

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：11301  
 研究種目：基盤研究(A)  
 研究期間：2012～2014  
 課題番号：24245044  
 研究課題名(和文) テーラーメイド生体高分子をキラル反応場とする環境調和型超分子不斉光反応系の創製  
  
 研究課題名(英文) Supramolecular Enantiodifferentiating Photocyclodimerization of 2-Anthracenecarboxylate with Proteins and Protein-Polymer Hybrids as Chiral Reaction Medias  
  
 研究代表者  
 和田 健彦 (WADA, Takehiko)  
  
 東北大学・多元物質科学研究所・教授  
  
 研究者番号：20220957  
  
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,400,000円

研究成果の概要(和文)：環境負荷の少ない光を反応の駆動力とし、環境調和型新規不斉合成法として注目されている光不斉合成法の弱点である低いエナンチオ区別性を克服する方法論として、励起状態相互作用に加え、基底状態相互作用を活用する超分子不斉光反応系、特に生分解性のタンパク質を反応場として活用する生体高分子をキラル反応場とする超分子不斉光反応系という新規合成方法論を提案し、その有用性を実証した。特に適切な親疎水バランスを有するPEGを融合したPEG修飾血清アルブミンを合成・キラル反応場として用い、反応サイト/生成物制御に成功した。今後適用反応例の拡大、基質特異性の向上になど一般性の高い不斉合成の方法論としての展開が期待される

研究成果の概要(英文)：Increasing attention has recently been directed toward the new methodology of asymmetric photochemistry using various supramolecules as chiral reaction medias. In this project, we have discussed about the novel strategy and recent results of supramolecular asymmetric photochirogenesis (SMAP) with tailor-made biopolymers as chiral reaction medias. We have reported the enantiodifferentiating photocyclodimerization of 2-anthracenecarboxylate (AC) mediated by bovine and human serum albumin (BSA & HSA) as a chiral reaction media to give the [4+4]-cyclodimers with high enantioselectivities of up to 90 % ee. In this project, effects of polyethylene glycol (PEG) modification of BSA and HSA upon in the ground state and in the excited state interaction with AC were discussed. Additionally supramolecular photochirogenesis of AC dimerization with PEG modified BSA and HSA as chiral reaction medias were also discussed.

研究分野：機能高分子化学・有機光化学・生物有機化学

キーワード：生体高分子 血清アルブミン キラル反応場 不斉合成 光反応 超分子 超分子不斉光反応 PEG

## 1. 研究開始当初の背景

現在、医学や薬学はもちろん化学・生化学・農学そして化成品工業など多くの分野で光学活性物質の必要性が高まっており、不斉合成は現在最も注目されている分野の一つである。これまで熱的反応を用いた研究が精力的に行われてきており、現在では 100%に近いエナンチオマー過剰率 (ee) や高収率を達成している系も存在し、一部の系は工業的実用化もなされている。しかし、有機不斉触媒を利用した系の開発が行われてはいるものの、熱的合成法の多くは不斉修飾金属触媒や有機溶媒を使用するため環境負荷が大きいという改善すべき点も有しており、また合成困難な化合物も存在する。

一方、光不斉反応はクリーンな光を駆動力とするため環境調和型の反応であると言える。この反応は電子的励起状態を経由して進行するため、天然に存在する生理活性物質に多く見られる、熱的合成では合成困難もしくは多段階ステップを要する多環芳香族高歪化合物などを一段階で合成可能であり、標的化合物の選択励起が可能である、反応温度の制約を受けずに低温反応が可能であるなどの利点も有しており、熱反応の代替的・相補的な合成法として注目されている。しかし光反応の鍵中間体である励起状態はその寿命が短く、また相互作用も弱いことから高いエナンチオ選択性を達成することは一般に困難である。

