

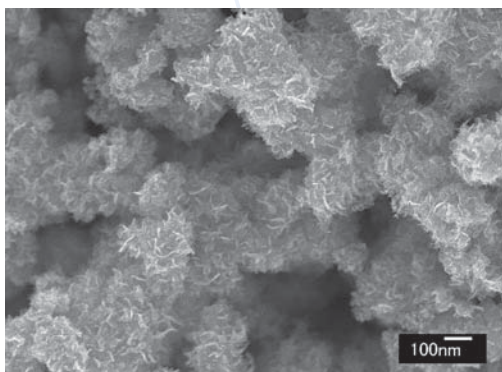
質量分析を変える「ナノの花」の開発

米澤 徹（化学専攻 准教授）

質量分析は、現代の科学になくてはならない分析手段のひとつである。物質の構成分子の質量を測定するものだが、最近ではタンパク質やDNAなどの分析が広く行われ、とくに新しい医薬開発のためのプロテオーム解析を行うバイオ関連分野や、有害な化学物質の迅速・簡易分析を行う必要のある環境分野において不可欠なツールである。質量分析を行うためには、対象物質を必ずイオン化しなくてはならない。このイオン化法は、ESI（エレクトロスプレーイオン化）法、FAB（高速原子衝突）法、APCI（大気圧化学イオン化）法などの方法がある。

そのなかでもマトリクス支援レーザー脱離イオン化質量分析法（MALDI-MS）は、島津製作所の田中耕一フェローが2002年にノーベル化学賞を受賞した分析手法としてよく知られている。田中フェローは、直径が30 nmのコバルト粒子をグリセリン中に分散して、その溶液をサンプルとともに基板に塗布した。さらにその基板にレーザーを照射したところ、壊れやすい高分子量の分子も破壊せずにイオン化（ソフトイオン化）することができ、質量を測定できることを見出したのである。

レーザー照射によって分子を破壊せずにイオン化するためには、被測定物にレーザー光を吸収させ気化させ、そこに、プロトンなどを付加してイオンにする必要がある。そのために、試料にマトリクス剤を添加して測定プレート上に塗布し、レーザーを照射してスペクトルを観察する。



■ 図1：白金のナノの花のSEM写真

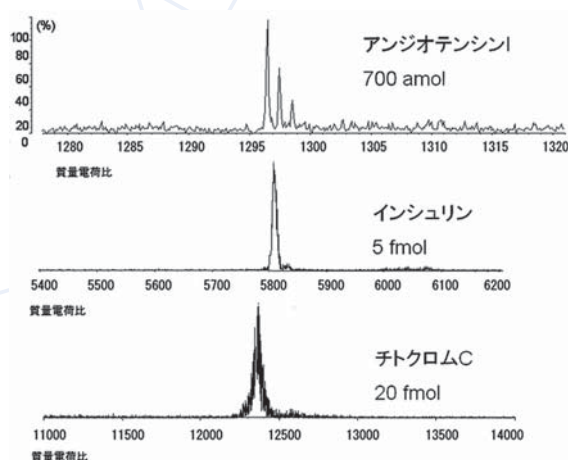
とくに、高分子量の物質では、プレート表面との相互作用力も大きくなるため、比較的大きなレーザーエネルギーを照射しなければ分子を脱離・イオン化できず、被測定分子を分解してしまうことになる場合もある。さらに、感度も低くなってしまう。

私たちは、関西大学化学生命工学部の荒川隆一教授、川崎英也准教授らとともに、さまざまな無機材料を利用した表面支援LDI-MS（SALDI-MS）の研究を行っている。ナノ粒子の化学的な作製技術を活かし、白金イオンの溶液の中で、水素化ホウ素ナトリウムという強力な還元剤を使用してイオンを還元させることによって、白金のナノサイズの粒子の表面に1-2 nmの厚みの花びら状の薄片を生やした構造を作製することに成功し、「ナノフラワー」と名づけた（図1）。そのナノフラワーをレーザー脱離イオン化法の測定プレートの表面に塗布したのち、サンプルとイオン化剤を塗布してLDI-MS測定した。私たちが白金を選んだ理由は、（1）融点が高く、レーザーによるダメージが少ない、（2）貴金属であって容易に表面が変性しない、（3）被測定物と反応しにくい、（4）黒色でレーザー光を吸収

