



# 生命化学研究 レター

No. 19 (2005 年 10 月)

1.	巻頭言		
		イチローから学ぶ	2
		長崎 健(大阪市立大学大学院 工学研究科)	
2.	研究紹介		
		遺伝子はどこまで創れるか?	3
		芝 清隆(癌研究会癌研究所 蛋白創製研究部)	
		夢のある不思議な小分子化合物	9
		上杉 志成(京都大学化学研究所 生体機能化学研究系)	
3.	論文紹介「気になった論文」		14
		富崎 欣也(東京工業大学大学院 生命理工学研究科)	
		長谷川 哲也(京都大学 エネルギー理工学研究所)	
		河野 喬仁(九州大学大学院 システム生命科学府)	
4.	生命化学研究法「 <i>In vitro</i> セレクション」		21
		～ 標的タンパク質に結合する RNA アプタマーの作成～	
		平尾 一郎(東京大学 先端科学技術研究センター・ 理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター)	
5.	米国 University of California San Francisco 校留学体験記		26
		平野 智也(東京医科歯科大学大学院 疾患生命科学研究部)	
6.	シンポジウム等会告		30
7.	お知らせコーナー		36
		受賞・会員異動のお知らせ	
		編集後記	

## 巻頭言



# イチローから学ぶ

大阪市立大学大学院工学研究科

長崎 健

研究者・教育者の適性そしてそのあるべき姿とは何？ 常日頃から頭の片隅からはなれない自問。

そのようなもやもやを吹っ飛ばすように2年ぶりに歓喜に溢れた大阪の熱い夜、ただし、今回は長年たまったマグマの爆発ではなく、常勝チームへ変身を遂げたことへの確信の喜び！そして、その二日後には世界の舞台でまた偉大な記録が達成された。そう！イチローのMLB 新人から5年連続の年間 200 安打。昨年のシーズン最多安打記録 262 安打達成の際は日本でも大きな社会現象となったが、それにも引けを取らない偉業である。

「僕の夢」

僕の夢は、一流のプロ野球選手になることです。  
そのためには、中学、高校と全国大会に出て活躍しなければなりません。  
活躍できるようになるためには、練習が必要です。  
僕は、3才の時から練習を始めています。  
3才から7才までは半年くらいやっていましたが、3年生の時から今までは、  
365日中、360日は激しい練習をしています。  
だから、1週間中で友達と遊べる時間は、5～6時間です。  
そんなに練習をやっているのだから、必ずプロ野球の選手になれると思います。  
そして、中学、高校と活躍して、高校を卒業してからプロに入団するつもりです。  
そしてその球団は、中日ドラゴンズか、西武ライオンズです。  
ドラフト入団で、契約金は1億円以上が目標です (以下略)

愛知県西春日井郡 とよなり小学校 6年2組 鈴木 一郎

上記作文は「遙かなイチロー、わが友一郎」義田 貴士 (著)より引用したものである。野球界に限らず、どの世界でも、自分の出来ることをとことんやってきたという意識があるか、ないか、イチローの自信そして確信の裏には必要十分な準備が隠されている。そのことを小学生で悟っていたイチローは凄い！そしてイチローはそれを継続し世界を極める。また、イチローは結果を求めるのではなくそこに到るプロセスを非常に大切にしている。

首位打者を獲ったとか獲らないかということじゃなくてね、2割5分の選手であっても、自分のできることを、まあ、完璧には無理でも意識の中でできた人間があれば、それは適当にやった3割5分の選手よりもプライドを持って相手に立ち向かえると思うんですね。どっちが人間として優秀かといわれると、決して適当にやって3割5分を残した方じゃない、と。(「イチロー、聖地へ」石田 雄太(著)より)

「野球選手と科学者」一見とても距離がありそうな両者であるが、イチローの価値観、「日々の努力の積み重ね、後悔しないための自己への厳しさ」これこそが普遍的な命題に対する答え！？

(ながさき たけし: nagasaki@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp)



## 遺伝子はどこまで創れるか？

(財) 癌研究会癌研究所 蛋白創製研究部

芝 清隆

(kshiba@jfc.or.jp)



### 1. はじめに

私が現在進めている研究は「試験管内進化実験」と呼ばれる分野に属する。遺伝子やタンパク質の誕生原理・構築原理を探り、さらには天然にはないような新しい活性をもったタンパク質・遺伝子を創製しようとする研究分野である。本解説は、このような試験管内進化実験が歴史的にどのように発展してきたのか、また今後どのように発展していきそうか、に焦点をあてた。

### 2. 進化をめぐる実験（分子生物学誕生以前）



図1  
ファン・ヘルモント  
(1580-1644)

これを実験と呼ぶべきかどうかかわからないが、生命の誕生について最初の科学的アプローチは17世紀初頭のファン・ヘルモント(図1)の次のような実験である。彼は「小麦の粒と汗で汚れたシャツに油と牛乳をたらし、それを壺に入れ倉庫に放置することによってハツカネズミが自然発生した」ことを観察し、生命は自然発生すると結論した。17世紀初頭といえば、まだ錬金術と科学が分離されていない時代であったし、顕微鏡が普及したのが17世紀の終わりであることを考えると、この粗雑な実験をあまり責めるわけにもいかない。ちなみに、ファン・ヘルモントの名誉のために書き添えると、「ガス」という言葉は、彼が木炭を燃やした時に出る気体の研究から作り出した概念とされており、化学や医学分野で影響力の強い仕事を残している。



図2 レディ  
(1626-1697)

顕微鏡の普及とともに、肉眼では見えない卵や微生物の存在が明らかとなる。イタリアの生物学者レディ(図2)は、「全ての生命は卵から生じる」として動物の自然発生を否定した。目に見えない卵から発生してくるので、あたかも自然発生したように見えるだけ、というわけだ。動物は自然発生しないが、顕微鏡でようやく見える微生物に関しては、はたして自然発生するものなのか、あるいは動物と同じように親から子が生まれるのかが次の議論となる。18世紀中頃には、有名なニーダム vs スパランツァーニの対決があった。イギリスの司祭であるニーダム(図3)は軽く煮沸した肉汁をフラスコに入れてコルク栓をした条件でも微生物が増殖することから、生命の自然発生説を主張した。司祭が生命の自然発生説を説くのも興味深い。ニーダムは機械論者であり、反教会派の司祭であった。ニーダムの擁護者には徹底的な機械論者であるビュフォン



図3 ニーダム  
(1713-1781)



図4 ビュホン  
(1749-1804)



図5 スパランツァーニ  
(1729-1799)

(図4) や無神論的なデイドロがついていたのもなるほど頷ける。彼らにとって、生物(人間を含まなかったかもしれないが)は何ら不思議な存在ではなく、いくらでも機械論的に生まれるべきものであった。これに対して、イタリアの僧侶で生物学者であるスパランツァーニ(図5)は肉汁を1時間煮沸し、念入りにフラスコを閉じることによって微生物の発生が起らないことを確認した。この実験からスパランツァーニは自然発生説を否定した。「あんな、それ、そんなにきっちりと封をしてしまうと、空気に含まれる『生命を生み出す力』が入ってこなくなるから、生命が発生しないのは、あたりまえやないか」とニーダムが突っ込み返したそうた。結局、この問題は100年近くも未解決の問題となり、この対決に決着をつけるため、1860年にパリ・アカデミーは懸賞問題として解決を求めた。懸賞金を勝ち取ったのが、パスツールで、かの有名な「白鳥の首フラスコ」を用いた実験がこれである。S字型に細く首を曲げたフラスコには外部からの空気の進入は許すが、小さな物体(微生物)は中まで進入することはできない。このような条件では、フラスコ内の煮沸した肉汁は決して

腐敗することはなかった。したがって、生命は自然発生しないというスパランツァーニの説に軍配が上げられた。

パスツールの白鳥の首の実験は1861年におこなわれた。ダーウィンの『種の起源』の発行が1859年である。生物がやたらと自然発生しないのは結構なことだが、進化という時間軸に沿って考えるなら、やはり最初は原始生命体は何らかの方法で自然発生するかどうかしないと困るわけである。進化論についてはダーウィン以降も盛んな議論が続いたが、もっぱら既に誕生した生命がどのように進化していくのかについての議論が中心であった。20世紀に入り遺伝学が確立するが、ここでもやはり、進化の機構を遺伝子と変異から説明することに焦点があてられ、最初の生命体の誕生については歴史に残るような仕事は見当たらない。

しかしながら、化学の分野からは、1922年にロシアのオパーリンのコアセルベート説が発表されている。ここでは、最初の生命体はメタンとアンモニアが反応して窒素誘導体が生成することから始まるとされており、生命が機械論的に無機物から誕生することが提唱されている。オパーリンの仮説は、さらに有名な1953年のミラーの実験<sup>1)</sup>へとつながる。同じ年に、ワトソン・クリックのDNA二重らせん構造の論文が発表され、分子生物学の全盛期へと突入する。

### 3. 進化をめぐる実験(分子生物学以降)



図6 ウイルヒョー  
(1821-1902)

パスツールの生命の自然発生説否定で確認されたのが、1858年にドイツの病理学者ウイルヒョー(図6)が結論した、「Omnis cellula e cellula(全ての細胞はその親細胞から生ずる)」に表わされる生命の連続性であった。分子遺伝学的に言い換えるなら、「全ての遺伝情報はその親遺伝子のコピーから生まれる」とでもなるのであろう。遺伝子のコピー時に起こるいろいろな受動的で無方向な情報変化が子孫遺伝子の多様性を生み出し、この多様性集団になんらかの選択圧がかけられた場合、より効率良く複製する遺伝情報が広まる、というのが分子生物学的にダーウィンの進化説を翻訳したものである。ここでのキーワードは「無方向性」

腐敗することはなかった。したがって、生命は自然発生しないというスパランツァーニの説に軍配が上げられた。



図7  
シュピーゲルマン  
(1914-1983)

と「選択」である。遺伝情報は「無方向」に変化していくが、そこに「選択」が働くと方向性 (= 進化) が生じる、というわけである。

ダーウインの進化説は「仮説」である。分子生物学的に翻訳された分子ダーウイン進化が実際に起こりうるものかどうなのかが分子生物学者の好奇心をくすぐるのは当然であった。1960年代に入り、米国のシュピーゲルマン (図7) 達が一連の「試験管内ダーウイン実験」を繰り返した<sup>2)</sup>。ここでは Q $\beta$  フェージゲノムから由来した RNA 分子の試験管内複製システムに、人為的に選択圧をかけることにより、RNA 分子が高い頻度でダーウイン進化していくことが示された。確かに「選択」により特定の分子種が広まったのである。先駆的なシュピーゲルマン実験は、しかしながらそれを支える基盤技術が未成熟であったために、本格的な試験管内進化実験が始まるまで 20 年を待つ必要があった。