一方、生体内ではほぼ 100%の ee が達成されていることから生体高分子が持つ場のキラリティを用いた熱的不斉合成も検討されている。しかしタンパク質などの生体高分子は熱安定性に乏しく、熱による活性化が必要で生体高分子が安定な低温条件下では反応進行の低下が誘起される熱反応に生体高分子を用いるには限界がある。一方、光反応では光励起により反応分子に高いエネルギーが注入され低温条件下でも反応が進行するため、生体高分子が持つ場のキラリティを保持する低温環境下でも不斉合成の進行が可能であり、生体高分子を不斉反応場として活用するには最適の系と考えられる。我々は光反応の反応基質もつ励起状態の寿命が短く、励起状態相互作用が弱いという欠点をタンパク質などの生体高分子が持つ基底状態での場のキラリティで補うことで、電子的励起状態に加え、基底状態相互作用を利用した光反応である超分子不斉光反応について一連の研究を展開している。これまで生体高分子を用いた不斉合成にはシクロデキストリン、DNA、タンパク質などが報告してきた。他にも超分子を不斉反応場とした不斉合成としてキラル修飾ゼオライト、キラルテンプレート、キラル格子などを報告した。

特に最近、我々は血漿中に最も多く存在するタンパク質である血清アルブミン (SA) を不斉反応場とした一連の研究を展開してきた。血清アルブミンは芳香族カルボン酸や脂肪酸などの疎水的な化合物を包接し血中を輸送するタンパク質である。光反応基質としては古くから光環化二量化反応が知られているアントラセン誘導体である 2-アントラセンカルボン酸 (AC) を用いた。この化合物の二量体は 320 nm 以上の光を照射することにより一段階、高収率で得られ、4 種類の異性体が生成し、うち 2 種類はキラル化合物である (式 1)。

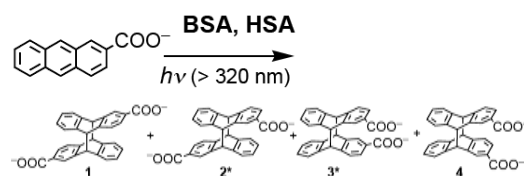


図 2-アントラセンカルボン酸のエナンチオ区別環化二量化反応

実際にウシやヒト、イヌ血清アルブミン (BSA, HSA, CSA) を不斉反応場として光環化二量化反応を行ったところ SA が不斉反応場として利用可能であることが明らかとなっている。具体的には、CSA 存在下では 97% ee で得られた生成物 2 は、ブタ血清アルブミンを不斉反応場として用いた系ではアンチポード体が -89% ee でほぼ定量的に得られている。この結果は不斉反応場となる SA を代えることにより、エナンチオ選択性の制御に成功し SA 類が有効な不斉反応場として機能することを示唆している。

## 2. 研究の目的

超分子不斉光反応系の方法論の一般化、適応基質の拡大、生成物選択性の向上を検討してきた。具体的には人工抗体を用いた系で、抗体が標的化合物と選択的に結合することを利用し、特定の生成物と結合する人工抗体を不斉反応場とする新規超分子不斉光反応について検討してきた。この系ではファージディスプレイ法を用いたキラル化合物である二量体 1 をハブテンとして得られた人工抗体を不斉反応場として用いることで、生成物 2 が 62% ee で得られている。AC の光環化二量化反応における高い選択性が示唆されたことから、人工抗体を用いた新規不斉光反応場構築の初期的知見を与えたものと考えている。しかし、人工抗体は高い会合性を示し、比較的高濃度で人工抗体を使用するためには会合の抑制や溶解度の向上が必要であった。また血清アルブミンなど天然タンパク質においても分子間会合の抑制と適用基質の拡大が切望されている。

本研究では、これらの問題解決のため親疎水のバランスに優れたポリエチレングリコール (PEG) によるタンパク質表面への修飾を検討した。PEG が持つ親水性や安定性をタンパク質に付与することで新規反応場構築を目指した。

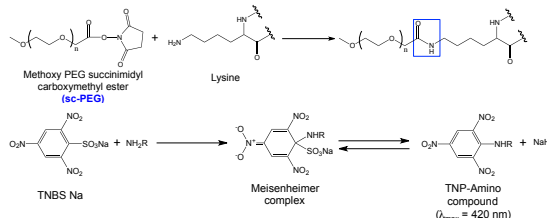
## 3. 研究の方法

本研究では PEG 修飾タンパク質のスcaffoldingとして HSA を選択した。HSA を選択した理由は、これまで我々のグループでその基底状態相互作用や励起状態挙動、AC との光環化二量化反応について詳細な検討をしてきており、PEG 修飾が HSA に与える影響についても過去の報告と比較することで、詳細な検討が可能となることが期待されるためである。本研究では HSA の一級アミノ基に対して PEG 修飾を施した。具体的に修飾されるのはリジン残基であり、HSA 中には 59 残基存在する。

