



# 生命化学研究 レター

No. 16 (2004 年 10 月)

1 . 巻頭言		
	化学と生命と研究会の将来と 浜地 格 (九州大学先導物質化学研究所)	2
2 . 研究紹介		
	細胞内への遺伝子デリバリー： ピザは香りとともに届けられたか？ 新留琢郎 (九州大学大学院工学研究院)	3
	タンパク質・核酸をもとにした機能性分子設計 森井 孝 (京都大学エネルギー理工学研究所)	10
3 . 論文紹介 「気になった論文」		
	有森 奏 (金沢工業大学ゲノム生物工学研究所)	19
	村上 裕 (東京大学 RCAST)	21
	堤 浩 (九州大学先導物質化学研究所)	22
4 . 米国 Yale 大学留学体験記		26
	大神田淳子 (東京学芸大学 広域自然科学講座)	
5 . シンポジウム等会告		30
6 . お知らせコーナー		
	受賞・会員異動のお知らせ	36
	編集後記	37



## 巻頭言

# 化学と生命と研究会の将来と

生命化学研究会会長

九州大学先導物質化学研究所

浜地 格

生命化学研究会は、ニュースレター第一号の巻頭言に初代会長である杉本直己・甲南大学教授が書かれていますように、当時30代の半ば前後の有志の集まりをきっかけに、化学と生命を結ぶ新しいサイエンスを日本から発信したいという志とともに始まりました。その意志は、杉本会長による日本化学会のなかでの研究会組織としての活動をきっかけに第二代会長の馬場喜信・徳島大学教授（現名古屋大学）に引き継がれ、昨年末の大変刺激的で活発な国際会議の成功につながったことは皆様の記憶に新しいところと思います。この間に会員の皆様の活発な研究活動などが広く認められ、また欧米での Chemical Biology の発展も追い風となって、この研究会はバイオ化学での元気な組織として認知されつつあるように感じられます。

このような時期に、小生が3代目の会長を務めさせて頂くことになりました。この分野の将来像を含めて研究会の今とこれからを皆さんで議論し、知恵を出し合って進めていければと考えております。どうぞ宜しくお願い致します。

これまで研究会では、発表や議論の場として年に一回のシンポジウムと研究会を主催してきました。また化学会や生化学会などで企画講演会を行ってきました。今年度は、これに加えて新しい試みとして「生命化学分野での産学連携」を討論するシンポジウムを11月22日に日本化学会館で計画しています。皆さんのサイエンスの中には技術につながる芽が含まれていることがしばしばあることを実感されていることと思います。遺伝子工学や DNA チップを例に出すまでもなく、生命化学の領域はサイエンスとテクノロジーが近いことが特徴でもあります。研究と企画の実質を担っておられる企業研究者と大学研究者の間で、生命化学技術とでも言うべきキーワードでの実のある議論の場を提供したいというのが、この企画の真意です。ご興味のある方は是非参加頂き、いつもの会の様に活発な討論を繰り広げて頂ければ幸いです。またこれまでも個々人の努力で積極的に研究費を獲得されてきておられますが、今年度から組織としての研究費獲得を模索することを始めたいと考えております。色々なパイプを通じて、生命化学が日本でやるべき重要なサイエンスとして認知されることが重要と思いますので、どうぞ良いアイデアをお願い致します。

この10年近くの間で当時の30代は40代半ば前後となり、新しい会員の方々が参加されて会を盛り上げて頂けるようになりつつあることは大変喜ばしいことです。今の30代半ば前後の会員の方からも忌憚ない意見を是非とも頂戴し、化学会に留まらず色んなバイオ関連組織と連携しながらこの分野の発展に繋がりたいということ、私だけでなく幹事会のメンバー全員が思っています。「建設的で遠慮ない意見交換と討論」をモットーに始まった研究会です。会員の方々の世代が広がってもそのモットーを大切にしつつ、将来の夢を語り合いませんか。

研究紹介

## 細胞内への遺伝子デリバリー： ピザは香りとともに届けられたか？

九州大学大学院工学研究院応用化学部門

新留 琢郎

(niidome-tcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp)



### 1. はじめに

遺伝子デリバリー・・・ピザのデリバリーを思わず想像してしまうが、同じことである。大学の研究室でピザを注文したとしよう。焼き上がったピザをご存知、屋根付きバイクで運ぶわけだが、まず、店から大学まで乱暴なトラックなどとぶつからず、また、呼び込みが魅力的な怪しいスナックに立ち寄ってもいけない。もちろん、まちがって隣の雀荘に入ってはならない。大学の門には門衛が待っていて、実際はそのバイクの特殊性でそのままパスされるが、大学によっては普通のバイクは入れない。さらに、門から研究室へ走らなければならない。滅多にないことだろうが、大学構内で腹を空かした貧乏学生に襲われるかもしれない。あるいは、生協食堂へゾロゾロ・ダラダラ向かう研究室御一行に道を遮られて、先に進めないかもしれない。無事、研究室のお茶室までたどり着き、注文者の確認を得た後、いい香りとともにデリバリーが完了する。あとは上手に開封され、さらにオリーブオイルやタバスコにより修飾され、おいしくその機能を果たすのである。もうわかっていただけたであろうか。

ピザ = 遺伝子、バイク = 遺伝子キャリアー、大学 = 細胞、トラック = 血液成分、スナック・雀荘 = マクロファージ、腹を空かさせた学生 = リソソーム、研究室 = 核、お茶室 = 機能発現（転写・翻訳）なのである（図1）。本稿では細胞内への遺伝子デリバリー技術の開発を支える背景をはじめ、その歴史から、現状、そして、今後の発展について、私自身の研究紹介も含めな

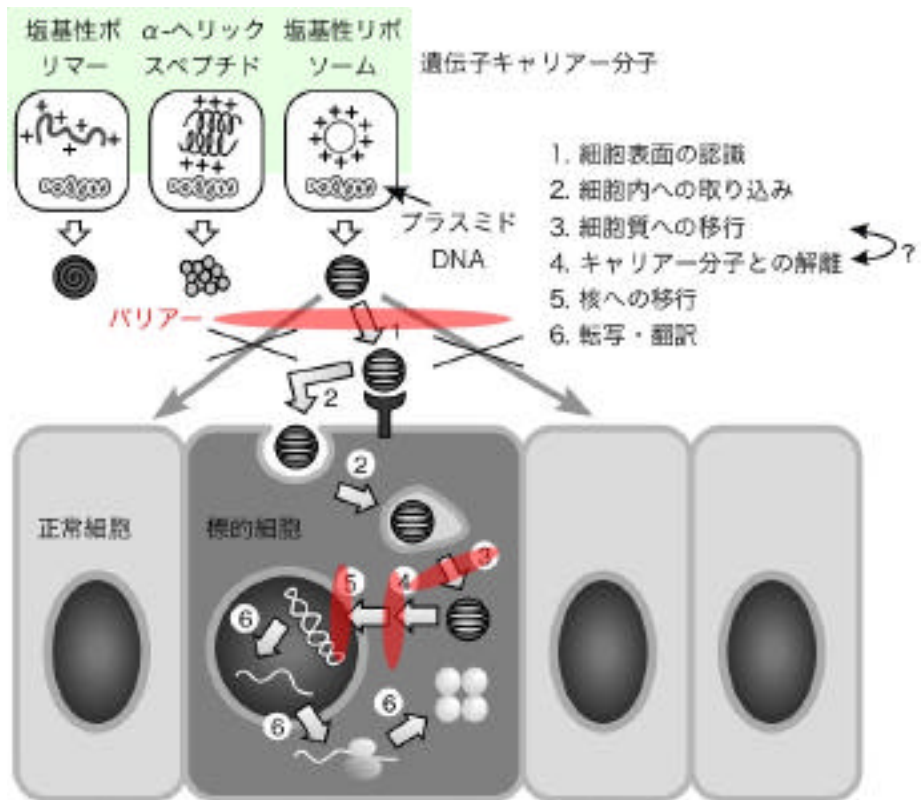


図1、遺伝子キャリアー分子とプラスミドDNAの複合体形成、選択的細胞認識、および、細胞内への取り込み機構

から紹介していきたい。

## 2. 遺伝子デリバリー技術のはじまりから現在まで

細胞内へ遺伝子を人工的に入れる技術は分子生物学の研究分野で古くから工夫されてきた。トランスフェクションといわれるこの作業は未知の遺伝子の機能を知るために、クローニングされた遺伝子の細胞内での機能を調べるためによく使われてきた。ルーツをたどると DEAE-デキストランが古くから使われているが、リン酸カルシウム法の一般化が、分子生物学の急速な発達と重なったためか、多くの人の知るところとなった。リン酸カルシウム法は DNA とリン酸カルシウムの共沈殿を細胞に取り込ませることで達成され、安価で簡便な方法であった。しかし、絶妙な pH 調節を必要としたり、再現性がなかなかとれないため、研究者の職人的能力も必要であった。そんな中、1987 年、米国の P. L. Felgner らは塩基性脂質を使ったトランスフェクション法を発見した。<sup>1)</sup> プラスミド DNA とこの脂質から構成されるリポソームを混合し、培養細胞に添加するだけの簡単な方法はたちまち多くの研究者に受け入れられた。それをきっかけに多くの塩基性脂質が開発され、トランスフェクション試薬としても市販され始めた。日本国内においては福岡県工業技術センターの赤尾哲之博士、当時九州大学工学部の国武豊喜教授、同大理学部伊藤明夫教授のグループのグルタミン酸から誘導される塩基性脂質に関する論文が草分けであろうと思う。<sup>2)</sup> 私自身は以前、伊藤教授の研究室に在籍していたが、当時はミトコンドリアに関する研究をしており、トランスフェクションとは全く離れた世界だった。今になっては門前の小僧が経(トランスフェクション)を覚えてしまったということだろうか。ただし、未だに理解はしていないようだ。一方で、塩基性ポリマーの利用も続けられており、DEAE-デキストランのかわりにポリリジンが、そして、最近ではポリエチレンジアミンが注目を集めてきた。

また、1990 年代に入ると、真剣にトランスフェクションの手法を遺伝子治療に利用しようという考えが定着し始めた。遺伝子のドラックデリバリーシステム(DDS)ということで、リガンドを修飾した塩基性ポリマーが作られ始めた。この時期、数々の研究室から遺伝子キャリアー分子なるものが星の数ほど紹介された。それ以外にも鎖長の変更、コポリマー化、グラフト鎖の追加による機能化が行われ、また、塩基性脂質ではヘッドグループのカチオン構造、疎水性基の構造を変更し、様々なバリエーションで組み合わせられた。その玉石混淆の中で我々も合成ペプチドを使った手法を世界に先がけて報告した。発現効率が極端に高いというわけではないため、貴重な研究費をつぎ込んだ割には未だにあまり日の目を見ていないが、引用はよくされているらしく、少しは世の中のためになっていると信じたい。一方、超分子の世界でおなじみのポリアミドアミンドリマーも遺伝子キャリアーとしての性質が見いだされた。我々もその尻馬に乗って dendriマー状にリジン残基がつながった dendriティックポリリジンの利用に関して研究している。2 匹目のドジョウは柳の下にいるのかどうか?さて、多くの遺伝子キャリアー分子が合成され、検討されてきたが、しかし、それでも遺伝子発現と毒性は両立できず、発現効率を上げようとすると毒性が強くなり、毒性を下げようとすると発現効率が低下してしまう。最近、高効率・低毒性をうたい文句に新たなトランスフェクション試薬が市販されているが、両者はちゃんと両立し

ているのか？

もう一つ大きな問題が現れてきた。これまで「遺伝子治療への適用を目標に新しい遺伝子キャリアを開発しています！」といいながら、多くの研究者(?)は培養細胞を相手に研究を行ってきた。私もその構成員である。シャーレの中の培養細胞と実際の動物体内では様子があまりにも異なるということがわかってきたのである。細胞外の環境が全く異なるばかりか、細胞自身の性格まで違うのである。合成化学者は数多くの化合物を次々に合成する。そして、それぞれの遺伝子デリバリー的能力を評価するわけだが、作製に手のかかる担がんマウスあるいは糖尿病マウスや筋ジスマウスといった疾患モデルマウスに投与していると、化合物 10 種類 × 標本数 5 × 時間変化 5 で 250 匹のマウスに犠牲になってもらわなければいけない。さらに、各臓器での遺伝子発現効率を調べれば、臓器 6 種類測定するとして、合計 1,500 本の試料と格闘しなくてはいけなくなる。これでは研究費は飛んでなくなり、実験者も逝ってしまう。結局、96 穴のシャーレに培養細胞を播いて、これでひとまず基本的な性質をみてみましょうということになる。しかし、このデータが動物に投与した場合にはなかなか反映しない。こういった状況が培養細胞での実験と動物での実験の間の溝を埋めることができない一つの理由になっていると思う。こうなると 96 穴シャーレで飼育できるマウスが欲しくなる。もっと言わせてもらえば、マウスのマイクロアレイ化を真剣に考えなければいけない。

