Oohora, K.
2. 発表標題 Myoglobin Reconstituted with Cobalt Tetradehydrocorrins as a Methionine Synthase Model
3. 学会等名 IUPAC2015 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Hayashi, T.; Onoda, A.; Oohora, K.
2. 発表標題 Biohybrid Catalysts Constructed in a Protein Matrix with an Artificial Metal Complex
3. 学会等名 250th American Chemical Society National Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Hayashi, T.; Mashima, T.; Oohora, K.
2. 発表標題 Artificial Light Harvesting Model by a Hexameric Hemoprotein Reconstituted with Zinc Porphyrinoid
3. 学会等名 Pacifichem2015 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Hayashi, T.; Oohora, K.
2. 発表標題 Supramolecular Self-Assembly of Hemoproteins via Heme-Heme Pocket Interaction
3. 学会等名 17th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	大洞 光司 (Oohora Koji)	大阪大学・工学研究科・准教授 (14401)	
研究協力者	小野田 晃 (Onoda Akira)	北海道大学・環境科学院・教授 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
Germany	RWTH Aachen University			
USA	University of Michigan			
France	University of Rennes 1	University of Strasbourg		