



生命化学研究 レター

No. 20 (2006年2月)

1.	巻頭言	
	「オンリーワンでワンダフルな年に」	2
	篠原寛明 (富山大学工学部 物質生命システム工学科)	
2.	関連シンポジウム報告	
	第8回生命化学研究会シンポジウム・研究会 富山(2006)	3
	「個性ある生命化学の展開」	
3.	研究紹介	
	“がらくた”ヒト生物学へのススメ	9
	相澤 康則(東京工業大学 バイオ研究基盤支援総合センター RNA情報解析分野)	
	哺乳類における D-アミノ酸の代謝系について	15
	木野内忠稔 (京都大学原子炉実験所 放射線生命医科学研究本部)	
4.	論文紹介「気になった論文」	
	菖蒲弘人 (東京医科歯科大学 生体材料工学研究所)	20
	落合洋文 (甲南大学先端生命工学研究所)	22
	加地範匡 (名古屋大学大学院工学研究科)	25
	原野幸治 (東京大学大学院理学系研究科化学専攻)	27
5.	生命化学研究法	
	アガロース二次元電気泳動法	30
	～高分子量タンパク質が解析できる日本オリジナルの方法～	
	大石正道 (北里大学理学部物理学科生体分子動力学講座)	
6.	米国 Rockefeller University 留学体験記	37
	堀 雄一郎 (The Rockefeller University, The Laboratory of Synthetic Protein Chemistry, Muir Lab.)	
7.	シンポジウム等会告	41
8.	お知らせコーナー	
	受賞・会員異動のお知らせ	49
	編集後記	50



～ オンリーワンでワンダフルな年に ～

富山大学工学部 物質生命システム工学科
篠原寛明

(しのはら ひろあき: hshinoha@eng.toyama-u.ac.jp)

富山大の篠原です。まずは1月13、14日に富山の地で開催されました第8回生命化学研究会シンポジウムならびに生命化学研究会に、大雪の直後、多くの方々にお越しいただきまして、心より感謝いたします。おかげさまでシンポジウムは105名ものご参加を、研究会も40名のご参加をいただきました。「個性ある生命化学の展開」をテーマに、依頼講演、ポスター発表とも興味深い最新研究が紹介され、活発な討論がなされ、北陸先端大の芳坂先生、富山大の小野先生ともどもお世話させていただいた私たちにとってもうれしく楽しい二日間でした。ブリや紅ズワイガニなどおいしい海の幸も楽しんでいただけたものと思います。しかし長靴で来ていただいた方が良いですよという私の予想は、参加者の皆さんの情熱で寒気団が北へ押し上げられたせいでしょう、全く外れて恐縮でした。北陸は冬の間、長靴で大学に通う日も多く、日常生活がかなり大変ですが、全国の皆さんに負けないう、いい研究成果を環日本海地域の中心から世界に発信したくがんばっております。またの機会にはぜひ研究室までお立ち寄りいただければと思います。

さてお礼が長くなりましたが、この度、研究会ニュースレター編集部から巻頭言の執筆依頼をいただきました。まだまだ若輩の私がと思っていたら、編集部の方に「もう躊躇するほど若くないですよ」と鋭いご指摘(確かにもう何回目かの年男なので)をいただき、謙虚さを大切にしながら、書かせていただくことにいたしました。

良い話ではありませんが、昨年から今年にかけて話題になったことのひとつに科学分野での国際的な論文捏造問題があるかと思えます。私たちに近い生命科学分野だけでなく高温超伝導材料の開発分野などでもありました。そしてその背景には、巨額の研究費を得るためや、社会が期待する成果を真っ先に上げたいというNo.1を求める競争(プレッシャー)があるからではないか、また、研究を指揮する教授や責任者たちがあまりの忙しさの中でその指揮のもとで実際の実験を行っている研究者にまで、その方法やデータのチェックにまで、目が回らないような状況になっているところがあるのではないかと感じます。一方で、生命の世界に目を向けると、正にその生存は多様性に満ちており、その生命の仕組みを支えるメカニズムも多様性に満ちているのを感じます。すなわち私たちがその仕組みを理解しようとする生命に関する研究対象は極めて多く、また、その多様な仕組みに着目した新しい生命化学の創成も極めていろいろと考えられるでしょう。そしてそのように解明された多様な仕組みを統合してみていくところに、真の生命の仕組みがまた見えてくるのではないのでしょうか。異なった様々な分子設計や仕組みが考え出され、またその統合により、真に地球環境や人にやさしい分子化学や分子システムの設計が見えてくるのではないのでしょうか。

年末大晦日の紅白歌合戦、聴き終えて新年を迎えた方も少なくないのではと思いますが、その歌合戦でSMAPが歌った「世界にひとつだけの花」の中の、「ナンバーワンにならなくてもいい、もともと特別なオンリーワン～♪」というさびの部分、最近の科学会、建築業界、政界など、責任を持たない人間が増えているように見える中、人生の取り組み方の参考になるのではないのでしょうか。私たちが責任を持って自慢できる個性的な生命化学を展開し、そしてまた寄り集まることによって、すばらしい人類、地球、宇宙に貢献する生命化学ワールドが作れるのではないのでしょうか。そう期待しております。(2006年1月末日)

主催シンポジウム報告

第8回 生命化学研究会シンポジウム in 富山(2006) 「個性ある生命化学の展開」ならびに 第8回生命化学研究会

平成18年1月13日(金)に富山大学 黒田講堂において、第8回生命化学研究会シンポジウム「個性ある生命化学の展開」が、翌1月14日(土)に高岡市雨晴温泉 磯はなびにおいて、第8回生命化学研究会が、富山大学工学部 物質生命システム工学科 篠原寛明氏と小野 慎氏、北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科 芳坂貴弘氏のお世話により、開催され、活発な討論が行われました。シンポジウムならびに研究会の参加人数や雰囲気は、篠原氏の巻頭言ならびに、下記のプログラム・写真などから感じ取っていただければ、幸いです。

本研究会では、2006年8月に第2回生命化学国際会議の開催を予定(シンポジウム会告の項をご参照ください)しておりますので、第9回は、この国際会議が兼ねる予定となっております。2007年度に第10回シンポジウムならびに研究会を、井原敏博氏(熊本大学)ならびに中島敏博氏((財)化学及血清療法研究所)のお世話で、熊本での開催を予定しています。

第8回 生命化学研究会シンポジウム in 富山(2006) テーマ：「個性ある生命化学の展開」

主催：日本化学会生命化学研究会

共催：日本化学会、高分子学会 協賛：電気化学会

会期：2006年1月13日(金)

会場：富山大学 黒田講堂 (富山市五福 3190)

(JR 富山駅前から路面電車で15分大学前下車、徒歩3分、正門入りすぐ右手)

富山大へのアクセス URL：<http://www.toyama-u.ac.jp/jp/Outline/access/>

プログラム：

9:20-9:30 開会あいさつ(生命化学研究会会長 浜地 格)

依頼講演 (座長 阪大 和田健彦、北陸先端大 芳坂貴弘)

9:30-10:10 「精密分子認識に基づく電気化学活性 DNA プロブの開発」

井上将彦 (富山大・薬)

10:10-10:50 「糖質薄膜を用いた機能材料設計」

三浦佳子 (北陸先端大・材料科学)

10:50-11:00 休憩

依頼講演 (座長 富山大 小野 慎、慶応大 佐藤智典)

11:00-11:40 「ほ乳類細胞の機能を十分に引き出すことをめざした細胞工学的取り組み」

寺田 聡 (福井大・工)

11:40-12:20 「超長期細胞内Ca²⁺濃度イメージングが明らかにする睡眠覚醒リズムの細胞メカニズム」

池田真行 (富山大・理)

12:20-13:00 昼休み(幹事会)

13:00-13:45 ポスター発表(奇数番号発表)

13:45-14:30 ポスター発表(偶数番号発表)

14:30-14:40 休憩

依頼講演 (座長 富山大 篠原寛明、北里大 石田 斉)

14:40-15:20 「光応答性核酸を用いた新規遺伝子操作法の開発」

藤本健造 (北陸先端大・材料科学)

15:20-16:00 「高機能性蛋白質の創製」

小畠英理 (東工大・生命理工)

16:00-16:40 「老化やストレスによって生じるタンパク質中のアミノ酸のラセミ化」

藤井紀子 (京都大・原子炉実験所)

16:40-16:55 総会

16:55-17:55 ミキサー(交流プラザ カフェテリアにて)

ポスター発表プログラム:

P1 擬塩基対ヌクレオシドを用いてプリンとピリミジン塩基によるスタッキングの違いを解明する

中野修一¹・魚谷有希²・岡裕人²・甲元一也¹・佐藤雄一¹・上西和也³・藤井政幸^{3,4}・杉本直己^{1,2} (¹甲南大FIBER・²甲南大理工・³近畿大学MEI・⁴近畿大学産業理工)

P2 核酸四重鎖の構造と安定性を水分子を用いて制御する

三好大輔¹・狩俣寿枝²・杉本直己^{1,2} (¹甲南大FIBER・²甲南大理工)

P3 Hoogsteen塩基対からなるDNA二重鎖を分子クラウディングによって安定化させる

狩俣寿枝¹・三好大輔²・中村かおり¹・中野修一²・杉本直己^{1,2} (¹甲南大理工・²甲南大FIBER)

P4 テロメアDNAの構造をカチオンの環境変化により制御する

井上真美子¹・三好大輔²・杉本直己^{1,2} (¹甲南大理工・²甲南大FIBER)



- P5 低分子化合物によるテロメア伸長阻害
萩原 正規・中谷 和彦 (阪大産研)
- P6 シッフ塩基による核酸塩基対形成
堂野主税¹・岡本晃充^{2,4}・齋藤烈^{3,4} (¹阪大産研・²京大院工・³日大工・⁴SORST)
- P7 DNAマイクロアレイ用蛍光性ペプチドインターカレーター
野島 高彦¹・水城 圭司¹・上山 博幸¹・竹中 繁織^{1,2} (¹九大院工応化分子・²九工大工物質科学)
- P8 核酸の簡易電気化学ラベル化試薬としてのフェロセン化カルボジイミドの合成
棕本晃介¹・野島高彦¹・竹中繁織² (¹九大院工・²九工大物質工)
- P9 PRNA-PNA キメラ核酸によるDNA/RNA の外部因子による可逆的認識制御
和田健彦・佐藤博文・井上佳久 (阪大院工・PRESTO/JST)
- P10 サリドマイド結合修飾DNAアプタマーの選別とSPRによる機能評価
庄司敦士^{1,2}・桑原正靖^{1,2}・澤井宏明¹ (¹群馬大工・²PRESTO)
- P11 固定化PNAによるRNA精製法
大槻高史・藤本武司・熊野ちさと・有田真士・真鍋大志・北松瑞生・宍戸昌彦 (岡山大院自然科学)
- P12 ケミカルCCDを用いるDNAバイオセンサの設計
加藤寛隆・篠原寛明・堀井雅恵 (富山大工)
- P13 DNA複合体の両性イオン型高分子による弛緩と被転写活性化
伊藤智子・山下美沙・小山義之 (大妻女大家政)
- P14 アミロイド ペプチドオリゴマーを認識するRNAアプタマー
高橋 剛・多田 幸輔・三原 久和 (東工大生命理工)
- P15 フォトクロミックキナーゼ基質を合理的に設計する
富崎欣也・三原久和 (東工大院生命理工・21世紀COE)
- P16 タンパク質検出・解析用 α -ヘリックスペプチドマイクロアレイを構築する
臼井健二・富崎欣也・三原久和 (東工大院生命理工・21世紀COE)
- P17 ルテニウム錯体をコアとする光機能性人工蛋白質:コンビナトリアル手法によるペプチド配列の探索
石田 斉・秋山 優・丸山裕司・客野真人・大石茂郎・小寺義男・前田忠計 (北里大理)
- P18 Staudinger Ligationを用いたPeptide-Porphyrin Conjugateの汎用的合成法の開発
梅澤直樹・岩間紳介・樋口恒彦 (名市大院薬)
- P19 環状ペプチドCyclo(L-Ala-L-Met)₃を用いた異種金属イオン集積化
岡田 朋子^{1,2}・田中 健太郎^{1,3}・城 始勇⁴・塩谷 光彦¹ (¹東大院理・²東京工科大バイオニクス・³PRESTO・⁴理学電機(株))
- P20 水晶振動子センサーによるペプチド・タンパク質間のアフィニティー評価
岡田 朋子¹・山本 裕二¹・姜 顯旭¹・宮地 寛登²・軽部 征夫^{1,2}・村松 宏¹ (¹東京工科大バイオニクス・²産総研バイオニクス研究センター)
- P21 金属イオン応答性設計コイルドコイルを利用したタンパク質機能の制御
宮田 純・舟越 靖・水野 稔久・田中俊樹 (名工大院工)

- P22 コイルドコイル疎水場に設けた空孔の挙動
濱島健太・水野稔久・田中俊樹 (名工大院工)
- P23 カルボキシペタインポリマーの生体適合性と近傍水の構造との相関
多田 晋¹・水上 一也¹・源明 誠¹・北野 博巳¹・松永 孝之²・望月 明³・田中 賢⁴ (¹富山大工・²富山県薬事研究所・³東海大開発工・⁴北大創成科学研究機構)
- P24 局在表面プラズモン共鳴法によるポリマーブラシ界面における認識現象に関する動力学的研究
安楽 泰孝・北野 博巳 (富山大理工)
- P25 脂肪族ポリエステルデンドリマーのConvergent合成と生分解性評価
中村大輔・青井啓悟 (名大院生命農)
- P26 DNA複合化能を有するアミノ酸グラフト共重合体
○中川貴文・青井啓悟 (名大院生命農)
- P27 コアに糖を有する両親媒性ポリエーテルデンドリマーの合成とその集合体形成能
福井高信・大塚巧治・青井啓悟・田中敬二・長村利彦 (名大院生命農・九大院工)
- P28 不可逆性阻害剤を担持した温度応答性ポリマーによるセリンプロテアーゼの分離精製
吉川茂範・小野 慎 (富山大工)
- P29 超分子ゲルファイバーのバイオデバイスへの展開
田丸俊一・浜地 格 (京大院工)
- P30 新規「タグ配列・小分子プローブ」ペアによるたんぱく質の特異的認識とバイオイメージング
王子田 彰夫¹・本田 圭²・吉留 徹¹・新見 大輔¹・清中 茂樹¹・森 泰生・浜地 格¹ (¹京大院工・²九大院工)
- P31 ヘテロな化学修飾法を施した二重修飾レクチンの機能
中田 栄司^{1,2}・古志 洋一郎¹・穴井 孝浩²・高岡 洋輔²・宮川 雅好¹・浜地 格¹ (¹京大院工・²九大院工)
- P32 Caイオンセンサー機能を持つジンクフィンガーフュージョンタンパク質の構築及び機能解析
小野田晃¹・荒井望¹・島津直史¹・山本仁²・山村剛士¹ (¹東理大理・²阪大院理)
- P33 たんぱく質外部・内部表面同時認識型ハイブリッドGGTase-I阻害剤の開発
大神田 淳子¹・薄葉 翔²・町田 慎之介¹・原田 和雄²・加藤 修雄¹ (¹阪大産研・²東京学芸大自然科学)
- P34 ヘムオキシゲナーゼ反応の第2ステップには2つの異なる経路が存在する
坂本 寛¹・高橋研一²・東元祐一郎²・原田沙織²・野口正人² (¹九工大情報工・²久留米大医)
- P35 フラッシュフォトリシス法による放線菌チロシナーゼの酸素結合挙動の研究
廣田俊^{1,2}・川原拓海¹・Emanuela Lonardi³・Ellen de Waal³・舟崎紀昭¹・Gerard W. Canters³ (¹京都薬大・²JSTさきがけ・³Leiden大)
- P36 リン酸化モチーフ特異的抗体を用いたタンパク質リン酸化解析法の開発
中馬吉郎・飯塚可奈子・坂口和靖 (北大院理)
- P37 合成ハプテンを用いた抗シガトキシン抗体の作製: サンドイッチイムノアッセイ法の開発と分子認識
円谷 健¹・大栗 博毅²・佐藤 威³・大城 直雅⁴・佐々木 俊樹⁵・井上 将行²・平間 正博²・藤井 郁雄¹

(¹大阪府大院理・²東北大院理・³細胞科学研・⁴沖縄県衛生研・⁵水俣環境テクノセンター)

P38 アルギニンペプチドの細胞内移行・プロテオグリカンと R8

田所明子^{1,2}・中瀬生彦¹・川畑紀子¹・武内敏秀¹・二木史朗^{1,2} (¹京大化研・²JSTさきがけ)

P39 人工受容体型イオンチャネルの創出～膜外配列の構造変化による膜電流の制御～

園村 和弘¹・黄檗 達人¹・杉浦 幸雄²・浅見 耕司¹・二木 史朗¹ (¹京大化研・²同志社女子大薬)

P40 神経モデル細胞から放出されるドーパミンの酵素発光検出と薬物評価への応用

王 飛霏・篠原寛明 (富山大工)

P41 新規タンパク質蛍光分子プローブの創製とSDS-PAGE用染色試薬への応用

鈴木祥夫¹・生田目一寿²・横山憲二¹ (¹産総研バイオニクス研究センター・²アステラス製薬(株))

P42 4塩基コドン/アンチコドン対を用いた哺乳動物生細胞内での遺伝暗号の拡張

瀧 真清・松下 治朗・穴戸 昌彦 (岡山大工)

P43 拡張開始コドンによる蛍光標識アミノ酸のタンパク質N末端への特異的導入

三浦将典・芳坂貴弘 (北陸先端大材料)

P44 二種類の蛍光標識アミノ酸の導入によるタンパク質フォールディングのFRET分析

永田 裕輔¹・梶原 大介^{1,2}・芳坂 貴弘^{1,3} (¹北陸先端大材料・²岡山大院自然科学・³JSTさきがけ)

P45 翻訳後修飾アミノ酸を部位特異的に導入したタンパク質の発現技術の開発

堀池一志¹・村中宣仁^{1,2}・渡邊貴嘉¹・芳坂貴弘¹ (¹北陸先端大材料・²JSTプラザ石川)

P46 非天然アミノ酸の導入に適したアンバーサプレッサー-tRNAの網羅的探索

児島健治¹・松下陽介¹・平良 光^{1,2}・芳坂貴弘¹ (¹北陸先端大材料・²岡山大工)



第8回生命化学研究会

主 催： 日本化学会生命化学研究会

日 時： 2006年1月14日(土)

場 所： 雨晴温泉 磯はなび(高岡市太田)

話題提供：

9:00 研究会開会 (世話役、運営委員会からの予定連絡&研究会説明)

9:10 九州工業大学 生命情報工学科 坂本 寛

「ヘムオキシゲナーゼの反応機構と蛋白質間相互作用」

10:10 理化学研究所 長田抗生物質研究室 叶 直樹

「光親和型低分子マイクロアレイとアフィニティービーズ：

天然有機化合物を用いたケミカルゲノミクス用ツールの開発」

11:10 九州大学大学院 工学研究院応用化学部門 松浦和則

「DNA ならびにペプチドの自己集合による球状構造体の構築」

12:10 昼食

12:50 富山大学 薬学部 薬化学研究室 藤本和久

「クロスリンク剤を用いた短鎖ペプチドの二次構造制御」

13:40 九州工業大学 物質工学科 竹中繁織

「FT-IR を利用したヒト精子の解析」

14:40 運営委員会司会でのフリーディスカッション

「これからの生命化学と生命化学研究会の展開」

14:55 研究会終了(運営委員会、世話役からの連絡)

