



生命化学研究 レター

No. 26 (2008年2月)

1. 巻頭言	2
「襷を繋ぐ」	
井原敏博 (熊本大学大学院自然科学研究科)	
2. 主催シンポジウム報告	4
第10回生命化学研究会シンポジウム・研究会 熊本 (2008)	
「つくる生命化学 - 未来への展望 -」	
3. 研究紹介	10
合理的設計に基づく核酸機能の拡張と生命化学への展開	
山東信介 (京都大学大学院工学研究科)	
核酸分子の生理活性の化学的解剖	
-金属イオンとの相互作用研究から見えてきたもの-	
田中好幸 (東北大学大学院薬学研究科)	
4. 論文紹介「気になった論文」	24
秋山 元英 (奈良先端科学技術大学院大学)	
迎 文都子 (熊本大学大学院自然科学研究科)	
湯澤 賢 (東京大学大学院工学系研究科)	
狩俣 寿枝 (甲南大学大学院自然科学研究科)	
5. 生命化学研究法	35
NMRによるRNAの立体構造解析	
坂本泰一 (千葉工業大学工学部)	
6. マサチューセッツ大学留学体験記	42
河原正浩 (東京大学大学院工学系研究科)	
7. シンポジウム等会告	46
8. お知らせコーナー	58
受賞・会員異動のお知らせ／編集後記	



巻頭言

襷を繋ぐ

熊本大学大学院自然科学研究科
井原敏博

(いはら としひろ : toshi@chem.kumamoto-u.ac.jp)

年明けすぐの1月11日、熊本大学工学部百周年記念館で第10回生命化学研究会シンポジウム・熊本(2008)を開催致しました。午前中からの雨にも関わらず全国から130名を超える多くの参加者を集めたいへん盛況でした。三原会長の話にもあったように、このキャンパスで産声をあげた研究会の(当時は前身のかたちで)12年ぶりのはじめての里帰りでした。参加者の皆さん、そして協力いただいたすべての企業、団体に心から感謝致します。

今回は、『つくる生命化学』をテーマとして設定しました。これまでの10年余の成果を土台にして、そこから化学の醍醐味である分子レベルのモノづくりはどう繋げるか...。そんなお話を伺えそうな7人の先生にご講演をお願いしました。生物、細胞、タンパク、ペプチド、糖、核酸と、お互いに異なる生命単位を対象に非常に活発に研究されている先生方ですので(4~5 ページ参照)、すべての参加者の皆さんに何かを感じていただけたのではないかと思います。どのご講演もたいへん新鮮で示唆に富み、それぞれが今後の生命化学の向かうべき方向の一つを明確に示しているようでした。記念となる第10回シンポジウムにおいて、次の10年にしっかりと襷を繋ぐことができたのではないかと、一緒にお世話をさせて頂いた、中島さん(化血研)、石田さん(北里大)とともに安堵しております。

さて、この拙文を書いている1月末、私の研究室では学生たちが卒業、修了論文をまとめるために昼夜を問わず必死に研究に励んでいます。「そのペースで4月から、いや、それはお前らには無理か...、せめて半年でもいいからやってくれていけば...。」と毎年のように思うのですが。それはさておき、これらの論文には後輩に襷を繋ぐという重要な役割もあります。例えば、実験操作の本質を理解していない学生が意味のないプロトコルを残すと、その後の数年間、呪文のようにそのもつれた襷が引き継がれるというのはよく耳にする話です。そして大抵の場合、呪文のエントロピーは年々増大するので(笑)数年後に破綻して発覚する。そんなとき私が学生に言うのは「自分以外、何も信じるな!」。もちろんこれは非常に極端な言い方で誤解を受けているかもしれませんが(苛ついているのでそんな言い方になるんです...反省。)。要は、先輩のデータはもちろんとっても大切、だけど、あなた自身がその原理にまで、遡って、考えて、腑に落ちるまでは、その内容、特に解釈を鵜呑みにしないでねということ。

何事にも批判的で偏見を持たないこと。妄信することなく、わからないことはわからないこととして認識すること(主観を排除して不確定性を最大にすること)。翻ればこれは科学者の行動原理であり良心でもあります。同じことが統計熱力学の原理、“principle of minimum prejudice (= maximum uncertainty)” (“最小偏見 (= 最大不確定性) の原則”)、に端的に表現されており、科学の美しい

までの普遍性にはもうひれ伏すしかありません。しかしこれは科学者としてのあるべき姿勢を示すだけでなく、それ以前に一人の人間として、リベラルに生きること、寛容であることの大切さを自然が我々に説いているようにも思えます。全ての人々が道徳としてこれを共有できれば、この社会に存在する多くの不快なできごと、対立、摩擦が消え、日々随分気持ちよく暮らすことができるのに... かなり単純で笑われそうですが、私が学生に繋ぎたい樫(科学的宗教?)です。

次の 10 年に向けて生命化学の“フロンティア”に挑む全てのリベラルな会員の皆さんとそのご家族にとって、2008 年が実り多き一年となりますように。



第 10 回生命化学研究会シンポジウム・熊本 (2008)
「つくる生命化学 - 未来への展望 -」
(平成 20 年 1 月 11 日(金)熊本大学工学部百周年記念館)

主催シンポジウム報告

第10回生命化学研究会シンポジウム・熊本(2008) 「つくる生命化学・未来への展望」& 第10回生命化学研究会

平成20年1月11日(金)に熊本大学工学部百周年記念館において第10回生命化学研究会シンポジウム・熊本(2008)「つくる生命化学 - 未来への展望 -」が、翌1月12日(土)に日赤温泉アソシエートにおいて第10回生命化学研究会が、井原敏博氏(熊本大学)、中島敏博氏((財)化学及血清療法研究所)、石田 斉氏(北里大学)のお世話により開催され、活発な討議が行われました。シンポジウムならびに研究会の様子については、井原氏の巻頭言、下記のプログラム・写真などから感じ取って頂ければ幸いです。

第10回生命化学研究会シンポジウム・熊本(2008) 「つくる生命化学 - 未来への展望 -」

主催 日本化学会生命化学研究会
共催 高分子学会、日本薬学会、日本分析化学会
会期 2008年1月11日(金) 9:00~17:00
会場 熊本大学 工学部百周年記念館
(熊本市黒髪2-39-1 熊本大学黒髪南キャンパス)

プログラム:

- 9:00-9:05 あいさつ 三原久和(生命化学研究会会長)
座長 井原敏博(熊本大院工)
- 9:05-9:45 **L1**『遺伝子人工転写調節システムとがん診断・治療への応用』
片山佳樹(九大院工)
座長 神谷典穂(九大院工)
- 9:45-10:25 **L2**『ユビキチン様蛋白質SUMO(スモ)による分子架橋と新規
バイオポリマーのデザインと合成』
斉藤寿仁(熊本大院自)
- 10:25-10:40 休憩
座長 桑原正靖(群馬大工)
- 10:40-11:20 **L3**『架橋型人工核酸BNAの開発とその応用』
小比賀聡(阪大院薬・さきがけ)

座長 中島敏博 (化血研)

11:20-12:00 **L4** 『蛋白質相互作用解析：材料・医療への展開』
津本浩平 (東大新領域)

12:00-13:00 昼食

13:00-14:30 ポスター発表 (**P01 - P55**)

14:30-14:40 休憩

座長 野島高彦 (東大生産研)

14:40-15:20 **L5** 『生命分子の自己集合をデザインしてナノ構造を作る』
松浦和則 (九大院工・さきがけ)

座長 井川善也 (九大院工)

15:20-16:00 **L6** 『細胞内と試験管内の人工遺伝子回路』
木賀大介 (東工大院総理)

座長 大神田淳子 (阪大産研)

16:00-16:40 **L7** 『ペプチド折り紙：金属錯体をコアとする人工蛋白質の構築』
石田 斉 (北里大院理)

16:40-16:55 総会

17:00-18:10 ミキサー

一般講演 (ポスター発表) :

- P01** フロックハウスイルス由来ペプチドの効率的細胞内移行様式
広瀬久昭¹・武内敏秀¹・中瀬生彦¹・〇二木史朗^{1,2} (¹京大化研・²SORST, JST)
- P02** 繰り返し配列を持つ DNA を鋳型とする無細胞蛋白質合成
〇野島高彦・木村啓志・藤井輝夫 (東大生産研)
- P03** 14-3-3 たんぱく質ペプチド結合溝が誘導する Chemical Ligation
〇大神田淳子・牧 俊央・加藤修雄 (阪大産研)
- P04** 抗体 10C9 が示すポリエーテル系海洋毒素シガトキシン認識機構
〇宇井美穂子¹・田中良和¹・円谷 健²・藤井郁雄²・井上将行^{3,4}・平間正博³・津本浩平¹ (¹東大院新領域・²大阪府大院理・³東北大院理・⁴東大院薬)
- P05** IL15 受容体 α 鎖が示す多重特異性に関する速度論解析
〇坂本 壮・田中良和・津本浩平 (東大院新領域)
- P06** 二本鎖 DNA—超好熱菌由来 TBP 蛋白質間の相互作用が示す熱力学的特性
〇長門石曉・田中良和・津本浩平 (東大院新領域)
- P07** EPR による MutT の 8-oxo-dGTP 加水分解反応機構の研究
〇中村照也¹・内田真希代¹・森岡弘志¹・右田たい子²・山縣ゆり子¹ (¹熊本大院薬・²山口大農)
- P08** 硫酸化糖鎖高分子を用いたアミロイド β 凝集抑制剤の開発と機能
〇三浦佳子・山本清文・小野木俊介・釘崎大輔・木野 光 (北陸先端マテリアルサイエンス)
- P09** リガンド依存的な蛋白質間相互作用マニピュレーションに対するラショナルデザイン

○水野稔久・鈴木久美子・田中俊樹 (名工大院工)

P10 ホロ抗体酵素 (Holoabzyme)

○円谷 健・石川文洋・藤井郁雄 (大阪府大院理)

P11 RNA とペプチドの cross-catalysis モデル構築へ向けた試み

○柏木紀賢・古田弘幸・井川善也 (九大院工)

P12 膜透過性ペプチドを用いたポルフィリノイドの細胞導入

○竹田麻里¹・原田紘行¹・戸叶基樹¹・井川善也^{1,2}・古田弘幸¹ (¹九大院工・²JST さきがけ)

P13 生物の翻訳系最適化戦略

–tRNA アンチコドンループ配列が保存された理由とは?–

○村上 裕¹・太田 淳²・菅 裕明^{1,2} (¹東大先端研・²東大院工)

P14 N末端に特殊骨格を持つペプチド翻訳合成及び環状ペプチド合成への応用

○後藤佑樹¹・村上 裕¹・菅 裕明^{1,2} (¹東大先端研・²東大院工)

P15 N-メチル化ペプチド合成に向けた遺伝暗号の再構築

○川上隆史¹・村上 裕²・菅 裕明^{1,2} (¹東大院工・²東大先端研)

P16 リボソームによる非天然型環状化ペプチドの合成

○佐古佑介¹・後藤佑樹²・村上 裕²・菅 裕明^{1,2} (¹東大院工・²東大先端研)

P17 試験管内分子進化法によるフレキシザイムの機能拡張およびペプチド翻訳合成系への応用

○丹羽慶吉¹・菅 裕明^{1,2} (¹東大先端研・²東大院工)

P18 RNA によるペプチド結合の特異性のテーラリング

菅谷麻希¹・西村 太²・加藤明良¹・○原田和雄² (¹成蹊大・²東京学芸大)

P19 DNA の主鎖リン酸部位の改変がポリメラーゼ反応に及ぼす影響

永島潤一¹・峯崎賢巳¹・○桑原正靖^{1,2}・尾崎広明¹・澤井宏明¹ (¹群馬大工・²JST さきがけ)

P20 ゲノム創薬のための細胞内リン酸化シグナル網羅的解析可能なチップの開発

○韓 暁明¹・森 健^{2,3}・新留琢郎^{2,3,4}・片山佳樹^{2,3,4} (¹九大院システム生命・²九大院工・³JST-CREST・⁴九大未来化学創造センター)

P21 葉酸修飾デンドリマー/a-シクロデキストリン結合体を用いたがん細胞選択的遺伝子導入用キャリアの構築

○有菌雅代¹・平山文俊²・上釜兼人²・有馬英俊¹ (¹熊本大院医薬・²崇城大薬)

P22 TLR3 リガンド刺激後のマクロファージからの一酸化窒素産生に対する 2,6-O-ジメチル-a-シクロデキストリンの抑制効果

○橋本洋輔¹・平山文俊²・上釜兼人²・有馬英俊¹ (¹熊本大院医薬・²崇城大薬)

P23 シクロデキストリン分子ネックレス化による PEG 化インスリン制御放出システムの構築

○東 大志¹・平山文俊²・有馬英俊¹・上釜兼人² (¹熊本大院医薬・²崇城大薬)

P24 PEG 製マイクロスフェアに固定化された酵素の有機溶媒中での活性に及ぼす糖類の影響

○船越 修・迫口明浩・田丸俊一・後藤雅宏 (崇城大工・九大院工)

P25 超分子ナノファイバーの分子認識デバイスへの展開

○田丸俊一・池田 将・浜地 格 (崇城大工・京大院工)

P26 直交性を有する蛋白質標識システムによる蛋白質相互作用の解析

○中田栄司^{1,2}・Arnaud Gautier¹・宇都義浩²・堀 均²・Kai Johnsson¹ (¹EPFL・²徳島大院ソシオテクノサイエンス研究部)

- P27** 細胞内在性蛋白質の非失活型アフィニティーラベル化
 ○高岡洋輔・宮川雅好・田村智則・築地真也・浜地 格 (京大院工)
- P28** 3次元ナノ構造効果による金の異常反射法のタンパク質検出感度向上
 ○Amir Syahir・富崎欣也・渡辺晋也・梶川浩太郎・三原久和 (東工大院生命理工・COE21・東工大院総合理工)
- P29** 酸誘導型ヒト IgG 特異ペプチド固定化カラムによる、抗体精製システムの改善と応用
 ○林田 潤¹・伊東祐二¹・坂元孝太郎¹・畠中孝彰¹・Preeti Soni²・杉村和久¹ (¹鹿児島大院理工・²JST イノベーションサテライト宮崎)
- P30** プロテアーゼ感受性酵素センサーの開発
 ○神谷典穂・鶴田幸人・後藤雅宏 (九大院工・九大未来化学創造センター)
- P31** 細胞に作らせる糖鎖ライブラリー (41) 糖鎖-アミノ酸型糖鎖プライマーによる糖鎖合成
 ○佐藤智典・薛 蓮・村上 舞・朱 性宇・何 シューブン (慶応大理工)
- P32** 特異なタンパク質複合体形成反応を利用したプロテインタグシステムの開発
 ○末田慎二^{1,2}・田中一史¹・山岸正憲¹・近藤寛樹¹ (¹九工大情報工・²JST さきがけ)
- P33** ヘムオキシゲナーゼのヘム結合能の解析とヘムセンサーへの応用
 ○坂本 寛 (九工大情報工)
- P34** 種々のトリペプチド修飾電極上での FDH 及び BOD の酵素電極反応
 ○櫛山菜摘子¹・島村健吾¹・西山勝彦¹・櫻井敏彦²・谷口 功¹ (¹熊本大院自・²鳥取大工)
- P35** 修飾 ITO 電極上へのタンパク吸着と細胞増殖および電位印加時の膜障害におよぼす影響
 ○吉坂菜希紗¹・永石洋一朗¹・熊谷エツ子²・原田信志²・富永昌人¹・谷口 功¹ (¹熊本大院自・²熊本大院医薬)
- P36** ケミカル CCD を用いる D-アミノ酸センサーの設計
 ○前田雄太郎・篠原寛明 (富山大院理工)
- P37** 超高速アザ電子環状反応を用いた生体分子標識化法の開発と PET イメージングへの応用
 増山達郎¹・○南 香莉¹・藤井遥平¹・長谷川功紀²・田原 強²・水間 広²・和田康弘²・渡辺恭良^{2,3}・田中克典¹・深瀬浩一¹ (¹阪大院理・²理研分子イメージング研究プログラム・³大阪市大院医)
- P38** ヒスチジン誘導体による Meldal-Sharpless クリック反応の活性化：自己活性化クリックペプチドのダイナミックコンビナトリアル合成
 影山知佳・○白坏早苗・田中克典・深瀬浩一 (阪大院理)
- P39** Click Chemistry によるナフタレンジイミド誘導体の合成とその性質
 ○大塚圭一・小溝紘平・竹中繁織 (九工大工)
- P40** テロメラーゼ活性に及ぼすフェロセン化ナフタレンジイミド誘導体の阻害効果
 ○佐藤しのぶ¹・小川啓二²・大塚圭一²・近藤寛樹¹・竹中繁織² (¹九工大情報工・²九工大工)
- P41** 環状フェロセン化ナフタレンジイミドとテロメア四本鎖 DNA との相互作用解析
 ○小川啓二¹・渡辺貞佳¹・佐藤しのぶ²・大塚圭一¹・近藤寛樹²・竹中繁織¹ (¹九工大工・²九工大情報工)
- P42** 新規合成プローブと二本鎖 DNA との相互作用解析
 ○渡辺貞佳¹・佐藤しのぶ²・大塚圭一¹・竹中繁織¹ (¹九工大工・²九工大情報工)
- P43** 金属塩添加によって成長促進する β シートペプチドナノファイバー

○山田真輔¹・村里和也¹・松浦和則^{1,2}・君塚信夫¹ (¹九大院工・²JST さきがけ)

P44 生体内分子認識空間の解析を目指す電子状態計算シミュレーション

○杉本 学 (熊本大院自)

P45 ライフゲーム・アルゴリズムに基づく個体数分布変動パターンの計算シミュレーション解析

○松尾昭昌・杉本 学 (熊本大院自)

P46 Fluorescein 誘導体の電子状態と蛍光プローブ特性に関する理論的研究

○二宮寿一・伊藤康宏・杉本 学 (熊本大院自)

P47 両親媒性 2,6-ジアミドピリジン型レセプターの合成と糖認識能

八田泰三・青島秀幸・○井上裕介・前田弘憲・柘植乙彦 (崇城大工)

P48 フェニルアラニンと 4-フォルミルイミダゾールからなる三座配位子亜鉛(II)錯体のキラル識別集合構造

○飯星朋孝・松本尚英 (熊本大院自)

P49 4-フォルミルイミダゾール類と 2-アミノエチルピリジンの縮合物を配位子とするコバルト錯体のプロトン移動とキラル集合構造

○金子美咲¹・鳥越晴菜¹・松本尚英¹・小島正明²・高野賢太郎³・柴原隆志³ (¹熊本大院自・²岡山大理・³岡山理大)

P50 光学活性ルテニウム錯体-DNA コンジュゲートのタンデム二本鎖形成に見られる非対称な協同性

○北村裕介¹・井原敏博^{2,3}・城 昭典²・千喜良誠¹ (¹中央大理工・²熊本大院工・³JST さきがけ)

P51 金属配位子-DNA コンジュゲートの協同的ハイブリダイゼーションを利用した遺伝子の蛍光検出

○富森 岳¹・北村裕介¹・井原敏博^{2,3}・城 昭典²・千喜良誠¹ (¹中央大理工・²熊本大院工・³JST さきがけ)

P52 金属配位基を有する DNA の合成およびその高次構造に及ぼす金属イオンの効果

○今村隆亮¹・井原敏博^{1,2}・佐藤仁宣¹・嶋田裕史¹・城 昭典¹ (¹熊本大院自・²JST さきがけ)

P53 DNA コンジュゲートと蛍光性小分子を用いた協同的核酸プロービング

○上村明日香¹・井原敏博^{1,3}・馬場紀幸²・西澤精一^{2,4}・寺前紀夫^{2,4}・城昭典¹ (¹熊本大院自・²東北大院理・³JST さきがけ・⁴JST-CREST)

P54 金属配位能を有する DNA コンジュゲートの合成およびその錯体の発光挙動

○大澤由佳¹・井原敏博^{1,2}・城 昭典¹ (¹熊本大院自・²JST さきがけ)

P55 シクロデキストリン修飾 DNA を用いた DNA の電気化学的検出に関する基礎研究

○和佐野次俊¹・井原敏博^{1,2}・清水政道¹・城 昭典¹ (¹熊本大院自・²JST さきがけ)

P56 ペプチドナノファイバー機能化を目指した結合ペプチドのセレクション

○澤田敏樹・高橋 剛・三原久和 (東工大院生命理工)

第10回生命化学研究会 in 阿蘇

主催 日本化学会生命化学研究会

会期 2008年1月12日 (土) 9:00~15:00

会場 日赤温泉 アソシエート

(熊本県阿蘇郡南阿蘇村河陽4369-19)



9:00- 9:45 野島高彦 (東京大学生産技術研究所)

遺伝子工学実験にマイクロ流体チップを採り入れる試み

9:45-10:30 今井輝子 (熊本大学大学院医学薬学研究部)

体内動態を考慮した医薬品開発のために

(15分休憩)

10:45-11:30 神谷典穂 (九州大学大学院工学研究院)

タンパク質ラベル化触媒としてのトランスグルタミナーゼの魅力

(11:30-12:30 昼食)

12:30-13:15 船橋靖博 (名古屋工業大学大学院工学研究科)

酸素活性化能を有する非ヘム鉄型金属酵素活性中心の仕組み

13:15-14:00 中島敏博 (化学及血清療法研究所)

進化分子工学による機能性分子創成 -スーパー抗原と抗体を例に-

14:00-15:45 竹中繁織 (九州工業大学工学部)

金基板へのDNA固定化法の開発

14:45-15:00 挨拶と事務連絡



合理的設計に基づく核酸機能の拡張と 生命化学への展開

山東信介

京都大学大学院工学研究科
合成・生物化学専攻

E-mail: ssando@sbchem.kyoto-u.ac.jp



研
究
紹
介

はじめに

研究紹介の機会を頂きありがとうございます。京都大学にて博士課程を修了後、米国スタンフォード大学化学科博士研究員として勤務したのち、運よく現職にてアカデミックキャリアをはじめることができました。青山教授から「何か新しいことをやってください」というお言葉を頂き、新しい研究をスタートさせて現在でちょうど6年が経ちます。論理的設計に基づいて核酸機能を拡張し、それを新しいツールとしてシステムとしての生命現象の理解と制御に挑戦したいと日々努力しています。「肩がこらず、面白く」ということですので、経緯や自分の考えなども交えながら書きたいと思います。

