



気になった論文

有賀 克彦（ありが かつひこ） 奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科 助教授
kariga@ms.aist-nara.ac.jp

研究内容が面白いものはたくさんあるけれど、その中からは発想の豊かさや展開や連想の巧みさに惹かれたものを選んで、挙げてみた。

Assembly of Mesoscopic Analogues of Nucleic Acids

Marcus Weck, Insung S. Choi, Noo Li Jeon, and George M. Whitesides

J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 3546-3547.

Whitesides らは親水面と疎水面を持つサブミリ程度の大きさのピースを水面上に浮かべると、疎水面同士を張り合わせるにより特異的な集合パターンが形成されることを示してきた。本論文では、疎水面がかぎと鍵穴のようなペアになる 2 種類の組み合わせをつくり（これが、G-C, A-T ペアに相当）それを一次元的につないだ鎖（核酸に相当）を作製して、これらが、認識しあって自己会合する様子を見出している。水素結合による分子認識を”疎水面がぴったり合うことによる会合”に置き換えて、目で見えるハイブリダイゼーションを実現しているのである。内容的には、過去の一連の研究の延長にすぎないが、核酸になぞらえる着想に、なんともいえないセンスを感じさせる。物の本質解明もこのように、全く異なるものの共通原理を見出すところにあるのかもしれない。

Proof-of-Principle of Molecular-Scale Arithmetic

A. Prasanna de Silva and Nathan D. McClenaghan

J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 3965-3966.

二種類の刺激に対して発光したり変光したりする分子については、前から研究例がいくつもある。ここでは、Ca イオンとプロトンの添加に対して発光する二種類の分子を取り上げている。これらは、Ca イオンとプロトンの添加に対して、特徴的なスペクトル変化を示し、波長を選ぶことによって AND 型の出力（両刺激があるときのみ出力する）と XOR 型の出力（刺激が片方の場合にのみ出力する）が得られる。ロジック回路としては、これらの機能を兼ね備えたものがあれば、計算ができることになる。Ca イオンやプロトンの添加を 01 とし、不添加を 00 とする。また、出力として AND 型の出力を一桁目に、XOR 型の出力を二桁目にすると、下記の数式が組み立てられる。

$00 + 00 = 00$ （Ca イオンとプロトンを加えないと両出力ともない）

$01 + 00 = 01$ （Ca イオンだけ加えると、XOR のみ主力）

$00 + 01 = 01$ （プロトンだけ加えると、XOR のみ主力）

$01 + 01 = 10$ （両方とも加えると、AND のみ出力）

これらを十進法で表すと、 $0 + 0 = 0$, $1 + 0 = 1$, $0 + 1 = 1$, $1 + 1 = 2$ となる。著者は、最後に Children learn that $1 + 1 = 2$ via molecular-based process in their brains. It is remarkable that molecules 2 and 4 now know that too."（ここで、molecules 2 と 4 は用いた化合物）と締めくくっている。この締めくくり方も、センス。

有機化合物で錬金術！？ - 金属光沢をもつ結晶の発見 -

小倉克之

化学, 2000, 55, 40-43.

解説記事であるし、背景については詳しく知らないのですが、新規な報告として紹介すべきかどうか判断しかねるが、見た目に非常にインパクトがあった。金属のようにきらめく結晶と、新しい分子間相互作用に対する洞察に。

円谷 健(つむらや たけし) 生物分子工学研究所・主任研究員

tsumu@beri.co.jp

Characterization of Proton-Transfer Catalysis by Serum Albumins

Florian Hollfelder, Anthony J. Kirby, Dan S. Tawfik, Kazuya Kikuchi, and Donald Hilvert