## 4. 研究成果

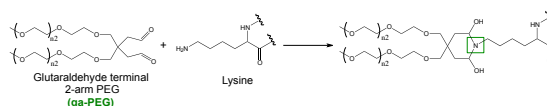
PEG 化試薬にはリジン残基と共有結合を形成する 2 種類の PEG 化試薬を用いた。PEG 化試薬の 1 つは末端をスクシンイミジル基で活性化した一本鎖型 PEG 化試薬 (sc-PEG) で、これは一級アミノ基とアミド結合を形成する。

もう1つのPEG化試薬は筑波大学の長崎・池田グループによって開発された末端をグルタルアルデヒドで活性化した二本鎖型PEG化試薬(ga-PEG)である。通常グルタルアルデヒドはタンパク質の架橋剤として用いられているが、ga-PEGではPEGの巨大な動的半径によって1つのリジン残基としか反応せず、環状三級アミンを形成する。



#### \* TNBS Na 法による PEG 修飾率の検討

PEG 修飾率の導出は、現在一般的に用いられているアミノ基定量方法の一つである TNBS Na 法により検討した。TNBS Na 法は、塩基性条件下で 2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸ナトリウム (TNBS Na) を一級アミノ基と反応後、生成物である TNP-Amino compound の吸光度からアミノ基濃度を決定する方法である。



初めに各濃度の HSA を TNBS Na と反応させ 420 nm の吸光度に対してプロットし検量線を作成した。続いて合成した PEGHSA を TNBS Na と反応させ得られた吸光度と作成した検量線から PEG 修飾率を求めた。

その結果、ga-PEG を HSA 中のリジン残基に対して 1 当量反応させた ga-PEG1HSA において、理論的の化学量論比以上である 3.2 当量の PEG により HSA1 分子が修飾されているという結果が得られた。このことから今回作成した HSA 中リジン残基の検量線の信頼性が低いと考え、新たな検量線の作成を検討した。

理論値よりも PEG 修飾数が高く推定された原因としては、従来の方法では TNBS Na が HSA 中にある 59 個のリジン残基全てと反応していない可能性が考えられた。この仮説を踏まえ、リジン単体と TNBS Na を反応させ検量線を作成し、HSA から得られた検量線と比較した。

リジン単体と TNBS Na の検量線作成を検討した。最も単純なアミノ酸はグリシンであるが、ここでは HSA 中のリジン残基類縁体である Ac-Lys-NH<sub>2</sub> を用い、TNBS Na との検量線を作成し、HSA の検量線と比較検討した。

その結果 Ac-Lys-NH<sub>2</sub> の反応率を 100% としたとき HSA 中では 32% (59 個中 19 個) のリジン残基しか反応していないことが明らかとなった。PEG 化試薬は疎水的な環境に存在するリジン残基とも反応することが報告されているが、TNBS Na は親水性が高く立体障害が大きいいためタンパク質表面のリジン残基としか反応しないことが指摘されている。

PEG 化試薬と TNBS Na の反応性の違いを克服するため、HSA の高次構造を変性させ HSA 内部のリジン残基とも TNBS Na を反応させることを検討した。未反応のリジン残基を TNBS Na と反応させるため HSA を変性剤によって処理後、

TNBS Na によるアミノ基の検出を検討した。具体的には HSA を 6 M GdmCl 存在下で 95 °C、5 分加熱し、その後、従来の TNBS Na 法と同様の方法で測定し検量線を作成した。

