

# 生命化学研究レター

(2013年7月)

## 2. 巻頭言

“To be international, be national”

大阪府立大学大学院理学系研究科 藤井 郁雄

## 4. 研究紹介

4. 架橋型人工核酸 BNA の開発と外部刺激応答性スイッチへの展開

大阪大学大学院薬学研究科、独立行政法人医薬基盤研究所、名古屋大学大学院創薬科学研究科

森廣 邦彦、兒玉 哲也、小比賀 聡

10. メタル化アミノ酸/ペプチドを用いる金属集積制御と機能開拓

–自己組織化による人工酵素合成を目指して–

京都大学化学研究所附属元素科学国際研究センター

高谷 光、磯崎 勝弘、中村 正治

18. 細胞折り紙

–MEMS と折り紙の折り畳み技術を利用した細胞三次元立体構造の構築–

北海道大学大学院情報科学研究所、東京大学生産技術研究所

栗林（繁富）香織、竹内 昌治

## 23. 論文紹介「気になった論文」

京都大学大学院工学研究科 博士研究員 林 隆宏

九州大学大学院工学研究院 助教 若林 里衣

大阪大学大学院理学研究科 助教 真鍋 良幸

東北大学多元物質科学研究所 博士課程3年 草野 修平

## 39. 留学体験記

スイス連邦工科大学チューリッヒ校 (ETH Zürich) 留学体験記

Laboratory of Organic Chemistry, ETH Hönggerberg 東 佑翼

## 43. シンポジウム等会告

第7回 バイオ関連化学シンポジウム、第40回 国際核酸化学シンポジウム (ISNAC2013)、第23回 アンチセンスシンポジウム、7th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2013)、第30回 シクロデキストリンシンポジウム

受賞、異動

編集後記



# 巻頭言

## “To be international, be national”

大阪府立大学大学院理学研究科 藤井 郁雄

関西に住んでみると、京都や奈良に近いせいか、意外と日本文化を実感します。「百人一首」の中には、大阪府立大学から目と鼻の先にある「高師浜（たかしのはま）」の風情ある浜景色が詠まれているものがあり、身近なところに日本文化を感じることができます。おもしろいことに、100首の和歌の中で、女性が詠んだ歌は21首に上ります。代表的な歌人の20%強を女性が占めています。すなわち、日本は、世界史的にみてもきわめてユニークな女性が活躍できる文化をもっていたこととなります。生命化学研究会のみなさんは海外に行かれる機会も多いので、多分、経験されたことがあると思います。海外にあっては、いろんな場面で、日本の文化や歴史を尋ねられることがあります。結構、日本通がいたりして、「どうしてそんなことまで知っているの？」と驚かされることも良くあります。「あ～!! 日本のこともっと知っとくべきだった」と後悔したことはありませんか。

「国際的な人とは、どのような人？」という質問をすると、案外答えはばらけるかも知れません。外国語を駆使して仕事をしている人。もちろん、語学力は海外の人たちとのコミュニケーションを取るためには必要な手段です。あるいは、頻繁に外国と行き来している人。または、外国で活躍している人。広辞苑には3番目の国際的に活躍している人、としてあります。でもそれはどうも違うように思います。私の考える国際人の第一の条件は「To be international, be national」すなわち、「国際人になるなら、まずは日本人たれ」ということです。世界に立ち向かう時、私たちはその拠って立つ基盤、すなわち「日本人とは何か、日本文化とは何か」を知ることが大切です。国際人とは自分の国を十分に知ってこそ、外国人相手の会話が出来るのです。留学していたとき、ハロウィンパーティーで、日本のLantern Festival（お盆）について聞かれたことがあります。たき火をして祖先の霊を祀るというところに共通点を見つけたのか、しかし、正直、まったく説明できませんでした。ハルペン（ドイツ生まれのイスラエルの日本語及び漢字研究家、国際一輪車連盟理事長）は、その著書のなかで、「真の国際人 = 地球国際人」とは、その一つの条件として、自分のアイデンティティ（個性）をしっかりとつこと（自分の国

民性、国の文化に誇りを持ち、他の民族に合わせようとしないこと)であるといっています。

そこで、「To be international, be national」を学問領域に置き換えて考えみたらどうなるでしょうか。それは「To be interdisciplinary, be disciplinary」ということになります。すなわち、学際研究を進めるためには、まずは専門分野を極めることが大事であるということです。学問分野(discipline)は、知識や概念を体系立てて整理するものであり、内容の一貫性、理解のしやすさなどの観点から対象を限定して取り扱います。一方、学際研究は、複数の学問分野にわたって精通している研究者や、複数の学問分野の研究者らが共同で研究にあたることによってもたらされます。15年前(準備期間を入れると18年前)、生命化学研究会は学際研究を指向して発足しました。当時、化学をアイデンティティとした若手研究者が集まりました(写真)。化学に精通した専門家が集まったからこそ、今日のような生命化学の発展があったのだと理解しています。心配なのは、今後のことです。学際領域は、従来とは異なった新たな成果を生み出す可能性があり、多くの大学で異分野融合型の教育システムの構築が検討されています。しかし、大事なのは、若い人たちが、まず自分自身の学問領域を徹底的に学ぶことで、そのための教育環境をつくることです。彼らが、しっかりとしたアイデンティティをもつことを願っています。

中世、「百人一首」で活躍した女性歌人は、和歌にとどまらず、散文や小説の世界にまで進出しました。その頃ヨーロッパでは十字軍の遠征が始まり、王侯貴族は外国での戦争に明け暮れていました。中国、朝鮮では男性中心の儒教世界が確立しており、女性が文学の世界で活躍する余地はほとんどありませんでした。昨今、日本の女性の社会進出度の低さがよく問題にされていますが、今度、海外でこのことについて聞かれたら、「百人一首」で活躍した女性たちの話をしようと思っています。



研究紹介

架橋型人工核酸 BNA の開発と  
外部刺激応答性スイッチへの展開



森廣

大阪大学大学院薬学研究科<sup>1</sup>  
 独立行政法人医薬基盤研究所<sup>2</sup>  
 名古屋大学大学院創薬科学研究科<sup>3</sup>  
 森廣邦彦<sup>1,2</sup>、兒玉哲也<sup>3</sup>、小比賀 聡<sup>1,2</sup>  
 (obika@phs.osaka-u.ac.jp)



兒玉



小比賀

1. はじめに

低分子化合物による創薬研究が苦戦を強いられている現在、生体高分子である核酸を素材とした医薬品に大きな注目が集まっている。核酸医薬はタンパク質のみならず、細胞内の mRNA やゲノム DNA も標的にできることから、これまでは治療が困難とされてきた疾患に対する画期的な医薬品の創出が期待される。また一度有用な素材を開発することができれば、後は標的とする遺伝子やタンパク質に対する配列スクリーニングを実施すればよく、創薬研究の時間やコストを大幅に削減できる可能性も秘めている。しかし、天然の DNA や RNA は標的に対する親和性や生体内の核酸分解酵素に対する安定性が低いため医薬品に適応することはできない。そこで化学的な修飾によってこれらの欠点の克服を目指した「人工核酸」の開発研究が現在も世界中で活発に行われている。本稿では核酸医薬の開発を目指して我々が開発してきた架橋型人工核酸 BNA 類の基本的性質とその応用研究について紹介したい。

2. 架橋型人工核酸 BNA 類の開発

核酸分子は構造中に回転可能な単結合を多く有しており、ヌクレオシドや一本鎖では「ゆらいだ」状態にある。この構造のゆらぎは核酸分子どうしが二重鎖や三重鎖などの複合体を形成する過程において大きく制限され、エントロピーの損失というエネルギー的に不利な状況を生じる。我々はこの複合体形成に伴うエントロピーの

損失を抑制することができれば、高い標的核酸親和性を獲得した人工核酸の開発が期待できると考えた。このコンセプトに基づき我々とデンマークの Wengel らのグループがそれぞれ独自に開発した最初の架橋型人工核酸 2',4'-BNA/LNA は、期待通り相補鎖 DNA および RNA に対する極めて高い二重鎖形成能を示した (図 1)。<sup>[1,2]</sup> これは架橋化により糖部フラノース環内のねじれ角 ( $\nu_0 \sim \nu_4$ ) が固定され、二重鎖形成に伴うエントロピーの損失が抑制できたためであると考えられる。また架橋部の立体的なかさ高さが核酸分

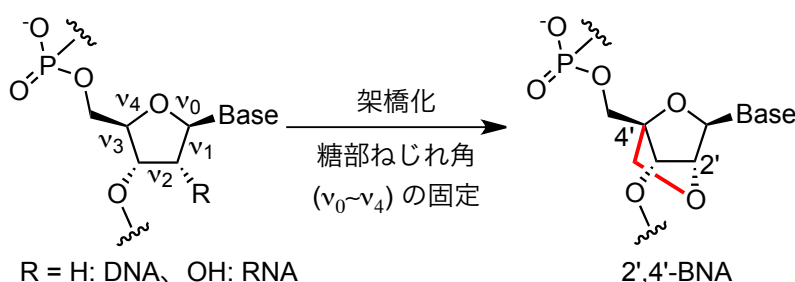


図 1. 架橋化による糖部立体配座の固定

解酵素の接近を妨げることにより、核酸分解酵素に対する耐性能の向上も見られた。2',4'-BNA で修飾したオリゴヌクレオチドは細胞内の mRNA や miRNA を標的としたアンチセンス医薬として複数品目が臨床試験を受けており、全身投与型の核酸医薬素材として大きな期待を集めている。<sup>[3]</sup>

2',4'-BNA の開発から 15 年余が経過したが、その間に我々は架橋部の構造や構成原子を様々に変換した BNA 類の合成と機能性評価に取り組んできた。その中で架橋を 5 員環から 7 員環に拡大していくと相補鎖核酸に対する結合親和性は低下する一方、酵素耐性能は上昇する傾向にあることが分かってきた (図 2A)。<sup>[4, 5]</sup> これらの知見から、架橋環サイズを小さく保ったまま架橋部を立体的にかさ高くすることができれば、高い標的核酸親和性と酵素耐性能を兼ね備えた BNA が開発できると考えた。この戦略のもとに、架橋構造を 5 員環に保ったまま架橋環外にカルボニル基を導入してかさ高さを増したアミド架橋型人工核酸 AmNA の設計及び合成を行った (図 2B)。<sup>[6]</sup> 期待通り AmNA の酵素耐性能は 2',4'-BNA を大きく上回りながら相補鎖 RNA との結合親和性は同等であり、架橋構造を最適化することで核酸医薬としての性質を高めることに成功した。最後に AmNA のアンチセンス医薬としての可能性をヒト培養細胞系において評価した。ApoB タンパク質の mRNA を標的とした遺伝子発現抑制効果を評価した結果、AmNA で修飾したオリゴヌクレオチドは 2',4'-BNA で同様に修飾したオリゴヌクレオチドと比較して優位に ApoB mRNA の発現を抑制しており、2',4'-BNA を上回るアンチセンス効果を示すことが分かった (図 2C、評価には AmNA の架橋部窒素原子上にメチル基を導入した AmNA[NMe]を用いた)。AmNA が現在核酸医薬の最有力候補素材である 2',4'-BNA を凌ぐ遺伝子発現抑制効果を発揮したことは大変意義深く、今後の核酸創薬研究の柱となることを期待したい。

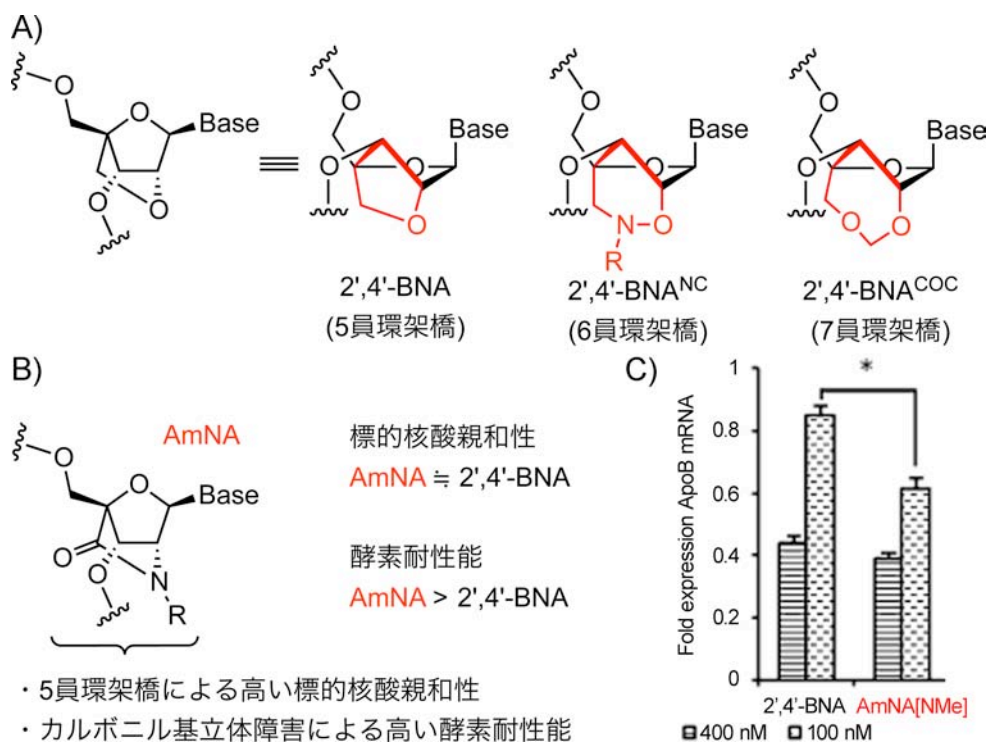


図 2. A) 架橋環サイズの異なる BNA 類の構造 B) AmNA の構造と特性 C) 2',4'-BNA と AmNA のアンチセンス効果の比較

以上、我々はこれまでに得られた知見を基に BNA 架橋構造のチューニングを行い、核酸医薬の優れた素材となり得る人工核酸 AmNA の開発に成功した。AmNA は架橋部窒素原子上に様々な置換基を導入することができるという特長も有しており、現在これを利用した核酸医薬の細胞内動態や組織移行性の改

善も検討している。

### 3. BNA スイッチの開発

第二節では核酸医薬を目指した架橋型人工核酸 BNA の開発とその機能性について紹介した。しかし通常、体内に投与した核酸医薬が望みの組織や細胞でのみ薬効を示すことは難しく、対象疾患の制限や副作用といった問題点につながるものが懸念される。もし核酸自身が周囲の環境の変化を感知してその機能のオンとオフを切り替えることができれば、病変部位で特異的に薬効を示す画期的な核酸医薬の開発が期待できる。我々がこれまでに開発してきた BNA 類の優れた機能性はその糖部架橋構造に由来する。この架橋の開閉や性質変化を何らかの外部刺激によって制御できる「BNA スイッチ」が開発できれば、我々の望む場所やタイミングでのみ薬効を発揮する核酸医薬の開発に大きく近づくかもしれない (図 3)。

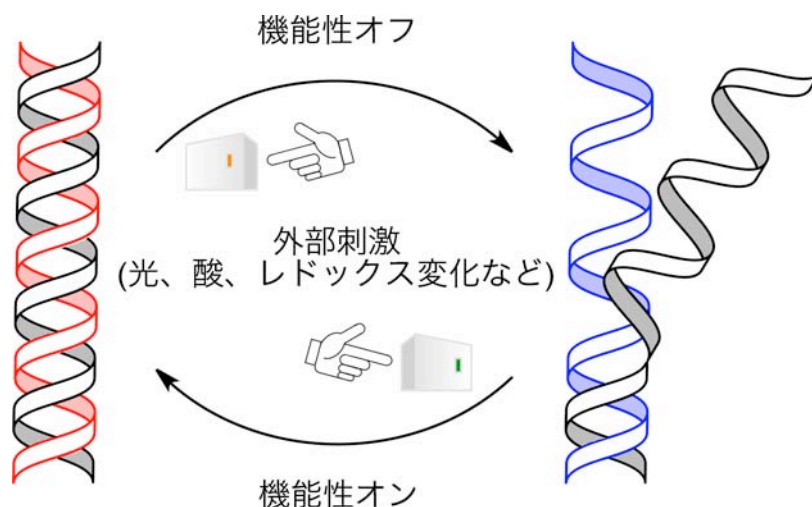


図 3. BNA スイッチの概念図

#### 3-1. 架橋の開裂による機能性制御

我々はまず、様々な外部刺激によって架橋が開裂するベンジリデンアセタール型 BNA の開発を行った (図 4A)。<sup>[7]</sup> 架橋の開裂に伴い糖部立体配座や架橋部周辺の立体的な混み合いが変化するため、標的核酸親和性や酵素耐性能が大きく変化すると考えられる。ベンジリデンアセタール型 BNA は、架橋部フェニル基上の置換基によって様々な外部刺激に特異的に応答して架橋が開裂し、例えば無置換体は酸性条件下で特異的に加水分解される。フェニル基の 2 位に電子求引性のニトロ基を導入すると酸に対する安定性が上昇する一方、光照射によって特異的に架橋を開裂させることが可能となり、さらにアミンやチオールなどの求核剤を作用させることで 4'-C-ヒドロキシメチル RNA に変換できる。また 4-ニトロベンジリデンは還元剤によって中性条件下においても加水分解可能な 4-アミノベンジリデンへと誘導でき、還元的環境下で特異的に RNA 誘導体を発生させることができる。

まずベンジリデンアセタール型 BNA と 4'-C-ヒドロキシメチル RNA の二重鎖形成能を評価したところ、予想に反して大きな差は認められなかった。これはベンジリデンアセタール型 BNA 架橋部の立体的要因が、糖部固定による親和性上昇効果を打ち消したためであると予想される。一方で酵素耐性能には顕著な差が見られ、ベンジリデンアセタール型 BNA は 4'-C-ヒドロキシメチル RNA と比較して 150 倍以上の安定性を示した。これはかさ高い架橋構造を失うことで酵素の接近が容易になったためであると考えられる。相補鎖核酸との結合親和性を変化させずに核酸分解酵素に対する安定性を減弱させることができることから、

ベンジリデンアセタール型 BNA は外部刺激によって部位特異的に薬効を失わせることが可能な自己分解型アンチセンス医薬などへの展開が期待できる (図 4B)。

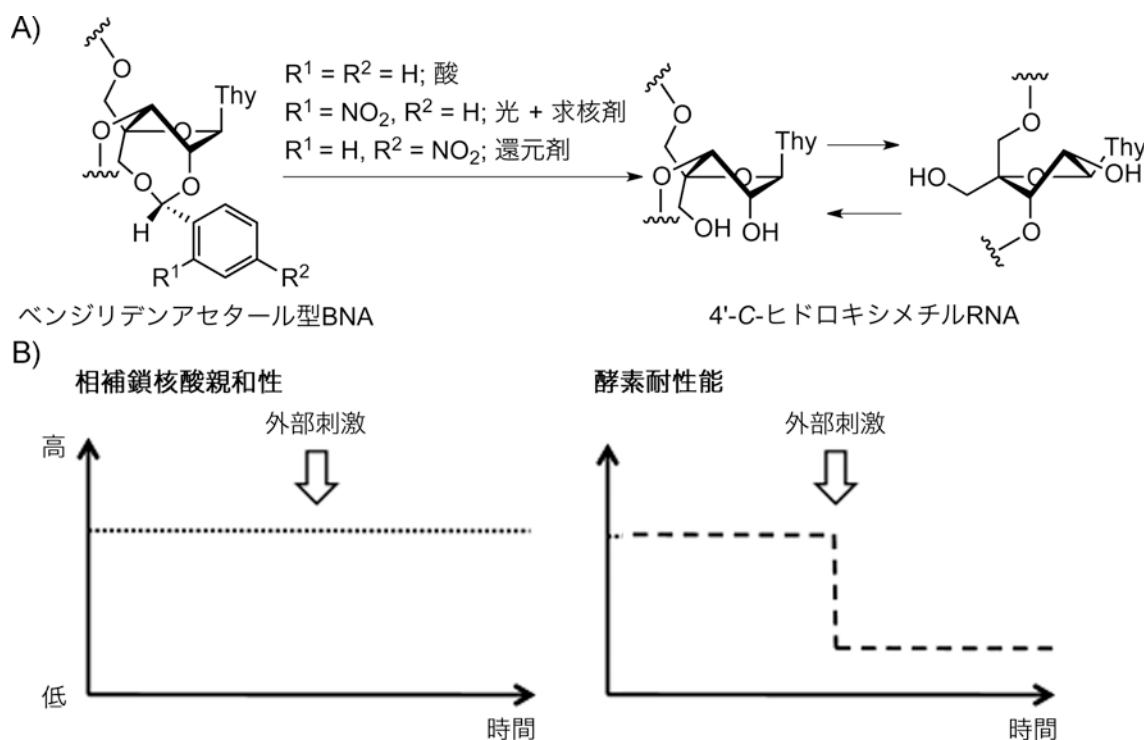


図 4. A) 様々な外部刺激によるベンジリデンアセタール型 BNA の架橋開裂制御 B) 架橋の開裂に伴う機能性の変化

### 3-2. 架橋の構造変化による機能性制御

一方、架橋の開閉のみならず、その構造を変化させることで BNA 類の機能性を調節することも可能である。最近我々が開発した人工核酸 SeLNA は架橋部に低極性のセレン原子を有しており、酸化還元反応によって SeOLNA と可逆的に構造を変換することができる (図 5A)。<sup>[8]</sup> SeOLNA は高極性のセレノキンド基を有しており、架橋環外に酸素原子が存在することから SeLNA とは機能性が大きく異なると予想される。まず SeLNA を導入したオリゴヌクレオチドの酸化還元応答性を逆相 HPLC によって評価した結果、過酸化水素とジチオトレイトール (DTT) 処理により SeLNA と SeOLNA 間の構造変化を繰り返し行うことが可能であった (図 5B)。この構造変換の可逆性も SeLNA の特長の 1 つである。続いて SeLNA と SeOLNA を 6 残基連続して導入したオリゴヌクレオチドと相補鎖 DNA が形成する二重鎖の融解温度 ( $T_m$  値) を測定した結果、両者の間で実に 30 °C 近い値の差が観測された (図 5C)。この差は我々の予想を大きく上回るものであり、SeLNA がスイッチとして有用な性質を有していることが分かった。そこで最後に二重鎖形成能の差を利用した酸化還元応答性プローブの開発を行った。図 5D に示したモレキュラービーコン型プローブは、還元的条件下では安定なヘアピン構造を形成して消光状態にある。一方、酸化的条件下で SeOLNA 型に変換されるとステム部分の安定性が大きく低下し、蛍光基と消光基が離れて発光することを期待した。過酸化水素と還元型グルタチオン (GSH) の添加によるプローブの蛍光強度の変化を追跡した結果、反応時間の経過に伴う発光と消光が確かに観察され、有用な酸化還元センシングプローブの開発に成功した。これまでに酸化還元環境の変化を感知して性質が変化するオリゴヌクレオチドの開発例はほとんどなく、今後の応用研究に期待が持たれる。