J. Am. Chem. Soc. **2000**, 122, 1022-1029.

この論文は、5-nitrobenzisoazole の Kemp 脱離反応の各種アルブミンによる触媒反応についてメカニズムを含めた詳細を報告したものです。もちろん、このような Kemp 脱離はアルブミンの本来持っている機能とは全く関係のないものですが、タンパク質は酸性、塩基性アミノ酸残基を持っているので、全く予期しない反応を触媒する事もあるという点で、触媒抗体のような人工酵素を扱っているものとしては気をつけなければならないと思いました。ちなみに、アルブミンの触媒反応は Hilvert らが 1995 年に Nature へ報告した Kemp 脱離反応の触媒抗体(Large rate accelerations in antibody catalysis by strategic use of haptenic charge D. Hilvert, *et. al. Nature* **1995**, 373, 228)に対して Tawfik らにより翌年の Nature にアルブミンでも同様の反応が触媒され、Hilvert らの触媒抗体は遷移状態の安定化ではなくいわゆる medium effect で反応を触媒すると報告された(Off-the-shelf proteins that rival tailor-made antibodies as catalysts D. S. Tawfik, *et. al. Nature* **1996**, 383, 60)のが最初です。その後、Hilvert らが反論の論文を *J. Am. Chem. Soc.* に発表し(Albumin-Catalyzed Proton Transfer D. Hilvert, *et. al. J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 8184)、今回、この二つのグループが共同で論文を出してきたものです。結局、effective molarity の比較から、触媒抗体には遷移状態の特異的な溶媒和による安定化があるものと結論されています。

Using antibody catalysis to study the outcome of multiple evolutionary trials of a chemical task

Amelie Karlstrom, Guofu Zhong, Christoph Rader, Nicholas A. Larsen, Andreas Heine, Roberta Fuller, Benjamin List, Fujie Tanaka, Ian A. Wilson, Carlos F. Barbas III, Richard A. Lerner

Proc. Natl. Acad. Sci. USA **2000**, 97, 3878-3883.

この論文は最近、Barbas、Lerner らが精力的に研究している reactive immunization を用いたアルドラーゼ触媒抗体が免疫系でどのように生成してきたのかを報告しているものです。2種類のハプテンを用いて作製した触媒抗体はいずれも、H93 に pK_a の低い反応性の高いリジンが存在し、しかも、このリジンは元々の germ-line にあったものではなく、体細胞高頻度変異によって導入されたものであることが明らかにされました。著者らはこの過程を酵素における evolution と関連付けて論じています。

Directed evolution of new catalytic activity using the β -barrel scaffold

Myriam M. Altamirano, Jonathan M. Blackburn, Cristina Aguayo, and Alan R. Fersht

Nature **2000**, 403, 617-621

β -バレル構造をもつタンパク質はこれまで in vitro evolution によって新たな機能を作るために非常に有用な scaffold であると考えられてきました。今回、Alan Fersht らは β -バレル構造を持つ IGPS とい

タンパク質を rational design、*in vitro* mutation、recombination、*in vivo* selection の4つを組み合わせることにより全く新しい機能を構築することに成功しました。今回 Ferst らが使った directed evolution は天然には起こらないルートによってより効率的な酵素を作れるため、タンパク質工学にとって大きな進歩と考えられます。

麻生 真理子 (あそう まりこ) 九州大学大学院・薬学研究科・薬物分子設計学分野 助手
aso@lyra.phar.kyushu-u.ac.jp

以下の論文を紹介させていただきます。

Mimicking the Structure and Function of DNA: Insights into DNA Stability and Replication
E. T. Kool, J. C. Morales, and K. M. Guckian,
Angew. Chem. Int. Ed. 2000, 39, 990-1009.

水素結合による塩基対をつくらない nonpolar nucleoside isosteres を用いた DNA の構造と機能についての研究 (総説) 安定なDNA 二本鎖形成に重要なaromatic stacking へのhydrophobic effect、solvation effect の寄与(関連論文 ; J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 2213-2222.)、DNA polymerase の DNA 複製時における相補的塩基の認識機構(核酸塩基への水和の効果)等が述べられている。水素結合を形成しない nonpolar nucleoside 同士の塩基対形成 (genetic alphabet) ができるでしょうか？

-Helical Peptide Nucleic Acids (PNA): A New Paradigm for DNA-Binding Molecules
P. Garner, S. Dey, and Y. Huang.
J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 2405-2406.

-helical peptide 構造を scaffold として規則的に配置したセリン残基に核酸塩基をつなげた PNA が相補的 DNA に塩基配列選択的に高い親和性を示した。backbone にリジン残基を含む PNA C₅(b2) (b2= Ac-Cys^{Acm}-Lys-(Ser^B-Ala₂-Lys)₄-Ser^B-Gly-Lys-NH₂)は d(TA₃G₅A₃T)と C≡G の base pair により安定な PNA・DNA complex を形成し、対応する DNA・DNA duplex より 35 度高い T_m 値を示した。

Stability-Activity Relationships of a Family of G-tetrad Forming Oligonucleotides as Potent HIV Inhibitors. A Basis for Anti-HIV Drug Design.
N. Jing, E. DeClerck, R. F. Rando, L. Pallansch, C. L.-Smith, S. Lee, and M. E. Hogan
J. Biol. Chem. 2000, 275, 3421-3430.