### 3. 新留は何をしてきたのか？

1994 年に長崎大学に助手としてお世話になり始め、そのころから何か面白いネタはないかななどと悠長な毎日を送っていたある日、手元にあった塩基性のペプチドが DNA と結合できるのだろうか？と考えた。もし結合したなら、塩基性ペプチドと DNA の複合体は細胞に取り込まれるはずである。そう、伊藤研究室の訪問者たち(赤尾さんたち)が傍らで何やらやっていた研究を横目でみていたのを真似しただけのことである。この安易な発想をきっかけにここまでやってきたが、その研究の中からいくつか面白いことがわかった。我々の使っていたペプチドは両親媒性ペプチドで  $\alpha$ -ヘリックス構造を形成する(図 2)。いろいろとこのペプチドの鎖長や疎水性領域の大きさなどいじり倒した結果、ただ、塩

基性のアミノ酸がズラズラと並んでいればいいわけではなくて、ロイシンといった疎水性アミノ酸が  $\alpha$ -ヘリックス構造を形成するために必要で、それがさらに DNA との複合体を安定化させることがわかった。<sup>3-5)</sup> また、その疎水性部分は細胞内にエンドサイトーシス経路で取り込まれた後エンドソーム膜を不安定化し、一緒に取り込まれたプ

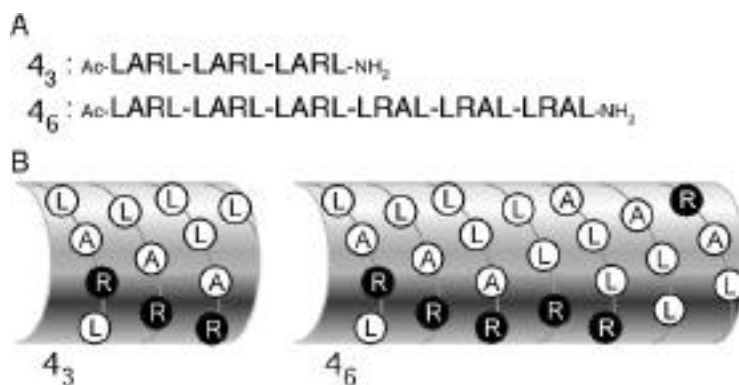


図 2. 最初に遺伝子キャリアとして試された塩基性  $\alpha$ -ヘリックスペプチド

ラスミド DNA を細胞質へ移行させるチャンスを増やしていることが指摘された。このペプチドは複合体の安定化、細胞質への移行促進という2つの機能を併せ持つということで、いい気になった私はガラクトース修飾して、細胞認識まで一分子でやってしまおうと思い、実際に成功した。<sup>6)</sup> さらに調子に乗って、核への移行促進のために核移行シグナル配列を加えて、また、転写の光制御を可能にしようとアゾベンゼンをペプチド鎖内にもつ分子まで欲張って見たが、さすがにそうなるとう合金合体ロボットのような分子になってしまい、結局、收拾がつかなくなってしまった。フィロソフィーもなく、勢いだけで研究するとすぐに壁にぶつかるものだと実感した。しかし、これら一連の研究で遺伝子デリバリーのツボが少しは見えてきたような気がしている。

それに前後して、前述したように、ポリアミドアミン dendrimer が遺伝子キャリアー分子として利用できるという論文が 1993 年に報告され、部分分解したその改良版も 1996 年に報告された。<sup>7,8)</sup> dendrimer という当時私にとっては別世界の分子だったものが、突然身近に感じられた。そこへ、昔、抗ペプチド抗体を作るためにアミノ酸のリジンで枝分かれ構造を作らせ、その先にエピトープとなるペプチドを伸長するという手法が思いつき、これをリジンだけで左右対称にすると dendrimer が作れると発想した。当時、長崎大学で所属していた研究室はペプチド合成で名高い青柳東彦教授の研究室だったので、そんなところからも妙な安心感とともに、すぐに合成にチャレンジしてみた。最初、エチレンジアミンをコアにして、Boc-Lys(Boc)-OH を順次カップリングする手法をとったが、第 2 世代くらいからすぐに枝が伸びなくなった。おかしいなあ？

とっていた頃、ある学会で九州工業大学の西野憲和先生がヘキサメチレンジアミンをコアにして、きれいな dendrimer を合成されているのを目の当たりにしてびっくりした。私の有機合成をはじめ、ペプチド合成に関する腕が無いに等しいということがきれいに証明されたのである。エチレンジアミンのコアが好ましくなかったことと、保護ペプチドは酢酸エチルで分液すればきれいになるとバカの一つ覚えだったことである。あるステップでは、保護ペプチドが酢酸エチルにはほとんど溶けないのをわからなかったのである。結果的に西野先生の教えを乞いながらようやく我々も合成できるようになった次第である(図 3)。さて、合成が完了すれば、例のごとく細胞での評価ということで、これが驚くほどの高い遺伝子発現効率を示した。おまけに細胞毒性も低かった。<sup>9,10)</sup> どうやら、一分子内に 128 個のアミンを持つ第 6 世代の dendrimer で

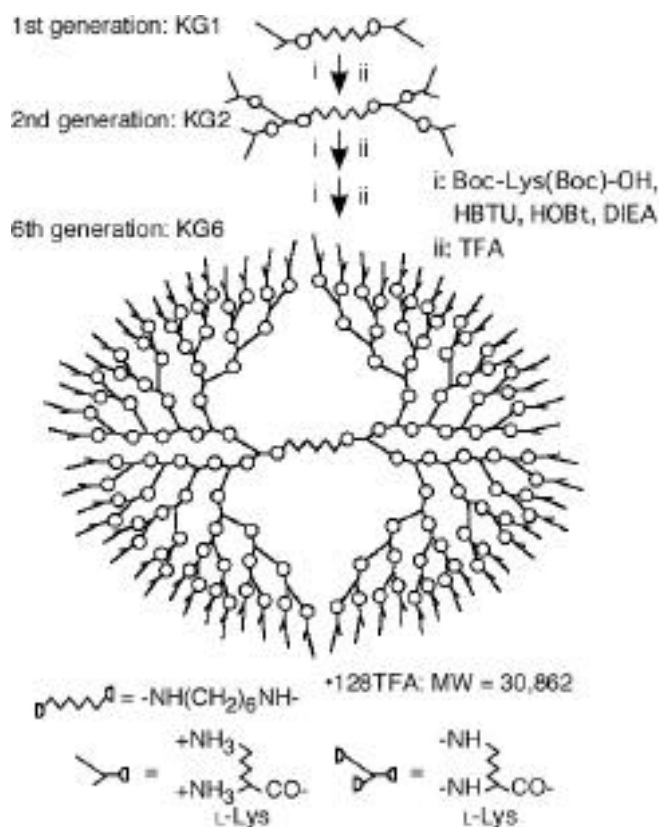


図3. dendrimer 型ポリリジンの合成とその構造

培養細胞に対して十分トランスフェクション能を示すことがわかり、その効率は市販の試薬と比較しても遜色のないものだった。ただし、1シャーレ内の発現総量は高くても、発現している細胞の割合は10%前後という状況である。具体的に説明すればルシフェラーゼ遺伝子をレポーター遺伝子として使って、細胞ライゼートの活性を測定すると、高い数値が得られるが、GFPを発現させると実は少しの細胞しか光っていないということである。リポソーム系の遺伝子キャリアーを使った場合、高い毒性ながら、60から80%の細胞で比較的均一に発現していることを考えると、その違う理由は何なのかという興味が湧いて来た。そこで、細胞内での導入遺伝子の挙動について調べてみた。すると、ポリエチレンジイミンや我々の dendritic poly-L-lysine のポリマー系キャリアーの場合は細胞質内で一部のプラスミド DNA が複合体から遊離してくるが、脂質系キャリアーの場合では、遊離は認められなかった。<sup>11)</sup> 以前から塩基性脂質を使った方法ではエンドサイトーシスで取り込まれた DNA 複合体は、エンドソーム膜と塩基性脂質膜が融合することで、その DNA を遊離するという説があり、<sup>12)</sup> また、DNA 複合体の細胞質へのマイクロインジェクションの実験からも、脂質系とポリマー系の細胞内での挙動は違うことを示す結果が得られている。<sup>13)</sup> この違いの理由がはっきりしてくれば、低毒性で多くの細胞に均一に高発現する遺伝子キャリアーの設計も見えてくるだろう。

それに前後して、2001年8月から1年間、文部科学省在外研究員という殿様待遇を頂き、ピッツバーグ大学薬学部で研究する機会を与えてもらった。そこは Leaf Huang 教授率いる、動物実験主体の研究室であった。大腸菌から精製したプラスミド DNA のチェックに通常なら制限酵素が使われるはずだが、ここではマウスにハイドロダイナミクスインジェクション<sup>14)</sup> という方法で肝臓に強引にルシフェラーゼ遺伝子を放り込む。その発現が出てくれば、そのプラスミド DNA は OK とされる。合計2時間でチェック完了である。さらに、そのハイドロダイナミクスインジェクションを見つけた Feng Liu というすごい人がこの研究室にいて、マウスを指で揉んだり、電流を流したり、血流を止めたり職人技で次々にデータを出していた。それを見て触発された私は「やはりマウスでデータを出さねば(図4)」と思って帰国した。帰国後すぐに dendritic poly-L-lysine-DNA 複合体のマウス体内での動態について実験を始めた。するとこれまた驚くことに、その複合体の静脈投与後、3時間も安定に血中を循環することがわかり、また、腫瘍部位への投与 DNA の存在も確認された。<sup>15)</sup> ポリエチレングリコール修飾でもしない限りこのようなことは達成できないのが常識であったが、我々の化合物は単純なアミンにもかかわらず、このような性質を示したのは興味深い。もちろん、リニアなポリリジンではこのような芸当はできないであろう。問題の遺伝子発現であるが、残念ながら発現は非常に低い。腫瘍に遺伝子が運ばれてはいるが、細胞内には入っていないのか？それとも入っているが発現できないでいるのか？今後の我々の論文を楽しみにしていたきたい。



図4、ヒト前立腺がん細胞を植えた担がんマウス。筆者のピッツバーグ大学での実験。

#### 4. 遺伝子デリバリー技術はどんなところで役に立つ？

もちろん遺伝子治療を目的に掲げ、世界中で多くの研究者がこのテーマと格闘しているが、遺伝子治療自体が期待されていながら、現時点ではとても未熟な技術であることは明白である。専門書でおなじみの John Wiley & Sons, Inc. のサイト<sup>16)</sup>によると、第 III 相臨床試験まで上がったものが世界中で 17 例にとどまり、また、その殆どがウイルスを遺伝子キャリアーとして用いる方法で、我々の目指している純粋な化学的手法ではリポソームを使ったメラノーマ治療の一例のみである。ウイルス法の危険性が強く指摘され始めている現在、臨床にも耐えうる遺伝子キャリアー分子の開発が遺伝子治療の未来を左右するのだろう。

一方、あまりにもゴールが遠い遺伝子治療という目標とは別に、すぐにでも実現しそうな目標はないのか？ その一例が、遺伝子デリバリーの原点であるトランスフェクション用の試薬である。現在、多くの企業から多種の試薬が市販されている。脂質系のものや、高分子系のもの、さらに、その効率を高めるために添加剤（ペプチド類）を加えたもの、あるいは、促進剤として別途購入するものなど、一般の利用者を迷わせている。しかし、細胞株によってはなかなか発現してくれないものがある。血球系の細胞がその傾向が強い。HL-60 や最近注目を集めている樹状細胞がそうである。化学的手法ではなかなか遺伝子が入りにくいため、未だにエレクトロポレーションを使って、死ぬか生きるかギリギリのところまで遺伝子の導入が行われている。最近、こういったトランスフェクションの難しい細胞に高発現を達成できるかという研究も現れてきた。治療薬より診断薬や試薬の方が圧倒的に実用化されるまでの時間、労力、そして、リスクは少ないわけで、この流れも今後、大きくなっていくものと思われる。さらに、ポストゲノムを背景とするツールとしての利用も期待されている。例えば細胞アレイのために特殊化したトランスフェクションシステムも新たな手法として大きな市場が待っているのだろう。

#### 5. おわりに

遺伝子デリバリーに関することをダラダラと紹介させて頂いたが、もう一つ、書き残したことがある。最初のたとえ話に戻るが、ピザは一つ注文されれば、一つだけ焼かれて、その一つがちゃんと研究室まで送り届けられる。しかし、遺伝子デリバリーの世界では 1 つ配達して欲しかったらピザ屋は数万あるいは数百万枚のピザを焼かなければならないだろう。というのも、前述のマイクロインジェクションの実験<sup>13)</sup>から、数千個のコピーを細胞質へマイクロインジェクションしても、100 コピー程度しか核内へは到達出来ないという結果が得られている。これが、尾静脈投与後の体内デリバリーまで考慮すれば、さらに数オーダー多いコピー数が必要になるはずである。確率論にもなるこの世界では最初に 100 万枚ものピザが要求されるのである。これでは商売になるはずがない。ピザ屋の努力はまだ続く。