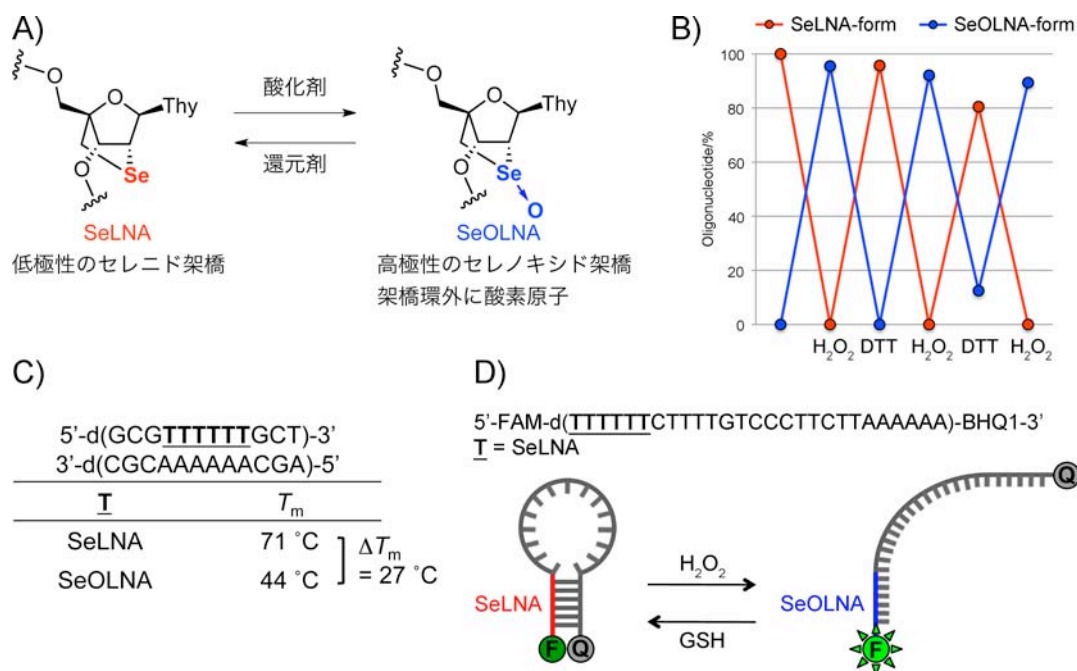


図 5. A) 酸化剤と還元剤による SeLNA と SeOLNA 間の構造変換 B) 酸化還元の繰り返し応答性 C) SeLNA と SeOLNA の二重鎖形成能の評価 D) 二重鎖形成能の差を利用した酸化還元応答性プローブ

以上のように、我々は様々な外部刺激によって糖部架橋構造の開裂や構造変化を制御することで、標的核酸親和性や酵素耐性能が変化する種々の BNA スイッチの開発に成功した。これらのスイッチを第二節で紹介したアンチセンス核酸などと組み合わせることで、副作用の少ない組織選択的な核酸医薬の開発などにつながるものと期待している。

#### 4. おわりに

以上に我々が開発してきた架橋型人工核酸 BNA 類の機能性と、核酸医薬及び外部刺激応答性スイッチへの展開について紹介した。架橋構造を構成する原子や官能基を種々変更することで多様な機能性を有する BNA 類の創製が可能であり、今後も医薬品をはじめ様々な研究分野での応用が期待される。BNA を素材とした分子スイッチの開発研究についてはまだ基礎的段階であるが、架橋構造の化学的制御というこれまでにないコンセプトを基に核酸の性質を制御できたことは大きな一歩であると確信している。今後はこれらのスイッチ技術を遺伝子発現抑制法などに応用し、創薬やケミカルバイオロジー分野の発展に貢献していきたい。

#### 5. 引用文献

- [1] a) Obika, S.; Nanbu, D.; Hari, Y.; Morio, K.; In, Y.; Ishida, T.; Imanishi, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8735-8738; b) Obika, S.; Nanbu, D.; Hari, Y.; Andoh, J.; Morio, K.; Doi, T.; Imanishi, T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5401-5404.
- [2] Singh, S. K.; Nielsen, P.; Koshkin, A. A.; Wengel, J. *Chem. Commun.* **1998**, 455-456.
- [3] Santaris Pharma A/S  
www.santaris.com
- [4] Hari, Y.; Obika, S.; Ohnishi, R.; Eguchi, K.; Osaki, T.; Ohishi, H.; Imanishi, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 1029-1038.



- [5] Rahman, S. M. A.; Seki, S.; Obika, S.; Yoshikawa, H.; Miyashita, K.; Imanishi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4886-4896.
- [6] Yahara, A.; Shrestha, A. R.; Yamamoto, T.; Hari, Y.; Osawa, T.; Yamaguchi, M.; Nishida, M.; Kodama, T.; Obika, S. *ChemBioChem* **2012**, *13*, 2513-2516.
- [7] Morihiro, K.; Kodama, T.; Obika, S. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7918-7926.
- [8] Morihiro, K.; Kodama, T.; Kentefu; Moai, Y.; Veedu, R. N.; Obika, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 5074-5078.

研究紹介

メタル化アミノ酸／ペプチドを用いる

金属集積制御と機能開拓

～自己組織化による人工酵素合成を目指して～

京都大学化学研究所附属元素科学国際研究センター

高谷 光\*, 磯崎勝弘, 中村正治

(takaya@scl.kyoto-u.ac.jp)



高谷



磯崎



中村

1. はじめに

メタル化アミノ酸は、有機金属化学と生化学の境界領域である Bioorganometallic Chemistry 分野において重要な分子の一つであるが、現在までに報告されたメタル化アミノ酸を大まかに分類すると、1)  $\alpha$ -位側鎖先端に金属錯体が結合したタイプ、そして 2)  $N$ -末端および 3)  $C$ -末端に金属錯体が結合した 3 タイプとなる。我々はこれらのうちから特に $\alpha$ -位側鎖結合型を選んで研究対象としてきた。元来アミノ酸の  $N,C$ -末端はアミド結合によってペプチド、蛋白質という高次構造体を構築する足場であり、 $\alpha$ -位炭素は機能導入のための拡張性の高い官能基増設部位である。進化の過程で練り上げられたこの分子デザインに素直に従い、 $\alpha$ -位側鎖に機能部位たる金属錯体を導入し、 $N,C$ -末端はペプチド鎖構築のために温存するというのは妥当な研究戦略と考える。奇しくも初めて合成されたメタル化アミノ酸であるフェロセニルアラニン<sup>1)</sup>はこの $\alpha$ -位側鎖結合型であるが、意外な事に、以降に報告されたほとんどのメタル化アミノ酸は、 $N$ -末端あるいは  $C$ -末端結合型が圧倒的に多い。これはメタル化アミノ酸が、バイオラベリングやイメージング試薬への応用を企図する生化学分野の研究者を中心に開発されてきたことに起因する。これらの用途では生理活性を示すアミノ酸およびペプチドと金属錯体との結合様式が可視化試薬としての機能にあまり影響を及ぼさないので、縮合反応によって画一的かつ簡便に金属導入が可能な  $N,C$ -末端が選ばれたと推察される。実際に、現在までに報告されているほとんどの  $N,C$ -末端結合型メタル化アミノ酸とメタル化ペプチドは、リンカー部位に-OH 基や-NH<sub>2</sub> 基を有する錯体との縮合反応によって合成されている。

$\alpha$ -位側鎖結合型のメタル化アミノ酸は合成方法によって、図 1 に示す A-C の 3 タイプに分類することができる。前述のフェロセニルアラニンはアセチルフェロセンから 6 段階を経てアラニン部位を構築する A のタイプとなる。現在までに多くのメタロセン結合型アミノ酸がこの方法で合成されている<sup>2)</sup>。合成法 B は、 $\alpha$ -位側鎖に配位性官能基を有するアミノ酸と金属塩との反応によってメタル化アミノ酸を得る方法であるが、1990 年代に、強い配位能力を有するピピリジン、ピコリルアミン、ポルフィリン配位子の結合したアミノ酸が報告されたのをきっかけに、多くの造影剤やバイオイメージング試薬がこの手法で合成された。最後の C タ

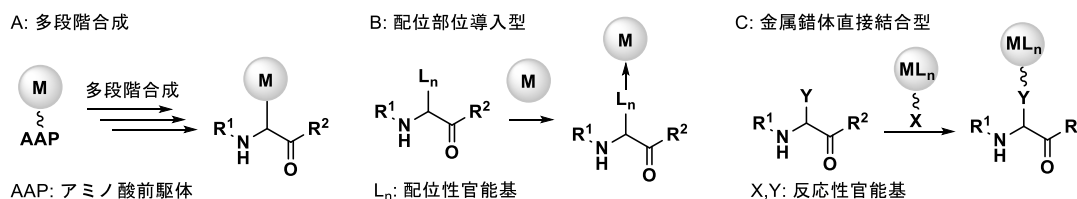


図 1.  $\alpha$ -位側鎖結合型メタル化アミノ酸の合成方法

イブに分類されるのは、配位子を含む予め合成した金属錯体を $\alpha$ -位側鎖に化学的に結合する合成手法であり、多段階合成法である A タイプや、予め構築した配位部位に金属を後入れする B タイプと比べるとより集約的な合成経路と考えられる。このタイプでは、アミノ酸部位の構築や側鎖へ配位子を導入するための試行錯誤を伴う合成ルート設計を行う必要が無く、また金属錯体とアミノ酸の結合方法さえ確立してしまえば望みの金属元素を有する錯体を自由に導入できるため、先の二つの手法と比べてコンビナトリアルケミストリーやペプチド化による機能創出が容易となるため魅力的である。ここで成否の鍵を握るのは、金属錯体とアミノ酸とを結合 (conjugation) する反応の選択であり、結合反応点として配位子上に導入する官能基の選択など考慮を要する点が多い。そのため方法論的なメリットは大きいものの、安定な有機金属錯体の開発、conjugation 反応の開発が必須であり、前述の A 法および B 法と比べて研究が遅れていた。1990 年代後半から 2000 年代前半にかけて Jackson<sup>3)</sup> および van Koten<sup>4)</sup> らは、クロスカップリングを利用することによって高効率かつ選択的なアミノ酸-金属錯体の結合が可能であることを報告し、適当な conjugation 反応を選択することによって、予め合成した金属錯体とアミノ酸を自由に conjugation して、所望の金属を有するメタル化アミノ酸を合成できることを示した。我々は 2000 年に C 法の優位性に着目したメタル化アミノ酸合成に関する研究に着手し、CN-メタラサイクル錯体とグルタミン酸の縮合、および NCN-ピンスー錯体とノルバリンのクロスカップリングによって新しいタイプのメタル化アミノ酸の合成に成功した。また、これらが金属錯体の構造や機能、不斉を損なう事無く N,C-官能基化やメタル化ペプチドへの展開が可能なること、さらに合成したメタル化アミノ酸/ペプチドが自己組織化、発光、触媒等の様々な物性・機能を示し、機能性材料の魅力ある素材分子となることを見出したので、それらの詳細について紹介したい<sup>5)</sup>。

## 2. Pd および Pt 結合型グルタミン酸<sup>6)</sup>

我々が研究を開始した当時に報告されていたメタル化アミノ酸の多くが、酸、塩基、加熱、光等によって金属錯体部位が分解を受ける、あるいは有機溶媒への溶解性に乏しい等、機能材料への展開を行う上で障害となる未解決の問題を抱えていた。また、材料研究では、物性・機能探索にマルチグラムスケールのまとまった量が必要となることを考えると、可能な限り短い合成経路で大量合成が可能であり、かつ多様な金属種の導入が可能なるメタル化アミノ酸を新たに開発する必要があった。そこで、我々はアミノ酸部位として天然由来のグルタミン酸を、錯体部分として安定性、可溶性、金属可換性に優れたベンズアルジミン錯体を結合したメタル化アミノ酸を考案した。開発した金属結合型グルタミン酸は、ベンズアルジミン配位子から 2 段階で合成可能であり、3 L ナスプラスコスケールから合成を出発して、10 g のメタル化アミノ酸を 2 日で合成することができる。また、これらの金属結合型グルタミン酸は酸や光、加熱条件に安定であり、ペプチド合成や超分子ゲル化条件で金属が流出しないことが確認された。そこで、我々はこれらのグルタミン酸由来のメタル化アミノ酸の中から特に安定性に優れた Pt および Pd 結合型グルタミン酸を用いて自己組織化による金属集積型材料の開発に取り組んだ。

N,C-末端に種々の置換基を有する Pt 結合型グルタミン酸を合成し、その自己組織化能について詳細な検討を行ったところ図 2 に示す長鎖アルキル基を有する Pt 結合型グルタミン酸の有機溶媒溶液が、冷却-加熱操作によって可逆的にゾルーゲル変換を起こすことを見出した (図 2)。高倍率光学顕微鏡および SEM 観察から生成したゲルはアミノ酸の自己組織化によって生成する超分子ゲルに特有のミクロンサイズの繊維状構造体であることが示された<sup>6b)</sup>。ゲルの IR スペクトルを測定したところ、1627.8 および 3295.5  $\text{cm}^{-1}$  にそれぞれ溶液状態と比べて低波数シフトした C=O (amide I バンド) および N-H 伸縮振動が観察されたことか

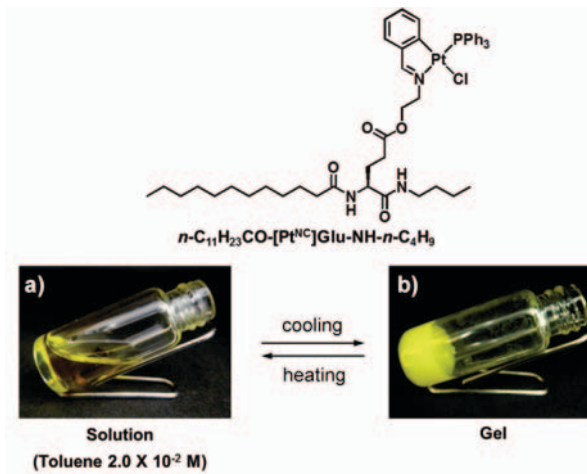


図 2. 長鎖アルキル基を有する Pt 結合型グルタミン酸およびそのトルエン溶液の超分子ゲル化

ら、ゲル繊維中における水素結合の形成が示唆された。また特徴的な  $1678.0$  および  $1527.5 \text{ cm}^{-1}$  (amide II バンド) から Pt-結合型グルタミン酸は分子間水素結合によってアンチパラレル $\beta$ -シート型の超分子構造体を形成していることが示唆された。我々はさらに精密な構造情報を得る目的で、cryo-TEM を用いて超分子ゲル繊維の構造解析に取り組んだ。その結果、図 3a 図に示す様な  $2.1 \text{ nm}$  間隔の縞状構造を示す TEM 像を得た。この TEM 像は試料面より下方に焦点を合わせた画像であるため濃いラインは重元素である Pt を含有する領域と考えられる。さらにゲル繊維の制限視野での回折像測定を行ったところ、図 3b 図に示す回折像を得る事に成功した。この回折像から集合様式の対称性、単位格子サイズ等の結晶学的パラメータを算出することによって、超分子ゲル繊維中における精密な自己組織化様式を決定することができた(図 4a)。図中の黄球は Pt 核を表すが、これがアルキル鎖で区切られるようにして交互に列をなして整列し、多層構造を形成している様子がよく分かる。この時、Pt 核を含む層間の距離  $2.18 \text{ nm}$  は図 3a 中の濃い縞模様の間隔  $2.1 \text{ nm}$  と良い一致を示している。超分子構造体中の自己組織化様式を模式的に示した図 4b からは、IR スペクトルから予想された様に分子間水素結合 ( $0.47 \text{ nm}$ ) を介したアンチパラレル型の $\beta$ -シート集合体の形成が確認された。以上の結果より、ベンズアルジミン配位子を有する Pt 錯体を結合したグルタミン酸が有機溶媒中で自己組織化能を示し、超分子ゲルを与えるゲル化剤として作用する事、さらに、メタル化アミノ酸の超分子ゲル化を利用することによって、自己組織化構造をテンプレートとした金属の集積様式制御が可能であり、ナノサイズオーダーで構造の制御された Pt 集積型分子材料の創出が可能である事が明らかとなった。また、本研究により、メタル化アミノ酸を用いた機能性材料の開発では、種々の化学変換や熱(超音波)等の物理刺激に対して安定なメタル化アミノ酸の開発が鍵となることが示された。

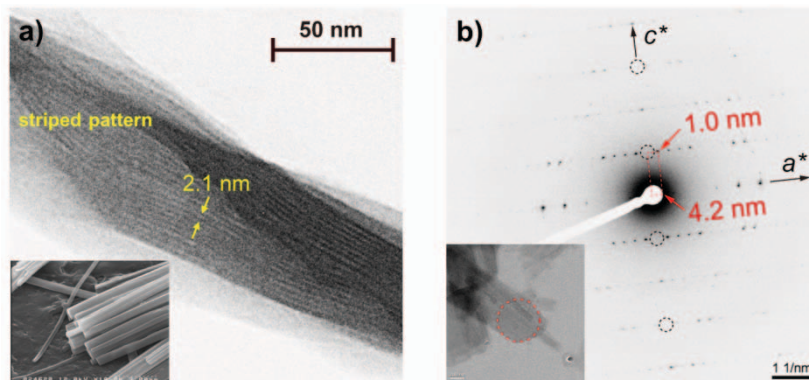


図 3. Pt 結合型グルタミン酸ゲル繊維の cryo-TEM 像および制限視野回折像

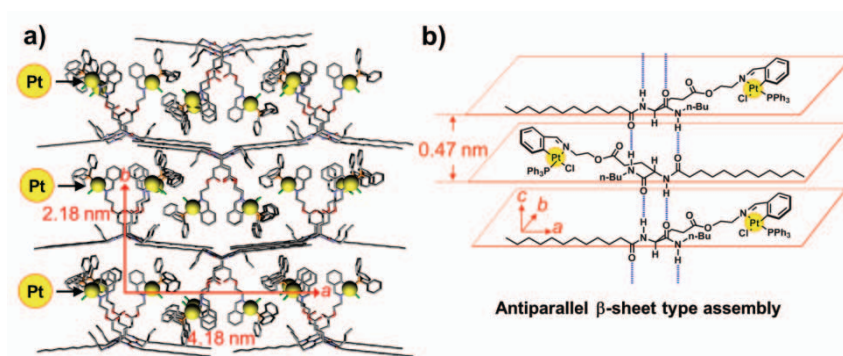


図 4. 超分子構造体中における Pt グルタミン酸超分子の集積様式

続いて、我々はベンズアルジミン錯体結合型グルタミン酸を連結する事によって、メタル化ペプチドを合成し、それらの自己組織化によってさらに高度な金属集積制御が行えると考え、金属結合型グルタミン酸ペプチドの合成に取り組んだ。反応条件等の合成法の詳細は省くが、保護基や縮合剤を工夫した結果、液相法を用いて良好な収率で図 5 に示す Pd および Pt 結合型グルタミン酸ペプチドを合成する事に成功した。尚、我々が調べた限りは現在までに文献既知のメタル化ペプチドにおいて Pd 錯体結合型のペプチドは上記のみである<sup>8)</sup>。さらに、我々はこれら Pd, Pt 結合型ペプチドの自己組織化による金属集積制御を試みた。その結果、溶液状態のこれらのペプチドに超音波を照射すると、超音波によって発生するマイクロキャビテーションによって分子内水素結合に由来する self-lock 型構造が破壊され、分子間水素結合の形成を駆動力とする自己組織化が進行し超分子ゲルが得られることを見出した<sup>6a)</sup>。得られた Pd 結合型ジペプチド超分子ゲル繊維の SEM 分析および放射光 (SPring-8) を用いる広角 X 線散乱 (WAXS) および小角 X 線散乱 (SAXS) 解析を行ったところ、超分子ゲル繊維中において Pd 結合型ジペプチドが分子間水素結合を介した平行配向の  $\beta$ -シート会合を形成し、これらがさらに階層的に集積化して  $\beta$ -シート多層積層体 (ラメラ構造体) を形成していることが明らかとなった (図 6)。この結果は、前述の Pt 結合型グルタミン酸の自己組織化様式がアンチ平行配向であったことと一見矛盾する様であるが、得られた超分子構造を良く観察すると、Fmoc 保護基が層間をつなぐように  $\pi$ -スタッキングした構造が見られ、これらが平行配向を安定化する要因になっていると考えている。尚、この平行配向の会合は金属集積に関して大きなメリットとなる。つまり、N,C-末端の配向が一致しているため、Pd, Pt 異種金属ジペプチドゲル中では、N-あるいは C-末端のどちらか一方に同種の金属が配列した超構造体を与え、その結果、Pd と Pt の同種金属が同列に配向制御された様な異種金属集積が達成されることとなる。以上の結果より、Pd および Pt アルジミン錯体の結合したグルタミン酸が種々の化学変換や物理条件に対して高い安定性を示し、超音波ゲル化によ

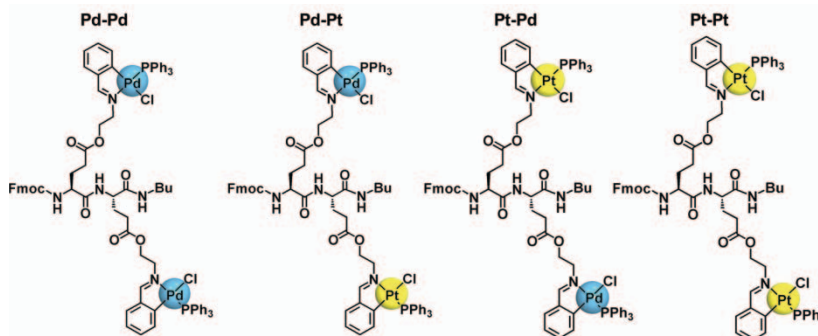


図 5. Pd,Pt 結合型グルタミン酸ジペプチド

て金属集積様式が精密に制御された超分子集合体を与えることが示された. 本研究は機能性金属錯体をアミノ酸やペプチドの自己組織化能を利用して集積制御した初めての例であり, メタル化アミノ酸やメタル化ペプチドの自己組織化が金属集積型機能性材料構築のための極めて有効な手段となり得ることを示している.

