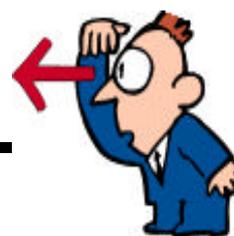




# 生命化学研究レター



No. 3 (1999 年 12 月)

## 生命化学研究会の発展的飛躍について考える

三原 久和 (東工大生命理工)

生命化学研究会が 1998 年度に発足し、2000 年 3 月から早 3 年目を迎えます。20 世紀から 21 世紀へ、第 1 千年紀から第 2 千年紀にまたがる幸運な会です。研究レター No.1 にもあるように、本会は“「生命及び生体分子が関与する化学」を基礎から応用にわたり広く研究・展開し、関連学問ならびに利用技術の一層の発展を計るため、研究発表・討論等の場を提供し、化学会のみならず農学・薬学・医学等広範囲の分野において相互に交流する機会をつくること”を目的としています。この目的に添って、生命化学研究会シンポジウムを各回ごとに主題をもうけて開催しています。第 1 回の岡崎 (塩谷さん) では Bio-inspired Molecular Architecture、第 2 回の大阪 (藤井さん) では Toward Tailoring the Functions of Biomolecules と題し、招待講演者のレクチャーおよび討論により、生命化学研究会の特長を出しております。また、シンポジウムの一般発表 (ポスター) では、タイトルを動的なものとし (HP 参照) 「研究が何をねらっているのか! を明確にする」という他にはない新規の試みも行っています。

次千年紀に突入しようとしています。発足時の会員皆様の思想を反映し、研究会の名称が決定されました。しかし、「生命化学」という冠がもつ趣旨は非常に広大なものです。日本化学会研究会の前身となる 3 回のフォーラムのときから、集まる理由は“数年先をとらえる知恵を獲得するために”でした。もちろん「生命化学」領域においてです。研究レター No.1 (杉本会長) にある「2001 年春の 21 世紀の到来とともに、生命化学研究会の発展的飛躍を成し遂げる」ための研究会の“テーマ”を求め、積極的に会員間で知恵を絞ろうと思います。来世紀は、ゲノミクス、プロテオミクスを含め、バイオミクス (生命情報) の時代といわれています。いったい何が起こるのでしょうか。化学屋として、基礎あるいは応用指向にかかわらず大なり小なりこの大きな潮に流されるでしょう。我々は分子および分子組織体の構築を行っています。また生体分子の秘密を解き、自在に利用する術を探っています。上カット (二木さん作成) の中年にさしかかった? おじさんは、扉の向こうに何を見ているのでしょうか? それを探る知恵を得るための議論を新千年紀の大阪でお願いいたします。若くてヘテロな集団の本会は、今までになく「改革的でわがままな会」でいいのだと思っています。「ノック」アウトされない新規のアイデアを練り、発信しましょう。

(みはら ひさかず : hmihara@bio.titech.ac.jp)

## アメリカ留学体験記

長瀬 剛 (ながせ つよし)  
九州大学大学院工学研究科 物質創造工学専攻  
新海研究室 博士後期課程2年  
E-mail: nagatcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp



今年の4月から10月まで半年間、アメリカのミシガン州デトロイトのWayne State University 化学科、S.Mobashery教授のもとで、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤の合成研究を行ってきました。ここでは、その半年間の体験や感じたことなどを簡単に紹介したいと思います。

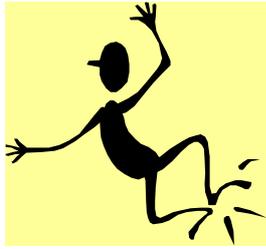
**デトロイト** デトロイトといえば、おそらく多くの人が自動車の町というイメージをお持ちだと思います。その通り、デトロイトは古くから最近まで大手の自動車産業が拠点をおいています。しかしながら、数十年前にダウンタウンで黒人が暴動を起こして以来、ダウンタウンの人口の80%は黒人というちょっと危険な雰囲気漂う街に変貌しました。WSUはそのダウンタウンのど真ん中に位置しておりまして、最初に到着したときにはその危険な雰囲気に驚きを隠せませんでした。改めて日本の安全さを痛感しつつ、日々生活を営んでおりました。余談ですが、デトロイトタイガースの木田と帰りの飛行機が一緒でした。

**英語** やはり、アメリカに行って大変だったのは英語です。私は、アメリカに行く準備としてヒアリングを気持ち程度やっただけでしたが、英語は思ったよりも大変で、まずはそのスピードについていけません。最初は、なんどもなんども、懲りずに相手に聞き返していたのをよく覚えています。結局、半年間滞在してみて、英語が上達する上で必要なのは、まずひたすら英語を聞き続けること、そして論文を読むことだと思います。最初はなにもわからなくてもいいですから、ひたすら耳を傾け続け、そうしてうちに何となく彼らのいっていることがわかるようになってきます。しゃべっている英語が分かるようになって、彼らがいっつも使っているフレーズ覚えて使えるようになるので、そうすることで英語が身に付いていくのではないかと思います。ちなみに私は、3 - 4ヶ月後にやっと聞こえるようになって、調子に乗ってきたと喜んでるうちに日本に帰ってきました。やはり、1 - 2年程度の滞在が英語を身につける上でも、研究をする上でもベターのように感じます。それから、日常会話をする上でのちょっとした言い回しがたくさん書いてあり、私がアメリカにいたときにとても重宝した本<sup>1)</sup>を紹介します。