1. 生きた細胞内の核酸配列/動的な転写・局所化を非侵襲的に観たい！

学生時代より「細胞が構成する高次な生命様活動」といった「システムとしての個の集団」に興味があり、この学術目標に対する理解に少しでも貢献する研究を行いたいというモチベーションを持っています。その一つの方法は、生きた細胞を対象としたイメージング/解析ですが、その対象は現在のところ主に、金属イオン・活性種・蛋白質等に限られています。細胞内で重要な役割を担うDNAやRNAなど核酸の細胞イメージング、特に生細胞を対象としたリアルタイムイメージングに関しては、主要な課題であるにも関わらず多くの問題点・改善点を有するのが現状です。特に近年、発生や分化に関与する非翻訳RNAなど、従来の静的な核酸像と異なる、細胞の機能・運命を決めるような動的機能を示す核酸の存在が明らかになると、いつ、どこで、どのタイミングで核酸は発現されているのか？ その発現のタイミングは細胞相互に相関しているのか？といった核酸の時間的・空間的な挙動解析に対する需要が高まっています。また、個人的にも単純にこのような細胞間の“違い”を理解してみたいと感じていたこともあり、全く先は見えなかったのですが、「生きた細胞内の核酸配列/転写・局所化を非侵襲的に観る」というプロジェクトを勢いに任せて開始しました。私自身、工学部出身ということもあって新しいテクノロジー開発が好きなので、テクノロジーの開発から出発して、純粋なサイエンスへの展開を図れるという点も大きなモチベーションとなっています。以下に、最近の研究を紹介させていただきます。

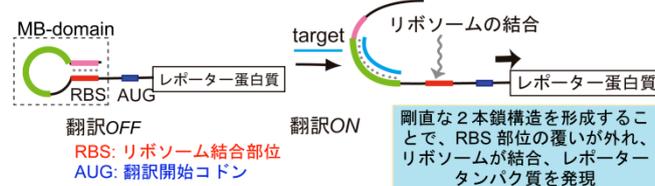
1-1. FRET型人工核酸プローブ

生細胞での動的な核酸検出は、ターゲットとなる核酸の存在によって蛍光強度をスイッチできる人工核酸プローブを用いて行うことができる。その代表例がモレキュラービーコン (Molecular Beacon, MB) であり、実際、生細胞内における mRNA の発現/移動/分布をリアルタイムで計測することもできる。我々も、鋳型核酸上での連結型/切断型有機化学反応を利用した手法など、FRET型人工核酸プローブを用いたアプローチを試みてきた[1,2]。このような人工核酸プローブは非常に有用な側面を多く持っていることも事実である。ただし、目的とする「長期的なシグナル計測」に向けては ①非特異的切断による擬陽性シグナル、②多細胞への導入方法、③検出感度、などの問題があると考えた。これらの点を踏まえ、従来の修飾人工核酸を用いるアプローチとは一線を画した「天然型核酸をプローブとする核酸診断・検出法」に関する研究を行った。

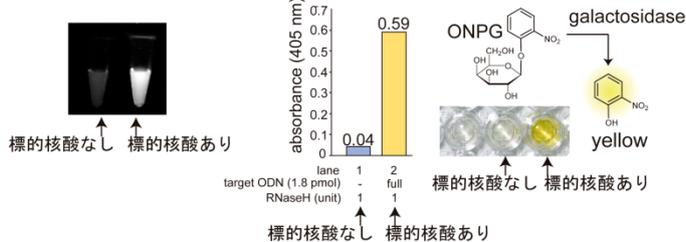
1-2. 天然型核酸プローブ① ～細胞の機能を利用する～

細胞は核酸-タンパク質または核酸どうしの相互認識によって複雑なシステムをうまく制御しており、細胞の機能をうまく利用すれば標的核酸を認識・検出・配列診断することも可能であると期待される。実際、配列認識能を持つ分割型蛍光蛋白質を用いた mRNA 動的イメージングなど画期的な成果も報告されつつある[3]。一方、原核細胞内に存在する RpoS mRNA はステムループ型の (シス作用) ヘアピン構造をもっている。通常はリボソーム結合部位 (RBS) が覆われているため、翻訳頻度が制限されているが、トランス作用型 DsrA

(a) **モレキュラービーコン-mRNA (MB-mRNA) 基本コンセプト**



(b) **luciferase レポーター：発光検出** (c) **β-galactosidase レポーター：可視化検出**



RNA が結合すると、ステムループ型構造が開き、タンパク質の翻訳が開始される (同様の核酸相互作用を利用して原核細胞内でのタンパク質発現を制御することもできる[4])。我々は、このようなリボレギュレーション機構が Molecular Beacon (MB) 型構造変化に非常に類似していることに着目し、核酸配列検出への展開を計画、合成生物学的アプローチから探査 mRNA プローブの開発を実施した。この mRNA プローブ (MB-mRNA) は RBS 上流に MB 構造を有している。ターゲット核酸配列認識部 (緑色) をループ部分に導入することにより、ターゲット核酸存在下においてのみ翻訳に必須な領域である RBS (赤色) が稼動状態となり、下流のレポーター蛋白質が発現される (上図(a))。Luciferase をレポータータンパク質として用いた配列検出実験を蛋白質翻訳溶液中で行ったところ、1 塩基の精度で標的核酸配列を見分けることが可能であった (上図(b))[5]。この手法の優れた点の 1 つは、レポーター蛋白質を変えれば様々な方法での計測が可能になる点にある。例えば、luciferase の代わりに β-galactosidase を用いれば、標的核酸の存在を目で確認することも可能であった (感度/配列選択性向上のため RNaseH の触媒活性を利用した 3 重触媒シグナル増幅系を構築) (上図 (c)) [6]。また 3 色 luciferase を用い、標的塩基の種類を色 (波長) で識別するマルチカラー検出系の構築もできる[7]。従来の FRET 型 MB と大きく異なる特徴は、使用するプローブがゲノム・プラスミドから直接転写可能な天然型 RNA を利用している点である。現在、ランダム MB-mRNA ライブラリを用いた *in vivo* セレクションを実施、細胞内使用に向けた設計指針の探索に加え、細胞内/外における核酸高次構造形成相違の明確化に挑戦している。また、MB 型制御機構コンセプトを真核細胞の機能に導入した天然型核酸プローブの設計も併せて実施している。

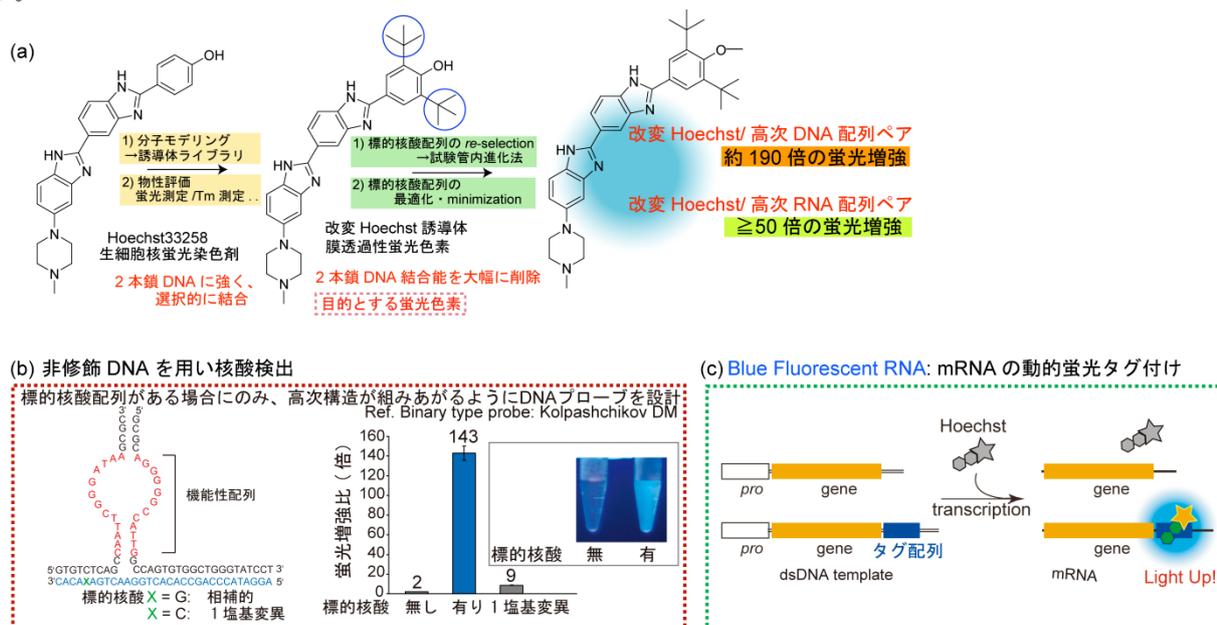
▶ このような方法は、生細胞応用の可能性が高いこともあり、究極的には「生細胞内の核酸配列を診断し、細胞を二次利用する」といった展開も可能かもしれないと期待しています。このプロジェクトを始めた当初は、「このままゲノム解析が進んだら、いつか、細胞の運命を決める mRNA も明らかになって、生細胞診断→二次利用なんていう時代が来るかも?」なんて、夢物語のように話していましたが、数個の遺伝子の導入による iPS 細胞の実現などを見ると、そう実現不可能な話でもないのかなと思ったりしています。

1-3. 天然型核酸プローブ② ～光る核酸配列の創製 (Green Fluorescent DNA/RNA) ～

細胞機能を直接利用した上記手法に加え、天然型核酸を利用しながら機能性蛍光色素の利点を組み合わせたりリアルタイムイメージングに特化した技術の創製にも挑戦しています。核酸に比べ、蛋白質の生細胞内解析技術は進んでいる。例えば生細胞内での蛋白質の発現解析は、目的蛋白質に蛍光蛋白質 (GFP) を融合することによって容易に実施可能である。そこで近年、核酸に対しても同様に“光る配列”を創製し、核酸の局所化解析・発現検出、さらには、配列解析に応用しようとする試みがある[8]。その実現には、ある特定の核酸タグ配列/構造 (アプタマー配列) に結合した場合にのみ蛍光を発する機能性蛍光色素が必須となる。

目的とする機能性蛍光色素は、標的核酸配列に対する結合に伴って初めて蛍光量子収率を増大させるのみでなく、①細胞膜透過性、②Bio-orthogonality (生体直交性)、③低細胞毒性などの生細胞応用に必須となる項目も満足させる必要がある。本点は配列特異性の付加などに比べ、合理的設計による実現が非常に難しい部分であり、大きな問題となる。一方、現在細胞内核酸染色に使用されている蛍光色素群は、長期にわたる研究の結果得られたものであり、上記の点も克服済みである。我々はこのような優れた生細胞染色蛍光色素群を改変し、特定の核酸配列/構造に結合した場合にのみ蛍光を発する“インテリジェント蛍光色素”へと進化させる戦略を構築した。具体的には、**Step1**:分子モデリングに基づく環境応答性蛍光色素の化学修飾ライブラリの創製 (高い生体直交性を有する改変色素の探索) と **Step2**:核酸の試験管内進化法による結合高次配列の探索を利用した有機化学/分子生物学を融合した戦略である。特に問題となるのは、Step2 で得られた蛍光色素/高次核酸配列の蛍光増幅能であるが、色素の周辺微視環境依存性(rigidity, dielectric constant 等)を指標とした光化学的性質と融合させることで、本戦略に基づいたペアの探索を可能とした。

実際、生細胞核染色に用いられる Hoechst 色素を用いて実験を行い、特定の核酸配列に結合した場合にのみ蛍光を発する“機能性蛍光色素”へと進化させることに成功した。その1例を下図に示している。新たに合成された色素ライブラリから選択されたこの改変 Hoechst は、もともとの標的である 2 本鎖 DNA に対する蛍光発光が抑制されているが、新しく選択された 25-mer の DNA 配列に結合すると約 190 倍の蛍光増強 (200 nM, ex. 345 nm, em. 460 nm) を誘起した (fluorescence quantum yield (Φ_F) = 0.37) (下図 (a))。また、核酸プローブを Binary 型(標的核酸があるときにだけ、必須となる 25-mer の機能性配列からなる構造を形成する)に設計することで、1 塩基精度での標的核酸検出に応用可能であった (下図 (b)) [9]。本結果は、蛍光色素分離型-非修飾天然 DNA プローブを用いた核酸検出・配列診断系の構築の成功を示すものである。また、同様の手法で改変 Hoechst の蛍光強度を増加させる機能性 RNA 配列の単離にも成功している [10]。つまり、この探索法を用いれば、従来の生細胞蛍光染色分子を元に、さまざまな“インテリジェント蛍光色素“の創製が可能であることを実証するものである。実際、luciferase-mRNA 末端に新しく創製したタグ RNA 配列を融合させることで、T7 転写系中における mRNA の選択的蛍光ラベル化に成功している(下図(c)) [10]。現在も、Green、Blue、Red Fluoresncet RNA など生細胞内での実応用可能な多色核酸ラベル化、レシオ測定を指向した様々な色素ペアの創製に挑戦している。



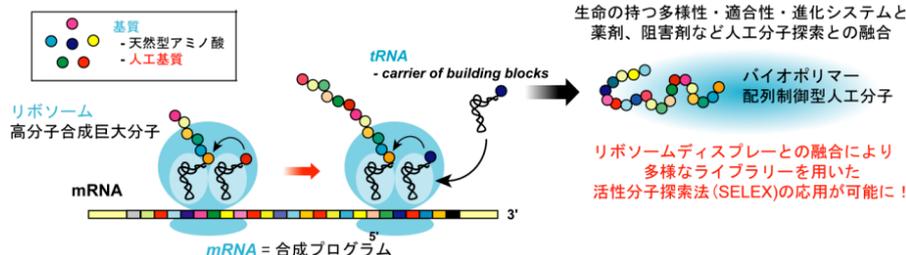
▶ 化学を基盤としたこのようなシステムが可能になれば、複数細胞内で複数の RNA の発現頻度・局所化を同時に観測することも可能になると期待しています。究極的には、細胞内の物質を

取り込んで RNA が発光するような真の意味での GFR システムを作ることができればと夢見ています。ただ、残念ながら、上記プロジェクトも細胞内での応用には改善点を抱えているので、とにかく細胞応用可能なシステムを作り、長期的目的に向かうことが現在の目標です。

2. 配列制御された非天然型分子を合成したい！

上記の「生細胞内核酸配列イメージング」に係る研究に加え、究極の機能性核酸であるリボソームを利用した(高)分子合成系の拡張にも取り組んでいます。蛋白質翻訳システムは非常に複雑で、なかなか分子・原子レベルでの理解や設計

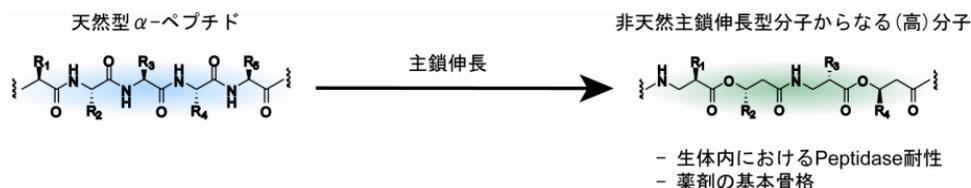
リボソームを用いた高度配列制御型人工分子合成



が難しいのですが、“有機化学に基づく論理的設計”を主題にしています。様々なところで経緯・応用が紹介されているため今回は割愛しますが、リボソーム利用した非天然人工分子合成が実現されれば、様々な Display テクノロジーと組み合わせ、非天然基質よりなるリガンド・機能性高分子の進化的探索が可能になると期待されています[11]。本プロジェクトに関し、現在までに実施した研究を紹介させていただきます。

2-1. リボソームを利用した主鎖伸長型(高)分子合成

リボソームを用いた人工分子のコンビナトリアル合成と進化的手法を融合させた機能性分子探索に向け、リボソームによって重合可能な非天然基質の多様性が大きな焦点となっている。様々な研究により、現在までに数多くの非天然 α -アミノ酸がリボソームを介して重合可能であることが確認されてきた。しかし、近年の報告では、リボソームは側鎖及び求核基における多様性に対しては非常に寛容であるのに対し、主鎖改変に関しては厳密であることが示唆されている。例えば、 β 位にアミノ基を有する β -アミノ酸は大腸菌リボソームにとって好ましい基質ではない(仮に導入できたとしても非常に効率が悪い)と考えられている[12]。しかし、主鎖長の異なる基質は、 β -ペプチドに代表されるようにその特徴的な構造と誘起される物性の多様性から非常に興味深い化合物である。現在、蛋白質翻訳システムを用いた主鎖伸長型分子(β -peptides, α/β -peptides, and esters)合成に挑戦している。



我々はまず、ペプチド転移反応仮説から設計した主鎖伸長型基質 β -ヒドロキシプロピオン酸(β -HPA)に着目、 β -HPA がより求核性の高い β -アミノ酸よりも好ましい基質であり、実際、リボソームを介したオリゴペプチド/蛋白質への部位特異的導入が可能であることを実証した (pKa-based approach)。また、 α ・ β 炭素に置換基を持つ一連の β -HPA 誘導體 (α -R, α -S, β -R, β -S) の導入効率比較から、 β 体においても様々な側鎖修飾が可能であり、特定の位置 (α -R) への側鎖導入が導入効率を上昇させるという知見も見出した[13]。

これは非常に面白い結果であるが、このペプチド転移反応に基づく基質設計はあくまで仮説である。そこで、更なる基質拡張・効率の改善を目指し、主鎖伸長型基質導入を決定する要因に関する詳細な検討を行った。主鎖伸長型基質

A New Repertoire of Ribosome-Compatible Main-Chain Elongated Substrate

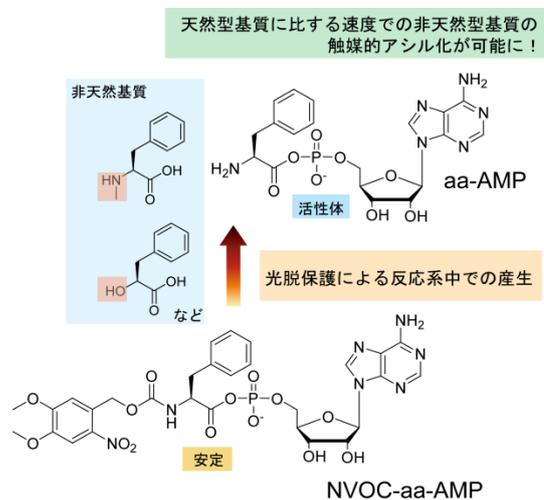
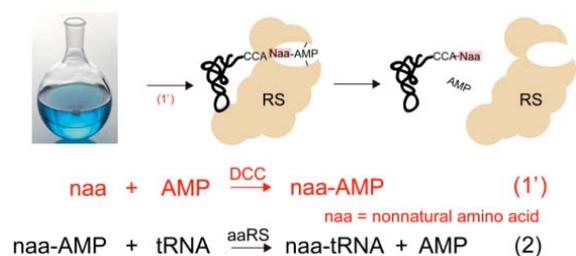


に変換したピューロマイシン誘導体を用い、大腸菌翻訳系における蛋白質合成阻害能を調べることで、基質のペプチド転移反応適合性を推測することが可能となる。そこで、β-アミノ酸、β-ヒドロキシ酸を持つ種々のピューロマイシン誘導体を合成、それぞれの基質の適合性を検討した。驚いたことに、当初の仮説に反しβ-アミノ酸もリボソームの基質となり得ることが示された。つまり、pKa の差によって基質に成りやすさが変わるという“pKa-based approach”は正しいが、β-アミノ酸が蛋白質翻訳システムの基質と成り得ない理由はリボソームペプチド転移反応に対する非適合性が主要因ではなく、別のファクターが存在するということである。これは、よく考えてみると幸運で、もしリボソームへの適合性が主要因であればリボソーム自身を改良しないといけないうことになってしまい、これは、恐ろしく困難である。一方、pKa 相違による基質選択性を生み出す要因が別に存在すれば、そこを改善してやれば翻訳システムを利用したβ-ペプチド合成も可能ということになる。また、β-HPA が導入可能であることから立体障害などは大きな要因でないことも予想され、翻訳条件をうまく検討してやればβ-アミノ酸の導入も可能性があるように思われる。実際、岡山大学宍戸研大槻先生との共同研究の結果、aa-tRNA をリボソームに運ぶ Elongation factor Tu (EF-Tu)との複合体形成過程が pKa の異なる主鎖伸長型基質の導入に大きく関与するという非常に興味深い実験結果も得られている。今後、EF-Tu や tRNA の改変によって、複雑な翻訳システムを用いたβ-ペプチド合成も可能になると期待している。“効率的な” β-ペプチド合成への展開を目指したい。

2-2. 化学的ミスアシル化 AMP 法に基づく非天然基質の酵素的アシル化～非天然型重合に向けて～

リボソームを用いた配列制御型合成に向け、非天然基質の tRNA アシル化反応は越えるべき大きな関門の一つである。化学的ミスアシル化法 や、リボザイム法、チオエステル-PNA 法など、優れた非天然基質アシル化法が報告されている。一方、生命が利用する tRNA 合成酵素 (aaRS) を用いたアミノアシル化反応は触媒性に起因する効率、生体応用性など様々な側面において優れた機能を有しており、この aaRS を用いた非天然アシル化に注目が集まりつつある[14]。(例えば、天然系は100個以上のアミノ酸を重合できるのに対し、化学的アミノアシル化法で作成した場合、10個程度繋げるのが限界である。幾つかの要因があると思うが、その一つとして化学的手法で作成された aa-tRNA は1回限りの使用であるのに対し、酵素的には触媒的にアミノ酸をチャージできる点があると考えている。)我々は、aaRS に許容される非天然基質拡張に向けた合理的設計を実施した。目標としては、“なんとかアシル化できる”というのではなく、非天然高分子合成に向け、天然系に比する速度/触媒活性で非天然基質を tRNA にチャージしうる方法の開発とした。具体的には、アミノアシル化反応での基質選択性を生み出す要因に対する仮説から、化学的に合成した活性化 AMP 体 (aa-AMP) を基質として用いることを計画した。しかし、活性化体である aa-AMP は (当然のことであるが) 非常に加水分解されやすく単離/保存が困難であった。そこで様々な検討を行ない、末端アミノ基を NVOC 基で保護することで非常に安定に保持できることを見出した。NVOC 基は光照射で容易に脱保護でき、効率よく aa-AMP を生成可能である (右下図)。