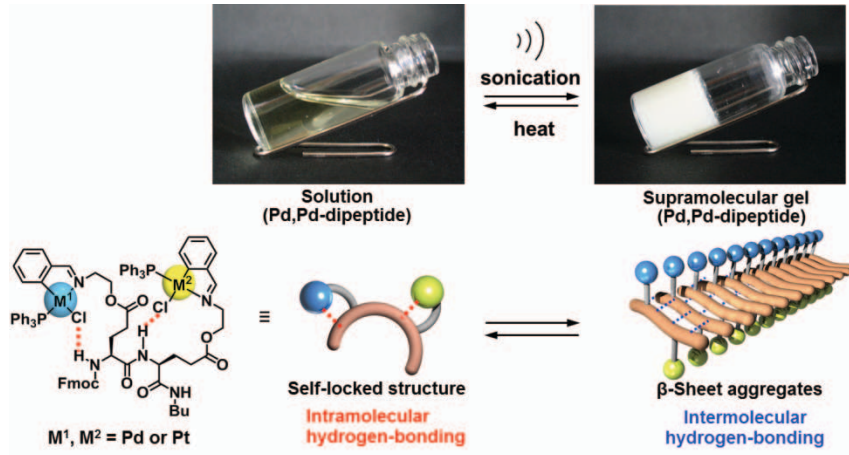


図 6. Pd,Pt 結合型グルタミン酸ジペプチドの超音波ゲル化

### 3. Pd および Pt 結合型ノルバリン<sup>7)</sup>

現在, 我々はメタル化アミノ酸およびペプチドの自己組織化能と金属錯体部分の示す触媒機能を利用して新しい超分子触媒系の創出に取り組んでいる. 一般に化学的・物理的安定性に優れた錯体は触媒活性が低い傾向にある, そこで我々は安定性と触媒活性の双方にすぐれたピンサー型錯体に着目して, 図 7 に示す様な NCN-ピンサー錯体結合型ノルバリンを開発した. ここでノルバリンの側鎖に結合しているジピリジルベンゼン (dpb) 配位子を有する NCN-ピンサー錯体は, 金属-炭素結合を左右からジピリジル配位子の窒素で挟み込んで固定化することによって極めて安定なダブルシクロメタル化構造を形成する一方で, 中

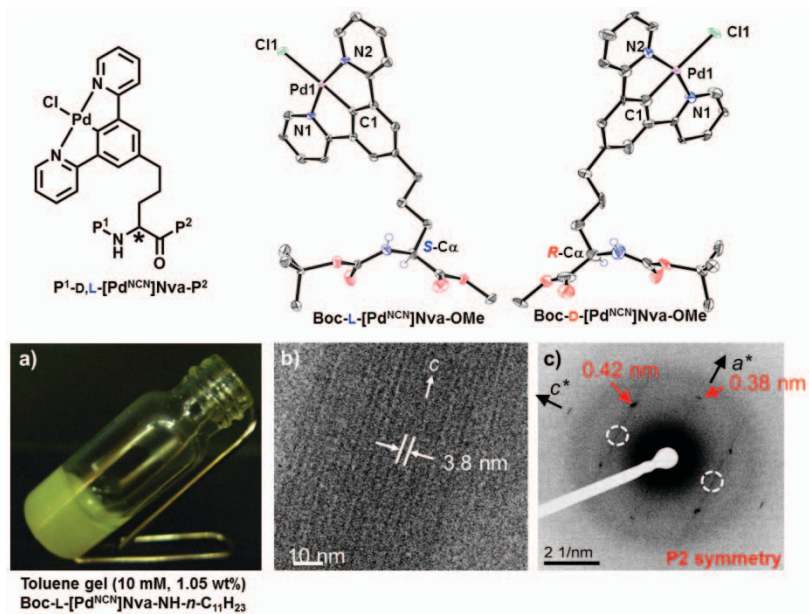


図 7. NCN-ピンサーPd 結合型ノルバリンおよび X 線構造: a)トルエンゲル, b)ゲル繊維 TEM 像および c)制限視野電子線回折像

心金属上にハロゲン等の置換活性の高い配位子が結合した「プレ活性点」を有している。まさに、触媒やセンサーへの応用に適した構造モチーフであると考えている。合成法の詳細は省くが、図 7 に示す NCN-ピンサーPd 錯体結合型ノルバリンは鈴木-宮浦カップリングを利用することによりマルチグラムスケールでの合成が可能であり、*N*-*C*-末端の化学変換に対しても高い自由度を示す。尚、カップリング反応や各種の変換反応における Pd の脱離副生物は一切観察されなかった。また、キラル HPLC 分析によって、金属導入および各種変換反応の前後においてアミノ酸部位の光学純度に変化が無いことを確認している他、SPring-8 (BL38B1, BL40XU) での単結晶 X 線構造解析によって絶対配置の決定を行い(図 7), キラル HPLC 分析の結果に間違いがないことを確認した。現在までに報告されているメタル化アミノ酸についてキラル HPLC により光学純度の確認が行われているものはわずかに 2 例であり、さらに X 線構造解析によって絶対配置を含む分子構造が確認されているものは 4 例に過ぎないが、これらは全てメタロセン、アレーン錯体結合型アミノ酸である。一般にメタル化アミノ酸は結晶性が悪く、単結晶 X 線構造に必要な大きさの結晶を得ることが困難である。これは超分子ゲル中でも観察されたアミドの分子間水素結合によって、異方性の高い準安定な分子集合体の生成が速度論的に有利であるためと考えられる。Pd 結合型ノルバリンの自己組織化能について研究する目的で上記の *C*-末端を *n*-ウンデシルアミド化した *C*-アルキル Pd 結合型ノルバリンの自己組織化能について検討を行ったところ、芳香族性有機溶媒に対してゲル化能を示し、溶液を加熱冷却することによって超分子ゲルを与えることを見出した(図 7a)<sup>7a)</sup>。ゲル繊維を cryo-TEM で観察したところ、前項で紹介した Pt 結合型グルタミン酸と同様の縞状構造が見られ(図 7b), 自己組織化による Pt 錯体の集積制御が達成されていることが示唆された。cryo-TEM の制限視野回折像(図 7c)と SPring-8 (BL19B2, BL40B2) における放射光 WAXS および SAXS 測定等の各種スペクトルの分析から、ゲル中における分子集積様式は図 8a の様であると考えている。この構造からは PdCl(dpb)錯体ユニットがアルキル鎖の集積した領域に挟まれるように交互に集積化している様子がよく分かる。図 8b および c は超分子集合体を *C* 軸方向から見たものであるが、分子間水素結合を介してアンチパラレル配向の会合様式となっており、このことによって PdCl(dpb) 錯体部位が一つ飛びに $\pi$ -スタッキングしながら *c* 軸方向にカラムを作るようにして集積化していることが明らかとなった。このようなスタッキングの存在は UV スペクトル中における芳香族領域の顕著な淡色効果をよく説明している。

NCN-ピンサーPd 錯体結合型ノルバリンが各種の反応条件や物理刺激に対して高い安定性を示し、アミノ酸部位に本来備わっている自己組織化機能を利用することによって、金属集積様式の制御された超分

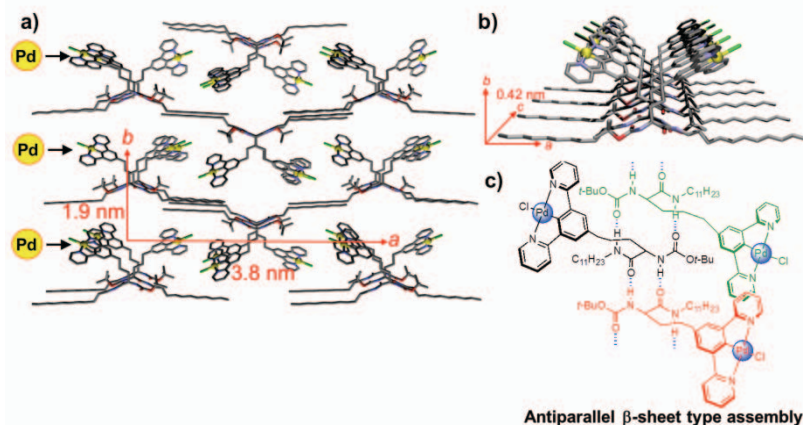


図 8. NCN-ピンサーPd 結合型ノルバリン超分子中ゲル中における分子会合様式

子集合体を合成できることを明らかにした。我々は、さらに一歩進んで集積制御された金属錯体の機能探索を行った。メタル化アミノ酸超分子ゲルは金属が高密度に接近して集積化された表面を持ち、また微細な繊維状の超分子集合体が網目状に絡まりあった構造は、無数の細孔を有する表面積の大きな構造体となっている。この様な構造はメソポーラスシリカに代表されるような不均一系固体触媒と共通点が多い。我々は超分子ゲルが水に対して不溶であることに着目し、メタル化アミノ酸超分子ゲルを触媒とする水系での反応について検討を行った。その結果、下図 9 に示す様に C-アルキル化 Pd 結合型ノルバリンのトルエンゲルから調製した乾燥ゲルが水中で不均一系触媒として作用し、アルキン酸類の環化反応が効率良く進行して、対応するラクトンが得られることを見出した<sup>7b)</sup>。用いたゲル触媒は反応後にろ過回収-再利用する事が可能であり、収率の大幅な低下なしに 3 回程度の利用が可能である。本反応はアミノ酸部位を持たない PdCl(dpb)錯体を触媒として用いた時と比べて 2-5 倍程度の速度向上が見られたが、これは有機基質の水溶液中からゲル中への取込みによる濃縮効果によるものと考えている。実際に図 9 に見られるように、水溶液中のゲルに基質を加えると、速やかに基質を吸収してゲルが膨潤することがわかる。また、本反応では、通常この種の Pd 触媒による反応に見られるような Pd ブラックの生成が全く観察されなかった。このことは、ICP-MS 分析によって反応終了後の水層中に Pd がほとんど含まれていないこと、また反応中および終了後のゲル触媒の XANES 分析 (X-ray Absorption Near Edge Structure) (SPring-8, BL14B2) からは 2 価パラジウムのみが検出されたことから考えると、Pd(0)を経由しない機構で反応が進行している可能性が示唆される。

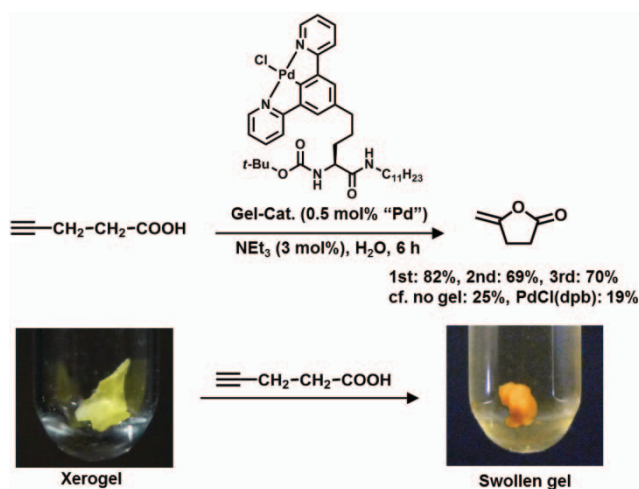


図 9. 水溶液中での超分子ゲル触媒反応

以上のように我々は化学的、物理的な安定性と高い触媒活性を併せ持つ NCN-ピンサー錯体とノルバリンから得られるメタル化アミノ酸が高機能な超分子触媒となることを明らかとした。このことは、アミノ酸の特質たる自己組織化と有機金属錯体の触媒機能の創発現象によって新しいタイプの超分子機能性材料の創出が可能であることを示しており、上記の触媒機能以外にも優れた光・電子機能を有する PtCl(dpb)結合型のノルバリン超分子が 96%という高い量子収量で 5  $\mu\text{s}$  を超える発光機能を示すことや、ポリアセチレンに迫る高い電気伝導度を示すことが最近の我々の研究から明らかになりつつある。



#### 4. おわりに

メタル化アミノ酸研究は80年以上の歴史がある古い分野である。しかし、単離され、その構造や物性あるいは化学的性質が明らかにされているものは驚くほど少ない。さらに機能性分子としての利用はメタロセン結合型メタル化アミノ酸を除くと、まだほとんど手付かずの状態である。高度な機能を持つ金属錯体が結合したメタル化アミノ酸の開発やその応用は2000年代に入ってからようやく始まったばかりである。アミノ酸やペプチドは生体の構造材料として抜群の堅牢性と構造バリエーションを有する。構造制御によって機能を生み出そうとする際に、DNAの様な情報伝達分子あるいは糖鎖や脂質の様な他の生体分子とは比較にならないほど、材料利用における優位性は高いと考えている。現在、さらに大きなポリメタル化ペプチドや蛋白質への組み込みによる人工酵素の開発等に取り組んでいるが、新しいタイプの **Bioorganometallic Material** の創出、細胞内での有機金属触媒反応など将来の応用への確かな手ごたえを感じワクワクしながら研究を進めている。

最後に、本研究を進めるにあたって実際に実験を行なってくれた学生諸氏ならびに大阪大学在籍時にご指導頂いた直田教授に深謝申し上げたい。また、共同研究者である SPring-8 の安田伸宏博士ならびに TEM 測定を頂いた京都大学化学研究所の小川哲也博士、倉田博基教授に心からの感謝を申し上げたい。尚、本研究は科研費、新学術領域「配位プログラミング」、JST さきがけ「構造制御と機能」、CREST「元素戦略を基軸とする物質・材料の革新的機能の創出」ならびに「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と生産物活用のための基盤技術の創出」によって進められた。

#### 参考文献

- 1) K. Schlögl, *Monatsh. Chem.* **1957**, *88*, 601–621.
- 2) N. Metzler-Nolte, M. Salmain in, *Ferrocenes: Ligand, Materials and Biomolecules*, (Ed: P. Stepnicka), John Wiley & Sons, West Sussex, **2008**, pp. 499–639.
- 3) a) R. F. W. Jackson, D. Tuner, M. H. Block, *Synlett* **1996**, 862–864; b) I. Rilatt, L. Caggiano, R. F. W. Jackson, *Synlett* **2005**, *18*, 2701–2719 and see references cited therein.
- 4) a) G. Guillena, G. Rodríguez, M. Albrecht, G. van Koten, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 5368–5376; b) G. Guillena, C. A. Kruithof, M. A. Casado, M. R. Egmond, G. van Koten, *J. Organomet. Chem.* **2003**, *668*, 3–7.
- 5) a) 高谷 光, 磯崎勝弘, 直田 健, “バイオナノプロセス—溶液中でナノ構造を作るウェット・テクノロジーの薦め—”, 山下一郎, 芝 清隆 監修, シーエムシー出版, 第 14 章, **2008**, 129–146; b) 高谷 光, *Organometallic News*, **2009**, 38–43; c) 高谷 光, 磯崎勝弘, 中村正治, *触媒*, **2009**, *51*, 588–593; d) 高谷 光, “金属と分子集合—最新技術と応用—”, 松尾 豊 監修, シーエムシー出版, 第 2 章, **2010**, 25–41.
- 6) a) K. Isozaki, H. Takaya, N. Naota, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2855–2857. b) K. Isozaki, K. Ogata, Y. Haga, D. Sasano, T. Ogawa, H. Kurata, M. Nakamura, T. Naota, H. Takaya, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3936–3938
- 7) a) K. Ogata, D. Sasano, T. Yokoi, K. Isozaki, H. Seike, N. Yasuda, T. Ogawa, H. Kurata, H. Takaya, M. Nakamura, *Chem. Lett.* **2012**, *14*, 194–196; b) K. Ogata, D. Sasano, T. Yokoi, K. Isozaki, H. Seike, N. Yasuda, T. Ogawa, H. Kurata, H. Takaya, M. Nakamura, *Chem. Lett.* **2012**, *14*, 498–500; c) K. Ogata, D. Sasano, T. Yokoi, K. Isozaki, H. Seike, Y. Yoshida, T. Takenaka, N. Yasuda, T. Ogawa, H. Kurata, H.

Takaya, M. Nakamura, *Chem. Eur. J.* **2013**, *in press*.

- 8) 従来までに報告されたメタル化ペプチドの代表例: a) K. Tanaka, K. Shigenori, M. Shionoya, *Chem. Commun.* **1999**, 2475–2476; b) N. Aubert, V. Troiani, M. Gross, N. Solladié, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8405–8408; c) K. Kitagawa, T. Morita, S. Kimura, *Langmuir*, **2005**, *21*, 10624–10631; d) T. Hasobe, K. Saito, P. V. Kamat, V. Troiani, H. Qiu, N. Solladié, K. S. Kim, J. K. Park, D. Kim, F. D'Souza, S. Fukuzumi, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 4160–4170; e) F. Fujimura, S. Kimura, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 793–796; f) T. Yamamura, S. Suzuki, T. Taguchi, A. Onoda, T. Kamachi, I. Okura, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11719–11726; g) A. Ojida, S. Fujishima, K. Honda, H. Nonaka, S. Uchinomiya, I. Hamachi, *Chem. Asian J.* **2010**, *5*, 877–886; h) P. Vairaprakash, H. Ueki, K. Tashiro, O. M. Yaghi, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 759–761; i) A. M. Fracaroli, K. Tashiro, O. M. Yaghi, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 6437–6439.

