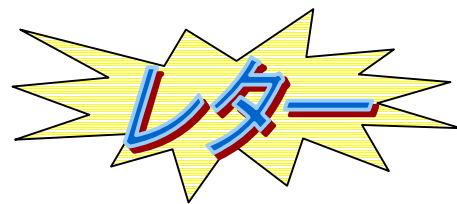


生命化学研究



No. 10 (2002 年 11 月)

巻頭言



今ががんばりどき

大阪大学大学院理学研究科

深瀬 浩一

小柴昌俊先生、田中耕一さんのノーベル賞受賞に沸いた秋でした。小柴先生の受賞は、超新星爆発によって生じたニュートリノを太陽系外ニュートリノとして初めて検出したことに対して与えられたものです。サイエンスにおける基礎研究の重要性をあらためて示していただいたものとして、基礎研究を指向する人間にとっては大変嬉しいものでした。もともとその検出装置であるカミオカンデは陽子崩壊を捉えようとしたものであり、現時点でもまだその証拠は捉えられていません。この実験が超新星爆発というこれ以上ない偶然の機会を得て、ニュートリノ天文学の創世という形で結実したのですから、サイエンスは本当におもしろい。壮大な無駄に終わる可能性も高かった中で、よくこれだけの実験を実現させたものだと感じるばかりです。あたるかはズれるかわからない、しかも経済的な面からは何の役にも立たない基礎研究にこれだけの予算を割くことができるという、日本経済の発展が背景にあって始めてなし得た研究でもあります。(ところで陽子の実際の半減期は理論から予測されるものよりも長いようですが、この結論はでているのでしょうか。)

一方、田中さんの受賞の発表が学会の最中で、参加者の間でも大きな話題になりました。共同受賞された3名の方の研究はわれわれにとってもなじみ深いものであり、生命化学を研究しているものとして田中さんの受賞は忘れ得ないものです。ところでMALDI Massの原理を最初に発表した人が田中さんであったとは、失礼ながら全く存じ上げませんでした。われわれはユーザーとして様々な装置を使って成果をあげ、それをサイエンスとして発表しています。測定法や測定装置の開発は応用研究としての側面がありますが、様々な研究を可能にするといういわば研究のための土台を築くものであり、その意味で基礎的なサイエンスとしての意義は高いといえます。

もともとサイエンスはわれわれ(物質からなる生命体)は何者なのか、どこからきてどこに行こうとしているのかを明かにすることを目指しています。いつの日にかその答えを見出すことができるかどうかについても定かではありませんが、そのために行う基礎研究は人類が存続していくための意義を見出しあるいはそのための方向づけに必要な知識の蓄積のために必ず必要なものです。またわれわれが携わっている生命科学では基礎と応用という明確な区別はもはや困難で、基礎研究の成果がそのまま応用に結びつくことが多くなっています。産官学の研究協力体制は、今後の科学や科学技術を発展させるためには必須のものだとは思いますが、だからこそ基礎研究の重要性が一般の方々にも認識されてほしいと思います。白川先生、野依先生を含めここ数年ノーベル賞受賞が続いておりますが、今回のお二人の受賞を含めてその契機となることを願っています。

さてこれらの輝かしい成果は第2次大戦後の科学技術研究を推進してきた長年の努力の賜であって、必ずしも現状を示しているのではない。最近は大学や研究所における研究費の額も増加して、研究環境は確かに改善されつつあります。税金を使って研究しているのですから、その使用について説明責任があるのは当然だと思いますが、短期に成果をあげることが要求される傾向にある。ある程度の成果を挙げるのは当然だとしても、そのために成果を挙げるためにリスクを回避する傾向が増大しないか心配です。これは科学にとどまらず、科学技術の開発研究にもあてはまることですが、リスクを回避した近視眼的な研究では既存の追試や改良に留まるのではないか。産業でいえば、先行技術を改良しつつ優れた製品を生み出すという二番手主義は以前は有効であったかもしれないが、多くの国の追い上げがある中ではもはや成り立たなくなっている。経済的には苦境が続いていますが、それでも日本は世界第2位の経済大国であり、まだ経済や産業には余力がある。それを目先の小さな成果にとらわれることなく、科学や科学技術の発展に投入することで、時代を切り開いていくような新しくかつ大きな成果が出てくるように思います。

この生命化学研究会では、生命を物質のレベルでの相互作用に基づいて解き明かしていくという大きな目標を掲げ、専門分野にとらわれることなく、多様な人間が集っています。生命現象を分子や原子のレベルで語るためには化学と生物のいわゆる境界領域における学際的研究を目指す他はありませんが、そのための勉強をするいい機会になっています。活発な学会の条件は参加者数はあまり問題でなく、討論が活発、参加者の知的好奇心が旺盛、酒が好き(飲めなくてもいろいろ話すのが好き)、発表していて楽しい、友人が多い、参加することでモチベーションがアップする、などなどいろいろありますが、生命化学研究会はこれら全てを満たしており、このような活発な研究会からすばらしい成果が出てくることを確信しています。

(ふかせ こういち: koichi@chem.sci.osaka-u.ac.jp)

コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 はプロコラーゲンのどこをどのように認識して結合し、そして何をしているのか？

徳島大学・工学部・生物工学科 小出隆規

1. はじめに

「コラーゲンという言葉聞いて何を連想しますか？」と、私はいろんなところでいろんな人に聞いてみる。大抵「お肌にいい」とか「ダイエット」という答えが返ってくる。飲み屋のお姉さんに仕事を聞かれ「コラーゲンの研究をしています」などと答えると「いいのができたら試供品をちょうだい」と言われサービスがよくなったりする。化粧品会社の研究員と間違われているようであるがそのままにしておく。少なくとも私の研究室の学生達は「コラーゲン」と聞けば「3本らせん」を思い浮かべてくれる(はずである)。

さて、コラーゲンは我々の身体に存在するタンパク質のうちで最も多く存在するものである。コラーゲンは細胞外マトリックスの主要成分として細胞の接着・分化・配向の制御など数え切れない生物活性を担っている。また、最近では組織や臓器の再建を目指した医学の分野において、細胞再生・分化のための「足場」として多く用いられる生体材料でもある。しかし、最近の狂牛病(BSE)騒動で家畜由来のコラーゲンの使用が難しくなった、という話を聞く。「じゃあ、遺伝子組み換えでたくさんつくればいいではないか」と思われる方もいるであろう。実は、それが難しいのである。

2. タンパク質界の異端児、コラーゲンの構造と生合成

コラーゲンは遺伝子にコードされたアミノ酸のポリマー、すなわちいわゆる普通のタンパク質である。しかし、「普通の」とよぶのがはばかられる、かなり異端児的な側面をもっている。まずはその構造である。コラーゲンの基本構造である3本らせんは、Gly-X-Yの繰り返し配列からなる polyproline II 型左巻らせんが緩く右巻の超らせんをとった構造である(図1)。この3本らせん構造からなるコラーゲンには、「普通の」タンパク質にみられる α 構造はない。さらに、コラーゲンの3本らせん構造には「普通の」タンパク質にはある疎水的コアもないし、ポリペプチド鎖内での主鎖アミド間での水素結合もない。それに加えて、コラーゲンの Gly-X-Y 配列中の Y 位プロリンは高度に水酸化を受けて 4-hydroxyproline (Hyp) になっている。

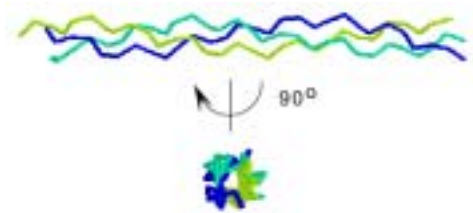


図1. コラーゲン3本らせんの構造

このようなコラーゲンのフォールディングは、どこで、どのようにして行われるのだろうか？大抵の生化学の教科書には(見たかのような)コラーゲンの生合成経路の絵が載っている(図2)。コラーゲンは、その前駆体であるプロコラーゲンとして小胞体内腔でフォールディングする。まず、C-プロペプチドで 3 量体となり、その後ファスナーを閉めるように C N の方向に3本らせんが形成される。また、体温で安定な3本らせん形成には一本鎖の段階での prolyl 4-hydroxylase による Y 位 Pro の Hyp への翻訳後修飾が必須である。この経路はもちろん正しいだろう。

しかし、このプロコラーゲンのフォールディング過程において、ひとり役者が抜けている。47-kDa Heat Shock Protein (HSP47)である。

3．出会いはひょんなこと

HSP47 は 1988 年に NIH 留学中の永田和宏によって発見された。御本人に伺うと「コラーゲンのレセプターを取ろうとしてゼラチンアフィニティーカラムをやったら、精製されたのがこれだった」とのこと。まさに serendipity の賜物である。この serendipity のお陰で私も糊口をしのいでいる次第である。

当時ペプチドの合成研究をしていた私は、ひょんなことで 1993 年から HSP47 の研究に携わることになり、(しばらくのブランクを経て)現在に至るまで HSP47 の機能解明を目指して研究を行っている。本稿では、最近の私達の知見を紹介しつつ、プロコラーゲンの構造形成における HSP47 の役割について概説したい。

4．HSP47。異端児の教育には異端のシャペロンを。

HSP47 はその名の通り熱ショックタンパク質である。すなわち、プロモーター領域に Heat Shock Element を有し Heat Shock Transcription Factor のストレス(熱)による活性化により、正の転写調節を受ける。HSP47 は通常の生育温度においても豊富なタンパク質でその発現はコラーゲンのそれとよく一致している。

ほとんどの熱ショックタンパク質(HSP、と呼ばれるタンパク質)はタンパク質のフォールディングを助けるタンパク質、いわゆる分子シャペロンである。普通の分子シャペロン(HSP70 や 90 など)はいろんなタンパク質のフォールディングを助ける。しかし、HSP47 はコラーゲンとしか結合しない。だが、コラーゲンである限り調べた全てのタイプに結合する¹⁾。HSP47 は他の HSP に多くみられる ATPase 活性を持っていないし、他の分子シャペロンのいずれのファミリーにも属さない。HSP47 は Serine Protease Inhibitor (SERPIN)スーパーファミリーの一員であるが、Inhibitory SERPIN ではない。また、HSP47 はおそらく小胞体に存在する唯一の HSP である。このように HSP47 はかなり異端のシャペロンである。

佐藤らの研究によって、HSP47 は小胞体で特異的にプロコラーゲンを捕まえ、cis-Golgi で解放するということが分かっている²⁾。どうやら定義的には「コラーゲン特異的分子シャペロン」と呼んでもよさそうである。また、*hsp47* 遺伝子をホモで欠損させたマウスは、種々のコラーゲン異常を示し胎生致死となったことから、少なくとも哺乳動物では HSP47 はコラーゲンの生合成に必須である³⁾。

「異端児(プロコラーゲン)の教育には異端のシャペロンが必要」と妙に納得できるものもあるが、その反面、何をしているのかよく分からない。「絵」が浮かんでこないのである。

5．HSP47 はプロコラーゲンのどこをどのように認識して結合するのか？

私が、本格的に HSP47 の研究をはじめた 1996 年頃は、シャペロンブームのまっただ中で、世界のいたる所で様々な HSP が様々な酵素の試験管内フォールディングを助けていた。しかし、私はそれをで

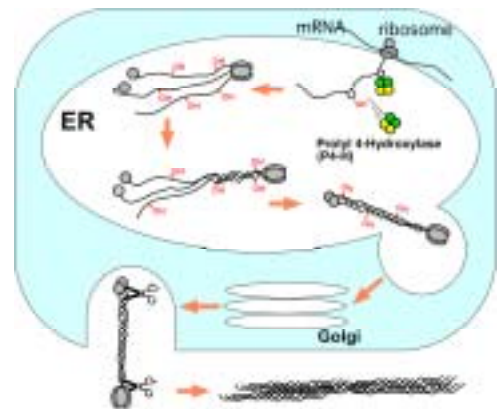


図 2. コラーゲンの生合成

きないでいた。まず基質であるコラーゲンがバッファーに溶けないのである。当たり前である。コラーゲンが水によく溶けるなら、私達は風呂に入ることができない。コラーゲンのこの性質はヒトとしての私には嬉しいものであったが、研究者としての私を困らせた。おまけに、コラーゲンには蛍光も、UV 吸収もほとんどないし、酵素活性もない。他の HSP で可能な *in vitro* の実験が HSP47 とコラーゲンのペアになると、ほとんど出来ないのである。

