



1	巻頭言	
	熱い「化学」 二木史朗 (京都大学化学研究所)	2
2	グラビアページ	
	写真で見る「第5回 生命化学研究会シンポジウム・研究会」	3
	生命化学研究会のロゴができました	5
3	研究紹介	
	蛋白質間相互作用の特異性と親和性: 変異導入解析で分かったこと	
	津本 浩平 (東北大学大学院工学研究科)	6
	光ではたらくスイッチ・生き物の情報の流れを光で制御する・	
	古田寿昭 (東邦大学理学部)	12
4	論文紹介 「気になった論文」	17
	清中 茂樹 九州大学有機基礎センター	
	坂本 清志 東京大学生産技術研究所	
	廣田 俊 京都薬科大学薬学部	
	藤井 敏司 甲南大学理工学部	
5	特別会告	28
	第1回 生命化学国際シンポジウム(First International Symposium on Biomolecular Chemistry (ISBC2003))のご案内	
6	シンポジウム等会告	31
7	お知らせコーナー	35
	会員異動	
	受賞	
	編集者からのお知らせ	



## 巻頭言

# 熱い「化学」

京都大学化学研究所  
二木 史朗

第5回生命化学研究会シンポジウムを去る2003年1月10日(金)、京都大学宇治キャンパスで開催させていただきました。分子生物学やゲノム科学の発展に伴い、生命現象を司る生体内の様々な分子の相互作用ネットワークが次第に明らかにされてきています。また、生体を構成するタンパク質や核酸、糖などの分子をもとに、従来にない新しい機能を持った分子や材料を創り出そうという試みもますます盛んに行われるようになってきました。この様な流れの中で、様々なデザインした分子を生体内で機能させることにより、生命現象を明らかにしたり、また、生体機能を制御することは、研究会員にとっての大きなチャレンジの一つと考えます。生命現象といっても、個体のレベルになるとなかなか複雑で、化学の目でこれを捉えようとするというのは現状ではまだまだ難しい。細胞は一種の *in vitro* 系で、生体分子から個体に至るまでの重要な一つのステップとして捉えることができるのではないかと。この様な考え方から、今回のシンポジウムのテーマを“熱い「化学」: 生体分子から細胞へ”とさせていただきます(酸欠になりそうな夏の「暑い」時期にこのテーマを思いついたこともあります)。

当日は、6名の特別講師の方々に、DDS と創薬、細胞標的分子の設計、細胞内タンパク質のダイナミクスといった様々な角度からの生体分子と細胞の捉え方や攻め方についてお話しを伺うことが出来ました。一般講演(ポスター発表、計40題)においても、従来から参加いただいている研究室の発表に加えて、約4分の1が、新たに参加して下さった研究室からの発表で、この分野の研究と生命化学研究会の活動に注目する人が次第に増えていっていると感じます。また、翌日、大阪市立大学の長崎健先生のお世話で琵琶湖畔で行われた研究会でも大変活発な議論が交わされたと聞いています。

私が留学時代に買った Watson らによる *Molecular Biology of the Gene* (4th edition) という教科書に、*A Chemist's Look at the Bacterial Cell* という章があります。遺伝子の教科書にも関わらず、他にも *Cells Obey the Laws of Chemistry* とか *The Importance of Weak Chemical Interaction* といった化学をバックボーンとする人間の心を鼓舞するような章が沢山並んでいます。この本は1987年刊の本なのですが、この15年の間に、大腸菌のみならず、ほ乳類の細胞のマシナリーとこれを構成する分子の姿が格段に明らかとなってきています。多くの化学者が自分の目で細胞を理解する時の到来を感じます。明日に駆ける生命化学のターゲットの一つは細胞です。私もその一端に参加できればと念じています。

終わりにあたり、年始の忙しい時期にシンポジウムに参加し、ディスカッションを盛り上げていただいた皆様に心より感謝いたします。

第5回生命化学研究会シンポジウム  
-宇治(2003)

熱い「化学」: 生体分子から細胞へ  
2003年1月10日(金)  
京都大学化学研究所



世話人: 二木史朗氏(京大化研)



紙谷浩之氏(北大院薬)  
新たな発想に基づいた非ウィルスベ  
クター用遺伝子治療DNAの開発



瀧 孝雄氏(大塚製薬)  
ファージライブラリーから  
創薬へのアプローチ



古田寿昭氏(東邦大理)  
光で生理活性を制御する  
—ケージド化合物の設計と合成—



袖岡幹子氏(東北大多元研)  
細胞内情報伝達を制御する分  
子をめざして



西 真弓氏(京都府医大)  
ステロイドホルモンレセプターの  
生細胞内における可視化



遠藤斗志也氏(名大院理)  
タンパク質の一生を支援する  
細胞内システム



## 第5回生命化学研究会

2003年1月11日(土)  
ラフォーレ琵琶湖(滋賀県守山市)



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



青井啓悟氏(名大生命農)  
糖鎖ナノマトリックスの設計と構築



永次 史氏(九大薬)  
遺伝子発現の人工的制御を目指した機能性分子の開発—遺伝子に対するSite Directed Reactionの実現を目指して—



中谷和彦氏(京大工)  
DNAの特異構造を認識するドラッグの分子認識



河野健司氏(阪府大工)  
多機能型遺伝子デリバリーシステムの設計



三宅正人氏(産総研)  
マイクロアレイ・トランスフェクション技術とその応用

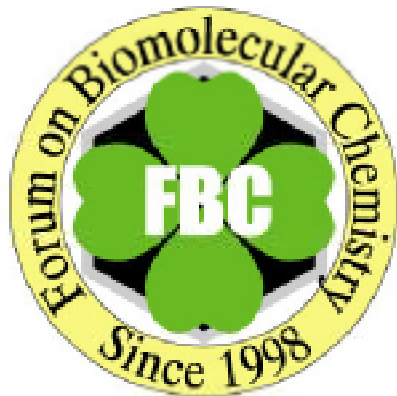


新留琢郎氏(長崎大工)  
リガンド修飾したPNAを使った体内DNAデリバリーシステムの構築



世話人  
長崎 健氏  
(阪市大工)

# 生命化学研究会のロゴができました



このロゴは次のようなイメージでデザインされています。

1. 六角形の枠で化学(ベンゼン環)を表す。
2. 中央に生命を象徴するもの(ここでは四葉のクローバー)を配置し、化学から生み出す生命を表す。
3. それらを重ねることにより、生命を化学の言葉で語ることをイメージする。

デザイン原案： 田中健太郎氏(東大院理)

## 第1回生命化学国際会議(ISBC2003)の ロゴ・ポスターもできました



第1回生命化学国際会議(ISBC2003)のロゴも同様のデザインです。

ポスターは全会員に送付されますので、近くに掲示ください。なお、ポスター印刷後、セッション番号が変更になりました。右の図案が正しい番号です。あしからず、ご了承ください。

## 研究紹介

### 蛋白質間相互作用の特異性と親和性： 変異導入解析で分かったこと

東北大学大学院工学研究科生物工学専攻  
津本 浩平



生命現象は蛋白質など生命分子の特異的分子認識の組み合わせにより創出される。筆者はモデルとなる蛋白質性抗原と抗体相互作用について、微生物を用いた発現系、部位特異的変異導入、無作為変異導入と表現型選択、等温滴定型熱量測定、結晶構造解析を組み合わせ、多角的に議論することにより、蛋白質の特異的分子認識がどのような因子によって創出されるかについて解明してきた。本稿では、これらについて今までの研究成果をまとめ、今後の展開を議論してみたい。

#### 1. 調製システムの構築：何をにおいても発現系？

蛋白質の機能・構造を蛋白質側から攻めようと考えた場合、最近の研究手法としては、何をにおいても発現系の構築が重要な位置を占める。最近でこそタンパク3000プロジェクトに代表される構造ゲノム科学、プロテオミクス解析、という研究領域が注目されるようになり、その中で、網羅的な発現系構築の重要性が再認識されている。が、もともとは蛋白質各分子について、それぞれ経験がものをいう世界であった。現在、なかなか思うように扱えない人も多い。これはこのような蛋白質の調製法そのものを生化学業界全体が軽視してきた結果である。我々がごく当たり前に行える蛋白質調製法(例えば封入体からの巻き戻し)が、“ノウハウをたくさん持っている”，という表現を持って迎えられたりすることも最近ではしばしばある。

例えば、筆者らは抗体・受容体を工学的に扱う研究を進めていることもあり、免疫グロブリンフォールドを持つ蛋白質分子種の調製システムについて研究を進めてきた。我々は、大腸菌を用いた発現系を整備し<sup>1</sup>、S-S結合を持つ蛋白質凝集ししやすい Cell-free 合成系にシャペロニンを加えることで顕著な収量を得た<sup>2</sup>ほか、凝集体からの高効率でかつ分子種によらない巻き戻し系を構築した<sup>3</sup>。これは、従来の方法と異なり、蛋白質の折り畳み過程におけるジスルフィド結合形成に着目し、酸化剤、凝集抑制剤などの添加試薬の導入時期を調節することにより、活性回復効率の著しい上昇を見たもの<sup>4</sup>であり、蛋白質調製システムの技術革新である(と少なくともいわれている)。本手法の適用により、pg オーダーで癌免疫療法に用いることができる二重特異性抗体の調製に成功している<sup>5</sup>ほか、さまざまな融合蛋白質の調製などに応用が図られている。微妙なパラメータの変化のみでさまざまな蛋白質を巻き戻すことができるシステムの構築、固定化樹脂などを活用したシステムの微小化が今後の目標である。

#### 2. 蛋白質間相互作用：化学者、生物学者の狭間で

蛋白質間相互作用で提案され受け入れられつつある考えが、特異性を支配する部位を Hot-Spot と定義する、というものである<sup>6</sup>。これは、部位特異的変異導入(通常 Ala に置換することが多く、しばしば



Ala-Scanning-Method と呼ばれる)によって相互作用を解析し、顕著な親和性の低下が起こる箇所、として同定される。さまざまな解析例から、これらの多くは、界面中央に存在する疎水的相互作用形成に関与するものが多い、と捉えられ、ある程度認められる概念となった。

界面に存在するアミノ酸残基の寄与に強弱があることはある程度納得できるが、それでは、例えば重要だとされる水素結合の複合体形成へのエネルギー的寄与が本当はどの程度なのか、といった問いに対しては、構造情報はあまり答えてはくれない。基本的に結晶構造解析の結果からの議論は、蛋白質の結晶構造解析の結果をまとめた論文を書くものなら誰も経験することであるが、とにかく徹底的に生化学的な解析結果を引用し、それに基づき構造を深く議論することになる。もっとも、最近の構造生物学では、先に構造を解いてしまい、後から生化学的な解析を行う、というものも増えてきているが、ただ、構造座標ほど多くを語るものはない、という面もあることも間違いない。

しかしながら、蛋白質リガンド相互作用を実験的に調べてきた研究者達は、Hot-Spot という概念に必ずしも納得しなかった。というのは、実際に多くの例で、分子表面で形成される静電的相互作用(水素結合や塩結合)の重要性が指摘されること、さらには疎水的相互作用では、脱水和によるエンタルピー損が大きく、通常の相互作用で見られるエンタルピー駆動型の特異的相互作用を説明できないこと、などがあるからである。

このような背景から、筆者らは抗ニワトリリゾチーム抗体 HyHEL-10 可変領域と抗原との相互作用をモデルとして、両者の発現系を用い、研究を進めた。特に、Hot-Spot とは本来どう定義されるべきものか、標的分子を特異的に認識する分子を創出するための非共有結合の本質はどう理解できるのか、を解明することを目指している。

## 2.1 結晶構造解析による相互作用の記述

前節で述べた手法により調製した抗リゾチーム抗体 HyHEL-10 可変領域と抗原複合体について、高分解能 X 線結晶構造解析により、その構造を明らかにした(図 1)<sup>7</sup>。抗原認識に伴う抗体重鎖と軽鎖の相対的な位置の調節と、複合体界面において不完全な相補性を補う水分子を介した水素結合ネットワークの存在を示した。詳細は 2.2 とあわせて議論したい。

## 2.2 相互作用に関与する非共有結合を欠損させたときに起こる変化

非共有結合の寄与を実験的に厳密に考察するためには、構造解析の結果から相互作用形成に関与すると考えられるアミノ酸残基を置換した変異体を調製、相互作用を多角的に解析することが必要となる。そこで、抗体の抗原認識領域に部位特異的変異導入を施した