## 研究紹介

## 細胞折り紙

～MEMS と折り紙の折り畳み技術を利用した

細胞三次元立体構造の構築～



栗林

東京大学 生産技術研究所 (現:北海道大学)

栗林(繁富)香織

(kaorik@ist.hokudai.ac.jp)

東京大学 生産技術研究所

竹内昌治

(takeuchi@iis.u-tokyo.ac.jp)



竹内

## はじめに

竹内研究室は、2001年9月に東京大学生産技術研究所でスタートしました。私(栗林)が研究室に加わった2004年には、メンバーが6人ほどでしたが、一昨年10周年を迎えた際には、60人ほどになりました。研究室の合い言葉は、「Think Hybrid」。いろいろな分野の知見をゴチャゴチャに混ぜ新しいモノを創ろう!という考えです。研究室には、著者らのバックグラウンドである機械工学に加え、生物物理、超分子化学、ソフトマター物理、材料科学、移植医療、細胞生物学、遺伝子学、そして、メディアアートなど多彩な分野をバックグラウンドとする研究者がいます。それぞれの専門を活かし、そして互いの知識を融合させ、これまで、分子モーターや膜タンパク質、神経インターフェース、創薬、埋め込みセンサ、再生医療などのさまざまな分野において、MEMS (Micro-Electro-Mechanical Systems) の微細加工技術を基に、新しい切り口の展開を目指し研究を行ってきました。MEMS技術を用いて作製されるマイクロデバイスの微小な世界では、体積に対して表面積の割合が多くなるので、化学反応が高速に進めることができます。さらに、マイクロサイズの小さな容器や流路を用いることにより、様々な薬剤を使った実験を少量で効率的に行うことができるという利点があります。また、MEMS技術やマイクロ流体デバイスでは微細な加工や配置を得意とすることから、柔らかく変形しやすくハンドリングしづらい細胞を自在に扱うことが可能であることが分かってきました。

近年、細胞を立体的に培養し、3次元的な組織を人工的に構築する技術は、基礎研究のみならず、新薬の開発や次世代再生医療などの分野で重要とされています。そこで、本研究室では、MEMS技術やマイクロ流体デバイスを用いて、立体組織構造の作製方法として、細胞が付着または内包されたマイクロビーズ[1] (図 1a) やファイバー[2] (図 1b)、あるいは接着細胞を培養したマイクロプレート[3, 4] (図 1c) を組み立てる方法を検討してきました。これらの方法では、細胞をあたかもネジやバネ、歯車といった規格化された部品のように加工します。それらの部品を用いて、さらに厚みをもった3次元組織構造を機械組み立てのように精密かつ高速に構築することを目指しています (図 1d)。

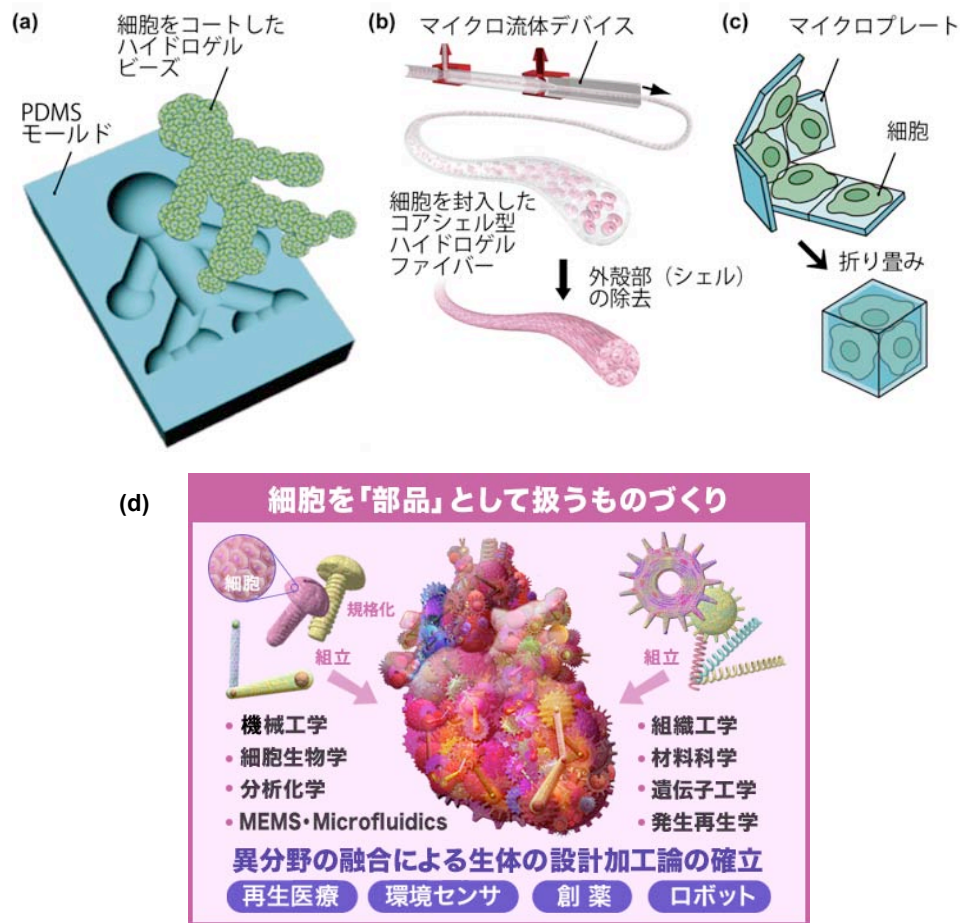


図1 細胞の(a)マイクロビーズ、(b)ファイバー、(c)マイクロプレートを用いた立体構造の構築法  
(d) 細胞で作られた「部品」を組み合わせ人工的な組織を構築

本研究紹介では、その中でもマイクロプレートと折り畳み技術を組み合わせた細胞の立体組織構造の構築する技術に関して紹介したいと思います。マイクロプレート上に培養された細胞が折り紙のように折り畳み、立体構造を構築します。この技術を、「細胞折り紙」と名付けました。

### 折り紙の折り畳み技術の応用

折り紙の折り畳み技術は、近年、宇宙で展開する太陽パネルやアンテナ[5, 6]や小さく折り畳まれ血管内で展開することができるステントという医療器具[7]、さらには DNA を用いナノサイズの構造を作製する技術[8, 9]などさまざまな分野に応用されています。折り畳み技術は、構造体を簡単に小さく折り畳み、展開できるという利点があります。宇宙で用いる太陽パネルやアンテナの場合は、折りパターンを利用することで、パネルやアンテナをロケット内の限られたスペースに収納できるように小さく折り畳むことができ、宇宙空間で簡単に展開できるようになっています。ステントの場合も同様に、折りパターンにより円筒形のステントは小さく折り畳むことができるため、カテーテルを用いて血管に挿入することができ、病変部分で簡単に開くことができます。

一方、今回紹介する「細胞折り紙」では、折り紙の折り畳み技術の『折ることで、簡単に平面から立体構造を作ることができる』という特長を利用しています。

### 細胞の牽引力を用いた折り畳み

マイクロサイズの立体構造を折る際には、小さな構造を折り畳むための駆動源が重要になります。従来のマイクロサイズの構造を折り畳む技術では、熱場、電場、磁場、光などを用いてマイクロサイズのプレートを立ち上げることで、小さな立体構造を組み立ててきました[10]。しかしながら、これまでの駆動源では、細胞にダメージを与えずにマイクロサイズの細胞の立体構造を作製することは困難でした。そこで、我々は、生体に適応な折り畳みの駆動力として、細胞自身が持っている牽引力を用いることを考えました。細胞には、形状を維持したり体内を移動するために、細胞の内部には縮まろうとする牽引力が働いています。図 2(a)のように、隣り合ったプレートに細胞がまたがるように培養し、細胞がプレート上に広がった時点で、プレートを下のガラス基板から剥がすと、細胞の牽引力により、プレートは引っぱり上げられ折り畳まれることが分かりました。つまり、平面（2次元）に培養されていた細胞が立体構造（3次元）を作るのです。プレートの形や展開図を変えることで、様々な立体構造を作製することができます（図 2b）。

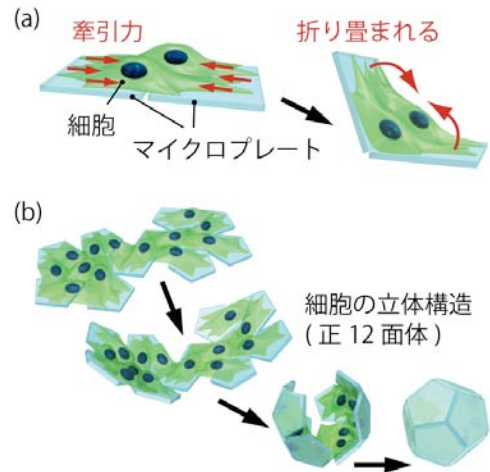


図 2 (a) 細胞折り紙のしくみ。細胞をマイクロプレート上に培養し、細胞の内部の縮まろうとする力(牽引力)により、プレートを持ち上げ、折り畳む。(b) プレートの展開図を工夫することにより、さまざまな立体構造を作製することが可能、正 12 面体の例。

### 折り畳み技術を用いた細胞の立体構造の作製

図 3 は、MEMS の微細加工技術により作製されたマイクロプレート[4]に細胞を培養し、実際に細胞の牽引力により、マイクロプレートを折り畳んだ様子です（細胞折り紙動画：<http://www.youtube.com/watch?v=xhGYwDwUIY>）。

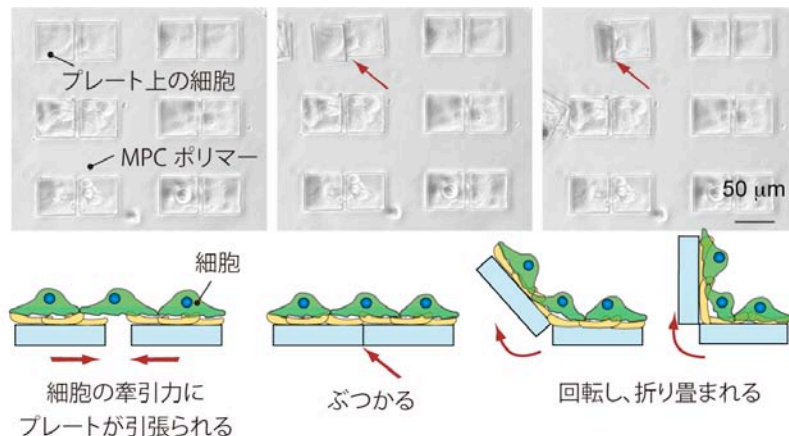


図 3 2つの隣接するプレートが細胞の牽引力により折り畳まれる様子。

プレート上に細胞が選択的に培養されるように、細胞接着因子であるフィブロネクチン (FN) をプレート上にコートし、プレート以外の部分には、細胞・タンパク質の接着を阻害する MPC (2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン) ポリマー[11]がコートしてあります。プレートは、生体適応性の材料であるパリレン (パラキシリレン系ポリマー) を使用しました。パリレンは、生体適応材料という利点以外に、透明であるため、細胞培養後に観察がしやすい、微細加工をしやすいなどの利点があります。また、プレートの下にゼラチンを塗り、プレートがガラス基板から剥がれやすくしました。

マイクロプレートの形状と配置を変えることにより、細胞からなる立方体、正十二面体を作製することも可能です (図 4)。さらに、プレートを平行四辺形にしてひも状に連ねて端からプレートが剥がれることでらせん状に巻上がり円筒の構造を作製することができます (図 4)。筒の直径は、プレートの大きさや形状を変えることで簡単に変えることができます。これらの立体構造では、マイクロプレートを基板から剥がすトリガーとしてマイクロマニピュレーターを用いてプレートを突いて刺激をする必要があります、そのため、一つずつの立体構造の作製となります。

そこで、一度に大量の立体構造帯を作製できるように、隣接するプレート間に接合部をつけ、マイクロプレート下のゼラチン量を増やすことによって、ゼラチンが 36°C (細胞培養のインキュベータ環境下) で溶解プレートがガラス基板から剥がれ易くすると、細胞の牽引力で、自動的に数千もの立体構造を同時に折り畳むことができました (図 5a)。作製された細胞の立体構造では、細胞はプレートに包まれていることから、細胞にダメージなく、立体構造を移動することが可能です。図 5(b)は、マニピュレーターを用いて、作製された立体構造を並べたものです。同様に、立体構造を積み重ねることも簡単に行うことができます。よって、細胞の立体構造を「部品」として扱い、組み立てることで、より大きな構造体を作製することも可能です。作製された細胞の立体構造では、その後少なくとも 7 日間は構造内で生きていたことが確認されました。今回用いた細胞は、繊維芽細胞 (NIH/3T3)、ウシや人の血管内皮細胞等です。

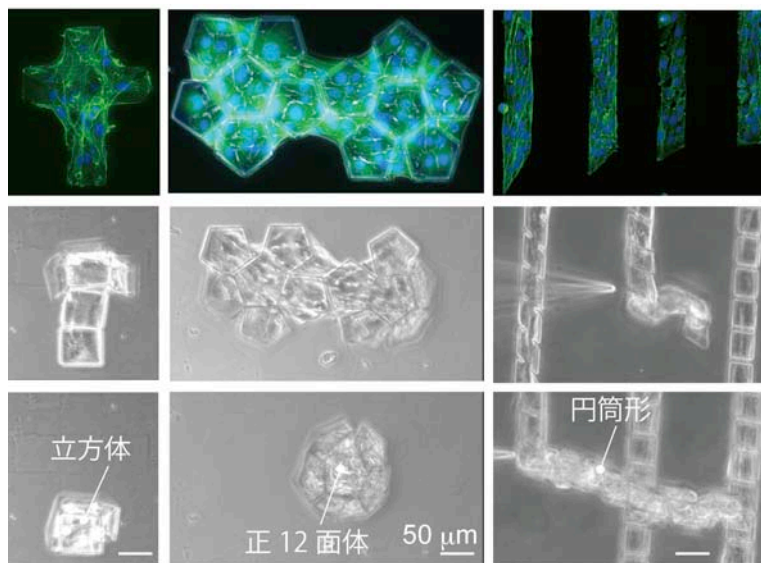


図 4 細胞折り紙により、立方体、正 12 面体、円筒形の立体構造を作製した様子。折り畳み時間は 1 分以内。

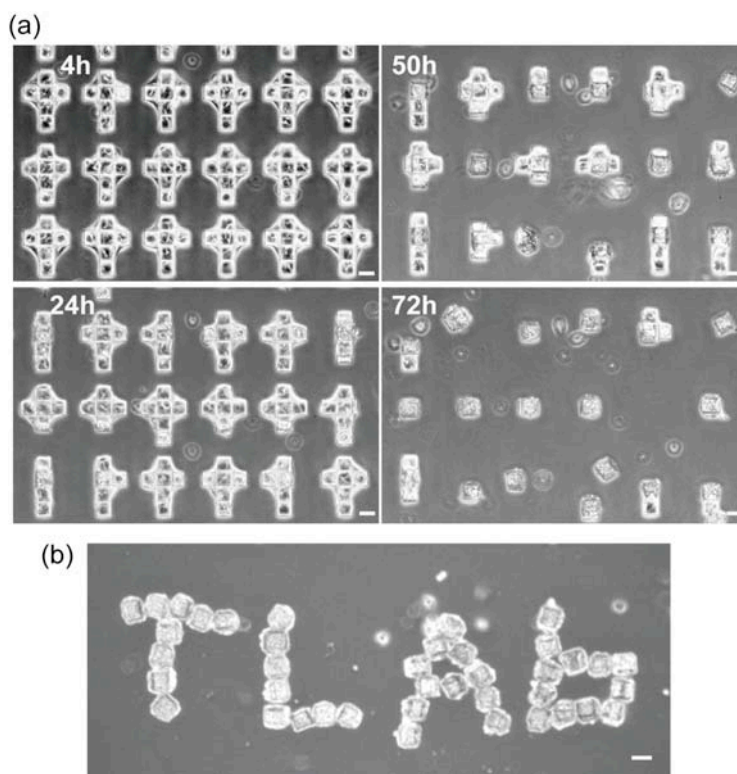


図5 (a) 大量の立体構造 (1200 個/cm<sup>2</sup>) が細胞の牽引力により自動的に折り畳まれる様子。72 時間以内に約 84%の立体構造を折り畳むことが可能。(b)折り畳んだ後に、立体構造をマイクロマニピュレーターを用いて組み立てた様子。

## おわりに

今回紹介した細胞折り紙の技術は、日本の伝統の折り紙の折畳み技術、マイクロ・ナノの微細加工技術と細胞組織工学を融合することで初めて可能になった試みです。異分野の知識を混ぜ合わせてきた技術です。細胞折り紙の技術を用いることで、管や袋構造など、体にあるような中空の細胞組織を高速で作る方法に応用が可能であり、今後、新薬の開発や次世代の再生医療分野、細胞を使った医療器具への応用が期待できると思っています。さらに、細胞折り紙技術は、一つ一つの細胞を自在に折り曲げ、細胞の形を立体的に制御することが可能であり、細胞の変形に応じた細胞の状態と機能を一細胞レベルで調べることができると考えています。細胞の形は体内の細胞の状態や機能と密接に関わっており、これらの関係を解明する新たな細胞生物学的な実験が行える可能性があると考えています。

最後に、今回紹介させていただいた細胞折り紙の研究は、JST-ERATO 竹内バイオ融合プロジェクト、およびMEXT 新学術領域 超高速バイオアセンブラ (23106008) のご支援をもとに行っているものです。ここに感謝の意を表します。

## 参考文献

1. Matsunaga YT, Morimoto Y and Takeuchi S (2011) Molding cell beads for rapid construction of macroscopic 3D tissue architecture, *Advanced Materials*, vol. 23, H90-94.
2. Onoe H, Okitsu T, Ito A, Kato-Negishi M, Gojo R, Kiriya D, Sato K, Mirua S, Iwanaga S,

- Kuribayashi-Shigetomi K, Matsunaga Y, Shimoyama Y, and Takeuchi S (2013) Metre-long cell-laden microfibres exhibit tissue morphologies and functions, *Nature Materials*, vol.2, 584–590.
3. Onoe H, and Takeuchi S (2008) Microfabricated mobile microplates for handling single adherent cells, *J Micromech Microeng*, vol. 18. 095003 (7pp).
  4. Kuribayashi-Shigetomi K, Onoe H, and Takeuchi S (2012) Cell origami: Self-folding of three-dimensional cell-laden microstructures driven by cell traction force, *PLoS ONE*, vol. 7(12), e51085.
  5. Miura K (1993) Concepts of deployable space structures. *Int J Space Struct*. 8: 3-16.
  6. Guest SD and Pellegrino S (1996) The folding of triangulated cylinders .3. Experiments. *J Appl Mech* 63: 77-83 .
  7. Kuribayashi K, Tsuchiya K, You Z, Tomus D, Umemoto M, et al. (2006) Self-deployable origami stent grafts as a biomedical application of Ni-rich TiNi shape memory alloy foil. *Mater Sci Eng A* 419: 131-137.
  8. Rothmund PWK (2006) Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature* 440: 297-302.
  9. Han DR, Pal S, Nangreave J, Deng ZT, Liu Y and et al. (2011) DNA Origami with complex curvatures in three-dimensional space. *Science* 332: 342-346.
  10. Leong TG, Zarafshar AM and Gracias DH (2010) Three-dimensional fabrication at small size scales. *Small* 6: 792-806.
  11. Ishihara K, Iwasaki Y, Ebihara S, Shindo Y and Nakabayashi N (2000) Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane surface for obtaining blood cell adhesion resistance. *Colloids Surf, B* 18: 325-335.



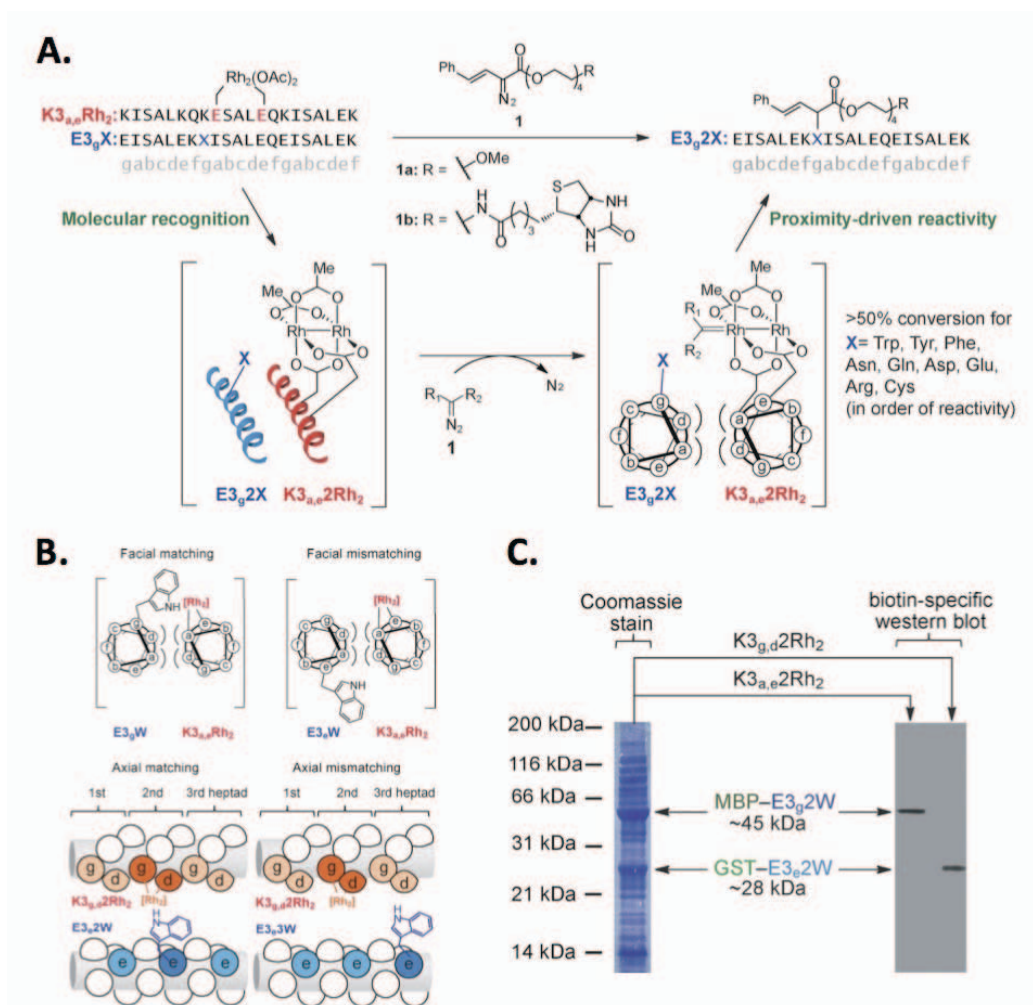
## 気になった論文

林 隆宏 (はやし たかひろ)  
京都大学工学研究科 浜地研究室 博士研究員  
thayashi@sbchem.kyoto-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レター“気になった論文”への執筆機会を与えてくださりまして、ありがとうございます。私は、2011年6月に学位を取得し、同年8月より京都大学工学研究科の浜地研究室に博士研究員として勤めさせていただいております。現在、私は浜地教授ご指導の下、有機触媒を用いた試験管内や生細胞系における“蛋白質の化学修飾”に取り組んでおります。今回気になった論文としては、“(生体)触媒による蛋白質修飾”をキーワードに、Rice UniversityのBallらによるロジウム錯体を利用した蛋白質標識化、CaltechのHsieh-Wilsonらの糖転移酵素を用いた糖蛋白質の選択的標識化法の開発、MITのTingらのアスコルビン酸ペルオキシダーゼによるオルガネラ選択的なプロテオミクス解析に関する論文を紹介させていただきます。