まず、NVOC 基を光脱保護した Phe-AMP 体を基質とし、PheRS による tRNA^{Phe} のアミノアシル化反応を行った。その結果、天然型 aaRS は aa-AMP 体も活性型基質として直接利用可能であることを見出した。続いて有用な非天然基質である N-メチル化基質 (N-Me-Phe) を用いたアミノアシル化実験を実施した。通常のアシル化条件 (N-Me-Phe + ATP) では、ほとんどアミノアシル化が進行しなかったのに対し、N-Me-Phe-AMP 体を基質として



用いた場合、非常に興味深いことに天然型アミノアシル化反応とほぼ同等の反応速度で *N*-メチルアミノアシル化反応が進行した。更に、翻訳ペプチドの MASS を測定することで、確かに活性型 *N*-Me-Phe-tRNA が生成されていることが実証できた[15]。また、複数の基質を用いた競合的 *N*-メチルアミノアシル化実験から、aaRS は活性化アミノ酸間の基質選択性を有しており、配列制御型 *N*-Me-ペプチド/蛋白質合成への応用も可能であることが示された。本系を用いることで、*N*-Me-アミノ酸による tRNA の酵素的アシル化が可能であることが実証され、また、アシル化速度は天然基質に対するアミノアシル化反応に比して遜色ないものであった。例えば、翻訳溶液中に安定な NVOC-aa-AMP 体として含有させ、光照射によって不安定な活性 aa-AMP 体を徐々に発生させるという系の構築も理論上可能である。本結果は、さらなる基質拡張への可能性を示すとともに、配列制御型人工高分子合成系への展開も期待できる。

▶ 研究を始めた大きなモチベーションとしては、2000 年に Science 誌に掲載されたリボソーム X 線結晶構造に関する論文を読み、20 種のアミノ酸を高度に配列制御しながら重合させるその精巧な複雑さに驚くのを乗り越えて“美しさ”すら感じたことがあります。将来的には翻訳系を用いた *N*-Me-アミノ酸、 β -アミノ酸から構成される耐性ペプチドライブラリディスプレイ系を確立し、細胞、*vivo* レベルでの分子イメージングに使える非天然ペプチド・リガンド探索に応用したいと考えています。よく「全く違うテーマをやっているのはなぜ？」と聞かれるのですが、自分としては「生命の理解に資する分子イメージング」に向けた技術開発という意味で、将来的にはつながっているつもりです。ただ、翻訳系は非常に複雑で、かつ、面白いのでどんどん応用ではなく基礎研究に走ってしまい、なかなか目標に到達しそうもないのですが・・・。

謝辞：本研究は京都大学大学院工学研究科青山研究室で実施されたものであり、青山安宏教授、また、苦勞を共にしてくれた学生諸氏に心から感謝いたします。

References:

- 1) (a) Sando, S.; Kool, E.T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2096. (b) Sando, S.; Kool, E.T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9686. (c) Sando, S.; Abe, H.; Kool, E.T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1081.
- 2) Sando, S.; Sasaki, T.; Kanatani, K.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15720.
- 3) Ozawa, T.; Natori, Y.; Sato, M.; Umezawa, Y. *Nat. Methods* **2007**, *4*, 413.
- 4) Isaacs, F. J.; Dwyer, D. J.; Ding, C.; Pervouchine, D. D.; Cantor, C. R. J.; Collins, J. *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 841.
- 5) Sando, S.; Narita, A.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5300.
- 6) Narita, A.; Ogawa, K.; Sando, S.; Aoyama, Y. *Angewandte Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2879.
- 7) Narita, A.; Ogawa, K.; Sando, S.; Aoyama, Y. *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 1105.
- 8) Famulok, M. *Nature* **2004**, *430*, 976 and references therein.
- 9) Sando, S.; Narita, A.; Aoyama, Y. *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1975.
- 10) manuscript in preparation.
- 11) 本研究領域の経緯・応用：例えば、本ニュースレターNo.23 村上さんの研究紹介など
- 12) Tan, Z.; Forster, A.C.; Blacklow, S.C.; Cornish, V.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12752.
- 13) Sando, S.; Abe, K.; Sato, N.; Shibata, T.; Mizusawa, K.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6180.
- 14) (a) Recent review, see for example: Xie, J.; Schultz, P.G. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 548. (b) Hartman, M. C.; Josephson, K.; Szostak, J.W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 4356.
- 15) (a) Sando, S.; Kanatani, K.; Sato, N.; Matsumoto, H.; Hohsaka, T.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7998. (b) submitted.



核酸分子の生理活性の化学的解剖 - 金属イオンとの相互作用研究から見てきたもの -

田中好幸

東北大学大学院薬学研究科

分子変換化学分野

E-mail: tanaka@mail.pharm.tohoku.ac.jp



はじめに

私の行ってきた研究は、“化学の言葉で生命現象を説明する”ということにつける。具体的にはRNA分子をはじめとする核酸分子の生理機能発現機構を、金属イオンとの相互作用という切り口から研究している。未だメカニズム解明という目標には到達できていないが、その一歩手前である核酸-金属複合体の電子状態解析には手が届きつつある。従って本総説では、NMR分光法を利用した、ハンマーヘッド型リボザイムと金属イオン相互作用研究^{1,4}、水銀イオンを介したT-T塩基対の構造解析^{5,7}の研究結果について述べたい。併せて¹⁵N NMR化学シフト値を指標とする生体分子の電子状態解析、それに基づくハンマーヘッド型リボザイムのRNA鎖切断メカニズムの仮説について議論してみたい。

ハンマーヘッド型リボザイム

そもそも核酸-金属イオン相互作用研究を始めたきっかけは、ハンマーヘッド型リボザイムのメカニズム研究に興味をもったことに遡る。まずハンマーヘッド型リボザイムについて説明すると、RNA分子のみからなる酵素分子であり、RNA鎖の部位特異的切断を行う。必須配列の二次構造が金槌の頭の形に似ていることからハンマーヘッド型リボザイムと名付けられた (Figure 1)。まず当時ハンマーヘッド型リボザイムについて知られていた知見を列挙すると以下の通りである。

- 1) ハンマーヘッド型リボザイムは金属酵素であり、切断反応には二価金属イオンを必要とする (後に覆る)。
- 2) 結晶構造が決定されており、その全体構造は γ 型をしている。ただし基質RNA鎖の構造が切断反応に適していなかったため、不活性型の構造と思われる (後に活性型の構造が決定される)。
- 3) 結晶構造から金属イオン結合モチーフの存在が明らかとなった (保存配列のG-A mismatchesと準保存配列のG-C塩基対)。

このような状況から金属イオン結合モチーフに結合した金属イオンが酵素活性とどのような関係にあるのかが注目されていた。そこで筆者は本モチーフに結合した金属イオンのRNA鎖切断反応との関わ

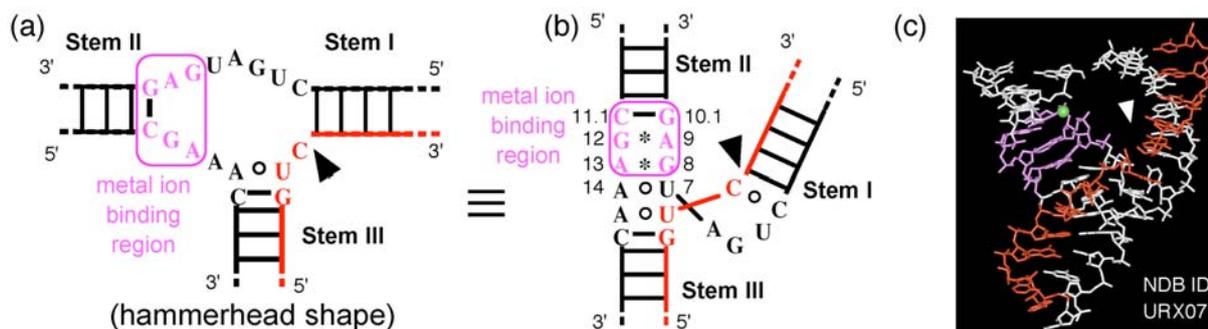


Figure 1 Secondary and 3-dimensional structure of hammerhead ribozyme

りを調べる研究に着手した。金属イオンとの相互作用を調べるにあたってはリボザイム分子全体を用いるのが理想ではあるが、解析のスピードアップとより詳細な化学的解析を目的として、金属イオン結合モチーフを中央に含むモデル RNA 二重らせん分子を用いて実験を行うこととした。なお、本モデル RNA 二重らせん分子に金属イオン結合能があることを予備実験¹により検証した後、本実験を行っている。

RNA-金属イオン相互作用解析（多核 NMR 分光法による滴定実験）

ここでまず、当時の NMR 分光法を用いた核酸分子と金属イオンの相互作用研究の状況を一言でまとめると、大部分の研究は ¹H NMR 分光法に基づく研究であった。これらの実験では金属イオン滴定に伴う ¹H NMR 化学シフト値の変化から、金属イオンの結合残基や金属イオンの結合数・結合定数等を決定する実験が大半を占めていた。しかし、上記の実験で観測された ¹H NMR 化学シフト値変位は、金属イオン結合の二次的効果（金属イオン結合に伴う核酸分子構造変化を反映した化学シフト値変化）を観測していることに他ならない。即ち運良く金属イオン結合残基を特定することができたとしても、結合原子までを特定することはほぼ不可能な方法論であった。加えて、化学的には金属イオンの結合様式としては核酸分子に対する直接の配位結合と配位水を介した結合（水素結合）が存在するにもかかわらずそれらを区別することなく取り扱っている点も解析が不十分であると思われた。

そこでこのような問題点を克服するための方法として筆者は、金属イオンの直接結合部位からのシグナルを NMR 分光法で観測しようと考えたわけである。本着想は単純な論理的帰結であるが、安定同位体標識核酸の調製の難しさもあって、このような実験はほとんど行われておらず、RNA 分子では皆無であった。そこで金属イオンの結合部位である窒素核を ¹⁵N 核で安定同位体標識した RNA 分子を作製した²。

このようなサンプルを用いて実際に滴定実験を行った結果の一例を Figure 2 に示す。滴定実験の結果、全ての窒素核の化学シフト値変位を通じて N7(G10.1)のシグナルが最も大きな変位幅 (19.6 ppm の高磁場シフト) を示した^{2,4}。即ち、金属イオンの結合部位としては結晶構造と同じ N7(G10.1)であることの確証が得られた。そこで次の命題である「N7(G10.1)に対する金属イオンの結合が配位結合であるかどうか」について考察した。実際の検討内容としては、1-bond ¹¹³Cd-¹⁵N *J*-coupling (¹J_{CdN}) の検出と ¹⁵N 化学シフト値変位幅からの結合様式の検討である。詳細については総説⁴および原著論文²を参照していただくこととして、簡単に説明すると以下の通りである。¹J_{CdN}からは配位結合を示す直接証拠は得られなかったが、¹⁵N 化学シフト値変位幅および変位方向から（約 20 ppm の高磁場シフト）、Cd^{II}の N7(G10.1)への結合は配位結合であることが示された。より具体的には、グアノシンの金属イオン (Zn^{II}, Hg^{II}) 滴定による ¹⁵N 化学シフト値変位⁸、及び、密度汎関数法 (DFT calculation) による ¹⁵N 化学シフト値変位幅の理論値⁹との比較から結論された (Table 1)。

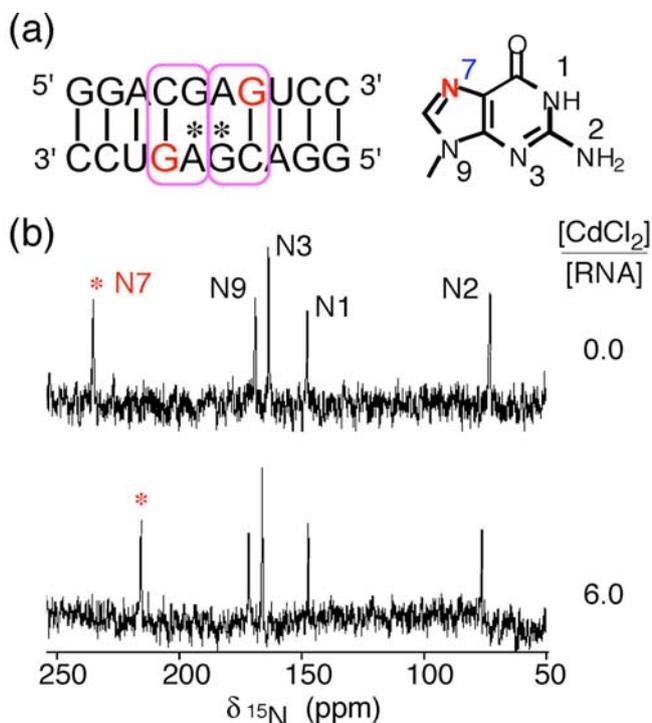


Figure 2 One-dimensional ¹⁵N NMR spectra of the metallated guanine in the RNA duplex.

また我々と同様のモチーフを含む RNA 分子においても金属イオン (Zn^{II} , Cd^{II} , Mg^{II} , $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$) 結合に伴う ^{15}N NMR 化学シフト値変位の追加データが報告され、同様な結果を得ている¹⁰ (Table 1)。一方、筆者らは、 ^{13}C NMR スペクトルを用いた Cd^{II} , Mg^{II} , $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 滴定を行い、N7(G10.1)への各種金属イオン結合に伴う G10.1 残基 8 位炭素核の化学シフト値変位についても網羅的に調べている^{3,4} (Table 1)。他グループのデータについても併せて Table 1 に示す^{11,12}。これらのデータにより金属イオンのグアノシン N7 [N7(G)] に対する結合を ^{15}N 、 ^{13}C NMR 化学シフト値変位から同定するための基礎データが揃ったと考えられる。後述するが実はこの ^{15}N NMR 化学シフト値変位についての解釈は「芳香環イミン窒素への金属イオンの配位結合（プロトン化および水素結合も）は結合部位となった窒素核の化学シフト値を高磁場シフトさせる」という形に一般化することが可能である。

水銀イオンを介した T-T 塩基対の構造解析

核酸塩基と金属イオンの部位特異的結合にはイミン窒素のローンペアに対する金属イオンの配位結合に加えて、プロトン-金属イオン交換反応を経る結合様式がある。ただ後者の結合様式は、オリゴマー分子以上の高分子核酸の結晶構造においては筆者の知る限りこれまで観測されたことが無く、ここ最近ではその存在自体がほぼ忘れ去られていた状況にある。特に水溶液中においては水分子という巨大なプロトン源が存在することもあり、敢えて水中にプロトンを放出するような結合様式を構造生物学者を含めた生物学者は考慮していなかったものと思われる。しかし水銀イオンを介した T-T 塩基対は結論から言って、チミン 3 位窒素 [N3(T)] が脱プロトン化したところに水銀イオンを結合し、最終的に Figure 3 に示すような塩基対を形成する⁷。当初、共同研究者の小野からこのような塩基対ができていないかという話を聞いて驚いたが、もし本塩基対が存在するならば水溶液中における核酸分子の新たな金属イオン結合様式の存在を初めて実証することとなり、興味深い研究対象であった。また本塩基対における水銀イオンと窒素原子との結合様式は恐らく共有結合であろうと考えられる。即ち金属-窒素共有結合という結合としては最も強い極致構造のデータが得られるかもしれないという観点でも興味をひかれた。

Table 1 Chemical shift perturbations upon metal ion-binding^a

sample (M)/solvent	metal (M)	site	$\Delta\delta^{15}\text{N}$	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (C8)	ref.
RNA duplex-1 (0.5 mM)/H ₂ O (pH 6)	$\text{Cd}^{\text{II}}/\text{Mg}^{\text{II}}$ (2.5 mM)	N7(G)	-19.6/N.D.	+2.3/+0.12	2-4
RNA duplex-2 (3 mM)/H ₂ O (pH 6.8)	$\text{Cd}^{\text{II}}/\text{Mg}^{\text{II}}$ (12 mM)	N7(G)	-20.5/-6.5	N.D.	10
DNA duplex-1 (0.29 mM)/H ₂ O (pH 5.0)	Zn^{II} (4.9 mM)	N7(G)	-14.8	N.D.	11
DNA duplex-2 (1.7 mM)/H ₂ O (pH 6)	Zn^{II} (13.0 mM)	N7(G)	N.D.	+2.5	12
guanosine (0.5 M)/DMSO	$\text{Hg}^{\text{II}}/\text{Zn}^{\text{II}}$ (0.5 M)	N7(G)	-20.5/-20	N.D.	8
guanine (DFT calculation)	Zn^{II} (1 eq.)	N7(G)	-14.8	N.D.	9
DNA duplex-3 (2.0 mM) / H ₂ O (pH 6)	Hg^{II} (4.0 mM)	N3(T)	+29.9 - +35.3	n.a.	7

^aChemical shift changes are listed in ppm. RNA duplex-1: r(GGACGAGGUCC)₂; RNA duplex-2: r(CGGAGUUGGC)•r(GCCAAAGCCG); DNA duplex-1: d(GGTACCGGTACC)₂; DNA duplex-2: d(ATGGGTACCCAT)₂; DNA duplex-3: d(CGCGTTGTCC)•d(GGACTTTCGCG). For DNA/RNA duplexes, the chemical shift changes of the underlined residues are indicated. Positive and negative values represent lower-field shifts and higher-field shifts, respectively. n.a.: not applicable; N.D.: not determined.

ところで本塩基対の構造解析でも ^{15}N 標識核酸を用いて構造解析を行うこととした。Figure 3 から解るように本塩基対には $\text{N-Hg}^{\text{II}}-\text{N}$ という共有結合のつながりがあると期待されるため、向かいあうチミン残基の N3 を ^{15}N 標識すると 2-bond での ^{15}N - ^{15}N J -coupling ($^2J_{\text{NN}}$) が観測されるはずである。その様な作業仮説に基づいて一次元 ^{15}N NMR スペクトルを測定した。Figure 3 に示す DNA 二重らせん分子 (T5 残基と T16 残基を ^{15}N 標識) の一次元 ^{15}N NMR スペクトルには doublet に割れた NMR シグナルが観測された⁷。また確認のため、一方のチミン残基を非標識体とした DNA 二重らせん分子でこのシグナルのスプリッティング

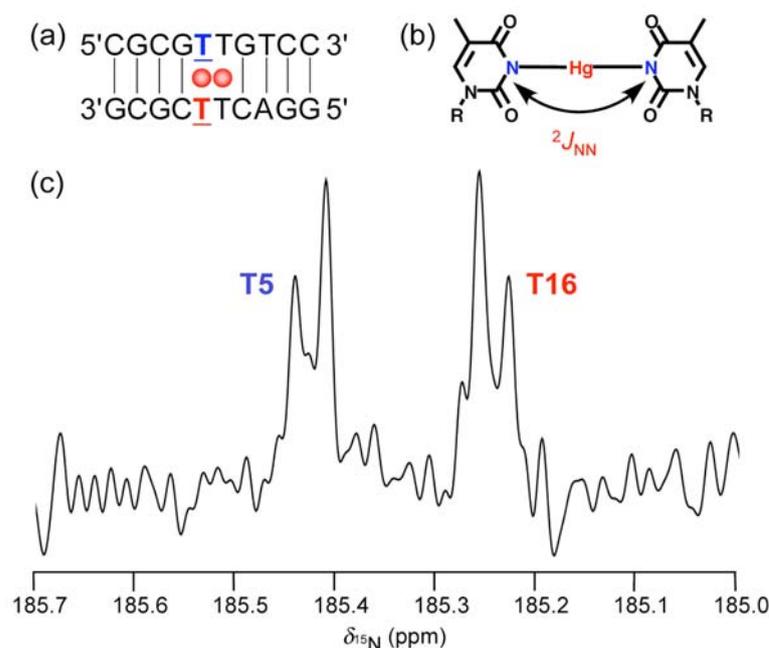


Figure 3 ^{15}N NMR spectrum of T- Hg^{II} -T base-pair.