**研究** 私のいたWSUでは、研究をする上でとても便利なシステムがいくつかあったので紹介します。まず、Pailshutin-Crossfireという合成検索ソフトです。Pailshutinは御存じ合成法の検索書ではありますが、その情報をPC上で簡単に検索できるというものです。調べ方はきわめて簡単で、自分が作りたい構造をソフト上で描いて検索ボタンを押すだけです。すると目的骨格を得るための合成例を論文とともに表示してくれます。これは有機合成をする上で、調べものをする時間をかなり短縮し、かついい合成の勉強になります。もう一つは、Electric Journalです。普段、文献を調べるときはたいてい図書館に行って雑誌を探してコピーをするというのが今までの文献検索法ですが、E-journalはネット上で調べたい論文を読むことができるというものです。WSUの場合、大学の図書館がたいていの雑誌のE-journal購読料を支払っており、学内の端末からならどこからでも文献をPDFファイルとして取り出すことができます。当然、それをPCから印刷すれば論文を紙面上でよむことができます。以上の2つの例が示すように、情報検索システムがかなり効率化されていたと思います。研究はスピード勝負なところもあるので、日本でもこれからはこのような情報検索システムを積極的に取り入れていく必要があると思います。次に、アメリカの研究室の組織についてですが、日本に少ないシステムであるポスドクの多さには目を見張るものがありました。ポスドクの方は自分の得意分野をベースにして多くの知識や技術を携えており、それらの方々の実験をみたり、一緒に研究の話をするのは大変いい刺激になりました。日本の研究室もポスドクがもっと増えれば、学生にとっていい勉強になり、研究室もより活性化されるのではないかと思います。

最後に、私がアメリカでやった研究を簡単に紹介します。菌の抗生物質耐性の主な原因は、 $\beta$ -ラクタム系の抗生物質を加水分解する酵素「 $\beta$ -ラクタマーゼ」であります。私は、これまでにない阻害機構を持った $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤の合成研究を行ってきました。この研究では、この $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤を設計する上でコンピュータモデリングを用いるのが特徴的です。--- 留学経験は自分にとって研究と人生のいい勉強になりました。まだまだ未熟者の私ですが、皆さんどうぞよろしくお願いします。---

参考図書 1) 英会話とっさのひとこと辞典、巽一朗、巽スカイ・ヘザー/著、DHC (2400円)



## 気になった論文

馬場 嘉信 (ばば よしのぶ) 徳島大学薬学部教授・CREST  
ymttbaba@ph.tokushima-u.ac.jp

### Whole-Genome Shotgun Optical Mapping of *Deinococcus radiodurans*

Jieyi Lin, Rong Qi, Christopher Aston, Junping Jing, Thomas S. Anantharaman, Bud Mishra, Owen White, Michael J. Daly, Kenneth W. Minton, J. Craig Venter, and David C. Schwartz  
Science 1999, 285: 1558-1562.

C. Cantor の学生として、パルスフィールドゲル電気泳動を開発して華々しくデビューした D.C. Schwartz が、彼自身が創り出した Optical Mapping (蛍光顕微鏡観察下で、蛍光ラベルした DNA を引き延ばし、制限酵素を働かせ、1 分子 DNA レベルでリアルタイムに物理的マッピングを行う方法) を用いて、全ゲノムレベルでマッピングに成功した例である。マイクロアレイ (DNA チップ) とあわせて、ついに、ゲノム-ワイドマッピングですら、電気泳動を使わない日がやってくるようになった。

### Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics

William E. Evans and Mary V. Relling  
Science 1999; 286: 487-491.

Pharmacogenomics (日本語では、ファーマコジェノミクスとかゲノム薬理学とか呼ばれる) について、非常によくまとめた総説である。薬学部の教授でありながら、薬のことは何も知らないとい頃言われている私にとって、非常に勉強になる総説である。ファーマコジェノミクスは、そのターゲットがはっきりしているために、ポスト・ゲノムシーケンシング時代にゲノム創薬・オーダーメイド医療を実現していく上で、最初に集中的に研究が進むであろう分野である。

### Multiple Ink Nanolithography: Toward a Multiple-Pen Nano-Plotter

Seunghun Hong, Jin Zhu, and Chad A. Mirkin  
Science 1999; 286: 523-525.

コンピュータの半導体集積化の進歩によって生まれてきた超微細加工技術は、マイクロからナノ領域に突入し、化合物と同程度のサイズにまで近づいてきた。この分野では、Harvard の G.M. Whitesides が有名だが、このグループは、AFM のプローブを巧みに使って、ナノプロッターを実現している。近い将来、ナノケミストリーとナノファブリケーションの融合が、新しい研究領域を生み出すものと期待される。

### Field-Effect Flow Control for Microfabricated Fluidic Networks

Richard B. M. Schasfoort, Stefan Schlautmann, Jan Hendrikse, and Albert van den Berg  
Science 1999; 286: 942-945.

私の友人であり共同研究者でもある、A. van den Berg 教授が、コンビナトリアルケミストリーのマイクロ化をねらって、マイクロチャンネル中の微量溶液の流れを外部電場で、自由に制御することに成功した論文である。マイクロチャンネルの作成には、一般的に、基盤にマイクロサイズの溝を掘って、上からふたをするという手法が使われるが、彼は、全く異なる方法で、Fig. 3 のようなユニー

クな溝を作ることに世界で最初に成功した。しかも、現在、ナノリッターオーダーの溶液を流すマイクロチャンネルのネットワークを作り、今回成功した流れのコントロールを使って、コンビナトリアルケミストリーに挑戦している。

深瀬 浩一（ふかせ こういち） 大阪大学大学院理学研究科助教授  
koichi@chem.sci.osaka-u.ac.jp

On the Meaning of Affinity: Cluster Glycoside Effects and Concanavalin A

Sarah M. Dimick, Steven C. Powell, Stephen A. McMahon, Davina N. Moothoo, James H. Naismith,\* and Eric J. Toone\*