15:00 バスでホテルを出発(高岡駅、富山駅あるいは和倉温泉へ)





“がらくた”ヒト生物学へのススメ

相澤 康則

東京工業大学

バイオ研究基盤支援総合センター

RNA情報解析分野

(yaizawa@bio.titech.ac.jp)



はじめに

“がらくた”ヒト生物学とは、自身の研究を一言で説明するために最近よく使う相澤オリジナルの造語である。これは、ヒトに関する「無意味な」生物学、あるいは「どうしようもなくダメな人」に関する(行動)生物学という意味では決してない。ましてや、「国民の税金を使ってまでやる必要のない」生物学とまで解釈されてしまっただけで多くの関係者方々に多大な迷惑がかかってしまうので、まずは“がらくた”ヒト生物学を「これまで生命現象に重要でないと考えられてきたヒト遺伝子の存在意義を理解する生物学」と定義させて頂く。

ヒトに研究対象を限定しているのは、この先の研究人生で何らかの形で医療医学の分野に貢献したいというごくありきたりな欲求からであるが、ではなぜ私がこれほどまでに“がらくた”遺伝子にこだわるであろうか。自分でも明確な答えを出せないが、まずは「他人と違うことをしたい」という精神を大切にしたい気持ちからなのは間違いない。黙っていても1年(2年以上でないところがミソ)も経てば世界のどこからか論文が出てくるような研究はしないという理想をできるだけ持ち続けるためには、“がらくた”の山に目を向けたわけである。

しかしながら私は、他の選択肢を泣く泣く諦めて“がらくた”の山に飛び込む決心をしたわけではなく、“がらくた”遺伝子達に、ライフサイエンス分野内での発展性を十分に感じていたのは確かである。そして実際に飛び込んでみて、現時点では、その直感はあるが間違っていないと思っている。

本項では、私が現在夢中になっている2種類の“がらくた”ヒト遺伝子 —レトロトランスポゾンLINE1とノンコーディング遺伝子群— のうち、主に前者のLINE1について紹介させて頂く。そのなかで「なぜLINE1が“がらくた”なのか」、「この“がらくた”にどのような魅力があるのか」、そして「この“がらくた”の真の機能をどのように探るか」について、2006年時点での私見を披露していきたい。

除け者にされているLINE1

2001年にヒトゲノムのドラフト配列が発表されたときに、トランスポゾン由来の配列がヒトゲノムの約半分(45%)を占めていることは大きな話題となった。そのなかでも一番広いゲノム領域(17%)を占有しているのがLINE1であることは、LINE1が魅力的な研究対象であると同時に“がらくた”と見なされる理由の一つである。

“がらくた”扱いされる第一の理由は、まさにこの「ゲノムのどこにでもいる」ことで多くの研究者を悩ましていたためである。ヒトゲノム配列解読の際、ゲノムの断片をそれぞれ配列解読してからそれらをつなぎ合わせて染色体全体の配列を最終的に決定したのであるが、LINE 1等のゲノム内に多く存在する繰り返し配列がのりしろ部分に頻繁に存在することで、このつなぎ合わせ作業が非常に厄介になったことは容易に想像がつくであろう。また、EnsemblやUCSC Genome Browserといったサイトでゲノム上での遺伝子構造を調べたことのある方ならばお気づきかもしれないが、LINE 1と注釈されている部分は、他の遺伝子の間 (Intergenic region) やまったく遺伝子が確認されていない領域 (Gene desert) だけでなく、遺伝子の内部—イントロンやエキソン、3'非翻訳領域そしてプロモーター領域—にも点在している。その結果、今日の遺伝子発現解析の主役であるDNAマイクロアレイ技術では、どこにでもあるLINE 1などの繰り返し配列と塩基対を形成しないように、各遺伝子のmRNAを特異的に検出するためのDNAオリゴプローブをわざわざ設計し、チップ上に固定化している (余談であるが、網羅的と銘打っているマイクロアレイでもゲノム内にたくさんあるLINE 1遺伝子の発現量を測定できないところに、LINE 1研究のロマンを感じていたりしている)。

ゲノム内のLINE 1由来配列の99%はあくまで“由来配列”であり遺伝子としての機能を失っていることも、LINE 1が“がらくた”視される所以の一つである。遺伝子の形を保っているLINE 1は全長約6000塩基対を有し、その中に内部プロモーターと3'非翻訳領域で挟むかたちで2つのタンパク質をコードしている (図1参照)。これらタンパク質は共に、レトロトランスポゾンとしてゲノムの別の部位に自身の配列を挿入していく際に必須である。一方、(1)ゲノムへの不完全な転移反応、あるいは(2)完全転移反応後に起きた変異 (塩基点変異やゲノム組み換え等)により遺伝子としての原形をとどめていないLINE 1由来配列は、基本的には転移不能である。そのため大部分のLINE 1由来配列はゲノムの化石と考えられ、“がらくた”と見なされているのである。

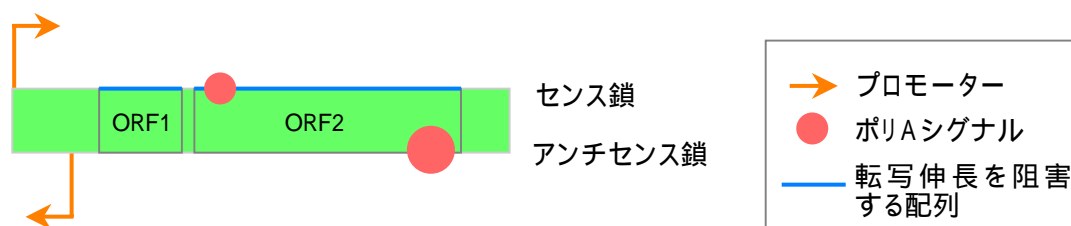


図1 LINE 1によるゲノム構造改変様式。

残り1%弱の遺伝子としての形を保っているLINE 1さえも、利己的遺伝子やパラサイトといった扱いである。データベースにあるヒトゲノム配列上には、転移可能なLINE 1は60から80ほど存在していると推測され、それらは生殖細胞内で減数分裂時に発現・転移する結果、ヒトの世代間でゲノム内LINE 1分布に違いが見られるようになる(4, 5)。このいわゆるLINE 1多型は、一塩基多型 (SNPs)と同様に体質や薬感受性に関する個人差の根源と考えられているだけでなく、より疾患発病あるいは進行に大きな影響を与えていると考えられている。実際、親のゲノム上のある疾患関連遺伝子は正常に機能しているが、子供のその疾患遺伝子内にLINE 1が挿入しているために発病に至った、という報告が年々蓄積されている(2)。一般

にLINE1は、他のLINE1が存在する部分にある程度選択的にコピーを組み込んでいくので、無害な“がらくた”とみなされているが、時には他の遺伝子に入り込んでしまうために、細胞機能を破壊するといった悪いイメージを持たれているのである。

LINE1はゲノムを形作っている LINE1 gene breaking

では、レトロトランスポゾンLINE1遺伝子は単なるゲノム破壊因子なのであろうか？その悪役のイメージは、上述のようにLINE1挿入は疾患組織からのみ発見されているという偏ったサンプリングによることが一因であることは否定できない。仮にアインシュタインやニュートンといったこれまでの人類の歴史で天才と呼ばれてきた偉人の脳サンプルを集めてLINE1の転移を調べることができるのであるならば、もしかしたらLINE1の挿入が天才を生み出す善玉遺伝子という結論を得られるかもしれない、と対極の想像がふくらむのは私だけではないであろう。

しかしながらそこまで極端なLINE1性善説に偏るのも、真のLINE1の生物学的意義を探究するのに危険である。そこでひとまず中立な立場に戻り、LINE1のゲノム機能の改変機構に関する知見を紹介したい。まずはLINE1の転移メカニズム。LINE1遺伝子は、レトロウイルスや他のレトロトランスポゾンと同様に、内部にコードしている逆転写タンパク質(ORF2; 図1参照)を用いて自身のmRNAを鋳型にcDNAを合成し、ゲノムに組み込む(1)。これは「Copy and Paste」メカニズムと呼ばれており、「Cut and Paste」メカニズムのDNAトランスポゾンとの絶対的な相違点である。このメカニズムによりLINE1はヒトゲノムの進化の過程でコピー数を増幅させることが出来たわけである。このようなメカニズムを考えると、LINE1は単に「転移」としているというよりは「増幅転移」と表現した方がより正確であろう。

また、LINE1は単に自身のコピーをゲノム内に挿入するだけでなく(図2-A)、それに伴い挿入部位周辺のゲノム構造を多種多様な様式で改変することが知られている。増幅転移に伴って、その周辺の数千塩基対ものゲノム領域を欠失することさえある(図2-B)(6,7)。また面白いことに、増幅転移する前のLINE1の3'側の周辺配列も引き連れて増幅転移することもあれば(図2-C)(8)、全く別の染色体上にあるゲノム

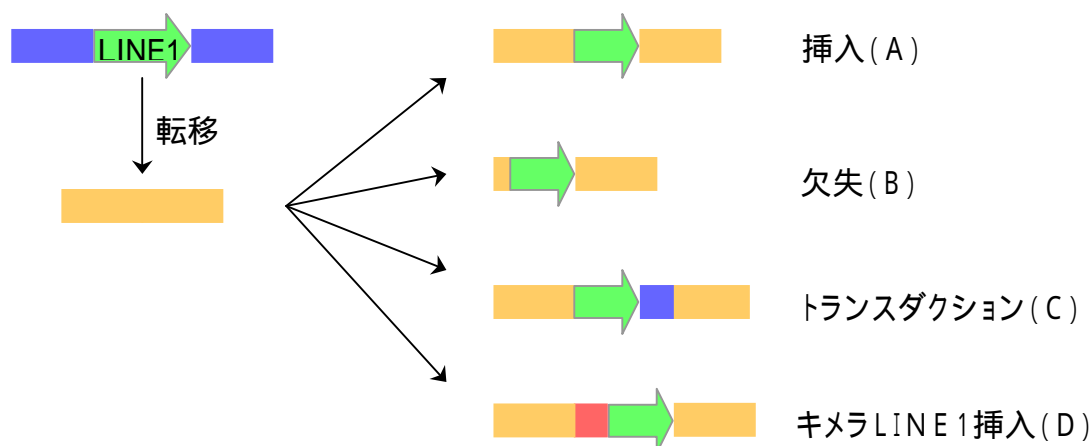


図2 転移後周辺遺伝子の発現に影響を与える、LINE1 内部に散在する遺伝子制御配列.

配列とLINE 1自身の融合配列を挿入する例も数少ないながらも知られている(図2-D)(9)。この融合配列はおそらく、LINE 1 mRNA 上で cDNA 合成している途中で、別の遺伝子の mRNA に逆転写タンパク質が飛び移ったためだと考えられている(Template switch)。いずれにせよ、このようにゲノム配列をシャッフルしながら増幅転移を繰り返している点は他のトランスポゾンには見られない特徴である。

さらに、LINE 1内部には様々な転写制御配列が散在している(図1)。これまで知られているだけでも、2つのプロモーター領域、2つのポリA付加シグナル、そして高いアデニン含有量のためにRNAポリメラーゼの伸長を阻害する領域を含む(3)。これらのうち特にアンチセンス鎖に存在する制御配列は、LINE 1自身の転写発現には全く影響を与えず、むしろ転移先周辺に遺伝子が存在している場合にその生物学的意味をもつわけである。そこで私は留学時代、さらなるLINE 1のゲノム機能への影響を考え、同じ研究室所属のバイオインフォマティクスの達人と共に、ウェットとドライ実験の両アプローチにより LINE 1 による遺伝子分断の可能性を示した(図3)(10)。LINE 1がある遺伝子Xのイントロンへ逆向きに挿入した場合、遺伝子Xのプロモーターから開始した転写はLINE 1に内在するポリA付加シグナルで停止し、遺伝子Xのさらに下流部位はLINE 1のプロモーターのアンチセンス鎖に存在するプロモーターから転写されると考えた。すなわち、LINE 1により遺伝子Xが2つの転写ユニットに分断されることになる。我々はヒトゲノム配列からこの“LINE 1 Gene-breaking”により分断された

であろう13候補遺伝子を探し出し、さらに実験によって3遺伝子は間違いなくLINE 1の存在によって2つの遺伝子に分断されたことを示した。このようなLINE 1内部の転写制御配列に関する知見は、LINE 1が遺伝子のエキソン部分に入り込まなくても、また図1に示したような大規模なゲノム構造の改変を伴わなくても、LINE 1配列上に結合するタンパク質の機能を介して、転移部位周辺に存在している遺伝子の発現パターンを変えうることを強く示唆している。

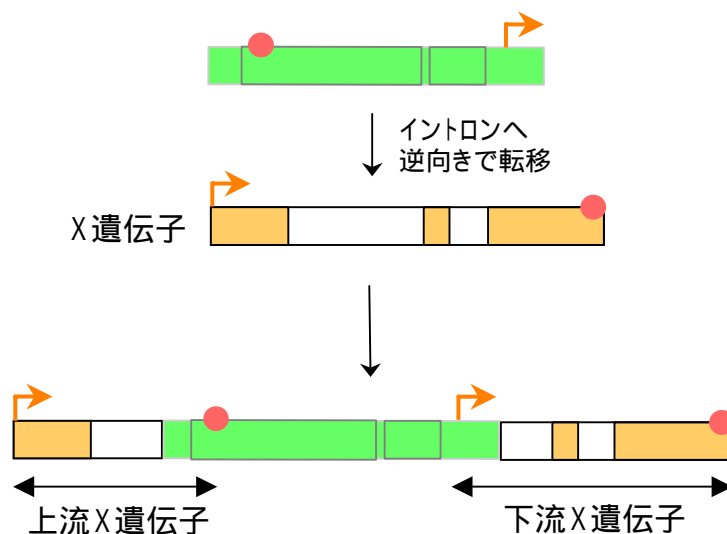


図3 LINE1 gene-breaking.

以上のようなLINE 1による様々なゲノム改変機構と、ヒトゲノム内でのLINE 1の高い占有率をあわせて考えると、ヒトゲノム進化の過程でLINE 1が果たした役割の大きさを実感して頂けるであろう。私のグループでは、今後ともLINE 1内部に潜んでいるであろう新規の遺伝子制御配列を探し続け、“がらくた”配列研究者の視点からヒトゲノム構造への理解を深めていく予定である。

LINE 1の別の顔を探る

前項ではヒトゲノムの進化に対するLINE 1の貢献について触れてきた。では、もっと短いタイムスケールで、すなわち我々個体の一生の時間軸の中で、LINE 1に何らかの生物学的な意義がないのだろうか？さ

らには、LINE 1は、ゲノム構造を改変するレトロトランスポゾンとして以外に細胞内機能を持ち合わせていないであろうか？私は、「LINE 1 = レトロトランスポゾン = ゲノム改変因子」の公式を信じる多くのLINE 1研究者には”I doubt it!!”と言われてしまうこれらの疑問を抱き、“がらくた”LINE 1に未知の細胞内機能があるのかどうか検証している。

この雲をつかむような疑問に答えるために、私はLINE 1にコードされている2つのタンパク質に着目し、まずは2つの問題に落とし込むことにした。第一に、「LINE 1にコードされている2つのタンパク質に何らかの細胞機能があるのかどうか、あるとすればどんな機能なのか」という問題。そして、「これらタンパク質発現はいつ、そしてどのように制御されているのか」という問題である。要は、LINE 1とそれ以外の細胞内機能との間のクロストークを構成する2つの矢印それぞれに問題を分割したわけである。

後者はそれほど目新しい研究観点ではなく、これまでも多くの研究者によって、LINE 1内部プロモーター解析、あるいはヒトやマウスの組織に対する抗LINE 1タンパク質抗体による免疫染色によって検討されている。例えば、LINE 1タンパク質は多くの体細胞ではほとんど発現していないが、リウマチ患部やある種の腫瘍組織で発現が報告されている(2,11)。これらの報告は、私をLINE 1の未知の機能探索に駆り立てた要因の一つであるのだが、この種の医学系の小さなレポートは残念ながら体系だっけしかも網羅的にLINE 1の発現組織分布を検討していない。そこで当グループでは様々な正常組織および炎症性疾患組織に対する免疫染色を行い、疾患とLINE 1タンパク質発現との相関性を体系だっけ行き、“がらくた”LINE 1研究の医学分野への発展性を模索する予定である。

一方前者の問題、LINE 1タンパク質の未知の機能についてはこれまで全く報告がない。2つのタンパク質のうち、ORF 2タンパク質に関しては上述のように逆転写活性だけでなくDNA切断活性も有すること、すなわちゲノム内への増幅転移の中心的な役割を果たしていることしか分かっておらず、もう一方のORF 1タンパク質に至ってはLINE 1増幅転移に必須であること以外、何の分子機能も明らかになっていない。まさに「LINE 1 = レトロトランスポゾン = ゲノム改変因子」の枠を越えていないのである。そこで私は、LINE 1の新規の側面を探るため、LINE 1タンパク質を細胞内で過剰発現させ、それに応答して発現レベルを変化させる遺伝子をマイクロアレイによって同定するという手段を用いた。さらにそのような遺伝子の応答がLINE 1タンパク質のどのドメインに起因するかまで明らかにしており、現在はその分子機構の解明を行っている。これら一連の結果の詳細は、論文発表に辿り着くまでは、今しばらくお待ち頂きたいが、現時点ではLINE 1タンパク質がガンの進行(転移や血管新生)に関わっている可能性を示唆するデータが得られており、“がらくた”LINE 1が意外な形で細胞生物学のブレークスルーを産み出すかもしれないと密かに楽しみながら日々実験をしている。

ちょっと宣伝

また、ノンコーディング遺伝子に関する研究については別の機会に詳細に紹介する予定であるが、最後に簡単に宣伝させて頂く。私は、昨年8月から開始した経済産業省の「機能性RNAプロジェクト」に参画させて頂き、H-invitational (<http://www.h-invitational.jp/>)というヒト遺伝子データベースに登録されている約5500ノンコーディング遺伝子の中から機能を有しているものを探し出し、その機能解析を行うことを目指す

機能解析部門に所属している。

ノンコーディング遺伝子とは「タンパク質を発現しないで機能を発揮する遺伝子」である。必ずしもイコールではないが、「転写産物(mRNA)が細胞機能を有する遺伝子」といってもいいであろう。これまで、タンパク質をコードしている可能性の低いmRNAは転写のノイズ、すなわち“がらくた”転写産物としか見なされていなかったが、近年のRNAiの爆発的なブームによりそのようなRNAにも機能が隠されているのではという期待がふくらみ、ノンコーディングRNA(あるいは遺伝子)という名称がつけられようになったわけである。

ここでの私の研究テーマも、ある機能未知の遺伝子を解析するという点で、上述のLINE1タンパク質の細胞内機能探索と共通している。そこでLINE1の場合と同様にマイクロアレイでの機能スクリーニングを行うために、機能解析部門だけでなく他の2つの部門、バイオインフォマティクス部門およびツール開発部門と人員とアイデアを総動員して、ヒトノンコーディング遺伝子の発現を解析するDNAチップを作成し、現在5500の中から興味深い機能を有しているノンコーディング遺伝子を探索しているところである。

おわりに

日本でのLINE1の研究人口はかなり少なく、日本国内では私共のグループを入れても片手で足りるほどの数の研究室でしかLINE1を研究していない。そのためであろうか、どこの学会でもかなり詳しくイントロを紹介する必要性を感じていたため、今回はLINE1伝道師としてLINE1研究に焦点を当て、基本的な分野の背景から私の個人的な見解に至るまで紹介させて頂いた。以上の私の拙筆をお読み頂き、この“がらくた”と呼ばれるゲノム因子について少しでも皆様のご理解が深まり、そして私がどのような方向性でLINE1分野の発展性を模索しているかについて認知して頂き、さらに欲を言えば皆様の中からもLINE1研究に興味を持って下さる方がでてくれば、この上ない幸せである。

(参考文献)

・LINE1に関するお薦めの総説

- (1) Kazazian, H.H. Jr., Moran, J. V. *Nature Genetics*, **1998**, 19(1):19-24.
- (2) Ostertag, E. M., Kazazian, H. H. Jr. *Annu. Rev. Genet.*, **2001**, 35, 501-38.
- (3) Han, J. S., Boeke, J.D. *Bioessays* **2005**, 27(8):775-84.