その結果 Ac-Lys-NH<sub>2</sub> の反応率を 100% としたとき HSA 中 57% (34 個) のリジン残基が反応していることが明らかとなった。一般に十分な変性条件である 95 °C で 5 分間の加熱を行ったにもかかわらず、反応しているのは 57% のリジン残基であった。この条件では HSA が完全には変性していないと考えられたため、加熱時間を 30 分に延長し再度検量線を作成した。本条件下では、Ac-Lys-NH<sub>2</sub> の反応率を 100% としたとき HSA 中 70% (41 個) のリジン残基が反応していることが明らかとなった。加熱時間をさらに延長し 1 時間反応を行ったが、30 分加熱した結果と比べ有意な差はなかった。そのため 6 M GdmCl 存在下では 95 °C で 30 分加熱することにより、HSA は本条件下で十分に変性していると推測できる。それにもかかわらず HSA 中 30% (18 個) のリジン残基は TNBS Na に対して未反応であった。

しかし、GdmCl による十分な変性を用いても TNBS Na と反応しないリジン残基は、PEG 化試薬に対する反応性も低いと考えられるため、6 M GdmCl 存在下 95 °C で 30 分加熱した HSA を用いて求めた検量線をもとに PEG 修飾数の検討を行った。その結果、未変性時の PEG 修飾率と比べ、理論的当量比とより良い一致が観測され、より信頼性の高い値が求められたものと判断し、本研究では本条件下で得られた値を用いることとした。

#### \* PEG 修飾による HSA の水溶性の検証

人工抗体のみならず SA も会合性が高いことが知られており、PEG 化によって会合性が抑制されることが報告されている。従って PEG 修飾による水溶性の変化を凍結乾燥した HSA、sc-PEG を 1 当量修飾した HSA (sc-PEG1HSA)、ga-PEG を 1 当量修飾した HSA (ga-PEG1HSA) を用いてそれぞれ比較検討した。

凍結乾燥した HSA では水を添加すると泡立ちが見られたが、PEG 修飾 HSA では泡立つことなく速やかに水に溶解した。この結果から PEG 修飾により HSA の水溶性の向上が示唆された。さらに、アミド結合により 1 本鎖 PEG を導入した sc-PEG よりも三級アミノ基による 2 本鎖の PEG を導入した ga-PEG の方が高い水溶性を示した。



#### \* PEG 化 HSA と AC の基底状態相互作用

sc-PEG 修飾は HSA の静電相互作用を変化させ AC 結合サイトのひとつである第四サイトの AC 結合挙動を変化させることが示唆された。一方、ga-PEG 修飾では HSA の静電相互作用には影響を与えず HSA と同様の AC 結合挙動を示すが、ga-PEG 修飾による阻害により結合できる AC が 8 当量に減少している可能性が示唆された。PEG そのものによる物理的な阻害が示唆されるものの、ga-PEG 修飾は 390 nm における CD 強度変化が未修飾の HSA と同様の AC との結合挙動を示したため、sc-PEG よりも有効な

HSA の PEG 修飾法であることが提案できた。

#### \* HSA、PEGHSAを不斉反応場としたACの超分子光環化二量化反応

PEGHSA を不斉反応場とした AC の光二量化反応を検討した。

AC は 320 nm 以上の光照射により 4 種類の二量体を与え、そのうちの 2 種類 (2, 3) はキラル化合物である。でも示したように、HSA は AC との結合サイトを 4 つ有することがこれまでの研究から明らかとなっている。具体的には AC が 1 当量結合する第一サイト、さらに 1 当量が結合する第二サイト、3 当量が結合する第三サイト、5 当量が結合する第四サイトである。これらのうち第一、第二サイトは AC が 1 当量しか存在しないため光環化二量化反応は起こらない。そのため、HSA を不斉反応場として AC の光環化二量化反応を行う場合、反応が進行するのは AC 3 当量以上を添加した場合である。3 当量添加時において、第一・第二サイトに AC が 1 当量ずつ存在し、第三サイトには AC が共同的に 3 分子結合し、光反応によってそのうち 2 分子が反応する。すなわち AC が 3 当量存在した場合に反応可能な AC は最大 22% である。

AC と HSA の比率が 3 : 1、反応温度 5 °C のときに最大の ee を示すことを既に報告している。今回、PEGHSA の不斉反応場としての機能を評価するため、同条件で反応させ変換効率や生成物比および ee を、キラルカラムを装着した HPLC を用いて分析し比較した。