するため、局所的に高温になり、脱離・イオン化しやすいという点が役立つであろうと考えたからである。

その結果、比較的大きな分子量をもつ分子でもソフトな脱離イオン化が可能で、さらにはひじょうに少量でイオン化ができることがわかった（図2）。さらに、無機粒子を使用しているため、有機マトリクスを利用した場合に見られる、マトリクス分子ならびにその分解ピークを抑制できる利点が見出された。その結果、高分子量のものはもちろんのこと、これまでMALDI-MSでは難しいとされた $m/z < 1000$ の低分子領域（ m/z は質量電荷比、すなわちイオンの質量（ m ）を電荷数（ z ）で割った値）での測定も容易となり、ドーピング検査、薬物検査などの簡易検査としてMALDI-MSが利用できる可能性が高くなった。これは、ナノの花びらが創り出すワザのひとつといえる。本研究は、科学研究費補助金の助成を得て行ったもので、H. Kawasaki *et al.*, *Journal of Physical Chemistry C*, **111**, 16278-16283, 2007に掲載された。

（2007年10月16日プレスリリース）



■ 図2：白金のナノの花を用いて観察したSALDI-MSスペクトルの例

高性能ミリ波吸収磁性材料

— 150 ギガヘルツを超えるミリ波吸収磁性材料の開発に成功 —

大越 慎一（化学専攻 教授）

画像情報をはじめとする大容量データ情報を伝送するための次世代方式として、現在、ミリ波（30～300 GHz）を用いた超高速無線通信法がたいへん注目を集めている。とくに、室内 LAN などにはミリ波を用いた高速無線通信が期待されている。ここ数年、米国の大手電機メーカーなどによりミリ波発生用の安価な相補型金属酸化膜半導体（CMOS）の開発も発表されており、100 GHz 領域のミリ波の使用が本格化してきている。いっぽう現在、この帯域でのミリ波を周波数選択的に吸収する材料がほとんどないため、電磁波干渉による装置の誤動作や発信機の事故破損などが危惧されている。今回、大越らは、30 GHz から 150 GHz 帯域におよぶ高い周波数のミリ波を吸収する磁性材料の開発に成功した。これまでの磁性体では 80 GHz 程度が限界であったため、電磁波吸収

材料として画期的な性能である。

絶縁性磁性体は自然共鳴によって電磁波を吸収する。そのさい、保磁力（ H_c ）の高い磁性材料ほど高周波数で共鳴することが期待される。最近、大越らは、イプシロン型 - 酸化鉄（ ϵ - Fe_2O_3 ）という特殊な酸化鉄の単相を化学的に合成することに成功し、室温で 20 kOe（キロエルンステッド）という金属酸化物磁性体で最大の保磁力を示すことを初めて報告した。今回、大越らは、このイプシロン型 - 酸化鉄の鉄イオンの一部をガリウムイオンで置換した、イプシロン型 - ガリウム酸化鉄（ ϵ - $\text{Ga}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_3$ ； $0.10 < x < 0.67$ ）ナノ微粒子（粒径が 30 ナノメートル程度）を化学合成し、ガリウム置換量に応じて 30 GHz から 150 GHz までの高い周波数領域でミリ波を有効かつ周波数選択的に吸収することを見出した。また、この系列の材料では、ガリウム

置換量により吸収可能な最高周波数が 200 GHz までに達することが理論計算で示唆された（図 1、2）。

イプシロン型 - ガリウム酸化鉄は、金属酸化物であるため長期間にわたって安定である。電磁波干渉抑制材料として、オフィスや医療室の壁への塗布のほか、車、電車、飛行機の胴体への塗布、また、その選択的な共鳴周波数を用いてミリ波発信機を安定化させるサーキュレーターやアイソレーターなどの新規ミリ波用電子デバイスへの応用も期待される。

この研究成果は、S. Ohkoshi *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 8392, 2007 に Inside Cover として掲載されている。また、本研究に関しては 24 件の特許出願を行っており、メーカーとの共同研究により量産化の準備も整っている。