・参考原著論文

- (4) Brouha, B., Schustak, J., Badge, R. M., Lutz-Prigge, S., Farley, A. H., Moran, J.V., Kazazian, H.H. Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2003**,100(9), 5280-5.
- (5) Bennett, E. A., Coleman, L. E., Tsui, C., Pittard, W. S., Devine, S. E. *Genetics*, **2004**, 168(2), 933-51.
- (6) Symer, D.E., Connelly, C., Szak, S. T., Caputo, E. M., Cost, G. J., Parmigiani, G., Boeke, J.D. *Cell*, **2002**,110(3), 327-38.
- (7) Gilbert, N., Lutz-Prigge, S., Moran, J. V. *Cell*, **2002**, 110(3), 315-25.
- (8) Pickeral, O.K., Makalowski, W., Boguski, M. S., Boeke, J. D. *Genome Research*, **2000**, 10(4), 411-5.
- (9) Lutz, S. M., Vincent. B. J., Kazazian, H. H. Jr, Batzer, M. A., Moran, J.V. *Am. J. Hum. Genet.*, **2003**, 73(6), 1431-7.
- (10) Wheelan, S. J., Aizawa, Y., Han, J. S., Boeke, J. D. *Genome Research* **2005**, 15(8), 1073-1078.
- (11) Neidhart, M., Rethage, J., Kuchen, S., Kunzler, P., Crawl, R. M., Billingham, M. E., Gay, R. E., Gay, S. *Arthritis Rheum.*, **2000**, 43(12), 2634-47.



哺乳類における D-アミノ酸の代謝系について

木野内忠稔

京都大学原子炉実験所 放射線生命医科学研究本部

放射線生命科学研究部門 放射線機能生化学分野

(kinouchi@HL.rri.kyoto-u.ac.jp)



1. はじめに ~ 対称性の崩れた世界に生まれた私たち

みなさんは、「パラレルワールド」という言葉をご存じですか。なんたらワールドという言葉は、SF のネタとして非常によく使われますが、そのなかでも「パラレルワールド」は最も頻繁に用いられるタイトルや舞台設定ではないでしょうか。現実世界と並行(平行)して存在する世界でありながら、決して交わることもないもうひとつの世界。それが「パラレルワールド」です。例えば、太陽の向こう側に地球と同じような惑星があって、そこでは左右、性別から社会的ルールにいたるまであべこべの法則のもと、人々が暮らしている。そんな「パラレルワールド」に、自分の住んでいる世界が唯一の現実世界だと信じて疑わなかった主人公が、突然迷い込んでしまうことから繰り広げられる物語に我々の知的好奇心は魅了されてきました。

SF のみならず文学作品においても「パラレルワールド」は登場します。ルイス・キャロル作「鏡の国のアリス」では、鏡の向こう側にある、対称性や逆転といった鏡の性質が反映された世界を物語の舞台としています。数学・論理学が本職であった著者は、本作で様々な実験的表現を用いて、読者を「知の冒険」に誘いますが、その設定として鏡の国という「パラレルワールド」を用意しました。では、「パラレルワールド」はあくまで空想上の世界なのでしょうか。実際に宇宙物理学の分野では、その存在が真剣に議論されているようです。すなわち、反物質からなる別の宇宙が存在しているのではないかと、いうものです。ビッグバン直後の初期宇宙においては、物質と反物質が等量存在していたことが、その根拠となっています。一方、我々の住む宇宙は、物質と反物質の量的対称性が何らかの影響によって崩れた結果、成立したものと考えられています。ん？これと似たような話を生命化学の分野で耳にしたことはありませんか。生命進化における「ホモキラリティー」成立の謎とよく似ていないでしょうか。生命の起源について議論されるとき、いつ、どのようにして生物はL体のアミノ酸だけから構成されるようになったのか、なぜD-アミノ酸は生体材料として用いられなかったのか、ということが必ず問題になります。未だに全ての研究者を納得させる解答は得られていませんが、近年、その鍵となるべき発見が報告されています。オーストラリア・メルボルンの郊外に位置するマーチソンに落下した隕石に含まれるアミノ酸の分析がそれです。マーチソン隕石の原型は、地球と同様に太陽系の誕生時に生まれ、その後、大きな変化のないまま地球に落下してきたものと考えられています。従って、生命誕生以前の構成成分を保有している貴重な試料として注目されており、Cronin らによって隕石中に含まれるアミノ酸の分析が行われました¹。その結果、L-アミノ酸の含有量が D-アミノ酸に対してわずかに優っ

ていたのです。すなわち、地球上における生命誕生以前にアミノ酸の量的対称性が崩れていたことが明らかになったのです。

2. 生体内における D-アミノ酸の動態

そして、生命誕生から 40 億年が経過した現在、細菌の細胞壁などのわずかな例外を除き、生物界では、ましてやヒトのような高等哺乳類においては、「D-アミノ酸は生体中に存在しない」と考えられてきました。本当に？実は、しばらく前からヒトの体内にも遊離型の D-アミノ酸は存在していることが知られていたのですが、その由来は、食物(発酵食品など)や腸内細菌の代謝産物であると考えられていたのです。しかし、近年の検出技術の向上によって、遊離型の D-アミノ酸や D-アミノ酸を含むタンパク質がヒトの様々な組織に存在することが明らかになってきました。生体内で検出される遊離型の D-アミノ酸は、D-セリン(Ser)と D-アスパラギン酸(Asp)で、いずれも生体内で重要な生理機能を担っています。D-Ser は神経伝達物質として NMDA (N-メチル D-アスパラギン酸)受容体に作用し、また、D-Asp はメラトニンの分泌制御や精巣の成熟に関与することがわかっています。その生合成経路は不明な点が多いのですが、D-Ser に関してはマウスからセリンラセマーゼが発見され、たしかに D-アミノ酸が生体内で合成されていることが明らかにされました。

一方、タンパク質中に発見される D-アミノ酸は、おもに D-Asp です。本稿ではタンパク質中のアミノ酸残基が L 体から D 体に変化することを便宜的に「ラセミ化」としますが、Asp 残基のラセミ化は、非酵素的反応、すなわち、化学反応によって進行することがわかっています(図 1)。この化学反応のきっかけとなるのが、

活性酸素による酸化ストレスや、紫外線などの加齢と共に増加する蓄積性のストレス=老化ストレスです。従って、D-Asp 含有タンパク質は老化組織において発見される傾向にあります。しかも様々な疾患の原因タンパク質中に発見されるため、その因果関係が指摘されており、以下のような発症仮説が考えられています(表 1)。老化ストレスにより Asp 残基がラセミ化し、タンパク質の正しい立体構造が崩れ、変性する。その結果、機能低下や異常蓄積を引き起こし、発症する、というものです。いわゆるフォールディング病と同様の発症仮説であり、従って、表に掲げた関連疾患の中にも、フォールディング病に分類されるプリオン病やアルツハイマー病が挙げ

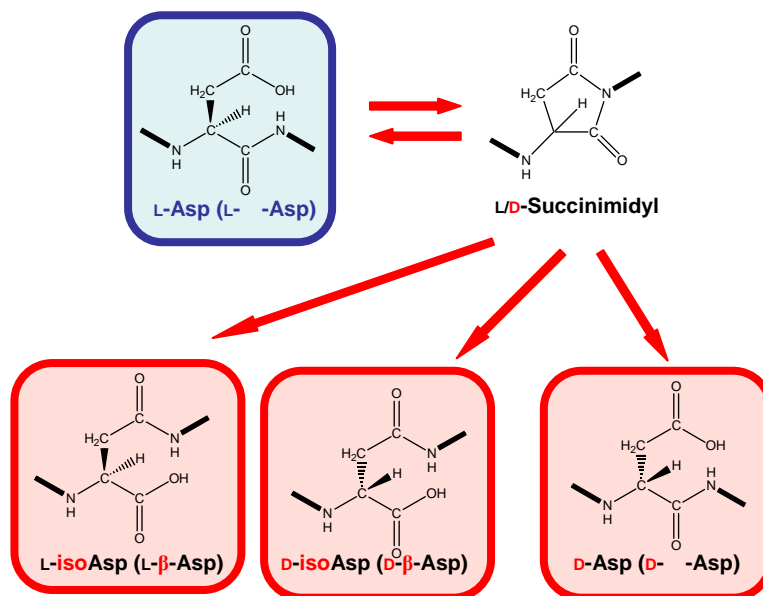


図 1: タンパク質中での Asp 残基の反転・異性化の機構

一次配列中における L-Asp(L-α-Asp) 残基の隣接アミノ酸の側鎖が小さい場合(Ala, Ser など)や、立体構造的にプロトンの攻撃を受けやすいような場合に、五員環イミド中間体を經由して、D-Asp (D-α-Asp) 残基、D-isoAsp (D-β-Asp)残基、L-isoAsp (L-β-Asp) 残基の計 4 種の異性体が形成される。

られています。以上、D-アミノ酸研究の詳しい内容については、参考文献(2)、(3)を参照して頂くと幸いです。

3. 哺乳類における D-Asp 含有タンパク質の代謝

さて、前置きが長くなりましたが、私の研究テーマは、哺乳類における D-Asp 含有タンパク質の代謝機構の解明です。上述のように、ヒトや哺乳類の体内には遊離型 D-アミノ酸の生合成系が存在しており、その分解酵素も発見されています。それでは、D-Asp 含有タンパク質は、どのように代謝されているのでしょうか。一般に、不可逆的に変性してしまったタンパク質は、それらが細胞に対して有害に作用する前に、プロテアソームなどのタンパク質分解酵素によって速やかに分解されます。ところが、これまでに D-アミノ酸含有タンパク質を分解する酵素は発見されていませんでした。そこで私たちは、D-Asp 含有タンパク質も同様に分解という手段で品質管理されているのではないかと考え、D-Asp 含有タンパク質に特異的な分解酵素の活性測定法を開発し、スクリーニングを行いました。その結果、ミトコンドリア内膜に結合する分解酵素 : D-aspartyl endopeptidase (DAEP) を発見したのです⁴。DAEP は分子量 70 万にも及ぶ巨大な超複合体です(表 2)。その構成因子の全てが同定されたわけではありませんが、グルタミン酸脱水素酵素(GDH)やコハク酸脱水素酵素といったエネルギー代謝に不可欠な酵素群が DAEP に含まれていることがわかっています。これらの分子は、その名前の由来の通りの機能を持ちながら、状況(=基質としての D-Asp 含有タンパク質の増加)に応じて自律的に複合体を構築し、より新しい機能(=DAEP 活性)を発現しているのではないかと考えています。それでは、なぜ DAEP はミトコンドリアの内膜に局在しているのでしょうか。ミトコンドリア内膜では、酸素呼吸による ATP の効率的な合成と引き替えに、大量の活性酸素を産生することがよく知られています。活性酸素は、ラセミ化の原因として挙げられていますが、実際にミトコンドリア膜タンパク質における Asp 残基のラセミ化の割合は、可溶性タンパク質に比べて高いそうです。従って、DAEP は、ラセミ化によって変性したタンパク質をいち早く認識・分解して、正常な新規タンパク質へのターンオーバーを促しているのではないのでしょうか。なぜなら、ミトコンドリアでのエネルギー生産系の破綻は、個体の死に直結する大問題であるからです。その一方で、DAEP 活性は酵母や線虫といった寿

表 1 D-Asp 含有タンパク質と、それに起因することが指摘されている疾患

D-Asp含有タンパク質	関連疾患
βアミロイドタンパク質	アルツハイマー病
タウタンパク質	
αA-クリスタリン	白内障
プリオンタンパク質	プリオン病
ミエリン塩基性タンパク質	多発性硬化症
エラスチン	動脈硬化
コラーゲン	パジェット病、骨粗鬆症

表 2 DAEP の基本的な性質

至適温度	37
至適pH	8.5
金属イオンの影響	
非存在下	100%
Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Mn ²⁺	~200%
Zn ²⁺	< 0.01%
界面活性剤の影響	
非存在下	100%
SDS (0.01%)	< 0.01%

命の短い真核生物では検出されていません。従って、酸化ストレスのような蓄積性のストレスが個体の恒常性に大きく影響する寿命の長い生物において、DAEP のようなシステムが進化の過程で求められ、確立したのではないかと考えています。

4. おわりに ~D-アミノ酸研究がもたらすもの

以上のことから、哺乳類における D-アミノ酸の代謝系について簡単にまとめてみましょう。図 2 の矢印のように、従来、我々の体内では L-アミノ酸だけによるタンパク質への異化と同化が繰り返されるだけ、と考えられており、生体内に存在する遊離型の D-アミノ酸は、食品や腸内細菌の分解物に由来すると考えられていました(矢印)。ところが、D-Ser はラセマーゼによって合成されることが明らかになり、D-Asp もまた生合成されることが強く示唆されており、生理機能を持っていることが明らかになっています(矢印)。また、D-アミノ酸含有タンパク質については非酵素的に老化ストレスにより生じ(矢印)、生体にとっては有害に作用しますが、これに対する防御機構として、DAEP による分解が行われていることが明らかになりました(矢印)。本稿では解説しませんが、余剰や分解産物としての遊離 D-アミノ酸は、D-アミノ酸オキシダーゼと D-Asp オキシダーゼによって分解され、排出されると考えられています(矢印)。

このように、近年になってようやく D-アミノ酸の代謝系が明らかになってきました。しかし、残された課題として、遊離型 D-Asp の生合成系が未同定であったり、DAEP 以外に D-アミノ酸含有タンパク質に対する特異的な分解系が存在するのか否か不明であるなど、その全容の解明にはまだ時間がかかりそうです。今後、より詳細な D-アミノ酸代謝系の研究が進み、細胞内の代謝ネットワークにおける位置付けが明らかになれば、D-アミノ酸を原料としたタンパク質製剤やナノ材料などの開発が期待できます。

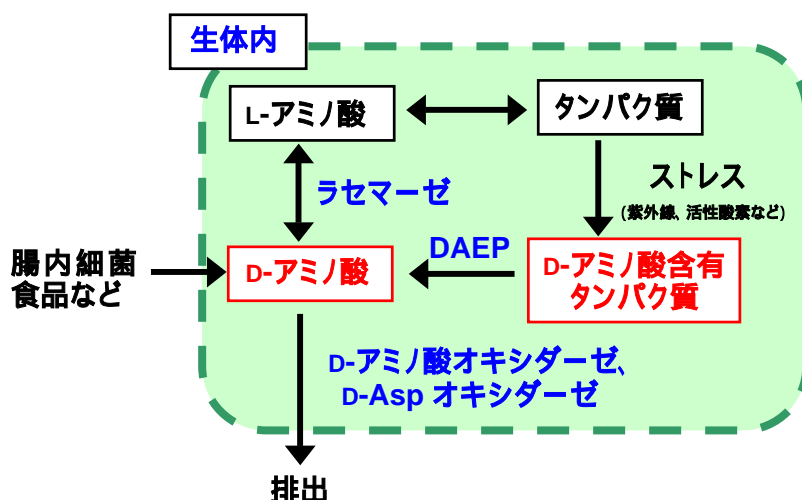


図 2 哺乳類における D-アミノ酸の代謝系

さて、最後に昨年報告された興味深い報告をひとつ。ヌクレオソームのヒストン八量体を構成するサブユニット、ヒストン H2B において、特異的に 25 番目の Asp 残基がラセミ化しており、その生成は PIMT: Protein L-isoaspartyl methyltransferase によって触媒されるものだ、という報告がなされました⁵。内容の詳細は省略しますが、PIMT は本来図 1 で示すところの L-isoAsp を L-Asp に修復する酵素として同定されたものです。これまで、タンパク質のラセミ化はストレスによる化学反応であるとされていたので、図らずも築いてしまった「常識」に一石を投じるものでした。アセチル化に代表されるヒストンの修飾は、DNA との親和性に大きく影響することが知られています。もし、ヒストンのラセミ化がその制御に関係しているとしたら、それは高等生物ではじめて発見された D-アミノ酸含有タンパク質の合目的利用です。私自身の研究との関連で言えば、

DAEP は、細胞内で 7-8 割がミトコンドリアに局在し、残りが核に存在しているため、ラセミ化ヒストン H2B は DAEP の基質になっているのかもしれませんが。

*

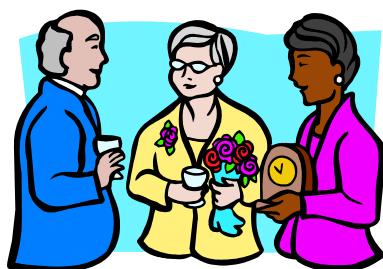
以上のように、D-アミノ酸の研究は、進化学、生化学、有機化学などの様々な領域の複合的な研究分野です。また、「生体は L-アミノ酸だけから構成される」という常識をひっくり返したことを端緒に、自分の世界 (=L-アミノ酸からなる世界) が唯一の現実世界なのか、という哲学的な問いを投げかける側面も持っています。こうした背景が、私を D-アミノ酸の研究に熱中させている理由のひとつであり、一人の研究者として人生をかけて挑むにふさわしい「知の冒険」であると思わせているのでしょう。

読者の皆さんへ。タンパク質の動態を追求しているとき、既知の解析法で行き詰まったときは、どうか D-アミノ酸の存在を思い出して下さい。それがその問題を解く糸口になるかもしれません。

参考文献

- (1) Cronin, J.R. and Pizzarello, S., "Enantiomeric Excesses in Meteoritic Amino Acids" *Science*, 275, 951 (1997)
- (2) 木野内忠稔、本間浩、藤井紀子「哺乳類における D-アミノ酸の動態とその重要性」*蛋白質核酸酵素*, 50, 453-460 (2005)
- (3) 藤井紀子、木野内忠稔「老化タンパク質中の D-アスパラギン酸の生成機構とその修復」*ファルマシア*, 41, 875-879 (2005)
- (4) Kinouchi, T., Ishiura, S., et al., "Mammalian D-aspartyl endopeptidase: a scavenger for noxious racemized proteins in aging." *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 314, 730-736 (2004)
- (5) Young, G.W., Hoofring, S.A., Mamula, M.J., Doyle, H.A., Bunick, G.J., Hu, Y. and Aswad, D.W., "Protein L-isoaspartyl methyltransferase catalyzes in vivo racemization of Aspartate-25 in mammalian histone H2B." *J. Biol. Chem.*, 280: 26094-26098 (2005)

追記: 参考文献(1)の著者である Sandra Pizzarello 先生は、昨年 7 月に新潟で開催された「生命の起原およびアストロバイオロジーに関する国際シンポジウム」にいらっしゃいました。セミナー後、居酒屋チェーン店の「村 来」で夕飯を同席する機会に恵まれました。ヴェネツィア出身の Pizzarello 先生は、お刺身などの海産物に抵抗が無く、美味しそうに召し上がっていました。他の日本食も喜んで召し上がっていらっしゃったのですが、お豆腐だけはお口に合わなかったようで、冷や奴を一口食べて身震いをしていらっしゃいました。ホスト側としてごちそうすべきところを、逆にごちそうになってしまい、大変恐縮した次第です。



気になった論文



菅蒲 弘人(あやめ ひろひと)

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 博士課程二年

ayam-org@tmd.ac.jp

現在、東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 秋吉一成教授のご指導のもとナノゲルを用いたドラッグキャリアの研究を行っております。この度は、生命化学研究レター「気になった論文」への投稿機会を石田 斉先生に頂き感謝しております。今回は高分子を用いたドラッグキャリアについての論文を 3 報紹介させていただきます。

Light-induced Gene Transfer from Packaged DNA Enveloped in a Dendrimeric Photosensitizer

N. Nishiyama, A. Iriyama, W. -D. Jang, K. Miyata, K. Itaka, Y. Inoue, H. Takahashi, Y. Yanagi, Y. Tamaki, H. Koyama, K. Kataoka, *Nat. Mater.*, 2005, **4**, 934-941.