基質転化率に注目すると、両 PEGHSA は 22% を与え未修飾 HSA の 13% よりも良好な結果が得られた。これは、PEG 修飾により、HSA がもつ AC 結合サイトのうち反応サイトである第三サイトに影響を及ぼしたためであると思われる。

生成物比に注目すると未修飾の HSA ではアキラルな 1 とキラルな 2 の生成物比がおおよそ 1 : 1 であったのに対し、PEG 修飾 HSA ではアキラルな 1 がキラルな 2 の 2 倍程度生成している。高効率な不斉反応場として機能させるためには、アキラルな生成物比はできる限り少ないことが理想である。今回合成した PEGHSA においてアキラルな生成物比が増加している原因については、反応サイトである第 3 サイトに PEG 修飾による何らかの影響があったものと考えられる。

一方、% ee に注目すると、生成物 2, 3 共にエナンチオ選択性を示していることから今回合成した PEGHSA は有効な不斉反応場として機能することが明らかとなった。

#### \* AC 存在下での HSA への PEG 修飾の検討

前節より ga-PEG 修飾は HSA が本来有する AC との結合挙動を損なうことなく PEG 修飾が可能であることが明らかとなった。さらなる反応効率の向上を目指し、HSA の第一、第二サイトに対して AC との結合を阻害する化合物存在下で PEG 修飾を検討した。AC を結合させた状態で PEG 修飾を行い、その後 AC を排除体積クロマトグラフィーと透析による除去を検討した。透析後も HSA が AC を包接していることが UV および CD スペクトルから明らかとなった。透析後の CD スペクトルを測定したところ、390 nm 付近に正のコットン効果が見られたことから、透析後も PEG 化 HSA が AC を包接していることが明らかとなった。PEG 化 HSA が包接している AC の当量を求

めるため、UV-vis スペクトルによる定量を試みた。今回合成した ga-PEG10(AC)HSA の UV-vis スペクトルを測定したところ、260 nm と 390 nm 付近に AC 由来のピークが見られた。得られた未修飾 HSA に AC を 1 当量および 2 当量添加したスペクトルに対し、260 nm の吸光度で ga-PEG10(AC)HSA を規格化した。規格化した UV-vis スペクトルの 280 および 390 nm の吸光度を比較し、今回 AC 存在下で合成した ga-PEG 化 HSA は AC を 2 当量包接していることが明らかとなった [ga-PEG10(AC<sub>2</sub>)HSA]。すなわち、AC 存在下での PEG 修飾により第一、第二サイトに AC が包接されていることが示され、反応基質である AC の効率的利用を可能とする優れたキラル反応場としての展開が期待される。

#### 総括

本研究において従来の TNBS Na 法を改良し、より正確な HSA の PEG 修飾率を導出することに成功した。また、ga-PEG による HSA への修飾により、高次構造に影響を与えることなく PEG 修飾することに成功した。

sc-PEGHSA と AC の基底状態相互作用は HSA と AC とは異なり、PEG 修飾により基質反応サイトの制御が可能になることが明らかとなった。一方 ga-PEGHSA では HSA と同じ AC との基底状態相互作用の挙動を示したことから、ga-PEG による修飾が従来用いられている sc-PEG による修飾よりも効果的な修飾方法であることが示された。さらなる反応効率の向上を目指し、HSA の第一、第二サイトに対して AC との結合を阻害する化合物存在下で PEG 修飾を検討した。その結果、AC 存在下での PEG 修飾により第一、第二サイトに AC が包接されていることが示され、反応基質である AC の効率的利用を可能とする優れたキラル反応場として機能することが明らかとなった。

今回合成した PEGHSA を不斉反応場として AC の光環化二量化反応を行ったところ、未修飾 HSA よりも高い変換効率を示した。基底状態相互作用の結果とあわせて考えると、PEG 修飾により AC の不斉反応場となる第三サイトが PEG 修飾により変化していることが示唆された。この PEG 修飾による AC の光環化二量化反応への影響を蛍光スペクトル測定、蛍光寿命測定、ならびに傾向変更解消法など様々な手法を駆使して明らかとした。