1990年代に入り、試験管内 RNA 進化実験、ペプチドフェージ提示実験、抗体フェージ実験、コンビナトリアルケミストリーなどのいくつかの形式の試験管内進化実験がほぼ同時に確立した (総説<sup>3,4)</sup> 参照)。基本的にはそれぞれ似たような実験戦略を採っているが、試験管内 RNA 進化実験を例にとり、どのような手順で RNA 分子が人工進化していくかについて簡単に紹介すると : (1) ランダムな配列をもつ DNA 集団を合成、(2) このランダム配列 DNA 集団を RNA 集団へと転写、(3) RNA 集団に何らかの選択圧をかけて特定のサブ集団を選択、(4) このサブ集団を逆転写酵素で DNA サブ集団に変換、(5) PCR で増幅、(6) 必要ならば変異導入により多様性を増加、そして再度、(2) 転写・(3) 選択をおこなう、といった「進化サイクル」を繰り返すことになる。この手順を踏むことにより、これまでに、ランダム配列 RNA 集団の中からリガーゼ活性をもったりボザイム、tRNA をアミノアシル化する活性をもつリボザイム、RNA ポリメラーゼ活性をもつリボザイム、といったように、複雑な活性をもった人工遺伝子が次々と創製されている。ここで、「ランダム配列 = 無方向に変化した多様性集団」と置き換えることができるわけだから、ここに至って仮説であったダーウイン進化が、試験管内の分子実験で起こり得ることが証明されたわけである。

#### 4. 翼を得たのは偶然か？



図8 モノー  
(1910-1976)

ダーウインの進化説は、今のところ進化を機械論的に力強く説明できる唯一の仮説である。分子生物学的に考えると、DNA 複製時の無方向な変異が表現型の多様性を生み出し、その中から結果的により効率良く子孫を増やせたものが進化した生物として登場することになる。進化の原動力は無方向な遺伝変異であり、これが偶然に新しい生物構造や機能を進化させるということになる。「進化とは、翼を得た偶然」とは分子生物学者モノー (図8) の謂であり、分子生物学者の考える進化の機構をうまく言い表しているのかもしれない。

しかしながら、「ほんまに無方向な変異の蓄積で翼のような複雑精緻な構造が進化したんかいな？」と感ずる人は少ないであろう。そもそもダーウインの機械論的な進化説への違和感の表明は『種の起源』発表後、現在まで後を絶たない。わが国では今西錦司 (図9) がその一人である。今西の進化の捉え方は次の言葉に要約される - 「1つのシステムとして最適化された形態に『自ずから』成っていくのが生物である」。ここではある方向に向かって「能動的 (自ずから)」に進化してい



図9  
今西錦司  
(1902-1992)

く生物の姿が表わされている。ダーウインの進化説が「受動的」であるのと対照をなす。

進化説はダーウインが最初に唱えたと誤解している方も多いかと思うが、生物が進化するという考え方自体は19世紀前半には既に識者の間に定着していた。一般的に進化学を確立したと言われているのがダーウインの祖父にあたるエラズマス・ダーウイン(図10)と18世から19世紀にわたって活躍したラマルク(図11)とされている。前述したデュフォンなども生命が宇宙で有機分子から生まれたといった類いのことまで述べている明白な進化論者であった。これらの初期の進化論者の多くは、生物は「能動的」に進化するものだと考えていた。ゲーテ(図12)が考えた、生物がもつ「変わろうとする力(メタモルフォーゼ)」もそのような能動的な進化を意味するものと捉えることができる。複雑精緻な生物の姿を見ていると、生物が「単純なものから複雑なものへと変わる過程にある(ラマルク)」と考えたくなるのも無理はない。「能動的」な進化とは、ある方向をもって変化することを意味している。ダーウイン的な考え方では、変化そのものは「無方向」で、そこに「選択」圧がかかることによって、初めて結果的に方向が生まれると言っている点との相違に注目して欲しい。エラズマス・ダーウインやラマルクの名前がダーウインの影に隠れている所以は、ダーウインの仮説が進化を機械論的に力強く説明した最初の仮説であり、一方で「能動的」進化をうまく説明する切れ味鋭い仮説が存在しないからである。



図10 エラズマス・  
ダーウイン  
(1731-1802)

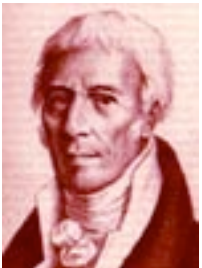


図11 ラマルク  
(1744-1829)

試験管内進化実験は、ダーウイン的な分子進化が確かに起こりうることを示した。ただし、起こりうることを示しはしたが、ダーウインの進化仮説を証明したわけではない(進化は一回限りなので実験的に証明できない)。もっとも、分子進化学的な解析やなんやらで、ダーウイン的な進化が実際に起こっていることはおそらく間違いないであろう。当面の興味は、ダーウイン的進化だけで事が全て進んでいるのか、あるいはダーウイン的進化とは別の進化の機構が存在するのかだ。ただ、繰り返して述べるが、現在のところ進化を機械論的に力強く説明できる唯一の機構はダーウイン説のみである。



図12 ゲーテ  
(1749-1832)

## 5. 90年代の試験管内進化実験を振り返ってみる

ここで、90年代に確立された試験管内進化実験の問題点を整理してみよう。問題点といっても、これら試験管内進化実験からは次々と複雑な活性をもつリボザイムが創製されているし、あるいは無機物までも含めたいろいろな標的に特異的に結合する人工分子も日常的に創られている。問題提起したいのは、これら試験管内進化と実際の進化との大きな違いである。

### (1) 1分子だけでは生物はスタートしない

試験管内進化実験から、比較的容易に新規のリボザイムや結合分子が創製できることが分かった。これはこれでたいしたことなのだが、分かってみればあたり前のような気がしてくる。ある特定の機能をもった分子が生まれるのは「選択」圧さえ与えれば非常に高頻度に起こりうる。ただ、

触媒分子や結合分子が生まれたからといって、そこから生命が始まるわけではない。生命は複数の分子が有機的に結合したシステムなのである。したがって、分子1つを創製する現行の試験管内進化実験ではなく、複数の分子が相互作用し、何らかの意味をもったシステムを創製するような実験系が次世代進化研究に求められている。ゲノム生物学の分野でも、タンパク質・遺伝子そのものの解析から、それらが織りなすネットワークの構造・性質に興味の対象がシフトしている。これらシステム生物学と進化分子学が融合したような新しい研究分野が誕生するのかもしれない。

## (2) やはり天然モノは人工モノより勝っている

1分子レベルでは結構自由に新しい分子が創製できると述べたが、それでもやはり(特にペプチド・タンパク質では)天然モノを凌駕するような人工分子の創製は難しい。天然の酵素や抗体などのもつ触媒活性、結合活性を凌ぐ人工タンパク質をゼロから創り出すのは至難の業のように見える(既存の天然タンパク質の性質をある方向に進化分子工学的に特化させるのは簡単だが)。ランダム配列からの選択、という現行の方法に無理があるのであろう。実際のタンパク質の進化は、階層的に進んできたと考えるのが一般的であるので、階層的な進化を模した進化実験系が必要である。



図13 大野 乾  
(1928-2000)

## (3) ランダム配列から始まるので OK なの？

現行の進化分子実験では、ランダムな配列手段を出発ライブラリーとして用い、この集団の中から特定の機能をもつクローンを選択している。「ランダム配列 = 無方向な変異集団」と読み変えることによりダーウイン的な遺伝子の誕生とみなしているわけだが、これはこれでいいのであろうか？もちろん、この手法で現行の進化分子実験が動いているからランダム配列からの誕生で悪くはないのであろうが、実際の遺伝子の誕生は、例えば大野乾(図13)が提唱したように、短い配列の繰り返しの中から起こったものかもしれない<sup>5)</sup>。ランダム配列にこだわらない遺伝子創製系からどのような新規遺伝子が生まれるのか興味のあるところだ。



図14  
アイゲン (1927-)

## (4) 進化する進化システム

以上見てきたように、やはり現行の試験管内進化実験系は、生命システムの誕生を考えるにはあまりにも単純すぎる。分子間のネットワークが創発し、それが自発的に複雑化していくような進化系が次の目指すべき進化実験系であろう。進化するシステムと言う意味では、1977年にアイゲン(図14)が提唱したハイパーサイクルモデル<sup>6)</sup>が思い出される。このモデルは遺伝情報系の進化を考察したものだ。遺伝子の誕生は遺伝情報系の誕生と同時に起こったものであろうから、欲を出すならば遺伝情報系の誕生をも試験管内で可能にするような実験系が面白いであろう。すでに、ガディーリ(図15)らがペプチドの試験管内自己複製系を利用した、ハイパーサイクルモデルに近い系(システムは進化しないが)を完成している<sup>7)</sup>。核酸をベースとして、自発的に創発(自己組織化)し複雑化(進化)するような人工ネットワーク進化系の確立が次の試験管内進化実験の目標である<sup>8)</sup>。ある意味、19世紀前半に考えられていたような能動的な進化をおこすような進化



図15  
ガディーリ (1959-)

装置に似ている。問題は、「創発」「自己組織化」や「複雑化」をどのように分子レベルで定義し、どのような分子機構を考えるかである。

## 6. おわりに - 私の研究紹介

試験管内進化実験をめぐる昨今話題を紹介するのに夢中になってしまい、自分の研究の紹介をするスペースがなくなってしまった。簡単に説明すると、ある程度機能や構造を備えたマイクロ遺伝子をブロック単位として、これを「繰り返す」ことから人工タンパク質を創製するシステム、**MolCraft** なるものを確立・展開研究している。研究の興味自体は遺伝子の誕生原理なのだが、同時に、**MolCraft** を用いたナノテクノロジー分野での応用研究も進めている。詳しくは研究室の HP(<http://cell.jfcr.or.jp>) や最近の総説<sup>9,10)</sup> を参照していただきたい。

## 参考文献

- (1) Miller, S. L. A production of amino acids under possible primitive Earth conditions. *Science* **117**, 528-530 (1953).
- (2) Mills, D. R., Peterson, R. L. & Spiegelman, S. An extracellular Darwinian experiment with a self-duplicating nucleic acid molecule. *PNAS* **58**, 217-224 (1967).
- (3) 芝 清隆「遺伝子を創る - 遺伝子誕生の謎に分子進化工学が迫る」*科学* **67**: 938-947 (1997).
- (4) Shiba, K. In vitro constructive approaches to the origin of coding sequences. *J. Biochem. & Mol. Biol.* **31**, 209-220 (1998).
- (5) Ohno, S. & Epplen, J. T. The primitive code and repeats of base oligomers as the primordial protein-encoding sequence. *PNAS* **80**, 3391-3395 (1983).
- (6) Eigen, M. Self-organization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften* **58**, 465-523 (1971).
- (7) Lee, D. H., Severin, K., Yokobayashi, Y. & Ghadiri, M. R. Emergence of symbiosis in peptide self-replication through a hypercyclic network. *Nature* **390**, 591-594 (1997).
- (8) 齊藤 博英、芝 清隆「システムバイオロジーとコンビナトリアル・バイオエンジニアリングの融合 - コンビナトリアル・システムエンジニアリングにむけて -」*コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線* 植田充美 監修 シーエムシー出版: 324-335 (2004).
- (9) 芝 清隆「**MolCraft**: 階層的進化を模した人工蛋白質創出法」*蛋白質核酸酵素* **48**: 1503-1510 (2003).
- (10) 芝 清隆「タンパク質がつなぐバイオロジーと無機マテリアルの世界」*未来材料* **4**: 8-15 (2004).