HIV 遺伝子の宿主 DNA への組み込みに必要な酵素インテグラー - ゼは G-tetrad を形成する oligonucleotides により micromolar のオ - ダ - でその活性が阻害される。この論文ではその阻害活性と G-tetrad 構造の安定性との関係が報告されている。oligonucleotide の酵素 N 末端 Zinc Finger 領域への結合、酵素の活性中心付近のリジン残基へ静電的結合等が阻害機構として提案されている。

坂本 寛 (さかもと ひろし) 久留米大学・医学部 助手
sakamoto@med.kurume-u.ac.jp

Crystal structure of human heme oxygenase-1

D. J. Schuller, A. Wilks, P. R. Ortiz de Montellano, and T. L. Poulos

Nature Struct. Biol., **6**, 860-867, 1999

ヘムオキシゲナーゼ (HO) はヘム分解系の中心的酵素である。遊離のヘムはHOに基質として取り込まれ、自己触媒的にO₂を活性化し3段階の反応をへてビリベルジンにまで開環される。ビリベルジンはさらに別酵素によって還元されビリルビンとなる。近年、ヘム分解は単なる異化反応としてではなく、酸化ストレスに対する生体防御機構として捉えられている。また、ヘム分解はFeとCOの生成を伴うが、生理的にCOが生成されるのはこのHO反応だけである。最近ではCOにNO同様のガス状メディエーターとしての機能が見出されつつある。私の現在のテーマはこのHO反応機構の解明である。初めてヘム分解反応を知ったときなんと変な反応かと驚き、「滅びの美学」すら感じたのだが、後に生化学の教科書ならどんな本にも載っていることを知り、自分の無知にも驚いた。

この論文でヒトHO-1のヘム複合体の結晶構造が初めて明らかになった。HOはヘリックス主体の構造でヘムはproximal、distal両側のヘリックスで挟まれていた。proximal ligandはHis25と予想通りであったが、distal側にはミオグロビンなどに見られるHisが無く、H₂O分子がぼつんと一つあり、最も近接していたのはGly139とGly143であった。ヘム分解の -meso特異性はヘム近傍の構造で説明できるが、O₂の活性化については謎が残った。

Crystal structure of rat heme oxygenase-1 in complex with heme

M. Sugishima, Y. Omata, Y. Kakuta, H. Sakamoto, M. Noguchi, and K. Fukuyama

FEBS Lett. **417**, 61-66, 2000

実は我々もHOの結晶解析を進めていたが、結果的に上記論文に先を越される形となった。ヒトとラットの違いがあるものの全体の構造はほぼ一致していた。しかし、heme近傍のGly残基の位置が異っていた。上記構造では2つのGly残基ともヘム鉄上のH₂Oと水素結合するには離れすぎていたが、我々の構造ではGly139 carbonylとGly143 amideが水素結合するのに充分近い距離にあった。これに基づきHO反応の活性酸素種と目されているhydroperoxy-ferric formの形成機構を考え、まずはreviewersの意見を伺うつもりで投稿したところ、しばらくしてゲラ刷りが送られてきた。速報誌の恐ろしいところである。

Hydroperoxy-Heme Oxygenase Generated by Cryoreduction Catalyzes the Formation of -meso-Hydroxyheme as Detected by EPR and ENDOR

R. M. Davydov, T. Yoshida, M. Ikeda-Saito, and B. M. Hoffman

J. Am. Chem. Soc. **121**, 10656-10657, 1999

上述のようにHOではP450で提唱されているoxo-ferryl formではなく、hydroperoxy-ferric formを経て反応が進行するといわれている。これを見事に捕らえ、さらにヘム分解第1中間体 -ヒドロキシヘムが形成されることを初めて報告した画期的な論文。自分も早くこのレベルに追いつきたいと願いつつ、学部時代から開いたことのなかった無機化学の本をひも解く毎日である。