## 6 . 参考文献

- 1) P. L. Felgner, T. R. Gadek, M. Holm, R. Roman, H. W. Chan, M. Wenz, J. P. Northrop, G. M. Ringold, M. Danielsen *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 7413-7417 (1987).
- 2) A. Ito, R. Miyazoe, J. Mitoma, T. Akao, T. Osaki, T. Kunitake *Biochem. Int.*, **22**, 235-241 (1990).
- 3) T. Niidome, N. Ohmori, A. Ichinose, A. Wada, H. Mihara, T. Hirayama, H. Aoyagi *J. Biol. Chem.*, **272**, 15307-15312 (1997).
- 4) N. Ohmori, T. Niidome, T. Kiyota, S. Lee, G. Sugihara, A. Wada, T. Hirayama, H. Aoyagi *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **245**, 259-265 (1998).
- 5) T. Niidome, M. Urakawa, K. Takaji, Y. Matsuo, N. Ohmori, A. Wada, T. Hirayama, H. Aoyagi *J. Peptide Res.*, **54**, 361-367 (1999).
- 6) T. Niidome, M. Urakawa, H. Sato, Y. Takahara, T. Anai, T. Hatakayama, A. Wada, T. Hirayama, H. Aoyagi *Biomaterials*, **21**, 1811-1819 (2000).
- 7) J. Haensler, F. C. Szoka Jr. *Bioconjugate Chem.*, **4**, 372-379 (1993).
- 8) M. X. Tang, F. C. Szoka Jr. *Gene Ther.*, **4**, 823-832, (1997).
- 9) M. Ohsaki, T. Okuda, A. Wada, T. Hirayama, T. Niidome, H. Aoyagi *Bioconjugate Chem.*, **13**, 510-517 (2002).
- 10) T. Okuda, A. Sugiyama, T. Niidome, and H. Aoyagi *Biomaterials*, **25**, 537-544 (2004).
- 11) T. Okuda, T. Niidome, H. Aoyagi *J. Control. Release*, **98**, 325-332 (2004).
- 12) Y. Xu, F. C. Szoka Jr. *Biochemistry*, **35**, 5616-5623 (1996).
- 13) H. Pollard, J. S. Remy, G. Loussouarn, S. Demolombe, J. P. Behr, D. Escande *J. Biol. Chem.*, **273**, 7507-7511 (1998).
- 14) F. Liu, Y. Song, D. Liu *Gene Ther.*, **6**, 1258-1266 (1999).
- 15) T. Kawano, T. Okuda, H. Aoyagi, T. Niidome *J. Control. Release*, **99**, 329-337 (2004).
- 16) Wiley & Sons, Inc., web site; <http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical/>

## タンパク質・核酸をもとにした機能性分子設計

京都大学エネルギー理工学研究所

森井 孝

(t-morii@iae.kyoto-u.ac.jp)



## 1. はじめに

生物はアミノ酸やヌクレオチドをビルディングブロックとした生体高分子をもとにして多様な組織体を形成するとともに、組織体を目的に応じた機能に特化させることにより、水の中で高い物質変換・エネルギー利用効率を達成している。ヌクレオチドは情報を保持して正確に伝達する生体高分子をつくるには最適のビルディングブロックであり、20種類のアミノ酸は化学反応性、分子認識能などの機能を持ったタンパク質をつくるのに適している。これらの特徴を持つ二つの生体高分子、RNA とタンパク質から構成された組織体は、リボソームに見られるような遺伝情報を解読してタンパク質を合成する機能に特化されている。この RNA タンパク質組織体の機能が、現在タンパク質が担っている生体内での多様な化学反応や情報伝達機能へと特化する可能性はなかったのだろうか。

すべての生物は恒常性の維持と複製のために多大なエネルギーを費やしている。生物進化の過程で、恒常性を維持できなかったために失われてしまった組織体は数え切れないほどに多かったことであろう。複製という機能を付加できなかったために絶滅した生物は、現在の生体高分子組織体よりも優れた物質変換能や情報変換能を発揮する、一芸に秀でた生体高分子組織体を持っていたかもしれない。細胞の恒常性維持と複製という制約を取り払うことにより、特定の機能効率が向上した生体高分子組織体をつくり出すことができるだろう。

近年の化学合成技術および分子生物学技術の進歩により、RNA、ペプチド、およびタンパク質の合成が可能になり、タンパク質単体の機能改変が積極的に研究されている。また、タンパク質およびリボソームのような RNA-タンパク質複合体の三次元構造が数多く明らかにされたことにより、生体高分子組織体をも原子レベルで捉えることができるようになってきた。それと同時に、生命現象に対する興味がタンパク質や RNA の組織体としての機能へと集まってきている。即ち、タンパク質および RNA 単体の科学をもとにしながら、「組織体の機能を分子レベルで開拓する科学」を新しく展開する時機が到来したといえる。

現在我々が行っている研究は、分子認識・センシング・化学反応・動きというそれぞれの機能に特化した生体高分子の組織体をつくることを目的としている。これは生物を人為的に淘汰することにより生体高分子の機能改変を図るのではなく、複数のタンパク質もしくは RNA をもとにした生体高分子組織体を生命維持という制約から脱却させて、望みとする機能を発現させる試みである。

## 2. なぜ複数のサブユニットからなる組織体をつかうのか？

この背景には、タンパク質の二量体もしくは多量体が協同的に DNA との複合体を形成する場合に、単量体のタンパク質と比べてはるかに高い分子認識能とタンパク質濃度変化に対して鋭敏な複合体形成挙動をみせるという事実がある。我々が複数のサブユニットによる組織体にこだわる理由を、これまでたどってきた路を少しさかのぼって説明する。我々は、生命現象において情報の認識・伝達・変換の中心的な役割を果たしている DNA とタンパク質の認識機構を分子レベルで理解するための研究を行ってきた。<sup>1</sup> まず注目したのは、DNA 塩基配列認識におけるタンパク質機能部位の三次元的な配置の役割である。この特質を維持した DNA 結合タンパク質モデルとして、DNA 相互作用部位を立体規制した二量体ペプチドを二量体形成部位に C<sub>2</sub> 対称軸を有する光学活性なビフェニル誘導体を用いて合成した。それらを用いて、二量体ペプチドと DNA との非特異的結合を不安定化させることによって、ペプチド二量体による DNA 塩基配列認識能が鋭敏化される分子認識機構が明らかになり、直接 DNA とは接しない二量体形成部位の立体配置、つまり二量体の total structure が精密な分子認識に重要な働きをしていることを学んだ。<sup>1,2,3</sup> もう一つ注目した点は、タンパク質による DNA 塩基配列認識機構における、生命の第二の神秘とも言われている協同性<sup>4</sup>の役割である。DNA 結合性ペプチドにシクロデキストリンとゲスト分子の包接化合物を二量体形成部位として導入することによって、転写調節タンパク質の特質である協同的な DNA 複合体生成を人工的に再現することができた。<sup>5,6,7</sup> 単量体の DNA 結合と比較すると、二量体（多量体）ペプチドは (1) 特異的な塩基配列に対して協同的に結合することにより、圧倒的に高い塩基配列識別能を示し、(2) DNA 複合体形成はペプチド濃度に鋭敏に応答することが明らかになった。<sup>8,9,10</sup> これらの知見から、二つのサブユニットが立体的に規制された位置にあり、協同的作用が発揮出来れば、生体高分子組織体は生体高分子単体よりもすぐれた機能を持つ

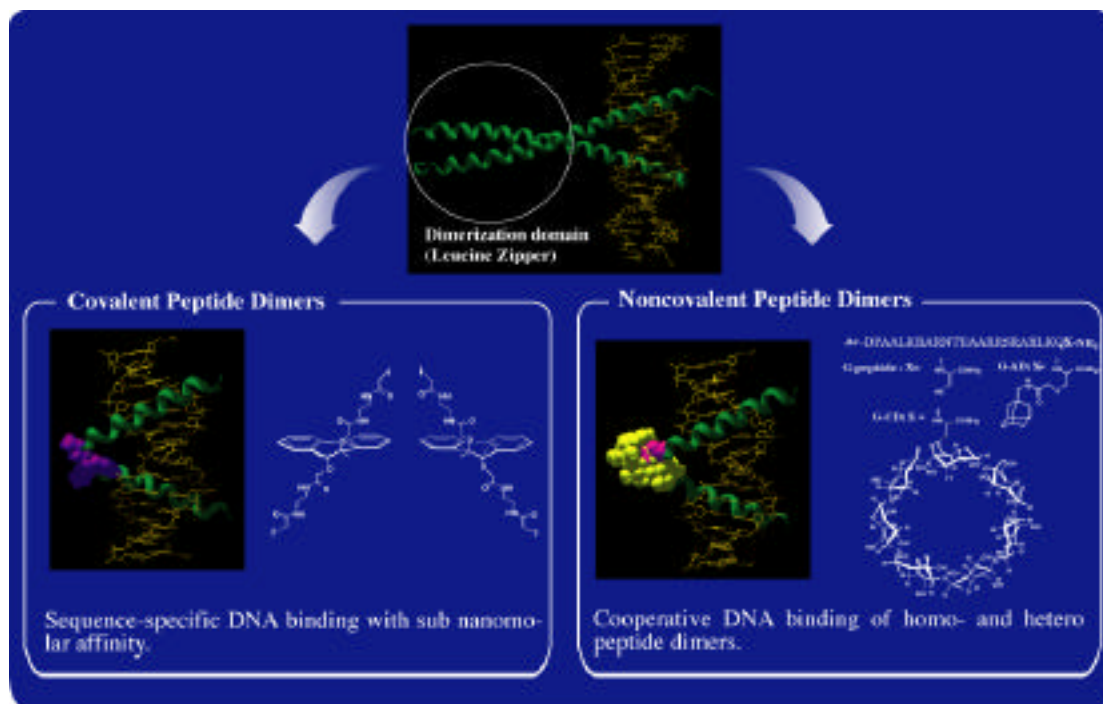


図1 ロイシンジッパータンパク質をもとにした二量体ペプチドの設計

うと期待して、二つのサブユニットからなる組織体を機能性分子設計の土台とした。

タンパク質二量体の協同的な DNA 結合を調べる目的で、様々なペプチドを稚拙ながらも分子設計したつもりではあるが、その過程で生体高分子をもとにした合目的分子設計の難しさを改めて認識させられた。大まかなところまでは理詰めでも分子設計が出来ても、望みとする挙動・機能を持たせるように fine tuning をするためには様々な誘導体を作って、実際に確かめていくしかなかった。この段階は、サイズの小さなライブラリー/スクリーニングを行っている事に他ならない。望みとする機能を持った生体高分子を作る際には、少なくとも現時点では、何らかのライブラリー/セレクション手法をとらざるを得ないとすると、今度はいかに効果的にライブラリーからのセレクションを行うか、ということが問題になってくる。複数のサブユニットを用いることは、ライブラリーの化学的特性や分子種に多様性を持たせる上で、大きなアドバンテージとなる。二つのサブユニットに順次ライブラリー/セレクション法を適用する事も可能であるし、非天然モノマーを含む化学的ライブラリーと生物的ライブラリーを併用することも可能である。そして、非共有結合で組織体を形成する二つのサブユニットを同時にライブラリー化することで、膨大なライブラリーサイズが実現出来るのではないかと期待した。

### 3. RNA-ペプチド複合体を用いた段階的機能化法の開発

生体内で環境に優しい化学反応を行う酵素を人工的に作ることは、科学者にとっての大きな夢である。有機合成化学によって多段階的に機能性分子を合成するように、タンパク質や RNA をもとにした組織体を段階的に機能化することによって、望みとする基質選択性・化学反応性を持つテーラーメイド酵素を作製することはできないか、という考えがこの研究の発端である。段階的に機能性組織体を構築するための二つのサブユニットとして、どのような三次元構造・熱力学的特性を持った複合体を形成するかがあらかじめわかっている RNA-ペプチド複合体を用いた。テーラーメイド酵素をつくるために、まず RNA-ペプチド複合体の RNA、ペプチドそれぞれのサブユニットにライブラリー法を適用し、目的の基質に最適な分子認識場を段階的に作製してテーラーメイドリセプターを構築する方法論を確立する。そして、その方法論を化学反応場作製に応用する

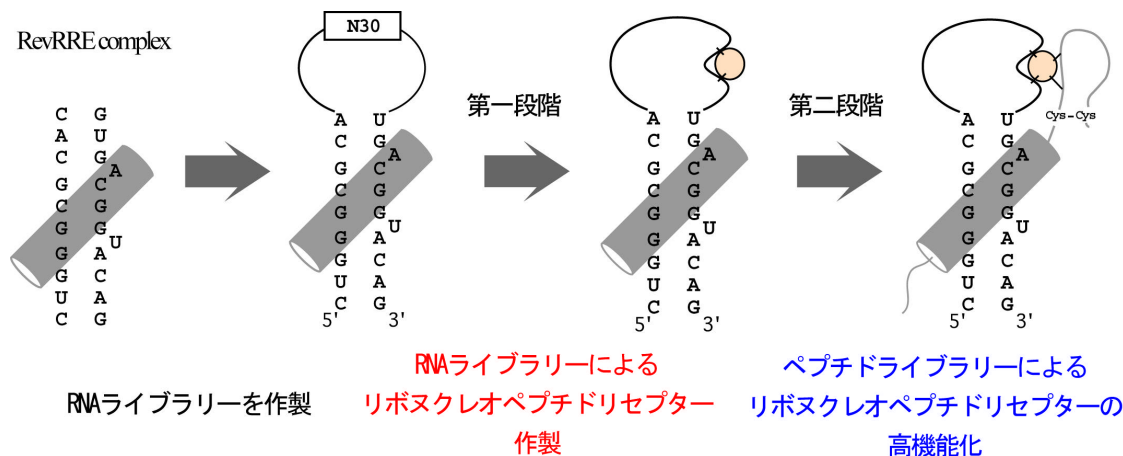


図2 RNA-ペプチド複合体をもとにした段階的機能化法によるテーラーメイドリセプター作製法

という戦略をとった(図2)。また、その方法論を確立する過程で、ポスト・ゲノム科学において重要なツールとなる生体内シグナル伝達の検出が可能なテーラーメイドセンサーの作製を試みた。