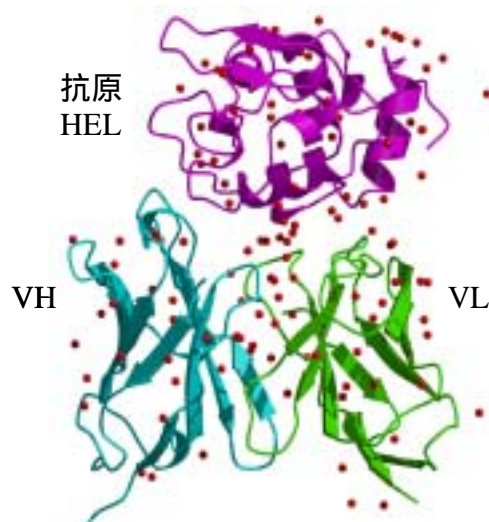


図1 HyHEL-10-HEL の結晶構造  
解像度 1.8 Å, 赤球は水分子を表す。

置換体を 50 以上調製し、その抗原との相互作用を熱量測定、構造解析により解析し、各々を欠損させるときに起こる変化を詳細に吟味することで、側鎖・主鎖間における 直接的水素結合、塩橋、ファンデルワールス相互作用、芳香族性相互作用、さらに、界面に存在する水分子を介した水素結合、という五つの非共有結合について、相互作用への寄与の解明を目指した。

直接的水素結合:側鎖間の水素結合ならびに側鎖・主鎖間の水素結合について解析したところ、多くの部位については、エンタルピー変化量の減少が観察されたにも関わらず、親和性の低下が観察されず、構造変化も伴わなかった<sup>8</sup>。これは、ほとんどの水素結合がエンタルピー-エントロピー補償により、見かけ上その親和性への寄与が少ないことを示す。一方、強い疎水的環境にあるようなアミド基、カルボニル基による静電的水素結合が非常に大きな寄与を果たしていた。強い疎水的環境下にある静電的相互作用が、蛋白質リガンド相互作用の特異性を決定することを実験的に示した例である。

塩結合(塩橋):荷電残基間(Asp-Lys)の側鎖間について、同様に解析したところ、野生型に比べて $\Delta H$ 、 $\Delta S$ と $\Delta C_p$ の変化量の顕著な上昇を観察した<sup>9</sup>。構造解析によれば、置換を導入した箇所に水分子が配位し、新たな水素結合が複数形成されていた(図 2)。このことは、塩橋の寄与がエントロピー損の減少であることを示唆する<sup>9</sup>。疎水的環境下でない静電相互作用の寄与がエントロピー的であることを示した例である。最近、細胞性免疫など免疫系の受容体リガンド相互作用の多くがエントロピー駆動型であることが示されつつある。速度論的解析から、これらは拡散律速の結合速度定数と非常に早い解離速度定数で性格づけられており、誘導結合をほとんど伴わない相互作用であることが示唆されている。また、その特異性は複数の露出したアミノ酸残基どうしの塩結合により支配されていることが示されつつある。溶媒露出した塩結合の相互作用への寄与、という観点からも、溶媒に露出したアミノ酸残基によって形成される塩結合がエントロピー的寄与を果たしている、という知見には一般性がありそうである。

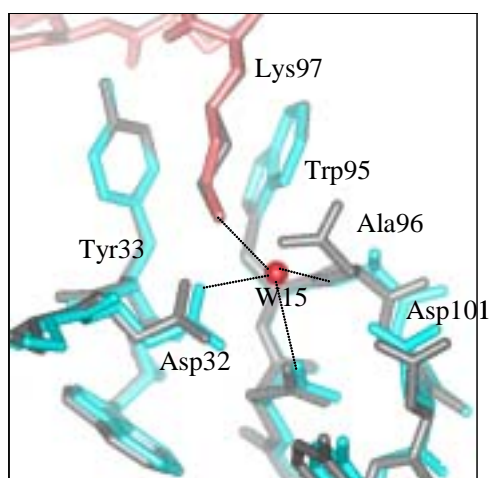


図2 H鎖 Asp96Ala 変異体の結晶構造  
野生型が灰色、変異体が色付きで示してある。W15  
の温度因子は周囲の主鎖よりも低い。

ファンデルワールス相互作用:殆どの部位でエンタルピー変化量の上昇に寄与するものの、親和性にはごくわずかな寄与( $<2.0 \text{ kJ mol}^{-1}$ )しか果たさないことを示した<sup>10</sup>。これは、変異導入の効果が、水分子の相補、構造変化、そして個々の相互作用の中身を変化させることにより、見かけ上寄与がないように見せている結果である。これらは全てエンタルピー-エントロピー補償則に則っている。

芳香族性相互作用:エンタルピー-エントロピー補償則を崩して大きく寄与できるのが芳香環である。NH-相互作用と  $\pi$ -相互作用が、エントロピー損を最小限に抑えることで、親和性に大きく寄与していることを示した<sup>10</sup>。抗体の分子認識における芳香環の重要性を実験的に示した例である。

水分子を介した水素結合:エンタルピー変化量上昇には大きな役割を果たしているが、それに匹敵するエントロピー損を伴うことを示した<sup>11</sup>。複合体の形成における界面のゆらぎを抑えるという点で重要であるが、



親和性への寄与は小さいことを示したことになる(図3)。

以上は、抗体の抗原特異性が、強い疎水的環境下に置かれた静電的相互作用と芳香環による相互作用によって作り出され、これらが認識における核になっていること、それ以外の非共有結合は親和性向上にある程度寄与するものの、置換には寛容であることを示している。Hot-Spot と考えられるアミノ酸残基への変異導入は、水酸基の除去など、ごくわずかな変化を導入しても、界面の広範囲にわたり、大幅な構造変化がおき、場合によってはエンタルピー変化量を激減させてしまうことも観察された。以上の結果は、Hot-Spot は“相互作用における核となる非共有結合を形成する部位”であり、“界面のほかの部位で形成される相互作用を誘導する役割を果たす部位”である、ということができる。抗体のように、できる

だけ解離速度定数を低くして、安定な複合体を形成する必要がある場合は、この適切な誘導が重要となるのであろう。そして、親水基の多い分子表面における脱水和によるエネルギー的な不利を克服し、ごくわずかなエネルギーをかき集めて、結果として強い分子間相互作用が形成されていくことになる、と考えられる。

徹底的にデータを積み重ねていくことから、我々は改めて、蛋白質分子を溶かしている溶媒である水分子の重要性に直面した。溶媒水分子は、溶質側から考えれば溶質の性質を補うもの、支えるもの、と見えるが、溶媒側から見た場合には、実は溶質をいかに溶媒中に存在させるか、という問題を解決することで、実はほとんどの現象が決まってしまう、ことをまざまざと見せ付けられる結果である。事実、T 細胞受容体 (TCR) と標的 MHC との相互作用界面には非常に多くの水分子が観察されており、相補性のかかなりの部分を水分子が補っている<sup>12</sup>。もちろんこれらは多数の水素結合を相互作用界面において形成するため、エンタルピー駆動型の相互作用である。抗体で明らかにできたメカニズムはほとんど TCR における分子認識にも当てはまるようである。

### 2.3 人工的機能変換の熱力学的・構造的帰結

抗体のモデルとして詳細な分子認識機構を解析してきたニワトリリゾチーム特異的抗体 HyHEL-10 について、親和性が低下する変異抗原のモデルとしてシチメンチョウリゾチーム(TEL)を用い、変異導入個所に対して特異的分子認識能を創出する変異抗体の選択を行い、TEL に対して高い親和性を持つクローンを選択した。HyHEL-10 は元の抗原である HEL に比べて親和性が落ちるものの TEL を認識することが可能である。そこで、二つのリゾチーム間で構造の異なる領域の一つを認識している重鎖の相補性決定領域 2 (CDR-H2)に着目し、4 部位 (53、54、56、58 位) について変異を導入、TEL への親和性の向上を試みた。どの変異体も 58 位に Phe が選択されていた。相互作用を熱力学的に解析したところ、野生型に比べ、選択された変異体の TEL に対する結合定数は 3~4 倍上昇し、HEL に対しては 1/30 ~ 1/7 に減少して

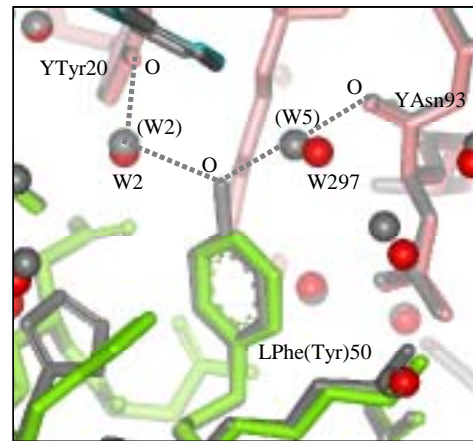


図3 L鎖 Tyr50Phe 変異体の結晶構造  
野生型が灰色、変異体が色付きで示してある。水分子の位置を含め野生型と変異体でほとんど変化はない。

いた(図 4). また, いずれもエンタルピー獲得により変異抗原に対する親和性が向上するクローンであった<sup>13</sup>. 得られた変異抗体と抗原複合体の結晶構造解析によって, 目的とした標的部位を認識していることを明らかにし, 親和性向上の分子機構を原子レベルで記述することができた. この特異性変換が, 標的部位のみならず, 抗原認識領域全体, さらに VH-VL 間相互作用の微調整により創出されることを示した<sup>14</sup>.

この研究で特に強く感じたのは, 抗体の持つドメイン構造の思った以上の固さと CDR がそれほど柔軟でない, ということであった. 変異体のある鎖だけを選択的に野生型と重ねると, もう一方がずれる, 抗原で選択的に重ね合わせると, 抗体全体にそれほどの変化が見られない. CDR 間の相互作用を微妙に調節して, 変異抗原に対応してい

ることになる. これらのことは, 抗体がドメインを単位にして, やや柔軟度の高いループ領域である CDR の相対的配置を上手く微調整して特異的抗原認識を達成していることを示している. 驚くべきは, ループと呼ばれる CDR が, いわゆるペプチドライブラリーで見られるような柔軟性を, 少なくとも主鎖はあまり持っていない(抗原と結合していない抗体において, 結晶構造中でも比較的温度因子が低く, 運動性が低い)こと, である. そういう意味でも抗原認識におけるエントロピー損は, 最小限に抑えられている, ということができる. 事実, 親和性成熟していない抗体は強引に構造変化を誘起して抗原を認識するが, この構造変化を誘起させるポテンシャルは, 抗体分子自身の特異性を失わせてしまうことが多い. 蛋白質を材料に, 新しい分子, さらに領域を創成していく, という観点からも, ドメイン単位, モチーフ単位, での設計の重要性は常に念頭に置く必要があるのかもしれない.

### 3. おわりに: あえて私感を

抗体医薬に直結するような組換え型抗体に関する抗体工学的な研究紹介は別の機会に譲り, 今回は筆者の今までの研究の中心である相互作用解析について述べてみた. 紙面を抑えようという意図から, 不十分な説明が多々あったことをご了承頂きたい.

生化学は基本的に分析化学に近い領域であり, “解析する”研究, ある生命現象を司る分子の発見と分子レベルでの解明に最も高い評価を与える. そういう意味ではいわゆる“Top-down”的発想が支配的である. 一方, 化学には, 新しく“作り出す”領域, “原子, あるいはブロックを組み上げて行く(いわゆる“Bottom-up”)”戦略が大きく存在し, 生化学的な Scope で研究を進めてきたものにはいつも大きな魅力を感じさせるのである.

