

# 生命化学研究

## 目次

1. 巻頭言		
座右の銘		2
	石田 斉 (北里大学理学部)	
2. 研究紹介		
多糖・核酸からなる3重螺旋の発見とその応用		4
	櫻井 和朗 (北九州大学国際環境工学部)	
DNA 分子組織体の構築およびクロモフォアの配列化		12
	大矢 裕一 (関西大学工学部)	
3. 論文紹介「気になった論文」		18
	甲元 一也 (甲南大学先端生命工学研究所)	
	佐藤 琢 (大阪市立大学大学院工学研究科)	
	堀谷 学 (東京慈恵会医科大学大学院医学研究科)	
4. 米国ノートルダム大学留学体験記		24
	佐々木 善浩 (奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科)	
5. シンポジウム等会告		27
6. お知らせコーナー		30
	受賞・会員異動のお知らせ	
	編集後記	



## 巻頭言

# 座右の銘

北里大学理学部化学科

石田 斉

本研究会は2004年3月より浜地 格新会長の下、新しい体制で活動を開始することとなった。本来なら、新会長の施政演説？ならぬ決意表明を巻頭言として書いていただくべきところだが、以前に巻頭言(レターNo. 9)を書かれていることもあり、編集担当を一区切りした私が書かせていただくこととなった。

浜地氏と初めて出会ったのは、お互い、まだ助手になって間もない頃のことだ。それから数年して、ひよんなことから座右の銘の話がでた。浜地氏が、座右の銘は「少年老い易く学成り難し」だ、と言ったことは妙に印象に残っている。この詩は朱子学の祖 朱熹の作とされ、次のように続く。

しょうねん お やす がく な がた  
少年老い易く学成り難し  
いっすん こういんかる  
一寸の光陰軽んずべからず  
いま さ ちとうしゅんそう ゆめ  
未だ覚めず池塘春草の夢  
かいぜん ごようすで しゅうせい  
階前の梧葉已に秋声

(少年はあっという間に年をとり、学ぶべきことを学ばずに終わる。時間を無駄にしてはいけない。池の端で草が春の夢をまどろんでいるうちに、庭先の桐の葉は黄色く染まり、すでに秋だ。)

この詩について話しながら、「本当に『少年老い易く学成り難し』だよな」と笑いあっていた私たちに、本当の意味がどのくらいわかっていたのか。人生の秋が近づいて？、初めて、言葉の意味がわかる気がする。

### 初心忘るべからず

私は、何かに行き詰まったときには、いつも自分自身に、こう問いかけるようにしている。そういう意味では、座右の銘の一つと言えるだろう。この言葉は世阿弥の言葉だが、世阿弥は『風姿花伝』の中で、また次のようにも言っている。

上がるは三十四、五までのころ、下がるは四十以来なり

現代とは平均寿命が全く違う時代の話であるが、現代の研究者にとっても、40歳というのは特別な年齢なのかもしれない。

私は大阪大学で、田中晃二先生(現 分子研教授)に師事した。先生は当時、40歳か、少し過ぎておられた頃かもしれない。ある時、田中先生は、学会の懇親会かなにかで、ある高名な先生から、「40を過ぎたら、ライフワークに取り組まなければいけない」と言われた、と漏らしておられた。私はまだ学部4年生だったが、「そうか、40歳になったらライフワークに取り組まないといけないんだ」と単純に思ったものだ。

しい まな とき これ なら ま よろこ や  
子曰わく、学<sup>まな</sup>びて時<sup>とき</sup>に之<sup>これ</sup>れを習<sup>なら</sup>う、亦<sup>ま</sup>た説<sup>よろこ</sup>ばしからず乎<sup>や</sup>

とも あ えんぼう き ま たの や  
朋<sup>とも</sup>有り遠<sup>えんぼう</sup>方<sup>き</sup>より来<sup>ま</sup>たる、亦<sup>た</sup>た楽<sup>の</sup>しからず乎<sup>や</sup>

(孔子は言う。学んで折に触れて試みる。うれしいことではないか。友が遠方から訪ねてくる。やはり楽しいことではないか。)

孔子の「論語」の有名な一節である。ここで言う「友」は、遠くから訪ねてきて、共に学問を語り合う友人であるらしい。しかし、この話には続きがある。

ひとし いか ま くんし や  
人<sup>ひとし</sup>知らずして慍<sup>いか</sup>らず、亦<sup>ま</sup>た君子<sup>くんし</sup>ならず乎<sup>や</sup>

(人から評価されずとも怒らないのが学ぶ者の姿だ。)

研究者が世に出て行くには様々なケースがある。ある人はその研究室の主要なテーマを引き継いで着実に業績を重ねて評価されるだろうし、またある人はその研究室にはない新しいことにチャレンジして、成果を上げるかもしれない。

新しいことにチャレンジした場合、その研究室では新しいことかもしれないが、その専門の研究室にとっては既に知られていることかもしれない。そんな不安は常にあることだろう。

飛び立つには角度が大切で、高く飛び立てば遠くへ飛べる、とはある人に教わった話だが、飛び立つにはやはり基礎体力が必要だ。新しいことにチャレンジすることと、専門分野をしっかりと確立することは、両輪の輪のように、同時に達成しなければならない。

これはなかなか難しいことで、私自身、新しいことを始めると、いつも不安でいっぱいだった。それでも励ましてくださる方がおられると、なんとか頑張ってもやれるのだが、ほんの些細なことでも、厳しい言葉をもらうとその不安はたちまち倍増する。「君の仕事の良いところはこういうところで、弱点はこういうところだから、そういう点に気をつけながら良いところを伸ばしていきなさい」というような丁寧な指導をしてくださる方が周りにいればいいのかのだけれど、なかなかそういう理解者が近くにいるとは限らない。

孔子の「論語」には、次の言葉がある。

わ じゅうゆう ご がく ころ さんじゅう た しじゅう まど ごじゅう てんめい  
吾<sup>わ</sup>れ十<sup>じゅう</sup>有<sup>ゆう</sup>五<sup>ご</sup>にして学<sup>がく</sup>に志<sup>ころ</sup>ざす。三十<sup>さんじゅう</sup>にして立<sup>た</sup>つ。四十<sup>しじゅう</sup>にして惑<sup>まど</sup>わず。五十<sup>ごじゅう</sup>にして天<sup>てん</sup>命<sup>めい</sup>を  
し ろくじゅう みみしたが しちじゅう ころ ほつ ところ したが のり こ  
知<sup>し</sup>る。六十<sup>ろくじゅう</sup>にして耳<sup>みみ</sup>順<sup>したが</sup>う。七十<sup>しちじゅう</sup>にして心<sup>ころ</sup>の欲<sup>ほつ</sup>する所<sup>ところ</sup>に従<sup>したが</sup>って、矩<sup>のり</sup>を踰<sup>こ</sup>えず。

(十五歳で道を決め、三十歳で基礎を確立し、四十歳で自信を得、五十歳で天職と納得し、六十歳で他人の意見がわかり、七十歳で節度を失わなくなる)

『四十にして惑わず』。

ばたばたと40歳を越えてしまって、もう数年経ってしまったが、ようやく落ち着いて、この言葉を座右の銘にできるような気がしている。

秋は、実りの秋でもある。

(いしだ ひとし: [ishida@sci.kitasato-u.ac.jp](mailto:ishida@sci.kitasato-u.ac.jp))

## 多糖・核酸からなる3重螺旋の発見とその応用

北九州市立大学国際環境工学部

環境化学プロセス工学科

櫻井 和朗

(sakurai@env.kitakyu-u.ac.jp)



## 1. はじめに

この原稿を書いている部屋の外ではすでに桜が満開である。4月になって、学生が戻ってきたキャンパスは再び活気を取り戻し、新学期が始まろうとしている。私が勤務する北九州市立大学の工学部は設立4年目を迎え、初めて4年生が研究室に配属されて来た。今まで好き放題の生活を送ってきた学生が、研究室の世界に入ってきて、新しい机の前に窮屈そうに座っている。オードリー・ヘップバーンの名作 *My Fair Lady* で、下町からヒギンズ教授の家につれてこられたばかりのイライザの姿を連想し、思わず苦笑したくなる。映画と同じように、卒業するときには、洗練された研究者や技術者の卵として変身させるのが、我々の仕事である。しかし、この捕まえられた野良猫のような姿だけは、私が卒研生として大阪大学の藤田研究室に配属された昭和56年当時とまったく変わっていない。4年生の私に卒業研究として与えられたのが、 $\beta$ -1,3-グルカンの溶液物性であった。マージャン牌のあるクラブの部室にたつぷりと未練を残しながら始めた(始めさせられた)、この多糖の研究の紹介から本稿を始めたい。

2. 不思議な  $\beta$ -1,3-グルカン

古くから中国ではサルノコシカケをはじめとするある種のキノコ類が不老長寿の霊薬として珍重されてきた。その中に“スエヒロタケ”とよばれる茸があり、滋養補助や婦人病に良いと言われている。近代になって、スエヒロタケの有効成分が  $\beta$ -1,3-グルカンの一種のシゾフィラン (SPG、化学構造は図1) である事や、 $\beta$ -1,3-グルカンに抗腫瘍活性があることが見出された。<sup>1-3</sup> わが国では、シゾフィランは台糖(糖)によって企業化されており、進行性子宮頸癌に対する筋肉注射製剤として産婦人科医にとってはなじみ深い薬である。蛇足ではあるが、古代の漢方医がスエヒロタケの有効性を知っていて、特に婦人病に良いと記録している事実に、中国4000年の歴史の奥深さを感じるのは著者一人ではないと思う。

天然のシゾフィランは通常3重螺旋の状態(図1参照)。<sup>4,5</sup> これをDMSO等の極性有機溶媒に溶解すると螺旋が解けてランダムコイル状の単一鎖となる。この状態から溶媒を水に戻すと、疎水性相互作用と水素結合によって分子間の結合が生じ、部分的ではあるが3重螺旋の構造が再生される。<sup>6,7</sup> この様に非天然の状態から天然の状態に戻すことを“Renature”と呼ぶ。私の卒業研究は、この Renature の過程を、溶液の粘

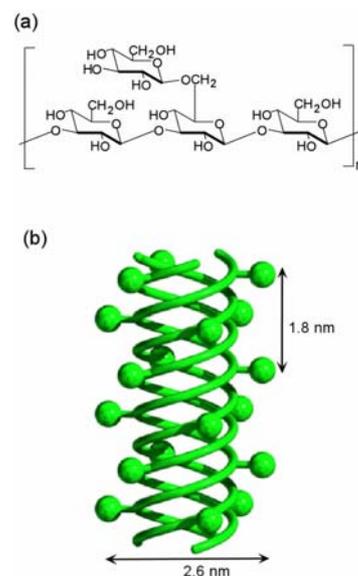


図1 シゾフィラン (SPG) の線返し単位と3重螺旋

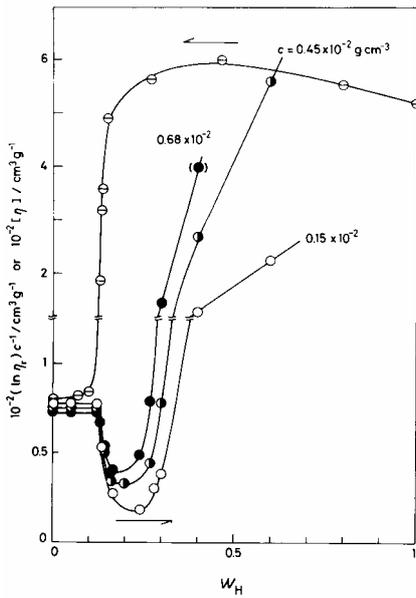


図2 3重螺旋で分子量15万のSPGの螺旋融解過程(←)と単一鎖からの再生過程(→)。 $w_H$ は水/DMSO混合溶媒中の水の重量分率。(文献8より)

度測定をおこなって、調べることであった。毎日、ひたすらウベロード粘度計で溶液の粘度を測定して得たのが、図2のグラフである。<sup>8</sup>

図2の縦軸は極限粘度 $[\eta]$ 若しくは相対粘度 $\eta_r$ の対数を濃度で割った量を示す。高分子溶液の粘度は溶質の流体力学的大きさを反映している。SPGの3重螺旋は棒状高分子であるため、かさ高く流体力学的体積が大きいため粘度が高くなる。DMSOの組成が多くなり、3重螺旋が融解してSPGが1本鎖に解けると、形態はランダムコイル状となり、粘度は低下する。SPGがランダムコイル状で存在する溶液中の水の組成を増やしていくと(→の方向)、 $w_H=0.13$ で、粘度が急激に減少し、それより大きな $w_H$ では逆に上昇していく。濃度の高い溶液ほど、粘度が上昇する割合は大きく、これが会合によることを示している。