まず、1報目の論文です。この論文は東大の片岡先生がNature Materialに発表された論文です。皆様もすでにご承知だとは思いますが、片岡先生は今まで主にpolyethylene glycol (PEG)を用い遺伝子や薬物等のキャリアの開発をしてこられた先生です。今回はこれ

までと違い、PEGを用いずに光増感剤 dendrimer を用いた光感受性キャリアの開発を行った論文です。通常、合成遺伝子キャリア、特に高分子を用いた遺伝子キャリアのエンドソームの脱出方法が大きな問題となっています。Polyethyleneimine (PEI)等の高分子キャリアはエンドソームに内在した際に、高分子のバッファリング効果により、エンドソーム内におけるpHの低下を抑制します。すると、エンドソーム内に大量の塩化物イオンが流入され、エンドソーム内外の浸透圧のバランスを崩します。最終的にはエンドソームが破壊され、内包物が細胞質内へ放出されます(プロトンスポンジ効果)。

しかし、プロトンスポンジ効果は細胞毒性が高いことでも知られています。そこで、この論文ではプロトンスポンジ効果を用いずに、照射によりエンドソームを脱出するという光感受性キャリアの設計を行いました。この光感受性キャリアの構造は3つの部位から成り立っています(図)。まずは、中心部に位置するプラスミドDNA(pDNA)です。次に、四重構造をとり核局在化シグナルを持つカチオン性ペプチド(CP₄)です。最後に最外殻にある光増感剤 dendrimer phthalocyanine (DPc)から構成されています。この3部構成の電荷比

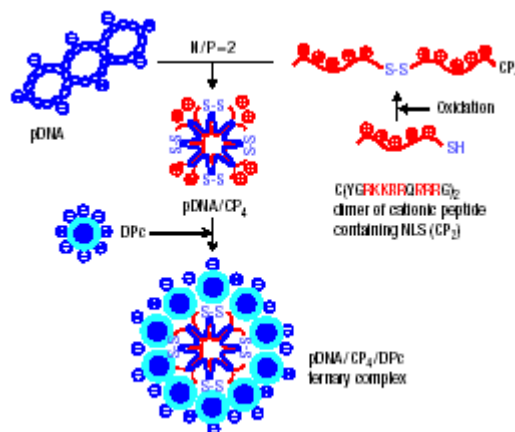


図. pDNA/CP₄/DPc ternary complex (Nishiyama et al., *Nat. Mater.*, から抜粋).

が1:2:1のとき、キャリアの大きさが最小となります。また、この時の ξ -potentialが-29.2 mVという負電荷を示しました。私は負電荷のキャリアがどのように細胞に取り込まれるか不思議に感じました。その答えは、疎水性相互作用による細胞内への取り込みでした。この光感受性キャリアは外殻に位置するDPcが酸性条件下において疎水性となるため、疎水性相互作用により細胞内に取り込まれます。このため、カチオン性高分子キャリアとして有用であることが知られているPEIと比べると細胞内に取り込まれる量は明らかに減少していました。しかし、タンパク質の発現量はPEIとほぼ同等の発現量を示し、細胞毒性はPEIよりも優れていました。このことから、この光感受性キャリアはPEIよりも効率的にエンドソームを脱出することがわかりました。次に、光増感剤の検討を行っています。比較を行った光増感剤は光増感剤としてよく用いられているAIPcS_{2a} (aluminium phthalocyanine with two sulphonate groups on adjacent phthalaterings)という試薬です。AIPcS_{2a}とDPcを比較したところ、タンパク質の発現量は同等でしたが、細胞毒性はDPcがAIPcS_{2a}よりも優れていました。最後に、マウスを用いて動物実験を行いました。ラットに結膜下注射を行った後、目に光を照射しタンパク質の発現を観察しました。その結果、光を照射してから2日後に12体のマウスのうち8体のマウスからタンパク質が発現されているのが観察されました。これらの結果から、照射部位を選ぶことによって狙った部位にのみタンパク質を発現させることが可能な遺伝子キャリアの開発に成功しました。

Nanoparticles on the Basis of Highly Functionalized Dextrans

T. Liebert, S. Hornig, S. Hesse, T. Heinze, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 10484-10485.

2報目の論文は「気になった論文」という意味では私は非常に気になった論文を紹介させていただきます。読まれている方はあまり興味はないかもしれませんが…。今回の報告は多糖を用いた新しいナノ粒子を開発したという論文です。多糖を用いたナノ粒子は当研究室で研究が行われている疎水性多糖、特にコレステロール置換プルラン(CHP)ナノゲルが有名です。しかし、筆者らは CHP ナノゲルは未修飾の水酸基が多いため柔軟な凝集体を形成し、そのことが原因でナノ粒子が崩壊するという問題があるといっています(そのようなことはないとは思いますが)。そこで、この論文ではデキストランの水酸基に対して生体適合性化合物であるプロピオン酸エステルとピログルタミンを置換した dextran propionate pyroglutamate (DPP)の合成を行いました。この DPP が形成するナノ粒子は親水性-疎水性のバランスが安定するので、より安定したナノ粒子が形成されるそうです。DPP の直径は scanning electron microscopy と atomic force microscopy を用いて、平均の直径が 300 nm であることが観察されました。また、DPP はその粒子を 3 週間にわたり維持することもわかりました。しかし、本報告では DPP による核酸、タンパク質や薬剤などのキャリアとしての評価の結果がなかったため、キャリアとしての機能は今後の報告を待たなければなりません。

Carbon Nanotubes as Intracellular Transporters for Proteins and DNA: An Investigation of the Uptake Mechanism and Pathway

N. W. S. Kam, Z. Liu, H. Dai, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 577-581 (2006).

3報目の論文は Single-walled carbon nanotubes (SWNTs)の細胞内取り込み機構を解明した論文を紹介させていただきます。SWNTs はこれまでに核酸やペプチド、タンパク質の細胞内キャリアとして用いられて

きました。さらに、SWNT に葉酸を結合させ、近赤外線光を照射することによりがん細胞のみを破壊することを報告しています。しかし、SWNT が細胞内に取り込まれる機構の詳細は報告されていませんでした。そこで、この論文では SWNT の細胞取り込み機構を詳しく調べています。まず、細胞を 4 で培養したところ SWNT は細胞に取り込まれませんでした。また、細胞の ATP 産出を阻害したところ、SWNT は細胞内に取り込まれませんでした。以上の結果より、SWNT はエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれているということがわかりました。次に、エンドサイトーシスの種類の特定を行いました。細胞のクラスリン被覆ピットを取り除いたところ、SWNT は細胞内に取り込まれませんでした。また、カベオラを介したエンドサイトーシスの阻害としてコレステロールを取り除きましたが、SWNT は細胞内に取り込まれました。これらの結果より、SWNT はクラスリン被覆ピットを介したエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれることがわかりました。この結果は、Pantarotto らによる SWNT は非エンドサイトーシスで細胞内に取り込まれるという報告(D. Pantarotto et al., *Chem. Commun.*, **2004**, 1, 16.)とは大きく異なります。筆者らは、Pantarotto らの報告は誤りだとはっきり述べています。その原因として、Pantarotto らが 1 μm 以上の SWNT を用いて細胞内取り込み機構の実験を行っていることを挙げています。1 μm 以上の物質はエンドサイトーシスによる細胞内への取り込みは困難であることが知られています。または Tat や Arg の時と同様に、細胞を固定化する際に失敗している可能性もあると指摘しています。筆者らとほぼ同じ時期に、multiple-walled carbon nanotubes が 4 条件下では細胞内に取り込まれないことが Liu らによって報告されました(Y. Liu et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 4782)。これらのことから、1 μm 以下のカーボンナノチューブはエンドサイトーシスによって取り込まれているようです。個人的には否定論文は筆者らの研究者としての意地が見えて好きなのです。



落合 洋文(おちあいひろふみ)甲南大学先端生命工学研究所 博士研究員

ochiai@center.konan-u.ac.jp

この度は研究会ニュースレターへの投稿機会を頂きまして誠にありがとうございます。京都大学の小林四郎先生のご指導の下で糖加水分解酵素を用いた糖質の合成研究に携わり、2005年3月に博士号を取得いたしました。糖鎖についての研究を行う中で、複雑で神秘的な生命分子の相互作用について強く興味を持ち、さらに研究を続けたいと考え、2005年4月より甲南大学先端生命工学研究所にて、杉本直己先生、甲元一也先生のご指導の下、研究を行っております。今後ともよろしく願いいたします。

今回は糖質の合成化学的手法を用いた生命分子へのアプローチに関する論文をご紹介します。

Dissection of the Carbohydrate Specificity of the Broadly Neutralizing Anti-HIV-1 Antibody 2G12

D. A. Calarese, H.-K. Lee, C.-Y. Huang, M. D. Best, R. D. Astronomo, R. L. Stanfield, H. Katinger, D. R. Burton, C.-H. Wong, I. A. Wilson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2005**, 102, 13372–13377.

ヒト抗体2G12は、エイズウイルスのエンベローブ糖タンパク質gp120の糖鎖エピトープに結合することが

知られており、これらの相互作用解析が糖鎖を利用したワクチンの開発に有用であると考えられています。本論文では2G12に結合する高マンノース型糖鎖(Man₉GlcNAc₂)および8種類のオリゴマンノース誘導体を合成し、ELISA法、複合体の結晶構造解析法、糖アレイ法によって相互作用を解析しています。ELISA法の結果では、糖鎖末端のMan α 1-2Man構造が重要であることが示されました。結晶構造解析では結合に若干の柔軟性があることが示唆され、これが多価の相互作用を強めているのではないかと筆者らは述べています。興味を引かれたのは糖アレイを用いたアッセイの結果で、2G12とオリゴマンノース誘導体の結合親和性がELISA法のときと比較して著しく増加したことが示されました。おそらく多価結合の影響ではないかと述べられていますが、Danishefskyらはすでにこの点に着目して糖鎖エピトープを二つつなげた構造の化合物を合成しています(*J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9560–9562)。相互作用を詳細に解析した上で必要不可欠な糖鎖構造を残し、さらに多価効果を考慮に入れた化合物を合成すれば、効率的に結合親和性の高い糖鎖リガンドが得られエイズワクチンの開発に大きな貢献をするかもしれません。

Glycoviruses: Chemical Glycosylation Retargets Adenoviral Gene Transfer

O. M. T. Pearce, K. D. Fisher, J. Humphries, L. W. Seymour, A. Smith, B. G. Davis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1057–1061.

すでに遺伝子ベクターとして用いられているアデノウイルスに糖質を結合させ、細胞選択性をコントロールした論文です。筆者らはガラクトースおよびマンノースの2-イミノ-2-メトキシエチル-1-チオグリコシド誘導体を用いたグリコシル化によって、アデノウイルスが持つ線維タンパク質上のリジン残基を修飾しました。このリジン残基は細胞表面のアデノウイルスレセプターとの結合に必要不可欠です。したがって、糖質で修飾したアデノウイルスはアデノウイルスレセプターを発現する内皮細胞に遺伝子を導入することができませんでした。一方、マンノースレセプターを発現しているマクロファージは、マンノース修飾アデノウイルスによる遺伝子導入が確認されました。ガラクトース修飾アデノウイルスはマクロファージに対して全く遺伝子導入を示さなかったことから、マンノース含有アデノウイルスによる遺伝子導入が糖質に選択的な取り込みによって示されたことが示されました。

著者の一人であるDavisは、以前に糖デンドリマーをタンパク質分解酵素スプチリシンに化学的に結合させて、糖の性質とタンパク質の性質を併せ持つような糖タンパク質の合成に成功しています(*J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 4750–4751)。いずれの論文も、生命分子の本来の機能を維持した上で糖質の機能を付与させたという点で興味深い複合糖質の合成例だと思います。

Thiooligosaccharide Conjugate Vaccines Evoke Antibodies Specific for Native Antigens

D. R. Bundle, J. R. Rich, S. Jacques, H. N. Yu, M. Nitz, C.-C. Ling, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7725–7729.

本論文では天然型のO-グリコシドだけでなく、非天然型のS-グリコシドを有するオリゴ糖を牛血清アルブミンや破傷風トキソイドと結合させた糖タンパク質をワクチンとして合成し、ウサギ・マウスに投与しています。S-グリコシド含有コンジュゲートワクチンによって糖特異的な抗体が産生し、その抗体は相当するO-グリコシ

ドとも相互作用することが示されました。このとき、*S*-グリコシドに対する抗原特異的な免疫応答は*O*-グリコシドに対する応答と同等かそれ以上でした。

非天然型グリコシドの成功例としては、NKT細胞活性化糖脂質リガンドである「KRN7000」の*C*-グリコシドが*O*-グリコシドより高い抗スポロゾイト活性および抗メラノーマ活性を示したという報告もありますが(*Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3818–3822)、このような化合物にめぐり合えるのは合成化学者の特権ではないかと思えます。一般的には、*C*-グリコシドや*S*-グリコシドなどの非天然型のオリゴ糖は天然型糖質と比較してタンパク質との結合は弱く、加水分解酵素に対する耐性は高くなる傾向にあるようです。このような非天然型オリゴ糖の特徴を活かした新しい医薬品や材料の創製が今後も期待されます。

Semisynthesis of a Glycosylated Im7 Analogue for Protein Folding Studies

C. P. R. Hackenberger, C. T. Friel, S. E. Radford, B. Imperiali, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12882–12889.

タンパク質は翻訳後修飾によって、活性、局在性、相互作用などの機能調節を受けるだけでなく、構造の構築、分解安定性が制御される場合があります。本論文で筆者らは87残基の細菌タンパク質であるIm7の特定の位置にキトビオースを導入した糖タンパク質を合成し、糖鎖の導入がタンパク質の構造安定性に及ぼす影響について検討しています。Im7は4つのヘリックスを有するタンパク質であり、13残基目のアラニン(Ala13)をアスパラギン(Asn)及びキトビオース結合アスパラギン(Asn(Glyco))に置換したタンパク質を設計しました。化学法だけで長鎖タンパク質を合成するのは困難であることから、29残基のアミノ酸からなる末端がチオールペプチドを固相合成によって合成し、これとリコンビナントタンパク質として発現させたタンパク質を化学的に連結させることで87残基からなるIm7誘導体の合成に成功しています。蛍光測定およびCDスペクトルの結果から、野生型Im7、Ala13Asn-Im7、Ala13Asn(Glyco)-Im7の三種のタンパク質はよく似た構造をしていることが示唆されました。このとき、ストップフローと熱変性の結果から、アミノ酸残基の変異及び糖残基の導入は構造安定性にほとんど影響を及ぼさないことが示されました。

構造明確な糖タンパク質の合成は糖質合成の分野では最も盛んに研究されているテーマの一つですが、糖鎖がタンパク質のフォールディングに与える影響を調べた点で興味をひかれました。本論文では大きな影響が見られませんでした。今後導入する糖鎖の種類や位置を変え、構造安定性についてデータベースが構築できれば、生命現象の解明、創薬、新機能的タンパク質の創製などにおいて重要な知見になると思います。

以上、糖質合成化学的手法を用いた生命分子へのアプローチに関する論文を紹介いたしました。

糖質合成化学の手法によって生命化学の分野にできるアプローチはまだまだ沢山あると思います。細胞や組織における糖鎖の役割が解明され、自由自在に糖鎖や複合糖質を合成できるようになり、それらが医療・薬理学・生化学などの分野に重要な知見をもたらすツールとして供給されたり、医薬として人の命を救ったりする日が来ることを期待しています。



加地 範匡(かじ のりただ) 名古屋大学大学院工学研究科 助手

kaji@apchem.nagoya-u.ac.jp

この度は、生命化学研究会ニュースレターの「気になった論文」への寄稿の機会を頂きました石田 斉先生に御礼申し上げます。博士課程在学時より、徳島大学大学院薬学研究科の馬場嘉信研究室におきまして、 μ TAS にナノ構造体を導入したナノバイオデバイスの開発に従事して参りましたが、幸運なことに引き続いて馬場教授のもとで μ TAS を中心に据えた研究を続ける機会をいただいております。今回は、 μ TAS の利点のひとつである“高度集積化”をキーワードとして、最近開発された高度集積化シークエンサーに関する論文を紹介します。(μ TAS (MicroTAS): micro Total Analysis System, Lab-on-a-chipともよばれる。様々なサンプルの前処理、反応、分離、検出など、研究室・検査室などで行われている化学・生化学分析のための操作を、数 cm 角のチップ上に集積化したマイクロ化学分析システム)

A 768-Lane Microfabricated System for High-Throughput DNA Sequencing

J. H. Aborn, S. A. El-Difrawy, M. Novotny, E. A. Gismondi, R. Lam, P. Matsudaira, B. K. McKenna, T. O'Neil, P. Streechon, D. J. Ehrlich, *Lab on a Chip* **2005**, *5*, 669-674.

