

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26410172

研究課題名(和文)ヘムタンパク質機能の電子論的解明と人工酸素運搬体創製への応用

研究課題名(英文)Elucidation of electronic control of hemoprotein function and its application to construct artificial blood substitute

研究代表者

山本 泰彦 (YAMAMOTO, Yasuhiko)

筑波大学・数理物質系・教授

研究者番号：00191453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：酸素貯蔵ヘムタンパク質ミオグロビンの機能と補欠分子族として存在するヘムの電子構造の関係を解明する研究を行い、ヘム鉄の電子密度がミオグロビンの酸素親和性、酸素と一酸化炭素の識別および自動酸化の調節に重要な役割を果たしていることを明らかにした。ミオグロビンのヘム鉄の電子密度の調節とヘム近傍のアミノ酸残基の置換を通して、ミオグロビンの機能を制御する分子設計指針を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the functional properties of myoglobin and its mutant proteins reconstituted with heme cofactors possessing a heme Fe atom with a variety of electron densities. The study revealed that the oxygen (O<sub>2</sub>) affinities of the proteins are regulated by the electron density of the heme Fe atom (R(Fe)) in such a manner that the O<sub>2</sub> affinity of the protein decreases, due to an increase in the O<sub>2</sub> dissociation rate constant, with a decrease in the R(Fe). On the other hand, the carbon monoxide (CO) affinities of the proteins were almost independent of the R(Fe). As a result, the regulation of the O<sub>2</sub>/CO discrimination in the proteins is controlled by the R(Fe). Thus the electronic tuning of the intrinsic heme Fe reactivity through the R(Fe) plays a vital role in the regulation of the protein function, as the heme environment furnished by the nearby amino acid residues does. These findings pave the way to construct artificial blood substitute.

研究分野：生物無機化学

キーワード：ヘムタンパク質 ヘム電子構造 配位子結合反応 機能調節 人工酸素運搬体

1. 研究開始当初の背景

生物界に遍在するヘムタンパク質の機能調節において、活性中心部位であるヘムの電子構造が重要な役割を担っていることは従来から認識されている。ヘム側鎖の化学修飾を通してヘムの電子構造を変化させ、その変化がヘムタンパク質の機能と構造にどのような影響を与えるのかを解析する研究は、これまでも数多く発表されている。しかしながら、ヘムタンパク質の機能は、ヘムの電子構造に加えて、タンパク質部分のアミノ酸残基がヘム近傍につくり出す構造化学的環境によっても影響を受けるので、化学修飾ヘムを用いると、タンパク質内部でのヘムとタンパク質の相互作用にも大きな構造化学的摂動が与えられるため、ヘムの電子構造およびヘムとタンパク質の相互作用の両方が変化することになるため、ヘム電子構造のみの変化がヘムタンパク質の機能に与える影響を解明することは困難である。このように、従来のヘム側鎖の化学修飾を利用した研究では、ヘム電子構造とヘムタンパク質の機能の関係に焦点を当てた系統的な研究は困難であった。