（2007 年 10 月 25 日プレスリリース）

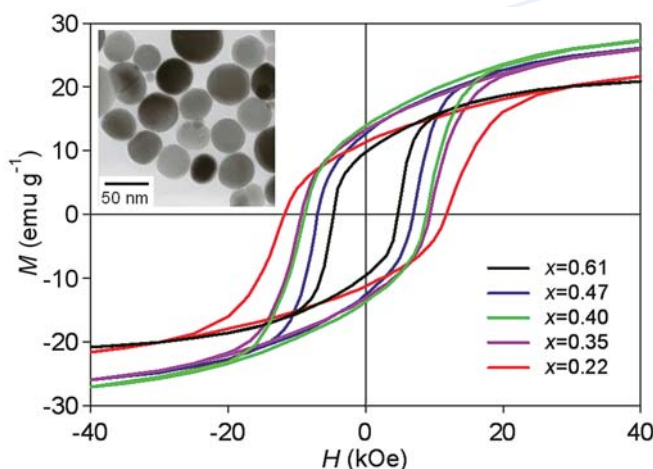


図 1： ϵ - $\text{Ga}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_3$ ナノ微粒子の室温における保磁力（ H_c ）。挿入図は、透過型電子顕微鏡像。

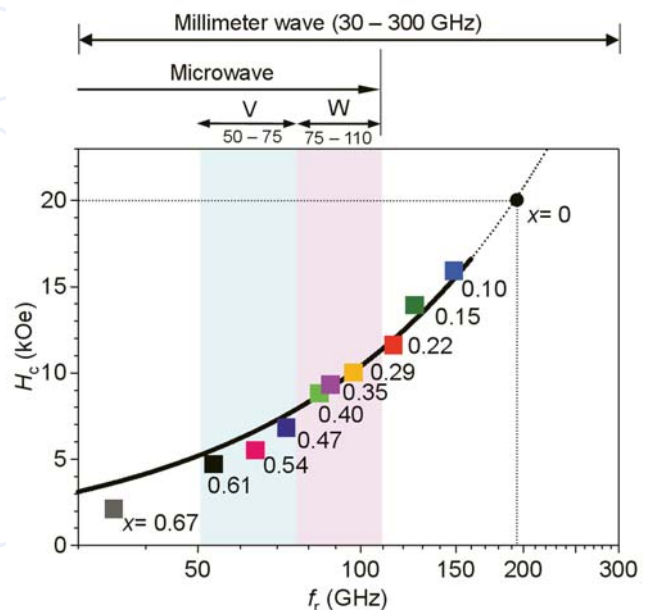


図 2： ϵ - $\text{Ga}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_3$ ナノ微粒子の室温におけるミリ波吸収周波数（ f_r ）と保磁力（ H_c ）の関係。自然共鳴によるミリ波吸収周波数と保磁力は、 $f_r = \alpha H_c$ （ α は係数）で関係づけられるため、 $H_c \rightarrow 20$ kOe（すなわち $x \rightarrow 0$ ）において f_r は 193 ± 8 GHz に達すると予測される。

ダイナミック自動車排ガス浄化触媒のリアルタイム解析 — 世界最速・最高精度の XAFS 解析で新現象を発見 —

唯 美津木 (化学専攻 助教), 岩澤 康裕 (化学専攻 教授)

シンクロトロン放射光を用いたエネルギー分散型X線吸収微細構造 (DXAFS) 法によって、高性能自動車排ガス浄化触媒のダイナミックな酸素吸蔵放出過程を初めてリアルタイムで観察、解析することに成功した。東大、豊田中央研究所、物質構造科学研究所放射光科学研究施設 PF の共同研究成果である。

地球規模、地域内を問わず環境問題への対応が求められる今日、安全安心な生活環境を保証するためにも、自動車排ガスを浄化する自動車触媒は人類文明を支える典型的な環境触媒である。自動車三元触媒 (Pt が主成分) は、 NO_x を還元して N_2 に、CO や炭化水素を酸化して CO_2 と H_2O に浄化する。すなわち、相反する酸化と還元を同時に行うことが要請されるため、ガソリンと酸素の比を 14.6 という量論比に常に保つ (酸素濃度を制御する) 助触媒が必要となる。助触媒には優れた酸素吸蔵放出能 (OSC: oxygen storage/release capacity) が求められ、 $\text{CeO}_2\text{-ZrO}_2$ 複合酸化物が代表的物質である。