私は、コラーゲン様3本らせんを有するコラーゲン様タンパク質やコラーゲンの部分配列をもつたたくさんのペプチドを買ったり、貰ったり、合成したりして、HSP47 に結合する「溶けるコラーゲンもどき」を探した。空しくおよそ一年を費やした後、半ばやけくそになって買った(Pro-Pro-Gly)₁₀と(Pro-Hyp-Gly)₁₀を用いて思わぬデータが出た。最も単純化されたモデルである (Pro-Pro-Gly)₁₀ が HSP47 と特異的に結合したのである。HSP47 と結合するはじめての「コラーゲンもどき」の登場である⁴⁾。一方、(Pro-Hyp-Gly)₁₀ は結合しなかった。(Pro-Pro-Gly)_nを合成して HSP47 結合の鎖長依存性を調べたところ、鎖長が長くなるに従って HSP47 がよく結合するようになることが分かった。一本鎖に結合する prolyl 4-hydroxylase とこれらのペプチドとの結合を見てみると、鎖長と結合性との関係が HSP47 のそれとは逆の傾向を示すことが明らかになった。コラーゲンモデルペプチドは鎖長が長くなるに従って3本らせん構造の安定性が高くなるため、HSP47 は3本らせん構造をとった Pro-Pro-Gly の繰り返し配列を認識するものと考えられた。また、Y 位の Pro の 水酸化の割合が高くなるにつれて HSP47 とのアフィニティーが低下した。

これらの事実に基づいて私達は「HSP47 はプロリン水酸化が完了する前にフォールディングしてしまった欠陥コラーゲンに結合して、その分泌を抑制しているのではないか」という仮説を提唱し(てしまっ)た。ただし、後にこのストーリーが間違っていることに気付く(後述)。

気をよくした私は、次なる実験を計画した。先に同定した HSP47 結合配列(Pro-Pro-Gly)_nは単純化されたモデルペプチドであり、実際のコラーゲン中では Gly-X-Y の X および Y 位には様々なアミノ酸が組み込まれている。コンビケム的手法を用いて、最強の HSP47 結合配列を釣ってやろうという目論見である。ここでは酵母 two-hybrid 法をもちいた。図3に示すようなランダム化したコラーゲン様配列をコードするライブラリーを核酸合成により構築し酵母に発現させ、HSP47 を bait としたスクリーニングを行った⁵⁾。X 位をランダム化したライブラリーからヒットは得られなかったが、Y 位ライブラリーからは 88 個のポジティブクローンを単離できた。しかし、全配列を読んでみてびっくり、何もコンセンサス配列らしきものが無かったのである。その代わり選択された Y 位のアミノ酸には Arg と Pro が高度に選択されていた(図4a)。



図3. 酵母 two-hybrid スクリーニングに用いたコンストラクト

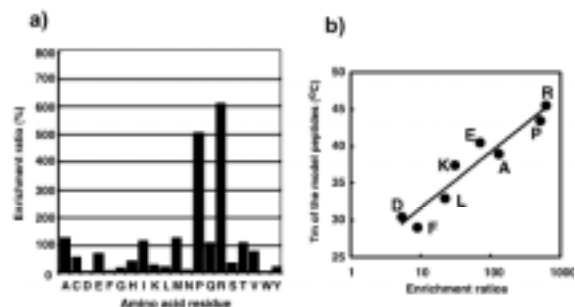


図4. a) HSP47 結合により選択されたペプチド中での Y 位アミノ酸残基の濃縮率。b) 3本らせん安定化への寄与の大きいアミノ酸ほど多く選択されていた。縦軸は Ac-(Gly-Pro-Hyp)₄-Gly-Pro-Y-(Gly-Pro-Hyp)₃-Gly-Gly-amide の変性温度

そこで、Brodskyらのコラーゲンモデルペプチド変性温度のデータを借用して、スクリーニング後のHSP47結合配列における各 Y 位アミノ酸の濃縮率と、Y 位アミノ酸の3本らせんの安定化への寄与の度合いをプロットしてみると、両者は強い正の相関を示すことが分かった(図4b)。つまり、この HSP47 結合性を指標とした two-hybrid スクリーニングは、3本らせんを形成しているか否かでペプチドの選択をしていたことになる。この予期せぬ結果によって HSP47 が3本らせん構造を認識して結合することが明らかになった。

ここまでの実験結果によって、HSP47 が(Pro-Pro-Gly)_n を認識しうることと、3本らせん構造を好んで結合することが分かった。しかし、本当の相手であるプロコラーゲンのどのような配列を認識して結合しているのかについては、この時点ではまだ分からない。

私達は、先の two-hybrid スクリーニングで高度に Arg が選択されたことに着目して、(Pro-Pro-Gly)_n や (Pro-Hyp-Gly)_n の配列中の Y 位アミノ酸に Arg を組み込んだペプチドを合成し、HSP47 との結合性を調べてみた。すると、前に HSP47 結合配列として同定していた Pro-Pro-Gly 配列よりもはるかに高い(オーダーが違う!)結合性を示した。さらにたくさんの「コラーゲンもどき」を合成し、それらの結合性を調べた結果、HSP47 が認識するコラーゲンの構造は3本らせん上の X-Arg-Gly(X は任意のアミノ酸)であることが判明した。念のため、天然のコラーゲンの Arg を特異的に化学修飾すると HSP47 と結合しなくなった(図 5a)。さらに HSP47 の Trp の蛍光消光を用いた結合アッセイ系で、コラーゲンの濃度を内部に存在する X-Arg-Gly の濃度に換算してやると、X-Arg-Gly をもつ合成ペプチドとほぼ同等のアフィニティーであった(図 5b)⁶⁾。やはり、この結論は極めて本当らしい。ということは、前述の「HSP47 は Pro-Pro-Gly 配列に結合して分泌されるプロコラーゲンのクオリティーコントロールをする」機能仮説が誤りであるということである。自分の誤りを自分で訂正できたのは幸いであった。

HSP47 は何をしているのだろう...

6 . HSP47 は何をしているのか?

「普通」の分子シャペロンは、フォールディングが完全でないタンパク質に結合することによって凝集を抑制したり、リフォールディングを助けたりする。やはり、HSP47 はシャペロン界の異端児であった。HSP47 はきちんとフォールディングした後のプロコラーゲンを認識して結合するのである。しかし、ナイーブな子供を教育せずに大人を教育(?)するシャペロンが、なぜ必須なのか?

驚くべき論文が今年発表された⁷⁾。"Type I collagen is thermally unstable at body temperature"、コラーゲンは体温でフォールディングできない、という論文である。この論文は、私達とライバルグループが提出した「HSP47 は正しくフォールディングしたプロコラーゲン中間体を安定化することにより、長い3本らせんの完

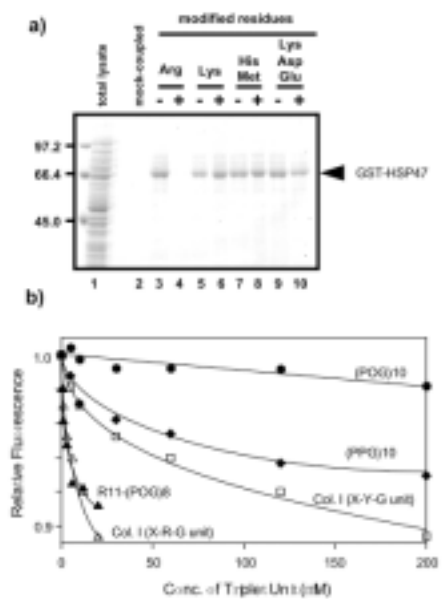


図5. a) Arg 残基を特異的に修飾したコラーゲンは HSP47 結合能を失う。b) Trp 蛍光消光を用いた HSP47 の基質結合の解析。Y 位に Arg をひとつ含む R11-(POG)8 は (PPG)10 よりもはるかに強く結合する。また、タイプ I コラーゲンを X-Arg-Gly トリプレット濃度に換算すると R11-(POG)8 の結合曲線とよく一致する。

成を助ける」という新しい仮説を支持するものであった^{5,6,8)}。この仮説は、HSP47 が HSP である(温度が上がると増える)ことにも矛盾しない。しかし、HSP47 が結合することによって本当に3本らせんが安定化されるか、あるいはフォールディングが促進されるかについては、未だ実証されていない。

もうひとつの仮説は「HSP47 は小胞体内でプロコラーゲンが凝集することを防ぐ」というものである。私達の結合解析の結果は、この考え方にも矛盾しない。HSP47 が認識する Arg 残基は静電的相互作用によって3本らせん間の側面的相互作用にも関わっているからである。実際 Golgi ではプロコラーゲンは側面的に集合していることが最近になって証明されている。

ようやく「絵」が見えてきた。ここまでのまとめとして、見たよ様な「絵」を図6に載せる。

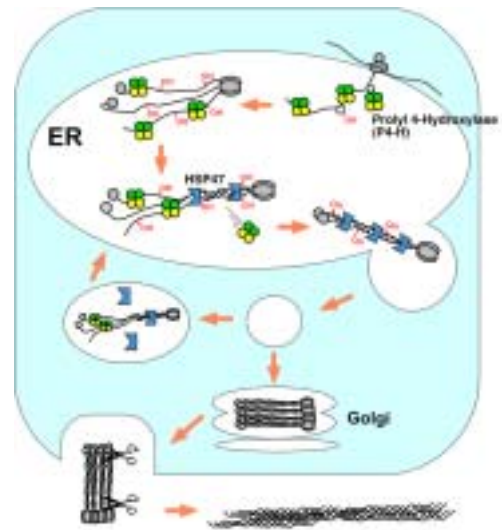


図6. コラーゲンの生合成(改訂版)。HSP47(青)は3本らせん上の X-Arg-Gly トリプレットに結合する。P4-H(緑黄)は1本鎖に結合して、分泌されるプロコラーゲンのクオリティーコントロールを担う分子シャペロンでもあるらしい(data not shown)

7. そして私には何ができるのか？

コラーゲンは生体材料として再生医工学の分野で重要なものである。しかし、「普通の」遺伝子工学的な手法では、おそらく生産は不可能である。本稿で紹介したように異端児コラーゲンを生み出すためには、異端の脇役が必要であるからである。現在、様々なホストを用いて人工的なコラーゲンの生産の試みが行われている。しかし、実用化までにはまだまだ遠いのではないかと私は思っている。この目的のためには、まずプロコラーゲンの構造形成過程そのものを分子のレベルで解明することが重要であると考えている。

私達の研究は、「HSP47 がプロコラーゲンのどこを認識するのか？」という問いには、明確な答えを与えることができたものの、「何をしているのか」についてはまだ空想科学小説の域を出ていない。これからも、デザインし合成した「コラーゲンもどき」の利点をフルに活用して、「見たよ様な」ではなく「見た」絵を描きたい。

8. おわりに

本稿では、現在私達が行っている研究の主軸をなしている、プロコラーゲン特異的分子シャペロンに関する研究について紹介させて頂いた。紙面の関係(筆力の関係)で、コラーゲンに結合する別のタンパク質⁹⁾や人工コラーゲンミメティクス¹⁰⁾等に関する研究については全く触れることが出来なかったが、いずれどこかで御紹介させて頂きたい。

この研究を行うにあたっては、京都大学再生医科学研究所永田研および徳島大学の私のグループを中心とした多くの方々の御協力、御支援を頂いた。この場をかりて謝意を表します。また、新入会員である私にこの研究紹介を書く機会を与えて下さいましたことに深く感謝いたします。本稿を通じて、ひとりでも私の研究と私に興味を持っていただければこの上ない喜びです。