J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 10286-10296

糖鎖は細胞分化、神経機能、細胞接着、炎症、癌の転移、などに関わっており、インフルエンザウイルス、コレラ毒素、ペロ毒素、大腸菌線毛のレセプターが糖あるいは糖鎖であること、細胞表面の硫酸化多糖プロテオグリカンは細胞増殖因子や酵素などの様々な蛋白質と結合しその活性を制御していること、高等動物の免疫系を活性化する細菌表面複合糖質が存在すること等、いろいろな機能を有している。細胞表面は糖鎖で覆われているので、細胞認識に関与した機能を有するのは不思議ではない（もともとは細胞表面の水分保持とか環境から細胞表面を守るといった物理的な機能か？）。ところが糖鎖-蛋白質の相互作用については、レクチン（=酵素以外の糖認識蛋白質の総称）と単純な糖についても、まだ認識の機構はよくわかっていないのが現状だ。一般に糖鎖-蛋白質の相互作用は弱い、複数の結合サイトを有する糖鎖リガンドと多価レクチンとの間での多点間相互作用でこれを補っている（糖鎖のクラスター効果）（ほとんどのレクチンは、モノマーでは存在せず、オリゴマーを形成する）。報告ではアフィニティーが 10 倍から 10 の 5 乗倍、中には 10 の 9 乗倍に達した例もある。ところがクラスター効果の物理化学的意義について詳細な解析はされていない。多糖や蛋白質のような大きな分子では、多価と多価の相互作用は、2 分子間にはとどまらず、どうしても多分子間の相互作用になる（aggregation が起こる、レクチン-多糖相互作用では沈殿が生成するが、この現象は agglutination と呼ばれる）。したがって解析は難しい。

この論文で用いられている Concanavalin A はマンノース認識レクチンとしてよく知られており、最もよく研究されているレクチンである。Concanavalin A のモノマーは分子量が 26000 で単一の糖認識ドメインを有する。pH によってダイマーあるいはテトラマーとして存在する。（前置きが長くてすいません。ここからが紹介。）

さてこの論文であるが、さてこの論文であるが、単価、二価、三価、四価、六価のマンノースリガンドを化学合成し、Concanavalin A との相互作用をマイクロカロリーメトリー、agglutination の阻害活性を用いて解析している。agglutination の IC50 は、単糖に換算すると、単価、二価、三価では数 100 マイクロ M であるが、四価、六価では数 10 マイクロ M であり、明らかなクラスター効果を示す。ところがマイクロカロリーメトリーから求めた自由エネルギー変化（デルタ G）はどれも似た値を示した。これはどういうことか？エンタルピー項とエントロピー項もおもしろい。クラスター効果を示したものは、そうでないものに比べてエントロピー項の寄与が大きい。これらの結果は何を示しているのか？

この論文ではその他に Concanavalin A とこれら多価リガンドの複合体が結晶化したこと、二価、三価リガンドでは X 線結晶解析の結果も報告されている。まだまだ糖鎖の関与する認識はわかっていないことが多く、だからこそおもしろい。

Fluorous Synthesis with Fewer Fluorines (Light Fluorous Synthesis): Separation of Tagged

from Untagged Products by Solid-Phase Extraction with Fluorous Reverse-Phase Silica Gel

Dennis P. Curran\* and Zhiyong Luo

J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 9069-9072

最近の固相合成の発展は著しく、コンビナトリアルケミストリーの発展を合成面から支えてきたのは良く知られていることだと思う。一言でいって固相合成の長所は、反応後の処理において固相樹脂を濾過するだけで、過剰の反応剤や固相担体ポリマーに結合していない副生成物を速やかに除去できる点にある。固相合成では抽出やクロマトグラフィーなどの操作を必要としないために、High Throughput Synthesis (=迅速合成)が可能となる。しかしながら固相合成の問題点は、「液相合成の反応条件全てを固相合成に適用できるわけではないこと、液相合成に比べて反応速度が遅いこと、TLC や HPLC のような簡便な反応のモニター法がないこと、中間体の精製が不可能であること」などである。

そこで最近液相合成と固相合成のハイブリッド手法が検討されるようになった。Janda によって見出されたポリエチレングリコール (PEG) を担体に用いたポリマー担持液相合成では、反応は溶液中で行うが、エーテルを反応溶液に加えると PEG は沈殿するので、固相合成と同様に濾過によって不要な化合物を速やかに除くことが可能である。この方法でも中間体の精製は不可能であり、TLC や HPLC を反応のモニターには使えない。Curran らのフルオラス合成では、化合物に長鎖フッ化アルカン Tag として結合させ、有機相とフルオラス相 (=フッ化溶媒相) の液々分配によって、目的物のみをフルオラス相に抽出する (Tag を持っていない過剰の反応剤などは有機相に抽出される)。任意の時点でクロマトグラフィーなどを用いることで中間体の精製が可能であり、反応のモニターも容易である。液々分配を行う必要があることがやや煩雑な点かと思う。またフルオラス相 に効率的に抽出するためには 60-120 個程度のフッ素原子が必要であり、この点もやっかいである。

さて今回の Curran らの報告はフルオラス合成の新技术で、液々分配の代わりに、フッ化アルカン担持させたフルオラス逆相シリカゲルカラムに固相抽出を行おうというものである。フルオラス Tag としてはフッ素が 20 原子程度で十分であり、80% MeOH を溶出溶媒に用いることで Tag を持った化合物は吸着され、それ以外は洗い流される。溶出溶媒を CH<sub>3</sub>CN に変えることで目的物が溶出される。(フルオラス逆相クロマトグラフィーを用いるとフッ化アルカンの鎖長に応じて溶出時間が異なることも報告されている。したがって鎖長の異なる何種類かの Tag を容易すれば液相でのスプリット&プール合成が可能になる。) 種々の有機化合物の溶解度を考えると 80% MeOH を溶出溶媒に用いるところが難点のように思われる。