本研究では、ヘム側鎖へのトリフルオロメチル (CF<sub>3</sub>) 基の導入を通してヘム電子構造

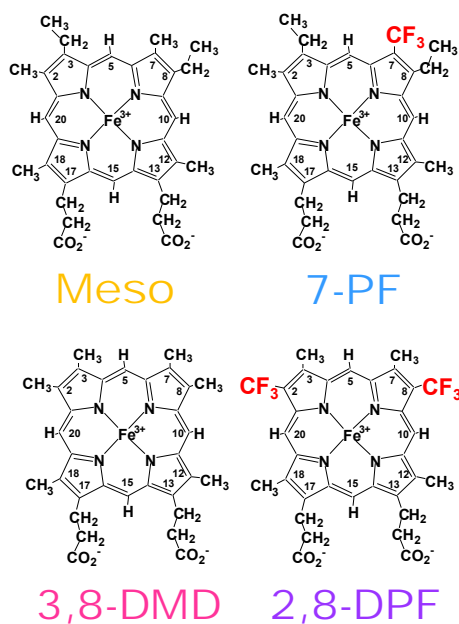


図1. 本研究で用いた化学修飾ヘム。天然のヘムの分子構造は、Mesoの2つのエチル基がいずれもビニル基である。Mesoと7-PF、3,8-DMDと2,8-DPFをそれぞれ対比させた組毎の比較を行うことにより、Mesoと7-PFではCH<sub>3</sub>基1つのCF<sub>3</sub>基への置換、3,8-DMDと2,8-DPFでは2つの置換が、それぞれMbの機能と構造に及ぼす影響を明らかにすることが可能となる。CF<sub>3</sub>基導入がヘムに与える電子的摂動がCH<sub>3</sub>基からCF<sub>3</sub>基への置換がMbにおけるヘムとタンパク質の相互作用に及ぼす影響よりも大きいので、これら化学修飾ヘムを用いることにより、ヘムの電子構造、特に、ヘム鉄の電子密度(ρ<sub>Fe</sub>)、の変化がMbの機能に与える影響を明らかにすることができる。

に対して系統的な摂動を与え、酸素(O<sub>2</sub>)貯蔵ヘムタンパク質ミオグロビン(Mb)におけるヘム電子構造と機能の相関関係を解析する。CF<sub>3</sub>基でメチル(CH<sub>3</sub>)基を置換した化学修飾ヘムをMbに組み込むことにより、ヘムの化学修飾がヘムとタンパク質の相互作用に与える影響を最小限に抑える一方、ヘムの電子構造に比較的大きな摂動を与えることが可能となる。このCF<sub>3</sub>基置換法を用いれば、Mesoと7-PF、3,8-DMDと2,8-DPF(図1)をそれぞれ比較することにより、CH<sub>3</sub>基1つ、2つのCF<sub>3</sub>基への置換がヘム電子構造に与える摂動がMbの機能に与える影響を初めて明らかにすることが可能となる。

2. 研究の目的

ヘムタンパク質における機能調節の分子機構を、ヘムのポルフィリン環π電子系とヘム側鎖、軸配位子およびヘム鉄に結合した外部配位子と近傍のアミノ酸側鎖との水素結合や双極子-多極子相互作用等の電子的な相互作用に基づいて統一的に解明する。そして、本研究から得られた知見をMbを模倣した人工酸素運搬体の創製に応用する。

3. 研究の方法

ヘム側鎖として強い電子求引性を示すCF<sub>3</sub>基を導入した化学修飾ヘム(図1)を利用して、Mbのヘム活性部位に系統的な電子的摂動を与え、それら電子的摂動が、Mbのヘムおよび軸配位子の電子構造、ヘム鉄に結合した外部配位子と近傍のアミノ酸側鎖との電子的相互作用に与える影響を解析すると共に、O<sub>2</sub>および一酸化炭素(CO)の結合反応、自動酸化反応に与える影響を計測する。また、ヘム側鎖へのCF<sub>3</sub>基の導入がMbの外部配位子結合部位やヘム近傍のタンパク質の立体構造に与える影響を、共鳴ラマン分光法、X線結晶構造解析およびNMR等を駆使し、従来のMb研究よりもはるかに高い時空分解能で解析する。

4. 研究成果

(1) 天然のMb(Native Mb)とMbの機能調節に重要なアミノ酸であるHis64、Leu29に着目して調製した人工変異体(H64L、H64Q、L29F一置換体およびL29F/H64L二置換体)のいずれの試料においても、ヘム鉄の電子密度(ρ<sub>Fe</sub>)の減少に伴い、O<sub>2</sub>親和性と自動酸化反応速度が共に低下することが明らかとなった。Mbのこれら機能とρ<sub>Fe</sub>の関係は、Mbのヘム鉄(Fe<sup>2+</sup>)にO<sub>2</sub>が結合したFe<sup>2+</sup>-O<sub>2</sub>の共鳴(図2)に基づいて説明することができる。Fe<sup>2+</sup>-O<sub>2</sub>は、図2に示すA構造とB構造の2つの極限構造の共鳴混成体として存在していると考えられることができる。B構造は、A構造のFe<sup>2+</sup>からO<sub>2</sub>へ電子が移動することにより生じる構造であり、末端酸素原子が負に帯電したFe<sup>3+</sup>-O<sub>2</sub><sup>-</sup>に近い状態であると考えられている。したがって、図2