グが消えることから、確かにこのシグナルのスプリッティングが $^2J_{\text{NN}}$ (2.4 Hz) であることを確認している⁷。本結果は DNA 二重らせん分子中の向かい合うチミン残基が N3 位 [N3(T)] で Hg^{II} を介してクロスリンクされていることを示すものである。加えて、本塩基対における $^2J_{\text{NN}}$ の理論値も筆者らの実験値が発表された後すぐに発表され、1.7 Hz と実験値とまずまずの一致度を示している¹³。ここに至り初めて、1950 年代に核酸-水銀イオン相互作用研究が始まって以来構造決定が望まれていた T- Hg^{II} -T 塩基対の化学構造が同定された。

ここで化学シフト値の変位に目を転じると、水銀イオンの N3(T) への結合に伴ってその化学シフト値は約 155 ppm から約 185 ppm へと大きく低磁場シフトすることが解った⁷ (プロトン結合時の通常チミン N3(T) の化学シフト値は ^1H - ^{15}N HSQC スペクトルより決定)。即ち、「窒素核上でプロトン-金属イオン交換反応が起きて N-金属結合が形成された場合、当該窒素核の化学シフト値は低磁場シフトする」という一般則が成り立つ可能性が示唆される。そこで次節では ^{15}N NMR 化学シフト値と化学結合の間に成り立つ一般則について述べることにする。

^{15}N NMR 化学シフト値と電子状態解析

ここで ^{15}N 化学シフト値が窒素核の電子状態とどのような関係にあるか化学的背景について考察してみたい。結論からいって、窒素核の電子状態と ^{15}N NMR 化学シフト値の間には次のような関係が成り立つ (^{15}N NMR 化学シフト値の理論背景については末尾の Appendix も参照)。

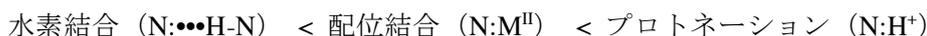
窒素核上のローンペアが (化学結合による) 束縛を受け励起しにくくなると ^{15}N 化学シフト値は高磁場シフトし、より自由に励起可能な状態になると低磁場シフトする。

ここでグアニン 7 位窒素核 [N7(G)] の金属イオン配位結合による高磁場シフトについて考える。まず、金属イオンと配位結合を形成する前は N7(G)には芳香環平面内にローンペア (n 電子) が存在する。このローンペアが金属イオンと配位結合を形成すると n 電子は配位結合により金属の空軌道に供与され、

安定化を受ける (ポテンシャルエネルギー低下)。その結果 n 電子は配位結合の σ 結合軌道に束縛され、高磁場シフトがもたらされる。

次に水銀イオンを介した T-T 塩基対におけるチミン 3 位窒素核 [N3(T)] の水銀核結合に伴う低磁場シフトについても考察してみたい。一般に N-金属イオン結合は N-H 結合より弱いものが多い。少なくとも結合距離を考えた場合、N-Hg^{II} 結合が 2.0 Å であるのに対して、N-H 結合は約 1 Å であり、単純な静電相互作用しか考慮しなかったとしても、窒素核上の共有電子対の安定化に対する寄与としてはプロトンのほうが大きいと期待される。従って、N-H および N-Hg^{II} 結合の共有電子対を敢えてローンペアと考えた場合、N-Hg^{II} 結合の電子のほうが励起しやすい状態にあると期待される (イオン化した極致構造 (N:•••H⁺、N:•••Hg^{II}) を考慮することに相当)。従ってその結果、N-H 結合が N-Hg^{II} 結合に置き換わった場合は N3(T) は低磁場シフトしたと考えるとうまく説明がつく。裏を返せば N-Hg^{II} 結合は切れやすい結合であると想像される (σ 結合軌道の電子が励起した場合、その結合は弱くなる)。事実 N-Hg^{II} 結合は基本的に共有結合であるにもかかわらず、可逆的な結合であることが解っており 100 °C 以下の温度でも解裂することが解っている。

以上ここまでの研究で窒素核上の電子がどのくらい束縛されているか、或いは、当該窒素がどのくらい強い結合を形成しているかが ¹⁵N 化学シフト値を知ることにより可能になることが示せたものと考えている。なおここまでの内容を具体的な化学結合と対応させた場合、¹⁵N 化学シフト値を高磁場シフトさせる強さは以下の順に強くなると考えられる。



ハンマーヘッド型リボザイム RNA 鎖切断メカニズム解明への展開

ここでリボザイムの RNA 鎖切断メカニズムに目を転じてみたい。リボザイムの金属イオン結合モチーフに対しては Cd^{II}、Zn^{II}、Mn^{II} をはじめとするソフトなルイス酸が N7(G10.1) と配位結合形成することが解っている。裏を返せば N7(G10.1) のルイス塩基性が上がっていることが推測され、これが本モチーフが金属イオン結合モチーフとして効果的に機能している理由であると考えられる。では何故 N7(G10.1) のルイス塩基性が上がっているのだろうか？ 私の仮説は次の通りである。G10.1 残基は sheared 型 G-A 塩基対 (G12、A9 残基) というプリン塩基二つから成る広い芳香環平面と隣接しており、もし電子リッチな G-A 塩基対から G10.1 残基への電子供与がなされれば、N7(G10.1) の電子密度も上がり、ルイス塩基性も上がるのではないかと考えている。

この G-A 塩基対のグアニン塩基 G12 残基は活性型のリボザイム結晶構造によれば、切断部位 (反応開始点) の水酸基と水素結合していることが解っている (Figure 4)。従って上述のような電子の流れが存在するなら、G12 残基は電子不足となり、水素結合のプロトン供与部位である G12 残基 1 位窒素原子 [N1(G12)] の酸性度を上げることが期待される。その場合、G12 残基は酸触媒的にプロトン受容部位である 2' 水酸基 O-H 結合の解離エネルギーを下げることに寄与するのではないかと考えている。以上が現

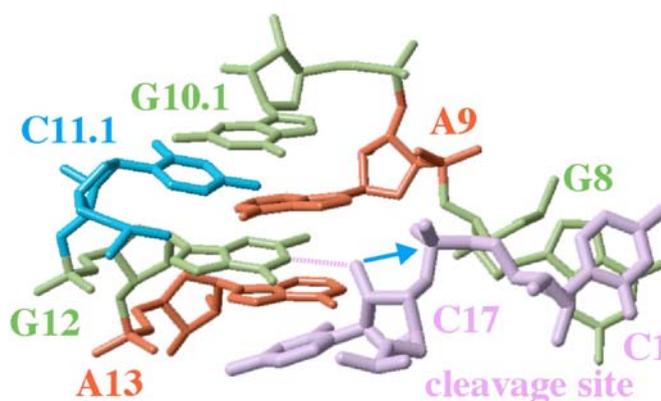


Figure 4 3D structure of the cleavage site of a hammerhead ribozyme.

時点で考えている、RNA 鎖切断の反応開始（水酸基脱プロトン化）機構に関する筆者の仮説である。従って、ここで述べたような現象が実際に起きているかどうかを実験的に調べることにより、ハンマーヘッド型リボザイムの RNA 鎖切断メカニズムが明らかになるものと考えている。

最後に

このように生体高分子の電子状態にまで踏み込んだ解析が多核 NMR 分光法より可能になり、生体高分子のメカニズム解析に手がかりつつある状況にある。今後は上記仮説の検証を NMR 分光法をはじめとする各種分光法により行っていこうと考えている。なお筆者は東北大学大学院薬学研究科・分子変換化学研究室に所属している。有機金属や有機塩基を用いた新規反応開発を旨とする研究室において、筆者が独自テーマを遂行することを許して下さった研究室主宰・根東義則教授に心より感謝いたします。また現時点では、二名ないし三名の学生とともに核酸研究を行っている状況であるが、人数に関わらず今後ともプロダクティブなグループであり続けたいと思っている。

謝辞

本総説を書く機会を与えて下さいました原田先生をはじめとします編集員の先生方に感謝いたします。また本拙文を査読いただきました先生方にも感謝いたします。

References

1. Tanaka, Y.; Morita, E. H.; Hayashi, H.; Kasai, Y.; Tanaka, T.; Taira, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 11303-11310.
2. Tanaka, Y.; Kojima, C.; Morita, E. H.; Kasai, Y.; Yamasaki, K.; Ono, A.; Kainosho, M.; Taira, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 4595-4601.
3. Tanaka, Y.; Kasai, Y.; Mochizuki, S.; Wakisaka, A.; Morita, E. H.; Kojima, C.; Toyozawa, A.; Kondo, Y.; Taki, M.; Takagi, Y.; Inoue, A.; Yamasaki, K.; Taira, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 744-752.
4. Tanaka, Y.; Taira, K. *Chem. Commun.* **2005**, 2069-2079.
5. Miyake, Y.; Togashi, H.; Tashiro, M.; Yamaguchi, H.; Oda, S.; Kudo, M.; Tanaka, Y.; Kondo, Y.; Sawa, R.; Fujimoto, T.; Machinami, T.; Ono, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2172-2173.
6. Tanaka, Y.; Yamaguchi, H.; Oda, S.; Nomura, M.; Kojima, C.; Kondo, Y.; Ono, A. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2006**, *25*, 613-624.
7. Tanaka, Y.; Oda, S.; Yamaguchi, H.; Kondo, Y.; Kojima, C.; Ono, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 244-245.
8. Buchanan, G. W.; Stothers, J. B. *Can. J. Chem.* 1982, *60*, 787-791.
9. Sychrovsky, V.; Sponer, J.; Hobza, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 663-672.
10. Wang, G.; Gaffney, B. L.; Jones, R. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 8908-8909.
11. Vinje, J.; Sletten, E. *Chem. Eur. J.* 2006, *12*, 676-688.
12. Jia, X.; Zon, G.; Marzilli, L. G. *Inorg. Chem.*, **1991**, *30*, 228-239.
13. Bagno, A.; Saielli, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11360-11361.
14. Robertson, M. P.; Scott, W. G. *Science*, **2007**, *315*, 1549-1553.
15. Levy, G. C.; Lichiter, R. L. *Nirtogen-15 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Inc. (1979) (和訳：荒田洋治, 甲斐荘正恒共訳, N-15 NMR の応用, 培風館, (1981)).

[Appendix]

化学シフト値 δ は遮蔽定数 σ と次の関係にある¹⁵。

$$\delta_A \approx \sigma_{\text{ref}} - \sigma_A = f(\sigma_A) \quad \text{式 1}$$

δ_A は核 A の化学シフト値、 σ_{ref} は基準物質由来シグナルの遮蔽定数、 σ_A は測定核 A の遮蔽定数。ここで ¹H および ¹³C NMR スペクトルの基準物質は TMS (tetramethylsilane) と決められており、TMS の ¹H および ¹³C NMR シグナルが 0 ppm と決められている。なお ¹⁵N NMR スペクトルの基準物質としては、nitromethane、液体アンモニア、アンモニウム塩が存在する。文献によって何を 0 ppm の基準物質にとっているかがまちまちなので、¹⁵N NMR 化学シフト値を文献間で比較する場合は注意が必要である。ただここから一つ重要な事実が導かれる。上述のように、 σ_{ref} は特定化合物のシグナルの遮蔽定数であるため、式 1 の中では定数として扱える。即ち式 1 から、 δ_A は σ_A の関数であり、 σ_A を決めさえすれば核 A の化学シフト値 δ_A は決定できることが解る。

ここで遮蔽定数 σ_A の中身について精査する。遮蔽定数 σ_A は σ_D (化学シフト値を高磁場シフトさせる項) と σ_P (化学シフト値を低磁場シフトさせる項) という二つ項に分けることができる。 σ_D は電子密度 (ρ) が高くなると寄与が大きくなる項であり、 σ_P は原子核まわりの電子分布の非対称性や電子の平均励起エネルギー (ΔE) と以下の相関がある¹⁵。

$$\sigma_D \propto \rho \quad \text{式 2}$$

$$\sigma_P \propto \frac{1}{\Delta E} * (\text{電子分布の非対称性}) \quad \text{式 3}$$

例えば、球対称な s 軌道しか持たないプロトンでは式 3 より σ_P の寄与が 0 になり、 σ_D のみで遮蔽定数が決定される¹⁵。これがプロトンの化学シフト値が電子密度のみで説明できる理由である。一方その他の原子については p 軌道、d 軌道に価電子を有しているため σ_P の寄与が無視できない¹⁵。それどころか $\sigma_P \gg \sigma_D$ という関係にあるため、プロトン以外の核種では化学シフト値 (厳密には遮蔽定数) の決定因子としては σ_P が優先的になる。従って粗い近似をすれば以下のような関係があるといえる。

$$\sigma_A \approx \sigma_P \quad \text{式 4}$$

ここでグアニン 7 位窒素核 [N7(G)] の金属イオン配位結合による高磁場シフトについて考える。まず、金属イオンと配位結合を形成する前は N7(G) には芳香環平面内にローンペア (n 電子) が存在する。従ってこの n 電子がある一定の確率で π^* 軌道に励起 (n- π^* 遷移) することが可能である。次に一旦、金属イオンと配位結合を形成すると n 電子は配位結合により金属の空軌道に供与され、安定化を受ける (ポテンシャルエネルギー低下: 最も単純には N:(δ^-)...M^{II} 静電相互作用による安定化)。その結果 π^* 軌道への励起エネルギー (ΔE) の増大がもたらされ、式 3 より、 σ_P の減少 (低磁場シフト誘起項の減少)、即ち、高磁場シフトがもたらされる。従って N7(G) への金属イオン配位結合による高磁場シフトには上記

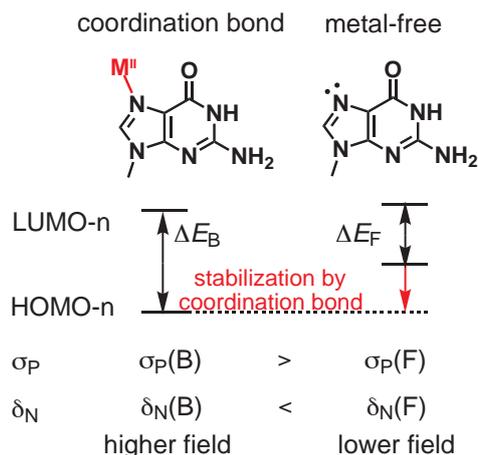


Figure 5 Theoretical background of ¹⁵N chemical shifts

の要因が関与していると考えられる。従って Appendix の内容を一般化することで、下記のような仮説（既出）が成り立つと考えられる。

窒素核上のローンペアが（化学結合による）束縛を受け励起しにくくなると ^{15}N 化学シフト値は高磁場シフトし、より自由に励起可能な状態になると低磁場シフトする。



気になった論文



秋山 元英 (あきやま もとふさ)
 奈良先端科学技術大学院大学 博士研究員
 mo-akiya@bs.naist.jp

この度は、生命科学研究レターへの執筆機会を頂きまして、誠にありがとうございます。現在、私は、奈良先端科学技術大学院大学・物質創生科学研究科のバイオメテック科学講座において、池田篤志准教授のもと、フラレーンの光線力学療法 (Photodynamic Therapy; PDT) への実用化を目指した研究を行なっております。

そこで今回は、私が研究を行なっている PDT に関する論文を 1 報と、PDT に用いる薬剤の患部に対する指向性を高めるという観点から、私が興味を持っております、Drug Delivery System (DDS) に関する論文を 2 報紹介させていただきます。

Photodynamic molecular beacon as an activatable photosensitizer based on protease-controlled singlet oxygen quenching and activation

G. Zheng, J. Chen, K. Stefflova, M. Jarvi, H. Li, and B. C. Wilson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 8989-8994 (2007).

PDT は、光感受性物質 (Photosensitizer; PS) を光照射により励起し、細胞傷害性の高い活性酸素種を発生することで、標的細胞を死滅させる療法であり、すでに一部の早期悪性腫瘍などに対して臨床応用が行われている治療法です。PDT は、定常状態では毒性の低い PS と低出力のレーザーを使用するため、生体への負担

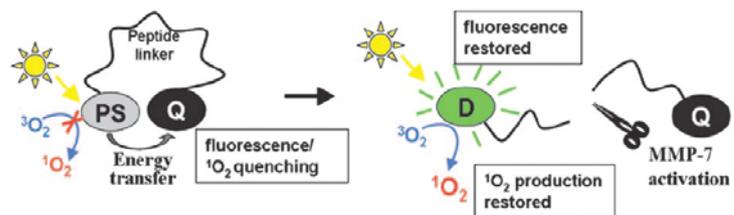


図 1. MMP7 の酵素活性依存的に活性化する PS (論文中より抜粋)。

が少ないのが特徴ですが、PS を投与することで光線過敏症を引き起こすなどの問題点があります。このような問題点に対し、PS を患部でのみ特異的に活性化するシステムの開発は重要であり、本報で筆者らは、Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) の原理をベースとした、目的の場所で特異的に活性化する Molecular Beacons (MB) のシステムと、PDT とを融合することで、PS が励起できる部位を制御するシステムを開発しています。

細胞外マトリックス分解酵素である Matrix Metalloproteinase-7 (MMP7) は、ガンの浸潤や転移に関わると考えられており、膵臓や結腸のガン、非小細胞肺癌、乳ガンなどにおいてその発現が高いことが知られております。そこで、筆者らは、PS とクエンチャーとを、MMP7 が認識・切断するペプチドリンカー配列により連結することにより、MMP7 を高発現しているガン細胞において、

切断を受けることで始めて PS が光照射により励起できる PS を合成し (図 1)、その評価を行なっています。まず、*in vitro* の実験において、PS として用いられている Pyropheophorbide (Pyro) が、クエンチャーである Black Hole Quencher 3 (BHQ3) と結合した状態下では、Pyro の光励起による蛍光および 1 重項酸素の発生が抑えられているが、MMP7 の酵素活性依存的に蛍光および 1 重項酸素が発生することが示されています。次に、細胞レベルでの実験において、MMP7 を発現している KB 細胞と、MMP7 を発現していない BT20 細胞を用い、KB 細胞においてのみ、Pyro の蛍光が観察され、光照射依存的な細胞傷害性があることを確認しています。さらに、KB 細胞を皮下移植したマウスに、この PS を静脈注射により投与した結果、ガン組織において Pyro の強い蛍光が観察されること、レーザー照射によりガン組織が消失することを示しています。本論文で用いられた PS は、標的となる細胞が MMP7 を発現していなければ利用できませんが、今後、同様な標的部位でのみ活性化する PS が開発され、PDT の安全性がさらに高まることが期待されます。

Transvascular delivery of small interfering RNA to the central nervous system

P. Kumar, H. Wu, J. L. McBride, K. E. Jung, M. H. Kim, B. L. Davidson, S. K. Lee, P. Shankar, and N. Manjunath, *Nature*, **448**, 39-43 (2007).

血液-脳関門 (Blood-Brain Barrier; BBB) は、血液と脳や脊髄を含む中枢神経系組織の組織液との間の物質交換を制限する機構であり、多くの物質が血液循環から中枢神経系へ入るのを阻害しています。神経系の疾患において、この BBB の存在は、治療薬の中枢神経系組織への効率的な輸送の大きな障害であり、遺伝子治療などにおいて、脳への遺伝子導入は、定位脳手術などにより外科的に遺伝子を直接注入する方法が行なわれています。

本報において筆者らは、狂犬病ウイルスの糖タンパク質 (Rabies Virus Glycoprotein; RVG) が、神経細胞表面に発現しているアセチルコリン受容体に特異的に結合することに着目し、RVG に由来する 29 アミノ酸残基のペプチド配列を用いることで、静脈注射による投与で、脳組織への特異的な small interfering RNA (siRNA) の輸送に

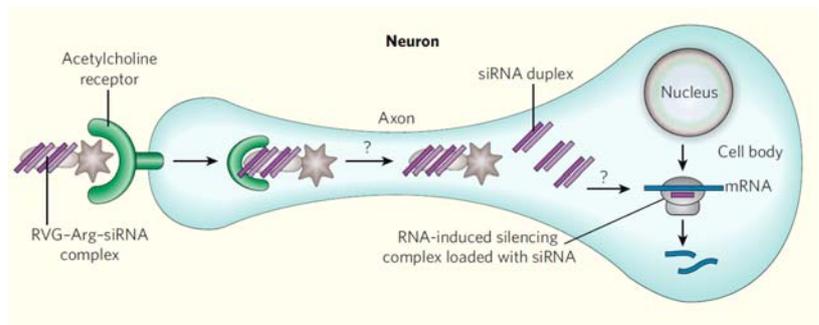


図 2. RVG-Arg をキャリアとした siRNA の神経細胞への輸送 (論文掲載号の NEWS & VIEWS より抜粋)。

成功しています (図 2)。論文では、まず培養細胞を用いた実験で、RVG ペプチドが、アセチルコリン受容体を発現している Neuro2a 細胞には結合するが、発現していない細胞には結合しないこと、その結合が α -ブングアロトキシン (アセチルコリンに強く結合するヘビの毒素) により阻害されることを示しています。また、RVG ペプチドは、核酸に対するキャリアとしての機能を有さないことから、カチオン性アミノ酸の D-アルギニン を 9 残基付加し (RVG-Arg)、アニオン性の核酸との結合を可能にしています。次に、蛍光タンパク質である GFP を発現している Neuro2a 細胞やトランスジェニックマウスにおいて、この RVG-Arg が siRNA のキャリアとして機能し、神経細胞や脳組織において、siRNA による遺伝子の発現抑制が起こることを、GFP に対する siRNA を用いて示しています。最後に日本脳炎ウイルスを感染したマウスにおいて、日本脳炎ウイルスに対する siRNA 治

療薬と RVG-Arg との複合体を静脈注射することで、対照実験では 100 %の個体が 10 日以内に死ぬのに対し、80 %の個体が 30 日以上生存できることを確認しています。狂犬病ウイルスの感染時において、ウイルス粒子は RVG を介し神経細胞に侵入することを考えますと、同手法は、リポソームやミセルなどのナノ粒子を用いた DDS にも応用可能であると予想されます。そういった観点から、これまで困難とされていた脳組織への核酸の輸送を可能にした本論文は、その応用性も含め、大変興味深いと思います。

Accumulation of liposome with Sialyl Lewis X to inflammation and tumor region: application to *in vivo* bio-imaging

M. Hirai, H. Minematsu, N. Kondo, K. Oie, K. Igarashi, and N. Yamazaki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **353**, 553-558 (2007).