アトキンスら<sup>9</sup>が古くから示しているように、 $\beta$ -1,3-グルカン類は、主鎖グルコースの2位の水酸基が水中でも水素結合を形成することができる。古典的には、図3(a)に示した様に、同じ高さのグルコースが分子鎖間で水素結合をつくっていると考えられて来た。

この図は多くの論文に引用され、教科書にものっている。しかし、最近、三好・上江洲らは、もっとも単純な $\beta$ -1,3-グルカンであるカードランの構造を最新の計算機化学の手法を用いて検討しなおしたところ、図3(b)に示した様に、主鎖の右巻きグルコースとは逆巻きである左巻き水素結合のほうが、古典的な3角形型の水素結合より安定であることを見つけた。<sup>10</sup>

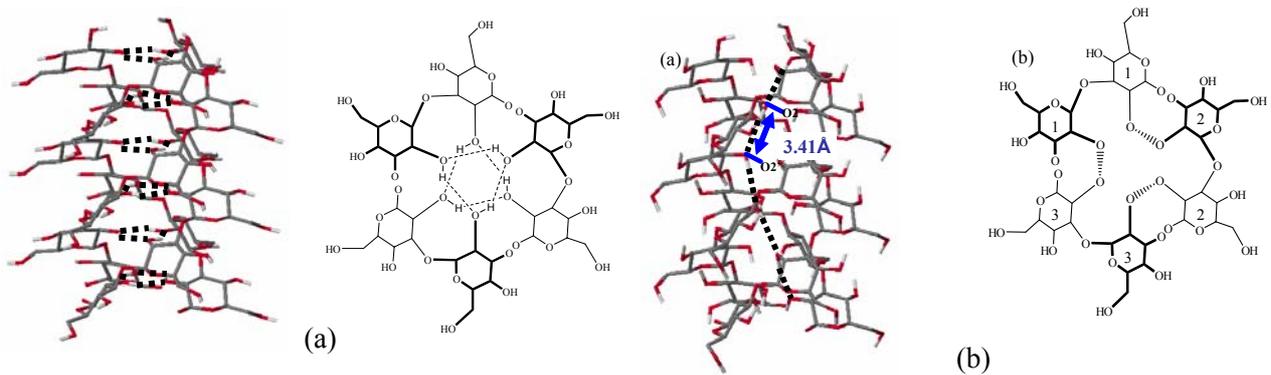


図3 古くから $\beta$ -1,3-グルカンの3重螺旋に存在するとされている水素結合様式(a)と最近、三好・上江洲が見出した左巻きの水素結合アレイ(b)。(引用文献10)

### 3. 20年ぶりにシゾフィランの研究を始める

4年生の指導教官であった則末尚志先生(現在大阪大学大学院理学部教授)の指示にしたがって、図2のデータを出し終わり卒業論文を無事書き終えた。同じ藤田研に進学し、引き続き則末先生の指導を受けたが、修士課程では別のテーマを研究しやがて某繊維会社に就職して大学を去った。本来なら、シゾフィランとの縁もこれで終わるはずであった。ところが、永久就職のつもりで入った会社の調子が1998年頃から

おかしくなり、2001年には研究所が外資系の製薬メーカーに敷地ごと売却されてしまった。失われた10年といわれたバブル後の不景気で、山内証券やヤオハンの倒産がニュースで話題になっていたが、まさか自分のいる会社にも危機がおとずれるとは予想もしていなかった。ちょうどその頃、九大の新海先生が JST・ICORP分子転写プロジェクト(久留米)の研究員を、会社を通じて募集しておられた。会社は、絶好の口減らしのチャンスとばかり、私の派遣を即座に決めた。後から聞くとところによると、新海先生は、もうすこし若くて元気な研究員を希望しておられたようである。私も、恥ずかしい話ではあるが、新海先生のことは詳しくは存じ上げず、当時、九大におられた前田瑞夫先生に「私、有機化学は苦手なのですが、新海先生ってどんな先生ですか?」と聞いたりした。

久留米に来てみると、菅原道真が左遷された大宰府よりさらに都から遠いことに気がつき、正直言って、かなり落胆した。大宰府天満宮にお参りに行って、「道真さん、あんたは関西に帰れんかったかもしれへんが、私は家族と犬の待つ関西にかえるよ」と誓った。しかし、人生とは不思議なもので、この新海・分子転写プロジェクトへの転勤が、シゾフィランとの再会のきっかけとなる。ある日、新海先生とのテーマに関するディスカッションのなかで、「なにか面白い多糖は知らないか?」と聞かれたので、「 $\beta$ -1,3-グルカンの中のシゾフィランと言う、セルロースとアミロースの中間の様な多糖を知っています」と答えた。新海先生はしばらく考えた後、「はい、面白そうな多糖だね。君は他の研究員より歳をとっているし、すこし自由にこの多糖をいじって見なさい」と言われた。そこで、20年前の自分の卒業論文を取り出し、図2のRenatureの過程に、いろいろなものを混ぜてみることにした。秋吉先生のコレステロール・プルランの素晴らしい論文<sup>11,12</sup>があり、これを参考にしながら、当時は、 $\beta$ -1,3-グルカンが作るナノゲルの中に、疎水性のタンパクがとじこめられたら良いと思っていた。インシュリンやプロゲステロンなどを試していたが、あまり良いデータは出てこなかった。ある日、だれかの使い残しで冷蔵庫に入っていた、poly(C)を手に取り、シゾフィランと混ぜてみることにした。この話が本稿の本題である。

## 4. 多糖と核酸の複合体

### 4-1 複合体の基本的性質

複合体形成に伴う円偏光二色性スペクトルと紫外光吸収スペクトルの変化を図4に示す。ここで、poly(C)はポリシチジル酸の略称で1本鎖のホモRNAである。水溶液中のpoly(C)は、リン酸アニオンの静電反発とシトシン間の疎水的引力によって、螺旋状のコンフォメーションを取っているため、強い円偏光二色性を示す。このpoly(C)に単一鎖のシゾフィランを混合すると複合体が形成され、円偏光二色性スペクトルでは280 nmのバンドが大きくなると共に、240 nmに新しいピークが生まれている。また、紫外光吸収スペクトルでは顕著な淡色効果が見られる。この波長領域にはSPGは吸収を持たないこと、シトシンは特徴的な $\pi$ - $\pi^*$ 遷移を270 nmあたりに持つことより、図4に示した変化は、poly(C)内のシトシン基の立体的な位置関係が変化したこと、す

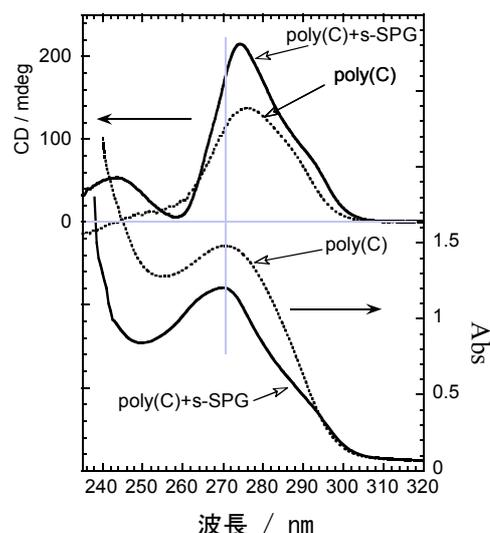


図4 複合体形成による、円偏光二色性スペクトル(上)と紫外吸収スペクトルの変化(下)。s-SPG は一本鎖のシゾフィランを指す。

なわち、SPGと複合体を形成する事によってpoly(C)のコンフォメーションが変化したことを示す。ところで、ポリカチオンと核酸がイオン対形成により複合体を形成することは以前から知られている。この複合体について、図4と同様の条件で円偏光二色性スペクトルを測定すると、スペクトル強度は減少する。これは、複合体形成によってシトシン基の積み重なりが乱れ、poly(C)が乱れたコンフォメーションを取るためと説明される。図4では、ポリカチオンの系と比べて正反対の結果が観測されている。すなわち、SPG と poly(C)からなる複合体ではシトシン基の積み重なりは保たれているか、むしろ淡色効果と円偏光二色性の増加が観測されることより、poly(C)単体に比べてより規則正しい塩基の積み重なりが起こっていると考えられる。この複合体形成現象は、シゾフィラン特有のものではなく、他のβ-1,3-グルカンであるカードラン、レンチナンでも観測され、β-1,3-グルカンの普遍的な特徴であることが分かっている。また、同様の複合体形成が、塩基数40以上のpoly(A)、poly(dA)やpoly(T)などの1本のホモ核酸との間でも起こる。

図5に、poly(C)の濃度を一定にしてSPGの濃度を变化させた時の波長275 nmの分子楕円率([θ]<sub>275</sub>)の変化をSPGとpoly(C)のモル濃度の比として示した。モル濃度比の低い領域では、[θ]<sub>275</sub>は直線的に上昇していくが、モル濃度比=0.6のところで明瞭な屈曲点を示した後に [θ]<sub>275</sub>の値は一定となる。この屈曲点から複合体の化学量論比がN=0.6と求まる。この値は、複合体を形成する他の核酸でもほぼ同じであり、ゲル電気泳動や蛍光偏光解消度などの他の測定方法でも同じ値が得られる。このN=0.6を説明するには、図5の下に示した2重螺旋ではなく、シゾフィランのβ-1,3-グルカン主鎖を構成するグルコース2分子と核酸1分子からなる3重螺旋を考える必要がある。

#### 4-2 複合体の温度上昇による解離現象

複合体の形成能を調べると、RNAではpoly(A)とpoly(C)が、DNAではpoly(dA)とpoly(dT)が複合体を形成する。また、poly(U)では無塩状態では複合体を形成しないが、カリウムヤルビジウム存在下ではイオン選択的に複合体を形成する。また、図6に示すように、温度をあげると複合体は協同的に解離した。このような性質は、DNAの2重螺旋の融解現象を類似して極めて興味深い。また、poly(A)とpoly(C)の複合体の解離温度は20度あり、複合体がDNAの2重螺旋と同様に水素結合で構造を安定化していることを示唆している。

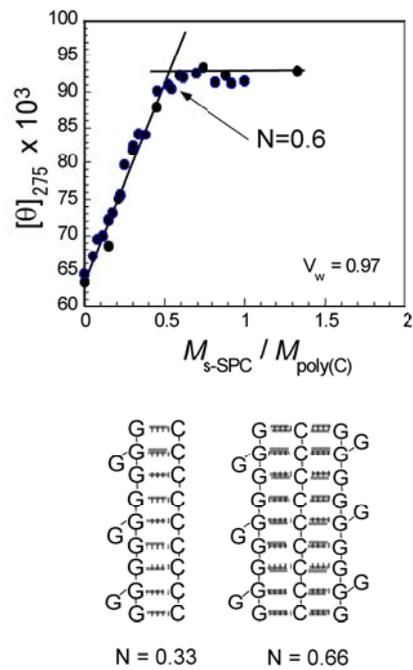


図5 poly(C)のモル濃度を一定にして、一本鎖シゾフィランの濃度を变化させた時の波長 275 nm での分子楕円率の変化。複合体の組成は変曲点より、モル比=0.6±0.05 と求まる。下の模式図は、2 本鎖と3 本鎖のモデル。G はグルコース、C はシチジル酸単位を表す。モル数の計算には、シゾフィランは 4 グルコースで、poly(C)は1シチジル酸でそれぞれ 1 モルとした。

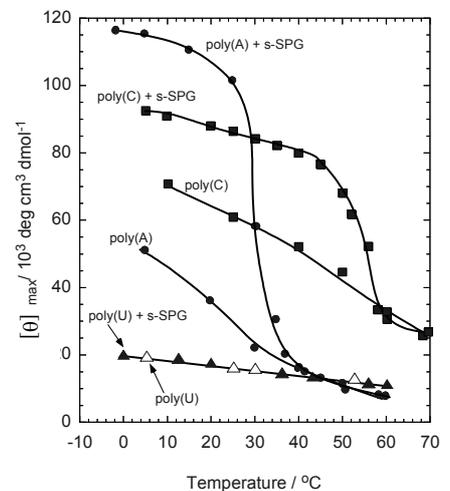


図6 昇温による複合体の解離挙動。

### 4-3 複合体の構造

$\beta$ -1,3-グルカンの1種であるカードランとホモ核酸 poly(C)との複合体について、分子動力学と MOPAC を組み合わせて、最安定な状態を計算したところ、図7に示すように、糖鎖2本と核酸鎖1本からなる3重螺旋構造をとっていることが示された。この様な複合体の棒状形態は、SEM や AFM から確認された。また、WAXS から塩基が分子軸に垂直な方向にスタッキングしていることが判明した。