## 夢のある不思議な小分子化合物

京都大学化学研究所

生体機能化学研究系

上杉志成

(uesugi@scl.kyoto-u.ac.jp)



### はじめに

「面白い化合物を見つけて、生物学研究の起爆剤とする」——これが私たちの研究室の目標です。

「面白い化合物」と一口で言っても、人はそれぞれ面白いと思うものが違うのでありまして、捉えにくい言い方です。私たちの研究室の場合、「面白い化合物」というのは「夢のある不思議な化合物」と言い換えています。わかり易い例えを挙げれば、「不思議なメルモ」にでてくるキャンディーでしょうか。この手塚治の傑作アニメは、今でも多くの人たちの心に残っています。

人の心に訴えるものには、必ず理由があります。アニメの中で、メルモはキャンディーを飲むことで、年齢を自由自在に変えました。両親を亡くした10歳のメルモは、この不思議なキャンディーを使って自らの年齢と容姿を操作し、幼い弟の親代わりとなり、困難を乗り越え、人々を助けます。想像力に富む内容であり、当時の少年少女らはメルモのキャンディーを夢見ました。

メルモのキャンディーは経口投与できます。つまり、活性成分は小分子有機化合物でしょう（もしくはペプチドや核酸を経口投与できる夢の薬剤か）。劇的なフェノタイプを生む小分子有機化合物——このような化合物が「夢のある不思議な化合物」の代表ではないかと、私たちの研究室では考えています。生物に劇的なフェノタイプを生む生体内調節として、遺伝子の転写と細胞の分化が挙げられます。転写と分化の調節では遺伝子そのものの発現が関与するため、大きなフェノタイプが生まれるのです。このような理由から、私たちの研究室は転写と分化の研究を小分子有機化合物を支点として行っています。世の中の人々の「夢」と研究者の「思い」を大切に、考え、学び、楽しむ研究室でありたいと願っています。

### 面白い化合物3級

これまでの人間の歴史の中で、生理活性のある「面白い化合物」のほとんどは天然物化合物でした。祖先の長年にわたる経験、人間の好奇心、地道な作業と幸運、研究者の思い、多くの人々の犠牲の積み重ねによって、生理活性天然物は発見され、生命の理解と疾病の治療に利用されてきました。私たちの研究室では、合成化合物からもこのような面白い化合物を積極的に発見したいと考え、実践してきました。しかし、私たちはまだまだ思いだけで、真に「面白い」または



度の選択性をもって遺伝子の転写・発現を抑制する。これまでの常識では非常に難しいことです。試行錯誤の結果、化合物ライブラリーからそのような化合物を見出すことに成功し、アダマノロールと名付けました(図2)<sup>6</sup>。この有機化合物は ESX と Sur-2 の相互作用を阻害することで Her2 遺伝子の発現を抑え、Her2 を過剰発現する乳癌の細胞を殺します。

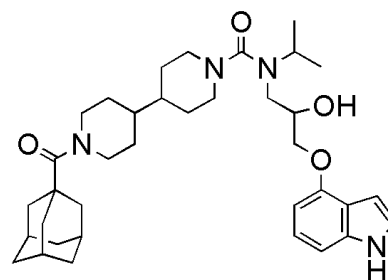


図2 アダマノロールの化学構造。

アダマノロールを NMR で解析し、有機合成展開することより、アダマノロールが如何にして ESX の $\alpha$ ヘリックスモチーフを模倣し Sur-2 に結合するのかを調べ上げ、レンチ型をした第二世代化合物——レンチノロールを設計、合成しました(図3)<sup>7</sup>。このレンチ型の化合物は水溶性や安定性が高く、物性と活性の両方でアダマノロールに勝ります。アダマノロールとレンチノロールはタンパク質・タンパク質相互作用を阻害して遺伝子の発現を核内で直接変調する初めての有機化合物となりました。

### 小分子転写因子

レンチノロールは転写活性化ドメインの小分子版ともいえます。ESX の転写活性化ドメインを模倣し、Sur-2 という強力に転写を活性化するタンパク質に結合します。この化合物に DNA に結合する小分子化合物を共有結合させれば、転写活性化ドメインと DNA 結合ドメインを併せ持った「小分子転写因子」ができあがるでしょう(図4)。私たちの研究室では、DNA 結合ドメインとして、Dervan らによって開発されたヘアピンポリアミド

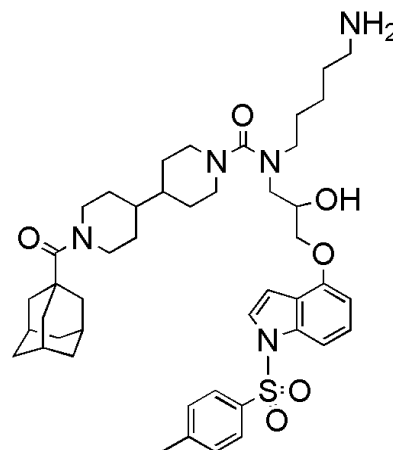
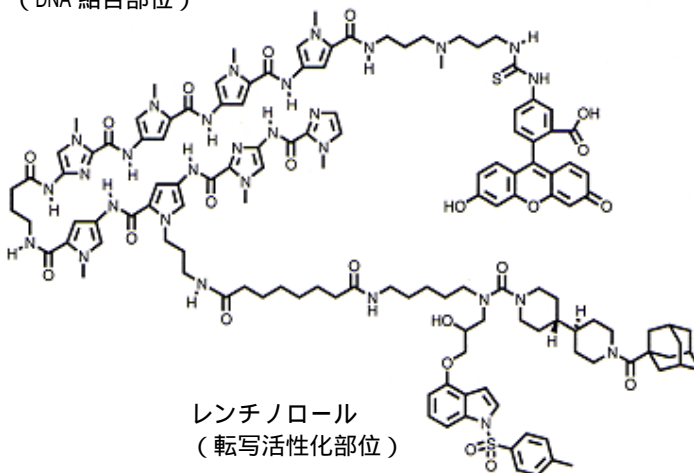


図3 レンチノロールの化学構造。

化合物の一つを利用しました。この化合物は 5'-TGACCAT 配列に特異的に nM オーダーの解離定数で結合します。この DNA 結合分子とレンチノロールを融合させた化合物は、5'-TGACCAT 配列をエンハンサーとしたレポーター遺伝子の転写を活性化しますが、エンハンサー配列を変えると転写活性化せず、配列特異的に転写を活性化します<sup>8</sup>。さらに、生化学的な実験から、Sur-2 と RNA ポリメラーゼ II をプロモーターに誘導す

ヘアピンポリアミド分子  
(DNA 結合部位)



レンチノロール  
(転写活性化部位)

図4 小分子転写因子の化学構造。

ることで転写が活性化されていることも分かりました。つまり、この融合化合物はまるで転写因子のように振舞うのです。有機化合物で転写因子ができるということが直接証明されました。

今後は改良と工夫を重ね、さまざまな小分子転写因子を作り出し、生物学研究の道具を提供することを目指します。遺伝子の発現そのものを自由自在に操り、大きな表現型を生み出す小分子有機化合物——そのような化合物を追究していく中で、転写制御がより簡潔に理解され、世間の人にとってより身近なものになればと願うのです。

## クロメセプチン

私たちの研究室では、特定の肝臓癌細胞の増殖を抑える有機合成化合物を化合物ライブラリーから見つけ、クロメセプチンと名づけました。このクロメン化合物は細胞ベースのスクリーニングで見つけたのですが、そのスクリーニングの考え方は、千年前の戦術の達人である源義家がとった方法に似ています。

義家は、V字飛行する雁の列が乱れるのを見て、その下に敵の伏兵を見つけました。つまり、手軽で見分け易い現象を見て、それとは「一見関係の無い」目的物を見つけるという孫子の兵法の応用です。遺伝学ではこのような方法はしばしば用いられます。例えば、ショウジョウバエの眼の形態を見て、眼の発生とは一見関係の無い癌関連遺伝子を次々と発見したことは広く知られています。

私たちの場合、手軽で見分けやすい現象として、3T3-L1 というマウス繊維芽細胞の分化をとりあげました<sup>9</sup>。この細胞はインスリンの刺激によって脂肪細胞へと分化しますが、脂肪細胞へと分化すると細胞質内に油滴が蓄積するので、顕微鏡下で容易に評価できます。一万個の多様な合成化合物を脂肪分化に対する効果でプロファイリングしたところ、分化を促進させる化合物 81 個、及び分化を完全に阻害する化合物 87 個を得ました。大切なのは、これらの化合物は細胞を殺さずに分化を促進したり阻害したりすることです。言い換えれば、これら 168 個の合成化合物は全て細胞に何らかの影響を及ぼす生理活性物質であり、細胞毒性の低い化合物なのです。この中には「面白い化合物」が含まれているはずで

す。168 個の化合物であれば、様々なスクリーニングを試してみることができます。実際、筆者らは細胞をベースにしたスクリーニングをいくつか行い、糖取り込み促進、骨細胞の分化促進、抗炎症、抗癌といった多岐にわたる生理活性を持つ化合物をこの 168 個の中から効率良く見いだすことができました<sup>9,10</sup>。その中で私たちが「面白い」と思った化合物の一つがクロメセプチンです。

肝臓癌などの癌細胞は IGF (インスリン様成長因子) を過剰に発現して増殖することが多くあります。クロメセプチンは、通常の肝臓癌の細胞にはほとんど作用せず、IGF を発現している肝臓癌細胞の成長を選択的に抑えます。クロメセプチンの作用機作を解析することで、IGF のシグナルや癌増殖に関係する新しい細胞伝達経路を見つけれられるかもしれません。有機化学的な化合物展

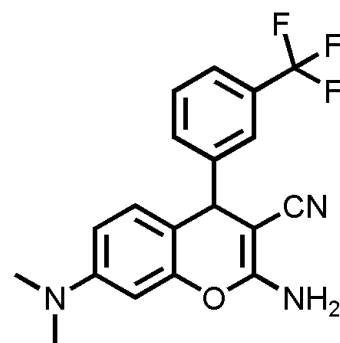


図5 クロメセプチンの化学構造。

開、DNA マイクロアレー解析、標的蛋白質の生化学的単離などを行い、IGF シグナルやインスリンシグナルを調節するクロメセプチン経路を見出しました。その詳細については、間もなく掲載される論文をご覧ください。幸いです。

\*

Chemical Biology には様々な定義があり語弊を生みやすいのですが、私たちの研究は Chemical Biology の一環ではないかと考えています。私たちの研究は基礎研究ですが、その失敗と成功の中から理論を導き、将来の創薬に少しでも貢献できればと願っています。私たちの描く夢に賛同し、大学での基礎研究を理解していただいた内外の諸先生方、製薬業界の皆様のご協力とご支援により、私共の研究は可能となりました。この場をおかりして深謝いたします。

### 参考論文

- (1) Uesugi, M.; Nyanguile, O.; Lu, H.; Levine, A. J.; Verdine, G. L. *Science* **1997**, 277, 1310-1313.
- (2) Uesugi, M.; Verdine, G. L. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1999**, 96, 14801-14806.
- (3) Choi, Y.; Asada, S.; Uesugi, M. *J Biol Chem* **2000**, 275, 15912-15916.
- (4) Nyanguile, O.; Uesugi, M.; Austin, D. J.; Verdine, G. L. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1997**, 94, 13402-13406.
- (5) Asada, S.; Choi, Y.; Yamada, M.; Wang, S. C.; Hung, M. C.; Qin, J.; Uesugi, M. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**, 99, 12747-12752.
- (6) Asada, S.; Choi, Y.; Uesugi, M. *J Am Chem Soc* **2003**, 125, 4992-4993.
- (7) Shimogawa, H.; Kwon, Y.; Mao, Q.; Kawazoe, Y.; Choi, Y.; Asada, S.; Kigoshi, H.; Uesugi, M. *J Am Chem Soc* **2004**, 126, 3461-3471.
- (8) Kwon, Y.; Arndt, H. D.; Mao, Q.; Choi, Y.; Kawazoe, Y.; Dervan, P. B.; Uesugi, M. *J Am Chem Soc* **2004**, 126, 15940-15941.
- (9) Choi, Y.; Kawazoe, Y.; Murakami, K.; Misawa, H.; Uesugi, M. *J Biol Chem* **2003**, 278, 7320-7324.
- (10) Kawazoe, Y.; Tanaka, S.; Uesugi, M. *Chem Biol* **2004**, 11, 907-913.