本研究では、最高性能を示す実用触媒 (トヨタ車に搭載) の Pt / 結晶性 $\text{Ce}_2\text{Zr}_2\text{O}_8$ の OSC 過程での Ce 価数と Zr-O 結合の変化を、われわれの世界最速、最高精度をもつ時間分解 DXAFS で捉えた (図 1)。高性能実用プロセスを in situ (その場) 観察してプロセスを支配する因子と原理・機構を明らかにすることが国内外で求められていた。これまでは、気相での酸素圧を測定したり酸素伝導度を測定することはできても、実際にナノ触媒粒子の中を動く酸素が、Ce の酸化数や Zr の周りの構造をどのように変えるのかは調べる手段も乏しくまったくわかっていなかった。しかし、これらが触媒性能と直接関係する重要な構造・物性因子である。

本研究の結果、完全固溶結晶 $\text{Ce}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ の Ce 周囲と Zr 周囲が別々に変化すること、Ce 酸化数変化が最初に起こり、かなり遅れて Zr 周囲の構造が変化すること、さらに、Ce 価数変化は酸素量の変化と一致せず、 $\text{Ce}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ に酸素がほんの少し吸蔵するとすべての Ce^{3+} は一挙に酸化されてしまうことが分かった。773 K ではこの変化は、200 nm のサイズのナノ結晶全体が 1 秒で変化する速さである。いっぽう、同じ結晶内で Ce と隣合う Zr の周りの変化はずっと遅い。ナノ結晶に取り込まれた酸素は Zr と結合して Zr-O 結合を形成し、その数が増えていき、同時に Zr-O 結合距離が伸びる。この Zr 周囲の構造変化は 773 K の高温でも 6 秒程度かかる (図 2)。最終的には $\text{Ce}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ が $\text{Ce}_2\text{Zr}_2\text{O}_8$ になる。酸素が放出する過程も同様に Ce の変化と Zr の変化はシンクロナイズしない。

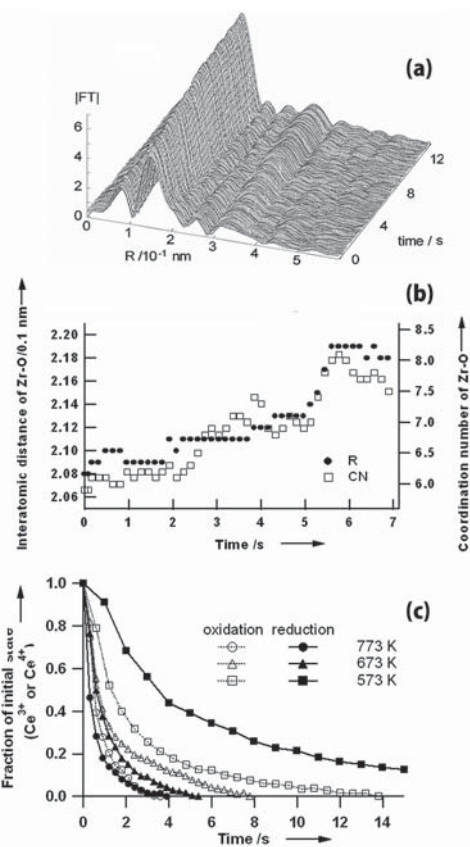


図 2: 773 K での Pt/ $\text{Ce}_2\text{Zr}_2\text{O}_8$ (x:7 or 8) の OSC 機能の 2 ミリ秒毎のリアルタイム観察。
(a) OSC 過程の Zr K 端 DXAFS フーリエ変換。
(b) OSC 過程での Zr-O 距離と配位数変化。
(c) OSC 過程での Ce 価数変化。

本研究で見出された現象は化学の常識と相容れない。fdp 軌道間混成による電子構造と電荷揺動現象が一因と思われるが、新現象の原理と機構は今後明らかにされるものと思われる。