文献

- 1) Natsume, T., Koide, T., Yokota, S-i., Hirayoshi, K., Nagata, K., *J. Biol. Chem.*, **269**, 31224-31228 (1994)
- 2) Satoh, M., Hirayoshi, K., Yokota, S-i., Hosokawa, N., Nagata, K., *J. Cell. Biol.*, **133**, 469-483 (1996)
- 3) Nagai, N., Hosokawa, M., Itohara, S., Adachi, E., Matsushita, T., Hosokawa, N., Nagata, K., *J. Cell. Biol.*, **150**, 1499-1505 (2000)
- 4) Koide, T., Asada, S., Nagata, K., *J. Biol. Chem.*, **274**, 34523-34526 (1999)
- 5) Koide, T., Aso, A., Yorihuzi, T., Nagata, K., *J. Biol. Chem.*, **275**, 27957-27963 (2000)
- 6) Koide, T., Takahara, Y., Asada, S., Nagata, K., *J. Biol. Chem.*, **277**, 6178-6182 (2002)
- 7) Leikina, E., Merts, M.V., Kuznetsova, N., Leikin, S., *P. N. A. S.*, **99**, 1314-1318 (2002)
- 8) Tasab, M., Batten, M.R., Bulleid, N.J., *EMBO J.*, **19**, 2204-2211 (2000)
- 9) Matsushita, O., Koide, T., Kobayashi, R., Nagata, K., Okabe, A., *J. Biol. Chem.*, **276**, 8761-8770 (2001)
- 10) Koide, T., Yuguchi, M., Kawakita, M., Konno, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9388-9389 (2002)

著者プロフィール



小出 隆規 (Takaki Koide)

1994 年京都大学薬学研究科博士課程修了。製薬会社研究所および米国 Joslin Diabetes Center を経て、1996 年より京都大学再生医科学研究所にて科技団 CREST 研究員。1999 年徳島大学工学部生物工学科助手。2001 年より講師。

E-mail: tkoide@bio.tokushima-u.ac.jp



研究紹介

ヘム分解を追う - ヘムオキシゲナーゼの構造と触媒機構 -

久留米大学医学部医化学講座

坂本 寛 (sakamoto@med.kurume-u.ac.jp)



ヘムは生命にとって必須の色素である。通常ヘムは数多くのヘム蛋白の補欠分子族として多様な機能を受けもっているが、蛋白質の寿命がくると蛋白部分とわかれて分解されていく。ヘモグロビンだけで1日あたり8g、ヘムにして300mgが分解されているという。当然ながらどのヘム蛋白もいつかは壊れる運命にある。そして、これに付随して起こるヘムの代謝的分解を一手に引き受けているのが、ヘムオキシゲナーゼ(HO)である。

HOは小胞体の内腔側に存在する膜酵素で、所在を同じくするNADPH-シトクロムP450還元酵素から電子の供給を受けている。この酵素がユニークなのは、基質として取り込まれたヘムが自己触媒的に分子状酸素を活性化して、 α メソ位を特異的に開裂し、ピリベルジンを生じる点である(図1)。酵素反応は3つのステップからなり、中間体として α -ヒドロキシヘム、ベルドヘムを経る。遊離したピリベルジンはさらに還元されてビリルビンとなり排泄される。ビリルビンは単なる老廃物ではなく、活性酸素を除去する抗酸化作用を有する。しかし、大量に蓄積されると細胞毒性を示す。また、ヘム分解では、 α メソ炭素(α C)由来の一酸

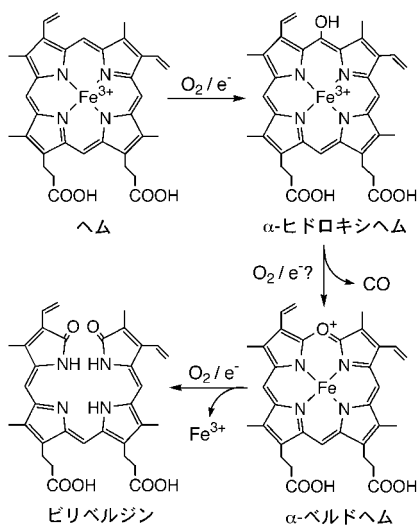


図1. ヘム分解過程

化炭素(CO)および鉄も生成されるが、これらも生体にとって有益かつ有害という二面性を持っている。なぜ、ヘムにとって迷惑この上ないCOを自ら生じるのか、理解に苦しむところだが、近年、一酸化窒素との類似性からCOのガス性情報伝達物質としての機能が示唆されている。ヘム分解のもつ生理的意義の解明は今後の研究に委ねられているが、はっきり言えるのは、これは単なる代謝の終末ではなく、新たな生理活性物質生成の出発点だということである。

ここでは、最近明らかになったHOの立体構造に基づいて、基質ヘムの取り込みと第1ステップにおける酸素活性化機構を推定する。また、第2ステップの電子要求性に関する取り組みについても紹介したい。

HOの立体構造

HOはどの細胞にも発現しており、2つのアイソザイム(HO-1とHO-2)がある。HO-1は肝・脾などで高度に発現しており、様々な酸化ストレスによって誘導されるため、生体防御機構の一つとして考えられている。一方、構成型のHO-2は、COを介する情報伝達系への関与が示唆されているが、確実ではない。両アイソザイムの相同性はHO-2のN、C両末端を除くと6割近くに及び、活性部位に想定される配列もよく保存されているため、触媒機構は同一と考えられている。我々

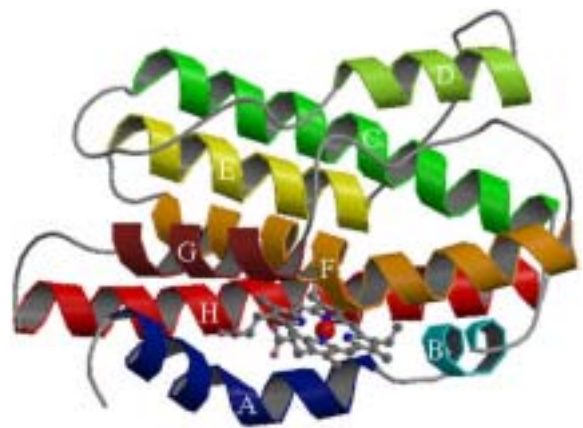


図2. ヘム・HO-1 複合体の結晶構造

は、ラットHO-1 (389残基)のC端膜結合部分を除いた可溶性酵素(267残基)を実験に用いている。HOは単純蛋白質であるが、ヘムを結合した酵素・基質複合体はヘム蛋白の性質をもち、構造も安定化する。よって、まずヘム・HO-1複合体の結晶化を試みた。

図2にヘム・HO-1複合体の結晶構造を示す¹。この蛋白質は8本の α -ヘリックスからなり、ヘムは近位と遠位の両側から2つのヘリックス(A, F)に挟まれていた。近位ヘリックス(A)には近位配位子のHis25が存在する。遠位ヘリックス(F)は β, γ, δ -メソ炭素を覆うようにヘム上で折れ曲がっており、第1ステップの α C選択性はこの立体的制約によるものと解釈できる。興味深いことに、ヘム鉄近傍には、ヘム蛋白一般に見られる遠位Hisはおろか他の解離性アミノ酸側鎖が全く存在しなかった。そのかわり、Fヘリックスの折れ目にあたるGly139カルボニル基とGly143アミド基が最もヘム鉄に接近しており、ヘム鉄の結合水との距離がそれぞれ2.9 と2.6 であった(図3)。結晶化はpH 8.5で行われたため、この結合水はOHと考えている。

ヘム結合における誘導適合

最近、我々はヘムを含まないHO-1単独の結晶構造も解くことができた²。ここではヘム酵素にならない、HO-1単独をアポ体、ヘム複合体をホロ体と称する。アポ体ではAヘリックスの電子密度が全く現れず、FヘリックスもGly143から後の構造に乱れが生じ、ヘムポケットの外側に逸れていた(図3)。細かいところを見ると、ホロ体ではGln38側鎖がAヘリックス上のGlu29主鎖カルボニル基と水素結合を形成し、Aヘリックスの構造安定化に寄与していたが、アポ体ではヘムの結合位置に向かって側鎖を伸ばしていた。図

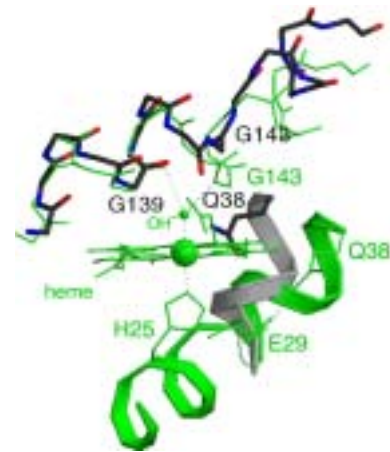


図3 . ヘム・HO-1複合体(緑)とHO-1単独(炭素:黒、窒素:青、酸素:赤)のヘムポケット近傍の比較

には示していないが、ホロ状態でヘムのプロピオン酸と静電結合していたLys179とArg183は、アポ体でもその位置に変化は無かった。一方、ヘム結合に関与しない部分はアポ、ホロ間でほとんど違いが無く、特にC, E, Hヘリックスから成る疎水性コア部分のコンホメーションはよく保存されていた。つまり、ヘム結合による構造変化は基質結合部位に限定されていた。

これらアポおよびホロ構造の比較からヘム結合様式を考えると、まず、ヘムは静電的相互作用によって開放状態の基質結合部位に近づき、その後、ヘムを包み込むようにヘムポケットが形成されるという誘導適合モデルを提唱できた(図4)。このモデルはあくまでHOについてのものだが、モルテングロビュール状態のアポミオグロビンにおいてもヘム結合部位の近位側が非構造化していることが知られている。ひょっとすると、このモデルは一般的なヘム蛋白の成熟過程を考える上でヒントになるかもしれない。

酸素活性化機構



図4 . ヘムオキシゲナーゼのヘム結合様式

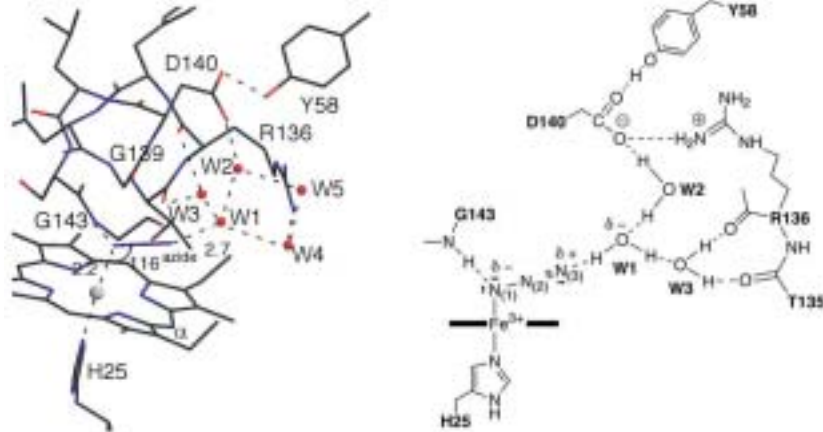


図5. アジド・ヘム・HO-1複合体の立体構造(左)とアジドの結合様式(右)

HOによるヘム分解は αC の特異的水酸化によって開始されるが、この第1ステップの酸化活性種はこれまでの研究から、 Fe^{3+} ヒドロペルオキシド($\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$)であると推定されてきた。このことは、ペルオキシダーゼやP450などのヘム酵素では、 $\text{Fe}^{4+}=\text{O}$ ポルフィリンカチオンラジカル(compound I)が酸化活性種とされる事実ときわだった違いである。 $\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$ はヘム酵素ではcompound 0とよばれ、O-O結合のイオニックな解裂によりcompound Iを生成するが、非常に短寿命の化学種とされている。ではなぜ、HOではこれが反応種となりうるのか。そのカギは、HO活性部位の特殊な構造にありそうである。特に、ヘム鉄に最も近接したGly143アミド基の関与が強く示唆された。

そこで、酸素活性化状態の構造を詳しく調べるため、酸素結合型モデルとしてアジド(N_3^-)が酸化型ヘム鉄に結合したアジド・ヘム・HO-1複合体の結晶構造を解析した³。このアジド体の構造を前述のヘム・HO-1複合体と比較すると、結晶化条件(pH 7.0)および結晶のパッキングが異なっているにもかかわらず、全体構造はもちろんのこと、アジド周辺のアミノ酸残基の構造、さらにヘム遠位側の5つの水分子(W1~

W5)の位置までほぼ完全に保存されていた(図5)。アジドは、予想通り αC に向かってヘム平面にほぼ水平($\angle\text{Fe}^{3+}\text{-N(1)-N(3)} = 116^\circ$)に結合し、Gly143アミド基およびW1と水素結合可能な距離にあった。