## 気になった論文



富崎 欣也 (とみざき きんや) 東京工業大学大学院生命理工学研究科 助手(COE21)

kytomiza@bio.titech.ac.jp

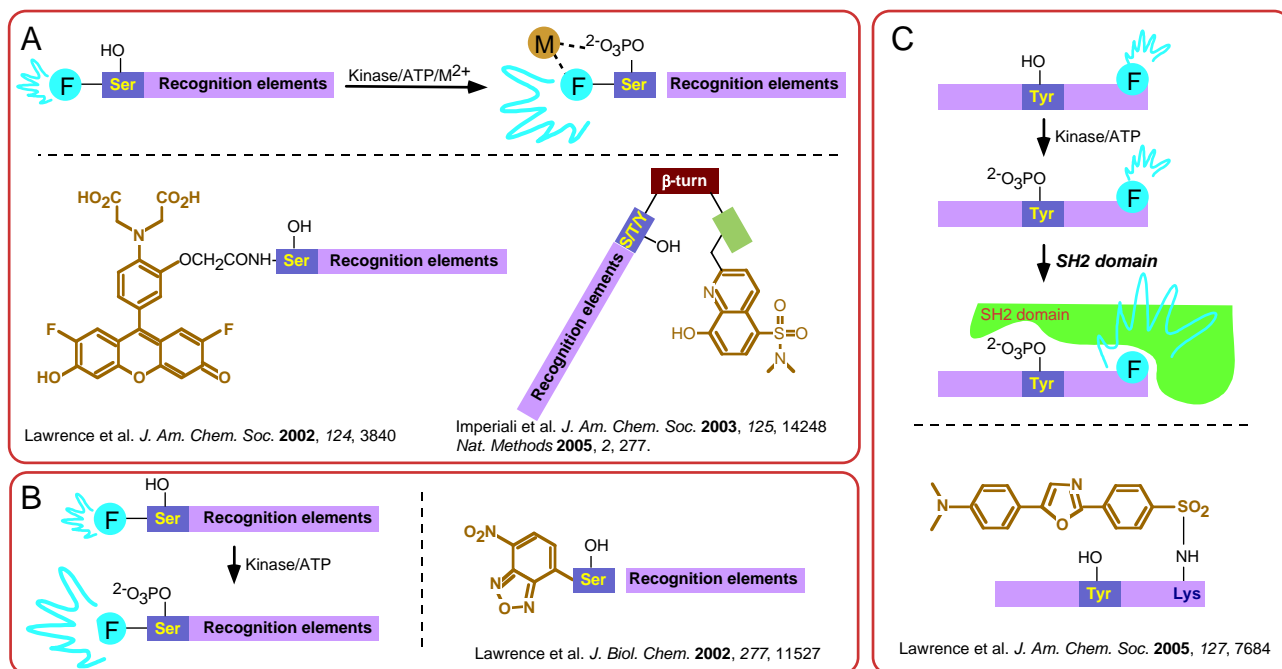
この度は、研究会ニュースレターの「論文紹介」への投稿機会を頂きまして編集委員の皆様へ感謝申し上げます。博士課程までは九州工業大学の西野憲和先生のもとでポリペプチドの機能化(触媒機能付加)研究に携わっておりました。その後約3年間、米国ノースカロライナ州立大学のJonathan S. Lindsey先生のもとで博士研究員としてポルフィリン化学に関する研究を行ってきました(生命化学研究会ニュースレターNo. 14、留学体験記参照)。2003年5月より、東京工業大学大学院生命理工学研究科三原久和研究室にて、ペプチドを用いるタンパク質検出・機能解析法開発に関する研究、特にキナーゼが触媒するリン酸化反応検出法の開発を手がけています。

近年、細胞内シグナル伝達機構解明に重要なキナーゼ活性のハイスループット測定法の開発が盛んに行われており、それらの技術は2つに大別できます。1つはon-chip assayで、キナーゼ基質を基板に固定化し同位体標識化 $^{32}\text{P}$ -ATPを用いて放射活性で評価する方法(Schutzkowski et al. *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2725)、あるいは抗リン酸化アミノ酸抗体を用いる表面プラズモン共鳴(SPR)シグナル検出(Inamori et al. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 3979)や蛍光検出(Houseman et al. *Nat. Biotechnol.* **2002**, *20*, 270)が挙げられます。2つ目はhomogenous assayで、キナーゼ基質に蛍光色素を共有結合させることでリン酸化付加に伴う蛍光偏光度変化(Coffin et al. *Anal. Biochem.* **2000**, *278*, 206)あるいは蛍光強度変化を検出する方法です。今回は、homogenous assayにて蛍光強度変化を指標に用いるキナーゼリン酸化反応検出法について紹介します。

### Design and Synthesis of a Fluorescent Reporter of Protein Kinase Activity

C.-A. Chen, R.-H. Yeh, D. S. Lawrence *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3840–3841.

Lawrenceらはdifluorofluorescein誘導体にイミノ二酢酸を結合した色素を合成し、リンカーを介してPKC基質配列のN末端に連結しました(Fig. 1A)。リンカーを様々置換した結果、N-メチルグリシンを用いた場合にセリン側鎖のリン酸化反応に伴う264%の蛍光強度の増大が観察されました。これはイミノ二酢酸基とリン酸基が反応液中のカルシウムと錯体を形成した結果、アリルアミン結合に捻れが生じたためと考えられます。本研究は、これまでに研究されてきたセリン、スレオニン、チロシンといったリン酸化されるアミノ酸残基近傍に環境応答性色素をただ単に配置する基質群とは一線を画す合理的な蛍光プローブ設計であると思われます(Fig. 1B)。しかし、リン酸化される



**Figure 1.** これまでに報告された代表的な homogeneous assay システム。(A)金属イオン支援型蛍光センシング。(B)環境応答性蛍光色素をリン酸化されるアミノ酸残基近傍に配置した初期の蛍光性基質。(C)SH2 ドメイン支援型蛍光センシング。

セリン残基近傍に配置した色素によるキナーゼ活性阻害や、色素とリン酸基が二価金属イオンを介して錯体形成する程度の空間的近接が必要であるなど基質配列設計上の制約はまだ解決されていません。

### Versatile Fluorescence Probes of Protein Kinase Activity

M. D. Shults, B. Imperiali *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 14248–14249.

Imperiali らは上述の Lawrence らより若干遅れて quinoline 色素誘導体(Sox)を結合したキナーゼ基質ペプチドを設計合成しました(Fig. 1A)。これらは Lawrence らの基質と比較して、色素のサイズが小さいためにリン酸化反応阻害が低下することや、β-ターンユニットを導入することで基質配列設計条件の緩和が期待されます。本システムにおいては、β-ターンユニットにより Sox 基とリン酸基が近傍に配置され、マグネシウムイオンと錯体を形成することで蛍光強度が増大するシステムとなっています。モデル酵素として PKCα (Ser/Thr kinase)、PKA (Ser kinase)および Abl (Tyr kinase)を用い、homogeneous assay にてセリン、スレオニンおよびチロシン側鎖のリン酸化反応に伴う 280–470% の蛍光強度の増大を達成しました。これらのキナーゼ基質は非常に汎用性が高く、キナーゼが触媒するリン酸化反応のハイスループットアッセイに適用可能であると思われます。

### A Multiplexed Homogeneous Fluorescence-Based Assay for Protein Kinase Activity in Cell Lysates

M. D. Shults, K. A. Janes, D. A. Lauffenburger, B. Imperiali *Nat. Methods* **2005**, 2, 277–284.

Imperiali らは上述(*JACS* **2003**, 125, 14248)の蛍光性キナーゼ基質の適用拡大のため、cell lysate 中に存在するキナーゼ活性の homogeneous assay 法を報告しています(Fig. 1A)。ここでは Akt、MK2、

PKA の各キナーゼを対象とした Sox 含有蛍光性基質ペプチドを合成し、細胞をインスリン、塩化ナトリウム、または Forskolin でそれぞれ処理することで、未処理の lysate と比較し有意なキナーゼ活性の増大が観察されました。また、EGF あるいはインスリンで処理した cell lysate 中の Akt、MK2、PKA 各キナーゼ活性を同時に測定することにも成功し、新規薬剤探索等幅広い応用が期待されます。

### Phosphorylation-Driven Protein-Protein Interactions: A Protein Kinase Sensing System

Q. Wang, D. S. Lawrence *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7684–7685.

一方、Lawrence らは蛍光色素をリン酸化されるアミノ酸残基から離して配置することでこれまで懸念された酵素活性への影響を抑え、さらにキナーゼ基質設計に制約を与えない homogeneous assay システムを考案しました(Fig. 1C)。一般的に、環境応答性蛍光基とリン酸基の距離が大きくなると、リン酸基付加が蛍光強度に及ぼす影響が小さくなり検出が困難になります。そこで、彼らはリン酸化アミノ酸、ここでは特にリン酸化チロシンを認識する Lck SH2 ドメインを反応液中に添加することで、リン酸化ペプチドと複合体を形成し蛍光強度が増大するキナーゼ活性評価法を報告しています。基質ペプチド中の色素結合部位を変化させた結果、最高で約 7 倍という非常に大きな蛍光強度増大が確認されました。本研究におけるキナーゼ基質設計時の柔軟性向上およびリン酸化反応によるシグナル強度の変化率改善には目を見張るものがありますが、今後の展開次第では様々な配列中のリン酸化アミノ酸に特異的なタンパク質の探索がボトルネックとなりそうです。

このように、最近のキナーゼ活性評価システムを眺めてみると、homogeneous assay 法構築のための方法論としては大きく 2 つに分けられることに気がきます。1 つ目は蛍光基とリン酸基を金属イオンでキレートさせる方法で、2 つ目は付加したリン酸基を認識する化合物を外部添加する方法です。いずれにしても感度を低下させる要因として、反応液中に大過剰に存在する ATP の作用を抑制することが重要ですので、今後数年間におけるもうひとつ工夫が優劣を分けることになりそうです。

最後に、私事になりますが、現在フォトクロミック化合物であるスピロピラン誘導体を基質ペプチドへ導入し、フォトクロミズムを利用したキナーゼ活性の homogeneous assay 法を開発しています。この方法は Lawrence らの方法で用いられている SH2 ドメインの代わりにポリカチオンやポリアニオンを添加するものです。基質の総電荷によってポリイオンとペプチドとの複合体形成様式が異なるため、無色無蛍光性スピロピラン型から桃色蛍光性メロシアニン型への異性化過程に違いが見られます。この違いを指標に用いる訳なのですが、まだ迅速性や感度の問題もありまして、少しずつ改良を重ねて立派なシステムへと育てていきたいと思えます。上述の論文と合わせてご一読頂ければ幸いです(Tomizaki et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1731)。