New Methodology for High Throughput Solution-phase Synthesis: Affinity Purification by Using Crown Ether and Ammonium Ion Interaction

San-qi Zhang, Koichi Fukase\*, and Shoichi Kusumoto\*

Tetrahedron Lett. 1999, 40, 7479-7483

さて筆者も液相合成で反応を行った後に、目的化合物をカラム中の固相に特異的に吸着させ、不要の反応剤や副反応生成物を洗い流した後に、目的物を溶出させるという方法を開発した。特異的な相互作用としてクラウンエーテルによるアンモニウムイオンの認識を選んだ。

Tag として大環状クラウンエーテルを用い、反応溶液をアンモニウムイオンを担持させたポリスチレンカラムに通す。ジクロロメタンを溶出溶媒に用いる Tag を有する化合物は樹脂に保持されるが、その他の不要物は保持されず、洗い流される。溶出溶媒を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1:1) あるいは Et<sub>3</sub>N を少量含む CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> に変えると Tag を有する目的物が溶出されてくるので、これを減圧濃縮するだけで目的物が得られるという手法である。このような高度な分子認識を利用した手法は本例が初めてである。利用可能な分子認識としてはまだまだ多数考えられ、実際に筆者らは他の分子認識を利用した手法も開発済みであるがこれはまたの機会に (論文が報告されてから) 紹介したい (自分でいうのも何であるが、実に便利な手法である)。

阿部 郁朗 (あべ いくろう) 静岡県立大学薬学部 講師  
abei@ys7.u-shizuoka-ken.ac.jp

cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain.  
Lund, E. G., Guileyardo, J. M., & Russell, D. W.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 7238 (1999)

96年の Mangelsdorf の論文 (Nature, 383, 728, 1996) 以来、オキシステロールによる核内レセプター LXR を介したコレステロール代謝調節機構に関する研究は多くの製薬企業や大学の研究室をまきこんで急展開を見せています。この論文は LXR のリガンドとなる脳内在性オキシステロールの一つ、24S-hydroxycholesterol の生合成を触媒する P450 酵素のクローニングに関するものです。これまでもオキシステロールの由来については大変興味をもたれていましたが、脳内に微量に存在する種々のニューロステロイドに関する研究がこれからますます面白くなりそうです。生物有機化学者としてどんなことができるか、思案の最中です。

Directed evolution to investigate steric control of enzymatic oxidosqualene cyclization. An isoleucine-to-valine mutation in cycloartenol synthase allows lanosterol and parkeol biosynthesis.

Hart, E. A., Hua, L., Darr, L. B., Wilson, W. K., Pang, J., & Matsuda, S. P. T.  
J. Am. Chem. Soc., 121, 9887 (1999)

次は私の専門のオキシドスクアレン閉環酵素に関するものです。これはステロールやトリテルペンの基本骨格を決定する重要な酵素ですが、この論文では一つのアミノ酸の置換により、閉環反応の生成物が動物、植物、海洋生物で大きく変わってくることが初めて明らかにされました。筆者の Matsuda 教授は、あの NY タイムズにもとりあげられた E. J. Corey 教授の研究室になんと 10 年も滞在した強者です。

Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs

Jomma, H., Wiesner, J., Sanderbrand, S., Altincicek, B., Weidemeyer, C., Hintz, M., Turbachova, I., Eberl, M., Zeidler, J., Lichtenthaler, H. K., Soldati, D., Beck, E.  
Science, 285, 1573 (1999)

Rhomer 教授が、ある種のバクテリアや高等植物にはメバロン酸を経由しないイソプレノイドの生合成経路があることを発見してちょうど 10 年になりました。この論文は、この非メバロン酸経路の鍵酵素となる DXPR 還元イソメラーゼのマラリア原虫よりのクローニングと、その阻害剤が抗マラリア薬として有効であることを報告したものです。国内ではこの論文より半年以上も前にすでに東大の瀬戸先生のグループがこの酵素のクローニングと阻害剤について論文を発表しています (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 9879, 1999)。

佐賀 佳央 (さが よしたか)

立命館大学理工学部生物工学科生物有機化学研究室 (民秋研) 博士研究員

単一（超）分子分光および操作が最近注目を集めており、ここ数年で研究対象や手法が急速に拡大している。単一分子測定では、これまでの多数分子をまとめて扱った測定では隠れてしまっていた情報が得られると期待されている。本稿では、そのような「一分子科学」に関する論文を簡単に紹介したい。

Unraveling the Electronic Structure of Individual Photosynthetic Pigment-Protein Complexes  
A. M. van Oijen, M. Ketelaars, J. Köhler, T. J. Aartsma, and J. Schmidt  
Science 285, 400-402 (1999).

紅色光合成細菌のアンテナ器官である LH2 複合体のスペクトルを単一ユニットレベルで測定した。850 nm に吸収を持つ、環状に配置されたバクテリオクロロフィル (B850 と呼ばれる) の励起スペクトルが、本論文の測定では 2 つのピークに分かれているのが観測できた。これは B850 の環状構造のゆがみによって、振動準位の縮重が解けたためだと考えられる。このようなスペクトルは従来の多数分子を対象とした分光法ではおそらく観測できず、単一分子分光の威力発揮といったところであろう。

Spectroscopy of Single Hemoglobin Molecules by Surface Enhanced Raman Scattering  
H. Xu, E. J. Bjerneld, M. Käll, and L. Börjesson  
Phys. Rev. Lett. 83, 4357-4360 (1999).