**Catalytic Protein Modification with Dirhodium Metallopeptides: Specificity in Designed and Natural System** Z. Chen, F. Vohidov, J. M. Coughlin, L. J. Stagg, S. T. Arold, J. E. Ladbury, and Z. T. Ball, *J. Am. Chem. Soc.* 134, 10138-10145 (2012)

蛋白質の化学修飾は、その機能化や挙動解析に欠かせない手法であり、幅広い研究分野で注目を集めております。一般にこれら化学修飾は、リジンやシステインなどの反応性アミノ酸残基に対する“ランダム修飾”により達成され、精製蛋白質の化学修飾法として主に用いられて来ました。Ballらは、これらの問題点を克服するアプローチとして、遷移金属触媒と認識ドメイン(ペプチドや蛋白質)を組み合わせた“Enzyme-like”な分子の設計・開発を行いました。具体的には、Figure 1Aに示すようなRh(II)金属ペプチド触媒を用いて、coiled-coilの二量化に伴う近接効果により、相互作用相手のアミノ酸残基を修飾するという戦略です。著者らは、様々な配列の基質ペプチドとRh金属ペプチド触媒を用いて反応を行ったところ、基質アミノ酸と触媒が向き合ったペプチドペアで高効率に反応が進行し(Figure 1B)、また基質競合実験では配列選択的なラベル化の進行が確認出来ました。次に著者らは、より複雑な系で評価を行う為に細胞ライセート中における、ラベル化反応の選択性を評価しました。マルトース結合蛋白質とGSTにそれぞれ直交性を有する基質ペプチドを導入し、適切なRh金属ペプチド触媒を用いて反応を行ったところ、高選択的にこれらを修飾することに成功しました(Figure 1C)。さらに著者らは本手法の一般性を主張する為に、既存のペプチドリガンドを用いてRh触媒連結型を作製し、SH3ドメインのラベル化反応をおこなったところ、リガンド結合部位周辺への特異的なラベル化が確認されました。このように、“Enzyme-like”なRh金属ペプチド触媒は、選択的且つ部位特異的な蛋白質修飾ツールであると言えます、今後の細胞系への展開が期待されます。また、モジュールデザインであることの特徴を活かし、今後様々な“Enzyme-like”な触媒の開発が期待されます。



**Figure 1.** (A) Rh(II)金属ペプチド触媒とラベル化反応のスキーム、(B) Rh触媒と基質アミノ酸の位置関係 (C) Rh金属ペプチド触媒によるライセート中での選択的ラベル化(論文より一部改変)

**Chemoenzymatic Probes for Detecting and Imaging Fucose- $\alpha$ (1-2)-galactose Glycan Biomarkers.** J. -L. Chaubard, C. Krishnamurthy, W. Yi, D. F. Smith, and L. C. Hsieh-Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* 134, 4489-4492 (2012)

糖鎖構造の異常は、自己免疫疾患や癌、神経など様々な病気に特徴的に見られることが知られております。なかでもFucose- $\alpha$ (1-2)-galactose (Fuc $\alpha$ (1-2)Gal)は、学習や記憶、炎症、癌化などの重要な生命活動に関わっております。しかしながら、そのサイズや複雑な構造から検出及び解析は非常に困難でありました。そこでHsieh-Wilsonらは、バクテリア由来糖転移酵素の基質誤認識を利用して、非天然糖で特異的に糖鎖を修飾するアプローチの開発を行いました。著者らはこれまでに同様のアプローチで *O*-linked- $\beta$ -*N*-acetylglucosamineや*N*-acetyllactosamineを特異的に検出する手法を報告しておりますが、本研究では多糖を検出する手法の開発に成功しました。バクテリア由来糖転移酵素としてhuman blood group A antigen 糖転移酵素 (BgtA)を選択し、基質としてアジドやケトンをもつUDP-galactosamine(分子2, 3)を用いました(Figure 2A)。まず、これら基質アナログがBgtAの基質となるか評価するために分子1を設計・合成し、BgtA及び分子2存在下、4°Cで12時間反応をおこなったところ、4の生成が確認されました(Figure 2A)。アジド化した4をさらにアルキンをもつプローブと反応させることでビ

オチン化した化合物8の生成を確認しました(Figure 2A)。次に著者らは、ラット脳の抽出物を用いて先程と同様に反応を行ったところ、Fucc $\alpha$ (1-2)Galを有する糖蛋白質群がBgtA存在下のみでラベル化されていることが確認されました。最後に本手法を用いて細胞表層におけるFucc $\alpha$ (1-2)Galの検出を試みました。まず、ヒト乳がん由来MCF-7細胞を前述の様に反応させ、ストレプトアビジン-Alexa488でビオチン化蛋白質を検出したところ、BgtA存在下のみで細胞膜から蛍光が観察されました(Figure 2B)。さらに、異なる細胞種間でのFucc $\alpha$ (1-2)Galの発現量を比較する為に、通常細胞と癌細胞を先程と同様にラベル化・染色し、フローサイトメトリーにより評価を行ったところ、同じ前立腺由来の細胞でも、癌化した細胞からより強い蛍光が観察されました。今回用いられたchemoenzymaticアプローチにより、これまで困難であった内在性糖蛋白質の高選択的ラベル化が可能になり、挙動解析や機能化などに役に立つのではと思われました。また今後、糖転移酵素のバラエティーを充実させ、様々な糖鎖構造を解析出来るツールの開発が期待されます。

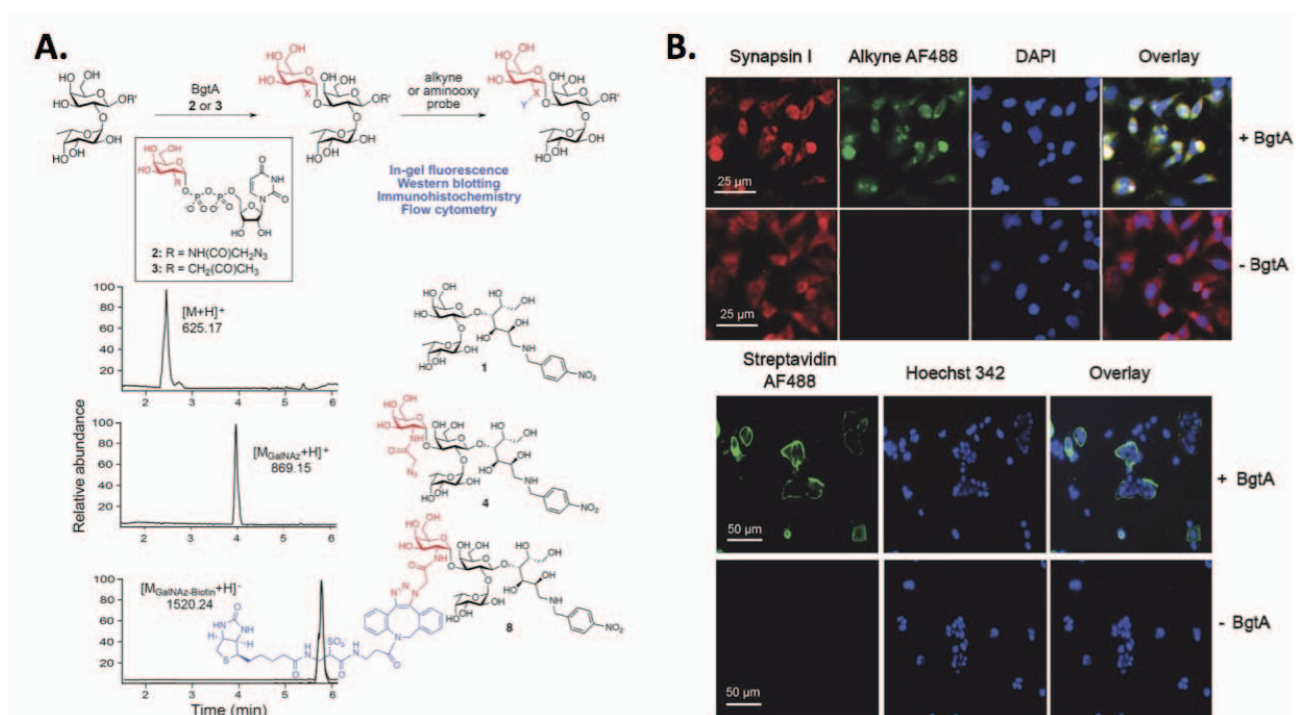
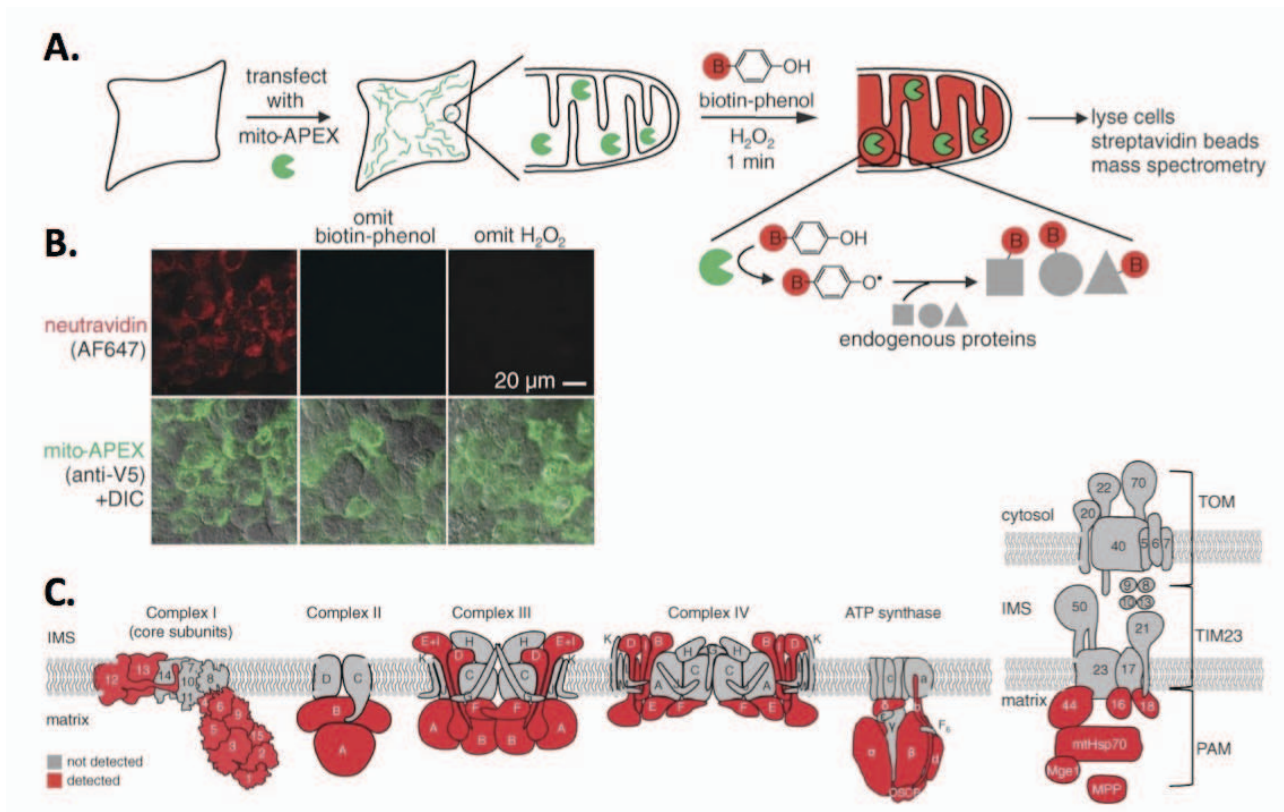


Figure 2. (A) BgtAによる糖鎖修飾 (B) BgtAによるMCF-7細胞表層糖蛋白質の標識(論文より一部改変)

**Proteomic Mapping of Mitochondria in Living Cells via Spatially Restricted Enzymatic Tagging** H. Rhee, P. Zou, N. D. Udeshi, J. D. Martell, V. K. Mootha, S. A. Carr, and A. Y. Ting, *Science* 339, 1328-1331 (2013)

最後に紹介させて頂く論文は、細胞内オルガネラでの蛋白質の網羅的ラベル化及び解析法に関する論文です。オルガネラ選択的なプロテオーム解析では、近傍に存在する蛋白質のみを共有結合ラベルする“ラベリング酵素”が必要であり、Tingらはアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APEX)に着目しました。APEXは、様々なフェノール誘導体を酸化しフェノールラジカルを生成しますが、その寿命が1ms以下と短いため、半径20nm以内の比較的小さいエリア内の電子豊富なアミノ酸残基(Tyr, Trp, His, Cysなど)と反応します

(Figure 3A)。著者らはまず、デモとしてミトコンドリア移行ペプチドを連結させたAPEXを用いてHEK細胞におけるミトコンドリアマトリクスのプロテオーム解析を行いました。基質であるビオチンフェノールと1mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を培地に加え、1分間反応を行いました。ストレプトアビジン-Alexa fluorで染色後、共焦点顕微鏡で観察を行うと、基質とH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>存在下のみで細胞内から蛍光が確認されました(Figure 3B)。これらビオチン化蛋白質を解析する為に、プルダウン精製を行いタンデムMSによる同定を行ったところ、495種類の蛋白質が検出されました。そのうち464蛋白質は既存のミトコンドリア蛋白質でしたが、残りの31種類は新たにミトコンドリア蛋白質であることが示唆されました。また、ラベル化された電子伝達系蛋白質群やTOM/TIM/PAM蛋白質輸送複合体のうち、ミトコンドリアマトリクスに面しているドメインのみが特異的にラベル化されていることがわかりました(Figure 3C)。さらに著者らは、これまでミトコンドリア内膜や外膜に局在しているとされていたヘム合成酵素(PPOX、CPOX)が、本手法により検出されたことから、これら蛋白質がマトリクスに面しており、これまでとは異なるヘム合成経路を示唆する結果を報告しています。このように、APEXを用いた蛋白質ラベルは効率的且つ“膜非透過”であり、オルガネラ特異的なプロテオーム解析に有用なツールであることが示されました。実際に、著者らはミトコンドリア以外にも形質膜や核、ERなどでもAPEXを用いてプロテオーム解析を行っており、汎用性が高い手法であるようです。



**Figure 3.** (A) APEXによるミトコンドリア内のプロテオーム解析、(B) APEXによるミトコンドリアラベル (C) ラベル化された電子伝達系蛋白質群とTOM/TIM/PAM蛋白質輸送複合体 (論文より一部改変)

## 気になった論文

若林 里衣 (わかばやし りえ)

九州大学大学院工学研究院応用化学部門 後藤・神谷研究室 助教

rie\_wakaba@mail.cstm.kyushu-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レターの“気になった論文”への執筆の機会を与えて頂き、誠にありがとうございます。私は2008年に九州大学にて学位を取得後、ノースウエスタン大学および九州大学に於いて博士研究員、特任助教を経験し、2012年4月より、九州大学大学院工学研究院の後藤・神谷研究室にて助教として務めさせて頂いております。宜しくお願ひ申し上げます。現在は、自己集合ペプチドを用いた多様なナノ構造体の創製と、その構造体の形態にちなんだ機能を発現する超分子バイオマテリアルの開発に取り組んでおります。今回は気になった論文として、超分子材料のナノスケールにおける形態の違いを利用したバイオマテリアルの機能の制御に関する論文を3報紹介させていただきます。

### Multivalent Nanofibers of a Controlled Length: Regulation of Bacterial Cell Agglutination

Lee, D.-W.; Kim, T.; Park, I.-S.; Huang, Z.; Lee, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 14722–14725.

頭部に糖を有する両親媒性分子からなるナノファイバーやナノチューブは、表面に集積化された糖を介して様々な生体分子に結合するナノ材料となります。このような一次元集合体を形成する際に、短軸方向である“径”のサイズは、構成分子の分子長や官能基の配置等によりある程度制御することができますが、長軸方向、即ち構造体の“長さ”を分子設計により制御するのは困難とされてきました。しかし、構造体の長さの違いは、材料のタンパク質・細胞との相互作用や生体内動態、あるいは内包物質の放出能等に関わると予想され、材料の機能発現において重要な要素になると考えられます。著者らはこれまでに、rod-coil状の両親媒性分子が水中で形成する様々な形状の自己集合体を報告しています。本論文では、疎水性コアとなる芳香環部位の集合能の違いを利用し、一次元集合体の長さの制御に挑戦しています(図1)。

コア部位のターフェニル基の両端にピレンを有する**1**は、ピレン間の強い $\pi$ - $\pi$ 相互作用により、水中で非常にアスペクト比の高いナノファイバーを形成します(直径6 nm、長さ2  $\mu$ m以上)。これに対し、ピレンをフェニル基に置換した**2**は、 $\pi$ - $\pi$ 相互作用が比較的弱く、短いファイバーを形成します(直径8 nm、平均長さ70 nm)。**1**と**2**を混合すると、その混合比に応じてファイバーの長さの段階的な制御が可能であることが示されました(図1a, b)。

**1**および**2**は、頭部のマンノースを介して細胞膜上に存在する糖レセプターと結合すると予想されます。**1**、**2**、および**1**と**2**の混合物からなる長さの異なるナノファイ

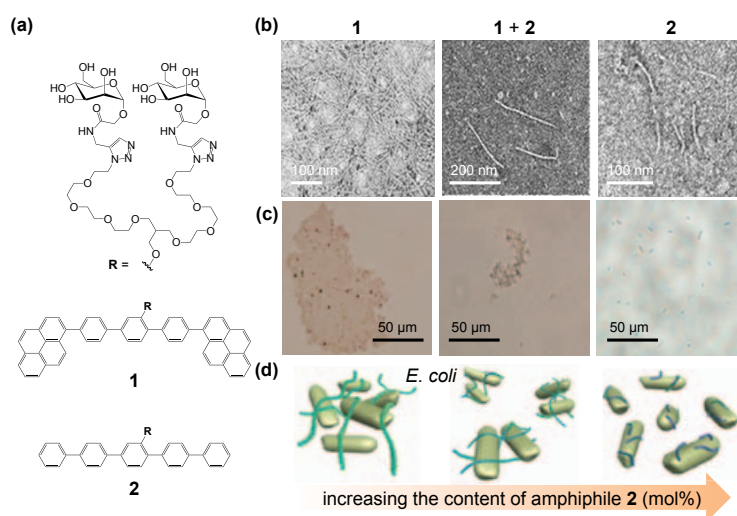


図1. (a) 両親媒性分子**1**、**2**の構造、(b) **1**、**2**が水中で自己集合し形成する一次元構造体の透過型電子顕微鏡像、(c) *E. coli*の凝集を示す顕微鏡像、(d) *E. coli*の凝集の様子の模式図(論文より一部改変)。

バーと、マンノース結合タンパク質であるFimHを線毛部位に有する*E. coli*を共存させると、形成される*E. coli*クラスターの大きさはファイバーの長さに応じて変化しました (図1c, d)。さらに、長いファイバーほど*E. coli*の増殖を抑制し、1のみからなる長いナノファイバー共存下では、完全に増殖が抑制されました。ここに競合阻害剤である $\alpha$ -メチル-D-マンノピラノシドを1000当量加えると増殖が開始したことから、*E. coli*はマンノースとFimHとの間の相互作用によりナノファイバーと可逆的に結合していることが示されました。

最近出版された続報 (*Chem. Commun.* **2013**, 49, 3949.)では、糖結合タンパク質Con Aを結合させたナノファイバー-Con A複合体を用いて、免疫細胞であるT細胞の活性化とファイバーの長さとの相関を調べています。まだ分布が大きく、完全な長さの制御には至っていませんが、両親媒性化合物が形成する疎水空間中の分子の結晶性、集合能の違いに注目した点が興味深く、また一次元集合体の長さが材料としての機能に直接関わってくることを明確に示した例であると言えます。

### Supramolecular Nanostructures Formed by Anticancer Drug Assembly

Cheetham, A. G.; Zhang, P.; Lin, Yi-an; Lock, L. L.; Cui, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 2907–2910.