サンガー法をベースとした DNA シークエンシングにおいては、電気泳動による分離が可能な DNA 鎖長が 500 bp 程度であることから、キャピラリーを 96 本、もしくは 384 本アレイ化することにより並列処理を可能としたシークエンサーが、ヒトをはじめとしたゲノムシークエンシングに大きな貢献をしてきました。 μ TAS の分野においても新しいシークエンサーが開発されており、その金字塔となったのは、2002 年に R. A. Mathies らのグループが開発した、直径 150 mm のガラス基板上に作製した 96 チャンネルのシークエンサーでした (**High Throughput DNA Sequencing with a Microfabricated 96-Lane Capillary Array Electrophoresis Bioprocessor**, B. M. Paegel, C. A. Emrich, G. J. Wedemayer, J. R. Scherer, R. A. Mathies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 574-579.)。彼らは同年に、384 チャンネルを有するチップを作製しておりますが、このチップではシークエンスは実現しておりません (**Microfabricated 384-Lane Capillary Array Electrophoresis Bioanalyzer for Ultrahigh-Throughput Genetic Analysis**, C. A. Emrich, H. Tian, I. L. Medintz, R. A. Mathies, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 5076-5083.)。これは、前述のシークエンサーが泳動距離を稼ぐためにチャンネルを 2 度折り返している (有効長: 15.9 cm) のに対して、集積度を上げたために直線のチャンネルしか作製できなかったこと (有効長: 8 cm) が原因です。

これらの試みが 1 回の泳動しか考慮していなかったのに対して、この論文では、37~45 cm と非常に有効長を長く設定したチャンネルを 384 本アレイ化したチップを 2 つ作製し、自動分注装置を組み合わせることで、電気泳動による分離と洗浄・ゲルの充填といった前準備を交互に行い、スループットの向上を図っています。ただ、チャンネル長を非常に長く取っていますので、“マイクロチップ”というには語弊があるチップサイズ (25 cm \times 50 cm) となっています。このチップでは、1 度の泳動で 172 kbp 以上のシークエンシングを 99% の精度で行うことに成功しています。また、自動分注装置と組み合わせてシステムとして用いた場合には、99% の精度で、1 日あたり 4 Mbp 以上のシークエンシングを行うスループットを実現しています。このようなス

ルーブットの向上以外にも、 μ TAS の利点である省試薬化も実現しています。大規模なゲノムシーケンシングセンターにおいて、現在最も用いられている ABI 3730 で必要とされるジデオキシ反応後のサンプル濃度と比較して、約 256 分の 1 のサンプル濃度でも、シーケンシングが可能であると報告しています。ダイタミネーター法などで必要とされる試薬は高価であることから、 μ TAS により反応場をスケールダウンしてスルーブットを向上させるだけでなく、必要サンプル量の低減は、非常に有用です。

Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors

M. Margulies et al., *Nature* **2005**, 437, 376-380.

前述のサンガー法によるアプローチとは別に、DNA の伸張反応をベースにしたピロシーケンシングを高度に集積化したシステムを報告しています。ここでは、直径 44 μm の光ファイバーのコア部分を反応チャンバーとして利用し、DNA フラグメントを固定化した直径 25–36 μm のビーズを反応チャンバー内に封入した後、各チャンバー内で DNA 伸張反応を行い、その際の発光(ルシフェラーゼ反応)を CCD 素子で検出しています。この反応チャンバーは、60 mm 四方の光ファイバー上に 150 万個も配置されており、各々のチャンバーで異なった DNA フラグメントのシーケンシングが行われるため、4時間の反応で 25 Mbp 以上を 99%の精度で解読するというとてもないスルーブットを達成しています。このシーケンサーの注目すべき点として、シーケンシングだけではなく、巧みな分子生物学的手法を使用することにより、ゲノムからの DNA のフラグメンテーションと増幅を直径 100 μm 程度のエマルジョン中で交叉することなく特異的に行っており、従来のクローニングのステップを大幅に簡略化することで、シーケンシングに要する全体の時間を大幅に短縮しています。この方法を用いて *Mycoplasma genitalium* のゲノムのショットガンシーケンシングを行い、1度のシーケンシングにおいて 99.96%の精度で 96%の包括度のシーケンシングを実現しています。ただ、この方法にも欠点があり、伸張反応をベースにしたピロシーケンシングのため、1回で読み取れるリード長さが平均で 110 bp 程度しかないことです。ひとつのフラグメントの長さがこれだけ短いと、ショットガンシーケンシングを行った際には、アッセンブリーの段階で誤りの生じる可能性が高く、信頼性の点ではまだまだ改良を要するのが現実です。サンガー法に代わる様々なシーケンシング法が模索されていますが、エマルジョンを反応場として用いたこと、またピコリットルの反応チャンバーを高度集積化したことで、ハイスルーブットを実現した画期的な論文ではないでしょうか。

μ TAS においては、いかに小さなチャンネルやバルブを作製して集積化を図るか、というトップダウンのアプローチが中心となってきました。ご紹介した2つ目の論文は、このようなトップダウンと、エマルジョンを反応場として利用するというボトムアップのアプローチを融合してうまくシステムとして機能するように設計した例で、微細加工技術が分子レベルにまで迫ろうとしている現在、このような両アプローチの融合とシステム化がこれからの μ TAS を構築する上で主流になるのではないのでしょうか。



原野幸治(はらの こうじ)

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 博士課程二年

harano@chem.s.u-tokyo.ac.jp

今回、このような公の場での論文紹介の機会を与えて頂きまして、ご推薦くださいました石田 斉先生をはじめ編集委員の皆様には感謝いたします。現在、塩谷光彦教授の指導のもと、人工多座配位子を用いた金属錯体型ナノカプセルの構築と機能化の研究を行っております。今回は、昨年の論文の中から、DNA やタンパク質などの生体分子を巧みに化学修飾することで、スマートに働く分子システムを構築した例を 3 報紹介させていただきます。

A Light-Actuated Nanovalve Derived from a Channel Protein

A. Koçer, M. Walko, W. Meijberg, B. L. Feringa, *Science*, **2005**, 309, 755-758.

本論文の著者の一人である Feringa らのグループでは、光異性化挙動を示す分子を用いて、光駆動型分子モーターや光応答性液晶などのナノデバイスの構築を行っています。今回は、光応答性分子をチャンネルタンパク質に導入し、チャンネルの開閉を照射する光によって制御した報告です。

大腸菌由来のタンパク質である MscL は、5 つのサブユニットから成るチャンネルタンパク質です。このサブユニットの 22 番目に位置するグリシンに代えて、極性の高い置換基を持ったアミノ酸を導入すると、親水性の変化によりチャンネルが開くことが知られています。筆者らは、この 22 番目の部位に光応答性分子であるスピロピランを導入しました。スピロピランは紫外光照射により、双性イオンであるメロシアニンへと異性化し、可視光照射により再びスピロピランへと戻ります(図 1)。チャンネル内のスピロピラン部位がメロシアニンへと光異性化することにより極性が高まり、閉じているチャンネルを開くことができます。すなわち、チャンネルの開閉を照射する光の波長により自在にコントロールできることとなります。

実際に人工膜内にメロシアニン修飾チャンネルタンパク質を導入し、パッチクランプ法によりその光応答挙動を調べたところ、紫外光・可視光照射によるイオン伝導の ON/OFF が可能であることが明らかとなりました。また、calcein のような有機分子に対しても透過性を制御できることが示されました。

光というクリーンな外部刺激をスイッチとして利用していることが本研究の最大の長所であるといえます。新しい薬剤輸送システムの構築など、幅広い展開が期待されます。

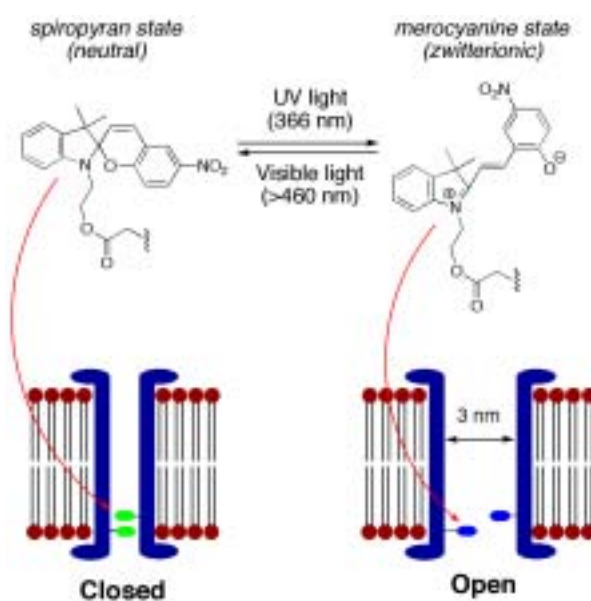


図 1. 光応答性チャンネルタンパク質。

A DNA-Protein Nanoengine for “On-Demand” Release and Precise Delivery of Molecules

R. Nutiu, Y. Li, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2005**, *44*, 5464-5467.

DNA アプタマーと呼ばれる一本鎖 DNA は、ある決まった小分子やタンパク質と選択的に結合する性質を持っています。また、相補的配列を持った一本鎖とも結合することができます。このように二種類の異なる分子認識能を持つアプタマーの特性を利用した、DNA ナノエンジンの構築の試みを紹介します。

このシステムでは、アデノシンに結合能を持つ DNA アプタマーを土台とし、アデノシンを input、アプタマーと相補配列を持つ短い一重鎖を output として用います。アプタマーと output が二重鎖を形成している状態(OFF 状態)で、アデノシンを添加すると、

アプタマーはアデノシンと結合し、output が放出されます(ON 状態)。この系中にアデノシン脱アミノ化酵素(ADA)を共存させておくと、アデノシンが消費され(イノシンへと変換)、アプタマーと output の二重鎖が再生して元の状態(OFF 状態)に戻ります。結果として、アデノシンを燃料として、一重鎖の結合・放出を繰り返すナノマシンとして機能する仕組みです(図2)。実験的には、アプタマーに fluorescein、output に消光剤である dabcyf を導入して、蛍光の ON、OFF により output の挙動を追跡しています。

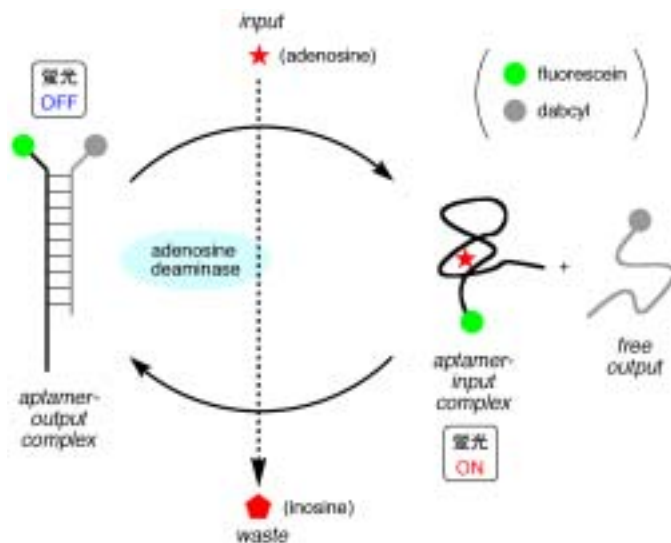


図2. DNA アプタマーを利用したナノエンジン。

1 サイクルにおよそ 15 分という長い時間を要することや、ゴミとして生じるイノシンおよびアンモニアによる酵素活性の阻害という問題点から、エンジンと呼ぶには程遠いですが、DNA アプタマーを用いたシステムであることから様々な分子を input として活用できる利点があります。最終的には生体内分子輸送への応用が期待されます。

Stepwise Growth of a Single Polymer Chain

S.-H. Shin, H. Bayley, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 10462-10463.

1 報目と同じくチャンネルタンパク質を利用した論文ですが、こちらはチャンネルタンパク質の一つである α -hemolysin (α HL)を”反応場”として用い、単一分子の反応追跡を行った報告です。

筆者らは、 α HL を構成する 7 つのサブユニットのうち、1 サブユニット内の 117 番目のトレオニンをしステインへと変換することで、チャンネル内部に単一のチオール基がむき出しとなった人工チャンネルタンパク質を合成しました。この修飾 α HL を脂質二重膜内に導入すると、膜間のイオン伝導特性からチオール基上での反応の様子を追跡することができます(参考: *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2003**, *42*, 3766)。

今回は、ジスルフィド結合を介したポリマー形成を追跡しました。 α HL の *cis* 側に活性化剤 DTNB、*trans* 側にジチオールである MEE を導入することで、図3に示したような重合反応が α HL のチャンネル内で進行し

ます。このポリマーの伸長に伴ってチャンネルが塞がるため、膜間の伝導性が次第に低下していきます。故に、伝導性の測定によりポリマーが一分子ずつ反応し伸長する様子を追跡することができます。実際の測定結果では、時間経過に伴って伝導性が階段状に変化している様子が確認され、伸長反応を一分子ずつ追跡することに成功しています。また、各段階の反応速度も算出しています。

単一分子の反応追跡という、まず表面科学的な手法が思い浮かびますが、今回の報告のように生体系に既に存在するナノ空間を利用する分析手法も非常に有用であると考えられます。

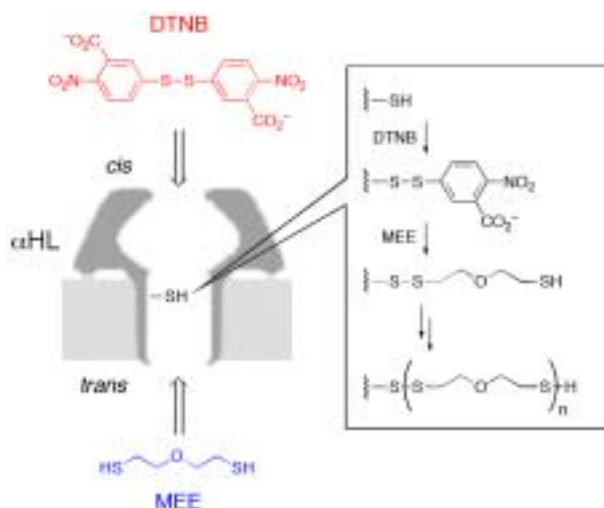


図 3. SH 修飾 αHL 内部での重合反応.



生命化学研究法

アガロース二次元電気泳動法

～ 高分子量タンパク質が解析できる日本オリジナルの方法 ～

北里大学理学部物理学科生体分子動力学講座 大石正道

oishi@walrus.sci.kitasato-u.ac.jp

1) 二次元電気泳動法とは何か： 二次元電気泳動(2-DE)法は数千種類のタンパク質を同時に分析できるため、(1) 細胞や組織における各タンパク質の発現量の違いを比較する場合や、(2) 同定用のタンパク質を調製する場合などに利用される。そのため、1990年代後半から始まったプロテオーム解析においては、これらの特長を利用して、タンパク質成分の分離・精製、およびパターン比較によく用いられるようになった。2-DE法は、原理の異なる2つの電気泳動法を直角に組み合わせて、タンパク質成分を二次元に展開し、一次元方向にタンパク質を分離するよりも、さらに多くの成分に分離する方法のことである。かりに一次元目で50種類のタンパク質を、二次元目で50種類に分離できたとする、2-DE法で分離できるタンパク質は $50 \times 50 = 2,500$ 種類にもなる。2-DE法には、(1) 一次元目は非変性条件で二次元目は変性条件で電気泳動を用いる方法¹⁾、(2) 一次元目は通常の電気泳動で抗原を分離し、二次元目は抗体を含むゲル中で電気泳動を行い、免疫沈降物をつくらせる方法²⁾、(3) 一次元目は非還元状態で泳動し、二次元目は2-メルカプトエタノールを入れてタンパク質のS-S結合を切断して泳動する方法、(4) 一次元目に等電点(pI)の違いで分離し、二次元目にゲルの分子ふるい効果で分ける方法³⁻⁴⁾などがある。

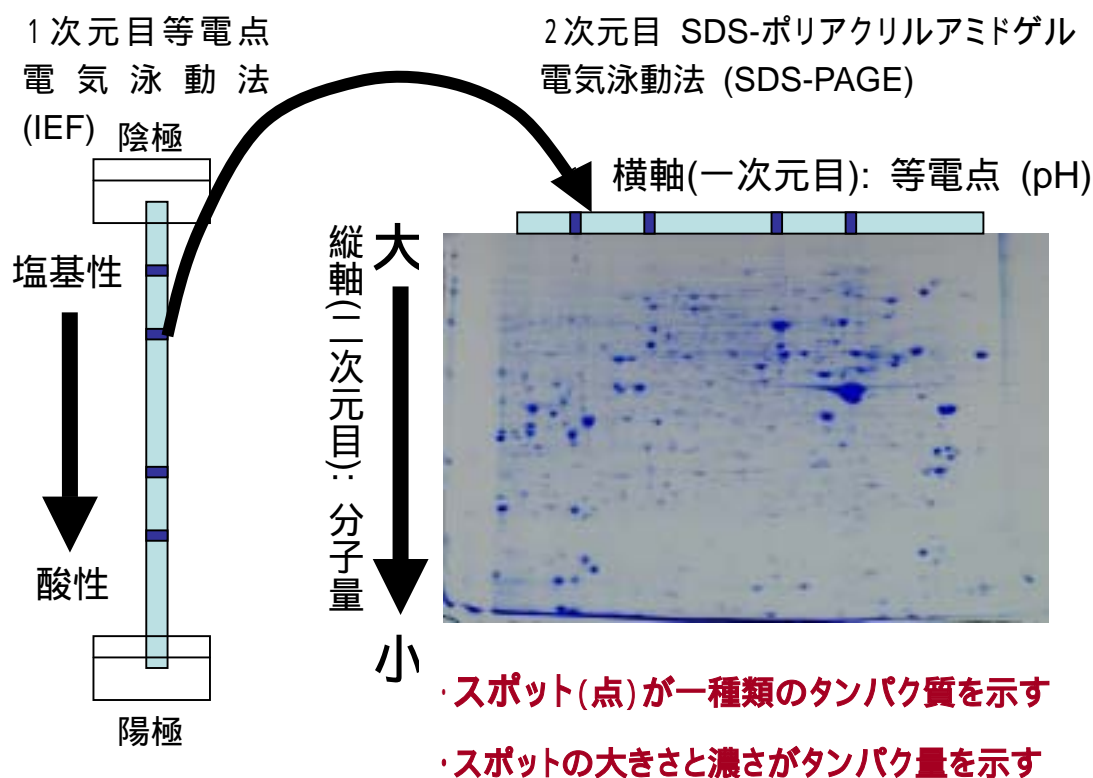


図1 二次元電気泳動法の概略

これらの中でも、現在、2-DE 法の代名詞のようにになっているのが、上記(4)に掲げた方法である。そのうち、それまでに開発されていた電気泳動技術の特長を最大限に生かした O'Farrell の 2-DE 法⁴⁾は、とりわけ高い分解能を持っている。この方法では、1次元目にポリアクリルアミドゲル等電点電気泳動、2次元目に Laemmli の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)⁵⁾を用いている。O'Farrell の 2-DE 法では、1次元目の等電点電気泳動法を行うにあたって pH 勾配をつくる際に問題点があった。その問題点は、(1) 狭い pH 範囲(pH で 0.1 以下の違い)の pH 勾配が作りにくいこと、(2) 泳動時間を長くすると陰極でのドリフトが起り、再現性がよくないこと、(3) pH 勾配作成用の両性担体がペプチドと似た性質を示すこと、(4) タンパク質試料の濃度が高いと、その pH 勾配で直線性が失われることなどである。

固定化 pH 勾配等電点電気泳動法(イモビライン法)は、Bjellqvist らによって開発された方法⁶⁾で、支持体に pH 勾配作成試薬のイモビライン Immobiline を固定化して等電点電気泳動を行う点に特徴がある。これは、支持体のポリアクリルアミドゲルを調製する際にイモビラインと共に重合させるので、泳動中には pH 勾配の変化が起らず、非常に狭い pH 範囲を引き伸ばして解析できるなどの利点がある。このイモビライン法を一次元目の等電点電気泳動法に用い、二次元目は SDS-PAGE 法を用いた 2-DE 法が世界的に普及したため、2-DE 法といえばほとんどの場合はこの方法を指している。