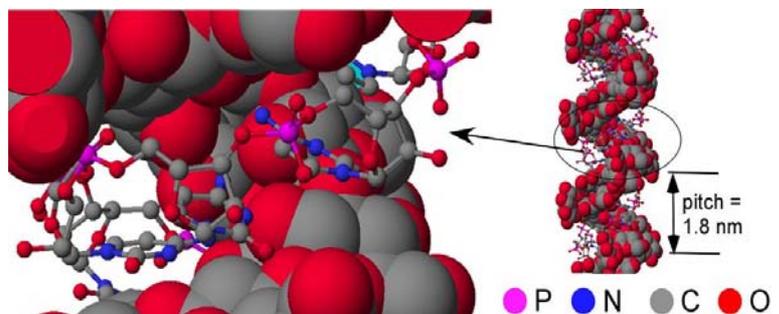


図7 MOPAC で得られた poly(C)/SPG 複合体の構造。糖は CPK、核酸は棒モデルで示してある。

## 5. 多糖・核酸複合体の応用

DNAに特異的且つ強固に結合する高分子材料は、人為的な遺伝子制御や医薬品開発などの分野で注目されている。DNAと複合体を形成する高分子材料は、ポリエチレンイミンなどのポリカチオンや、ポリビニルピロリドンなどが知られている。ポリエチレンイミンは、核酸のリン酸アニオンとイオン対を作り、複合体を形成する。この複合体は凝集構造を取ってDNAの空間的広がりを小さくするために、細胞内に遺伝子を導入するには適している。また、ポリビニルピロリドンは、水素結合と疎水性相互作用によって、2重螺旋のDNAに結合する。これらの高分子を遺伝子工学の材料として応用するべく、開発競争が行われているが、安全性などの点で課題が多く残されている。

すでに述べたように、シゾフィランに代表される  $\beta$ -1,3-グルカンは一本鎖の核酸と安定な複合体を作る。我々が発見したこの複合体は、上記複体のいずれの範疇にも入らない新しいタイプの複合体である。また、 $\beta$ -1,3-グルカンは極めて安全な化合物であり、シゾフィランやレンチナンは注射製剤として10年以上の使用実績がある。このことより、我々は糖・核酸の複合体が、新しい遺伝子工学の材料になりうると考えている。

### 5-1 $\beta$ -1,3-グルカンを用いた核酸医薬 DDS の利点

単一鎖の核酸は、DNAの2重鎖や高次構造を取っているRNAに比べて加水分解酵素に対する耐性が低い。この事は、アンチセンスのオリゴDNAを細胞内に導入する際に、投与効果の低下の原因となり、問題である。

poly(C)とpoly(C)+SPGをRNaseIIを用いて加水分解した時、複合体の分解速度は大幅に低くなって<sup>13</sup>。また、1本鎖のDNAを選択的に分解する加水分解酵素である exonuclease Iを意図的に添加し、大腸菌抽出液を用いた

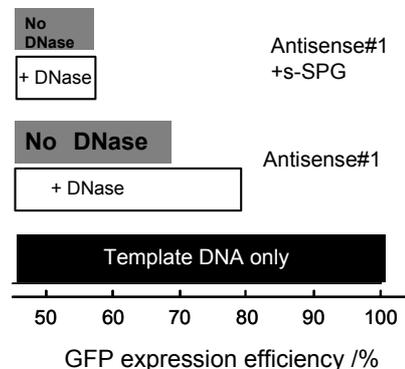


図8 E coli T7 S30 の抽出液中に GFP をコードしたプラスミドをいれ、GFP タンパクの発現量を蛍光強度で測定した。アッセイ系には、意図的に exonuclease I を添加し、アンチセンス効果(蛍光の減少量)を、nakedDNA と複合体で比較した。

セルフリーのタンパク発現系で、GFPタンパクの発現量を調べた(図8)。複合体ではアンチセンス効果が加水分解酵素の影響を受けないが、裸のアンチセンスDNAでは、アンチセンス効果が減少する。これらの事実より、単一鎖の核酸をSPGが保護していることが分かる。<sup>14</sup>さらに、データとしては示さないが、血清中のアルブミン等とのタンパク質と核酸オリゴとの間の非特異的吸着を防ぐことも判明している。

5-2 核酸医薬の細胞内動態制御

図9では、LDL受容体を介してエンドサイトーシスの経路で細胞内に取り込まれた機能性核酸が機能を発揮するために運ばれなくてはならないターゲットサイトを示した。アンチセンスDNAの場合は、サイトゾル中のmRNAと結合しなくてはならない。後期エンドゾームでの加水分解をうけると、DNAのシーケンスが短くなり、アンチセンス効果が落ちると懸念される。従って、エンドサイトーシスの経路からできるだけ早く外れる必要がある。逆に、CpG DNAの認識サイトであるTLR9 (Toll-like receptor 9)は後期エンドゾームに存在する。後期エンドゾームのベシクル内のpHは5程度まで低下することが知られているが、この性質を利用して、pH感受性の複合体でCpGを輸送し、pHが酸性側になると複合体が解離してCpGがベシクル内に放出されるように設計するのが好ましい。

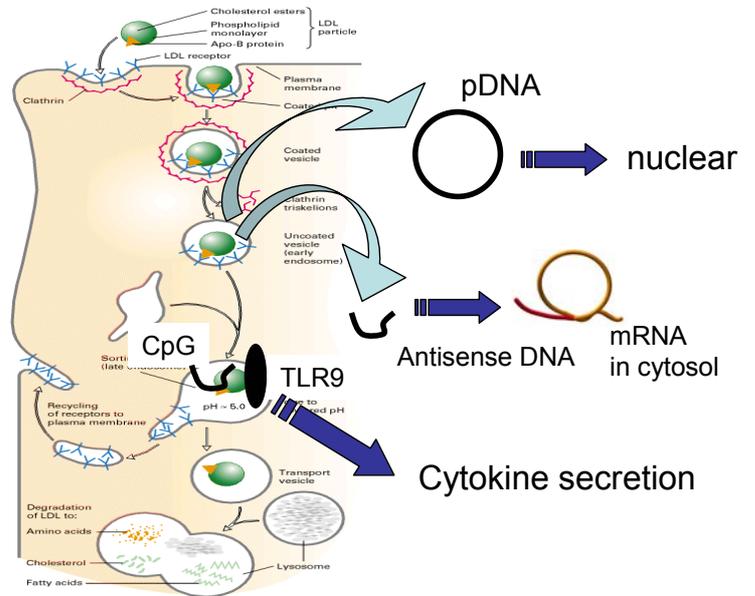


図9 機能性核酸のターゲットサイトとエンドサイトーシス脱出経路。

近年、ウイルスに特異的なDNAの配列であるメチル化されていないCpG DNAを免疫系の細胞である抗原提示細胞に取り込ませて、細胞性免疫を活性化する方法が注目を浴びている。しかし、CpG DNAそのものは生体で分解されやすく、デリバリーシステムの開発が不可欠である。そこで、SPGと核酸の複合体をこのデリバリーに応用することを考えた。<sup>15</sup>

5-3 pH感受性複合体によるCpG DNAのデリバリー

図10に、複合体とpoly(C)のCDスペクトルのpH依存性を示す。Poly(C)では、pH=5-6の間で、シトシンのプロトン化が起こり、コンフォメーションが転移する。これに伴い、注目している波長でのCD強度が低下する。アルカリ性領域では、poly(C)とSPGが複合体を形成するため、poly(C)のみと複合体では、CDの値が異なる。しかし、酸性から中性領域でのシトシンのプロトン化に伴い、複合体が解離し、CDの値は一致する。<sup>16</sup>この複合体のpH感受性は、CpGモチーフを後期エンドゾームまで運び、そこで放出す

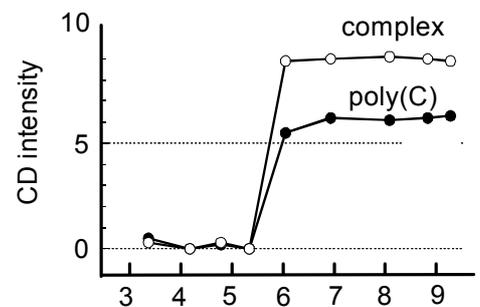


図10 複合体とpoly(C)のCDスペクトルのpH依存性。

る事を可能とする。

マウス由来のマクロファージにおけるサイトカイン産生を比較した。細胞に CpG DNA を接触させた後 24 時間後のサイトカインの濃度を ELISA Kit (ENDOGEN)にて定量した。Naked の CpG DNA を投与したときと比較して、化学修飾された SPG の CpG・SPG の複合体では、4~5 倍量のサイトカインが放出されている。図12に示した様に、フルオロセインを修飾した SPG を細胞に接触させ、レーザー共焦点顕微鏡で観察したところ、マクロファージ内への取り込みが確認できた。

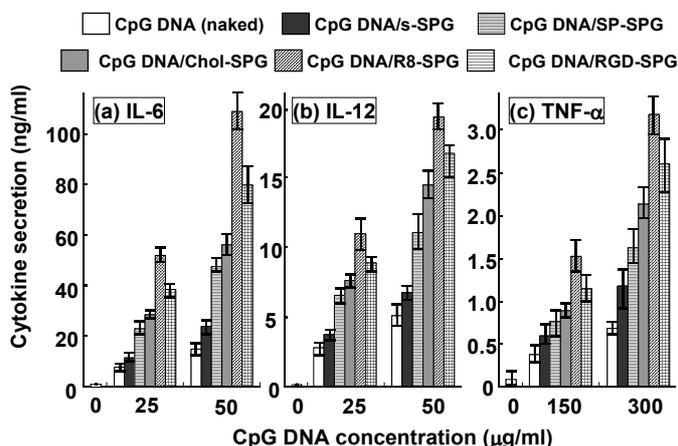


図 11 細胞能を付与した SPG で、CpG DNA をマクロファージに取り込ませたときのサイトカインの放出量の比較。SP はスペルミン、Chol はコレステロール、R8 はオリゴアルギニン、RGD はインテグリン認識ペプチドを SPG の側鎖に修飾したことを示す。

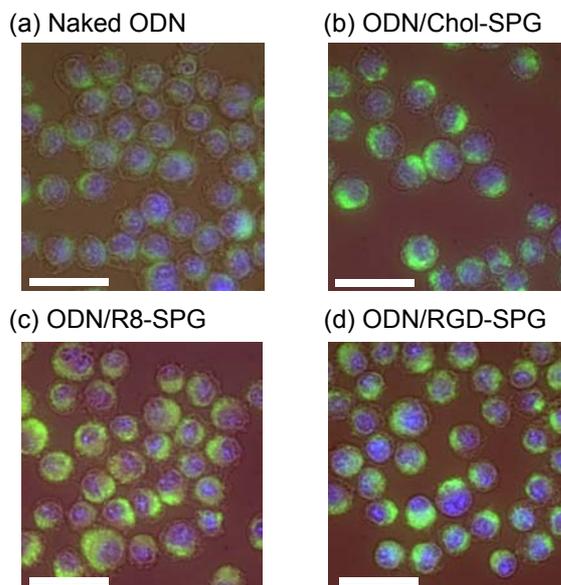


図12 共焦点レーザー顕微鏡でみたフルオロセインを修飾した SPG の細胞内動態(大阪市立大学 長崎健先生との共同研究)

## 6. おわりに

本稿では、シゾフィランと核酸が規則正しいコンフォメーションを有した複合体を形成すること、その複合体を遺伝子キャリアーへ応用できる可能性があることを、最近の著者らの研究結果を中心に紹介した。シゾフィランを含む  $\beta$ -1,3-グルカン は生理活性があることが古くから知られているが、その機構について分かっていない事が多い。本稿で示した複合体がその生理活性の分子論的基礎を与えるようなことになれば、 $\beta$ -1,3-グルカンの新しい応用範囲が広がると期待している。