化学と生物の融合, これは最近のキーコンセプトの一つとなっている. 化学の切り口で生物を攻める, ことは大きな流れの一つとなっており, 本当に大きな成果を収めつつある. 生命化学研究会の Activity には本当に圧倒されるばかりである. 一方, 生物から化学を攻める, 新領域を作るという潮流は本当に作り出す

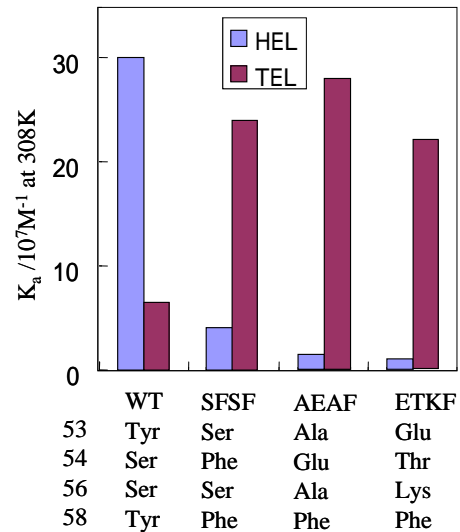


図4 選択された変異体の抗原親和性とアミノ酸配列

ことができるのだろうか？生化学を専門とする研究室出身の研究者に大きく問われている方向性であることは疑うべくもない。蛋白質分子そのものを基盤とした基礎的研究，工学的研究，は実は，生物学，生化学領域から，化学的な観点を組み入れることで新しく大きな世界を広げることになるのかもしれない。

化学は元気がない，などと危惧される方も多いと聞くが，小生は，以前にも増して大きなかつ溢れんばかりの活気に満ちた化学城の前に，呆然と立ちすくむばかりである。生物学的なアプローチに比べて，化学的アプローチから得られた結論は，厳密に築き上げられた論理に基づいて議論されかつ直感に訴えるものである。得られた結果から General な結論を導けるか，化学の言葉で語ることができかつ直感で理解できる結果か，それが筆者の常に問いかけていること，である。生命現象を司る分子を原子で記述する構造生物学の爆発的發展により，いよいよ蛋白質側から攻める研究も本格的に化学の表舞台に立つことができる，と信じている。

最後に，小生が最近熟読した新書を紹介します。齋藤健著 転落の歴史に何を見るか・奉天会戦からノモンハン事件へ（ちくま新書）。戦前日本の転落の歴史の教訓は，“何が物事の本質か。これを議論し突き詰める組織風土を維持しつづけることだ，それに尽きる”という一文には，度肝を抜かれました。なぜあえてここで紹介するか，それはここではこれ以上記さないことにします。ぜひご一読下さい。

## 文献

1. Tsumoto, K. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **201**, 546-551 (1994); Tsumoto, K. et al. *J. Biol. Chem.* **269**, 28777-28782 (1994); Takemura, S. et al. *FEBS Lett.*, **476**, 266-271 (2000).
2. Merk, H., Stiege, W., Tsumoto, K., Kumagai, I., and Erdmann, V.A. *J. Biochem.*, **125**, 328-333 (1999).
3. Tsumoto, K., Shinoki, K., Kondo, H., Uchikawa, M., Juji, T., and Kumagai, I. *J. Immunol. Methods*, **219**, 119-129 (1998).
4. Umetsu, M., Tsumoto, K., Hara, M., Kumar, A., Goda, S., Adschiri, T., and Kumagai, I. *J. Biol. Chem.*, in press. (2003)
5. Takemura, S. et al. *Protein Eng.*, **13**, 583-588 (2000); Takemura, S. et al. *Cancer Immunol. Immunother.*, **51**, 33-44 (2002).
6. Bogan, A.A., and Thorn, K.S. *J. Mol. Biol.*, **280**, 1-9 (1998).
7. Kondo, H., Shiroishi, M., Matsushima, M., Tsumoto, K., and Kumagai, I. *J. Biol. Chem.*, **274**, 27623-27631 (1999).
8. Tsumoto, K., Ogasahara, K., Ueda, Y., Watanabe, K., Yutani, K., and Kumagai, I. *J. Biol. Chem.*, **270**, 18551-18557 (1995).
9. Tsumoto, K. et al. *J. Biol. Chem.*, **271**, 32612-32616 (1996); Shiroishi, M., Yokota, A., Tsumoto, K., et al. *J. Biol. Chem.*, **276**, 23042-23050 (2001).
10. Tsumoto, K. and Kumagai, I. *Chem. Lett.*, 1066-1067 (2000).
11. Yokota, A., Tsumoto, K., Shiroishi, M., Kondo, H., and Kumagai, I. *J. Biol. Chem.*, in press. (2003)
12. Ysern, X., Li, H., and Mariuzza, R. A. *Nature Struct. Biol.* **5**, 412-414 (1998)
13. Nishimiya, Y., Tsumoto, K., Shiroishi, M., Yutani, K., and Kumagai, I. *J. Biol. Chem.*, **275**, 12813-12820 (2000)
14. Kumagai, I., Nishimiya, Y., Kondo, H., and Tsumoto, K. *J. Biol. Chem.*, in press. (2003)



# 研究紹介



## 光ではたらくスイッチ —生き物の情報の流れを光で制御する—

東邦大学理学部生物分子科学科

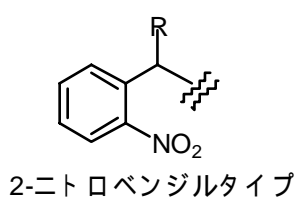
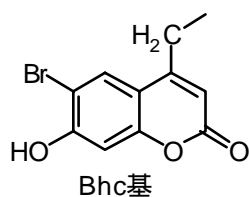
古田寿昭

高度に秩序化された生体内反応を制御するために、生体はさまざまな情報をやり取りしている。生化学的手法や分子生物学的手法を駆使することで、情報のやり取りに関与している分子は明らかになりつつある。役者は揃ってきたわけである。しかし、従来の方法では、これらの役者が何をしているのか(What)は分かっても、どのようにして(How) またなぜ(Why) その様に働くのかを調べるのは困難である。加えて、一個の細胞においても、数種類の共通のシグナル伝達のストラテジーを用いて、さまざまな現象が制御されている。これを解析していくには、シグナリングに関与している分子の局所性、協同性、時間位相の同調性等を考慮することが重要になってくる。高い時間分解能と空間分解能を持つような新しい解析法を開発する必要があるわけである。これを可能にする方法として、ケージド化合物を利用して、細胞内あるいは細胞間での情報のやり取りを自由に操作(制御)する手法の開発を目的として研究を行なっている。

### ケージド化合物とは

光分解性の保護基で生理活性分子を保護し、一時的にその活性を失わせた分子をケージド化合物という。光を照射することで、瞬時に元の生理活性分子を出現させることが出来る。光でスイッチが入る分子を思い浮かべればよいであろう。シグナル分子が機能発現する時期と場所を、光を照射する時期と場所で制御することが可能で、照射する光の量で、活性を発現する量を調節することも原理的には可能となるため、シグナル伝達に関与する分子の時空間動態を、リアルタイムで制御する強力な方法になりうる。ケージド化合物の合成に利用できる光分解性保護基としては、2-ニトロベンジル基が知られている。しかし、光反応の効率が低いことと、ケージ解除の反応速度が遅いことが問題となる場合もある。また、ケージド化合物として手に入れることができる分子の種類は非常に限られているため、誰でも簡単に自分の系に適用するまでには至っていない。

我々のグループでは、これまでに報告されているケージド化合物の問題点を解決するべく研究



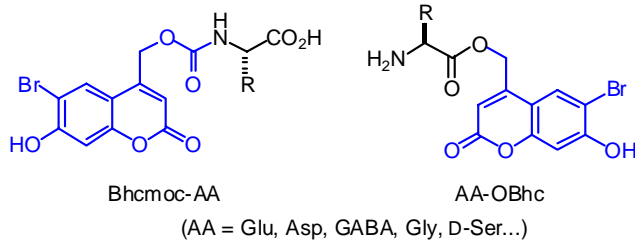
を進め、新しい光分解性保護基(ケージ)をいくつか開発してきた。中でも、6-Bromo-7-hydroxycoumarin-4-ylmethyl (Bhc) 基は、従来のものに比べて様々な点で優れていることが明らかとなった。ケージとしての Bhc 基

は、紫外光によるケージ解除の効率が高い、暗所での安定性が高い、2光子励起を利用することで近赤外光によるケージ解除が可能である、簡単な修飾を施すことで様々な方法で細胞内に導入することができる、などの特徴をもつ。

以下には、Bhc-ケージド化合物を活用して、細胞、組織および生物個体レベルで、さまざまな情報の流れを光で制御する試みを紹介する。

### 神経伝達の光制御

ケージド神経伝達物質を脳スライスサンプルに適用して、電気生理学的手法と組み合わせることで、神経細胞間の情報伝達を光照射によって擬似的に再現して解析することが可能となる。代表的な神経伝達物質はアミノ酸である。アミノ酸をケージド化合物にするには2つの方法がある。光



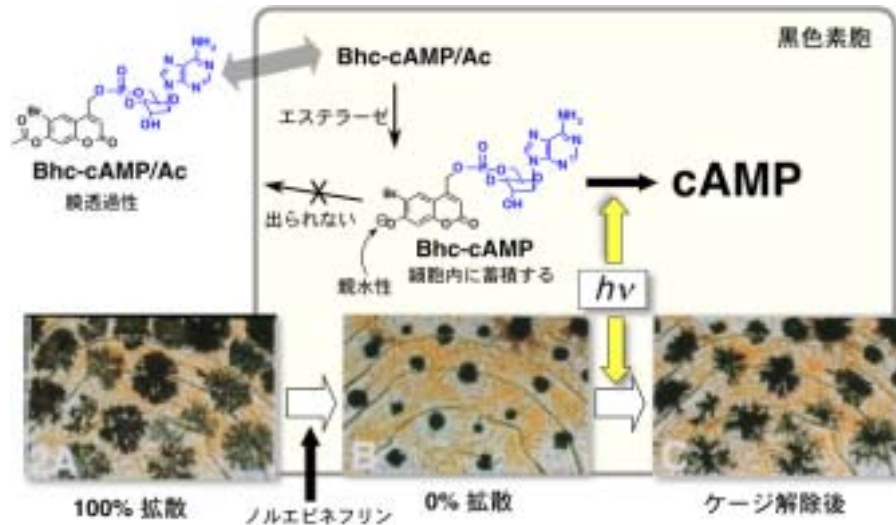
分解性のエステルとしてカルボン酸部位を保護するか、光分解性のカルバメートとしてアミノ基部位を保護するかである。Bhc 基のアミノ酸のケージとしての Scope & Limitations を明らかにするために、神経伝達物質である各種アミノ酸の Bhc カルバメート

(Bhcmoc-AA) と Bhc エステル (AA-OBhc) を合成した。ケージド化合物の性質を評価する基準の1つとして、光照射によるケージ解除反応の効率がある。ケージ解除の効率は、モル吸光係数 ( $\epsilon$ ) と光反応の量子収率 ( $\phi$ ) の積、 $\phi\epsilon$  で表すことができる。照射した光をどのぐらいの効率で吸収して、さらにそれをどのぐらいの効率でケージ解除に利用できるかを定量的に表した値である。もちろん、大きければ大きいほど効率が高いことになる。いずれの Bhc-ケージドアミノ酸とも、UV 光照射によってほぼ定量的にアミノ酸を放出し、しかも1光子励起の光感受性の面でも申し分ない性質を持っていることが分かった。例えば、典型的な2-ニトロベンジル型のケージド化合物の  $\phi\epsilon$  は20-100程度であるのに対して、Bhc-ケージドアミノ酸の  $\phi\epsilon$  は300-900であった。実際、マウス脳のスライス上においても、Bhc-Glu を使うと従来の2-ニトロベンジル型 Glu の1/5程度の光量で十分であることが分かった。さらに、2光子励起と併用することで、神経細胞間の情報伝達を擬似的に再現することにも成功した。

### 細胞内シグナル伝達の光制御

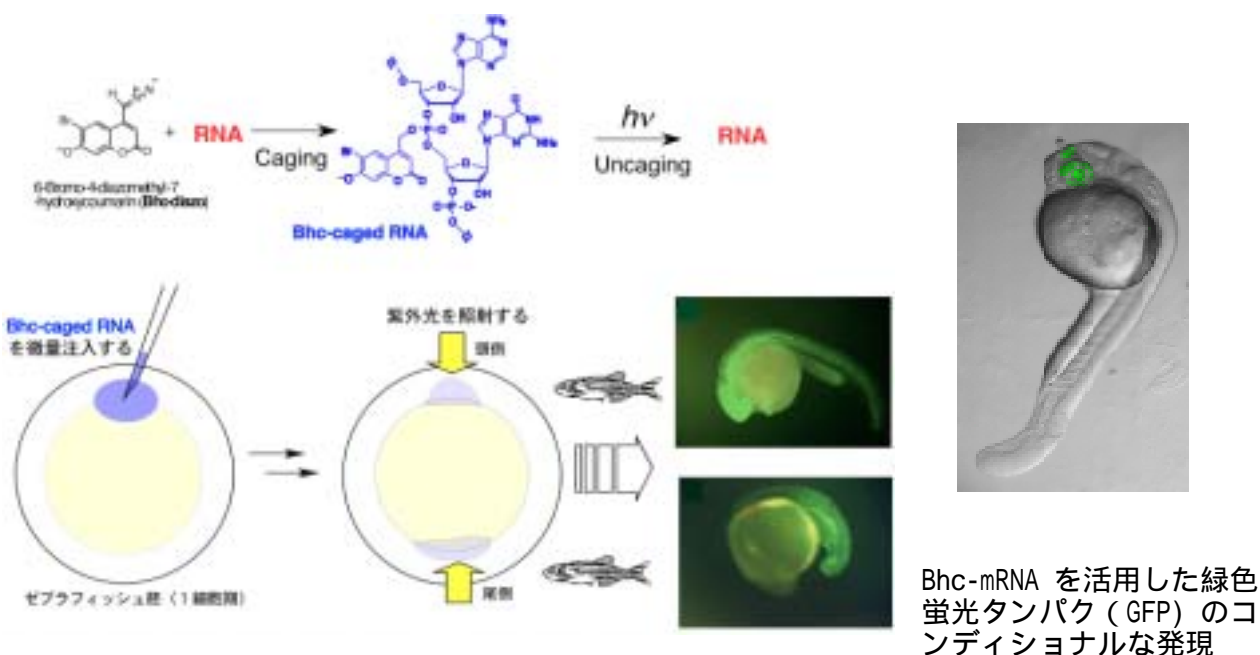
続いて、セカンドメッセンジャーのケージド化合物として、cAMP、cGMP、ジアシルグリセロールおよびアラキドン酸のケージド化合物の合成にも成功した。合成法の最適化、光反応性の検討および酵素反応の光制御能等を明らかにし、さらに、cAMP に関しては、様々な細胞内への導入法に対応できるように、膜透過性のものと水溶性が高いものを合成した。膜透過性誘導体はメダカの色素胞へ導入し、cAMP が関わるシグナル伝達系を光照射によって繰り返し制御できることを確認した(図)。また、水溶性誘導体をパッチピペットによって単離嗅細胞に導入し、匂い感知後のシグナル伝達を光照射によって再現することも可能であった。もちろん、ただ再現するだけではない。