本研究は、最近、IF 値 10 の *Angew. Chem. Int. Ed.* に、T. Yamamoto, et al., **46**, 1-5, 2007 として掲載された。

(2007 年 11 月 7 日プレスリリース)

Real-time Energy-dispersive XAFS

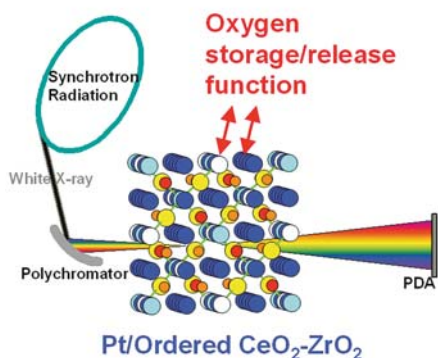


図 1: $\text{Ce}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ 結晶構造と DXAFS 測定原理

哺乳類の匂いに対する好き嫌いは先天的に決まっていた

小早川 高（生物化学専攻 特任助教）

匂い分子は鼻腔の奥に存在する嗅細胞によって感知される。嗅細胞の先端部分には匂い分子に対する化学センサーとして機能する嗅覚受容体分子が存在している。嗅覚受容体分子と匂い分子が結合すると、嗅細胞が活性化して電気パルスが発生する。この電気パルスは、脳の嗅球に伝達され、糸球とよばれる構造を活性化させる。匂い分子の情報は、嗅球では匂い地図とよばれる糸球の活性化パターンの画像情報へと変換されている。しかし、嗅球の匂い地図の情報を脳がどのように読み解き、情動や行動を引き起こしているのかというメカニズムは解明されていなかった。われわれは、嗅覚情報を処理する神経

回路の中から、自ら狙った神経細胞のみで、ジフテリア毒素がつくり出されるように巧妙にデザインされた遺伝子操作マウスを作製した。このマウスでは、ジフテリア毒素がつくり出された神経細胞のみが細胞死によって除去され、脳や体のほかの組織にはまったく影響が及ばない。したがって、哺乳類の脳の中の特定の神経細胞のみを正確に除去した際の、情動や行動への影響を調べるというこれまでにない研究を行うことができるようになった（図1）。

腐った食べ物や天敵から分泌される匂い分子は、背側と腹側の糸球を同時に活性化させるので、嗅球の背側の糸球を除去したマウス（背側ゾーン除去マウス）でも、



図2：背側ゾーン除去マウスは、猫の匂いを感知することができるのに、猫の匂いに対する先天的な忌避行動を示さない。おとなしい猫でなければ簡単に食べられてしまっただろう。

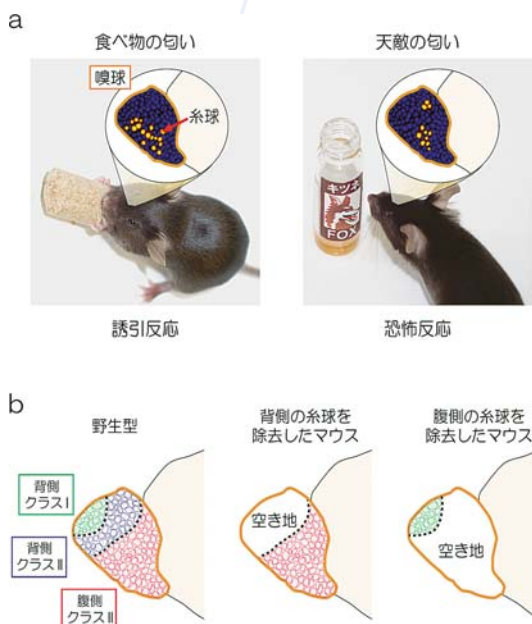


図1：a. 匂い分子によって活性化される糸球のパターンは匂い地図と呼ばれる。食べ物の匂いと天敵（キツネ）の匂いを嗅いだマウスの嗅球の匂い地図を模式的に示した。

b. 野生型マウスでは糸球は、背側クラスI（緑）、背側クラスII（青）、腹側クラスII（赤）の3つのグループに分類できる。遺伝子操作の方法を使って、背側の糸球を除去したミュータントマウスと、腹側の糸球を除去したミュータントマウスを作成し、匂い認識能力を調べた。