研究室に入ってきた4年生は、自分達が今まで学んできた知識と、第一線の研究現場の間に大きな溝を感じるのだろうか、「私は研究者、技術者になれますか？」と真剣に聞いてくる時がある。そんなに真剣に詰め寄られても、私自身、答えが完全に分かっているほど立派な研究者である自信がないので内心当惑している(そんな様子はおもてに出さないが)。我々の大学には、九大や熊本大学に行きたかったが、模擬試験の成績が悪くて受験をあきらめた(若しくは、大学の中身を理解していない進路指導とやらでふりわけられた)学生が来ている。彼らの質問の裏には、研究の現場で九大の学生(さらには東大や京大の学生)と互角に戦えるのですかとの根深い疑問・自信喪失が横たわっている。20年近く会社の技術開発の現場で、毎年入社してくる有名大学の卒業生と接して来た経験から言うと、技術者としての成功と大学ブランドとの間には、一定の相関はあるが、それは世間で信じられているほど強い相関ではないと考えている。4年生になって新しい世界に入り、戸惑いと自信喪失を感じている学生には、本稿で述べたシゾフィランの話をして、「与えられたテーマに全力で取り組んでくれ、そうすれば答えが見つかる」と答えている。技術者や研

究者として生きていくには、自分のテーマを考え掘り下げる力、器用さ、好奇心、実験にたいするコダワリ、論理的思考力が重要であり、入試で要求された断片的知識と解答に瞬間的にいたる運動神経は重要ではないと、卒業研究を通して気づいて欲しいと願っている。

最後に、シゾフィランの試料を提供していただいた台糖(株)、共同研究者の水 雅美、甲元和也、木村太郎、穴田貴久氏に感謝したい。最後に、本研究を遂行するにあたり絶大なる支援を頂いたJST本部やSORST事務局の方々に感謝したい。また、この研究を台糖側から支えて頂いた故田畑研究所長のご冥福をお祈りしたい。

### 参考文献

- (1) Tabata, K.; Ito, W.; Kojima, T.; Kawabata, S.; Misaki, A. *Carbohydr. Res.* **1981**, *89*, 121-135.
- (2) Tabata, K.; Itoh, W.; Hirata, A.; Sugawara, I.; Mori, S. *Agric. Biol. Chem.* **1990**, *54*, 1953-1959.
- (3) Kitamura, S.; Hori, T.; Kurita, K.; Takeo, K.; Hara, C.; Itoh, W.; Tabata, K.; Elgsaeter, A.; Stokke, B. T. *Carbohydr. Res.* **1994**, *263*, 111-121.
- (4) Yanaki, T.; Norisuye, T.; Fujita, H. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1462-1466.
- (5) Norisuye, T.; Yanaki, T.; Fujita, H. *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.* **1980**, *18*, 547-558.
- (6) Stokke, B. T.; Elgsaeter, A.; Brant, D. A.; Kuge, T.; Kitamura, S. *Biopolymers* **1993**, *33*, 193-198.
- (7) McIntire, T. M.; Brant, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6909-6919.
- (8) Sato, S.; Sakurai, K.; Norisuye, T.; Fujita, H. *Polym. J.* **1983**, *15*, 87-92.
- (9) Atkins, E. D. T.; Parker, K. D. *Nature* **1968**, *220*, 784-765.
- (10) Miyoshi, K.; Uezu, K.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *Chemistry & Biodiversity* **2004**, *in press*.
- (11) Akiyoshi, K.; Deguchi, S.; Moriguchi, N.; Shigehiko Yamaguchi, J. S. *Macromolecules* **1993**, *26*, 3062-3068.
- (12) Akiyoshi, K.; Kang, E. C.; Kurumada, S.; Sunamoto, J.; Principi, T.; Winnik, F. M. *Macromolecules* **2000**, *33*, 3244-3249.
- (13) Mizu, M.; Koumoto, K.; Anada, T.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *Biomaterials* **2004**, *25*, 3117-3123.
- (14) Mizu, M.; Koumoto, K.; Kimura, T.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *Biomaterials* **2004**, *25*, 3109-3116.
- (15) Mizu, M.; Koumoto, K.; Anada, T.; Karinaga, R.; Nagasaki, T.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *accepted*.
- (16) Sakurai, K.; Iguchi, R.; Mizu, M.; Koumoto, K.; Shinkai, S. *Bioorg Chem* **2003**, *31*, 216-226.



DNA 分子組織体の構築および  
クロモフォアの配列化

関西大学工学部応用化学科

大矢 裕一

(yohya@ipcku.kansai-u.ac.jp)



## 1. はじめに

分子や官能基(原子団)を意のままに並べることができれば、bottom-up approach 型のナノテクノロジーにおける大いなる進展が見込まれる。光ピンセットなどの手法により、分子・原子・微粒子を基盤上で配列化させた例などもいくつか報告されているが、より効率的に分子配列を作り出すためには、自発的な分子の自己組織化を利用したシステムの構築が望まれる。

生体そのものあるいはその構成単位である細胞は、無数の分子・高分子が非共有結合的な「弱い相互作用」によって精密に組み上げられた究極の組織体であり、同種あるいは異種の分子や原子団(官能基)が集合・配列化すると同時にそれらが動的かつ協同的に働くことにより、単独の分子が持ち得ない高次の機能を発生せしめている。例えば、天然の光合成システムでは、ポルフィリン類縁体が適切な距離と配向で空間配置されることにより、高効率な光エネルギー移動および光エネルギーの化学エネルギーへの変換が行われている<sup>1-3)</sup>。

自己組織化により、同種の分子(原子団)を等間隔に並べる場合には、固体結晶や液晶、Langmuir-Blodgett 膜などを利用する手段は有効かもしれない。しかし、異種の分子や官能基を「意図した順序で」配列化させるためには、これらの手段は有効であるとはいえない。

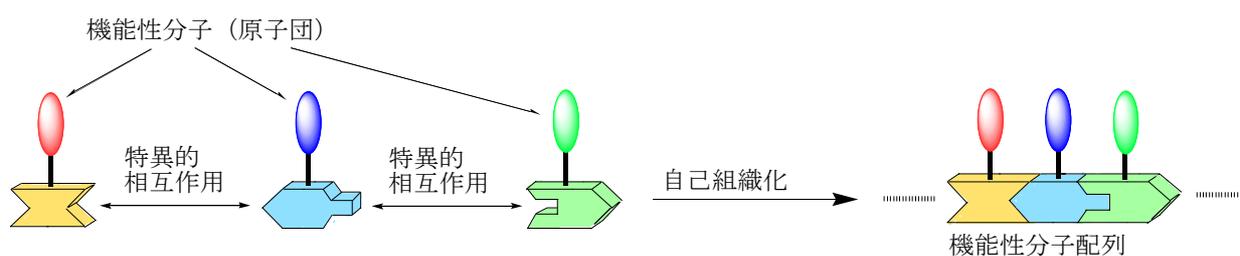


図1 自己組織化を利用した機能性分子配列構築の概念図

分子を意図した順序で並べる作業はブロック型の玩具を組み立てる作業に似ている(図1)。しかし、現実にはこのブロック型玩具の特徴を忠実に反映した分子が化学合成された例はほとんど無い。実際のブロック型玩具では、あるブロックと結合する相手のブロックを人間が目を選び、それらを手で組み上げるという作業の繰り返しによって、ある順序や形をもった構造物が形作られることになるが、1個のブロックが分子である場合には、「マックスウェルの悪魔」(分子サイズの大きさで分子を識別したりつかんだりできる悪魔)でもないことにはその作業は不可能である。ましてや、その構造体が熱力学的に安定なものでなければ、結合点を支えるために「悪魔」がその数だけ必要となってしまう。つまり、分子の識別情報はあらかじめ

Binding Donor, Binding Acceptorとして分子中に組み込んでおく必要があり、熱力学的に安定な方向へ自発的に配列化が達成される「自己組織化」というプロセスが必須になる。また、多種類の分子を配列化させるためには、特異性の高い Binding Donor, Binding Acceptor の組み合わせが多数必要となる。

天然の超分子システムに良く見られる「弱い相互作用」の代表例としては、疎水性相互作用(あるいは van der Waals 力)、イオン結合、水素結合などが挙げられる。これらの「弱い相互作用」が合わさり協同的に働くことによって特異的に会合する分子の組み合わせの例としては、抗原と抗体、ホルモン(アゴニスト)とレセプター、糖鎖とレクチン、アビジンとビオチン、酵素と基質(あるいは阻害剤)などが良く知られているが、これらは分子素子として用いるブロック間の結合としては分子が大きすぎるし、特異性は非常に高いが配列化のためのバリエーション=多種類の組み合わせを作ることは容易ではない。

先に述べた「弱い相互作用」のうち、水素結合は方向性を持った相互作用である。1つの水素結合の結合エネルギーは高々 20 kJ/mol であり非常に弱い、多数の水素結合が協同的に働くことにより、共有結合に匹敵する結合を創り出すことも可能であると考えられ、分子組織体を構築するための「弱い相互作用」として有望である。

水素結合により会合・認識する分子の代表例は DNA, RNA 中で遺伝情報の保存・伝達に用いられる核酸塩基である。DNA を化学的に見れば、アデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)という4種類の塩基が結合したデオキシリボースとリン酸エステルとの交互共重合体(塩基に関する配列はランダムと言える)である。DNA が遺伝情報の保存・伝達という機能を実現しているのは、4種類の核酸塩基が A-T, G-C とそれぞれ対を成して、水素結合で相手を認識・結合できるためであり、基本的には(ワトソン-クリック型の塩基対のみを考えた場合)ある配列を持つ DNA にはそれと相補的に結合する相手の DNA がただ一種類だけ存在し、ヌクレオチドの配列を変化させることにより多様な認識の組み合わせ(Binding Donor, Binding Acceptor)を作ることが出来る。例えば、わずか 5 残基のオリゴマーのバリエーションは 4 の 5 乗個あり、その組み合わせの数は 512 組にもなる。つまり、DNA は分子と分子を結合させ、配列を作り出すための「分子のり(molecular glue)」として非常に適した素材であるといえる。

さらに、種々の配列・長さを持つ DNA を自由に化学合成したり修飾したりする手法はすでに確立されており、自動合成機などによって任意の配列の DNA や化学修飾した DNA を短時間で合成することが可能で、以前からすると考えられないほどの低料金でオーダーメイド DNA の受託合成を請け負っている企業も多い。つまり、DNA は多種類の認識・結合する組み合わせの簡便な調達が可能で、極めてユニークな機能的特長を有する分子であり、入手・合成も容易である。こうした DNA の構造的長とアヴェイラビリティの向上を背景として DNA を生化学的機能(遺伝子として)以外の機能性材料として捉えた研究例も数多く見られるようになってきた。

本稿では、DNA を機能性分子(クロモフォア)を配列化させるための一種の分子素子用素材として利用した研究について、筆者の研究室で行われているアプローチについて解説する。

## 2. DNA を用いた分子集合体・分子組織体

我々は、DNA を用いた一次元の分子組織体(水素結合性多重会合体)を構築することを目的として、機能分子モデルとして芳香族化合物をコアとして2本の DNA 鎖が逆方向に伸長したコンジュゲートを合成し

その集合体形成能について検討してきた。

手始めに最もシンプルなモデル系として、相補的 oligo-DNA としてチミン・テトラマー(TTTT)とアデニン・テトラマー(AAAA)との組み合わせを選択し、ベンゼン環をコア部分として、5'末端から 3'末端へとそれらの oligo-DNA を伸長した二種のコンジュゲート: Bz(T4)<sub>2</sub>, Bz(A4)<sub>2</sub> を合成した(図2) 4)。

合成は、ハイドロキノンを出発物質として、一般的な核酸合成法であるリン酸トリエステル法で液相中で行った。これら 2 種のコンジュゲートの等量混合物が相補的な水素結合により会合することは、二重らせん構造にインターカレートして蛍光を発するプローブであるエチジウムブロミド(EB)の添加

により確認された。また、水素結合している oligo-DNA 部分のコンフォメーションは天然に最も多く見られる B型二重らせん構造に類似していることが、円偏光二色性(CD)の測定から示唆された。さらに、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)による検討を行ったところ、コンジュゲートの等量混合物を溶出した場合には、各々のコンジュゲートを単独で溶出した場合よりも、ピークが高分子量分画側へシフトし、量的にはわずかではあるが 10 万程度の高分子量の集合体の存在も確認された。さらに、水素結合阻害剤である尿素を添加して SEC を行った時には、片方のコンジュゲートのみを溶出したときと同様な溶出曲線が得られ、相補的な水素結合によって多重会合が形成されていることが示唆された。