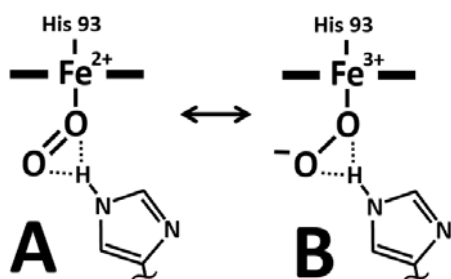


図2. Mb のヘム鉄 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) に  $\text{O}_2$  が結合した  $\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2$  の共鳴。A 構造: デオキシ Mb の  $\text{Fe}^{2+}$  に  $\text{O}_2$  が結合した構造。B 構造: A 構造の  $\text{Fe}^{2+}$  から  $\text{O}_2$  へ電子が移動することにより、末端酸素原子が負に帯電した極限構造。

の共鳴が A 構造の方に偏った状態で  $\text{O}_2$  が脱離すればデオキシ Mb となり、逆に、B 構造の方に偏った状態で  $\text{O}_2$  が脱離すれば酸化型 Mb、すなわち、自動酸化反応が起こりメト Mb、となる。そこで、 $\rho_{\text{Fe}}$  を減少させると、 $\text{Fe}^{2+}$  から  $\text{O}_2$  への電子移動が阻害され、図2の共鳴は A 構造の方に偏る。その結果、 $\text{O}_2$  の解離反応速度定数 ( $k_{\text{off}}(\text{O}_2)$ ) は増大し、 $\text{O}_2$  親和性は低下する。その一方で、 $\rho_{\text{Fe}}$  の減少に伴って、共鳴混成体における B 構造の寄与が少なくなることで自動酸化反応速度は低下

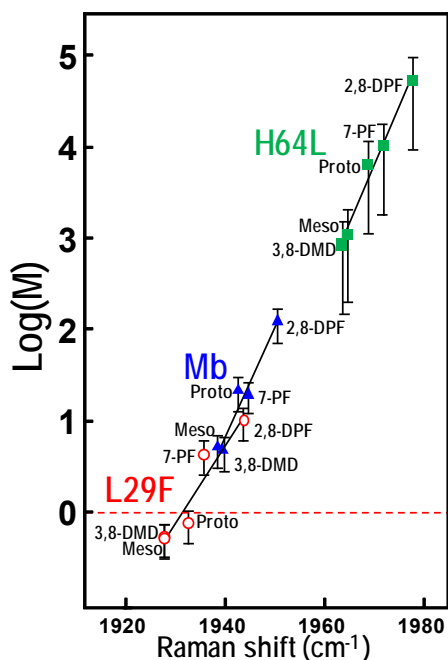


図3. Mb (Native Mb)、H64L および L29F 一置換体に化学修飾ヘムを組み込んだ試料の CO が結合した状態における CO 伸縮振動  $\nu_{\text{CO}}$  に対する CO と  $\text{O}_2$  の識別能 ( $M = \text{CO}$  親和性 /  $\text{O}_2$  親和性) の片対数プロット。  $\nu_{\text{CO}}$  はヘム鉄の電子密度 ( $\rho_{\text{Fe}}$ ) の指標として利用できる (本文参照)。個々のタンパク質のプロットは、良好な直線性を示している。L29F 一置換体に Meso、3,8-DMD を組み込んだ試料の  $M$  値は 1 よりも小さいことから、これら試料では CO よりも  $\text{O}_2$  に対してより高い親和性を示すことがわかる。また、ヘムの化学修飾とアミノ酸置換を組合すことにより、 $M$  値を約 10 万倍の範囲で調節することができると示された。

すると考えることができる。このように、図2の共鳴は、Mb の  $\text{O}_2$  親和性および自動酸化反応を調節する、言わば電子的な調節機構として重要であることが明らかになった。

なお、私共は、 $\rho_{\text{Fe}}$  を評価する指標として、Mb に CO が結合した状態における CO 伸縮振動  $\nu_{\text{CO}}$  を利用することができることを実証している。CO 体における  $\text{Fe}^{2+}$  と CO の結合では、 $\text{Fe}^{2+}$  から CO への逆供与によって、 $\text{Fe}^{2+(6-)}\text{-C}\equiv\text{O}^{6+} \leftrightarrow \text{Fe}^{2+(6+)}=\text{C}=\text{O}^{6-}$  の共鳴混成体として存在すると考えることができる。ここで、 $\text{Fe}^{2+}$  から CO への逆供与の程度は  $\rho_{\text{Fe}}$  に依存すると考えられるので、例えば、 $\rho_{\text{Fe}}$  を減少させると、 $\text{Fe}^{2+}$  から CO への逆供与が阻害され、共鳴が  $\text{Fe}^{2+(6-)}\text{-C}\equiv\text{O}^{6+}$  の方に偏り、結果的に、 $\nu_{\text{CO}}$  は高波数シフトすることが予想される。私共は、Mb に CO が結合した状態における共鳴を通じた  $\rho_{\text{Fe}}$  と  $\nu_{\text{CO}}$  の間で予想されるこの関係を実証することに成功した。