野生型マウスと同様にこれらの匂い分子を感知できるし、微妙な化学構造の違いを記憶したりすることもできた。しかし、遺伝子操作で背側ゾーンを除去したマウスは、野生型マウスとは違って、腐った食べ物や天敵から分泌される匂い分子に対する忌避行動をまったく示さなかった。天敵の匂いを嗅がせた際に、野生型マウスでは脳内のストレス経路が活性化され、血中のストレスホルモンが上昇するのにに対し、背側ゾーン除去マウスではこのような反応がまったく見られなかった。しかし、背側ゾーン除去マウスであっても、匂いを嗅がせた後に、痛みを与えて嫌悪感の学習をさせると、匂いに対する忌避行動を示すことができた。逆に、

腹側の糸球を除去したマウスは腐った食べ物の匂いに対して忌避行動を示した。これらの実験結果から、嗅球の背側の糸球によって匂いに対する先天的な忌避反応が引き起こされていることが明らかになった。また、腹側の糸球は後天的な匂いの学習などの別の機能を担っていると考えられた。

人によって匂いに対する嗜好性が異なっていることなどから、哺乳類では匂いに対する情動や行動は後天的に決まるとされてきたが、今回の発見はこれまでの常識を覆すものである（図2）。われわれはここで紹介した遺伝子操作によって神経回路を除去するという新しい研究方法を使って、哺乳類の脳が情動や行動を引き起こす原理の解明に迫りたいと考えている。

本研究は、Kobayakawa *et al.*, *Nature*, **450**, 503-508, 2007 に掲載された。

（2007年11月7日プレスリリース）

匂い受容体が嗅神経細胞で選択的に発現する仕組み

西住 裕文（生物化学専攻 助教）

嗅覚は、われわれ霊長類では視覚に頼って生活しているためにいくぶん退化しているが、恐竜たちが闊歩した時代に夜行性の生活を強いられていた哺乳類にとって、周囲を感知する上でもっとも重要な感覚であった。実際、視覚では、せいぜい数個の遺伝子が、光や色を感知するのに用意されているだけなのに対し、嗅覚では約千個もの匂い受容体 (odorant receptor: OR) が用意されており、ゲノム中で最大の遺伝子族を形成している。多数の OR が、どのように巧みに発現調節され、匂い分子の受容・識別に関与しているかについて最新の知見を紹介する。

マウスは約千種類の OR を用いてさまざまな匂い情報を受容している。鼻腔奥には約一千万個の嗅神経細胞が存在するが、それぞれは一種類の OR を選択的に発現し、限定された匂い分子を受容する機能を得ている。また個々の嗅神経細胞は、匂い分子の結合情報を電気信号として、軸索とよばれる電線を通じて、脳の前部に位置する嗅球へと伝達する。この嗅神経回路の配線接続も、どの OR を発現するかということについて重要な機能を果たしている (図 1)。

さまざまな遺伝子に関して、いつどこで、

どのように発現調節されているかという研究はこれまでにたくさん行われてきた。しかしマウス嗅覚系のように、各嗅神経細胞が約千種類もの OR 遺伝子群からひとつを選ぶ機構はほかに例がなく、ひじょうに興味深い研究テーマである。われわれのグループでは、以下のような OR 遺伝子の発現調節モデルを提唱してきた (図 2)。

① 約千種類の OR 遺伝子から直接ひとつを選ぶのではなく、複数の OR 遺伝子をまとめて制御する、遺伝子座調節領域 (locus control region: LCR) をまずひとつ選び、引き続いてその制御下にある OR 遺伝子からひとつを選ぶという正の制御機構

② 発現した OR 分子が、残りの OR 遺伝子の新たな活性化を阻止する負のフィードバック制御機構

そこでこれまでの研究をさらに推進するため、ゼブラフィッシュ胚を用いて、OR 遺伝子の発現を効率的に測定する方法を開発し、OR 遺伝子の活性化を容易に解析することを可能にし、既知の LCR (H 領域) を欠損したマウスを樹立し、その機能をマウス個体で解析した。