Bhc-ケージドセカンドメッセンジャーを活用することで、シグナル伝達のカスケードを止めて、光照射によって、任意の場所で任意のタイミングでスタートさせることができるのである。



### 遺伝子の機能の光制御

生体における情報のやりとりの主役分子はタンパク質である。細胞内において、時期および部位特異的に、任意のタンパク質の濃度を制御することができれば、細胞内シグナル伝達の機構の理解は飛躍的に深まるであろう。そこで、Bhc ケージド化合物の応用の1つとして、遺伝子の発現を時期および部位特異的に活性化することを検討した。サイクリックヌクレオチドのケージド化合物合成用に開発した Bhc-ジアゾを用いることで、mRNA のケージド化合物 ( Bhc-mRNA ) を合成することができた。Bhc-mRNA をゼブラフィッシュ初期胚に導入することで、任意の mRNA の時期および部位特異的な発現を *in vivo* で行うことにも成功した ( 図 )。同様な考え方でタンパク質レベル



ケージド mRNA を活用した遺伝子発現の光制御



での機能発現の光制御も可能となる。さらに、ケージド化合物の化学を拡張することで、任意の遺伝子およびタンパク質の機能阻害を行うことも可能になるであろう。もちろん、これまでの小分子のケージド化合物の化学を活かすこともできる。例えば、ステロイドホルモン等、核内のレセプターと結合することで転写を活性化する分子をケージド化合物にすれば、任意の遺伝子の発現を転写レベルで光制御できるはずだ。これに関連して、我々は、コール酸類のケージド化合物の合成にも成功している。コール酸類は、核内にある FXR のリガンドで、自らの生成を制御する遺伝子発現を調節していることが分かってきた。これをさらに発展させて、任意の遺伝子の発現を転写レベルで調節する技術へ応用するべく研究を進めている。

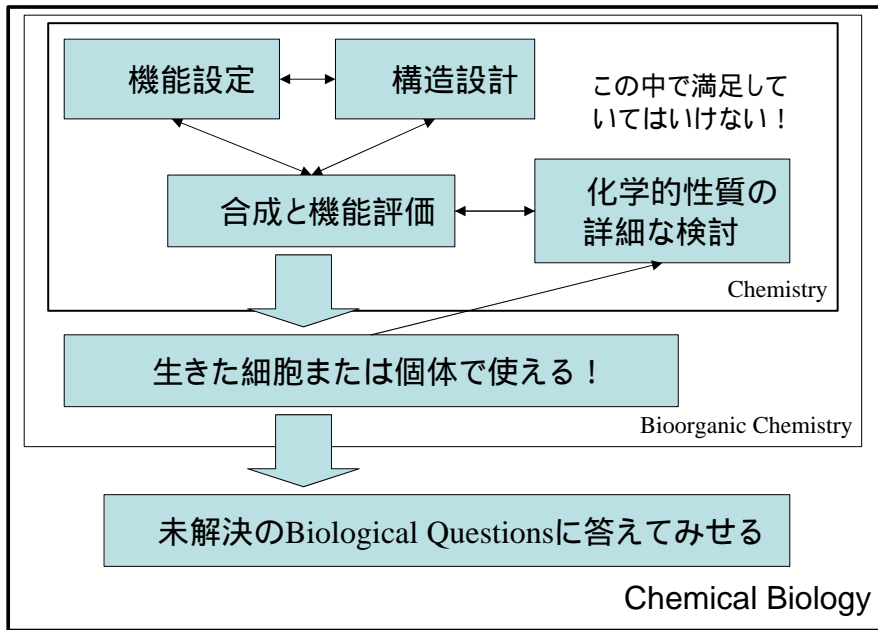
### 新しいケージの開発

Bhc 基は、従来のものに比べて 1 光子励起の効率が遥かに高いという特徴を持つが、まだ万能ではない。そこで、これとは異なる性質を持ち、相補的に用いる事ができるようなケージの開発を目指し、Anthraquinon-2-ylmethoxycarbonyl (Aqmoc) 基の開発に成功した。これは、水酸基やアミノ基を持つ生理活性物質のケージド化合物合成への応用が可能で、特徴としては、1 光子励起の効率が高いことと、ケージ解除後の副生成物が紫外領域の光を吸収しないことがあげられる。今後は、さらに異なる性質を持つケージ（例えば、暗所での安定性が高いもの、可視光でケージ解除できるもの、可逆的にオンオフできるものなど）の開発も進めていく必要がある。

### これから

修飾可能な官能基さえあれば、ケージド化合物に変換できないものはないはずである。あらゆるものに光で作動するスイッチを付けることができる。月並みな言い方だが、それによって、今までできなかったことができ、見えなかったものが見えてくるはずである。そうは言うものの、現時点ではまだ誰でも簡単に使える技術というほどは、ケージド化合物は普及していない。実際に使える化合物の種類が不足していたことも一因であるが、それを解消することにはいくらかは貢献できたと考えている。ただし、ものを作って「はい、おしまい」ではなくて、ハードウェアの開発も含めた使用法の提案をしていくことも、我々化学者の責任であり急務であると感じている。また、Bhc 基の光化学については、実はまだほとんど手を付けることが出来ていない。光照射してからケージ解除に至るまでの反応機構等を調べていく必要がある。もちろん、それが新たな分子設計には不可欠であるから。

生命科学研究への化学者からのアプローチとして、機能性プローブの開発を選んだ私が心掛けていることを次図に示した。図中の数字は、研究を進める優先順位である。我々が目指しているのは、細胞内（究極的には生物個体）で使えるプローブ分子の開発である。よって、期待通りの機能を持つものが合成できたら、まずは細胞で試すことを心掛けるべきである。派生的なケミストリーの詳細な検討はその後であろう。極論すれば、ケミストリーとして高級である必要もない。ケミストリーとして面白くても、また、フラスコ内で使えても、生きた細胞内あるいは組織上で使えなければまったく意味がない。プローブ研究の宿命である。そのかわり、期待通り、いや時にはそれ以



上に細胞内で使えたときの嬉しさは格別である。ただし、ここで満足しては、ケミストリーの範疇を越えることはできない。これからの生命化学が進む道の1つは、化学の手法を活かしたバイオロジーのはずである。そのためには、開発したプローブあるいは技術を用いて、自ら設定した biological questions に果敢に挑んでいかなければ

いけない。そうでなければ、“Bioorganic Chemistry”から“Chemical Biology”への飛躍は望むべくもないのである。

最後に、私の恩師の一人である UC, San Diego の Roger Y. Tsien が、私にくれたメールの一節を引用して終わりとしたい。

*“We would want something which might actually work in brain slices, which is a more challenging goal than simply producing something that works in vitro as a chemical proof of principle.”*

#### 参考文献

- Furuta, T., Wang, S. S-H., Dantzker, J., Dore, T. M., Bybee, W. J., Callaway, E. M., Denk, W. and Tsien, R. Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, 96, 1193-1200.
- Ando, H., Furuta, T., Tsien, R. Y., and Okamoto, H. *Nat. Genet.* **2001**, 28, 317-325.
- Furuta, T., Hirayama, Y., and Iwamura, M. *Org. Lett.* **2001**, 3, 1809-1812.
- Hirayama, Y., Iwamura, M., and Furuta, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 905-908.
- 安藤秀樹・古田寿昭・岡本 仁, 蛋白質 核酸 酵素, **2002**, 47, 125-132.
- 古田寿昭 現代化学, **2002**, 378, 24-31.

(ふるた としあき : furuta@biomol.sci.toho-u.ac.jp)



## 気になった論文

清中 茂樹(きよなか しげき) 九州大学有機基礎センター浜地研究室 博士研究員(学振)

kiyotcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

九州大学有機化学基礎センター、浜地研究室、博士研究員の清中と申します。博士をとったばかりのひよっこですが、生命化学研究会の皆様どうぞよろしく申し上げます。

遺伝子の転写は、DNA と転写因子群 (DNA 結合蛋白質、活性因子、ポリメラーゼ) が複合化することで開始されます。その複合化を人工的に制御できれば、細胞内蛋白質の機能解明や新しい遺伝子治療法になりえると期待されます。ここでは、小分子でその複合化を制御するアプローチについていくつか紹介させていただきます。いずれも DNA と転写因子群の距離を小分子で制御するという概念に基づいています。

### 1. 人工 DNA 結合分子を利用したアプローチ

Design of Artificial Transcriptional Activators with Rigid Poly-L-Proline Linkers

P. S. Arora, A. Z. Ansari, T. P. Best, M. Ptashne, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 13067-13071 (2002).

転写因子の DNA 結合部位を人工 DNA 結合分子で代用する方法です。DNA のマイナーグループに結合可能なヘアピンポリアミドを DNA 結合部位として利用し、転写因子群への結合部位としては天然ドメインから抽出した約 20 残基のペプチドを用いています。これらをスペーサーを介して連結させ、その分子で転写を制御しています。この論文は *PNAS*, **97**, 3930 (2000); *Chem. Biol.*, **8**, 583 (2001) の続編です。本論文ではヘアピンポリアミドとペプチド間のスペーサーとして硬い構造を有するオリゴプロリンを用いて、スペーサー長と転写活性の相関について検討しています。ヘアピンポリアミドは構造を変えることで DNA に対して配列選択的に結合できますので、様々な DNA を標的にできるといのが売りですね。

Toward Synthetic Transcription Activators: Recruitment of Transcription Factors to DNA by a PNA-Peptide Chimera

B. Liu, Y. Han, D. R. Corey, T. Kodadek, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 1838-1839 (2002).

この論文では、ペプチド核酸 (PNA) を DNA 結合部位として用い、転写因子群への結合部位としてはその複合体の 1 つである Gal80 に強く結合するペプチドを用い、スペーサーを介して連結した分子を用いています。筆者達の主張としては、天然の転写因子群から結合部位を抽出するのではなく、転写因子群 (Gal80) に結合可能なペプチドを用いている点が前者の Dervan 達の論文とは異なるらしいです。そこにペプチドを用いるのではなく合成小分子で行って欲しかったです。読者の身勝手な意



見ですが・・・。

## 2. DNA 結合蛋白質にわざと欠陥を与え、その欠陥を小分子で補うアプローチ

Small-Molecule Switches for Zinc Finger Transcription Factors

Q. Lin, C. F. Barbas, III, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 612-613 (2003).

転写因子の DNA 結合部位 (Zn フィンガードメイン) にミューテーションを行う (空孔をつくる) ことで DNA との親和性を落とし、適切な小分子を加えることでその蛋白質と DNA との親和性を回復させ、その結果として転写が活性化されるという方法論です。Schultz 自身が以前に報告した蛋白質・蛋白質相互作用を小分子で制御する方法論 (*Science*, **288**, 2042 (2000)) の応用研究です。本論文では、Zn に配位する His125 を Phe に、Phe116 を Gly に置換しています。このミュータントは DNA とほとんど相互作用がありませんが、2-(4-キノリン)ベンズイミダゾールを加えることで DNA と転写因子との親和性が強くなり、転写が活性化されるというものです。ただし、 $EC_{50}^{*1)} = 35 \mu\text{M}$  とそんなに親和性は高くありません。ただ、方法論としてはおもしろいと思い、小分子のライブラリー化、ミュータント蛋白質の分子進化を行うことで、親和性の問題は克服できる気がします。