### 3.1 RNA サブユニットの機能化

段階的機能化法の第一段階として、RNA サブユニットを機能化することにより、テーラーメイドリセプターを作製する、即ち、分子認識場としての RNA-ペプチド複合体の機能設計法を開発した。既知の RNA とペプチド複合体の三次元構造 (Rev-RRE) をもとにして、二つのサブユニットからなる生体高分子組織体を設計した(図3)。Szostak らが開発した RNA を用いた *in vitro* selection 法<sup>11</sup>は目的とするリセプター・酵素を作製する上で非常に強力な手法である。この手法を応用して、標的分子との結合ポケットを作製するための 20 もしくは 30 塩基ランダム塩基配列部位 (約  $10^{12} \sim 10^{18}$  種類) とペプチド結合部位を持つ RNA サブユニットおよび、RNA サブユニットと特異的に結合するペプチドサブユニットを合成した。それらの複合体からリボヌクレオペプチド (RNP) ライブラリーを作製し、*in vitro* selection 法によって標的分子アデノシン三リン酸 (ATP) と結合するリボヌクレオペプチドを得た。20 塩基の RNA ランダム塩基領域をもとにした ATP 結合性 RNP リセプターは、33  $\mu\text{M}$  の解離定数で ATP に結合し、ATP と他のヌクレオチド三リン酸 (CTP、GTP および UTP) を厳密に識別した。<sup>12</sup>また、RNA サブユニットライブラリーから作製した RNP ライブラリーをもとにして、リン酸化チロシンおよびニコチンアミドアデニンジヌクレオチド ( $\text{NAD}^+$ ) に結合する RNP リセプターを作製することに成功した。これらの結果から、RNA を用いた *in vitro* selection 法は我々が用いている RNA-ペプチド複合体においても十分に応用可能であることが明らかになった。

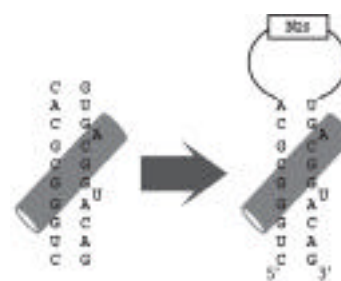


図3 RNA サブユニットのライブラリー法による機能化

### 3.2 ペプチドサブユニットの機能化

ATP 結合性 RNP リセプターの第二段階機能化は、ペプチドサブユニットを用いて RNP リセプターの ATP 結合領域を拡大する試みである。ペプチドサブユニットの N 末端に 7 アミノ酸からなるランダムなアミノ酸配列を付加したペプチドライブラリー (約  $10^9$  種類) をファージディスプレイ法により作成し、ATP 結合性 RNP リセプターの RNA サブユニットと複合体を形成させることにより、新たな RNP ライブラリーを作製した(図2右)。この RNP ライブラリーから、ATP と CTP、UTP、GTP が識別できるだけでなく、dATP には結合しない、即ち、アデノシン三リン酸の糖部が識別可能な高機能 RNP リセプターを得た。これらの結果から、ペプチドサブユニットをライブラリー化する方法論を用いて、まず (1) ATP 塩基部分を認識する結合ポケットを作製し、次に (2) ATP のリボース部分を認識するポケットを作製する、というリセプターの段階的分子認識機能進化が可能であることが実証できた(図4)。

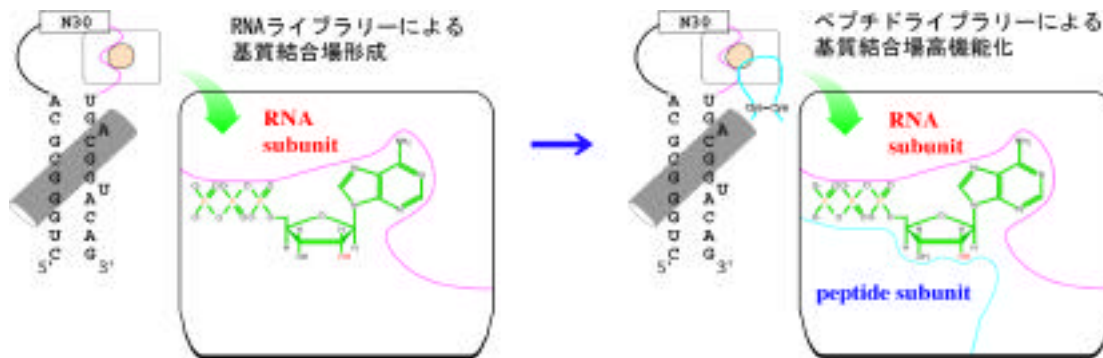


図4 ライブラリー法を用いた RNA サブユニットとペプチドサブユニットの段階的機能化による、ATP 結合性リボヌクレオペプチドリセプターの分子認識能の向上

ここで開発した RNA-ペプチド組織体の段階的機能化法を用いて、「化学反応の出発物質に結合するが、生成物との結合能は低い」RNP リセプターを作製し、「化学反応の遷移状態に結合するが生成物との結合能は低い」分子認識能を付加することにより、テラーメイド酵素の作製に挑戦する。

#### 4. リセプターからセンサーへ

分子センサーは、生体内シグナル伝達の検出や環境因子の検出をはじめ、様々な分野での応用が可能な素子として、注目を集めている。しかしながら、従来の分子センサー作製法では、リセプターを蛍光分子によって化学修飾した後、機能評価をする事が必要であり、モノクローナル抗体などを用いることにより、リセプターが容易に手に入る場合でさえも、リセプターを望み通りの親和性や検出感度をもつ分子センサーへと機能変換する事は、非常に困難であった。後述するように、天然のタンパク質 PH ドメインをもとにした IP<sub>3</sub> センサーの作製においても、三次元構造をもとにした蛍光分子導入位置の検索、蛍光分子導入のためのシステインへのアミノ酸変異、化学修飾、機能評価という過程を経て、蛍光分子を導入した多数の誘導体を作製する必要がある。このような過程を経たとしても望み通りの性能を持つ光学的分子センサーが得られる保証はない。

RNP リセプターは RNA とペプチドのサブユニットから形成されるため、ペプチドサブユニットを容易に化学修飾することができる。RNP リセプターのペプチドサブユニットを、蛍光分子を付加したペプチドサブユニットに変換することにより、リセプターを光学的「テラーメイドセンサー」へと簡便に機能変換する方法論（図5上）を開発した。

N 末端に異なる蛍光分子を導入した Rev ペプチドを合成し、これらの蛍光性 Rev ペプチドと、RNP リセプターの RNA サブユニットを組み合わせる事により、蛍光性 RNP リセプター・ライブラリーが得られる。蛍光性 RNP リセプターの分子センサーとしての機能は、プレートリーダーを用いて迅速に評価できる（図5下）。ATP 結合性 RNP リセプターの RNA サブユニットとしては、約 20 種類の似通った塩基配列が得られている。この RNA サブユニットと、ピレン、ダンシルおよび NBD の 3 種類の蛍光分子を導入したペプチドサブユニットを組み合わせ得られる蛍光性 RNP ライブラリーから、400 nm から 540 nm の様々な波長で応答する、また、ATP に対する解離定数が数  $\mu\text{M}$

から数 mM の応答領域をもつ ATP センサーが得られた。この手法により、様々な生理活性物質、タンパク質に対して、「選択的結合をおこなう」、「幅広い濃度範囲での検出が可能」、「リガンド結合時に蛍光強度変化が大きい」そして「望みとする波長で発光する」テラーメイドセンサーが簡便に作製できる。

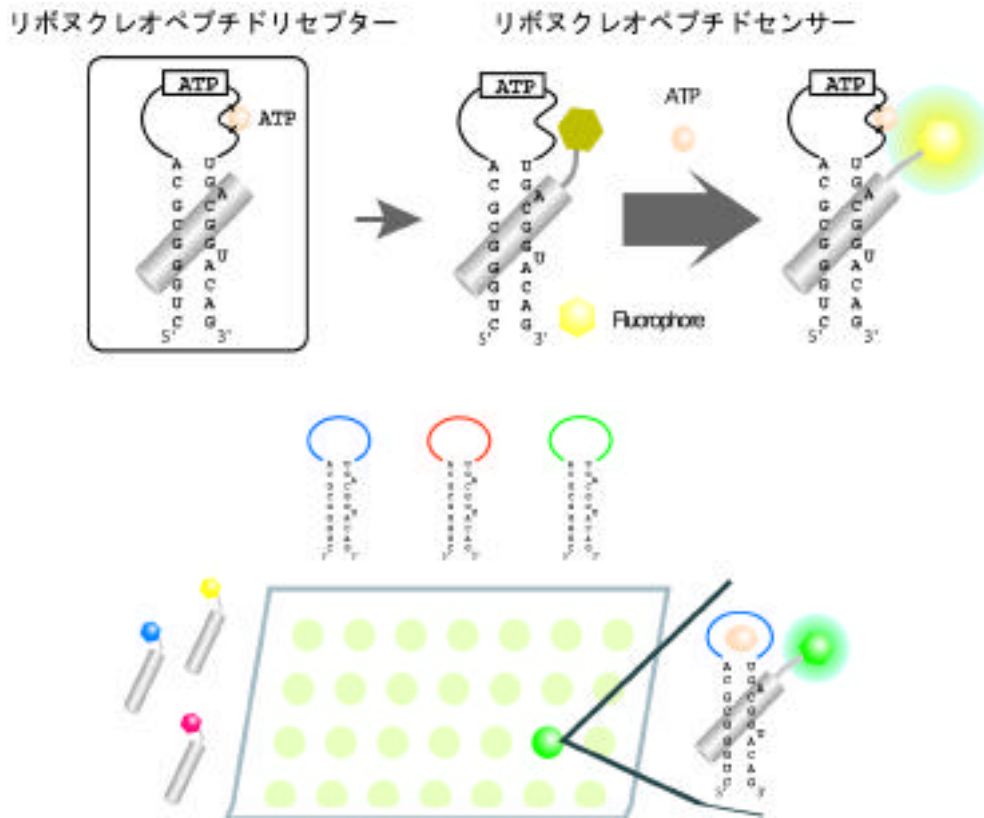


図 5 ATP 結合性リボヌクレオペプチドリセプターをもとにした、ATP センサーの作製 (上)と、ライブラリー法を用いたテラーメイド分子センサーの作製 (下)

## 5. タンパク質 PH ドメインを用いた複数のサブユニットからなる機能性組織体の設計

RNA とペプチドの二つのサブユニットからなる複合体をもとにして、段階的機能化法を用いることにより、テラーメイドリセプターが作製できることが明らかになったが、同様の手法は、タンパク質をもとにした二つのサブユニットからなる機能性組織体についても適用できるであろう。さらに天然のタンパク質複合体を用いるのではなく、安定なタンパク質ドメインをふたつに分割したのち、再構築することによって、二つのサブユニットからなるタンパク質ドメインを作製することも可能である。

### 5.1 スプリット PH ドメインの機能再構築

PH ドメインは約 120 アミノ酸からなる安定なタンパク質であり、イノシトール三リン酸に対して高い親和性を持っている。本研究では PH ドメインを二つのサブユニットに分割し、それぞれにコイルドコイルを付加することによって、再構築を可能にした（図 6）。再構築したスプリット PH ドメインはイノシトール三リン酸 (IP<sub>3</sub>) に対して強く結合し、かつ L-IP<sub>3</sub> とは結合しないというもとの PH ドメインと同様の特性を示すことから、二つのサブユニットからなる PH ドメイン機能再構築が可能であることが実証された。<sup>13</sup>



図 6 天然のタンパク質 (PH ドメイン) をもとにした、ふたつのサブユニットからなる組織体 (スプリット PH ドメイン) の作製

天然の酵素 (ホスホリパーゼ) 中に分割された PH ドメイン配列が見いだされているが、その機能は全くわかっていない。本研究で明らかにしたように、天然の酵素においても、スプリット PH ドメインが再構築されて、機能を発揮している可能性が示唆された。スプリット PH ドメインは、タンパク質をもとにした二つのサブユニットからなる機能性組織体の土台として用いることが出来ると考えている。

### 5.2 イノシトール三リン酸に対する分子センサーの構築

スプリット PH ドメインの土台として用いた PH ドメインタンパク質は、イノシトール三リン酸 (IP<sub>3</sub>) と選択的に結合することが知られている。コンピューター・ケミストリーによって、PH ドメインの IP<sub>3</sub> 結合領域周辺のアミノ酸の中から蛍光分子を導入することが可能な位置を探索し、そのアミノ酸をシステインへと変異させて蛍光分子によって化学修飾し、そして機能評価をする、という過程を経て、天然のタンパク質を蛍光センサーへと変換することができた (図 7)。<sup>14</sup>