以上の結果から、我々はHOの αC 水酸化機構について次のような仮説を立てた(図6)。まず、還元型ヘム鉄に酸素分子が結合する際、Gly143アミド基とW1はこの結合を安定化する。このとき酸素分子は αC に配向しているはずである。W1は水素結合ネットワークを介してAsp140側鎖やペプチド主鎖カルボニル基と相互作用しているため、プロトドナーとしての性質をもつ。したがって、酸素分子がさらに1電子還元されて活性化すると、W1から速やかに H^+ の供給を受け、 $\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$ となる。こうして、正に荷電された末端酸素原子は、 αC を求電子攻撃して水酸化が起こり、もう片方の酸素は OH^- となり、ヘム鉄上に残る。

ペルオキシダーゼでは、ヘムから少し離れた位置に遠位Hisが存在し、 $\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$ の末端酸素原子を H_2O として引き抜き、compound Iの生成に役立っている。我々の αC 水酸化の仮説では、O-O結合のheterolysisにおける電子の動きが、compound Iの生

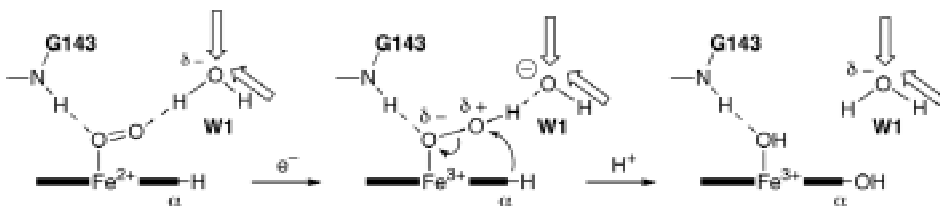


図6. ヘムオキシゲナーゼ反応の第1ステップにおける α メソ炭素水酸化機構

成の場合と逆になっていることに注目していただきたい。一方、酸素貯蔵体のミオグロビンでは遠位Hisが比較的ヘムに近い位置にあり、仮に $\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$ が生じても、2つの酸素原子と水素結合可能であるため、解裂を防いでいると考えられている。ミオグロビンが弱いながらもヘム分解能とペルオキシダーゼ活性を合わせもつことは我々の説を支持する傍証である。

CO発生過程における電子要求性

第2ステップについては、酸素と共に電子が必要であるという報告⁴(図7A)と、酸素のみで起こると主張する報告⁵(図7B)の対立があった。我々は化学合成した α -ヒドロキシヘムを用いてHO-1との複合体を嫌気条件下で調製し、このステップの化学量論的な検討を試みた⁶。電子スピン共鳴(ESR)解析より、HO-1に結合している α -ヒドロキシヘムは鉄3価高スピン型と鉄2価低スピン型 π -ニュートラルラジカル体の2つの状態をとることがわかり、後者はCOなどの第6(遠位)配位子の結合によって優勢になる。厳密な嫌気条件下 α -ヒドロキシヘム・HO-1複合体に酸素を少量ずつ添加していくと、外部から電子を加えていないにもかかわらず吸収スペクトルに変化が生じ、約1当量の酸素を消費したところでCO結合型及び非結合型ベルドヘムに特徴的なスペクトルが現れた(図8)。生成したベルドヘムはCOと可逆的に結合し、またESR-silentであることからヘム鉄は2価であると判明した。さらにこのベルドヘム中の鉄を酸化すると鉄3価低スピン型ヘム蛋白に見られるESRシグナルを示し、遠位配位子としてOHの存在が示唆された。このことは化学合成したベルドヘム標品を用いた実験からも確認できた⁷。

以上の結果から、我々は、 α -ヒドロキシヘムの π -ニュートラルラジカル体に酸素が付加し、COの遊離を伴って鉄2価ベルドヘムが生じる機構を提唱した(図7C)。 α -ヒドロキシヘムおよびベルドヘムについては、酸素及び還元剤に対する反応性をさらに詳しく検討し、この変換反応には外部からの電子の供給を必要としないとの結論に至っている⁸。ただし、電子の収支を計算すると、この説ではOHではなく、それより1電子足りないOHラジカルあるいは $1/2(\text{H}_2\text{O}_2)$ と等価の組

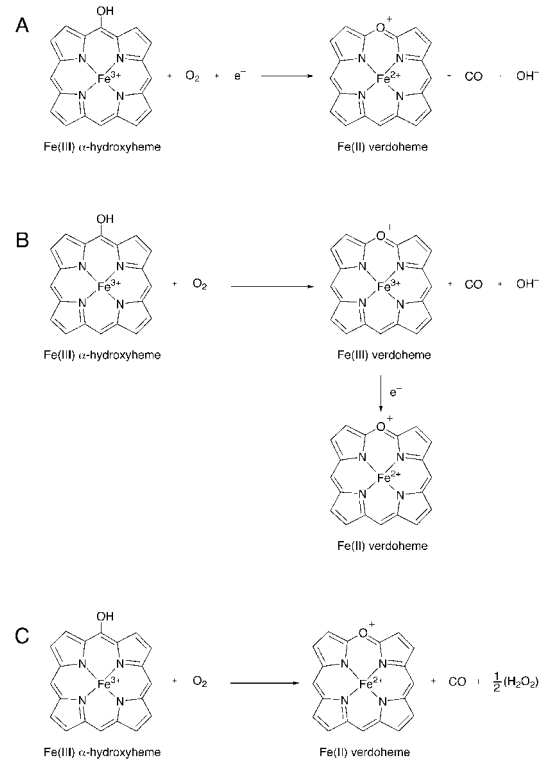


図7. α -ヒドロキシヘム/ベルドヘム変換において提唱されている3つの反応式

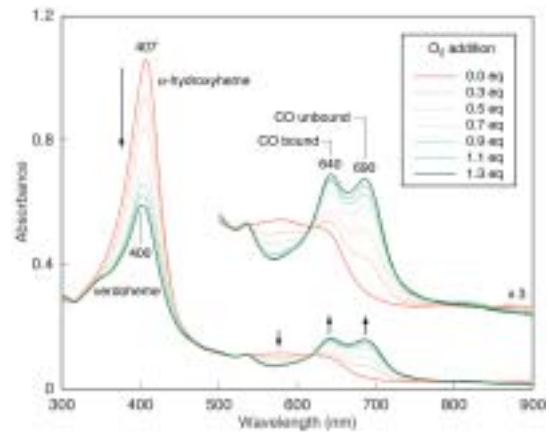


図8. α -ヒドロキシヘム-HO複合体の酸素滴定

成をもつ、いわば1酸化当量の生成が予想される。この酸化当量は未同定であるが、*in vivo*ではNADPH-還元酵素系によって速やかに還元されると考えられる。しかし、我々の再構築系ではいったいどこに行くのか、それを突き止めなければならない。おそらく、この酸化当量によってヘム近傍の残基にラジカルが生じるであろう。また、厳密に言えば、外部電子が必要ないということだけでは、HO内部のアミノ酸側鎖から

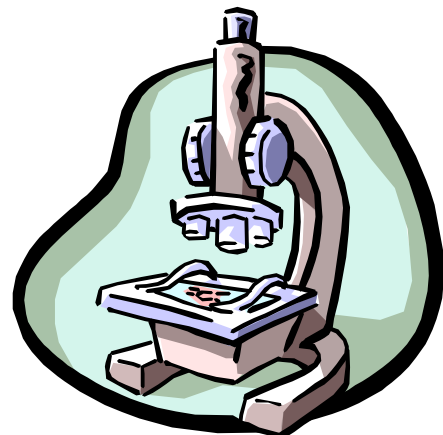
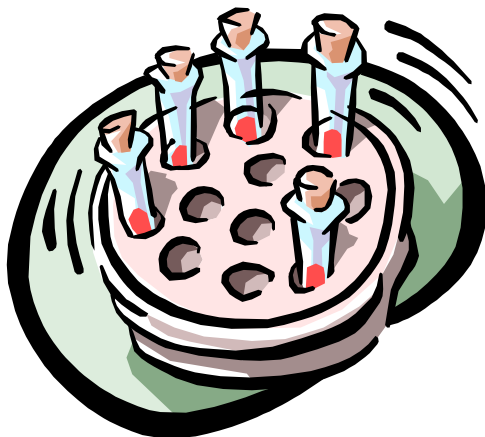
電子が供給されている可能性を否定できない。この場合も、変換反応後にアミノ酸側鎖にラジカルが生じることが予想されるので、現在、ヘム近傍の芳香族残基に変異をかけて、wild typeとの反応性の違いを見極めようとしている。

おわりに

結晶構造が解けたことで、HOのヘム結合や第1ステップの酸素活性化機構については、我々なりの解釈ができるようになりました。しかし、第2ステップはようやくそのおぼろげな輪郭がつかめただけで、どのようにCOが飛び出してくるのか、はっきりとした道筋はまだわかりません。HOによるヘム分解は生理的にCOを生成する唯一の反応であり、化学者のはしくれとしてもこの過程は是非とも明らかにしたいと思っています。また、ここでは触れなかった第3ステップのベルドヘム開環反応は、非酵素的には加水分解でも進行しますが、HO中では酸素と電子が不可欠で、この過程についても現在取り組んでいます。今のところ、ヘム分解機構のみに焦点を当ててこの酵素を研究対象にしていますが、HOはアポ・ホロ状態のわかったヘム結合性蛋白質としてもおもしろい応用ができるのではないかと思います。大腸菌で大量に発現できる上、精製も大変簡単です。もしどなたかご興味があれば、是非ご連絡下さい。

最後に、当講座の野口正人教授、結晶構造解析をしていただいた阪大院理の福山恵一教授ならびに研究室の方々に感謝を申し上げます。

1. Sugishima, M., Omata, Y., Kakuta, Y., Sakamoto, H., Noguchi, M., and Fukuyama, K. (2000) *FEBS Lett.* **471**, 61-66.
2. Sugishima, M., Sakamoto, H., Kakuta, Y., Omata, Y., Noguchi, M., and Fukuyama, K. (2002) *Biochemistry* **41**, 7293-7300.
3. Sugishima, M., Sakamoto, H., Higashimoto, Y., Omata, Y., Hayashi, S., Noguchi, M., and Fukuyama, K. *J. Biol. Chem.*, in press.
4. Matera, K. M., Takahashi, S., Fujii, H., Zhou, H., Ishikawa, K., Yoshimura, T., Rousseau, D. L., Yoshida, T., and Ikeda-Saito, M. (1996) *J. Biol. Chem.* **271**, 6618-6624.
5. Liu, Y., Moënne-locoz, P., Loehr, T. M. and Ortiz de Montellano, P. R. (1997) *J. Biol. Chem.* **272**, 6909-6917.
6. Sakamoto, H., Omata, Y., Palmer, G., and Noguchi, M. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 18196-18200.
7. Sakamoto, H., Omata, Y., Adachi, Y., Palmer, G., and Noguchi, M. (2000) *J. Inorg. Biochem.* **82**, 113-121.
8. Sakamoto, H., Omata, Y., Hayashi, S., Harada, S., Palmer, G., and Noguchi, M. *Eur. J. Biochem.*, in press.