疎水性の抗がん剤を標的となるがん部位へ効果的に運搬するために、リポソームやポリマーミセル、無機ナノ粒子などに担持させる手法が一般的に用いられています。しかし、薬物の担持量や担持位置にばらつきがあり均質なものを得るのが困難であること、多くの場合薬物担持量が少量であることが、実用化に向けての障壁となります。そこで著者らは、疎水性薬物そのものを自己集合材料の構成要素と見なした、“drug amphiphile, DA”を新規に提案しました。

抗がん剤camptothecin (CPT)とTauタンパク質由来の $\beta$ シートペプチドをジスルフィド結合で繋いだDAを3種類設計しました。一分子中にCPTを1個 (mCPT)、2個 (dCPT)、4個 (qCPT)有するDAのCPT搭載量は、それぞれ23、31、38%と一義的に決まります。mCPT、dCPT、qCPTの解離定数はそれぞれ 207、74、53 nMと求められました。また、mCPTとdCPTは水中でそれぞれシリンダーミセル状構造を、qCPTは短いチューブ状構造を形成し、DA中のCPTの数が集合能やナノ構造に影響を与えることが示されました (図2a)。CPTのラクトン環は加水分解により不活性型である開環型になりやすいのですが、DA構造体の疎水空間に拘束されているためか、CPTは薬理活性のある閉環型をとっていることが示されています。

今回の設計では、還元条件下でジスルフィド結合の切断が生じ、CPTが放出されます。10 mMグルタチオン存在下、37°CでCPTの

徐放性評価を行ったところ、mCPTと比較してdCPTとqCPTからはCPTの放出がゆっくりと生じ、安定な集合体を形成することでジスルフィドの開裂反応が抑制されていることが明らかとなりました (図2b)。また、種々のがん細胞に対する抗がん剤感受性評価において、3種類のDAのうちdCPTが最も高い抗がん作用を示し

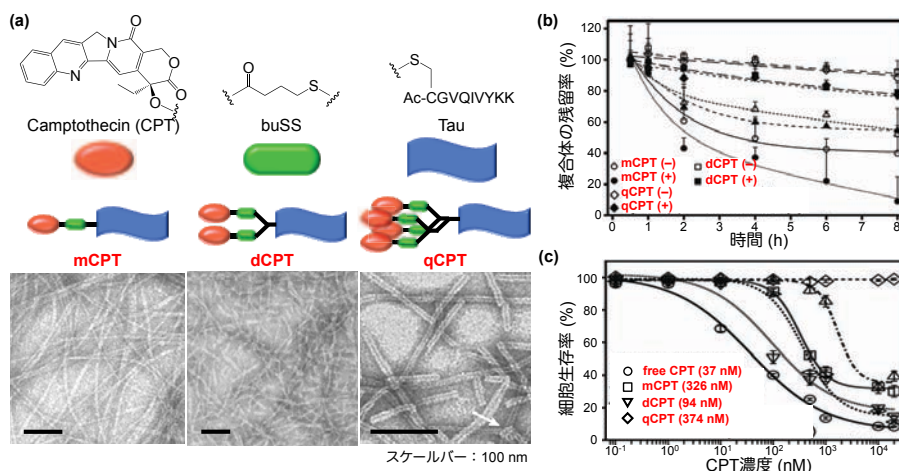


図 2. (a) CPT を疎水部に有する DA 分子の各構成要素と mCPT, dCPT, qCPT の化学構造およびそれぞれが形成する一次元構造体の透過型電子顕微鏡像、(b) DA からの CPT の徐放率、および (c) がん細胞への効能評価 (論文より一部改変)。

ました (図2c)。dCPTの疎水性と親水性のバランスが、細胞への移行を効果的にしたものと予想されます。

薬物そのものを明確なナノ構造へと組織化する本報告は、“入れ物”を必要とせず、“薬物が標的部位へ自己運搬する”という新たな薬物送達システムへと繋がる技術であると期待されます。

### Influence of Nanohelical Shape and Periodicity on Stem Cell Fate

Das, R. K.; Zouani, O. F.; Labrugere, C.; Oda, R.; Durrieu, M.-C. *ACS Nano* 2013, 7, 3351–3361.

生体内の殆どの組織細胞は、周りを取り囲む細胞外マトリクス (ECM) と呼ばれる繊維状ネットワークに接着し、機能を発現します。臓器移植の代替手段として注目される再生医療や組織工学において、コラーゲンなど天然のECMに代わる人工ECMの開発が重要です。これまでに、ECM材料のナノ、ミクロスケールでの局所的な性質、種々の物理的因子 (幾何構造、硬さ、エピトープ間距離等)がレセプターを介した細胞接着やシグナル伝達に関与していることが示されてきました。しかしながら、これら人工ECM材料の“ナノスケールでの周期性”が細胞に与える影響は明らかとなっておりません。著者らは、gemini-型の両親媒性分子が形成するナノリボンをテンプレートとしてゾル-ゲル反応を行うと、条件に応じて種々のナノ周期・形状を有するシリカナノ構造体が得られることに注目し、これを細胞接着エピトープの足場として利用することを提案しました。

Gemini-型の16-2-16 L-tartrateが水中で形成するhelicalリボンをテンプレートとし、1日あるいは20日間agingした後にテトラエトキシシランを用いてゾル-ゲル反応を行うことにより、それぞれtwisted (約100 nm周期)、helical (約63 nm周期)リボン状のシリカナノ構造体が得られました。得られたシリカナノリボンに細胞接着性RGD配列を含むペプチドFITC-KRGDSPCを修飾し、ガラス基板に固定化した修飾基板を調製しました (図3a, b)。

Gemini-型の16-2-16 L-tartrateが水中で形成するhelicalリボンをテンプレートとし、1日あるいは20日間agingした後にテトラエトキシシランを用いてゾル-ゲル反応を行うことにより、それぞれtwisted (約100 nm周期)、helical (約63 nm周期)リボン状のシリカナノ構造体が得られました。得られたシリカナノリボンに細胞接着性RGD配列を含むペプチドFITC-KRGDSPCを修飾し、ガラス基板に固定化した修飾基板を調製しました (図3a, b)。

修飾基板上でヒト間葉系幹細胞 (hMSC)の培養を行い、シリカナノリボンの周期の違いがhMSCに与える影響を検証しています。無血清培地中で4時間培養後、両方のシリカナノリボン修飾基板上で細胞接着および糸状仮足の形成が認められました。24時間後には、twistedリボンよりhelicalリボン上の細胞で焦点接着斑が有意に増加していることが観察されました (図3b)。更に96時間後には、helicalリボン上の細胞において未分化マーカーSTRO-1の減少と骨幹細胞への分化マーカーosterixの増加が確認され、骨幹細胞への分化が示唆されました (図3c)。この分化誘導はmyosin II依存性であり、細胞はリボンの周期を物理的に認識していることが示唆されました。天然ECMであるコラーゲン繊維の周期 (67 nm)に近い63 nm周期を有するhelicalリボンが幹細胞の分化に有意に働くというのは興味深い結果であります。

本報告は、細胞がECMのナノ構造体の周期を物理的に認識していることを示した初めての報告であり、今後人工ECMを設計する上で非常に重要な知見を与えていると言えます。

最後になりましたが、本稿への執筆の機会を頂きました熊本大学の井原先生に、心より感謝申し上げます。

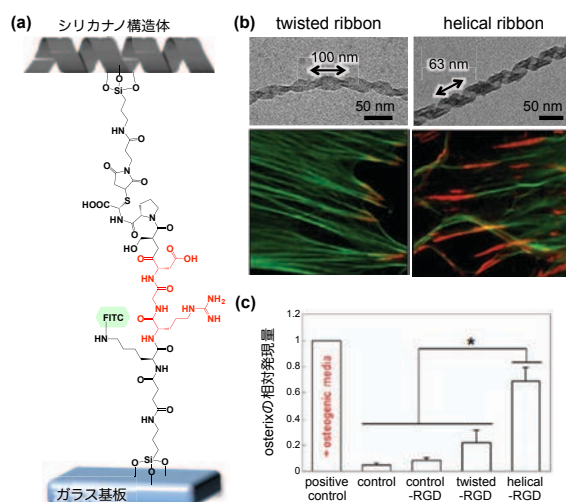


図 3. (a) ガラス基板上へのペプチド被覆シリカナノ構造体の固定化、(b) twisted ribbon と helical ribbon 構造を有するシリカナノ構造体の TEM 像およびそれぞれを修飾した基板上で培養した hMSC 細胞の免疫蛍光染色像 (緑; アクチンフィラメント、赤; ビンキュリン)、(c) 各種修飾基板上で培養した hMSC 細胞における osterix の相対発現量 (\* $p < 0.005$ ) (論文より一部改変)。

気になった論文

真鍋 良幸(まなべ よしゆき)  
 大阪大学大学院理学研究科化学専攻 助教  
 manabey12@chem.sci.osaka-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」への執筆の機会を与えていただき、誠に有難うございます。私の専門分野は天然物有機化学、ケミカルバイオロジーで、現在は深瀬浩一教授の研究室で特に糖鎖の合成、生体内での機能解明、医薬への応用を目指して研究を行っております。

真核生物の産出するタンパク質の多くは糖鎖による翻訳後修飾を受けており、糖鎖はタンパク質のフォールディングや輸送、細胞間認識、シグナル伝達など様々な場面で重要な役割を担っていることが分かってきました。しかし、糖鎖の機能には未解明な点が多く、その機能を調べるための方法論が確立されているとは言えません。今回は糖ヌクレオチドからタンパク質に糖を転移させる酵素である糖転移酵素 (Glycosyltransferase, GTase) の阻害剤に関する論文を紹介します (Fig. 1, *N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) 転移酵素の例)。GTase 阻害剤は糖鎖機能解明のための有用なプローブ分子となるのはもちろんのこと、糖鎖構造をコントロールすることで、その機能を制御し、糖鎖異常が原因の疾病に対する薬剤の開発につながる可能性も秘めていることから盛んに研究がおこなわれてきました。しかし、そのほとんどは基質である糖ヌクレオチド (Fig.1 の UDP-GlcNAc(1)) を基盤として開発されており、分子サイズが大きく、さらにリン酸基などのアニオニックな構造をもつため、膜透過性に乏しく、*in vivo* では利用できないという問題点がありました。今回紹介する論文では糖ヌクレオチドの生合成経路を利用して細胞内で阻害剤を形成させるという手法をとることで、*in vivo* で利用可能な GTase 阻害剤の開発に成功しています。

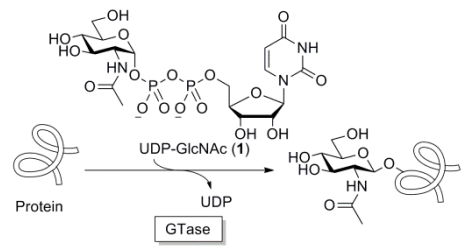


Fig. 1 糖転移酵素 (GTase) による GlcNAc の転移

**Hijacking a Biosynthetic Pathway Yields a Glycosyltransferase Inhibitor within Cells**

Gloster, T. M.; Zandberg, W. F.; Heinonen, J. E.; Shen, D. L.; Deng L.; Vocadlo, D. J. *Nat. Chem. Biol.* **2011**, 7, 174-181.

タンパク質中の Ser, Thr 側鎖の酸素原子の GlcNAc 修飾 (*O*-GlcNAc) は普遍的にみられ、シグナル伝達など細胞機能に重要な役割を果たしています。この反応を触媒する糖転移酵素 (*O*-GlcNAcase) は UDP-GlcNAc(1) を基質として糖転移を行い、1 は Fig. 2 に示すような *de novo* 経路と *salvage* 経路の 2 種類の経路で合成されます。著者らは小さな分子で電荷も持たない Ac-5SGlcNAc(2) を用いれば、容易に生体内に取り込まれ、エステラーゼの効果により 5SGlcNAc(4) が生じ、これが UDP-GlcNAc の *salvage* 経路により、*O*-GlcNAcase に対して阻害活性を持つ UDP-5SGlcNAc(5) へと変換されると考えました。本仮説を検証するにあたり、まず、UDP-GlcNAc の *salvage* 経路の生合成酵素を用いて 4 が 5 へと変換されること

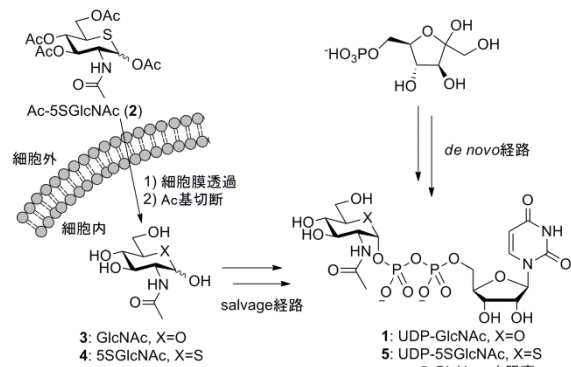


Fig. 2 *de novo* 経路と *salvage* 経路による UDP-GlcNAc(1) の合成とそれを利用した生体内での UDP-5SGlcNAc(5) の合成



を確認したところ、この変換は問題なく進行しました。そこで、実際に Ac-5SGlcNAc (**2**) を細胞に投与し、O-GlcNAcase 阻害活性を調べました。化合物 **2** 投与の 24 時間後に細胞を破碎し、電気泳動後、O-GlcNAc 認識抗体を用いて染色したところ、**2** の濃度依存的に O-GlcNAcase の阻害が確認でき (Fig. 3a)、50 μM の **2** を投与後にインキュベート時間を変えて検出した際には、時間依存的な阻害が確認できました (Fig. 3b)。

更に、細胞を O-GlcNAc 認識抗体を用いて蛍光染色した際にも、**2** の投与により、O-GlcNAc が検出されなくなりました (Fig. 3c)。このように **2** によりタンパク質への O-GlcNAc の転移が抑制されることが分かりましたが、生体内で合成された UDP-5SGlcNAc (**5**) が O-GlcNAcase を阻害している可能性の他に、**5** が UDP-GlcNAc の生合成を阻害し、UDP-GlcNAc を枯渇させることでこの阻害活性が発現している可能性も考えられます。実際に **2** で処理したときの UDP-GlcNAc (**1**) の量を定量すると確かに減少していることが分かりました。しかし、その減少分は今回の O-GlcNAc 転移の阻害を説明するには十分ではなく、著者らは、この系においては **5** による O-GlcNAcase の阻害が最も重要な要素であると結論付けています。

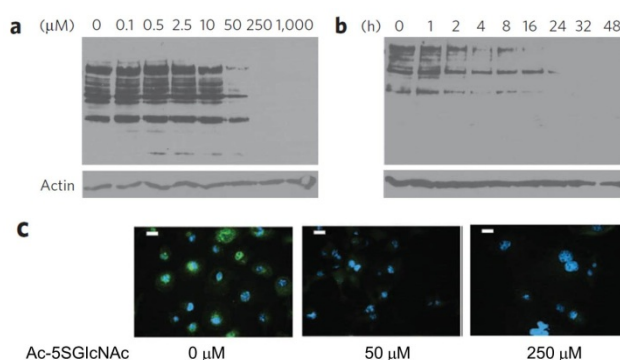


Fig. 3 Ac-5SGlcNAc (**5**)によるO-GlcNAc転移阻害。(a)濃度依存的阻害 (b)時間依存的阻害 (c) O-GlcNAc の蛍光染色 (緑: anti O-GlcNAc 抗体, 青: DAPI) (論文より一部改変)

### Global Metabolic Inhibitors of Sialyl- and Fucosyltransferases Remodel the Glycome

Rillahan, C. D.; Antonopoulos, A.; Lefort, C. T.; Sonon, R.; Azadi, Parastoo.; Ley, K.; Dell, A.; Haslam, S. M.; Paulson, J. C. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 661-668.

フコース (Fig. 4, **7**) とシアル酸 (Fig. 4, **12**) は特異な構造を持ち、生体内で非常に重要な役割を担っていることが知られています。シアリル化とフコシル化の糖供与体となる GDP-フコース (**9**)、CMP-シアル酸 (**14**) は上で紹介した UDP-GlcNAc の例と同じく *de novo* 経路と *salvage* 経路の 2 種類の経路で合成されます (Fig. 4)。著者らは、いくつかのフッ素化糖を検討した結果、**6** を用いることで生合成経路を利用した GDP-フコースミミック **10** の合成及びフコシル化の阻害に、**11** を用いることで CMP-シアル酸ミミック **15** の合成及びシアリル化の阻害に成功しました。この際、生体内で合成された **10**, **15** は糖転移酵素の阻害剤として働くのに加え、それぞれの糖転移の基質となる GDP-フコース (**9**)、CMP-シアル酸 (**14**) の生合成もフィードバック阻害

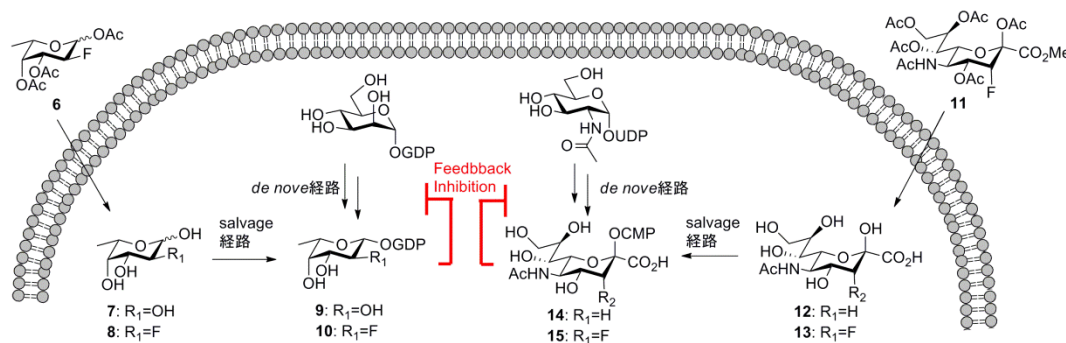


Fig. 4 フコシル化とシアリル化の基質となる糖ヌクレオチド (**9**, **10**) の生合成とその経路を利用した阻害剤 (**10**, **11**) の細胞内での合成

ドバック阻害し、これらを枯渇させることで、フコシル化、シアリル化を阻害しています。実際、**6** を投与することで GDP フコース

は, **11** を加えることで UDP シアル酸は検出不可能なレベルまで減少することが確認されています. フコシル化は 14 種類の糖転移酵素により, シアリル化は 20 種類の糖転移酵素により行われることが知られていますが, 何れも基質としては GDP-フコース (**9**), CMP-シアル酸 (**14**) を用いるため, 化合物 **6**, **11** は, フコシル化もしくはシアリル化を網羅的に阻害する阻害剤と言えます. そこで, これらの化合物で処理したときに細胞の N 結合型糖鎖(タンパク質の Asn 残基に結合する糖鎖で, シグナル伝達, 細胞間認識などに重要な役割を果たす)がどのように変化するかを MS を用いて検証しています (Fig. 5). まず, 200  $\mu$ M の **6** もしくは **11** で処理したとき, それぞれフコシル化, シアリル化が顕著に阻害されていることが分かります (Fig. 5b, c). また, シアリル化を阻害した際にフコ

シル化タンパク質の量が増えていますが, これは, 生体内でシアリル化とフコシル化が同じ基質に対し競争的に働くため, シアリル化が阻害されることでフコシル化が促進されたと理解できます. 更に, **6**, **11** 両方の化合物で処理した際には, フコシル化, シアリル化された糖鎖はほとんど検出されず, 代わりに, 伸長した糖鎖が検出されています (Fig. 5 d). これは, フコースやシアル酸によりキャッピングされなくなったため, 糖鎖の伸長が促進されたと考えられます. 更に, 著者らは白血球をこれらの阻害剤で処理し, フコシル化, シアリル化を阻害することで, シアリルルイス X の生成を抑制し, E-selectin および P-selectin (何れもシアリルルイス X の結合タンパク質) による認識をコントロールすることで白血球の移動を制御できることも示しています.

更に, **6**, **11** 両方の化合物で処理した際には, フコシル化, シアリル化された糖鎖はほとんど検出されず, 代わりに, 伸長した糖鎖が検出されています (Fig. 5 d). これは, フコースやシアル酸によりキャッピングされなくなったため, 糖鎖の伸長が促進されたと考えられます. 更に, 著者らは白血球をこれらの阻害剤で処理し, フコシル化, シアリル化を阻害することで, シアリルルイス X の生成を抑制し, E-selectin および P-selectin (何れもシアリルルイス X の結合タンパク質) による認識をコントロールすることで白血球の移動を制御できることも示しています.

### Development of Orally Active Inhibitors of Protein and Cellular Fucosylation

Okeley, N. M.; Alley, S. C.; Anderson, M. E.; Boursalian, T. E.; Burke, P. J.; Emmerton, K. M.; Jeffrey, S. C.; Klussman K.; Law, C-L.; Sussman, D.; Toki, B. E.; Westendorf, L.; Zeng, W.; Zhang, X.; Benjamin, D. R.; Senter, P. D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2013**, *110*, 5404-5409.