この  $\rho_{\text{Fe}}$  と  $\nu_{\text{CO}}$  の関係と、上述した  $\rho_{\text{Fe}}$  の減少に伴う  $k_{\text{off}}(\text{O}_2)$  の増大の関係を組み合わせると、 $\rho_{\text{Fe}}$  の減少を反映する  $\nu_{\text{CO}}$  の高波数シフトに伴って  $k_{\text{off}}(\text{O}_2)$  が増大することが予想される。実際、本研究で用いた化学修飾ヘムを組み込んだ Native Mb および研究したすべての人工変異体において、 $\nu_{\text{CO}}$  に対する  $k_{\text{off}}(\text{O}_2)$  の片対数プロットを作成すると、良好な右上がりの直線プロットが得られ、 $\rho_{\text{Fe}}$  と  $k_{\text{off}}(\text{O}_2)$  の関係は、Mb において普遍的に成立することが実証された。さらに、 $\text{O}_2$  の結合反応速度定数 ( $k_{\text{on}}(\text{O}_2)$ ) は、 $\rho_{\text{Fe}}$  にはほとんど依存しないことが明らかになったことから、結果的に、 $\rho_{\text{Fe}}$  の変化は  $k_{\text{off}}(\text{O}_2)$  に与える影響を通して、 $\text{O}_2$  親和性を決定することが明らかになった。一方、CO 結合反応の場合は、 $\text{O}_2$  の場合とは異なり、結合反応速度定数 ( $k_{\text{on}}(\text{CO})$ ) と解離反応速度定数 ( $k_{\text{off}}(\text{CO})$ ) はいずれも、 $\rho_{\text{Fe}}$  にはほとんど依存しないことが示された。

(2) L29F 一置換体に一連の化学修飾ヘムを組み込んだ試料で  $\text{O}_2$  親和性と CO 親和性を計測した結果、Meso、3,8-DMD を組み込んだ試料は、CO よりも  $\text{O}_2$  に対してより高い親和性を示すことが明らかとなった (図3)。ポルフィリン骨格をもつヘム錯体で、 $\text{O}_2$  と CO の親和性が逆転する性質を示す Mb 変異体は、私共が知る限り、当該試料が初めての例である。なお、Meso、3,8-DMD を組み込んだ L29F 一置換体で、CO よりも  $\text{O}_2$  に対してより高い親和性を示す理由は、Native Mb に比べて、CO 親和性自体は大差無いのに対して、 $k_{\text{off}}(\text{O}_2)$  が大幅に減少したことから、 $\text{O}_2$  親和性が著しく高くなったからである。Meso、3,8-DMD が組み込まれた試料では図2の共鳴が B 構造の方に偏っていると共に、L29F 一置換体では  $\text{Fe}^{2+}$  に結合した  $\text{O}_2$  と Phe29 のフェニル環の多極子の相互作用により、 $\text{O}_2$  の  $\text{Fe}^{2+}$  への結合状態が安定化されることが、