E-セレクトインは、関節炎や癌などの炎症部位において、IL-1 β や TNF- α などの炎症性サイトカイン刺激により血管内皮細胞に発現するレクチンです。白血球の細胞表面には、E-セレクトインが認識する糖鎖である Sialyl Lewis X (SLX)が存在しており、SLX と血管内皮細胞上の E-セレクトインとが結合と解離を繰り返すことで、血中を流れてきた白血球は、炎症部位で減速します。この過程をローリングと呼び、この様な機構により白血球は、炎症部位に集積すると考えられています。このことを利用し、筆者らは、SLX をリポソーム表面に結合することで、炎症領域への親和性を高めたリポソームを作製しています。

論文では、SLX 結合リポソームを、さらに蛍光色素である Cy5.5 で標識し (SLX-Lipo-Cy5.5)、関節炎発症モデルマウスにおいて、静脈注射した SLX-Lipo-Cy5.5 が、注射 24 時間後において、SLX 依存的に炎症部位に集積することを確認しています(図 3)。さらに、エールリッヒ腹水ガン細胞を皮下移植したマウスを用いて同様な実験を行い、このリポソームが SLX 依存的に注射後 48 時間まで徐々にガン組織に集積することを示しています。現在、この様な炎症部位に指向性が高いリポソーム以外に、ガン組織への指向性を高めたリポソームなども開発されており、今後これらを用いた DDS の発展に期待したいと思います。

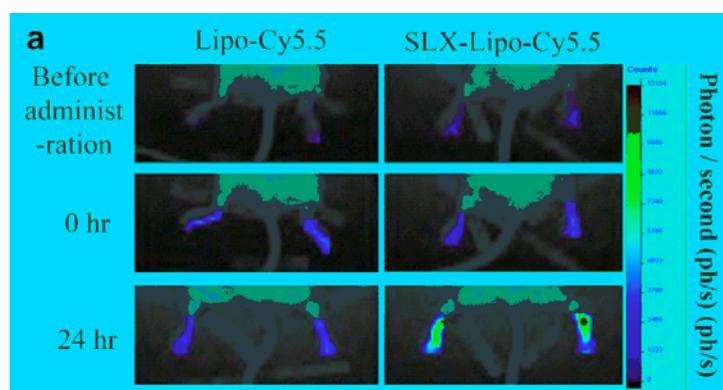


図 3. SLX-Lipo-Cy5.5 の関節炎部位への集積。関節炎発症マウスにおいて、SLX-Lipo-Cy5.5 が関節部位に集積している様子が、Cy5.5 の蛍光強度により確認されている。この集積は、SLX が結合していないリポソーム (Lipo-Cy5.5) では観察されない(論文より抜粋)。



迎 文都子 (むかえ もとこ)

熊本大学大学院自然科学研究科博士後期課程 2 年

061d9211@st.kumamoto-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」へ投稿する機会を与えて頂き、感謝しております。私は、熊本大学大学院自然科学研究科の井原敏博准教授の下で研究を行っている迎 文都子と申します。DNA コンジュゲートを用いた光化学ライゲーション、さらにこれを利用した核酸分析への応用についての研究を行っています。今回は、「L 型 DNA を使ったモレキュラービーコン」、 「金ナノ粒子-ODN による RNA の検出」および「光による PCR の制御」についての論文を紹介させていただきます。

Superior structure stability and selectivity of hairpin nucleic acid probes with an L-DNA stem

Y. Kim, C. J. Yang and W. Tan, *Nucleic Acids Res.*, **35**, 7279-7287 (2007).

モレキュラービーコン (MB) は、ステム部分とループ部分から成り、末端に蛍光物質と消光物質を結合したプローブです。ターゲットが存在しないときにはクローズ型となり、消光しています (Fig. 1-d)、ターゲットが存在するとループ部分と二本鎖を形成し、蛍光を示します (Fig. 1-a)。これまでに、様々な MB が報告され、RT-PCR や mRNA のリアルタイムモニタリングに応用されています。しかし、ステム部分とターゲットとの非特異的な結合 (Fig. 1-b)、MB 内 (ステムとループ)

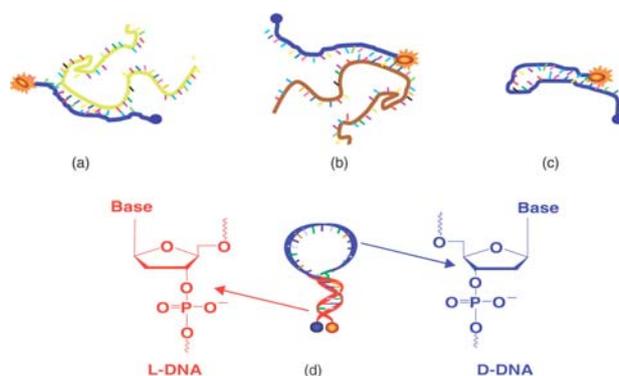


Fig. 1 L-DNA を用いたモレキュラービーコン

での結合 (Fig. 1-c) による発光、細胞内に導入するための酵素耐性が問題点として挙げられます。そこで筆者らはステム部分に L 型の DNA を用いた MB (LS MB) を合成・評価について報告しています。L 型 DNA は D 型 DNA とは二本鎖を形成しないので、前述の非特異的な結合を抑えることができると考えられます。LS MB は DS MB (ステム部分が D 型 DNA の従来型 MB) のオープン型とクローズ型の蛍光強度の比を比較すると、DS MB より LS MB の方が約 2 倍大きいことが示されました。これは、LS MB ではステムとループの相互作用を抑えることができ、バックグラウンドシグナルの低下につながっていると考えられています。また、ステムに相補的なターゲットが存在する場合、DS MB では蛍光が見られますが、LS MB では見られず、ステム部分とターゲットの非特異的な結合も抑制できていることが示されています。さらに、ループ部分を 2-O-Me RNA に変えることにより、DNase I などの酵素への耐性があることがわかり、今後は細胞内における検出が期待されます。

Nano-Flares: Probes for transfection and mRNA detection in living cells

D. S. Seferos, D. A. Gilijohann, H. D. Hill, A. E. Prigodich, and C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 15477-15479 (2007).

この論文では、ODN-金ナノ粒子プローブ「ナノフレア」を用いた細胞内での mRNA の定量、可視化について報告されています。Fig. 2 に示すように、金ナノ粒子にターゲット RNA を認識するオリゴヌクレオチドを結合します。これに Cy5 を結合した短いオリゴヌクレオチド（フレアストランド）をハイブリダイズさせておきます。この状態では、Cy 5 と金ナノ粒子との距離が近いので、消光しています。長いターゲット RNA が存在すると、フレアストランドはターゲットと置き換わり、金ナノ粒子から離れるため、蛍光を発します。ナノフレアの特長は、金微粒子による効率の良い消光のためバックグラウンドシグナルが低いこと、細胞へ導入するための試薬を必要としないこと、ODN-金ナノ粒子コンジュゲートの酵素耐性が挙げられます。ターゲットとして合成オリゴを用いた場合、3.8 倍の蛍光強度の増大が見られました (Fig. 2-b)。さらに生細胞内でのナノフレアの検討も行われており、目的とする mRNA が存在する場合には、その細胞が発光している様子が示されています。

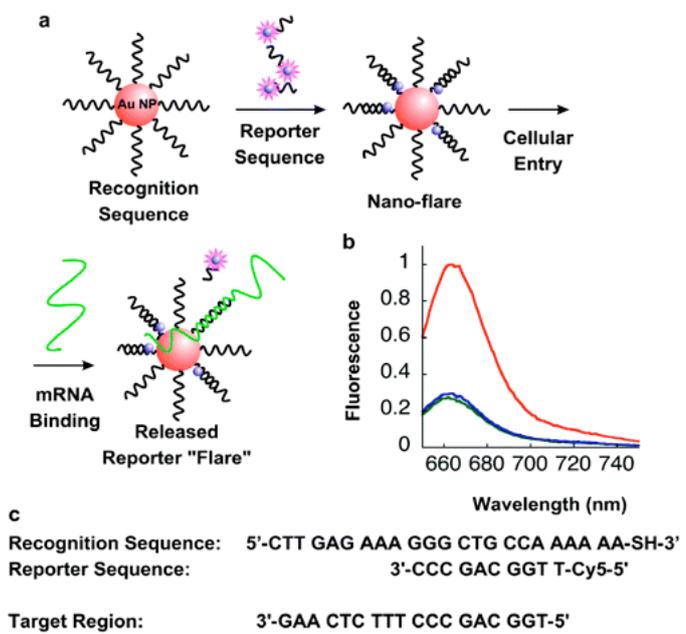


Fig. 2 “ナノフレア”による mRNA の検出

Light-triggered polymerase chain reaction

D. D. Young, W. F. Edwards, H. Lusic, M. O. Lively and A. Deiters, *Chem. Commun.*, 462-464, (2008).

Caging グループをもつチミンを導入したプライマーによる PCR 反応の制御が報告されています。Caging グループとは、Fig. 3 の赤色で示した部分であり、光照射によって除去することができます。融解実験より、光照射前までは caging グループのために二本鎖が不安定化し、光照射後は caging グループがはずれ、安定した二本鎖を形成していることが示されています。そこで、このプライマーを利用して、光照射により PCR をスタートさせる系 (Fig. 4, 青色のプライマー) が検討されました。光照射後のプライマーでは PCR 産物が確認されていますが、未照射のものは PCR 産物の生成は見られませんでした。

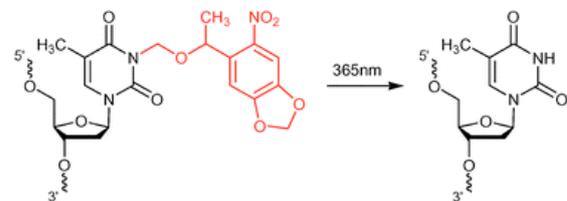


Fig. 3 caging グループを結合したチミンと光照射による caging グループの除去

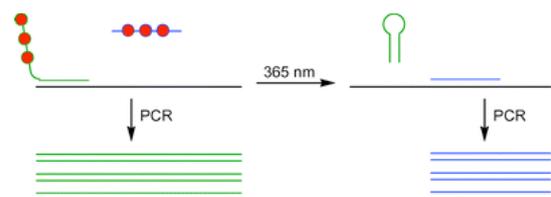


Fig. 4 光による PCR 反応の制御

た。逆に光照射によって PCR をストップするプライマーの設計も行われています (Fig. 4, 緑色のプライマー)。このプライマーはヘアピン構造を形成でき、さらに片方の末端がプライマーとしてはたらくように設計されています。光照射前は caging グループがヘアピン形成を阻害し、PCR のプライマーとしてはたらくことができます。しかし光照射によって caging グループがはずれると自身でヘアピン構造を形成するため、プライマーになることができず、PCR 反応がストップすることが示されています。さらに、この二つのプライマーを同時に使い、一回の PCR で鎖長が異なるふたつの PCR 産物を得る実験が行われています。光照射前は、~1.0kb の PCR 産物 (緑色のプライマーが ON、青色のプライマーが OFF)、光照射後は ~0.6kb の PCR 産物 (青色のプライマーが ON、緑色のプライマーが OFF) が確認されています。リアルタイム PCR のサーマルサイクラーを用いることで、さらに容易に制御できると考えられており、このプライマーによって非特異的な PCR 産物を防ぐことができると期待されています。



湯澤 賢 (ゆざわ さとし)

東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 博士課程 3年

東京大学先端科学技術研究センター

yuzawa@cbl.rcast.u-tokyo.ac.jp

この度は生命科学研究レターへ執筆する機会を与えて頂き心より感謝致します。現在、私は東京大学先端科学技術研究センターの菅裕明教授の下、ヒストンタンパク質の翻訳後修飾に着目し、位置選択的に翻訳後修飾を受けたヒストンの合成法の開発に加え、ヒストンの翻訳後修飾と遺伝子の転写制御のメカニズムに関する研究を行っております。

皆様は、タンパク質の翻訳後修飾というとまず何を思い浮かべるでしょうか？おそらく、リン酸化やグリコシル化 (糖鎖修飾) ではないかと思えます。しかし、今回私が取り上げた話は、リン酸化でもグリコシル化でもありません。メチル化の話です。メチル化は、リン酸化と違って、荷電状態を特に変える訳でもありませんし、グリコシル化のように大きな修飾でもありません。それにもかかわらず、“細胞はメチル化を最も重要な翻訳後修飾と位置づけているかもしれない”、そんなことを予見させる研究成果が 2000 年以降続々と発表されています。冒頭で紹介したヒストンもメチル化を受ける代表的なタンパク質ですが、がん抑制タンパク質として有名な p53 もメチル化を受けることが 2004 年 Nature 誌で初めて発表されました。その後も 2006 年 Nature 誌、2007 年 Nature 誌と発表が相次ぎ、p53 のメチル化の意義が少しずつ明らかになってきました。そこで、今回は、今後大きなブレークスルーをもたらすことが期待される“p53 のメチル化”に関して紹介させていただきます。

Regulation of p53 activity through lysine methylation

Sergel Chuikov, Julia K. Kurash, Jonathan R. Wilson, Bing Xiao, Neil Justin, Gleb S. Ivanov, Kristine McKinney, Paul Tempst, Carol Prives, Steven J. Gambelin, Nickolai A. Barlev & Danny Reinberg *Nature* **432**, 353-360 (2004).

p53 は、がん細胞の 50%において変異がみられる転写因子です。通常の細胞では、p53 が DNA に損傷がないかを常に監視し、損傷がひどい場合には細胞周期を止めて、その細胞を死に追いやることのでん化を抑制しています。そして、このような機能を発揮するには、翻訳後修飾が欠かせません。翻訳後修飾としては、セリンのリン酸化に加え、リシンのアセチル化がこれまで知られていましたが、この論文で初めて“メチル化”が報告されました。その発端は、もともとヒストンのメチル化酵素として知られていた Set9 の基質特異性を調べることであったようです。その結果、p53 も基質になることが見事に発見されたのです。Set9 による p53 のメチル化は、他にも様々な翻訳後修飾を受ける C 末端側の Regulatory ドメイン内の 372 番目のリシン特異的に起こります (図 1)。重要なのは、Set9 による 372 番目のリシンのメチル化は、*in vitro* だけではなく、*in vivo* でも起こることが示されたことです。また、DNA の損傷とリンクしていることも分かりました。さらには、このメチル化によって、通常はユビキチン-プロテアソーム系によって分解され続けている p53 の安定性が向上すること、細胞周期を止める役割を果たす p21 の転写を促すことも分かったのです。つまり、こうです。DNA に損傷を受けると、何らかの機構で Set9 が活性化され、p53 の 372 番目のリシンがメチル化される。そして、分解から逃れた p53 は、p21 の転写を促し、細胞周期を止め、細胞を死に追いやる。こう

なると、Regulatory ドメイン内の他のリシンはメチル化されるのか、どんな役割を果たしているのかが気になります (よね)。次の論文では、まさにそのことについてお話しします。

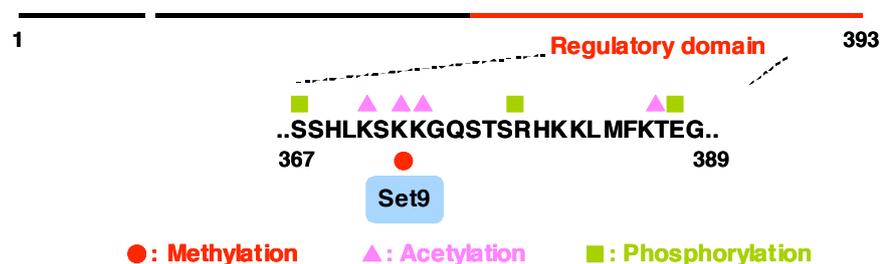


図 1 p53 の翻訳後修飾

Repression of p53 activity by Smyd2-mediated methylation

Jing Huang, Laura Perez-Burgos, Brandon J. Placek, Roopsha Sengupta, Mario Ritcher, Jean A. Dorsey, Stefan Kubicek, Susanne Opravil, Thomas Jenuwein & Shelley L. Berger, *Nature* **444**, 629-632 (2006).

p53 のメチル化が発見されてからちょうど 2 年後、新たな p53 のメチル化酵素 Smyd2 の存在が報告されました。以前報告された Set9 との違いは、Smyd2 は、372 番目のリシンではなく、370 番目のリシンのメチル化を触媒することです。そして、何より驚いたのは、メチル化の位置がほんの少しずれただけで全く逆の役割を果たすことです。372 番目のリシンのメチル化は、p21 の転写を促し、細胞周期を止め、細胞を死に追いやることはすでにお話

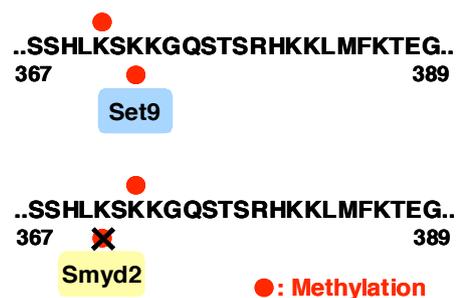


図 2 翻訳後修飾のクロストーク

したとおりですが、370 番目のリシンのメチル化は、p21 の転写を抑制することが分かったのです。また、興味深いことに、370 番目のリシンのメチル化と 372 番目のリシンのメチル化の間での“クロストーク”もこの論文では報告されました。クロストークとは、互いに影響を及ぼし合うということです。Set9 による 372 番目のリシンのメチル化は、370 番目のリシンがメチル化されているようがいまいが影響は受けないのですが、Smyd2 による 370 番目のメチル化は、372 番目のリシンがメチル化されると阻害されることが分かりました (図 2)。これは、細胞にとって重要な意味をもちます。つまり、一度細胞死の合図である 372 番目のリシンのメチル化が起これば、思い直してそれを抑制しようとしても後の祭だということです。がん化を抑制するためとはいえ、なんだか残酷ですね。

p53 is regulated by the lysine demethylase LSD1

Jing Huang, Roopsha Sengupta, Aleksandra B. Espejo, Min Gyu Lee, Jean A. Dorsey, Mario Ritcher, Susanne Opravil, Ramin Shiekhattar, Mark T. Bedford, Thomas Jenuwein & Shelley L. Berger

Nature **449**, 105-108 (2007).

最後は、p53 のメチル化ではなく、p53 の“脱メチル化”の話になります。ですが、その前にメチル化に関して少しだけ込み入った話をさせて下さい。これまではメチル化と一言にまとめて説明してきましたが、実はメチル化には、モノメチル化、ジメチル化、トリメチル化が存在します。リシン側鎖のアミノ基にメチル基がいくつ結合するかということです。ちなみに Set9 や Smyd2 は、モノメチル化を触媒する酵素です。以上ですが、この論文では、その点が重要になりますので。それでは本題に入りますが、p53 の脱メチル化は、LSD1 という脱メチル化酵素によって触媒されます。もちろん LSD1 による脱メチル化も特異的で、372 番目ではなく 370 番目のリシンのメチル化のみを除去します。しかも、ジメチル化からモノメチル化への反応を触媒するようです。また、2 番目に紹介した論文では、370 番目のメチル化は p21 の転写を抑制するという話しをしましたが、正確には 370 番目のモノメチル化は p21 の転写を抑制します。しかし、370 番目のジメチル化は p21 の転写を促すようです。複雑ですね。つまり、LSD1 は、370 番目のリシンのジメチル化からモノメチル化への反応を触媒することで、p21 の転写を抑制します。また、370 番目のリシンのジメチル化がどのように p21 の転写を促しているかも一部明らかにされました。これには、370 番目のリシンがジメチル化された p53 を特異的に認識するタンパク質が関わっています。それは、53BP1 というタンパク質で転写の補助因子です。重要なのは、モノメチル化でもトリメチル化でもなく、“ジメチル化”を認識して結合することです (図 3)。

以上全ての話をまとめると、p53 の機能は、Regulatory ドメイン内のどのリシンをメチル化するか、またどの程度メチル化するかによって厳密に制御されていることが分かってきました。また、Regulatory ドメイン内には、他の翻訳後修飾も共存しています。おそらく、細胞内では、これらの翻

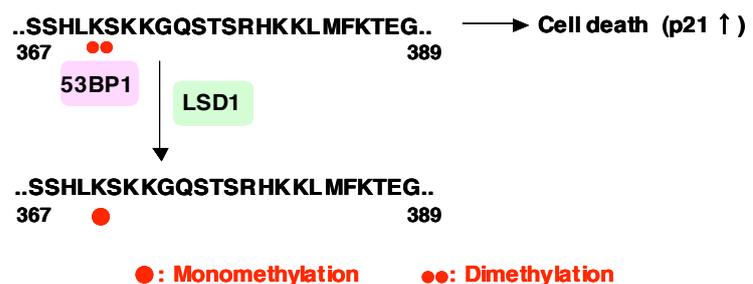


図 3 p53 の脱メチル化と細胞死

訳後修飾がダイナミックに制御され、p53 の機能を調節しているのではないかと推察されます。同様の現象は、ヒストンでも見られます。ヒストンにも **Regulatory** ドメインに相当するヒストンテールなるものが存在し、1つ1つの翻訳後修飾、もしくはその組み合わせが言葉となり、細胞への1つのメッセージを規定するというヒストンコード仮説が提唱されています。今後の研究の進展によっては、p53 コード仮説も近いうちに提唱されるかもしれません。



狩俣 寿枝 (かりまた ひさえ)

甲南大学大学院自然科学研究科 生命・機能科学専攻 生命分子化学研究室 博士後期課程3年
dn522001@center.konan-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「論文紹介」への執筆機会を頂き、感謝致します。私は、甲南大学大学院自然科学研究科で杉本直己教授のご指導のもと研究を行っております。研究テーマは、分子環境が核酸の構造や安定性に及ぼす影響の定量的解析です。分子環境によって核酸の構造や安定性が厳密に制御できれば、核酸を用いた新しいテクノロジーの開発につながると考えています。今回は、核酸を用いたテクノロジー開発の糸口となり得る3報の論文を紹介させていただきます。

Modulation of DNA constraints that control macromolecular folding

C. V. Miduturu and S. K. Silverman, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 1918-1921 (2006).

まず、RNA の糖部位の 2'OH を DNA 鎖で修飾し、僅か数塩基の DNA 鎖によって 160 塩基の RNA の高次構造を制御した論文を紹介します。タンパク質や RNA などの巨大分子は高次構造を形成することにより、その機能（酵素活性など）を発揮します。これらの巨大分子の高次構造のフォールディングを制御できれば、巨大分子の機能制御が可能になると期待できます。

Tetrahymena

group I intronは自

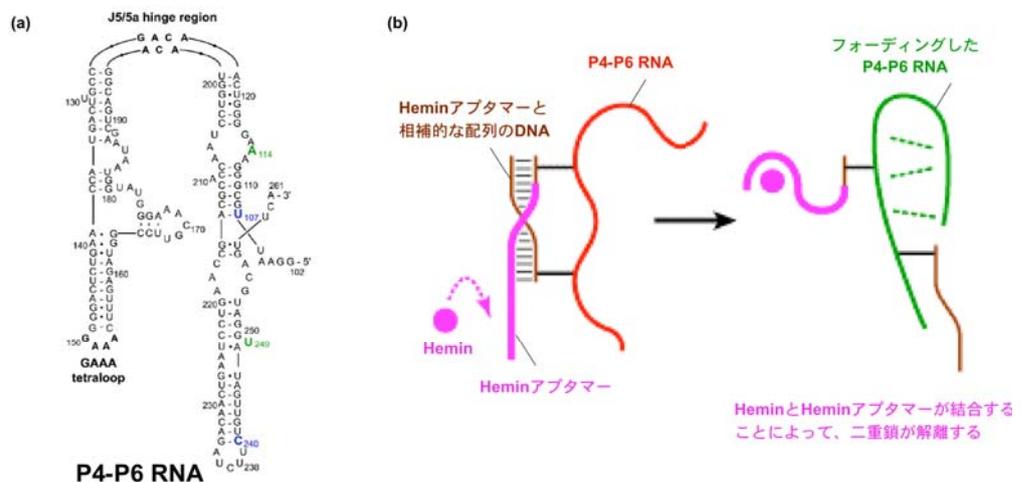


図 1. (a) P4-P6 RNA の二次構造。(b) 短鎖 DNA によって P4-P6 RNA の三次構造を制御した模式図 (論文より抜粋、一部改変)

己切断活性をもつRNAであり、切断活性にはこのRNAの高次構造のフォールディングが重要です。筆者らは、*Tetrahymena* group I intronのP4-P6ドメインRNA (フォールディングのコアとなる領域) (図1a)の高次構造のフォールディングを制御するために、P4-P6ドメインRNAの107、240番目の塩基の2'水酸基を2種類のDNAオリゴマーによって修飾したRNA鎖を合成しています。修飾に用いたDNAオリゴマーは、Heminのアプタマー配列を組み込んだDNAオリゴマーとHeminのアプタマー配列と相補的な配列をしたDNAオリゴマーです。これらの2本のDNAオリゴマーは通常二重鎖を形成し、P4-P6ドメインRNAのフォールディングを阻害します。しかし、Heminを添加すると、HeminのアプタマーDNAとHeminが結合するため、二重鎖が解離し、P4-P6ドメインRNAはフォールディングします (図1b)。筆者らは、Heminの有無によってP4-P6ドメインRNAのフォールディングを制御できると報告しています。このように、アプタマーを用いてRNAの高次構造のフォールディングを制御する手法は画期的であり、この手法はRNAの構造だけでなく、機能までも自在に制御できると期待できます。

Influence of hydrostatic pressure and cosolutes on RNA tertiary structure.