表面増強ラマン散乱 (SERS) は適用にいろいろと制約があるが、「はまれば」かなり面白いことができるのではないかと個人的に期待している手法である。この論文では、SERS によってヘモグロビンの単一振動分光を行っている。観測された単一ヘモグロビンのスペクトルの時間変化では、多数分子を対象とした場合では見られなかったシグナルも見られた。このようなシグナルの起源は明らかではないが、タンパク質の揺らぎを観測できるとすれば大変興味深い。

Vibrational Analysis of Single Molecule Chemistry: Ethylene Dehydrogenation on Ni(110)  
J. Gaudioso, H. J. Lee, and W. Ho  
J. Am. Chem. Soc. 121, 8479-8485 (1999).

走査型トンネル顕微鏡 (STM) を用い、ニッケルの(110)面に吸着したエチレンおよびアセチレンを単一分子レベルで観測した。得られた結果から、アセチレン分子の 2 種類の異なった吸着状態や、エチレンの重水素置換同位体を区別することが可能であった。また、印加電圧を高くすることによって、エチレンからアセチレンへ、さらに炭素原子へと変換することができた。この後半の結果は、STM による単一分子の化学反応の可能性を期待させ、とくに面白く感じられた。

平竹 潤 (ひらたけ じゅん) 京都大学化学研究所 助教授  
hiratake@biofun.kuicr.kyoto-u.ac.jp

A Method for the Selection of Catalytic Activity Using Phage Display and Proximity Coupling  
Jean-Luc Jetin, Peter Kristensen, and Greg Winter  
Angew. Chem. Int. Ed. 38 (8), 1124-1127 (1999).

任意のペプチドやタンパク質 (例えば抗体の変域) をファージ表面に発現・呈示させることによって遺伝子型と表現型をリンクさせるファージディスプレイという手法は、膨大なサイズの diversity をもったペプチドあるいはタンパク質の中から、ある抗原に特異的に結合するクローンをセ

レクションする技術としてきわめて強力で、その diversity の広さと遺伝子工学的な扱いやすさのために、スクリーニングの効率は本家である免疫系をも凌ぐとさえ言われています。このすばらしいスクリーニング系を、単なる結合ではなく、酵素や抗体触媒などの触媒活性を目的としたスクリーニングにうまく利用することができれば、自然の進化プロセスをはるかに凌ぐ速度でタンパク質を人工的に進化させ (directed evolution)、望みの活性をもった「人工酵素」をテーラーメイドに得ることが可能になります。しかし、ファージディスプレイ法は、本質的に、ファージを「物理的に分ける」必要があるため、触媒活性を目的としたスクリーニングのためには、「触媒活性」とファージを物理的に分けるための「結合」とをどこかでリンクさせる必要があります。このペーパーは、ファージディスプレイの本家 G. Winter による、そのリンクに関するお話。基本的なアイデアは、目的とする反応によって生じた生成物に、ファージのコートタンパク質と化学的に結合するような反応性の官能基を近傍に導入しておき、反応が起こって生成物と共有結合されたファージ (これがめざす反応を触媒するタンパク質を発現している) を、生成物に別に取り付けられたタグを指標としてファージもろとも釣り上げてしまうというもの。DNA ポリメラーゼの反応を例に、タグにビオチン、反応性官能基にマレイミド基を用いて、機能をもったタンパク質を発現するファージが実際にどの程度「濃縮」されてくるかを確かめています。「触媒活性」と「結合」とのリンクを成功させた別の例としては、基質にあらかじめファージをリンカーを介して共有結合させておき、ファージの発現するタンパクの触媒作用によりそのリンカーが切断されると、あたかも係留索を自分自身で切り離すごとくファージが遊離してくるという手法もあります [H. Pedersen, S. Hoelder, D. P. Sutherlin, U. Schwitter, D. S. King, P. G. Schultz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 10523-10528 (1998)]。

井上 誠 (いのうえ まこと) 京都大学化学研究所 博士課程 3年  
julie@biofun.kuicr.kyoto-u.ac.jp

Reaction Products of Acetylcholinesterase and VX Reveal a Mobile Histidine in the Catalytic Triad.

Charles B. Millard, Gertraud Koellner, Arie Ordentlich, Avigdor Shafferman, and Joel L. Susman  
J. Am. Chem. Soc. 121, 9883-9884 (1999)

Ser 酵素の非常に興味深い X-線結晶構造解析の報告です。Ser 酵素は、Ser-His-Asp (or Glu) からなる catalytic triad を活性中心に持つことが知られていますが、求核残基である Ser の塩基として働く His 残基が、酵素反応の際にダイナミックな動きをするのではないかという仮説があります。今回、Ser 酵素であるアセチルコリンエステラーゼをリン酸フルオリド阻害剤で失活させたときの異なる 2 つの構造を解析したところ、His 残基が動きうるということが初めて直視されました。一方の構造は、His 残基は catalytic triad のパートナーである Glu 残基と水素結合し、もう一方では、この残基の近傍にある、catalytic triad とは別の、活性発現に必須な Glu 残基と水素結合していることがわかりました。His 残基は、この 2 つの Glu 残基の間を動くと言われますが、この動きが、酵素の触媒活性にどう関与するか、これからのさらなる研究が楽しみです。