L29F 一置換体に Meso、3,8-DMD を組み込んだ試料で  $O_2$  親和性が著しく増大する要因であると考えられる。

(3) Native Mb、H64L および L29F 一置換体に化学修飾ヘムを組み込んだ試料の CO が結合した状態における CO 伸縮振動  $\nu_{CO}$  に対する CO と  $O_2$  の識別能 ( $M = CO$  親和性/ $O_2$  親和性) の片対数プロット (図 3) から、ヘムの化学修飾とアミノ酸置換を組合すことにより、 $M$  値を約 10 万倍の範囲で調節することができることが明らかになった。また、個々の試料のプロットがそれぞれ良好な直線性を示していることから、 $\rho_{Fe}$  の変化が図 2 の共鳴の偏りに与える影響は  $Fe^{2+}$  に結合する  $O_2$  と近傍アミノ酸側鎖の相互作用の有無およびその強度の程度とは無関係であること、つまり、 $\rho_{Fe}$  を通した Mb 機能の電子的調節機構は、近傍のアミノ酸残基との相互作用によるヘムの構造化学的環境を通した機能調節機構とは互いに独立して作用していることが実証された。また、個々の試料のプロットの傾きがほぼ等しいことから、Mb の機能調節で、 $\rho_{Fe}$  を通した電子的調節機構は、ヘムの構造化学的環境による調節機構には依存しないことも明らかになった。Mb の機能を調節するこれら 2 つの機構の言うならば直交性は、Mb を模倣した人工酸素運搬体の創製における分子設計には有用である。なぜなら、これら 2 つの調節機構をそれぞれ別々に最適化すれば、Mb の機能を人工酸素運搬体として最適化できることが明らかになったからである。

さらに、H64L 一置換体では、 $Fe^{2+}$  に結合した  $O_2$  と水素結合して  $O_2$  の配位状態を安定化する His64 が、水素結合できない Leu64 に置換されているにもかかわらず、図 3 で、H64L 一置換体のプロットが Native Mb および L29F 一置換体のプロットとほぼ同じ傾きであることから、CO と  $O_2$  の識別には、 $Fe^{2+}-O_2$  と His64 の水素結合の形成は必須ではないことが明らかになった。

(4) Mb の機能調節における  $Fe^{2+}-O_2$  と His64 の水素結合の性質の影響を明らかにするために、 $Fe^{2+}-O_2$  と His64 の水素結合が存在する Native Mb (His64)、 $Fe^{2+}-O_2$  と His64 の水素結合が存在しない H64L 一置換体に加えて、 $Fe^{2+}-O_2$  と His64 の水素結合に比べて、強度が弱いことが予想される  $Fe^{2+}-O_2$  と Gln64 の水素結合が存在する H64Q 一置換体で、化学修飾ヘムを組み込んだ試料を調製し、それぞれの機能を計測した (図 4)。 $k_{off}(O_2)$  を比較すると、 $O_2$  と 64 番アミノ酸残基で水素結合が形成しない H64L 一置換体を基準とした時、H64Q 一置換体では  $k_{off}(O_2)$  が約 1/40、Native Mb では約 1/2000 に、それぞれ低下した。 $k_{off}(O_2)$  の低下の程度は、 $O_2$  結合状態の安定化の程度を反映していると考えられるので、H64Q 一置換体における

$Fe^{2+}-O_2$  と Gln64 の水素結合は、予想通り、Native Mb における  $Fe^{2+}-O_2$  と His64 の水素結合よりも弱いことが確認された。

さらに、29 番と 64 番のアミノ酸残基の違いに着目して、L29F/H64L 二置換体の解析から得られた結果も併せて考えると、64 番アミノ酸残基が Leu の場合における L29F のアミノ酸置換が  $k_{off}(O_2)$  に与える影響では、 $k_{off}(O_2)$  はほとんど変化しないことが示されたのに対して、64 番アミノ酸残基が His の場合における L29F のアミノ酸置換が  $k_{off}(O_2)$  に与える影響では、 $k_{off}(O_2)$  は約 1/10 に低下することが示された。これらの結果から、64 番アミノ酸残基と  $Fe^{2+}-O_2$  の水素結合の強度が強くなると、Phe29 と  $Fe^{2+}-O_2$  の相互作用も相乗的に強くなることが示された。その要因としては、64 番アミノ酸残基と  $Fe^{2+}-O_2$  の水素結合が強くなると、 $O_2$  の分極が促進される結果、末端酸素原子の  $\delta^-$  性が強くなるので、 $\delta^+$  に分極した Phe29 のフェニル環のエッジとの電子的な相互作用が相乗的に強くなることが考えられる。このように、Phe29 をもつ Mb における  $O_2$  の  $Fe^{2+}$  への配位状態の安定化は、 $O_2$ 、Phe29 および 64 番アミノ酸残基の間の電子的相互作用に依存することが明らかとなった。この知見も、Mb の機能を調節するための分子設計指針として重要である。