研究の風景

The Scripps Research Institute (TSRI)
Department of Chemistry
Romesberg Lab

永岡 真

京都大学化学研究所

E-mail: nagaoka@scl.kyoto-u.ac.jp

今回の「研究の風景」は、アメリカ西海岸のサンディエゴよりお送りいたします。私は本年4月より1年間、海外留学の機会をいただきまして、現在サンディエゴにあるスクリプス研究所で研究生活を送っております。ご存じの方も多いかと思いますが、ここサンディエゴは気候が非常に穏やかで、特に研究所の位置するラ・ホーヤ地区はリゾート地ということもあり、研究を行うには最高の場所？です。私も仕事にのめり込みすぎて、この半年間ですっかり日焼けをしてしまいました。とまあ冗談はさておき、今回は私の在籍している Romesberg Lab を紹介させていただきます。主な研究テーマは、非天然核酸塩基による遺伝コードの拡張、UV照射によるDNA傷害に対する応答の解析、生体分子の動力的解析の3つです。詳しくは <http://www.scripps.edu/chem/romesberg/> をご覧ください。



これが Romesberg Lab のある CVN という建物です。メインキャンパスから5分ほど歩いたところにあります。



こちらが Scripps の住所にもなっている North Torrey Pines Road とメインキャンパス。TSRI といえば通常はこちらです。



核酸合成機。非天然塩基を含むDNAの合成は当然自前です。



合成したDNAの T_m 測定はUV-VIS分光計で。



フェムト秒単位での分子の振動をレーザーで測定する装置です。



定常状態での分子の解析にはBruker Equinox 55 FT-IR を用います。



所内共用機器も多いです（遠心機）。



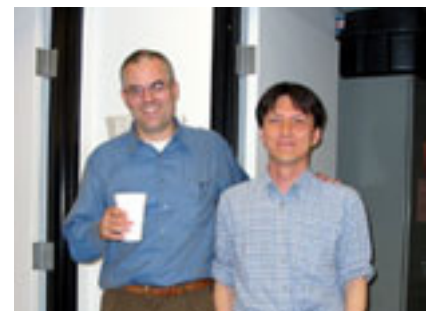
ディープフリーザーとCDラジカセ。常に激しいノリで実験しています。



RIスペース。アメリカでは普通、全ての部屋がRI対応です。



楽しいランチタイム。女性が多いこともうちのラボの特徴です。



2歳違い！のボスと筆者

(ながおか まこと : nagaoka@scl.kyoto-u.ac.jp)

コンファレンスレポート

Buffalo International Symposium on Bioorganic
Reaction Mechanisms
AUGUST 15-17, 2002

村上 裕 (むらかみ ひろし)
日本学術振興会特別研究員
*University at Buffalo,
State University of New York*



8月15日から17日にかけて、ニューヨーク州バッファローで国際シンポジウムが開かれました。このシンポジウムは、カナダのトロントで開催された生物化学系の学会から主な演者を招き、参加者50名程の比較的小さな規模で行われました。講演は様々な分野から構成されており、その主な講演者の顔ぶれを見ると、アメリカから Douglas Turner, Hagan Bayley, スイスから Donald Hilvert, イギリスから Tony Kirby が参加していました。もちろん日本からも、みなさん御存じの、木村 栄一先生、藤井 郁雄先生、浜地 格先生が参加されました。こうした参加者の質の高さにもかかわらず、学生とポストクの参加費は無料で、かなり得をした気分です。(ちなみに、トロントの学会は参加費500ドルだったそうです。高い!)

この学会は名前の通り「有機化学の視点から生体中の反応を理解する」ことを主題として開かれました。学会は(1)金属イオンによる生体物質の触媒反応(2)酵素、触媒抗体の触媒機構(3)コンビナトリアルケミストリー、分子認識(4)酵素反応機構解明のための小分子プローブ、化学物質による発ガン、の4つのセッションで構成され、それぞれに、4~5人の演者が40分づつの講演を行いました。以下に特に興味深かった(筆者の趣味が強く反映された?)2つの講演を紹介をします。

Hagan Bayley (Stochastic Sensing with Engineered Pore-forming Protein)

毒素タンパク質である α -ヘモリシンを、変異の導入やシクロデキストリンとの複合体形成により、センサータンパク質に改変している。新しい機能を持つタンパク質を作成するために、新しいタンパク質を作成するのではなく、既存のタンパク質に、変異や修飾などを用いて機能を付加することを試みている。彼はこのことを、“de novo vs. redesign”と呼んでいた。ここではこのセンサータンパク質を用いた、金属イオン、タンパク質、核酸、有機小分子の認識について講演を行った。

α -ヘモリシンは、七量体を形成して細胞膜に穴を形成するタンパク質である。穴の形成はパッチクランプ法などを用いて膜の電気伝導度として1分子レベルで検出できる。特に興味深かったのが、シクロデキストリンを α -ヘモリシンの穴の内側に配置し、シクロデキストリンが持つ分子認識能力を α -ヘモリシンに付加した実験である。これによりシクロデキストリンと複合体を形成した α -ヘモリシンは、様々な化学物質依存的に電気伝導度の大きさやパターンが変化するセンサータンパク質として働くようになった。今後は、2個または3個のシクロデキストリンを同時に穴に配置する、シクロデキストリンに修飾を施す、シクロデキストリンの代わりに環状ペプチドなどその他の認識ドメインを配置するといった方法で、さらに認識能力を様々な分子に対して広げるそうである。これは、タンパク質と機能分子とを巧妙に組み合わせた興味深い講演でした。

Donald Hilvert (Genetic Selection as a Tool in Mechanistic Enzymology)

コンビナトリアル変異を導入し、枯草菌のchorismate mutaseの触媒機構を調べている。前半の話では、触媒部異に位置するCys88とArg90を他の19種類のアミノ酸に置換し、このArg90が遷移状態で生じる負電荷の安定化に寄与していることを示した。さらにArg90がSerに置換された不活性型の変異体において、3次的に隣り合った位置のCys88をArgへ置換することで、このArg88が野生型におけるArg90と同様に遷移状態の負電荷を安定化し、酵素の活性が回復することを示した。彼は、この実

験のために約400種類(20アミノ酸X20アミノ酸)もの変異体を個別に作成して並列に解析しており、よくこれだけの変異体を作成したと、妙なところに感心しました。後半の話では、X線結晶構造解析で構造が特定できていないC末端配列の機能を調べるために、C末端配列に任意の割合で変異や終止コドンを導入したライブラリーを作成し、活性のある変異体をセレクションした。特に興味深い変異体として、C末端から11個のアミノ酸が欠失したものがあつた。この変異体の K_m は野生型のそれに比べ約100倍も増大していたが、 k_{cat} は2倍程度しか減少していなかった。さらにその他の活性型変異体の解析結果から、C末端から17個のアミノ酸は基質との結合に関与するが化学反応段階には直接的に関与しないことが分かった。こうしたコンビナトリアル変異を用いて酵素の触媒機構を解析する方法は、セレクションの系を組むことさえできれば、大きいライブラリーから様々な変異体を得て、その活性や配列から多くの情報を得ることができるので、非常に有効な手段と考えられます。

二日目の夕方にはポスターセッションが行われ、筆者はここでポスター発表を行いました。ポスターセッションにはワインとビールが出たため、1/3程の人がほろ酔になり、なかには喋るのに支障が出る程に飲んでいる人もいました。こうした雰囲気の中でも、Donald Hilvertは、1分でも惜しいといった感じで熱心にポスターを聞いて回っており、この知識への貪欲さがいい仕事をさせるのかと感心させられました。

今回の学会は参加人数が比較的少なかったせいもあり、普通の学会ではなかなか話せない人達と話ができ大変貴重な経験になりました。日本では生命化学研究会シンポジウムが同じくらいの規模で開催されていることと思います。先生方、学生や若いポスドクに話し掛けてやって下さい。また、特に学生の人たち、先生方を捕まえて積極的に質問しましょう。



「なぜ、カナダの学会から？」と不思議に思う人もいると思うので、簡単にバッファローの位置を説明します。バッファロー（地図の左下）はニューヨーク州の町ですが、カナダとの国境に近いので、トロント（地図の左上）からは車で2～3時間程で来ることができます。また、国境には有名なナイアガラの滝があり、バッファローから車で20分程度で行くことができます。写真は、タワーの上から見たナイアガラの滝（カナダ滝）です。

（むらかみ ひろし hmura@buffalo.edu）



気になった論文

桑原正靖 (くわはら まさやす) 群馬大学工学部・応用化学科 助手

kuwahara@chem.gunma-u.ac.jp

先日、東京湾アクアラインの海ほたるパーキングエリアに立ち寄りました。はじめて備讃瀬戸大橋を見たときも思ったのですが、アクアラインも単なる道路というよりむしろひとつの巨大な建造物だと感じました。改めて日本の土木建築技術の凄さに感動しました。休日とあって海ほたるパーキングエリアは大勢の人で賑わっていました。そこから東京湾をぐるりと一望することができました。一階には小さな資料館があり、そこでウミホタルの発光鑑賞会をやっていました。ウミホタルはウミジンコの仲間で、身の危険を感じると発光物質(オキシルシフェリン*)を放出して光の煙幕をつくり敵の目を欺くそうです。一日に二回行われる発光鑑賞会では、短い間ですがこの美しい光の煙幕を見ることができます。しかし、ウミホタルたちにとっては受難の時間です。なにしろ電気ショックを浴びせられるのですから。。

(1) Yellow-Green and Red Firefly Bioluminescence from 5,5-Dimethyloxyluciferin.

Bruce R. Branchini, Martha H. Murtiashaw, Rachelle A. Magyar, Nathan C. Portier, Maria C. Ruggiero, Justin G. Stroh, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 2112-2113.

ウミホタルとは少し違いますが、生物発光関連でひとつ。ホタルの生物発光に使われるルシフェリンは、ルシフェラーゼによって赤色あるいは黄緑色に発光することが知られています。著者らは 5,5-ジメチルオキシルシフェリンを用いて、「発光色の違いは励起状態のオキシルシフェリンの C2-C2'結合の回転によるコンホメーションの違いに起因するものである」という McCapra 博士の説をはじめ実験的に支持しました。研究結果だけでなく結果を得るまでの過程も面白いと思いました。5,5-ジメチルオキシルシフェリンは非天然型の基質であるためルシフェラーゼに受容されず、生物発光は観察されませんでした。そこで発光前駆体の 5,5-ジメチルオキシルシフェリン-AMP に誘導体化したものを基質に用いて実験したところ首尾良く結果を得ることができたようです。

(2) Toward an RNaseA Mimic: A DNAzyme with Imidazoles and Cationic Amines.

Leonard Lermer, Yoann Roupioz, Richard Ting, David M. Perrin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 9960-9961.

非天然型の基質つながりでひとつ。この論文は *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 1556-1563 の続報です。前回の論文では、非天然型のヌクレオシド三リン酸が DNA ポリメラーゼに基質として受容されることを応用して、アミノ基とイミダゾリル基の両方を導入した修飾 DNA のライブラリーを構築し、試験管内選択法によってその中から RNA 切断反応を触媒する修飾 DNA 触媒が得られたことを報告しました。本論文では得られた修飾

DNA 触媒をもとに触媒機能に関与している部位を化学合成しその触媒活性を検討しています。基質(切断部位である 1 塩基のリボヌクレオチドを含む 14mer の oligo-DNA) 2.5 μM に対し 100 nM の合成した修飾 DNA 触媒を加えて 24 時間反応させたところ、13~14 回のターンオーバーが観察されました。二価金属イオンに非依存的な修飾 DNA 触媒でターンオーバーがみられたところがとても興味深いです。

(3) RNA Interference.

Gregory J. Hannon, *Nature*, **2002**, *418*, 244-251.

RNA 切断つながりひとつ。この論文は RNAi (RNA 干渉) の総説です。RNAi という現象は、配列特異的な遺伝子サイレンシングをもたらす二本鎖 RNA に対する細胞応答として、線虫 (*Caenorhabditis elegans*) で初めて発見されました。RNAi では二本鎖 RNA が細胞中で mRNA の配列特異的な分解を導くことが分かっています。RNAi を引き起こす二本鎖の短い干渉 RNA (siRNA) を用いて、ウイルスなどに対する新しい治療法の開発が試みられています。また、基礎研究に於いても、遺伝子発現を操作したり遺伝子機能を探ったりするツールとして今後ますます広く利用されることが期待されます。

以上、3 報を紹介させて頂きました。最後に紹介した総説は *Nature insight:RNA* で特集されたもののひとつなのでご存知の方も多と思います。特集ではこの他にも RNA ワールドやリボザイムなど RNA 関連の興味深い話題が総説になっています。



平竹 潤 (ひらたけ じゅん) 京大化研 助教授

hiratake@scl.kyoto-u.ac.jp

“Catalysis by hen egg-white lysozyme proceeds via a covalent intermediate”

David J. Vocadlo, Gideon J. Davies, Roger Laine and Stephen G. Withers, *Nature* 2001, **412**, 835-838.