その結果、2100 塩基対ある H 領域から重要な領域を 124 塩基対まで絞り込んだ。この 124 塩基対の配列が、OR 遺伝子の発現に十分であることを遺伝子組み換えマウスを作製して確認した。そして、ゼブラフィッシュの OR 遺伝子群にも、マウスと

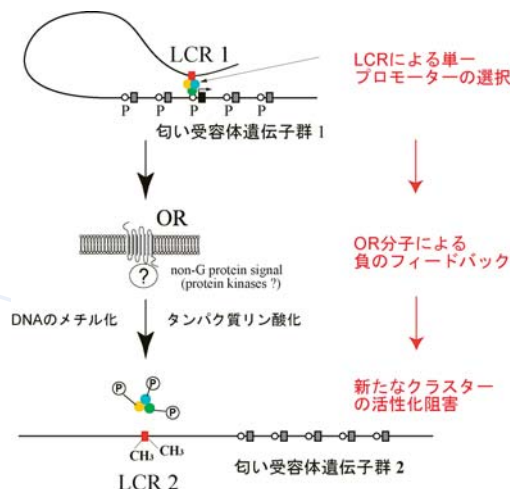


図2：まず遺伝子座調節領域 (LCR1) を介して、特定の OR 遺伝子群 1 が存在する遺伝子座が活性化され、LCR1 を介して、ひとつの OR 遺伝子が活性化される。いったん機能的な OR 分子が発現すると、OR からの未同定のシグナルにより、タンパク質のリン酸化や DNA のメチル化が生じ、他の OR 遺伝子群 2 などの活性が抑制されると考えられる。

同様に LCR が複数存在すること、魚類でも哺乳類と同様の機構で OR 遺伝子の発現が制御されていることを明らかにした。

われわれの研究から、まず、ゲノム上に複数存在し、複数の OR 遺伝子の発現をまとめて制御する LCR からひとつを選び、続いてその LCR が制御下にある OR をひとつ選ぶ仕組みになっていると考えられる。今後は、いったん発現した機能的な OR 分子が、残りの OR 遺伝子の新たな活性化を阻止する負のフィードバック制御機構を明らかにすることで、長年謎であった、匂い受容における巧妙な遺伝子の発現調節の仕組みがわかると期待される。本研究は、H. Nishizumi *et al.*, *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 20067-20072, 2007 に掲載されている。

(2007 年 12 月 6 日プレスリリース)

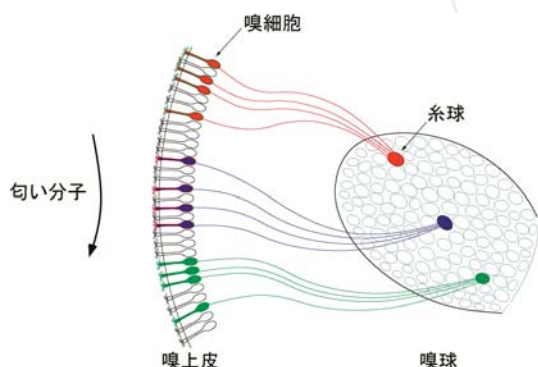


図1：鼻腔奥の嗅上皮上に存在する嗅神経細胞は、約千種類ある OR 遺伝子から一種類のみを選択的に発現する。そして、発現した OR 遺伝子の種類に応じて、嗅神経細胞はその軸索を嗅球の特定の位置に投射し、嗅神経回路が形成される。

謎の細胞内構造「中心子」の形成メカニズム

廣野 雅文（生物科学専攻 准教授）

動物や原生生物の細胞中には、中心体とよばれる構造があり、細胞内に放射状に広がる微小管の形成核として重要な働きをしている。その中心体の中央にあるのが中心子とよばれる小器官で、9本の短い微小管が円筒状に並んだ構造をもっている（図A）。中心子は鞭毛や繊毛の基部としての機能もあわせもつが、そのさいはこの9回対称性構造が鞭毛・繊毛の内部構造を規定する。中心子の特徴ある形は真核生物が誕生して以来、10億年以上も変わらずに保存されてきた普遍的なものだが、どのようにして形成されるのかは長い間の謎であった。われわれは単細胞生物クラミドモナスを使った研究によって、そのしくみの一端を明らかにすることに成功した。