\*1) 酵素の反応率 50% を示す薬物濃度

## 3. 抗生物質と抗生物質結合蛋白質の強い親和性を利用したアプローチ

Regulation of Endogenous Gene Expression with A Small-Molecule Dimerizer

R. Pollock, M. Giel, K. Linher, T. Clackson, *Nature Biotech.*, **20**, 729-733 (2002).

免疫抑制剤である FK506 と rapamycin を結合させた分子 (dimerizer<sup>\*2)</sup> と各々の抗生物質に特異的に結合する結合蛋白質を巧みに利用した方法論です。DNA 結合蛋白質と FKBP (FK506 結合蛋白質) の融合蛋白質、転写活性化ドメインと rapamycin 結合蛋白質の融合蛋白質を発現させた細胞では、この dimerizer を加えることで、ミュータント DNA 結合蛋白質とミュータント活性化ドメインの空間距離が近くなり、転写活性を大きく変化させることができるという方法論です。Schreiber と Crabtree が開発した方法論 (*Science*, **262**, 1019 (1993); *Nature*, **382**, 822 (1996) など) の応用研究です。この方法論では、融合蛋白質を発現可能な遺伝子を細胞内にあらかじめ導入する必要がありますが、FK506-FKBP の親和性・特異性の高さ、細胞透過性などを考えると、現在報告されている小分子による転写制御の中で最も実用化に近いアプローチだと感じます。現にこの著者らの所属は ARIAD Gene Therapeutics, Inc というアメリカベンチャー企業でした。

\*2) 蛋白質などの二量化を促進する分子ということで dimerizer と名付けられた

以上、人工小分子による DNA の転写制御について概観しましたが、2つの高分子の相互作用を制御するというアプローチは、蛋白質・蛋白質相互作用をはじめとした様々な細胞内機能の制御へと応用できると考えられます。現に、細胞内情報伝達などにおいてはこの方法論が有効に用いられており、今後も幅広く展開されると感じています。

Chemical Biology の今後の展開ですが、天然物合成化学者の Schreiber と生化学者の Crabtree が共同

研究することで、Chemical Biology（小分子による細胞内機能制御）を大きく展開したように、分野間の垣根を越えた共同研究・情報交換が本分野の展開に不可欠な気がします。日本においてはまだまだその垣根が高いような気がします。僕は生命化学研究会の皆様こんなことを言える身分ではないのですが・・・。(大変申し訳ありません)



坂本 清志(さかもと せいじ) 東京大学生産技術研究所 助手  
sakamoto@iis.u-tokyo.ac.jp

東京大学生産技術研究所の坂本清志と申します。昨年 10 月に京都から東京へと転勤いたしました。この度、大変光栄なことに石田先生から“気になった論文”を紹介させていただく機会をいただきました。ポリペプチド合成屋のはしくれを自称しております私にとって(あくまで自称です)、印象に残っている最近の論文を紹介いたします。

#### Peptide Microarrays for the Determination of Protease Substrate Specificity

C. M. Salisbury, D. J. Maly, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 14868-14870.

世界中で、DNA チップやプロテインチップ等のマイクロアレイ技術が広範囲に基礎・応用研究されている中、ペプチドを用いたマイクロアレイの研究は(その使用範囲の中途半端さ故か) それほどには耳にしなないように感じています。本論文では、著者らが独自に開発した蛍光色素、7-amino-4-carbamoylmethyl coumarin (ACC) を C 末端に複合化したペプチドのマイクロアレイ化が報告されています。著者らは以前に、Fmoc 固相合成法を用いた、ACC 結合ペプチド基質ライブラリ合成の開発を行い、各種プロテアーゼによるペプチド-ACC 結合切断に伴う蛍光強度変化を利用した P1 ~ P4 サイト基質特異性の評価を報告しています(J. L. Harris *et. al*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2000**, *97*, 7754.; D. J. Maly *et. al*, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 910)。今回の論文では、ACC 複合化ペプチド基質を基板上への固定化と基板表面でも酵素に対する基質特異性が保持されていることを示しています。色素標識したペプチドのマイクロアレイ化は、プロテアーゼ研究に限らず、今後、色々と応用できそうに思えます。

#### Small-Molecule Switches for Zinc Finger Transcription Factors

Q. Lin, C. F. Barbas, III, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *125*, 612-613.

任意の小分子基質に応答して活性化する人工転写因子の設計について報告しています。もはや P. G. Schultz については言うまでもないですが、卓越したアイデア、ストラテジー、多くの実験結果に基づくストーリーをさらりと Communication にまとめております。詳細は本文とその Supporting Information を参照いただきたいのですが、著者らはまず Zing finger タンパク質である zif268, C7 の

DNA 結合ドメイン中に巧みなアミノ酸残基置換を施すことで“分子キャビティー”を造って不活性化しています。ついで、先に人工構築した“キャビティー”にうまく結合かつタンパク質安定性回復を促す分子を *in vivo* スクリーニングすることで、小分子添加によって活性化される“人工転写因子”の構築に成功しています。

#### Generation of a Bacterium with a 21 Amino Acid Genetic Code

R. A. Mehl, J. C. Anderson, S. W. Santoro, L. Wang, A. B. Martin, D. S. King, D. M. Horn, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *125*, 935-939.

上に紹介した Schultz らによる“人工生物”創製に関するストーリーです。彼らは長年この研究に取り組んでいます。今回の論文中で作製された大腸菌は、自ら非標準アミノ酸を合成し、amber コドン (TAG, 終止コドン。通常は終結因子の働きによってタンパク質合成がストップ) に対応してタンパク質中に組み込みます。著者らは、数回の形質転換とセレクション、スクリーニングを施すことにより、次の 3 つの要素を大腸菌に付与しています。(1) 非標準アミノ酸である *p*-aminophenylalanine (pAF) の合成システム; (2) pAF 専用の amber コドン対応 tRNA ( $\text{mutRNA}_{\text{CUA}}^{\text{Tyr}}$ ); (3) pAF と  $\text{mutRNA}_{\text{CUA}}^{\text{Tyr}}$  を特異的に連結する aminoacyl-tRNA synthetase (pAFRS)。In vitro 合成系と半合成 tRNA を使ったタンパク質合成システムと比較して、Schultz らの系は、導入可能な非標準アミノ酸の種類や数はより制限されると思われます。しかしながら、大腸菌等を使ったシステムは *in vivo* セレクションを利用した酵素活性の選別に容易に発展可能です。素人意見ながら、リボソームのミューテーション等による非天然アミノ酸選択性の改変・拡張等までやったら完璧かと思います。個人的に、今後の展開に益々興味を持っています。

#### DNA Detection and Signal Amplification via an Engineered Allosteric Enzyme

A. Saghatelian, K. M. Guckian, D. A. Thayer, M. Reza Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *125*, 344-345.

ペプチド化学合成屋の間では、ペプチドナノチューブや Coiled-coil ペプチドによる自己複製システム等のデノボデザインで有名な M. Reza Ghadiri グループの仕事です。共有結合的に連結した inhibitor-ssDNA-enzyme (IDE) 複合体を設計し、相補鎖 DNA の検出を試みています。タンパク質表面での DNA 二重鎖形成にともなって inhibitor が外れ、酵素活性が回復することを利用したシステムです。蛍光基質を用いた分析によって高感度かつ短時間での DNA 検出に成功しています。核酸、酵素、ペプチドや有機分子等の複合化による機能分子構築というアイデアは他にも発展できそうだと感じました。

#### DNA-Based Photonic Logic Gates; AND, NAND, and INHIBIT

A. Saghatelian, N. H. Völcker, K. M. Guckian, V. S.-Y. Lin, M. Reza Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *125*, 346-347.

すぐ上に紹介した M. Reza Ghadiri グループの論文が連続して掲載されています。最近、頻繁に耳にする「分子コンピュータ」に関する 3 種類の logic gate を DNA 二重鎖と小分子の相互作用を利用

して構築しています。用いた材料は fluorescein 標識した 16 base オリゴ DNA とその相補鎖、minor groove binder である Hoechst 33342 および ethidium bromide のみです。やっている実験も fluorescein と色素間の FRET に基づく蛍光強度変化測定くらいです。Reza Ghadiri のネームバリュー効果もあるのですが、新規分野に対する着眼と研究のストーリーづくりで、多くのお金や労力もかけずに JACS に掲載されている点に感動しました。

#### Chemical Complementation; A Reaction-Independent Genetic Assay for Enzyme Catalysis

K. Baker, C. Bleczynski, H. Lin, G. S.-Jimenez, D. Sengupta, S. Krane, V. W. Cornish, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2002**, 99, 16537-16542.

人工分子進化によって酵素の活性を向上させたり、任意の機能を付与することはタンパク質工学の戦略の一つかと思えます。合成オリゴ DNA プライマーを用いる方法や、エラープローン PCR、DNA shuffling 等、タンパク質配列にランダムミューテーションを施す手法は数多く開発されています。しかしながら、いかに望みの機能を持つミュータントを膨大な分子種の中から効率的かつ迅速にスクリーニングあるいはセレクションするかという点において、研究者のアイデアが最も発揮される場所ではないかと思えます。既存の代表的手法では任意の基質や遷移状態アナログへの結合を利用したスクリーニングや特定遺伝子をノックアウトした大腸菌や酵母を用いた *in vivo* selection 等があるかと思えますが、全ての酵素機能の選別をカバーできるとは言えません。この論文で、著者らは “small molecule yeast three-hybrid system” を用いたスクリーニング法を提案しています。このシステムの構成を簡単に説明すると、DNA 結合ドメインである LexA と転写活性化ドメインである B42 を任意の酵素に対する基質を含む分子で非共有結合的に架橋してあります。このシステムをもつ酵母中で酵素によって基質が切断されると下流にあるレポーター遺伝子の転写が阻害されるという仕組みです。論文中では、対象酵素として cephalosporinase を、レポーター遺伝子として LacZ を用いて X-Gal plate 上でのブルーホワイトアッセイを試み、野生型と不活性変異体をコロニーの青色染色で識別可能であることを報告しています。実際に酵素の人工進化手法として用いるためには、まだ改良の余地があるようですが、工夫次第では他の様々な酵素にもこのシステムを展開できるのではと思います。

#### Probing the Role of Backbone Hydrogen Bonding in $\beta$ -Amyloid Fibrils with Inhibitor Peptides Containing Ester Bonds at Alternate Positions

D. J. Gordon, S. C. Meredith, *Biochemistry*, **2002**, 42, 475-485.

アルツハイマー病関連で有名な  $A\beta(1-40)$  のアミロイド繊維形成阻害活性および形成された繊維を壊す活性を持つペプチドアナログ分子に関する報告です。 $\beta$ -Sheet 二次構造間の水素結合ネットワークを乱せばアミロイド繊維形成を防げるのではないかという戦略です。その発想をもとに、 $A\beta$  タンパク質 16-22 位の配列中のアミド結合の一部をエステル結合で置換したペプチドアナログ  $A\beta(16-22)e$  を合成しています。これにより、分子間水素結合の形成を邪魔しようというアイデアです。実際に  $A\beta(16-22)e$  の添加によって  $A\beta(1-40)$  のアミロイド繊維形成が抑制され、また、すでに生じたアミロイド繊維がほどかれた様子が走査型電子顕微鏡による観察や色素の結合実験から示されてい



ます。エステル結合は、アミド結合より不安定なため、*in vivo* でのアミロイド繊維形成の抑制は難しいと思いますが、アルツハイマー病や狂牛病等に対する薬剤開発上、著者らの戦略は参考にはできるのではと考えております。

#### Aniline-Hydroxylation Activity of Flavin-Linked $\beta\alpha\beta\alpha$ -Type Polypeptide Packing an Iron Porphyrin

K. Tomizaki, H. Nishino, T. Arai, T. Kato, N. Nishino, *Chem. Lett.*, **2003**, 6-7.

九州工業大学の富崎先生と西野先生らのグループによる機能性ポリペプチドのデノボ設計とその機能に関する報告です。機能性基として鉄ポルフィリンとフラビンを複合化した $\beta\alpha\beta\alpha$ 構造を用いて、Aniline-Hydroxylation Activity の発現を試みられています。人工設計したポリペプチドを題材に構造-機能相関について詳細に調べた多くの示唆に富む仕事でした。

現在では、ヒューマンゲノム計画の終了宣言がなされ、望みのタンパク質が大腸菌や酵母、昆虫細胞を用いて比較的簡単かつ十分量に得られるようになってきました。しかしながら、任意の位置に数を制限されずに非標準アミノ酸や人工機能性基を導入できるという事がポリペプチド化学合成の有利な点かと思えます(岡山大の宍戸先生・芳坂先生らの人工4塩基コドン開発や無細胞タンパク質合成系の展開によってその“売り”すらも危ういかもかもしれませんが)。「任意の機能と立体構造を有するタンパク質配列を自在に人工設計する」というポリペプチドデノボ設計のゴールを目指した、今後の益々の展開を期待しています。



廣田 俊(ひろた しゅん) 京都薬科大学薬学部 助教授

hirota@mb.kyoto-phu.ac.jp

#### NPAS2: A Gas-responsive Transcription Factor.

E.M. Dioum, J. Rutter, J.R. Tuckerman, G. Gonzalez, M.-A. Gilles-Gonzalez, and S.L. McKnight, *Science*, **2003**, 298, 2385-2387.