2) 一次元目等電点電気泳動にアガロースゲルを用いた二次元電気泳動法(アガロース 2-DE): イモビライン 2-DE 法では一次元目の等電点電気泳動の担体にポリアクリルアミドゲルを使うため、(1) 分子量 10 万以上の高分子量タンパク質の解析が難しく、(2) 分析可能な臓器・組織・細胞の種類が限られるなどの弱点があった。一方、筑波大学の Hirabayashi⁷⁾が開発し、筆者ら⁸⁾⁻⁹⁾が改良を行ってきた「一次元目等電点電気泳動にアガロースゲルを用いた二次元電気泳動法(アガロース 2-DE)」には、上記(1)~(2)の弱点がなく、ヒトやネズミなど哺乳類の各種臓器を用いたプロテオーム解析に適している。また、この方法はイモビライン 2-DE に比べて次のような長所がある。(3) 塩基性タンパク質(pI 8-10)がゲルに入りやすく、(4) 組織の粗抽出物(7M 尿素、2M チオ尿素を含む抽出液中でホモジナイズし、遠心した上清)を直接解析でき、(5) 一度に解析できるタンパク量がイモビライン 2-DE 法の約 200 倍多い(最大 30mg 程度)ので、タンパク質調製用 2-DE としての利用価値が大きいことなどである。イモビライン 2-DE 法では銀染色でようやく検出できる微量タンパク質でさえ、アガロース 2-DE を用いるとクマジー染色で染まるスポットになるため、その後のタンパク質の同定を確実に行うことができる。

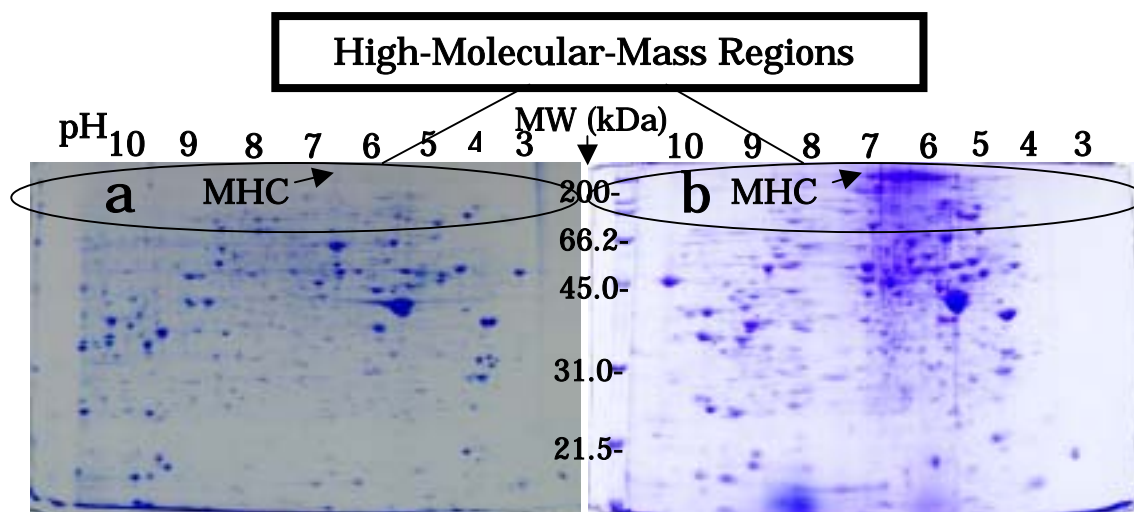


図2 (a)イモビライン 2-DE 法と (b)アガロース 2-DE 法の比較。試料はラット十二指腸の粗抽出物で、タンパク量はそれぞれ 740 μ g を乗せた。MHC: myosin heavy chain

ヒトゲノム計画によって、ヒトの遺伝子が明らかになるに連れ、分子量 10 万以上の高分子量タンパク質が疾患関連タンパク質として注目されている。拡張性心筋症に關与するミオシン重鎖、筋ジストロフィー症の原因タンパク質として知られるジストロフィンやラミニン、甲状腺機能不全の原因タンパク質チログロブリンなどはいずれも高分子量タンパク質であり、イモビライン 2-DE 法では解析できず、アガロース 2-DE 法を用いて初めて解析できるようになった¹⁰⁾。図2に、イモビライン 2-DE 法とアガロース 2-DE 法のパターンを比較した。分子量 66.2 kDa 以上のタンパク質成分の入り方に明らかに違いがあることがわかる。このほか、ヒトを含む高等脊椎動物にしか存在しない転写因子や免疫関連タンパク質の多くは高分子量タンパク質であり、疾患プロテオミクスにおいては、今後ますます高分子量タンパク質の解析が重要になると思われる。



図3 アガロース 2-DE 装置(日本エイドー社製)

3) アガロース 2-DE 法の具体的なやり方について

3-1) 成功させるための最大の秘訣:

アガロース 2-DE 法成功の最大の秘訣は、一次元目等電点電気泳動用アガロースゲルの作成にある。これができるれば、半分は成功したものと考えてもよいほどである。そこで、ここではアガロースゲルの作成に焦点を絞ってそのコツを解説したい。アガロース 2-DE 法の詳細については文献¹¹⁾⁻¹⁴⁾を参考にして欲しい。

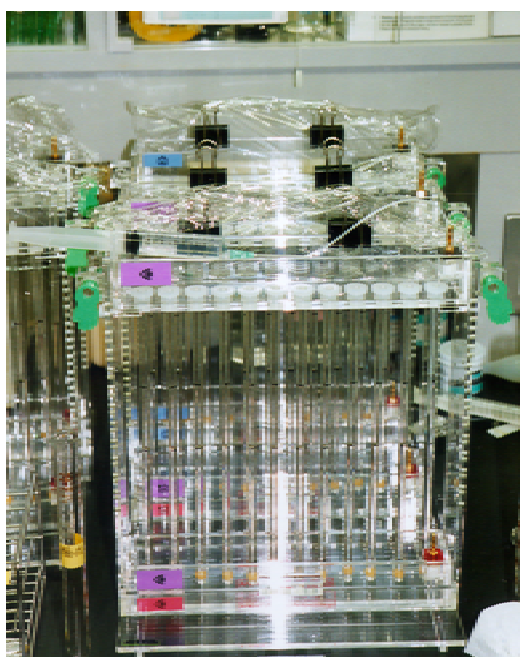


図4 アガロース 2-DE 装置(アトー社製)

3-2) 実験の準備: 我々の研究室では目的に応じて、ミニゲル用、ラージゲル用、特大ゲル用の装置を使い分けている。ここでは、ラージゲルの場合を説明する。一次元目等電点電気泳動装置:アトー社製 AE-6300(図4)、ガラス管(長さ 260 mm x 内径 3.4 mm)、透析膜、輪ゴム、長さ 30cm のポリエチレンチューブを付けたシリンジ、電気泳動用電源(一次元目用電源には、最大 1000V まで電圧をかけることができ、30 μ A 程度の微弱電流を流すことができるタイプが望ましい)、二次元目 SDS-PAGE 用垂直型電気泳動槽:日本エイドー社製 NA-1200(図3の右)、ペリスタポンプ(アトー社製 SJ-1211)、アガロースゲル固定用ガラス管(長さ 300 mm x 内径 5 mm ID)、かん流用ビニール管(長さ 400 mm x 内径 2 mm)、二次元目泳動用ガラス板(日本エイドー社製:縦 165 mm x 横 240 mm x ゲルの厚さ 1.5 mm)。

3-3) 一次元目等電点電気泳動用アガロースゲルの作成:

まず、表1を参考に、アガロース IEF と D-ソルビトールを電子天秤で秤量し、ビーカーに入れる。次に、尿素とチオ尿素を秤量し、混合して薬包紙に包んでおく。ビーカーに蒸留水を入れてから手で軽く揺すりながら、よく攪拌する。ビーカーを電子レンジ内に入れ加温する。沸騰しそうになったらスイッチを切り、電子レンジから取り出して手でよく振る。これを 10 回程度繰り返してアガロースとソルビトールの粉末をよく溶かす。よく攪拌してアガロース溶液が完全に透明になったら、ビーカーを電子レンジから取り出し、薬包紙に包んであった適量の尿素とチオ尿素の粉末を一度にビーカーに加える。

(注意) 一度、尿素とチオ尿素の粉末を加えたアガロース溶液を再び電子レンジにかけてはいけない。尿素は高温にさらされるとすぐに分解するので、あとで冷蔵庫に入れてもアガロース溶液が固まらなくなる。

ビーカー内にスターラーバーを入れて攪拌を続け、尿素とチオ尿素の粉末を完全に溶かす。アガロース溶液をメスシリンダーに入れて体積をはかる。その体積の 10 分の1量に相当するファルマライト(pH3-10)を加えて、すぐに攪拌する。

(特に大事な注意) ファルマライトを入れる前に、アガロース溶液が十分に常温にまで下がっていることを確認する。暖かいアガロース溶液にファルマライトを加えると、フォーカスの悪いゲルができる。また、ファルマライトは通常4℃で保存しているので、ファルマライトを加えたらすぐに攪拌して、局所的に温度が急激に下がらないように注意する。そうしないと溶液中にアガロースのゲル片ができてしまう。

表1:アガロースゲルの調製(20 本用)	
アガロース IEF (GE ヘルスケア)	0.30 g
D-ソルビトール (和光一級)	3.60 g
蒸留水	12.4 ml
----よく混合して電子レンジで溶かす----	
尿素 (和光特級)	9.0 g
チオ尿素 (和光特級)	2.25 g
----尿素とチオ尿素の粉末を加えたらすぐに攪拌する----	
----攪拌しながら常温になるまで待つ (重要ポイント)----	
----メスシリンダーにアガロース溶液を入れ 20 ml 取る----	
----ファルマライト(pH 3-10)を 2 ml 加えてすぐに攪拌する	



図5 アガロース溶液の注入
(ミニゲルの場合)

ポリエチレンチューブ付きのシリンジを用いて、等電点電気泳動用ガラス管に、アガロース溶液を入れる(図5参照)。アガロース溶液の注入が終わったら、その上に上部液を 5 μ l ほど載せる。こうすると、タンパク質がゲルにより入りやすくなる。アガロース溶液入りのガラス管を冷蔵庫(4℃)に入れて4時間以上静置する。こうしてゆっくりアガロース溶液をゲル化させる。

(注意) 4℃に静置する時間はなるべく長い方がよく、我々の研究室ではふつう一晩置いている。

3-4) 二次元電気泳動用試料の調製: 二次元電気泳動用の試料調製にあたっては、(1) できるだけ正確に組織片を秤量して抽出液を加え、(2) 組織片がホモジナイザー中に残らないように完全にホモジナイズし、(3) ホモジナイズしてから電気泳動にかけるまでの時間をできるだけ短縮するなどの点に注意を払う必要がある。我々の研究室では、イワキガラス社製 PYREX テフロン-ガラス-ホモジナイザーと井内盛栄堂のホモジナイザー用攪拌機を用いて、7M 尿素と2M チオ尿素を含むタンパク質抽出液中で組織破碎を行っている。以前は、組織片をホモジナイズ後に冷却遠心機で 14,000rpm x 20min, 4 で遠心した上清を試料として用いていたが、超遠心を用いることにより、DNA やタンパク質のアグリゲートをよく沈殿させ、脂質を上清上の薄膜として分離できたため、二次元電気泳動のパターンがきれいになった。特に、DNA を多く含む脾臓や胸腺では、超遠心の操作はたいへん効果的だった。



図6 動物組織片の破碎

3-5) 一次元目アガロース等電点電気泳動:

アガロースゲルの上から、動物組織片から尿素・チオ尿素を含む抽出液で抽出して、超遠心した上清(20 μ L-100 μ L 程度)を、マイクロディスペンサーを用いてガラス管の内壁を伝わらせて入れる。試料を注入したガラス管の上部の空所には、マイクロシリンジで上部液を上端まで満たす。等電点電気泳動装置を冷蔵庫(4)内に静かに置き、装置の下槽には陽極液(アスパラギン酸溶液)、上槽には陰極液(水酸化ナトリウム溶液)を入れる。等電点電気泳動は、電圧 x 時間の値を一定 12,000 V h~18,000V h にする。このとき電圧は 400V-800V の範囲内で電圧一定に設定し、一晚(12 時間~18 時間程度)電気泳動を行う。

3-6) アガロースゲル中のタンパク質をトリクロロ酢酸(TCA)固定液でアガロースゲルに固定:

泳動の終わったアガロースゲルを TCA 固定液の入った「かん流用ガラス管」に出す。ガラス管の底に張り付けてある透析膜をはずすと、アガロースゲルはガラス管からスルッと滑り出てくる。このガラス管にかん流用ビニール管を取り付け、さらに別のガラス管を直列につなぎ、ペリスタポンプで固定液をかん流する。

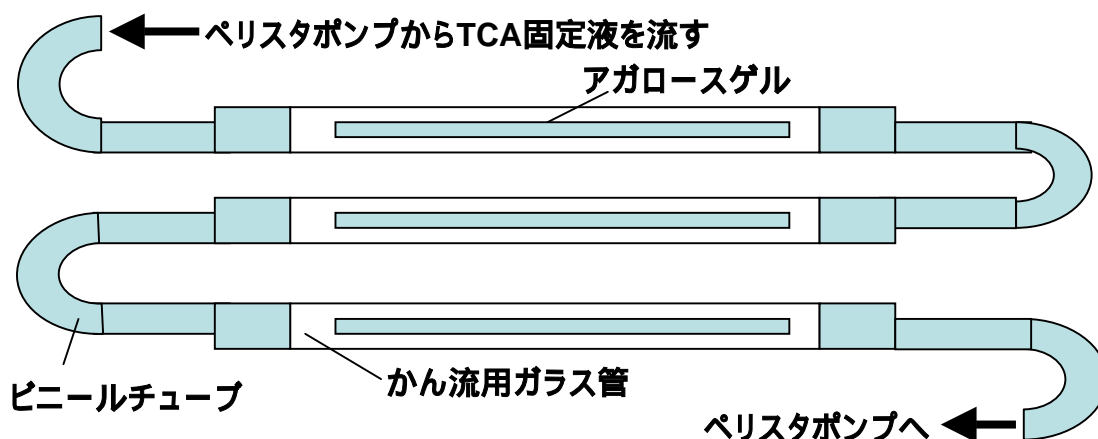


図7 アガロース IEF ゲルのかん流固定

泳動が成功した場合は、数分経つとアガロースゲルに明瞭な白濁したタンパク質の帯(バンドと呼んでいます)が浮かび上がってくる。アガロースゲルを45分固定した後、ペリスタポンプで500mL程度の蒸留水を流し、余分なTCA固定液を洗い流す。

3-7) 二次元目 SDS-PAGE 電気泳動

二次元目 SDS-PAGE ゲルの上部に一次元目等電点電気泳動後のアガロースゲルを載せて、熱で溶かした1%アガロース溶液をかけて固定し、電極液を電気泳動槽に満たす。ゲル上部にSDS-サンプルバッファ-2mLを注ぐ。+極と-極を間違えないようにSDS-PAGE用電気泳動装置を電源につなぎ、ゲル1枚あたり30mA(電流一定)で泳動を行う。プロモフェノールブルー(BPB)色素が濃縮ゲルから分離ゲルの位置に入ったら、ゲル1枚あたりの電流を70mA(電流一定)に上げ、BPB色素のラインがゲルの下端に来るまで電気泳動を続ける。泳動の終わったゲルをクマジー染色・脱色してから、ライトボックスの上にゲルを置き、そのパターンを観察する(図9参照)。

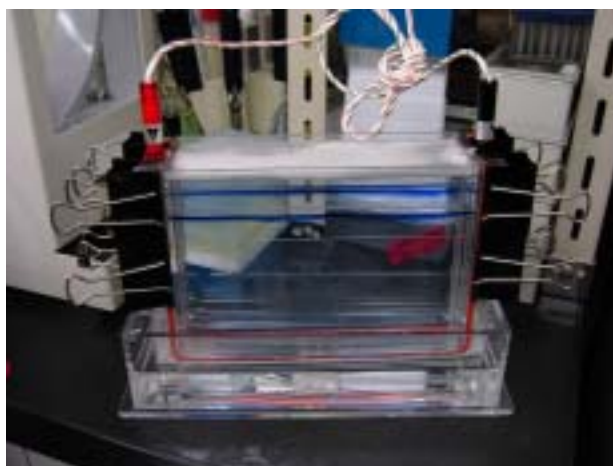


図8 二次元目 SDS-PAGE(日本エイドー社製)

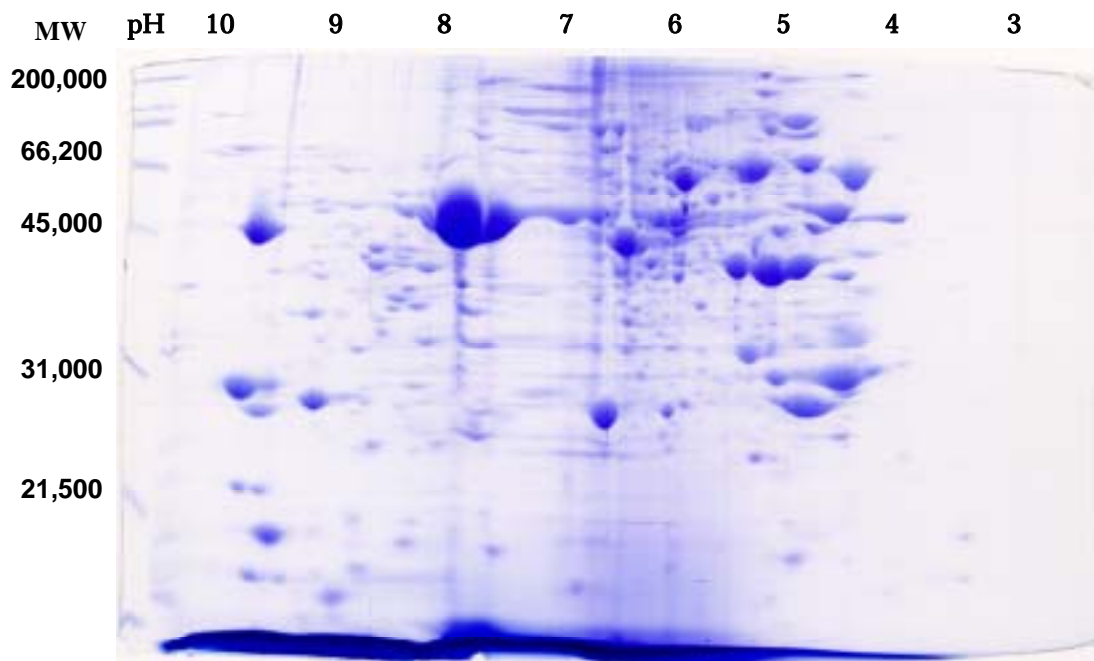


図9 ラット脾臓のアガロース 2-DE パターン(クマジー染色)

3-8) 二次元目 SDS-PAGE ゲルの乾燥

2-DE ゲルの画像を透過型スキャナーで読み込んだり、デジカメ写真で撮影するなどして、コンピュータ画像として保存しておく場合、コントラストやピントがうまく合っていないことがある。このような場合、ゲル自体を乾燥させて長期保存ができればいいと考える方も多いと思う。そこで、ここでは、我々が普段行っているゲルの乾燥法を紹介する。