長谷川 哲也 (はせがわ てつや) 京都大学 エネルギー理工学研究所 博士課程三年

t-hase@iae.kyoto-u.ac.jp

現在、京都大学 エネルギー理工学研究所 森井孝教授の指導のもとで研究を行っています。この度、「気になった論文」の寄稿機会を頂いた原田和雄先生には大変感謝しています。現在の研究題材となっている RNA とタンパク質関連の中から論文を紹介させていただきます。

### **An mRNA Is Capped by a 2', 5' Lariat Catalyzed by a Group I-Like Ribozyme**

H. Nielsen, E. Westhof, and S. Johansen (2005) *Science*, **309**, 1584.

RNA 研究の特集号である 9 月 2 日号の *Science* 誌からの論文です。本論文では、RNA スプライシングの機構の一つであるグループ スプライシングに似た機構を有するリボザイムの切断反応により、核酸の糖部 2'位と 5'位が連結し cap 構造を有する mRNA が生成することが確認されています。これまでグループ イントロンの自己切断反応により形成されるラリアート構造が、レトロトランスポゾンと密接に関与すること等から研究対象として注目を集めてきました。しかし、今回発見された circular cap 構造をもつ mRNA はグループ 機構から派生した RNA であり、このことは特筆すべき点であると思われます。また circular cap 構造は、RNA ポリメラーゼ 産物の 5'末端 cap 構造と同様にヌクレアーゼやホスファターゼからの保護という観点から RNA world に結びつくのではないかと推論されています。

実験は、HEG (homing endonuclease gene)がコードされている mRNA を基に、primer 伸長反応により 3'末端由来の転写産物に着目し、酵素反応を利用して核酸の糖部 2'位と 5'位が連結した構造を形成することを実証しています。さらにこの論文に関して、Anna Marie Pyle が以下のコメント:

“ The fresh views posed by the Nielsen findings help us think more carefully about the role of ribozyme reactions in evolution and in modern RNA function. ”

で論評を締め括っていたのが、とても印象的でした。

### **A Telomerase Holoenzyme Protein Enhances Telomerase RNA Assembly with Telomerase Reverse Transcriptase**

R. Prathapam, K. L. Witkin, C. M. O'Connor & K. Collins (2005) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **12**, 252.

テロメラーゼは単細胞真核生物であるテトラヒメナではじめて発見され、活性に必須なタンパク質とテロメア配列の鋳型となる RNA からなる複合体で、活性自体は鋳型 RNA と逆転写酵素の二つの構成因子で十分であることが知られています。しかし、生体内においてテロメラーゼは巨大な複合体 (1 MDa 以上) を形成し、正常な機能には他の構成因子も必要であると考えられています。Collins 等が 2004 年に報告した *Genes Dev.* **18**, 1107 では、テトラヒメナ由来のテロメラーゼには TER (Telomerase RNA)と TERT (Telomerase Reverse Transcriptase)以外に TAP 法で選択してきた p65 がテロメラーゼの構成に関与する Holoenzyme protein であると報告しています。p65 は La タンパク質 (pre-tRNAs と結合し、exonuclease からの保護)と高い相同性があることから、p65 がテロメラーゼの

構成因子ではないかと推察されています。本論文では p65 が TER/TERT と三者間の特異的な複合体を形成することが、ゲルシフトにより実証されています。この三者間の協同性の発揮により、どう生物学的な機能に影響を及ぼすのか、これからのさらなる研究が楽しみです。



河野 喬仁 (かわの たかひと) 九州大学大学院システム生命科学府 システム生命科学専攻 博士課程 1 年

t-kawanotcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

現在、片山佳樹先生、新留琢郎先生のご指導のもと、ナノマテリアルを用いた遺伝子デリバリーシステムに関する研究に携わっています。今回、遺伝子デリバリーにおける遺伝子の細胞内挙動に関する基礎的な論文を 2 報紹介し、3 つ目に新たな戦略としてステントを用いた論文を 1 報紹介したいと思います。

### **Chloride Accumulation and Swelling in Endosomes Enhances DNA Transfer by Polyamine-DNA Polyplexes**

N. D. Sonawane, F. C. Szoka, Jr., and A. S. Verkman, *J. Biol. Chem.*, **278**, 44826-44831 (2003).

この論文では、遺伝子デリバリー技術において提唱されている ‘プロトンスポンジ効果’ を証明しています。プロトンスポンジ効果とは、ポリマーのバッファリング効果により pH 低下を抑制し、エンドソーム内に塩化物イオンを集積させ、エンドソームを膨張、破裂させる効果のことです。カチオン性ポリマーなどの遺伝子キャリアーは遺伝子と複合体を形成し、エンドサイトーシス経路で細胞内に取り込まれます。その後、エンドソームから細胞質へ脱出した遺伝子は核に移行して発現すると考えられています。脱出できなかった複合体はプロトンポンプによって pH が低下したエンドソームからリソソームに移行して分解されます。

著者らは、このプロトンスポンジ効果を証明するため、遺伝子キャリアーに塩化物イオン濃度依存性蛍光基 (BAC) と pH 依存性蛍光基 (FITC)、pH 非依存性蛍光基 (TMR) を結合させ、エンドソーム内の微細な環境変化 (塩化物イオン濃度、pH、エンドソームサイズ) を観察しました。遺伝子キャリアーとして遺伝子発現が認められている PEI とポリアミドアミン dendrimer (PAM)、発現効率が低いポリリジン (POL) を用いた遺伝子複合体をそれぞれ細胞に導入しエンドソーム内の pH 変化をモニターした結果、導入後 30-75 分で、POL は pH が 5.5 以下まで低下するのに対し、PEI や PAM は pH 6 程度までしか低下せず、エンドソームの酸性化が抑制されました。また、塩化物イオン濃度に関しても POL は 80 mM しか上昇しませんでした。PEI や PAM は 120 mM まで上

昇させ、エンドソームを膨潤・破裂させることが明らかにされました。これまでプロトンスポンジ効果を証明するため、プロトンポンプを抑制するバフィロマイシンを用いた阻害剤実験などは報告されてきましたが、この論文は詳細なイオン濃度を測定し、直接的に証明した初めての報告です。

### Actin Cytoskeleton as the Principal Determinant of Size-dependent DNA Mobility in Cytoplasm

E. Dauty and A. S. Verkman, *J. Biol. Chem.*, **280**, 7823-7828 (2005).

遺伝子デリバリー技術にはさまざまな障害が存在しています。この論文では新たに‘アクチンフィラメント’が障害になると報告しています。DNA とキャリアーの複合体は、細胞質内で複合体が解離し、DNA が核内へ移行するといわれています。まず著者らは解離した DNA の細胞内挙動を調べるため、DNA の拡散を蛍光退色後回復 (FRAP) や蛍光相関分光法 (FCS) を用いて測定しています。FRAP は蛍光退色後の蛍光回復を観察することで、また FCS は極限にまで絞った共焦点領域を蛍光分子が通過するときに発する蛍光をピンポイントで観察することで、分子の動きやすさを定量化する方法です。

その結果、細胞質内の DNA の拡散はサイズに大きく依存しており、2 kbp 以上の DNA はほとんど動きませんでした。さらに著者らは細胞質内に存在するさまざまな分子と DNA の拡散との関係を調べると、多糖やたんぱく質存在下では、DNA の拡散は濃度依存的に低下するがサイズ依存的な拡散はみられないのに対し、アクチン存在下においてのみ DNA のサイズ依存的な拡散がみられることが分かりました。細胞内のアクチンフィラメントは網目構造でその隙間が約 100 nm であるため、DNA の拡散にはアクチンフィラメントが障害になりサイズ依存的な拡散がおこったと議論しています。遺伝子デリバリーにおいて手本であるウイルスはアクチンを利用し細胞内を移動するのに対し、非ウイルス性遺伝子デリバリーにとってアクチンは新たな障害になりうることを示されました。この論文では直鎖 DNA 単独の拡散の結果だけを示しているため、キャリアーとの複合体やプラスミド DNA では細胞内でどのような動きをとっているのかを調べることも面白いかもしれません。

### Local Gene Transfer of phVEGF-2 Plasmid by Gene-Eluting Stents

D. H. Walter, M. Cejna, L. Diaz-Sandoval, S. Willis, L. Kirkwood, P. W. Stratford, A. B. Tietz, R. Kirchmair, M. Silver, C. Curry, A. Wecker, Y. S. Yoon, R. Heidenreich, A. Hanley, M. Kearney, F. O. Tio, P. Kuenzler, J. M. Isner, D. W. Losordo, *Circulation*, **110**, 36-45 (2004).

最後に新たな遺伝子デリバリーの応用として‘Gene-Eluting Stent’を紹介します。ステントとは狭くなった血管を拡張し支えるための金属製の網状筒のことです。具体的には、狭くなった血管内にカテーテルを用いてステントを運び、そのステントをバルーンで強制的に血管の内側から広げることで血管を拡張し、血流を回復させます。このステントは拡張した血管の‘支え’としてそのまま血管内に留置します。この方法はバイパス手術よりも低侵襲的ですが、留置したステントの周囲に平滑筋など組織が増殖し、再び血管が狭くなること(再狭窄)が問題になります。Gene-Eluting Stent はこの再狭窄を予防するため、ステント表面に再狭窄を防ぐタンパク質をコードする DNA をコー

ティングし、血管壁へこの DNA を局所的にデリバリーするものです。この論文ではステント表面に VEGF (血管内皮増殖因子) をコードした DNA を採用し、再内皮化を促進させることで、再狭窄を防ぐことに成功しています。Gene-Eluting Stent は最近登場してきたもので、ステントの材質や表面のポリマーコーティング、遺伝子の発現制御など、まだまだ検討課題が山積みです。現在、ステント留置術は冠動脈にのみ行われていますが、冠動脈だけではなくステントを留置できるあらゆる血管に応用できれば、Gene-Eluting Stent は遺伝子デリバリーシステムのニューデバイスとして重要な位置を占めてくると思います。



# 生命化学研究法

## In vitroセレクション

### ～ 標的タンパク質に結合する RNA アプタマーの作成 ～

東京大学先端科学技術研究センター / 理化学研究所ゲノム科学総合研究センター 平尾一郎

1990年初頭に、米国の3つのグループが、特定の物質に結合するRNA(アプタマー)や触媒機能を有するRNA(リボザイム)を人工的に得るための *in vitro* セレクションという手法を報告した<sup>1-3</sup>。以来、今日まで、この手法により数々のアプタマーやリボザイムが得られてきた<sup>4-6</sup>。本稿では、標的タンパク質に特異的に結合するRNAアプタマーの *in vitro* セレクション法を、開発者の一人である Andrew Ellington の研究室で行われている方法に基づいて解説する<sup>7,8</sup>。

RNAアプタマーの *in vitro* セレクション法は、 $10^{13}$ ~ $10^{15}$  種類の配列のRNAライブラリー(プールRNA)から、標的物質にアフィニティーの高いRNA分子をセレクション・増幅する方法である。セレクションの際に本法では、ニトロセルロースフィルターを用いて、標的タンパク質をフィルター上に吸着させることにより、標的タンパク質に結合してフィルター上に留まったRNAを取り出してくる方法を用いている。得られた

RNAは、Reverse Transcription (RT)-PCRにより、再び鋳型DNAとして増幅し、次のラウンドのセレクションに進む。標的タンパク質との複合体形成の条件を徐々に厳しくしてラウンドを重ね、最終ラウンドのプールのクローニングとシーケンシングを行い、RNAアプタマーを得る。その一連の手法を図1に示し、それぞれの操作を以下に解説する。