藤井亮太 (ふじい りょうた) 京都大学化学研究所 博士課程 1年  
fujii@biofun.kuicr.kyoto-u.ac.jp

Chemical modification of enzymes for enhanced functionality

Grace DeSantis and Bryan Jones

Current Opinion in Biotechnology 1999, 10:324-330

部位特異的変異や進化分子工学が近年のタンパク質工学の主流であるが、一方、古典的とも言える「化学修飾」も再び見直されつつある。タンパク質間の架橋などで耐熱性や有機溶媒耐性を上昇させるだけでなく、低分子を修飾させることで lipase の基質特異性を変化させたり、活性中心に Se などの金属を導入することで trypsin や subtilisin のような加水分解酵素を peroxydase へと改変したり、あまつさえただの脂質結合タンパク質に pyridoxamine を導入して transaminase 活性を付与したりと、様々な広がりを見せている。このように、化学修飾によって、酵素本来の物理学的性質を変化させるにとどまらず、基質認識や反応機構までも劇的に改変することが可能なのである。中でも、部位特異的変異でタンパク質の好きな部位に Cys を導入し、そこに disulphide 結合で非天然のアミノ酸を導入する手法 (chemical modified mutant enzymes, CMMs) は、天然アミノ酸のみを対象にした従来のタンパク質工学の枠を越える大きな可能性を期待させてくれる。



## お知らせコーナー

第2回生命化学研究会シンポジウム(2000)  
Toward Tailoring the Functions of Biomolecules

主催 日本化学会生命化学研究会

協賛 Combinatorial Chemistry 研究会

後援 加藤記念バイオサイエンス研究振興財団

日時 平成12年1月7日(金) 9:30~17:40

会場 大阪大学医学部・銀杏会館(住所)吹田市山田丘2-2

[交通] 北大阪急行(地下鉄御堂筋線)「千里中央駅」乗換, 大阪モノレール「阪大医学部前」下車, 徒歩10分 or 北大阪急行(地下鉄御堂筋線)「千里中央駅」乗換, 阪急バス「阪大本部前」下車, 徒歩5分 (<http://www-pclab.ph.tokushima-u.ac.jp/FBC/2ndSymp.html>)

### プログラム

(9:30~9:40) はじめに 藤井 郁雄(生物工研)

I1 (9:40~10:30) 座長: 円谷 健(生物工研)

NMRによるタンパク質の分子認識機構の解明

嶋田 一夫(東大院薬)

I2 (10:30~11:20) 座長: 石田 斉(科技団井上プロ)

蛋白質立体構造がつくる自由エネルギー地形

中村 春木(阪大蛋白研)

I3 (11:20~12:10) 座長: 深瀬 浩一(阪大学院理)

生体内糖鎖の分子認識と医療への応用

近藤 裕郷(日本オルガノン)

(12:10~14:40) 昼食・ポスターセッション

I4 (14:40~15:30) 座長: 二木 史朗(京大化研)

抗原を認識するキメラ受容体発現細胞の増殖制御

長棟 輝行(東大院工)

(15:30~15:50) コーヒーブレイク

I5 (15:50~16:40) 座長: 馬場 嘉信(徳島大薬)

*In vitro* RNA evolution: The next generation

菅 裕明 (State Univ. of New York, Buffalo)

I6 (16:40~17:30) 座長: 杉本 直己 (甲南大理)

機能する核酸-センサー機能を付加したリボザイム

多比良 和誠 (東大院工)

(17:30~17:40) おわりに 和田 健彦 (阪大院工)

(17:50~19:20) ミキサー

### ポスター発表

- P01  $\text{Cu}^{2+}$ がペプチドの  $\alpha$ -ヘリックス構造の形成を促進した  
(甲南大理・中国河北工大・甲南大 HRC) 鄒 晋・杉本 直己
- P02 バイオコンビナトリアル合成 - 細胞に複雑なオリゴ糖鎖を合成させる  
(東工大生命理工・日本皮革研) 安養寺 久栄・岡畑 恵雄・佐藤 智典・山形 達也
- P03 有機 無機複合ベシクル Cerasome の開発  
(奈良先端大物質) 有賀 克彦・片桐 清文・菊池 純一
- P04 核酸塩基相互作用をペプチド立体構造の安定化に利用する  
(東工大生命理工・さきがけ 21) 松村 幸子・上野 昭彦・三原 久和
- P05 ビオチン化ペプチドホルモンを用いて細胞応答を制御する!  
(岡山大工) 篠原 寛明・横田 佳奈・穴戸 昌彦
- P06 金属錯体を使って人工 DNA をつくる  
(東大院理) 田中 健太郎・田坂 基行・曹 紅花・幡野 明彦・森下 泰全・塩谷 光彦
- P07 ポリアゾベンゼン dendrimer を基体とする光応答性トランスフェクション剤  
(大阪市大工) 新 和之・長崎 健・玉垣 誠三
- P08 L-乳酸脱水素酵素はリン脂質との厳密な分子認識によって活性化する  
(大分大工) 吉見 剛司・佐々木 健夫・石川 雄一
- P09 グラミシジン S 誘導体で糖認識分子が構築できるか  
(長崎大工) 新留 琢郎・村上 裕人・青柳 東彦
- P10 光および化学シグナル応答型人工細胞膜レセプターによる酵素機能の制御  
(奈良先端大物質) 佐々木 善浩・福田 健太郎・石丸 多美樹・有賀 克彦・菊池 純一
- P11 細胞膜中での糖脂質のドメイン形成はなぜ起こるのか?  
(東工大生命理工) 小宮 英敏・岡畑 恵雄・佐藤 智典
- P12 新規 DNA 結合タンパク質 H4 型亜鉛フィンガーの創製と金属置換  
(京大化研) 堀 雄一郎・鈴木 教夫・奥野 恭史・永岡 真・二木 史朗・杉浦幸雄
- P13 光応答性シデロホアによるバクテリア増殖の光制御  
(大阪市大工) 舩田 健・朝里 さやか・長崎 健・玉垣 誠三
- P14 DNA を糖で修飾して新たな機能を賦与する  
(名大院工・名大人間情報) 日比野 美紀・松浦 和則・小林 一清・早川 芳弘
- P15 タンパクがなくても光合成系を模倣できる: 色素分子集合体を用いた集光システムの構築