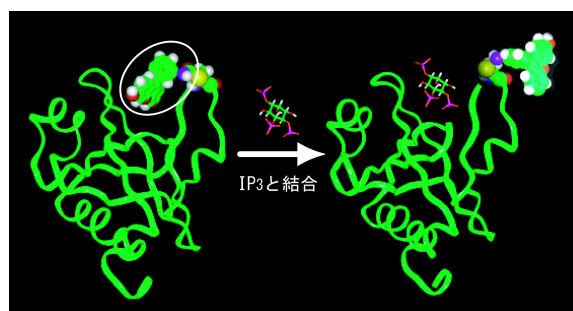


図 7 PH ドメインを用いた分子センサーの構築

水溶液中で使用可能な IP<sub>3</sub> センサーとしては初めての例であり、本研究は *Science* 誌の *Editors' Choice* (2002, 295, 931) でも紹介された。この IP<sub>3</sub> センサーは、天然の PH ドメインよりも高い IP<sub>3</sub> 選択性を示す。その理由としては、センサーの IP<sub>3</sub> 結合ポケットに蛍光分子が内包されて準安定状態を形成することによって、IP<sub>3</sub> 結合ポケットへの非特異的なりガンドの結合が妨げられることが考えられる。この機構は、ペプチドと DNA との非特異的



な結合を不安定化させることによって、ペプチド二量体の塩基配列選択性が高まる、という過去の知見と類似している。

### 5.3 イノシトール三リン酸に対する細胞内分子センサーの構築とその応用

IP<sub>3</sub>センサーに細胞導入ペプチド(9つのアルギニン配列)を付加することにより、細胞内でIP<sub>3</sub>を可視・定量化できることが明らかになり、刺激に応じて細胞内カルシウム濃度と連動した細胞内IP<sub>3</sub>濃度変化を検出することが出来た。<sup>15</sup>

本研究の遂行中に、細胞内でIP<sub>3</sub>を可視化する方法としてPHドメインに蛍光性タンパク質GFPを融合させたPH-GFPを用いる方法が開発された。この手法では、膜表面のホスファチジルイノシトール(PIP<sub>2</sub>)に結合したPH-GFPが、PIP<sub>2</sub>の加水分解により生成したIP<sub>3</sub>に結合して細胞質中に移動する様子を観察することにより、IP<sub>3</sub>のセンシングを行っている。<sup>16</sup> IP<sub>3</sub>濃度変

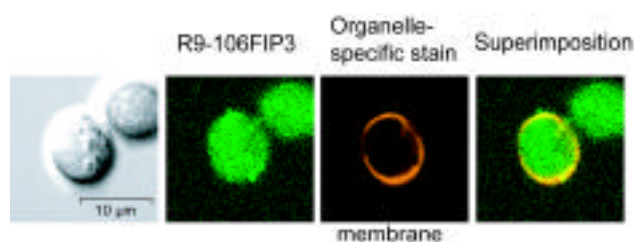


図8 IP<sub>3</sub>センサーによる細胞内IP<sub>3</sub>の可視化

化に対応した蛍光強度変化を測定したのは、本研究が初めての例である。基本骨格として用いたIP<sub>3</sub>センサー(5.2)のIP<sub>3</sub>選択性は、細胞内導入ペプチドを付加した細胞内IP<sub>3</sub>センサーにおいても保持されており、細胞膜に存在するPIP<sub>2</sub>に対して天然のPHドメインは強く結合するが、細胞内IP<sub>3</sub>センサーのPIP<sub>2</sub>に対する結合はほとんど観測されなかった(図8)ことから、IP<sub>3</sub>に選択的な細胞内リアルタイムセンサーが開発できたと考えている。<sup>17</sup>

## 6. おわりに

現在我々が行っている研究を紹介するにあたり、これまでの研究で学んだこととの関連と、なにを目指して研究を行っているかを述べさせていただいた。現段階において、どうやら二つのサブユニットからなるテラーメイドリセプターの段階的作製法とテラーメイドセンサー作製法の開発まではたどり着けたようである。しかし、テラーメイド酵素作製法を確立するためには、まだまだ課題が残されている。例えば、二つのサブユニットが有効に触媒機能に寄与できるように、基質の配向性を制御したうえで結合場を作製することは重要な課題である。今後の展開としては、天然の酵素に見られる「化学反応を触媒する過程で活性部位の構造変化を伴う」という特徴を設計することを現在の最大の目標にしながら、段階的に機能化するという方法論を用いてテラーメイド酵素が作製できるかを検証していく。アミノ酸・核酸からなる生体高分子に自分の望みとする機能を与えるためには、まだまだレッスンが必要なようであるが、日ごとに明らかになってくる生体分子の構造と機能を楽しみながら生命に関与する分子と向かい合う研究に「飽きる」という単語は存在しそうにない。

## 参考論文

- 
- <sup>1</sup> Sato, S.; Hagihara, M.; Sugimoto, K.; Morii, T. *Chem-Eur. J.* **2002**, *22*, 5067-5071.
- <sup>2</sup> Morii, T.; Shimomura, M.; Morimoto, S.; Saito, I. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1150-1151.
- <sup>3</sup> Morii, T.; Saimei, Y.; Okagami, M.; Makino, K.; Sugiura, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3649-3655.
- <sup>4</sup> Pertz, M. *Mechanism of cooperativity and allosteric regulation in proteins*. Cambridge University Press, **1989**.
- <sup>5</sup> Ueno, M.; Murakami, A.; Makino, K.; Morii, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12575-12576.
- <sup>6</sup> Ueno, M.; Sawada, M.; Makino, K.; Morii, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11137-11138.
- <sup>7</sup> Morii, T.; Tanaka, T.; Sato, S.; Hagihara, M.; Aizawa, Y.; Makino, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 180-181.
- <sup>8</sup> Morii, T.; Yamane, J.; Aizawa, Y.; Makino, K.; Sugiura, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10011-10017.
- <sup>9</sup> Aizawa, Y.; Sugiura, Y.; Morii, T. *Biochemistry* **1999**, *38*, 1626-1632.
- <sup>10</sup> Aizawa, Y.; Sugiura, Y.; Ueno, M.; Mori, Y.; Imoto, K.; Makino, K.; Morii, T. *Biochemistry* **1999**, *38*, 4008-4017.
- <sup>11</sup> Ellington, A. D.; Szostak, J. W. *Nature* **1990**, *346*, 818-822.
- <sup>12</sup> Morii, T.; Hagihara, M.; Sato, S.; Makino, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4617-4622.
- <sup>13</sup> Sugimoto, K.; Mori, Y.; Makino, K.; Ohkubo, K.; Morii, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5000-5004.
- <sup>14</sup> Morii, T.; Sugimoto, K.; Makino, K.; Otsuka, M.; Imoto, K.; Mori, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1139-1140.
- <sup>15</sup> Nishida, N.; Sugimoto, K.; Hara, Y.; Mori, E.; Morii, T.; Kurosaki, T.; Mori, Y. *EMBO J.* **2003**, *22*, 4677-4688.
- <sup>16</sup> Hirose, K.; Kadowaki, S.; Tanabe, M.; Takeshima, H.; and Iino, M. *Science* **1999**, *284*, 1527-1530.
- <sup>17</sup> Sugimoto, K.; Nishida, M.; Otsuka, M.; Makino, K.; Ohkubo, K.; Mori, Y.; Morii, T. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 475-485.

## 気になった論文



有森 奏 (ありもり すすむ)

金沢工業大学ゲノム生物工学研究所 助教授

arimori@neptune.kanazawa-it.ac.jp

私は北陸石川県、金沢工業大学ゲノム生物工学研究所に本年4月より所属しております。当研究所は昨年発足したばかりのまだ新しい研究所です。今後とも宜しく申し上げます。また、今回「気になった論文」へ寄稿の機会を頂き、大変光栄に思っております。さて、3つの異なった分野ではありますが、私の「気になった論文」として紹介させていただきます。

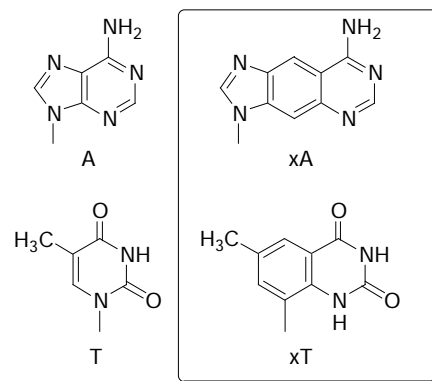
Toward a New Genetic System with Expanded Dimensions: Size-Expanded Analogues of Deoxyadenosine and Thymidine

H. Liu, J. Gao, L. Maynard, D. Saito, and **E. T. Kool**, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 1102 (2004).

A Four-Base Paired Genetic Helix with Expanded Size

H. Liu, J. Gao, S. R. Lynch, Y. D. Saito, L. Maynard, and **E. T. Kool**, *Nature*, **302**, 868 (2003).

最初の論文紹介は Stanford 大学の Kool 教授らのグループから昨年 *Nature* と本年 *J. Am. Chem. Soc.* で報告された論文です。まず、彼らは天然の DNA 骨格を持つものの、アデノシンとチミンの塩基部を右の様にベンゼン骨格を1つ挿入した右図の xA 及び xT を合成し(これらの塩基対で構成された DNA を xDNA と表記する) これらの及ぼす3次構造への影響について検討しました。水素結合部位はベンゼン環が1つ挿入されることによりグリコシド部より約 2.4 離れることになり、



3次構造への影響が懸念されます。モデルで計算してみると天然 DNA では 10.5 塩基対 / turn であるのに対し、xDNA では 14 塩基対 / turn です。これは 2.4 の広がりをもたらした3次構造への影響であるが、3次構造ヘリックスの構造は維持されていました。また彼らの研究報告で私が特に興味を持ったのは、xA ( max 333nm、 em 393nm メタノール中 ) 及び xT ( max 320nm、 em 377nm メタノール中 ) は A, T とは異なり、特性吸収による評価や蛍光スペクトルでの評価が可能となることです。これら xA や xT を配列した xDNA を合成することにより特殊アナログとしての応用が可能ではないかと思われれます。

## Fabrication of Gradient Hydrogels Using a Microfluidics / Photopolymerization Process

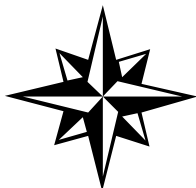
J. A. Burdick, A. Khademhosseini, and **R. Langer**, *Langmuir*, **20**, 5153 (2004)

続いて紹介致します論文は MIT の Langer 教授らにより報告されたマイクロ流路を用いた細胞培養プレートの作製です。この方法ではマイクロ流路により2種類の異なる光重合性モノマーを混流させることによりグラジエントされた相を形成できます。そこで、光重合性モノマーに細胞接着活性因子である RGDS を末端に持つアクリレート - PEG(3400Da) - RGDS (Acr-PEG-RGDS) と PEG4000 の両末端にアクリレート化した (PEG4000DA) を用いてマイクロ流路において混流後、光照射により細胞培養ハイドロゲルプレートを作製しました。作製したグラジエントされたハイドロゲルプレートで HUVEC の培養実験を行い、細胞の接着効果について評価しました。その結果、プレート上の Acr-PEG-RGDS の存在量に依存して見事に HUVEC の接着量が変化しました。この論文では他にそのグラジエント化したハイドロゲルを蛍光物質であるローダミンを用いてそのハイドロゲルプレートにおけるグラジエント度を視覚的に示しています。今後この方法により、抗体などを末端に導入した様々な光重合性モノマーを合成し、その光重合を行うことにより抗原や細胞の分離プレートを容易に作り分ける事が可能になるのではないかと期待される研究です。また、ハイドロゲルの架橋密度を変化させることによりプレートの堅さを調整することも可能であり、この方法による細胞接着効果を制御できるものと期待します。

## pH Indicating Resins

J. K. Cho, L. S. Wong, T. W. Dean, O. Ichihara, C. Muller, and **M. Bradley**, *Chem. Commun.*, **2004**, 1470.

3つめの論文紹介は UK Southampton 大 Bradley 教授らによる“カラフルな” pH インジケータに関する報告です。pH インジケータとして重要なものは pH に敏感に応答することは勿論のこと、その色彩変化も重要な因子の1つです。彼らは pH 応答性色素として3つの sulphalein 色素であるプロモフェノールブルー (BPB)、プロモクレゾールパープル (BCP)、プロモチモールブルー (BTB) を選択し、これらと pH 応答の領域の不足を解消するためメチルレッド (MR) とを樹脂表面に修飾したビーズを合成し、pH インジケータとしました。これら3種の樹脂は溶液の pH に応答し、pH によりオレンジ - 黄色 - 紫と変化します。この色彩の変化は我々の目でも顕著に認識でき、色彩豊かな pH 応答性樹脂であります。



村上 裕 (むらかみ ひろし) 東京大学 RCAST ケミカルバイオテクノロジー研究室 助手  
hmura@rcast.u-tokyo.ac.jp

特に興味を持っていることの一つとして、RNA 触媒 (リボザイム) 蛋白質触媒 (酵素) の創製・改変があります。今回は、人工蛋白質の創製について、進化工学的手法を用いた方法を 1 報、コンピューターデザインを用いた方法を 2 報紹介したいと思います。

#### A new strategy for the synthesis of glycoproteins

Z. Zhang, J. Gildersleeve, Y. Y. Yang, R. Xu, J. A. Loo, S. Uryu, C. H. Wong and P. G. Schultz *Science* **303**, 371-3 (2004).