今後 PEG 修飾率の最適化を行い人工抗体の系へと展開していく他、現在検討している PEG 化試薬以外にも両末端に反応性が付与された PEG 化試薬を用いて HSA をハイドロゲルなどの固定化リアクターとして触媒的活用も可能になることも期待され、生体高分子の高い可能性を有する極めて魅力的な方法論である事を明らかとし、その一般性と有用性の実証に成功した。

#### 5. 主な発表論文等

(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 25 件) 主要論文のみ記載

1. Nishijima, M., Goto, M., Fujikawa, M., Yang, C., Mori, T., Wada, T., Inoue, Y., Yoshihisa, Mammalian serum albumins as a chiral mediator library for bio-supramolecular photochirogenesis: Optimizing enantio-differentiating photocyclodimerization of

- 2-anthracene-carboxylate, *Chem. Comm.*, **50**, 14082-14085 (2014). (査読有): **Selected as a Top Cover Page**.
2. Sakai, H., Shinto, S., Araki, Y., Wada, T., Sakanoue, T., Takenobu, T., Hasobe, T., Formation of one-dimensional helical columns and excimerlike excited states by racemic quinoxaline-fused [7] carbohelicenes in the crystal, *Chem. A Eur. J.*, **20**, 10099-10109 (2014). (査読有)
  3. Hirayama, S., Sakai, H., Araki, Y., Tanaka, M., Imakawa, M., Wada, T., Takenobu, T., Hasobe, T., Systematic control of the excited-state dynamics and carrier-transport properties of functionalized benzo[ghi]perylene and coronene derivatives, *Chem. A Eur. J.*, **20**, 9081-9093 (2014). (査読有)
  4. Miyahara, T., Nakatsuji, H., Wada, T., Circular dichroism spectra of uridine derivatives: ChiraSac study, *J. Phys. Chem. A*, **118**, 2931-2941 (2014). (査読有)
  5. Ida, K., Sakai, H., Ohkubo, K., Araki, Y., Wada, T., Sakanoue, T., Takenobu, T., Fukuzumi, S., Hasobe, T., Electron-transfer reduction properties and excited-state dynamics of benzo[ghi]peryleneimide and coroneneimide derivatives, *J. Phys. Chem. C*, **118**, 7710-7720 (2014). (査読有)
  6. Fukuhara, G., Umehara, H., Higashino, S., Nishijima, M., Yang, C., Mori, T., Wada, T., Inoue, Y., Supramolecular photocyclodimerization of 2-hydroxyanthracene with a chiral hydrogen-bonding template, cyclodextrin and serum albumin, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **13**, 162-171 (2014). (査読有)
  7. Shinozaki, Y., Yoshikawa, I., Araki, K., Ohara, K., Yamaguchi, K., Kawano, S.-I., Tanaka, K., Araki, Y., Wada, T., Otsuki, J., Coordination oligomers and polymers of an oxazole-appended zinc chlorophyll derivative, *Chem. Lett.*, **43**, 862-864 (2014). (査読有)
  8. Murakami, M., Araki, Y., Sakamoto, S., Hamada, Y., Wada, T., Remarkable Enhancement of Sensitivity with the Second Generation of Elliptically Polarization-detected Circular Dichroism Spectroscopy, *Chem. Lett.* **42**, 261-262 (2013). (査読有): **Selected as an Editor's Choice Paper**.
  9. Sakamoto, S., Terauchi, M., Hugo, A., Kim, T., Araki, Y., Wada, T., Creation of a caspase-3 sensing system using a combination of split-GFP and split-intein, *Chem. Comm.*, **49**, 10323-103259 (2013). (査読有)