この論文は、ニワトリ卵白リゾチーム (hen egg-white lysozyme, HEWL) の反応機構について、巧妙に設計された基質と部位特異的変異を用いて「反応中間体」を X 線結晶構造解析で捉えることにはじめて成功したもので、University of British Columbia の Dr. Withers らのグループの研究手法の真骨頂を示した記念碑的論文とも言えるもの。これまで何かと論争の多かった HEWL の反応機構が、共有結合的な「グリコシル酵素中間体」経路であることを示し、論争にピリオドを打ったとも言えるすぐれた論文。しかし同時に、彼らの研究手法に疑問を抱くグループからは、はじめから共有結合的な中間体を仮定して、それを導き出さんがための研究手法との誹りを免れないかも知れない。HEWL は X 線結晶構造解析によって構造の解かれた最初の酵素でありながら (Blake, C. C. F. et al. *Nature*, **206**, 757, 1965)、その反応機構は、遊離のオキソカルベニウムイオンがそのまま電荷的に安定化されているとする「オキソカルベニウムイオン中間体」経路か、活性中心のカルボキシ基にグリコシル基が共有結合した「グリコシル酵素中間体」経路かで論争が絶えなかった。さ

らに話をややこしくしていたのが、2位の N-アセチル基が分子内求核攻撃をして環状オキサゾリン中間体を形成する、“substrate-assisted catalysis” で反応を触媒する family 18 あるいは 20 に属する N-acetylhexosaminidase や chitinase の存在で、基質の構造が類似している HEWL でも同じような “substrate-assisted catalysis” 機構で反応を触媒しているのではないかと常に疑われてきた。そこで Withers らのグループは、もしグリコシル酵素中間体があるとしたら、その分解速度を抑えてやれば中間体が蓄積し、それを観測することができるとの立場から、2位に電子吸引性のフッ素を導入したフッ化糖 (NAG-2FGlcF) を設計、HEWL に与えて中間体を観測した。2位に電子吸引性のフッ素を導入したグリコシル誘導体は、フッ素の電子吸引性のためオキソカルベニウムイオンが不安定化される結果、加水分解が著しく遅くなり、また、場合によってはグリコシル酵素中間体の状態で反応が止まる、一種の自殺基質として作用する化合物で、Withers らのグループの十八番である(わかりやすい総説として Zechel, D. L.; Withers, S. G. *Acc. Chem. Res.* **33**, 11, 2000)。予想通り、NAG-2FGlcF は「非常にゆっくり反応する基質」として作用し、ESI-MS による酵素の質量分析では、グリコシル基1分子に相当する分子量の増加が観測された(グリコシル酵素中間体の証明その1)。しかし、これではまだ X 線結晶構造解析には分解が速すぎ、もっと分解速度を遅くする必要があった。そこで、酵素の活性中心の、酸—塩基触媒として作用している Glu 残基を Gln に変えた変異体 (E35Q) を用いたところ、中間体の半減期は 64 時間となり、X 線結晶構造解析に十分堪えられるだけの安定性を確保することに成功、これを用いて、見事にグリコシル酵素中間体の構造解析に成功した(証明その2)。その結果、HEWL は、多くの立体保持型の β -グリコシダーゼと同じく、活性中心内の求核性残基 (Asp 52) と共有結合的に結合したグリコシル残基を経由して反応を触媒していることが明らかになり、長年の論争に一応のピリオドを打った。Wither らのグループの面目躍如というところだが、手放して喜ぶわけにはいかない。オキソカルベニウムイオン経由かどうかという問題は、実はきわめて微妙な差を問題にしたもので、Withers らの用いた特殊な基質(2位がフッ素化され、きわめて良好な脱離基をもつグリコシド)の場合には確かに共有結合が生じるが、天然の基質で反応する場合にも同様のグリコシル酵素中間体が生じているかどうかは保証の限りではない。立体保持型の酵素なら、フッ素を導入した基質アナログを用いて、何でもかんでも「共有結合的中間体」にしてしまう Withers らのグループの手法に危なげなものを感じている研究者は多い。また、Withers を信奉する研究グループが強い絆のファミリーをつくっていて、グリコシル酵素中間体に異を唱える研究者を徹底的にやっつける傾向があるのも事実である。江崎グリコ生物化学研究所の栗木 隆博士などは、糖質分解酵素に関するシンポジウムなどに行くと、必ずこの話題を熱く語って下さる。しかし、反応機構の証拠固めのしっかりした本論文を読むかぎり、HEWL についてはグリコシル酵素中間体経由に軍配を揚げざるを得ないようだ。論争はさておき、chemistry を駆使して酵素の反応機構に迫る彼らの研究手法は、アプローチだけでも十分価値があるし、美しい。この美しさが「気になって」紹介した次第。

グリコシル酵素中間体か、オキソカルベニウムイオン中間体かという問題、実はほんとに微妙なことを問題にしたもので、「そんなこと、どうでもええやん」と思っている人にとっては、ほんとに「どうでもいい」問題で、活性なカルベニウムイオンがカルボキシレートのような求核残基のそばにあれば、当然、共有結合してしかるべきだと言われれば身も蓋もない。両者の違いが、酵素反応について何か決定的な違いを生むかを言われればそんなこともない。筆者はかつて、ある国際学会で、Scripps Institute の C.-H. Wong 教授にお会いした時、

この話題を切り出し、「どうでもええやん。」(もちろん英語で)と、一言でかわされ、二の句を接げなかった経験がある。どうでもいいと思っている人にとっては、ほんとにどうでもいい問題。でも、気になる人にとっては、ほんと、とっても気になる問題。研究ってそんなものなのでしょうね。

“Crystallographic Evidence for Substrate-assisted Catalysis in a Bacterial β -Hexosaminidase”

Brian L Mark, David J. Vocadlo, Spencer Knapp, Barbara L. Triggs-Raine, Stephen G. Withers, and Michael N. G. James, *J. Biochem. Chem.* 2001, **276**, 10330-10337.

これも Withers らのグループの看板論文の一つ。上述の論文紹介の中で述べた、2位の N-アセチル基が分子内求核攻撃をして環状オキサゾリン中間体を形成する、“substrate-assisted catalysis” で反応を触媒する N-acetylhexosaminidase (family 20) について、その環状オキサゾリン中間体のアナログを用いて複合体結晶を作り、そのX線結晶構造解析により、はじめて環状オキサゾリン中間体の構造を見た、というのが主旨。実は、この環状オキサゾリン中間体アナログというのがよくできた分子で、酸素原子のかわりにイオウの入った N-acetylglucosamine-チアゾリン誘導体なのである。これは C-S 結合が安定なため、酵素の中でそれ以上の分解を受けずに中間体としてとどまる(すなわち阻害剤として作用する。K_i = 280 nM)。さらに、基質である N-acetylglucosamine の2位の N-アセチル基がチオアセチル基に変わった N-thioacetylglucosamine 誘導体を基質として与えると、酵素自身の作用により自動的に生じて、その先へは反応が進まないために、酵素が自動的に失活する、いわゆる酵素自殺基質として作用するスグレモノでもある(Knapp, S. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 6804, 1996)。この作用機作自身、環状オキサゾリン中間体を經由することを強く示唆するものだが、さらに N-acetylglucosamine-チアゾリン誘導体と酵素とを一緒にして共結晶を作り、その立体構造をX線結晶構造解析により解析したところ、本来の中間体の構造ときわめて類似したと思われる構造が酵素の活性中心の -1 サブサイト(基質の切断部位をはさんで非還元末端側の糖が結合するサイト。活性中心のうち最も重要なサイト)に結合しているのが観測され、その結合様式は、ほぼ ⁴C₁ のいす型コンフォーメーション、中間体を安定化しているアミノ酸残基、不安定な中間体を保護している残基(Trp, Tyr)、および、酸—塩基触媒として作用する残基が特定されている。これは、基質との複合体結晶の構造 (Tews, I. Et al. *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 7954, 1997) と比較することにより、基質結合から中間体に至る catalysis の流れが、基質の構造の変化を通して視覚化されたものとして、きわめて興味深い。



藤本 和久(ふじもと かずひさ) 富山医科薬科大学薬学部 助手
fujimoto@ms.toyama-mpu.ac.jp

富山に赴任して二年目です。一日も早く自分の結果を出すべく、もがく毎日です。紹介する論文は、自分が見てなにかしら面白いかなと思ったもので、分野はまちまちです。そこのところをご容赦ください。

Designing a 20-Residue Protein

J. W. Neidigh, R. M. Fesinmeyer, and N. H. Andersen, *Nature Struct. Biol.*, **2002**, 9, 425-430.

20個のアミノ酸残基で、ほぼ完全にフォールディングするミニプロテインを設計したというものです。アメリカドクトカゲの唾液に含まれるEX4という39残基からなるペプチドをもとに設計を行っています。1~19番目までのアミノ酸残基をカットし、5ヶ所の mutation を施しています。二次構造を制御することに主眼を置いたのではなく、元のペプチド鎖のC末端に存在する連続した Pro がつくりだす疎水性の“かご”に注目しています。Trp 25 の側鎖であるインドール環が疎水性相互作用により、この“かご”の中に収納されるように配列の最適化をおこなっています。今回設計されたペプチドは、TFE を加えることなく (pH 7.0, 2 °C) 95%以上フォールディングしているという結果が得られています。ジスルフィド結合や金属配位結合によるクロスリンクを利用するのではなく、アミノ酸配列を工夫するのみでほぼ完全にフォールディングを達成したということに対して凄いなあ、と感じました (もっとも一般性があるかどうかわかりませんが)。

Crystal Structure of Parallel of Quadruplexes from Human Telomeric DNA

G. N. Parkinson, M. P. H. Lee, and S. Neidle, *Nature*, **2002**, 417, 876-880.

ヒテロメア DNA の平行四重鎖の結晶構造についての報告です。ここで報告されている結晶構造は、 K^+ の濃度を細胞内に近い状態にして取られたもので、今までに報告されていた Na^+ を含む結晶構造とはかなり異なっています。四重鎖を形成している DNA 鎖が全て平行であること、TTA ループ鎖が四重鎖の外側に、まるでプロペラのように配置していることがあげられます (非常に美しいです)。 Na^+ を含むテロメア DNA の結晶構造をもとにして得られた知見が、根っこから覆されることになるのでしょうか。

Drastic Luminescence Response to Carbon Monoxide from a Ru^{II} Complex Containing a Hemilabile Phosphane Pyrene Ether

C. W. Rogers and M. O. Wolf, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 1898-1900.

金属配位結合を利用して、一酸化炭素に対する蛍光センサーを開発したというものです。アルキル鎖を介したピレンで修飾したホスフィン配位子を設計し、二分子のホスフィンと Ru との間で錯体を形成させます (六配位でその内訳は、 $2Cl$, $2P$, $2O$ (フェノール性))。その錯体自身の発光スペクトルはピレンのモノマー発光がメインなのですが、一酸化炭素を導入すると配位子交換が起こり、2枚のピレン環が重なりエキシマー発光が生じるという仕掛けです。驚いたのは、アルキル鎖のような自由度のあるスペーサーを介しているにも関わらず、しかも低濃度 (10^{-6} M) でエキシマー発光が生じたということです。しかし、実用性を考えるなら水中で使用可能なセンサーであればいいと思います。

Selection and Amplification of Hosts from Dynamic Combinatorial Libraries of Macrocyclic Disulfides

S. Otto, R. L. E. Furlan, and J. K. M. Sanders, *Science*, **2002**, 297, 590-593.

あらかじめ宿主分子の構成ユニットを数種類用意しておいて、その中に入るゲスト (テンプレート) の形・大きさによって、特定のユニットの組み合わせが促進される (動的な宿主-ゲストライブラリーの構築) という話です。宿主分子を構築する各ユニットはチオール基を有しており、ジスルフィド結合により環状宿主分子を形

成することが可能です。そのゲスト分子の形・大きさに適したホスト分子の形成(ユニットの組み合わせ)が促進されるというものです。凄いというより、話の作り方のうまさに感心させられました。今後、動的な結合(ジスルフィド結合, イミン結合, アセタール結合)を利用した類似の系が多く報告されるのではないのでしょうか。

An “Endless” Route to Cyclic Polymers

C. W. Bielawski, D. Benitez, and R. H. Grubbs, *Science*, **2002**, 297, 2041-2044.

オレフィンメタセシスを使える反応へと展開した Grubbs 教授の報文です。従来、大環状化合物を合成する際には、鎖状の前駆体を用意し、高希釈条件下で反応を行う必要がありました。今回、触媒として環状ルテニウム錯体を使用し、原料としてシス シクロオクテンを用いることにより、上記のような制約なしに分子量 1200 kD までの環状ポリマーの合成に成功しています。アセトンとメタノールを加えて沈殿を形成させるだけで精製がおこなえます。同程度の分子量を有する鎖状ポリマーとは物性が異なっていることから、今後あらたな環状ポリマーが商品化されるのではないかと期待を抱かせます。

