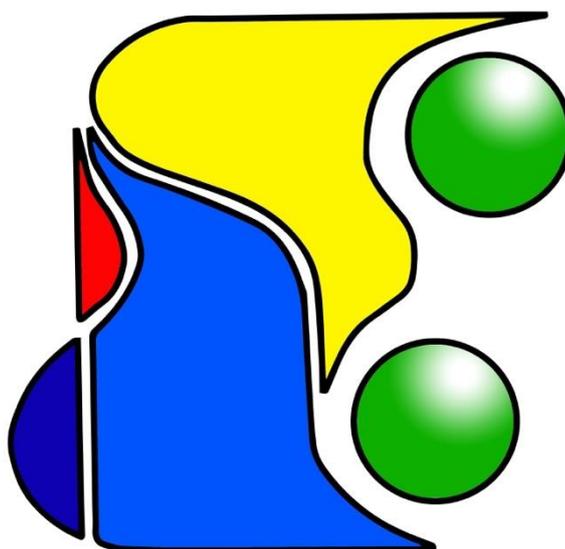


SPACC
先端錯体工学研究会

The Society of Pure and Applied Coordination Chemistry

News Letter

(October, 2020)



SPACC ニュースレター
(2020年10月号)

目次

1. 研究紹介

「ラマン散乱を利用したヒドロゲナーゼの新規活性測定法の開発」

兵庫県立大学 大学院生命理学研究科 西川 幸志

2. 2020年度 学生研究奨励賞募集のお知らせ

3. SPACC 一般会員および学生会員ご入会のお願い

4. 事務局より学生会員登録についてお願い

5. 今後の行事予定および事務局からのお知らせ

★賛助会員からのお知らせ

1. 研究紹介

ラマン散乱を利用したヒドロゲナーゼの新規活性測定法の開発

兵庫県立大学 大学院生命理学研究科 助教

西川 幸志

E-mail: nishikaw@sci.u-hyogo.ac.jp

【ヒドロゲナーゼ】

ヒドロゲナーゼは水素の分解および合成反応を触媒する酵素で、広く様々な生物に見いだされており、エネルギー代謝系において重要な役割を担っている。近年、二酸化炭素を発生させない次世代のクリーンなエネルギー源として水素が注目を集めているが、白金などの高価な金属触媒を必要とせず、安価に、しかも常温・常圧という温和な条件で非常に効率よく水素の合成・分解を行うことのできるヒドロゲナーゼの工業利用が有望視されている。しかしながら、ヒドロゲナーゼの触媒反応機構は未だ不明な点が多く、反応機構を明らかにすることは、生命活動における基礎科学的な知見を得るだけでなく、例えば、酵素を模倣した「より高効率な人工触媒」の設計などの工業利用への応用においても多大な貢献が期待できるものであり、重要な学術的テーマである。