- (立命館大理工) 宮武 智弘・民秋 均
- P16** 2本鎖DNA内で活性化される効率的な新規クロスリンク剤の開発  
(九大院薬) 永次 史・河崎 猛・臼井 大索・前田 稔・佐々木 茂貴
- P17** シトクロムcはリン脂質との厳密な分子認識によって活性化する  
(大分大工) 安松 和重・吉見 剛司・佐々木 健夫・石川 雄一
- P18** デノボデザインで人工レセプタータンパク質を設計する  
(東工大生命理工) 小幡谷 育夫・坂本 清志・上野 昭彦・三原 久和
- P19** クロロフィル分子が自己会合するのに必要な分子構造は？  
(立命館大理工) 矢貝 史樹・宮武 智弘・民秋 均
- P20** PLA2様抗体酵素はリン脂質を位置・光学選択的に加水分解する  
(名城大薬・生物工研) 市野 和彦・磯村 茂樹・藤井 郁雄・春名 光昌
- P21** 金属イオンを活性化因子とするDNA配位子の合成  
(熊本大工・九大院工) 井原 敏博・武田 由香・末田 慎二・高木 誠・城 昭典
- P22** 人工グロビンの設計、構造、機能、実験室進化  
(理研・遺伝研) 磯貝 泰弘・石井 杏奈・石田 学・松井 勉・太田 元規
- P23** 遺伝コードを拡張して2種類の非天然アミノ酸を含むタンパク質を合成する  
(岡山大工) 芳坂 貴弘・芦塚 由紀・宍戸 昌彦
- P24** ヘムオキシゲナーゼ反応はポルフィリン-ニュートラルラジカルを経て進行する  
(久留米大医・阪大院理) 坂本 寛・小俣 義明・杉島 正一・角田 佳充・福山 恵一・野口正人
- P25** 生体成分修飾機能を持つ核酸誘導体による HIV-1 integrase の阻害研究  
(九大院薬) 麻生 真理子・末宗 洋
- P26** リボヌクレアーゼ酵素活性を有機化学で制御できるか？  
(九大院工) 浜地 格・烏星 良次・渡辺 潤一・新海 征治
- P27** エピガロカテキンガレートの多彩な生理作用を p-ヒドロキシ安息香酸水酸化酵素の阻害機構から解明する  
(静岡県立大薬) 柏木 健司・阿部 郁朗・野口 博司
- P28** Zn<sup>2+</sup>がテロメア配列のヘアピンダイマー型 G-カルテット構造を破壊した  
(甲南大理・甲南大 HRC) 戸田 建史・杉本 直己
- P29** RNA結合ペプチド中にPNAを人工アミノ酸として利用する。  
(東工大生命理工・さきがけ 21) 高橋 剛・熊谷 一郎・浜崎 啓太・上野 昭彦・三原 久和
- P30** 細胞膜を効率的に透過する塩基性ペプチド  
(京大化研) 二木 史朗・鈴木 智樹・大橋 若奈・田中 静吾・上田 國寛・杉浦 幸雄
- P31** 生体触媒の分子進化：“急がば回れ”型適応歩行の提案  
(JT生命分子工学研究プロジェクトチーム・生物工研) 高橋 直子・劉 利東・柿沼 浩行・西 義介・藤井 郁雄
- P32** 新しいDNAチップ技術としてのECA (Electrochemical array)  
(九大院工・TUM 研究所・筑波基礎医学系) 竹中 繁織・山下 健一・高木 誠・宮原 浩嘉・内田 和彦
- P33** 人工分子シャペロン：蛋白質の凝集とリフォールディングを制御する  
(京大院工) 池田 昌弘・佐々木 善弘・砂本 順三・秋吉 一成
- P34** 両親媒性 dendrimer のゾーン設計で階層超分子を構築する。  
(名大院生命農・名大院理) 青井 啓悟・小林 達弘・野田 英利・堤内 要・岡田 鉦