DNA Detection Using Water-Soluble Conjugated Polymers and Peptide Nucleic Acid Probes

B. S. Gaylord, A. J. Heeger, and G. C. Bazan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, 99, 10954-10957.

DNA 鎖を検出するのに、カチオン性ポリマーと蛍光標識したプロテイン核酸を組み合わせ、DNA 鎖との間で三元錯体を形成させるという論文です。カチオン性ポリマーは蛍光性で、DNA 鎖のリン酸バックボーンと錯形成します。一方、蛍光標識したプロテイン核酸は、相補的な DNA 鎖の場合は錯形成をしますが、相補的でない場合は錯形成をしません。三元錯体が形成された時は、カチオン性ポリマーからの FRET により、プロテイン核酸を標識しているフルオレセインの蛍光が検出されます。非相補鎖を用いた場合には、カチオン性ポリマーの蛍光が検出されます。特徴として、FRET により生じるフルオレセインの蛍光が増感されることがあげられます。従来の DNA プローブの場合、消光剤と組み合わせることが多かったのですが、検出する蛍光剤を増感するという手法は感度を上げるという観点からいいのではないかと感じました。但し、非相補鎖におけるミスマッチの数は15塩基中7塩基です。



宮武 智弘 (みやたけ ともひろ) 龍谷大学理工学部物質化学科 助手

miyatake@rins.ryukoku.ac.jp

分子の自己組織化は、脂質二重膜の形成やタンパクの折りたたみなど、生体がどのようにして組み立てられるのかを考える上できわめて重要な現象といえます。しかしながらその理解は十分とは言えず、自己組織化を自在に操り、分子集合体を思い通りに作り上げるにはまだまだ距離があるように思います。ここでは、高分子あるいは低分子が自己集合してユニークな構造を与える興味深い例についてご紹介したいと思いません。

Rapidly Recovering Hydrogel Scaffolds from Self-Assembling Diblock Copolypeptide Amphiphiles

Andrew P. Nowak, Victor Breedveld, Lisa Pakstis, Bulent Ozbas, David J. Pine, Darrin Pochan, Timothy J. Deming, *Nature*, 2002, **417**, 424–428.

この論文は現代化学(2002年9月号)のトピックス欄でも取り上げられたものです。親水性(Lys, Glu)および疎水性(Leu, Val)の置換基をもつアミノ酸をブロック共重合することによって、親水性と疎水性の二つのセグメントをもつポリペプチドを合成し、それが水中で自己集合してミセルやベシクルではなく、低濃度(0.25-2.0wt%)で3次元の網目構造を形成してヒドロゲルを与えるというユニークな結果を示しています。その自己集合過程は疎水性のセグメントのコンホメーションに依存し、ランダムコイルよりもストランドの方が、さらにヘリカル構造をとるときの方がヒドロゲルを与えやすいことが示されています。すなわち、疎水部が安定なコンホメーションをとり、それらが集積化してよりがっしりしたドメインを形成するときに網目構造になりやすいと考えられます。通常、親水性 疎水性のセグメントを交互に持つトリブロック共重合体は網目構造をとりやすいとされていますが、このようなジブロック共重合体が網目構造をとることは例がなく、自己組織化の新たな可能性を示した結果で、非常に興味深いと思います。

Spectral Characterization of Self-Assemblies of Aldopyranoside Amphiphilic Gelators: What is the Essential Structural Difference between Simple Amphiphiles and Bolaamphiphiles?

Jong Hwa Jung, Seiji Shinkai, Toshimi Shimizu, *Chem. Eur. J.* 2002, **8**, 2684–2690.

長鎖アルキル基とアミノフェニル基からなる疎水性部位と親水性のアルドピラノシド部位で構成された両親媒性分子は、水だけでなく有機溶媒中でも自己集合してゲルを与えることを示したものです。ここでは、得られたヒドロゲルやオルガノゲルの構造をSEM, NMR, XRD等で詳細に検討しています。この両親媒性分子は分子間水素結合、相互作用により集積化し、規則正しく並んだ層状構造をとることが確認されました。このとき、疎水性部位の片側にのみ親水性基を持つ両親媒性分子(Simple Amphiphile)ならびに両末端に親水性基を持つ両親媒性分子(Bolaamphiphile)はそれぞれ二分子膜、単分子膜を形成することがわかりました。さらに興味深いことは、SEMによって観察された分子集合体のマクロな構造は、両親媒性分子の構造や媒体の種類に大きく依存することが示されました。まず水中では、Simple Amphiphileでは長い繊維状に、Bolaamphiphileではフィルム状のラメラ構造をとる。一方、有機溶媒中では両者とも3次元の網目構造をもつことが明らかにされました。また、この系も上記の例と同様に、0.05-5.0wt%と極めて低い濃度でゲル化することも特筆すべき点であると思います。

このような、分子集合体のミクロな分子レベルでの構造(分子間の相互作用)と、マクロな形態の間には、まだ理解できていない大きな溝があるように思います。その間の領域での動的な挙動をどのようにして探るのがこれからの大きな課題であるように思います。一方で、このようなヒドロゲルはソフトな材料としてコンタクトレンズなどに利用したり、またドラッグデリバリーシステムに応用できる点においても重要であるといえます。こうした観点から最近興味深い報告がありましたので、ご紹介したいと思います。

First Thermally Responsive Supramolecular Polymer Based on Glycosylated Amino Acid

Shigeki Kiyonaka, Kazunori Sugiyasu, Seiji Shinkai, Itaru Hamachi, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, **124**, 10954–10955.

糖のついたアミノ酸誘導体が自己集合してできるヒドロゲルが、温度によって可逆的に膨潤・収縮を繰り返すことで、他の分子をキャッチ&リリースできることを示しています。この分子は分子間で水素結合を作って繊維状の集合体をつくり、これが交差しながら重なりあうことでゲルが形成します。DNA あるいはビスフェノール-A を含むゲルを加熱すると、その相転位温度において保持した分子をほとんどリリースできることが示されました。さらに、疎水性の置換基を変えることによって相転位温度をおよそ 30~70 の範囲内でコントロールできる点が非常にユニークです。

Stable Polymeric Nanoballoons: Lyophilization and Rehydration of Cross-linked Liposomes

Sanchao Liu, David F. O'Brien, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, **124**, 6037–6042.

両親媒性の脂質分子がつくるリポソームの安定化には、両親媒性のポリマーを分子膜中にインターカレートさせたり、重合性の置換基をもたせた脂質分子を使ってリポソームを作った後、重合させるなどの方法が知られていますが、ここでは後者の方法を用いて、凍結乾燥させてもその形を変えないほどまでに安定化したリポソームについての報告です。リン脂質分子の炭化水素鎖の末端と中間部にそれぞれ不飽和結合をもたせ、リポソーム形成の後に、二重膜構造の内側と外側で向かい合う分子の間、さらに横に隣り合う分子間で重合させることによって、強固なりポソームができるというわけです。この安定化したリポソームの表面は“硬い殻”ではなく、ある程度柔軟性があり、外部の力によって変形することも示されています。また興味深いことに、一度凍結乾燥させて粉状にしたリポソームはほとんど構造を変えることなく水に再分散でき、さらに内部に閉じ込めた有機分子(ピレンテトラスルホン酸)も保持されることも示されています。こうして脂質分子が形のそろった分子集合体をつくる特性を利用して、きわめて安定なナノカプセルを作るのは材料化学の観点からも大変意味深いと思います。



シンポジウム等会告



研究会主催シンポジウム

第5回生命化学研究会シンポジウム・宇治 (2003)

熱い「化学」: 生体分子から細胞へ

主催 日本化学会生命化学研究会

会期 2003年1月10日(金) 10時30分~17時15分

会場 京都大学化学研究所 共同実験棟大講義室(宇治市五ヶ庄)

[交通]JR、京阪、黄檗(おうばく)下車(JR 京都駅から約30分)

事前参加申込締切 12月13日(金)

1. 新たな発想に基づいた非ウイルスベクター用遺伝子治療 DNA の開発(北大院薬・科技団 CREST)紙谷 浩之
2. ファージライブラリーから創薬へのアプローチ(大塚製薬)瀧孝雄
3. 光で生理活性を制御する・ケージド化合物の設計と合成(東邦大理)古田寿昭
4. 細胞内情報伝達を制御する分子をめざして(東北大多元研)袖岡幹子
5. ステロイドホルモンレセプターの生細胞内における可視化(京都府立医大)西真弓
6. タンパク質の一生を支援する細胞内システム(名大院理)遠藤斗志也

ポスター発表 申込締切 2002年12月6日(金)。詳しくは下記ホームページをご覧ください。

ミキサー シンポジウム終了後 会費 4,000円(学生 1,000円)

参加費 会員 2,000円(当日 3,000円)、非会員 4,000円(当日 5,000円)、学生 1,000円(当日 1,500円)。

参加費ならびにミキサー参加費を12月13日(金)までに下記口座に振込み、同時に振込内容(氏名、所属、会員・非会員・学生の別、ミキサー参加の有無、連絡先、振込日)を、電子メールもしくは FAX にて下記までお知らせ下さい。研究室で一括して送金された場合は、振込人のお名前がわかるようにお知らせ下さい。振込口座:みずほ銀行百万遍支店 普通 2323279 口座名:生命化学シンポジウム 2003 代表 二木史朗

申込先 611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学化学研究所 二木史朗

電話 0774-38-3211 FAX 0774-32-3038 電子メール futaki@scl.kyoto-u.ac.jp

ホームページ <http://www-pclab.ph.tokushima-u.ac.jp/FBC/5thSymp.html>



第5回生命化学研究会

生命化学領域最前線で活躍中の盛りだくさんの演者から話題提供していただき、熱き議論を交わす会にしたいと思います。

主催：日本化学会生命化学研究会

日時：2003年1月10日(金)・11日(土)

場所：ラフォーレ琵琶湖 (<http://www.laforet.co.jp/lafnet/biwako.html>)

〒524-0101 滋賀県守山市今浜町十軒家 2876

TEL:077-585-3811 FAX:075-584-2100

話題提供(順不同)：

河野健司(阪府大工)「多機能型遺伝子デリバリーシステムの設計」

三宅正人(産総研・ティッシュエンジニアリング研究センター)

「マイクロアレイ・トランスフェクション技術とその応用」

永次 史(九大薬)「遺伝子発現の人工的制御を目指した機能性分子の開発

～ 遺伝子に対する Site Directed Reaction の実現を目指して」

青井啓悟(名大生命農)「糖鎖ナノマトリックスの設計と構築」

中谷和彦(京大工)「DNAの特異構造を認識するドラッグの分子設計」

山東信介(京大工)「細胞内で化学的にDNAを連結する：核酸の自己組織化を利用した細胞

内有機化学反応系の構築」

津本浩平(東北大工)「蛋白質間相互作用の特異性と親和性：変異導入解析で明らかにできたこと」

新留琢郎(長崎大工)「リガンド修飾したPNAを使った体内DNAデリバリーシステムの構築」

参考事項：2003年1月10日に京大化研(宇治)にて開催されますシンポジウム懇親会終了後、バスにてラフォーレ琵琶湖に移動予定です。1月11日(土)夕刻、解散予定です。

参加費：15,000円(宿泊費・懇親会費・1/11の朝昼食込)当日支払

参加申込：e-mailにて、氏名、所属、身分、連絡先を明記の上、下記世話人あて、お申込みください。参加者に後日詳細お知らせします。

締切：2002年12月13日(金)

世話人：長崎 健 大阪市立大学大学院工学研究科

〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

Phone: 06-6605-2696 FAX: 06-6605-2785 e-mail: nagasaki@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp

HP: <http://www.bfc.bioa.eng.osaka-cu.ac.jp/FBCbiwako/main.html>

生命化学研究会HP: <http://www-pclab.ph.tokushima-u.ac.jp/FBC/FBC-home.html>



第1回生命化学国際シンポジウム

First International Symposium on Biomolecular Chemistry (ISBC2003)

(第6回生命化学研究会シンポジウム)と共同開催

下記要領で、第1回生命化学国際シンポジウムを開催いたします。会員のみなさまには、ふるって応募いただきますようお願いいたします。

主催 日本化学会生命化学研究会

共催・協賛・後援(予定)