糖蛋白質の合成は、未だ謎の多い糖の役割を解明する上で重要です。しかし現実には、その合成は非常に困難で、新しい手法を用いた糖蛋白質の合成法が待ち望まれています。本論文で Schultz らのグループは、アンバーサプレッサー-tRNA を糖アミノ酸でアミノアシル化する酵素を用い、糖を直接蛋白質に導入しようと試みています。しかし、このような都合のよい酵素は自然界にはまだ見つかっておらず、人工的に創製する必要があります。彼らはまず、Tyr-tRNA 合成酵素の Tyr 結合部位近辺のアミノ酸を 5~6 個選び、これを 20 種類のアミノ酸に置き換えた蛋白質のライブラリーを作成しました。これには、コドンの設計の関係上  $32^6=10^9$  の組み合わせがありますが、彼らはすべての組み合わせが網羅できるように、 $3 \times 10^9$  個のクローンを用意しました。次に、アンバーサプレッションを指標として正負の選択をかけ、このプールの中から 3 種類の酵素を選択しました。これらすべての酵素は、糖アミノ酸 (GlcNAc-Ser) に特異的であり、大腸菌の中で発現させることで、96%以上の純度を持つ糖蛋白質が合成できるようになりました。この新規な酵素の動力学的パラメーターについては残念ながら述べられていませんでした。これまでに彼らは、同様の手法を用いて天然にないアミノ酸を基質とする酵素を多数選択することに成功しています。これらの論文では、アミノ酸として側鎖に芳香族を持っているもの、すなわち Tyr 類似体を使用していました。本論文において特筆すべきことは、Tyr とは全く似ていない糖アミノ酸を基質とする酵素が選択できたことです。さらに、たった 5~6 箇所のアミノ酸変異で、3 種類もの解答を蛋白質が持っていたことは、蛋白質に対する私の考えを少なからず修正させられるものでした。

#### Computational design of receptor and sensor proteins with novel functions

L. L. Looger, M. A. Dwyer, J. J. Smith and H. W. Hellinga *Nature* **423**, 185-90 (2003).

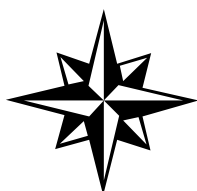
この論文では、コンピューターデザインを用いて、トリニトロトルエン (TNT), L-乳酸, セロトニンに特異的に結合する蛋白質を創製しています。蛋白質の骨格としては、大腸菌のペリプラズムに存在する結合蛋白質 (5 種類) を用いています。まず、このリガンド結合部位近辺の 12~18 個のアミノ酸の配列を、新しいリガンドの結合に適合するように、主鎖の構造を固定したまま、コ

ンピューター上で最適化します。この際のアプローチは彼らが 10 年以上前から作成・改良を加えているものです。17 種の候補となる配列を選び、実際に変異蛋白質を生合成したところ、すべての変異体において特異的な結合活性が確認されています。これはすばらしい正答率だと考えられます (実際には活性のなかった配列を意図的にはずしているかもしれませんが)。ほとんどの蛋白質の解離定数は  $1 \mu\text{M} \sim 1 \text{mM}$  程度ですが、中には、TNT に対し、 $2 \text{nM}$  と強く結合できるものも含まれています。応用としては、任意の分子による発現の制御や、特異的分子に対するセンサーなどを提案しています。実際に、設計した蛋白質とその特異的なりガンドを用いて、発現の制御を行っています。

#### Computational design of a biologically active enzyme

M. A. Dwyer, L. L. Looger and H. W. Hellinga *Science* **304**, 1967-71 (2004).

大腸菌のペリプラズムに存在する糖結合蛋白質を骨格として、解糖系の酵素であるトリオースリン酸イソメラーゼを創製しようと試みています。トリオースリン酸イソメラーゼの反応機構は、既に詳細に研究されており、これを参考に、活性に重要な役割を果たしている Glu, His, Lys を適切な位置に配置できるアミノ酸配列をコンピュータ上で最適化します。これにより 3 種のファミリーからなる 14 種類の配列を得ています。次に、実際にこれら蛋白質を生合成し、最も活性の高い配列を選び、さらなる最適化を重ね、 $k_{\text{cat}}/K_{\text{M}} = 5.6 \times 10^2 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$  ( $k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}} = 5 \times 10^5$ ) という、酵素と呼ぶにふさわしい蛋白質を得ています。ここで得られた酵素の  $k_{\text{cat}}/K_{\text{M}}$  は、天然の TIM ( $3.0 \times 10^5 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) に比較すると 1000 倍近くの差がありますが、それでもなお、酵素と呼べる活性を持った蛋白質をコンピューターデザインで得た、最初の例であると言えます。今後の課題としては、(1) 他の蛋白質の骨格を用いることができるか (2) 他の触媒を模倣できるか (3) どこまで触媒活性を上げることができるか (4) 天然にはない触媒をデザインできるか、などがあると考えられます。



堤浩 (つつみひろし) 九州大学先導物質化学研究所 JST さきがけ研究員

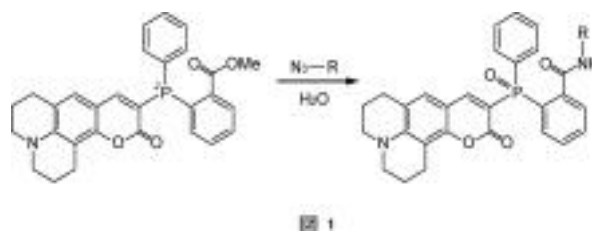
tutumi@ms.ifoc.kyushu-u.ac.jp

現在、タンパク質表面の化学修飾法についての研究をさせていただいております。有機合成反応を利用したタンパク質の修飾法について 1 報、細胞内のタンパク質ラベル化に関して 1 報、そして細胞内での修飾タンパク質の合成を行った論文を 1 報、紹介したいと思っております。

## A fluorogenic dye activated by the Staudinger ligation

G. A. Lemieux, C. L. de Graffenried and C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 4708-4709

タンパク質表面にはさまざまな官能基が複数存在しており、これらに対して選択的に人工分子を導入することは困難です。この問題に対して、天然には存在しない官能基をタンパク質に組み込んで、その官能基に選択的な反応を行う bio-orthogonal な手法がいくつか開発されてきています。Staudinger 反応はそのうちの 1 つで、アジド基とアリルホスフィンの選択的な反応によりホスフィンオキシドとアミド結合が形成されます。Bertozzi らはこれまでも Staudinger 反応を用いて細胞内でのタンパク質修飾を報告しています (*Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2002**, 99, 19-24) が、この論文では Staudinger 反応の特性をうまく利用してタンパク質の蛍光色素ラベル化が行われています。実験の流れとしては、従来どおり拡張コドン法でアジドホモアラニンを組み込んだジヒドロ葉酸還元酵素を発現し、蛍光色素をもったホスフィンと反応させるというものですが、ポイントとなるのは蛍光色素のクマリンをホスフィンに直接つけたところです。彼女らが設計したクマリン - ホスフィン、反応前はリン原子の非共有電子対がクマリンの蛍光を消光しているのですが、Staudinger 反応、すなわちラベル化が起こるとリン原子が酸化されて消光が解消され強い蛍光を発するようになります (図 1)。反応前後で 50 倍以上の量子収率の増加が見られているので、ラベル化されたタンパク質とバックグラウンドが明瞭に区別できます。ラベル化の速度論的な解析では 100  $\mu\text{M}$  以上という比較的高いラベル化剤の濃度が必要とされていますが、バックグラウンド蛍光が低く抑えられているため蛍光検出にはほとんど影響しない点でカバーされているようです。著者らはアリル基を変えることによって反応性の向上を模索中ですので、続報に期待したいところです。



## Reversible site-selective labeling of membrane proteins in live cells

E. G. Guignet, R. Hovius, H. Vogel, *Nat. Biotechnol.*, **2004**, 22, 440-444

細胞内において特定のタンパク質を可視化するために、GFP との融合タンパク質として発現する手法が広く用いられていますが、より小さなオリゴペプチドとそれに選択的に結合できるプローブをタグとして用いる手法が注目を集めています。このようなタグとして、Tsien らによって開発された FLAsH-EDT<sub>2</sub> とテトラシステインモチーフの組み合わせ (*Science*, **2002**, 296, 503-507 など) がすぐに思いつくところでしょうが、この論文では新たなタグとしてオリゴヒスチジンとニッケル - ニトリロ三酢酸錯体 (Ni-NTA) プローブを開発しています。6 残基のヒスチジンをつけた膜タンパク質を発現した細胞に対して口

ーダミン修飾 Ni-NTA を添加すると、速やかにヒスチジントグをもったタンパク質が選択的にラベル化されます。ヒスチジントグを N 末、C 末あるいはループのいずれの位置に組み込んで、ラベル化は選択的に進行しています。これだけでもラベル化法としては十分なのでしょうが、ヒスチジントグと Ni-NTA の組み合わせの面白いところはラベル化の可逆性にあると思います。ローダミン修飾 Ni-NTA プローブで一度ラベル化した後、EDTA を添加することによりプローブを引き剥がすことができます。実験的に示されているわけではありませんが、培地を交換することでプローブを細胞から取り除くことができ、再度別の色素を修飾した Ni-NTA プローブでラベル化することも可能なようです。著者らはこの可逆性を利用することで、FRET によるタンパク質 - タンパク質相互作用の解析が容易になると記しています。細胞内で Ni-NTA プローブを取り替えることができるので、FRET ペアとして最適な色素の選択が容易になるということなのでしょう。

### Protein semi-synthesis in living cells

I. Gariat and T.W.Muir, *J. Am. Chem.Soc.*, **2003**, *125*, 7180-7181

タイトル通り細胞内でタンパク質の半合成を行った論文で、タンパク質のトランススプライシングをうまく利用しています。通常のスプライシングでは、インティンと呼ばれる配列が分子内で自己触媒的に切り出され、フラグメントの組み換えが起こって成熟タンパク質が形成されます。一方、トランススプライシングではインティンが2つのフラグメントに分割されており、これらのフラグメントが再構成することではじめてスプライシングが起こるようになります。このとき、インティンのフラグメントの一方に人工分子を導入しておく、トランススプライシングにより人工分子を導入したタンパク質を合成することができるというわけです。

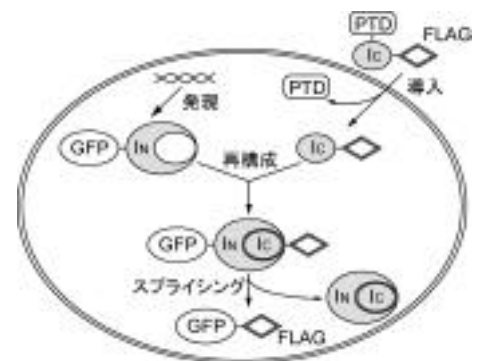
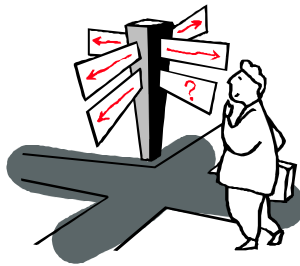
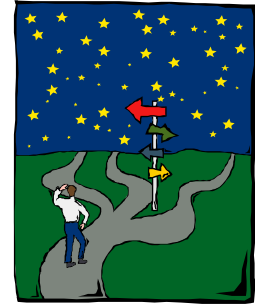
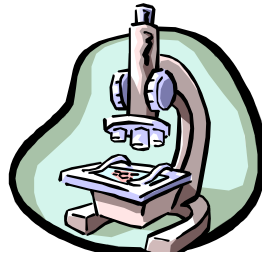
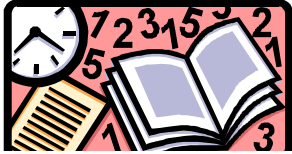


図 2

この論文では、モデルとして細胞内で発現した GFP に細胞外から導入した FLAG タグを連結する系を組んでいます (図 2)。GFP に分割したインティンの N 末端側 ( $I_N$ ) を融合させておき (GFP- $I_N$ )、インティンの C 末端側 ( $I_C$ ) に FLAG タグをつけたフラグメント ( $I_C$ -FLAG) を合成しておきます。 $I_C$ -FLAG には細胞に導入するために PTD ペプチドをつけているのですが、 $I_C$ -FLAG と PTD ペプチドをジスルフィド結合で連結しているのがポイントです。細胞内に導入されると還元的な環境下でジスルフィド結合が切断され、 $I_C$ -FLAG が放出されるように設計されています。また、インティンの方にも仕掛けがしてあります。 $I_N$  と  $I_C$  がお互い相補的な親和性を有するインティンを用いることで、細胞内でインティンの再構成が速やかに起こり、続くスプライシングによって  $I_N$ - $I_C$  の複合体の切り出しと GFP-FLAG の形成が達成されています。GFP だけでなく他のタンパク質でもこ



の手法は適用可能であることが示されていますが、いずれも C 末端側にプローブを導入するに止まっていた。今後、タンパク質の任意の位置への人工分子の導入を期待したいと思います。





## Yale 大学留学体験記

東京学芸大学 自然科学系 広域自然科学講座

大神田 淳子

1998年1月から2003年12月までの6年間、私はアメリカ東海岸の海辺の町、Connecticut州 New Haven で生活しておりました。最初の5年間はYale大学化学科のAndrew D. Hamilton先生の研究室で研究員として、2003年からは製薬会社Achillion Pharmaceuticals, Inc.で化学グループ研究員として研究に従事しました。紙面の都合上、本稿ではNew Havenでの生活と研究について主にYaleを中心に紹介したいと思います。