本論文でもフコシル化阻害剤を標的としており, 阻害剤としては 2 番目の論文と同じく **6**, **8** (Fig. 4) を用い, 経口投与で *in vivo* でフコシル化を阻害する効果があることを実証しています. まず, 上記の 2 つの論文と

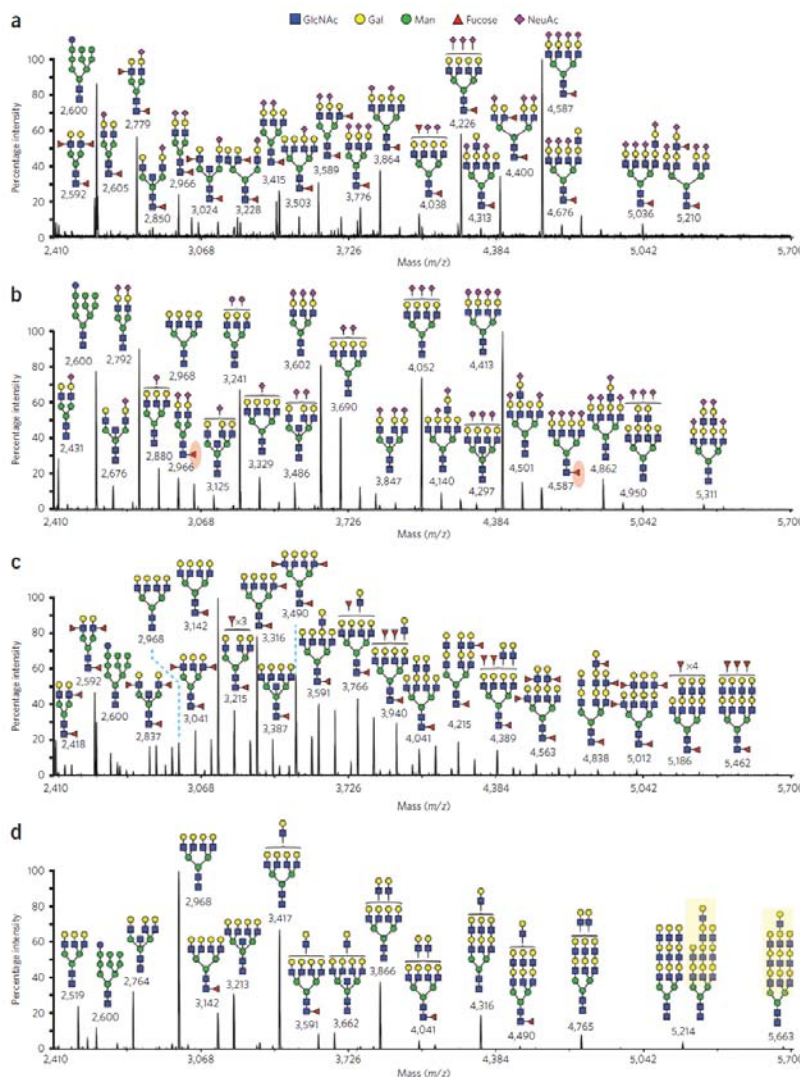


Fig. 5 阻害剤処理した細胞の N 結合型糖鎖の MS 分析. (a) DMSO のみ (control) (b) フコシル化阻害剤 **6** 処理 (c) シアリル化阻害剤 **11** 処理 (d) **6**, **11** 両方で処理 (論部より抜粋)

同じくフコシル化が細胞レベルで阻害されることを確認したうえで、マウスを用いた経口投与での阻害実験を行っています。IgG 抗体は Fc 領域の N 結合型糖鎖のフコースが除去されることで抗体依存性細胞障害活性 (ADCC, 抗体依存的に誘導される細胞障害活性で、抗体医薬における最も重要な因子と考えられています) が 100 倍以上に向上することが知られており、フコシル化されていない IgG 抗体の調製は抗体医薬の観点から非常に価値のあることです。著者らは化合物 **8** を 100 mM の濃度で経口投与することで IgG 抗体のフコシル化が顕著に阻害されることを明らかにしました。これにより **8** の投与により高い ADCC 活性を持つ IgG 抗体の調製が可能であることが証明されたので、**8** を抗がんワクチンと併用することで高い効果が期待できるのではないかと考えました。実際、**8** とワクチンを併用したところ、顕著な延命効果が観察されました。また、がん細胞においてフコースは増殖や接着、細胞間相互作用に関与していることが知られており、**8** の投与による癌の成長阻害を検証したところ、癌の成長が阻害されることが分かりました。更に、著者らは E-selectin による好中球の血管外への遊出も **8** の経口投与によるフコシル化の阻害で制御できることを示しています。

## 気になった論文

草野 修平(くさの しゅうへい)

東北大学多元物質科学研究所 生命機能分子合成化学分野 博士課程 3年

kusano@mail.tagen.tohoku.ac.jp

この度は、生命科学研究レター「気になった論文」への執筆の機会を与您して頂き、心より御礼申し上げます。現在、私は東北大学多元物質科学研究所の永次 史教授のご指導のもと、機能性分子を有する人工核酸の開発を行い、それらを用いた細胞内における人工的な遺伝子発現のコントロール(抑制・活性化・変換)を目指し研究を行っております。

私たちの生体内では、遺伝子の複製、転写、翻訳に代表されるように、ポリメラーゼやリボソームなどの酵素が、まさに機械のようにテンプレート(DNAやRNA)上の情報を読み取り、生体高分子を作り上げます。一般的な高分子合成は、1モノマー単位での長さおよび配列の制御が困難なのに対し、酵素はいとも簡単にそれらを成し遂げます。今回は、配列および長さが制御された酵素を用いない高分子合成手法として、DNAをテンプレートとして用いた論文を2報、DNAをテンプレートとして用いない、ペプチド合成に関する論文を1報ご紹介したいと思います。

### Programmable One-Pot Multistep Organic Synthesis Using DNA Junctions

M. L. McKee, P. J. Milnes, J. Bath, E. Stulz, R. K. O'Reilly and A. J. Turberfield, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 1446-1449 (2012)

DNAをテンプレートとした高分子合成では、カップリングモノマーを持つDNA同士がテンプレートDNAに結合することで、有効モル濃度が上昇し、反応が進行します。したがって、テンプレートDNAに対し相補的な配列を持たないカップリングDNA同士間での反応を最小限に抑えることができ、DNAの配列設計で容易に反応をコントロールすることができます。さらに、カップリングモノマー部位には様々な分子を導入できるため、多様な高分子合成へ応用することが可能です。本手法の理想的な利用法としては、ワンポットで様々な高分子を同時並行で合成することが挙げられます。そのような方法として、今回筆者らは、DNAの three wayジャンクション部位を反応場としたDNAテンプレート合成に成功しました。

筆者らは図1aに示すような反応系を構築しました。すなわち、3'または5'にカップリングモノマーを持つDNA(**G**, **P**, **O**)を同一反応容器にて混合しておき、そこに**G**および**P**とthree wayジャンクションを形成するテンプレート**G-P**を加えます。その結果、ジャンクションが形成され、カップリングモノマー同士が近接し、カップリング反応(Wittig反応)が進行します(図1b)。カップリング後、テンプレート**G-P**と相補的な配列を持つ removal strandを加えることで、生成物はリリースされます。さらに、テンプレート**O-P**を反応容器に新たに加えることで、**O**, **P**およびテンプレート**O-P**がジャンクション形成し、次の伸長反応が進行します。この反応系では、テンプレートおよびカップリングDNAの配列設計により、複数の高分子を同時に合成することが可能です。実際、筆者らは配列が異なる二種類の生成物をワンポットで合成しております。以上のように、本手法はワンポットで複数の生成物を同時に合成できるため、簡便なライブラリー構築などへの展開が期待されます。

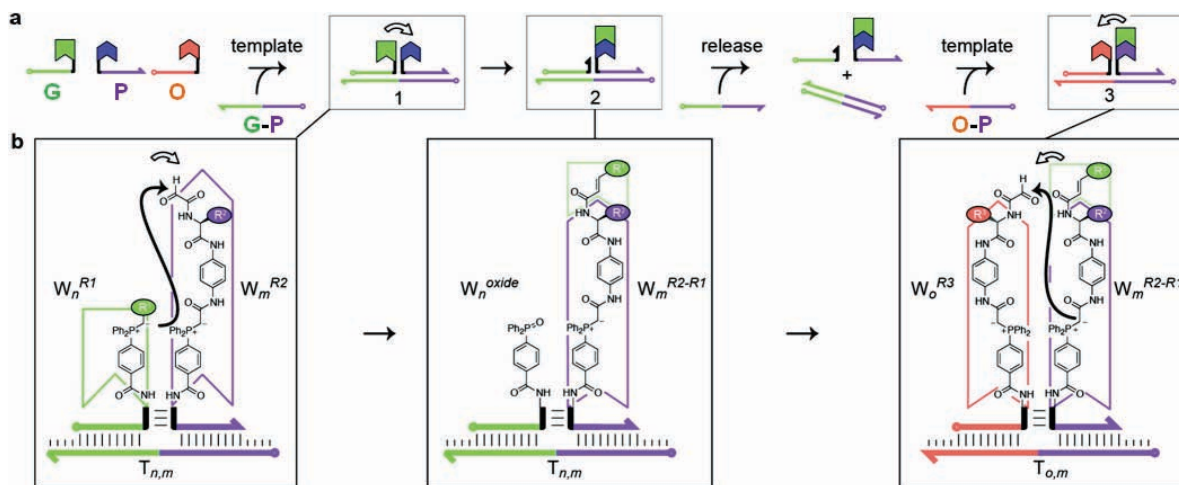


図1. a) Three wayジャンクションを反応場とするテンプレート合成の概要 b) テンプレート上でのWittig反応 (論文より一部改変)

## Enzyme-free Translation of DNA into Sequence Defined Synthetic Polymers Structurally Unrelated to Nucleic Acids

J. Niu, R. Hill and D. R. Liu, *Nature Chem.*, **5**, 282-292 (2013)

mRNAの翻訳過程において、リボソームはmRNA上の3塩基を1コドンとして情報を読み取り、ペプチド鎖を伸長していきます。今回、筆者らはリボソームを模倣し、DNAテンプレート上の5塩基を1コドンとして読み取る、テンプレート配列特異的な高分子合成に成功しました。

筆者らは高分子合成ユニットとして、tRNAのアンチコドンのようにテンプレート配列の5塩基を読み取るPNA部分と、高分子のビルディングブロックを反応後に切断可能なリンカーであるジスルフィド結合を介して同一分子内に導入したマクロサイクルを設計しました(図2a)。合成ユニットをマクロサイクルにすることで、高分子ビルディングブロックのカップリング反応がエントロピー的に有利に進行し、かつ反応の位置選択性が向上するものと考えました。カップリング反応の条件最適化の結果、図2bに示すようにアルキンを持つユニット(A-A)とアジドを持つユニット(B-B)を交互に配置し、カップリング反応にCu(I)-catalyzed alkyne-azide 1,3-dipolar cycloadditionを用いることで、約70%の収率で全長の高分子合成(PEG鎖)に成功しました。また、高分子ビルディングブロック部位をα-アミノ酸、β-アミノ酸などに変更した場合も、PEG鎖の場合と同様に効率よく全長高分子合成に成功しています。さらに筆者らは、重合反応によりβ-アミノ酸が結合したDNAがPCRにより増幅でき、このPCR産物をテンプレートとして再度、高分子合成が行えることを示しております(図2c)。合成高分子の*in vitro* selectionを行うことができる本手法は、新たな機能を持つ合成高分子を探索するための基盤技術となるのではないのでしょうか。

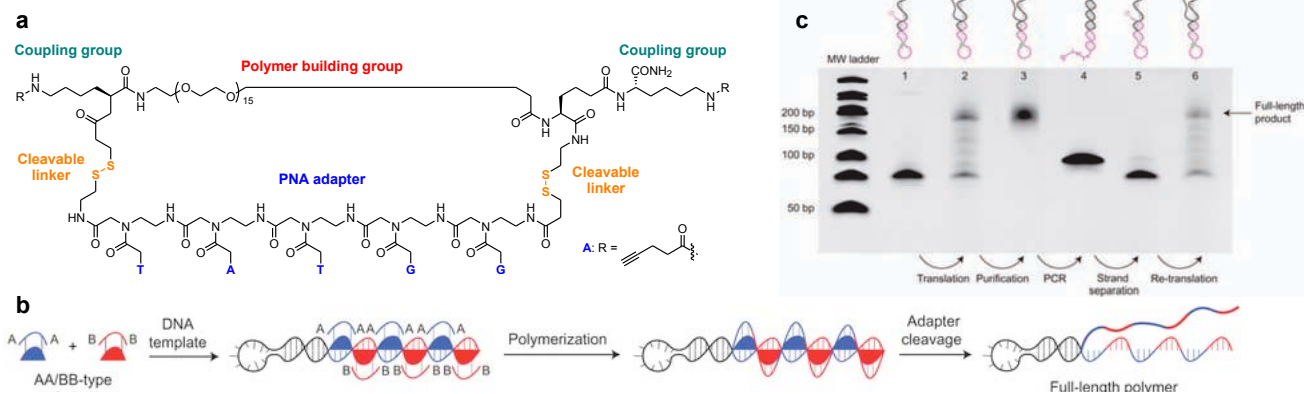
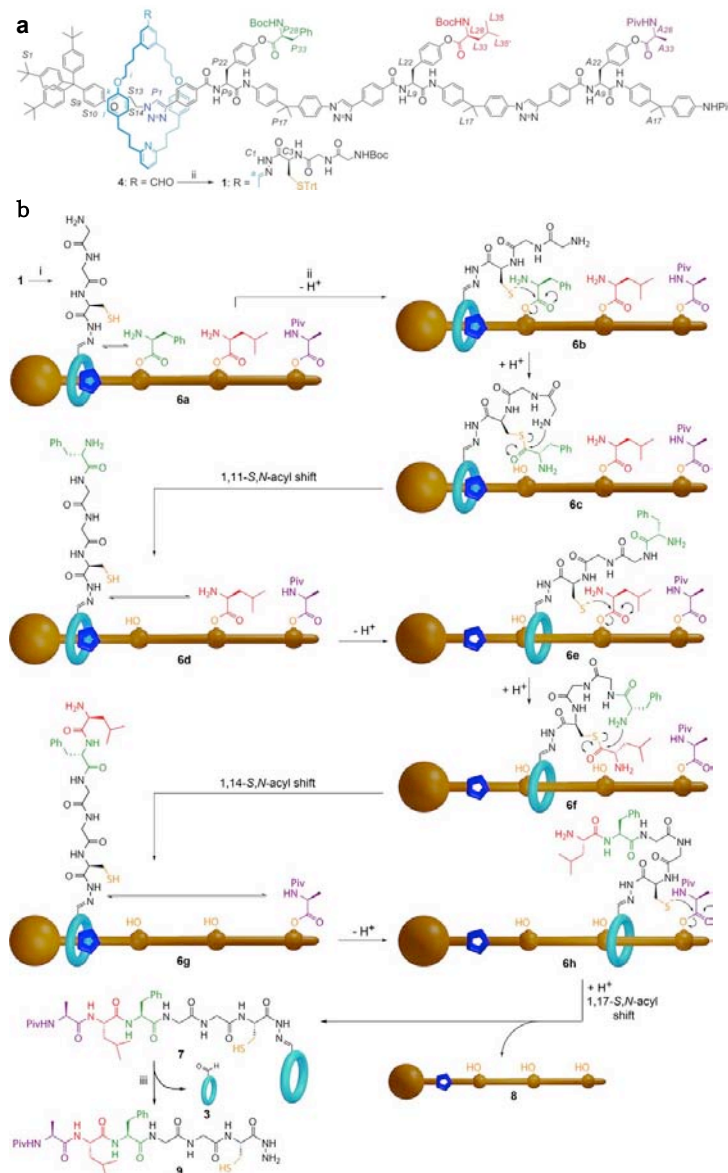


図2. a) 高分子合成ユニットの1例 b) テンプレート合成の概要 c) 重合反応、PCRによる増幅、strand分離、再重合反応のゲル電気泳動図 (論文より一部改変)

Sequence-Specific Peptide Synthesis by an Artificial Small-Molecule Machine

B. Lewandowski, G. D. Bo, J. W. Ward, M. Pappmeyer, S. Kuschel, M. J. Aldegunde, P. M. E. Gramlich, D. Heckmann, S. M. Goldup, D. M. D'Souza, A. E. Fernandes and D. A. Leigh, *Science*, **339**, 189-193 (2013)

これまでに、様々な機能や動きを示す人工低分子機械が開発されてきました。今回筆者らは、**図3a**に示すロタキサン構造を有する低分子機械を用いて、リボソームが行うペプチド鎖の伸長反応のような、配列特異的なペプチド合成を達成しました。その分子設計は、mRNAのようにペプチド合成の配列を指定する直鎖状分子、リボソームのようなペプチド合成を行う本体であるマクロサイクロ部位の二つの構成要素からなっています。その反応メカニズムは**図3b**に示すように、マクロサイクロ部位のチオールが直鎖状分子のフェニルエステル部位と反応し、チオエステルを形成します。続く、11員環遷移状態の*S-N*アシル転移により、チオール基の再生とペプチド鎖の伸長反応が進行します。この反応の繰り返しにより、6 mer (AlaLeuPheGlyGlyCys)のペプチド合成に成功しています。その構造はNMR、MS/MSにより確認しています。リボソームが1秒当たり15-20のアミド結合を形成するのに対し、今回のロタキサンによるペプチド合成は一つのアミド結合形成に12時間近く要します。また、*S-N*アシル転移の限界が29員環遷移状態であるとされているため、合成できるペプチド鎖の長さには限界があります。しかし、比較的小さな人工分子にもかかわらず、巧みな分子設計により、リボソームが行うようなペプチド合成が実現できた点は非常に価値があるのではないでしょうか。今後、本分子の分子設計を他の分子へ適用することで、新たな人工低分子機械が創出されることを期待したいと思います。



**図3. a)** ロタキサン構造を持つ人工低分子機械の構造 **b)** 人工低分子機械によるペプチド合成の概要 (論文より一部改変)

## 留学体験記

スイス連邦工科大学チューリッヒ校  
(ETH Zürich) 留学体験記*Laboratory of Organic Chemistry**ETH Hönggerberg*

東 佑翼

(azuma@org.chem.ethz.ch)



私は、2012年3月京都大学化学研究所二木史朗教授のもと博士号を取得し、翌4-9月の間、同教授ならびにポツダム大学(University of Potsdam)のKatja Arndt教授の下での博士研究員として研究に従事しました。その後2012年10月より、スイス連邦工科大学チューリッヒ校(ETH Zürich)のDonald Hilvert 教授の下で、博士研究員として勤務しております。まず始めに、今回の海外留学体験記の執筆にあたり、機会を与えてくださった生命化学研究レターの編集委員の皆様、加え本留学に多大なるご支援を下さいました二木史朗先生(京都大学化学研究所教授)に深く感謝申し上げます。本記事が、少しでも皆様の留学の参考になれば幸いです。

## ポジション・フェローシップの獲得

私が博士課程終了後のポジションを探し始めたのは、博士課程2年目のときの2月ごろだったと思います。予てより、博士号取得後は、日本国外で博士研究員として働くことを考えておりましたので、それ以前より、興味のある研究室を探してはおりましたが、具体的に行動を起こしたのはこの頃かと思います。博士研究員として採用されるもっとも確実な方法は、フェローシップを獲得することですので、まずHilvert先生とE-mailでやり取りをしながら、フェローシップ獲得後の受け入れ先となってもらえるかを交渉いたしました。当初は、研究室がいっぱいであることを理由に断られていましたが、何度か交渉を重ね、さらに恩師である畑中保丸先生(富山大学理事・副学長)と二木史朗先生に推薦状を書いていただき、フェローシップを獲得すれば受け入れるという承諾を得ました。その後、幸い上原記念生命科学財団よりリサーチフェローシップの助成を頂けることになり、Hilvert先生の元での就職がおよそ内定いたしました。しかしながら、チューリッヒは世界でも有数の物価の高い街であり(日本の1.5-2倍くらいでしょうか)、フェローシップからの助成だけでは、生活は厳しいと言われました。したがって、フェローシップ獲得後も、その他のフェローシップの獲得や、Hilvert先生にETHの博士研究員の水準給料とフェローシップとの差額を出してもらえるように交渉しなければなりません。給料体制が確定したのは、私がチューリッヒに就任したときでしたので、初めの申し込みから就任まで1年と8ヶ月交渉していました。就任までに、面接を受けるためと、研究内容の打ち合わせのため、2度チューリッヒを訪れました。結局、Hilvert先生が大型の研究費を獲得したため、私の給料の一部を払っていただけることになりました。いろいろと大変な就職活動であったように思いますが、ここまでのポジション獲得の交渉やフェローシップの申請書作成は、非常によい経験となったのではと考えております。

**ETH就任まで**

私の場合、学生時1ヶ月間と学位取得後の3ヶ月間に共同研究としてドイツ・ポツダム大学のArndt先生の下で研究を行う機会を頂いておりました。両渡航及び滞在費は、京都大学G-COEプログラム及び京都大学先端技術グローバルリーダー養成プログラムの助成によるものであり、この場を借りて厚く御礼申し上げます。ここでも受け入れの交渉をしたわけですが、すでに助成金の獲得が決まっていたことと、短期間であったため、了承を得ることができました。この数ヶ月の滞在は、チューリッヒでの生活を始めるための大変良い準備期間となりました。もちろんそれだけではなく、ポツダムでの生活は、私にとってすばらしいものでしたが、今回はそれは割愛させていただきます。このポツダム滞在時にチューリッヒを訪れ、同僚たちから予備情報を得たりすることができました。また、食生活などの文化や言語もチューリッヒと近いものがありました。事実、買い物をするためにチューリッヒから、国境近くのドイツに行く人も珍しくありません。チューリッヒでの住居探しもポツダムから行いました。ありふれた情報かもしれませんが、住居探しは最も難しい関門だと思えます。京都やポツダムで部屋を探すのも簡単ではありませんでしたが、チューリッヒはその比ではないようです。正直、チューリッヒにすでに在住している人からのサポート無しに部屋を探すことはほぼ不可能でしょう。私の場合は、ちょうど引っ越すことが決まっていた同僚の後にアパートを引き継ぎました。それ以外の方法でチューリッヒに部屋を探すことは、大変難しいそうです。滞在に必要な書類の作成などは、Hilvert研究室の秘書さんの指導のもと行いました。渡航までに最も重要なことは、サポートしてくれる現地の人を早く見つけることだと思います。私の場合は、秘書さんたちがとても親切にサポートしてくれましたし、ポツダムでの同僚たちが、いろいろと意見を聞かせてくれたのでとても参考になりました。こうして多くの人の支えもあり、十分に準備をしてチューリッヒでの生活をスタートすることができました。