C. D. Downey, R. L. Ceisman, T. W. Randolph, and A. Pardi, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 9290-9291 (2007).

次に、RNAの高次構造のフォールディングをhydrostatic pressure (静水圧)を加えた条件下で定量的に解析した論文について紹介します。溶液中の核酸構造の安定性には、核酸の水和が重要な役割を果たしますが、核酸の高次構造のフォールディングにおける水和構造については未だ明らかになっていません。Hydrostatic pressureを加えた条件下での核酸の構造安定性を測定することにより、核酸の水和構造を知ることができます。前述した*Tetrahymena* group I intronのP4-P6ドメインは、RNAの高次構造のフォールディングのモデル分子として、しばしば用いられます。筆者らは、RNAの高次構造のフォールディングに及ぼす水和の効果について知るために、*Tetrahymena* group I intronのP4-P6ドメインの構造をもとに、tetraloop-receptorを設計し (図2)、tetraloop-receptorの安定性に及ぼすhydrostatic pressureの影響について調べています。このtetraloop-receptorは、 Mg^{2+} を添加する前は、アンフォールディング構造 (undocked構造)を形成し、 Mg^{2+} を添加するとtetraloopとreceptor部位が折り畳まれたフォールディング構造 (docked構造)を形成します (*Biochemistry*, **45**, 3664-3673 (2006)) (図2)。 $\ln K_{dock}$ (tetraloop-receptorのundockedからdocked構造形成における見かけの平衡定数)とhydrostatic pressure相関から、undocked構造とdocked構造の体積の違いである ΔV を算出することができます (この値が正であるとフォールディング時に脱水していることを示します)。1 mMおよび 0.2 mM Mg^{2+} を含む溶液での ΔV は9または6 kcal/molとなり、 Mg^{2+} 濃度が高いほどフォールディング時に多くの水分子を放出することが示されています。この違いから低 Mg^{2+} 濃度ではdocked構造が不安定であるため、tetraloop-receptorの水和構造に空孔が生じていると考察されています。

また、共存溶質を溶液に添加し溶液の浸透圧を増加させると、フォールディングの際に脱水する構造は安定化、水和する構造は不安定化することが知られています。筆者らは、溶液にPEG400 (平均分子量400のポリエチレングリコール)などの共存溶質を添加することでdocked構造が安定化することも報告しています。核酸の

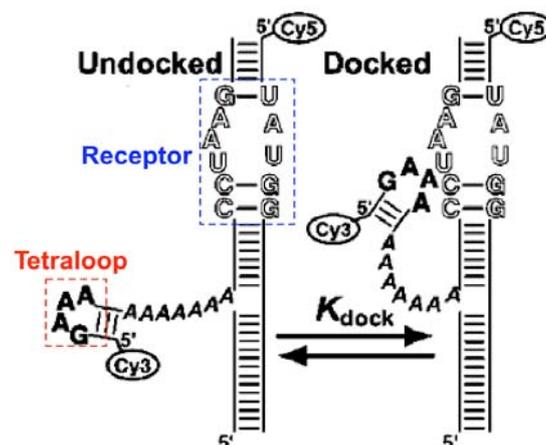


図2. Tetraloop-receptorのundocked構造とdocked構造 (論文より抜粋、一部改変)

水和構造を知ることが、共存溶質が核酸の構造安定性に及ぼす影響を予測するために重要です。本論文から得られた知見は、溶液環境によってRNAの高次構造のフォールディングを制御するために有用であると期待できます。

Interaction of monomolecular G4-DNA nanowires with TMPyP : Evidence for intercalation

I. Lubitz, N. Borovok, and A. Kotlyar, *Biochemistry*, **46**, 12925-12929 (2007).

最後に、G-ワイヤー構造に対するTMPyP [5,10,15,20-Tetrakis (N-methyl-4-pyridyl) porphyrin]の結合様式について言及している論文を紹介いたします。G-ワイヤー構造とは、4本のDNA鎖がG-カルテットを形成することで平行型に結合したDNAの高次構造です。TMPyPは、DNA四重鎖にインターカレートし、DNA四重鎖を安定化させることや、DNA四重鎖の導電性を上げることが報告されており、核酸を用いたナノテクノロジーにおいて重要であると注目されています。しかし、TMPyPとDNA四重鎖の結合様式は、G-カルテットにインターカレートする他に、四重鎖のグループに結合する可能性もあり、これらの結合様式を制御することが求められています。

G-カルテット面の中央にはカチオンが配位していると考えられますが、筆者らはLi⁺を含む溶液中で poly(dG) を長時間インキュベートすることで、カルテット面にカチオンが配位していないG-ワイヤー構造 (Li型G-ワイヤー) が形成されると報告しています (*Adv. Mater.* **17**, 1901-1905 (2005))。さらに、このG-ワイヤー構造にK⁺を添加しインキュベートすることで、G-カルテットの中央にK⁺が配位したG-ワイヤー構造 (K型G-ワイヤー) が形成されることも報告されています。本論文では、四重鎖構造へのTMPyPの結合様式を明らかにするために、TMPyPとLi型G-ワイヤー及びK型G-ワイヤーの相互作用について検討しています。

TMPyPは、422 nmには π - π^* 遷移に起因するソーレ帯と呼ばれる強い吸収帯をもち、ソーレ帯の電子状態はTMPyPが核酸と結合することで変化します。また、分子中に不斉炭素を持たないTMPyPは、キラルな分子である核酸に結合することでソーレ帯波長付近において誘起CDが観測されます。筆者らは、紫外吸収スペクトルとCDスペクトルを測定することによって、TMPyPとLi型G-

ワイヤー及びK型G-ワイヤーの結合を追跡しています。その結果、TMPyPとLi型G-ワイヤーは π 電子同士の強い相互作用によって結合し、TMPyPとK型G-ワイヤーはTMPyPとLi型G-ワイヤーの結合力より弱いことが示されました。ソーレ帯波長付近でのCDを測定した結果、TMPyPはLi型G-ワイヤーへインターカレートし (図3a)、K型G-ワイヤーへはワイヤー構造のグループに結合することが示されました (図3b)。この結果は、溶液中のカチオンを変えることで、四重鎖へのポルフィリンの結合様式を制御できる可能性を示唆しています。本論文より得られた知見は、ポルフィリンと四重鎖を用いたナノテクノロジーの開発につながると期待できます。

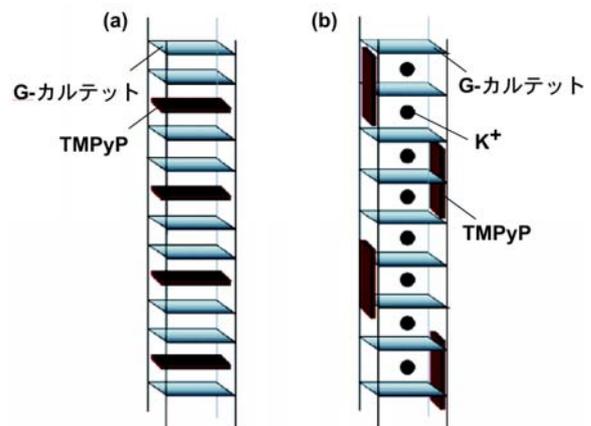


図 3. (a) Li 型 G-ワイヤーに対して結合している TMPyP (b) K 型 G-ワイヤーに対して結合している TMPyP (論文より抜粋、一部改変)

生命化学研究法

NMR による RNA の立体構造解析

千葉工業大学 工学部 生命環境科学科 坂本泰一

tsakamoto@sky.it-chiba.ac.jp

近年、多くの機能性 RNA が生命現象に関わっていることが明らかとなったり、RNA 医薬品が開発されるなどにより、RNA 研究は大変注目されている¹⁾。これらの RNA の作用メカニズムを明らかにするには立体構造解析が重要であるが、RNA の立体構造解析はタンパク質に比べて遅れている。Protein Data Bank (PDB)²⁾に登録されているタンパク質の構造は 43,842 個であるのに対して、RNA の構造は 605 個しかない (2007 年 12 月)。登録されているタンパク質について解析法をみると、NMR によって構造決定されたものは 5,991 個であり、X 線結晶構造解析の 37,658 個と比べて少ない。一方、RNA についてみると、NMR によって決定されたものが 321 個であるのに対し、X 線結晶構造解析によって決定されたものが 273 個であり、NMR で構造決定されたものの方がやや多い。タンパク質の場合には X 線結晶構造解析法は有効であるが、RNA の場合には単結晶を作るのが難しいのである。

このように、RNA の構造解析には NMR 法が有効であるが、NMR によるタンパク質の立体構造解析に比べると難しい。その理由として、次の 3 つのことがあげられる。①タンパク質は 20 種類のアミノ酸から構成されているのに対して、RNA は 4 つのヌクレオチドから構成されている。また、RNA のリボース部分は、すべて同じ化学構造を持っている。これらのことにより、RNA の NMR シグナルはタンパク質のものに比べて重なりが激しく、解析が困難となっている。②RNA は二重結合が多く、窒素、酸素、およびリン原子を含むため、プロトンの密度がタンパク質に比べて低い。このため、¹H-NMR より得られる構造情報の数は、タンパク質の場合より少ない。③タンパク質の NMR シグナルの解析ではスピン結合を介した連鎖帰属が可能であるため、シグナル帰属の自動化が進んでいる。一方、RNA の場合は立体構造に依存した NOE を利用して連鎖帰属を行うため、シグナル帰属の自動化が難しい。

以上のように、NMR による RNA の立体構造決定には解決すべき問題がある。そのため私たちは、効率よい解析法を開発しながら、立体構造解析を行っている。NMR による RNA の立体構造解析法の基本については、Wüthrich の本で紹介されている³⁾。また、近年の技術開発も含めて詳しい総説が書かれている^{4,7)}。ここでは、私たちの研究室で行っている方法について紹介する。

RNA 試料の調製

NMR によって RNA の立体構造を決定するためには、約 1 mM の試料を約 0.2 ml 調製する（近年普及しつつある高感度プローブを使用すれば、もっと薄くてもよい）。また、立体構造解析を効率よく行うためには、安定同位体標識が必要となる。安定同位体は高価であるため、試料調製の収率はとても重要である。試料調製の方法としては、化学合成と酵素合成がある。短鎖の RNA を調製する場合や酵素合成の収量が低い場合には、化学合成を行う。また、1 残基のみなど、部位特異的に安定同位体標識する場合にも化学合成は有効である。一方、長鎖の RNA を調製する際には、酵素合成を行う。また、安定同位体標識した NTPs（大陽日酸社製）を転写反応に用いることによって、RNA の安定同位体標識を行う。

T7 RNA ポリメラーゼを用いた調製法について述べる。はじめに、プロモーター配列を付加した鋳型 DNA を外注する。次に、鋳型 DNA を変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) で精製し（図 1）、ハンディ UV 照射ランプで DNA のバンドを確認してゲルを切り出す（図 2）。切り出したゲルから DNA を水で抽出した後（図 3）、エタノール沈澱法を行い、最後に UV 分光計により定量する。変性 PAGE により DNA を精製する際には、特注の 1 mm 厚のスペーサーおよびコムを使用している。転写反応には、Ampliscribe T7 Flush Transcription kit (Epicentre Technologies 社製) を使用している。転写反応後には、鋳型 DNA の調製と同様に変性 PAGE を用いて精製する。さらに、試料のコンフォメーションを整えるために、95°C で 3 分間加熱した後、一本鎖のヘアピン構造の場合には急冷し、二本鎖以上の場合には徐冷する。最後に、セントリコン（ミリポア 社製）の限外ろ過膜を用いて、試料の濃縮および溶媒の交換を行った後、マイクロ対称試料管（シゲミ 社製）に試料を入れる。

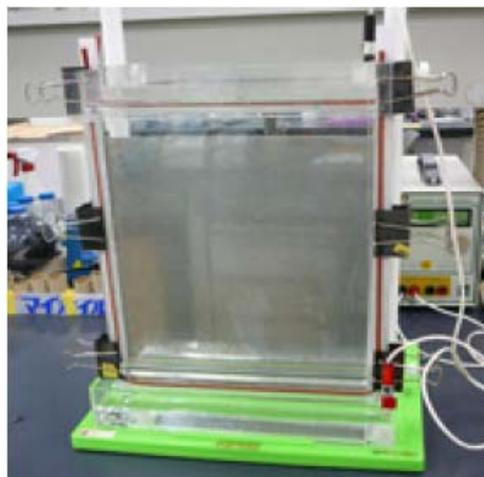


図 1 変性 PAGE



図 2 核酸の切り出し



図 3 ゲルからの核酸抽出

NMR スペクトルの測定および解析

RNA の NMR スペクトルを測定した時に観測されるプロトンの化学シフトを図 4 に示す. 軽水中で易動性のプロトンについて一連の測定をした後に溶媒を重水に置換してさらに測定を行う. はじめに, 構造解析しやすい (シグナルがシャープで分離がよい) NMR スペクトルを得るために, 温度や溶液の検討を行う. 良好なスペクトルが得られるか, あるいは立体構造解析を効率よく進められるか否かは, 実際に測定してみないとわからないので, 構造解析の難しいところの一つとなっている.

軽水中の測定で 10~15 ppm に観測されるグアニンとウラシルのイミノプロトンシグナルは, 塩基対形成の情報を与える (図 5). A:U 塩基対におけるイミノプロトンは, 13.5~15 ppm の間に観測されることが多く, G:C 塩基対では 12~14 ppm, 非 Watson-Crick 型の塩基対はそれより高磁場側に観測されることが多い. イミノプロトンシグナルを帰属するためには, NOESY スペクトルを解析する. イミノプロトンを帰属すれば, RNA の二次構造が明らかとなる.

重水中の測定では, 非易動性のプロトンのシグナルが得られるが, 3.5~5 ppm 付近はシグナルの重なりが激しく, 解析が非常に難しい. H2', H3', H4', H5', H5'' のシグナルが非常に狭い範囲に観測されるためである. 図 6 のスペクトルは, 600 MHz の NMR 分光計 (DRX600; Bruker 社製) で測定したものであるが, さらに高磁場の装置を使用すれば, シグナルの分離がよくなる.

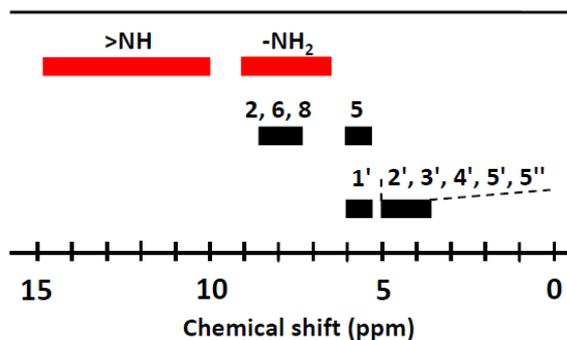


図 4 RNA のプロトンの化学シフト. 上段 (赤) は易動性プロトン. 中段は塩基部分のプロトン. 下段はリボース部分のプロトン.

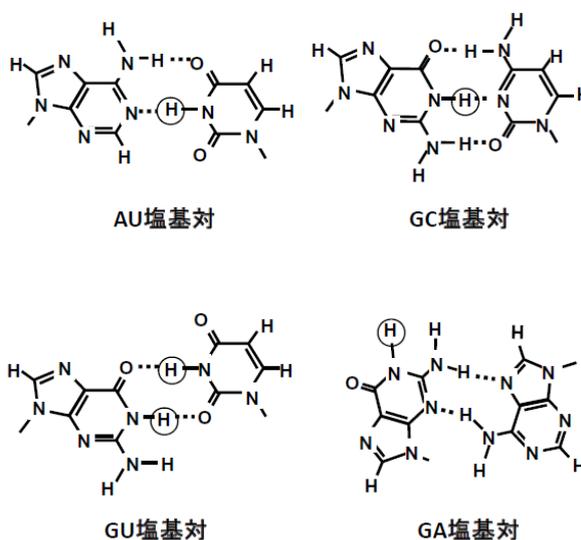


図 5 RNA によく見られる塩基対. 丸で囲んだプロトンはイミノプロトン.

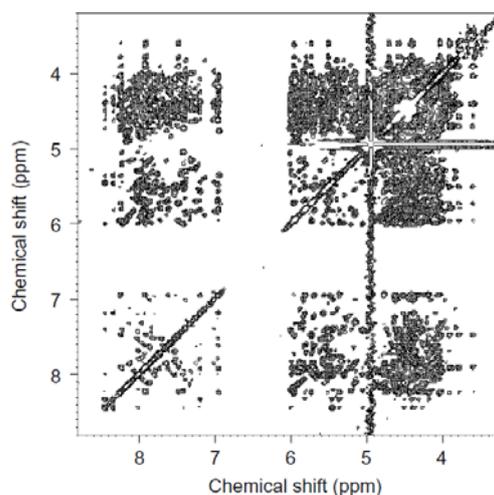


図 6 2D NOESY スペクトル (重水中).