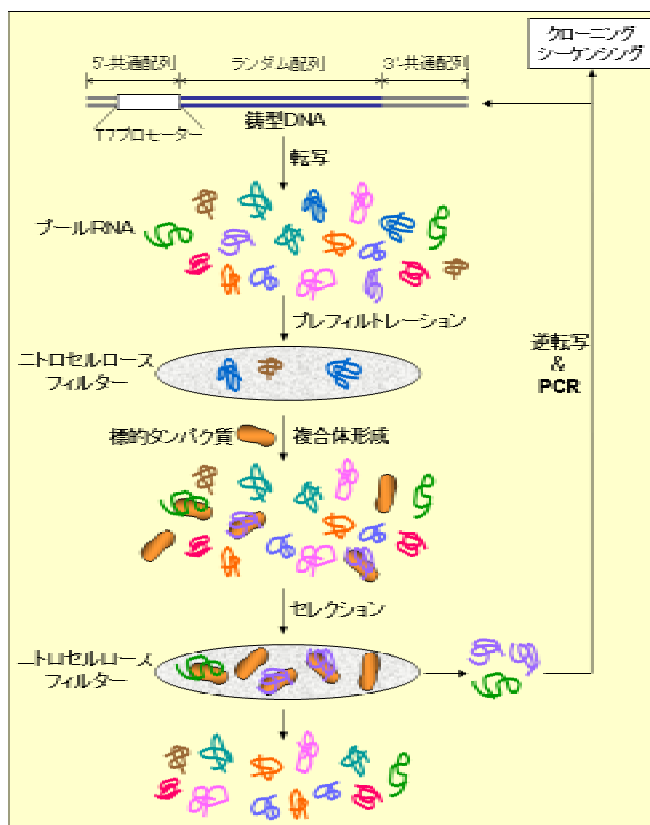


図1：標的タンパク質に結合するRNAアプタマー作成のための *in vitro* セレクション法



1) 準備: *in vitro* セレクションの成功の鍵の1つは、いかに、研究室内の核酸分解酵素を一掃するかである。常に手袋を着用し、研究室内の物品を素手で触るのは厳禁である。フィルターを取り扱うピンセット等は、火であぶった後に使用する。ガラス容器の除タンパクには、Ambion社製のRNaseZapが有効である。

2) 鋳型 DNA の作成: プール RNA の鋳型となる DNA の一方の鎖を DNA 合成機 (ABI 社製) で合成し、共通配列部分のプライマーを用いて、PCR により二本鎖化と増幅を行う。

DNA 合成機用のアミダイト試薬は、塩基ごとに反応性が異なるので、ランダム領域の合成には、それぞれのアミダイトのモル比を、A:G:C:T = 3:2:3:2 にして混ぜて、エクストラボトルとして合成機に取り付ける。



PCR は、6 ~ 10 ml のスケールで行い、写真のように 100  $\mu$ l に小分けして 60 ~ 100 本のチューブを用いて大量増幅する。これによって、およそ  $10^{14}$  種類の配列を含むプールを作成することができる。

我々の研究室では、ランダム配列の長さがそれぞれ 30、45、72 ヌクレオチドのプールを用意しており、標的タンパク質の性質によってそれらを使い分けて用いる。

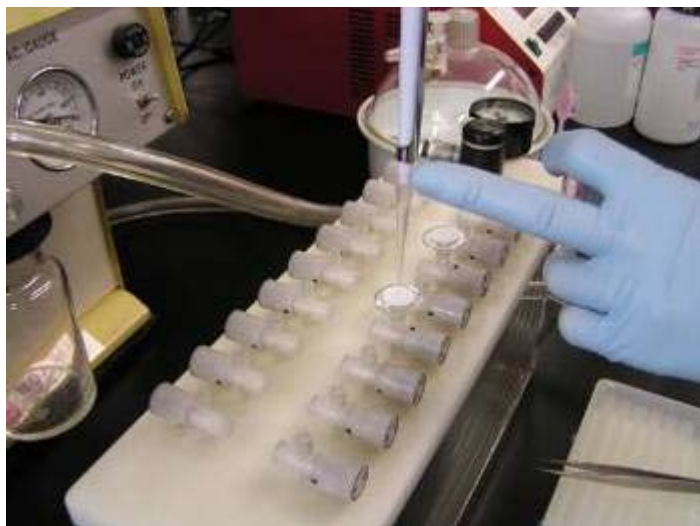


3) 転写: PCR で増幅した鋳型 DNA を用いて、転写によりプール RNA を調製する。市販の転写キットの中では、AmpliScribe T7 Transcription Kit (Epicentre Technologies 社製) が転写効率も高く使いやすい。4 ~ 6 時間の転写後、転写物をポリアクリルアミドゲル電気泳動で精製する。



4) プレフィルトレーション: フィルター結合法による *in vitro* セレクションの難しいところは、ニトロセルロースフィルターに吸着する RNA もセレクションされてしまうことである。これをできるだけ防ぐために、標的タンパク質を加える前に、プール RNA の溶液をニトロセルロースフィルターに通す。この操作を、3 回ほど繰り返す。写真で使用しているホルダーは、Corning 社製の POT TOP HLDR である。これに、Millipore 社製のニトロセルロースフィルター-HPWP (直径 13 mm) を装着している。シリンジにプール RNA 溶液を入れて、ホルダーに差込み、上から押し出してフィルターを通す。

5) 標的タンパク質との複合体の形成: プール RNA の溶液に標的タンパク質を加えてインキュベーションする。プール RNA とタンパク質の濃度は、最初のラウンドでは高くして、ラウンドを進めるごとに徐々に低くする。これにより、標的タンパク質に対してアフィニティーの高いアプタマーを得ることができる(次項表 1 参照)。インキュベーションの温度、時間、セレクション溶液の組成等は、標的タンパク質の性質に合わせて決める。



6) セレクション (フィルトレーション): インキュベーション後の溶液をニトロセルロースフィルターを通して、タンパク質とタンパク質・RNA 複合体をフィルターに吸着させる。Waters 社製のエキストラクションマニホールドにニトロセルロースフィルターを装着し、5 mmHg で吸引しながら、タンパク質・RNA 複合体溶液を通す。その後、数回、緩衝溶液で、フィルターを洗浄し、フリーの RNA を洗い流す。

フィルターをピンセットでつまみ、500  $\mu$ l のチューブにフィルターを入れる。これに溶出溶液 (100 mM クエン酸ナトリウム pH 5.3、3 mM EDTA、7 M 尿素) を加えて、100  $^{\circ}$ C で 5 分間加熱して、フィルター上の RNA とタンパク質を溶出する。この操作を 2 度繰り返す。全溶出溶液をフェノール・クロロホルムで処理して、タンパク質を除き、イソプロピルアルコールで RNA を沈殿させて回収する。



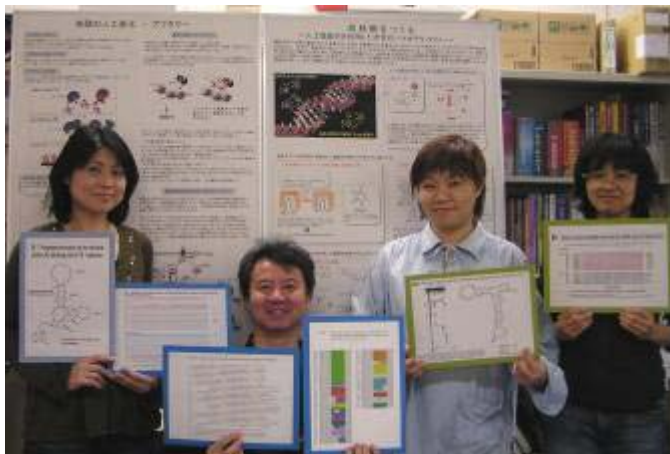
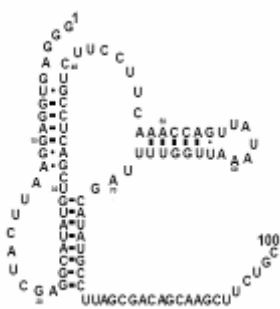
7) RT-PCR: タカラ社製の One Step RNA PCR Kit (AMV) を用いて、得られた RNA の RT-PCR を行う。6~10 サイクルの PCR で増幅された DNA が、アガロースゲル電気泳動で検出されれば、次のラウンドに進む。この時に、タンパク質を加えていないコントロールのセレクションも行い、同様の RT-PCR 後に DNA が増幅されなければ良い。もし、コントロールのセレクションで DNA が増幅されるようであれば、ニトロセルロースフィルターに吸着しやすい RNA がセレクションされてしまった可能性が高い。







配列表の中から幾つかの特徴的な配列を選んで、それぞれのクローンのプラスミドから PCR で鋳型 DNA を調製し、転写により個々の RNA アプタマーを得る。こうして得られた RNA アプタマーは、RNA の構造解析・RNA-タンパク質複合体の解析・タンパク質の検出・タンパク質の活性阻害などの実験に利用することができる。

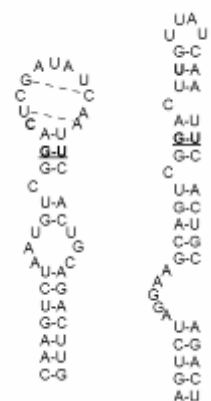


当研究室で得られた数々の RNA アプタマー

- (左上) colicin E3 に結合する RNA アプタマー<sup>9</sup>
- (右上) colicin E5 変異体に結合する RNA アプタマー
- (左下) Raf-1 に結合する RNA アプタマー<sup>10</sup>
- (右下) pepocin に結合する RNA アプタマー<sup>11</sup>



Class 1      Class 2



## 参考文献

- 1) Ellington, A.D., Szostak, J.W., *Nature* **346**, 818-822 (1990).
- 2) Tuerk, C., Gold, L., *Science* **249**, 505-510 (1990).
- 3) Robertson, D.L., Joyce, G.F., *Nature* **344**, 467-468 (1990).
- 4) Gold, L., Polisky, B., Uhlenbeck, O., Yarus, M., *Annu. Rev. Biochem.* **64**, 763-797 (1995).
- 5) Hermann, T., Patel, D.J., *Science* **287**, 820-825 (2000).
- 6) 平尾一郎、菅裕明 RNA 研究の最前線 (志村令郎、渡辺公綱編) シュプリンガー・フェアラク東京 pp. 32-48 (2000).
- 7) Conrad, R.C., Giver, L., Tian, Y., Ellington, A.D., *Methods Enzymol.* **267**, 336-367 (1996).
- 8) Hirao, I., Spingola, M., Peabody, D., Ellington, A.D., *Molecular Diversity* **4**, 75-89 (1999).
- 9) Hirao, I., Harada, Y., Nojima, T., Osawa, Y., Masaki, H., Yokoyama, S., *Biochemistry* **43**, 3214-3221 (2004).
- 10) Kimoto, M., Shirouzu, M., Mizutani, S., Koide, H., Kaziro, Y., Hirao, I., Yokoyama, S., *Eur. J. Biochem.* **269**, 697-704 (2002).
- 11) Hirao, I., Madin, K., Endo, Y., Yokoyama, S., Ellington, A.D., *J. Biol. Chem.* **275**, 4943-4948 (2000).