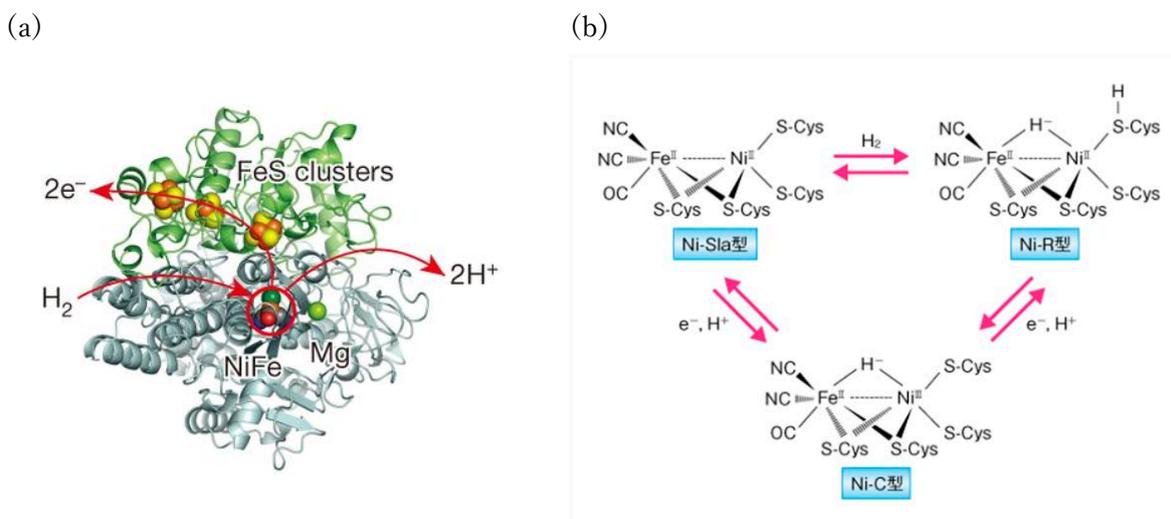


Figure 1. (a) [NiFe]ヒドロゲナーゼの全体構造, (b) 提案されている触媒サイクル

ヒドロゲナーゼの触媒反応は、1) 酵素分子内のガスチャンネルでの気体の拡散、2) 水素結合ネットワークを介したプロトン輸送、3) 鉄硫黄クラスターを介した電子の伝播の3つのステップから構成されている (Figure 1(a))。触媒反応を解明するためには、これら3つのステップを総合的に解析する必要がある。これまでに、種々の反応中間体 (Figure 1(b)) についての X 線結晶構造解析や分光学的測定、電気化学的測定が精力的に行われており、2) プロトン輸送や3) 電子の伝搬に関する研究は進められてきているが、1) 分子内での気体の拡散については他の2つほどは研究が進んでいないのが現状である。

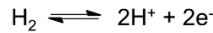
【ラマン散乱を利用するヒドロゲナーゼ活性測定法の開発】

ヒドロゲナーゼは、生理的な反応である水素の分解・合成反応に加えて、水素/重水素同位体交換反応、パラ/オルト核スピン異性体変換反応を触媒することが知られている (Figure 2)。同位体交換反応では、交換過程において電子の授受は関与せず、また核スピン異性体変換反応においては、ガスの拡散のみが影響すると考えられる。Figure 2 の3つの反応では、前述の3つの反応ステップのうち関与するステップがそれぞれ異なることから、これらの3つの反応を比較することにより、ヒドロゲナーゼの触媒反応解明のための知見が得られることが期待される。

従来の方法では、これら同位体・スピン異性体を一斉に(同時に)観測することができず、ガスクロマトグラフィーや質量分析など複数の測定手法を組み合わせる必要があった。また、反応系から気体サンプルを採取する必要があるため、サンプリングにより反応系内の圧力が変化してしまうなど反応系の状態を維持したまま測定を行うことが不可能であった。このように従来の測定法は操作が煩雑であり、測定点数を増やしたり、連続で測定することが困難であった。そこで、ラマン散乱を利用した測定法の開発を進めている (Figure 3(a))。ラマン散乱法では、レーザーを反応系の気相部分に導入し、気体からの散乱光を観測することで気体の情報が得られ (Figure 3(b))、また、1本のスペクトルから、同位体と異性体両方の情報を得ることができ、サンプル採取の必要なく連続測定が可能になる。

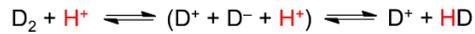
・水素の合成・分解反応:

Gas channel Proton pathway Electron transfer



・水素/重水素 同位体交換反応:

Gas channel Proton pathway



・パラ/オルト 核スピン異性体変換反応:

Gas channel

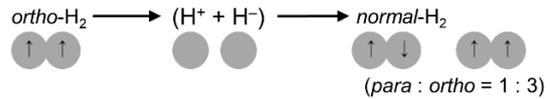


Figure 2. ヒドロゲナーゼが触媒する3つの反応

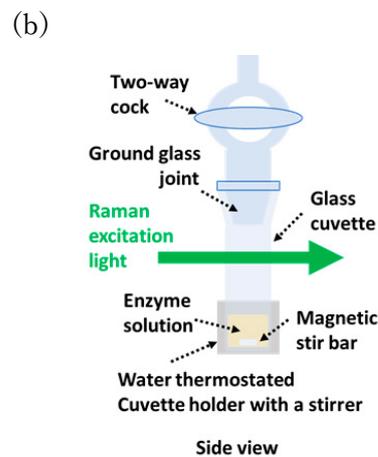
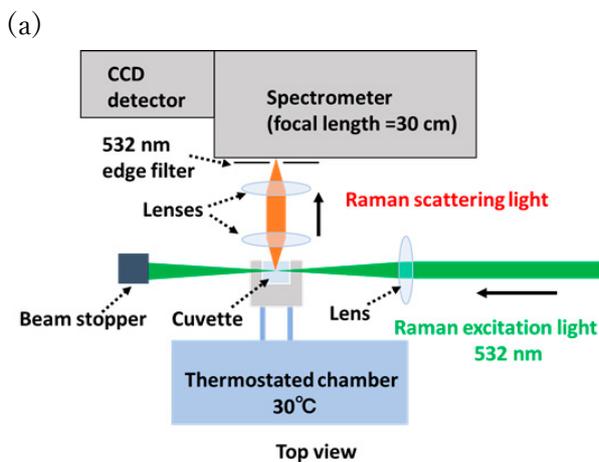


Figure 3. (a) ラマン散乱測定装置, (b) 測定セル

本測定装置を用いて、硫酸還元菌 *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F 株由来[NiFe]ヒドロゲナーゼ(DrMF H₂ase)による、水素/重水素同位体交換反応の連続測定を行った。測定セルに、1 mL の 5 μM DrMF H₂ase in 25 mM Tris-HCl pH7.4 を加え、2 方コック付きの栓で蓋をし、セル内部の気相を重水素ガス(D₂ガス)で置換した後にコックを閉じた。以降、反応系の温度を 30 °C に維持しながら、5 分間毎にラマン散乱強度を積算することで、連続測定を行った。結果を Figure 4(a), (b)に示す。

Figure 4(a)は反応開始後のある時刻のスペクトルを表したものであるが、H₂, HD, D₂に由来するラマンシフトが、1 本のスペクトル上で 4155, 3628 および 2987cm⁻¹にそれぞれ観測されており、また、パラ(p)/オルト(o)核スピン異性体に由来するピークもそれぞれきちんと分離され検出された。Figure 4(b)は、反応開始から終了までの各水素分子種に由来する散乱強度を時間経過に沿ってウォーターフォールプロットで表示したものである。D₂は指数関数的に減少し、HD は途中まで増加しその後減少に転じ、H₂は時間経過に伴って増加していることが観測された。