このアデニン・テトラマーとチミン・テトラマーを用いた系では、DNA が 4 残基であるために、結合エネルギーが低く会合度が十分ではなく、またアデニンとチミンのホモオリゴマーを用いているためにシフトした結合様式も懸念された。そこで、次に A-T ペアよりも結合力の強い G-C ペアを多く含む核酸塩基をもう1残基長い5残基とし、シフトした結合が起こらないようにシーケンスを改良したコンジュゲート: Np(GCTGC)<sub>2</sub>, Np(GCAGC)<sub>2</sub>を合成した(図3) 5)。このコンジュゲートはクロモフォアを配列化させることを意識してコア部分にナフタレンを使用し、その 1,5 位からオリゴ DNA をやはり 5'末端から 3'末端へと伸長している。この2種のコンジュゲートの等量混合物でもやはり、相補的な水素結合により会合することが EB の添加により確認され、oligo-DNA 部分のコンフォメーションは B 型二重らせん構造に類似していることが、CD 測定の結果から示唆された。SEC 溶出曲線では、高分子領域にブロードなピークが見られ、モノマー領域にピークはほとんど観測されず、ほぼすべてのコンジュゲートが集合体形成に関与していることが示唆された。光散乱測定より求めた平均分子量は 8.5 万であり、約 12 組の Np(GCTGC)<sub>2</sub>, Np(GCAGC)<sub>2</sub> が会合している事を示唆するデータが得られた。

これらの逆方向 DNA ダイマー・コンジュゲートによる会合では、線状の会合体だけでなく、大環状の会合体も生成する可能性がある。現在のところ、生じている集合体が線状であり、環状物が生起していないという証明はできていないが、仮にある会合数をもつ環状集合体が安定であるならば、集合体分子量の分布

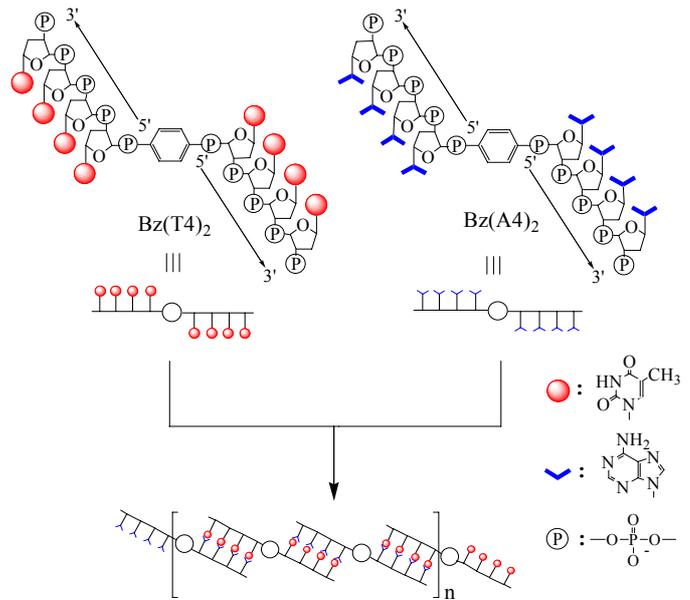


図2 Bz(T4)<sub>2</sub>, Bz(A4)<sub>2</sub> の構造とそれらによる一次元多重会合体形成

に特定のピークが見られる可能性が高いと考えられる。しかし、いずれの場合も、分布がブロードなところを見ると、線状の会合体ができていると考えるのが妥当であろう。その一方で、特定の数のモノマーユニットが組み合わさった集合体を構築できれば、天然光合成システムの Light harvesting unit アナログとして非常に興味深いものになるであろう。

ここに示した逆方向 DNA ダイマー・コンジュゲートによる会合では、コア部分は同一のものを用いたが、コア部分を変えることにより、交互型の多重会合体が容易に調製でき、さらには、シーケンスを非対称型に変化させれば、任意の順序を持ったシーケンシャル会合体が構築できると考えられる。

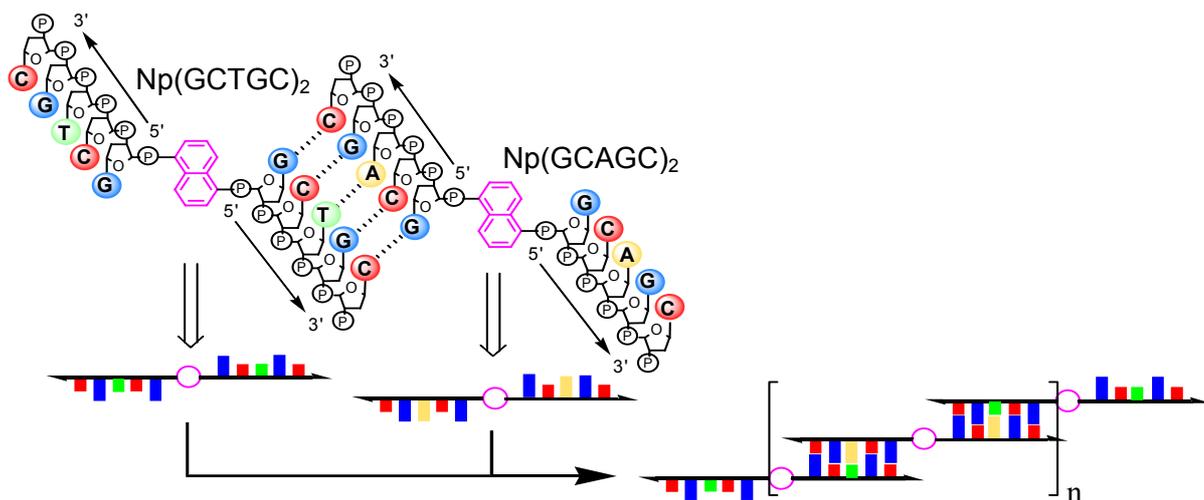


図3 逆方向DNAダイマー・コンジュゲートによる多重会合体形成

### 3.DNA 分子組織体上でのクロモフォアの配列化

先に述べたように、機能を有する分子・原子団(官能基)を配列と間隔および配向を制御して空間的に配置することで、集合化による新たな機能を持った高次の組織体が構築できると考えられる。例えば、その一例として、人工光合成システムを挙げることができる。光合成細菌の細胞膜上には、光捕集アンテナとして多数のクロロフィルが適切な間隔で配列し、その部分で捕捉された光エネルギーはクロロフィル間を移動し、反応中心へと運ばれ、化学反応(酸化還元)に使用される<sup>1-3)</sup>。これに倣ったシステムとして、光機能を有するクロモフォアを臨界エネルギー移動距離以下の間隔で空間配置することにより、天然の光合成の光捕集アンテナに倣った人工光合成のモデル系が構築できると考えられる。実際に、人工光合成のシンプルなモデル系として、非共有結合的相互作用でクロモフォアを配置して、その間のエネルギー移動や電子移動を調べる研究が数多く成されてきた。

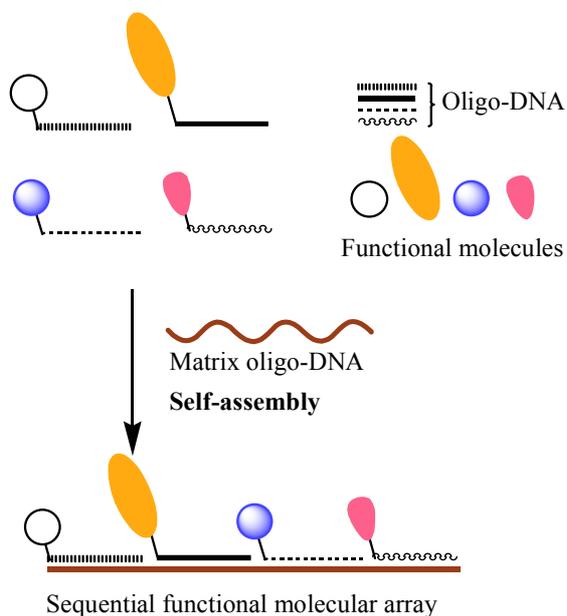


図4 DNA の自己組織化を利用した機能性分子の配列化

我々は DNA を用いて機能的な分子組織体を構築する目的で、人工光合成システムを模した非共有結

合的に光エネルギーを伝達することが可能なクロモフォアを一次元的に配列化させた「クロモフォア・アレイ」の構築についても検討を加えてきた<sup>6-8)</sup>。

DNA の相補性を用いて分子組織体を形成する様式には、前述したようなパターンだけではなく、いくつかのバリエーションが考えられる。特に数個の機能分子だけを配列化させるためであれば、先の例のような煩雑な合成を行わずとも、もっとシンプルなシステムでの構築が可能である。DNA を修飾する場合、その末端を修飾することが最も容易であり、末端に並べたい機能性分子を結合させた DNA を用いるのが最も合成上有利である。末端に機能性分子を結合した DNA で数個の分子を配列させるパターンとしては図4に示したように、比較的長鎖の DNA をマトリックス(鋳型)として、その DNA に相補的配列を持つ短い oligo-DNA と機能性分子の結合体をマトリックス上で配列させる方法が考えられる。

我々は、光エネルギーのドナーとしてエオシン(Eo)、光エネルギーのアクセプターとしてテキサスレッド(TR)、そしてそれらをエネルギー的につなぐメディエーターとしてテトラメチルローダミン(Rho)を用いて、それぞれシーケンスの異なる 10 残基の oligo-DNA に結合させた oligo-DNA/chromophore コンジュゲートを合成した。これと、各コンジュゲートに対して相補的な配列を組み合わせた 30 あるいは 40 残基のマトリックス oligo-DNA とを水溶液中で混合することで、10 残基の間隔で Eo-Rho-(Rho)-TR の順にクロモフォアが3つあるいは4つ配列したクロモフォア・アレイを構築した(図5)。ここで、光エネルギードナーである Eo の蛍光発光はメディエーターである Rho の吸収波長と一致し、メディエーターである Rho の蛍光波長はアクセプターである TR の吸収波長と一致するよう選択してあり、光エネルギーが蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)によって、順に伝搬するように設計されている。また、B 型の DNA 二重らせんは 10 残基を1ピッチとしているので、この 10 残基ごとにクロモフォアを配列化させたシステムでは、DNA 二重らせんの片側に1ピッチの間隔(約 34 Å)の間隔でクロモフォアが配列することになる。さらに、我々は DNA 中のグアニン塩基がクロモフォア近傍に存在するときクロモフォア蛍光の消光が起こることを確認しており<sup>9)</sup>、このシステムではクロモフォア近傍には G-C ペアを含まないようシーケンスを考慮してある。実際に、エネルギードナーである Eo の吸収波長で励起しながら、Eo を結合したコンジュゲートとマトリックス DNA との複合体に、Rho を結合したコ

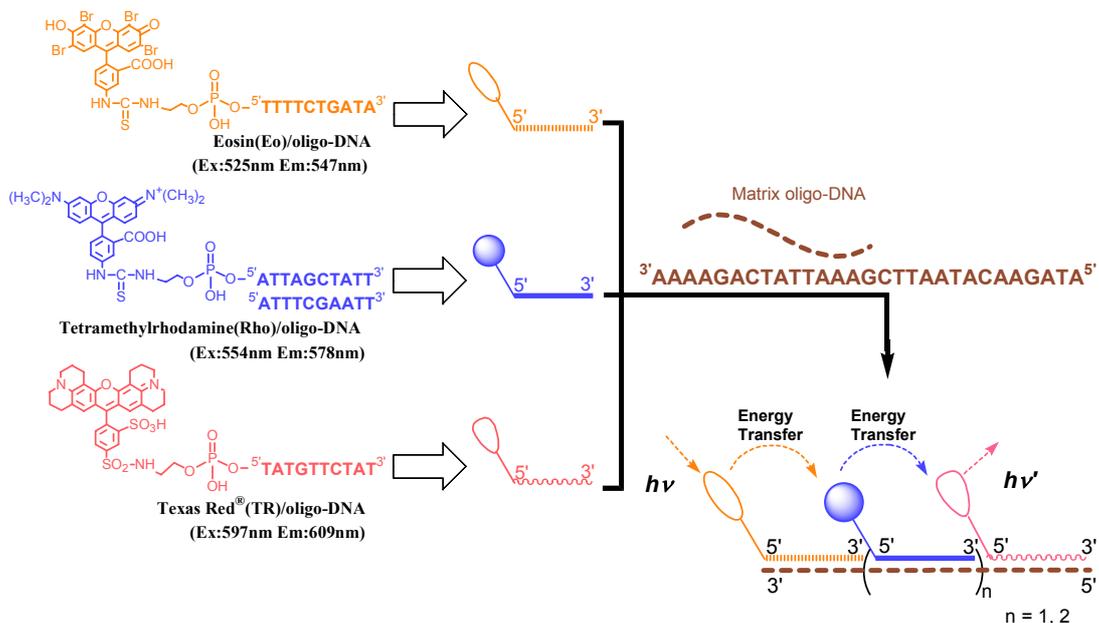


図5 クロモフォア/オリゴDNAコンジュゲートとマトリックスオリゴDNAを用いたシーケンシャルなクロモフォア・アレイの構築

ンジュゲートを添加していくと、Eo の蛍光の消光と Rho の蛍光の増大が観測され、Eo から Rho へと光エネルギーが移動することが確認された。さらにこの系に TR を結合したコンジュゲートを加えると、増加した Rho の蛍光が消光し、TR の蛍光の増大が観測された。また、このエネルギー移動現象は、各コンジュゲートとマトリックス DNA を化学量論的に混合した系において、TR の発光でモニターした励起スペクトルで、Eo の吸収に基づくピークが検出されたことから確認された。このように、Eo の励起波長では本来蛍光をほとんど発しない TR からの発光が見られたことは、構築した組織体上で Eo が受け取った光エネルギーがメディエーターである Rho (1つないし2つ) を介して伝播し、比較的離れた位置に存在するアクセプターである TR へと移動したことを示しており、一段階のエネルギー移動では不可能な遠距離・多段階の光励起エネルギーのベクトル的輸送が可能であることを示すことができた<sup>8)</sup>。