彦・今栄東洋子

- P35** 感熱性ハイドロゲル触媒は酵素のモデルになりうるのでしょうか？  
(名工大応用化) 山下 啓司・橋本 修・南後 守
- P36** 64本の $\alpha$ -ヘリックスを有するペプチドデンドリマーをつくる。  
(東工大生命理工) 坂本 宗由・上野 昭彦・三原 久和
- P37** オリゴヌクレオチドを人工レセプターで選択的に認識する  
(大阪府大院工) 高瀬 雅祥・井上 将彦
- P38** 亜鉛フィンガーモチーフを用いたDNA湾曲分子の創製  
(京大化研) 今西 未来・堀 雄一郎・永岡 真・杉浦 幸雄
- P39** DNA結合ペプチドのデザインと評価  
(近大九州工) 久保 貴紀・横山 絹子・藤井 政幸
- P40** オクタヘドラルな金属錯体をベースにミニ蛋白質を造る  
(科技団井上プロ) 石田 斉・Hesek, Dusan・青黄 史子・井上 佳久
- P41** Host-Guest相互作用を利用した有機合成  
(阪大学院理) 張 三奇・深瀬 浩一・楠本 正一
- P42** 細胞特異的な接着作用を有する機能性二重膜の開発をめざして  
(北大院地球環境科学・(株)クラレメディカル研究開発グループ) 若林 陽子・瓜生 博之・佐藤 琢・本屋敷 由紀子・山田 秀明・野水 基義・坂入 信夫・西 則雄
- P43** 原子間力顕微鏡によって溶液中で直接測定した、薬物との相互作用によるDNA分子の物理的・生化学的性質の変化  
(厚生省長寿科学総合推進事業・徳島大薬・Assiut University, Egypt) 上田 正則・加地 範匡・Abd El-Maaboud Ismail Mohamed・松田 聖子・馬場 嘉信
- P44** 核酸に外部因子による認識制御機能を付与する  
(阪大院工) 和田 健彦・南元 成敏・上津原 朋広・佐藤 博文・井上 佳久
- P45** ポリ-L-リジンによる遺伝子導入 - なぜ効率が上がらない？  
(京都工芸繊維大繊維) 木村 剛・山岡 哲二・岩瀬 礼子・村上 章
- P46** 酵素に学ぶ有機不斉合成触媒のデザイン  
(長崎大薬) 岩淵 好治・中谷 真理・横山 伸子・畑山 範
- P47** アラニンラセマーゼの触媒機構  
(京大化研・京大食糧科学研究所) 吉村 徹・渡辺 彰・三上 文三・江崎 信芳
- P48** プロドラッグの特異的生体内変換における触媒抗体の利用  
(熊本大薬・生物工研) 今井 輝子・堀田 晶・小田切 優樹・栗原 伸和・円谷 健・藤井 郁雄
- P49** オキシペプチド核酸はRNAとも相互作用する。  
(岡山大工) 桑原 正靖・有光 美貴・重安 政憲・宍戸 昌彦
- P50** 両親媒性ペプチドの疎水性コアの改変によるヘテロ三量体 $\alpha$ -helixバンドルのデザイン  
(生物工研) 柏田 歩・廣明 秀一・神田 大輔・田中 俊樹
- P51** 金属イオンにより誘起される三本鎖ヘリックスバンドルの構築  
(生物工研・京都工芸繊維大) 李 向群・鈴木 和雄・金折 賢二・田嶋 邦彦・田中 俊樹
- P52** 大環状ホスト化合物を基盤とするチャネル分子の合成と機能評価  
(東大院薬) 小田嶋 和徳・森 雄一郎・尾作 浩司・横山 雅俊・平倉 穰・桐野 豊・古賀 憲司

連絡先 〒565-0874 大阪府吹田市古江台 6 - 2 - 3 生物分子工学研究所 藤井郁雄  
E-mail: 2000fbc@chem.eng.osaka-u.ac.jp  
Fax: (06)6872-8219; Tel: (06)6872-7253

## 関連シンポジウム

### 特別企画「強相関ソフトマテリアルの動的制御」

#### 1. 開催日時

2000年3月28日(火) 9時~12時

#### 2. 場所

日本大学理工学部船橋キャンパス

#### 3. 企画趣旨

液晶, ポリマー, コロイド, ミセル, タンパク質など, いわゆる「ソフトマテリアル」の構造を決定するのは, 構成ユニットの形と分子間相互作用に他ならない. 最近, 空間的・時間的に強い相関を持つ複数の分子が1つのユニットを形成する新ジャンルの材料(強相関ソフトマテリアル)が登場し, 注目を集めている. この強相関ソフトマテリアルにおいては, 外部変数の人為的に変化により, 極端に離れた状態間の可逆的転移の惹起が可能となるものと考えられ, ひいては物性の抜本変換が期待できる. 本企画では, 強相関ソフトマテリアルの動的制御による革新的材料の創成を目的として, 強相関ソフトマテリアル研究の現状を理解し, 今後の研究の進め方を議論する場を提供する.

#### 4. プログラム

(1) はじめに (東大・院工) 西 敏夫

(2) 9:05~9:40 (座長 中村 聡)

「疎水性結合強相関系を利用した超耐熱性タンパク質材料の設計」

(東工大・院生命理工) 小畠 英理

(3) 9:40~10:15 (座長 加藤 隆史)

「強相関的水素結合を利用した微少遺伝子変異の増幅検出」

(九大・院工) 竹中 繁織

(4) 10:15~10:50 (座長 松下 裕秀)

「変調光に誘発された強相関高分子混合系の共鳴現象とその発現機構」

(京都工繊大・織) 宮田 貴章

(5) 10:50~11:25 (座長 西 敏夫)

「ミクロ相分離系・膜系の秩序化の機構解明」

(広大・院理) 太田 隆夫

(6) 11:25~12:00 (座長 田中 肇)

「有機シラン複合超薄膜の表面二次元構造と表面動的特性」

(九大・有機基礎研) 高原 淳

#### 5. 企画責任者

(東工大・生命理工) 中村 聡

(新日鐵・先端技研) 上代 洋

## 6 . 問い合わせ先

氏名：中村 聡

所属：東京工業大学生命理工学部生命工学科

住所：〒226-8501 横浜市緑区長津田町 4259

電話：045-924-5765

FAX：045-924-5837

電子メール：snakamur@bio.titech.ac.jp

## 2000 環太平洋国際化学会議 ( PACIFICHEM 2000 ) シンポジウム セッション ( #72, #212 ) へのお誘い

このたび、2000年12月14日～19日にハワイで開催されます2000 環太平洋国際化学会議におきまして、以下2件のセッションのお世話をさせていただくことになりました。皆様の多数のご参加をお待ちしております。研究発表申込の詳細につきましては、化学と工業：第10号の1325頁に掲載されています。どうぞ宜しくお願い申し上げます。

#72: Bio-inspired Molecular Design of Multinuclear Metal Centers

#212: Molecular Recognition of Anions and Cations

## 問い合わせ先

塩谷光彦

Tel/Fax: 03-5841-8061

E-mail: shionoya@chem.s.u-tokyo.ac.jp