山岡 哲二 (やまおか てつじ) 京都工芸繊維大学・繊維学部・高分子学科 講師
yamtet@ipc.kit.ac.jp

Retinal stem cells in the adult mammalian eye

Vincent Tropepe, Brenda L. K. Coles, Bernard J. Chiasson, D. Jonathan, Horsford, Andrew J. Elia, Roderick R. McInnes, and Deek van der Kooy

Science, **287**, 2032-2036 (2000)

最近、再生医学や再生医療という言葉をよく耳にします。実験医学 (羊土社) と細胞工学 (秀潤社)

が本年3月号で揃ってこのテーマを特集し、テレビでも最近いくつかの特集番組が組まれています。しかし、これらの内容はその切り口が大きく異なっており、テレビなどでは工学サイドからのアプローチが中心となっているように感じます。これは1980年代終盤に組織工学として提唱されたもので、生体内分解性の不織布などに細胞を播種し、培養後に生体内への埋入を行うことで3次元構築された再生組織を得る手法です。一方、上述の雑誌等の特集は生物学的な研究が中心です。発生学として古くから精力的に進められた細胞や組織の分化・増殖から波及してきたもので、最近、次々に見いだされている幹細胞 (Stem Cell) が大きな注目を集めています。我々の細胞は十分に分化した後は未分化の状態に戻ることは極めて困難なことが多く、言い換えれば不可が逆的な分化をするわけです。しかし、初期胚だけでなく成人の組織にも様々な細胞に分化する能力を有する幹細胞の存在が見いだされてきたのです (これは全能性を有する細胞とよばれます)。本論文はアダルトの眼球から網膜幹細胞が見いだされたことを報告する論文で、網膜組織再生への可能性を秘めています。今後、生物学と工学との両輪の研究の融合が待たれるところです。

Reversal of insulin-dependent diabetes using islet generated in vitro from pancreatic stem cells
Vijayakumar K. Ramiya, Mickael Maraist, Kari E. Arfors, Desmond A. Schatz, Ammon B. Peck,
and Janet G. Cormelius

Nature Medicine, 6(3) 278-282 (2000)

上述の再生医学に関して、マウスを用いた動物実験を行った報告です。糖尿病の一つの原因が膵臓のランゲルハンス島の細胞が分泌するインスリンの不足にあることは良く知られています。一方、成熟した哺乳類のランゲルハンス島は既に増殖脳を失っていますから、重い糖尿病患者はインスリンの投与をしなければなりません。ランゲルハンス島の移植に関する研究も多くされていますが、ドナー不足が最大の問題で、様々な免疫隔離膜を用いた異種移植も精力的に研究されています。この論文では、ランゲルハンス島の酵素処理により得た幹細胞からランゲルハンス島様に構造化させる培養条件を見だし、得られた再生ランゲルハンス島を糖尿病マウスへ移植することで約2ヶ月にわたる血糖値の改善を報告しています。

DNA delivery systems based on complexes of DNA with synthetic polycations and their copolymers

D. Oupicky, C. Konak, K. Ulbrich, M. A. Wolfert, and L. W. Seymour

J. Controlled Release, 65, 149-171 (2000)

昨年米ペンシルバニア大学で遺伝子治療を受けた患者が死亡しました。米国で承認されている遺伝子治療プロトコルの90%近くがウィルスベクターによる外来遺伝子の導入を行っているにもかかわらず、この死亡例の原因が、遺伝子組み替えアデノウィルスに対する免疫反応が原因であると見られたことは大きな衝撃でした。米国FDA (米食品医薬品局) は、適切な手続きを取っていなかった同大学の遺伝子治療臨床研究を全面停止し、全国の遺伝子治療の臨床試験の見直しに入りました。従来より、ウィルスベクターの危険性を唱える研究者がおり、そのために非ウィルスベクターの研究も精力的に行われていました。実際に、米国では10%程度のプロトコルでカチオン性リポソームがベクターとして使用されています。本論文の著者であるセイモア博士らはカチオン性高分子をベクターとするべく精力的に研究を進めている一人です。多くの研究者が遺伝子導入効率の高さを競っている中で、セイモア博士はキャリアーの化学構造や、DNA分子との複合体の物理化学的性質に注目して研究を進める数少ない研究者です。ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミドを一成分とする様々な共重合体を遺伝子キャリアーとして使い、キャリアー/DNA複合体のサイズ、密度、表面電化などが遺伝子導入効率に及ぼす影響について検討しています。