日本からのNew Havenへのアクセスは比較的便利です。成田からは、ニューヨークへの直行便と空港からのシャトルバスを使えますし、関空からだと乗り継ぎ便を経由してHartfordへ降り立てば、そこから1時間ほどのドライブで到着します。New Havenからはマンハッタン、ボストンまで車や電車を利用して2時間足らずで行くことができます。

New Havenの町のあちこちにYale大学関係の建物が立ち並んでおり、学期中は行き交う学生さんの姿で賑わいます。Connecticutの気候は年間を通して北海道と似ていて、4月中旬から短い春を経て6月-8月は最も過ごしやすい季節です。夏のあいだ、日中気温は上がりますが、湿度は日本ほど高くありません。9-10月、世界で最も美しいといわれるNew Englandの紅葉の季節が過ぎると、11月中旬には冬の風が吹き始め、3月末までの長い冬が始まります。New Havenの積雪量は内陸と比べると少ないのですが、それでも1 foot (30 cm) くらい積もることもあります。零下マイナス20度まで下がることもあります。屋内はたいがい暖房が良く効いていてTシャツで過ごせるほどです。物価は日本とあまり変わりません。

町の北側のサイエンスヒルと呼ばれる小高い丘の一角に化学科の建物があります。[1] Yale大学では数年前にバイオロジーとケミストリーの研究支援に多額の予算が計上され、現在化学科の新しい建物の建築工事が進んでいます。2005年秋に研究室の引越しが予定されているようです。

Hamilton先生は1997年夏にPittsburgh大学からYaleに移られました。化学科主任を経て、2003年にはDeputy



Yale大学の Science Hill  
- [www.yale.edu](http://www.yale.edu)

Provost に就任され、サイエンス系のトップとして学内外を奔走されています。グループの規模は平均して 20 名前後、先生の意向で国際色がいつも豊かに保たれています。

単身でアメリカにやって来た私を、研究室のメンバーは温かく受け入れてくれ、英語はもっぱら彼らから習うことになりましたが、この英語にまつわる思い出は尽きません。初めの頃、友達同士の会話が本当に聞き取れませんでした。研究室での初日、お昼に買った大きなサンドイッチを持って、ランチルームでみんなの輪の中に入ったところまでは良かったものの、会話に全くついてゆくことができず、先々のことを考えて暗澹たる気持ちになったことを覚えています。それでもめげることなく人の輪の中



Hamilton 先生と友人たちと研究室で。左端が筆者。

に入ってゆくようにしていると、そのうち相手にしてくれる友達が出来てきます。「Junko のための今日のスラング」と称して、一日ひとつづつ、良く使う表現を教えてくださいました。私はこの頃から、覚えたい言い回しや単語を書きとめて机の周りに貼っておき、あとでノートにまとめるということをしていました。帰国が決まり、その懐かしいノートをアメリカ人の友達とめくっていたとき、友人が突然吹き出しました。そこには消えかかったペンで「Breath you!」とあり、日本語で「誰かがくしゃみをしたときにいう。いわれたら Thank you という」と書かれてあったのです。当時の私は「Bless you」が聞き取れず、「Breath you」(そんな言葉はない)と勘違いして真面目にそう書きとめていたのでした。友人とおなかを抱えて大笑いしましたが、今となっては懐かしい思い出です。

Hamilton 研で私に関わることになった研究プロジェクトは、ペプチドミメティックスを設計・合成し、酵素群・プレニルトランスフェラーゼの阻害剤を開発するというものでした。[2] ファルネシルトランスフェラーゼ、ゲラニルゲラニルトランスフェラーゼのように GTP 結合タンパク質の翻訳後修飾を担う酵素は、近年新規抗がん剤開発の標的タンパク質として製薬会社を中心に盛んに研究が行われています。Hamilton 研では Ras タンパク質の C 端側 4 アミノ酸残基の伸長配座 (extended conformation) に基づいたペプチドミメティックスの合成研究が行われており、FTI-276 という化合物の臨床予備試験が検討中の段階にありました。その後の研究により、FTI-276 の分子内のチオール基を、イミダゾール基で置き換えた化合物群が安定かつ高活性であること、またこれらの化合物がパラサイト由来のファルネシルトランスフェラーゼを効率よく阻害することなどがわかり、ワシントン大学の M. Gelb 先生、ロンドンの S. Croft 先生のグループとの共同プロジェクトとして、WHO の援助の下、マラリアを始めとする抗パラサイト剤の開発研究が立ち上がりました。なおこの研究は WHO の 2002 年度「The Project of the Year」として表彰されています。



University of South Florida

Saïd M. Sebti 先生

Hamilton 先生はこのプロジェクトを中心に南フロリダ大学の Saïd M. Sebti 先生との共同研究を精力的に進めており、動物実験を含めた生理活性試験の大部分は Sebti 研で行われています。かねてから私は、自分の合成した化合物がどのように評価されるのか、ぜひ自分の目で見て、できることなら自分でその実験を行ってみたいと考えていました。そこで Hamilton 先生にお願いして、2000 年 7 月、先生の援助のもとに、Sebti 研で 1 ヶ月間のトレーニングを受けることになりました。ここで初めて生物実験の手ほどきを受けたことや、Sebti 研を含む様々な共同研究グループの人たちとの交流は、その後の研究に大変役立っています。

私の場合、日本での職を辞して渡米しましたので、アメリカで腰を据えて研究に取り組みたいと考えていました。短期間ずつ異なる大学で違うことを勉強するのも選択肢だったのかもしれませんが、私にはむしろ同じグループで、ひとつの研究を深く理解して新たな展開に貢献できるようになることが目標でした。アメリカのポスドクは多くの場合年契約ですから、先生に契約更新をして頂かない限りは失業するリスクがある一方で、同じグループで一貫して働けば、実績次第で色々な仕事を任せてもらえる可能性もあります。私は英語があまり上手ではありませんでしたので、時間がかかっても地道に小さな結果を出しながら、認めて頂けるようにすることしか契約更新への道はありませんでした。2 年目から Hamilton 先生の配慮で 4 年生、大学院生の指導を行うようになり、彼らのおかげで私の英語は少し改善されたように思います。

学生もポスドクも 3 年目くらいになると、グループ内でもある程度責任ある立場となります。前にも述べたように Hamilton 研は国際色の豊かなグループですので、異なる文化背景に基づく様々な価値観のぶつかり合いが日常的に起こります。こうしたなかで新しいアイデアの芽を得たり、自らの固定観念を反省する機会が数多くありました。自分の考えをきちんと言葉にして率直に相手に伝え、かつ相手の意見に耳を傾けることはアメリカでの生活において大変重要です。アメリカでは一個人としての意見を、プライベートな人間関係でも職場でも、仲間としてあるいはひとりのプロフェッショナルとして求められる機会がとても多いと思います。個々の考え方の違いを認め、そのうえで自分の意見をしっかり持つことが大切です。

2002 年秋に就職活動・インタビューを経験し、私はアメリカで就職することになりました。新しい職場となった Achillion Pharmaceuticals, Inc. は同じ New Haven 市内にあり、Hamilton 先生を始めとした Yale 教授陣が技術顧問を務めていました。ここで私は HCV などの抗ウイルス剤の開発研究グループに配属され、化学グループの一員として合成研究に従事することになりました。短い期間でしたが、理解のある上司と気のいい仲間とともにアメリカの医薬品開発の現場に関わったことは貴重な経験として今後生きると思います。

Hamilton 先生との出会いは私の人生に決定的な影響を与えました。困難なときも常に励まし導いて下さった先生、多くの仲間の存在と彼らの懐の深い友情を無くしては、今の私はあり得なかったと思います。

最後に、本稿を執筆する機会を  
与えて頂きました編集委員の先生  
方に深く感謝いたします。

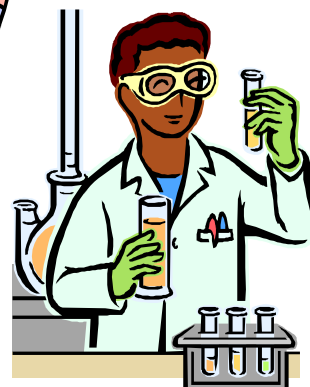
[1] [www.chem.yale.edu](http://www.chem.yale.edu)

[2] Selected papers: *J. Med. Chem.*,  
**2004**, *47*, 432-445; *Proc. Natl. Acad.*  
*Sci. USA.*, **2003**, *100*, 15149-15153; *J.*  
*Clinic. Invest.*, **2003**, *112*(3), 407-414;  
*Curr. Top. Med. Chem.*, **2002**, *2*, 303-  
323; *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 177-  
188; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**,  
*11*, 761-764.



2002年10月化学科ハロウィーンパーティーにてHamilton研の友人と。

おおかんだ じゅんこ johkanda@u-gakugei.ac.jp



# シンポジウム等会告



## 研究会関連シンポジウム

### 産学連携 BICS シンポジウム (第1回) - 新たな産業技術としての「生命化学」技術 -

主催 化学技術戦略推進機構 (JCII)、共催 日本化学会、科学技術振興機構

会期 11月22日(月)

会場 日本化学会 化学会館会議室(7階)(東京都千代田区 神田駿河台 1-5)〔交通〕

<http://www.chemistry.or.jp/kaimu/office/map.html>

参加申し込み締切 11月12日(金) 定員(100名)になり次第締切

基調講演 生命化学技術と産学連携(九州大学) 浜地 格

活動紹介 JCIIにおけるBICS活動について(化学工学会) 渡邊英一

講演 生命化学に関連する世界の産業技術動向(仮題)(三菱総研) 亀井信一

#### 話題提供

1. 産学連携、共同研究(マイクロアレイスキャナー開発など)(九州大学) 竹中茂織
2. 産学間人材移動(アルツハイマー新薬開発など)(京都大学) 杉本八郎
3. 「生命化学」(糖鎖関連)(慶應大学) 佐藤智典
4. 「生命化学」(ペプチド関連)(東京工業大学) 三原久和
5. 高分子技術を用いた新型DNAチップの開発(三菱レーヨン) 秋田 隆

他、DDS、マイクロファブリケーションなど、企業2社の話題提供を予定

パネルディスカッション 生命化学産業の明日、明後日、明々後日 総合司会(甲南大学) 杉本 直己、パネリスト、(科学技術振興機構) 村井真二、および講演講師

参加費 無料

参加申込方法 「産学連携 BICS シンポジウム」参加申込と題記し、(1)氏名、(2)勤務先、所属、(3)連絡先を明記し、FAXあるいはメールにて下記宛お申込ください。

申込先 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町 1-3-5 富山房ビル 2階

(財)化学技術戦略推進機構 戦略推進部 海淵 俊明

電話 (03)5282-7263 FAX (03)5282-0250 E-mail: [kaifuchi@jcii.or.jp](mailto:kaifuchi@jcii.or.jp)

## 研究会主催シンポジウム

### 第7回生命化学研究会シンポジウム・仙台(2005) 「化学から生命へ、そして生命から化学へ」

主催：日本化学会生命化学研究会

共催：日本化学会東北支部、日本農芸化学会東北支部、日本薬学会東北支部

会期：2005年1月21日(金)

会場：フォレスト仙台(宮城県教育会館) 第1フォレストホール他

仙台市青葉区柏木1-2-45(電話022-271-9340)

仙台市バス(北仙台方面行き)堤通雨宮町バス停下車徒歩2分

仙台市地下鉄北四番丁駅下車北2出口より徒歩7分

JR北仙台駅下車徒歩10分、JR仙台駅よりタクシー10分

#### プログラム：

- |             |   |
|-------------|---|
| 9:40-9:45   | あいさつ  |
| 9:45-10:25  | 「生命化学における環境効果 - Back To The Cell」<br>杉本 直己(甲南大・先端生命工学研) |
| 10:25-11:00 | 「化学遺伝学研究への有機化学的アプローチ」<br>及川 雅人(東北大・院生命)                 |
| 11:00-11:35 | 「プロテインスプライシングを用いたタンパク質再構成<br>システムについて」小澤 岳昌(東大・院理)      |
| 11:35-13:10 | 昼休み、ポスター  |
| 13:10-13:50 | (演題未定)<br>櫻井 実(東工大・生命)                                  |
| 13:50-14:25 | 「分子シャペロンを利用した材料化学」<br>金原 数(東大・院工)                       |
| 14:25-14:45 | コーヒーブレイク  |
| 14:45-15:35 | 「プリオン病治療法の開発」<br>堂浦 克美(東北大・院医)                          |
| 15:35-16:15 | (演題未定)<br>宮脇 敦史(理研・脳科学)                                 |
| 16:15-16:30 | 総会  |
| 16:30-17:50 | ポスター、ミキサー   |

## ポスター発表の募集

申込み〆切：2004年12月24日（金）

一般講演としてポスター発表を受付けます。発表希望者は、A4 版用紙 1 ページ縦（上下左右に 2.5 cm の余白）に、題目・発表者（連名の場合は発表者に下線）・所属・同所在地（連絡先）および要旨本文を記載し、電子メール（Microsoft word 添付書類）で下記申込み先までお送りください。電子メールでの送付が難しい場合は、プリントアウトしたものをご郵送ください。講演要旨の提出をもって発表申込みといたします。