一酸化窒素(NO)や一酸化炭素(CO)などは神経伝達物質として働くことが明らかになってきている。これらの気体は、時間を要する学習や記憶などの神経交換にも関与するとされており、転写などの細胞核中の反応にも影響を及ぼす可能性がある。

神経細胞 PAS ドメイン蛋白質 2(NPAS2)は哺乳類の転写因子である。NPAS2 と BMAL1 と呼ばれる蛋白質はヘテロダイマーを形成し、この 2 量体が DNA に結合して概日リズムを調節する。本論文では、NPAS2 がヘム蛋白質であり、NPAS2-BMAL1 ヘテロダイマーの DNA 結合能が CO によって選択的に調節されていることが示されている。NPAS2-BMAL1 ヘテロ 2 量体は、ヘムが結合していない apo 体とヘムが結合している holo 体のどちらの状態でも、NADPH が NADP よりも多い状態で DNA に結合する。しかし、数 M の CO 濃度で holo-NPAS2 の DNA 結合能は阻害されたが、apo-NPAS2 の結合能は阻害されなかった。また、DNA に

結合している NPAS2-BMAL1 ヘテロダイマーに CO が導入すると、不活性 BMAL1 ホモダイマーが生成した。

A New Zinc-protein Coordination Site in Intracellular Metal Trafficking: Solution Structure of the Apo and Zn(II) Forms of ZntA(46-118).

L. Banci, I. Bertini, S. Ciofi-Baffoni, L.A. Finney, C.E. Outten, and T.V. O'Halloran, *J. Mol. Biol.*, **2002**, 323, 883-897.

亜鉛は金属蛋白質中の触媒や構造部位として幅広く機能している。本論文では、大腸菌の輸送蛋白質 ZntA において、亜鉛が新規な配位構造を有することを報告している。ZntA は P タイプ ATP 合成酵素の 1 つであり、亜鉛をペリプラズムから細胞質へポンプする。生体内では、この金属濃度調節蛋白質により亜鉛は低濃度に保たれている。ZntA の細胞質側の N 末端領域の構造は、銅 1 価金属シャペロンである Atx1 の構造と高い相同性を持つ。今回の報告では、アポと Zn<sup>2+</sup> 結合 ZntA のアミノ酸 46-118 領域の構造が NMR により決定された。それによると、システイン 2 つとアスパラギン酸を含むこれまでに知られていない蛋白質部位に亜鉛が結合している。溶媒はこの部位に非常に容易に近づくことができ、このことは重金属輸送蛋白質に共通の性質であるようだ。筆者らは、銅 1 価や銀 1 価を選択的に結合する他の P タイプ ATP 合成酵素と構造を比較し、アスパラギン酸が亜鉛、鉛、カドミウムの結合能を上げ、金属交換速度に重要な役割を担う可能性があると主張している。

The Ternary Complex of Cytochrome *f* and Cytochrome *c*: Identification of a Second Binding Site and Competition for Plastocyanin Binding.

P.B. Crowley, K.S. Rabe, J.A. Worrall, G.W. Canters, and M. Ubbink, *Chembiochem*, **2002**, 3, 526-533.

筆者らは NMR を用い、酵母シトクロム *c* とシアノバクテリア由来シトクロム *f* との複合体形成を調べた。NMR 化学シフトの解析により、シトクロム *c* のヘム端のアミノ酸が複合体の界面に位置することが解った。イオン強度 10 mM での NMR による複合体形成の滴定により、シトクロム *f* 1 分子あたり 2 分子のシトクロム *c* が結合定数約  $2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  と  $4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$  で結合することが示された。また、NMR で得られた構造をもとに蛋白質の結合体のシミュレーションを行うと、シトクロム *f* のヘムの表側(サイト 1)と裏側(サイト 2)の 2 つの部位が明らかとなった。サイト 1 は、シトクロム *f* の自然界の相手蛋白質プラストシアニンの結合部位として既に明らかとなっている部位である。サイト 2 はシトクロム *bf* 複合体の Rieske 蛋白質の結合部位である可能性があると筆者らは主張している。

Monovalent Cations Mediate Formation of Native Tertiary Structure of the *Tetrahymena Thermophila* Ribozyme.

K. Takamoto, Q. He, S. Morris, M.R. Chance, and M. Brenowitz, *Nat. Struct. Biol.*, **2002**, 9, 928-933.

Linkage of Monovalent and Divalent Ion Binding in the Folding of the P4-P6 Domain of the *Tetrahymena* Ribozyme.

T. Uchida, Q. He, C.Y. Ralston, M. Brenowitz, and M.R. Chance, *Biochemistry*, **2002**, 41, 5799-5806

筆者らは、シンクロトロン放射光を用いて水の放射線分解により OH ラジカルを生成させ、生じたラジカルを RNA の折れ畳み反応の各段階に作用させて、RNA の折れ畳み反応中の構造変化を追跡するユニークな方法を考案した (B. Sclavi, *et al.*, *Science*, **1998**, 279, 1940-1941)。溶媒にさらされた部位だけがラジカルに攻撃されるので、折れ畳み反応の各時間領域で生成したラジカルがどの部位と相互作用するかを調べることで、各時間領域でどの構造が崩れているかが特定できる。今回、この方法を用いて、RNA の折れ畳み反応中で 1 価および 2 価のイオンが結合する部位を特定した。また、RNA の折れ畳み反応で、 $\text{Na}^+$  の濃度変化が折れ畳みの開始状態を決めるだけでなく、正しい経路を通してネイティブな 3 次構造をすばやく形成するように導くことを示した。

Early Kinetic Intermediate in the Folding of Acyl-CoA Binding Protein Detected by Fluorescence Labeling and Ultrarapid Mixing.

K. Teilum, K. Maki, B.B. Kragelund, F.M. Poulsen, and H. Roder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, 99, 9807-9812.

この論文では、見かけ上 2 状態の折れ畳み反応機構を示す蛋白質でも、折れ畳み反応の初期過程において、中間体が蓄積され得ることを例示している。acyl-CoA 結合蛋白質の折れ畳み反応は協奏的 2 状態転移で進むと考えられている。筆者らはデッドタイム 70  $\mu\text{s}$  の定常混合装置を用いて、acyl-CoA 結合蛋白質の折れ畳み反応の初期過程でのトリプトファンの蛍光変化を追跡した。筆者らのこれまでの実験により、80  $\mu\text{s}$  のトリプトファンの蛍光変化が観測され、Trp55 と Trp58 の蛍光が unfold 状態と比べてわずかに増える中間状態が形成されることを提案した。今回、この蛍光変化を明確にするため、ダンシル発蛍光団を蛋白質の C 末端に導入した。その際、C 末端のイソロイシンをシステインに変異させた。グアニジン塩酸塩で変性させた蛋白質を巻き戻らせることにより、100  $\mu\text{s}$  のタイムスケールで部分的に構造が崩壊した中間体が形成することが明確になった。



藤井 敏司(ふじい さとし) 甲南大学理工学部機能分子化学科講師

satoshif@konan-u.ac.jp

3 年前に山形の生物ラジカル研から甲南大に移りましてお世話になっております。これまで、生物無機化学分野 (金属酵素モデル、金属タンパク質、生体内一酸化窒素およびその分析法など) の周辺を電子スピン共鳴法 (ESR) などによる分光法を用いた研究を中心にやってまいりました。甲南大でそれらの経験を活かして新機軸を打ち出そうとしておりますが、未だ悪戦苦闘中です。今回、石田斉先生にこのような機会をいただきましたので、一見支離滅裂に見えるかもしれませんが、私にとっては関連のあるテーマに関していくつか論文を紹介させていただきます (有名すぎて紹介する必要ないかもしれませんが)。また、その分野の今後の展開も付け加えるように、というご指示ですので、ちょ

っと偉そうなことも書かせていただくかもしれません。

### 1. Nitrogenase MoFe-Protein at 1.16 Å Resolution: A Central Ligand in the FeMo-Cofactor

Oliver Einsle, F. Akif Tezcan, Susana L. A. Andrade, Benedikt Schmid, Mika Yoshida, James B. Howard, and Douglas C. Rees, *Science*, **2002**, 297, 1696-1700

ニトロゲナーゼは窒素固定菌に含まれ、生命が利用しにくい分子状窒素を利用しやすいアンモニア性窒素に変換する金属酵素です。この酵素は Fe プロテインと呼ばれる同一のサブユニット間に [4Fe-4S] クラスタを 1 個含む二量体タンパクと、MoFe プロテインと呼ばれる  $\alpha_2\beta_2$  型のヘテロ四量体タンパクとから構成されています。MoFe プロテインは、2 つの [4Fe-4S] クラスタからなり分子内電子伝達にたずさわっている P クラスタと、[4Fe-3S] クラスタと [1Mo-3Fe-3S] クラスタからなり基質 ( $N_2$ ) 結合部位で触媒反応の中心である FeMo 補因子を含んでいる大変複雑な構造もった金属タンパク質です。P クラスタと FeMo 補因子の構造は 1992 年に今回取り上げた論文の著者である Ree らによって 2.8 Å の分解能で明らかにされ (*Science*, **257**, 1677)、その後 Ree らおよび他のグループらによって 1.6 Å の分解能までリファインされてきました。その結果明らかにされた特に興味深い構造的な特徴として、FeMo 補因子を構成する 2 つのクラスタのうち中心部にある 6 個の Fe がそれぞれ 3 個の S と三角柱型の構造をとっていることが挙げられます。一般にこのような環境にある Fe イオンが 3 配位であるのは大変珍しく、この構造を再現しようと多くのモデル錯体の構築も試みられてきました。ところが、今回 Ree らが分解能を 1.16 Å まで上げた構造解析に成功したところ、3 配位と思われていた 6Fe の中心に、恐らく窒素によるもの(炭素や酸素である可能性は残されていますが)と思われる電子密度を見いだしました。6Fe の作る三角柱はこの N をさしており、結果的に 6 個の Fe はほぼ tetrahedral な構造をとっていることがわかりました。またこれまで ESEEM により FeMo 補因子近傍に N が存在している可能性が示唆されていましたが、今回の発見によりその解釈も容易になったものと思われます。現在、代表的な工業的製法である Haber-Bosch 法は、鉄酸化物を触媒として用い高温高压で窒素ガスと水素ガスからアンモニアを製造していますが、ニトロゲナーゼであれば常温常圧で製造が可能となります。今回の発見によりニトロゲナーゼの触媒作用のメカニズム解明も進むでしょうし、ニトロゲナーゼ様の触媒開発(モデル錯体等)に一層拍車がかかるものと思われます(既にお尻をたたかれていますの方がこれをお読みかもしれません)。

### 2-1 Direct Evidence for a G-Quadruplex in a Promoter Region and Its Targeting with a Small Molecule to Repress c-MYC Transcription

Adam Siddiqui-Jain, Cory L. Grand, David J. Bearss, and Laurence H. Hurley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, 99, 11593-11598

### 2-2 Crystal Structure of Parallel Quadruplexes from Human Telomeric DNA

Gary N. Parkinson, Michael P. H. Lee, and Stephen Neidle, *Nature*, **2002**, 417, 876-880

G-quadruplex 構造に関する論文 2 報です。原動物の DNA でその存在が指摘されていましたが、ヒトの DNA においても G-quadruplex の存在と構造が明らかにされました。2-1 では、ヒトのガン遺伝