この方法は、筑波大学の平林民雄と筆者とが1985年に共同で開発した。具体的には「ゲル乾燥用アクリル枠を用いて、透明なセロファン紙にゲルをはさんで乾燥させる方法」ということになる。この方法では、透明なセロファン紙を使うため、ゲルが透明なまま半永久的に保存できる。そのため、乾燥後のゲルをいつでも透過型スキャナーを使って画像に取り込むことができる。

ゲル乾燥の原理： ポリアクリルアミドゲルをそのまま乾かそうとすると、まるで地面にたくさんの地割れができるように、ゲルがバラバラになってしまう。この方法では、セロファン紙が水に濡れると少しだけ伸び、乾燥するときにセロファン紙が縮む現象を利用する。ゲルをセロファン紙で両側からはさんで、そのセロファン紙の外周をアクリル枠で固定する。セロファン紙が乾燥するにつれて、アクリル枠の中に外側に向かって張力が発生しゲルの縮みを抑えるため、ゲルをそのままの形で乾燥できる。この方法を使うと、乾燥機を使って60℃にしておくと、1時間半～2時間でゲルが乾燥する。また、常温で放置しておいても一晩で乾燥する。

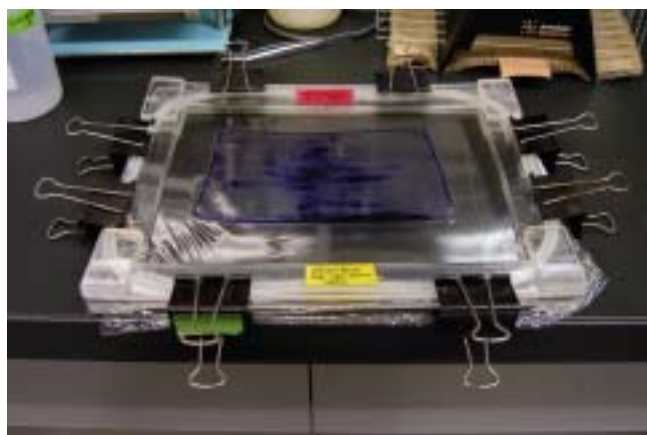


図10 アクリル枠を用いたゲル乾燥の様子

4) **おわりに：** 疾患プロテオミクスの技術は年々進歩し、欧米やアジア各国では政府・製薬企業を問わず、ハイスループットかつ大規模な疾患プロテオーム解析が行われている。もはや国際的にスタンダードな手法では、新規疾患マーカーの発見にはなかなかつながらない。我々は、通常のプロテオミクス手法では解析が難しい分子量10万以上の高分子量タンパク質に焦点を当て、アガロース二次元電気泳動と質量分析計(LC-MS)を組み合わせたトータルシステムを構築することで、前立腺癌¹⁵⁾や大腸癌¹⁶⁾などで各種癌マーカーの発見に成功している。この原稿が、高分子量タンパク質解析の一助になれば幸いである。

参考文献

- 1) Manabe T, Tachi K, *et al*: *J. Biochem.* **85**, 649-659 (1979).
- 2) Laurell CB: *Anal. Biochem.* **10**, 358-361 (1965).
- 3) Anderson L, Anderson NG: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **74**, 5421-5425 (1977).
- 4) O'Farrell PH: *J. Biol. Chem.* **250**, 4007-4021 (1975).
- 5) Laemmli UK: *Nature* **227**, 680-685 (1970).
- 6) Bjellqvist B, Ek K, *et al*: *J. Biochem. Biophys. Methods* **6**, 317-339 (1982).
- 7) Hirabayashi T: *Anal. Biochem* **117**, 443-451 (1981).
- 8) Oh-Ishi M, Hirabayashi T: *Comp. Biochem. Physiol. B* **92**, 609-617 (1989).
- 9) Oh-Ishi M, Satoh M, *et al*: *Electrophoresis* **21**, 1653-1669 (2000).
- 10) Oh-Ishi M, Maeda T: *J. Chromatogr. B* **771**, 49-66 (2002).
- 11) Oh-Ishi M, Maeda T: *in The Proteomics Protocols Handbook*, Edited by J. M. Walker, Humana Press Inc., Totowa, NJ, USA, p.145-149 (2004).
- 12) 大石正道: *生化学* 74(5): 413-417, (2002).
- 13) 大石正道, 土橋香織: *遺伝子医学 MOOK 2号「疾患プロテオミクスの最前線 - プロテオミクスで病気を治せるか」* 編集: 戸田年総/荒木令江 大阪 株式会社メディカルドウ p.70-75, 2005年3月
- 14) 大石正道: 「ぶんせき」東京 日本分析化学会 p.484-489, 2005年9月
- 15) Kuruma H, *et al*: *Proteomics* **5**, 1097-1112 (2005).
- 16) Tomonaga T, *et al*: *Clin. Cancer Res.* **10**, 2007-2014 (2004).



米国 Rockefeller University 留学体験記

堀 雄一郎

The Rockefeller University

The Laboratory of Synthetic Protein Chemistry

Muir Lab ポスドク

horiy@mail.rockefeller.edu

私は、現在ロックフェラー大学の Tom Muir 教授のもとで、ポスドクとして研究活動に従事しております。学生時代は、京都大学薬学研究科で、杉浦幸雄教授のもとで、主に DNA に結合する人工蛋白質の設計や機能・物性解析に関する研究を行い、博士号を取得した後すぐに渡米し、ようやく二年が終わろうとしています。本稿では、渡米当初の話や、ロックフェラー大学のあるニューヨークのことや、ロックフェラー大学、当研究室とその研究内容等を順次紹介していきたいと思いません。

当初 Muir Lab にアプライするときの話ですが、実はロックフェラーについては、ロックフェラーセンターくらいしか頭に浮かばず、大学とかは、ニューヨークのはずれの辺鄙なところにあるとばかり思っていました。ところがどっこい、大学はロックフェラーセンターのように、街のど真ん中とまではいかないものの、マンハッタンのなかでも有数の高級住宅地にあることを知って、非常に興奮したことを覚えています。英会話力がそれほどない私は、渡米当初、やはりいろいろなことで苦労しました。そもそも、飛行機でこちらに渡って来るときからトラブル続きで、乗り換えの飛行機に乗り遅れそうになったり、タクシーで飛行場から大学の方に行くときも、知らないおじさんにさらわれそうになったりと、惨憺たるものでした。ともあれ、マンハッタンに近づくにつれ、高層ビルの固まりからできた島のようなものが見えてきて、ようやくニューヨークにきたのだなあとしみじみと実感したものです。

ニューヨーク市は、人口約 800 万の言わずと知れた大都市で、その中心部の密集の度合いは筆舌に尽くしがたいものがあり、その中の 3 割を超える人がアメリカ国外出身で、その出身国の数は約 170、使用される言語は 100 を超えると言われています。街には、世界各国のレストランを見ることができ、その中には、もちろん日本食のレストランもたくさん見受けられます。また、映画館、ミュージカル、オペラ、バレエ、スタジアム、美術館に博物館と、娯楽に関するものは、何でもそろっているのがニューヨークの特徴で、特に、ロックフェラー大関係者は、いくつかの美術館にはフリーパスで、ミュージカルやオペラなども種類によってはディスカウントクーポンを大学の事務で手に入れられるので、金曜日の夕方になると、研究室からクモの子を散らすように人がいなくなるのもうなずけるというものです。

ロックフェラー大学は、マンハッタンの東側に流れるイーストリバー沿いに位置しており、すぐ近くにかかっているクイーンズボロブリッジは、スパイダーマンや TAXI などの映画にも出てくる有名な橋です。よく誤解されるのですが、前述のように、ロックフェラー大学とロックフェラーセンターは全く別々のところにあるということです。ロックフェラー大学のすぐ近くには、コーネル大学メディカルスクールやスローンケタリング癌研究センターがあり、お互いにセミナーなどや大学院のプログラムなどで、交流があります。また、ニューヨークには、ニューヨーク大学やコロンビア大学など多くの大学・研究施設が集中しているので、研究上の交流をするのには、非常に適しているといえます。特に、ニューヨークにはニューヨーク科学アカデミーがあり、それぞれの研究分野がグループを形成し、活発に研究発表・討論・情報交換を行っています。なかには、ケミカルバイオロジーのディスカッショングループがあり、私も、残念ながらまだ発表はしたことはないのですが、時折参加しております。このような、研究上のアドバンテージがある反面、マンハッタンの土地事情のせいか、研究室自体は、郊外にある大学とくらべ、やや手狭な感じがします。



イーストリバーのルーズベルト島からのマンハッタンの風景。右半分のいくつかの建物がロックフェラー大学。左側に見える橋がクイーンズボロブリッジ。



ロックフェラー大学の正門を抜けてすぐに Founder's Hall と呼ばれる建物があります。ここには、事務関係のオフィスやジムがあります。

ロックフェラー大学に来て驚いたことは、email のシステムがよく整っていることです。ロックフェラーでは、皆大学のメーリングリストに登録され、学内の重要な案内は、ほとんど、email で知らされます。それだけでなく、試薬の注文が間に合わないから、貸してほしいとか、プラスミドが欲しいとかいったことに加え、研究上のアドバイスを求めるメールなどが流され、学内での研究者の横のつながりがとてもしっかりしていることは、私が日本で所属した機関にはなかったことで、非常に有用なものだと思います。このシステムは、研究だけでなく、ポスドクのサラリーに関係する

ことや、政治に関することなどが議論されたりすることがあるのは、とても興味深く感じられました。もっとも、なかには、ゲームボーイをなくしたから誰か知らないか、などというメールまであったりしますが。

また、水曜日と金曜日の夕方から、大学のなかにあるバーで、無料ビールがふるまわれたり、金曜日のお昼はフリーコンサートが大学の講堂で行われたりと、研究以外の息抜きのためのシステムがちゃんと用意されてあるのは、研究だけやっていると、ダメだよという精神が、こちらのひとにあるのだろーと思います。この精神の延長なのか、私の属している研究室のひとは、3時くらいになると、30分から長いときは1時間くらいコーヒー休憩に近くの喫茶店に行く習慣があります。これには、はっきりいってまいりました。この時間帯は、実験の忙しさがマックスに達しているようなときで、そんなときに、休憩なんかしてもらえないよと思って行かなかつたら、何で一緒にいかないんだとか、この休憩はすごく大切なんだとかいわれて、困った経験がよくありました。

さて、肝心の研究室の説明に移りますが、その現在の構成は、PIであるMuir教授をはじめとして、学生6名、ポスドク6名、訪問研究者1名、テクニシャン1名、ラボヘルパー1名、秘書1名からなります。人種構成は、アメリカ人に加え、フランス・スペイン・ドイツなどのヨーロッパ人やインド人、ユダヤ人からなり、東アジアからは私一人となっています。私のボス自身は、ペプチドケミストなのですが、研究室のひとのバックグラウンドは、有機化学、生化学、分子生物学、構造生物学等、比較的多様性に富んでいます。当研究室の特徴を端的にいうと、その研究室の名前がSynthetic Protein Chemistryであることから分かるように、蛋白質を“つくる”ということにあります。もちろん、どこの研究室でも、蛋白質など遺伝子から発現させてつくっていますが、ここで言う“つくる”というのは、すでに翻訳が完了したものに新たな付加価値をつけるために、人為的にペプチドや蛋白質を縮合させることを意味しています(つまり、人工的翻訳後修飾ということになります)。その縮合法には、化学合成したペプチドや大腸菌で発現させた蛋白質を、同じく大腸菌



研究室構成員の写真。中段左から二番目がMuir教授。最前列一番右側が私。後ろの建物は、Muir研究室のあるFlexner Hall。

士で酵素的に縮合させる方法とがあります。両者とも、プロテインスプライシングと言われる翻訳後修飾に関わる自己触媒酵素であるインティンを利用して、縮合反応を行います。これらの方法論の詳細は、論文・総説^{1,2}を見ていただくことにして、これらのことは、何に使えるかと言うと、その応用例を多数あげることができます。ひとつは蛍光プローブなどをペプチドに導入し、それを蛋白質に縮合させると、その蛋白質を蛍光でモニターすることができるようになります。また、部分的に安定同位体標識

した蛋白質断片またはペプチド断片を、残りの蛋白質断片に縮合させることにより、部位特異的に標識された蛋白質ができることとなり、NMR や IR の分光プローブとすることができます。さらには、蛋白質同士の縮合をコントロールすることにより、蛋白質そのものの機能を制御することも可能であります。

現在私の取り組んでいるプロジェクトは、インテインの縮合制御により、特定の蛋白質の機能を細胞内で制御する系を構築することと、インテインそのものの構造形成に至るフォールディング過程を生物物理化学的な方法論で明らかにすることに関するものです。その詳細は、いずれ論文として発表(いつになるのかは?) するとして、実際の研究生活についてお話ししたいと思います。渡米直後は、ほとんど英語が聞き取れず、しゃべることもままならなかったので(今でもそんなに改善はされてないかもしれませんが)、同じことを何回も聞いたりして、教えてくれた人には相当迷惑をかけていた(今もかけている?) ような気がします。特にボスとのディスカッションでは、明らかにゆっくりはつきりしゃべってもらっているのが、分かりました。渡米前は、こちらの人は、自分から何かを主張しないと何もやってくれないと思っていたのですが、研究室では、何か実験で困ったことがあり、困ったような顔をしていると必ず声をかけてくれる人がいるので、意外に人の情け(?) というものは、アメリカでもやはりあるのだと非常に感動したものです。ついでにいうと、私が研究室でボーッとしていると、突然私の名前をよび、さらには私の名前を歌詞にして、歌にされてしまうことがしばしばあり(時々、複数の人で合唱みたいになる) これには、かなり戸惑いました。(アメリカ人は陽気なのか、単にからかわれているだけなのか・・・?)

話は変わりますが、実は、ひょんなことから、2005年度のロックフェラー大の日本人会の幹事をやりまして(もっとも、幹事は全員で5人なのですが)、その関係から、本稿を終える前に少しだけ日本人会のことを紹介したいと思います。現在ロックフェラー大には約60名の日本人が学生、ポスドク、教員、事務員等として、研究に関わっています。日本人会の活動として、夏のバーベキュー、冬に餅つき新年会の年に二回パーティーを開いております。これらのパーティーには、ロックフェラーだけではなくて、ニューヨークの各地の研究機関の方も参加していただいて、幅広く交流しております。それほど、多くの活動をしているわけではないのですが、もしなにかロックフェラー大のことをもっと知りたいという方がおられましたら、ぜひ、私の上記メールアドレスまでご連絡ください。

最後になりましたが、本稿を書く機会を与えてくださった諸先生にお礼申し上げます。また、本研究室で研究の機会を与えていただいた Tom Muir 教授とこれまで、そしてこれからも私の英語につきあってくれるであろう Muir Lab の皆様に感謝の意を申し上げます。今後とも、ここロックフェラーでの経験を生かし、面白い研究をしていきたいと思っておりますので、なにぶん至らぬ点も多ありますが、皆様、ご指導ご鞭撻のほどよろしくお願いいいたします。

参考文献

- 1) Muir, T. W., *Annu. Rev. Biochem.* **72**, 249-289 (2003).
- 2) Schwartz, E. C., Muir, T. W., Tyszkiewicz, A., *Chem. Commun. (Camb)*, **17**, 2087-2090 (2003).

シンポジウム等会告



第2回生命化学国際シンポジウム ISBC2006

日時: 2006年8月6日~9日

場所: 甲南大学先端生命工学研究所(KONAN FIBER)、神戸市東灘区岡本 8-9-1

宿泊: 8月6日~9日(3泊) 宿泊場所: 神戸ベイシェラトンホテル、神戸市東灘区向洋町中2-13

参加費: 9万円 (宿泊費と食費を含みます。食事は、6日夜のレセプション、7, 8, 9日の朝食、7, 8日の昼食、8日夜のバンケットをご用意します。また、神戸ベイシェラトンホテルと甲南大学の移動は送迎バスで行います。)

今回は、2003年の淡路でのISBC2003と多少趣を異にして、100名程度の参加者で、ゴードンコンファレンス形式に近い形で、招待講演者との Discussion や交流を深めて頂きたいと考えております。そのため、参加者は招待講演者も含めてホテルは神戸ベイシェラトンに泊まり込みで、会場は甲南大学 FIBER での開催の予定です。特に、若手の研究者(ポスドク、助手、助教授、企業研究者など)の方々の参加を歓迎致します。詳細は、ファーストサーキュラーをご覧ください。皆様の参加をお待ちしております。



The Second International Symposium on Biomolecular Chemistry (ISBC2006) in KONAN FIBER, Japan

From 6th to 9th in August, 2006

FIBER, Konan University, Japan

SCOPE

The Second International Symposium on Biomolecular Chemistry (ISBC2006) will be held from 6th to 9th in August, 2006 in FIBER (Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research), Konan University, Japan, organized by the Forum on Biomolecular Chemistry (FBC) in the Chemical Society of Japan, and coorganized by Konan FIBER, by Itaru Hamachi, the chairman of FBC, and Naoki Sugimoto, the executive chairman of the symposium. This symposium will emphasize the diversity of modern research in chemical studies on DNA/RNA, proteins, carbohydrates and metals, with particular emphasis on understanding and controlling the phenomena in living systems.

SCIENTIFIC PROGRAM

The scientific program includes invited lectures and contributed papers (poster presentation) on the following topics:

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

INVITED SPEAKERS (TENTATIVE)

- Floyd Eric Romesberg (The Scripps Research Institute, USA)
Jaehoon Yu (Seoul National University, Korea)
Kai Johnsson (Ecole Polytechnique Federale de Lausanne, Switzerland)
Andrew Woolley (University of Toronto, Canada)
Kohei Tsumoto (University Tokyo, Japan)
Larry W. McLaughlin (Boston College, USA)
Philip C. Bevilacqua (Pennsylvania State University, USA)
Nicholas V. Hud (Georgia Institute of Technology, USA)
Dipankar Sen (Simon Fraser University, Canada)
Takashi Hayashi (Osaka University, Japan)
Thomas Carell (LMU München, Germany)
Kazuya Kikuchi (Osaka University, Japan)
Thomas V. O'Halloran (Northwestern University, USA)
Injae Shin (Yonsei University, Korea)
Jean Gariepy (University of Toronto, Canada)
Geert-Jan Boons (The University of Georgia, USA)
Stefan Matile (University of Geneva, Switzerland)
Constantinos Varotsis (University of Crete, Greece)
Rainer Haag (Free University of Berlin, Germany)
Shoji Takeuchi (The University of Tokyo, Japan)
Haesik Yang (Pusan National University, Korea)



CALL FOR PAPERS

Authors wishing to present papers in poster session are encouraged to submit the abstracts within 200 words in English at the website,

http://fiber.konan-u.ac.jp/institute_symposium/isbc2006.html

Further detailed information will be announced at the website.

Schedule of deadlines

(Title and short abstract: May 1, 2006)

REGISTRATION

Tentative registration fees will be ¥90,000 for all participants. The total number of participants is limited to 100 registrants.

