

生命化学研究レター

(2010年11月)

2. 巻頭言

ACBC2010 とワールドカップ日本代表とケミカルバイオロジー

東北大学大学院薬学研究科 叶 直樹

4. 関連シンポジウム報告

第4回バイオ関連化学シンポジウム

大阪府立大学大学院理学系研究科 円谷 健

5. 研究紹介

5. 側鎖間架橋により安定化された短鎖ヘリカルペプチドによる
生体分子相互作用の制御

富山大学大学院医学薬学研究部 藤本 和久

11. 分子プログラミング～生体分子の階層性からのヒント

名古屋大学大学院理学研究科 田中 健太郎

16. 論文紹介「気になった論文」

大阪大学大学院理学研究科 下山 敦史

京都大学大学院工学研究科 水澤 圭吾

東京工業大学大学院生命理工学研究科 大倉 裕道

27. シンポジウム等会告

第13回生命化学研究会シンポジウム (冬季)・仙台 (2011)

第13回生命化学研究会「分子で拓く生命化学」

名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター 国際シンポジウム

International Symposium: Advanced Science and Technology for Single
Molecular Analysis of DNA and Related Molecules

最先端研究開発支援プログラム・川合プロジェクト 公開シンポジウム
ナノバイオデバイス研究の最前線～人の遺伝を知り健康を守る最新科学技術～

42. お知らせコーナー

受賞・会員異動のお知らせ

編集後記

巻頭言

ACBC2010 とワールドカップ日本代表とケミカルバイオロジー

東北大学大学院薬学研究科 叶 直樹

折しも、サッカー日本代表がワールドカップ南アフリカ大会の決勝トーナメント進出を決めた6月25日(日本時間)から27日にかけて、1st Asian Chemical Biology Conference (ACBC2010)が Seoul National University で開催された。ホスト国である韓国をはじめとして、香港、シンガポール、そして日本から参加した総勢30名あまりのサイエンティストが、セミナールームに一同に会して各自の最新の研究成果を発表し、熱い議論を3日間戦わせた。オーガナイザーとして会議を取りまとめて頂いた SNU の Jaehoon Yu 教授と Yonsei University の Injae Shin 教授、さらにスタッフとしていろいろお手伝い頂いた Yu 研究室の学生諸氏にはこの場を借りて厚く御礼申し上げたい。両教授および Yu 研究室の学生さんによる行き届いた会議運営により、何のストレスもなく発表とディスカッションに集中することができた。さて、本題の会議の内容は...と、丁度この文章を書いていた時、Nanyang Technological University (Singapore) の Brendan Orner 教授による ACBC2010 の会議報告が *ACS Chem. Biol.* に掲載された旨のメールを Shin 教授より受け取った。非常に簡潔にまとめられているので、ACBC2010 の発表内容に関してはこちらをご覧ください。¹⁾

ところで、ワールドカップの時期は何故か海外に滞在していることが多い。また、その時は必ずと言ってよいほど日本戦が開催されるため、いつも現地でテレビ観戦することになる。1998年のフランス大会開催時は米国 Philadelphia でポスドク中であった。2002年の日韓大会は日本に居たが、2006年のドイツ大会開催時には科研費特定領域の workshop に参加するために Sweden の Uppsala に滞在していた。そして今回、2010年は韓国である。

テレビ放映は、もちろん現地の言語で放映されるため、気分は完全にアウェイである。フランス大会ではアメリカ人レポーターが、「試合に負けているのに、日本のフォワードはなぜあんなに笑っているのか」と実況するのを聞きながら日本が完敗するのを観たし、ドイツ大会では玉田の一発が眠れる獅子(カナリア?)を揺り起こし、大敗するさまを観た。どちらの試合も日本はボール回しに終始していたように記憶している。しかし今回(6月24日、デンマーク戦)は様子が違っていた。松井と大久保はボールを回すのではなく自身のドリブルで果敢に敵陣に切り込み、ゴール前にはボールを受けると前を向き勝負を仕掛ける本田がいた。前回まではゴール前で「(シュートを打たずに)なぜ今そんなパスを...」と絶句するシーンが多かったが、今回は、気分はアウェイながらもそんなフラストレーションを殆ど感じなかった。

さて、そんなことを思い出しながら、研究も似たようなものではないかと思つた。実験科学者として、テーマの鍵となる実験やデータ取りを後回しにして、ボール回しに終始していないだろうか?サイエンスやテクノロジー(というボール)を何が何でも前に進めるという努力をしているだろうか?難易度は高くてもゴールに向かって果敢にチャレンジしているだろうか?

生命化学研究に関して言えば、ケミカルバイオロジーという言葉が世に出てから既に10数年、用語の目新しさも消え、そこからどういう新しいテクノロジーが生まれ、サイエンスが発信されたのかを社会全体が冷静に眺めている。

ある意味、日本代表として ACBC2010 に参加した約2ヶ月前の記憶をたどりながら、自戒も込めて自問してみた。

参考文献

- [1] B. Orner, "The First Asian Chemical Biology Conference Meets at Seoul National University" *ACS Chem. Biol.* **2010**, *5*, 725-727.



関連シンポジウム報告

第4回バイオ関連化学シンポジウム 第25回生体機能関連化学シンポジウム 第13回バイオテクノロジー部会シンポジウム 第13回生命化学研究会シンポジウム

大阪府立大学大学院理学系研究科 円谷 健

2010年9月24日(木)から26日(日)の3日間にわたって、大阪大学豊中キャンパスにて第3回バイオ関連化学シンポジウム(実行委員長:大阪大学大学院理学系研究科 深瀬浩一教授, 共同委員長:大阪大学大学院工学研究科 民谷栄一教授)が開催された。本会は、日本化学会生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、およびフロンティア生命化学研究会が主催するシンポジウムであり、参加者は3日間で約420名におよんだ。本会では、招待講演7件、口頭発表93件、ポスター発表198件の発表が行われ、いずれの会場でも、活発に討議された。また、以下に示す4名の若手発表者には講演賞が贈られ、懇親会にて賞状および副賞が贈呈された。次回の第5回バイオ関連化学シンポジウムは2011年9月12日~14日の日程で筑波大学にて開催される予定である。

安部 聡 (京都大学iCeMS) 「蛋白質結晶細孔空間への金属イオン集積を利用した金属材料合成」

梁 興国 (名古屋大学大学院工学研究科) 「新機能性ナノ材料による光駆動型ナノデバイスの構築」

米田 誠治 (鈴鹿医療科学大学薬学部) 「制ガン活性を有する白金 (II) 複核錯体と核酸との相互作用」

高島 義徳 (大阪大学理学研究科) 「Molecular Hula-Hoop—蛍光顕微鏡によるロタキサンの単一分子回転運動観察」



側鎖間架橋により安定化された 短鎖ヘリカルペプチドによる生体分子 間相互作用の制御

富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)

藤本 和久

(fujimoto@pha.u-toyama.ac.jp)



1. はじめに

タンパク-タンパク間相互作用は生体機能発現において中心的役割を担っており、これを制御することができれば生体機能の制御が可能となる。このことは、ある疾病に関係するタンパク-タンパク間相互作用に対する強力な阻害剤は次世代医薬品の有力な候補になり得ることを意味する。しかしながら、タンパク-タンパク間相互作用を効果的に阻害することは容易でない。なぜなら、タンパク-タンパク間相互作用部位における広い接触面積を抑えることが難しいためである。大きな接触部位を抑え込むために複雑な分子設計を行い、サイズの大きい阻害剤を合成することは、膨大な労力を合成に費やすことになり現実的でない。また、将来的に量の確保の観点から実用性に問題がある。そこで、一方のタンパクの相互作用ドメインをペプチドに置き換えて阻害するのが有望であると考えられる。その際には、ドメイン配列を含むペプチド鎖がタンパク内で形成していた高次構造を取る必要がある。これにより、タンパクに匹敵する結合能と基質特異性を獲得することが可能となるからである。タンパク-タンパク間相互作用において中心的役割を果たしているのが α -ヘリックス構造である。それゆえ、 α -ヘリックス構造をモチーフとした阻害剤の開発が積極的に行われている¹⁾。我々の研究グループでは、短鎖ペプチドの側鎖間を各種クロスリンク剤で架橋することにより安定な α -ヘリックス構造を形成させることに成功している。本稿では、我々の安定化手法と他の研究グループの手法との比較を織り交ぜながら本手法により合成したヘリカルペプチドと生体分子との相互作用を紹介する。

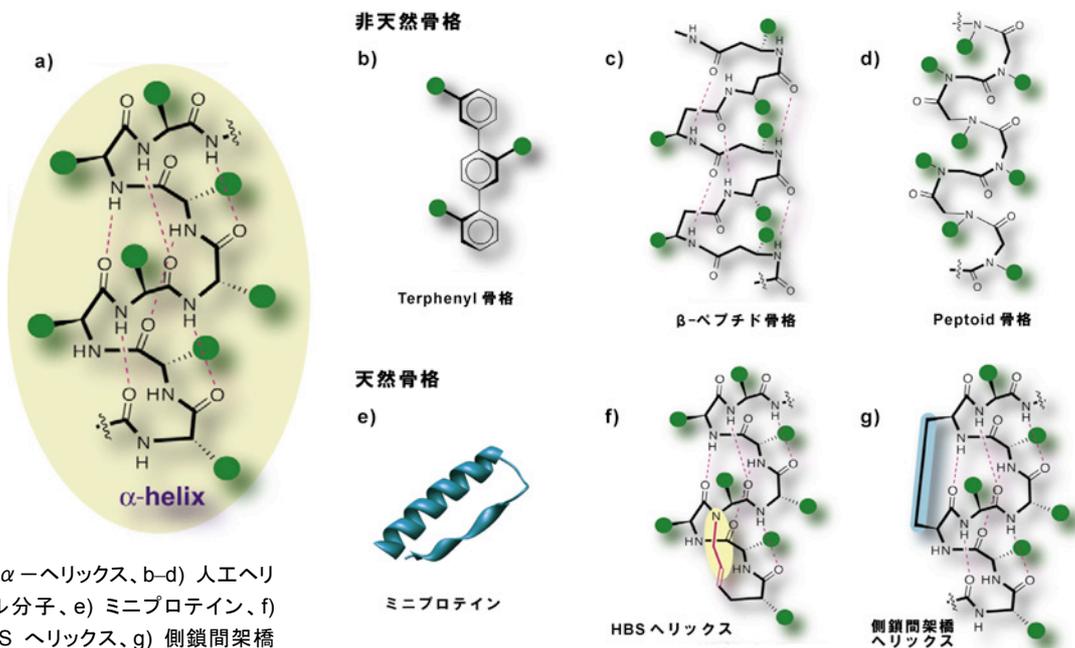


図1 a) α -ヘリックス、b-d) 人工ヘリカル分子、e) ミニプロテイン、f) HBS ヘリックス、g) 側鎖間架橋ヘリックス

2. 側鎖間架橋による α -ヘリックス構造の安定化手法

図1a に示したように α -ヘリックス構造はアミノ酸 3.6 残基で1巻きが形成されている。 α -ヘリックスをモチーフとした阻害剤の開発手法は大きく二つに分けられる。一つは、ベンゾウレアやターフェニル、 β -ペプチドといった非天然の骨格を利用することで α -ヘリックスのミメティック分子を構築し、阻害剤とする手法である(図1b-d)。非天然骨格であるので酵素耐性に関する心配は全くないが、水溶性の確保や多段階合成の必要性といった将来的に克服すべき問題点が多く存在する。もう一つは、天然アミノ酸からなる短鎖ペプチドの α -ヘリックス構造を安定化させることで阻害剤とする手法である(図1e-g)。以下においては後者の手法に焦点をあて、クロスリンク剤による短鎖ヘリカルペプチドの構築手法を中心に述べる。

短鎖ペプチドの α -ヘリックス構造を安定化させる主な手法として、① α -ヘリックス構造を安定化することが知られているアミノ酸配列を結合ドメインのアミノ酸配列の末端に導入したペプチドを合成する(図1e:ミニプロテイン)²⁾、② α -ヘリックス構造のピッチ間に形成される水素結合の一つを共有結合で置き換える(図1f:Hydrogen Bonding Surrogate: HBS)³⁾、③ ペプチド鎖の側鎖間を架橋する(図1g) 等がある⁴⁻⁶⁾。①は、どのようなタンパクの α -ヘリックスドメイン配列にも応用できるが、ヘリックス安定化能にばらつきが見られる。また、ミニプロテインは全て天然のアミノ酸で構成されているため、プロテアーゼに対する耐性が低く *in vivo* での使用に不向きである。②においては、 α -ヘリックス構造のアミノ末端側で形成される水素結合をオレフィンメタセシス反応で共有結合に置き換えている。根元の水素結合部分が架橋されることで局所的なヘリックスが形成され、これがトリガーとなって全体のヘリックス構造が安定化される。この手法で構築されたヘリカルペプチドは、標的分子に対して比較的高い結合能を示し、プロテアーゼ耐性も有している。しかしながら、ヘリカルペプチドのヘリックス含有率は十分に高いとはいえず、実用的な阻害剤へと展開するためにはより高い結合能が要求される。③は、最も古くから行われてきた手法である。初期においては、ペプチド鎖上のリジン(Lys)の側鎖アミノ基とアスパラギン酸(Asp)やグルタミン酸(Glu)の側鎖カルボキシ基間をアミド架橋することでヘリックス構造を安定化させていた⁷⁾。Lys と Asp(Glu)を適切な位置に配置し、架橋させるだけでヘリックス構造を安定化できるので非常に簡便な手法と言える。しかしながら、その安定化能は極めて低く、得られた架橋ペプチドは室温以上ではほとんどがランダムコイル構造を取ってしまう。最近、新たな側鎖間架橋による短鎖ヘリカルペプチドの構築法がいくつか報告されている。そのうちのの一つは、Verdine らによるオレフィンメタセシスを利用した側鎖間架橋である⁶⁾。オレフィンを側鎖末端に有する非天然アミノ酸をペプチド鎖に導入し、メタセシス架橋することで α -ヘリックス構造を安定化できる。汎用性の高い手法であるが、メタセシス用の非天然アミノ酸を多段階合成する必要がある。さらに、架橋部位のほとんどがメチレンユニットで構成されているため分子内における自由度が大きくなり、結果ヘリックス構造の熱的安定性は低くなってしまう。もう一つの側鎖間架橋は、我々のクロスリンク剤を用いた手法である⁴⁾。

我々の手法は非常に単純であり、短鎖ペプチド上のリジン(Lys)やオルニチン(Orn)の側鎖アミノ基を、両末端にスクシンイミジルエステル基を有するクロスリンク剤で架橋するというものである。ペプチド鎖は全て天然に存在するアミノ酸で構成されており、クロスリンク剤は対応するジカルボン酸を活性エステル化するだけで得ることができる。架橋反応はペプチド鎖とクロスリンク剤との環化反応であることから、多くの副生成物が生じ、収率が低いことが予想される。予想に反して、どのような架橋ペプチドであっても比較的高い収率(>50%)で単離することができる。また、通常の前環化反応のような高希釈条件を必要としない。これらの理由は、これまでのところ明らかになっていない。

我々がこれまでに開発したクロスリンク剤を図2a に示す。アセチレン、ベンゼン、ナフタレン、スピロピラン、ジアリールエテン、フェロセンといった様々な形・長さのスペーサが揃っている。架橋間距離に応じて、これ

らクロスリンク剤ライブラリの中から最適なものを選択することで安定なヘリカルペプチドを構築することができる。例えば、ヘリックス2巻きに相当する i 番目と $i+7$ 番目を架橋する場合にはメタフェニレン骨格の **6** を、3巻きに相当する i 番目と $i+11$ 番目を架橋する場合にはジアセチレン骨格の **2** を選択すればよい。その架橋位置は、アミノ末端、カルボキシル末端、中央部分のいずれにも配置可能である。すなわち、あるタンパクの α -ヘリックス領域をもとにアミノ酸配列と最適な架橋位置・クロスリンク剤を決定すれば、安定なヘリカルペプチドを作製することができる。この一般性が他の安定化手法と最も異なる点である。架橋ペプチド鎖の構造を見てみると、スペーサ部位が堅い構造に、Lys や Orn の側鎖からアミド結合に至る部分までが比較的柔らかい構造になっている(図2c)。堅いスペーサ部分がヘリックス構造の安定化とその熱安定性に寄与しており、アルキル鎖を含む柔らかい部分が堅さに起因する立体的なひずみを軽減し、天然の α -ヘリックス構造に近づける役割を果たしていると考えられる。

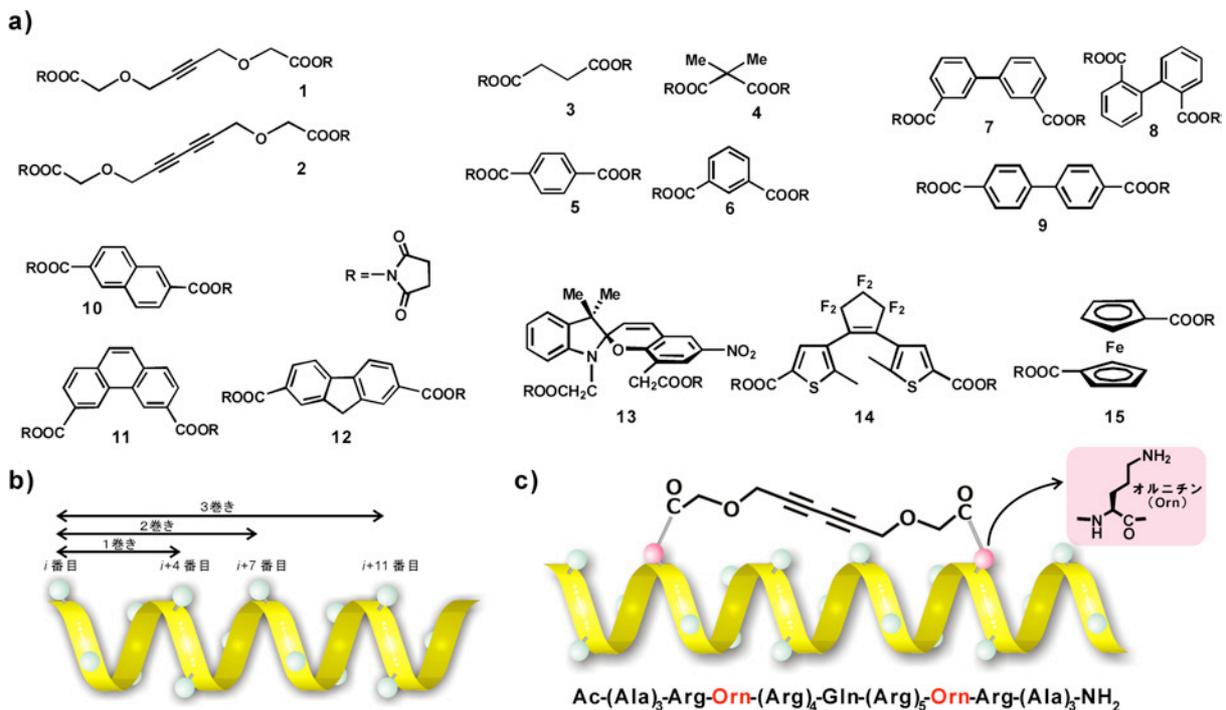


図2 クロスリンク剤を用いた側鎖間架橋ヘリカルペプチドの構築: a) これまでに開発したクロスリンク剤: アセチレン骨格(1, 2)、メチレン骨格(3, 4)、フェニレン骨格(5, 6)、ビフェニレン骨格(7-9)、蛍光性クロスリンク剤(10-12)、フォトクロミッククロスリンク剤(13, 14)、酸化還元活性クロスリンク剤(15)、b) α -ヘリックス構造の模式図、c) **2** で架橋した Arg を多数含むヘリカルペプチド

3. 架橋ヘリカルペプチドと生体分子との相互作用

クロスリンク剤による安定化手法は、どのような配列にも適用することができる。例えば、図2c に示した塩基性アミノ酸であるアルギニン(Arg)を多数含んでいる短鎖ペプチドにおいては Arg 側鎖間の静電反発が生じ、安定なヘリックス構造を取ることは難しいと考えられる。ジアセチレン骨格の **2** でこの配列のペプチドを架橋したものを合成し、CD スペクトルを測定したところ、5 °Cにおいてほぼ完全なヘリックス構造を形成し、25 °Cにおいても60%以上のヘリックス含有率を示した^{4a)}。この結果は、本手法がどのようなタンパク由来の配列であっても適用できることを示唆している。

a) ペプチド配列

qk-1

TG-Glu-Ala-Gln-Orn-Lys-Ile-Ala-Ala-Lys-Asn-Ala-Arg-Ala-Lys-Orn-(Lys)₂-Ser-(Ala)₂-NH₂

qk-2

TG-Glu-Ala-Gln-Ile-Lys-Ile-Trp-Phe-Lys-Asn-Lys-Arg-Ala-Lys-Ile-(Lys)₂-Ser-(Ala)₂-NH₂

hnf-1

TG-Ala-Ala-Gln-Arg-Ala-Orn-Asn-Ser-Ala-Arg-His-Ser-Orn-Ser-Phe-Asn-Gly-Ala-(Arg)₃-Ala-NH₂

HNF-3γ

-----Asn-Gln-Gln-Arg-Trp-Gln-Asn-Ser-Ile-Arg-His-Ser-Leu-Ser-Phe-Asn-----

b) DNA 配列

A (QRE)

5'-TAMRA-CGCAGTGTAATCCCCTCGAC-3'
3'-GCGTCACATTAGGGGAGCTG-5'

B (ERE)

5'-TAMRA-CGCAGTGTAATTACCTCGAC-3'
3'-GCGTCACATTAATGGAGCTG-5'

C

5'-TAMRA-CCGTTGACTTAGTCAAC-3'
3'-GGCCAACGAATCAGTTG-5'

c) 蛍光発色団

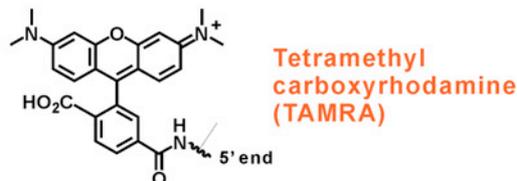
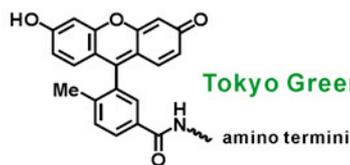


図3 DNA 結合タンパクを基にした架橋ペプチドの開発: a) ペプチド配列 (矢印はオリジナルの配列からの変更点を示す)、b) DNA 配列、c) 蛍光発色団の構造式

本手法を実際のタンパクの結合領域に適用するにあたって、DNA 結合タンパクを選択した⁸⁾。まず、Homeodomain の結合領域(qk-2)をもとに架橋ペプチド用にアミノ酸配列を決定した(図3a:qk-1)。DNA のメジャーグルーブとの結合にほとんど関与しないアミノ酸残基のうち二つを架橋反応のための Orn とし、三つを Ala とした。qk-1 をジアセチレンをスペーサとする **2** で架橋し、DNA との相互作用を FRET で解析するためにアミノ末端を蛍光標識した。同じく蛍光標識した DNA A(QRE)との相互作用を調べたところ、その解離定数は約 0.5 nM と算出され、非架橋の qk-1 やオリジナルの配列を持つ qk-2 の値に比べて二桁小さかった。相互作用部位の配列が異なる DNA B(ERE)を用いて架橋ヘリカルペプチドの基質特異性を調べたところ、オリジナルのタンパクに匹敵する基質特異性を示した。また、架橋ペプチド鎖は、非架橋のペプチド鎖に比べて、高いプロテアーゼ耐性を示した。続いて、別の DNA 結合タンパクである HNF-3γ を基にメタフェニレンをスペーサとする **6** で架橋したヘリカルペプチド hnf-1 を合成した。DNA C に対する解離定数において、架橋と非架橋ペプチドとの間に二桁の違いが観測された。これらの結果は、我々の手法が DNA 結合タンパクに実用性があることを示すだけでなく、タンパク-タンパク間相互作用を標的とした有力な阻害剤を産み出す可能性を示唆するものである。

4. 機能的架橋ヘリカルペプチド

我々の安定化手法で構築する架橋ペプチドには、もう一つ大きな特徴がある。それは、架橋ペプチドに対する機能付与の容易さである。例えば、スピロピランやジアリールエテンといった光機能的分子や酸化還元活性種であるフェロセンを

骨格とするクロスリンク剤でヘリカルペプチドを構築すれば、

外部刺激によってその構造や生体分子間相互作用を制御することができる(図2a における 13-15)⁹⁾。実際、ジアリールエテンを骨格とする 14

で架橋したペプチド鎖と DNA との相互作用を光照射によって制御することに成功している(図4)¹⁰⁾。Homeodomain

の配列を基にジアリールエテン架橋ペプチドを合成し、このフォトクロミック架橋ペプチドと DNA との相互作用をゲル電気泳動ならび

に水晶発振子マイクロバランス(Quartz Crystal Microbalance: QCM)を用いて解析した。解析の結果、架橋直後のペプチド鎖(ヘリックス構造は安定化)は、紫外光を照射後の架橋ペプチド鎖(ヘリックス構造は不安定化)に比べて、DNA と強力に錯形成することがわかった。すなわち、フォトクロミック架橋ペプチドと生体分子との相互作用を光照射によって効果的に制御できることが明らかとなった。

また、架橋ペプチド鎖のアミノ末端やアミノ酸側鎖部位は固相上で修飾可能であり(図5左側)、クロスリンク剤のスペーサ部分にも機能を付与することが可能である。例えば、6 の 3 位にリポ酸誘導体を有するクロスリンク剤で架橋したヘリカルペプチドを、硫黄と金との化学吸着により金基板上に固定化することに成功している¹¹⁾(図5右側)。

また、架橋ペプチド鎖のアミノ末端やアミノ酸側鎖部位は固相上で修飾可能であり(図5左側)、クロスリンク剤のスペーサ部分にも機能を付与することが可能である。例えば、6 の 3 位にリポ酸誘導体を有するクロスリンク剤で架橋したヘリカルペプチドを、硫黄と金との化学吸着により金基板上に固定化することに成功している¹¹⁾(図5右側)。

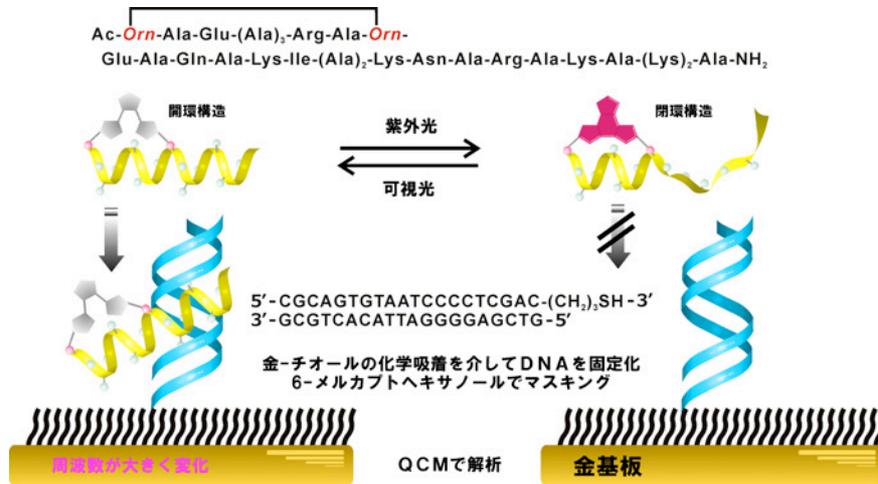


図4 ジアリールエテン架橋ペプチドと DNA との相互作用評価

また、架橋ペプチド鎖のアミノ末端やアミノ酸側鎖部位は固相上で修飾可能であり(図5左側)、クロス

リンク剤のスペーサ部分にも機能を付与することが可能である。例えば、6 の 3 位にリポ酸誘導体を有するクロスリンク剤で架橋したヘリカルペプチドを、硫黄と金との化学吸着により金基板上に固定化することに成功している¹¹⁾(図5右側)。



図5 短鎖ヘリカルペプチドの化学修飾

5. おわりに

我々は、クロスリンク剤を用いた側鎖間架橋による短鎖ヘリカルペプチドの構築手法を確立させ、DNA に対する結合を制御できるまでに至った。今後、疾病に関係するタンパク-タンパク間相互作用を標的とした阻害剤を開発し、細胞内というステージで勝負していきたい。

謝辞

本稿にて紹介した研究は、所属する富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)薬化学研究室にて行われたものである。研究室主宰者である井上将彦教授をはじめ多くの学生のサポートに対して、ここに感謝する。

参考文献

- 1) a) P. S. Arora and A. Z. Ansari, *Nature*, **462**, 171 (2009). b) D. A. Guarracino and P. S. Arora, *Chem. Biol.*, **16**, 919 (2009). c) L. K. Henchey, A. L. Jochim, and P. S. Arora, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **12**, 692 (2008).
- 2) a) B. A. Smith, D. S. Daniels, A. E. Coplin, G. E. Jordan, L. M. McGregor, and A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 2948 (2008). b) D. S. Daniels and A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 14578 (2007).
- 3) a) L. K. Henchey, S. Kushal, R. Dubey, R. N. Chapman, B. Z. Olenyuk, and P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 941 (2010). b) J. Bao, X. Y. Dong, J. Z. H. Zhang, and A. Schepartz, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 3565 (2009). c) D. Wang, M. Lu, and P. S. Arora, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 1879 (2008).
- 4) a) K. Fujimoto, M. Kajino, and M. Inouye, *Chem.–Eur. J.*, **14**, 857 (2008). b) K. Fujimoto, N. Oimoto, K. Katsuno, and M. Inouye, *Chem. Commun.*, 1280 (2004).
- 5) F. Zhang, O. Sadowski, S. J. Xin, G. A. Woolley, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 14154 (2007).
- 6) F. Bernal, A. F. Tyler, S. J. Korsmeyer, L. D. Walensky, G. L. Verdine, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 2456 (2007).
- 7) J. Venkatraman, S. C. Shankaramma, and P. Balaram, *Chem. Rev.*, **101**, 3131 (2001); M. J. I. Andrews, and A. B. Tabor, *Tetrahedron*, **55**, 11711 (1999).
- 8) M. Kajino, K. Fujimoto, and M. Inouye, *submitted*.
- 9) a) K. Fujimoto, H. Kawai, M. Amano, and M. Inouye, *J. Org. Chem.*, **73**, 5123 (2008). b) K. Fujimoto, M. Amano, Y. Horibe, and M. Inouye, *Org. Lett.*, **8**, 285 (2006).
- 10) K. Fujimoto, M. Kajino, H. Kawai, and M. Inouye, *unpublished*.
- 11) K. Fujimoto, T. Fukazawa, and M. Inouye, *unpublished*.



分子プログラミング

～生体分子の階層性からのヒント～

名古屋大学大学院理学研究科物質理学専攻(化学系)

田中 健太郎

(kentaro@chem.nagoya-u.ac.jp)



【はじめに】

大小様々なたくさんの分子をコンポーネントとして自由自在に組織化し、分子内や分子間の機能的なコミュニケーションを作り出していくことが高次のナノシステムの創製に必須である。そのためには、精密な化学空間をメゾ、マクロ領域にまで展開し、それに基づいた精密な化学システムを構築するための方法論の確立が必要である。分子間の空間的な相対配置をデザインして分子組織を構築する方法として、逐次的な分子合成や分子間の自己組織化を有効に利用することが考えられる。核酸やタンパク質などの生体高分子は、厳密な配列構築に適した化学構造と特徴的なフォールディング構造を有し、とても魅力的な“ものづくり”のヒントを与えてくれる。これらを用いて、大きく複雑な分子システムを精密にプログラムできるかもしれない。

【DNA を用いた分子組織化】

DNA などの生体高分子は、ビルディングブロックであるヌクレオチドを逐次的に縮合反応により連結していくため、これらの分子構造をもとにすれば、デザインどおりに「数」、「組成」、「配列」、「方向」において全く分布を持たない精密な分子構造を合成することができる。また、このような生体高分子が形成する、二重らせん構造などの特異な折りたたみ構造をモチーフとして、ビルディングブロック上の機能性官能基の空間配置をデザインすることができる。よって、機能性ビルディングブロックの精密集積場としてこれら生体高分子は、究極の階層的なプログラム分子であるといえる¹⁻⁶。Seeman による DNA ナノ構造体の構築についての先駆的な研究^{1,7)}に続いて、DNA を用いたさまざまな精密分子組織についての研究が活発に行われてきた。DNA のプログラム性を巧みに利用し、タンパク質^{2,3,8,9}、ナノ粒子^{10,11}、色素分子¹²などを精密に集積化する方法が見いだされてきた。このように、DNA をテンプレートとして、サブマイクロメートルスケール以下のさまざまなサイズの分子組織を作り出すことができるため、集積化した分子間のコミュニケーションを生み出す分子構造を構築し、バイオセンサーやナノデバイス、触媒などへの応用が進められつつある。

【金属錯体型人工 DNA】

DNA のもっと小さい構成単位はヌクレオチドである。ヌクレオチド自体を化学的に修飾することにより、サブナノメートルの分解能で分子を集積する場を構築できると考えられる。新しい核酸アルファベットとして、核酸塩基に代わり、金属配位子を導入した人工ヌクレオシドは、金属イオンとの配位結合により塩基対を形成する(図 1)¹³⁻¹⁶。金属配位結合は水素結合と同様に穏和な条件

での可逆的な結合形成が可能であるため、核酸塩基の代わりに金属配位子をもつヌクレオシドを DNA に導入すると、金属イオンとの錯体形成をとおして二重鎖を形成する、新しい結合様式を持つ人工 DNA が生まれる。さらに、金属イオンは DNA 二重鎖の中心に位置することとなり、複数の金属イオンをらせん軸に沿って並べることも可能である。金属錯体は、金属配位子と金属イオンの組み合わせにより、その結合の特性や物性をファインチューニングすることが可能である。例えば、(1)結合、解離の熱力学や速度論を調節することができる、(2)二配位直線型、四面体型、平面四角型、六配位八面体型など様々な構造をとることができる、(3)酸化還元性、磁性、光応答・反応性、放射活性、ルイス酸性など多彩な物性を示す、といった通常の有機化合物とは異なるキャラクターを持つ。よって、金属配位結合により二重らせん構造を形成する金属錯体型人工 DNA を作ることで、金属錯体間に新しいコミュニケーションを生みだし、様々な新しい機能性分子としての人工 DNA を創出することができると考えられる。

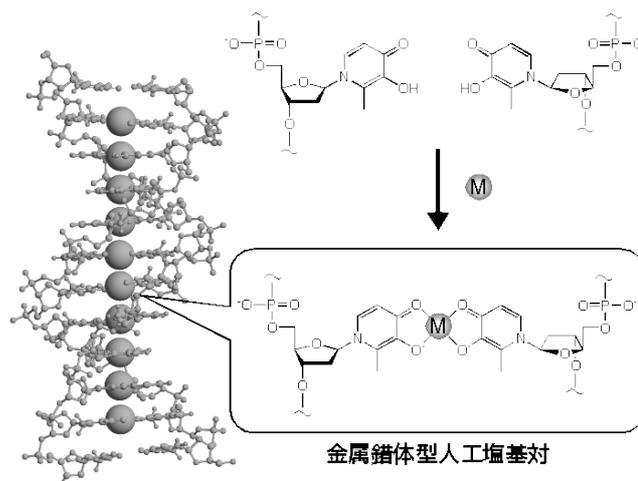


図1 金属錯体型人工DNA

【人工 DNA をテンプレートとした金属錯体の機能組織化】

DNA 自動合成機を利用した DNA 鎖の固相合成では、100 mer 程度まで、ヌクレオシドを「数」や「配列」を思い通りにデザインして合成することができる。この特徴を利用し、金属配位子を導入した人工ヌクレオシドの配列をテンプレートとして、DNA の二重鎖の中に金属錯体を思い通りに並べることができると考えられる。ヒドロキシピリドン型ヌクレオシド **H** を系統的に配列した自己相補的な二重鎖 DNA、 $d(5'-\text{GH}_n\text{C}-3')_2$ ($n = 1 - 5$) を合成し、二重鎖内への Cu^{2+} イオンの集積を行った(図 2a)¹⁷。 Cu^{2+} イオンの滴定実験やマスペクトル、CD スペクトルから Cu^{2+} イオンの添加によって $d(5'-\text{GH}_n\text{C}-3')_2\text{-Cu}^{2+}$ 右巻き二重らせん構造を形成し、**H-H** 塩基対の数 n に応じた Cu^{2+} イオンを定量的に二重鎖中へ集積できることが明らかとなった。さらに、配列化した Cu^{2+} イオン間のスピン-スピン相互作用を EPR スペクトルにより検討した結果、二重らせん構造の中で Cu^{2+} イオンは平面四配位型をとり、 $\text{Cu}^{2+}\text{-Cu}^{2+}$ 間約 3.7 Å の距離でスタッキングしていることが明らかとなった。また、 Cu^{2+} イオン間には基底状態において強磁性的な相互作用がみられ(図 2b)、 Cu^{2+} イオンの数に応じてスピン量子数が系統的に変化した。この Cu^{2+} イオン間の強磁性的な相互作用は、DNA のらせん構造に起因する。 Cu^{2+} イオンの不対電子は $d_{x^2-y^2}$ の軌道にあるが、DNA のらせん構造により、スタックした Cu^{2+} 錯体間で互いの軌道が非結合性軌道配置となり、強磁性的な相互作用となったと考えられる。以上より、金属錯体型人工 DNA を用いれば、あらかじめ決められた「数」の金属イオンを規則正しい空間配置で集積できること、さらに、その構造がスピンの配向集積場として機能することが示された。原理的には鎖長を延ばすことは可能であり、高分子磁性体のモチーフとして興味を持たれる。

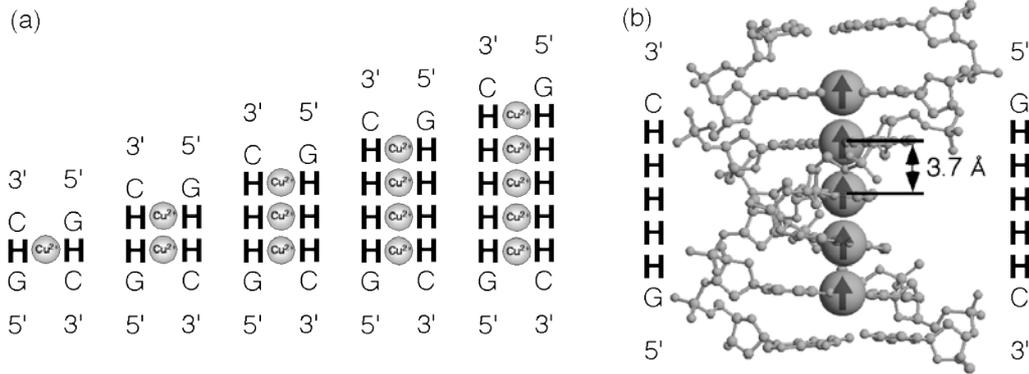


図2 金属錯体型人工DNAをテンプレートとしたスピン組織化

【人工DNAをテンプレートとした金属錯体の精密配列プログラミング】

DNAが分子集積化のテンプレートとして優れている点は、ビルディングブロックであるヌクレオシドの配列を思い通りに合成できる点である。よって、金属イオンの選択性が異なる人工ヌクレオシドをDNA鎖中に配列することにより、DNA二重鎖内で、異種の金属イオンの配列をプログラムすることができると考えられる。金属イオンと金属配位子の結合親和性は、酸塩基のハード・ソフト、配位数、配位構造、電荷の違いを利用して調節することができる。Cu²⁺イオンに親和性の高いヒドロキシピリドン型ヌクレオシド(**H**)と、Hg²⁺イオンと親和性の高いピリジン型ヌクレオシド(**P**)を配列化した人工DNA二重鎖、d(GHPHC)₂を用いて金属イオンのプログラム集積化を行った(図3a)¹⁸。**H**がCu²⁺イオンと平面四配位型錯体**H-Cu²⁺-H**塩基対を、また**P**がHg²⁺イオンと直線二配位構造**P-Hg²⁺-P**塩基対を形成し、定量的かつ位置選択的に、人工ヌクレオシドの配列が金属イオンの配列にCu²⁺-Hg²⁺-Cu²⁺として精密に転写された(図3a)。同様に、金属配位子型ヌクレオシドのシーケンスを拡張したDNA、d(GHHPHHC)₂を用いると、Cu²⁺-Cu²⁺-Hg²⁺-Cu²⁺-Cu²⁺配列が得られた(図3b)。さらに、サレン型ヌクレオシドとデオキシチミジンを配列したDNA鎖をテンプレートとして用いても、**S-Cu²⁺(en)-S**および**T-Hg²⁺-T**を形成しながら、5-10個の金属イオンの配列を自在に構築できることが見いだされている(図3c)。

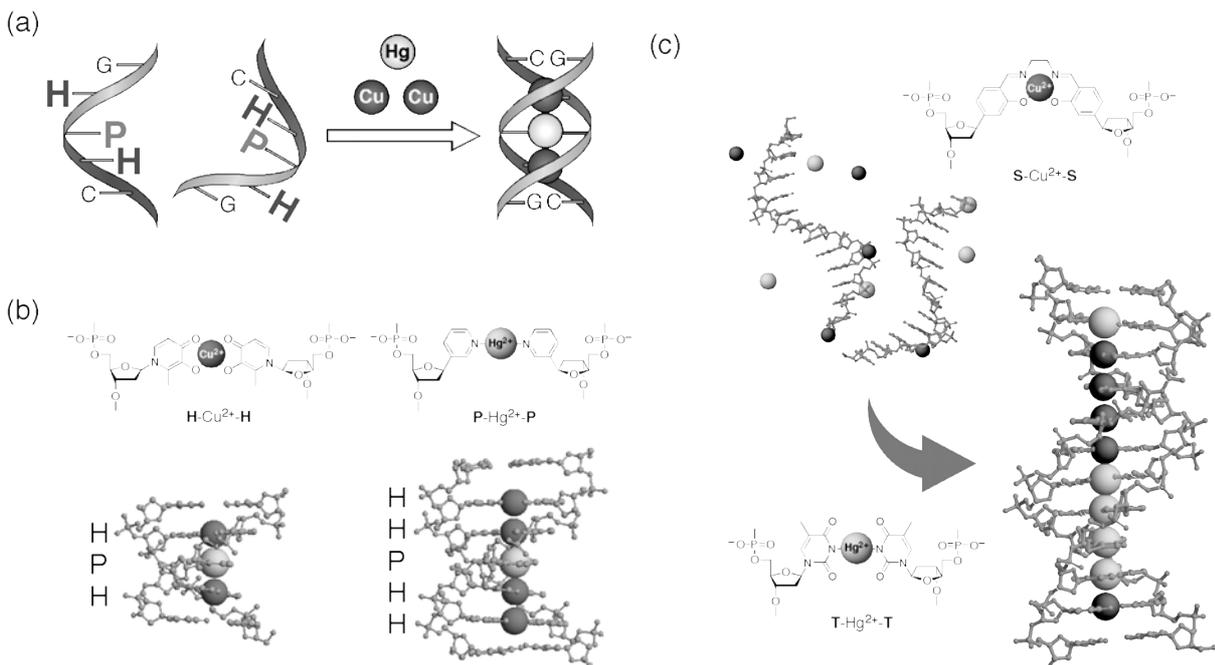


図3 金属錯体型人工DNAをテンプレートとした金属錯体のプログラム配列

本方法を用いることにより、水溶液中、混ぜるだけで多数多種の金属錯体を 100%の収率で精密に集積化できるため、金属錯体間の分子コミュニケーションを利用した、機能性分子システムの構築に興味を持たれる。

【まとめ】

結晶化を含むポリメリックな自己組織化による分子の集積方法は、モノマーの数や配列に幅広い分布を生じるため、多数・多種類からなる複雑な分子組織を精密に構築することは困難であった。これに対し、DNAなどの生体高分子を機能性分子構築のための骨格として用いる利点は、「数」と「配列」を制御して機能性ユニットを配列化できるところにある。また、これらは、メゾスケールにまで及ぶ分子構造をあらかじめデザインすることが可能であり、らせん構造だけでなく、シート、ループ、環などなど、さまざまな空間配置を規定する構造をビルディングブロックの配列によりデザインすることができる。現在我々は、次のステップとして、分子鎖上にプログラムした情報をもとに、(1) 多数多種のコンポーネントからなる、より複雑な、(2)メゾやマクロの領域に達する精密組織を構築し、(3)適切なタイミングで構造や機能を制御する分子システムの構築を目指している。これらをもとに、分子電線や分子磁石のような分子素子、触媒などの反応素子、吸光や発光、酸化還元性、磁性を利用した分析試薬としての展開を検討している。

- 1) (a) N. C. Seeman: *Nature*, **421**, 427 (2003). (b) N. C. Seeman: *Int. J. of Nanotechnol.*, **2**, 348 (2005). (c) N. C. Seeman: *Methods in Mol. Biol.*, **303**, 143 (2005). (d) N. C. Seeman and P. S. Lukeman: *Rep. Prog. Phys.*, **68**, 237 (2005).
- 2) (a) C. M. Niemeyer: *Appl. Phys. A*, **68**, 119 (1999). (b) C. M. Niemeyer: *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **4**, 609 (2004). (c) C. M. Niemeyer: *Angew. Chem., Int. Ed.*, **40**, 4128 (2004). (d) C. M. Niemeyer: *Trends. Biotechnol.*, **20**, 395 (2002).
- 3) K. V. Gothelf and T. H. LaBean: *Org. Biomol. Chem.*, **3**, 4023 (2005).
- 4) J. Wang: *Org. Biomol. Chem.*, **2**, 277 (2004).
- 5) J. J. Storhoff and C. A. Mirkin: *Chem. Rev.*, **99**, 1849 (1999).
- 6) Y. Sun and C.-H. Kiang, *Handbook of Nanostructured Biomaterials and Their Applications in Nanobiotechnology Vol. 2* (H. S. Nalwa), 223 (2005), American Scientific Publishers.
- 7) N. C. Seeman: *J. Theor. Biol.*, **99**, 237 (1982).
- 8) (a) C.M. Niemeyer, T. Sano, C.L. Smith, and C.R. Cantor: *Nucleic Acids Res.*, **22**, 5530 (1994). (b) C.M. Niemeyer, W. Bürger, and J. Peplies: *Angew. Chem., Int. Edn.*, **37**, 2265 (1998). (c) C. M. Niemeyer, M. Adler, B. Pignataro, S. Lenhert, S. Gao, L. Chi, H. Fuchs, and D. Blohm: *Nucleic Acid Res.*, **27**, 4553 (1999). (d) C. M. Niemeyer, M. Adler, S. Gao, and L. Chi: *Angew. Chem., Int. Edn.*, **39**, 3055 (2000). (e) C. M. Niemeyer, M. Adler, S. Lenhert, S. Gao, H. Fuchs, and L. Chi: *ChemBioChem*, **2**, 260 (2002).
- 9) (a) H. Yan, S.-H. Park, G. Finkelstein, J. H. Reif, and T. H. LaBean: *Science*, **301**, 1882 (2003). (b) H. Li, S.-H. Park, J. H. Reif, T. H. LaBean, and H. Yan: *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 418 (2004). (c) S.-H. Park, P. Yin, Y. Liu, J. H. Reif, T. H. LaBean, and H. Yan: *Nano Lett.*, **5**, 729 (2005). (d) S.-H. Park, C. Pistol, S.-J. Ahn, J. H. Reif, A. R. Lebeck, C. Dwyer, and T. H. LaBean: *Angew. Chem., Int.*

Edn., **45**, 735 (2006).

10) C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, and J. J. Storhoff: *Nature*, **382**, 607 (1996).

11) A. P. Alivisatos, K. P. Johnsson, X. Peng, T. E. Wilson, T. C. J. Loweth, M. P. Bruchez, and P. G. Schultz: *Nature*, **382**, 609 (1996).

12) (a) S. Kawahara, T. Uchimarui, and S. Murata: *Chem. Commun.*, **1999**, 563. (b) Y. Ohya, K. Yabuki, M. Komatsu, and S. Murata: *Polym. Adv. Technol.*, **11**, 845 (2000). (c) Y. Ohya, K. Yabuki, M. Hashimoto, A. Nakajima, and T. Ouchi: *Bioconjugate Chem.*, **14**, 1057 (2003). (d) I. Horsey, W. S. Furey, J. G. Harrision, M. A. Osborne, and S. Balasubramanian: *Chem. Commun.*, **2000**, 1043. (e) A. K. Tong, S. Jackusch, Z. Li, H.-R. Zhu, D. L. Akins, N. J. Turro, and J. Ju: *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 12923 (2001). (f) J. Liu and Y. Lu: *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 15208 (2002). (g) M. Heilemann, P Tinnfeld, G. S. Mosteiro, M. G. Parajo, N. F. Van Hulst, and M. Sauer: *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 6514 (2004).

13) M. Shionoya and K. Tanaka: *Bull. Chem. Soc. Jpn. (Account)*, **73**, 1945 (2000).

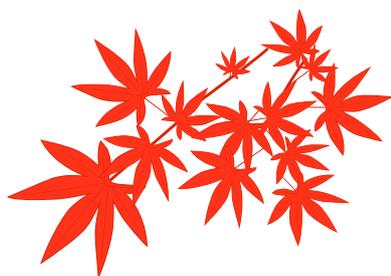
14) K. Tanaka and M. Shionoya: *Chem. Lett. (Highlight Review)*, **35**, 694 (2006).

15) K. Tanaka and M. Shionoya: *Coord. Chem. Rev.*, **251**, 1731 (2007).

16) G. H. Clever, C. Kaul and T. Carell: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 6226 (2007).

17) K. Tanaka, A. Tengeiji, T. Kato, N. Toyama, and M. Shionoya: *Science*, **299**, 1212 (2003).

18) K. Tanaka, G. Clever, Y. Takezawa, Y. Yamada, C. Kaul, M. Shionoya, and T. Carell: *Nature Nanotech.*, **1**, 190 (2006).



気になった論文

下山 敦史(しもやま あつし)

大阪大学 大学院理学研究科 化学専攻 博士研究員

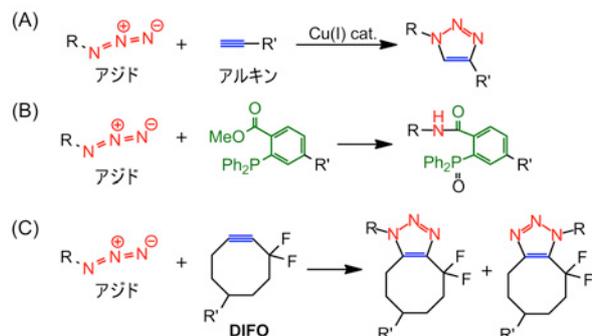
shimo@chem.sci.osaka-u.ac.jp

この度は生命化学研究レターの論文紹介への執筆機会を頂き、編集委員の先生方に心より感謝申し上げます。現在、私は大阪大学にて深瀬浩一教授のもと、免疫活性化システムの解明と制御を目指し、生理活性複合糖質の合成およびその機能解明を進めており、今後は、ヒトが本来有する免疫システムを巧みに制御することで病気を治癒に結びつけるような基礎科学的知見を得ていきたいと考えております。

これまでの研究を通して私は、巨視的な生命現象である免疫システムを分子レベルの微視的な化学反応として捉え直し、化学的手法を駆使することで、生命科学に挑んできました。こうしたchemical biology分野において、生命現象を深く理解するための重要な手段の一つに、目視できない生理活性物質を可視化する技術、いわゆる分子イメージング技術があります。今回は、この分子イメージング技術に関する論文を紹介させていただきたいと思いますが、まずは、背景としてclick-chemistryを基盤とした生体分子イメージング法が近年どのように発展してきたのか、少し触れさせていただきます。

生体分子を選択的かつ効率的に化学修飾するために、周囲の環境・条件にほとんど影響を受けず生体適合条件下でも進行する高化学選択的・高収率・高速反応がこれまで数多く開発されてきました。その代名詞とも言えるのがアルキンとアジド化合物によるHuisgen反応(Scheme 1A)であり、Sharplessらが提唱するclick-chemistryの根幹を成し、分子プローブだけでなく、医薬候補化合物の探索や dendrimers の収束型合成などといった数多くの機能性物質構築に用いられてきました。アルキンとアジドのような生体内には通常存在しない官能基同士の反応であるHuisgen反応は生体直交性が高く、*in vivo*での標識化への応用が期待されましたが、本反応を効率的に進行させるために必須である銅触媒による細胞毒性が問題となっていました。これを解決したのが Bertozziらのグループです。

彼女らは代謝経路を利用し、アジド基を導入した細胞表面糖鎖に対し、アジドとリン試薬による生体直交型反応、Staudinger-Bertozzi Ligation (Scheme 1B)を用いることで細胞表面を人工修飾する技術を既に確立していましたが、反応速度の遅さとリンの非特異的な酸化を問題とし、より生体直交性が高く、高速な反応を求め、2007年、 α 位にフッ素原子を導入したcyclooctyne (DIFO)を用いたCu-freeなHuisgen反応(Scheme 1C)を開発しました(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 16793-7 (2007))。DIFO内の三重結合は大きなひずみとフッ素原子による電子求引性により



Scheme 1.

活性化されているため、銅触媒なしの高速かつ高選択的Huisgen反応が可能となり、生きた個体での非侵襲型 *in vivo* イメージングを行う上での重要なブレイクスルーとなりました。現在では、生きたマウス体内でのCu-free Huisgen反応(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2010**, *107*, 1821-6)が達成されている他、ひずんだ多重結合を利用したプローブについても様々な改良がなされております(*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **47**, 2253-5 (2008)., *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 3688-90 (2010))。

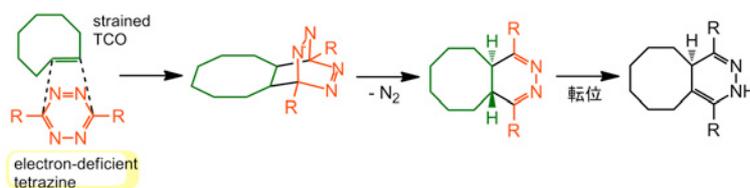
このような背景のもと様々な生体分子イメージング法が報告されてきましたが、中でもPhilips ResearchのグループはHuisgen反応とは異なるタイプの生体直交型反応を駆使し、数当量の分子プローブによるガンのイメージングを達成しておりますので、まずはこれをご紹介します。

In vivo chemistry for pretargeted tumor imaging in live mice

R. Rossin, P. R. Verkerk, S. M. Bosch, R. C. M. Vulders, I. Verel, J. Lub, M. S. Robillard, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 3375–3378 (2010).

前述のように、これまでに様々な生体直交型反応が開発され、*in vivo*においても、周りの組織に影響を与えることなく生きた個体のイメージングが達成されてきました。しかしながら、現在用いられているような条件は臨床応用を考えた場合、分子プローブの投与量が大幅すぎるのと著者らは指摘しており、本論文においては、その問題解決を目指し、生体直交型反応を巧みに用いることでわずか数当量の放射性プローブの静脈内投与によりガンの非侵襲型イメージングを達成しております。

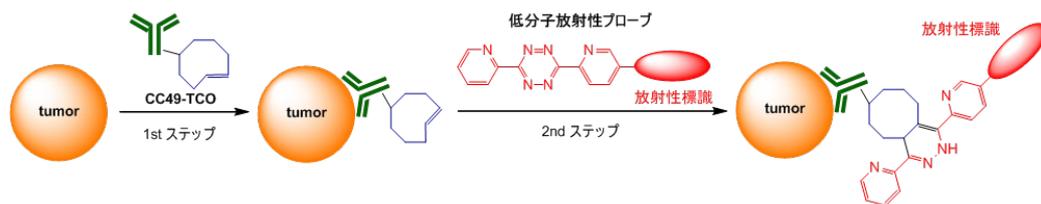
まず、著者らは Staudinger Ligation (Scheme 1B) や DIFO による Huisgen 反応 (Scheme 1C) を用いた場合、大過剰のプローブを要する原因の一つにその反応速度を挙げています。静脈内投与された場合、分子プローブのような低分子化合物は速やかにク



Scheme 2.

リアランスされてしまうため、少量のプローブによるイメージングを達成するためにはこれまでの高速クリック反応を超える超高速クリック反応を用い、低濃度条件下においても瞬時に反応を完結させる必要がありました。そんな超高速であり、かつ高い官能基選択性を有する反応として著者らが採用したのが、2008年にFoxらにより報告された電子不足のtetrazineとひずんだtrans-cyclooctene(TCO)誘導体による逆電子要請型Diels-Alder反応です (Scheme 2)(*J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 13518-9 (2008))。オレフィンの環化付加の後、窒素の放出、転位を経て安定なdihydropyridazine体が形成される本反応は、副生成物が窒素のみである上、有機溶媒、水中はもちろんのことcell mediaやcell lysate中でも問題がなく高い化学選択性で進行し、何より、DIFOによるHuisgen反応 (Scheme 1C) に比べ、二万倍以上の反応速度を示します。

この新たなタイプの超高速クリック反応を用いて、著者らは次のようなプレターゲティングシステムを構築しております (Scheme 3)。まず、TCOを導入した抗体を投与し(1stステップ)、1日後、ガン部に抗体が集積し余剰の抗体が血中からク



Scheme 3.

アランスされた後に、低分子の放射性プローブを投与します (2ndステップ)。このようなプ

レターゲティング法は抗体を直接標識した場合に比べ、余剰な抗体が事前にクリアランスされるためコントラストの明確な画像を得る事が可能な上、低分子放射性プローブはすみやかに排出されるため、被ばく量を抑えることができます。さらに、目的に合わせて標識基を変換することが容易であるため、診断から治療に至るまで幅広い応用が可能です。また、現在用いられているプレターゲティング法の多くはストレプトアビジンや二重特異性抗体を用いたものであり、アビジンの免疫原性や抗体作成の煩雑さが問題となっているため、クリック反応によるプレターゲティング法の確立はこれら問題の解決にもなります。

実際には大腸ガンを含む多くの固形ガンに過剰発現しているタンパク質TAG-72のモノクローナル抗体CC49に対し、活性エステル**1** (Figure 1)を用いリジン側鎖を修飾した抗体CC49-TCOとtetrazine-DOTA誘導体**2**を¹¹¹InによりRI標識した[¹¹¹In]-**2**を用いてイメージングを試みています。まず、*in vitro*で検討したところプローブ[¹¹¹In]-**2**と抗体CC49-TCOは血中、血清中、PBS中、いずれの条件下でも十分な反応性、安定性を保持しており、低濃度条件においても数当量の[¹¹¹In]-**2**を用いる事で十分にCC49-TCOを標識可能であることがわかりました。次に、実際の*in vivo*の系において、ヒト大腸ガンを異種移植したマウスに対し、抗体CC49-TCO(100 μg)を投与し、1日後、TCOに対し3.4当量の放射性プローブ[¹¹¹In]-**2**を投与し、単一光子放射断層撮影(SPECT)を用いて観察したところ、ガン組織への明らかな集積が確認されました(著作権の都合上、図が載せられませんので、ご興味ある方は論文の方をご参照願います)。また、¹²⁵Iにより標識化した抗体[¹²⁵I]-CC49-TCOをプローブ[¹¹¹In]-**2**とともに用いた実験によりCC49-TCOがガン組織選択的に集積していること、[¹¹¹In]-**2**と[¹²⁵I]-CC49-TCOは共局在しており、逆電子要請型Diels-Alder反応は*in vivo*条件下でも確実に進行していることも確認しております。

このように、逆電子要請型Diels-Alder反応を用いることで、世界で初めて数当量の放射性プローブの静脈内投与による非侵襲型ガンイメージングが達成されるとともに、Foxらの反応の高い有効性が証明され、Huisgen反応に代わり得る有用なクリック反応の一つとして、幅広い応用が期待されます。

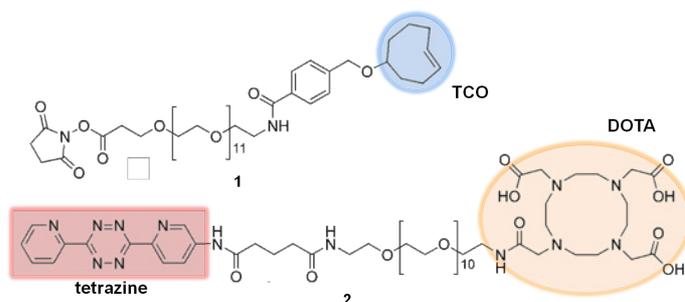


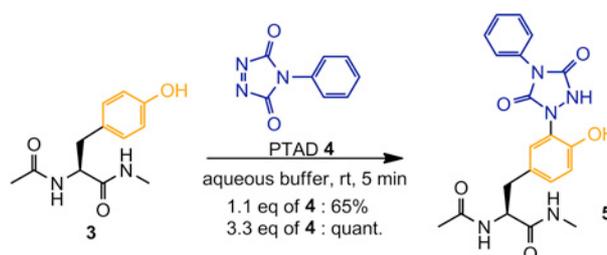
Figure 1.

Tyrosine bioconjugation through aqueous ene-type reactions: a click-like reaction for tyrosine

H. Ban, J. Gavriluk, C. F. Barbas, III, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 1523-1525 (2010).

イントロから一報目の紹介にかけては生体直交型反応に焦点を当ててきましたが、生体直交型でない標識化法にも有用なものが数多く存在します。次に紹介しますスクリプス研究所のBarbasらによるチロシンをターゲットとした新たなタンパク質標識化反応もそんな反応の候補の一つだと思います。

生体直交型反応を用いてラベル化を行う際は生体直交性の高い官能基(アジド基、TCO基等)をあらかじめ導入しておく必要がありますが、標的分子に既存の特定構造に対し高い選択性を有する反応があればより簡便な生体分子の直接標識化が可能となります。そのような戦略のもと、リジンやシステインの側鎖をターゲットとした反応が多くのグループから報告されていますが、多く



Scheme 4.

の場合、リジンは数が多過ぎるため、部位特異的な修飾が難しく、また、システインは大抵ジスルフィド結合を形成しているため還元しないうちで修飾不可能な状態にあります。そのため、近年、トリプトファンやチロシンなどの芳香族アミノ酸側鎖が標識ターゲットとして注目されてきました。特に、チロシン側鎖選択的修飾法としてはMannichタイプの反応が既に報告されています(*J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 7639-44 (2008))、反応性の高いホルムアルデヒドを用いるため、官能基選択性が完全ではありませんでした。今回、Barbasらは環状のdiazodicarboxamide、PTAD **4**を用いる事でこの問題を解決し、穏和な条件下での高チロシン選択的な修飾を達成しております。

Barbasらはチロシン誘導体**3**に対し、phosphate buffer/acetonitrile中で3.3当量のPTAD **4**を反応させると速やかにEne反応が起こり、五分以内に生成物**5**を定量的に与えることを見出しました(Scheme 4)(PTAD 1.1当量の場合は収率65%)。この反応性は生体分子を標識化するに十分であると考えられ、また、他のアミノ酸(リジン、システイン、セリン、トリプトファン、ヒスチジン)の共存化でも反応はチロシン選択的に進行し、官能基選択性についても問題がなく、生成物は酸、塩基、熱に対して安定でありました。

次に、ラベル化反応としての有用性を確認するためにチロシンを含む3種類のタンパク質(chymotrypsinogen A, BSA, myoglobin)に対し、蛍光基を導入したPTAD **6** (Figure 2)を用い、標識化が検討されました。1~5%のDMFを含むPBS中で15分間反応させた後、標識率を見積もったところchymotrypsinogen Aについては81%、BSAについては96%と良好な収率で反応が進行していました。しかしながら、数十から数百当量の大過剰の試薬を用いている上、チロシン残基が立体的に込み入った位置に存在するmyoglobinの場合は数%しか標識化が進行しておらず、反応の更なる効率化が望まれます。それでもこれまでの方法ではmyoglobinのチロシン残基の修飾は不可能でありましたし、タンパク質表面のチロシン残基については穏和な条件下で高選択的、高収率かつ高速な反応が実現されており、本反応の有用性を疑う余地はありません。

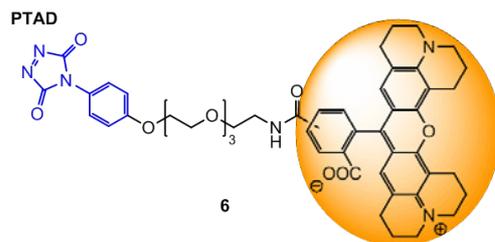


Figure 2.

また、受容体型チロシンキナーゼ、HER2タンパク質に結合するモノクローナル抗体であるherceptin上のチロシン残基に対し、本反応を用いてintegrinの認識配列であるRGDペプチドを導入することで、HER2に対する結合能を弱めることなくintegrinにも認識される人工多機能抗体の合成にも成功しており、生体分子の活性を損なうことなく、新たな機能を付加することが可能な本反応が今後どのような展開をみせていくのか大変楽しみです。

Rhodamines NN: a novel class of caged fluorescent dyes

V. N. Belov, C. A. Wurm, V. P. Boyarskiy, S. Jakobs, S. W. Hell, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 3520–3523 (2010).

これまでは標識化反応に注目してきましたが、最後に標識基の方に焦点を当ててみたいと思います。一報目の論文で紹介しましたようにRI標識は定量性が高く、感度も十分であります。解像度がPETの場合で数mmほどであるため、マクロなイメージングによく用いられます。一方で、蛍光標識はサブセラーレベルの高解像度が期待でき、ミクロなイメージングにも適用可能です。中でも任意の時間・場所において蛍光を発現させることの可能なケージド蛍光基は生きた細胞内の動態を詳細に観察・分析するための強力なツールとなっています。今回はMax Planck研究所のHellらにより報告された新たなタイプのケージド蛍光基に関する論文を

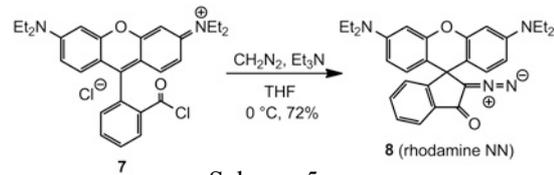


Figure 3.

今回Max Planck研究所のHellらにより報告された新たなタイプのケージド蛍光基に関する論文を

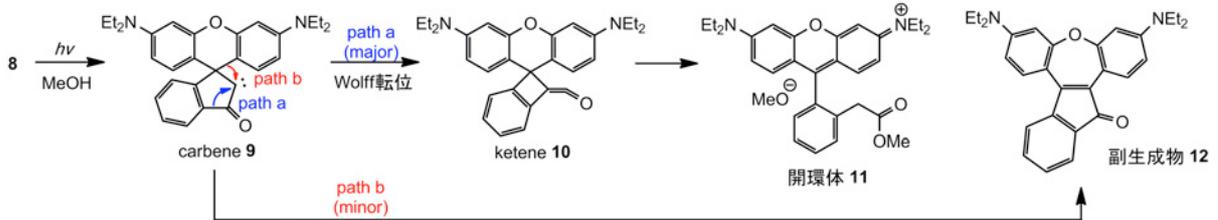
紹介させていただきます。

そもそも、ケージド化合物とは光照射によって初めてその分子本来の機能や活性が発現するように設計された化合物であり、生理活性物質から蛍光色素のような機能性分子に至るまで様々なタイプのもものが開発されてきました。これらの多くは*o*-nitrobenzyl基(Figure 3)に代表される光分解性保護基によりケージされていますが、嵩高い保護基導入による物性の変化、ケージ解除後の副生成物の毒性、反応性、色などの問題が指摘されています。近年、これら問題の解決を目指し、ケージ解除の効率が高く安定性も高いBhc基(Figure 3)(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 1193-1200 (1999))や副生成物は窒素のみである芳香族アジド基(*J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 7639-44 (2008))などが開発されています。今回Hellらはコンパクトなdiazoketone基を用いる事で、保護基導入による変化を最小限に抑えた上で、ケージ解除による副生成物は窒素のみという理想的なケージド蛍光色素rhodamine NNを開発しました。



Scheme 5.

ジアゾメタンを用いる点は改良の余地があるとは思いますが、rhodamine NN **8**は酸塩化物**7**より容易に調製可能であり(Scheme 5)、光照射によりcarbene **9**、ketene **10**を経て開環体**11**へと導かれます(Scheme 6)。carbene **9**由来で副生成物**12**も生じますが、こちらは蛍光性は示さず、**11**によるイメージングに影響を与えないことが確認されています。rhodamine NN **8**は410 nm以下の波長の光で活性化可能であり、開環体**11**は励起波長559 nm、蛍光波長579 nm、 $\epsilon \approx 66000$ (メタノール中)という蛍光色素として十分使用可能な蛍光特性を示しました。



Scheme 6.

次に彼らは類似した励起、蛍光波長を有する3つの異なる蛍光色素を用い、色収差を抑えたマルチラベル化を行っています。具体的には蛍光色素tetramethylrhodamineに加え、異なる波長の光によりケージ解除される2種類のケージド蛍光色素 tetramethylrhodamine NN (今回開発されたタイプ)とspiroamide rhodamine S (以前に著者らが報告したタイプ; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 6266-70 (2007))を用い、Figure 4に示されるようにケージ解除、消光、励起を巧みに行うことで、同一細胞内の3つの異なる組織を同一の光源、検出器により段階的に多重染色し、それぞれを別々に可視化することに成功しています。

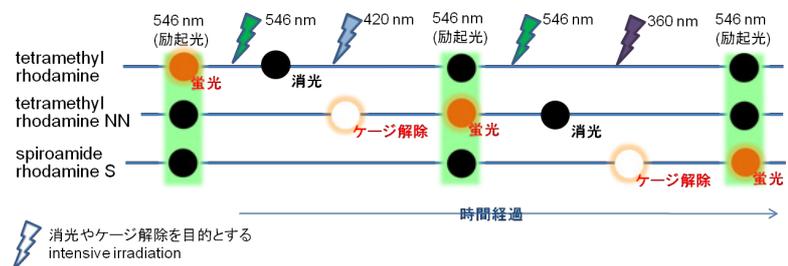


Figure 4.

このようにdiazoketone基を有する新たなタイプのケージド化合物を既存のシステムに組み込むことで、新たな技術へと昇華させることが可能であり、今回の報告が蛍光イメージングを行う上での選択肢を増やしたことは間違いのないでしょう。

水澤 圭吾 (みずさわ けいご)

京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻 生物有機化学分野 博士後期課程 2年

keigo8558523@yahoo.co.jp

この度は、生命化学研究レターの論文紹介の執筆機会を頂き、心から感謝致します。現在、私は京都大学大学院工学研究科の浜地格教授の指導の下、プローブの自己会合/解離によるシグナルスイッチングを用いた蛋白質検出法の開発を行っております。今回は、蛋白質工学に関連した論文をはじめ、蛋白質ラベリング法また新たな分子イメージング法の開発に関する論文を紹介させていただきます。

Engineered allosteric activation of kinases in living cells

A. V. Karginov, F. Ding, P. Kota, N. V. Dokholyan, K. M. Hahn, *Nat. Biotechnol.* **28**, 743-748 (2010).

キナーゼの触媒活性をアロステリックに制御する手法の開発に関しての紹介です。これまでに組換え蛋白質による蛋白質活性のアロステリック制御法は報告されているものの、適用できる蛋白質に制限があり、また特定のドメインのみを制御することはできないという問題がありました。今回著者らは、iFKBP と称した truncated FKBP12 蛋白質をキナーゼ活性部位近傍に組み込むことで、FKBP リガンドである rapamycin および FRB 蛋白質の結合に伴う iFKBP の構造変化を介したキナーゼのアロステリック制御法を開発しています(Fig 1a)。

まず著者らは、マルチドメインを有する focal adhesion kinase (FAK)を用いて、iFKBP の挿入位置およびリンカーの最適化を行った結果、FAK の 442-448 番目の配列箇所に GPG リンカーを介して iFKBP を挿入した RapR-FAK が、rapamycin 添加によって FAK のキナーゼ活性の制御に成功しています(Fig 1b)。また、FAK の触媒活性は FERM ドメインとキナーゼドメインとの相互作用により調節されていることから、それに関わる二つのアミノ酸部位(Y180 と M183)を alanine に置換した RapR-FAK-YM によって、アロステリック制御

が可能かつ内在性調節機構の影響のないキナーゼを作り出すことにも成功しています(Fig 1c)。この RapR-FAK-YM は細胞内において FAK と同じ局在を示したことから、FAK の持つ他の機能を阻害していないことが示されています。FAK は癌細胞において過剰発現していることが知られていますが、その癌細胞における FAK の触媒活性の役割に関しては不明確でした。著者らは Hela 細胞に RapR-FAK-YM を発現させたところ、rapamycin の添加によって細胞膜の ruffling が見られたことから(Fig 1d)、FAK の触媒活性は細胞膜の動態の制御に関与していることを示唆する結果が得られていま

した。今回開発した手法は、tyrosine kinase である Src や serine/threonine kinase である p38 といった他のキナーゼにも適用可能であることも示されていたことから、汎用性のある手法であると言えるでしょう。キナー

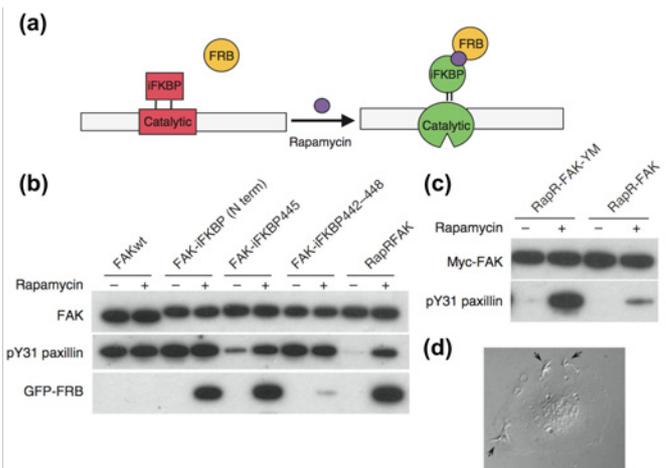


Fig 1. (a) 本手法の模式図、(b, c) キナーゼ活性評価、(d) RapR-FAK-YM を発現した Hela 細胞 (論文より一部改変)

ぜは重要な創薬ターゲットとして知られていることから、本手法を創薬探索に用いることによって、特定のキナーゼに対する阻害剤探索法への応用が可能になるのかもしれませんが。

A fluorophore ligase for site-specific protein labeling inside living cells

C. Uttamapinant, K. A. White, H. Baruah, S. Thompson, M. Fernández-Suárez, S. Puthenveetil, A. Y. Ting, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107**. 10914-10919 (2010).

次に、細胞内蛋白質のラベル化およびイメージングのための手法に関する論文の紹介です。これまでに Green Fluorescent Protein (GFP)を始めとした蛋白質タグを用いた手法が報告されていますが、立体障害による標的蛋白質の機能阻害という問題がありました。FLASH/tetracysteine tag に代表されるようなダウンサイジングしたペプチドタグを用いる手法も開発されていますが、選択性に乏しく、細胞毒性などといった問題点があるのが現状です。以前に著者らは、PRIME (PRobe Incorporation Mediated by Enzyme) と称した *E.coli* 由来のリボ酸リガーゼ (LplA)と LAP (LplA acceptor peptide)と呼ばれるペプチドタグを用いた蛋白質ラベル化法を開発しており、細胞表層蛋白質のラベル化に成功していました。しかし、その手法では、LplA による azidealkanoic acid のラベル化および Cyclooctyne の[3+2] cycloaddition といった 2 段階のステップを踏まなければならない、細胞内蛋白質のラベル化を行う際には azide 体および alkyne 体の洗浄操作を伴いました。今回筆者らは、1 ステップでの蛋白質ラベル化を可能にする変異型 LplA の創製することで、生細胞内蛋白質へのラベル化に成功しています(Fig 2a)。まず、7-hydroxycoumarin カルボン酸を用いて変異型 LplA のラベル化能を評価した結果、W37 変異体が 7-hydroxycoumarin 体のラベル化を可能にし、またその中でも W^{37V}LplA が最も高いラベル化効率を示すことを明らかにしました。

生細胞内蛋白質へのラベル化として、Yellow fluorescent protein (YFP)を融合させた LAP2 ペプチドおよび W^{37V}LplA を共発現させた HEK 細胞に対し、細胞膜透過性をもつ Coumarin 4-AM₂ (Fig 2b) を作用させることで、細胞内での蛋白質ラベル化に成功しています(Fig 2c)。また、W^{37V}LplA に局在化シグナル配列を導入することによって、特定部位のみでの蛋白質ラベル化も成功しています。使用できる色素が hydroxycoumarin に制限されるという問題点がありますが、生細胞内におけるラベル化効率や高い選択性の面から優れた手法であり、また蛋白質ラベリングの空間的制御が可能という点が非常に興味深く、今後の報告に期待しています。

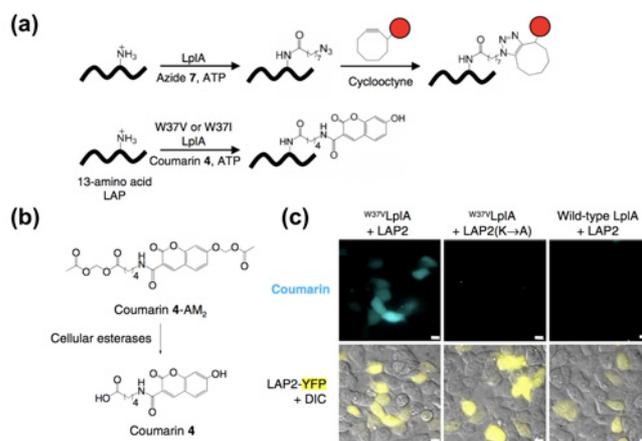


Fig 2. (a) PRIME 法、(b) Coumarin 4-AM₂、(c) 細胞内蛋白質ラベリング (論文より一部改変)

Second harmonic generating (SHG) nanoprobe for in vivo imaging

P.Pantazis, J. Maloney, D. Wu, S. E. Fraser, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**. 14535-14540 (2010).

細胞や組織・生体内での特定分子の動態を可視化するために、上述の紹介にもあるような蛍光蛋白質や蛍光性小分子・quantum dot (QD)などを利用した分子イメージング手法やプローブ分子がこれまでに多く報告されています。しかし、これらプローブには、蛍光飽和やフォトブリーチング、特に QD に見られる発光ブリンキングといった問題点があるため、実際は十分なポテンシャルを発揮できていません。著者らは、こ

これらの問題点を克服できる手法として、第二高調波発生 (Second harmonic generation; SHG) と呼ばれる現象を用いたイメージング用ナノプローブの開発に関して報告しています。SHG 現象とは、2 個の光子を 2 倍の周波数を持つ 1 つの光子に変換される非線形光学現象のことで、入射光の半分の波長が発生する現象です (Fig 3a)。この現象は非線形光学結晶に光照射した時にのみ見られるものなので、著者らは幾つかのプローブ候補の中から、生理条件下で安定に存在でき、かつ強 SHG シグナルを発する条件を満たす正方晶の BaTiO₃ を SHG ナノプローブとして用いています。実際に BaTiO₃ に 820 nm のレーザーで照射した所、410 nm に SHG シグナルが観測されており (Fig 3b)、従来の蛍光プローブの問題であった蛍光飽和やブリーチング・プリンキングが見られませんでした。著者らは、この SHG プローブの免疫染色法への応用を行っています。2 次抗体として BaTiO₃ 結晶の表面に Cy5-IgG 抗体を修飾したプローブ (Fig 3c) を用いて zebrafish embryos の胴切片の染色を試みたところ、dystrophin の局在部位から SHG シグナルを観測することに成功しました (Fig 3d)。今回の報告にあった SHG ナノプローブは、シグナルの検出波長が短波長になるため生体組織による吸収といった問題点が残されています。しかし、現象としては非常に興味深いものであり、これを応用した今後の研究展開に注目しています。

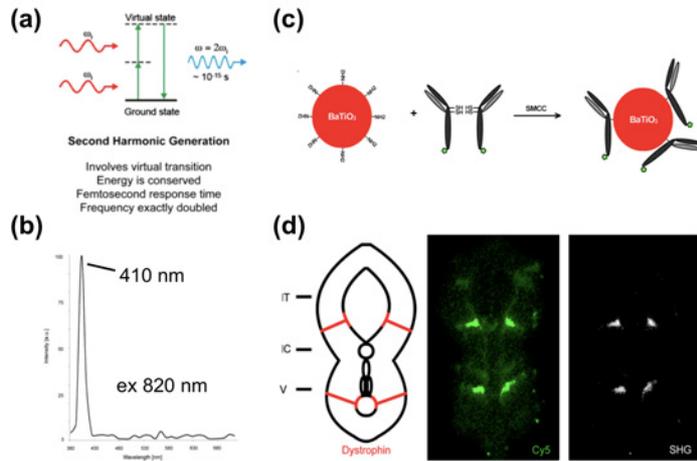


Fig 3. (a) SHG 現象、(b) BaTiO₃ の SHG シグナル、(c) Cy5-IgG 抗体で修飾した BaTiO₃ 結晶、(d) 免疫染色結果 (論文より一部改変)



大倉 裕道(おおくら ひろみち)

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 博士後期課程2年

hohkura@bio.titech.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、心より感謝いたします。現在私は東京工業大学生物プロセス専攻において三原久和教授の御指導の下、機能性人工タンパク質獲得手法の確立に向けた研究を行っております。タンパク質は 20 種類のアミノ酸を構成要素として、酵素などの洗練された触媒作用、多量体や複合体を形成する優れた分子認識能など多岐にわたる機能を示します。これらの機能はタンパク質に固有の立体構造や特性に起因しており、今後、その構造機能相関に関する情報をもとに望みの機能を有するタンパク質創製が可能になると考えられます。今回はタンパク質の構造と機能に着目した研究の中から、タンパク質が会合する際に起こる構造変化を示した論文を 1 報、二基質反応性の酵素活性をもつタンパク質を設計・作製した論文を 1 報、最後に、新たなタンパク質の立体構造予測法を示した論文を 1 報紹介いたします。

Protein refolding is required for assembly of the type three secretion needle

Ö. Poyraz, H. Schmidt, K. Seidel, F. Delissen, C. Ader, H. Tenenboim, C. Goosmann, B. Laube, A. F. Thünemann, A. Zychlinsky, M. Baldus, A. Lange, C. Griesinger, M. Kolbe, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 788–792 (2010)

天然のタンパク質の中には、優れた自己組織化能をもつものが報告されており、その自己組織化メカニズムは形体制御や微細なマテリアル構築の面から注目されています。本論文で著者らは、病原性グラム陰性菌が細胞へ病原因子を送り込む際、注射針のように働くⅢ型分泌装置の針部を形成するタンパク質プロトマーに着目し、その針部形成メカニズムを解明しました。本論文では *S. typhimurium* 株由来のプロトマー PrgI の変異体 PrgI* を利用しました。in vitro でも針部形成能をもつ PrgI* をモノマーの状態 でインキュベーションしたところ、一定時間経過後、急激な針形成スピードの増加が確認され、この組織化が核生成過程と組織の伸長過程の 2 過程からなることが示唆されました。また残りのⅢ型分泌装置 (TTSS) と共にインキュベートした際、TTSS を起点に一方方向に針が伸長することから、TTSS がプロトマーの核形成の土台となり、針が伸長することを示しました。さらに PrgI* は針部形成に伴い、α ヘリックスヘアピン様の構造のうち C 末端の一部の α ヘリックス構造が β シート構造へと転移し、アミロイド様繊維のクロス β 構造とも異なる構造をとることが明らかにされました(図 1)。この構造転位領域において、異なる株のプロトマー間に相同性がみられることから、筆者らは図 2 に示すグラム陰性菌に共通な針部形成モデルを提唱しました。自然界で保存されている構造体形成時にタンパク質

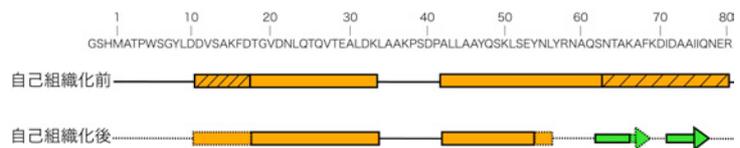


図1 .PrgI*の自己組織化前後における二次構造領域の変化 (αヘリックスを四角、βストランドを矢印で示した。斜線部はフレキシブルな領域を示し、破線部は明確に同定されていない領域を示す。)

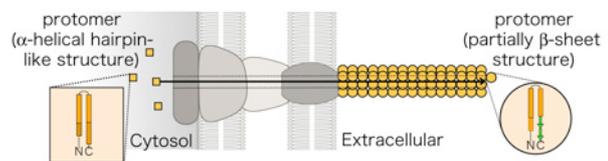


図2. 著者らが想定したTTSS針部形成モデル

の立体構造転移が起こることは興味深く、本論文により初めて実験的に示されたことは意義深いと感じました。

Computational design of an enzyme catalyst for a stereoselective bimolecular Diels-Alder reaction

J. B. Siegel, A. Zanghellini, H. M. Lovick, G. Kiss, A. R. Lambert, J. L. St.Clair, J. L. Gallaher, D. Hilvert, M. H. Gelb, B. L. Stoddard, K. N. Houk, F. E. Michael, D. Baker, *Science*, **329**, 309–313 (2010)

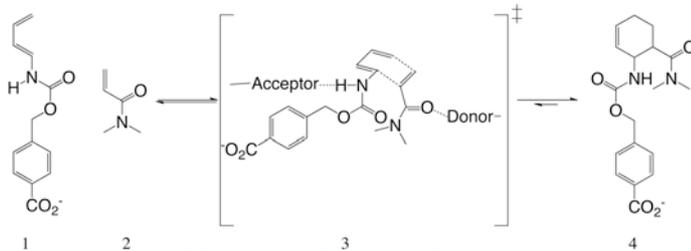


図3. 本論文でのDiels-Alder 反応モデル

機能性タンパク質を新規に作製する試みの中でも、触媒作用をもつ酵素を設計することは非常に困難な試みとされています。しかしながら、Bakerらのグループでは、彼らが開発したタンパク質三次構造予測のためのコンピュータアルゴリズム(Rosetta)を駆使することで、一分子の基質を認識

するような retro-aldolase 活性をもつ酵素と Kemp 脱離反応を触媒する酵素の作製に成功してきました。本論文では、さらに二分子の基質を認識し、その分子間に新たな結合を作り出す Dieles-Alder 反応を触媒する酵素を作製しています。図3に筆者らが作製した Dieles-Alder 反応の酵素モデルを示します。ジエンのNHと水素結合するアクセプター(Asn, Gln 側鎖)と、求ジエン体のカルボニルと水素結合するドナー(Ser, Thr, Tyr 側鎖)を配置することで、フロンティア軌道のエネルギー差を減少させる効果をねらっています。このモデルを用い、遷移状態のエネルギー障壁が小さくなるよう、基質、Acceptor と Donor のもつ各結合間の回転角、水素結合の距離・角度をコンピュータ上で変え、最適な配置を探索しました(図4)。つづいて安定な立体構造を持つ207種のタンパク質について出力された活性部位配置に適した空間の有無を確認し、最後に、基質とタンパク質の表面形状の相補性などを評価し、うち84個の候補を実際に作製しました。その結果、活性をもつ DA_20_00, DA_42_00 と呼ばれる二種のタンパク質の獲得に成功しました。DA_20_00 については立体構造が X 線結晶構造解析に

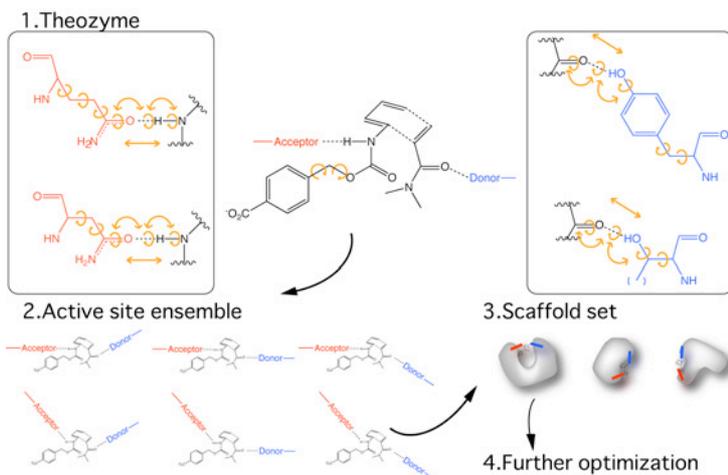


図4. 酵素設計過程の模式図

よって解かれ、デザインした立体構造との RMSD は 0.5Å と、筆者らの Rosetta を用いた立体構造計算精度の高さを示しています。前者は β-プロペラ型 scaffold の疎水性ポケットに基質が包み込まれるような形状をしており、後者は ketosteroid isomerase 表面に基質がほぼ露出しており、炭素鎖が新しく形成される部分のみがタンパク質内部へと取り込まれた形状をしています。さらにタンパク質のパッキングの向上、静電的な反発の解消をねらい、DA_20_00, DA_42_00 に対しそれぞれ 6, 4

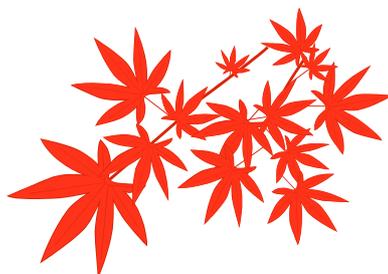
残基の変異を加えた DA_20_10, DA_42_04 を作製し、活性の向上がみられました。活性を両者で比較してみると、DA_42_04 の方が K_M は低く、基質と強く結合しているとみられる一方で、 k_{cat} は DA_20_10 の 100 分の 1 程度と非常に低くなっていました。DA_20_10 の基質近傍のアミノ酸を置換した場合において、酵素活性部位近傍

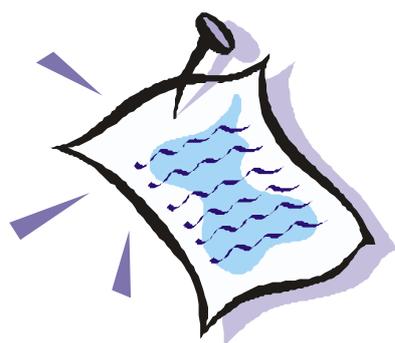
のアミノ酸置換よりも基質との相互作用に寄与しているアミノ酸置換時において、その活性低下の影響が大きいことから、DA_42_04 と比較して高い DA_20_10 の k_{cat} は厳密な基質配向制御に起因していることが示唆されました。さらに DA_20_10 においては生成物の 97%以上が 3R,4S と優れた立体選択性を示し、筆者らは厳密な配向制御に伴い遷移状態の立体構造が限定されたためと考察していました。また、基質結合部位周辺アミノ酸置換により、基質特異性を制御できうることも明らかにしています。これら酵素としての立体選択性、基質特異性をもつものが獲得されているため、今後、様々な酵素デザインにより新規の触媒能をもつ酵素の獲得が期待されます。

Predicting protein structures with a multiplayer online game

S. Cooper, F. Khatib, A. Treuille, J. Barbero, J. Lee, M. Beenen, A. Leaver-Fay, D. Baker, Z. Popovićzoran, Foldit players, *Nature*, **466**, 756–760 (2010)

この論文も Baker らのグループの論文です。本論文では先の論文で用いた Rosetta に人間の直感を組み合わせることでタンパク質の立体構造予測精度があげられないか検討していました。以前より筆者らは Foldit と呼ばれるマルチプレイヤー型のタンパク質立体構造予測オンラインゲームを公開していましたが、ここで得られた考察を本論文で報告しています。Foldit は各プレイヤーが画面に表示されているタンパク質の立体構造を調節し、タンパク質安定化の度合いを Rosetta により算出し、その値を各プレイヤーが競うというものです。10 種の立体構造既知のタンパク質の立体構造予測問題を出題したところ、Rosetta のみで予測した場合では、一部が水素結合などで安定化されるとそれを保持したまま残りの部位の安定化を目指し、 β -シートなどの水素結合を組み替えずに一部の疎水性領域が露出してしまいう傾向がみられました。一方、Foldit では、整合性が合わない部位が生じた場合、静電的相互作用の様に一度強固に安定化された立体構造であっても、プレイヤーがその立体構造大きく崩し、再度、不安定にした状態から解き直すことで、いくつかのタンパク質において Rosetta よりも安定な立体構造を予測していました。プレイヤー各々の解答プロセスを見てみると、コンピューターとは異なりその解答時間と問題のタイプによって方向性をもった分子の動かし方をしている様子が確認されました。将来的には、プレイヤーの癖や時間経過による解き方の変化を解析し、コンピューターのアルゴリズムに加えることで、より精度の高い立体構造予測が可能にできると提唱していました。





シンポジウム等会告

第 13 回生命化学研究会シンポジウム (冬季)・仙台 (2011) 「生命・生体を医学・化学する」

主 催：日本化学会フロンティア生命化学研究会・東北大学多元物質科学研究所

共 催・協 賛：日本化学会、高分子学会、日本薬学会、光化学協会、有機合成化学協会、日本化学会東北支部、高分子学会東北支部、日本薬学会東北支部、(予定)

会 期：2011 年 1 月 7 日 (金)

会 場：東北大学 さくらホール (仙台市青葉区片平 2-1-1)

(JR 仙台駅から徒歩約 15 分、北門入り直進約 3 分)

東北大学片平キャンパスへのアクセス URL：

http://www.tagen.tohoku.ac.jp/modules/public/index.php?content_id=33

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

ポスター発表申込・事前申込締切 2010 年 12 月 03 日 (金)

プログラム：

13:00-13:05 会長あいさつ

13:05-13:50 「細胞が作り、細胞が感知する力」
小椋 利彦 (東北大学加齢医学研究所)

13:50-14:35 「小さな RNA がはたらくしくみ」
泊 幸秀 (東京大学大学院新領域創成科学研究科)

14:35-14:50 コーヒーブレイク

14:50-15:35 「機械受容チャネルの構造活性連関と細胞機能」
曾我部正博 (名古屋大学大学院医学系研究科)

15:35-16:20 「細胞の鉄代謝調節におけるミトコンドリアの役割」
岩井 一宏 (大阪大学大学院生命機能研究科/医学系研究科)

16:20-16:35 フロンティア生命化学研究会総会

16:40-17:50 ポスター

18:00-19:30 ミキサー

参加費：生命化学研究会会員・日本化学会会員 4,000 円 (当日 5,000 円)、共催学会会員 5,000 円 (当日 6,000 円)、非会員 6,000 円 (当日 7,000 円)、学生 2,000 円 (当日 3,000 円)。参加費を下

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にて世話役代表までお知らせ下さい。

振込口座：郵便局 02210-0-125464

口座名：第13回生命化学研究会（ダイジュウサンカイセイメイカガクケンキュウカイ）

ポスター発表の募集：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2.5cm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とPDF両ファイルを添付書類）で下記申込先までお送り下さい。講演要旨提出をもって発表の申込みといたします。なお、ポスター題目は出来るだけ能動態で動的なタイトルをつけて下さい。（例：○○は××である。○○は××××する。）

問合せ・申込先：

〒980-8577 仙台市青葉区片平2-1-1 反応棟1号館4階404

東北大学多元物質科学研究所 和田健彦

TEL: 022-217-5608; FAX: 022-217-5609

E-Mail : hiko@tagen. tohoku. ac. jp

ホームページ : <http://res.tagen.tohoku.ac.jp/FBC/13th.html>

世話人：齋藤正男（東北大多元研）、永次 史（東北大多元研）、和田健彦（東北大多元研）

第13回生命化学研究会「分子で拓く生命化学」

合成、生物無機からイメージングまで世界最先端の生命化学領域最前線で御活躍中の盛りだくさんの演者から話題提供していただき、熱き議論を交わす会にしたいと思います。

主催：日本化学会フロンティア生命化学研究会

日時：2011年1月7日（金）・8日（土）

場所：伝承千年の宿 ホテル佐勘(<http://www.sakan-net.co.jp/index.html>)

〒982-0241 仙台市太白区秋保町湯元

TEL : 022-398-2233 FAX : 022-398-2168

プログラム：

9：00～10：00 「金属タンパク質による酸素の活性化とその制御」

伊東 忍（大阪大学大学院工学研究科）

10：00～11：00 「複雑な海洋天然物の全合成」

佐々木 誠（東北大学大学院生命科学研究科）

11：00～11：15 コーヒーブレイク

11：15～12：15 「感染症の理解と制御のための化学的アプローチ」

有本博一（東北大学大学院生命科学研究科）

12：20～13：25 昼 食

13：30～14：30 「DNA・RNAに結合する小分子 現状と課題」

中谷和彦（大阪大学産業化学研究所）

14:30~15:30 「膜ダイナミクスを探る・操る・創る」
高木昌宏 (北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科)

15:30~15:45 コーヒーブレイク

15:45~16:45 「ATP 合成酵素の 1 分子生物物理」
野地博行 (東京大学大学院工学研究科)

参考事項: 2011 年 1 月 7 日に東北大片平地区さくらホールにて開催されますシンポジウムミキサ
ー終了後、バスにて「伝承千年の宿ホテル佐勘」に移動予定です。また、8 日午後 5 時頃、研究会
終了後、仙台空港行きバスと JR 仙台駅行きバスに分かれた移動 (いずれも約 40 分) を予定してい
ます。

参加費: 22,000 円 (予定: 宿泊費・懇親会費・1/8 の朝昼食込) 当日支払

参加申込: e-mail にて、氏名、所属、身分、連絡先を明記の上、下記世話人代表あて、お申込みく
ださい。参加者に後日詳細お知らせします。

締 切: 2010 年 12 月 3 日 (金)

世話人: 金原 数 (東北大多元研)、叶 直樹 (東北大院薬)、和田健彦 (東北大多元研)

世話人代表: 和田健彦 東北大学多元物質科学研究所

〒980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1 反応棟 1 号館 4 階 4 0 4

TEL: 022-217-5608; FAX: 022-217-5609

E-Mail : hiko@tagen. tohoku. ac. jp

名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター 国際シンポジウム

日時: 2010 年 11 月 15 日

会場: 名古屋大学 VBL ベンチャーホール 3 階

プログラム:

13:30~14:20 開会挨拶・講演

馬場嘉信 名古屋大学大学院工学研究科 教授・革新ナノバイオデバイス研究センター センター長

Research Project of Nagoya University's FIRST Research Center for Innovative Nanobiodevice

14:20~15:20 基調講演

曾我部正博 名古屋大学大学院医学系研究科 教授

The Impact of Emerging Nano-Mechanobiology

15:30~16:30 基調講演

Agneta Richter-Dahlfors カロリンスカ研究所 教授・スウェーデン国立医学ナノサイエンスセンター センタ

一長

Crossing the borders - infection biology as inspiration for organic bioelectronics

16:30~17:30 基調講演

Jongyoon Han マサチューセッツ工科大学(MIT) 准教授

Nanofluidic Systems for Multi-scale Bioassays and Sample Preparation

International Symposium: Advanced Science and Technology for Single Molecular Analysis of DNA and Related Molecules

内閣府最先端研究開発支援プログラム (FIRST) 川合プロジェクトでは、来年1月24日から1月26日まで国立京都国際会館にて表記シンポジウムを開催します。“\$1,000 ゲノム” シーケンサーのキーテクノロジーとして期待される“一分子解析技術”の世界を世界最高峰の科学者達の議論で余すことなくお伝えしたいと思います。皆様のご参加をお待ちしています。

日時： 2011年1月24日(月)~26日(水)

会場： 国立京都国際会館

主催： 内閣府最先端研究開発支援プログラム 川合プロジェクト

共催： 独立行政法人科学技術振興機構、社団法人日本化学会、社団法人高分子学会、
国立大学法人大阪大学、国立大学法人名古屋大学

協賛： 社団法人応用物理学会、社団法人日本表面科学会、分子科学会、
化学とマイクロ・ナノシステム研究会

後援： 内閣府、独立行政法人日本学術振興会

講演申込締切： 2010年12月13日

参加費： 無料

講演&参加申込方法：下記の URL よりお申込みください。

<http://www.kawaisaientan.osaka-u.ac.jp/ISSMA2011/>

問合せ先：大阪大学 研究推進部 大型教育研究支援事務室 ISSMA 2011 Office

TEL: 06-6879-4306 E-Mail: Info_ISSMA@sanken.osaka-u.ac.jp

**最先端研究開発支援プログラム・川合プロジェクト
公開シンポジウム
ナノバイオデバイス研究の最前線
～人の遺伝を知り健康を守る最新科学技術～**

内閣府最先端研究開発支援プログラム (FIRST) 川合プロジェクトでは、来年2月17日にパナソニックセンター東京において、一般・学生の方むけに、公開シンポジウムを開催いたします。プロジェクトでは、大学等で研究している最先端のナノバイオデバイス技術を企業と共同で、がんの超早期診断、パンデミック防止のための超高感度ウイスル検査、呼吸による疾患診断などに応用するための研究を進めています。本プロジェクトの最先端研究成果と本プロジェクトがもたらす新しい安心・安全な健康社会の将来像を分かりやすく解説します。また、研究成果を実際に体験できる展示も行います。皆様のご参加をお待ちしています。

日時： 2011年2月17日(木) 13:00～17:00

会場： パナソニックセンター東京 ホール

(<http://panasonic.co.jp/center/tokyo/index.html>)

対象： 一般の方

参加費： 無料

主催： 最先端研究開発支援プログラム 川合プロジェクト

定員： 250名 (定員に達し次第、締め切りとさせていただきます)

申込方法： 最先端研究開発支援プログラム・川合プロジェクトのウェブサイト

<http://www.kawaisaisentan.osaka-u.ac.jp> よりお申し込みください。

**第5回国際ペプチドシンポジウム
5th International Peptide Symposium (5th IPS)**

主管： 日本ペプチド学会

会期： 2010年12月4日(土)～9日(木)

会場： 国立京都国際会館 カンファレンスルーム A、アネックスホール(京都市左京区宝ヶ池)

参加登録費： 一般 80,000円、学術 60,000円、学生 30,000円。同伴者 15,000円。但し、学生、同伴者の参加登録費はプロシーディング代を含みません。

参加申込方法： 当日直接会場にてお申し込みください。

問合せ先： 〒607-8412 京都市山科区御陵四丁野町1番地

京都薬科大学創薬科学フロンティア研究センター内

第5回国際ペプチドシンポジウム事務局

木曾良明, 向井秀仁, 齋藤一樹

TEL: 075-595-4636, FAX: 075-595-4787

E-mail: info@5ips.jp, URL: <http://www.5ips.jp/>

特別講演：

Ada Yonath (2009年度ノーベル化学賞/イスラエル)

Kurt Wüthrich (2002年度ノーベル化学賞/スイス)

プログラム:

December 4th (Saturday), 2010

- 14:20~14:30 Opening Remarks
- 14:30~15:40 **Young Investigators' Symposium I**
Chair: Nobutaka Fujii and Philip Dawson
- 14:30~14:40 **Y-01** Misako Taichi (Peptide Institute, Inc., Japan)
 Structure-Activity Relationship of Marinostatin, an ester-linked serine protease inhibitor
- 14:40~14:50 **Y-02** Gerbrand J. Van der Heden van Noort
 (Leiden University, The Netherlands)
 Synthesis of Nucleotidylated Amino Acids for Preparation of Nucleopeptides
- 14:50~15:00 **Y-03** Youhei Sohma (Kyoto Pharmaceutical University, Japan)
 Use of O-acyl isopeptides to identify new functions of amyloid beta peptides
- 15:00~15:10 **Y-04** Annemiek D. Knijnenburg
 (Leiden University, The Netherlands)
 Cyclic cationic antimicrobial peptides: Sugar Amino Acid β -turn modified Gramicidin S analogs are promising leads towards new antibiotics
- 15:10~15:20 **Y-05** Yuji Yamada
 (Tokyo University of Pharmacy and Life Science, Japan)
 Development of artificial basement membranes using peptide-polysaccharide complexes
- 15:20~15:30 **Y-06** Hendrik Eberhard (Humboldt University Berlin, Germany)
 Self-assembled bivalent binders of the Syk-tSH2 domain
- 15:30~15:40 **Y-07** Yuri Yamazaki
 (Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, Japan)
 Development of chemical probes towards the elucidation of binding mechanism of plinabulin, a cyclicdipeptide based anti-microtubule agent
- 15:40~15:50 Break
- 15:50~16:50 **Young Investigators' Symposium II**
Chair: John D. Wade and Hitoshi Ishida
- 15:50~16:00 **Y-08** Yi-Pin Chang (University of Oxford, UK)
 Combinatorially Selected 4-mer Peptide Probes Inhibit the Pathogenic Polymerization of Alpha1-Antitrypsin
- 16:00~16:10 **Y-09** Yusuke Yamagishi (The University of Tokyo, Japan)
 Selection of cyclic N-methyl peptide inhibitors against human ubiquitin ligase E6AP using RaPID display
- 16:10~16:20 **Y-10** Carlos Mas-Murano
 (Technische Universitaet Muenchen, Germany)
 Investigation of integrin and osteoblast adhesion influenced by RGD-peptide coating and surface properties
- 16:20~16:30 **Y-11** Koichi Tanaka (Kagoshima University, Japan)
 Mimotope peptides of amyloid beta42 fibril-specific antibodies binding to amyloid plaques in brain section of alzheimer's disease model mouse, J20

- 16:30~16:40 **Y-12** Peter R. Wich (University of California Berkeley, USA)
Surface Recognition and Inhibition of β -Tryptase by Tetravalent Peptide Ligands
- 16:40~16:50 **Y-13** Ryosuke Misu (Kyoto University, Japan)
Functional Characterization of Kisspeptin Receptor Ligands: Activation of Neuropeptide FF Receptors
- 16:50~17:00 Break
- 17:00~18:10 **Young Investigators' Symposium III**
Chair: James P. Tam and Takaki Koide
- 17:00~17:10 **Y-14** Koji Ohara (Kyoto University, Japan)
Antitumor effect of the EGFR-lytic hybrid peptide in animal model of human cancers with K-ras mutation
- 17:10~17:20 **Y-15** Frederic Tewes (Trinity College Dublin, Ireland)
Effect of PEG type and HP β CD on salmon calcitonin biopharmaceutical properties following pulmonary delivery
- 17:20~17:30 **Y-16** Yuki Goto (The University of Tokyo, Japan)
New strategies for genetic code reprogramming; dual genetic code and artificial division of codon boxes
- 17:30~17:40 **Y-17** Henri G. Franquelim (University of Lisbon, Portugal)
Interaction of anti-HIV-1 antibodies with gp41 MPER peptide at the lipid membrane level - mode of action unravelled by combined microscopy approaches
- 17:40~17:50 **Y-18** Chie Kojima (Osaka Prefecture University, Japan)
Temperature-Dependent Self-Assembly of Collagen-Mimic Dendrimers with Pro-Hyp-Gly Repeats
- 17:50~18:00 **Y-19** Linda J. Chan (The University of Melbourne, Australia)
Design, synthesis and in vitro characterization of RXFP-1 specific human relaxin analogues
- 18:00~18:10 **Y-20** Gen Tanaka (Kyoto University, Japan)
Identification of a receptor responsible for cellular uptake of R12 peptide
- 18:20~18:50 **Japanese Peptide Society Young Investigator Award Lectures**
Chair: Shiroh Futaki
- 18:20~18:35 **YA-1** Kentaro Hozumi
(Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, Japan)
Development of functional biomaterials using laminin active peptides
- 18:35~18:50 **YA-2** Tsuyoshi Takahashi (Tokyo Institute of Technology, Japan)
Construction and characterization of artificial peptides and proteins that recognize specific biomolecules
- Evening:
19:00~20:30 Welcome Reception

December 5th (Sunday), 2010

Morning:

8:30~9:05

Special Lecture I

Chair: Yuji Kobayashi

SL-1 Kurt Wüthrich

(Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Switzerland)

Prion Diseases and Dynamic Conformational Polymorphisms in Cellular Prion Proteins

9:05~10:15

Session 1

Chair: Horst Kessler and Toshimasa Yamazaki

9:05~9:30

L-01 Harold A. Scheraga (Cornell University, USA)

Peptide Guide to Protein Folding

9:30~9:45

L-02 Yuji Kobayashi

(Osaka University of Pharmaceutical Sciences, Japan)

Detailed mechanism of conformational transition of collagen peptides with triple helical structure

9:45~10:00

L-03 Takeshi Sato (Osaka University, Japan)

Solid state NMR study on the dimer structure of the transmembrane region of amyloid precursor protein

10:00~10:15

L-04 Assaf Friedler (The Hebrew University of Jerusalem, Israel)

Shiftides: Using peptides to modulate the oligomerization equilibrium of proteins

10:15~10:40

Break

10:40~12:10

Session 2

Chair: Jean Martinez and Katsumi Matsuzaki

10:40~11:05

L-05 Horst Kessler (Technische Universität München, Germany)

The functional role of helical regions in proteins for regulating their stability and binding properties to partner proteins

11:05~11:30

L-06 Gilles Guichard

(Centre National de la Recherche Scientifique, France)

Urea-based oligomers as peptide mimics: Connecting structure and function

11:30~11:55

L-07 Brian M. Austen (St. George's University of London, UK)

β -Amyloid oligomers and their role in the pathogenesis and diagnosis of Alzheimer's disease

11:55~12:10

L-08 Lukasz Berlicki (Wroclaw University of Technology, Poland)

Exploration of cis-pentacin containing peptides as foldamers

12:10~14:10

Lunch (On your own)

12:20~13:40

Luncheon Seminar (Hosted by Biotage Japan)

Afternoon:

14:10~15:25

Session 3

Chair: Ernest Giralt and Hisakazu Mihara

14:10~14:30

L-09 Shunsaku Kimura (Kyoto University, Japan)

Novel morphologies by self-assembling of chiral amphiphilic peptides

- 14:30~14:55 **L-10** Virander S. Chauhan
(International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, India)
Designed small peptides as model self-assembling nanosystems: their characterization and potential biomedical applications
- 14:55~15:10 **L-11** Hitoshi Ishida (Kitasato University, Japan)
Peptide Origami: Molecular Design, Synthesis and their Application
- 15:10~15:25 **L-12** Jan Raap (Leiden University, The Netherland)
Alamethicin, a structural and functional peptide fossil of protein ion channels?
- 15:25~15:50 Break
- 15:50~17:10 **Session 4**
Chair: Joel P. Schneider and Shunsaku Kimura
- 15:50~16:15 **L-13** Jean Martinez (Université Montpellier, France)
Synthesis and cellular uptake quantification of short constrained uncharged cell penetrating non peptides (CPNP)
- 16:15~16:40 **L-14** Paul A. Wender (Stanford University, USA)
Nanomedicine: New peptide inspired molecular transporters for drug delivery and treating resistant disease; synthesis, cellular uptake and human ex vivo studies
- 16:40~16:55 **L-15** Shiroh Futaki (Kyoto University, Japan)
Design and Creation of Metal-responsive DNA-binding Proteins
- 16:55~17:10 **L-16** Burkhard Bechinger
(University of Strasbourg/CNRS, France)
Structural and biophysical investigations of new family of transfection peptides with potent DNA and siRNA delivery activities
- 17:20~18:50 Poster Session Y & P1 (Odd numbers)
- Evening:
19:00~21:00 Speakers' Dinner (at Grand Prince Hotel Kyoto, Invitation Only)

December 6th (Monday), 2010

- Morning:
8:30~10:10 **Session 5**
Chair: Kit S. Lam and Yasuyuki Shimohigashi
- 8:30~8:55 **L-17** Richard A. Houghten
(Torrey Pines Institute for Molecular Studies, USA)
High-throughput in vivo screening of mixture-based combinatorial libraries: identification of novel analgesics
- 8:55~9:15 **L-18** Masahiko Sisido (Okayama University, Japan)
Multi-labeled fluorescent peptide library for in situ screening against cancer cells
- 9:15~9:30 **L-19** Su Seong Lee
(Institute of Bioengineering and Nanotechnology, Singapore)
New strategies for development of high affinity protein capture agents through screening of OBOC peptide libraries

- 9:30~9:55 **L-20** Morten Meldal (Carlsberg Research Center, Denmark)
Click-bonds: Functional replacement of disulfide and amide bonds with triazoles in bioactive peptides
- 9:55~10:10 **L-21** Kiyoshi Nokihara (HiPep Laboratories, Japan)
Design and syntheses of peptides as bio-sensor elements which can detect the structural change of prion proteins
- 10:10~10:35 Break
- 10:35~12:15 **Session 6**
Chair: Samuel H. Gellman and Kazuyasu Sakaguchi
- 10:35~11:00 **L-22** Joel P. Schneider (National Cancer Institute at Frederick, USA)
Design and application of material forming peptides: From antibacterials to mammalian cell delivery
- 11:00~11:15 **L-23** Hisakazu Mihara (Tokyo Institute of Technology, Japan)
Designed peptide libraries for protein and cell analyses
- 11:15~11:40 **L-24** Ernest Giralt (University of Barcelona, Spain)
New challenges in studying ligand-protein interactions
- 11:40~12:00 **L-25** Jean Chmielewski (Purdue University, USA)
Designer Collagen Peptide Materials for Regenerative Medicine
- 12:00~12:15 **L-26** Masayuki Haramura
(Chugai Pharmaceutical Company Limited, Japan)
Optimizing quantitative analysis of phosphopeptides with isobaric tags to dissect the phosphorylation signal pathways
- 12:15~14:00 Lunch (On your own)
- 12:25~13:45 Luncheon Seminar (Hosted by CEM)
- Afternoon:
- 14:00~15:35 **Session 7**
Chair: Geoffrey Tregear and Kenichi Akaji
- 14:00~14:25 **L-27** Samuel H. Gellman (University of Wisconsin-Madison, USA)
Inhibiting protein-protein interactions with peptidic foldamers
- 14:25~14:45 **L-28** Itaru Hamachi (Kyoto University, Japan)
Chemistry-based protein labeling and imaging in cell and in vivo
- 14:45~15:05 **L-29** Garland R. Marshall (Washington University, USA)
Preorganization and Peptidomimetic Design
- 15:05~15:20 **L-30** Katsumi Matsuzaki (Kyoto University, Japan)
Internalization and oligomerization of membrane receptors in living cells as detected by novel coiled-coil fluorescence labeling method
- 15:20~15:35 **L-31** Philippe Karoyan (CNRS, France)
Prolineamino acids: tools in mimetics design targeting somatostatin receptors and IAP/Smac interactions. Structural and pharmacological applications
- 15:35~16:00 Break

- 16:00~17:20 **Session 8**
Chair: Garland R. Marshall and Motoyoshi Nomizu
- 16:00~16:25 **L-32** Uhtaek Oh (Seoul National University, Korea)
 Anoctamin 1, a cloned-Ca²⁺ activated chloride channel and its pathophysiological implications
- 16:25~16:45 **L-33** Yasuyuki Shimohigashi (Kyushu University, Japan)
 Structure-activity studies on nociceptin and its receptor ORL1
- 16:45~17:05 **L-34** Kit S. Lam (University of California Davis, USA)
 Peptide-based targeting nanoparticles for cancer therapy and imaging
- 17:05~17:20 **L-35** Yong Y. Lin (Columbia University, USA)
 Elastase Derived Peptides in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)
- 17:30~19:00 Poster Session Y & P1 (Even numbers)

December 7th (Tuesday), 2010

Morning: Joint Sessions with the Japan Branch of the International Neuropeptide Society

- 8:30~8:35 Opening Remark of Joint Sessions
- 8:35~10:05 **Session 9**
Chair: Annette G. Beck-Sickinger and Masaaki Yoshikawa
- 8:35~8:55 **L-36** Masaaki Yoshikawa (Kyoto University, Japan)
 Neuroactive peptides derived from food proteins
- 8:55~9:20 **L-37** Ben O. de Lumen (University of California, Berkeley, USA)
 Lunasin: A novel cancer preventive seed peptide
- 9:20~9:45 **L-38** A. Ian Smith (Monash University, Australia)
 Peptide acetylation in the brain: A powerful mechanism for regulating appetite, energy expenditure and weight
- 9:45~10:05 **L-39** Hidehito Mukai (Kyoto Pharmaceutical University, Japan)
 Cryptides: Non-classical bioactive peptides hidden in protein structures
- 10:05~10:30 Break
- 10:30~11:50 **Session 10**
Chair: Ian Smith and Kyung-Soo Hahm
- 10:30~10:55 **L-40** Annette G. Beck-Sickinger (Leipzig University, Germany)
 Ligand induced internalization of neuropeptide Y receptors: Mechanism and application in tumor research
- 10:55~11:20 **L-41** Kyung-Soo Hahm (Chosun University, Korea)
 Antimicrobial peptides: An alternative solution for multi-drug resistant bacterial infections
- 11:20~11:35 **L-42** Jaw Kang Chang (Phoenix Pharmaceuticals Inc., USA)
 Isolation, identification, distribution and characterization of neuronostatin
- 11:35~11:50 **L-43** Ekaterina F. Kolesanova
 (Institute of Biomedical Chemistry RAMS, Russia)
 Development of peptide immunogens for anti-HCV vaccine

11:50~13:15 Lunch (On your own)

Excursion

Afternoon: Joint Sessions with the Japan Branch of the International Neuropeptide Society

13:15~14:50

Session 11

Chair: Masamitsu Nakazato and Charlotte Erlanson-Albertsson

13:15~13:40

L-44 Charlotte Erlanson-Albertsson (Lund University, Sweden)

The role of enterostatin in eating behavior and diet

13:40~14:05

L-45 Kazuwa Nakao (Kyoto University, Japan)

Translational research of novel hormones

14:05~14:25

L-46 Masamitsu Nakazato (University of Miyazaki, Japan)

Translational research of ghrelin

14:25~14:50

Chair: Kazuwa Nakao

L-47 Kenji Kangawa

(National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Japan)

Discovery of ghrelin and its clinical application

14:50~15:10

Break

15:10~17:50

Session 12

Chair: Kazuo Chihara and Weihong Pan

15:10~15:30

L-48 Takeshi Sakurai (Kanazawa University, Japan)

Orexin neurons at interface of energy homeostasis, emotion and sleep/wakefulness states

15:30~15:50

L-49 Seiji Shioda (Showa University, Japan)

PACAP and neuronal cell death

15:50~16:15

L-50 Weihong Pan (Pennington Biomedical Research Center, USA)

Leptin signaling in astrocytes

16:15~16:35

Chair: Lloyd D. Fricker and Kazuhiro Takahashi

L-51 Naoto Minamino

(National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Japan)

Peptidomics-based discovery of bioactive peptides

16:35~17:00

L-52 Lloyd D. Fricker (Albert Einstein College of Medicine, USA)

Peptidomics and novel bioactive peptides

17:00~17:25

L-53 Jonathan V. Sweedler

(University of Illinois at Urbana-Champaign, USA)

Peptidomics: from discovery to function

17:25~17:50

Chair: Naoto Minamino

L-54 Abba J. Kastin (Pennington Biomedical Research Center, USA)

Biologically active peptide concepts with emphasis on the blood-brain barrier

17:50~17:55

Closing Remark of Joint Sessions

December 8th (Wednesday), 2010

Morning:

8:30~10:05

Session 13

Chair: Ferenc Hudecz and Hiroaki Suga

8:30~8:55

L-55 David J. Craik (The University of Queensland, Australia)
Discovery and applications of naturally occurring cyclic peptides

8:55~9:10

L-56 Oliviero Gobbo (Trinity College Dublin, Ireland)
Comparative in vivo evaluation of different delivery systems for the pulmonary administration of salmon calcitonin

9:10~9:35

L-57 Yechiel Shai (The Weizmann Institute of Science, Israel)
Antimicrobial peptides: Parameters involved in cell specificity, bacterial cell wall (LPS, LTA) detoxification and overcoming resistance mechanisms

9:35~9:50

L-58 Bok-Luel Lee (Pusan National University, Korea)
Different induction mechanisms of antimicrobial peptides in fly and beetle after challenge of Gram-negative bacteria

9:50~10:05

L-59 Florante A. Quioco (Baylor College of Medicine, USA)
Calmodulin-target peptide interactions

10:05~10:30

Break

10:30~11:05

Special Lecture II

Chair: Ettore Benedetti

SL-2 Ada E. Yonath (The Weizmann Institute of Science, Israel)
The striking ribosomal architecture: Nascent proteins voyage from making to initial folding

11:05~12:25

Session 14

Chair: David Craik and Masahiko Sisido

11:05~11:25

L-60 Hiroaki Suga (The University of Tokyo, Japan)
Discovery of bioactive non-standard peptides powered by the RaPID system

11:25~11:45

L-61 Alexander Wlodawer (National Cancer Institute, USA)
Crystallographic investigations of the complexes of plasmepsins with peptidic inhibitors

11:45~12:10

L-62 Ferenc Hudecz (Eötvös Loránd University, Hungary)
Modulation of intracellular calpain activity by peptide-conjugates

12:10~12:25

L-63 Hirokazu Tamamura
(Tokyo Medical and Dental University, Japan)
Novel tag-probe pairs for fluorescent imaging of proteins in living cells

12:25~14:10

Lunch (On your own)

12:30~14:00

International Liaison Committee Meeting

Afternoon:

14:10~15:40

Session 15

Chair: Alexander Wlodawer and Koichi Fukase

14:10~14:35

L-64 Ernesto Freire (Johns Hopkins University, USA)
Development of HIV-1 cell entry inhibitors

- 14:35~15:00 **L-65** James P. Tam (Nanyang Technological University, Singapore)
Biologics as a New Class of Active Principles in Herbal Medicine
- 15:00~15:25 **L-66** Ben M. Dunn (University of Florida, USA)
HIV-1 proteases from non-B-subtype virus: Inhibitor binding
- 15:25~15:40 **L-67** Ben Berkhout (University of Amsterdam, The Netherlands)
Towards improved anti-HIV peptides that prevent viral escape
- 15:40~16:05 Break
- 16:05~17:25 **Session 16**
Chair: Ben M. Dunn and Hirokazu Tamamura
- 16:05~16:30 **L-68** Jane V. Aldrich (The University of Kansas, USA)
Development of systemically active peptides and potential for drug development
- 16:30~16:55 **L-69** Ettore Benedetti (Università di Napoli 'Federico II', Italy)
Peptide-derivatized multimodal nanoparticles for targeted delivery in imaging and therapeutic applications
- 16:55~17:10 **L-70** Edouard Nice (Monash University, Australia)
Quantitative MRM analysis of potential colorectal cancer biomarkers in human feces using proteotypic peptides identified by fecal proteomics
- 17:10~17:25 **L-71** Mariusz Skwarczynski
(The University of Queensland, Australia)
Self-adjuvanting peptide-based subunit nanovaccines
- 17:30~19:00 Poster Session P2 (Odd numbers)

December 9th (Thursday), 2010

Morning:

- 8:30~10:15 **Session 17**
Chair: Stephen B. H. Kent and Akira Otaka
- 8:30~8:55 **L-72** Dawei Ma (Shanghai Institute of Organic Chemistry, China)
Synthesis and SAR studies towards cytotoxic peptide bisbromoamide and piperazimycin A
- 8:55~9:10 **L-73** Takayuki Doi (Tohoku University, Japan)
Total Synthesis, Biological Evaluation, and Binding Protein Network Analysis of Natural Product Cyclic Depsipeptides, Spiruchostatin A and Apratoxin A
- 9:10~9:25 **L-74** Artur Mucha (Wroclaw University of Technology, Poland)
Synthesis and modifications of phosphinic inhibitors of leucine aminopeptidases
- 9:25~9:40 **L-75** Ashraf Brik (Ben-Gurion University, Israel)
Advanced Chemical Tools to Study Ubiquitin Biology
- 9:40~9:55 **L-76** Hideo Iwai (University of Helsinki, Finland)
Protein and peptide ligation by split inteins
- 9:55~10:15 **L-77** Hironobu Hojo (Tokai University, Japan)
Glycoprotein synthesis using segment condensation method

- 10:15~10:40 Break
- 10:40~12:20 **Session 18**
Chair: Yoon-Sik Lee and Yasuhiro Kajihara
- 10:40~11:05 **L-78** Philip E. Dawson (The Scripps Research Institute, USA)
 Dynamic chemistry in protein synthesis and conjugation
- 11:05~11:25 **L-79** Toru Kawakami (Osaka University, Japan)
 Peptide ligation via thioester formation at the cysteine residue
- 11:25~11:50 **L-80** Lei Liu (Tsinghua University, China)
 Development of methods for chemical synthesis of proteins
- 11:50~12:05 **L-81** Derek Macmillan (University College London, UK)
 Peptide thioester formation through controlled disruption of amide bonds
- 11:05~12:20 **L-82** Paul W.R. Harris (University of Auckland, New Zealand)
 The Total Chemical Synthesis of the Cancer Protein NY-ESO-1
- 12:20~14:00 Lunch (On your own)
- Afternoon:
 14:00~15:30 Poster Session P2 (Even numbers)
- 15:45~17:30 **Session 19**
Chair: Jane V. Aldrich and Hironobu Hojo
- 15:45~16:10 **L-83** William D. Lubell (Université de Montréal, Canada)
 Complementary relationships between lactam- and aza-peptide mimics
- 16:10~16:30 **L-84** Akira Otaka (The University of Tokushima, Japan)
 Development of amide bond cleavage device with application to chemical biology use
- 16:30~16:55 **L-85** Jeffrey W. Bode
 (Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Switzerland)
 The alpha-ketoacid-hydroxylamine amide formation for chemoselective peptide ligation
- 16:55~17:15 **L-86** Yasuhiro Kajihara (Osaka University, Japan)
 Chemical synthesis of glycoproteins having human complex type oligosaccharides
- 17:15~17:30 **L-87** Yoon-Sik Lee (Seoul National University, Korea)
 Recent Progress of Core-Shell Type Resins and Its Application to Solid-Phase Peptide Synthesis
- 17:30~18:00 **Akabori Memorial Award Lecture**
Chair: Saburo Aimoto
AA-1 Stephen B. H. Kent (University of Chicago, USA)
 Mirror image proteins, enzymes, and hormones –
 The natural protein world dissected using chemistry
- Evening:
 18:30~ Banquet and Award Ceremony (at Grand Prince Hotel Kyoto)

お知らせ

異 動



秋吉 一成

京都大学工学研究科高分子化学専攻 生体機能高分子分野 教授

E-mail: akiyoshi@bio.polym.kyoto-u.ac.jp

中田 栄司

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部門 生物機能科学研究分野 講師

E-mail: nakata@iae.kyoto-u.ac.jp



編集後記

ここに生命化学研究レターNo.34をお送りします。通常よりも少し遅い発刊となってしまいましたが、執筆者の皆様および編集委員のご協力により、なんとか編集作業を終えることができました。叶さんの巻頭言にもありますように、6月下旬にソウル大学にて1st Asian Chemical Biology Conference (ACBC2010)が開催されました。香港、シンガポール、日本からの参加者がそれぞれ各自の研究成果を発表し、非常に熱のこもった密度の濃い議論ができたようです。次回のACBCは2年後に日本で開催される予定で、今から楽しみです。生命化学研究レターNo. 35は、大神田さんの担当により、2011年2月頃の発行を予定しております。ニュースレター改善のため、皆さんからのご要望、ご意見等をお待ちしております。下記編集担当までご連絡をいただければ幸いです。

平成22年11月8日

円谷 健

大阪府立大学大学院理学系研究科
(tsumu@b.s.osakafu-u.ac.jp)

編集担当

大神田淳子(大阪大学)
井原敏博(熊本大学)