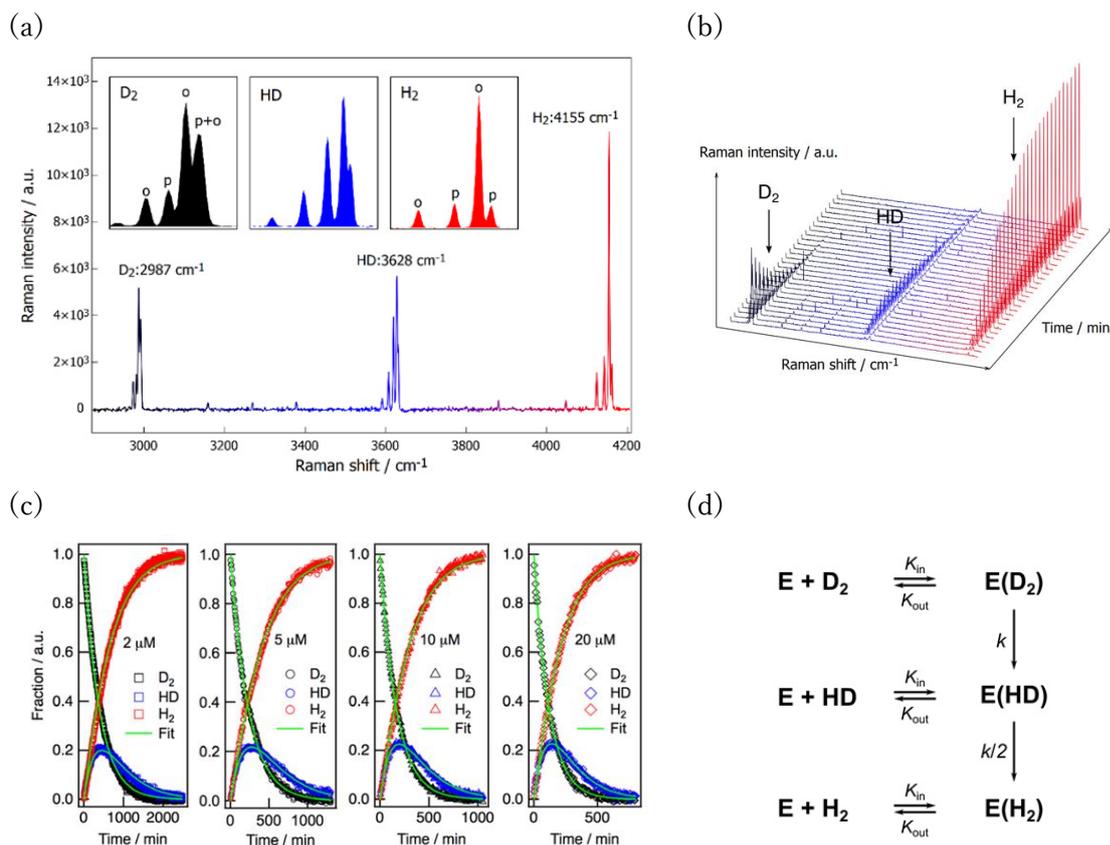


Figure 4. (a)水素分子種のラマン散乱スペクトル, (b)ヒドロゲナーゼによる同位体変換反応の時間変化, (c)同位体交換反応の酵素濃度依存性, (d)同位体交換反応の反応モデル

活性部位の構造から、水素/重水素交換は 1 原子交換反応で進むと予想されるため、D₂から H₂が生成されるためには、D₂ → HD → H₂の 2 段階の反応を経る必要があると考えた。この反応が分子間で起こる反応か分子内で起こる反応かを調べるため、

2, 10, 20 μM の 4 点の酵素濃度でも測定を行い、同位体交換反応における酵素濃度依存性を調べた。結果は、Figure 4(c)の通りいずれの酵素濃度においても同形状のプロファイルを示し濃度依存性が見られなかったことから、分子内で 2 段階の反応が起こっていることが分かった。そこで、Figure 4(d)のような反応モデルを考えた、E は活性部位、E(D₂)は活性部位に基質が結合(吸着)した状態を表しており、 $K_{\text{in}}/K_{\text{out}}$ は活性部位への基質の吸着/脱離反応速度定数、 k は活性部位での 1 原子交換反応速度定数である。

このモデルから得られる解析解を使って、Figure 4(c)の結果についてフィッティングを行ったところ、いずれの酵素濃度においてもよく一致した(緑色で表示)。

【今後の展開】

新規に開発したラマン散乱を利用する測定装置では、測定中に反応系内から基質をサンプリングする必要が無い(非侵襲的)ため、反応系内の圧力や基質の物質量などの補正不要で長時間の測定が可能である。また、溶液中の酵素に高輝度の励起光を照射しないため、酵素は物理的ダメージや温度上昇による変性・失活を免れる。本研究では、本測定システムを用いて、ヒドロゲナーゼを対象に水素/重水素同位体交換反応を追跡したが、今後は気相: H₂、液相: Tris-DCI と、H と D を取り換えた反応系や、パラ H₂ やオルト D₂ を基質とする反応系でヒドロゲナーゼが触媒する同位体交換反応や核スピン異性体変換反応についての詳細を調べ、本酵素の触媒反応機構を明らかにしていきたい。また、難溶性の気体分子 (N₂ や CH₄ など) を基質とする酵素の触媒活性定量へ応用することも考えている。

【文献】

- 1) W. Lubitz, H. Ogata, O. Rudiger, E. Reijerse, *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 4081-4148.
- 2) P. M. Vignais, *Coord. Chem. Rev.*, **2005**, *249*, 1677-1690.
- 3) F. Leroux, S. Dementin, B. Burlat, L. Cournac, A. Volbeda, S. Champ, L. Martin, B. Guigliarelli, P. Bertrand, J. Fontecilla-Camps, R. Marc, L. Christophe, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2008**, *105*, 11188-11193.
- 4) H. Ogata, K. Nishikawa, W. Lubitz, *Nature*, **2015**, *520*, 571-574.
- 5) A. Abou Hamdan, S. Dementin, P. Liebott, O. Gutierrez-Sanz, P. Richaud, A. De Lacey, M. Roussett, P. Bertrand, L. Cournac, C. Leger, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 8368-8371.