Native Mb および種々の人工変異体に一連の化学修飾ヘムを組み込んだ試料に  $O_2$  が結合した状態の吸収スペクトルの経時変化

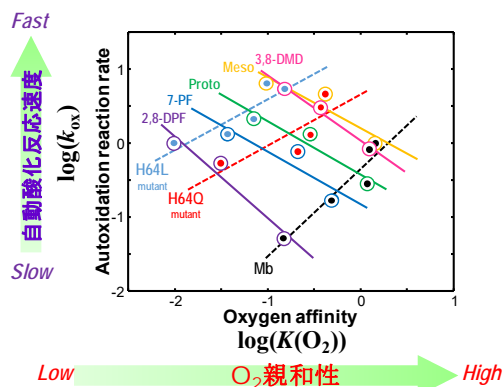


図 4. Native Mb、H64L および H64Q 一置換体に種々の化学修飾ヘムを組み込んだ試料の  $O_2$  親和性 ( $K(O_2)$ ) に対する自動酸化反応速度定数 ( $k_{ox}$ ) の両対数プロット。同一タンパク質で比較すると、ヘム鉄の電子密度 ( $\rho_{Fe}$ ) の減少に伴って、 $K(O_2)$  および  $k_{ox}$  はいずれも小さくなる。一方、同一ヘムで比較すると、H64L 一置換体 > H64Q 一置換体 > Native Mb の順に  $k_{ox}$  は小さくなり、 $K(O_2)$  は逆に大きくなる。Mb の機能調節における  $\rho_{Fe}$  の変化を通した電子的機構とヘムの構造化学的環境を通した機構の直交性は、これら 2 つの機構それぞれを別々に最適化すれば、Mb の機能を人工酸素運搬体として最適化できるという観点から、Mb を模倣した人工酸素運搬体の創製における分子設計に有用である。

の解析から、自動酸化反応速度定数 ( $k_{ox}$ ) を計測した。その結果、ヘム側鎖に導入する  $CF_3$  基の数を増やすことによって、 $k_{ox}$  は低下することが明らかになった。これらの結果は、上述の通り、 $CF_3$  基の導入に伴って  $\rho_{Fe}$  が減少し、それにより図 2 の共鳴が B 構造の方に偏ったためであると考えられる。そのことは、 $\rho_{Fe}$  の指標となる  $v_{CO}$  に対する  $k_{ox}$  の対数のプロットから確認できる。さらに、 $v_{CO}$  に対する  $\log(k_{ox})$  のプロットは、良好な右下がりの直線で表され、その傾きは Native Mb と H64L 一置換体でほぼ同じであったことから、64 番アミノ酸残基と  $Fe^{2+}-O_2$  の水素結合の強度は、 $\rho_{Fe}$  を通した  $k_{ox}$  の調節にはほとんど影響を与えないことも明らかとなった。また、本研究で用いたいずれの化学修飾ヘムでも、 $k_{ox}$  は Native Mb < H64Q 一置換体 < L29F/H64L 二置換体 < H64L 一置換体の順に増大した (図 4)。さらに、64 番アミノ酸残基の違いに注目すると Native Mb < H64Q 一置換体 < H64L 一置換体の順に  $k_{ox}$  が増大した (図 4)。これらの結果には、 $Fe^{2+}$  に結合した  $O_2$  とヘム近傍のアミノ酸残基との相互作用による  $O_2$  結合状態の安定化の程度が反映されていると考えられる。すなわち、 $Fe^{2+}-O_2$  と 64 番アミノ酸残基との水素結合が強い程、 $O_2$  結合状態がより一層強く安定化される結果、 $k_{ox}$  は低下すると解釈できる。

また、29 番アミノ酸残基の違いに注目した比較から、 $k_{ox}$  は L29F/H64L 二置換体 < H64L 一置換体となり、L29F/H64L 二置換体の  $k_{off}(O_2)$  の結果から判断して、64 番アミノ酸残基が Leu の時、Phe29 による  $O_2$  結合状態の安定化はほとんど起こらないことが示された。アミノ酸残基の側鎖の大きさは、His:  $0.101 \text{ nm}^3$ , Gln:  $0.095 \text{ nm}^3$ , Leu:  $0.102 \text{ nm}^3$ , Phe:  $0.137 \text{ nm}^3$  であるので、64 番アミノ酸残基が Leu の場合、L29F アミノ酸置換により  $k_{ox}$  が低下したのは、29 番アミノ酸残基を Leu から側鎖サイズの大きい Phe29 へ置換することでヘムポケットの His64 側の空間が狭くなった結果、ヘムのポケットへの水分子の進入が抑えられるからであると考えられることができる。