参加費（要旨集およびミキサー代込み）

事前振込は、2004年12月24日（金）まで

参加費 生命化学研究会会員 4,000 円（当日 5,000 円） 共催学会会員 5,000 円（当日 6,000 円） 非会員 6,000 円（当日 7,000 円） 学生 2,000 円（当日 3,000 円）

参加費を12月24日（金）までに下記口座に振込み後、すぐにお振込み内容（氏名、所属、振込金額、会員・共催学会会員・非会員・学生の別、連絡先、振込日）を、電子メールもしくは FAX にて下記までお知らせください。研究室で一括して送金された場合は、振込人および参加者氏名・人数がわかるようにお知らせください。

振込口座：郵便局 02250-5-41364

口座名：生命化学シンポジウム2005

問合せ・申込先

〒981-8555 仙台市青葉区堤通雨宮町1-1

東北大学大学院生命科学研究科 小川智久

電話：022-717-8808 FAX：022-717-8807

電子メール：[ogawa@biochem.tohoku.ac.jp](mailto:ogawa@biochem.tohoku.ac.jp)

ホームページ：<http://www-pclab.ph.tokushima-u.ac.jp/FBC/7thSymp.html>

第7回生命化学研究会シンポジウム・仙台（2005）

世話人

小川智久（東北大院生命）

岩淵好治（東北大院薬）

津本浩平（東北大院工）



## 第10回大阪市立大学 ナノサイエンス・ナノテクノロジーフォーラム 「ナノバイオの最前線 ‘ドラッグデリバリー’」のご案内

日時：2004年11月26日（金）午後1時～7時

場所：大阪市立大学学術情報総合センター 10F

（大阪市住吉区杉本3-3-138、JR 阪和線杉本町駅徒歩5分）

主催 [大阪市立大学ナノサイエンス・ナノテクノロジーフォーラム](http://www.bfc.bioa.eng.osaka-cu.ac.jp/nanoforum/)

HP URL: <http://www.bfc.bioa.eng.osaka-cu.ac.jp/nanoforum/index.html>

参加費：企業5,000円、アカデミアスタッフ1,000円（ポスター発表者は無料）、学生 無料

参加募集（締切11月19日）

参加を希望される方は、氏名・所属・電子メールアドレスを [nagasaki@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp](mailto:nagasaki@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp) までお知らせ下さい。

参加費は当日徴収します。

ポスター発表募集（締切11月12日）

ナノサイエンス・ナノテクノロジー全般に関するポスター研究発表を募集します。発表を希望される方は電子メールにて、氏名・所属・身分・タイトル・電子メールアドレスをお知らせ下さい。詳細は追ってお知らせします。

**ポスター賞**：学生の発表するポスターの中から優秀な発表に対してポスター賞を選考します。受賞者に対しては記念品を差し上げます。

プログラム（10F 会議室）

13:00-13:30 受付

13:30-14:15 加藤 雅也（石原産業（株）医薬研究所所長補佐）

「遺伝子およびタンパク質の機能解析ツール

”マルチトランスフェクションベクター GenomONE シリーズ”の開発」

14:15-15:15 櫻井 和朗（北九州市立大学国際環境工学部教授）

「多糖・核酸複合体と核酸医薬 DDS への応用」

15:15-15:30 コーヒーブレイク（研究者交流室）

15:30-16:15 山岡 哲二（京都工芸繊維大学繊維学部助教授）

「非ウィルスキャリアーの化学構造とポリプレックスの被転写翻訳効率」

16:15-17:15 片岡 一則（東京大学大学院工学系研究科教授）

「ナノテクノロジーが拓くフロンティアメディシン ～ピンポイント診断・治療のための  
ナノデバイス設計～」

17:20-19:00 ポスターセッション & ミキサー（ポスター賞発表）

申込・問い合わせ先

大阪市立大学大学院工学研究科化学生物系専攻 長崎 健

〒558-8585 大阪市住吉区杉本3-3-138

TEL: (06)6605-2696, E-mail: [nagasaki@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp](mailto:nagasaki@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp)

大阪市立大学ナノサイエンス・ナノテクノロジーフォーラム

平成16年度実行委員長 中山 正昭

第10回フォーラム世話人 松本 章一・長崎 健

## **The 12th International Symposium on Advanced Materials (12th ISAM)** **- Strategic Membrane Assemblies and Supramolecular Systems -**

Date: **December 7th (Tue) ~ 10th (Fri), 2004**

Place: **Advanced Materials Laboratory, NIMS, Tsukuba, Japan**

Further Information: <http://www.nims.go.jp/ISAM2005/>

(\* The homepage will be renewed in the near future.)

### < Tentative Science Program >

Tuesday, December 7 (16:00 ~ 20:00)

**16:00 ~ 20:00 Registration**

**18:00 ~ 20:00 Reception (for Invited Speakers and Poster Contributors)**

Wednesday, December 8 (8:50 ~ 21:00)

**8:50 Opening Remarks** Prof. T. Kishi, NIMS president

**Session A Progress of Molecular and Supramolecular Architectures**

(D. G. Kurth and T. Kato, Presiding)

**9:00 “Surface Science and Supramolecular Chemistry”** (MPI and NIMS) D. G. Kurth (including the keynote of this symposium)

**9:30 “Self-Assembled Coordination Cages as Molecular Flasks”** (The University of Tokyo, Japan) M. Fujita

**10:00 “Undecided”** (University of Twente, Netherlands) D. N. Reinhoudt

**10:30 Break**

**10:45 “Construction of Artificial Photosynthetic System by use of Porphyrin Supermolecules”** (Nara Institute of Science and Technology, Japan) Y. Kobuke

**11:15 “Slide-Ring Gel: Supramolecular Gel with Topological Characteristics”** (The University of Tokyo, Japan) K. Ito

**11:45 “Functional Supramolecular Liquid-Crystalline Materials”** (The University of Tokyo, Japan) T. Kato

**12:15 Lunch**

**Session B New Trend in Interfacial Self-Assembly**

(J. B. Schlenoff and Z. Liu, Presiding)

**14:00 “Functional Surfaces: Layer-by-Layer Assembly on Planar Surfaces and on Nanoparticles”** (Institut Charles Sadron, France) G. Decher

**14:30 “Polyelectrolyte Multilayers are “Ideal””** (Florida State University, USA) J. B. Schlenoff

**15:00 “Molecular Transcription Aiming at Creation of New Superstructures and Functions”** (Kyushu University, Japan) S. Shinkai

**15:30 “Material Processings Based on Photocontrolled Self-Organization in Two Dimensions”** (Nagoya University, Japan) T. Seki

**16:00 Break**

**16:15 “STM-Based Thermochemical Hole Burning on Charge Transfer Complexes for Data Storage”** (Peking University, China) Z. Liu

**16:45 Presentation by groups in NIMS**

**17:15 “Assembly, Manipulation and Properties of Molecular Nanocomposites on Solid Substrates”** (Humboldt University, Germany) J. P. Rabe

**18:00 Excursion (for Invited Speakers)**

Thursday, December 9 (8:50 ~ 21:00)

Session C From Self-Assembly to Self-Organization

(N. Kimizuka and W. Knoll, Presiding)

- 9:00** “A DNA-Aligned Film and its Application of Electromaterials” (Tokyo Institute of Technology, Japan) Y. Okahata
- 9:30** “Self-Assembling Nanowires and Supramolecular Control on Their Electronic Structures” (Kyushu University, Japan) N. Kimizuka
- 10:00** “Nanoscopic Building Blocks for Supramolecular Hybrid Materials and Architectures” (Max Planck Institute for Polymer Research, Germany) W. Knoll
- 10:30** Break
- 10:45** “Controlled Thin Film Nano-assemblies at Surfaces and Interfaces” (Massachusetts Institute of Technology, USA) P. T. Hammond
- 11:15** “Supramolecular Nanotube Architectures toward Meso-Scale Host-Guest Science” (Nanoarchitectonics Research Center, AIST, Japan) T. Shimizu
- 11:45** Selective talks by ICYS fellows
- 12:15** Lunch

Session D Surface Chemistry of Single Macromolecule

(I. Hamachi and H. Möhwald, Presiding)

- 14:00** “Nano Meccano” (University of California, Los Angeles, USA) F. Stoddart
- 14:30** “Supramolecular Strategy to Recognize and Immobilize Protein Molecules” (Kyushu University, Japan) I. Hamachi
- 15:00** “Combinatorial Nanoscience” (Northwestern University, USA) C. A. Mirkin
- 15:30** Break
- 15:45** “Cellular Uptake of Artificial Viruses and Related Nanoparticles” (Kyoto University, Japan) Y. Aoyama
- 16:15** “Polyelectrolyte Multilayer Films and Capsules with Controlled Permeation and Mechanics” (Max Planck Institute, Germany) H. Möhwald
- 17:00** Poster Session
- 19:00** Banquet

Friday, December 10 (8:50 ~ 12:30)

Session E Science of Membrane Assemblies

(E. Yashima and H. Lee, Presiding)

- 9:00** “Self-Supporting Membranes of Metal Oxide and their Permeation Properties” (RIKEN, Japan) T. Kunitake
- 9:30** “Vertical Alignment of Carbon Nanotubes on Templates Fabricated using Atomic Force Microscope Lithography and Nanosphere Lithography” (Hanyang University, Korea) H. Lee
- 10:00** “Self-Organization of Organic Dyes into Mesoscopic Assemblies for Photonic Applications” (Chitose Institute of Science and Technology, Japan) O. Karthaus
- 10:30** Break
- 10:45** “Supramolecular Assemblies of Helical Polymers” (Nagoya University, Japan) E. Yashima
- 11:15** “Roll to Roll layer-by-layer Sequential Deposition of Supramolecular Materials and their Applications” (Keio University, Japan) S. Shiratori
- 11:45** Short panel discussion: Proposal from young researchers (Kurth, Ariga, Ichinose, etc.)
- 12:30** Closing Remarks M. Watanabe, AML Director General
- 13:30** Tsukuba Bus Tour (planning stage)

## お知らせコーナー

### 受賞のお知らせ

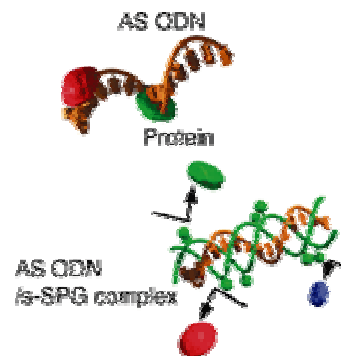
馬場嘉信 (現名大・院・工学研究科) ・  
篠原康雄 (徳島大学ゲノム機能研究センター)  
平成 16 年度日本トキシコロジー学会賞 (田邊賞)  
「医薬品の毒性予測に関する基礎研究」  
(受賞日、2004 年 7 月 6 日)



レター No. 15 の研究紹介に掲載されたご研究 B C S J 論文賞を受賞  
しました (桜井先生、長崎先生)

2004 年 6 月 "Best Article of the Month"

M. Mizu, K. Koumoto, T. Anada, R. Karinaga, T. Kimura, T. Nagasaki,  
S. Shinkai, and K. Sakurai "Enhancement of the Antisense Effect of  
Polysaccharide-Polynucleotide Complexes by Preventing the Antisense  
Oligonucleotide from Binding to Proteins in the Culture Medium", *Bull  
Chem. Soc. Jpn.*, **77**, 1101-1110 (2004).



### 会員異動

小出隆規  
新潟薬科大学薬学部・助教授  
(2004 年 4 月 1 日付、徳島大学工学部より)  
〒950-2081 新潟市上新栄町 5-13-2  
TEL&FAX: 025-268-1307 (ダイヤルイン)  
E-mail: koi@niigata-pharm.ac.jp



馬場嘉信  
名古屋大学大学院工学研究科化学・生物工学専攻  
応用化学分野無機材料・計測化学講座、教授 (2004 年 10 月 1 日付、徳島大学薬学部より)  
〒464-8603 名古屋市千種区不老町  
phone: 052-789-4664 fax: 052-789-4666  
E-mail: ymtt-baba@star.odn.ne.jp (<30 MB)  
E-mail: babaymtt@apchem.nagoya-u.ac.jp (<2 MB)

## 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年度の第2号となる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。

本号の巻頭言は、本年度、本会会長に就任された浜地 格氏にご執筆いただき、今後の研究会の新しい方向性を提示していただきました。また、新しくなった生命化学研究会の第一歩として、浜地会長のリーダーシップのもと、本ニュースレターのシンポジウム等会告にありますように、『産学連携 BICS シンポジウム(第1回) - 新たな産業技術としての「生命化学」技術 - 』が企画されました。今後の生命化学研究会の新たな展開を模索する企画であり、多くの会員のご参加を願っております。

本号は原田が初めて編集を担当させて頂きましたが、これまでの編集担当者が蓄積したノウハウを活用し、発行にこぎ着けることが出来ました。また、執筆者には、お忙しい中、力のこもった原稿をありがとうございました。重ねてお礼申し上げます。

今後も、面白い、役に立つニュースレターを皆様にお届け出来るよう努力して行きたいと思っております。ニュースレターに対するご要望、ご指摘がございましたら、編集担当(石田・長崎・原田)までご連絡頂ければ幸いです。

次号(No. 17)は、石田氏の担当により、2005年2月に発行を予定しております。新しい生命化学研究レターにご期待ください。



原田和雄  
東京学芸大学教育学部  
(harada@u-gakugei.ac.jp)