Registration fee includes,

- Accommodation for 3 nights (6th in, 9th out)
- Transportation fare from the hotel to the Lecture Hall in FIBER for 3 days (7th-9th)

Meals

Breakfasts for 3days (7th-9th)

Lunches for 2days (7th,8th)

Reception fee (6th)

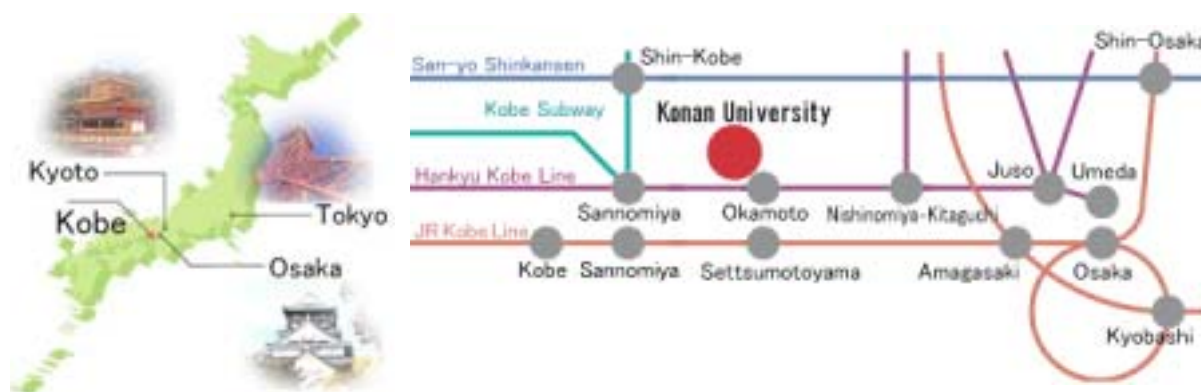
Banquet fee (8th)

We will accept your registration at the website,

http://fiber.konan-u.ac.jp/institute_symposium/isbc2006.html

LOCATION

The main sessions will be held at Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research (FIBER) at Konan University (<http://fiber.konan-u.ac.jp/english/index.html>) located in the eastern part of Kobe, Japan. From the campus, one can enjoy a panoramic view of the city of Kobe. To the north is Mt. Rokko, and beyond the city the sea is visible. The location of Konan University provides immediate access to the delights of Kobe, a city internationally renowned as a sightseeing destination. The stations nearest the campus are Okamoto Station (Hankyu Kobe line) and Settsu-motoyama Station (JR Kobe line). You can access to FIBER in approximately 25 min from Sannomiya Station or 40 min from Shinkansen (bullet train) Shin-Kobe Station in the heart of Kobe. All participants are supposed to stay at a large luxury hotel of the Kobe Bay Sheraton Hotel & Towers. We will provide about 20-minute shuttle bus service connecting the hotel and FIBER.



ADD YOUR NAME TO OUR MAILING LIST

To be placed on the mailing list for this conference, send an e-mail message (Name, Institution, Address, e-mail address) to bcsym@adm.konan-u.ac.jp, with indication of whether you would like to submit a paper.

ORGANIZING AND SCIENTIFIC PROGRAM COMMITTEES

Itaru HAMACHI, Chair (Kyoto)

Naoki SUGIMOTO (Kobe)

Takehiko WADA (Osaka)

Kazuo HARADA (Tokyo)

Shu-ichi NAKANO (Kobe)

Shiroh FUTAKI (Kyoto)

Koichi FUKASE (Osaka)

Toshinori SATO (Tokyo)

Takeshi NAGASAKI (Osaka)

Mitsuhiko SHIONOYA (Tokyo)

Hitoshi ISHIDA (Kanagawa)

Kazuya KIKUCHI (Osaka)

Takashi HAYASHI (Osaka)

Hisakazu MIHARA (Kanagawa)

Ikuo FUJII (Osaka)

Kouhei TSUMOTO (Tokyo)

Takeshi TSUMURAYA (Osaka)

Yoshinobu BABA (Nagoya)

Shigeori TAKENAKA (Fukuoka)

Keigo AOI (Nagoya)

Shun HIROTA (Kyoto)

第 7 回創薬ビジョンシンポジウム

主題: ナノテクノロジー・ナノバイオテクノロジーと創薬・医療

創薬・医療ニーズとナノテク・ナノバイオシーズのマッチング

ホームページ: http://bukai.pharm.or.jp/bukai_vision/sympo/7th/index.html

主催: 日本薬学会 薬学研究ビジョン部会

共催: ナノバイオ EXPO 実行委員会 他

日程: 平成 18 年 2 月 22 日(水) ~ 23 日(木)

場 所: 東京ビッグサイト 東 6 ホール (〒135-0063 東京都江東区有明 3-21-1: <http://www.bigsight.jp/>)

ゆりかもめ線 国際展示場正門駅下車徒歩 3 分

Co-Chairs: 馬場嘉信(名大院工)、小田吉哉(エーザイ(株)・シーズ研)

参加費: 薬学会会員 一般事前: ¥7,000 (¥9,000) ()内は当日参加費

会員外 一般事前: ¥9,000 (¥11,000)

学生(ホストク含む) 事前: ¥4,000 (¥6,000)

懇親会費: 一般・学生 事前: ¥6,000 (¥7,000)

* 懇親会: 2 月 22 日(水) 17:30 ~ (東京ビッグサイト内)

事前参加登録〆切: 平成 18 年 1 月 31 日(火)

参加申込み方法: 詳細は、ホームページをご覧ください。

連絡先: 〒464-8603 名古屋市千種区不老町 名古屋大学大学院工学研究科化学・生物工学専攻

馬場 嘉信 TEL: 052-789-4664 FAX: 052-789-4666

E-mail: babaymtt@apchem.nagoya-u.ac.jp

今回は、創薬・医療のニーズとナノテク・ナノバイオのシーズのマッチングを行うために、世界最大のナノテク国際展(参加者 4 万人)である国際ナノテクノロジー総合展・技術会議(<http://www.ics-inc.co.jp/nanotech/>)と同一会場で開催されるナノバイオ Expo 2006(<http://www.ics-inc.co.jp/nanobio/>)と共催で開催いたします。創薬・製薬に携わる方のみではなく、ナノテク・ナノバイオの技術を創薬・医療に展開したい方の参加を広く募り、ナノテクノロジーやナノバイオテクノロジーを活用した将来の創薬ビジョンを展望したいと思います。多くの方々のご参加をお待ちしております。

シンポジウム参加者は、ナノテク展・ナノバイオ Expo で、世界 18 カ国 400 社から 780 ブース以上展示される国際展示会に無料で入場できます。展示会見学は、22 日午前中あるいは 23 日昼休みをご利用ください。



プログラム

【 第1日目 】 2月 22日(水)

- 10:00- ナノテク国際展・ナノバイオ EXPO 見学
13:00- 13:30 日本薬学会 薬学研究ビジョン部会 総会
13:30- 14:20 部会賞授賞式・受賞者記念講演
- 14:20- 15:00 オープニングリマーク 川合知二 (大阪大学産業科学研究所長・教授
nano tech 2006 実行委員長)
「ナノテク・ナノバイオ研究開発と新産業創造戦略」
- 15:00- 15:40 特別講演 菅 弘之(国立循環器病センター研究所長
厚生労働省ナノメディスンプロジェクト 代表)
「ナノメディスン最前線」
- 15:40- 16:20 特別講演 唐沢 毅(住商バイオサイエンス副社長)
「ナノテク・ナノバイオ産業最前線」
- 16:20- 17:00 特別講演 Daniel A. Casciano (Director, National Center for Toxicological Research, FDA)
「FDA: A Catalyst in Drug Development」
- 17:30- 19:30 懇親会(東京ビッグサイト内)

【 第2日目 】 2月 23日(木)

- 9:30- 10:00 1)大和 隆志 (エーザイ(株)シーズ研究所)
「DNA マイクロアレイを駆使した低分子化合物の転写プロファイルのフィンガープリンティング
と標的分子の探索・同定」
- 10:00- 10:30 2)長田 裕之 (理化学研究所中央研究所)
「蛋白質と低分子の相互作用解析に基づくケミカルバイオロジー」
- 10:30- 11:00 3)上杉 志成(京都大学化学研究所)
「合成小分子化合物によるケミカルバイオロジー」
- 11:00- 11:30 4)三宅 正人 (産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門)
「細胞アレイの開発と応用」
- 11:30- 13:30 昼食・ナノテク国際展・ナノバイオ EXPO 見学
- 13:30- 14:00 5)瀬藤 光利 (自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター)
「顕微質量分析によるナノバイオマシン制御解析と創薬」
- 14:00- 14:30 6)塚田 秀夫 (浜松ホトニクス中央研究所 PET センター)
「病態モデル動物における創薬のための生体分子イメージング」
- 14:30- 15:00 7)橋本 誠一 (アステラス製薬)
「体内時計の転写制御システム」
- 15:00- 15:30 8)夏目 徹 (産業技術総合研究所生物情報解析研究センター)
「大規模タンパク質ネットワーク解析」
- 15:30- 16:00 9)中富 一郎 (ナノキャリア株式会社)
「ナノ粒子の標的治療薬としての意義」
- 16:00- 16:30 10)漆谷 徹郎 (同志社女子大学)
「トキシコゲノミクスプロジェクトの現状と展望」
- 16:30- 16:45 閉会の辞 次期大会委員長

21 世紀 COE「京都大学化学連携研究教育拠点」ケミカルバイオロジー・ミニシンポジウム
一味違う化学と生命現象の接点を目指して

日時 平成 18 年 3 月 15 日(水)、16 日(木)

会場 京都大学化学研究所共同研究棟大セミナー室

(宇治市五ヶ庄 http://www.kuicr.kyoto-u.ac.jp/kaken_access.html)

主催 21 世紀 COE「京都大学化学連携研究教育拠点」

協賛 日本化学会、日本薬学会、高分子学会、有機合成化学協会

オーガナイザー (京大化研)二木史朗、(京大院理)杉山弘、(京大院工)浜地格

内容 ケミカルバイオロジーを志向する京都大学の若手研究者を中心に、学内外の関連分野の研究者を交え、研究の方向性や展望に関して討論を行います。

講演予定者 (京大院理)板東俊和、(京大院生命)齊藤博英、(京大化研)川添嘉徳、今西未来、三原久明、
柘植知彦、平竹潤、椿一典、(京大院工)清中茂樹、山東信介、王子田彰夫、跡見晴幸、白川昌宏、(京大
院薬)大石真也、(京大工ネ研)森井孝、(徳大院 HBS)石田竜弘、(東工大院総合理工)木賀大介、(北陸先
端大)芳坂貴弘、(理研)浅見忠男、疋田正喜、(阪大産研)野地博行、(東大院医)横溝岳彦、(東大院工)
鈴木勉、(東大院薬)浦野泰照、(九大院薬)永次史

参加費 無料

問合先 〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学化学研究所 二木史朗

Tel 0774-38-3210 E-mail: futaki@scl.kyoto-u.ac.jp

プログラムの詳細等は HP: <http://www.scl.kyoto-u.ac.jp/~bfdc/cbs.html> をご覧ください。



産学連携 BICS シンポジウム (シリーズ 第3回)
「生命化学と次世代技術は創薬、医療を変え得るか」
ケミカルバイオロジーを支えるケミカルライブラリー

(平成 18 年 3 月 28 日 (火) 午前・午後)

主催: 日本化学会(産学交流委員会・生命化学研究会)・化学技術戦略推進機構(BICS 研究会)・科学技術推進機構

生命化学の研究においては、核酸、タンパク質あるいは糖鎖などの構造や機能を理解し、さらには生体反応のネットワークをシステムとして理解することが重要なテーマである。そのようにして見いだされた知見は、化学、情報、食品、環境、あるいは医薬開発、医療の分野への革新的な技術へと発展する可能性を有している。

第1および第2回のBICSシンポジウムでは、次世代産業技術としての期待について学および産の講師に様々な観点から講演をお願いし、産業界、社会に対する広報、宣伝の位置づけで、アカデミアの最新の動きと社会還元への思いを中心に紹介した。

しかしながら、「生命化学」の特徴を活かした実例がないために、産業技術としての革新性、特徴を具体的に思い浮かべることが難しく、社会的に認められるにはさらなる工夫と継続が必要である。そこで今回は、「ケミカルライブラリー」と「生命化学」を通して具体化しつつある応用分野(医薬開発、医療システムなど)に焦点をあて、具体的に「化学」が大きく関わる内容を紹介して、「生命化学」技術の革新性、特徴を浮き彫りにする。

すでに、産業界ではコンビナトリアル手法とそれを支える「ケミカルライブラリー」の必要性について認識がいきわたっている。ケミカルライブラリーに支えられた「生命化学」技術が一体どのような可能性をもつのか、ゲノム創薬との対比やチップによる新たな医療システムなど、医薬開発、医療システムが話題の中心にはなるが、パネルディスカッションなどの討議では、他の産業分野へ及ぼす影響まで展望を広げて議論する。

講演予定者

1. 基調講演(東大先端研) 菅 裕明
2. ゲノム創薬の展開と展望(東大先端研) 油谷浩幸
3. 創薬標的分子の探索(株)リバーズ・プロテオミクス研究所化学) 田中明人
4. マイクロアレイ利用標的分子同定(エーザイ(株)シーズ研究所) 大和隆志
5. 2分岐糖鎖ライブラリーの合成と展開(大塚化学) 笹岡三千雄
6. 糖鎖(慶大理工) 佐藤智典
7. コンビナトリアル化学合成の手法と展開(東工大) 高橋孝志
8. 新規免疫抑制剤 FT720 の開発(三菱ウエルファーマ(株)) 城内正嘉
9. ペプチド(東工大院生命理工) 三原久和
10. DNA/RNA、非天然型ペプチド(東大先端研) 菅 裕明
11. パネルディスカッション

遺伝子・デリバリー研究会 第6回シンポジウム

日時 2006年5月18日(木)～19日(金)
場所 九州大学医学部キャンパス百年講堂
福岡市東区馬出3丁目1番1号
電話:092-642-6257

招待講演:

谷 憲三郎 先生(九州大学生体防御医学研究所) 「トランスレーショナルリサーチとしての GM-CSF 免疫遺伝子治療」

佐々木 茂貴 先生(九州大学大学院薬学研究院) 「人工機能性核酸による遺伝子のピンポイント阻害」

久原 哲 先生(九州大学大学院農学研究院・九州大学バイオアーキテクチャーセンター) 「遺伝子発現ネットワークを基盤とするシステム創薬」

夏目 徹 先生(産業技術総合研究所) 「Chemical Interactome:大規模タンパク質ネットワーク解析からの展開」

詳細スケジュール、一般講演申込、参加登録、参加費に関しては、遺伝子・デリバリー研究会のホームページ <http://www.gene-delivery.org/> をご参照ください。

事務局・問い合わせ先

連絡先: 〒819-0395 福岡市西区元岡744番地

九州大学大学院工学研究院応用化学部門

遺伝子・デリバリー研究会第6回シンポジウム実行委員長

新留琢郎

E-mail: entry2006@gene-delivery.org

TEL&FAX: 092-802-2851



お知らせコーナー

受賞のお知らせ



大庭 亨・花崎 充・三部正大 (宇都宮大学工学部応用化学科)

高木賞 “Development of an on-demand nano-device and a concept for self-healing material systems”
(平成 17 年 7 月 6 日)

長谷川 健 (日本大学生産工学部)

第 2 回堀場雅夫賞 「超分子薄膜を構造異方性から解析する新しい分光計測概念の構築」
(平成 17 年 10 月 17 日)

成瀬恵治 (岡山大学院医歯薬)

IEEE, Best Paper Award in 2005 International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science (MHS2005)

"Application of Soft Lithography to Mechanobiology" (平成 17 年 11 月 9 日)

中谷和彦 (大阪大学産業科学研究所)

第 19 回日本 IBM 科学賞 「核酸を精密に認識する有機分子の開発と展開」
(平成 17 年 11 月 22 日)



浜地 格 (京都大学大学院工学研究科、合成・生物化学専攻)

日本化学会学術賞 「蛋白質機能制御のための化学生物学的新手法の開発」
(平成 18 年 3 月)

会員異動

異動の際には、会員係(佐藤智典氏: sato@bio.keio.ac.jp)へ異動の詳細をご連絡ください。

成瀬恵治

岡山大学大学院医歯薬総合研究科・システム循環生理学 教授 (2005 年 10 月 1 日)

〒700-8558 岡山市鹿田町2丁目5番地1号

TEL:+81-86-235-7112/FAX:+81-86-235-7430

E-mail:knaruse@md.okayama-u.ac.jp

研究室 HP:www.okayama-u.ac.jp/user/med/phy2/

特定領域 HP:www-arailab.sys.es.osaka-u.ac.jp/bio/index-j.html

大学発バイオベンチャー・ストレックス(株)HP:www.strex.co.jp

大庭 亨

宇都宮大学工学部応用化学科 助教授 (平成 17 年 4 月 1 日)



編集後記

生命化学研究レターもお蔭様で、No. 20 となりました。今回も、無事、皆様のお手元にお送りすることができ、ほっとしております。

研究会や学会のお手伝いをさせていただいていると、様々な先生に原稿依頼も含めた仕事を御願いしたりします。そのとき、いつも感心させられるのは、学会でもご活躍で、お忙しいと思われる先生ほど、ご返事が早い、ということです。ある方に「いつも早いですよね」とお話すると、「置いておくと忘れるからね」というご返事でした。

何かの仕事をしている途中で、別の仕事が割り込んできた場合・・・人によって様々な対応があるかと思いますが、皆さんはどうされますか？

私は、できるだけ割り込み仕事を先にするようにしています。重要度が低いほど、すぐに終わりますから、置いておいてわからなくなる前に処理するほうがいい、と信じて、やっています。割り込み仕事が少し手ごわくて、すぐには片付きそうにない場合は、メモでもとって、後でやるようにします。ところが、そういう仕事はどんどん入ってきて、すぐメモはいっぱいになり、自分ではできそうにないことがわかります。そのうち、メモは「催促されない限りしない仕事のリスト」になってしまい、再び催促されてからやり始める、という感じです。そのうち間に合わなくなって、「もういいです」という場合もあります。せっかく引き受けたのにできなくて、先方に多大の迷惑をかける結果になり、しばらくは落ち込みますが、段々、どのくらいが自分にできる仕事量が、わかってくるような気もします。

今、流行している本、映画に、「博士の愛した数式」というのがあります。私はどちらも見たことがないのですが、ここにでてくる博士は交通事故で記憶が 80 分しかもたないという設定で、映画で博士を演じる寺尾 聡は、体中に付箋を貼り付けています。事故の方といっしょにするのは不謹慎かもしれませんが、私もやらないといけないはずの仕事の記憶は 80 分もすれば揮発しています。マジックナンバー 7 という、「人間が同時にできることは 7 つまで」という法則があるそうですが、最近では、7 つ同時にできるかというより、7 つ同時にやろうという気力のほうが怪しくなってきました。

他の方に迷惑をかけず、自分でも満足できる仕事を。研究だけでなく、いろいろなところで自問する、今日この頃です(自問する時間も欲しいです)。

さて、次号(No. 21)は、長崎 健氏(大阪市大)の担当により、2006 年 6 月発行を予定しております。今後も、生命化学研究レターを宜しく御願います。



富山大から望む立山連峰(篠原寛明氏 提供)

石田 斉

北里大学理学部

(ishida@sci.kitasato-u.ac.jp)

編集担当:

長崎 健(大阪市立大学)

原田 和雄(東京学芸大学)