#### 4. 結語

我々は核酸塩基の相補的水素結合を利用して、水素結合が不利とされる水溶液中で一次元の超分子集合体を構築することに成功した。また、プログラムされたシーケンスを持つ oligo-DNA クロモフォア結合体を用いて光エネルギーを伝達するシステムの構築に成功した。このシステムは、天然光合成システムを理解する上で重要な情報を与えるとともに、人工光合成システムを構築するのに有用であると考えられる。こうした DNA を構成要素とする分子組織体は、bottom-up 型のナノテクノロジーに対する新しいアプローチの1つとして、機能性素子などへの展開が期待される。

#### 参考文献

- 1) G. McDermott, S. M. Prince, A. A. Freer, A. M. Hawthornthwaite-Lawless, M. Z. Papiz, R. J. Cogdell, N. W. Isaacs, *Nature*, **374**, 517-512 (1995).
- 2) R. Van Grondelle, J. P. Dekker, T. Gillbro, V. Sundstrom, *Biochim. Biophys. Acta*, **1187**, 1-65 (1994).
- 3) C. C. Moser, P. L. Dutton, *Biochim. Biophys. Acta*, **1101**, 171-176 (1992).
- 4) Y. Ohya, H. Noro, M. Komatsu, T. Ouchi, *Chem. Lett.*, 447-448 (1996).
- 5) Y. Ohya, H. Noro, T. Ouchi, *Supramol. Chem.*, **6**, 157-163 (2004).
- 6) Y. Ohya, K. Yabuki, M. Komatsu, T. Ouchi, *Polym. Adv. Technol.*, **11**, 845-855 (2000).
- 7) Y. Ohya, K. Yabuki, M. Tokuyama, T. Ouchi, *Supramol. Chem.*, **15**, 45-54 (2003).
- 8) Y. Ohya, K. Yabuki, M. Hashimoto, A. Nakajima, T. Ouchi, *Bioconj. Chem.*, **14**, 1057-1066 (2003).
- 9) Y. Ohya, K. Yabuki, T. Ouchi, *Supramol. Chem.*, **15**, 149-154 (2003).

#### ノート

本研究の他に、ポリ乳酸系生分解性バイオマテリアルの創製にも取り組んでいます。そちらの方の研究は、バイオマテリアル(生体材料), **22**(1), 24-35 (2004) をご覧下さい。



## 気になった論文



甲元 一也(こうもとかずや) 甲南大学先端生命工学研究所 講師  
 koumoto@center.konan-u.ac.jp

4月より甲南大学先端生命工学研究所へ赴任してきた甲元一也と申します。今回、「気になった論文」への寄稿の機会をいただき大変光栄に思っております。私が紹介させていただくのはマクロモレキュラークラウディングに関する論文です。細胞内では50~400 mg/mLという高濃度で多数の蛋白、核酸などが共存していることが知られています。一方、我々が種々の生体高分子の活性、安定性、構造特性の評価を行うのは希薄溶液中です。では、そのような高濃度条件下で種々の安定性、活性、さらに高次構造は如何なる影響を受けるかという点を理論的、実験的に検証しているのがこの分野での研究です。

### Effect of Crowding on Protein-Protein Association Rates: Fundamental Differences between Low and High Mass Crowding Agents

N. Kozar and G. Schreiber, *J. Mol. Biol.*, **2004**, 336, 763-774.

マクロモレキュラークラウディングに関する研究はこれまでも対象となる生体高分子を変えながら広く行われてきています。研究のスタンスは理論的な研究(*Biochim. Biophys. Acta*, **2003**, 1649, 127-139, *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 10577-10580 など)を除けば、PEG、多糖などのクラウディング剤存在下で対象となる蛋白質、核酸の活性、構造特性、安定性などを議論するだけのものがほとんどです。この論文でも、 $\beta$ -ラクタマーゼ(TEM)と $\beta$ -ラクタマーゼの阻害蛋白質(BLIP)の結合速度を種々のクラウディング剤の存在下で測定しています。内容的にはこれまでの論文で議論されているものと変わりなくクラウディング剤添加に伴った粘度上昇に反して結合速度の増大が確認されていますが、ただ1点、興味深い点は Haemaccel(ゼラチンのフラグメント、平均分子量 35kDa)をクラウディング剤として利用しても、TEM と BLIP の結合速度にクラウディング剤の影響が現れていない点であります。細胞内においては、ペプチドもクラウディング状態へ寄与していることは明白と考えられますが、ここで効果が現れないところを見るとクラウディングには単純な排除体積効果以外にもいろいろな効果が寄与しているのではないか?という疑問が湧いてきます。

### Effects of Hydration, Ion Release, and Excluded Volume on the Melting of Triplex and Duplex DNA

C. H. Spink and J. B. Chaires, *Biochemistry*, **1999**, 38, 496-508.

では、如何なる因子がマクロモレキュラークラウディングに関与しているかという点を検討しているのがこの論文です(少し古い論文ですが、他にも *Biochemistry*, **2003**, 42, 12596-12609 でも水和の影響が議論されています)。DNA の2重鎖と3重鎖の融解現象を対象とし、クラウディング剤として使用しているエチレングリコール鎖長に対して、2重鎖、3重鎖が融解する際の水和水の変化、ナトリウムイオンの脱着量変化、クラウディング剤の分子量による排除体積効果を比較検討しています。低分子量のクラウディング剤では主として水の活量変化が大きく安定性に寄与することが言及されています。この分野において現象論を論ずる部分はたくさんの研究者が行っていますが、どのような因子が影響しているかについて論じている論文はま

だ少ないところです。

このようにマクロモレキュラークラウドイングは希釈条件下における高分子反応の常識を変えつつあります。実際、パーキンソン病の原因となるペプチドの凝集もクラウドイングにより起こりやすくなることも報告されています (*Biochemistry*, **2002**, *41*, 3855-3860)。このような点から考えるに、実はかなり多くの生体反応がこのマクロモレキュラークラウドイングの影響を強く被っているのではないか? という気すらします。今後、より深く幅広い検討がなされることが期待されるところです。



佐藤 琢 (さとう たく) 大阪市立大学大学院工学研究科 SORST 研究員  
satoh@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp

1年ほど前から多糖類を骨格とした非ウイルス性遺伝子キャリアーの開発をしています。遺伝子導入法に関する論文2報をご紹介します。おまけつき。

#### Cell cycle dependence of gene transfer by lipoplex, polyplex and recombinant adenovirus

S. Brunner, T. Sauer, S. Carotta, M. Cotten, M. Saltik, and E. Wagner, *Gene Ther.*, **7**, 401–407 (2000).

トランスフェクション時の細胞周期が遺伝子導入効率に与える影響を評価した論文。主な試験対象は浮遊細胞の K562。データは掲載されていないが、HeLa 細胞でも実験結果は同様とされている。細胞周期ごとの細胞の選別は、周期により細胞の大きさと密度が異なることを利用して Counterflow centrifugation 法により行っている。M 期細胞群は G2 期細胞の一部を含むが、それ以外の周期の細胞群は綺麗に分離できているようである。これらの周期が異なる細胞群に対して非ウイルス性遺伝子キャリアー (Lipofectamine、transferrin–poly-L-lysine、および transferrin–polyethylenimine)、adenovirus-enhanced transferrinfection (AVET) および recombinant adenovirus による遺伝子導入を行っている。

結果から言うと、非ウイルス性遺伝子キャリアー系および AVET 系では、G1 期にトランスフェクションを行った細胞群は他の周期のそれと比較してレポータータンパク質の発現量が著しく低い (相対発現量で 2 桁落ち込む。なお、recombinant adenovirus によるトランスフェクションでは、レポータータンパク質の発現量は細胞周期に依存しない)。その要因として筆者が挙げるのは、lipoplex や polyplex の核内移行の機構と導入遺伝子の安定性である。受動拡散で核膜孔を通過できる分子の大きさは 10 nm 程度なので、通常の調製法で得られる lipoplex や polyplex では大き過ぎる。したがってこれらの複合体に関しては核分裂に伴う

核膜の消失-再構成の際に核内に取り込まれることを期待することになる。そこで問題になるのが細胞質中での導入遺伝子の安定性である。本論文に引用されている例では、DNA そのものの半減期は 1-2 時間 (HeLa または COS 細胞中)、lypoplex 中でも 4 時間で 25% のプラスミドが分解するとされている。形成された複合体の強度にもよるのだろうが、G1 期にトランスフェクションされた遺伝子は核分裂まで持ちこたえることができない。M 期の直前が最もトランスフェクションに適したタイミングである。これはつまり、非分裂性細胞の核内への遺伝子導入は人工遺伝子キャリアーの系では困難であるということで、*in vivo* で遺伝子導入を行う際には大きな障壁になるであろう(見方を変えれば、細胞分裂が盛んな組織に選択的に遺伝子を送り込める可能性があるということでもある)。核分裂に依存しない、常に核内移行が可能な系として、核膜孔を利用できるデリバリーシステムの構築に期待したい。

#### On the kinetics of polyplex endocytic trafficking: implications for gene delivery vector design

M. L. Forrest and D.W. Pack, *Mol. Ther.*, **6**, 57-66 (2002).

カチオン性高分子と DNA の polyplex は一般にエンドサイトーシス経路で細胞内に取り込まれる。polyplex のエンドソームから細胞質への脱出は遺伝子導入に必須の条件であり、脱出できない場合はリソソームまで移行して分解される。この初期エンドソームから後期エンドソーム、そしてリソソームへと移行する過程は小胞内の pH 低下を伴う。本論文は2種類の蛍光色素、Flu-X (酸性条件で消光) と Cy5 (非 pH 依存的な蛍光発光) を高分子キャリアーに担持させ、両者の蛍光強度の比から polyplex のおかれている微小環境の検出を試みている。キャリアーとして poly-L-lysine (PLL) および polyethylenimine (PEI) を使用。実験条件下で色素量と蛍光強度が対応することを確認した上で HEK293、C2C12、および HepG2 細胞に対して polyplex のトランスフェクションを行い、蛍光強度比の変化、すなわち polyplex 周囲の pH 変化を追跡している。

さて、単純なモデルとして polyplex がエンドソームからリソソームに送られて分解するという系を考えると、観察される pH は 4-5 まで低下するであろう。一方、polyplex がエンドソームから脱出できれば一時的に低下した polyplex 周囲の pH は再び上昇すると予想される。前者のモデルに合致する結果を与えたのは PLL/C2C12 系と PEI/HepG2 系。後者には PEI/HEK293 系が対応した(その他の系はトランスフェクション後 15-20 時間が経過しても pH は 6 程度で、初期エンドソームに留まったままと判断されている)。プロトンポンジ効果が提唱されている PEI 系で pH が 4-5 まで低下したことに筆者も驚いている。さらに同じ系でレポータータンパク質の発現量の測定も行っているのだが、PEI 系では HEK293 よりも HepG2 の方が発現量が大きい。PLL 系でもリソソームまで移行しているはずの C2C12 細胞中で発現量最大という結果であった。筆者も認めているとおり、遺伝子導入効率に影響するのはエンドソームからの脱出だけではないので、そこだけを取り上げて議論するのは難しいと思われる。ただ、細胞種とキャリアー種の組み合わせでエンドサイトーシス経路での輸送状況が異なることが明確に示されたことは興味深い。この方法に FRET を合わせて、polyplex の分解や解離の程度を知ることはできないだろうか。