子である *c-MYC* のプロモーター領域に 2 種類の異なる分子内 G-quadruplex 構造が存在し、そのうち熱力学的に安定なイス型の G-quadruplex 構造が *c-MYC* 転写のリプレッサーとなっていることが示されました。イス型の G-quadruplex 構造がカチオン性のポルフィリン化合物 tetra(*N*-methyl-4-pyridyl)porphine (TMPyP4)の結合により安定化することで、*c-MYC* の転写とタンパクの発現が抑えられること、同種の化合物 tetra(*N*-methyl-2-pyridyl)porphine (TMPyP2) では pyridyl 基の回転自由度が TMPyP4 より小さいため G-quadruplex 構造の安定化の度合いが小さいことを証明しています。

2-2 ではヒトのテロメア DNA の X 線結晶構造解析が報告されています。テロメア配列[d(TTAGGG)]は染色体の末端に繰り返し現れる構造で老化やガン化に関係する部位として注目を集めています。その立体構造として以前から 4 重らせん構造をとっていると提唱されていましたが決定的な証拠に欠けていました。本論文では、d(TAGGGTTAGGGT)の 12-mer と d[AGGG(TTAGGG)<sub>3</sub>]の 22-mer について、前者は 2 つの 12-mer が分子間で G-quadruplex 構造を、また後者は 22-mer の隣接した 4 つのテロメア配列により分子内で G-quadruplex 構造をとることを明らかにしました。また、G-quartet の中心には従来 Na<sup>+</sup>がカウンターカチオンとして用いられることが多かったのですが、本論文では細胞内の環境により忠実にということで K<sup>+</sup>がカウンターカチオンに用いられています。

ヒト DNA においても G-quadruplex 構造の存在が確実となり、その詳細な構造も解明されたことから、この部位に作用する薬物の開発競争がますます激化しそうです。しかし、固体化した結晶状態での X 線構造と NMR で決定する希薄溶液の構造のどちらがより細胞内の状態に近いのでしょうか。G-quadruplex のケースに限らない話ですが、今後はもう少し真面目に( ? )この問題を追求していかないといけないのかもしれない。

### 3-1 Structural and Dynamic Features of Alzheimer's A $\beta$ Peptide in Amyloid Fibrils Studied by Site-directed Spin Labeling

Marianna Török, Saskia Milton, Rakez Kaye, Peng Wu, Theresa McIntire, Charles G. Glabe, and Ralf Langen, *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 40810-40815

### 3-2 Arrangement of Subunits and Ordering of $\beta$ -strands in an Amyloid Sheet

Ahmed A. Serag, Christian Altenbach, Mari Gingery, Wayne L. Hubbell, and Todd O. Yeats, *Nat. Struct. Biol.*, **2002**, 9, 734-739

### 3-3 Metalloenzyme-like Activity of Alzheimer's Disease $\beta$ -Amyloid

Carlos Opazo, Xudong Huang, Robert A. Cherny, Robert D. Moir, Alex E. Roher, Anthony R. White, Roberto Cappai, Colin L. Masters, Rudolph E. Tanzi, Nibaldo C. Inestrosa, and Ashley I. Bush, *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 40302-40308

### 3-4 Methionine 35 Oxidation Reduces Fibril Assembly of the Amyloid A $\beta$ -(1-42) Peptide of Alzheimer's Disease.

Liming Hou, Inkyung Kang, Roger E. Marchant, and Michael G. Zagorski, *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 40173-40176

3-1, 3-2 はともに Site-directed Spin Labeling (SDSL) という方法を用いて、それぞれ Alzheimer 病の原因物質であるアミロイド (A $\beta$ ) ペプチドが、また血漿や脳脊髄液に含まれやはりアミロイド性疾患の原因となる transthyretin (TTR) が native の  $\beta$ -sheet 構造から fibril 化する際の構造ならびに運動性を調べています。SDSL はスピンラベル剤をペプチド中のシステインに導入して、ラベル剤に存在する不対電子間の距離を ESR にて見積もる方法で、10 年ほど前に開発されました。FRET よりも短距離を得意とするため (8-25 Å)、最近 SNARE などの膜タンパク質の運動性や構造を調べるのに用いられています (SDSL に関しての詳細は、例えば W. L. Hubbell *et al.*, *Nat. Struct. Biol.*, **2000**, 7, 735-739 の review をご覧下さい。)。3-1 では異なる凝集特性を持つ A $\beta$ 40 と A $\beta$ 42 が Fibril 化する際に均一に混ざり合って凝集していることが示されています。3-2 では大きな構造変化によってターミナルの  $\beta$ -strand が  $\beta$ -sheet の端から移動し、ターミナルから 2 番目の  $\beta$ -strand が外側にさらされることが、fibril 化の鍵になっているのではないかと結論づけています。

3-3, 3-4 は A $\beta$  の反応に関する論文です。著者らは以前から A $\beta$  は Cu $^{2+}$ , Fe $^{3+}$  イオンの存在下で H $_2$ O $_2$  を発生することを報告していましたが (X. Huang *et al.*, *Biochemistry*, **1999**, 38, 7609-7616)、今回そのメカニズムを詳細に調べています。A $\beta$ 42 が Cu $^{2+}$  を 2 個まで結合し、その錯体がコレステロール、カテコールアミン、ビタミン C などの還元剤から電子を受け取って触媒的に O $_2$  から H $_2$ O $_2$  を発生するメカニズムを提唱しています。また、この局所的な H $_2$ O $_2$  の発生と生理学的な還元剤の枯渇により神経毒性が発揮されるのでは、という説も唱えています。3-4 は A $\beta$ 42 の Met35 の酸化が fibril 形成を遅らせかつその形態を変えるという報告です。本論文では Met35 の酸化は 7.5% H $_2$ O $_2$  によって行われていますので、この場合 H $_2$ O $_2$  は A $\beta$  fibril による神経毒性に対して defensive に働くことになります。

アルツハイマー病を代表とするアミロイド性疾患の治療法の開発は高齢化社会を迎えますますその重要性を増していますが、上記のような点を含めまだまだ結果の一致しないところも数多く残されています。我々研究者は得られたデータの解釈を容易にするため出来る限り実験系をシンプルにしたい訳ですが、実際の細胞中あるいは生体中では基本的に非常に複雑な系で反応が起こっています。1, 2 で紹介した系もそうですが、真に生体内で起こる反応を知るために *in vivo in situ*, *ex vivo*, *in vitro* をつなぐ研究が、実行するのは大変困難でしょうが、重要となってくるのではないのでしょうか。



## 特別会告



# 第1回生命化学国際シンポジウム

First International Symposium on Biomolecular Chemistry (ISBC2003)

**主催** 日本化学会生命化学研究会 **共催** 日本化学会生体機能関連部会・コンビケム研究会

**協賛** 日本化学会・日本薬学会・日本生化学会ほか

**会期** 平成15年12月2日(火)~5日(金)

**会場** 兵庫県立淡路夢舞台国際会議場

(兵庫県津名郡東浦町夢舞台1番地〔ホームページ〕<http://www.yumebutai.org/>)

**ポスター発表申込締切** 6月6日(金)

**要旨締切** 8月1日(金)

**討論主題** 生命化学に関する世界第一線の研究者が会し、最新の研究成果および今後の展開について発表・意見交換を行い、国際交流と発展を促進することを目的として、第1回生命化学国際会議(ISBC2003)を開催する。世界的レベルの研究者による招待講演およびポスター発表により下記に示す5つのセッションを設け、生命化学の現状と展望について討論を行うとともに、生命化学分野の意義と重要性を追求し、当該分野における基礎研究および応用への発展に寄与することを目的とする。

**主要テーマ(セッション名)**

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

**主な招待講演者:** S. AONO (Japan), H. ARIKUNI (Japan), Y. BABA (Japan), C. F. BARBAS (USA), Y. CHANG (USA), D. P. FAIRLIE (Australia), D. P. GIEDROC (USA), S. HIROTA (Japan), S. ITOH (Japan), R. KANNAGI (Japan), K. H. KHOO (Taiwan), B. H. KIM (Korea), Y. S. LEE (Korea), C. H. LIN (Taiwan), T. W. MUIR (USA), P. E. NIELSEN (Denmark), P. SEEBERGER (USA), K. M. SHOKAT (USA), H. SUGA (USA), S. TAKENAKA (Japan), S. Q. YAO (Singapore), Y. YONEDA (Japan) ほか

**参加登録費:** 10月1日まで一般50,000円、官公庁・大学30,000円; 10月1日以降各1万円増(含講演要旨代) 学生: 10月1日まで5,000円、以降6,000円(講演要旨代5,000円別途)

**申込方法** HPあるいはE-mailにて、氏名、勤務先・所属、同所在地(〒・Tel・Fax・E-mail)ならびに英文200語程度の要旨を送付下さい。詳細はHP(<http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~isbc2003>)ならびに次ページのFirst Circularを参照して下さい。

**申込先** 〒770-8505 徳島市庄町1-78 徳島大学薬学部 馬場嘉信

Tel: 088-633-7285 Fax: 088-633-9507 E-mail: [isbc2003@chem.eng.osaka-u.ac.jp](mailto:isbc2003@chem.eng.osaka-u.ac.jp)

First Circular

## ISBC 2003

### *First International Symposium on Biomolecular Chemistry*



Awaji Yumebutai International Conference  
Center, Hyogo, Japan

December 2-5, 2003

Organized by  
Forum on Biomolecular Chemistry (FBC),  
The Chemical Society of Japan

#### SCOPE

The First International Symposium on Biomolecular Chemistry (ISBC2003) will be held from 2nd to 5th in December, 2003 in Awaji, Japan, organized by the Forum on Biomolecular Chemistry (FBC) in the Chemical Society of Japan. This symposium will emphasize the diversity of modern research in chemical studies on DNA/RNA, proteins, carbohydrates and metals, with particular emphasis on understanding and controlling the phenomena in living systems.

#### SCIENTIFIC PROGRAM

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

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

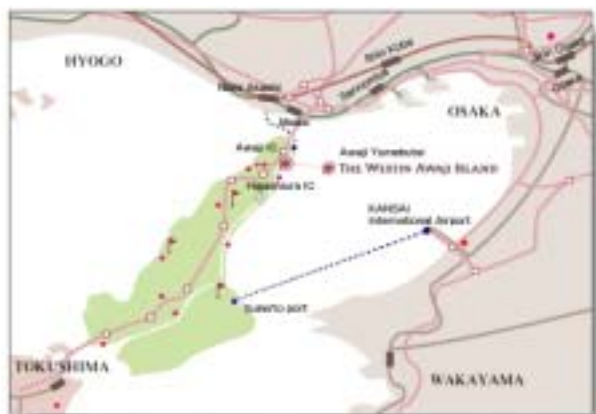
#### INVITED SPEAKERS (TENTATIVE)

- Shigetoshi AONO (Japan)  
Hisashi ARIKUNI (Japan)  
Yoshinobu BABA (Japan)  
Carlos F. BARBAS (USA)  
Young-Tae CHANG (USA)  
David P. FAIRLIE (Australia)  
David P. GIEDROC (USA)  
Shun HIROTA (Japan)  
Shinobu ITOH (Japan)  
Reiji KANNAGI (Japan)  
Kay-Hooi KHOO (Taiwan)  
Byeang-Hyeon KIM (Korea)  
Yoon-Sik LEE (Korea)  
Chung-Hung LIN (Taiwan)  
Tom W. MUIR (USA)  
Peter E. NIELSEN (Denmark)  
Peter SEEBERGER (USA)  
Kevan M. SHOKAT (USA)  
Hiroaki SUGA (USA)  
Shigeori TAKENAKA (Japan)  
Shao Q. YAO (Singapore)  
Yoshihiro YONEDA (Japan)



## LOCATION

The main sessions will be held at the Hyogo Prefectural Awaji Yumebutai International Conference Center (<http://www.yumebutai.org>) on Awaji Island where is about 10 min from the Akashi Kaikyo Bridge, the world's longest suspension bridge which connects Kobe with Awaji Island. The Conference Center is equipped with state-of-the-art conference facilities along with an observation terrace providing superb views of the lush greenery of the surrounding park and of the Inland Sea. You can access to Awaji Yumebutai in approximately 60 min drive from downtown Osaka or 30 min drive from Kobe. Adjacent to the Conference Center there is an excellent hotel, The Westin Awaji Island.



## CALL FOR PAPERS

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

<http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~isbc2003/>.

Further detailed information will be announced at the website.

Schedule of deadlines

Title and short abstract: June 6, 2003

Proceedings: August 1, 2003

## REGISTRATION

Tentative registration fees will be ¥ 30,000 for academic participants or ¥ 50,000 for industrial participants and ¥ 5,000 for students by October 1, 2003. After October 1, 2003 the registration fees will be ¥ 40,000 for academic participants or ¥ 60,000 for industrial participants and ¥ 6,000 for students. Registrations will be online at the website,

<http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~isbc2003/>.