非易動性のプロトンシグナルを帰属するために、図7に示すような連鎖帰属を行う。図7に示した NMR スペクトルの領域には、H8, H6 および H2 (横軸) と H1' および H5 (縦軸) との間の NOE が観測される。RNA の化学構造にそって残基内の H8/H6 と H1' の NOE, そして残基間の H8/H6 と H1' の NOE (赤丸) を線でつないでいくことによって連鎖帰属する。この領域のシグナルの帰属結果を利用して、シグナルの重なりが多い領域 (3.5~5 ppm 付近) を解析する。ただし、シグナルの重なりが多い領域の解析には、安定同位体標識が必須である。NMR スペクトルの解析ソフトウェア Felix (Accelrys 社製) を用いて、帰属したシグナルの体積をプロトン間の距離情報に変換して、構造計算に用いる拘束条件ファイルを作成する。NOESY スペクトルのシグナルを多く帰属することができれば、精度よく立体構造を決定することができる。

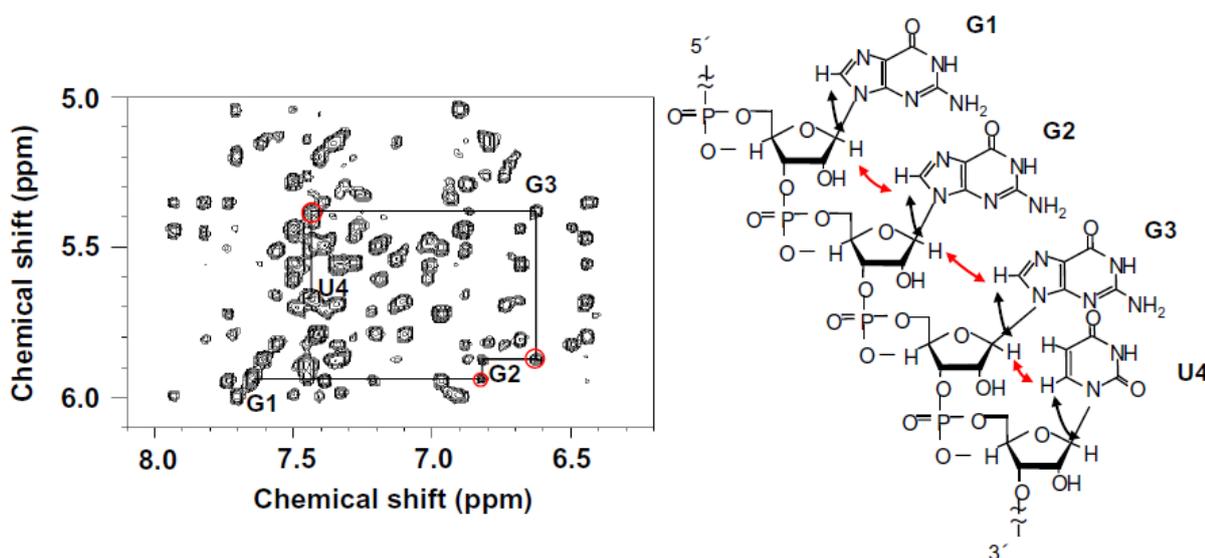


図7 2D NOESY スペクトルの連鎖帰属。(塩基のプロトンとリボースの H1' との間での NOE が観測される領域)。4 残基について連鎖帰属の結果を線で表し、残基内の NOE シグナルについて残基番号、残基間の NOE シグナルを赤丸で示した。右の図の黒い矢印は残基内の NOE を表し、赤い矢印は残基間の NOE を表す。

立体構造計算

NOESY スペクトルから作成した拘束条件ファイルに、塩基対の情報と化学結合のねじれ角の情報を加える。塩基対の情報は軽水中の NMR スペクトルの解析で得られる。例えば、DQF-COSY スペクトルあるいは TOCSY スペクトルからは、リボースのコンフォメーションの情報を得られる。

NMR 解析より得られた拘束条件を導入して、simulated annealing (SA) 法による計算を行い、立体構造を決定する。Amber の力場を用いて、立体構造計算ソフトウェア InsightII/Discover Package (Accelrys 社製) あるいは Xplor-NIH⁸⁾ により計算する。計算プロトコルは、おおよそ次の3ステップよりなる。①初期構造をランダムにした後、1000 K ぐらいにする。②温度を下げながら、NMR 解析から得られた拘束を強くしていく。③

エネルギーの最小化計算を行う。このような計算を 100 回程度の計算を行うと、NMR の拘束条件を満たす構造が相当数得られる。エネルギーが低い構造が拘束条件を満たし、それらが互いによく似ている場合に、計算が収束したと判断する (図 8)。

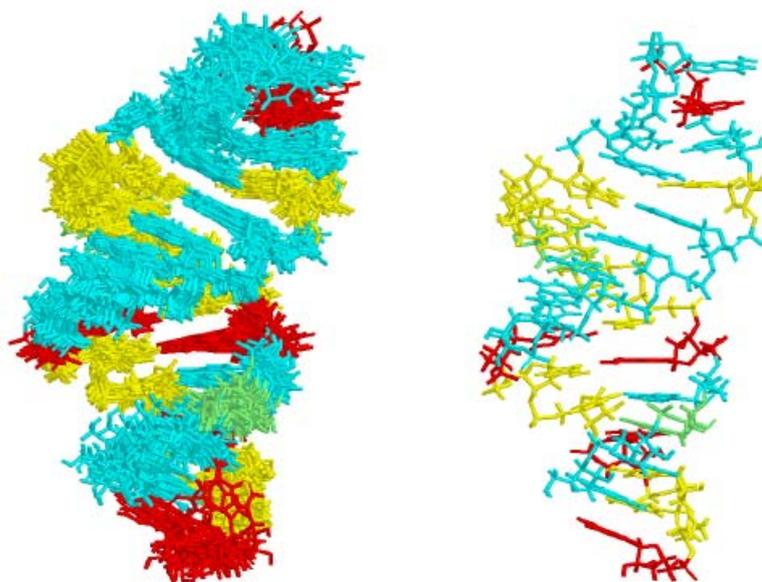


図 8 立体構造計算により得られた RNA の立体構造。左の図は、100 回計算した中でエネルギーが低かった 15 個の構造の重ね合わせ。右の図は、15 個の構造の平均構造。

安定同位体標識

RNA の立体構造を決定するためには、安定同位体標識は必須である。 ^{15}N あるいは ^{13}C の化学シフトを利用すれば、重なっているシグナルを区別することができる。また、直接結合した核間の大きなスピ

ン結合を利用して磁化を移すことができる。例えば、HCCH-TOCSY スペクトル⁹⁾を測定すれば、A の H8 と H2 の相関シグナルが得られ、H2 のシグナルを帰属することができる。また、HNN-COSY スペクトル¹⁰⁾のように水素結合を介した磁化の移動を観測すれば、塩基対の形成を確認できる。さらに、HCP スペクトル¹¹⁾という核酸に特有の三重共鳴の測定も可能になり、 ^{31}P のシグナルを帰属できるようになる。

残余双極子相互作用

立体構造決定の重要な情報となる NOE は、核間距離の 6 乗に反比例して観測されるため、プロトン間の距離が約 5 Å 以内の時のみに観測される。このため、生体高分子の立体構造解析では約 5 Å 以内の距離情報から全体構造を決定することになる。しかし、この従来の解析法では離れた部分どうしを関係付ける直接的な構造情報がないことが、生体高分子の全体構造を決定する上で問題点となっていた。つまり、局所的な構造情報の積み重ねによって全体構造を決定しているために、構造情報の誤差も積み重ねられてしまうのである。分子量が大きい場合あるいは核酸のように細長い分子の場合には、構造決定は特に難しかった。しかし近年、生体高分子を磁場に対して配向させることによって、従来の溶液の NMR では観測できなかった異方的な磁気相互作用から遠距離間の構造情報を引き出すことができるようになった。異方的な磁気相互作用として注目されているのが、残余双極子相互作用 (residual dipolar coupling: RDC) である¹²⁻¹⁴⁾。RDC の解析は RNA の立体構造を決定するためには必須となっている。

現在、安定同位体標識および残余双極子相互作用を用いて、RNA の立体構造解析は約 80 残基の RNA が構造決定されている^{15,16}。さらに、このように大きな RNA 分子の立体構造を決定するためには、まず解析可能な大きさに分割してそれぞれの立体構造を決定し、それらを組み合わせることによって全体構造を構築する方法（部分分割法）が有効である。さらに高分子量の RNA の立体構造を決定するためには、RNA の NMR 解析に関する技術開発が必要である。

最後に、本原稿の執筆の機会を与えてくださった東京学芸大学の原田和雄先生、いつも NMR 解析についてご指導いただいている千葉工業大学の河合剛太先生に感謝します。

NMR スペクトルについて補足

NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)

空間的な磁氣的相互作用（dipolar coupling）によって生じる NOE を観測する方法。NOE は ^1H 間の距離の 6 乗に反比例して観測されるため、NOE シグナルの強度から ^1H 間の距離情報が得られる。

DQF-COSY (Double Quantum Filtered COrrrelation Spectroscopy)

カップリングしている同種核スピンの間に相関シグナルが得られる。多くは、2本あるいは3本の化学結合を隔ててカップリングしているプロトンの相関シグナルを得るのに用いられる。相関シグナルの強度は、化学結合のねじれ角に依存する。例えば、リボースが C2'-endo 型の場合、H1'-C1'-C2'-H2' のビシナルカップリングは大きくなり、相関シグナルが観測される。

TOCSY (TOtal Correlation Spectroscopy)

連続的なスピンの鎖に沿った磁化の伝達を利用し、同じスピン系に属するスピンの間に相関シグナルが得られる。相関シグナルの強度は、化学結合のねじれ角に依存する。COSY の場合、H1' と H2'、H2' と H3' の相関シグナルは観測されるが、H1' と H3' の相関シグナルは観測されない。一方、TOCSY の場合、H1' と H2'、H2' と H3'、さらに H1' と H3' の相関シグナルも観測される。

HCCH-TOCSY

^1H から ^{13}C に磁化を移し、TOCSY によって磁化を移動させた後、 ^{13}C から ^1H に磁化を戻す方法。 ^{13}C どうしのカップリングを利用することによって、遠くまで磁化を移動させることができる。塩基 ^{13}C どうしのカップリングを介して H2 と H8 の間に相関シグナルが得られる。

HNN-COSY

^1H から ^{15}N に磁化を移し, COSY によって ^{15}N 間で磁化を移動させた後, 逆の経路で ^{15}N から ^1H に磁化を戻す方法. N-H...N のような水素結合 (点線) の場合に, 水素結合を介したカップリングを利用して, 相関シグナルが得られる.

HCP

^1H から ^{13}C , さらに ^{13}C から ^{31}P に磁化を移した後, 逆の経路で ^{31}P から ^1H に磁化を戻す方法. COSY によって磁化を移動させた後, ^{13}C から ^1H に磁化を戻す方法である. P-O5'-C5'-C4' と C4'-C3'-O3'-P のビシナルカップリングの大きさは, それぞれ O5'-C5' (β) および C3'-O3' (ϵ) のねじれ角に依存するので, HCP のシグナル強度から β および ϵ のねじれ角の情報が得られる.

参考文献

- 1) 河合剛太, 金井昭夫編: *機能性 Non-coding RNA* (クバプロ, 2006)
- 2) <http://www.pdb.org/pdb/home/home.do>
- 3) K. Wüthrich: *NMR of Proteins and Nucleic Acids* (Wiley, New York, 1986)
- 4) G. Varani, F. Aboul-ela, and F. H. -T. Allain: *Progress in NMR spectroscopy* **29**, 51 (1996).
- 5) S. S. Wijmenga and B. N. M. van Buuren: *Progress in NMR spectroscopy* **32**, 287 (1998).
- 6) B. Furtig, C. Richter, J. Wohnert, and H. Schwalbe: *ChemBioChem.* **4**, 936 (2003).
- 7) 坂本泰一: *分光研究* **55**, 173 (2006).
- 8) C. D. Schwieters, J. J. Kuszewski, N. Tjandra, and G. M. Clore: *J. Magn. Reson.* **160**, 65 (2003)
- 9) P. Legault, B. T. II Farmer, L. Mueller, and A. Pardi: *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 2203 (1994).
- 10) A. J. Dingley and S. Grzesiek: *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 14147 (1998).
- 11) G. Varani, F. Aboul-ela, F. Allain, and C. C. Gubser: *J. Biomol. NMR* **5**, 315 (1995).
- 12) N. Tjandra and A. Bax: *Science* **278**, 1111 (1997).
- 13) M. R. Hansen, P. Hanson, and A. Pardi: *Methods Enzymol.* **317**, 220 (2000).
- 14) 野村祐介, 坂本泰一, 河合剛太: *分光研究* **55**, 252 (2006).
- 15) S. Baba, K. Takahashi, S. Noguchi, H. Takaku, Y. Koyanagi, N. Yamamoto, and G. Kawai: *J. Biochem.* **138**, 583 (2005).
- 16) P. J. Lukavsky, I. Kim, G. A. Otto, and J. D. Puglisi: *Nat. Struct. Biol.* **10**, 1033 (2003).



マサチューセッツ大学留学体験記

河原 正浩

東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻

長棟研究室 助教

(かわはら まさひろ、Masahiro.Kawahara@umassmed.edu)

私は2006年4月から2008年3月までの予定で、米国マサチューセッツ大学医学部(UMass Medical School)のKenneth L. Rock教授のもとで、日本学術振興会海外特別研究員として研究させていただいております。このたび、留学体験記を執筆する機会を頂きましたので、本稿ではマサチューセッツでの生活や研究内容について紹介させていただきます。

【留学先の決定まで】

私は今回の留学前には、所属研究室の長棟輝行教授のご指導のもとで、抗体可変領域とサイトカイン受容体とのキメラ受容体の構築とその応用に関して一貫して研究を行ってきました。もちろん、この研究はとても気に入っているのですが、研究を開始してから10年目となり、別の分野の研究に触れて再度一から勉強し、視野を広げてみたいと思うようになりました。それまでの研究は応用を指向した研究であったことから、基礎指向で、私が興味を兼ねてから持っていた免疫分野の研究室を探してアプライした結果、現在お世話になっているKenneth L. Rock教授(以下Ken)から良いお返事を頂き、現在に至っております。

【マサチューセッツでの生活】

UMass Medical Schoolはマサチューセッツ州で2番目の人口を有する都市Worcester(ウースター)に位置しており、ボストンから車で約1時間程度の場所にあります。夏になるとレガッタ大会が毎週のように開催されるQuinsigamond lakeという湖が隣にあり、街の中心から少し離れた環境の良い場所です。医学部以外の学部はAmherstなど別の都市にあることもあり、落ち着いた雰囲気です。日本人は約20家族いて、ちょうど村のような雰囲気です。皆さんが親切でお互いに助け合ったりイベントを共有したりしてとても良いコミュニティーです。Worcesterはマサチューセッツ第2の都市とはいえ、ボストンとは比べ物にならないくらい街の規模は小さく、日々の生活には車が必須です。日本食材を売る専門店は近隣にはなくボストンまで行く必要がありますが、ベトナムや中国・韓国食材店があるため、似たようなものは大抵そろいます。Worcesterには世界各地のレストランがあり、色々な料理を楽しむことができます。特にニューイングランド地方の名産であるロブスターとクラムチャウダーはおいしいです。なお、ロブスターは魚屋で手軽に買うことができ、私自身もよく自宅で調理しました。調理といっても煮るだけなのですが、生きたロブスターを煮立った鍋に入れるのは慣れるまで大変でした。勇気を持って煮立った鍋にロブスターを入れることができれば、レストランのバター風味より格段においしい醤油ベースの味付けで食べられるので、私はだいぶ気に入っています。

気候は1月から3月まではとても寒く、最低気温がマイナス20度まで下がる日もありました。しかし、思ったより寒さは感じません。というのも、部屋の中はセントラルヒーティングで暖かく、冬全体の体感温度としては東京よりも暖かく感じました。積雪は毎年12月~3月までの間で数回ありますが、雪が降ったときは、すぐにたくさんの除雪車が巡回して道路を除雪し、日本よりも復旧が早いです。この寒い冬の代わりに、5月から11月まではとても自然が美しく、日も長いので多く

の人が旅行などの外出を楽しみます。私と妻は自然を散策するのが好きで、マサチューセッツ州や近隣の州の山に出かけて多くの美しい自然に触れることができました。また、近くに果物狩りができる農場があり、イチゴ、ブルーベリー、アメリカンチェリー、黄桃など、新鮮でおいしい果物を楽しみながら入手することもできました。都会の雑踏よりも自然に囲まれてのびのびと生活したい方にはお勧めの地域だと思います。また、大都会ほどではありませんが、Worcesterでも文化的な娯楽施設はそれなりに揃っています。特に Worcester のダウンタウンにある Mechanics Hall は音響効果も抜群で内部も立派で、よく無料コンサートが開催されるので私も数回聴きにきました。また、AHL リーグのアイスホッケーチーム Worcester Sharks の本拠地であり、割と安価にアイスホッケーを観戦できます。その他、美術館、武器博物館（これはちょっと変り種ですが・・・）、動物園などもあります。また、ボストンも近いので、レッドソックス戦の野球観戦など、大都市の娯楽も割と手軽に楽しむことができます。少し遠いですが、片道3時間半でニューヨークに行くこともできます。



左図：UMass の概観。これは Rock Lab のある School building で、病院と連結しています。他にも研究室が入っている building が幾つか点在しています。

右図：自宅で調理したロブスター。安価で入手できて、とてもおいしいです。

【UMass Medical School について】

UMass Medical School は 1962 年に設立された、マサチューセッツ州で初の、そして唯一の公立の医学校です。特に、医学教育に関しては、2006 年の Primary care education のランキングで 4 位にランクインするなど、毎年 top 10 の常連であり、高く評価されています。学部は School of Medicine, Graduate School of Biomedical Sciences と Graduate School of Nursing があります。医学の基礎研究のほか、分子生物学の研究室があり、約 250 名の Faculty がいます。中でも、私が渡米した 2006 年には、RNAi の研究で Craig Mello 教授がノーベル医学生理学賞を受賞され、大きく注目されました。日本の研究室のシステムと異なる点を挙げますと、よく使う試薬やキットに関しては、研究室にないことが予期せず分かって、大学内にメーカーが設置した冷蔵庫や在庫から取り出すことができるので助かります。一番面白かったのは、New England Biolabs 社の冷蔵庫で、日本でのパンやお菓子の自動販売機のように、選択ボタンを押すと、制限酵素やマーカーなどが押されて出てきて入手できます。また、建物内にある研究室のごみ収集や掃除は業者が行っており、オートクレーブや器具の洗浄なども学科で雇った研究補助員が行ってくれるので、研究に専念できる環境が整備されていると感じました。



左図：New England Biolabs 社の冷蔵庫。まさに自動販売機のご感覚です。



右図：Rock Lab の細胞培養室の様子。

【研究室生活】

現在 Rock Lab のメンバー構成は、教授 1, Research assistant professor 1, ポスドク 6, 博士課程学生 4, ラボマネジャー+テクニシャン 2, 秘書 1 の 15 名です。国籍はアメリカ 5, 日本 3, 中国 2, イギリス 1, スペイン 1, インド 1, フィリピン 1, メキシコ 1 です。私が加わった当時は他にカナダ、台湾からのポスドクもいました。Ken はアメリカ人ですが、英語は聞き取りやすくゆっくり話してくれるので助かりました。しかしラボのメンバーは容赦なく速いスピードで英語を話すため、特に最初の頃はなかなか聞き取れず苦労しました。ラボに限らず日常生活で実際に使われる英語は、日本で接していた英語よりもだいぶ速く、聞き取りにくいもので、また自分の話す英語も思ったより通じなかったのですが、これは実際経験して初めて分かったことでした。ラボの meeting ですが、毎週一人ずつが発表する Lab meeting と、各自が担当する Journal の文献の Abstract 紹介が 2 週に 1 回あります。また、2 週に一度、Ken との個別の Meeting があります。

Ken の研究室は病理学科に所属していますが、実際の研究内容は免疫分野の生化学で、主にマウスを使った解析に力を入れています。主なテーマの一つは、死細胞によって引き起こされる炎症反応メカニズムの解明です。古くから、外来蛋白質を生体内に投与するだけでは免疫応答は活性化せず、アジュバントと呼ばれる免疫賦活物質が必要であることが知られています。細菌感染の際の免疫応答では、LPS などの細菌由来物質がアジュバントとして機能することが分かっていますが、がんやウイルス感染においては細菌由来の物質はないにも関わらず、免疫応答は誘発されます。おそらく細胞内の何らかの分子がアジュバントとして機能していると考えられていましたが、具体的な分子については長い間謎でした。Rock Lab では死細胞の細胞質画分を HPLC で分画してアジュバント活性を持つ物質を探索した結果、その一つが尿酸であることをつきとめました¹⁾。また、死細胞によって引き起こされる炎症反応において IL-1 α と Myd88 が重要な役割を果たすことを発見し²⁾、さらに詳細な分子メカニズムの解明を進めています。

もう一つの主要なテーマは細胞内 MHC クラス I 分子への抗原提示機構の解明で、私も携わったテーマです。抗原提示は細胞内の蛋白質分解機構を利用して行われており、その過程で生じた一部のペプチドが MHC クラス I 分子上に提示されます。この提示されるペプチドの C 末端側はほとんどの場合プロテアソームによって切断されて作られることが分かっています。しかし、N 末端側の切断に関しては関与が示唆されるペプチダーゼが近年いくつか同定されてきているのですが、各ア

ミノペプチダーゼの基質特異性や抗原提示における寄与の度合いについてはまだ理解されていません。そこで Rock Lab では種々の細胞質アミノペプチダーゼのノックアウトマウスを用い、抗原提示アクセシやウィルス感染時の T 細胞応答を観測することでその役割を解析しています^{3),4)}。私の場合、私の渡米と同時期にラボを離れるメンバーのテーマを引継ぐ形でテーマが決まりました。しかし、私はマウスを扱った経験がなく、右も左も分からない状態に加え、英語でのコミュニケーション能力が充分でないことから、だいぶ苦勞しました。毎日が初めて行う実験ばかりで、ラボのメンバーに丁寧に指導してもらい、少しずつ知識・スキルを習得することができました。日々、マウスと格闘しながら、奥の深い免疫学の一端ではありますが実験手法や研究の進め方など、色々なことを学ぶことができました。

【おわりに】

日本にいたときには、細胞機能に関わる蛋白質を改変して何か面白い応用はできないだろうか、と常日頃考え、方法論の着想を目指していましたが、対照的に Rock Lab では Scientific な仮説を検証するためにどのような方法論を選んで実験するか、を考えてきました。頭の使い方が異なり、そのギャップをなかなか埋められずに格闘してきたような気がします。その過程で、学問的な知識や方法論に対する幅広い知識が自分には欠けていることに気付かされました。研究に対する姿勢や考え方について、自分の過去を振り返り、今後どうあるべきなのかについて考えさせられました。また、海外生活では自分が外国人という立場になり、また他の国の友人の話などから、社会政策やルールについても考えさせられました。海外生活の経験は私にとって視野を広げる良いきっかけになりました。

最後になりましたが、このたびは留学体験記を執筆する機会を頂きまして、編集委員の先生方に大変感謝致しております。また、米国に快く送り出して下さった長棟輝行教授、見ず知らずの分野違いの私を懐の深さで受け入れて下さった Ken、学生同然の私に色々なことを教えて下さった Rock Lab のメンバー、そしてこの海外生活を一生懸命支えてくれた妻・由香理に深く感謝致します。



図：Rock Lab のメンバー。後列左から 4 番目が Ken、3 番目が筆者です。

- 1) Shi Y, Evans JE, Rock KL. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* **425**, 516-521 (2003).
- 2) Chen CJ, Kono H, Golenbock D, Reed G, Akira S, Rock KL. Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nat Med* **13**, 851-856 (2007).
- 3) York IA, Brehm MA, Zendzian S, Towne CF, Rock KL. Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 (ERAP1) trims MHC class I-presented peptides in vivo and plays an important role in immunodominance. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 9202-9207 (2006).
- 4) Towne CF, York IA, Watkin LB, Lazo JS, Rock KL. Analysis of the role of bleomycin hydrolase in antigen presentation and the generation of CD8 T cell responses. *J Immunol* **178**, 6923-6930 (2007).