#### Barriers to nonviral gene delivery

C. M. Wiethoff and C. R. Middaugh, *Journal of Pharmaceutical Science*, **92**, 203-217 (2003).

おまけ。論文タイトルのとおり、非ウイルス性遺伝子導入法の障壁に関してまとめたミニレビュー。論文紹介でレビューを出すのも変な話だが、これまでに明らかにされたこと、残された問題点などが分かりやすくまとめてあるので概観するにはありがたい。専門の方にとってはあっさりし過ぎの内容と思うが、これからこの分野の研究を始めるという方はどうぞ。



堀谷 学 (ほりや さとる) 東京慈恵会医科大学大学院医学研究科

生化学講座第二 博士課程 2 年

horiya@jikei.ac.jp

現在、出身ラボである東京学芸大学物質生命科学科の原田和雄先生のもとで研究をさせて頂いております。研究内容としては、RNA に結合するポリペプチドのスクリーニングとその医学的、生理学的応用に関する研究を行っています。直接自分の研究にあまり関係はないのですがスクリーニングと創薬という観点から一報、RNA-ペプチド相互作用に関する論文を一報、現在の研究対象であるリコーディング (recoding) と呼ばれる翻訳調節機構に関する論文を一報、そして、DNA を用いたナノストラクチャーの構築に関する論文を一報紹介したいと思います。

#### Antimicrobial drug discovery through bacteriophage genomics

Liu, J., Dehbi, M., Moeck, G., Arhin, F., Bauda, P., Bergeron, D., Callejo, M., Ferretti, V., Ha, N., Kwan, T., McCarty, J., Srikumar, R., Williams, D., Wu, J. J., Gros, P., Pelletier, J. and DuBow, M., *Nat. Biotechnol.* **22**: 185-191 (2004).

北アメリカでは抗生物質耐性を持つ黄色ブドウ球菌の院内感染が深刻化しているとのことで、本研究では、新規の「効く」抗生物質を同定するために、細菌の敵(?)ともいえるファージの真似をしようという発想で行っています。内容は、黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* のファージ 26 種のゲノム塩基配列決定、それらの ORF のクローニング及びその中からの細菌の増殖抑制作用のあるポリペプチドのスクリーニング、それらが結合する標的ホスト因子の同定、そのホスト因子とファージポリペプチドとの相互作用を阻害する小有機化合物の TR-FRET (時間分解蛍光共鳴エネルギー転移) によるハイスループットスクリーニングという流れになっています。今回見つかったターゲットは典型的なものらしいのですが、基本的なコンセプトが評価されているようで、News and Views では "The authors are still in the early stages of their work, but they are off to a promising start in their quest." というようにコメントされています。近年、細菌が生物兵器として用いられるのではないかと恐怖もあり、どのようにして従来の抗生物質に耐性を持つ菌をいち早くたたくのか、という技術の必要性は高まっており、そういった意味においてもこの研究の重要性があるのかもしれない。

## Context and conformation dictate function of a transcription antitermination switch

Xia, T., Frankel, A., Takahashi, T. T., Ren, J. and Roberts, R. W., *Nat. Struct. Biol.* **10**: 812-819 (2003).

λファージは溶菌経路において抗転写終結による遺伝子発現制御を用いています。この抗転写終結を起こす際に、宿主因子である転写中の RNA ポリメラーゼと NusA、λファージの因子である N タンパク質と転写された mRNA 中に形成される boxB ヘアピンを含む nut RNA がコアと成り抗転写終結複合体を形成します。著者らは抗転写終結複合体中において boxB RNA と N ペプチド(N タンパク質<sub>1-107</sub>中の RNA 結合ドメインである N<sub>1-22</sub>)により形成される RNA-ペプチド複合体の熱力学的な安定性と構造的な要素に関して、*in vitro selection* により同定された N ペプチドの変異体を用いることにより詳細な実験を行っています。内容としては、主に RNA-ペプチド複合体の解析と *in vivo* における抗転写終結活性を比較したストーリーが展開するのですが、最終的な考察では、転写の終結因子としても働く NusA が N にモディファイされた上で、boxB に N が結合する際に形成される表面を認識することにより、抗転写終結のセンサーとして働くというモデルを打ち出しています。実は、このグループは競争相手の部分もあり、先にやられてしまったという感もあるのですが、RNA-ペプチド複合体の構造と生体内における機能との繋がりがうまく説明されているところに好感が持てました。

## Reverse transcriptase of Moloney murine leukemia virus binds to eukaryotic release factor 1 to modulate suppression of translational termination

Orlova, M., Yueh, A., Leung, J. and Goff, S. P., *Cell* **115**: 319-331 (2003).

遺伝子には、翻訳フレームシフトや、終止コドンからセンスコドンへの読み替えといった通常のルールに従わない翻訳によってはじめて発現するものがあり、これらは総称してリコーディング (recoding; re-programmed genetic decoding) と呼ばれています。有名なものでは、HIV において開始コドンを持たない *pol* 遺伝子が -1 翻訳フレームシフトにより、Gag-Pol の融合タンパク質として発現する例がありますが、この場合、5-10% の割合で起こる翻訳フレームシフトが、ウイルス粒子の主要な構成成分である *gag* と、酵素をコードする *pol* の発現比の調整を担っています。この論文の研究対象であるレトロウイルス MoMuLV (マウス白血病ウイルス) では、*gag* と *pol* が終止コドンを挟んで同一の読み枠にあり、終止コドン UAG のグルタミンへの読み替えにより、Gag と Gag-Pol の発現比を調整しています。この論文では、*pol* 遺伝子にコードされている逆転写酵素 (RT) が eRF1 (eukaryotic Release Factor 1) に結合することで、翻訳終結の抑制 (終止コドン UAG のグルタミンへの読み替え) を促進していることを見出しています。実験的なデータはありませんが、実際には RT が eRF1 に結合する際に、同じく eRF1 に結合する eRF3 との競合が起こって、翻訳の終結と終結抑制の微妙なバランスが保たれるのでしょう。私自身の知識が狭いせいなのかもしれませんが、このようなリコーディングがフィードバック系において用いられる場合、ネガティブ・フィードバック系で働くものだとこれまで勝手に思い込んでいたのですが (大腸菌において細胞内 RF2 が発現する際の UGA コドンによる翻訳終結と +1 翻訳フレームシフトとの間の拮抗関係や、真核生物において細胞内ポリアミン量を負に制御するアンチザイムの発現など)、このようなポジティブ・フィードバック系 (発現した RT が、さらに RT 自身の翻訳を促進する) に用いられているということに対する驚きがあったので紹介させて頂きました。

## Controlled assembly of dendrimer-like DNA

Li, Y., Tseng, Y. D., Kwon, S. Y., D'Espaux, L., Bunch, J. S., McEuen, P. L. and Luo, D., *Nat. Mater.* **3**: 38-42 (2004).

私自身、修士課程のとき RNA を用いたナノストラクチャーの構築に関する研究を行っていたこともあり (Horiya et al., *Chem. Biol.* **10**: 645-54, 2003)、このような論文も気になります。Liらは、この論文のなかで、3本の DNA 鎖を用いてデンドリマー状の構造を構築することを試みています。一見すると単純で、このコーナーにおいてもたびたび紹介されている Nadrian C. Seeman らの研究に比べると面白みが少ないような感じもします。しかしながら、注目したいのはその副生成物の少なさであり、このことがタイトルに”controlled”と銘打っている所以ではないでしょうか。DNA を用いれば、核酸塩基の相補性を利用した単純な考えで複雑なナノストラクチャーが構築できると考える人は恐らく少なくないと思います。しかしながら、実際はなかなか思った通りにいかなかったということもあるのではないのでしょうか。この論文の著者らも METHODS 欄に、Seeman により既に報告されている配列を用いて trial-and-error を行ったと書いており、配列そのもののデザインに多少なりとも苦勞していることがうかがえます。当たり前のことかもしれませんが、いい実験を行うためには、いい材料が必要であるということを改めて考えさせられました。



## 米国ノートルダム大学留学体験記



奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科  
菊池研究室助手 佐々木善浩

現在、奈良先端大菊池研にて助手として研究に従事しております。この度、海外留学体験記を執筆する機会を与えてくださいました編集委員の先生方に深く感謝すると共に、現在海外留学志願をしている皆様の参考になれば幸いです。さて、私は 2002 年 10 月から 2003 年 9 月までの約 1 年間、米国ノートルダム大学化学科の Bradley D. Smith 教授の研究室に留学して参りました。前半の 10 ヶ月は文部科学省在外研究員として、後半の 2 ヶ月は博士研究員として研究に従事しました。Smith 教授の研究室での研究テーマは非常に大きく括ると「細胞膜機能に影響を与える化合物の開発」で、アニオンレセプターの設計・合成をもとにした有機化学的手法をベースに、これをうまく機能面に結びつける研究を活発に展開しておられます。私の研究テーマは、細胞膜を形成している脂質二分子膜の非対称性(生体膜の内側と外側での脂質分子の種類の違い)を制御している「トランスロカーゼ」と呼ばれる酵素の機能を持つ合成分子をつくらう、というものでした。トランスロカーゼは脂質膜のフリッパーフロップ(細胞の二分子膜の外側と内側の間での脂質分子の輸送)を行うための膜蛋白質ですが、いまだ不明な部分が多くそのメカニズム解明が待たれているものです。Smith 教授の研究グループではすでにある種の脂質分子のフリッパーフロップを助ける分子を開発することに成功していました。私の研究ではこの中でとくに、ホスファチジルセリン(PS)とよばれる脂質を対象とした人工トランスロカーゼを開発することに研究の焦点があてられました。PS は生体内において、細胞を見分けるための「目印」として機能していることがすでにわかっており、ある場合には細胞膜の表側に、ある場合には裏側に存在することで様々な生命現象に深く関わっています。そこで、この PS のフリッパーフロップ運動を自在に制御することができれば細胞膜上でおこっているこれらの現象に働きかけることが可能になります。例えば、細胞のアポトーシスのプロセスにおいては通常、脂質膜の内側に存在する PS がトランスロカーゼの働きにより細胞膜の表層により露出され、これが「目印」となることで PS が露出した細胞は食細胞により死滅させられます。したがって、がん細胞の膜中の PS を人工的にフリッパーフロップすることができれば、そのがん細胞をアポトーシスという非常に穏やかなプロセスへと誘導し退治することが可能になります。しかしながら、PS はその構造の複雑さから、この PS を対象にした人工トランスロカーゼを開発することはこれまで非常に困難でした。私が行った研究では、以下の二つのアプローチによってこの問題に取り組み、いずれの方法によっても PS に対する人工トランスロカーゼを得ることができました。ひとつは、すでに開発されている人工トランスロカーゼに尿素結合をとりいれて PS の極性頭部への親和性をあげることで PS に対するフリッパーフロップ活性を得ようというもの[1]。もうひ



図 1 細胞膜のイメージおよび研究室のメンバー

とつは、コンビナトリアル化学の手法により化合物のライブラリーを合成し、PS に対して活性な人工トランスロカーゼを明らかにする[2]、というものでした。また、この人工トランスロカーゼを用いて、赤血球膜の PS を細胞膜の内側からひきずりだすことも可能であることを見出し、この結果は幸いなことに NATURE 誌に News and Views として紹介され[3]、若干ながら Smith 研究室に貢献することができました。

それはさておき。

ノートルダム大では、片言の英語を苦しまぎれに駆使する私を皆様から暖かくみまもっていただき非常に楽しく研究をすることができました。二つほどそのエピソードを紹介させていただきたいと思います。先の実験で用いる赤血球膜は、自給自足することがルールとなっています。そこで朝、大学の病院に行き、自分の血液を試験管に二本分看護婦さんに採ってもらい、これを実験に用いていました。しかしながら、どちらかといえばおらかな性格の看護婦さんにあたることもあり、その場合には注射針で血管をぐりぐりと探されることになります。採血が好きではない私は、その日の実験計画を採血中に急遽変更し、二本必要な血液を、一本だけにするこもしばしばでした。しかし、連日のように採血におとずれている中、なんとなく馴染みになり、前にとった血液での実験の結果、同じように研究をしている看護婦さんの家族のこと、などいろいろとお話するようになり、「今日ほうまくいくといいね」などとずいぶん元気づけていただいたのが印象に残っています。「大丈夫！何回でも血抜いてあげるから」といわれるのは若干複雑な気分でしたが、また、論文執筆時にこの血液の入手先を、同じ研究室の女性が書いた論文の中の「single healthy female」を参考に記述しました。「結婚すると食生活が変わって血液の性質が変わるのだろうか?」、「こっちにきてから肉ばかり食べているから healthy かどうかわからないな」、「いちおう with a son と書いたほうがいいのだろうか?」などと間の抜けたことを考えつつ、「married healthy male」と書き入れ論文を仕上げ Smith 教授に提出しました。いうまでもなくとんでもない勘違いですが、「yoshi(こう呼ばれていました)結婚してることまで書かなくていいよ・・・」とやさしく注意していただきました。その後、研究室でいい笑いの種になったことはいうまでもありませんが。