2020 年度 学生研究奨励賞募集のお知らせ

先端錯体工学研究会では、次世代を担う若い学生の研究を奨励するため、2019 年度より「学生研究奨励賞」を設け、本会分野である錯体関連およびバイオ・エンジニアリング関連の基礎および応用研究分野に関して、学術上優れた研究を行い、将来の発展を期待しうる学生会員を表彰することとなりました。本賞は、先端錯体工学研究会が関連する研究分野において、博士前期課程（修士課程）または博士後期課程（博士課程）において学生がそれぞれの立場で行った質の高い主体的な研究活動を積極的に評価、奨励するものです。学生の皆様には、下記要領で奮ってご応募されますようご案内申し上げます。

記

1. 賞の趣旨

先端錯体工学研究会に属する学生会員の研究を奨励するために、学術上優れた研究を行い、将来の発展が期待できる学生を表彰する。

2. 受賞者の決定方法

応募者の中から受賞者（若干名）を決定する。

3. 応募者の資格

応募者は、申請締切りまでに本会学生会員であり、過去に先端錯体工学研究会において、1 回以上口頭発表またはポスター発表（共同演者可）を行った学生とする。

4. 応募方法

応募用紙（後日、SPACC の HP 上にアップします）に所定の事項を記入後、SPACC 事務局宛に応募用紙の電子ファイルをお送りください。なお、指導教員の署名欄がありますので、自筆にて署名いただいたものを電子ファイル化（スキャナでの取り込み、写真撮影して画像ファイルとしたもの等）してください。応募が受領されますと、応募者と指導教員に受領通知を電子メールでお送りいたします。提出後、7 日経過しても受領通知の電子メールが届かない場合は、応募先までお問い合わせください。

5. 応募期間

2020 年 11 月 1 日～2020 年 11 月 30 日

6. 応募先及び問い合わせ先

先端錯体工学研究会事務局 松村有里子
jimukyoku@spacc.gr.jp

以上

3. SPACC 一般会員および学生会員ご入会のお願い

先端錯体工学研究会(SPACC)会員の皆様におかれましては、常日頃より本学会の活動にご支援・ご協力を賜り、誠にありがとうございます。学生様につきましてもご入会をお待ちしております。ご希望の場合、1 研究室あたり年会費 1,000 円で、20 名様まで入会・登録していただけます。SPACC が主催する国際会議において、ポスター賞の審査には、必ず学生会員登録が必要です。

[年会費]

・個人正会員

賛助会員: 50,000 円, 正会員 : 3,000 円

・学生会員 (1口) 1,000 円

(1 研究室で1口につき20名まで)

・法人会員 (1口)

維持会員: 10万円

一般会員: 2万円

振込先: 先端錯体工学研究会

・振込用紙を用いた郵便振込

00130-7-773549

・銀行からのお振込

ゆうちょ銀行

(金融機関コード: 9900)

〇一九店 (店番: 019)

当座 0773549

*学生会員の場合:

会費の振り込みの際は、担当教員名か研究室名を、通信欄あるいは振込者名に書き加えて下さい。**また、登録学生およびメールアドレスは、忘れずに事務局宛にお知らせください。**

[入会手続]

・電子メールによる手続

以下の URL に記載されているフォームをダウンロードするかコピーして必要事項をご記入の上、
jimukyoku@spacc.gr.jp 宛に送信してください。

個人正会員用: <http://spacc.gr.jp/page2e.html>

学生用会員: <http://spacc.gr.jp/page2f.html>

法人用: <http://spacc.gr.jp/page2g.html>

・郵送による手続

以下の URL に記載されているフォームをダウンロードして、必要事項をご記入の上、事務局宛に郵送して下さい。

個人正会員用: <http://spacc.gr.jp/page2e.html>

学生用会員: <http://spacc.gr.jp/page2f.html>

法人用: <http://spacc.gr.jp/page2g.html>

郵送先

〒141-8648 品川区東五反田 4-1-17

東京医療保健大学大学院

医療保健学研究科

松村 有里子

4. 事務局より学生会員登録についてお願い

平素は、本研究会活動の上にご協力を賜り、誠に有難う御座います。

学生会員登録の方法について、事務局からお知らせとお願いが御座います。

学生会員名簿の整理のため、
学生会員登録につきましては、年度毎に更新が必要となります。

「会費振込」に加えて、「メールまたは郵送により学生会員の登録」をお願い致します。

入力フォームと郵送先は、
SPACC の HP (<http://spacc.gr.jp/page2f.html>) に記載があります。

ご参照のほどをお願いいたします。

指導教員の先生方におかれましては、
所属する学生さんにご指導のほどを何卒宜しくお願い申し上げます。

以上、研究会のスムーズな運営のため、
ご協力のほどを何卒宜しくお願い申し上げます。

5. 今後の行事予定及び事務局からのお知らせ

主催

**The 27th International SPACC
Symposium (SPACC27)**

場所: 高知工科大学永国寺キャンパス
会期: 2021 年(時期未定)
(COVID-19 の影響により延期しました)
担当: 小廣和哉 (高知工科大)
伊藤亮孝 (高知工科大)
松本健司 (高知大学)
詳細は、追ってご連絡致します。

主催

**The 28th International SPACC
Symposium (SPACC28)**

場所: 台湾
会期: 2022 年(時期未定)
(COVID-19 の影響により延期しました)
担当: 天尾 豊 (大阪市立大学)
Kevin C.-W. Wu
(National Taiwan University)
詳細は、追ってご連絡致します

共催

**Pacifichem2021 シンポジウム(#127)
" New Directions in Homo/Heterogenous Catalysis of
Hydrogen Production and CO₂ Utilization "**

会期: 2021 年 12 月 (来年度に変更となりました)

会場: ハワイ、Hilton Waikiki Beach
アブストラクト提出締切(再): 日本時間 2021 年 4 月 12 日(月)

シンポジウム世話人:

Yutaka Amao, Yusuke Yamada, David E Herbert, Shi Zhang Qiao

編集後記

暑い以外に特に夏を感じることもなく、秋になりました。まだまだ戸惑うことも多いですが、それも楽しんで一つでも前に進んでいきたいと思えます。次号は、川本圭祐先生の追悼特集を予定しております。ご寄稿いただけます方は、11月15日までに桑村までご連絡のほどをお願い申し上げます。(桑村)

ニュースレター担当への問い合わせ方法

ご研究紹介等, SPACC ニュースレターへのご寄稿をしていただける場合や, 本会が主催または協賛するシンポジウムの情報は, 事務局までお気軽にお知らせください。

先端錯体工学研究会事務局

E-mail: jimukyoku@spacc.gr.jp

東京医療保健大学大学院 松村有里子

信頼・実績 No.1 !

超純水装置 Mill-Q® Integral MT

マルチアプリケーション対応装置・バリデーション可能



水質保証付き！ Water in a Bottled

分子生物学用水・細胞培養用水

「水割」プランでお得にまとめて購入可能！



メルク 水割

検索



 竹田理化工業株式会社

本社 〒150-0021 東京都渋谷区恵比寿西2-7-5 <http://www.takeda-rika.co.jp>

営業本部 TEL.03(5489)8511
 東京支店 TEL.03(5489)8521
 西東京支店 TEL.042(589)1192
 千葉支店 TEL.043(441)4881
 筑波支店 TEL.029(855)1031

いわき営業所 TEL.0246(85)0650
 鹿島支店 TEL.0299(92)1041
 湘南支店 TEL.0463(25)6891
 横浜支店 TEL.045(642)4341
 三島支店 TEL.055(991)2711

埼玉支店 TEL.048(729)6937
 高崎支店 TEL.027(310)8860
 宇都宮支店 TEL.028(611)3761
 延岡事務所 TEL.0982(29)3602