クラミドモナスは2本の鞭毛をもっているが、中心子に異常が生じると鞭毛が生えなくなる。そこでわれわれは、鞭毛を失った突然変異体の中から中心子に異常をもつものを探した。得られた2つの変異体（*bld10* と *bld12*）の解析から、以下に述べるように、9回対称構造の形成にはカートホイールとよばれる構造

が重要であることが初めて明らかになった。

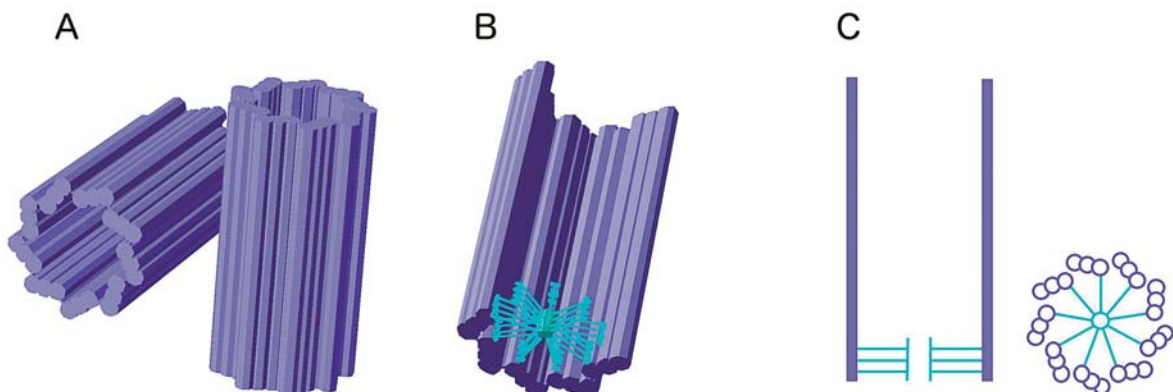
カートホイールは中心子形成過程の初期に現れる構造で、まさに車輪と同じように中央のハブと放射状に並ぶ9本のスポークから構成される（図B）。これまでも構造として知られてはいたが、機能は不明であった。われわれは以前に、変異体 *bld10* が欠失するタンパク質（Bld10 タンパク質）がカートホイールに存在することを明らかにしていた。今回、アミノ酸配列の一部を欠損させた短い Bld10 タンパク質を発現させたところ、8回対称性の中心子が高い頻度で形成される、という予期しない結果が得られた。原因を調べたところ、スポークが短くなってカートホイールの円周が小さくなり、そこに微小管が8本しか並べなくなるためであることがわかった。

また、もうひとつの変異体 *bld12* は、微小管が9本の中心子のほかに、7、8、10、11本のを形成する。中心子の9回対称性が揺らぐ変異体が見つかったのはすべての生物を通して初めてである。この揺らぎの原因を追求したところ、やはりカートホイールにあることが明らかに

なった。*bld12* では SAS-6 というカートホイールタンパク質が欠失し、それによってスポークの放射状配置が失われている。このためスポークの先端にある微小管形成の場が9個所に固定されなくなって、8回や10回対称性の中心子が形成されるらしい。

これらの結果から、中心子が形成されるときにはカートホイールが微小管形成の足場として機能し、9回対称性構造を安定化していることが示された。しかし今回の研究で、カートホイールに異常があっても中心子の多くは9回対称性を維持する、ということもわかった。このことは9回対称性が複数の要素で決定されていることを示唆している。今後は、それらカートホイール以外の要素の同定と、カートホイールそのものの9回対称性の形成機構の解明が課題となるだろう。これらの研究成果は M. Hiraki *et al.*, *Current Biology*, **17**, 1778-1783, 2007 および Y. Nakazawa *et al.*, *Current Biology*, **17**, 2169-2174, 2007 に掲載された。

（2007年12月6日プレスリリース）



中心子とカートホイールの構造を示した模式図。A. 9本の三連微小管が円筒状にならんだ中心子の9回対称構造。B. 中心子の内部にあるカートホイール（青い部分）。中央のハブから9本の細い繊維が放射状に並んだ構造をもつ。C. 中心子の縦断面と、底部の横断面