## 米国 University of California, San Francisco 校 留学体験記

東京医科歯科大学大学院 疾患生命科学研究部

平野智也

私は現在、東京医科歯科大学・疾患生命科学研究部の影近弘之教授の研究室で、助手として勤務しています、平野智也と申します。東京大学大学院薬学系研究科の長野哲雄教授のもとで博士の学位を取得後、2003年7月から、2004年8月までの、1年2ヶ月間、米国の University of California, San Francisco 校の、Kevan M. Shokat 教授の下で、Visiting Postdoctoral Scholar として研究に従事してきました。この度は、海外留学体験記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感謝するとともに、私が研究活動を行ってきた University of California, San Francisco 校の新たなキャンパス、Mission Bay Campus についての紹介も含めて、ご報告させていただきます。

<University of California, San Francisco, Mission Bay Campus>

サンフランシスコ市は、多くの方々をご存知のように、ケーブルカー、アルカトラズ島、フィッシャーマンズワーフ等がある、日本でも有名な観光地です。私が住んでみた印象は、夏に多い「霧」、自転車で走ると実感する「坂」、南を除く三方向が海に囲まれているエリアに家が密集しているため「狭い」こと、一年中寒暖の変化が小さくて「涼しい」こと、といったところです。さて、そのサンフランシスコ市内のある University of California, San Francisco 校は、病院を併設している大学院大学です。特徴としては、他のアメリカの大学でイメージするような、広大なキャンパスを持っているわけではなく、キャンパス(というよりもいくつかのビルの集合体)が、サンフランシスコ市内10カ所以上に点在しています。そのため、もし University of California, San Francisco 校を訪問するときには、事前に「どのキャンパスなのか」ということを知っておかないと、苦労されることと思います。このうち、数年前まで基礎系の学部が集中していたのが、サンフランシスコの観光地の一つであるゴールデンゲートパークの近くにある、Parnassus Campus なのですが、2003年初めに新たなキャンパスが建設されました。それが、サンフランシスコの東の端、ベイブリッジの近くにある、Mission Bay Campus です。ちなみに、徒歩15分の場所には、Major League Baseball の San Francisco Giants のホームグラウンド SBC Park (旧 Pac Bell Park)があります。坂や霧が多い、まさにサンフランシスコという Parnassus Campus と比べて、Mission Bay Campus は、より内陸側にあるキャンパスですので、地形は平坦で、霧もあまり出ません。私が来た当時は、neuroscience 系、biophysics 系、pharmaceutical science 系の学部が主に入っている建物 (Genentech Hall) 一つしか完成していませんでしたが、最終的には、さらに5つの研究棟、宿舎、立体駐車場、ジム、レストラン等の入った community center が完成し、基礎系の学部のほとんどが、ここに移動する予定とのこと(詳

しくは、<http://pub.ucsf.edu/missionbay/>(参照) もともと Mission Bay エリア自体が、サンフランシスコ市としても再開発を進めているエリアですので、あと数年後には、キャンパスの周りを含めて素晴らしい町並みになっている・・・はずです。私がいた頃はまだ、開発が端緒についたばかりでしたので、夜の一人歩きはしたくない雰囲気のエリアでしたが。

さて、私が研究活動に励んだ Genentech Hall は、さすがに新築だけあって、設備等は非常に新しく、デザインも近代的です。どのフロアも、広い実験スペースがあり、それを3・4つのラボがシェアして使っているため、ラボ間の雰囲気が非常にオープンです。私のデスクのあった部屋は、6人分のデスクがあったのですが、3つの異なるラボのメンバーが使用していたため、そういった印象をより強く持ちました。また、毎週金曜日は、“Beer Hour”と銘打って、各研究室が交代でビールとつまみを買ってきて、夕方から酒をのみつつ同じフロアのメンバーと語り合うというイベントがあり、こういったこともラボ間の敷居を低くするために一役買っていたと思います。



筆者が研究活動に励んだ Genentech Hall。



周りを見渡すと、工事中の建物がたくさんある。

<Prof. Kevan M. Shokat>

続いて、私が研究活動を行ってきた、Kevan M. Shokat 教授の研究室について紹介させていただきます。私が在籍している間は、ポスドクが4～5人、大学院生が10人強で、アメリカのラボとしては中程度の規模でした。Shokat 教授の現在の研究は、非常に大まかにいえば、「細胞情報伝達機構の解明に有用な化学的手法の開発」となります。Shokat 研で開発された代表的な実験手法としては、以下に述べる手法があります。リン酸化酵素は ATP に結合し、そのリン酸基を基質に転移させることによってリン酸化反応を行います。そこでまず、リン酸化酵素の ATP 結合部位の嵩高いアミノ酸残基(“Gatekeeper”と呼んでいる)を Alanine や、Glycine 等小さなアミノ酸に変異させて、“hole”を作ります。続いて、ATP の構造に、その“hole”に合うような位置に嵩高い置換基 (“bump”と呼んでいる)を導入させた誘導体を合成します。この ATP 誘導体は、“bump”が邪魔で、他のリン酸化酵素に利用されることはありません。“hole”を持つ変異体のみで利用されることとなります。こうした「酵素の変異体・ATP 誘導体」間の特異的なペアを作成することによって、リン酸化酵素の基質の同定や、選択的な活性化、“hole”に合うようにデザインした高選択的な阻害剤の開発、等を行うことができました<sup>1)</sup>。この実験系を用いて、健常時、疾患時における、個々のリン酸化酵素の生

理作用の解明や、情報伝達機構ネットワークの解析を目指していました。最近よく聞かれるようになり、”Chemical Genetics”と呼ばれる分野における、「化学的に合成した化合物を用いることにより、特定の遺伝子産物(この場合はリン酸化酵素)を活性化もしくは、阻害することによって、その機能を探る」、”Reverse Chemical Genetics”の分野の研究に属すると思います。2003年12月に開催された、本研究会の第1回国際シンポジウムで、Shokat教授が講演されたので、その内容を覚えている方もいらっしゃると思います。この他にも、基本的にはリン酸化酵素ファミリーをターゲットとして、様々な化学的手法の開発が行われていました。ラボ内は、有機化合物の合成をやっている人、ペプチドを作っている人、核酸を作っている人、生化学実験をやっている人、質量分析計等に張り付いている人、蛋白の結晶化をしている人、パソコンに張り付いている人等々と、個々人によって、メインに行っていることが多種多様でした。

さて、これに対して私が携わった研究は、Shokat研としては新たな研究分野である、酸化還元酵素ファミリーに関するプロジェクトでした。私が渡米する少し前に、Shokat研で合成された化合物群を用いて行われた網羅的解析(いわゆる“Forward Chemical Genetics”)から、リン酸化酵素を阻害するために開発された化合物の中の一部が、Short-Chain Dehydrogenase family の、carbonyl reductase 1を阻害し、興味深い表現型を示すことが明らかとなっていました<sup>2)</sup>。私が渡米直後は、ちょうどこうした結果が出た直後の非常にHOTな時期でしたので、あれよあれよという間に、この分野のプロジェクトに携わることになりました。さて、こうして始まった私のShokat研での研究生活ですが、これまでにほとんど行ったことがない生化学実験を習得したり、当時の私にとっては見知らぬ機械達を壊さないように使わなければならなかったため、私のつたない英語力ではどうにもならない場面も多くありました。そんな時には、メモ帳に絵を書いて話し合ったり、筆談したりとしていたため、Shokat研のメンバーにはさぞかし迷惑をかけたと思っています。研究分野自体が、Shokat研としてもスタートしたばかりだったせいも、私が化合物を合成しているさなかに、予想外のX線結晶構造が判明して、研究方針自体を大幅に変更したりと、右往左往した研究活動を行っていました。正直に申し上げますと、私のShokat研での研究成果は、華々しいとは言い難いと思いますが、この1年2ヶ月で私自身が得たものは、何者にも代え難いものだったと考えています。Chemical Biologyの分野の研究の最先端では、どういったことを考えられていて、どういった研究が行われているか、その息吹や、研究の芽を知ることができ、自分の視野が広がったことだけは自信を持って言えます。また、Shokat教授は、知り合いの研究者が来ると、セミナーの開催に加えて、先方の時間が許せば、ラボのメンバー個々人とディスカッションをさせるため、様々な分野の研究者と、直に話し合う機会を持つこともできました。こうした日本では得難い機会を与えてくれた留学生活は、これからの私の研究生活における貴重な財産です。



ラボのメンバーと大学外で昼食中。左端が筆者。  
昼食時にいつもビールを飲んでいただけでは  
ありません・・・



Shokat 教授と筆者 (右)。

<終わりに>

現在私は、「ケミカルバイオロジー」分野の助手として勤務しています。どうもこの分野名には、気後れしてしまうこともありますが、何とか、名前負けしない、面白い研究を行っていこうと、日夜奮闘している日々を送っています。会員の皆様、今後も、御指導、御鞭撻の程をよろしくお願いいたします。

最後になりますが、なかなか結果が出なくても長い目で見てくれた(のですが、たいしたモノを残せなくてすみません・・・) Shokat 教授、内心うざったいと思っていたかもしれないながらも根気良く私に実験を教え、ディスカッションをし、無駄話の相手になってくれた Shokat 研のメンバー、また、生活面、精神面で非常にお世話になった私の下宿先の大家さん一家(+猫2匹)に、深く感謝いたします。

- 1) この分野の研究の、代表的な総説、ペーパーとしては少し古いですが、Bishop, A.C., et al, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **29**, 577-606 (2000); Bishop, A. C., et al. *Nature*, **407**, 395-401 (2000)等。
- 2) Tanaka, M., et al. *PLOS Biology*, **3**, 764-776 (2005).

# シンポジウム等会告



## 第8回 生命化学研究会シンポジウム in 富山 (2006) 「個性ある生命化学の展開」

主催：日本化学会生命化学研究会

会期：2006年1月13日(金)

会場：富山大学 黒田講堂 (富山市五福 3190)

(JR富山駅前から路面電車で15分大学前下車、徒歩3分、正門入りすぐ右手)

富大へのアクセス URL：<http://www.toyama-u.ac.jp/jp/Outline/access/>

### プログラム：

9:20-9:30 開会あいさつ

9:30-10:10 「精密分子認識に基づく電気化学活性 DNA プローブの開発」  
井上将彦 (富山大・薬)

10:10-10:50 「糖質薄膜を用いた機能材料設計」  
三浦佳子 (北陸先端大・材料科学)

10:50-11:00 休憩

11:00-11:40 「ほ乳類細胞の機能を十分に引き出すことをめざした細胞工学的取り組み」  
寺田 聡 (福井大・工)

11:40-12:20 「体内時計ペースメーカーニューロンの細胞内Ca<sup>2+</sup>ダイナミックス」  
池田真行 (富山大・理)

12:20-13:00 昼休み (幹事会)

13:00-13:45 ポスター発表 (奇数番号発表)

13:45-14:30 ポスター発表 (偶数番号発表)

14:30-14:40 休憩

14:40-15:20 「光応答性核酸を用いた新規遺伝子操作法の開発」  
藤本健造 (北陸先端大・材料科学)

15:20-16:00 「高機能性蛋白質の創製」  
小畠英理 (東工大・生命理工)

16:00-16:40 「老化やストレスによって生じるタンパク質中のアミノ酸のラセミ化」  
藤井紀子 (京都大・原子炉実験所)

16:40-16:55 総会

16:55-17:55 ミキサー（生協食堂もしくは交流プラザにて）

## ポスター発表の募集

申込み〆切：2005年12月6日（火）

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 fbc8@jaist.ac.jp 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。