(5) 7 位メチル基を  $CF_3$  基で置換した化学修飾ヘム 7-PF (図 1) を用いて、Mb におけるヘムの配向の決定機構を解析した。7-PF を用いた理由は、二種類のヘムの配向の高感度検出が  $^{19}F$  NMR により行えると共に、X 線結晶構造解析でも検出できることを期待したためである。Native Mb および H64Q 一置換体に 7-PF を組み込んだ試料の X 線結晶構造解析から、プロトヘムと同様に、7-PF も Mb のヘムポケットに組み込まれていると共に、7-PF に Form A、Form B の二種類の配向が存在することが明らかになった (図 5)。さらに、Native Mb (PDB ID: 1A6K) と 7-PF を組み込んだ Native Mb の結晶構造の比較から、ヘム近傍

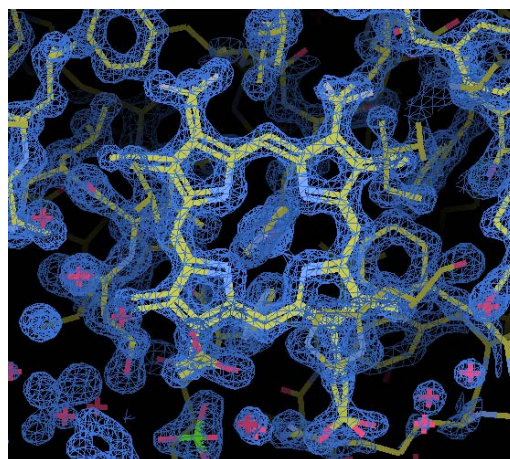


図 5. 7-PF を組み込んだ Mb の X 線結晶構造。タンパク質部分に対して、7-PF が擬二回転対象軸の周りに  $180^\circ$  回転した二種類 (Form A と Form B) の配向で組み込まれていることが実証された。

のアミノ酸残基の立体構造はほとんど同一であり、ヘムの化学修飾および Form A、Form B の二種類の配向は、Mb のタンパク質部分の立体構造にはほとんど影響を与えないことも明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① T. Shibata, Y. Nakayama, Y. Katahira, H. Tai, Y. Moritaka, Y. Nakano, and Y. Yamamoto Characterization of the Interaction between Heme and a Parallel G-quadruplex DNA Formed from d(TTGAGG), *Biochim. Biophys. Acta*, ページ数等未定 (2016). 査読有  
DOI: 10.1016/j.bbagen.2016.11.005
- ② T. Shibata, Y. Kanai, R. Nishimura, L. Xu, Y. Moritaka, A. Suzuki, S. Neya, M. Nakamura, and Y. Yamamoto Characterization of Ground State Electron Configurations of High Spin Quintet Ferrous Heme Iron in Deoxy Myoglobin Reconstituted with Trifluoromethyl Group-Substituted Heme Cofactors, *Inorg. Chem.*, 55, 12128-12136 (2016). 査読有  
DOI: 10.1021/acs.inorgchem.6b01360
- ③ Y. Kanai, R. Nishimura, K. Nishiyama, T. Shibata, S. Yanagisawa, T. Ogura, T. Matsuo, S. Hirota, S. Neya, A. Suzuki, and Y. Yamamoto Effects of Heme Electronic Structure and Distal Polar Interaction on Functional and Vibrational Properties of Myoglobin, *Inorg. Chem.*, 55, 1613-1622 (2016). 査読有  
DOI: 10.1021/acs.inorgchem.5b02520
- ④ Y. Yamamoto, M. Kinoshita, Y. Katahira, H. Shimizu, Y. Di, T. Shibata, H. Tai, A. Suzuki, and S. Neya

Characterization of Heme–DNA Complexes Composed of Some Chemically Modified Hemes and Parallel G-Quadruplex DNAs, *Biochemistry*, 54, 7168-7177 (2015). 査読有