  10. Sakamoto, S., Terauchi, M., Araki, Y., Wada, T., Design and semisynthesis of photoactivable split-GFP by incorporation of photocleavable functionality, *Biopolym.*, **100**, 773-779 (2013). (査読有)
  11. Nishijima, M., Kato, H., Yang, C., Fukuhara, G., Mori, T., Araki, Y., Wada, T., Inoue, Y., Catalytic bio-supramolecular photo-chirogenesis: Batch-operated enantio-differentiating photocyclodimerization of 2-anthracenecarboxylate with human serum albumin, *ChemCatChem*, **5**, 3237-3240 (2013). (査読有)
  12. Aiba, Y., Hamano, Y., Kameshima, W., Araki, Y., Wada, T., Accetta, A., Sforza, S., Corradini, R., Marchelli, R., Komiyama, M., PNA-NLS conjugates as single-molecular activators of target sites in double-stranded DNA for site-selective scission, *Org. Biomol. Chem.*, **11**, 5233-5238 (2013). (査読有) **Selected as a VIP Paper & a Top Cover Page**.
  13. Shinozaki, Y., Richards, G., Ogawa, K., Yamano, A., Ohara, K., Yamaguchi, K., Kawano, S.-I., Tanaka, K., Araki, Y., Wada, T., Otsuki, J., Double helices of a pyridine-appended zinc chlorophyll derivative, *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 5262-5265 (2013). (査読有)
  14. Sakamoto, S., Hugo, A., Terauchi, M., Araki, Y., Wada, T., Design and preparation of a dual-protease biosensor for two different caspase activities using split-GFP, *Peptide Sci.*, **49**, 283-284 (2013). (査読有)
  15. Nishiyama, Y., Wada, T., Kakiuchi, K., Inoue, Y., Entrainer effects on enantiodifferentiating photocyclization of 5-hydroxy-1,1-diphenylpentene in near-critical and supercritical carbon dioxide, *J. Org. Chem.*, **77**, 5681-5686 (2012). (査読有)
  16. Wada, T., Photochemical Approach for Chemical Biology, *J. Photochem. Photobiol. C*, **13**, 111 (2012). (査読有)
  17. Ui, M., Tanaka, Y., Araki, Y., Wada, T., Takei, T., Tsumoto, K., Endo, S., Kinbara, K., Application of photoactive yellow protein as a photoresponsive module for controlling hemolytic activity of staphylococcal  $\alpha$ -hemolysin, *Chem. Comm.*, **48**, 4737-4739 (2012). (査読有)
  18. Nishiyama, Y., Wada, T., Kakiuchi, K., Inoue, Y., Microenvironmental control of enantiodifferentiating photocyclization of 5-hydroxy-1,1-diphenylpentene through selective solvation, *Chirality*, **24**, 400-405 (2012). (査読有)
  19. Wada, T., New paradigm of biomolecular soft-interfaces as chiral reaction fields for supramolecular asymmetric Photo-chirogenesis, *Hyomen Kagaku*, **33**, 27-33 (2012). (査読有)
  20. Sakamoto, S., Terauchi, M., Taki, S., Kim, T., Araki, Y., Wada, T., Design of a dual-color detection system for caspase activities using a combination of split-fluorescent proteins and split-intein, *Peptide Sci.*, **48**, 325-326 (2012). (査読有)