\* 発表者の方も別途以下の事前参加申込をよろしくお願ひします。

参加費（要旨集およびミキサー代込み）

事前振込は、2005年12月6日（火）まで

参加費 生命化学研究会会員 5,000 円（当日 7,000 円） 非会員 6,000 円（当日 8,000 円）

学生 2,000 円（当日 3,000 円）

参加費を 12月6日（火）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 00780-1-93686

口座名：生命化学シンポジウム2006 富山

（お振込みは郵便局備え付けの振込用紙をご使用下さい。手数料は 70 円です。）

シンポジウムポスター発表ならびに参加の問合せ・申込先

〒923-1292 石川県能美市旭台 1-1

北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科 芳坂貴弘

電話：0761-51-1681 FAX：0761-51-1149

電子メール：fbc8@jaist.ac.jp

\*\*\*\*\*

第8回生命化学研究会

日時：2006年 1月14日(土) 9:00~15:00

場所：雨晴温泉 磯はなび(高岡市太田 88-1。富山湾の向こうに立山連峰が一望でき、寒ブリ、カニなどが大変おいしい季節です)(<http://www.isoahanabi.jp/>)

13日のシンポジウム終了後、送迎バスにて会場のホテルへ向かいます。

参加費：18,000円(13日夜の懇親会費、1泊朝食付の宿泊費を含む) 当日徴収。

ご参加と話題提供(8件ほど、1件30分)の募集:(話題提供に関して応募が多数の場合、発表者の選定は世話人にお任せ願います。)

\* 参加希望、発表希望の有無(有の場合は発表タイトルも)をご氏名、ご所属、連絡先とともに下記担当者に電子メールまたはFAXでご連絡下さい。富山湾の寒ブリ、ズワイガニと多くの方々のご参加をお待ちしております。

申込〆切：2005年 12月6日(火)

研究会に関する問合せ・申し込み先

〒930-8555 富山市五福 3190

富山大学工学部物質生命システム工学科 篠原寛明

電話/FAX：076-445-6832、電子メール：[hshinoha@eng.toyama-u.ac.jp](mailto:hshinoha@eng.toyama-u.ac.jp)

第8回生命化学研究会シンポジウム in 富山(2006) 世話人

篠原寛明(富山大工) [hshinoha@eng.toyama-u.ac.jp](mailto:hshinoha@eng.toyama-u.ac.jp)

芳坂貴弘(北陸先端大材料) [hohsaka@jaist.ac.jp](mailto:hohsaka@jaist.ac.jp)

小野 慎(富山大工) [shinono@eng.toyama-u.ac.jp](mailto:shinono@eng.toyama-u.ac.jp)





## SORST ジョイントシンポジウム(4) 「クロスオーバーする生命と化学」

日 時：平成 17 年 11 月 28 日（月）午後 1 時～11 月 29 日（火）午後 6 時

場 所：千里ライフサイエンスセンター（大阪府豊中市新千里東町 1-4-2，地下鉄千里中央駅北出口すぐ）

プログラム：

セッション A 「核酸の生命化学」 長崎 健(阪市大院工) 和田 健彦(阪大院工)  
板東 俊和(京大院理) 岡本 晃充(京大院工) 甲元 一也(甲南大 FIBER) 浅沼 浩  
之(名大院工)

セッション B 「ペプチド・蛋白質の生命化学」 津本 浩平(東大院新領域) 円谷  
健(阪府大院理) 濱地 格(京大院工) 森井 孝(京大エネ研) 二木 史朗(京大化研)  
三原 久和(東工大院生命理工)

セッション C 「生命化学の高次機能と生物学」 福居俊昭(東工大院生命理工) 本  
橋 ほづみ(筑波大院人間総合) 諸橋 憲一郎(自然科学研究機構基礎生物学研) 田口  
精一(北大院工) 中島 敏明(筑波大院生命環境) ゲン 剣萍(北大院理) 黒田 章夫  
(広大院先端物質)

その他ポスター発表・企業展示有り

参加人数：先着 300 名

参加費：無料

研究交流会（懇親会）：あり，事前登録要，研究交流会費 3,000 円当日徴収

申し込み方法：所属・氏名・連絡先と研究交流会出欠明記の上、下記宛 FAX もしくは E-mail  
にて

申込先：〒103-0027 東京都中央区日本橋 3-4-15-6F 科学技術振興機構「発展・継続」第一  
事務所

TEL 03-3548-3210 FAX 03-3548-3231 E-mail:j-sympo4@yaesu-sorst.jst.go.jp

参照ホームページ：<http://www.bfc.bioa.eng.osaka-cu.ac.jp/SORST/j4sympo.html>

（なお、一般ポスター発表を募集します！ 詳細はホームページをご覧ください）

# First International Symposium on the Photofunctional Chemistry of Complex Systems (第1回複合系光機能化学国際会議)

主催 複合系の光機能研究会

後援 日本化学会

会期 12月12日(月)~14日(水)

会場 OUTRIGGER KEAUAHOU BEACH, Kona, Hawaii

<http://outriggerkeauhou.com>

本国際会議は、金属錯体、高分子、超分子、生体系を含めた有機無機複合系の光機能に関して、分子設計、理論、合成、計測、応用など様々な側面から、招待講演をベースに広範に議論することを目的に行われます。

The symposium will highlight many of the recent developments in broad area of photochemistry, photophysics, and photobiology, with a particular emphasis on how the molecules with photochemical/photophysical functions are designed and how the molecules are applied to practical use. The complex systems are beyond simple and small organic or inorganic compounds, and they include metal complexes, supramolecular systems, macromolecules, and biological systems. Model systems for photosynthetic systems are also one of the important topics. Specific topics to be covered include novel molecules with exciting photochemical or photophysical properties like luminescence, photochemical drugs and solar energy conversion, unique synthetic and theoretical strategies for such molecules, innovative molecules and/or complex systems applicable to the practical use.

All speakers are selected and invited by the organizing committee, and no poster presentation is available. The location is wonderful for you to discuss with the participants, but the numbers of participants (except for the accompanying persons) are limited to 100.

We are looking forward to seeing you at Kona, the big island of Hawaii.

Aloha!

Invited Speakers:

Peter C. Ford (Univ. of California, Santa Barbara)

Garry S. Hanan (Univ. of Montreal)

James T. Muckerman (Brookhaven National Laboratory)

Russ Schmehl (Turane Univ.)

Wenfang Sun (North Dakota State Univ.)

Kenji Yasuda (Tokyo Univ.)

Yutaka Shibata (Nagoya Univ.)  
Shiki Yagai (Chiba Univ.)  
Hidetaka Nakai (Kanazawa Univ.)  
Hisanao Usami (Shinshu Univ.)  
Hiromitsu Maeda (Ritsumeikan Univ.)  
Motoko S. Asano (Tokyo Institute of  
Technology)



Li-fen Yang (Chuo Univ.)  
Kenji Matsumoto (Seikei Univ.)  
Yuko Chishina (Hokkaido Univ.)  
Masumi Itabashi (Chuo Univ.)  
Eri Sakuda (Hokkaido Univ.)



The organizing committee:

Hitoshi Ishida (Kitasato Univ., Japan)  
Hitoshi Tamiaki (Ritsumeikan Univ., Japan)  
Osamu Ishitani (Tokyo Institute of Technology, Japan)  
Joseph T. Hupp (Northwestern Univ., USA)  
Peter C. Ford (Univ. of California, Santa Barbara, USA)

参加申込締切 定員(100名)になり次第締切

詳細は Inter-American Photochemical Society (I-APS)

(<http://www.chemistry.mcmaster.ca/~iaps/ispcas-1.htm>)参照または下記宛ご照会下さい。

Contact:

Hitoshi ISHIDA,

Department of Chemistry, School of Science, Kitasato University

1-15-1 Kitasato, Sagamihara, Kanagawa 228-8555, Japan

E-mail: [ishida@sci.kitasato-u.ac.jp](mailto:ishida@sci.kitasato-u.ac.jp)



## お知らせコーナー

### 受賞のお知らせ

杉山 弘 (京大院理)  
日本化学会学術賞  
『DNAの化学反応性に関する生物化学的研究』  
(平成17年3月27日)



### 会員異動

坂本 寛  
九州工業大学情報工学部生命情報工学科 助教授  
〒820-8502 福岡県飯塚市川津 680-4  
Phone: 0948-29-7815 FAX: 0948-29-7801  
E-mail: sakakan@bio.kyutech.ac.jp

清中 茂樹  
京都大学工学研究科合成生物化学専攻(森研究室) 助手  
〒615-8510 京都市西京区京都大学桂  
Phone: 075-383-2764 FAX: 075-383-2765

菊地 和也  
大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 教授  
〒565-0871 吹田市山田丘 2-1  
Phone: 06-6879-7924 FAX: 06-6879-7875  
E-mail: kkikuchi@mls.eng.osaka-u.ac.jp



三原 久和

東京工業大学大学院生命理工学研究科  
生物プロセス専攻 教授

深瀬 浩一

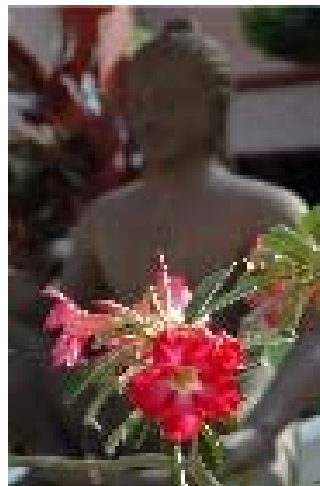
大阪大学大学院理学研究科  
化学専攻 教授

二木 史朗

京都大学化学研究所生体機能化学研究系  
生体機能設計化学研究領域 教授

森井 孝

京都大学エネルギー理工学研究所  
エネルギー利用過程研究分野 教授



## 編集後記

生命化学研究会では、年3回のレターを発行しておりますが、ここに2005年度第2回目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。

来年の1月には、第8回生命化学シンポジウム/生命化学研究会が開催されます(シンポジウム会告コーナーをご参照ください)。また、来年度は国際シンポジウムの開催が予定されております。会員の皆様には奮ってご参加くださいますようお願いいたします。ところで、雪と縁が深い生命化学シンポジウム/研究会ですが、今回は富山大学で篠原氏、小野氏、芳坂氏(北陸先端大)のお世話で行われます。雪による影響を考慮して「電車でお越し下さい」(篠原氏)とのことでした。

さて、私事ですが、今年の始めにカンボジアを訪れる機会がありました。歴史の授業で学んだアンコール遺跡群のスケールの大きさと芸術性の高さに圧倒されました。また、首都のプノンペンでは長い内戦の爪痕をまざまざと見せつけられたものの、人々からは、ようやく平和と安定が訪れた安堵感、そして力強く一步を踏み出そうとするエネルギーを感じ、たくさん元気をもらって来ました。近年、目覚ましい経済成長を遂げているアジア各国ですが、今後、様々な分野で目が離せなくなるでしょう。

今後も、面白い、そして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)までご連絡を頂ければ幸いです。また、「研究紹介」、「論文紹介」の執筆者に関しては、研究会会員による推薦等をもとにお願いしております。自薦他薦、問いませんので、ご連絡をお待ちしております。

次号 (No. 20) は、石田氏の担当により、2006年2月に発行を予定しております。今後も生命化学研究レターを宜しく申し上げます。



原田和雄

東京学芸大学教育学部

(harada@u-gakugei.ac.jp)

編集担当：

石田 斉 (北里大学理学部)

長崎 健 (大阪市立大学大学院)