DOI: 10.1021/acs.biochem.5b00989

- ⑤ M. Kinoshita, S. Takaya, T. Shibata, H. Hemmi, and Y. Yamamoto  
NMR Detection and Characterization of I-quartets in Parallel DNA Quadruplexes, *Chem. Lett.*, 44, 1107-1109 (2015). 査読有  
DOI: 10.1246/cl.150383
- ⑥ H. Shimizu, H. Tai, K. Saito, T. Shibata, M. Kinoshita, and Y. Yamamoto  
Characterization of the Interaction between Heme and a Parallel G-quadruplex DNA Formed from d(TTAGGGT), *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 88, 644-652 (2015). 査読有  
DOI: 10.1246/bcsj.20140374
- ⑦ T. Shibata, E. Furuichi, K. Imai, A. Suzuki, and Y. Yamamoto  
Effects of Heme Modification on Oxygen Affinity and Cooperativity of Human Adult Hemoglobin, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 19, 301-307 (2015). 査読有  
DOI: 10.1142/S1088424615500200
- ⑧ R. Nishimura, D. Matsumoto, T. Shibata, S. Yanagisawa, T. Ogura, H. Tai, T. Matsuo, S. Hirota, S. Neya, A. Suzuki, and Y. Yamamoto  
Electronic Control of Ligand-Binding Preference of a Myoglobin Mutant., *Inorg. Chem.*, 53, 9156-9165 (2014). 査読有  
DOI: 10.1021/ic5011924
- ⑨ R. Nishimura, T. Shibata, H. Tai, I. Ishigami, S. Yanagisawa, T. Ogura, S. Neya, A. Suzuki, and Y. Yamamoto  
Effect of the Electron Density of the Heme Fe Atom on the Fe-Histidine Coordination Bond in Deoxy Myoglobin., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 87, 905 - 911 (2014). 査読有  
DOI:10.1246/bcsj.20130331.
- ⑩ Y. Suzuki, H. Tai, K. Saito, T. Shibata, M. Kinoshita, A. Suzuki, and Y. Yamamoto  
Structural Characterization of Imidazole Adducts of Heme-DNA Complexes, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 18, 741-751 (2014). 査読有  
DOI: 10.1142/S1088424614500515

[学会発表] (計 3 3 件)

- ① Y. Yamamoto, K. Ochi, T. Shibata, H. Hemmi, and M. Hagihara  
Structural Characterization of G-Quadruplex DNAs Formed from Human Telomere-Related Sequences and Their Complexes with Heme, 58th Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference(ENC), 2017 年 3 月 26-31 日, Pacific Grove (USA).
- ② 並木孝介, 柴田友和, 鈴木秋弘, 根矢三

郎, 山本泰彦

デオキシミオグロビンとデオキシ西洋わさびペルオキシダーゼにおけるヘムの電子状態の比較、日本化学会 第 97 春季年会、2017 年 3 月 16-19 日、慶応義塾大学日吉キャンパス (神奈川県・横浜市)。

- ③ Y. Yamamoto, T. Shibata, Y. Katahira, Y. Nakayama, H. Tai, T. Matsui, K. Morihashi, A. Watanabe, T. Nakao, S. Yanagisawa, T. Ogura, A. Suzuki, S. Neya  
Characterization of Complexes between Hemes and Parallel G-Quadruplex DNAs, Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC 8), 2016 年 12 月 4-9 日, Auckland (New Zealand).
- ④ 渡邊美帆, 金井佑生, 西村龍, 柴田友和, 松尾貴史, 廣田俊, 鈴木明弘, 根矢三郎, 山本泰彦  
ミオグロビンの機能調節におけるヘムの電子構造の変化と遠位アミノ酸変異による影響、第 43 回生体分子科学討論会、2016 年 6 月 24,25 日、名古屋大学 野依記念学術交流館 (愛知県・名古屋市)。
- ⑤ 並木孝介, 柴田友和, 根矢三郎, 鈴木明弘, 山本泰彦  
ヘムの化学修飾がメトアジドミオグロビンのスピン平衡に与える影響、第 26 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム、2016 年 6 月 17,18 日、北海道大学学術交流会館 (北海道・札幌市)。

[図書] (計 1 件)

- ① Y. Yamamoto and T. Shibata, Novel functions of  $\pi$ -electron systems in a heme-DNA complex, *Chemical Science of  $\pi$ -Electron Systems*, T. Akasaka, A. Osuka, S. Fukuzumi, H. Kandori, and Y. Aso, eds. Springer, Chap. 43, 731-750 (2016).

[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.chem.tsukuba.ac.jp/yamamoto/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山本 泰彦 (YAMAMOTO, Yasuhiko)  
筑波大学・数理物質系・教授  
研究者番号：00191453

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

柴田 友和 (SHIBATA, Tomokazu)