## ADD YOUR NAME TO OUR MAILING LIST

To be placed on the mailing list for this conference, send an e-mail message (Name, Institution, Address, e-mail address) to [isbc2003@chem.eng.osaka-u.ac.jp](mailto:isbc2003@chem.eng.osaka-u.ac.jp), with indication of whether you would like to submit a paper. You can also use our Web-based form at:

<http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~isbc2003/>.

## ORGANIZING COMMITTEE

Yoshinobu BABA, Chair (Tokushima)

Takehiko WADA, Secretariat (Osaka)

Ikuo FUJII, Scientific program (Osaka)

Keigo AOI (Nagoya)

Koichi FUKASE (Osaka)

Shiroh FUTAKI (Kyoto)

Itaru HAMACHI (Fukuoka)

Hitoshi ISHIDA (Tokyo)

Hisakazu MIHARA (Yokohama)

Toshinori SATO (Tokyo)

Mitsuhiko SHIONOYA (Tokyo)

Naoki SUGIMOTO (Kobe)

Shigeori TAKENAKA (Fukuoka)

Takashi TSUJI (Yokohama)

Takeshi TSUMURAYA (Osaka)

Keiji YAMASHITA (Nagoya)

## SCIENTIFIC PROGRAM COMMITTEE

Kazuo HARADA (Tokyo)

Shun HIROTA (Kyoto)

Takahiro HOHSAKA (Okayama)

Kazuya KIKUCHI (Tokyo)

Takeshi NAGASAKI (Osaka)

Hiroaki SHINOHARA (Okayama)

Hitoshi TAMIAKI (Kusatsu)

Kentaro TANAKA (Tokyo)

Kouhei TSUMOTO (Sendai)

## シンポジウム等会告



### 研究会関連シンポジウム

日本化学会第 83 春季年会(2003)特別企画 早稲田大学

テーラーメイド生命化学

3月18日 S2会場 13:30~16:30

新産業の創出を狙って、バイオテクノロジー(BT)とナノテクノロジー(NT)の融合技術、すなわちバイオナノテクノロジーの開発が期待されている。BTとNTをつなぐ基盤的分子創成科学技術をめざすのが、テーラーメイド生命化学である。テーラーメイド生命化学の発展により、わずか10年前には想像もつかなかったほど数多くのバイオ分子とその関連化合物の合成あるいは解析が可能になってきている。対象となる多種多様なバイオ分子の合成と探索が短期間でできるので、研究者が欲しいと思っていたバイオ分子をテーラーメイドに調達できる。テーラーメイド生命化学から創出される化合物やデバイスが、医療、食品、環境の工学化・情報化技術を生み出すための基本素材そのものになることが期待される。

13:30-13:35 はじめに(東工大生命理工)三原久和

座長 浜地 格

13:35-14:00 テーラーメイド蛋白質進化(癌研究会癌研)芝 清隆

14:00-14:25 コンビ化学によるテーラーメイドバイオ(生物分子工研)藤井郁雄

座長 和田健彦

14:25-14:50 テーラーメイド蛋白質工学(東工大生命理工)小島英理

14:50-15:15 糖鎖と細胞のテーラーメイドバイオ(慶應大理工)佐藤智典

座長 石田 斉

15:15-15:40 細胞へのテーラーメイド物質移送(京大化研)二木史朗

15:40-16:05 テーラーメイド化プロテインチップ(東工大生命理工)三原久和

座長 杉本直己

16:05-16:30 テーラーメイド化バイオナノデバイス(徳島大学薬)馬場嘉信

## 分子研研究会「銅蛋白質の構造・物性の分子科学」

日時 平成 15 年 3 月 5 日 (水) 6 日 (木)

会場 岡崎コンファレンスセンター 2 階

### 講演予定者

海外 : L. Banci (University of Florence, Italy), G. W. Canters (University of Leiden, The Netherland), D. M. Dooley (Montana State University, USA), N. Kostic (Iowa State University, USA), S. Mazumdar, (Tata Institute of Fundamental Research, India), M. Ubbink (University of Leiden, The Netherland), M. Ullmann (University of Heiderberg, Germany), A. Vila (University of Rosario, Argentina)

国内 : 伊東忍 (阪市大院理) 緒方英明 (京大院理) 小倉尚志 (東大総合文化) 加納健司 (京大院農) 菊地晶裕 (理研) 木下勇 (阪市大院理) 倉橋拓也 (分子研) 高妻孝光 (茨城大理) 小寺政人 (同志社大工) 桜井武 (金沢大理) 鈴木晋一郎 (阪大院理) 谷澤克行 (阪大産研) 中村暢文 (東京農工大工) 廣田俊 (京都薬大) 藤澤清史 (筑波大化学) 船橋靖博 (名工大工) 森田勇人 (愛媛大遺伝子施設)

参加費 : 無料

### 連絡先

茨城大学・高妻孝光 (TEL: 029-228-8372, E-mail: [kohzuma@mx.ibaraki.ac.jp](mailto:kohzuma@mx.ibaraki.ac.jp))

京都薬科大学・廣田俊 (TEL: 075-595-4664, E-mail: [hirota@mb.kyoto-phu.ac.jp](mailto:hirota@mb.kyoto-phu.ac.jp))



## 第 8 回鶴舞公開セミナー

～ ～ ～ 21 世紀における先端医学研究のために ～ ～ ～

日時 : 平成 15 年 4 月 17 日 (木) 18 日 (金) 9 : 00 ~ 17 : 00

場所 : 名古屋大学大学院医学系研究科 (鶴舞キャンパス) 医系研究棟 1 号館会議室

〒 4 6 6 - 8 5 5 0 名古屋市昭和区鶴舞町 6 5

(JR 中央線鶴舞駅・地下鉄鶴舞線鶴舞駅下車徒歩 5 分)

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/>

主催 : 名古屋大学大学院医学系研究科教育委員会

医学研究者を目指す若者のために、鶴舞公開セミナーを開催します。名古屋大学大学院医学系研究

科での研究に基づいて、医学研究の最前線の情報を提供します。大学院への進学を検討している方や、すでに研究生活に入り今後のテーマを模索している方などお気軽にご参加ください。(入場無料)

問い合わせ先: Tel. 052-744-2431 (医学系研究科学務課大学院掛)  
e-mail. knaruse@med.nagoya-u.ac.jp (教育委員会委員成瀬恵治)



## 第9回 国際有機化学京都会議 (IKCOC-9)

主催 近畿化学協会

共催 日本化学会 日本薬学会 高分子学会 日本農芸化学会 有機合成化学協会

会期 2003年11月10日(月)~14日(金)

会場 京都パークホテル(京都市東山区三十三間堂廻り町644-2)

発表申込締切 7月31日(木)

予稿原稿締切 7月31日(木)[必着]

参加登録予約申込締切 7月31日(木)

討論主題 有機化学の新展開(セッション1:有機合成手法の革新 セッション2:材料科学のための有機合成 セッション3:生命科学のための有機合成)

発表形式 口頭(英語,発表15分 質疑含む)及びポスター。口頭発表の申込は1研究室あたり1演題に限り,採否は組織委員会に一任願います。なお発表には液晶プロジェクターあるいはOHPをご使用いただきます。

### Special Lecture

K. Barry Sharpless(Scripps Research Inst.)

Max Malacria (Univ. Pierre et Marie Curie)

Plenary Lectures

Stephen F. Martin (Univ. Texas)

Albert Eschenmoser (ETH, Scripps Research Inst.)

Norio Miyaura (Hokkaido Univ.)

Johann Mulzer (Univ. Wien)

Robert H. Grubbs (California Inst. Technology)

Miguel Yus (Univ. Alicante)

Yasuhiko Shirota (Osaka Univ.)

Peter Bauerle (Univ. Ulm)

Invited Lectures

Kimoon Kim (POSTECH)

Tamio Hayashi (Kyoto Univ.)

Peer Kirsch (Merck KGaA)

Chu-Ho Jun (Yonsei Univ.)

Jonathan S. Lindsey (North Carolina State Univ.)

David W.C. MacMillan (California Inst. Technology)

Lawrence T. Scott (Boston College)

Hisanori Shinohara (Nagoya Univ.)

Masahiro Hirama (Tohoku Univ.)

Development)

Laura L. Kiessling (Univ. Wisconsin)

Peter E. Nielsen (Univ. Copenhagen)

Karen Lackey (GlaxoSmithKline)

Matthew D. Shair (Harvard Univ.)

Masami Nakane (Pfizer Global Research and

発表申込方法 ホームページよりお申込下さい。

<http://www.coop.osaka-u.ac.jp/ikcoc-9/>

参加登録費：一般 45,000 円 (8 月 1 日以降 50,000 円), 学生 20,000 円 (8 月 1 日以降 25,000 円),  
なお、国内企業からの参加ご希望の方には特別参加方式(特別参加登録費 100,000 円)にてお願いし  
ております。別途、申込用紙を下記までご請求下さい。

( 請求先：550-0004 大阪市西区靱本町 1-8-4 社団法人近畿化学協会

TEL:06-6441-5531 FAX:06-6443-6685 e-mail: ikcoc@kinka.or.jp )

懇親会 11 月 13 日 (木) 19:00 ~ 21:00 会費 10,000 円

参加登録予約申込方法 ホームページよりお申込下さい。

<http://www.coop.osaka-u.ac.jp/ikcoc-9/>

連絡先 560-0043 豊中市待兼山町 1-1 大阪大学大学院理学研究科 楠本 正一

FAX: (06)6850-5419 E-mail: ikcoc9@chem.sci.osaka-u.ac.jp

詳しくはホームページ ( <http://www.coop.osaka-u.ac.jp/ikcoc-9/> ) をご覧下さい。







## お知らせコーナー

### 受賞のお知らせ

小出 隆規氏 (徳島大学工学部生物工学科)

受賞名: ペプチド学会奨励賞「コラーゲン特異的分子シャペロンの基質認識機構の解明」(2002年10月16日)



### 編集者からのお知らせ

二木史朗氏(京大化研) 和田健彦氏(阪大院工)から受け継いで、本研究レターの編集を No. 8 から担当させていただくようになり、早1年、今号で4号目の編集となりました。そろそろ何かサイエンティフィックな企画を、と思い、考えたのが「Chemical Biology 特集」でしたが、研究会内のいろいろな方にご相談しましたが、「Chemical Biology を自分の仕事で書ける人はまだ(ほとんど)いない」という話になってしまいました。それでも今回、若手中心に執筆を担当頂き、「Chemical Biology 特集準備号」位の感じは出せたのではないかと思います。また、数年前に比べて確実に皆さんの中にイメージが出来ているのを感じました。今後の発展を期待したいと思います。

いくつか御願いがございます。

執筆を御願いしますと、「書きたいと思っていました」などのご返事を頂くことがございますが、編集担当(石田、二木、和田)では、執筆者を探しております。ぜひ「書いてみたい」とご一報いただけないでしょうか。博士課程学生以上の方なら、ぜひご執筆いただきたいと思ひます。本レターは編集方針を「肩が凝らず、面白く」として、下記のような構成を中心にしております。

#### 研究紹介

ご自身の研究(および自分自身)の紹介と宣伝を自由にしていただければと思ひます。様々なバックグラウンドの会員が目にするを想定して、細かい実験データと言うよりは、どのような夢を抱いて、どのような研究を進めているかについて、見る人が興味を抱くように書いていただければと思ひます。

います。

#### 論文紹介「気になった論文」

過去半年くらいに面白いと思った論文をいくつか(3報かそれ以上)挙げてもらい、短いコメント(もうすこし長く語りたい場合はどうかご自由に)をつけて頂いています。皆が見ている雑誌(JACS、Nature、Science など)からでも良いですし、自分の専門だが会員の人も興味を持つかもといったものでも構いません。自分の論文のさりげない? 宣伝もOK です。

#### デジカメ企画「研究の風景」

文章ではなく、写真に簡単な説明をつける程度で、ご自身の研究環境の紹介をしていただきます。研究室の宣伝だけでなく、留学先の報告でも結構です。ポスドクの募集や、留学先を探す学生さんへの情報発信に活用ください。残念ながら、本レターをメール配信しております関係上、解像度を下げさせていただいております。写真数を減らしてご紹介いただくなどの工夫を御願います。

#### 会告・お知らせ

会員の皆さんがお世話されているシンポジウム・セミナーなど、随時、会告を受け付けています。字数制限、書式などは特にございません。また、会員異動・受賞に関する情報も掲載させていただいておりますので、ご活用ください。

後1年、このレター編集を担当させていただくことになっております。これからも宜しく御願います。

石田 斉(北里大学理学部)