シンポジウム等会告

第4回ナノバイオ国際シンポジウム 「ナノバイオ技術実用化の新展開」

2008年2月13-14日 東京ビッグサイト

(<http://www.ics-inc.co.jp/nanobio/>)

[第1日目] 2月13日(水)「創薬・医療に役立つナノバイオテクノロジーの進化」

基調講演 13:00-13:45 : 「科学技術連携施策群および METIS のナノバイオへの取組」

総合科学技術会議専門委員、川崎医療福祉大学 教授 梶谷 文彦氏

招待講演 1 13:45-14:20 : 「創薬・予知医療における分子イメージングの活用」

独立行政法人 理化学研究所 分子イメージング研究プログラム ディレクター 渡辺 恭良氏

招待講演 2 14:20-14:55 : 「分子イメージングバイオマーカーの創薬・医療への展開」

独立行政法人 放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター

分子神経イメージング研究グループ グループリーダー 須原 哲也氏

招待講演 3 15:00-15:35 : 「ゲノム科学で変わる医療、創薬」

京都大学 大学院薬学研究科 創薬科学専攻 ゲノム創薬科学分野 教授 辻本 豪三氏

招待講演 4 15:35-16:10 : 「In silico 科学をどのように創薬に活かすか？」

東海大学 医学部医学科 基礎医学系分子生命科学 教授 平山 令明氏

招待講演 5 16:10-16:45 : 「ナノバイオを利用した先端医療の実用化」

大阪大学 大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学 教授 森下 竜一氏

[第2日目] 2月14日(木)「ナノテク・MEMS が実現する次世代医療機器開発と実用化の課題」

基調講演 1 13:30-14:15 : 「バイオテクノロジー医薬品・医療機器の実用化にかかる臨床研究
推進の諸課題と取組」

京都大学 大学院医学研究科 薬剤疫学分野 教授 川上 浩司氏

基調講演 2 14:15-15:00 : 「Nanotechnology for Cancer Molecular Imaging and Personalized Therapy」

Shuming Nie, Ph.D. Nanoparticle-based cancer molecular imaging, molecular profiling and personalized therapy.

NCI Centers of Cancer Nanotechnology Excellence(CCNEs).

Emory-Georgia Tech Nanotechnology Center for Personalized and Predictive Oncology Principal investigators

招待講演 1 15:05-15:40 : 「DNA マイクロアレイの開発とその応用」

名古屋大学予防早期医療創成センター (日本ガイシ株式会社研究開発本部) 吉田 安子氏

招待講演 2 15:40-16:15 : 「人工 DNA を素材として実現するたんぱく質の検出法」

株式会社富士通研究所 ナノテクノロジー研究センター 主席研究員 藤田 省三氏

招待講演 3 16:15-16:50 : 「自律高機能な在宅治療を可能にするナノデバイスの開発」

国立循環器病センター研究所 先進医工学センター 循環動態機能部 杉町 勝氏

招待講演 4 16:50-17:25 : 「バイオセンサからバイオインターフェイスへー日常的な健康モニター技術の創出ー」

松下電器産業株式会社 バイオ技術開発室 岡 弘章氏



名古屋大学フォーラム 2008

「予防早期医療創成」

2008年2月28日 名古屋大学豊田講堂

[\(http://www.pme.coe.nagoya-u.ac.jp/event1/\)](http://www.pme.coe.nagoya-u.ac.jp/event1/)

コーディネーター :

町永俊雄氏 NHK エグゼクティブ・アナウンサー

パネリスト :

鎌田 實氏 諏訪中央病院名誉院長

菊川 怜氏 女優

名大医学系研究科および名大工学研究科教授各 1 名

第二回 九大先導研・英国・東北大多元研 ジョイントワークショップ IMCE Kyushu University-England-IMRAM Tohoku University 2nd Joint Workshop

東北大学多元物質科学研究所では日英産学間のグローバル共同研究開発を促進する為、九州大学先導物質化学研究所と共同でUK - JAPAN 2008公認イベントの一環として第二回日英ナノバイオ・ワークショップ及びレセプションを下記の要領で開催することになりました。詳細は<http://www.tagen.tohoku.ac.jp/general/information/gyouji-j.html> にアクセス頂きご確認、お申し込み下さい。

開催日： 2008年3月10日(月)・11日(火)

会場： 東北大学北平キャンパス 多元物質科学研究所

材料・物性総合研究棟1号館大会議室

<<http://www.tagen.tohoku.ac.jp/general/access/access-j.html>><http://www.tagen.tohoku.ac.jp/general/access/access-j.html>

<<http://www.tagen.tohoku.ac.jp/general/access/campus-map.gif>><http://www.tagen.tohoku.ac.jp/general/access/campus-map.gif>

主催： 東北大学多元物質科学研究所 (IMRAM)

九州大学先導物質化学研究所 (IMCE)

共催： 英国北東イングランド経済開発公社 (ONE NorthEast)

後援： 英国大使館

東北大学原子分子材料科学高等研究機構 (WPI Research Center)

定員： 100名

参加費： 無料



第 58 回医用高分子研究会 「新世代医用高分子へのチャレンジ」

<趣旨> 今日および将来における、人工臓器・再生医療・ドラッグデリバリーシステム・診断システムなどの先進的医療を具現化し、進化（深化）させるための新しい概念と材料の誕生が切望されていますが、その前には種々の解決しなければならない難問が立ちはだかっています。こうした一種の閉塞的状况を打破するためには、これまでの成果や知見を冷静に分析・整理した上で、柔軟な発想によりこの難問を打破する新概念を創出すると同時に、次世代の医用高分子研究を担う若手研究者の発掘・育成が必要不可欠です。今回の研究会は、久しぶりに関西地区での開催ということもあり、関西地区の大学・企業等の学生・若手研究者を主な対象とし、人材の発掘・育成を主眼としたプログラムを企画しました。冒頭に、医用高分子研究の第一線で長年先導的立場を担って来られた松田武久先生に教育的な見地から特別講演を行っていただいた後、関西地区を中心に活躍し、現在・未来における医用高分子研究を背負って立つことを期待される若手研究者を講師として、主要分野のレビューと今後の展望について紹介していただくこととしました。本研究会が将来の医用高分子を目指す人材の開拓に繋がるとともに、若手医用高分子研究者への自覚と成長を促す契機になることを期待して、大学院生や企業・研究所の若手研究者の積極的な参加をお待ちしています。

主 催 高分子学会 医用高分子研究会

協 賛 日本化学会・日本人工臓器学会・日本薬学会・日本バイオマテリアル学会・日本 DDS 学会
(予定)

日 時 平成 20 年 3 月 12 日 (水) 10:00 ~ 17:00

会 場 関西大学 100 周年記念会館ホール 1 (大阪府吹田市山手町 3-3-35 電話 06-6368-1121)

交 通 阪急電鉄千里線 関大前駅下車 徒歩約 5 分

(<http://www.kansai-u.ac.jp/Guide-j/access.html> 参照)

<プログラム>

1. バイオマテリアル研究の黎明期から飛躍期にかけての私の経験 (金沢工大) 松田武久
2. 医用高分子の合成：現状と新展開 (兵庫県大) 遊佐真一
3. 新しい生分解性材料と用途開発 (関西大) 岩崎泰彦
4. 硬組織適合型材料の設計と新展開 (阪大) 渡邊順司
5. 再生医療へ向けた幹細胞技術 (国立循環器病セ) 馬原 淳
6. DDS の新しい方法論と展開 (阪府大) 原田敦史
7. バイオセンシングを目指す糖鎖材料 (北陸先端大) 三浦佳子
8. 医用材料研究における課題を考える (東医歯大) 岸田晶夫

<参加要領>

- 1) 定員 80 名
- 2) 参加費 企業 5,250 円、大学・官公庁 3,150 円、学生・ゴールドシルバー2,100 円、医用高分子研究会メンバー 無料
- 3) 申込方法 下記学会 HP からお申込いただき、参加費を 3 月末日までにご送金ください。参加証、請求書（希望者のみ）を順次配布いたします。

<http://www.spsj.or.jp/entry/annaidetail.asp?kaisaino=306>

- 4) 振込先 銀行振込<三菱東京 UFJ 銀行 銀座支店 (普通) 1126232 (社) 高分子学会>
郵便振替<00110-6-111688 (社) 高分子学会>

振込手数料は振込人にてご負担くださいますようお願いいたします。

<連絡先> 高分子学会 第 58 回医用高分子研究会係

〒104-0042 東京都中央区入船 3-10-9 新富町ビル 6F

TEL03-5540-3771 FAX03-5540-3737



日本化学会 第 88 春季年会 特別企画
ナノバイオ研究に貢献するケミストリー
-細胞解析手法の新展開を中心として-

2008 年 3 月 28 日 午前 立教大学

企画担当者：民谷栄一（阪大院工）

最近のノーベル化学賞をみても明らかなように遺伝子の転写(2006)、ユビキチンタンパクの分解(2004)、イオンチャンネルの情報伝達(2003)、ATP 生合成システム(1997)など生体の有する分子認識機構や分子合成機構の解明が「化学」として取り上げられています。また、質量分析、NMR など生体分子構造や解析する分析化学方法(2002)や超微量の DNA の取り扱いを可能にする PCR(1993)なども対象となっており、今日の驚異的なバイオ分析ツールへの展開を可能にしています。本企画では、「ナノバイオ」研究において本質的に求められている細胞シグナル分子のデジタル定量、一細胞レベルでの解析、細胞間の情報ネットワーク解析など解析手法などを焦点として議論したい。また、日本化学会学術活性化委員会において中長期テーマとしても設定されている「ナノバイオ」分野における重要な課題でもあり、バイオテクノロジー、生体機能関連化学、ナノ材料、分析化学、物理化学など広い分野からの参加を期待しております。

プログラム：3月28日

09:30-09:35 はじめに(阪大院工)民谷栄一

座長 民谷栄一

09:35-09:55 細胞内分子解析のための化学ツールの創製(京大院工)浜地 格

09:55-10:25 生体分子の機能解明を目指すイメージング法の開発(東大院理)小澤岳昌

座長 浜地 格

10:25-10:45 細胞内生体分子群の動態シグナルの解析-網羅的侵襲定量データの集積に向けて-

(京大院農)植田充美

10:45-11:15 蛍光寿命イメージング測定と細胞内ダイナミクス(北大電子研)太田信廣

座長 植田充美

11:15-11:30 細胞間シグナル解析ツールの開発(阪大院工)民谷栄一

11:30-12:00 空間分解ラマン分光による生細胞の局所構造機能解析(東大院理)浜口宏夫

12:00-12:20 1細胞中 mRNA 計測技術の開発(日立製作所)神原秀記

12:20-12:30 まとめ(東京農工大)松永是



日本化学会 第 88 春季年会 特別企画
アドバンスト・テクノロジー・プログラム(ATP) バイオ系

2008 年 3 月 28 日～29 日 立教大学

協賛：日本化学会生体機能関連化学部会・日本化学会バイオテクノロジー部会

※下記情報は化学と工業 1 月号掲載のものです。最終的な情報はプログラム(化学と工業 3 月号)をご覧ください。

特別基調講演

「協和発酵におけるバイオイノベーション」(協和発酵・相談役) 平田 正

T7. グリーンバイオ

A. バイオコンバージョン

B. バイオマス・バイオポリマー

オーガナイザー：大橋武久 (カネカ 顧問)，鴻池敏郎 (塩野義製薬生産技術研・製薬研究部長)，福居俊昭 (東工大院生命理工・准教授)，須貝 威 (慶應大理工・准教授)

グリーンケミストリーは自然との共存共栄で実現する経済発展と質的に豊かな生活を構築していく上で重要、不可欠の技術である。本技術は 21 世紀の課題の重要なポイントと認識されている。

グリーンバイオケミストリーはグリーンケミストリーの重要技術をバイオテクノロジーで構築していく事が期待されている。

本セッションでは A. バイオコンバージョン、B. バイオマス利用・バイオポリマーなどの各重要技術の現状や展開につき基調講演、招待講演、依頼講演やポスター発表で紹介、討論する。

これら技術はいずれも、カーボンニュートラル、省エネルギー、地球温暖化防止、廃棄物削減、環境汚染防止、健康、安全、QOL 向上、創薬などに寄与するものであり産官学での技術構築が望まれる。

基調講演

試験管内でタンパク質を作る：技術開発とタンパク質生物学への応用に向けた試み (愛媛大/愛媛大無細胞生命科学工学研究セ・理事/センター長) 遠藤弥重太

招待講演

天然物合成に役立つ酵素反応 (東大院薬・教授) 福山 透

化学企業でのバイオコンバージョンの活用と展望(カネカ・取締役常務執行役員) 高橋里美

有機金属錯体、金属塩を利用する合成反応から生体触媒への道(立教大理・名誉教授) ○堀内 昭・宇月原 貴

光

有機合成化学で糖タンパク質の動態を観る(理研・主任研究員) 伊藤幸成

有機物代謝から電流を取り出す微生物燃料電池ができること(広島大院先端・准教授)柿菌俊英

廃木材からのバイオエタノールの製造 (バイオエタノール・ジャパン・関西・代表取締役社長) 金子誠二

バイオプラスチックの新展開 (阪大院工・教授) 宇山 浩

バイオポリマーの高機能化と電子機器への利用 (日本電気ナノエレクトロニクス研・主席研究員) 位地正年

T8.フロンティアバイオ

A. ナノバイオ・バイオ計測

B. バイオマテリアル・先端医工学

オーガナイザー：三原久和 (東工大院生命理工・教授), 秋吉一成 (東医歯大生材研・教授), 磯部直彦 (住友化学技術・経営企画室・担当部長), 高柳輝夫 (第一三共・監査役), 渡邊英一 (東大院工・産学官連携研究員)

ナノテクノロジーとバイオテクノロジーの融合領域である、ナノバイオテクノロジーの研究開発が盛んになってきた。事業化に関しても本分野はかなり有望なターゲットである。この分野における我が国の基礎研究は世界的にも高いレベルにあり、その応用や産業化を考える時期が到来したといえる。

本セッションでは、この研究分野の第一線でご活躍の方々の基調講演、招待講演および依頼講演(企挙コ span lang=EN-US>)をもとに、ナノバイオの研究開発と産業化について、その現状と将来を議論できる場を提供する。また、一般講演 (ポスター発表のみ) では、企業や大学等からの多くの発表を期待している。

基調講演

科学技術政策と産学連携によるイノベーション (京大院薬・客員教授) 清水一治

招待講演

膜超分子モーター研究のナノサイエンス (阪学産研・教授) 野地博行

細胞内分子動態計測への挑戦-生体適合型フェムトセカンドレーザー分子メスの開発-

(京大院農・教授) 植田充美

細胞シート工学による再生医療の創出 (東京女子医大先端生命医科学研・所長) 岡野光夫

先端医療を具現化するバイオマテリアル・DDS技術 (京大再生医科学研・教授) 田畑泰彦



日本化学会 第 88 春季年会 特別企画
「分析化学イノベーション2025」

2008 年 3 月 30 日 立教大学

- 9:30-9:40 はじめに 梅澤 喜夫 (武蔵野大)
- 9:40-10:00 「イノベーション創出のための先端分析機器開発」 二瓶 好正 (東理科大)
- 10:00-10:20 「分析機器開発の現状と課題」 澤田 嗣郎 (科学技術振興機構)
- 10:20-10:40 「研究領域開拓：メタロミクス研究」 原口 紘 (日本分析化学会)
- 10:50-11:10 「今後の分析化学研究のポイント： 分離分析 大塚 浩二 (京大)
- 11:10-11:30 「今後の分析化学研究のポイント」： マイクロ・ナノ分析 北森 武彦 (東大)
- 11:30-11:50 「今後の分析化学研究のポイント」： 極限計測 喜多村 昇 (北大)
- 11:50-12:10 「今後の分析化学研究のポイント」： バイオ分析 馬場 嘉信 (名大)
- 12:10-12:30 「今後の分析化学研究のポイント」： まとめと展望 鈴木 孝治 (慶大)



第 88 春季年会「特別企画」(立教大学)
「生体機能の理解と制御を目指した生命化学の最前線」

(平成 20 年 3 月 30 日午前)

趣旨：

ナノバイオやケミカルバイオを包括する「生命化学」領域の最前線において、爆発的に拡大する生体機能分子を対象とした分子レベルで精密な化学の構築が必要不可欠であるとの認識が高まっている。そのような流れの中、生体機能分子の構造機能解析を担う計測技術や分子ツールの合成・開発から、化学的な観点に立脚した分子生物学的な手法の創出、および生体機能分子の制御やその機能改変を目指した新手法の構築などにおいて最先端の研究成果が我が国の若手研究者によって発表されつつある。本特別企画では、実際にその研究を担っておられる学際領域の若手・中堅の研究者自身にその成果を中心として新しい潮流について講演いただき、新しい日本独自の生命化学の研究展開と産学連携の可能性などに関しても議論したい。

プログラム：

座長 杉本 直己

09:30-09:35

趣旨説明(東工大院生命理工)三原 久和

09:35-10:00

新しい分子認識とラベル化法に基づいた小分子プローブによる生体機能蛍光センシング(京大院工)王子田 彰夫

10:00-10:30

「化学」を駆使した「医療」への新たな貢献 -スマート蛍光プローブの精密設計に基づく *in vivo* がんイメージング- (東大院薬) 浦野 泰照

座長 馬場 嘉信

10:30-11:00

マイクロから拡張ナノ空間へ(東大院工)北森 武彦

11:00-11:30

化学的刺激に応答する機能性核酸マテリアルの開発(甲南大 FIBER)三好 大輔

座長 和田 健彦

11:30-12:00

生体分子にヒントをもらう “ものづくり” (名大院理)田中 健太郎

12:00-12:25

フレキシザイムを用いた特殊ペプチドの翻訳合成(東大先端研)村上 裕

12:25-12:30

まとめ(京大院工)浜地 格

遺伝子・デリバリー研究会 第8回シンポジウム

日時：2008年5月9日（金）

場所：千里ライフサイエンスセンター

（〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町1丁目4-2）

講演：

藤原俊義 先生（岡山大学大学院医歯学総合研究科 遺伝子・細胞治療センター）

「テロメラーゼ活性を標的とするウイルス製剤のがん診断・治療への応用」

水野正明先生（名古屋大学大学院医学系研究科 遺伝子治療学）

「Liposomal Delivery System と細胞」

片岡一則 先生（東京大学大学院工学研究科）」

「遺伝子治療実用化に向けたインテリジェント超分子ナノデバイスの構築」

櫻井和朗 先生（北九州大学大学院国際環境工学研究科）

「抗原提示細胞上のグルカン認識部位である Dectin-1 を標的にした核酸医薬の DDS」

中西真人 先生（産総研バイオセラピューティック研究ラボ）

「持続発現型 RNA ウイルスベクターの開発と応用」

西川元也 先生（京都大学大学院薬学研究科）

「導入遺伝子発現プロファイルの速度論解析に基づく遺伝子デリバリーシステムの最適化」

丸山一雄 先生（帝京大学薬学部）

「バブルリポソームと超音波による GDS・DDS」

一般演題としてポスター発表を募集します。奮ってご応募ください。

詳細スケジュール、一般演題申込、参加登録、参加費に関しては、遺伝子・デリバリー研究会のホームページ <http://www.gene-delivery.org/> をご参照ください。

事務局・問い合わせ先：〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

大阪市立大学大学院工学研究科化学生物系専攻

遺伝子・デリバリー研究会第8回シンポジウム運営実行委員長 長崎 健

entry2008@gene-delivery.org

電話：06-6605-2696 FAX：06-6605-2785



**2nd International Symposium
"Cellular Delivery of Therapeutic Macromolecules 2008"**

Cardiff University UK

Sunday June 22nd - Wednesday June 25th 2008

<http://www.cdtm2008.cardiff.ac.uk/>

Topics include:

Endocytosis and organisation of the plasma membrane

Membrane microdomains

Interaction of Polyplexes with cellular barriers

Challenges of Gene delivery for Cancer therapeutics

Gene Delivery Vector components: Characteristics influencing uptake and trafficking

Cellular dynamics of cell penetrating peptides

siRNA delivery and therapeutics

Antibody transport across biological barriers

Exploiting transcytosis for macromolecular drug delivery

Cellular uptake and trafficking toxins; implications for macromolecule delivery

Macromolecule Transport through the Blood Brain Barrier

Macromolecule Transport through Epithelial barriers

Exploiting carbohydrates for the cellular delivery of macromolecules

Dendrimer-based therapeutics

Polymer interactions with cells

Challenges and Opportunities in the commercial development of macromolecule therapeutics

お知らせコーナー



受賞のお知らせ

馬場嘉信 (名古屋大学大学院工学研究科 教授)

日本化学会 第 25 回学術賞

「ナノバイオデバイスの創製と生体分子分析への展開」

(2008 年 3 月 27 日、日本化学会第 88 春季年会において受賞予定)

杉本直己 (甲南大学理工学部 教授 兼 先端生命工学研究所長)

日本化学会 第 25 回学術賞

「核酸の安定性及び新しい機能に関する定量的研究」

(2008 年 3 月 27 日、日本化学会第 88 春季年会において受賞予定)



中谷 和彦氏 (大阪大学産業科学研究所 教授)

日本化学会 第 25 回学術賞

「DNAの特異構造を認識する小分子の創成に関する研究」

(2008 年 3 月 27 日、日本化学会第 88 春季年会において受賞予定)

編集後記

ここに 2008 年最初の生命化学研究レターを無事お送りすることができ、編集担当一同、喜んでおります。執筆者による力のかもった原稿を誰よりも早く読ませて頂く喜びを感じながら、今回もその熱気に後押しされて何とか編集作業を終えることができました。お陰様で、内容、ボリュームともに充実した号になりました。執筆者には重ねてお礼申し上げます。今回は私の専門である核酸に関する話題が多くなりましたが、現在の編集担当者 3 名の専門を生かしつつ、全体としてバランスが取れるよう努力する所存でございますので、どうかご理解くださいますようお願い申し上げます。

井原氏の巻頭言にもありましたように、1 月には記念となる第 10 回生命化学シンポジウム・研

研究会を盛況のうちに終えることができ、次の 10 年に向けて力強い一歩を踏み出したように思います。また、本研究会は 2008 年 3 月から「フロンティア生命化学研究会」として、三原会長のリーダーシップのもとで再出発することになりました。今後も会員の皆様と共に研究会の新たな展開を模索できることをうれしく思っております。

次号(No. 27)は、長崎 健氏(大阪市立大学)の担当により、2008 年 6 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よろしくお願い致します。



原田和雄

東京学芸大学教育学部

(harada@u-gakugei.ac.jp)

編集担当:

長崎 健(大阪市立大学)

円谷 健(大阪府立大学)