日本化学会、生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、日本生化学会、日本生物物理学会、日本薬学会、日本分子生物学会、高分子学会、有機合成化学協会、光化学協会、日本糖質学会、日本分析化学会、日本油化学会、電気化学会、錯体化学会、日本バイオマテリアル学会、日本ペプチド学会、コンビケム研究会、日本生物工学会、日本農芸化学会

開催時期 平成15(2003)年12月2日(火) - 12月5日(金)

開催場所 兵庫県立淡路夢舞台国際会議場 <http://www.yumebutai.org/>

ホームページ <http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~isbc2003>

会議の目的

近年、我が国の生命化学研究者の活躍はめざましいものがあり、国際的に最先端研究を行っている研究者どうしが一堂に会し討論する機会をという要望が高まっています。このような背景の下、生命化学に関する世界第一線の研究者が会し、最新の研究成果および今後の展開について発表、意見交換を行い、当該分野における国際的交流と発展を促進することを目的として、第1回生命化学国際会議(ISBC2003)を開催することとしました。本国際会議は、これまでの生命化学研究会シンポジウムを発展させ、世界的レベルの研究者による招待講演、一般講演およびポスター発表により学術会議を行います。下記に示す5つのセッションを設け、生命化学の現状と展望について討論を行うとともに、生命化学分野の意義と重要性を追求し、当該分野における基礎研究および応用への発展に寄与することを目的としています。

主要テーマ(セッション名)

- I Functional DNA/RNA
- II Understanding and Control of Protein-Protein Interaction
- III Cell Function of Macromolecules
- IV Metals in Cell Biology
- V Technology Innovation in Biomolecular Chemistry

会議の日程

2003年12月2日 登録・基調講演・レセプション
 12月3日 招待講演・一般講演・ポスター発表
 12月4日 招待講演・一般講演・ポスター発表
 12月5日 招待講演・一般講演・ポスター発表

発表申込締切

2003年6月6日(金)

申し込み方法等は、ホームページに逐次発表いたします。

会議の印刷物

プログラム・プロシーディングス

Elsevier or Wiley から特集号を発刊予定

企業展示

関連機器・印刷物・パンフレット・ポスターなど

組織委員会

馬場嘉信(委員長、徳島大・薬)、青井啓悟(名大院・農)、石田斉(北里大・理)、佐藤智典(慶応大・理工)、塩谷光彦(東大院・理)、杉本直己(甲南大・理工)、竹中繁織(九大院・工)、辻尚志(味の素)、円谷健(生物分子工研)、浜地格(九大・有機基礎研セ)、深瀬浩一(阪大院・理)*、藤井郁雄(生物分子工研)、二木史朗(京大・化研)*、三原久和(東工大院・生命理工)、山下啓司(名工大・工)、和田健彦(阪大院・工)* *事務局

プログラム委員会

藤井郁雄(委員長、生物分子工研) 上記組織委員に加えて
 菊地和也(東大院・薬)、篠原寛明(岡山大・工)、田中健太郎(東大院・理)、民秋均(立命館大・理工)、津本浩平(東北大院・工)、長崎健(阪市大・工)、廣田俊(京都薬大)、芳坂貴弘(岡山大・工)、原田和雄(東京学芸大)

連絡先

〒770-8505 徳島市庄町1-78

徳島大学薬学部 馬場嘉信

電話 088-633-7285

ファックス 088-633-9507

電子メール isbc2003@chem.eng.osaka-u.ac.jp

文部科学省科研費特定領域研究 (A)
分子シンクロ材料 ミニシンポジウム

細胞内デリバリーのための分子シンクロナイゼーション

本シンポジウムでは、遺伝子関連材料、細胞内デリバリー材料、およびそれらと関わる細胞現象に関する最新の研究成果と今後の展開について集中的に議論し、遺伝子および核酸医薬等の機能発現を保障する次世代の細胞内デリバリー材料を創製するための戦略としての分子シンクロナイゼーションの可能性や有用性を探ります。

主催 科研費特定領域研究 (A) 「分子シンクロ材料」

協賛 日本薬学会近畿支部他

日時:平成14年12月10日(火) 10:00 ~ 17:40

会場:千里ライフサイエンスセンター(豊中市新千里東町 1-4-2) 5階サイエンスホール

アクセス:新大阪駅より地下鉄御堂筋線千里中央行に乗車の上、千里中央駅下車。

案内図、利用交通機関は<http://www1.senri-ic.co.jp/ic-index.html>をご参照ください。

1. 二木史朗(京大・化研)膜透過能を有するアルギニンペプチド複合体のデザイン
2. 長崎 健(阪市大・工)細胞内 DNA リリースの光促進によるトランスフェクションの効率向上
3. 中村栄一(東大院・理)炭素クラスター複合体の精密有機合成化学・遺伝子導入の新機軸
4. 原口徳子(通信総合研究所・阪大院・理)遺伝子デリバリーシステムとしての細胞核
5. 水口裕之・早川堯夫(国立医薬品食品衛生研究所)改良型アデノウイルスベクターによる高効率遺伝子デリバリー
6. 中西真人(産業技術総合研究所)膜融合を介したデリバリーシステム・基礎と応用
7. 落谷孝広(国立がんセンター研究所)アテロコラーゲンデリバリーシステムによる細胞内遺伝子導入と発現の制御
8. 紙谷浩之(北大院・薬)外来 DNA の改変による遺伝子発現効率の向上
9. 片岡一則(東大院・工)遺伝子ベクターとしての機能性高分子ナノミセル:その設計と機能評価

参加費 無料(事前登録をお願いします)

申込先 〒599-8531 堺市学園町 1-1 大阪府立大学工学研究科機能物質科学分野

河野健司 電話 072-254-9330、FAX072-254-9913

E-mail: kono@ams.osakafu-u.ac.jp

複合系の光化学と光機能セミナー

共催 産業技術総合研究所 複合系の光機能研究会 後援 日本化学会

複数個のユニットから成る「分子複合系」は、単独の分子には無い特異な分子構造・分子環境を提供し、ユニット間の化学反応や情報伝達を高速かつ高効率に行うことができます。光機能性の付与により、光化学的・光物理的なプロセスをナノメートル精度で制御可能なシステムを創りだすことができ、高品位な光情報材料、光エネルギー変換材料等にもつながります。分子複合系は DNA や酵素系をはじめ生体系の随所に見られ、複合系の光機能の研究はバイオテクノロジーや医療の発展にも大きく寄与します。

2002 年、配位化合物を含む分子複合系の光化学・光物理・光機能などに関する研究会「複合系の光機能研究会」が発足しました。優れた光機能発現を探究してゆく上で、複合化が高い可能性・発展性を有していることが確かになりつつある今、ナノテクノロジー等の応用的展開も視野に入れ、本研究領域への取り組みを基礎から幅広く推進すべき時と考えます。

このような背景から、本研究領域の第一線でご活躍される先生方を講師とする研究講演会「複合系の光化学と光機能セミナー」を開催します。本セミナーでは、分子複合系の関与する発光現象、光エネルギー変換、光磁性などを話題としてとりあげ、機能材料的な視点もとり入れた基礎からのアプローチをご紹介します。ご関心の方々の御来場をお待ちしています。

講師 相田 卓三(東大院工)、池田 憲昭(阪大院理)、石井 和之(東北大院)、今堀 博(京大院工)、大越 慎一(東大先端研)、城戸 淳二(山形大院理工)、民秋 均(立命館大理工)、芳賀 正明(中央大理工)、長谷川 靖哉(阪大院工) (敬称略)

会 期 2003 年 1 月 27 日(月) 9 時 30 分～16 時 30 分

会 場 産業技術総合研究所つくばセンター共用講堂大会議室(つくば市東 1-1-1)

参加費 無料

申込方法 はがき、FAX、または e-mail にて、氏名・所属・連絡先を明記し、下記宛てお申込み下さい。(定員 140 名)

申込先 305-8565 つくば市東 1-1-1 中央第 5 産業技術総合研究所ナノテクノロジー研究部門機能性超分子グループ 川西 祐司 電話/FAX (0298)61-6296 e-mail: hukugo@ni.aist.go.jp

URL: <http://unit.aist.go.jp/nanotech/seminar/hukugo/index.htm>

問合せ先 上記または、複合系の光機能研究会 152-8551 目黒区大岡山 2-12-1 東京工業大学大学院理工学研究科化学専攻 石谷 治(研究会世話人代表) e-mail: ishitani@chem.titech.ac.jp

URL: <http://www.chemistry.titech.ac.jp/~ishitani/fukugou-hikari.htm>

第3回ペプチドフォーラム ペプチド・ブレインストーミングセミナー（2003、札幌）

・ バイオメディカルツールとしてのペプチドの新しい可能性を求めて・

日時 平成 15 年 2 月 1 日(土)午前 9 時～午後 3 時

会場 北海道大学大学院地球環境科学研究科 C104 講義室

主催 日本ペプチド学会

共催 日本化学会北海道支部、日本薬学会北海道支部 他

本セミナーはバイオメディカルツールという観点からのペプチドの可能性に関して、合成化学、材料科学、生化学、物理化学といった様々な角度から討論を行い、新しい時代を見据えたペプチド科学の戦略を練る契機とすることを目的としています。

講演予定者

赤松美紀(京大院農)、斉藤一樹(理研)、林良雄(京都薬大)、小野慎(富山大工)、小出隆規(徳島大工)、石田斉(北里大理)、向井秀仁(三菱生命研)、玉村啓和(京大院薬)、小川智久(東北大院農)、坂本寛(久留米大医)、大高章(京大院薬)、三原久和(東工大院生命理工)、坂口和靖(九大院理)、深瀬浩一(阪大院理)、二木史朗(京大化研)、野水基義(北大院地球環境) 他

参加費 無料

連絡先

北海道大学地球環境科学研究科 野水 基義

Tel・Fax (011)706-2254

E-mail : nomizu@ees.hokudai.ac.jp

<http://www.peptide-soc.jp/> (日本ペプチド学会ホームページ)





お知らせコーナー

会員異動（五十音順）

篠原 康雄氏（2002年10月より）

徳島大学 ゲノム機能研究センター 遺伝子発現分野 教授

〒770-8503 徳島市蔵本町3-18

電話:088-633-7278; FAX:088-633-9512; E-mail [:yshinoha@genome.tokushima-u.ac.jp](mailto:yshinoha@genome.tokushima-u.ac.jp)

(今年度末に電話、FAXの番号が変更される予定です(番号未定)。メールアドレスは上記のものに変更済みです。)

(独)産業技術総合研究所 単一分子生体ナノ計測研究ラボ 主任研究員(併任)

〒761-0395 高松市林町 2217-14

E-mail [:y20915@aist.go.jp](mailto:y20915@aist.go.jp)

田中健太郎氏（2002年7月より）

東京大学大学院理学系研究科 助教授

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学 大学院理学系研究科化学専攻 生物無機化学研究室

Tel: 03-5841-4360 Fax: 03-5841-8060; E-mail: kentaro@chem.s.u-tokyo.ac.jp

津本 浩平氏（2002年10月より）

東北大学大学院工学研究科 助教授

馬場嘉信氏(2002年10月より)

独立行政法人 産業技術総合研究所 単一分子生体ナノ計測研究ラボ ラボ長 併任

廣田 俊氏（2002年10月より）

京都薬科大学薬品物理化学教室 助教授

〒607-8414 京都府京都市山科区御陵中内町 5 京都薬科大学薬品物理化学教室

電話番号:075-595-4664; FAX 番号:075-595-4762



受賞のお知らせ

津本 浩平氏 (東北大学大学院工学研究科)

受賞名:平成 14 年度日本生化学会奨励賞 「抗原抗体相互作用における特異性・親和性創出機構の精密解析」 (2002 年 10 月 14 日)

田中健太郎氏(東京大学大学院理学系研究科)

受賞名:生体機能関連化学部会 部会講演賞 「金属錯体型 DNA を用いた金属イオンのナノ集積化」 (2002 年 9 月 25 日)

長崎 健氏(大阪市大工)

受賞名:生体機能関連化学部会 部会講演賞 「光開裂性カチオン脂質を用いた高効率遺伝子デリバリー」 (2002 年 9 月 25 日)

松浦和則(九大院工)

受賞名:生体機能関連化学部会 部会講演賞 「オリゴヌクレオチドの自己組織化による"Nucleo-nanocage"の創成」 (2002 年 9 月 25 日)