**Hilvert研究室、ETH Höggerberg**

Hilvert研究室は、ETHチューリッヒ校のHöggerbergキャンパス内にあり、チューリッヒの中心からは少し離れた丘の上にあります。研究室は、化学合成を行う部屋と分子生物学を行う部屋があり、多くの研究機器を研究室が所持しています。現在、11人の博士課程学生と10人の博士研究員、1人のスタッフ研究員が研究に従事しています。これらの人たちは、15の異なる国(スイス、ドイツ、フランス、イタリア、スペイン、オーストリア、ベルギー、スウェーデン、ポーランド、リトアニア、ロシア、アメリカ、イスラエル、タイ、日本)から来ており、非常に国際色豊かな研究室です。実は、インターンや修士課程の学生を除いては、スイス人はほとんどいません。外国人が主で、基本的に人々は英語で話しますので非常に助かっています。メンバーは、合成化学専門、酵素化学専門、構造生物学専門などの人たちの集まりで、お互いの専門を生かして討論しながら幅広い化学を展開しています。多方面からの知識を得られることが、Hilvert研究室の最大の魅力ではないかと考えています。Hilvert研究室の主な研究テーマは、タンパク質の設計です。とりわけ、進化工学的手法を用いた酵素の設計においては、世界でもトップ水準の研究室だと思えます。最近のテーマとしては、カプシドタンパク質の設計、酸化還元酵素の折りたたみ機構、含セレンタンパク質の半化学合成、人工酵素の設計、新しい進化工学的手法の開発などです。私はその中で、カプシドタンパク質の設計に関する仕事をしています。生活や研究のセットアップの末、研究はようやくスタートしたところですが、同僚たちの助けもあり、順調に進んでいます。また、



ETH Höggerberg キャンパスの外観。多くの著名な化学や生物学の研究室が並びます。



同じETH内には、各分野のトップ水準の研究室が並んでおり、お互いに助け合いながら研究を進めています。多国籍であることや、研究設備が非常に整っていること、周囲とのネットワークが豊富なところなどは、ETHのような大きな大学の特徴かもしれません。

## チューリッヒでの生活

### <物価>

チューリッヒでの生活を始めるにあたり、まず最も特筆すべきことは物価の高さです。日本の東京よりもさらに高い街です。ワンルームのアパートの1ヶ月の家賃相場は、10万円からです。食べ物も高く、外食すると軽食でも3000円ほどは使います。大学食堂でも、一食800円から1000円くらいはします。パブでカクテルドリンクなどを頼むと1500円位します。ドイツでの物価の安い生活に慣れ親しんでしまった私にとっては、かなりの衝撃でした。ベルリンでは、当時の円高も助けて、一晩中遊んでも3000円でおつりがきました。

### <気候>

チューリッヒの気候は、お世辞にも良いとは言えません。基本的にはどんよりと曇ったり霧がかかったりしていることが多いです。冬はもちろん非常に寒いですし、雪も降ります。しかしながら、室内は暖房が効いているので、Tシャツで過ごしたりしています。外を歩く時間はわずかですので、意外と日本よりも寒いと感じることは少ないのですが、私だけでしょうか。

### <食事>

未だあまりたくさんのレストランなどを試してはいませんが、個人的にはチューリッヒの食事はあまり素晴らしいとは言えません。個人的には、パンもソーセージも野菜も、あるいは大学の食堂も、ドイツの方がおいしかったように思います。私は通常、昼は大学食堂で、夜は大学食堂か外食するか、あるいは自炊(主にパスタ)するかしています。スイスの料理といえば、チーズフォンデュやラクレットなどを想像されるかもしれませんが、あまり目にしたことがありません。もっぱら、ドイツ料理やイタリア料理のレストランに行くことが多いです。ドイツでは、インド料理やベトナム料理のレストランに行っていました。基本的に外食する際は皆、外国の料理を好むのかもしれませんが、日本食レストランや日本食スーパーも存在しますが、残念ながら私はほとんど行ったことがありません。チューリッヒには、非常にたくさんの日本人の方が在住しています。それらの方々が、ときどき日本食パーティーをやっているのです、恋しくなったら参加するようにしています。

### <言語>

スイスには公用語が4つ(ドイツ語、イタリア語、フランス語、ロマンシュ語)存在し、地域によって話す言葉が変わります。チューリッヒはドイツ語圏内で、人々はドイツ語で生活しています。しかしながら、チューリッヒのドイツ語はなまりが強く、ドイツのドイツ語とは異なることも多いことから、“スイスドイツ語”と呼ばれて区別されています。私はドイツ、スイス生活が一年近くなろうとしているにもかかわらず、全くドイツ語が話せません。しかしながら、多くの場合、スーパーやレストランでは、英語が通じます。ポツダムでもそうでしたが、基本的に人々は流暢な英語を話します。地域や人によっては、英語が通じにくいときもありますが、とりわけ若い人たちは、私が外国人だとわかると英語で話してくれます。しかしながら、スイスでの生活をもっと楽しむためには、やはり現地の言葉を覚えた方が良くと思います。私も現在、ドイツ語を少しずつ勉強していますが、残念ながらドイツ語で会話できる日は



筆者が、ドイツを去る際に友人からプレゼントされたドイツ語とスイス学習アイテム、そしてお金(?)。少しずつ勉強中です。

遠そうです。

#### < 娯楽 >

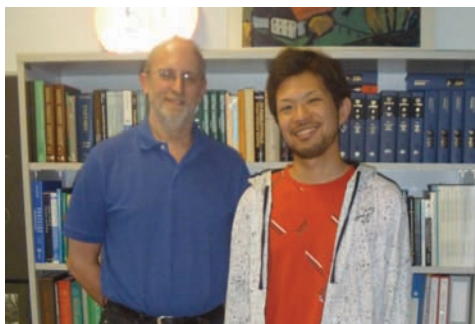
皆さんご存知の通り、スイスは山に囲まれた国で、従って人々の趣味娯楽は、もっぱらハイキングです。ほとんどの人が、趣味はハイキングと答えます。季節のせいもあり、未だハイキングに出かけたことはないのですが、私はスノーボードの愛好家でして、当然のこと冬は雪山に毎週末出かけています。チューリッヒから、電車で約1時間半から2時間くらいで多くのスキーエリアに行くことができます。スノーボードに必要な用具は、すべてスイスの店かオーストリアのウェブサイトで購入しましたが、全体的に日本よりも安いです。交通費やリフト代も日本と同じか少し安いくらいなので、私にとってはとても好都合です。スキー人口も多く、駅では板を担いだ人々を良く見かけます。スイスの雪山から見る景色は、言葉では言い表せないほど素晴らしいものです。スイスに来られた際は、是非一度雪山に登られることを強くお勧めします。私はその他にも、バドミントンをしたり、サッカーをしたり、飲みにいたりしています。日本にいるときの生活と、そんなに変わらないというのが正直なところでしょうか。



スイスの雪山ヘジャンプ。  
実物は写真の何倍も絶景です。

#### 最後に

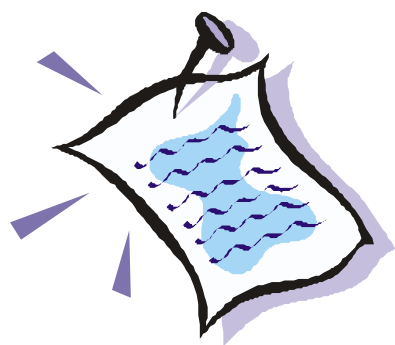
私は現在の生活に非常に満足しております。生活や研究を新しい場所で始めることは楽なことではありませんでしたが、その期間さえ乗り越えれば、楽しいことがたくさんあります。あるいは、自分で楽しみを見つけていくことも可能です。ヨーロッパの人々は楽しみを見つけていくことが非常に上手だと感じます。私はそのようなヨーロッパの人たちの生き方が好きですし、見習おうと思っています。私のスイスでの生活は始まったばかりで、まだ多くを語ることはできませんが、ここに述べさせていただいたことが皆様の何かしらのお役に立てれば幸いです。末筆ながら、渡航及び滞在を支援してくださっている上原記念生命科学財団、また私の受け入れ、研究を支援して下さっているHilvert先生と研究室の同僚たちに深く感謝申し上げます。



Hilvert 先生(左)と筆者(右)、教授室にて



スキー旅行、研究室の同僚たちと



# シンポジウム等会告

## 第7回バイオ関連化学シンポジウム

(第28回生体機能関連化学シンポジウム、第16回バイオテクノロジー部会シンポジウム、  
第16回生命化学研究会シンポジウム、第11回ホスト-ゲスト超分子化学シンポジウム)

<http://jointsympo.csj.jp/>

- 会期** 2013年9月27日(金)~29日(日)
- 会場** 名古屋大学 豊田講堂・野依学术交流館 (名古屋市千草区仁座町1)
- 主催** 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、  
生体機能関連化学・バイオテクノロジーディビジョン、フロンティア生命化学研究会、ホスト-ゲスト・超分子化学研究会
- 共催** 日本薬学会、高分子学会、電気化学会、名古屋リーディングプログラム(IGER)、名古屋大学  
大学院工学研究科
- 協賛** 有機合成化学協会
- 概要** 全国のバイオ関連化学の研究者、学生による研究発表および討論を行い、ペプチド・タンパク質・酵素、分子認識・超分子・モデル系、遺伝子関連など、幅広いバイオ関連化学のための情報交換の場を提供することで、我が国の当該分野の発展に貢献することを目的とする。発表形式は招待講演、一般口頭発表、ポスター発表のいずれかとし、若手研究者の育成のための講演賞の授与も行う。
- 発表形式** 口頭発表およびポスター発表。口頭発表(15分発表、5分質疑、3会場)は原則、1研究室1件まで。ただし、申込みは2件まで可。この場合は、発表優先順位を付け、2件目の採否は実行委員会の判断による。
- 部会講演賞: 生体機能関連化学部会あるいはバイオテクノロジー部会のいずれかの部会員になって1年以上が経過し、受賞時40歳以下の部会員が対象。賞応募申請は発表申込時点で受付を行う。
- 参加要領** WEBサイト(<http://jointsympo.csj.jp/>)から発表申込、予稿原稿の提出、参加登録のすべての手続を行う。
- 発表申込締切: 2013年7月2日(火)
- 予稿原稿締切: 2013年7月26日(金)

参加登録予約申込締切: 2013年8月2日(月)

**参加費**

8月2日(参加登録(予約)締切)まで、部会員:一般5,000円、学生3,000円、非部会員:一般7,000円、学生4,000円

8月3日以降...上記の各参加種別に2,000円プラス

\*いずれの価格にも予稿集代金が含まれています。\*予稿集の事前送本は予定していません。

**懇親会**

2013年9月28日(土) 会費6,000円(当日申込も可能)

**連絡先**

第7回バイオ関連化学シンポジウム実行委員会

浅沼浩之(名古屋大学大学院工学研究科)

TEL: 052-789-2488

E-mail: asanuma@nubio.nagoya-u.ac.jp



## 第 40 回国際核酸化学シンポジウム

The 40<sup>th</sup> International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC2013)

<http://web.apollon.nta.co.jp/ISNAC2013/index.html>

本シンポジウムでは、(1) 新機能を持つ核酸関連分子の化学合成、(2) 核酸関連バイオテクノロジー、(3) 核酸構造に関する物理化学的研究、(4) 機能性核酸の生物機能・医薬応用に関する研究、など核酸化学に関する重要な分野における、最新の成果が発表されます。また、海外から 10 人の招待講演者を招きます。

### 主なトピックス

1. Chemistry of Nucleosides, Nucleotides, and Their Analogues
2. Medicinal Chemistry of Nucleosides and Oligonucleotides
3. DNA/RNA Chemistry and Biochemistry
4. DNA/RNA Structure and Recognition
5. Ribozymes, siRNAs, and miRNAs
6. DNA/RNA Materials and Diagnostics
7. Drug Delivery Systems and Nanotechnology of Oligonucleotides

詳しくは、web site をご覧下さい。

<http://web.apollon.nta.co.jp/ISNAC2013/index.html>

会期：2013 年 11 月 13 日(水)～11 月 15 日(金)

会場：神奈川大学セレストホール（横浜市神奈川区六角橋 3-27-1）

### 参加要領

発表申込：2013 年 6 月 3 日～8 月 9 日（web site から）

要旨提出：2013 年 6 月 3 日～9 月 3 日（web site から）

事前参加登録：2013 年 6 月 3 日～10 月 15 日（web site から）

事前参加登録締切：2012 年 10 月 15 日（月）

参加登録費 一般：予約 25,000 円、当日 30,000 円

学生：予約 5,000 円、当日 7,000 円

連絡先：小野晶（神奈川大学工学部）

E-mail:akiraono@kanagawa-u.ac.jp

**ISNAC 2013**  
The 40th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry

- **Venue:** Kanagawa University, Building 16 (Celest Hall)
- **Period:** November 13 (Wed) – 15 (Fri), 2013
- **Symposium Chair:** Prof. Akira ONO (Kanagawa University)
- **Invited Speakers:**
  - Prof. Bruce Armitage (Carnegie Mellon University, USA)
  - Prof. Huan-I Sung Chang (National Taiwan University, Taiwan)
  - Prof. Matthew David Disney (Georgetown University, USA)
  - Prof. Michal Hocke (Academy of Sciences of the Czech Republic)
  - Prof. F-Ming Hsing (The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong)
  - Prof. Kiyoshi Nagai (RIEC, Laboratory of Molecular Biology, UK)
  - Prof. Erik Rozners (Raghuvaran University, USA)
  - Prof. Roland K. O. Sigel (University of Zurich, Switzerland)
  - Prof. Nicolas Winssinger (University of Geneva, Switzerland)
  - Prof. Yungui Yang (Chinese Academy of Sciences, China)

<Important Dates>

Pre-Symposium Application	June 3 (Wed) – August 9 (Fri), 2013
Abstract Submission	June 3 (Wed) – September 16 (Fri), 2013
Early Registration	June 3 (Wed) – October 15 (Tue), 2013

Visit the following web-site for the detail:  
<http://web.apollon.nta.co.jp/ISNAC2013/index.html>

<http://web.apollon.nta.co.jp/ISNAC2013/index.html>

**第 23 回アンチセンスシンポジウム**  
<http://www.knt.co.jp/ec/2013/antisense/>

**日時** : 2013 年 11 月 28 日 (木) ~ 29 日 (金)

**会場** : 徳島大学大塚講堂 (蔵本キャンパス)

**世話人** : 南川典昭 (徳島大学大学院 HBS 研究部 (薬学系))

**主催** : アンチセンス DNA/RNA 研究会

**共催** : 5 大学附置研究所間「ナノマクロ物質・デバイス・システム創製アライアンス」ほか

**特別講演** : 杉本 直己 先生 (甲南大学)

落谷 孝広 (国立がん研究センター研究所)

**懇親会** : 2013 年 11 月 28 日 (木) (ザ・グランドパレス)

**講演申込** : 2013 年 7 月 16 日 ~ 9 月 30 日

一般演題として口頭発表 (質疑を含めて 15 分程度) とポスター発表を募集します。

**事前参加登録締切** : 2013 年 7 月 16 日 ~ 10 月 31 日

**問い合わせ先** : 第 23 回アンチセンスシンポジウム事務局

徳島大学大学院 HBS 研究部 (薬学系)

e-mail: antisens2013@tokushima-u.ac.jp

発表申し込み及び参加登録方法の詳細、ならびに要旨作成要項についてはシンポジウムホームページ (<http://www.knt.co.jp/ec/2013/antisense/>) をご参照ください。

7th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2013)

November 7–9, 2013

<http://www.kyutech.ac.jp/english/about/map/>

**Venue**

Nakamura Centenary Hall of Kyushu Institute of Technology (Kitakyushu)

**Registration**

Provide the following information: Family name and Given name, Title, Affiliation, Address, Zip code, Tel, Fax, E-mail to Prof. Shinobu Sato (shinobu@che.kyutech.ac.jp) via e-mail, or register at the conference site. Please pay the Registration fee at the conf. site.

Standard members: 30,000 yen; Standard nonmembers: 30,000 yen; Student: 3,000 yen

**Important due dates**

September 1, 2013: Registration

October 1, 2013: Abstract Submission

**Banquet**

Banquet will be held on Friday evening, November 8, 2013 at Cafe de Rouge Blanc, the Centenary Hall of Kyushu Institute of Technology.

Please pay the Banquet fee at the conf. site: 5,000 yen (Student: 3,000 yen)

**Call for papers**

Oral and poster papers are solicited for presentation at this symposium.

Please prepare a one-page A4 abstract according to the format below and e-mail to the following address.

Kyushu Institute of Technology

Shinobu Sato (shinobu@che.kyutech.ac.jp)

\*Formats of the abstract: see the home page

<http://www.nanomedicine-jpn.org/>

**Organizing Committee**

Chair Shigeori TAKENAKA (Kyushu Inst. Tech.)

Tsuneo URISU (Nagoya Univ.)

**Plenary Talk**

Fuyuhiko TAMANOI (UCLA, USA)

**Keynote Speech**

Shunming NIE (Georgia Tech, USA)

Yoshinobu BABA (Nagoya Univ., Japan)



## 第 30 回シクロデキストリンシンポジウム

<http://www.pharm.kumamoto-u.ac.jp/cds30/>

主催：シクロデキストリン学会

共催：日本薬学会、日本化学会、日本薬剤学会、日本農芸化学会、日本分析化学会、日本糖質学会、  
日本応用糖質科学会、日本素材物生学会

協賛：高分子学会

会期：2013年9月12日(木)～9月13日(金)

会場：くまもと県民交流館パレア（熊本市中央区手取本町8番9号）

特別講演（予定）：

- ・シクロデキストリンを用いたスーパージェネリック製剤の構築（崇城大学 DDS 研究所）上釜兼人
- ・シクロデキストリンの超分子化 —その基礎と応用(仮題)（同志社大学理工学部）加納航治
- ・大環状シクロデキストリン —その研究現状と将来の可能性—（星薬科大学）上田晴久

最先端セッション：— 医薬品としてのシクロデキストリン —

- ・ニューマンピック病 C 型に対するシクロデキストリン療法（佐賀大学医学部附属病院）松尾宗明
- ・2-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin の抗白血病効果（佐賀大学医学部附属病院）木村晋也
- ・受精促進化合物としてのシクロデキストリンの利用（熊本大学 生命資源研究・支援センター）竹尾 透
- ・シクロデキストリンの特性を活用した難治性アミロイドーシスの新規治療戦略の構築(仮題)  
（熊本大学医学部附属病院 薬剤部）城野博史
- ・腫瘍細胞選択的抗がん剤としての葉酸修飾シクロデキストリンの有用性評価  
（熊本大学大学院生命科学研究部）本山敬一

懇親会：9月12日(木) 18:30～、鶴屋ホール(鶴屋東館 7F)

事前参加申込締切 8月9日(金)

申込方法、予稿作成要領、参加費、その他詳細は HP をご覧ください。

<http://www.pharm.kumamoto-u.ac.jp/cds30/>

申込・問合せ先：

〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1

熊本大学大学院 生命科学研究部 製剤設計学分野内

第 30 回シクロデキストリンシンポジウム実行委員会

実行委員長 有馬英俊

E-mail: [cds30@kumamoto-u.ac.jp](mailto:cds30@kumamoto-u.ac.jp)

TEL: 096-371-4161, 4168

FAX: 096-371-4420

第30回  
シクロデキストリンシンポジウム・

開催日時: 2013年9月12日(木)・13日(金)  
開催場所: くまもと県民交流館パレア

申込日程: 全額申込〆切: 2013年6月28日 全  
予稿原稿〆切: 2013年7月12日 全  
事前参加申込〆切: 2013年8月9日 全

主催: シクロデキストリン学会・

共催・協賛: 日本化学会、日本薬学会、高分子学会、  
日本薬剤学会、日本農芸化学会、  
日本応用糖質科学会、日本素材物生学会、  
日本分析化学会、日本糖質学会・

大会事務局: 熊本県熊本市中央区大江本町 熊本大学大学院 生命科学研究部 製剤設計学分野内  
〒862-0973 第30回シクロデキストリンシンポジウム実行委員会  
実行委員長: 有馬英俊 E-mail: [cds30@kumamoto-u.ac.jp](mailto:cds30@kumamoto-u.ac.jp) TEL: 096-371-4161, 4168





## 受賞

今西 未来(京都大学化学研究所 助教)

平成25年度 文部科学大臣表彰 若手科学者賞

「細胞機能を制御する人工DNA結合タンパク質デザインの研究」

(2013年4月16日)

## 異動

大神田 淳子

京都大学化学研究所 生体機能化学研究系ケミカルバイオロジー領域 准教授

〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄

Tel: 0774-38-3242 Fax: 0774-38-3226

E-mail: johkanda@sci.kyoto-u.ac.jp





## 編集後記

今年も力作ぞろいの夏号(No. 42)をお届けすることができてホッとしています。お忙しい中、執筆して下さいました皆さんには心からお礼申し上げます。

私事ですが、最近、学内のある会議をペーパーレス化することと、議長の鶴の一声で会議のメンバー全員(10人程度)にiPadが配られました。初代機を自宅に持ってはいたものの、これまで仕事では使っていませんでした。二本の指でパッと拡大できる機能は、最近とみに小さな文字が苦手になってきた身には有り難いことこの上なし。幾つかの便利なアプリとクラウドを駆使すれば、iPadはガジェット好きでなくても無理なく仕事で使える便利な文房具でした。この42号の編集作業でも大いに役立ってくれました。会議のペーパーレス化にどれほどのメリット(費用対効果の意味で)があるか、個人的にはやや懐疑的ですが、この素晴らしい大人の文房具に気付かせてもらったことにたいへん感謝してます。...どーでもいい話ですみません。

いま、西日本は大雨です。しばらくすると本格的な夏を迎えますが、皆さんどうかご自愛下さい。次号は10月頃、松浦さんの編集で発行予定です。ニュースレター改善のため、皆さんからのご要望、ご意見等をお待ちしております。下記編集担当までご連絡をいただければ幸いです。

平成25年7月3日

井原敏博  
熊本大学大学院自然科学研究科  
(toshi@chem.kumamoto-u.ac.jp)

編集担当  
大神田淳子(京都大学)  
松浦和則(鳥取大学)