〔学会発表〕(計 138 件)主な招待/依頼講演掲載

1. 和田健彦, 「タンパク質を足場とした高分子複合体を活用した超分子不斉光反応系の創製」, 第 62 回高分子討論会, 長崎大学, 日本.(特別講演)(2014.9.24-26).
2. 和田健彦, 「高感度・高時間分解能解析を目指した CD 測定装置のバイオメティックス工学への応用」, 第 62 回高分子討論会, 長崎大学, 日本.(特別講演)(2014.9.24-26).
3. 和田健彦, 「生体高分子の機能材料への展開と動的機能制御」, 第 61 回高分子討論会, 名古屋大学, 9 月 20 日, 日本.(特別講演)(2013.9.20).
4. 和田健彦, 「生体高分子の機能材料への展開と動的機能制御 -がん細胞特異的核酸医薬創製を目指して」 高分子学会中国四国支部-2013 年高分子講演会-, 鳥取大学, 日本.(基調講演)(2013.12.20)
5. 和田健彦, 「生体高分子の機能材料への展開と動的機能制御 - 核酸とタンパク質の特性の活用を目指して -」量子化学研究所講演会, 京都大学, 日本.(特別講演)(2013.04.18)
6. T. WADA, "Development of High Sensitive and Time-resolved Circular Dichroism Detection System -Toward the Analyses of Supramolecular Dynamics -," *Symmetry Festival-Chirality Section*, Delft, Netherlands (Invited Lecture) (2013.08.02-08)
7. T. WADA, "Development of High Sensitive and Time-resolved Circular Dichroism Detection System -Toward the Analyses of Supramolecular Dynamics -," *2013 Korean-Japan Bilateral Symposium on Frontier Photoscience (2013KJFP)*, Seoul, Korea (Invited Lecture) (2013.11.25-28)
8. T. WADA, R. UEMATSU, T. MIZUTANI, J. ARIYOSHI, Y. ARAKI, S. SAKAMOTO, A. YAMAYOSHI, S. Futaki, A. MURAKAMI, Y. INOUE, "Remarkable Enhancements of Cellular Membrane Uptake Ability and RNase H Activities of Arg Introduced Peptide Ribonucleic Acids (PRNA) and PRNA-DNA Chimera for Cancer Cell Specific Oligonucleotide Therapeutics," *40th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society*, July 21-24, Honolulu, USA (2013). (Invited Presentation)
9. 和田健彦, 「生体高分子の機能材料への展開と動的機能制御」, 第 61 回高分子討論会, 名古屋大学, 日本 (2012.09.19-21).
10. 和田健彦, 「刺激応答性人工核酸系を活用した新規がん細胞特異的遺伝子治療薬の構築」平成 24 年度化学系学協会東北大会, 秋田大学, 日本 (2012.09.15-16).
11. 和田健彦, 「生体高分子をキラルナノリアクターとして活用する超分子不斉光反応系の創製 -環境調和型不斉光化学反応系構築を目指して-」 「ナノ構造・物性」第 4 回研究会, 神戸大 (2012.01.20-21).
12. 和田健彦, 「生体高分子の機能材料への展開と動的機能制御-核酸とタンパク質の特性活用を目指して-」 量子化学研究協会研究所 公開講座, 京都大学桂キャンパス (2012.04.18).
13. 和田健彦, "酵素やタンパク質表面を活用した化学反応制御法 - 環境調和型化学反応の実現を目指して," ソフトインターフェースの分子科学「新技術発表会」, 東京大学山上会館, 日本 (2012.11.09).
14. T. Wada "Novel Strategy for Cancer Cell Specific Oligonucleotide Therapeutics with

*Intracellular Environmental Condition Responsible Artificial Nucleic Acid: Peptide Ribonucleic Acids (PRNA),* International Conference on Emerging Advanced Nanomaterials2012 (ICEAN2012), Brisbane, Australia (2012.10.22-25).

15. T. WADA, "Novel Strategy of Supramolecular Asymmetric Photochirogenesis with Tailor-made Biopolymers as Chiral Reaction Media," *IUPAC Photochemistry*, Coimbra, Portugal (2012.07.15-20).
16. T. WADA, "Novel Strategy for Cancer Cell Specific Oligonucleotide Therapeutics with Intracellular Environmental Condition Responsible Artificial Nucleic Acid: Peptide Ribonucleic Acids (PRNA)," *5th Szeged International Workshop on Advances in Nanoscience (SIWAN)*, Szeged, Hungary (2012.10.24-27) (Plenary Lecture).

〔図書〕(計 1 件)

1. 和田健彦, 第 2 章 光化学の基礎 I -物理化学- 2.3 節 励起状態の環境効果と反応 (4)「光化学における圧力効果」, *光化学の事典*, 朝倉出版, (2014).

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

○取得状況(計 0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.tagen.tohoku.ac.jp/lab/wada/index-j.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

和田健彦 (Takehiko WADA)  
東北大学・多元物質科学研究所・教授  
研究者番号: 20220957

(2)研究分担者

荒木保幸 (Yasuyuki ARAKI)  
東北大学・多元物質科学研究所・准教授  
研究者番号: 80361179  
坂本清志 (Seiji SAKAMOTO)  
東北大学・多元物質科学研究所・助教  
研究者番号: 30335228