

生命化学研究レター

(2011年2月)



3. 巻頭言

フロンティア生命化学研究会にとっての世界化学年...

東北大学多元科学物質研究所 和田 健彦

6. 主催研究会報告

第13回生命化学シンポジウム・仙台

第13回生命化学研究会

12. 研究紹介

12. RNA-ペプチド複合体からリボヌクレオタンパク質(RNP)複合体へ
～細胞内検出系を用いたコンビナトリアル解析～

東京学芸大学教育学部 原田 和雄

19. 天然物を基盤とした神経幹細胞、癌細胞へのアプローチ

千葉大学大学院薬学研究院 荒井 緑

25. オリゴシアル酸合成法の開発と糖鎖機能解析への応用

東京工業大学大学院理工学研究科 田中 浩士

31. 論文紹介「気になった論文」

大阪大学産業科学研究所 村田 亜沙子

京都大学化学研究所 高山 健太郎

38. 生命化学研究法

量子ドットによる幹細胞の *in vivo* イメージング

名古屋大学大学院工学研究科・名古屋大学革新ナノバイオデバイスセンター

渡辺 将生、 他

43. 留学体験記

カリフォルニア大学留学体験記

九州大学大学院工学研究院 星野 友

47. シンポジウム等会告

日本化学会第91春季年会



第 14 回生命化学シンポジウム

第 14 回生命化学研究会

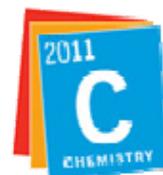
Asian Chemical Biology Conference (ACB2012)

54. お知らせ
次期会長選出
受賞

編集後記



巻頭言



フロンティア生命化学研究会にとっての世界化学年…

東北大学多元物質科学研究所 和田 健彦

2011 年は化学にとって記念すべき一年…。それは…皆様ご存じのように、2011 年が国連総会(2008 年末開催)によって定められた「世界化学年」(International Year of Chemistry: IYC2011)だからです。ラジウムとポロニウム発見の功績に対してキュリー夫人へのノーベル化学賞授与から 100 年目に当たり、また国際純正・応用化学連合(IUPAC)が設立されて 100 年にも当たる 2011 年…「世界化学年」制定趣意書には "この一世紀の間に、化学においてめざましい発見や発明がなされ、その成果を活かして数々の優れた技術が生まれました。私たちの豊かな物質文明は多くの化学産業技術に支えられていますが、さらに 20 世紀における人類の平均寿命の伸長への貢献は特筆に値します。しかし、現在我々は人口爆発に端を発し、資源の枯渇、気候変動、環境劣化、貧困をはじめとするさまざまな地球規模の問題に直面しています。科学が人類の生存に果たすべき役割は何か。真理を追究する本質は不変ですが、科学と社会のかかわりは時代の宿命です。化学界、産業界も社会の求めに応じて、今一度あり方を見つめ直す必要があります"(世界化学年 2011 ホームページ(<http://www.iyc2011.jp/index.html>)世界化学年日本委員会委員長 野依良治先生のご挨拶より抜粋)と記されています。最後の「今一度、科学(化学)と社会のあり方を見つめ直す必要があります」は、フロンティア生命化学研究会のメンバーにとっても重い命題で、我々も真摯に考え、取り組むべきだと感じます。一方、2005 年に制定され、実施された世界物理年に関して少し調べたところ(既に世界物理年日本事務局の HP にはアクセスできない状況なので、詳細は分かりませんが)日本物理学会 HP には "(前略)物理学は、現在の私たちの文化的科学的生活を支える基盤となっています。一方、先進国においては物理学を習得する学生の数は年々減少し、我が国も例外ではありません。また、我が国は科学技術立国と称しながら、国民の科学リテラシーは極めて低いレベルにあります。この物理年は、物理学のおもしろさ、物理を勉強する楽しさを次世代の若者に伝えるとともに、物理学の正しい理解と果たしている役割を社会にアピールする、良い機会であると考えます"と記載されています(<http://www.soc.nii.ac.jp/jps/jps/topics/wyp/wyp-idea.html>)。

先ほど記した化学が「見つめ直す必要」を詠っているのに対し、世界物理年をチャンスに物理学を社会にアピールすることに主眼を置いていることに、個人的には大きな意識の違いを感じます。当初、これは「化学」と、「物理」の根本的な意識の違いか…とも考えました。しかし、それ以上に「科学(化学)」と記載されていることから、巷で話題となった蓮舂議員による「一番じゃなければならないんですか？」発言に代表されるように、6 年の時を経て「科学」・「科学者」を取り巻く社会環境・意識の急激な変化の現れと捉えることが適切ではないかとの考えに至りました。当たり前のことですが、我々フロンティア生命化学研究会メンバーも、

純粋に知的好奇心に駆られ世界トップレベルで唯一無二な研究に邁進すると共に、一方では社会への説明責任も意識し、バランスよく研究を推進していく事が求められていることを再認識しました。そして、この世界化学年の統一テーマは、“Chemistry-our life, our future”であり、化学に対する社会の理解増進、若い世代の化学への興味の喚起、化学者による人類への貢献と創造的未來の開拓が掲げられています。

ヒトゲノム配列決定計画の完了が宣言されてから 8 年近い月日を重ねましたが、オーダーメイド医療の実現や画期的な治療法の開発、飛躍的に効果が向上した薬剤開発などは、当初予想に比較すると未だその期待に応えられているとは言い難い状況だと思えます。世界化学年をチャンスに、これまでの研究の方向性、方法論などを見つめ直すことも大切ではないかと思えます。

このような背景の下、今年 1 月 7 日、8 日に第 13 回生命化学研究会シンポジウムならびに研究会を仙台で開催させて頂きました。常に前向きに知的好奇心を大切に発展してきたフロンティア生命化学研究会ですが、世界化学年を節目に一度原点に立ち返り、新たなステップを踏み出すきっかけになれば。と、1 日目シンポジウム、2 日目研究会という第一回から第十回まで続いた形式に戻し、開催させて頂きました(三原さん、津本さん、石田さん、そして皆様には無理をお願いして申し訳ありませんでした)。

今回心掛けたのは、研究会設立時の特徴 1. 平均年齢が若い、2. ヘテロな集団であること…を取り戻し、設立時目指した「脇が甘く、懐の広い」研究会に…です。平均年齢が若いこと…これは気持ちだけは若い(?)が物理的年齢を重ねた設立時メンバーには実現できるわけありませんので、学生の方も含め、出来るだけ若い方々に沢山参加頂く…そのためにはシンポジウム形式で開催したい。また、ヘテロな集団の実現…これは従来とは少し方向性の異なる研究分野の先生方にご講演頂こう。と考へ、世界化学年も意識しシンポジウムのテーマは「生命・生体を医学・化学する」、研究会のテーマは「分子で拓く生命化学」とさせて頂きました。

世話役の先生を中心とした多くの方々のご助言とご協力を仰ぎ、シンポジウムには医学系で素晴らしいお仕事を展開されている先生方 4 名(東北大医・小椋利彦教授、東大院新領域・泊幸秀准教授、名大医・曾我部正博教授、阪大院医・岩井一宏教授)に、そして研究会には生物無機、天然物化学から遺伝子診断、分子モーターまで幅広い分野において合成化学を武器にトップランナーとして活躍されている 7 名の先生方(阪大院工・伊東忍教授、東北大院生化・佐々木誠教授、東北大院生化・有本博一教授、理研放射研・城宜嗣主任研究員、阪大産研・中谷和彦教授、北陸先端大院マテ・高木昌宏教授、東大院工・野地博行教授)にご講演頂きました。ご講演の内容の詳細はシンポジウム報告に譲らせて頂きますが、全て素晴らしいご講演で、多くの参加者にとってこれまで聞いたことのない、目から鱗…的な講演に感銘を受けていただきヘテロな集団となり得たのでは…とホッとしています。さらに「分子レベルでの話」より、「ブラックボックスでもいいから、最先端の興味深く、重要な研究を語れる方」にご講演頂く事を最優先に御願いましたが、内容は最先端であることはもちろんですが、分子レベルでの視点に基づく素晴らしい研究ばかり。。。新しい生命化学の潮流に触れて頂けたのでは…と、主催者としてご講演頂いた先生方に心より深く感謝しております。

また、研究会も発足当時に戻り、基本的に途中質問有り&プログラムの時間を気にしすぎない&先生と呼ぶことは禁止で、進行させて頂きました。これまで若干層の薄かった生物無機分野、天然物合成分野の素晴らしい最先端研究の数々、そして核酸をターゲットとした精緻な論理的設計に基づく素晴らしいご研究や膜リポソームを標的とした斬新なご研究、そして ATP 合成に関し従来常識とされていた軸タンパク質の役割を一変させる革新的なご研究…と素晴らしいご講演を堪能させて頂きました。

仙台は、ここ数年暖かく 1 月でも積雪はほとんどないため、一部の心配の声があったもののシンポジウム・研究会とも雪など大きな問題はないだろう…と、高を括っておりました。しかし、さすが雪に纏わるトラブル・

逸話の多い生命化学研究会。。今回、雪との関係も原点に戻ったかのように、前夜から急に雪が降り出し、夜半には今年初めての本降り。。朝には一面雪景色となりました！さすが侮るべからず恐るべし生命化学研究会！(笑)でした。演者の先生方、そしてご参加頂いた皆様にはご迷惑をお掛けし申し訳ございませんでした。このように足元が悪いにも関わらず、シンポジウムには131名もの、研究会にも58名もの方々に参加頂きました。最後になりましたが、この場を借りて世話人を代表し、ご講演・ご参加頂いた皆様、そして御世話頂いた皆様に心より御礼申し上げます。ありがとうございました。

このように、皆様方のご理解とご協力の御陰で、なんとか当初目標とした設立時の研究会の特徴をある程度実現し、かつ幅広い分野の最先端研究者の方々にご講演頂く事により、「脇が甘く懐の広い」研究会として、かなり満足できるシンポジウム・研究会となったのではないかと考えております。

今後も若い研究者、学生の方にも参加したいと思って頂ける、そして知的好奇心を満足し、新しい世界、分野へのチャレンジに対するモチベーションを高められる充実した研究会となるよう常に自分自身、そして研究会を「見つめ直し」ながら楽しんでいきたいと考えております。また、世界化学年を一つの節目に、自分の世界に閉じ籠もらず、知的好奇心を大切に新しい分野の開拓と研究の深化、さらには社会への情報発信などバランスを保ちながら、常にポジティブに「世界で一番」より、「世界で初めて」を心掛け、進んでいくことが大切ではないかと感じ、思っております。

(わだ たけひこ:hiko@tagen.tohoku.ac.jp)

主催研究会報告

2011年1月7、8日、本会が主催する生命化学シンポジウムならびに生命化学研究会が開催されました。今年は和田健彦氏をはじめとする東北大学の皆様のお世話により、シンポジウムは東北大片平キャンパスにて、また研究会はキャンパスから車で40分ほどの、静かな川沿いに佇む秋保温泉にて開催されました。冒頭の和田氏による巻頭言、下記のプログラム、スナップ写真等により、当日の活気をお伝えできれば幸いです。企画、準備にご尽力下さった関係者の皆様、ありがとうございました。

第13回 生命化学シンポジウム・仙台

～ 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

会期: 2011年1月7日(金)

会場: 東北大学 さくらホール

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)

プログラム

- 13:00-13:05 三原会長あいさつ
- 13:05-13:50 「細胞が作り、細胞が感知する力」(東北大学加齢医学研究所) 小椋 利彦
- 13:50-14:35 「小さなRNA がはたらくしくみ」(東京大学大学院新領域創成科学研究科) 泊 幸秀
- 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」(名古屋大学大学院医学系研究科) 曾我部正博
- 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」(大阪大学大学院生命機能研究科/医学系研究科) 岩井 一宏
- 16:20-16:25 中締め挨拶
- 16:25-16:40 フロンティア生命化学研究会総会

16:45-17:30 ポスター(P01~P48)

17:30-19:30 ミキサー+ポスター

ポスター

P-01 「非平衡キャピラリー電気泳動法を用いて簡便に核酸アプタマーをつくる」(群馬大院工) ○笠原勇矢・栗原正靖

P-02 「PNA含有ペプチドを用いてDNA四重鎖構造を特定プロテアーゼの有無によって制御する」(¹甲南大FIRST・²甲南大FIBER) ○臼井健二^{1,2}・小林慶太¹・杉本直己^{1,2*}

P-03 「架橋性核酸を用いて遺伝子発現を制御する」(東北大多元研) ○萩原伸也・井本修平・堀常 晃・永次 史

P-04 「DNA-カチオン性ポルフィリン錯体の光励起に伴う動的挙動 -時間分解CD測定法によるアプローチ-」(東北大多元研) ○荒木保幸・村上 慎・坂本清志・和田健彦

P-05 「ペプチドリボ核酸(PRNA)-DNAキメラ人工核酸はRNaseH活性を活用し、ターゲットRNAを効率よく切断し、遺伝情報制御に利用できる」(¹東北大多元研・²阪大院工) ○水谷達哉¹・永見 祥²・澤 展也²・坂本清志¹・荒木保幸¹・金谷茂則²・井上佳久²・和田健彦¹

P-06 「非GNRA型テトラループを認識する人工レセプターRNAモチーフの創製」(九大院工) 石川隼也・古田弘幸・○井川善也

P-07 「蛍光性DNA結合小分子を核酸へのラベル化試薬として利用する」(東北大院理) ○佐藤雄介・西澤精一・寺前紀夫

P-08 「TAR RNAを標的とする蛍光性小分子を開発する」(東北大院理) ○西澤精一・珍田裕佳・佐藤雄介・寺前紀夫

P-09 「DNA中における銀(I)を介したC-C塩基対の構造解析」(¹東北大院薬・²神奈川大工) ○大樂武範¹・岡本到²・根東義則¹・小野 晶²・田中好幸¹

P-10 「Adenosine sensor based on AP site-containing DNA duplex and fluorescent ligand」(東北大院理) ○Zhiai Xu・Yuanfeng Pang・佐藤雄介・西澤精一・寺前紀夫

P-11 「ハンマーヘッド型リボザイムの切断可能配列の再検討」(¹東北大院薬・²奈良先端大・³阪大蛋白質研) ○

館岡久明¹・河原郁美^{1,2}・長谷川里美¹・土岐尚子¹・春田佳一郎¹・根東義則¹・児島長次郎^{2,3}・田中好幸¹

P-12 「Cyclic-di-GMP 応答型リボスイッチのモジュール工学」(九大院工)○藤田友紀・古田弘幸・井川善也

P-13 「ナノメカニカル DNA オリガミデバイスは“単分子”ビーコンとして機能する」(東大先端研)○葛谷明紀・酒井雄介・山崎貴裕・徐 岩・小宮山眞

P-14 「二重遺伝暗号を用いて翻訳合成系をリプログラミングする」(¹東大院理・²東大院工・³東大院総合文化) 後藤佑樹¹・伊藤悠美²・人見 梓²・村上 裕³・菅裕明¹

P-15 「抗腫瘍活性を有するクルクミンアナログ GOY086 の標的分子は核内転写制御因子 KSRP である」(¹東北大院薬・²東北大加齢研・³理研ケミカルバイオロジー領域)○高山亜紀¹・山越博幸¹・叶 直樹¹・工藤千枝子²・佐藤温子²・上田和則¹・室井 誠³・昆俊亮²・佐竹正延²・大堀久詔²・石岡千加史²・大島吉輝¹・長田裕之³・千葉奈津子²・柴田浩行²・岩淵好治¹

P-16 「特異的切断サイトを有する新規光親和型アフィニティービーズは共有結合性タンパク質の効率的検出を可能にする」(¹東北大院薬・²理研ケミカルバイオロジー領域)○守谷崇¹・叶 直樹¹・高山 浩¹・本田香織²・照屋貴之²・清水史郎²・長田裕之²・岩淵好治¹

P-17 「プルダウンプローブを用いて破骨細胞分化阻害剤 Methyl gerfelin と結合タンパク質群の相互作用を解析する」(¹東北大院薬・²理研ケミカルバイオロジー領域)○鈴木貴大¹・叶 直樹¹・高山 浩¹・川谷 誠²・長田裕之²・岩淵好治¹

P-18 「新規ランチビオティクス合成酵素はユニークな分子機構で Ser/Thr の脱水反応を触媒する」(¹東大院理・²イリノイ大アーバナシャンペン校)○後藤佑樹^{1,2}・Bo Li²・Wilfred A. van der Donk²

P-19 「ヘムオキシゲナーゼによるベルドヘム開環機構を結晶構造解析と理論計算で明らかにする」(¹東北大多元研・²茨城大フロンティア)○松井敏高¹・海野昌喜²・齋藤正男¹

P-20 「非メバロン酸イソプレノイド生合成経路を標的とする新規抗菌剤の創製」(¹阪大産研・²東大生物生産工研・³明治製薬医薬研)○大神田淳子^{1,*}・林 大輔¹・葛山智久²・高山吉弘³・加藤修雄¹

P-21 「RaPID システムを利用して環状 N-メチルペプチド

阻害剤を探索する」(¹東大院工・²東大院理)○山岸祐介¹・寺坂尚紘¹・菅 裕明²

P-22 「His 型リアクティブタグにより細胞表面のタンパク質をラベル化する」(京大院工)○内之宮祥平・藤島祥平・野中 洋・王子田彰夫・浜地 格

P-23 「リアクティブタグと超分子 handle を用いて細胞膜受容体を選択的に標識する」(¹京大院工・²九大稲森フロンティア研・³POSTECH(Korea))○堤 浩¹・野中洋²・内之宮祥平¹・藤島祥平¹・Kimoon Kim³・浜地 格¹

P-24 「設計タンパク質ライブラリから選択した α3β3 デノボタンパク質は分子認識能を獲得できる」(東大院生命理工)○大倉裕道・高橋 剛・三原久和

P-25 「蛍光タンパク質表面にアミロイド構造を提示したタンパク質を利用することでアミロイドオリゴマーを選択的に検出できる」(東大院生命理工)○高橋 剛・三原久和

P-26 「モノクローナル抗体を使ってシガトキシン CTX1B を検出する」(¹阪府大院理・²東北大院理)○円谷 健¹・竹内勝俊²・山下修治²・平間正博²・藤井郁雄¹

P-27 「分割型 GFP と分割型インテインを使ってカスパーゼの活性を検出する」(東北大多元研)○坂本清志・寺内美香・Kim, Tanner Ian・荒木保幸・和田健彦

P-28 「ペプチドからウイルスキャプシドを創る」(¹九大院工・²北九大国際環境工)○松浦和則¹・渡部健太¹・中村友大¹・櫻井和朗²・君塚信夫¹

P-29 「In vivo・蛍光イメージング・揺らぎの定理で、ミトコンドリア輸送の非平衡駆動力を測る」(¹東北大院工・²阪大産研)○林久美子^{1,2}・今村博臣²・野地博行²

P-30 「マバガイ由来 TIMP 様タンパク質は足糸線維構造を形成する」(¹東北大院生命・²東北大学際センター・³東北大院環境)○佐伯友理¹・永沼孝子^{1,2}・吉見享祐^{2,3}・村本光二¹・小川智久^{1,2}

P-31 「新規一分子蛍光観察法は蛋白質の折り畳みを解き明かす」(東北大多元研)○鎌形清人・高橋 聡

P-32 「糖鎖プライマー法を用いた比較グライコミクスにより肺がん細胞の転移性に関与する糖鎖を明らかにする」(慶応大理工)○佐藤 智典・古市 悠・今野 友輔

P-33 「NADH/NAD+ 変換検出アレイは CytochromeP450 の基質スクリーニングを可能とする」(東北大院薬)○高山浩・叶 直樹・岩淵好治

P-34 「フェロセンとシクロデキストリンを有するナフタレンジイミドを利用して遺伝子を電気化学的に検出する」(九工大院工学・バイオマイクロセンシング技術研) ○渡辺貞佳・佐藤しのぶ・竹中繁織

P-35 「電気化学を利用して歯周病原菌プロテアーゼを検出する」(九工大院工学・バイオマイクロセンシング技術研) 大島毅士・大塚圭一・佐藤しのぶ・竹中繁織

P-36 「ナガイモレクチン由来糖鎖認識ドメインペプチドの糖鎖特異性を糖鎖依存的リフォールディング反応により制御する」(東北大院生命科学) ○渡辺瑞樹・安保博仁・村本光二・小川智久

P-37 「高次構造を有する両親媒性オリゴマーの開発」(¹ 東北大多元研・² 北陸先端大マテリアル) ○嶋建也¹・村岡貴博¹・濱田 勉²・森田雅宗²・高木昌宏²・金原 数¹

P-38 「構造化されたオリゴエチレングリコールの合成」(東北大多元研) ○安達皓太・村岡貴博・金原 数

P-39 「”ペプチド折り紙”で二酸化炭素多電子還元触媒を創る」(北里大院理) ○石田 斉・森 夏貴・佐藤良紀・伊藤康洋・酒井弘明

P-40 「カゼイン-カーボンナノチューブ複合体を作って性質で分ける」(富大院理工) ○小野 慎

P-41 「細胞は弾性ハニカム構造表面の力学物性を認識する」(¹ 東北大 WPI・² 東北大院工・³ 東北大多元研・⁴ CREST JST) ○河野喬仁¹・仲道裕貴²・藪 浩³・藤波 想¹・中嶋健¹・西 敏夫¹・下村政嗣^{1,3,4}

P-42 「太古の時代から細胞膜脂質は多様だった」(中央水産研究所) ○齋藤洋昭

P-43 「異なるサブタイプのインテグリン間相互作用は細胞接着活性を減少させる」(東薬大薬) ○保住建太郎・藤森能・片桐文彦・吉川大和・野水基義

P-44 「線維状ウイルスはハイドロゲルへと自己組織化する」(¹ 東大 KOL・² 東大先端研) ○澤田敏樹^{1,2}・芹澤 武²

P-45 「合成クロロフィル類で金属イオンを捕える」(立命館大総合理工院) ○木下雄介・山本洋平・民秋 均

P-46 「水溶性 N-フェーズポルフィリン: DNA との相互作用, アミノ酸との特異反応」(九大院工) ○東田 悟・古田弘之・井川善也

P-47 「スルホンアミドヘリセンオリゴマーの合成」(東北大院薬) ○重野真徳・串田 陽・山口雅彦

P-48 「ファージディスプレイ法を活用し 2-アントラセン

カルボン酸の超分子不斉光環化二量化反応を制御する」(¹ 東北大多元研・² 阪大院工・³ 東大医科研) ○菅原 唯¹・宮地亜有実¹・宇井美穂子¹・坂本清志¹・荒木保幸¹・西嶋政樹²・津本浩平³・金原 数¹・井上佳久²・和田健彦¹

第13回 生命化学研究会

～ 分子で拓く生命化学 ～

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: ナノマクロ物質・デバイス・システム創製アライアンス/医療材料・デバイス・システム Gr、東北大学 G-COEiremc、日本化学会、高分子学会、日本薬学会、高分子学会東北支部、日本薬学会東北支部

会期: 2011年1月7日(金)～8日(土)

会場: 伝承千年の宿 ホテル佐勘

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)

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」(大阪大学大学院工学研究科) 伊東 忍

10:00～11:00 「複雑な海洋天然物の全合成」(東北大学大学院生命科学研究科) 佐々木 誠

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」(東北大学大学院生命科学研究科) 有本博一

12:20～12:50 昼 食

12:55～13:30 「NO News is a Good News in 2010」(理研放射光総研) 城 宣嗣

13:30～14:30 「DNA・RNA に結合する小分子 現状と課題」(大阪大学産業科学研究所) 中谷和彦

14:30～15:30 「膜ダイナミクスを探る・操る・創る」(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) 高木昌宏

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」(東京大学大学院工学研究科) 野地博行



三原会長



祖我部 正博 氏



小椋 利彦 氏



岩井 一宏 氏



泊 幸秀 氏



世話人 和田 健彦 氏



シンポジウムには 125 名が参加しました



2 日目の研究会



伊東 忍 氏



中谷 和彦 氏



佐々木 誠 氏



高木 昌宏 氏



有本 博一 氏



世話人 齊藤 正男 氏



城 宣嗣 氏



世話人 永次 史 氏



世話人 金原 数 氏



世話人 叶 直樹 氏



平成23年1月8日(土)第13回生命化学研究会参加者一同

写真撮影 : 円谷 健

研究紹介

RNA-ペプチド複合体から
リボヌクレオタンパク質 (RNP) 複合体へ
～細胞内検出系を用いたコンビナトリアル解析～



東京学芸大学 教育学部
広域自然科学系講座 生命科学分野
原田和雄
(harada@u-gakugei.ac.jp)

1. はじめに

RNA 結合タンパク質は、RNA の一本鎖領域の他、ステム・ループやバルジと呼ばれる RNA の二次構造単位に結合することにより、スプライシングなどの RNA プロセッシング、RNA の安定性や翻訳など、転写後の遺伝子発現のあらゆる段階の制御に関わっている。また、RNA-タンパク質相互作用は、リボソームやスプライソソームのような高度かつ精密な「分子機械」としてのリボヌクレオタンパク質 (RNP) 複合体の構築やその機能において重要な役割をはたしている。このため、RNA-タンパク質相互作用のメカニズムに関する一般的なルール of 解明は、生命システムの理解ばかりではなく、様々な病気の診断や治療などの医学的な応用のほか、機能性 RNP の構築などの工学的な応用にもつながることが期待される[1]。また、RNP 複合体の構造-機能相関に関する知見は、生物進化初期において RNA を主な構成成分とする自己複製体がどのような過程を経て進化し、現在のような DNA/RNA/タンパク質からなる生命システムが生まれたかについて考えるための基盤となる[2]。

本稿では、RNA-タンパク質相互作用のメカニズムを理解する上でのモデル・システムとして、アルギニン・リッチ・ペプチドとその結合相手である RNA 構造との相互作用のコンビナトリアル解析、およびこのように得られた知見を用いた機能性 RNP の構築原理の解明を目指した研究について紹介する。

2. RNA 結合モチーフとしてのアルギニン・ペプチドの versatility

RNA-タンパク質相互作用のメカニズムを解析する上で、アルギニン・リッチ・モチーフと呼ばれるアルギニンを豊富に含む 10~20 残基からなるペプチドはすぐれたモデル・システムとなってきた[3]。筆者が RNA-ペプチド相互作用の解析に取り組み始めた 1990 年代半ばの段階においては、図1に示した三つの RNA-ペプチド相互作用について生化学的な解析、およびその複合体の

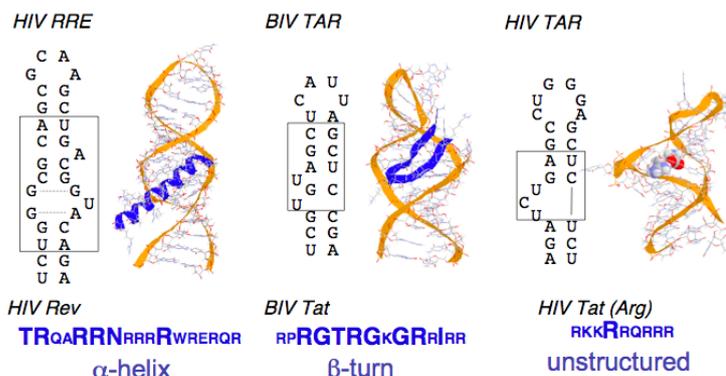


図1 代表的なアルギニン・リッチ・ペプチドのアミノ酸配列とその RNA サイトの二次構造、および複合体の立体構造。

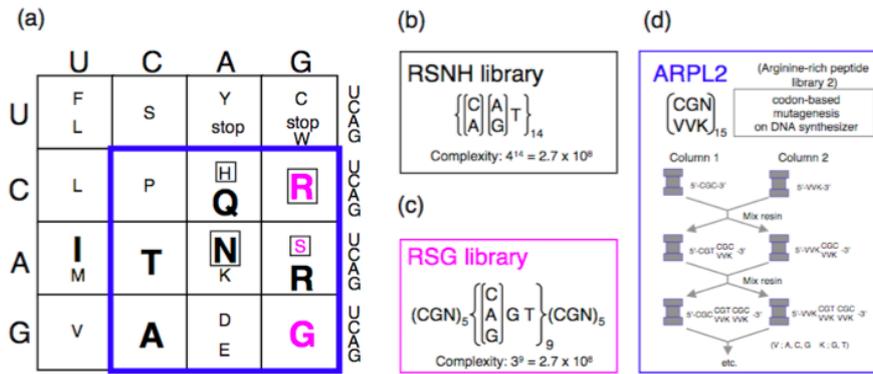


図2 アルギニンリッチペプチドの視点から見た遺伝暗号 (a)、および RNA 結合アルギニン・リッチ・ペプチド・ライブラリーのデザイン (b)-(d)。

NMR による立体構造が明らかになっていた。これらのペプチドの注目すべき点として、1) RNA との結合に際して、 α -ヘリックス、 β -ヘアピンなど、様々なコンホメーションを取りうること、2) RNA との結合に重要なアミノ酸はアルギニンの他、少数の親水性アミノ酸に限られており、配列の「複雑さ」が低いことが挙げられる。

このため、疎水性のアミノ酸を除いた少数のアミノ酸を組み合わせることにより、RNA 結合ペプチドを構築できることが示唆された。具体的には、図2(a)の遺伝暗号表の青い太枠で示した12種類のアミノ酸を少数組み合わせることにより、RNA 結合ペプチドをデザインできるのではないかと考えた。この考えを実証するため、特定の RNA に結合するペプチドのコンビナトリアル・ライブラリーからの同定を試みることにした。

3. 細胞内 RNA-ポリペプチド相互作用検出系の開発

RNA 結合ペプチドのコンビナトリアル・ライブラリーからの同定は、Franklin が開発したファージ λ Nタンパク質による抗転写終結 (アンチターミネーション) を利用した図 3 に示した2つのプラスミドからなる大腸菌レポーター・アッセイを改変することにより行った[4]。 λ Nタンパク質は、転写された RNA 上の boxB と呼ばれる RNA ステム・ループ構造と結合することにより、RNA ポリメラーゼとともにアンチターミネーション複合体を形成し(詳細は7で述べる)、これによって RNA ポリメラーゼは転写終結配列(ターミネーター)で解離することなく、下流の遺伝子を発現できるようになる。このため、大腸菌内で一方のプラスミドから発現された N タンパク質が boxB RNA に結合してアンチターミネーション複合体ができた時にだけ LacZ 遺伝子から β -ガラクトシダーゼが発現される。我々は、boxB を他の標的 RNA 構造と取替え、Nタンパクの RNA 結合部位を他の RNA 結合ドメインあるいはポリペプチド・ライブラリーと取替えることにより、多様な RNA とポリペプチドの相互作用解析に利用できることを示した[5]。レポーター遺伝子として LacZ 遺伝子を用いたアッセイの特徴は、X-gal を含む培地上コロニーの青さ(0 から 8+の評

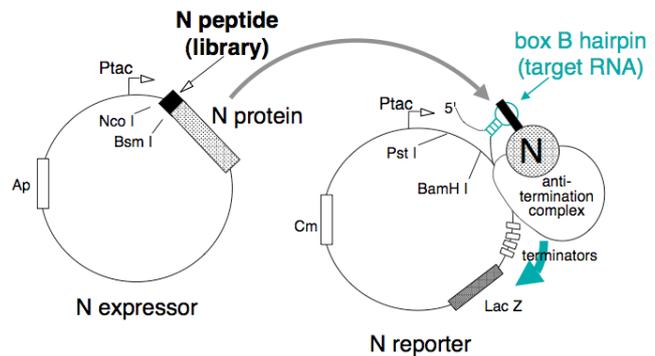


図3 細胞内 RNA-ポリペプチド相互作用検出系のための二つのプラスミド

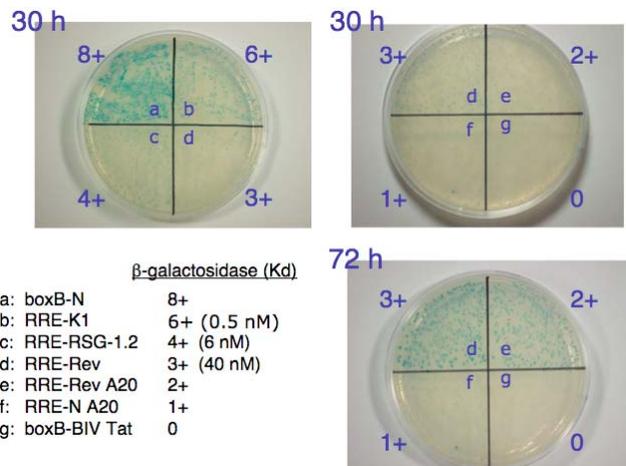


図4 LacZ レポーターを用いたコロニー・カラー・アッセイによる RNA-ペプチド相互作用の解析。

価)が RNA-ペプチド相互作用の親和性に対応していることである(図4)。また、類似した RNA-ペプチド複合体を比較した場合、コロニーの青さにおいて、プラス1つ(1+)の違いが Kd 値で 5 倍程度の違いに相当することが分かっている。さらに、レポーター遺伝子としてカナマイシン耐性遺伝子(NPT II)を用いることにより、検索できるライブラリーの配列数が飛躍的に増大する(~10⁸程度)[6]。

4. HIV RRE RNA 結合ペプチドの配列/コンホメーションの多様性

我々はアンチターミネーション・システムを用いた HIV RRE 結合ペプチドの同定をいくつかのライブラリーを用いて行ってきた[7-10]。HIV ゲノム上の RRE に HIV Rev タンパク質が結合することにより、HIV RNA が核から細胞質に輸送される。このため、高親和性 RRE 結合ペプチドは新しいタイプの抗 HIV 薬の候補になりうる。

まず、比較的単純な(配列の複雑性が低い)ライブラリーとして、3-4 種類のアミノ酸を用いた“ランダム”ライブラリーをデザインした。Rev ペプチドが RRE と結合する上で重要なアルギニン(R)、セリン(S)、アスパラギン(N)の3つのアミノ酸の他、ヒスチジン(H)をコードする RSNH ライブラリー(図2(b))からは、予想通り、本来の結合相手である Rev と類似したペプチドが得られた。また、アルギニン(R)、セリン(S)、グリシン(G)の3つのアミノ酸からなる RSG ライブラリー(図2(c))からは、Rev とは全く異なる配列を持つペプチド(RSG-1)が得られた[7]。さらに、RSG-1 ペプチドをプロトタイプとしたドープ・ライブラリーを作製し、いっそう高いアンチターミネーション活性を示す RSG-1 変異体のスクリーニングを行ったところ、RSG-1 よりも 6-7 倍強く RRE と結合する RSG-1.2 ペプチドを得た[8]。RSG-1.2 ペプチドと RRE との複合体の NMR 構造が解析され、Rev ペプチドとは全く異なる RRE との結合様式が見られた(図5)[9]。特定の RNA を認識する方法が複数存在することから、RNA-ペプチド相互作用の多様性を示す結果となった。

次に、多様なペプチドを含む「複雑な」ライブラリーとして、ポリアルギニン 15 残基にコドン単位で 50%の割合で極性側鎖のアミノ酸(VVK コドン)を導入した Arginine-rich peptide library 2 (ARPL2)を作製し(図2(d))、NPT IIレポーターを用いたセレクションを 10⁷ 配列から行ったところ、高いアンチターミネーション活性を持つ K1 ペプチドが同定できた[10,11]。K1 ペプチドと RRE との複合体の構造は、千葉工業大学の坂本泰一博士のグループにより解析中のため詳細については現時点では分かっていないが、上記の細胞内検出系などを用いたペプチドの変異体解析により、Rev ペプチドと同様にα-ヘリックスとして、Rev のアスパラギン残基と類似して、グルタミン残基がループ領域の G-A 塩基対を認識していると考えられる(図5、図6)[12]。

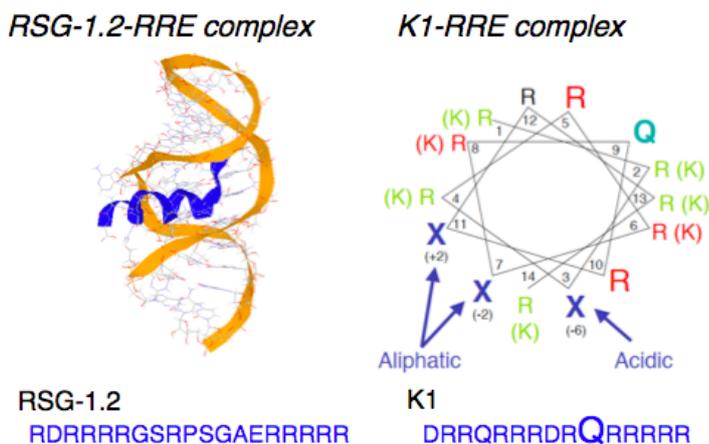


図5 RSG-1.2-RRE 複合体の立体構造、および K1 (DLA)ペプチドのコンホメーションのモデル。

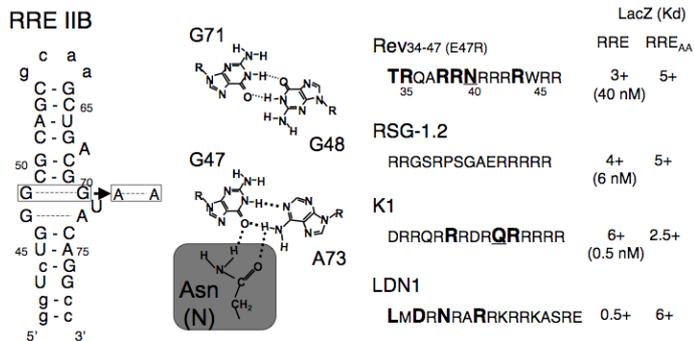


図6 RRE の二次構造、ループ内で形成される G-G および G-A 塩基対、および、同定したペプチドの細胞内活性。

一方、RRE が Rev ペプチドと結合する際に、そのループ領域において G-G 塩基対が形成され、この G-G 塩基対は isostructural な A-A 塩基対に置換することが可能である。興味深いことに、Rev および RSG-1.2 ペプチドは、この RRE の G-G 塩基対を A-A 塩基対に置換した RREAA 変異体と強く結合するのに対して、K1 ペプチドは弱くしか結合できない。このことから、K1 ペプチドは、RRE の G-G 塩基対を特異的に認識している可能性が示された。そこで、RREAA 変異体に結合するペプチドを上記の ARPL2 ライブラリーからのセクションを行ったところ、K1 ペプチドとは異なるアミノ酸要求性を示す LDN1 ペプチドを同定した(図6) [12]。このペプチドは、K1 ペプチドとは逆に、野生型の RRE と結合しない。現在、この G-G から A-A 塩基対への置換によるペプチド特異性スイッチングの分子的基盤について、NMR による構造解析などを行うことにより解析している。

5. ペプチド結合 RNA のモジュール性とその結合特異性の進化のしやすさ

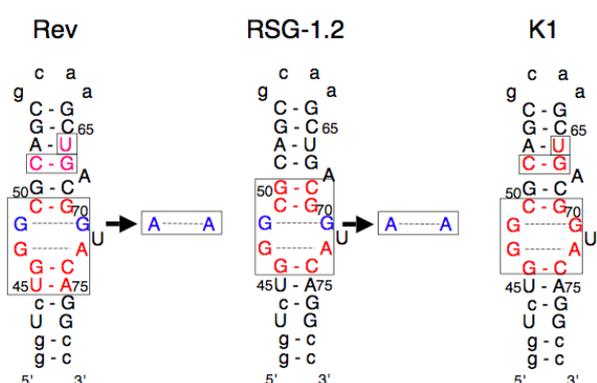


図7 RRE が Rev, RSG-1.2, K1 (DLA) と結合するために重要なヌクレオチド。

RRE による Rev, RSG-1.2, および K1 ペプチドの認識のメカニズムの違いを解析するため、それぞれのペプチドとの結合に重要なヌクレオチドを同定した。これは、上記の細胞内レポーターアッセイを用いて、それぞれのペプチドに結合する RRE 変異体を RRE ドープ・ライブラリーから同定し、それらの配列において保存されているヌクレオチドを決定することにより行った。その結果、それぞれのペプチドを認識する上でのヌクレオチド要求性が異なることが分かった(図7)。また、得られた RRE 変異体の Rev, RSG-1.2, K1 ペプチド

に対する活性を解析したところ、そのペプチド特異性においていくつかのクラスに分類できることが分かった。興味深いことに、RRE の一塩基置換により、Rev ペプチドから RSG-1.2 ペプチド(あるいは、その逆も)への段階的な特異性の改変が可能であることを見出した[13]。また、このような RRE のペプチドに対する特異性をスイッチさせるような塩基置換を複数組み合わせ合わせた合理的な設計により、新しいペプチド結合特異性を創出できることを明らかにした[14]。これらのことは、RNA のペプチド結合特異性の進化のしやすさ、および、そのモジュール性を示すものであり、RNA-タンパク質相互作用の進化において重要な役割を果たしたと考えられる。

6. RNA 結合アルギニン・ペプチドの普遍性

アルギニン・ペプチドは単独では安定な構造を持たず、RNA との結合によりその構造(α-ヘリックス、β-ターンなど)が安定化される。同様に、RNA の構造もアルギニン・ペプチドが結合する際に構造が安定化される。代表的な例として、RRE の内部ループにおける G-G、および G-A 塩基対の形成が挙げられる。このため、RNA-ペプチド複合体は一つの折りたたみ単位と見なすことができる。アルギニン・ペプチドがどのような RNA 構造を認識・結合できるか明らかにする意味で、RRE のように本来アルギニン・ペプチドと結合する RNA 構造の他、本来、ペプチドやタンパク質との結合サイトではない RNA 構造を標的としたスクリーニング

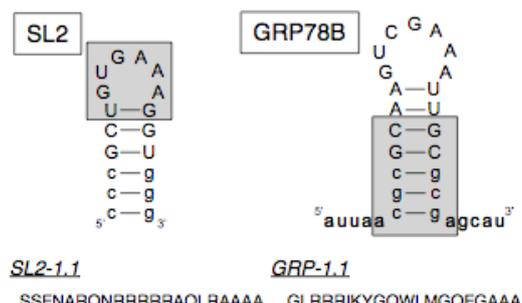


図8 SL2, GRP78B RNA の二次構造と ARM ライブラリーからの検索により同定したペプチドのアミノ酸配列。RNA 二次構造のグレーの四角がペプチドとの結合に重要な領域。

図8 SL2, GRP78B RNA の二次構造と ARM ライブラリーからの検索により同定したペプチドのアミノ酸配列。RNA 二次構造のグレーの四角がペプチドとの結合に重要な領域。

を行った。標的 RNA 構造としては、同定したペプチドによる遺伝子発現の制御への応用を踏まえて、C 型肝炎ウイルス(HCV)の 5'-および 3'-UTR における翻訳や複製のために重要な領域などを選び、結合ペプチドのセレクションを行って来た。その結果、図 8 に示した RNA 構造に結合するペプチドを同定できた。これらの RNA 構造の共通点は、そのペプチド認識領域が RNA ステムに隣接するプリン-プリン塩基対(特に G-A 塩基対がよく見られる)を持つ点である。今後もアルギニン・ペプチドにより認識可能な RNA 構造のレパートリーを明らかにするとともに、これらのペプチドを用いた遺伝子発現の制御について検討する。

7. 機能性リボヌクレオタンパク質複合体 (RNP) のエンジニアリング

細胞内には、リボソームやスプライソームのような複雑な「分子機械」、転写や翻訳制御に関わる分子会合体など、数多くのリボヌクレオタンパク質 (RNP) 複合体が重要な役割を担っている。我々は、RNP 複合体の構築原理を理解するため、上述の細胞内検出系で利用している N タンパク質を中心とするアンチターミネーション複合体に注目した。これは、アンチターミネーション複合体が一つの RNA 分子およびファージ λ N タンパク質をはじめとする 6 種類のタンパク質からなる比較的単純な構造を持つこと(図 9)、また、上述の検出系により構造-機能相関を比較的簡単にアッセイできるためである。

ファージ λ の最初期の遺伝子である N タンパク質は、λ nut 由来の boxA-boxB RNA、大腸菌宿主因子 (NusA, NusB, S10, NusG タンパク質)、および RNA ポリメラーゼとともにアンチターミネーション複合体を形成し、これにより RNA ポリメラーゼは下流ターミネーター (tL, tR) をリードスルーし、後期の遺伝子が発現される。N タンパク質は図 9B に示したドメイン構造を持ち、λ nut 由来の boxB RNA、宿主因子の NusA、および RNA ポリメラーゼとともに、アンチターミネーションにおいて最低限必要な「コア core」複合体を形成する(図 9A, "core" complex)。

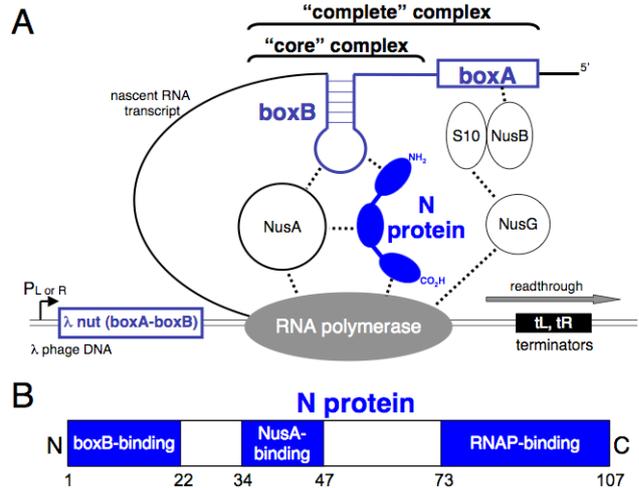


図 9 (A)アンチターミネーション複合体における相互作用ネットワークのモデル。N タンパク質および boxA-boxB RNA はファージ λ 由来、NusA, NusB, S10, NusG および RNA ポリメラーゼは宿主 E. coli 由来である。(B) N タンパク質のドメイン構造。

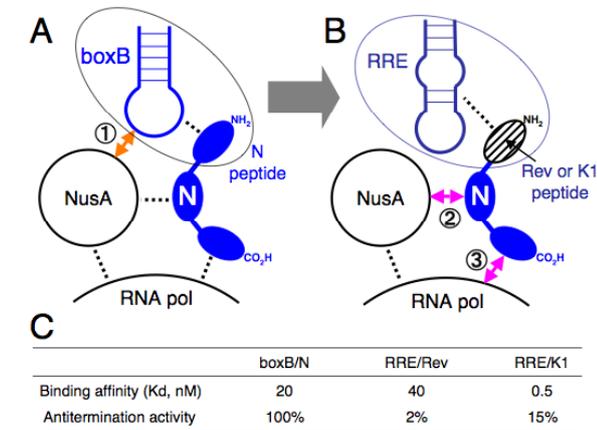


図 10 野生型(A)、boxB を RRE に置換した(B)、コア・アンチターミネーション複合体における相互作用ネットワークとそのアンチターミネーション活性(C)。

由来の boxA RNA および宿主因子 NusB, S10、および NusG を含む「完全な complete」複合体(図 9A, "complete" complex)が必要である。

野生型複合体における boxB RNA と N タンパク質の RNA 結合ドメインを HIV RRE RNA と Rev ペプチドに置換することができることは、上述の通り、分かっている(図 10A,B) [7]。しかしながら、RRE-Rev 相互作用の親和性は boxB-N とほぼ同等であるにもかかわらず、アンチターミネーション活性は 2%程度まで低下した(図 10C)。その原因として二つのことが考えられる。まず、野生型複合体における NusA タンパク質と boxB との相互作用(図 10A, 矢印①)が失われたためと考えら

れる。また、RRE-Rev の複合体内の空間的配置／配向が最適でないため、複合体全体の安定性が低下したためであるとも考えられる。

そこで、我々は、アンチターミネーション複合体における相互作用ネットワーク、および、各ドメインの空間配置のエンジニアリングによる活性の回復について検討している。まず、相互作用ネットワーク改変による複合体の安定性および活性の制御の可能性を示す結果として、RRE-Rev を中心とする複合体における Rev ペプチドを高親和性 RRE 結合アプタマーである K1 ペプチドに置換することにより、活性を 15%程度まで回復したことが挙げられる(図 10B,C) [11]。また、N タンパク質の NusA タンパク質間結合領域を改変することにより、活性がさらに回復することが分かっている(図 10B、矢印②) (Suzuki & Harada, unpublished)。現在は、N タンパク質と RNA ポリメラーゼとの相互作用(図 10B、矢印③)の最適化について検討している。

一方、アンチターミネーション複合体における各モジュールの空間的配置／配向の改変による活性の制御の可能性について解析した[15]。具体的には、boxB RNA のステムの長さ、boxA と boxB 間の距離、および N ペプチドと N タンパク質の NusA 結合領域との間の距離を改変した。その結果、boxB RNA のステムの長さ、および N ペプチドと N タンパク質の NusA 結合領域との間の距離は非常に重要であることが明らかになった。しかしながら、興味深いことに、boxB と N ペプチドを、他の RNA-ペプチド相互作用に置換することにより、RNA のステムの長さ、およびペプチドリンカーの長さに対する厳密性は著しく低下した。実際、RRE-Rev 等の空間的配置／配向を変化させることにより、活性の上昇が見られる場合があった(Takeda & Harada, unpublished)。

これらの結果は、機能性 RNP としてのアンチターミネーション複合体のエンジニアリングの可能性を示すものである。今後、機能性 RNP の構築原理に関する一般的ルールの解明につながることを期待される。

8. おわりに

今回は、長年取り組んで来た RNA-ペプチド相互作用のメカニズムの解析について、そしてこの数年来、興味を持って進めているリボヌクレオタンパク質複合体(RNP)のエンジニアリングを中心にまとめてさせて頂きました。DNA-タンパク質相互作用の場合と同様に、RNA-タンパク質認識コードの解明や RNA 結合タンパク質の合理的なデザイン法の開発を目指し、これまで暗中模索の状態が続いて来ましたが(もちろん、これはこれで十分に楽しいのですが)、これらの問題に取り組むためのツールがようやくそろい始めた気がしています。一方、このような研究を始めた当初から、その成果を医学・工学に応用できればと考えてきました。上記のペプチドなどを用いたウイルスの複製の制御には引き続き挑戦して行きたいと思っています。また、新しいコンセプトにもとづいた実験法の開発にも取り組んで行きたいと思っています。一人でできることには限りがあり、その意味で研究における「指導者」、研究を行う上での「同士」には恵まれて来たと思いません。この場を借りて指導して下さった先生方、共同研究者、研究室の学生に深く感謝いたします。

References

- 1) 原田和雄, *蛋白質核酸酵素*, **51**, 2489-2495 (2006).
- 2) 原田和雄, 河合剛太・金井昭夫編, 「機能性 RNA の分子生物学」, クバプロ, pp. 29-40 (2010).
- 3) A. C. Cheng, V. Calabro, and A. D. Frankel, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **11**, 478 (2001).
- 4) N. C. Franklin, *J. Mol. Biol.*, **231**, 343-360 (1993).
- 5) a) K. Harada & A. D. Frankel, "RNA-Protein Interactions :A Practical Approach" (C.W.J. Smith ed.), IRL Press, pp. 217-236 (1998); b) 原田和雄, *蛋白質核酸酵素*, **44**, 1572 (1999); c) 原田和雄, *実験医学*, **19**, 2213-2217 (2001).

- 6) 原田和雄, 中村義一・大内将司監修, 「RNA 工学」, シーエムシー出版, pp. 259-268 (2005).
- 7) K. Harada, S. S. Martin & A. D. Frankel, *Nature*, **380**, 175 (1996).
- 8) K. Harada, S. S. Martin, R. Tan & A. D. Frankel, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **94**, 11887 (1997).
- 9) Q. Zhang, K. Harada, H. S. Cho, A. D. Frankel & D. E. Wemmer, *Chem. Biol.*, **8**, 511-520 (2001).
- 10) H. Peled-Zehavi, S. Horiya, C. Das, K. Harada & A. D. Frankel, *RNA*, **9**, 252-261 (2003).
- 11) M. Sugaya, N. Nishino, A. Katoh & K. Harada, *J. Pept. Sci.*, **14**, 924-935 (2008).
- 12) S. Aoyama, M. Sugaya, C. Kobayashi, S. Masuda, T. Sakamoto, G. Kawai, A. Katoh & K. Harada, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **53**, 271-272 (2009)
- 13) T. Iwazaki, X. Li & K. Harada *RNA*, **11**, 1364-1373 (2005).
- 14) M. Sugaya, F. Nishimura, A. Katoh & K. Harada, *Nucleos. Nucleot. Nucl.*, **27**, 534-545 (2008).
- 15) S. Horiya, M. Inaba, C.-S. Kou, H. Uehara, N. Masui, M. Mizuguchi, M. Ishibashi, S. Matsufuji & K. Harada, *Mol. Microbiol.*, **74**, 85-97 (2009).

研究紹介

天然物を基盤とした神経幹細胞、
癌細胞へのアプローチ



千葉大学大学院薬学研究院
荒井 緑
(marai@faculty.chiba-u.jp)

1. はじめに

天然物の医薬への貢献は、近年開発された新薬のほとんどが天然物かその関連化合物であることから明らかであるが¹⁾、欧米を中心として華やかにスタートした多様性志向型合成を基盤とする小分子ライブラリー構築と体系化したハイスループットな生物活性評価を行う大規模なプロジェクトの登場により、天然物やその誘導体は、一時期、窮屈な立場になったようであった。しかし、膨大な数の人工小分子ライブラリーをもってしても、生物活性化合物のヒット率は、自然から見いだされる天然物に一步譲っている状況から、ここ数年で再び天然物の重要性が再認識されてきているように感じられる。本稿では、我々の研究室(千葉大学大学院薬学研究院 活性構造化学研究室・石橋 正己教授)で行っている、天然物を基盤とした癌細胞、神経幹細胞へのアプローチについて紹介する。1. 天然物そのもの(単離・構造決定)と天然物を基盤とした合成化合物ライブラリー、2. タンパク質を用いたアッセイシステム、3. 細胞を用いたアッセイシステムの、三軸を中心に研究を行っている(図1)。

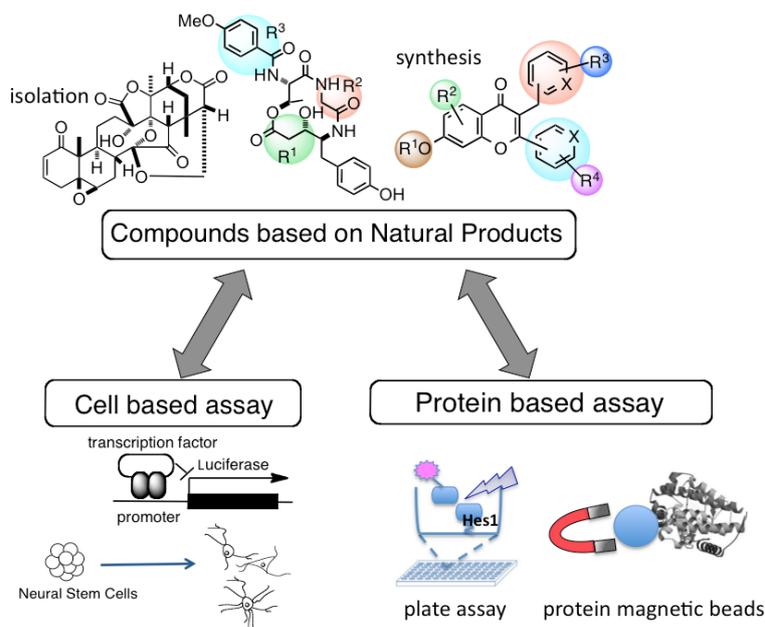


図1 天然物様化合物、タンパク質アッセイ、細胞アッセイの三軸

2. タンパク質を基盤としたアプローチ

2-1. 磁気ビーズタンパク質を用いた天然物の迅速的探索法

生物活性を有する天然物を迅速に探索(単離・構造決定)することは非常に望まれることであろう。この目的を達成するために、我々は興味のあるタンパク質(疾病に関連するもの等)を担持させた磁気ビーズ(図2D)を用いて、天然物のエキス(天然物の混合物)から、そのタンパク質に相互作用する天然物をつりあげる方法を開発した。天然物のエキスとタンパク質担持磁気ビーズを混合し(図2A)、磁石を用いてビーズを回収した後(図2B)、有機溶媒にてタンパク質に結合した天然物を解離、HPLCで解析し(図2C)、ターゲット天然物を保持時間やUV吸収パターンなどの情報を得た後、実際の化合物単離を行うというものである。系の確立のため、ビタミンD受容体(VDR)と、その生体内リガンド1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ [1 α ,25(OH)₂ VD₃] (1)とその代謝前駆体であるvitamin D₃ (VD₃) (2)を用い、図3A, Bに示すように化合物1を選択的に検出することができた。この系を用いて、天然物エキス(*Limocharis flava*; 図3CはエキスのみのHPLCチャート)から、新規labdane型ジテルペンを迅速に単離・構造決定することに成功した²⁾。本法は、リバースケミカルゲノミクスの天然物探索とも位置づけることができると考えている。現在、神経幹細胞の分化に重要な転写因子を用いた迅速的天然物探索に取り組んでいる。

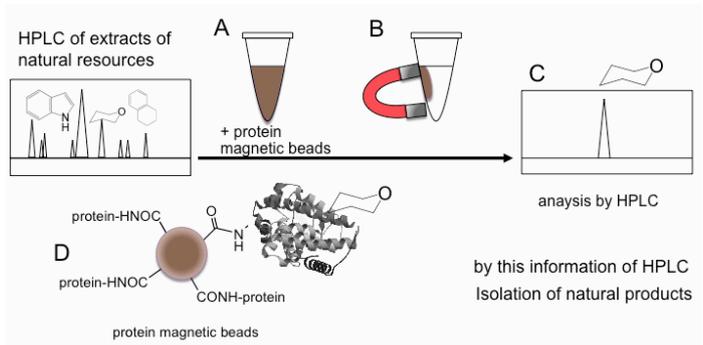


図2 タンパク質担持磁気ビーズを用いた天然物の迅速的探索法

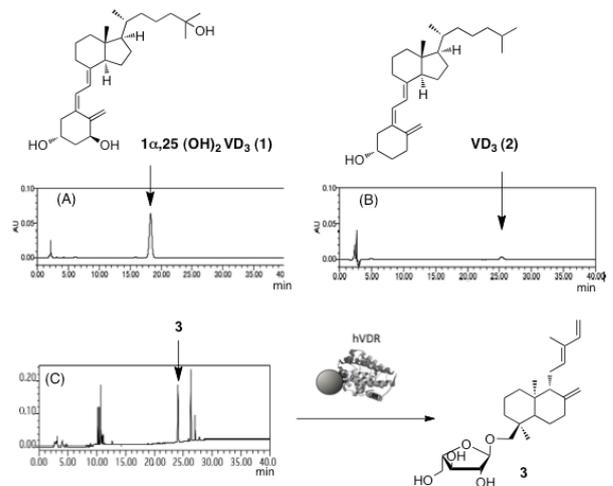


図3 VDR 担持磁気ビーズによる活性型ビタミンD₃の選択的検出(A, B)と、*L. flava* からの新規天然物の単離

2-2. 神経幹細胞で働くHes1ダイマー形成阻害剤の探索

神経幹細胞が成人脳内で発見³⁾されてから18年が過ぎるが、その分化をモジュレートする化合物の報告は少ない。2ヶ所に局在すると考えられていた神経幹細胞は、大脳新皮質にも存在が確認され⁴⁾、神経再生医薬の開発は脳神経疾患の患者に大きな希望をもたらすと考える。天然物はもともと自然で創られ、活性、循環、代謝等で医薬としてのアドバンテージを潜在的に有することから、天然物を基盤とした神経幹細胞へのアプローチは筆者にとって非常に魅力的である。神経幹細胞の分化にはbasic-helix-loop-helix (bHLH) 型の転写因子が重要な役割を担っており、分化を促進するもの、抑制し幹細胞を維持するものの、大きく二種類が存在することが知られている(図4)。我々は抑制型のbHLH因子の一つHes1に着目し、その作用を阻害する天然物を探索している。Hes1は二量体で活性型bHLH因子のDNAプロモーター部に結合し、その転写を阻害することから、Hes1二量体形成を阻害する天然物をハイスループットに探索するべく、蛍光化したHes1と、マイ

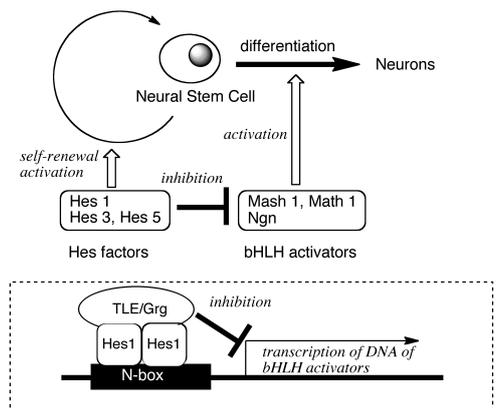


図4 神経幹細胞におけるbHLH因子の働き

クロプレートに固定化したHes1を用いるアッセイ系を構築し(図5)、当研究室が有する天然物ライブラリーから、初のHes1阻害剤を見だし、細胞内でもHes1の働きの阻害を示すことを明らかにした⁵⁾。

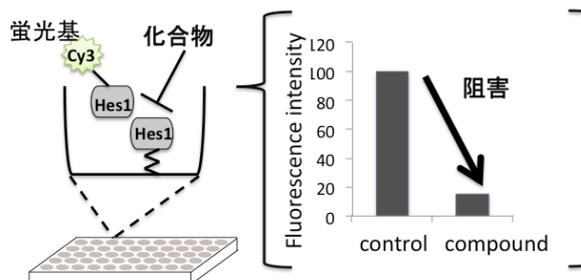


図5 プレートアッセイによる Hes1 二量体阻害剤

3. 細胞アッセイを基盤としたアプローチ

神経幹細胞の分化モジュレーターや、癌細胞の異常亢進シグナル阻害剤を探索するために、我々は細胞アッセイを用いたアプローチも行っている。神経幹細胞では、ターゲットとしているbHLH因子の転写をルシフェラーゼで定量できる安定発現細胞を構築し研究を行っている。また、癌細胞の異常亢進シグナルでは、そのシグナルの最下流で働く転写因子に制御される遺伝子転写活性をターゲットとしている。本稿では、前立腺癌や基底細胞癌などで異常亢進しているHh(ヘッジホッグ)シグナルの阻害剤探索について述べる。

3-1. 天然物からのHhシグナル阻害剤の探索

Hhシグナルは、生物の発生段階などで重要な働きを担う一方で、細胞内での各コンポーネントの変異により異常亢進に傾くと、癌の要因となることが報告されている(図6)。このシグナルの最下流は転写因子GLIによる遺伝子転写であり、プロモーター部のGLI結合配列に結合することで、Hh関連タンパク質の遺伝子転写がおこる。我々はテトラサイクリンによりGLIの発現を制御できる細胞に、プロモーター部にGLI結合サイトを有するルシフェラーゼ遺伝子を安定発現させた細胞アッセイ系を構築し(図7)⁶⁾、これを用いてGLIによる転写を阻害する天然物を探索している。これまでに単離・構造決定した天然由来Hhシグナル阻害剤を図8に示した。Hhシグナル阻害剤として報告されているものは、天然物のシクロパミンを含め膜タンパク質のSMO阻害剤が多いが、癌細胞にはSMOが変異し、それらの化合物が有効で無いものがあるため、SMO以外のコンポーネントを標的とすることが望ましい。そのような化合物の報告は少なく、ほとんどが合成化合物である。我々は、構築した細胞アッセイを用いて、天然物ライブラリーからzerumbone (4)、staurosporinone (5)を、*Physalis minima*からphysalins F (6) and B (7)を、強い阻害剤として単離し⁶⁾、*Zizyphus cambodiana*、*Acacia pennata*からは中程度の強さの阻害剤colubrinic acid (8)を含むpentacyclic triterpenesを見いだした^{7a,b)}。また、*Adenium obesum*からは3種の新規化合物を含む、17種のcardiac glycosidesをHh阻害剤として単離し^{7c)}、digitoxigenin β-D-glucosyl-(1→4)-β-D-thevetoside (12)は0.11 μMのIC₅₀を示した。*Excoecaria agallocha*から単離された新規フラボノイド配糖体(13)は、GLIの核内への移行を阻害する新規なHh阻害メカニズムを有していた^{7d)}。これらの阻害剤は、Hhシグナルで制御されるタンパク質であり、Hhリガンドの受容体であるPTCHや、抗アポトーシスタンパク質であるBCL-2の発現をmRNAレベルで抑制することを見いだ

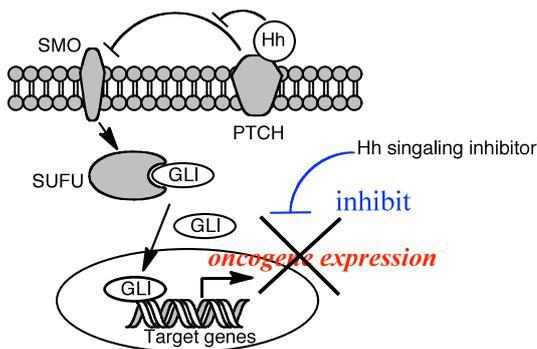


図6 Hhシグナル

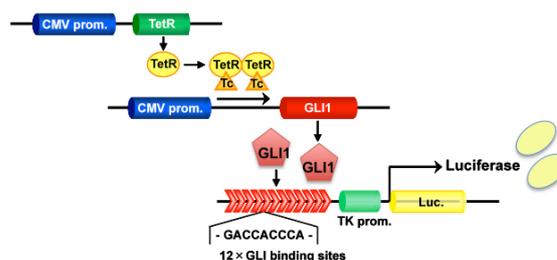


図7 Hhシグナル阻害剤探索のための細胞アッセイシステム

これらの阻害剤は、Hhシグナルで制御されるタンパク質であり、Hhリガンドの受容体であるPTCHや、抗アポトーシスタンパク質であるBCL-2の発現をmRNAレベルで抑制することを見いだ

している。さらに、Hhシグナルが異常亢進しているヒト膵臓癌細胞(PANC1)やヒト前立腺癌細胞(DU145)に著しい細胞毒性を示す一方で、Hhシグナルが亢進している正常細胞として用いられるマウス胚由来線維芽細胞であるC3H10T1/2細胞に毒性を示さないものがほとんどである。

4. 天然物を基盤とした活性化合物の合成

我々は当研究室で単離・構造決定された天然物の骨格を基盤とし、多様性志向型合成(Diversity-oriented synthesis; DOS)を取り入れた、「天然物基盤DOS化合物」の創製も目指している(図9)。多くの植物から単離され、幅広い生物活性を有するフラボノイド、クロモンの骨格に、ヘテロ環置換基を付与したライブラリー合成に近年成功し、また、変形菌 *Physarum melleum* から単離・構造決定された新規環状デプシペプチド melleumin A や、変形菌 *Fuligo candida* から単離・構造決定された新規天然物 fuligocandins B はその全合成を達成し、ライブラリー構築に向かっている。Fuligocandins B やその誘導体は、癌細胞を正常細胞と区別

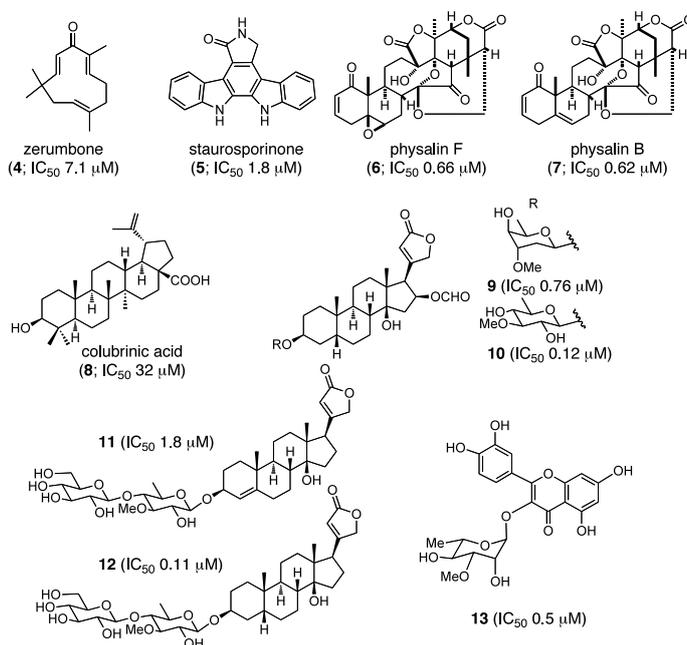


図8 天然由来 Hh シグナル阻害剤

してアポトーシスに導くデスリガンド (TRAIL) に耐性を有する癌細胞を、再びTRAIL感受性細胞に導き、TRAILと併用することで癌細胞に対し毒性を示すことを見いだしている⁸⁾。本稿では、melleumin とヘテロ環置換基を有するフラボノイド・クロモンライブラリーについて紹介する。

4-1. 変形菌より単離された天然物の骨格を活かしたWntシグナル阻害剤の創製

Wntシグナルは大腸癌にてその異常亢進が認められるシグナルである。最下流の遺伝子転写はβ-カテニンと転写因子TCFの複合体により引き起こされる。我々は、当研究室で単離・構造決定された天然物の骨格を基盤とした合成化合物でWntシグナル阻害剤を見いだしている。新規環状デプシペプチド melleumin A (14) とそのセコ酸メチルエステルである melleumin B (15) は当研究室にて、変形菌 *Physarum melleum* から単離構造決定された(図10)⁹⁾。我々は、

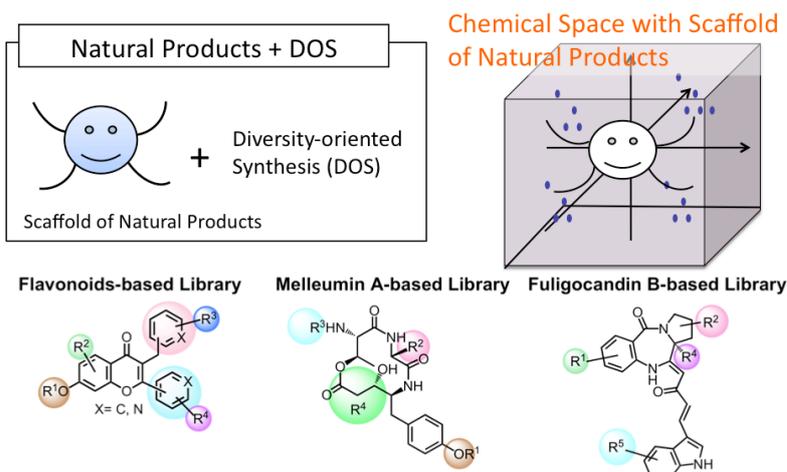
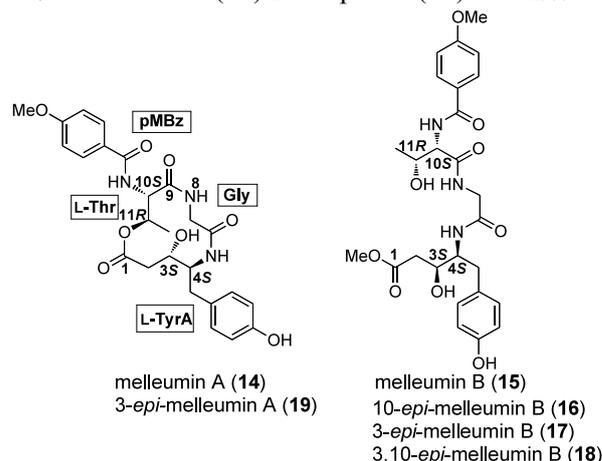


図9 天然骨格を基盤とした DOS 化合物の創製

melleumin B (15) を全合成し、未決定であった4位の絶対立体配置をSと決定し^{10a)}、さらに数種の異性体の合成に成功した。それらのうち、melleumin B の10R-体 (16)、3R-体 (17)、(3R, 10R)-体 (18) にWntシグナル阻害活性を見いだしていた^{10a,b)}。Wntシグナル阻害活性は、TCF結合領域を有するルシフェラーゼ遺

伝子の転写活性の阻害により評価している。その後我々は、melleumin A (14)と3*R*-epimer (19)の全合成に成功し、さらに、melleumin Aの骨格を活かしたmelleumin様化合物20をデザイン、合成した。melleumin B誘導体に阻害活性がみられたことから、melleumin AとBとの共通部分構造を維持させ、エステル部を除き、環サイズを大きくしたところ、melleumin A (14)に比較して阻害活性を20%増強させることに成功した¹¹⁾。医薬に発展するような優れたWntシグナル阻害剤は未だ少ないことから、melleuminのようにペプチドベースの化合物は医薬リードとして有用と考えている。



4-2. ヘテロ環置換基を有するクロモン・フラボノイド誘導体の効率的合成とライブラリー構築

幅広い生物活性を有するクロモン・フラボノイド類は植物の多くから様々な種類が単離される。筆者は、タンパク質と相互作用しやすいヘテロ原子の位置を天然物の骨格の周りに“ちりばめる”ことで、目的とする生物活性を引き出すのに近道となるケミカルスペースを、天然物の構造の延長として得られるのではないかと考えている。そこでまず、クロモン・フラボノイド類にヘテロ環置換基を効率的に導入する合成法を確立した¹²⁾。図11に示すようなヘテロ環を有するクロモン、フラボノイドの合成はそれまで2つの報告例があったが、効率的で様々な置換基に応用する方法は無かった。我々は、ヒドロキシアセトフェノン誘導体とヘテロ環アルデヒドより生じるカルコン中間体において、タンデム型マイケルアルドール反応が進行することで、2位3位にヘテロ環を有するクロモン誘導体を得ることに成功した。また、芳香族アルデヒド(図11、Aldehyde A)から生じたカルコンの環化が遅いことを利用し、後にヘテロ環アルデヒド(Aldehyde B)を加えることにより、3位にヘテロ環を有するフラボノイド誘導体を合成できる。これらの反応を固相合成にて検討し、種々のヘテロ環アルデヒドを用いて様々な化合物を合成した。さらに図11のR1, R2にあたる部分にPdによるクロスカップリングにて多様性を増加させ、スプリット&プール法によりライブラリーを合成した。これらの化合物に、神経幹細胞の分化を抑制する転写因子Hes1のプロモーター阻害活性を有するものを見いだしている¹³⁾。現在、神経幹細胞の分化促進作用や、神経幹細胞中の分化に関わるタンパク質のmRNA発現への影響を検討している。

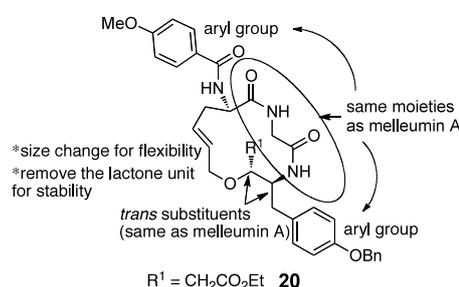


図10 melleumin A, Bとその誘導体

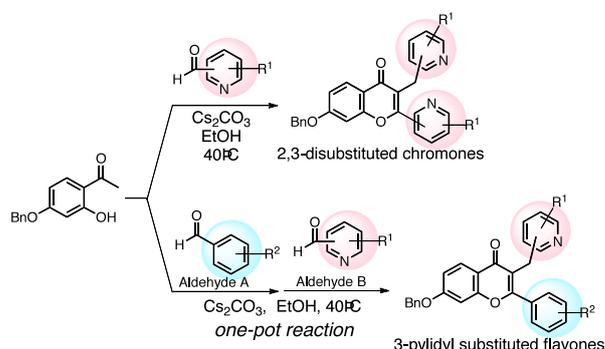


図11 ヘテロ環置換基を有するクロモン・フラボノイド誘導体の効率的合成法の確立

5. おわりに

我々は、天然物を基盤として、生物活性物質を日々、探索している。まだまだ多くの疾病やその関連シグ

ナルには特異的なモジュレーターが必要であり、それらは未知の生体内機構の解明を助け、医薬のリードにもなり得る。自然が与えた骨格は、そのような有用化合物への近道であると筆者は考えている。

謝辞

本稿にて紹介した研究は、所属する千葉大学大学院薬学研究院活性構造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石橋正己教授をはじめ多くの学生さんの心温かいサポートに対し、心より感謝申し上げる。

参考文献

- 1) D. J. Newman, and G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.*, **70**, 461-477 (2007).
- 2) M. A. Arai, E. Kobatake, T. Koyano, T. Kowithayakorn, S. Kato, and M. Ishibashi, *Chem. Asian J.*, **4**, 1802-1808 (2009).
- 3) B. A. Reynolds, and S. Weiss, *Science*, **255**, 1707-1710 (1992).
- 4) K. Ohira, T. Furuta, H. Hioki, K. C. Nakamura, E. Kuramoto, Y. Tanaka, N. Funatsu, K. Shimizu, T. Oishi, M. Hayashi, T. Miyakawa, T. Kaneko, and S. Nakamura, *Nature Neurosci.*, **13**, 173-179 (2010).
- 5) M. A. Arai, A. Masada, T. Ohtsuka, R. Kageyama, and M. Ishibashi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 5778-5781 (2009).
- 6) T. Hosoya, M. A. Arai, T. Koyano, T. Kowithayakorn, and M. Ishibashi, *ChemBioChem*, **9**, 1082-1092 (2008).
- 7) a) M. A. Arai, C. Tateno, T. Hosoya, T. Koyano, T. Kowithayakorn, and M. Ishibashi, *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 9420-9424 (2008). b) Y. Rifai, M. A. Arai, T. Koyano, T. Kowithayakorn, and M. Ishibashi, *J. Nat. Prod.* **73**, 995-997 (2010). c) M. A. Arai, C. Tateno, T. Koyano, T. Kowithayakorn, S. Kawabe, and M. Ishibashi, *Org. Biomol. Chem.*, **9**, 1133-1139 (2011). d) Y. Rifai, M. A. Arai, S. K. Sadhu, F. Ahmed, and M. Ishibashi, *Bioorganic. Med. Chem. Lett.*, **21**, 718-722 (2011).
- 8) M. A. Arai, J. Seto, F. Ahmed, K. Uchiyama, and M. Ishibashi, *Synlett*, **2010**, 16, 2498-2502.
- 9) S. Nakatani, K. Kamata, M. Sato, H. Onuki, H. Hirota, J. Matsumoto, and M. Ishibashi, *Tetrahedron Lett.*, **46**, 267-271 (2005).
- 10) a) S. Hanazawa, M. A. Arai, X. Li, and M. Ishibashi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 95-98 (2008). b) M. A. Arai, Y. Uchino, S. Hanazawa, X. Li, N. Kimura, and M. Ishibashi, *Heterocycles*, **76**, 1425-1438 (2008).
- 11) M. A. Arai, S. Hanazawa, Y. Uchino, X. Li, and M. Ishibashi, *Org. Biomol. Chem.*, **8**, 5285-5293 (2010).
- 12) M. A. Arai, M. Sato, K. Sawada, T. Hosoya, and M. Ishibashi, *Chem. Asian J.*, **3**, 2056-2064 (2008).
- 13) 特願2010-167577、フラボノイド由来Hes1プロモーター阻害剤、荒井緑・柳瀬なつき・小柳津和音・石橋正己。

研究紹介

オリゴシアル酸合成法の開発と
糖鎖機能解析への応用東京工業大学大学院理工学研究科
田中 浩士
(thiroshi@apc.titech.ac.jp)

0. はじめに

化学を武器に生物学研究を切り開くケミカルバイオロジー研究は、非常に有効かつ面白い研究分野である。本研究分野において、我々合成化学者は、切れ味のよいメスを生物学者に手渡す役割を担っている。しかしながら、「使いたいもの」と「作りたいもの」が必ずしも一致しないために、使う側と作る側の両者が満足できるメスを設定することは難しい。それは、両専門領域の研究者が共に満足できるケミカルバイオロジー研究における大きな課題である。本稿では、合成化学的にも生物学的にも魅力的であったオリゴシアル酸の合成法の開発と、合成糖鎖誘導体を利用する糖鎖生物学研究への展開について紹介する。

1. ジ/オリゴシアル酸

シアル酸は、デオキシ酸性9単糖 **1** の総称であり、天然構成単糖の中で最も複雑な構造を有している (図1)。ただし、一般的には、シアル酸とは、5位の置換基がアセトアミド基の誘導体を指すことが多い。多くの場合、シアル酸は、生体内糖鎖の非還元末端、すなわち一番外側に熱力学的に不安定な α 結合を介して存在しており、様々な生体分子との相互作用に関わっている。例えば、インフルエンザウイルスが、ガラクトースの3位または6位水酸基に結合したシアル酸含有糖鎖を足がかりに生体内に侵入していくことはよく知られた事実である。また、シアル酸は、シアル酸同士がさらに結合したジ/オリゴシアル酸 **2** を形成することが知られており、近年の生物学的役割が注目されている。¹⁾しかしながら、これらの糖鎖の分析技術が十分開発されていないことが、その研究推進の大きな妨げになっている。例えば、構造分析に重要である糖鎖抗体については、糖タンパク質中のオリゴシアル酸を認識できる抗体は今だ開発されていない。

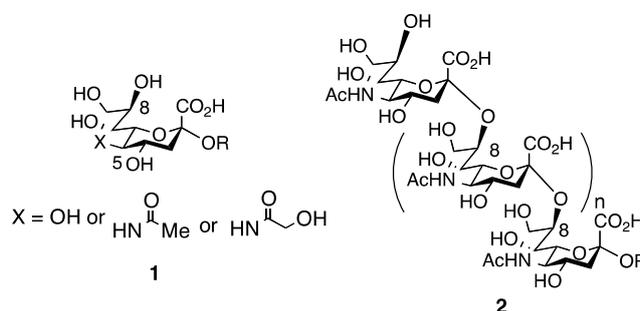


図1 シアル酸とオリゴシアル酸

一方、ジ/オリゴシアル酸の基本構造である α (2,8)シアル酸 **7** の合成化学は、糖鎖合成化学における長年の課題であった (図2)。²⁾まず、天然のシアル酸のグリコシド結合は、熱力学的に不安定な α 結合である。しかしながら、シアル酸は、アノマー位の隣の置換基がないために、隣接基効果を用いる速度論的立体化学制御を行なうことができない。さらに、アノマー位にカルボキシル基を置換基として有するために、グリコ

シル化反応の反応性が低下している。特に、シアル酸糖受容体 **4** の8位水酸基は、アセトアミド基のカルボキシル基との分子内水素結合の影響で非常に反応性が低下しているため、 $\alpha(2,8)$ ジシアル酸ユニットの合成において、オキソニウム中間体 **5** からの脱離反応による不飽和エステル **6** の生成反応を抑制することが難しい。実際に、 $\alpha(2,8)$ ジシアル酸の合成法はいくつか報告されているものの、どれも通常のグリコシル化反応に比較して非常に多くのシアル酸糖供与体を必要とする。また、研究開発当時、 $\alpha(2,8)$ トリシアル酸の誘導體供給法として有効な化学合成法の報告は無かった。そこで、私は、ジ/オリゴシアル酸の関わる生物学現象と α シアル化反応の化学に興味を持ち、ジ/オリゴシアル酸の合成法の開発を開始した。

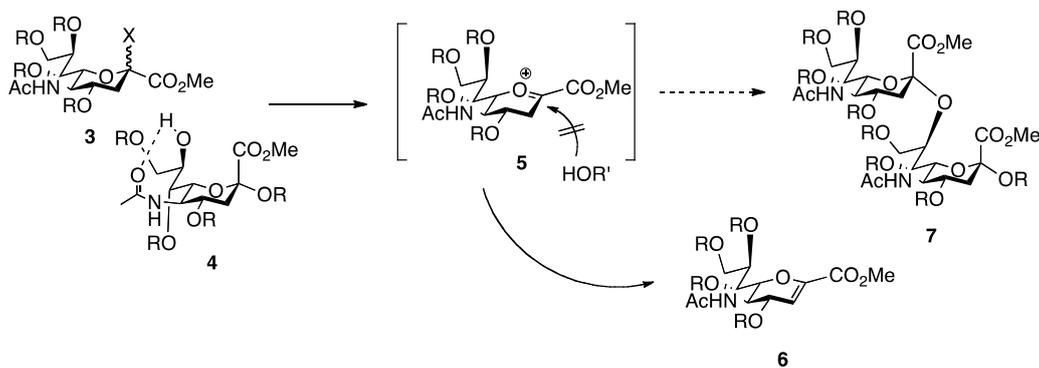


図2 $\alpha(2,8)$ シアル化反応の問題点

2. *N*-Troc シアル酸糖供与体を用いるジ/オリゴシアル酸の合成研究

まず、本研究の課題の解決のためには、高反応性のシアル酸糖供与体が必要であると考えた。本研究を開始した当時、シアル酸の5位アセトアミド基を *N,N*-ジアセトアミド³⁾、トリフルオロアセトアミド⁴⁾、アジド基⁵⁾などに置換したシアル酸糖供与体が、天然型の *N*-アセチル型の糖供与体と比較して反応性が向上するという知見が見出されていた。しかしながら、その理由は明らかにされていなかった。そこで、5位窒素置換基を種々変えたシアル酸糖供与体 **8a-i** のグリコシル化反応を検討し、その傾向を明らかにすることとした(図3)。^{6,7)}その結果、窒素置換基をグリコシル化反応条件に安定な *N*-Troc, *N*-Fmoc などのカルバマート基や、トリクロロアセチルやトリフルオロアセチルなどの電子吸引性置換基を有するアミド基に変えた場合において、シアル化の効率が向上することを確認した。特に、糖供与体自身の合成とアセトアミド基への変換の容易さの観点より *N*-Troc 誘導體が有用であると考えた。本結果と同様の結果は、岐阜大の木曾先生、安藤先生のグループが我々より先に報告している⁸⁾が、本結果は、我々も独自に進めた結果である。5位の窒素置換基をアセトアミド基から変更することによるシアル化の効率向上の理由については、現在のところ、はっきりしたことは分からないが、これまでの実験結果から推定すると、シアル酸糖供与体のグリコシル化反応の反応性は、アセトアミド基のカルボニルのオキソニウムカチオンに対する配位により低下しており、

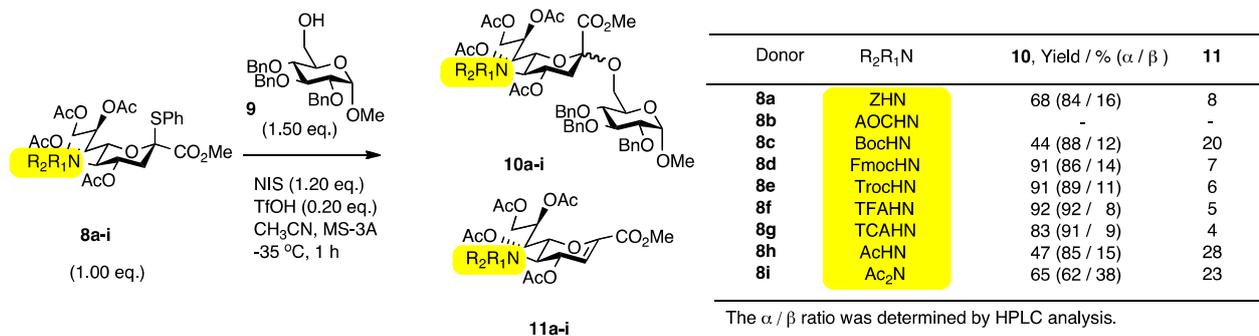


図3 5位変換型シアル酸糖供与体を用いるグリコシル化反応

カルボニルの配位能の低下した窒素置換基への変更により、反応性が向上していると考えている。

続いて、*N*-Troc 基を有する糖供与体と糖受容体を用いる $\alpha(2,8)$ オリゴシアル酸 **17** の合成を検討した(図4)。⁹⁾チオグリコシド **12** を用いた際の8位水酸基へのシアリル化は低収率(36%)であった。続いて、*N*-フェニルトリフルオロイミダート基を脱離基として有する糖供与体 **13** を用いてグリコシル化の検討を行なった。この脱離基は、低温下活性化できるだけでなく、フェニル基の立体障害により脱離によって生成したアミドの再付加反応が抑えられるため反応性の低い糖受容体とのグリコシル化反応に適している特徴を有する。^{10,11)}その結果、中程度の収率および、 α 選択性で $\alpha(2,8)$ ジシアル酸 **15** の合成に成功した。続いて、3量体 **17** の合成を検討した。ジシアル酸 **15** の8位水酸基を脱保護して得られた糖受容体 **16** を用いて、先と同様の反応条件で、シアリル化反応を行なったところ、目的とする3糖成分は、わずかに6%程度得られるのみであった。この結果より、 $\alpha(2,8)$ オリゴシアル酸は、糖鎖の長さに応じて、その反応性が著しく低下することが明らかとなり、新しいコンセプトのシアリル化反応が必要であると感じた。

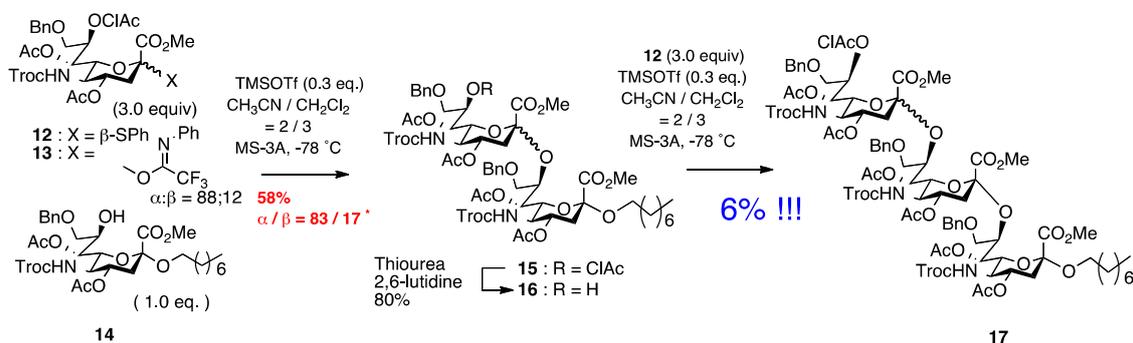


図4 *N*-Troc 型シアル酸糖供与体を用いる $\alpha(2,8)$ トリシアル酸の合成検討

3. 環状保護基を有するシアル酸糖供与体用いるジ/オリゴシアル酸含有糖鎖の合成

新しい $\alpha(2,8)$ シアリル化合成システムを考えるにあたり、 $\alpha(2,8)$ シアリル化の問題点を再考した。他の α シアリル化と比較して、 $\alpha(2,8)$ シアリル化の最大の問題点は、8位水酸基の反応性の低さにある。その結果、シアル酸糖供与体には、カップリング反応が起こる前に分子内の不活性化反応(β 脱離)が引き起こされる。従って、 $\alpha(2,8)$ シアリル化では、糖供与体としての反応性の向上だけでなく、8位水酸基の反応性の向上と β 脱離を抑える工夫が必要であると考えた。そこで、これまでの知見と合わせて、環状保護基を有するシアル酸ユニット **18,20** を用いる $\alpha(2,8)$ シアリル化合成システムを設計した(図5)。配座の規制された環状保護基のカルボニル基は、アノマー位および8位水酸基と相互作用することができない。したがって、糖供与体 **18** としても糖受容体 **20** としても、シアル酸の反応性の低下を抑えられると考えた。また、5,6トランスに縮環した糖供与体では、その環歪みのためオキソニウムカチオン **19** からの β 脱離が抑えられ、目的とするジシアル酸 **21** が効率的に得られると期待した。 α 選択性の発現には、アセトニトリル効果を利用することとした。

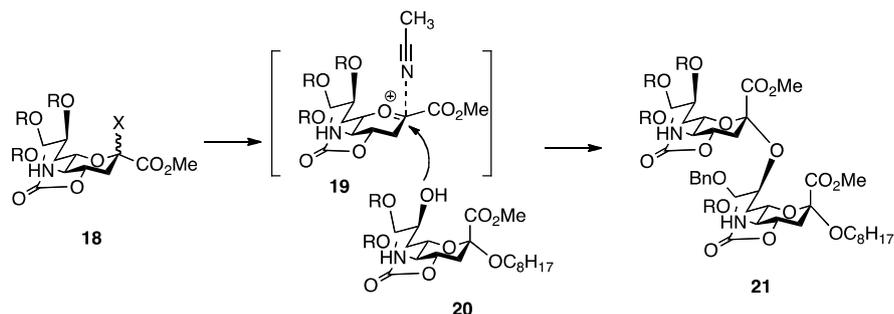


図5 環状保護基を有するシアル酸誘導体を用いる $\alpha(2,8)$ シアリル化反応

アセトニトリル効果とは、アセトニトリルを溶媒として用いてシアリル化を行なうと、アセトニトリルが、オキソニウムカチオンのβ面に配位し、その中間体 **19** に対する S_N2 型の反応が進行し、αグリコシドを形成すると考えられているものである。¹²⁾

まず、環状保護基を有したチオシアル酸 **22** のグリコシル化反応を検討した(図6)。¹³⁾その結果、本糖供与体 **22** では低温下、塩化メチレン溶媒中 α 選択的なグリコシル化反応が進行することを見出した。本糖供与体が、溶媒効果および、分子内の隣接基効果を用いることなく、アノマー効果に逆らった α グリコシドを構築できたことは特筆すべきことである。本反応の反応メカニズムは非常に興味を持たれるところであるが、現在のところ実験的な証拠を得るに至っていない。続いて、オリゴシアル酸の合成を目指し、糖受容体の検討を行った。その結果、8、9ジオール糖受容体 **23a** を用いた場合に、目的とする α (2,8)二糖 **24a** を高収率高立体選択的に得られることを見出した。5位の窒素を *N*-Troc 基で保護した糖受容体 **23c** に対するグリコシル化反応は、低収率低 α 選択性であった。その結果、環状保護基が8位水酸基の反応性の向上に効果的であることを明らかにした。さらに、α (2,9)シアル酸合成を目指し、環状保護基を有する8、9位水酸基が遊離な糖受容体 **23d** に対するグリコシル化反応を検討した結果、本糖供与体は、α (2,9)グリコシドの結合形成においても有用であることを明らかにした。

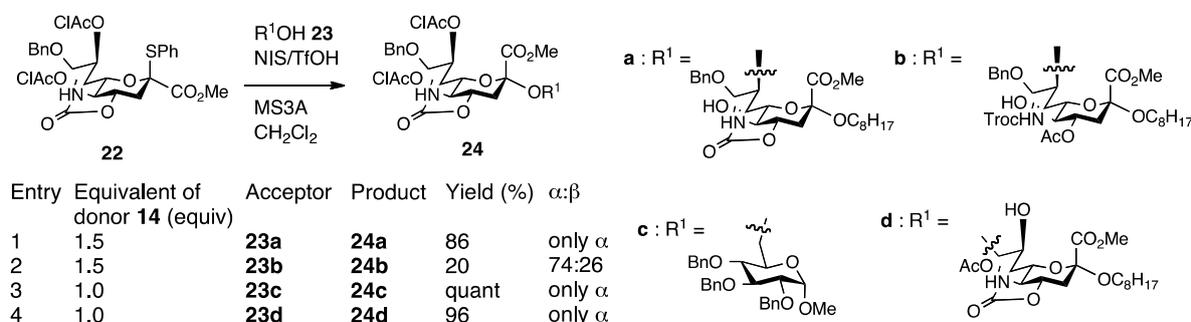


図6 環状保護基を有するシアル酸糖供与体のグリコシル化反応

次に本糖供与体を利用する α (2,8)テトラシアル酸 **28** の合成を検討した(図7)。¹³⁾得られたジシアル酸 **24a** の8、9位クロロアセチル基を選択的に脱保護し、糖受容体 **25** を得た。シアル酸 3 量化および4量化反応についても、良好な収率と α 選択性で進行した。α グリコシド構造については、4量体の $^3J_{C1-H3ax}$ を測定することによって決定した。最後に、得られた α (2,8)テトラシアル酸保護体を脱保護および、5位窒素の保護基をアセチル基とすることにより、目的とする α (2,8)テトラシアル酸 **24** の化学合成を達成した。本合成は、α (2,8)テトラシアル酸の世界初の化学合成である。

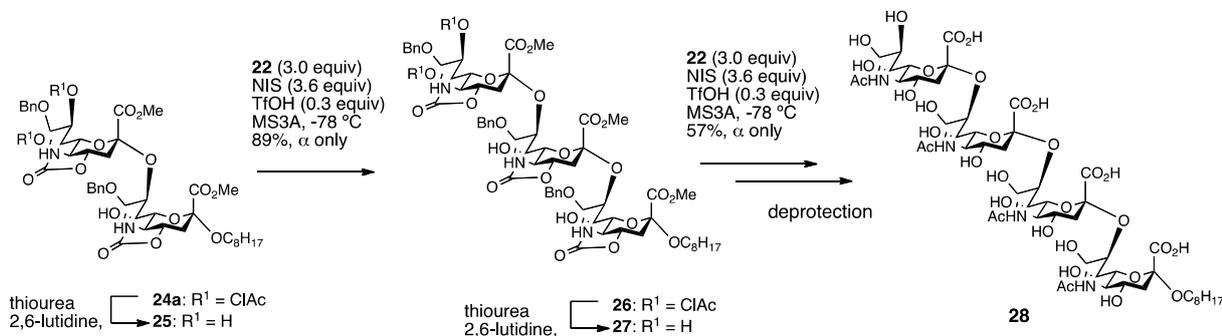


図7 α (2,8)テトラシアル酸の合成

さらに、本糖供与体を利用して、α (2,9)テトラシアル酸 **29**^{14,15)}やジおよびトリシアル酸構造を含む c-シリーズガングリオシド GP1c 糖鎖 **30**¹⁶⁾ の合成を達成した(図8)。GP1c 糖鎖の合成研究では、ガラクトース **32** への3位水酸基への α シアリル化には、アセトナイドで保護した糖供与体 **31** が適していること、また8位水酸

基への α シアリル化には、クロロアセチル基で保護した糖供与体 **22** が良い結果を与えることを明らかにした。本合成は、ガングリオ系列のc-シリーズガングリオシド糖鎖部の最初の化学合成である。本糖供与体によるシアリル化反応については、シアル酸の側鎖の保護基のシアリル化への影響や、糖受容体に対する適合/不適合など不明な点が多い。これらのメカニズムの解明は、今後の検討課題である。

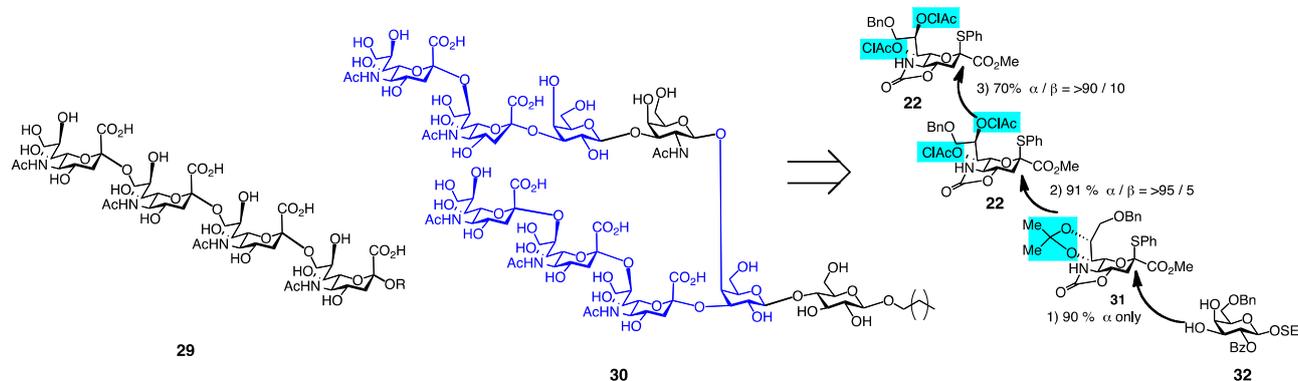


図8

4. ネオ糖タンパク質を用いるタンパク質上のトリシアル酸認識抗体の探索

糖鎖抗体は、生体内外における糖鎖を分析する有用なツールである。オリゴシアル酸の生物学研究においても抗体の重要性は言うまでもない。これまでに、糖脂質上のオリゴシアル酸を認識できる抗体はいくつか知られている。しかしながら、現在のところ、タンパク質上のオリゴシアル酸を認識できる抗体は開発さ

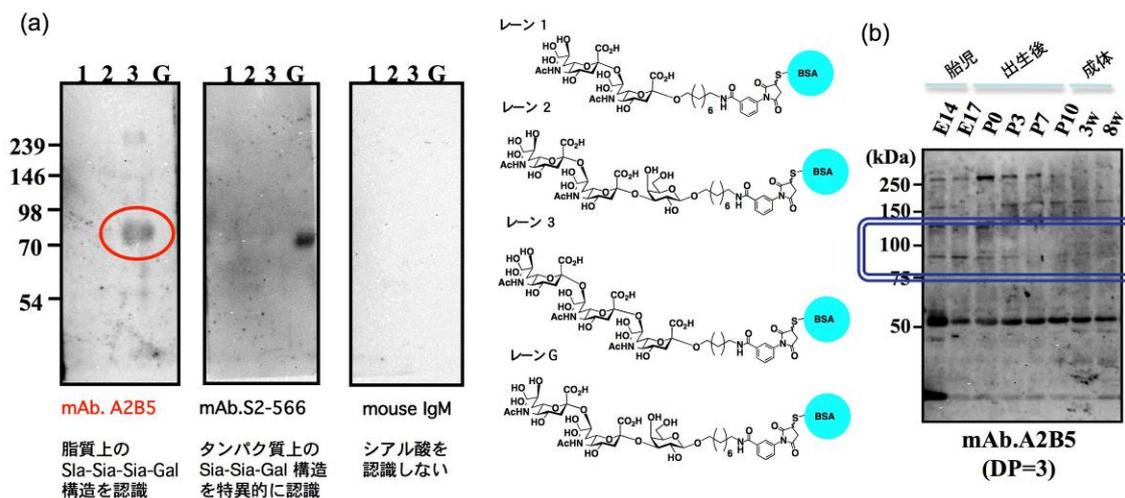


図9 (a) ネオ糖タンパク質を用いる既存抗体の特異性評価 (b) **A2B5** モノクローナル抗体を用いたトリシアル酸含有糖タンパク質の発現解析

れていない。その大きな理由として、タンパク質上のオリゴシアル酸の標準品が入手困難であることが挙げられる。そこで、名古屋大学農学部北島健教授、佐藤ちひろ准教授との共同研究として、合成したオリゴシアル酸を利用してオリゴシアル酸を含むネオ糖タンパク質を合成し、それを利用して既存の糖鎖抗体を評価し、タンパク質上のオリゴシアル酸を認識できる抗体の探索を行なうこととした。¹⁷⁾ネオ糖タンパク質は、我々の手法を用いて末端にアミノ基を有するシアル酸含有糖鎖を合成し、活性化エステルとマレイミドを有するリンカーを用いてBSAと結合させることにより合成したネオ糖タンパク質を用いて抗体の評価を行った(図9-a)。その結果、糖脂質上のトリシアル酸を認識することが知られている**A2B5**モノクローナル抗体が、糖タンパク質上のトリシアル酸を認識できること明らかにした。さらに、マウス脳ホモジェネイトを本抗体を用いるウエスタンブロットにて解析したところ、胎児期においてトリシアル酸含有糖タンパク質を発現しているこ

とを世界で初めて突き止めた(図9-b)。現在、北島-佐藤グループにおいて、本抗体を用いる新規トリシアル酸含有糖タンパク質の探索、およびその機能解析研究が精力的に進められている。

2. まとめ

本研究では、従来化学合成によって供給することができなかったオリゴシアル酸の合成法の開発を行った。その結果、環状保護基を有するシアル酸糖供与体が、従来の糖供与体に見られない高い反応性と α 立体選択性を示すことを見出した。また、本糖供与体を用いて、 $\alpha(2,8)$ テトラシアル酸およびc-シリーズガングリオシドGP1c糖鎖の合成に成功した。さらに、合成糖鎖誘導体を用いて既存抗体の結合特異性の評価を行なった結果、タンパク質上のトリシアル酸を認識できる**A2B5**モノクローナル抗体を見出した。さらに、本抗体を用いることにより、マウス脳ホモジェネイト中にトリシアル酸含有糖タンパク質が存在することを明らかにした。今後、本合成技術によって供給できる糖鎖およびそれによって評価した抗体を用いるオリゴシアル酸に関わる生物学的研究が進んで行くと考えている。

謝辞：本研究にあたり御指導、御鞭撻をいただきました東京工業大学大学院理工学研究科高橋孝志先生に心から感謝いたします。また、抗体探索研究の共同研究を進めました名古屋大学生物機能開発利用研究センター北島健先生および佐藤ちひろ先生には深謝いたします。また、これらの研究成果は、高橋研究室の学生さんの日々の努力によって成し遂げられた成果であります。この場をかりて深く感謝いたします。

References.

- 1) Sato C.; Kitajima, K. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **1999**, *11*, 371-390.
- 2) Boons, G.-J.; Demchenko, A. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4539-4565.
- 3) Demchenko, A. V.; Boons, G.-J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3065-3068.
- 4) Komba, S.; Galustian, C.; Ishida, H.; Feizi, T.; Kannagi, R.; Kiso, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 1131-1133.
- 5) Yu, C.-S.; Niikura, K.; Lin, C.-C.; Wong, C.-H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2900-2903.
- 6) Adachi, M.; Tanaka, H.; Takahashi, T. *Synlett* **2004**, 609-614.
- 7) Tanaka, H.; Adachi, M.; Takahashi, T. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 849-862.
- 8) Ando, H.; Koike, Y.; Ishida, H.; Kiso, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6883-6886.
- 9) Tanaka, H.; Nishiura, Y.; Adachi, M.; Takahashi, T. *Heterocycles*, **2006**, *67*, 107-112.
- 10) Yu, B.; Tao, H. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2405-2407.
- 11) Tanaka, H.; Iwata, Y.; Takahashi, D.; Adachi, M.; Takahashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1630-1631.
- 12) Murase, T.; Ishida, H.; Kiso, M.; Hasegawa A. *Carbohydr. Res.* **1988**, *184*, c1-c4.
- 13) Tanaka, H.; Nishiura, Y.; Takahashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7124-7125.
- 14) Tanaka, H.; Tateno, Y.; Nishiura, Y.; Takahashi, T. *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 5597-5600.
- 15) Tanaka, H.; Nishiura, Y.; Takahashi, T. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 4383-4386.
- 16) Tanaka, H.; Nishiura, Y.; Takahashi, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 17244-17245.
- 17) Inoko, E.; Nishiura, Y.; Tanaka, H.; Takahashi, T.; Furukawa, K.; Kitajima, K.; Sato, C. *Glycobiology*, **2010**, *20*, 916-928.

気になった論文

村田 亜沙子(むらた あさこ)

大阪大学 産業科学研究所 精密制御化学分野(中谷研究室) 特任研究員

amulata@sanken.osaka-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」へ執筆の機会を与您していただきまして、誠に有り難うございます。私は現在、大阪大学産業科学研究所、中谷和彦教授のもとで研究を行っています。中谷研究室では、DNA の特異的な構造に結合する低分子リガンドの設計・合成や、その利用について研究してきました。最近では、RNA に結合する低分子化合物の開発なども行っており、それを用いた新しい転写・翻訳制御系の構築を目指しております。私は現在、RNA と化合物の相互作用を細胞内で調べるアッセイ系の開発を目指し、研究を進めております。

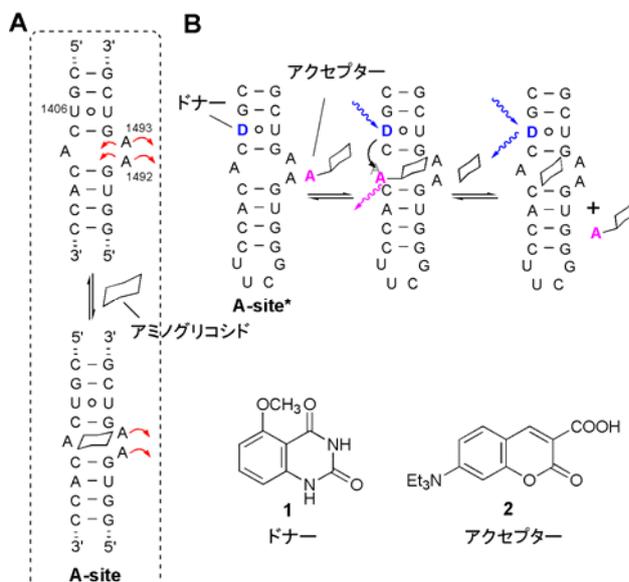
そこで今回は、RNA を題材にした研究を3つ紹介したいと思います。1報目は RNA と化合物の相互作用を検出するプローブ・方法の開発、2報目はリボスイッチのリエンジニアリング、3報目は4塩基コドンの読み取り効率を上げる改変リボソームの開発についての論文です。

FRET enabled real time detection of RNA-small molecule binding

Y. Xie, A. V. Dix, Y. Tor, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 17605-17614 (2009)

アミノグリコシド系抗生物質は、バクテリア 16S リボソーム RNA (rRNA) の A-site に結合して翻訳を阻害します。図 A のように、アミノグリコシドは A-site の小さなループ部分に結合し、A1492 と A1493 の立体配置を変化させます。

筆者らは、A-site とアミノグリコシドの結合を、FRET を観測することによって検出できないかと考えました。そこで、蛍光性の核酸塩基誘導体(ドナー)を A-site のアミノグリコシド結合部位の近傍(U1406)に導入しました(A-site*)。さらに、アクセプターをコンジュゲートしたアミノグリコシドを合成しました(図 B)。ドナーには、蛍光性ウラシル誘導体である 5-methoxyquinazoline-2,4(1H, 3H)-dione **1**、アクセプターには 7-diethylaminocoumarin-3-carboxylic acid **2** を用いました(図 B)。**1** の蛍光スペクトルと **2** の吸収スペクトルは、ほぼ完全にオーバーラップしており、優れた FRET ペアと言えます。また、**1**・**2** ペア



の Forster 距離は 27 Å であり、アミノグリコシドが A-site に結合した場合に U1406 との距離が 15 Å 未満(X線結晶構造解析により)であることから、ドナーとアクセプターの間に効率よく FRET が起こるものと考えられます。クマリン誘導体 **2** をコンジュゲートしたアミノグリコシドを A-site* に加えると、ドナー **1** の蛍光(at 395 nm)が減少していくとともに、アクセプター **2** の蛍光(at 473 nm)が増加しました。FRET により、RNA-リガンドの結合を検出することができたとと言えます。この状態の複合体にラベル化していないアミノグリコシドを加え

ると、ドナー**1**の蛍光が回復し、アクセプター**2**の蛍光が減少しました。

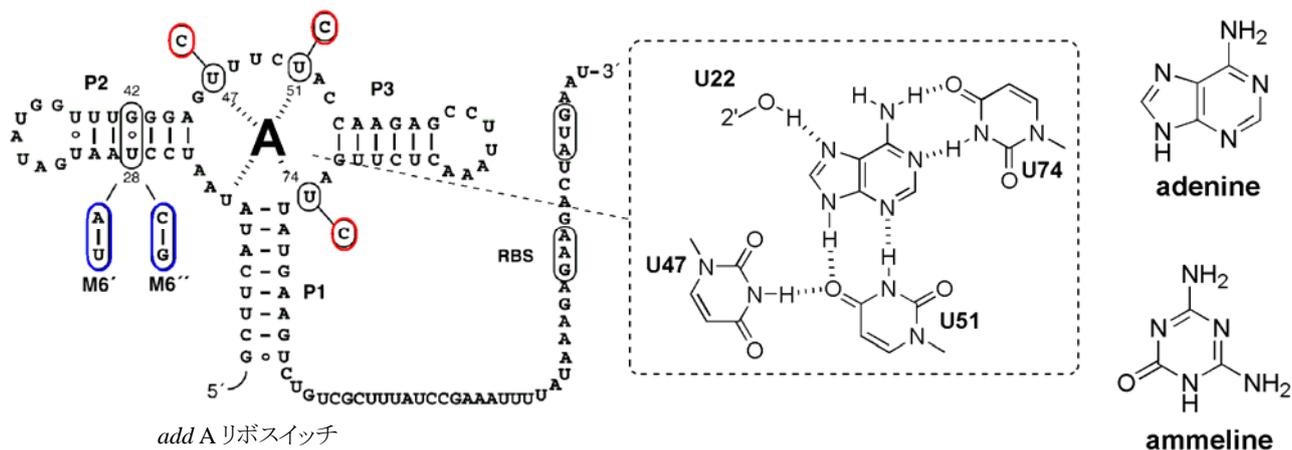
A-site とアミノグリコシドの相互作用を調べる方法のひとつとして、2-アミノプリン(2-AP)を RNA 配列中に導入する方法があります。2-AP は蛍光性のプリン誘導体であり、A-site と抗生物質との結合を蛍光強度で検出・解析することができます。しかし、2-AP の蛍光応答は抗生物質の種類によって異なり(例えば、2-AP を導入した A-site は、多くのアミノグリコシドの結合に応答するが、ネオマイシンには応答しないケースがあるなど)、それは抗生物質によって RNA への結合様式が異なるからと考えられています。一方、筆者らの方法では、RNA と抗生物質との結合がドナーとアクセプター間の距離情報に変換されるので、抗生物質の結合様式が異なることによる、蛍光応答性の違いを考慮する必要がないという利点があります。さらに、他のリガンドによる競合的な置換反応を検出できるのも優れた点であり、A-site に結合するリガンドの探索に利用できます。論文中で筆者らも述べていますが、FRET ペアをつかう方法は、A-site とアミノグリコシドの結合だけでなく、その他の RNA とリガンドの結合を検出するのにも適用可能であり、今後の応用が期待されます。

Reengineering orthogonally selective riboswitches

N. Dixon, J. N. Duncan, T. Geerlings, M. S. Dunstan, J. E. G. McCarthy, D. Leys, J. Micklefield, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 2830-2835 (2010)

リボスイッチは、2002 年に R.R. Breaker らがその存在を実験的に証明して以来、生物学的意義が盛んに研究されています。そのような基礎研究とは別に、遺伝子発現をコントロールするツールとして、リボスイッチを使おうという研究も行われてきました。今回紹介する論文もそのひとつで、“リボスイッチのリエンジニアリングにより、生体分子では動作しないが合成分子で動作する直交性リボスイッチを作った”という報告です。

アデニンデアミナーゼ(adenine deaminase, *add*) アデニンリボスイッチ(以下 *add* A リボスイッチ)は、アデニンの非存在下ではリボソーム結合部位(RBS)と相補鎖を形成し、下流の遺伝子の翻訳が抑制されます。逆に、アデニンが A リボスイッチに結合すると、RBS が *add* A リボスイッチとの相補鎖形成から開放されて翻訳がオンになります(下図はオン状態)。X線による結晶構造解析から、*add* A リボスイッチとアデニンの結合には U22、U47、U51、U74 の4つのヌクレオチドの水素結合が重要であることが分かっていました。そこで筆者らは、U47、U51 をランダムに変異させた変異体を作製し、合成分子によってオンになる変異リボスイッチをスクリーニングによって見つけようと考えました。U47、U51 部分を変異させた15種類の変異体を作成し、CAT(chloramphenicol acetyltransferase) 遺伝子の 5' 上流に導入したプラスミドを作成しました。これを大腸菌に導入し、クロラムフェニコール耐性を指標に約80種類のヘテロ環化合物に対してスクリーニングを行い



ました。すると、アデニン存在下ではクロラムフェニコール耐性がない(=翻訳がオンにならない)が、合成ヘテロ環化合物の存在下ではクロラムフェニコール耐性が獲得された、変異リボスイッチ-リガンドペアがいくつか得られました。なかでも“M6”という変異体(U47C, U51C)がammelineという化合物に良好なレスポンスを示すこと分かりました。興味深いことに、ammelineはadd Aリボスイッチを動かさず、アデニンはM6を動かさませんでした(リボスイッチ-リガンドペアの直交性)。さらに筆者らは、ステム部分の塩基対を変えることにより変異リボスイッチの最適化を行い(G42AあるいはG42C/U28G、図1A参照)、変異リボスイッチとリガンドの結合をITCやX線構造解析などで詳細に調べています。

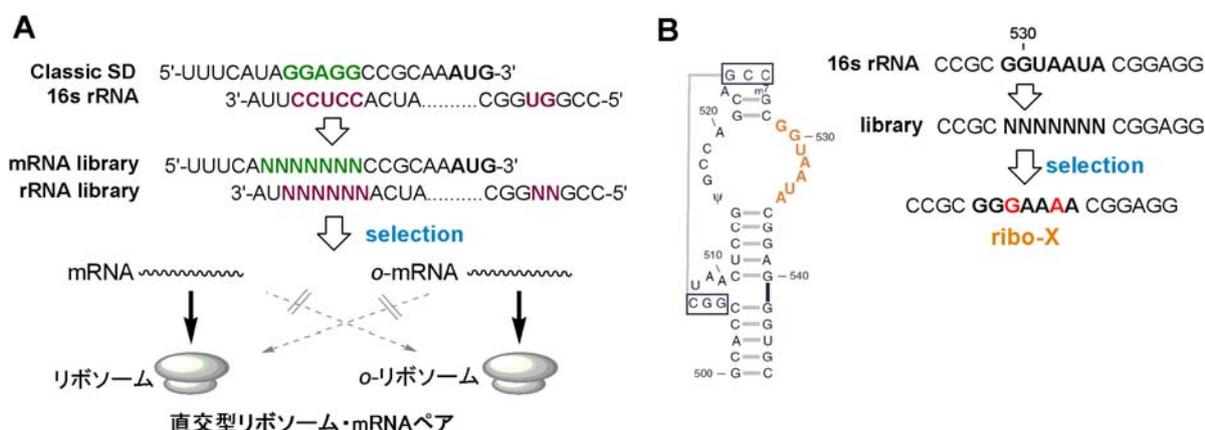
この論文では、リボスイッチをたった2ヶ所変異させるだけで、合成分子では動作するが元々のリガンドである生体分子では動作しないリボスイッチに変えることに成功しました。add Aリボスイッチとアデニンの複合体の構造がよく分かっていたこと、ライブラリー化合物の構造的な質(?)が成功のカギかもしれません。リボスイッチ-リガンドペアの直交性は、合成分子で動くリボスイッチをツールとして用いる場合に極めて有利な性質であり、他のリボスイッチでもこのようなリエンジニアリングができる可能性を示した興味深い論文だと思いました。

Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome

H. Neumann, K. Wang, L. Davis, M. Garcia-Arai, J. W. Chin, *Nature*, **464**, 441-444 (2010)

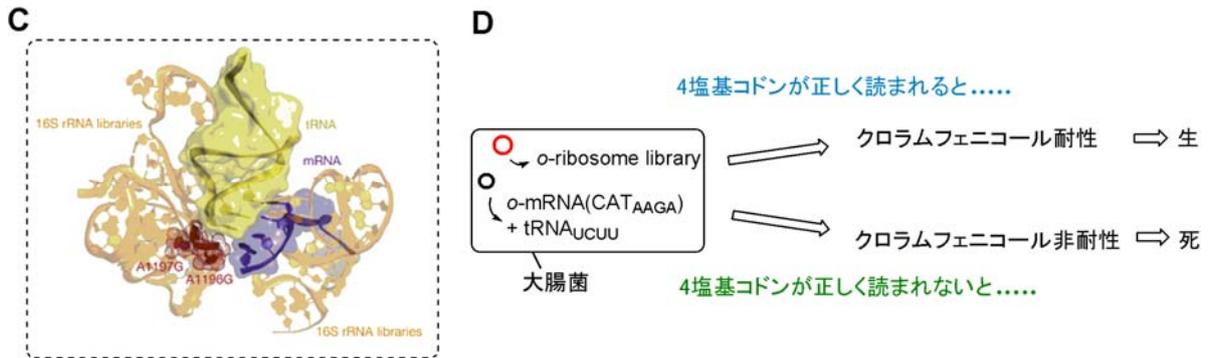
非天然型アミノ酸を部位特異的にタンパク質に導入する方法のひとつとして、4塩基コドンに非天然型アミノ酸を割り当てる方法があります。しかし、リボソームは4塩基コドンの読み取り効率が悪く、効率を上げるように変異させると本来のmRNAを正確に翻訳することができなくなると考えられています。

筆者らは以前に、SD配列やアンチSD配列を改変することにより、天然のリボソーム・mRNAペアと直交して働く、直交性リボソーム・mRNAペア(o-リボソーム・o-mRNA)を作り出すことに成功していました(図A、*Nat. Chem. Biol.*, **2005**, 1, 159-166)。o-リボソームは天然のmRNAを翻訳しないため、細胞本来の翻訳システムを邪魔することがありません。さらに彼らは、16S rRNAのA-siteを改変し、o-mRNA上にあるアンバーコドン(UAG)の読み取り効率が向上した、o-リボソーム(ribo-X)を作りました(図B、*Nat. Biotechnol.* **2007**, 25, 770-777)。今回彼らは、ribo-Xをさらに進化させ、4塩基コドンを効率よく読み取る新しいo-リボソーム“ribo-Q”を作りました。ribo-Qを利用して、タンパク質に2種類の非天然型アミノ酸を効率よく導入することにも成功しました。



まず筆者らは、ribo-Xの16S rRNA中のコドン読み取り部分に変異を導入したライブラリーを作りました(図C)。次に、“AAGA”コドンを読み枠に持つCAT遺伝子(o-mRNAとして転写される)をレポーターとして導入

したプラスミドを作製しました。同プラスミド上には、AAGAコドンに対応するtRNAとしてtRNA^{Ser2}_{UCUU}遺伝子も含まれます(図D)。これら*o*-リボソームライブラリー、レポータープラスミドを大腸菌に発現させ、クロラムフェニコール耐性を強く示した(AAGAコドンがインフレームで読まれた)クローンを単離しました。得られた*o*-リボソームクローン(ribo-Q1~4)では、天然のリボソームと比べて、4塩基コドンの読み取り効率が大幅に向上しており、翻訳の正確性も保たれていました。また、AAGA以外のコドン、例えばUAGA、AGGA、CCCUといった4塩基コドンの読み取り効率も*o*-リボソームやribo-Xより向上しました。



さらに筆者らは、互いに直交する2つのtRNAシテターゼ-tRNAペア、およびribo-Q1を用いて、2種類の異なる非天然型アミノ酸をタンパク質に導入することにしました。用いたのは、メタン生成古細菌 *Methanococcus jannaschii* のチロシルtRNAシテターゼ-tRNA_{CUA} (MjTyrRS-tRNA_{CUA})と、*Methanosarcina barkeri* のピロリジルtRNAシテターゼ-tRNA_{CUA} (MbPylRS-tRNA_{CUA})という、2つの互いに直交するtRNAシテターゼ-tRNAペアです。MbPylRSは、N6-[(2-propynyloxy)carbonyl]-L-lysine(CAK)をtRNA_{CUA}に結合(アミノアシル化)できることが分かっていました。さらに筆者らは、*p*-azido-L-phenylalanine (AzPhe)をtRNA_{UCCU}に結合できるよう MjTyrRSを変異させ、AzPheRS-tRNA_{UCCU}ペアを作製しました。これら直交するtRNAシテターゼ-tRNAペアとribo-Q1を用いて、UAG、AGGAコドンがコードされたGST-カルモジュリン*o*-mRNAを翻訳し、GST-カルモジュリン融合タンパク質に、CAKおよびAzPheを導入することに成功しました。

筆者らの方法は、天然のリボソーム・mRNAと直交するシステムであるため、細胞本来の翻訳システムを阻害しません。さらに*o*-リボソームを進化させ、4塩基コドンを効率よく読めるようにしたことで、直交するtRNAシテターゼ-tRNAペアを使って様々な非天然型アミノ酸をタンパク質に導入できる可能性が生まれました。

気になった論文

高山 健太郎 (たかやま けんたろう)

京都大学化学研究所 生体機能設計化学研究領域、博士後期課程 3 年

K.Takayama@f06.mbox.media.kyoto-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、心より感謝致します。現在、私は京都大学化学研究所の二木史朗教授指導の下、効率的に細胞内へ移行するアルギニンペプチドの開発に取り組んでおります。

アルギニンペプチドは細胞膜透過性ペプチド (CPP) の一種で、膜透過性の低い化合物 (タンパク質、核酸誘導体、リポソームなど) の細胞内導入ツールとして近年注目を集めており、現在、生理活性ペプチドに CPP を繋げて膜透過型としたペプチドが多く市販されています。今回は、細胞内で特定の分子同士の相互作用を制御するペプチドをアルギニンペプチドにより細胞内へ導入し、機能変化をもたらすこと示した論文を 3 報紹介させていただきます。アルギニンペプチドの中でもよく知られている HIV-1 Tat タンパク質由来ペプチド (Tat) を用いた論文 2 報、アルギニンのみ 9 残基が連なった R9 ペプチドを用いた論文 1 報で構成させていただきます。

Disruption of protein kinase A localization using a trans-activator of transcription (TAT)-conjugated A-kinase-anchoring peptide reduces cardiac function.

Patel, H.H.; Hamuro, L.L.; Chun, B.J.; Kawaraguchi, Y.; Quick, A.; Rebolledo, B.; Pennypacker, J.; Thurston, J.; Rodriguez-Pinto, N.; Self, C.; Olson, G.; Insel, P.A.; Giles, W.R.; Taylor, S.S.; Roth, D.M.

J. Biol. Chem., **285**, 27632-27640 (2010).

まず、プロテインキナーゼA (PKA) と A キナーゼアンカータンパク質 (AKAP) との相互作用を阻害するペプチド (AKAD) の細胞内導入に関する論文を紹介させていただきます。

cAMP 依存的に活性化した PKA が、多くの下流標的タンパク質をリン酸化することは周知のことですが、近年、AKAP による PKA アンカリングが、cAMP 応答に重要であることが明らかとなってきました。PKA シグナル研究は数多く行われており、心臓に関しては、細胞レベルで AKAP を介した PKA アンカリングの重要性が確認されています。しかしながら動物レベルでは、環状ヌクレオチドアナログやキナーゼ阻害剤を用いたシグナル研究の報告はあるものの、これらは PKA 局在に関する情報を何も与えません。そこで本文献では、インタクトな心臓や組織レベルで未だ示されていない、シグナル伝達における AKAP-PKA 相互作用の重要性に関する知見を得ることを目的とした検討を行っています。

PKA は、触媒サブユニット (C) 2 つと調節サブユニット (R) 2 つで構成されています。R は、C の活性部位への結合と共に AKAP との結合も担っており、type I、II の二種のアイソフォーム (PKA-RI, -RII) に分けられます。筆者らは、これら両方のアイソフォームに対して高い結合



図 1. Tat-AKAD 投与時におけるマウス左心室圧トレーシング (論文より一部改変)

活性 ($K_d = 3.5 \text{ nM}$, 2.7 nM) を有する 19 残基のペプチド (AKAD) を創出しました。一方、AKAD スクランブル配列ペプチド (AKADscr) は PKA-RI、-RII に対して結合活性を示しませんでした。

膜透過ドメインとして Tat ペプチドを繋げた Tat-AKAD の心筋細胞への投与により、PKA アンカリングが阻害され、下流の標的タンパク質であるトロポニン I やホスホランバンのリン酸化は抑制されました。また、単離したラット心室筋細胞に対する投与では、細胞の短縮振幅の減少、収縮および拡張最大速度の減少が見られました。さらにマウス灌流心臓に対する $1 \mu\text{M}$ Tat-AKAD 投与時における左心室圧トレーシング (図 1) により、心拍および左心室最大圧は減少し、これらの効果はインプロテレンールによる β 刺激時においても有意に観察されました。Tat-AKAD による PKA アンカリング阻害は、心臓に対して陰性変時・変力作用などの効果を示すことから、心臓疾患の研究や治療への貢献が今後ますます期待されます。

Modulation of the protein kinase C δ interaction with the "d" subunit of F₁F₀-ATP synthase in neonatal cardiac myocytes: development of cell-permeable, mitochondrially targeted inhibitor and facilitator peptides.

Nguyen, T.T.; Ogbi, M.; Yu, Q.; Fishman, J.B.; Thomas, W.; Harvey, B.J.; Fulton, D.; Johnson, J.A. *J. Biol. Chem.*, **285**, 22164-22173 (2010).

次に、プロテインキナーゼ C δ (PKC δ) と F₁F₀-ATP 合成酵素 d サブユニット (dF₁F₀) との相互作用を阻害するペプチド、及び促進するペプチドの細胞内導入に関する論文を紹介させていただきます。

F₁F₀-ATP 合成酵素は、ミトコンドリアにおいて ATP 合成を担う代表的な酵素複合体で 16 サブユニットで構成されます。心臓は大量の ATP を消費するにもかかわらず、顕著な ATP レベルの変化が見られません。これは F₁F₀-ATP 合成酵素が、増加した ATP 消費に対して非常に柔軟な応答を行っているため、基質が関与した制御だけでなく、キナーゼなども関与した制御機構の存在が考えられました。近年、心筋プレコンディショニング (PC) 時や虚血再灌流 (IR) 障害時における PKC アイソザイムの役割が注目を集めています。これまでに筆者らは、PKC δ が dF₁F₀ との相互作用を介して F₁F₀-ATP アーゼ活性を制御し得ることを見出しています (Nguyen *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2008)。本文献では、PKC δ と dF₁F₀ との相互作用を阻害もしくは促進するペプチドを細胞内へ導入し、F₁F₀-ATP アーゼ活性を制御可能か検討しています。

筆者らは、161 残基から成る dF₁F₀ 全てをカバーする 14 種のペプチドを合成し、PKC δ -dF₁F₀ 相互作用に対する影響を評価したところ、濃度依存的に相互作用を阻害する dF₁F₀(2-16) ペプチド、及び促進させる dF₁F₀(111-126) ペプチドの、逆の効果を発揮する

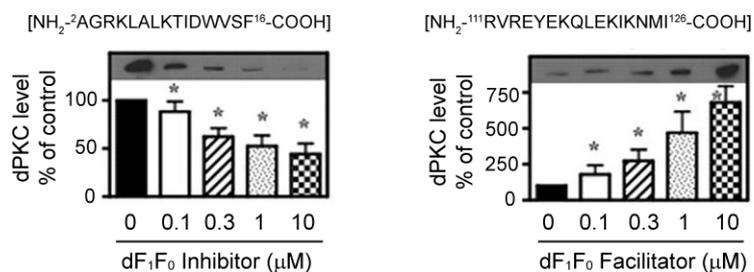


図 2. dF₁F₀ 由来ペプチドによる PKC δ -dF₁F₀ 相互作用の制御 (論文より一部改変)

2 つのペプチドを発見しました (図2)。dF₁F₀(2-16)、dF₁F₀(111-126) ペプチドに Tat およびミトコンドリア移行配列を繋げたペプチドをそれぞれ Inhibitor、Facilitator とし、活性の維持とミトコンドリア移行性を確認しました。また、dF₁F₀(2-16) スクランブル配列ペプチドには活性がないことも確認されました。新生ラット心筋細胞を用いた検討において、フォルボールエステル的一种である 4 β -PMA 処理は PKC δ -dF₁F₀ 相互作用を誘導し、F₁F₀-ATP アーゼ活性を阻害することが既にわかっています。今回、Inhibitor の投与は PKC δ -dF₁F₀ 相互作用を阻害し、4 β -PMA 処理による F₁F₀-ATP アーゼ阻害を有意に減弱させました。一

方、Facilitator は単独で PKC δ -dF₁F₀ 相互作用を濃度依存的に誘導し、F₁F₀-ATP アーゼ活性を阻害しました。PC 時や IR 障害時における F₁F₀ 複合体の明確な役割は未だ完全には理解されておらず、これらのペプチドが今後の研究の進捗へ寄与していくことが期待されます。

In vivo significance of ITK-SLP-76 interaction in cytokine production.

Grasis, J.A.; Guimond, D.M.; Cam, N.R.; Herman, K.; Magotti, P.; Lambris, J.D.; Tsoukas, C.D.

Mol. Cell. Biol., **30**, 3596-3609 (2010).

最後に、IL-2 誘導型 T 細胞キナーゼ SH3 ドメイン (ITK-SH3) とアダプタータンパク質 SLP-76 のプロリンリッチ領域 (SLP-76PR) の相互作用を阻害するペプチド (QQP) の細胞内導入に関する論文を紹介させていただきます。

ITK は、白血球の成熟や活性化に重要な役割を果たす Tec ファミリーチロシンキナーゼの 1 つであり、胸腺細胞の選択や Th2 応答制御を行っています。Src ファミリーキナーゼ LCK により活性化された ITK は、ホスホリパーゼ C- γ 1 をリン酸化し、サイトカイン産生などの生物応答に関わる下流シグナルを制御しています。ITK の活性化には、SLP-76 や LAT などのアダプタータンパク質が必要であると言われています。これらは ITK の SH2、SH3 ドメインを介して相互作用しており、この相互作用が ITK 活性化に重要であると推察されますが、詳細は未だ確認されていません。そこで筆者らは、SLP-76PR (184-195) 由来の 12 残基から成るペプチド QQP と膜透過ペプチド R9 を繋げた R9-QQP ペプチドを用いて、ITK-SH3 と SLP-76PR との相互作用の生物学的重要性を探りました。

筆者らはまず、R9-QQP が Jurkat T 細胞内へ移行し、ITK-SH3 と SLP-76PR との相互作用を特異的に阻害することを確認しました。また、QQP スクランブル配列ペプチド (R9-SCR) および R9 ペプチドは相互作用に影響しないことも確認されました。抗 CD3 ϵ 抗体コートビーズを用いた T 細胞刺激時に、細胞内に散在している ITK や SLP-76 はビーズ接触部位へリクルートされ、ITK の 511 残基目のチロシンが LCK によるリン酸化を受けます。それと共に、ビーズ接触部位においてアクチン極性が誘起されます。R9-QQP の前処理により、ITK のリクルートおよびリン酸化、アクチンの極性が有意に阻害されました。なお、SLP-76 のリクルートは影響を受けませんでした。また、マウスの脾臓リンパ初代培養細胞および脾細胞においても、R9-QQP の前処理により ITK のリン酸化が阻害されました。さらにマウス脾細胞において、ITK が制御している Th2 サイトカイン (IL4、IL-13、IL-2) の発現および分泌は R9-QQP 処理により有意に抑制されましたが、Th1 サイトカイン (IFN- γ) の発現・分泌への影響は見られませんでした。最後に、R9-QQP 20 mg/kg をマウス腹腔内へ 2 回 (脾細胞採取 24 時間前および 30 分前) 投与後、脾細胞を採取し、ITK 活性化に対する R9-QQP の効果を検討しました。細胞レベルでの検討と同様、R9-QQP は ITK-SH3 と SLP-76PR との相互作用を特異的に阻害し、ITK のリン酸化、Th2 サイトカインの発現・分泌も特異的に阻害しました (図 3)。ITK-SH3 と SLP-76PR との相互作用の生物学的重要性が初めて確認されたことから、この相互作用がアレルギー治療戦略の新たなターゲットの 1 つとなるのではないのでしょうか。

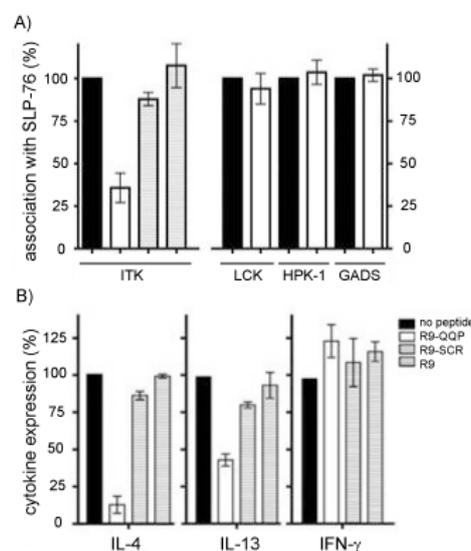


図 3. R9-QQP マウス腹腔内投与時における SLP-76 との相互作用阻害 (A) 及び Th2 サイトカイン発現阻害 (B) (論文より一部改変)

生命化学研究法

量子ドットによる幹細胞の *in vivo* イメージング

名古屋大学大学院工学研究科・名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター

渡辺 将生・鏡味 幸真・加地 範匡・岡本 行広・渡慶次 学・馬場 嘉信

名古屋大学医学部

湯川 博・宮本 義孝・林 衆治

(watanabe.masaki@b.mbox.nagoya-u.ac.jp)

1. はじめに

さまざまな優れたプローブの登場により、生命現象をありのまま捉える *in vivo* イメージングの発達が目覚ましい。現在では多くの *in vivo* イメージング手法が存在するが、本稿では蛍光イメージングに焦点を当て、最近の蛍光プローブ研究や検出機器、観察に際しての要点を概観する。また、*in vivo* 蛍光イメージングの例として、我々の行った幹細胞移植治療に関するイメージング実験について紹介する。

2. *in vivo* イメージングについて

生体を破壊することなく、生きたまま生体内での現象を捉える“*in vivo* イメージング”は、手法・対象ともに大きな広がりを見せている。生命科学分野の基礎研究のみならず、臨床現場における診断において *in vivo* イメージングは欠かせないツールとなっている。現在臨床で利用されているものとしては、X線を用いたレントゲンおよびX線CT(X線コンピュータ断層撮影)、磁気を用いたMRI(核磁気共鳴画像)、超音波を用いた超音波検査などが挙げられる。また、最近では陽電子を用いたPET(陽電子放射断層撮影)によるがん診断も行われている。診断・検査を非侵襲に行うことで外科的処置を少なくし、患者の肉体的・精神的な負担を減らすことはQOL(クオリティ・オブ・ライフ)の観点から非常に重要であるため、このような技術は今後も発展を続けることが予想される(表1)。

一方で、蛍光や発光といった光を対象とする計測技術は、これまで生命科学の発展に大きく寄与してきた。とりわけ、蛍光イメージングについては2008年のノーベル化学賞に緑色蛍光タンパク質の業績が取り上げられるなどその重要性は記憶に新しい。近年では、蛍光タンパク質にとどまることなく、細胞内の環境を反映してその蛍光波長・蛍光強度などが変化する“Smartな”蛍光色素が作製されている。例えば、周辺環境が一定のpHに達した場合のみ特定の蛍光波長を持つ蛍光色素を利用してがんを高感度に検出する技術¹⁾など、このような外部環境応答型の蛍光色素がもつ可能性は大きい。さらに後述するように、蛍光プローブとして半導体や金属のナノ粒子である量子ドットを用い、その光学的特徴を活かした蛍光イメージングによる高感度検出などが多数行われている²⁻⁶⁾。

このような背景の下で、蛍光を用いた *in vivo* イメージングは急速な発展を遂げている。これまで蛍光 *in vivo* イメージングの障壁となっていたのが、励起光照射した生体からの自家蛍光と、生体組織による散乱・吸収による深部でのイメージングの困難さである。この両方の問題を克服するためには、自家蛍光を少なく、なおかつ生体組織による散乱・吸収と血液・水による吸収が起こりにくい波長領域である近赤外波長(およそ700~900 nm)でのイメージングが必要である⁷⁾。そのため、現在では近赤外領域に蛍光極大をもつ蛍光

プローブが盛んに開発されている^{8,9)}。

プローブだけでなく、イメージング装置の開発も飛躍的に進んでいる。CRi社製のMaestroTMは、液晶同調フィルターを搭載することにより自家蛍光と目的蛍光波長の確実な識別が可能であり、マルチ測定も達成される。Shimadzu社製のClairvivo OPTは、近赤外領域の半導体レーザーにより深部観察を可能とし、実験動物の5方向同時測定も可能である。Caliper社製のIVIS[®] Spectrumは、落射および透過による2種類のイメージングモードをもち、3Dイメージングを可能とする。

今回筆者らは、近赤外波長に蛍光極大を持つ量子ドットを利用し、移植した幹細胞の集積部位の検出を試みた¹⁰⁾。

表1. 各イメージング手法の特徴^{11,12)}

手法	特徴
蛍光	安価、比較的高感度である。多重イメージングが可能で、細胞内観察などにおいては強力なツールとなっている。しかし <i>in vivo</i> においては深部観察が困難であり、臨床では使用されていない。
MRI(核磁気共鳴画像)	高価で感度は低い。磁場を観察するためプローブは必須でなく、深さ制限が無く非侵襲的に3Dイメージングが可能である。臨床では臓器・血管などの可視化に用いられている。
PET(陽電子放射断層撮影)	高価で高感度である。トレーサーとして陽電子を放出する放射性核種が必要であるが、定量性に優れている。臨床では脳機能やがん検査に用いられている。
SPECT(単光子放射コンピュータ断層撮影)	高価であり、比較的高感度。異なる放射性核種を使用することで多重イメージングが可能となる。PETと同様に臨床では脳機能やがんなど生体機能検査に用いられる。
X線CT(X線コンピュータ断層撮影)	高価であり、感度は低い。軟部組織の分解能が低いため、臨床では骨や肺の検査によく用いられる。
超音波	安価だが低感度。数cmの深度であれば観察可能だが、コントラストは低い。臨床では腹部や心臓など実質臓器の検査によく用いられる。

3. 量子ドットについて

量子ドット(Quantum Dots: QDs)は、金属や半導体で出来た直径1~20nm程度のナノ粒子であり、さまざまな光学的特徴を持つことから有用な蛍光材料として注目されている。無機結晶のエネルギー準位は、バルク状態ではバンド構造をとるが、そのサイズを数nmまで小さくすると、結晶体のエネルギー準位は量子サイズ効果によって、原子のように離散的な値をとるようになる。このような状態となった粒子が量子ドットであり、結晶サイズの制御によってエネルギーギャップを変化させることが可能なため、同一材料であっても粒子サイズによって蛍光波長を変化させることが出来る。つまり、半導体材料とサイズの選択により、*in vivo* 蛍光イメージングに適した近赤外波長に蛍光波長をもつ量子ドットを作製可能なため、*in vivo* 蛍光イメージングにおいては非常に有望視されている。また、量子ドットは広い吸収バンドを持つため、単一の励起波長で多色の蛍光を得ることが可能である。その他、量子ドットには、量子効率が高い、蛍光スペクトルが対称である、光退色しにくい、などの特徴も挙げられる^{13,14)}。

このような特性を活用し、これまでに*in vivo*の領域では腫瘍¹⁵⁾、リンパ流域¹⁶⁾、センチネルリンパ節¹⁷⁾など

のイメージングが達成されてきた。また、このような*in vivo*イメージングに適した量子ドットは市販もされており、Invitrogen社によって製造・販売されているQdot®はCdSe/ZnSおよびCdSeTe/ZnSのコア/シェル型量子ドットで表面にポリマーコーティングが施されたものである。筆者らは、この製品を用いて後述の実験を行った。

4. 量子ドットを用いたASCsの*in vivo*イメージング

今回、モデル系として脂肪組織由来幹細胞(Adipose tissue-derived Stem Cells: ASCs)の幹細胞移植治療を選択した。ASCsは幹細胞の中でも低侵襲かつ容易に獲得できるため、骨髄由来幹細胞などの代替として注目されている¹⁸⁾。応用例として、急性肝不全モデルマウスに対して抗血液凝固剤のヘパリンと共にASCsを尾静脈移植すると、症状が改善するといった報告がある¹⁹⁾。ただし、この際に移植したASCsの体内分布・挙動は明らかになっておらず、幹細胞移植治療のメカニズム理解のためにASCsの標識・移植後の可視化が望まれている。

筆者らはこれまでに、カチオン性リポソームとアニオン性QDsを用い、ASCsを標識する手法を見出してきた²⁰⁾。しかし、カチオン性リポソームによる毒性が比較的低濃度の使用でも見られることが問題であった。本研究では、高い膜透過性を有するペプチドであるオクタアルギニン(R8)²¹⁾をQDsの輸送ベクターとして用い、カルボキシル基修飾QDsをR8により導入したASCsの特性について調査を行った¹⁰⁾。更に、マウスの皮下および尾静脈より移植した際の*in vivo*イメージング実験を行った。

4.1. *in vitro*での標識および細胞毒性の検討

標識細胞に対し、プローブを毒性なく導入することは必須である。まず、一定濃度のQDs655(2 nM、極大蛍光波長655 nm)に対しR8濃度を変化させて複合させ、それぞれASCsへと導入を行った後に蛍光顕微鏡で観察を行った。R8濃度に対する蛍光強度の依存性を確認した結果、ASCsへの導入に関してQDsとR8の濃度比は1:1×10⁴が適切であると考えられる(図1)。さらに、導入に要する時間を確認するため、標識に際してQDs由来の蛍光を経時的に測定したところ、およそ1時間で標識可能であることが分かった。

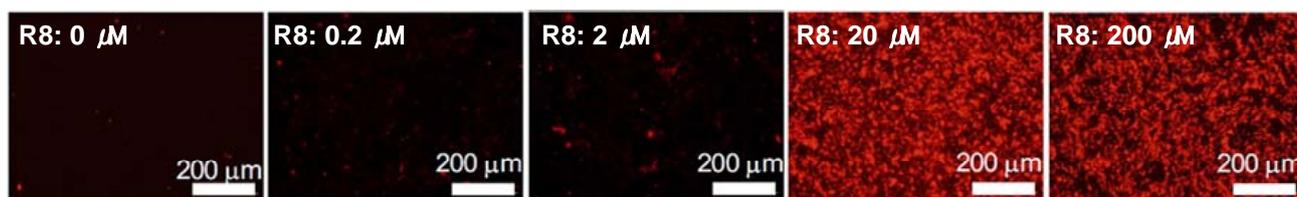


図1. QD標識化ASCsからの蛍光観察結果

次に、QDs-R8複合体の濃度を0から24 nMまで変化させ、48時間導入した際の細胞生存率を測定した。その結果、8 nM以下では細胞生存率に変化は観察されなかった(図2-1)。更に変化が見られなかった濃度域において増殖試験を行ったところ、QDs-R8複合体を導入したASCsにおいても通常のASCsと同様の増殖速度が確認された(図2-2)。これらのことから、8 nM以下においてQDs-R8複合体はASCsの生存・増殖へ悪影響を及ぼさないと考え、イメージングに用いることが可能な標識濃度域が決定された。

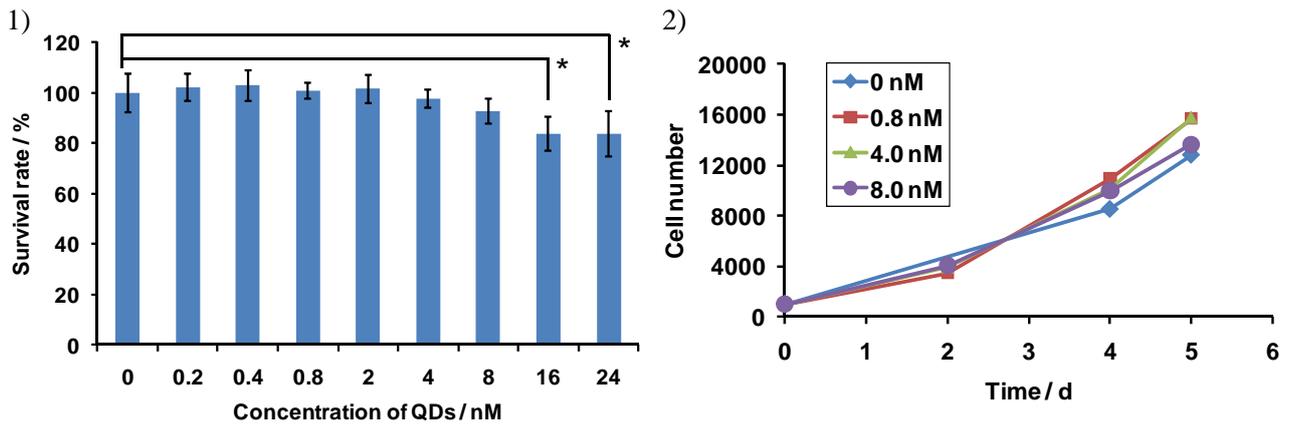


図 2. 1) QDs 濃度を変化させた場合の 48 時間後の細胞生存率(*p < 0.05)、
2) 毒性の無い QDs 濃度域での QDs 標識化 ASCs の増殖変化

4.2. *in vivo*イメージング

QDs-R8複合体にて標識したASCsをPBS(リン酸緩衝食塩水)に懸濁させ、マウス後背部の皮下へと移植し、*in vivo*イメージング装置Maestro™にて蛍光観察を行った。QDsの利点を生かした多重イメージングの基礎検討として、標識には3種類のQDs(QDs655、QDs705、QDs800)を用いた(それぞれ極大蛍光波長655、705、800 nm)。その結果、どのQDsで標識したASCsもコントラスト良く観察することが可能であり、多重イメージングへの応用が示唆された(図3)。

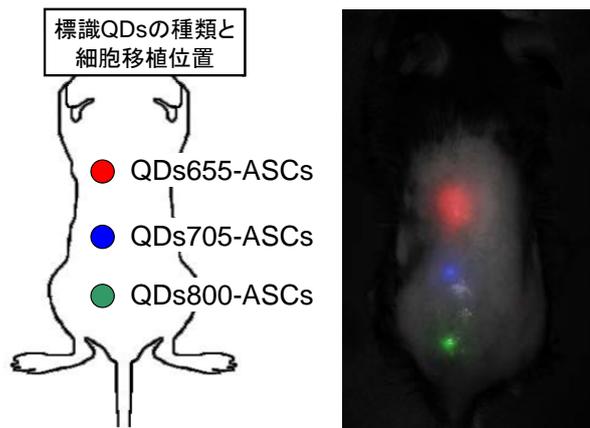


図 3. 皮下移植した QDs 標識化 ASCs の *in vivo* イメージング結果
(励起フィルター: 575 – 605 nm、蛍光フィルター: 645 nm ロングパス)

さらに、尾静脈から移植したASCsの集積箇所を検出するため、QDs800標識したASCsをマウス尾静脈より移植し皮下移植の場合と同条件で蛍光観察を行った。ASCs移植の10分後に開腹観察した結果、QDs800由来の蛍光がマウスの肺より確認された(図4)。更にヘパリン併用の下で同様の移植を行った場合では、肺だけでなく肝臓からもQDs800由来の蛍光が観察され、ヘパリンの併用によるASCsの肝臓への集積向上が示唆された。

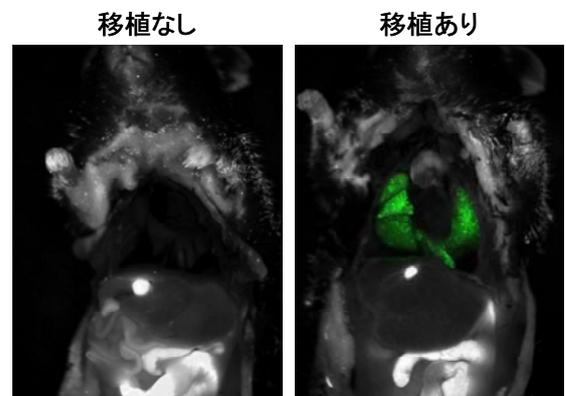


図 4. 尾静脈より移植した QDs 標識化 ASCs のイメージング結果
(白: 自家蛍光、緑: QDs800-ASCs)

5. おわりに

蛍光による*in vivo*イメージングの概略と、量子ドットを用いた応用例として移植幹細胞のイメージング実験について示した。前述したように、*in vivo*蛍光イメージングにおいては近赤外領域での観察をはじめ、プローブの生体毒性や機器の選択などを十分に考慮する必要がある。近年ではCCDの感度が向上する中で、安価で短時間に行える蛍光イメージング技術は今後ますます発展するものと思われる。特にナノ粒子を基盤とした蛍光プローブのもつ可能性は大きく、急速に広がりを見せる再生医療研究や、超高感度検出などの分野において重要な役割を果たすと考えられる。

参考文献

- 1) Y. Urano et al, *Nat. Med.*, 15, 104 (2009)
- 2) R. Bakalova et al., *Nanotechnologies for the Life Sciences*, Wiley-VCH, 175 (2007)
- 3) N. Kaji et al., *Chemical Record*, 7, 295 (2007).
- 4) R. Bakalova et al., *Nature Biotech.*, 22, 1360 (2004).
- 5) R. Bakalova et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 11328 (2005).
- 6) R. Jose et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 629 (2006).
- 7) R. Weissleder, *Nat. Biotechnol.*, 19, 316 (2001)
- 8) J. V. Frangioni, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 7, 626 (2003)
- 9) S. A. Hilderbrand et al., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 14, 71 (2010)
- 10) H. Yukawa et al., *Biomaterials*, 31, 4094 (2010)
- 11) Monya Baker, *Nature*, 463, 977 (2010)
- 12) M. A. Hahn et al., *Anal. Bioanal. Chem.* (2010)
- 13) I.L. Medintz et al., *Nat. Mater.*, 4, 435 (2005)
- 14) V. Biju et al., *Anal. Bioanal. Chem.*, 391, 2469 (2008)
- 15) X. Gao et al., *Nat. Biotech.*, 22, 969 (2004)
- 16) H. Kobayashi et al., *Nano Lett.*, 7, 1711 (2007)
- 17) S. Kim et al., *Nat. Biotech.*, 22, 93 (2003)
- 18) H. Yukawa et al., *Cell Transplant.*, 17, 43 (2008)
- 19) H. Yukawa et al., *Cell Transplant.*, 18, 611 (2009)
- 20) H. Yukawa et al., *Cell Transplant.*, 18, 591(2009)
- 21) S. Futaki et al., *J. Biol. Chem.*, 276, 5836 (2001)

留学
体験
記

カリフォルニア大学留学体験記

九州大学 大学院工学研究院 化学工学部門

星野 友

(yhoshino@chem-eng.kyushu-u.ac.jp)



私は、2006年に東京工業大学の岡畑 恵雄 教授の研究室にて博士号を取得してから、2010年の9月に九州大学の三浦 佳子 先生の研究室の助教に着任するまでの4年半の間、米国のカリフォルニア大学アーバイン校のKenneth Shea教授の研究室で研究活動を行いました。その間、米国アカデミックの激しい生存競争や産学連携、さらには家族の出産までを体験することが出来ました。これらの経験談が今後世界で活躍される若い方々の参考になればと思い体験記にて報告させていただきます。

1, 渡米まで

私は博士3年の時に、日本学術振興会の研究員に採用していただくことが出来ました。学振研究員の契約が一年残るので、卒業後は学振研究員として海外に行くことを希望しました。今考えるとのんきなものですが、当時は、海外に行った後、日本のアカデミックに戻るのか、企業に就職するのか、そのまま海外で生活するのか特に決めていませんでした。しかし、全く新しい環境に身を置けば何か実力がつくような思いを強く持っていました。留学先は岡畑 恵雄 先生の紹介でカリフォルニア大学アーバイン校のKenneth Shea研究室に行くことに決めました。岡畑先生からは『ケン (Kenneth Shea) 教授は絶対に裏切らない義理深い男だから信用していい』とだけ言われ、研究内容にはこだわらずに留学先を決断しました。父からは電話で『アメリカに行くのだったらしっかりサバイブしてこい』とだけ言われ、ずいぶんとやる気満々で日本を立った記憶があります。

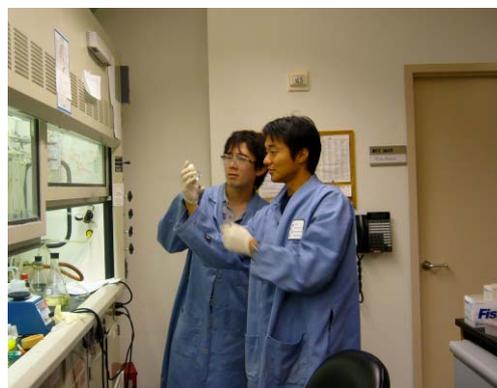
2, カリフォルニア研究生活前記 ～契約交渉と研究費獲得に追われる日々～

最初の1～2年は無我夢中でとにかく仕事に明け暮れました。当時、米国はイラク戦争の煽りを受けて未曾有の研究費削減が行われており大学では皆研究費獲得に苦心していました。隣の研究室のPIも私が渡米してすぐ研究費が枯渇してコンサルタントへの転職を余儀なくされていました。ケン教授の研究室もしばらく大きな研究費を取れず大幅なリストラを行っていました。渡米時3人居たポストドクも毎年減少し、渡米1年半後には私一人になってしまいました。米国アカデミックの厳しい生存競争を目の当たりにし、明日は我が身という緊張感が常にあったように思います。

私は最初の一年で学振研究員の契約が終了するので、渡米してすぐに契約交渉を行わなくてはいけなくなりました。ケン教授からは学振と同じ条件で契約更新をするという口約束を貰っていましたが、一向に書面の契約を交わすことは出来ず、滞在期限の一ヶ月前にやっと契約内容を書面にしてみるとかなり条件が悪化していました。しかし、当時独身だったこともあり、研究費が足りない中で雇用してもらっているだけでも

有り難いと考えて、この条件で6ヶ月毎に契約更新を続けました。6ヶ月で契約更新というのはしんどい話で、契約をして数ヶ月後には次の契約の交渉をしなくてはいけませんでした。しかし、研究室全体として文句を言って条件を改善できる状況ではなかったため、研究室の状況を好転させることだけを考えていました(多くの日本人は行いませんが、米国では契約更新の際賃金や契約期間、保険等の雇用条件を交渉することが可能です)。

偶然私は学生の時に、東京大学の菅 裕明 先生が執筆された『切磋琢磨するアメリカの科学者たち』という本を読み、米国に行ったら是非とも研究費を申請してみたいと考えていました。そこで、研究費を申請してみたいという話をケン教授にしてみたところ、ケン教授は賛成し、NIHのシステムや研究費申請の学内での事務等様々なアドバイスをしてくれるようになりました。しかし、米国内では永住権を持たない私が申請できる研究費の数は非常に限られている上に、慣れない英語で20ページ近くの研究費申請書を作成するのは非常に骨が折れる仕事でした(今思うと米国での研究成果がほとんど出ていない状況で研究費を獲得するのは無謀な挑戦だったのかもしれませんが)。また、同時に日本の研究費にも申請をしようと考えたのですが、日本の研究費も海外からは応募できない物がほとんどなので応募できる研究費の数は益々絞られ研究費獲得は困難を極めました。振り返ってみるとこの頃が精神的に最もタフで最も成長できた時期だったと思います。



米国滞在中の実験風景



Shea 研究室のメンバー

(研究室の7割以上が中国人を初めとした留学生)

3. カリフォルニア研究生活後期 ～米国で体験した産学連携～

私は、恩師の岡畑 先生の影響もあって学生時代からバイオベンチャーに憧れており、大学院の時にも友人と企業の立ち上げを行った経験がありました。それが縁で渡米当初からシリコンバレーのバイオベンチャーを訪問し、様々な方と交流していました。そのことを知っていたケン教授はある日、研究費獲得の方法の一つとして、学内のビジネスプランコンペティションに出てみないかと連絡してきました。(アメリカの大学では、サイエンス系の学部とMBAスクールが交流してハイテクイノベーションを起こす事を目的としたビジネスプランコンペティションが多く行われている)。そこで単身コンペティションのキックオフミーティングに参加し、参加者の前で自分の研究テーマを題材にした事業計画を発表してみました。すると、必死さが通じたのか、下手な英語の発表にもかかわらず、MBAの学生を含めた賛同者が集まり、チームを結成することが出

来ました。その後このチームで事業計画を立案し投資家の前で発表することになるのですが、チームで事業計画を立案するにも私は英語が下手な上にビジネス用語を全く知らなかったのでメンバーと上手くコミュニケーションを取ることができず非常に苦労しました。それでも何とかチームで事業・研究計画書の作成と計画発表まで漕ぎ着け、セミファイナルまで進むことが出来ました。結果、残念ながらコンペティションでは研究賞金の獲得に至りませんでした。しかしその後、私達の計画を見た日本の企業から研究資金を出資して頂けることになりました。企業との共同研究が決まってからは、大学の知財部との企業の間に入って契約交渉を行う必要に迫られましたが、ここではコンペティションで培ったコミュニケーション力を生かし様々な経験を積むことが出来ました。

これらの経験を通じて、米国の公立大学の産学連携の現場(実情・課題)を見ることが出来たのは今後日本で研究活動を行う上で非常に良かったと思います。さらに人の紹介を通じて様々な分野の先生方と知り合う機会に恵まれたので、多くのディスカッションを通じて自分の研究を多角的に見直す良い機会になりました。

この出資と前後してケン先生と申請していたNIHの研究費も採択され、落ち着いて研究に集中できる環境が整いました。私の契約条件も大幅に改善し、ずいぶんと余裕を持って生活をする事が出来るようにもなりました。そして何よりも、最後の1-2年は研究室内で学生数名と新たに雇ったポスドク一名で小グループを作り、チームリーダーとして研究に集中する環境を与えていただくことが出来ました。

ビジネスプランコンペティションに参加した
のチームメンバー

4. カリフォルニア研究生活番外編 ～現地日本人コミュニティの積極利用～

海外留学に関連して余り語られませんが、案外重要なのは保険や年金、家族の生活等の問題です。私の場合渡米直後は、保険や将来に対する心配を全くしない自由奔放な独身生活を送っていました。しかし2-3年目に結婚と出産という大きなイベントを続けざまに経験し、これらの問題を無視できない状況になりました。特に、医療保険システムは各国全く異なっているので、甘く見ていると家族の出産や病気の時に取り返しのつかないこととなります。ご存じの通り米国では社会保険制度が脆弱で、無保険者は重病人でも医療を受けることは困難です。そこで、便利だったのが下記に挙げた様な現地の日本人コミュニティを通じた情報収集です。全米の主立った地区には下記に示すような日本人の研究者コミュニティが存在します。そこで先輩研究者から日本語で保険や生活の問題のアドバイスを頂くことができ、出産時にも大いに助けていただきました。また、同じような境遇の日本人家族との交流を持つことで家族もずいぶんと安心して米国生活を満喫できたようです。さらに、この様なコミュニティでは大概、参加者が持ち回りで自身の研究発表を行うので様々な分野の研究者と知り合い、議論し、知識の幅を増やすことが出来ます。

- Southern California Science Network <http://www.scsn.us/>
- Southern California Japanese Scholars Forum <http://www.scjsf.org/pastevents.html>
- Life Science in Japanese <http://lsjapan.exblog.jp/>
- Japan Bio Community <http://www.j-bio.org/>
- ボストン日本人研究者交流会 <http://www.boston-researchers.jp/wp/>
- 東工大北米ネットワーク <http://sites.google.com/site/tokyotechus/home>

5. 最後に

以上のように4年半の米国生活を振り返ってみると、留学前に想像できないくらい多くのことを経験し成長することが出来たと思います。言語が通じない中での競争は非常に大きなストレスを伴いますが、フェアなシステムの中での生存競争は貴重な体験でした。また、留学で得た経験や人脈も今後の人生においてかけがえのない財産になりました。今後研究者を目指す若い読者の方々には、一度留学をされることを強く勧めます。また、折角留学されるのであればお客様気分日本で帰国する事だけを考えるのではなく、一旗揚げる心づもりで何年か腰を据えて仕事をしてみることをお勧めします。米国では、世界各国からの留学生が、個々の能力とネットワークをフル活用して勝負をしています。今後日本のアカデミックをより一層盛り上げるためにも、本稿を読んで一人でも多くの若い日本人が留学に興味を持ち、この競争の中に身を置いてグローバルに勝負できる生命力を身につけて頂ければと思います。

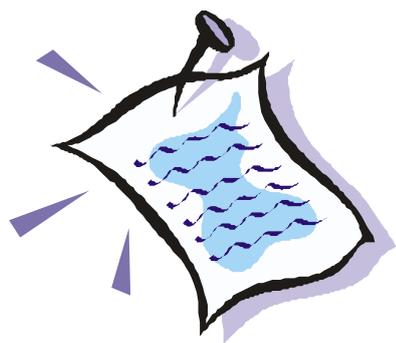
かけがえのない経験をさせていただいた、Kenneth Shea教授を初め、様々な面からサポートしていただいた岡畑 恵雄 先生、日本学術振興会や(株)イニシアムの小関博士や(株)資生堂の柳澤様にはこの場を借りて深くお礼申し上げます。

(短い紙面の中では、伝えきれない事が沢山ありますので、留学に関して質問したい方がございましたらメール下さい。)



(左)豪華な Kenneth Shea 教授宅(日本で言う職員宿舎!?)でのバーベキューパーティ風景。(右)近所の海岸で家族との一コマ。





シンポジウム等会告

会員の皆さんよりお寄せ頂いた会告です。奮ってご参加下さい。

日本化学会第 91 春季年会 (2011)

会期：2011 年 3 月 26 日 (土) - 29 日 (火)

会場：神奈川大学横浜キャンパス (横浜市神奈川区六角橋 3-27-1)

7.8 特別企画

7.8.4 過渡的複合体を含む生命現象解明を目指した化学的アプローチ

趣旨 近年、生命現象の分子レベルの理解において、過渡的に形成される生体高分子の動的複合体の重要性が強く認識され、我が国でも昨年度より「過渡的複合体」の理解を目指した科研費・新学術領域研究もスタートした。NMR や X 線構造解析などの構造解析や種々の分光学、蛋白質や核酸の精密合成などの化学技術は、この領域に大きな貢献をしてきたが、これまでは精製/再構成された系での解析が限界であり、生体分子が真に機能する細胞や組織でのリアルで動的な状態での理解への貢献は不十分であった。本企画では、有機合成、ケミカルバイオロジー、生体機能化学及び構造生物学、一分子計測の第一線研究者に、このような限界を超える新しい手法について紹介いただき、動的な生体分子複合体の理解を加速する化学的アプローチの可能性について、参加者とともに議論する。

実施日 3 月 26 日 午前

プログラム

9:30-9:35 趣旨説明 (京大院工) 浜地 格

座長 浜地 格 (京大院工)

9:35-10:00「膜蛋白質の構造化学的機能解明」(東大院薬) 嶋田 一夫

10:00-10:25「準安定なタンパク質複合体から構造情報を得るための戦略」(九大生体研) 神田 大輔

座長 築地 真也 (長岡技科大産学融合セ)

10:25-10:50「タグ・小分子プローブペアを用いたタンパク質特異的ラベル化法の新展開」(九大院薬) 王子田 彰夫

10:50-11:15 「遺伝子の機能発現を光制御するケージド化合物の開発」(東邦大理) 古田 寿昭

11:15-11:40 「蛍光センサーによる単一細胞内イノシトールポリリン酸代謝動態の解析」(京大エネ研) 森井 孝

座長 清中 茂樹 (京大院工)

11:40-12:05 「トロンボポエチンシグナルの脂質ラフトによる制御」(東大院薬) 船津 高志

12:05-12:30 「磁気共鳴による細胞計測手法の開発」(京大院工) 白川 昌宏

(情報提供：浜地 格)

7.8 特別企画

7.8.9 バイオ医薬時代の低分子創薬：生命化学の新たな挑戦

趣旨 創薬がバイオ医薬に流れが移りつつある中で、合成低分子による医薬品開発は、様々な分析装置あるいは分注装置の高度化、先端化を受け、新しい挑戦の段階に入っていると見てよい。一方、最近 10 年の生命化学領域における著しい成果は、生命科学研究の新しい時代を拓こうとしており、その出口として、次世代創薬の潮流が生まれてきている。そうした背景のもと、創薬領域における化学者の位置づけは今後ますます高まっていくものと考えられる。そこで、本企画では、バイオ医薬時代における低分子創薬とその周辺領域に新しい流れをもたらしている研究者に、最先端研究動向をご紹介いただき、生命化学の新たな挑戦について議論する。

実施日 3 月 26 日 午後

プログラム

13:30-13:35 趣旨説明 (東大医科研) 津本 浩平

13:35-14:15 低分子化合物の標的タンパク質の同定 (産総

研) 夏目 徹

14:15-14:55 抗体機能と低分子 (化血研) 中島 敏博

15:05-15:45 タンパク質-タンパク質相互作用を低分子で制御する (分子設計アドバイザー・インタープロテイン)

○松崎 尹雄・森島 甫・肥塚 靖彦・高島 徹・伊藤学・小松 弘嗣・細田 雅人

15:45-16:25 フラグメントベースド・ドラッグデザインによるリード化合物創生 (アステラス製薬) 新美 達也

16:25-16:30 総括 (味の素製薬) 辻 尚志

(情報提供: 津本 浩平)

~~~~~  
\*このほか、公開中の年会サイト\*から本会と関連ありそのようなプログラムをいくつかピックアップしてみました。詳細は、年会サイト等の更新情報でご確認下さい。

\*<http://www.chemistry.or.jp/nenkai/91haru/index.html>

## 7.2 アドバンスト・テクノロジー・プログラムATP

### 7.2.3 未来材料

セッションオーガナイザー

小池康博 (慶大理工・教授), 山元公寿 (東工大資源研・教授, 下村政嗣 (東北大WPI-AIMR/ 東北大多元研・教授)  
趣旨 科学技術が進展する中, より豊かな未来を創造するための新機能材料開発に対する社会の期待はますます高まっています。本セッションでは, こうした中で注目されている以下の三領域を取り上げ, 最先端の話題とともに, それぞれの切り口における「未来材料」を議論する機会を提供します。

A. 次世代フォトニクス材料: 超高速伝送, 高画質ディスプレイの急速な発展に伴い, 従来のエレクトロニクス材料の延長では対応が難しくなりつつあります。それを超えるイノベーションはフォトニクスであると考えられます。本サブセッションでは, 近年注目を浴びる有機フォトニクス材料を中心に, 光ファイバー, 光導波路, 液晶ディスプレイのためのフォトニクス材料, 光アクティブ素子などの最前線を探ります。

B. 超分子素子を目指したプログラミング: 本サブセッションでは, 特異機能を連動・増幅した機能階層的な精密超構造体を目指し, 思いどおりに自在に物質を組み上げる「超分子プログラミング」に焦点を当てます。この超分子プログラミングを駆使したナノサイズの超構造体から, 革

新的な機能を連動・増幅して高効率で取り出せる未来型の超分子素子の開発への挑戦について紹介します。

C. バイオミメティック材料の新展開: 多様な生物の構造と機能を模倣し, 着想を得て新たに設計される材料開発の新しい潮流が世界的に注目されています。欧米では, ナノテクノロジーと生物学・博物学を基盤とする学際的な融合領域に成長しており, さらには, 省資源, 省エネルギーを可能とする生産技術の革新をもたらすものとして, 産業界の関心も高まっています。日本における研究開発の現状と課題について討議します。

予定講演者

A. 次世代フォトニクス材料

※講演者調整中

B. 超分子素子を目指したプログラミング

基調講演

・配位プログラミングによる化学素子へのアプローチ (東大院理・教授) 西原 寛

招待講演

・超分子ヒドロゲルを基盤としたバイオ素子への展望 (京大院工・教授) 浜地 格

・ブロックコポリマーテンプレート工学: ナノ構造とナノ機能のプログラミング (東工大資源研・教授) 彌田 智一

・応用を指向した有機/金属ハイブリッドポリマーの配位プログラミング (物材機構・グループリーダー) 樋口 昌芳

・単電子エレクトロニクスへのナノ粒子科学からのアプローチ (筑波大院数理物質・CREST-JST・教授) 寺西 利治

・分子からマクロへ・マクロから分子へ: 超分子階層構造とHand-Operating Nanotechnology (物材機構・主任研究者) 有賀 克彦

依頼講演

・分子デバイスを創る電極からのプログラム・分子からのプログラム (阪大産研・准教授) 谷口 正輝

・電子・光・磁気機能を発現する超分子集合体の構築 (筑波大院数理物質・准教授) 山本 洋平

・導電性高分子の自己組織化ナノワイヤー・ナノファイバー I 本レベルの電気物性 (東農工大BASE・准教授) 下村 武史

・ヘムタンパク質階層プログラミング: 革新的バイオデバイスへの挑戦 (阪大院工・助教) ○小野田 晃・林 高

史

C. バイオミメティック材料の新展開

基調講演

・バイオロジーとナノテクノロジーのマリアージュ: バイオミメティクスから生物規範工学へ (東北大WPIAIMR・東北大多元研・教授) 下村 政嗣

・自然のすごさを賢く活かすものづくり (東北大院環境・教授) 石田 秀輝

招待講演

・生物規範光学材料 (浜松医科大・教授) 針山 孝彦  
 ・生物規範感覚システム: 昆虫の化学センシングを規範にして (神戸大院理・教授) 尾崎 まみこ

・バイオミメティクスと植物保護 (京大院農・森林総研・東大先端研・准教授) ○森 直樹・奥本 裕・三瀬 和之・高梨 琢磨・光野 秀文・神崎 亮平

・自然に学ぶものづくりと企業活動 (積水インテグレートドリサーチ・主席研究員) 佐野 健三

依頼講演

・生物規範技術の包括的ガバナンス (産総研ナノシステム・ナノテクノロジー戦略室長) 阿多 誠文

・生物規範親水材料 (INAX 総合技術研究所・室長) 井須 紀文

・ネムリユスリカに学ぶ極限環境システム (農業生物資源研究所・ユニット長) 奥田 隆

・数理科学とバイオミメティクス (東北大院情報・教授) 久保 英夫

・ナノインプリントによるバイオミメティクスデバイス開発への貢献の可能性 (日立材料研・主管研究員) 宮内 昭浩

・自己組織化によるモスアイ構造の作製 (三菱レイヨン・リサーチフェロー) 魚津 吉弘

・バイオミメティック・データベースとオントロジー (阪大産研・准教授) 古崎 晃司

・生物を規範とする接合材料 (物材機構・グループリーダー) 細田 奈麻絵

・バイオTRIZ と生物規範創発工学 (新潟大工・教授) 山内 健

・海洋生物に学ぶ防汚材料設計 (北大院先端生命科学・教授) 室崎 喬之・○龔 劍萍

・バイオミメティック・データベースとしての魚類インベ

ントリー (科博・研究主幹) 篠原 現人

・生体の水潤滑を規範としたポリマーブラシの設計と摩擦特性 (JST, ERATO) 小林 元康

・自己組織化マイクロリンクルと応用 (産総研ナノシステム・グループ長) 大園 拓哉

・オパールフォトリック結晶によるチューナブル構造色材料の創成 (物材機構・主幹研究員) 不動寺 浩

・生物規範はつ水表面の創製 (産総研サステナブルマテリアル・研究グループ長) 穂積 篤

・メカノタクシス: 生物規範細胞操作材料の設計 (九大先端研・教授) 木戸秋 悟

・自己組織化プロセスの発生遺伝学的検討 (北教大・教授) 木村 賢一

・バイオミメティック・データベースとしての昆虫インベントリー (科博・研究主幹) 野村 周平

・生物規範飛行システム (千葉大院工・教授) 劉 浩

・生物規範トライボロジーと自動車部品 (トヨタ自動車・主幹) 鈴木 厚

**7.2.6 未来志向の挑戦型バイオケミカルズ**

セッションオーガナイザー

秋吉一成 (京大院工・教授), 跡見晴幸 (京大院工・教授), 上嶋康秀 (帝人ファーマ創薬推進部・技術戦略・プロジェクトマネジメント統括), 大橋武久 (奈良先端大バイオサイエンス・客員教授), 鴻池敏郎 (塩野義製薬), 須貝 威 (慶大薬・教授), 高柳輝夫 (第一三共・監査役), 冨ヶ原祥隆 (住友化学技術経営企画室・主席部員), 深瀬浩一 (阪大院理・教授), 渡邊英一 (東北大NICHes・産学官連携研究員)

趣旨 ヒト全ゲノムが解明され, まさにポストゲノム時代のまっただ中, 新しいバイオ技術を生かし, あらゆる科学・産業・社会のイノベーションが期待されています。本セッションでは, グリーンバイオ, フロンティアバイオを中心に, 今注目を集めているバイオ技術に関する最先端の産官学のシーズとニーズを紹介し, 未来産業を築くためのバイオケミカルズの創生につなげようという願いをこめ, 2 日間にわたるシンポジウムを企画いたしました。第一線で活躍する講演者と参加者が一堂に会し, 未来を志向するバイオ技術の研究開発と産業化への挑戦について, 講演 (招待・一般口頭) 及びパネルディスカッション, ミキサ

ーを通じ、現状と将来を議論する場を提供いたします。以下の2つのカテゴリーをトピックといたしますが、講演は同一会場で行い、広く深いアイデア・知恵と技がぶつかり合うシンポジウムとします。

A. グリーンバイオ：人と自然が共生する世界に不可欠なグリーンケミストリーを実現するバイオ技術として、バイオコンバージョン・バイオマス・バイオポリマー・植物バイオなどを中心に上げます。これらの技術はいずれも、環境調和、省エネルギー、廃棄物削減、健康・安全・QOL向上、創薬などに寄与する一方、産官学一体となった技術構築が強く望まれており、最前線技術の産業化も視野に含んでいます。

B. フロンティアバイオ：我が国の基礎研究の中でも、世界的に非常に高いレベルにあるナノバイオテクノロジー分野において、その技術を応用する領域・範囲を考える場とします。ナノバイオ、バイオ計測、バイオマテリアル・先端医工学を対象として、具体的な産業上の利用と産業化の可能性を議論します。

基調講演

・ペプチド化学を基盤とした統合創薬科学(京薬大・教授・創薬科学フロンティア研究センター長) 木曾 良明

・自然に学ぶものづくり—高炭素技術が世界を救う?! (産総研・所長) 田口 隆久

・バイオ計測が拓く未来の医療 (ソニー先端マテリアル研・ライフサイエンス統括部長) 安田 章夫

招待講演

・微細藻類ユーグレナによる有用物質生産について (ユーグレナ・研究開発部部长・取締役) 鈴木 健吾

・セルロース生産嫌気性菌Clostridium cellulovorans のゲノム解析とバイオマス完全利用への応用 (三重大院生物資源・准教授) 田丸 浩

・清酒醸造技術をバイオ燃料製造に活かす (月桂冠総合研究所・所長) 秦 洋二

依頼講演

・ダイソーのバイオケミカルズ開発 (ダイソー株式会社研究センター・研究センター長) 雑賀 哲行

・セルロース系バイオマス糖化技術開発の現状 (三菱重工・主席) 西山 理郎

・免疫制御を指向したケミカルグリコバイオロジー (阪大院理・教授) 深瀬 浩一

・進合理論を元に新しい技術と産業を切り開く～ネオ・モルガン研究所の技術と実績～ (ネオ・モルガン研究所・代表取締役社長) 藤田 朋宏

※パネルディスカッションを実施予定

7.7 中長期テーマシンポジウム

7.7.4 生物無機化学の最前線—生体関連化学の新たな挑戦に向けて—

趣旨 生体金属イオンは、それらを取りまく生体高分子が構築する配位環境によって多様な機能を発現する。呼吸、代謝、光合成、神経・生体信号伝達・遺伝情報伝達、窒素固定等の生物界において決定的に重要なプロセスが、金属イオンとタンパク質や核酸との複合体によって初めて可能になることはよく知られている。生物無機化学は、その黎明期にはJ. P. Collman のヘモグロビンモデルに代表されるような、比較的単純なタンパク機能を模倣する金属錯体小分子の設計や合成研究を主流としてスタートし、金属タンパクや生体金属の構造と反応性の解明を中心課題として、著しい進展を成し遂げた。近年では酸素添加酵素をはじめとする金属酵素が関与する複雑な反応機構が解明され、またそれらの機能モデル錯体の創成が行われ、さらには生体金属の多様な機能発現機構解明さえ可能となり、生物無機化学は「成熟期」を迎えている。最近では、生体信号伝達機構・遺伝情報伝達機構解明などの複雑な生命現象理解に不可欠なツールの創製、光合成・メタンの酸化等を可能にする複合系金属タンパク集合体の解析や、それらのモデル作成などの新展開が見られている。

これらの領域で、独創的研究を展開している我が国の研究グループは世界的に注目を集めている。本シンポジウムでは現在、ホットな生物無機化学研究で世界をリードする研究者を招聘し、最新の研究成果、その意義と将来への展望を講演していただく。この講演を契機として、世代を超えた多くの研究者とともに、今後の化学が目指すべき生物無機化学研究の夢と展望を議論したい。

実施日 3月27日 午後

プログラム

13:30-14:10 人工光合成のシステム開発 (阪大院工) 福住 俊一

14:10-14:50 生体系に学ぶ酸素活性化二核金属酵素モデルの分子設計 (金沢大理工学域) 鈴木 正樹

14:50-15:30 金属酵素機能創成：三つのアプローチ（名大院理）渡辺 芳人

15:40-16:20 光機能性プローブ開発による先進医療開発（東大院医）浦野 泰照

16:20-17:00 細胞中の遺伝子制御化学（甲南大FIBER・甲南大FIRST）杉本 直己

17:00-17:40 生物無機化学からさらなる境界領域へ（京大院工）浜地 格

### 7.7.6 ケミカルバイオロジーの分子基盤

趣旨 ケミカルバイオロジーは有機化学の技術・方法論を駆使して生命現象を明らかにする新学問領域である。近年米国では化学を出発点とした生命現象・疾病を理解する、いわゆるケミカルバイオロジーが大きな潮流を生んでいる。しかし、この分野の研究は以前より我が国が先導してきた分野であり、小分子有機化合物を中心に生命科学研究のツール分子や医薬開発のリード分子を数多く世に送り出してきた。本シンポジウムでは我が国独自の発展が期待される最もホットな小分子生物活性物質を取り上げ、それらに関する研究で世界をリードする研究者を招聘し最新の研究成果とその意義を講演していただく。この講演を契機として世代を超えた多くの研究者とともに今後の目指すべき研究方向と展望を議論したい。

実施日 3月27日 午前

プログラム

09:00-09:10 挨拶（阪市大院理）大船 泰史

09:10-09:40 半田ビーズによるサリドマイド催奇性の原因因子の発見（東工大院生命理工）半田 宏

09:40-10:10 ムギネ酸類の実践的合成を基盤としたオオムギの鉄取り込み機構に関する研究（北大院理）

難波 康祐

10:10-10:40 ケミカルバイオロジー分子基盤としての脂質二重膜（阪大院理）松森 信昭

10:50-11:20 フシコッカンジテルペノイドをリードとした新規抗がん剤の開発（阪大産研）加藤 修雄

11:20-11:50 植物の生物現象と天然物ケミカルバイオロジー（東北大院理）上田 実

11:50-12:20 日本のケミカルバイオロジー（慶大理工）上村 大輔

### 7.8 特別企画

#### 7.8.1 化合物ライブラリーの意義と活用：化合物を介したアカデミアの化学系研究者と生物系研究者の連携による創薬研究

趣旨 我が国のアカデミアにおける合成研究は世界的に高く評価されている。これまで、永年にわたり我が国の大学及び公的研究機関において、膨大な数の化合物が創製され、社会の発展に大きく貢献したことは確かである。特に低分子化合物は新薬開発等にとって不可欠なものであり、さらに今後、化合物を合成し所有する化学系研究者と創薬ターゲットとなる蛋白等について研究を行っている生物系研究者が、化合物を介してより密接に連携して、アカデミア化合物ライブラリー及びその化合物データベースを恒常的に構築・活用し、アカデミアにおける創薬研究、特にバーチャルスクリーニングによる新薬候補化合物探索等において、さらに大きな成果を挙げ、社会に貢献することが期待される。

実施日 3月26日 午前

プログラム

09:30-09:50 有機合成化学者としての社会貢献（星薬科大）井原 正隆

09:50-10:05 天然物ライブラリーの活用と次世代化（産総研）夏目 徹

10:05-10:20 標的指向型ライブラリー構築と生命科学への貢献（阪大院理）深瀬 浩一

10:20-10:30 大学における合成化合物の保管管理（九大名誉）森 章

10:30-10:40 成果有体物の知的財産権（名古屋産業科学研究所 中部TLO）大森 茂嘉

10:40-10:55 生物機能制御化合物ライブラリー機構（東大化合物ライブラリー機構）岡部 隆義

10:55-11:10 アカデミアにおける化合物ライブラリー（京大iCeMS）上杉 志成

11:10-11:25 アカデミア化合物の抗がん評価（癌研化療セ）矢守 隆夫

11:25-11:40 バーチャルスクリーニングによるパーキンソン病治療薬の開発（北大院薬）有賀 寛芳

11:40-11:55 創薬における合成化学の意義を探る（星薬科大薬）本多 利雄

11:55-12:05 IT 創薬を活用したパーキンソン病治療薬開発

(富士通) 紙谷 希

12:05-12:20 アカデミア化合物データベースの構築・活用

(NPO 化合物活用セ) 奥山 彬

12:20-12:30 アカデミア化合物データベースの構築・活用

(NPO 化合物活用セ) 鈴木 國夫

### 7.8.5 エキゾチック自己組織化材料：特異な形態および機能解析

趣旨 自己組織化は、分子から組み上げる材料設計において必須の概念である。これまで、自己組織性分子の設計、自己組織化によるナノ構造体やソフトマテリアルの構築・構造解析や、電子機能・バイオ機能創発などにおいて多くの研究者が独創的な研究を展開してきた。しかし、限られた学問領域にとどまったままでは、今後新しいブレークスルー、研究の新潮流は生まれにくい。本企画では、他の手法では得難いオリジナルな手法でエキゾチック自己組織化分子材料を創製し、それらの物性評価を行っている第一線の研究者による講演を通じて、『ボトムアップ型ものづくり』のハブを形成し、従来の学問領域の枠を超え、未開拓サイエンス創成に向けた情報交換の場を提供する。なお、本特別企画は、日本化学会新領域研究グループ「エキゾチック自己組織化材料: ExOM」によるものである。

実施日 3月26日 午後

プログラム

13:30-13:35 趣旨説明 (九大院工) 松浦 和則

13:35-13:55 巧みに構造制御されたエキゾチック多形体の機能創発 (物材研ナノ有機セ) 中西 尚志

13:55-14:15 企業から見たエキゾチック自己組織化材料への期待 (富士フイルム 先端コア技術研究所) 西見 大成

14:15-14:35 生体分子モーターの動的自己組織が生むエキゾチック機能 (北大院先端生命) 角五 彰

14:35-14:55 マイクロ波法による自己組織化材料中の局所的電荷輸送特性 (阪大院工・JST さきがけ) 佐伯 昭紀

14:55-15:15 円偏光発光性キラル超分子の創成と機能創発 (奈良先端大物質) 内藤 昌信

15:15-15:45 ヘムタンパク質自己組織化集合体の構築 (阪大院工) 林 高史

15:45-16:05 ソフトマターのためのナノ触診技術 (東北大 WPI-AIMR) 中嶋 健

16:05-16:35 液晶の超分子化・機能化における最前線 (東

大院工) 加藤 隆史

### 7.8.13 ソフト界面による材料化学の新潮流

趣旨 高分子や生体分子が形成する界面は刺激によって構造や性質が大きく変化する、ソフトな特性を持っており、ソフト界面と定義される。ソフト界面は溶媒や基質などが介在する3次元的に厚みのある境界領域で、従来の科学領域で議論されてきた2次元界面ともバルクの状態とも異なる。ソフト界面は、溶媒やゲスト分子などとの相互作用を通じて動的に構造や性質を変化させ、様々な機能を発現する点に特徴がある。ソフト界面の構築、解析、応用によって、次世代に求められるしなやかで高機能な材料の開発が可能と考えられる。本特別企画では、ソフト界面について、特に次世代技術を担う若手研究者の研究について発表の場を設け、活発な議論を行い、本分野の発展と交流に役立てる。

実施日 3月26日 午前

プログラム

09:30-09:35 趣旨説明 (九大院工) 三浦 佳子

09:35-10:00 ソフト界面制御によるポリイオンコンプレックスナノ・マイクロ粒子の構造制御とその機能 (東大院工) 岸村 顕広

10:00-10:25 センサー表面における界面設計およびその解析法 (日産化学工業) 古性 均

10:25-10:50 トポロジー変化が駆動するインターロック架橋法の開発 (東工大院理工) 小山 靖人

10:50-11:15 超解像光学による界面/薄膜における単一高分子鎖の構造評価 (京大先端医工) 青木 裕之

11:15-11:40 超臨界NMR法によるWater-in-CO<sub>2</sub> エマルジョンのダイナミクス解析 (東工大原子炉研) 塚原 剛彦

11:40-12:05 細胞磁気ラベリングに向けたバイオナノ磁性粒子界面の分子設計 (東農工大院工) 吉野 知子

12:05-12:35 細胞界面のナノ接着制御による機能性ハイブリッド組織の創製 (阪大院工) 松崎 典弥

### 7.8.15 分子配列空間の精密制御と情報変換

趣旨 分子集積・組織化を利用したナノ及びマイクロメートルサイズの分子配列空間の精密制御は、生体機能や機能性材料の機能を制御する上で極めて重要である。近年、分子間相互作用の基礎的理解を踏まえ、分子構造のみでなく

分子の配列空間を精密に制御することで、新たな情報変換デバイスを開発する研究が盛んになっている。本企画では、第一線の研究者による分子配列空間の精密制御と情報変換にかかわる講演を通して、分子を基盤とした情報変換デバイス開発への新たな展望を提案する。

実施日 3月26日 午前

プログラム

09:30-09:35 趣旨説明 (広島大院理) 灰野 岳晴

09:35-10:05 機能因子の空間配列制御による構造・機能変換 (筑波大院数理物質) 鍋島 達弥

10:05-10:35 超分子相互作用を利用した発光性金属錯体微結晶の創出 (奈良先端大物質) 河合 壯

10:35-11:05 DNA ナノウェルへのゲスト分子の選択的取り込みと精密配列化 (東大先端研) 葛谷 明紀

11:05-11:35 設計ペプチド・タンパク質によるアミロイド線維化の制御 (東工大院生命理工) 三原 久和

11:35-12:05 可視光駆動による一方向回転分子の開発 (名古屋市大院薬) 樋口 恒彦

12:05-12:35 トポロジカル結合が作り出す空間の機能とその制御 (東工大院理工) 高田 十志和

## 7.9 アジア国際シンポジウム

Date PM March 28

Program

13:30-13:40 Opening Remark (Ritsumeikan Univ.) Hitoshi Tamiaki

13:40-14:10 Keynote Lecture: Exploitation of Luminescent Cyclometalated Iridium (III) Polypyridine Complexes as Biomolecular and Cellular Probes (City Univ. of Hong Kong) Kenneth Kam-Wing Lo

14:20-14:50 Invited Lecture: Molecular Hula-Hoop: Observations of Rotary Movement of a Rotor (Osaka Univ.) Yoshinori Takashima

14:50-15:20 Keynote Lecture: Nanocatalyst- and Artificial Enzyme-Based Biomolecular Detection (Pusan National Univ.) Haesik Yang

15:30-16:00 Invited Lecture: Optical Enzyme Assay with Cell-Penetrative Polymers (Ryukoku Univ.) Tomohiro Miyatake

16:00-16:30 Invited Lecture: Mimicking Multipass Transmembrane

Proteins: Folding and Assembly of Alternating Amphiphilic Multiblock Molecules in Liposomal Membranes (Tohoku Univ.) Takahiro Muraoka

16:30-17:00 Invited Lecture: Tongue cancer diagnosis using FND-based electrochemical telomerase assay (Kyushu Inst. Tech.) Shinobu Sato

## 7.10 委員会企画

### 7.10.3 シングルセル解析による生命科学の新潮流

趣旨 生命科学分野の解析技術はここ10年で飛躍的な進歩を遂げている。これらの先端技術を駆使することによって未知なる細胞機能が明らかになってきた。その中から、細胞個々に特性があることが見いだされ、シングルセルの生物学の必要性が指摘されている。本企画では、シングルセルバイオロジーに必要な、化学、工学、生物学等の幅広い分野の先生方に、シングルセル解析技術の現状と展望、さらにはアウトプットの側面から、シングルセル解析による医学、生物学研究の進展に関して報告していただく。

実施日 3月27日 午後

プログラム ※未定

以下、今後の予定も付しておきます。詳細は随時、ニュースレターで掲載、またはメールニュース(担当:石田)でお知らせしてゆきます。変更もあり得ますので、適宜ご確認をお願いします。

## 第14回生命化学シンポジウム(予定)

会期: 2011年9月12日(月) - 14日(水)

会場: つくば(場所未定)

## 第14回生命化学研究会(予定)

会期: 2011年12月2日(金) - 3日(土)

会場: 和歌山県 南紀白浜温泉

(世話人: 菊地 和也、大神田 淳子、円谷 健)

## Asian Chemical Biology Conference (ACB2012) (予定)

会期: 2012年7月4日(水) - 6日(金)

会場: 沖縄県 サザンビーチホテル&リゾート

Chair: Koichi Fukase (Osaka Univ.)



# お知らせ

## 【次期会長選出】



第13回生命化学シンポジウムin仙台において総会が開催され、深瀬浩一氏（阪大院理）が第5代会長として選出されました。任期は3年で、新体制は3月1日から始動いたします。深瀬新会長、どうぞよろしくお願ひ致します。

三原会長、これまで会の発展にご尽力下さり、誠にありがとうございました。

## 【受賞】

◆ 佐藤 智典（慶應義塾大学理工学部生命情報学科教授）  
第10回バイオビジネスコンペJAPANバイオ先端知賞、  
「糖鎖プライマー法を用いた細胞に発現する糖鎖マーカーの探索と利用技術の開発」2010年3月11日

◆ 青木 寛（産業技術総合研究所）  
2010環太平洋国際化学会議（Pacifichem 2010）ハイライト講演、Hiroshi AOKI, Akiko KITAJIMA, Masaki TORIMURA, "Label-free, reagent-free, and 'signal-on' DNA detection based on supramolecular electrochemistry"

## 【編集後記】

美しい雪景色の仙台にて開催された研究会からちょうどひと月、大阪・吹田の地では早くも7部咲きの梅の花が春の訪れを告げています。今号も様々な分野でご活躍されている方々から力作をご寄稿頂きました。「巻頭言」には、仙台シンポジウム世話人代表の和田さんより、世界化学年にちなんだ熱いメッセージをお寄せ頂きました。「研究紹介」では、生化学分野から学芸大・原田さんに細胞内検出系を用いたRNA結合性ペプチドの探索とアンチターミネ

ーション複合体の機能解析について、薬学分野から千葉大・荒井さんに、天然物ライブラリの合成から標的探索、細胞活性評価に至る幅広いご研究について、さらに天然物とコンビナトリアル化学の境界領域でご活躍中の東工大・田中さんには、新規な環状保護基を用いてテトラシアル酸の合成を達成されるまでの経緯とシアル酸認識抗体の探索まで、それぞれご紹介頂きました。「気になる論文」では、阪大村田さんにRNA結合性低分子に関して、京大・高山さんには細胞膜透過性ペプチドに関して、それぞれのご研究分野から最新の論文を取上げて頂きました。一方、名大・渡辺さんには「生命化学研究法」として、近赤外波長蛍光量子ドットによる*in vivo*イメージングの概要と、R8ペプチドとの複合体による脂肪組織由来幹細胞*in vivo*イメージングの実際を判り易く解説して頂くとともに、アメリカから帰国されたばかりの九大・星野さんには、グラント申請など様々な挑戦をされたご自身の体験に基づいて、メッセージ溢れるエッセイをご寄稿頂きました。このように、本号も科学的に盛り沢山であるだけでなく、思いの籠められた提言に富む極めて濃い内容となっており、皆様に大いに楽しんで頂けるものと確信しております。ご執筆下さった皆様には改めて御礼を申し上げます。

次号（No. 36）は、井原さんのご担当により、2011年6月頃の発行を予定しております。より充実した内容に向けて、皆様からの建設的なご意見、ご提案、フィードバックをお待ちしております。下記編集委員までご連絡をいただければ幸いです。

（文責： 大神田）

2011年（平成23年）2月8日

生命化学研究レター編集委員

第35号編集担当： 大神田 淳子

大阪大学産業科学研究所、johkanda@sanken.osaka-u.ac.jp

写真： 円谷 健

大阪府立大学、tsumu@b.s.osakafu-u.ac.jp

題字・レイアウト： 井原 敏博

熊本大学、toshi@chem.kumamoto-u.ac.jp