さて、Smith 教授とは 4 年前、九州で行われた International symposium on supramolecular chemistry (ISSC-XI)で初めてお会いし、そのご縁で今回、留学して研究をさせていただくことになりました。その同じ学会の 13 回目が今年 7 月末に、Smith 教授が Symposium Chair となり、当ノートルダム大学で行われます。ノートルダム大のあるインディアナ州はアメリカの中北部に位置し、リンゴが名産です。観光地などはあまりありませんが、アメリカの一般的な田舎町であり、住んでいる人もおおらかで人情味にあふれている人が多いという印象を受けました。参加される際にはお声をおかけいただければ町のご案内をさせていただきます。

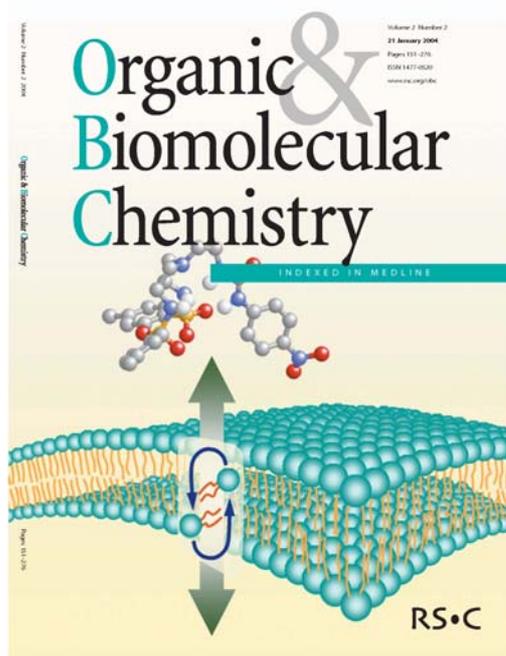


図 2 文献[1]で用いられた表紙。人工トランスロカーゼが脂質分子のフリッパーフロップを行っていることを示す。

最後になりますが、一年にわたり暖かい目で研究をみまもっていただいた Smith 教授および Smith 研の皆様へ感謝いたします。共同研究者として、連日コーヒーを飲みながらディスカッションを重ねた Rameshwer Shukla 博士には、精神面、研究面で特にお世話になりました。また、この貴重な機会を与えていただいた奈良先端大の菊池純一教授、および経済的なサポートをいただいた文部科学省に感謝いたします。

[1] Y. Sasaki, R. Shukla, B. D. Smith: “Facilitated Phosphatidylserine Flip-Flop Across Vesicle and Cell Membranes Using Urea-derived Synthetic Translocases” *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 214.

[2] R. Shukla, Y. Sasaki, V. Krchnák, B. D. Smith: “Identification of Synthetic Phosphatidylserine (PS) Translocases From a Combinatorial Library Prepared by Directed Split-and-Pool Synthesis” *J. Combi. Chem.* **2004**, submitted.

[3] *Nature* **2004**, 427, 599.

ささき よしひろ (sasaki@ms.naist.jp)



## シンポジウム等会告



国際研究集会

### 化学的にプログラムされた合成色素類の超分子ナノ科学

International Workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments

**主催** 学術フロンティア推進事業「分子レベルでの複合体の構造機能解析と複合系材料の創製」プロジェクト・科学研究費基盤研究(C)「自発集積による超分子ナノ光科学」

**共催** 複合系の光機能研究会

**会期** 6月16日(水)夕方~18日(金)午前

**会場** 立命館大学 びわこくさつキャンパス エポック立命21 (滋賀県草津市野路東1-1-1)

**ポスター発表申込締切** 5月31日(月) [まだ間に合います!至急ご連絡を!]

**予稿原稿締切** 6月6日(日) [遅れた分はアブストラクトに挟み込みます]

**参加登録予約申込締切** 6月6日(日) [当日でも参加可能ですが、準備の都合上、なるべく早く予約登録をお願いします]

**討論主題** 予め様々な情報をプログラムした分子を設計することで、エネルギー投入することなく、自己集積能を利用して、内部構造が緻密で全体構造も明確なナノ超分子構造体の構築することは、ナノ科学の推進に大きな影響を与える。そこで、広い意味での「化学的にプログラムされた合成色素類の超分子ナノ科学」に関わる研究成果を、口頭(依頼のみ)とポスター発表で行います。

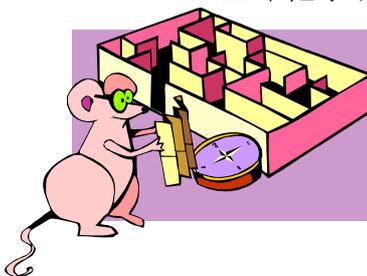
**招待講演** T. Silviu Balaban (Germany), Ido de Boer (The Netherlands), 大庭 亨(宇都宮大), 白上 努(宮崎大), 瀬川浩司(東大), 前田大光(立命館大), 溝口 正(立命館大), 三宅弘之(大阪市大), 宮武智弘(龍谷大)ほか

**参加登録費** 無料(懇親会費別)

**申込方法** ポスター発表・参加登録・懇親会(6/17夜にJR瀬田駅前のホテルニューサイチ)の申し込みは、下記のホームページを御覧ください。

<http://www.ritsumei.ac.jp/se/rc/STUFF/TAMIAKI/sncpp04/>

**問合先** 〒525-8577 草津市野路東1-1-1 立命館大学理工学部 民秋 均 Tel: 077-566-1111  
Fax: 077-561-2659 E-mail: tamiaki@se.ritsumei.ac.jp



## FCCAセミナー「第11回グライコサイエンス若手の会」

本会は、糖関連の化学・工学・生化学・生物学等を研究対象とする若手研究者および学生の交流の会です。普段は交流のない様々な分野の研究者により、糖質を科学的かつ多角的に議論できればと思っております。以下の招待講演をお聞きした後、講師の先生方をお囲みした懇親会、参加者による口頭又はポスター発表(発表形式は事務局へ御一任下さい。;学会とは異なりますので、他分野の方にも理解できるようにお願い致します。)等、内容は豊富です。企業にお勤めの方でしたら商品の説明でも構いません。糖質をキーワードに新たな研究を展開し、新しい人脈を培うきっかけさらにはビジネスチャンスになれば幸いです。是非、お気軽に御参加下さい。

**主催:**FCCA

**日時:**平成15年8月20日(金)~21日(土)

**場所:**宮城県立泉が岳青年の家(宮城県仙台市泉区福岡字岳山9-6、<http://www.pref.miyagi.jp/iz-seinen/>)

**内容:**

1. 招待講演;

清水弘樹氏(東北大院生命)「化学合成法とNMR法によるたんぱく質接着糖鎖リガンドの溶液構造の解明」

今場司郎氏(食総研)「糖鎖自動合成、並びに糖鎖ライブラリー合成を指向した次世代糖鎖合成法」

村島弘一郎氏(明治製菓ヘルスバイオ研)「フラクトオリゴ糖を摂取したマウスにおける遺伝子発現解析」

2. 参加者による口頭発表およびポスター発表

3. 懇親会・レクリエーション

**プログラム:**

8月20日(金)

13:00 受付開始

13:30-13:50 開講式

13:50-14:00 開会の辞 世話人会代表:小林厚志(東北大学大学院工学研究科・バイオ工学専攻)

14:00-16:00 参加者による口頭発表(6名)

16:05-16:45 招待講演 今場司郎氏(独立行政法人食品総合研究所)

16:50-17:30 招待講演 村島弘一郎氏(明治製菓ヘルス・バイオ研)

17:30-18:30 夕食

18:30-22:30 懇親会

8月21日 (土)

7:30-8:30 朝食

9:00-10:50 参加者によるポスター発表

11:00-11:40 招待講演 清水弘樹氏(東北大院生命科学研究科)

11:40-12:00 閉講式

12:00-14:00 昼食兼レクリエーション(BBQ)

解散

定員:40名

参加費(予定):一般 5,000 円、学生 2,000 円(宿泊、食事代込み)

旅費申請:本FCCAセミナーへの参加者は川口基金(<http://www.gak.co.jp/AN/kkfundJ.html>)からの旅費の補助を受けることができます。

申込締切:平成 16年 7月 17日(金)

※口頭あるいはポスターの希望、発表題目を明記の上、下記の代表幹事へ E-mail でお申し込み下さい。

申込先:東北大学大学院工学研究科 小林厚志(E-mail: [kobayashi@poly.che.tohoku.ac.jp](mailto:kobayashi@poly.che.tohoku.ac.jp))

グライコサイエンス若手の会 HP:<http://www.che.tohoku.ac.jp/~poly/glyco/glyco.html>





## お知らせコーナー

### 受賞のお知らせ

馬場 嘉信 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・産業技術総合研究所単一分子生体ナノ計測研究ラボ)

受賞名 : Heinrich Emanuel Merck Award 2004 (Merck KGaA, 2004.4.21)

授賞式 : Euroanalysis XIII conference in Salamanca, Spain (2004. 9. 6)

研究題目 : DNA analysis by combining bio- and nanotechnology



### 会員異動

望月俊介 勤務先 : 三井・デュポンフロロケミカル株式会社

〒424-8631 静岡県静岡市清水三保 3600

TEL:0543-34-2225

職名 : 研究開発グループ 研究員

e-mail: shun@gem.hi-ho.ne.jp

杉山 弘

京都大学大学院 理学研究科 化学教室 生物化学分野 教授

075-753-4002 tel 075-753-3670 fax

e-mail: hs@kuchem.kyoto-u.ac.jp

<http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/chembio/index.htm>

新留 琢郎

〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

九州大学大学院工学研究院 応用化学部門・応化分子教室 助教授

e-mail: niidome-tcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

Tel: 092-642-3607 Fax: 092-642-3606

日高雄二

近畿大学理工学部生命科学科生命工学研究室 助教授

〒577-8502 大阪府東大阪市小若江 3-4-1

e-mail: yuji@life.kindai.ac.jp

Tel: 06-6721-2332 (内線 4482) 06-6730-5880 音声案内後 4482 (ダイヤルイン) Fax: 06-6723-2721

野水基義

東京薬科大学薬学部 病態生化学教室 教授

〒192-0392 八王子市堀之内 1432-1

電話・FAX : 0426-76-5662

e-mail: nomizu@ps.toyaku.ac.jp

津本浩平

東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻 助教授

生体機能化学講座タンパク質工学分野

980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 07

Tel&FAX:022-217-7276

e-mail: tsumoto@mail.tains.tohoku.ac.jp



## 編集後記

生命化学研究会では、年3回のレターをお送りするようにしております。ここに 2004 年度最初の生命化学研究レターを無事お送りすることができ、編集担当一同、喜んでおります。

本年度より新会長に九州大学先導物質化学研究所 浜地 格氏が就任され、本レターの編集担当も新しいメンバーとして、東京学芸大学の原田和雄氏と大阪市立大学の長崎が新たに加わりました。

本号は長崎が初めて編集を担当させていただきましたが、これまでの編集担当者、特に北里大学 石田 斉 氏の蓄積した編集技術をフルに活用させていただき、発行にこぎ着けることができました。また、執筆者の皆様にも原稿の提出が遅れるようなことなく非常に助けられました。この場を借りて、重ねてお礼申し上げます。

今後、新しい企画や配信方法などを検討し会員の皆さんから発行を楽しみにしていただけるよう努力していきたいと思っております。本号のみならず、レター全般にご要望、ご指摘ございましたら、編集担当(石田・原田・長崎)までご連絡いただければ幸いです。

次号(No. 16)は、原田氏の担当により、2004 年 10 月に発行を予定しております。乞うご期待ください。



長崎 健

大阪市立大学大学院工学研究科

(nagasaki@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp)