

生命化学研究レター

(2012年2月)

3. 巻頭言

Publishable Chemistry から Robust Chemistry への脱却

大阪大学大学院工学研究科 菊地 和也

5. 主催研究会報告

第14回生命化学研究会・和歌山県白浜町

～In-Cell Interactions を調べる・動かす・組み上げる～

10. 研究紹介

10. 天然物合成化学とライフサイエンス

横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科 及川 雅人

17. ジンクフィンガー型人工転写因子による細胞機能の制御

京都大学化学研究所 今西 未来

22. 有機合成化学を起点としたタンパク質翻訳後修飾の制御分子開発

理化学研究所基幹研究所 平井 剛

30. 論文紹介「気になった論文」

東北大学大学院理学研究科 藤野 智子

東京大学大学院薬学系研究科 川口 充康

東北大学大学院多元物質科学研究科 村上 慎

41. 留学体験記

Wayne 州立大学留学体験記

Department of Chemistry, Wayne State University 榊原 揚悟

45. シンポジウム等会告

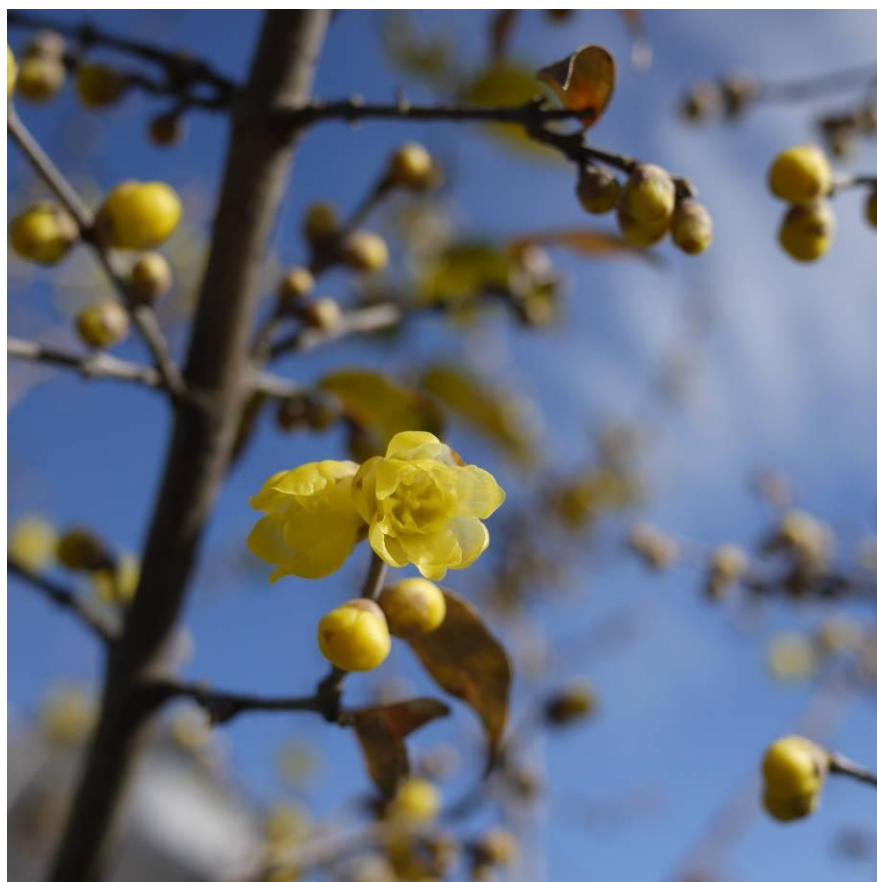
最先端研究開発支援プログラム・川合プロジェクト公開シンポジウム

革新ナノバイオデバイスに関する最先端研究開発国際シンポジウム

第2回アジアケミカルバイオロジー会議

48. お知らせ
異動
受賞

編集後記



巻頭言

Publishable Chemistry から Robust Chemistry への脱却

大阪大学大学院工学研究科 菊地和也

前回の菅さんの巻頭言を読んで、まさにその通りという感想を持った。この様に自由に本当に考えていることを巻頭言でリレーできれば面白いのではないかと考えている。この文章は、菅さんの巻頭言を受けてディスカッションを誘起するために書きたい。さて、菅さんの文章の中で、1点のみ気になる表現があった。「例えば、プローブ開発では、細胞を使った実験はもちろんのこと、個体を使った動物実験までもが必要になっている」。この文章を読んで気になった理由は、現一流とされている研究についても変なスタンダードが出来ているようにも思える点である。つまり、この文章で菅さんが意図された通りのスタンダードで研究が進んでいけば良いのだが、この本意ではない方向に進んでいる研究を超一流誌においても多く目にする。これは日本だけの問題ではなく、世界をリードしている諸外国ではもっともっとシリアスな問題にも見える。なぜこの点が私にとって気になるか、をこの巻頭言で述べたい。

博士課程の大学院生時代にラット腎臓の灌流実験を行った。この実験系は生理条件からは血流量、血圧ともかなり外れた条件ではあったが、血管内皮細胞の応答を追って生理機能を調べることはできた。次の実験として、血管内皮細胞の培養実験を行ったが、細胞をdenseに成長させることや細胞の健康状態を良い状態に維持していつも一定の応答を追うことについて、非常に苦労した。つまり、細胞を再現性高く生理条件に近い状態で培養することは非常に難しいことを実感した。もちろん、この難しさは細胞の種類によって大きく異なるが、培養細胞は生理的条件からずれても生育してしまう場合が多く、再現性が高くかつ生物学において意味のあるデータをとることは大変苦労することであったし、実験の仕方で大きく結果が異なる場合が多かった。それに対して、個体から取り出した腎臓の応答は、どんなに再現性の高いことか！初めて、生きている状態の生理応答は美しいほどに非常に再現性が高いと実感した。この経験から生理作用を調べるには、細心の注意が必要であると肝に命じた。そして、この経験は留学中に起きた危機的状況から私を救ってくれた(この内容については書きませんので、興味がある方は直接聞いてください)。

さて最近、活性化された破骨細胞のイメージングプローブの論文を投稿した際に、レフェリーの1名からのコメントの中に“From this binding test, they leap straight to in vivo imaging with 2-photon microscopy”.との一文があった。さらに、まず培養細胞の実験をしなくてはいけないとのコメント(長いのでここには転記しません)があった。このコメントを読んで、このレフェリーの考えのうち、「化学実験の延長上に細胞培養実験を捉え、必ず通らなければいけないステップのように考えおり、培養細胞を万能選手のように捉えている。」点に大きな違和感を持った。この生物学実験を軽視しているようにも見えることに対する違和感は、今更初めて覚えたものではない、超一流とされているケミカルバイオロジーの雑誌掲載論文や、超一流とされるケミカルバイオロジーの研究者の講演で、頻繁に(もちろん全部ではないが、残念なことに多いとは思う)感じていることである。少なくともこのレフェリーを書いた研究者は、生物学の実験を深く考えてはおらず、そのような研究者にも審査の割振りは(多分頻繁に)回ってくる現状を改めて感じた。想像するに、このレフェリーは生理機能を注意深く調べたことはないであろう。もし生物学実験を深く追求した経験があれば、なぜ我々が

in vivoでの実験を最初に行ったかは想像つくはずである。それは、破骨細胞活性化を再現性高く培養細胞で示すことは困難だからである。この理由のため、直接in vivoで機能を調べるプローブを作ろう、と研究モチベーションが湧いたのである。つまり、このレフェリーの指摘があたっているのならば、このような研究は企画しない。このエピソードを挙げることで、現在の超一流誌に受理されたイメージングプローブ研究の問題点を考察したい。この問題が生じるのは、生物学について深い研鑽を積んでいない研究者が研究の評価をしていることであろう。だが、この現況についても、サイエンスに携わる我々が本当は悲観する必要はない、と考える。なぜなら、意味のある研究は最終的には多くの人によって使われる技術になり、新たな技術の礎を築いた研究は、その先多くの研究者によって使うことが出来、引用される研究となるからである。我々研究者の競争は、論文数や雑誌名で決まるわけではなく、その先数年後に勝負は決まると考える。大切なことは後に残る良い研究を行うことである。間違っても、名前の良い雑誌に論文を通すことがゴールではない(ゴールではなく通過点としての目標の一つであることは、もちろん肯定する)。なぜなら、生物実験について評価が注意深く行われていない論文も数多く超一流誌に掲載されているからである。この点で、publishable chemistryではなく、robust chemistryを目指すべきであることは言うまでもない。

プローブ開発研究に最も必要な点とは、本当に生物応用した際に、新たな生命現象を見出すポテンシャルのあるプローブを作ることである。一流の研究の評価は、培養細胞や動物実験を行っていることに下すべきではなく、その先の本当の応用が可能かどうか、が重要でありこれらの生物実験データは注意深く評価すべきである。しかし、生物学実験を行っていることだけで生物応用とみなしている論文は非常に多い。根拠の浅い実験を続けても新たな原理を見出すことはできない。何度か、この分野のトップランナーとされる研究者から、この手のsloppyな(注意深くない)実験データを重ねて、議論を行っている発表を聞いた。プレゼンの構成、話の盛り上げ方ともに完璧であり、聴衆からは高い評価を受けた(ように見えた?)。しかし、再現性の低い実験を重ねた結果を基にした生物学の議論は、次の段階であるさらに掘り下げた実験には結びつかないため、後に残る結果を生み出すことはできない。化学者は自分の理解できない生物学実験について評価を下すべきではないと考える。そして、分からないものは分からないということに気が付くべきである。そして、この分からないことをスタートポイントとして、本物の生物応用を意識し研鑽を積み、本当に使える技術開発をまず目指すべきである。この認識によって、小手先の実験に頼らないで化学の強さを示すこと、が出来る本当に深い研究を行うために奮起すべきである。

菅さんの文章の終わりのほうの「我々は、もっとアグレッシブに構造生物学や生物医学分野の研究者たちと交流し、その人たちを取り込み(あるいはその人たちの研究に入り込み)、研究を進めなければならない時期に来ていると、私はひしひしと感じている。そしてまた、何よりも重要なことは、欧米研究者がした研究の追随やものまねでない、独自のアイデアで筋の通った(哲学のみえる)研究を着々と進めることである。」は、まさにその通りで我々は我々の存在の真価を発揮すべき時期に来ている。

我々は化学を武器にすることで、オリジナルの道具を作ることができる。オリジナルを普遍的にする努力を、研究の初期段階から行うことで、本物志向の深い研究を行うことが出来る。本当に生物学の新たな現象・原理を見出すことが出来る化学ツールは、生きた状態において機能を発揮できる必要がある。そして、生物試料において光るだけでなく、本当に意味のある実験を重ねて生物学の結論を見出すことが出来るプローブ開発を行う必要がある。このために、他分野の研究者との交流を通じて、本当のbiological questionに気が付く努力をすべきであろう。この点は、以前から多くの研究者に指摘されていた点である。研究分野が盛んになることで、この当たり前の点を再認識する時期が再び来たと思う。



主催研究会報告

2011年12月2、3日、第14回生命化学研究会が和歌山県白浜町で開催されました。今回は例年と異なり師走の多忙な時期での開催となりましたが、7件の講演に加え30件のポスター発表を通じ、2日間にわたり56名の参加者によって熱心な研究討論が繰り上げられました。

第14回 生命化学研究会

～In-Cell Interactions を調べる・動かす・組み上げる～

主催：日本化学会フロンティア生命化学研究会

共催：日本化学会

会期：2011年12月2日（金）～3日（土）

会場：ラフォーレ南紀白浜

世話人：菊地和也（阪大院工）、大神田淳子（阪大産研）、
円谷 健（阪府大院理）

【プログラム】

12月2日（金）

12:55 世話人挨拶 菊地和也

13:00-13:45 Discussion Leader: 今西 未来

L1 「固定化・プローブ化を基軸とした生物活性小分子の
ケミカルバイオロジー」

叶 直樹（東北大院薬）

13:45-14:30 Discussion Leader: 村上 裕

L2 「大腸菌膜タンパク質挿入に関わる新しい因子：機能
と構造」

島本啓子（サントリー生命科学財団）

14:30-14:50 休憩

14:50-15:35 Discussion Leader: 二木 史朗

L3 「細胞構造生物学：in-cell NMR を用いたアプローチ」
伊藤 隆（首都大学東京院理工）

15:35-16:20 Discussion Leader: 菊地 和也

L4 「高難度タンパク質生産と解析を加速するタギング技
術開発」

高木淳一（阪大蛋白研）

16:20-16:30 写真撮影

16:30-17:30 ポスターセッション

17:30-18:00 幹事会

19:00-21:00 夕食

22:00- フリーディスカッション

12月3日（土）

7:30-9:00 朝食

9:00-9:45 Discussion Leader: 松浦 和則

L5 「ナノとバイオを繋ぐ分子設計」

水上 進（阪大院工）

9:45-10:30 Discussion Leader: 松尾 貴史

L6 「細菌由来の複合糖質；合成法開発と自然免疫機構制
御のためのアプローチ」

藤本ゆかり（阪大院理）

10:30-10:45 休憩

10:45-11:30 Discussion Leader: 菅 裕明

L7 「高分子の超分子化学と機能物質設計」

金原 数（東北大多元研）

11:30-11:45 総会

【ポスター演題】

P01 「パテラミド合成酵素は幅広いペプチド配列にアゾリ
ン骨格を導入する」

東京大学大学院理学系研究科 後藤 佑樹

P02 「植物ウイルス由来ペプチドの自己集合により人工
Capsid を創る」

九州大学大学院工学研究院応用化学部門 松浦 和則

P03 「アポトーシス誘導分子 PAC-1 は活性型カスパーゼ3
も活性化する」

奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科

松尾 貴史

P04 「体細胞から iPS 細胞になることで糖鎖は変化する」

慶應義塾大学理工学部 佐藤 智典

P05 「Engineering the spatial orientation of a core RNA-peptide
interaction within a functional ribonucleoprotein
complex」

東京学芸大学 教育学部 広域自然科学講座 生命科学分野

原田 和雄

P06 「ホロ酵素型抗体酵素は様々な反応を触媒する」

大阪府立大学大学院理学系研究科 藤井 郁雄

P07 「オーロラキナーゼ A 特異的ペプチド阻害剤を創出する」

大阪府立大学大学院理学系研究科 藤原 大佑

P08 「モノクローナル抗体で海洋毒を検出する」

大阪府立大学大学院理学系研究科 円谷 健

P09 「エピゲノム機構を回避するレトロトランスポゾンの位置を網羅的に同定する」

東京工業大学バイオ研究基盤支援総合センター

相澤 康則

P10 「人工時計タンパク質によるサーカディアン型遺伝子発現リズムの誘起」

京都大学化学研究所 今西 未来

P11 「ヘムとタンパク質マトリクス間の相互作用が超分子ナノ構造体を構築する」

大阪大学大学院工学研究科 大洞 光司

P12 「 α ヘリックス細胞挿入ペプチド-金ナノ粒子複合体は低濃度で細胞導入される」

東京工業大学大学院生命理工学研究科 堤 浩

P13 「翻訳系に適合する D 体アミノ酸」

東京大学大学院総合文化研究科 村上 裕

P14 「亜鉛フィンガータンパク質で細胞内レドックス環境を探索したい」

同志社女子大学薬学部 根木 滋

P15 「ルテニウム-ペプチド錯体で人工光合成を目指す」

北里大学大学院理学研究科 石田 斉

P16 「アロステリック制御によりナノメカニカル DNA オリガミデバイスのゲスト結合能は増大する」

関西大学化学生命工学部 葛谷 明紀

P17 「歯周病原菌プロテアーゼ、gingipain 活性を電気化学的に検出する」

九州工業大学大学院工学研究院 竹中 繁織

P18 「電気化学的テロメラーゼ活性検出によって口腔癌を診断する」

九州工業大学大学院工学研究院 佐藤しのぶ

P19 「G リッチオリゴヌクレオチドを利用して細胞内外の K⁺ 蛍光イメージングできる」

九州工業大学工学部応用化学科 曾田 浩二郎

P20 「フェロセンと β -シクロデキストリンを両置換基末端に有するナフタレンジイミドを用いて PCR 産物を均一溶液中で検出できた」

九州工業大学工学部応用化学科 梅田 雄太

P21 「6-amino-2-vinylpurine 誘導体は架橋反応の詳細を明らかにする」

東北大学多元物質科学研究所 草野 修平

P22 「細胞の中で崩壊するオリゴ乳酸結合多糖ナノゲル」

関西大学先端科学技術推進機構 高橋 明裕

P23 「リポ多糖部分構造ライブラリを用いて寄生性細菌の免疫抑制・調節作用を明らかにする」

東京工業大学大学院生命理工学研究科 下山 敦史

P24 「人工抗体で超分子不斉光反応を制御する」

東北大学多元物質科学研究所 和田 健彦

P25 「興奮性アミノ酸アナログ IKM-159 は AMPA 受容体のサブタイプ選択的阻害剤である」

横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科

及川 雅人

P26 「ナノ会合体の安定性が 19F MRI プローブのオフオン応答を制御する」

京都大学大学院工学研究科 松尾 和哉

P27 「19F MRI への応用を目的としたフッ素ナノ粒子の開発」

大阪大学大学院工学研究科 中西 陽介

P28 「タグ蛋白質 Photoactive Yellow Protein (PYP) と新規桂皮酸プローブを用いた発蛍光型標識法の開発」

大阪大学大学院工学研究科 中木 恭兵

P29 「フシコクシン誘導体で 14-3-3 たんぱく質-たんぱく質相互作用を検出する」

大阪大学産業科学研究所 高橋 道子

P30 「細胞内たんぱく質間相互作用の制御を目指して: グアニジン含有アンカー型酵素阻害剤を創る」

大阪大学産業科学研究所 鏑本 麻衣





菊地氏の kickoff スピーチでプログラムがスタートです。



島本 啓子 氏



トップバッターの座長は今西 未来 氏



二木 史朗 氏



Lead-off スピーカーは叶 直樹 氏



伊藤 隆 氏



村上 裕 氏



高木 淳一 氏



ポスター会場は熱気で一杯でした。



クエは如何でしたでしょうか。



ベテランの先生方もご発表下さいました。



引き続き懇親会です。



2日目、まずは松浦氏が討論をリードして下さいました。



深瀬会長のご挨拶



水上 進 氏



松尾 貴史 氏



締め座長は菅 裕明 氏



藤本 ゆかり 氏



最後のスピーカーは金原 数 氏



平成 23 年 12 月 3 日出席者一同

会場写真撮影：円谷 健

研究紹介

天然物合成化学とライフサイエンス

横浜市立大学 生命ナノシステム科学研究科

及川 雅人

(moikawa@yokohama-cu.ac.jp)

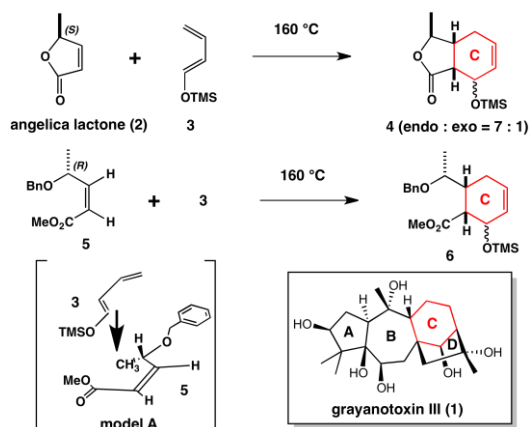


1. はじめに

天然物化学に携わる研究者の中で、筆者のような研究者は「合成屋」と呼ばれている。構造のおもしろさから合成研究に取り組む場合もあるが、天然物は多くの場合に生物活性化合物であるため、得られる成果はライフサイエンス研究に役立つ場合が多い。この場に研究紹介の機会をいただいたので、合成反応のプロセス開発と天然物の全合成、さらにライフサイエンス研究への展開、といった内容で、自己紹介も兼ねて筆者のこれまでの研究を振り返ってみることにした。

2. Diels-Alder反応における鎖状立体制御¹

筆者は学士から修士課程の研究を北海道大学の理学部化学科、白濱晴久教授のもとで行った。テーマとして与えられたのは、分子間Diels-Alder反応によるシクロヘキセン環の構築であった。これはツツジ科植物のジテルペンであるgrayanotoxin III (**1**)のCD環部に相当する骨格で、ラジカル環化反応によりD環を構築する予定であったため、炭素ラジカルアクセプターとなる不飽和結合を炭素六員環上に導入する必要があるというものであった。すでにangelica lactoneと呼ばれる不飽和ラクトン**2**をジエノフィルとするDiels-Alder反応が位置および立体選択的に進行することがわかっていたが (Scheme 1)、生成物**4**の不安定性のため、その後の官能基変換が困難であるという状況に陥っていた。ラクトン環を開けば化合物は安定であるということがわかったが、問題はどうやってそれを合成するか、であった。Diels-Alder付加生成物**4**のラクトン環を開く試みは全くうまくゆかなかったため、この反応に用いるジエノフィルから開環しておけばよいのではないか、ということになった。論理的には明快であったが、鎖状のジエノフィルを用いたDiels-Alder反応を立体選択的に進ませることが容易でないことは実験を始める前から明らかであった。おぼろげながらも可能性が感じられたのはLewis酸を用いる低温下でのDiels-Alder反応であったが、実験に用いるジエン**3**が自己縮合などを起こしながら分解してしまう。あれこれ検討しているうちに、不飽和エステル**5**が熱反応において完全な立体選択性で付加体**6**を与えることが判明した。この選択性を実現するためには酸素官能基がベンジルエーテルであること、そして二重結合がシス配置であることが必須であった。興味深いのは、同じ立体配置のシクロヘキセンを構築するためには、angelica lactone (**2**)では(S)-配置、開



Scheme 1

味深いのは、同じ立体配置のシクロヘキセンを構築するためには、angelica lactone (**2**)では(S)-配置、開

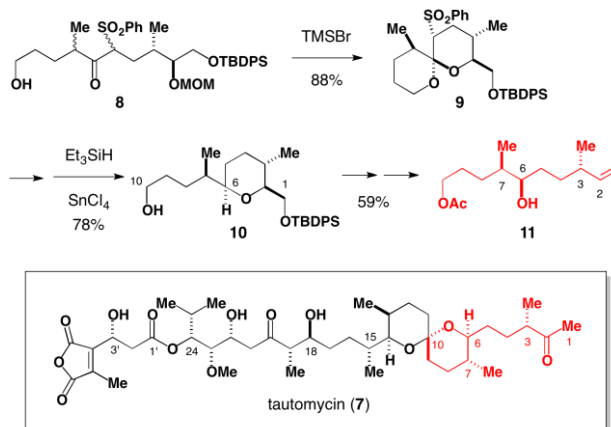
環体**5**ではそれとは逆の (*R*)-配置のものを用いる必要があることであった。この反応はmodel Aのようにして進行していると考えられたが、熱Diels-Alder反応において鎖状の立体制御が実現された例を筆者は他に知らない。この生成物**6**を足がかりにしてgrayanotoxin III (**1**) は菅敏幸博士(現 静岡県立大学教授)によって全合成された。Grayanotoxin類は細胞膜上のNaイオンチャンネルに結合して興奮と脱分極を継続させる。ライフサイエンス研究への展開はなかったが、合成化合物を用いることでおもしろい研究ができるかもしれないと今思う。

3. スピロアセタールの選択的還元開裂反応による遠隔不斉制御^{2,3}

北海道大学農学部農芸化学科、市原耿民教授・及川英秋助手(当時)のもとで博士課程の研究テーマとして与えられたのはtautomycin (**7**) の合成研究であった (Scheme 2)。分子量が700を超える中型のポリケチド化合物で、ある種の放線菌から単離された。タンパク脱リン酸化酵素の阻害剤として報告された化合物であったが、すでにokadaic acidが同様の*in vitro*活性を有する発がんプロモーターであったため、tautomycinにも同様の*in vivo*活性が期待された。ポリケチド類の合成は、アルドール反応を駆使して達成する方法が確立しつつあり、EvansやPatersonらが華々しい成果を継続的に発表していた。「アルドール反応を繰り返し行えば全合成はいずれ達成できるであろう」、そう思われたので、筆者らはできるだけこれを用いないことにした。Tautomycin (**7**) に特徴的なのは分子左端の無水マレイン酸部と、中央より少し右側のスピロアセタールである。後者のアセタール炭素はキラリティーを有するが、これは熱力学支配下で立体制御できるであろうと思われた。このアセタールを逆合成的にほどくとケトジオールが生じるが、そのカルボニル基から右端に至るC1-C10フラグメントの合成に新しい合成化学的手法を導入しようということになった。このフラグメントの主鎖はたかだか炭素数10であるが、不斉中心が3,6,7位に離れて存在している。3者の中でも特に3位が離れており、これらの立体化学を分子内の相互作用だけで誘起することはきわめて困難であることは明らかであった。ただ、鎖状化合物の立体選択的合成を実現するために環状化合物を中間体とした成功例がいくつかあり、このときも基本的には同様の戦略で解決を図ろうということになった。これに際しては、すでに及川英秋助手(現 北海道大学教授)の頭の中にて「スピロアセタールをテンプレートとして用いる遠隔不斉制御法」が思い描かれていた。基本的にはアセタール炭素の還元開裂反応であったが、用いる試薬によって立体保持で進行したり、立体反転で進行したりすることがわかっていた。また、切れる結合の制御も課題となった。何よりも、スピロアセタールの還元開裂は全く例がなく参考にできるものもなかった。

ので、基本的なモデル実験から始めることとして、基質の合成からこつこつ始めた。実験を始めてすぐにわかったことは、反応性が低いことであった。還元反応は基本的に室温近くでしか進行しなかった。また、その位置選択性はだまかにいえばスピロアセタール上の置換基との立体相互作用によって制御されていた。アルミニウムヒドリドを用いたときには立体保持、シランとルイス酸の組み合わせではオキシカルベニウムイオン中間体にヒドリドがアキシアル攻撃した生成物が主に得られた。

1年半ほどの格闘ののち、tautomycinの全合成に用いることのできるレベルの反応を見いだすに至った (Scheme 2)。すなわち、ジアステレオマー混合物として合成したケトアルコール**8**をルイス酸で処理して熱力



Scheme 2

学的に安定なスピロアセタール**9**へと収束させる。これをシランとルイス酸により還元するとアルコール**10**が単一化合物として得られた。ピラン環を α -ハロエーテルへと導いたのちに金属亜鉛で開環し、立体化学の整った鎖状化合物**11**を得た。これはtautomycinのC1-C10位に相当するフラグメントであった。Tautomycinの合成においては他にも複数の山があったが、**11**の特色ある合成に成功したので、あとはすんなり進んだように記憶している。全合成研究は気の持ちようで苦しくも楽しくもなる、不思議なものだと思う。ともかく1994年、tautomycinの全合成に成功した。ジアステレオマーの合成も行った。合成研究の途中でいくつもの部分構造を使い切らずに残した。そうしたサンプルを用いてタンパク脱リン酸化酵素の阻害活性を調べていただき、構造活性相関に関する知見を得ることも成功した。しかし、tautomycin自体には発がんプロモーション活性がないことが明らかにされ、in vivoあるいは表現型研究への展開が望めなかった。

4. 3-デオキシ-2-ケト酸構造を有する酸性糖Kdoの立体選択的グリコシド化⁴

大阪大学理学部化学科の楠本正一教授に助手として採用していただいたとき、グラム陰性菌表層のリピドAの合成研究を行うようにとのことだった。リピドAの合成は1984年から1985年にかけて完成をみており、筆者がこのプロジェクトに加わった1994年から2001年にかけては効率性の向上を中心に検討を進め、いくつもの類縁体を合成して構造活性相関に関する知見を得た。リピドAはヒト免疫系の活性化を促すリポ多糖の活性本体であるが、グラム陰性菌細胞表層のリポ多糖を加水分解して調製されるもので、実際には天然物の部分構造である。免疫系の活性化機構に関する研究はリピドAおよびその構造類縁体で行うことができたが、物性に関する研究、すなわち会合に基づく膜形成などに取り組むときには、リピドAに多糖が結合した天然型のリポ多糖を得ることがどうしても必要だった。しかしグラム陰性菌からの抽出物は夾雑物を含むため、化学的に純粋な標品を得る目的にはそぐわず、ここで化学合成の出番ということになった。

リポ多糖においてリピドAに直接結合するのは3-デオキシ-2-ケト酸構造を有する酸性糖Kdoで、これはグラム陰性菌に特異的な糖成分である。一般にリポ多糖ではKdoの先にO-特異多糖やコア多糖と呼ばれる領域があり、構造的にはきわめて複雑かつ不均一であるが、大腸菌のRe型変異株ではこれらの糖鎖が含まれていない (Fig. 1)。すなわちこのグラム陰性菌においては、2残基のKdoにリピドAが縮合した、比較的シンプルな糖鎖**12**が細胞の表層の構成成分のひとつなのである。そこまでわかっていてもRe型リポ多糖 (**12**) の全合成が達成されていなかった理由のひとつに、Kdoのグリコシド化における低効率性があった。グリコシド化反応はほとんどの場合において糖供与体の1位にオキソカルベニウムイオンを発生させる。Kdoやシアル酸などの3-デオキシ-2-ケト酸においては、この中間体がきわめて不安定で、容易にE1脱離反応を起こして不飽和カルボン酸エステルになってしまう。この不飽和カルボン酸エステルはもはやKdoの糖供与体

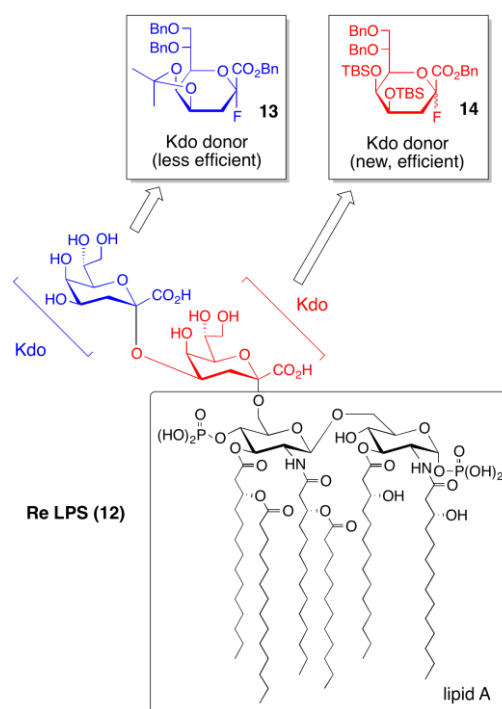


Figure 1

として用いることができない。実はKdoそのものの供給についても問題があった。それはこの酸性糖はきわめて高価であるため、一般にはマンノースを出発原料とする多段階合成により調製されるというものであった。筆者の知る限り、この状況は現在も改善されていないはずである。以上のような問題点を分析すると、リ

ポ多糖の全合成に際しては、戦略的には合成の最終段階でリポドA部分に対してKdoのグリコシド化を順次行うことによって達成すべきである、という合成計画が浮かぶが、Kdoのグリコシド化という戦術にも改善が必要であることは明白であった。解決するためのヒントはピラノースから生じるオキソカルベニウムイオンのコンホメーションにあった。従来は4,5-ジヒドロキシ基をイソプロピリデン基で保護していたが(糖供与体**13**)、このときに生じる脱離生成物が多く、多段階合成のボトルネックとなっていた。「この保護基を変えれば脱離が抑えられるかもしれない」、ただそれだけの考えで分子設計と呼べるものではなかったが、実際にはこれが的中した。TBS基で保護する、たったそれだけの変更で従来は40-60%程度の脱離物が副生していたのが、10%以下に抑えることができた(糖供与体**14**)。Re型リポ多糖の全合成は糖鎖の化学合成の中では格段に難度が高いが、このグリコシド化を見いだした吉崎弘明博士(現 味の素(株))のさらなる粘り強さもあって、2001年に完成することができた。これが天然リポ多糖の最初の化学合成である。合成経路が決まれば、構造のより単純な類縁体ならばいくつでも作ることができる。吉崎博士は佐藤健二郎君(現 武田薬品工業(株))とともに時間の許す限り多くの類縁体を作ってヒト血漿中のサイトカイン誘導活性を調べ、Kdo残基の存在がリポドAの活性に及ぼす影響に関する知見を得た。楠本教授の国際学会講演に間に合わせるため、合成品を抱えて新幹線に飛び乗り、アッセイ依頼先まで弾丸で往復したこともあった。また、Re型リポ多糖は予想通りに強い会合性を示しており、界面活性剤とともにDMSOに溶解してようやく¹H NMRの測定が可能であるほどであった。待ち望んだ研究がようやく開始できる段になったが、留学や所属の変更があり、先の展開に携わることができなかつた。リポ多糖の研究は自然免疫のメカニズムに化学の立場から理解に挑むだけでなく、グラム陰性菌の表層という構造物を理解する上でも重要なテーマである。貴重な機会を与えてくださった楠本教授には感謝している。

5. ルテニウムFischerカルベン錯体によるドミノメタセシス反応^{5,6}

2003年からお世話になった佐々木誠教授(東北大学生命科学研究科)のもとではニューロサイエンスとの出会いがあった。中枢神経シナプスに存在するイオンチャネル型グルタミン酸受容体 (iGluR) は、記憶や学習、痛みの伝達といった中枢神経系の基本機能を担う。また、GABA受容体とバランスをとりつつ、中枢神経系における恒常性は保たれているが、そのバランスが崩れると様々な神経性疾患を招き、たとえばアルツハイマー病やパーキンソン病、神経因性疼痛などの疾患と密接に関わっているとされる。佐々木研究室では、酒井隆一博士(現 北海道大学教授)によりマイクロネシア産海綿から単離されたdysiherbaine (DH) およびneodysiherbaine (NDH) の合成研究が行われていたが、すでにこれらは薬理学研究の結果から、iGluRに対するサブタイプ選択的なリガンドであることがわかっていた (Fig. 2)。特にKA型のiGluRに対する親和性が高く、18種あるいはそれ以上存在するサブタイプタンパク質の中からGluK1およびGluK2に対して選択的に作用する。in vivoでは、DHはマウスに対して痙攣を引き起こすなど、きわめて興味深いものであった。iGluR類の生物機能に関する研究は、約40年前にkainic acidが見いだされてから、サブタイプ選択的なリガンドを用いて進める方法が主に用いられてきている。天然物からは他にもdomoic acidやacromelic acid, kaitocephalinなどが見いだされ、それらとは別に開発された人工化合物は数多い。DHやNDHをテーマとする合成化学的研究は、4位に関する立体化学の異性体や、8, 9位の官能基および立体化学異性体の開発につながり、薬理作用の研究などから構造活性相関がまとめられた。DHや類縁体のいくつかは発現タンパク質との複合体のX線結晶構造解析も行われ、タンパク質とその機能発現に関する理解と制御が、これら一連の小分子化合物によって可能になった。特に8, 9位官能

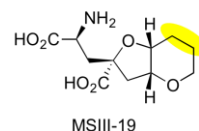
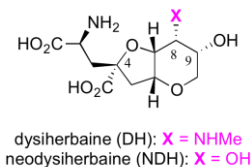
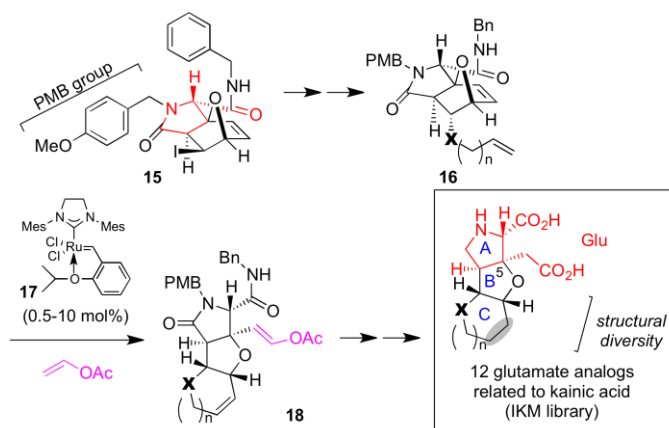


Figure 2

基を除去した化合物 (MSIII-19) は、結合することによってGluK1のリガンド結合部位のコンホメーションを大きく変化させるものの、それ自体はGluK1をきわめて弱く活性化するpartial agonistとしての機能しか有していないことが明らかになった。iGluRにおいては、リガンド結合部位のコンホメーション変化とその生物機能の間には相関関係が成立するという定説があり、MSIII-19はその定説に一石を投じるだけのインパクトある化合物であった。

さて、ここから人工化合物の話に転じたい。タンデム型のUgi/Diels-Alder反応で得られるオキサノルボルネン化合物**15**には、kainic acidやdomoic acidなどに特徴的なpyrrolidine構造が含まれている。このことに気づいたのがいつだったか、今は覚えていないが、**15**からこうした骨格に導くためにはカルボキシメチル基の導入が必要であり、当初はそれが容易でないと感じていた。ただ、メタセシス反応によればノルボルネン環の開環と置換基の導入が同時に行えるため、カルボキシメチル基の前駆体として酢酸ビニルやエチルビニルエーテルなどを交差メタセシスの基質として用いると良さそうだと思われた。しかし、文献に知られる情報は否定的であった。すなわち、これらのアルケンがメタセシス反応の停止剤として働くのみで、交差メタセシスの基質としては役に立たない、というものであった。メタセシス反応の進歩はめざましく、Hoveyda-Grubbs (HG) 型の新たな触媒の開発も報告される中であって、「高反応性のノルボルネンを基質とする反応であれば、反応性に乏しい基質との交差メタセシスが進行する反応条件を見いだせるかもしれない」、そう考えて検討を行ったところ、果たしてHG第二世代触媒 (**17**) を用いることによって望むドミノメタセシス反応を実現することができた (**16**→**18**, Scheme 3)。このメタセシス反応においてはふたつの幸運に恵まれた。一つ目は収率が良かったこと (>84%)、もう一つは酢酸ビニル基の導入箇所が完全に制御されていたことである。反応機構に興味を抱き、いくつかの関連実験を行って、最終的にはFischer型のカルベン錯体が活性種であることを¹H NMRにより明らかにすることができた。位置選択性はおそらく基質と錯体との立体相互作用によってもたらされているのであろう。メタセシス反応によって得られるヘテロ三環性化合物**18**はkainic acidなどに含まれるpyrrolidineジカルボン酸骨格を含んでおり、ここから先は数段階の官能基変換を、化合物の種類を増やしながらかけて、最終的に12種の化合物からなるkainic acidライブラリー (IKM library) を得ることに成功した。これらの化合物の生物機能評価をin vivoで行うと、幸運にもいずれの化合物にもマウスの自発的行動に変調をきたす活性が認められた。大まかに言えば、C環がエーテル環のものは興奮性で、含窒素環の場合は抑制性であった。親化合物のkainic acidをはじめとする天然由来のグルタミン酸アナログは興奮性であり、この研究で合成を行った人工化合物の中に抑制性の化合物を見いだしたことはきわめて興味深い。そこで抑制性化合物の構造展開を進めることにした。現在はIKM-159 (**19**) と名付けた化合物に行き着いている (Fig. 3A)。



Scheme 3

IKM-159 (**19**) はマウスの行動を50分から数時間にわたって抑制するが、その効果は可逆的で、マウスはその後完全に回復する (Fig. 3B)。in vitroでは標的タンパク質の同定を試みた。すなわち、放射性標識体を用いた競合結合試験では標的受容体を特定することが困難であったが、電気生理学試験によってIKM-159 (**19**) がiGluRのうちAMPA型受容体を阻害していること (Fig. 3C)、そしてGluA4のホモダイマー

およびGluA1/GluA2のヘテロダイマーに対してサブタイプ選択性があるという知見が得られた。中枢神経系シナプス受容体の生物機能の理解と制御、という観点から言えば、以上の成果はまだ満足のゆくレベルではない。AMPA受容体の阻害という*in vitro*での観察と、マウスの抑制という表現型とを直接つなぐデータに乏しいためである。これに対しては不斉合成による鏡像異性体の作用を比較することによって答えを見たいと考えている。最近、IKM-159 (**19**) とAMPA型受容体との複合体解析に成功した。これもAMPA型受容体の生物機能の理解に役立つであろう。AMPA型受容体はiGluRの中でもっとも記憶や学習への関連性が強いとされる。パーキンソン病の治療薬としてこの受容体を標的としたものも検討されていると聞く。我々の化合物**19**が創薬に直接つながるとは思っていないが、すくなくともアイデアのもとにはなるかもしれない。また、iGluRのリガンド認識と、それに基づくチャンネル部の動的構造変化の構造生物学は、未だに理解と制御の範疇の外にある。様々な性能を有するリガンドは、こうした未踏の領域においても役立つだろうと考えて研究を続けている。



Figure 3

6. これからの反応プロセス

筆者は2009年より現在の所属(横浜市立大学)にて研究を行っている。ここでは新たなテーマとして、中枢神経系のバランスの一端を担う、抑制性のGABA受容体を研究対象とすることにした。取り組み方はこれまでと同じで、天然物を

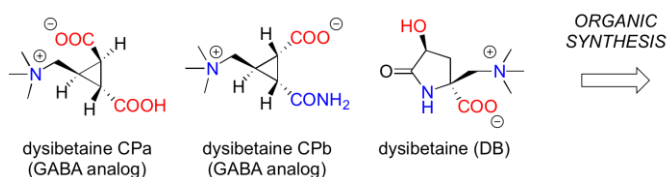


Figure 4

モチーフとする有機合成化学を始点とする (Fig. 4)。幹になるような新しい有機合成反応あるいはプロセスを開発して、その先にて「特異的なリガンド」という花を咲かせたい。まだ形は見えていないが、キーワードは有機触媒などになりそうである。GABA受容体は五量体のイオンチャンネルで、X線結晶構造の報告例がなく、研究対象としては難度が高い。じっくり取り組みたい。

7. おわりに

筆者は大学院を卒業したての頃に日本曹達(株)にて研究員として働いたことがある。有機金属の合成から除草剤の探索まで、広く化学研究に携わる機会を与えていただいた。ライフサイエンスにはほど遠かったが、もの作りの基本的な考え方や進め方など、大学の研究室では学ぶことが困難な内容を得ることができた。良くも悪くも企業研究時代の経験が染みついて、影響を受けている。現在は、天然物合成化学を楽しみたいという思いが強く、それと同時に、シンプルに「ものを作る」という研究に喜びと幸せを感じていたいと思う。その先で、タンパク質と表現型とをつなぐ化合物の開発を行いたい。

本稿にて紹介した内容は20年以上にわたるものである。筆者を指導してくださった諸先生方、苦楽とともにした共同研究者の皆様に感謝いたします。

参考文献

1. T. Kan, S. Hosokawa, S. Nara, M. Oikawa, S. Ito, F. Matsuda and H. Shirahama, *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*,

5532-5534.

2. M. Oikawa, T. Ueno, H. Oikawa and A. Ichihara, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 5048-5068.
3. M. Oikawa, H. Oikawa and A. Ichihara, *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 6237-6254.
4. H. Yoshizaki, N. Fukuda, K. Sato, M. Oikawa, K. Fukase, Y. Suda and S. Kusumoto, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 1475-1480.
5. M. Oikawa, M. Ikoma, M. Sasaki, M. B. Gill, G. T. Swanson, K. Shimamoto and R. Sakai, *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 5531-5548.
6. M. B. Gill, S. Frausto, M. Ikoma, M. Sasaki, M. Oikawa, R. Sakai and G. T. Swanson, *Br. J. Pharmacol.*, **2010**, *160*, 1417-1429.



研究紹介

ジンクフィンガー型人工転写因子
による細胞機能の制御京都大学化学研究所
今西 未来
(imiki@scl.kyoto-u.ac.jp)

【はじめに】

プロテオーム解析の進展に伴い、タンパク質の構造決定とともに、新しい機能を持ったタンパク質のデザインが大きく注目されている。ジンクフィンガーやロイシンジッパーは代表的なDNA結合タンパク質の構造モチーフであり、これらを人為的に設計あるいは改変することにより、天然の転写因子が成し得ないユニークな特性を持った人工DNA結合タンパク質や人工転写因子の創出が期待される。特に、膨大なゲノム中から標的とする遺伝子の発現を選択的かつ意図するタイミングで操ることができる人工転写因子は、生命現象の解明に貢献するのみならず、病因遺伝子の制御など医薬応用に向けても有用である。筆者は代表的なDNA結合モチーフとして知られるC2H2型ジンクフィンガーを鋳型として、新しいDNA結合特性を有する人工タンパク質のデザインを行ってきた。DNA結合能を外部刺激によって調節できるスイッチ型人工転写因子や、概日リズムを司る「細胞時計」を操る人工転写因子を作製したので、本稿で紹介する。

【C2H2型ジンクフィンガーとは？】

ジンクフィンガーは亜鉛イオンの結合によってドメイン構造を形成する代表的な構造モチーフである。全遺伝子の約3%もがジンクフィンガーをコードしており、その配位子(システイン:C、ヒスチジン:H)の種類によって、C4型、C3H型、C2H2型、C4-C4型などが存在する。中でも、C2H2型ジンクフィンガーは代表的なDNA結合モチーフとして知られている。このモチーフは約30アミノ酸残基からなる保存配列を有し、2つのシステイン残基とヒスチジン残基に亜鉛イオンが四面体型配位構造をとって結合する(図1A)。これにより、N末端側の逆平行βシートとそれに引き続くαヘリックスからなる構造が形成され、DNA結合能を発揮する。通常、1つのフィンガーが3塩基を認識し、複数フィンガーの連結体として、単量体でDNAに結合する(図1B,C) [1]。このような「金属イオン配位能」および「DNA認識能」の2つの精密な分子認識能を有し、モジュール構造をとってDNA結合能を発揮するC2H2型ジンクフィンガーは、

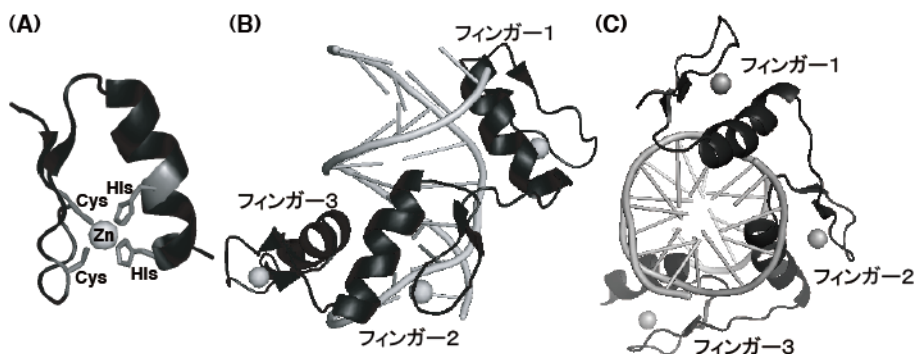


図 1. (A) C2H2 型ジンクフィンガーモチーフ。(B, C) Zif268 ジンクフィンガードメインと DNA との複合体構造 (PDB: 1AAY)。

新しいDNA結合特性を有する人工タンパク質の鋳型として大変魅力的である[2, 3]。実際、これまでに、認識に直接関わるアミノ酸残基を変えることによって、任意の標的DNA配列に対応するジンクフィンガーが創製されてきた。また、フィンガー同士の連結によって、結合DNA領域を拡張できることが示されてきた。これらのアプローチから、様々な長さ、配列のDNAに結合するジンクフィンガータンパク質を作ることが可能になってきた(図2)。さらに、転写調節ドメインやDNA切断ドメインと融合することによって、遺伝子配列選択的な機能性分子として様々な応用が可能である。

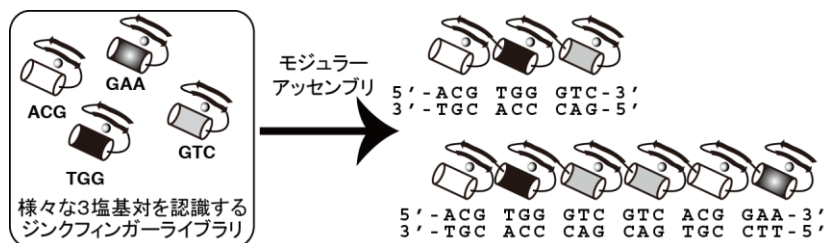


図2. 任意の配列を標的とするジンクフィンガー蛋白質を作製するためのモジュラーアッセムブリ法概念図。シングルフィンガーライブラリはファージディスプレイ法などの分子進化法によって構築されたものを用いる[4, 5]。

【リンカー改変型ジンクフィンガーの作製】

約30億塩基対からなる巨大なヒトゲノム中から唯一の領域を標的とするには、確率論的に、 $4^{16} > 30$ 億、すなわち、16塩基対以上を特異的に認識する必要がある。1フィンガーあたり3塩基を認識することから、6つのフィンガーの連結体は18塩基を認識することが期待される。実際、様々な3塩基に対応するジンクフィンガー同士を保存されたリンカー配列(TGKEP)を用いて連結するモジュラーアッセムブリ法によって、様々な長さのDNA配列を標的とするDNA結合ドメインが設計されてきた(図2)[4, 5]。(注:この方法は簡便で、これまでに数々の成功例が報告されている。と同時に、ジンクフィンガーの組合せによっては、目的DNA配列に対して期待する結合能を発揮しない例が多いのも事実である[6, 7]。しかしながら、今のところ簡便かつ完璧なデザイン方法はまだない。)

一方、より多様なDNA配列を標的とするには、離れたDNA領域を選択的に認識できるジンクフィンガーも有用である。そこで、筆者はジンクフィンガー同士を連結するリンカー領域に着目した。リンカーの長さ、柔軟性、電荷、構造を系統的に変化させたフィンガー6連結体を作製した結果、不連続標的配列への高い結合親和性[8]や、DNAのトポロジー(位相)に依存した結合選択性[9]が獲得できることが示された(図3)。また、リンカーの長さを調節することによって、転写開始複合体の形成を促進することが期待される「DNA湾曲」を誘発する人工ジンクフィンガータンパク質も創製することができた[10]。

さらに、4価のセリウムイオンの結合によってDNA加水分解活性を示すことが知られているカルシウム結合ループアナログをリンカーとして用いた場合には、セリウムイオン存在下、標的配列間でDNAが切断された[11]。リンカーは単純にジンクフィンガー同士を連結する役割だけではなく、そのDNA結合特性に大きな影響を与える上、新しい機能を付加できる大きな可能性を秘めていると考えられる。

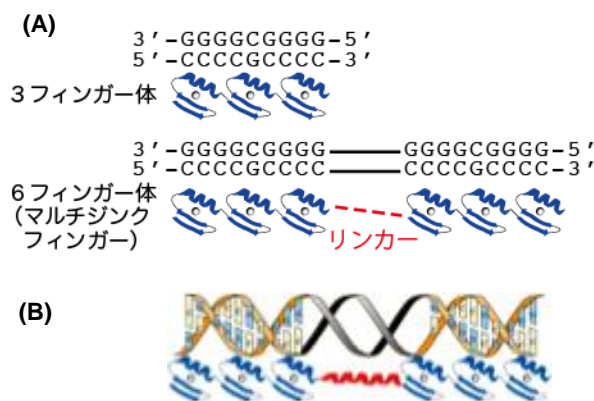


図3. (A) 様々なリンカーを用いたマルチジンクフィンガーによるDNA結合領域の拡張、選択性の獲得 (B) 例えば、ヘリックス傾向性が高いアミノ酸配列で連結した場合には、10塩基対離れた同位相にある標的配列に対する高い選択性が得られた。

【亜鉛濃度応答性人工転写因子の作製】

遺伝子を人為的に制御するにあたり、「適したタイミングでの機能制御」が求められる。典型的なC2H2型ジンクフィンガーでは、2つのシステインおよびヒスチジン配位子への亜鉛イオンの結合は極めて強い。そのため、低濃度の亜鉛イオン環境であっても、ジンクフィンガーは亜鉛イオンと結合し、構造形成ひいてはDNA結合能を保持している。そこで、配位子アミノ酸を置換することによって、亜鉛イオンの結合親和性を下げることができれば、亜鉛イオン濃度に応答した構造形成能およびDNA結合能を示すのではないかと考えた[12]。そこで、最もその性質が知られている転写因子Zif268のジンクフィンガードメインに存在する3つのC2H2型ジンクフィンガーのうち、2番目のフィンガーの配位子システインの一つをアスパラギン酸に置した(図4A)。この配位子置換型(CDHH型)ジンクフィンガーは、野生型に比べて約500倍低い亜鉛イオン結合親和性を示した。興味深いことに、配位子置換型は亜鉛イオン存在下では高いDNA結合活性を示し、亜鉛イオン低濃度条件ではDNA結合活性をほとんど示さなかった。さらに、転写活性化ドメインとの融合体を細胞内で発現させ、プロモーター中にジンクフィンガー結合配列を有するレポーターベクターを用いて、転写活性化量を測定したところ、細胞培養液中に添加した亜鉛イオンの濃度に依存した転写活性化がみられた(図4B)。すなわち、配位子を一ヶ所置換するだけで、亜鉛イオン濃度応答性の転写因子として機能することが明らかになった。この方法は、バックグラウンドが低い上、ジンクフィンガーのDNA結合能そのものを調節できるため、速やかな応答性も期待される。

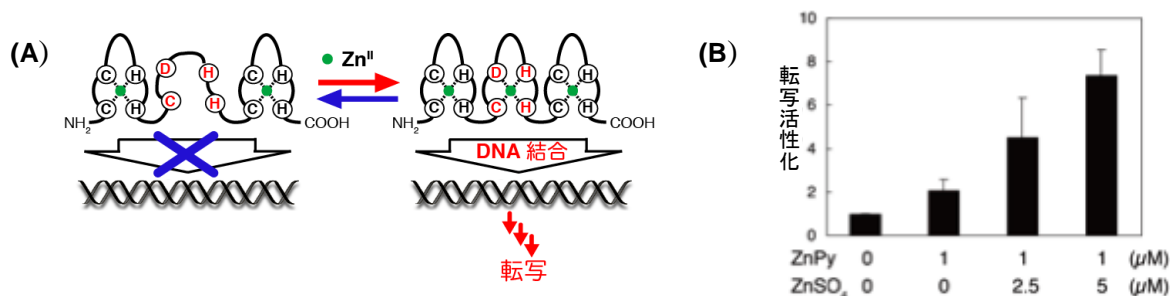


図4. (A) 配位子置換型ジンクフィンガーによる亜鉛イオン濃度応答性 DNA 結合の概略図。(B) CDHH 型ジンクフィンガーを有する人工転写因子による転写活性化。グラフ下は細胞培養液に添加した亜鉛イオン量。

【細胞時計を操るジンクフィンガー型人工転写因子】

血圧、体温、睡眠・覚醒など、様々な生理現象には、約24時間周期で変動する概日リズムが認められる。この体内時計の主要機構は「同調・発振・出力」であると考えられている(図5)。約24時間周期での振動を生み出す「発振」を司るのは、約20種類の時計遺伝子が形成する「転写フィードバックループ」であり、これらの遺伝子発現自体が約24時間周期でリズムに変動していることが明らかになってきた。またこの

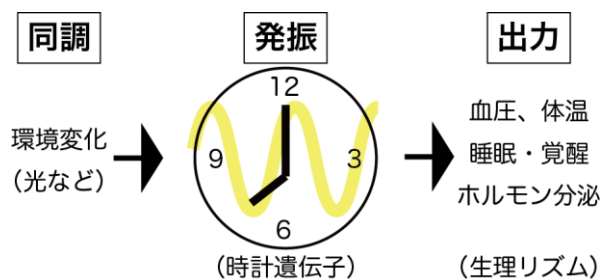


図5. 約24時間周期の生体リズムを維持する体内時計の主要機構

「発振」を受け、数々の時計制御遺伝子がリズム的に「出力」され、様々な生理現象として現れる。さらに、体内時計には、環境変化に応答するためにリズムをリセット(位相シフト)させる「同調」機構が存在する(例えば、光照射による時差ボケの改善)。このような、「同調、発振、出力」機構で構成される体内時計は脳・中枢のみならず、個々の末梢細胞にも存在し、MEFやNIH3T3などの培養細胞でもリズムを強く検出するこ

とができる。しかしながら、細胞の時計システムは複雑な上、同種の転写因子結合エレメントが複数の遺伝子上に存在するため、個々のエレメント、および個々の遺伝子を選択的に操作することが困難である。そのため、発振を司るコアクロックに直接かつ遺伝子選択的に作用して、細胞の時計を人為的に調節するといった試みはこれまでになかった。

特に「同調」機構においては、グルココルチコイドホルモンなどによって位相シフトが生じることが知られているものの、これらの刺激によって様々な遺伝子の発現が変動するため、どの遺伝子、どのエレメントが重要であるのかが不明であった。その上、体内時計の同調を人為的に制御する際に、意図しない副反応が伴ってしまう。したがって、特定のエレメントに選択的に作用して、同調を誘起する分子ツールが求められている。筆者は、アミノ酸改変とフィンガーの連結によって、任意のDNA配列へ結合する人工マルチフィンガーがデザインできることに着目し、時計遺伝子 *Period1* のグルココルチコイド応答配列 (GRE) のみを標的とするマルチジンクフィンガー、および人工転写因子をデザインし、細胞の時計の人為的なリセット (位相シフト) に挑戦した (図6) [13]。

GREは12塩基の保存配列を有するが、標的遺伝子のGREのみへの選択性を期待して、その周辺配列も含めた18塩基対を標的とする6フィンガー連結体を作製した。ゲルシフトおよびクロマチン免疫沈降の結果、このジンクフィンガーは他の遺伝子プロモーター中のGREには結合せず、ゲノム中の標的に高い選択性で結合することが示唆された。さらに、このジンクフィンガーに転写活性化ドメイン (AD) を融合した人工転写因子および、この人工転写因子の蓄積・分解をリガンドによって制御できるドメイン (分解ドメイン: DD) を付加した、DD-ZF-ADを細胞内で発現させた。その結果、リガンド添加のタイミング依存的に、時計遺伝子発現リズムの位相が前後にシフトした (図7)。人工DNA結合タンパク質という新しい分子ツールを用いて、はじめて体内時計の「同調」を遺伝子選択的に誘起することに成功し、また、「同調」における *Period1* 遺伝子の重要性を直接的に示すことができたといえる。高い選択性で時計遺伝子ネットワークに直接作用し、リズムのリセットを誘起できる本人工転写因子は、概日リズムの制御メカニズムの解明のみならず、副反応を抑えた時間治療の新しい概念を生み出し、また、ゲノムを直接標的とする新しいプロモーター解析法の開発に向けても大きな前進をもたらすことが期待される。

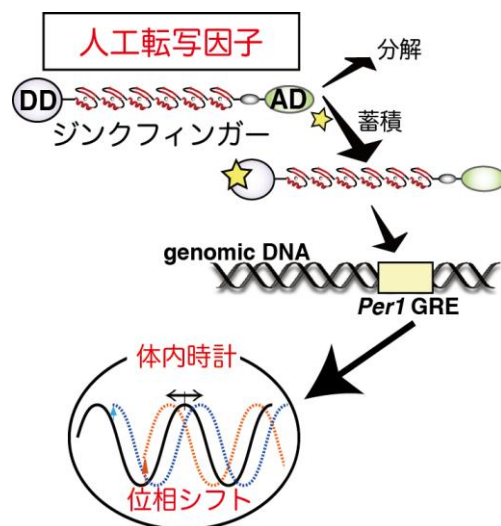


図6. 時計遺伝子 *Period1* プロモーター中のグルココルチコイド応答配列 (GRE) を標的とするジンクフィンガー型人工転写因子「DD-ZF-AD」の創製と、それによる細胞時計の位相シフトの誘起。AD: activation domain, ZF: zinc finger domain, DD: destabilizing domain

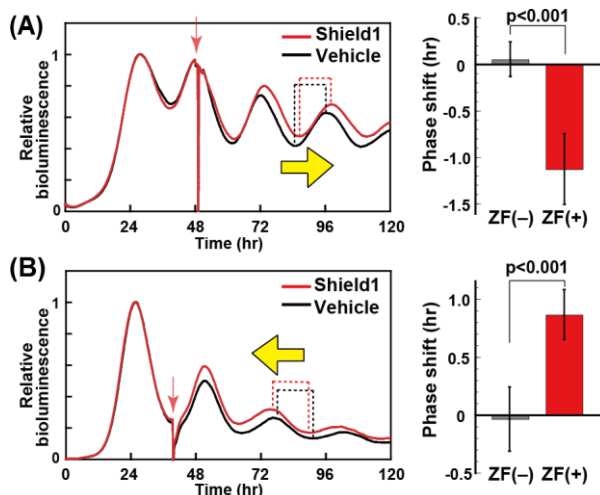


図7. 人工転写因子 DD-ZF-AD による細胞時計の位相シフト。赤矢印はリガンドを加えた時点を示す。時計遺伝子発現リズムの山 (A) および谷 (B) でリガンドを添加した場合、位相の後退 (A)、前進 (B) (黄太矢印) が生じた。

【おわりに】

高等生物に最も普遍的に見られる「ジンクフィンガーモチーフ」のシンプルかつ精密な分子認識能を利用してデザインされた「人工ジンクフィンガータンパク質」は、天然のジンクフィンガーにはない新しい機能を発揮している。今後、天然に倣った分子デザインに加えて、遺伝子回路などのネットワーク自体を人工的に構築することで、生命現象をシステムティックに理解していきたいと考えている。

【謝辞】

ジンクフィンガーの研究を行うにあたり、大学院時代よりご指導いただきました杉浦幸雄先生(現同志社女子大学薬学部)に深く感謝します。また、研究に対して、ご支援、ご協力いただきました、京都大学化学研究所二木史朗先生および、旧杉浦研、二木研の皆様は厚く御礼申し上げます。また、時計遺伝子の制御に関する研究は、京都大学大学院薬学研究科の岡村均先生、土居雅夫先生との共同研究であり、深く感謝いたします。

参考文献

1. Elrod-Erickson M., Rould M.A., Nekludova L., and Pabo C.O., *Structure*, **4**, 1171-1180 (1996).
2. Negi S., Imanishi M., Matsumoto M., and Sugiura Y., *Chemistry*, **14**, 3236-3249 (2008).
3. Klug A. *Annu. Rev. Biochem.*, **79**, 213-231 (2010).
4. Segal D.J., Dreier B., Beerli R.R., and Barbas C.F.III, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 2758-2763 (1999).
5. Mandell J.G. and Barbas C.F.III, *Nucleic Acids Res.*, **34**, W516-523 (2006).
6. Imanishi M., Nakamura A., Morisaki T., and Futaki S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **387**, 440-443 (2009).
7. Ramirez C.L., Foley J.E., Wright D.A., Müller-Lerch F., Rahman S.H., Cornu T.I., Winfrey R.J., Sander J.D., Fu F., Townsend J.A., Cathomen T., Voytas D.F., and Joung J.K., *Nat. Methods*, **5**, 374-375 (2008).
8. Imanishi M., Yan W., Morisaki, T., and Sugiura Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **333**, 167-173 (2005).
9. Yan W., Imanishi M., Futaki S., and Sugiura Y., *Biochemistry*, **46**, 8517-8524 (2007).
10. Imanishi M. and Sugiura Y., *Biochemistry*, **41**, 1328-1334 (2002).
11. Nakatsukasa T., Shiraishi Y., Negi S., Imanishi M., Futaki S., and Sugiura Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **330**, 247-252 (2005).
12. Imanishi M., Nakaya T., Morisaki T., Noshiro D., Futaki S., and Sugiura Y., *Chembiochem*, **11**, 1653-1655 (2010).
13. Imanishi M., Nakamura A., Doi M., Futaki S., and Okamura H., *Angew. Chem. Int. Ed.* **50**, 9396-9399 (2011).

研究紹介

有機合成化学を起点としたタンパク質翻訳後修飾の制御分子開発

理化学研究所基幹研究所 袖岡有機合成化学研究室
平井 剛
(gohirai@riken.jp)



はじめに

私の研究は、「脂質(様)の天然物や生体分子」を基盤として、「タンパク質翻訳後修飾の制御」を可能にする分子を新たに創出する研究と表現できる。最近 SUMO 化に着目した分子創製を検討し始めているが、研究の中心はタンパク質リン酸化である。

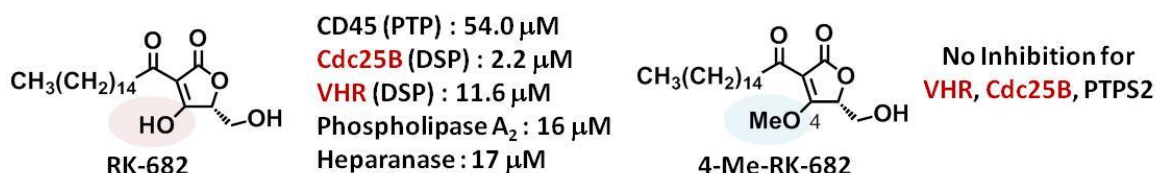
さて制御分子と言っても、その構造を 0 から設計するのはまだまだ難しく、天然物や生体分子を基盤として研究を進めるのが、無難な方法と考えられる。私達は、タンパク質リン酸化に関わる重要な分子に着目し、その分子が持つ欠点を克服でき、なおかつ生物活性に重要な構造要素を維持できるような「新しい構造」を設計することを出発点としている。具体的な分子としては、糖脂質のガングリオシド、生体脂質 diacylglycerol、天然物 RK-682 および Physalin 類などである。設計した「新しい構造」を構築するには、新しい合成手法が必要であり、また生物活性を正しく理解するには構造活性相関研究も重要である。時間と労力がかかる地味な研究ではあるが、新しい分子を創出し、その生物活性を明らかにしていく研究は、化合物ライブラリーからのスクリーニングとは異なる知見が得られる可能性があるため、非常に重要であると信じている。未だにいろんな意味で“使える”分子の創出には至っていないが、世の中にはあまり存在しない比較的ユニークな活性を持つ化合物を幾つか見出すことが出来ている。本稿では、プロテインホスファターゼ阻害剤とガングリオシドアナログの研究について、簡単に紹介させていただきたい。

タンパク質のリン酸化は、細胞内の情報伝達の鍵反応として非常に良く知られている。このリン酸化修飾を担う酵素は、リン酸化酵素(プロテインキナーゼ)で 518 種類¹、脱リン酸化酵素(プロテインホスファターゼ)で 132 種類^{2,3}も存在する。それぞれの基質特異性、局在、機能などの一部は解明されているものの、細胞内のリン酸化ネットワークは複雑化しており、個々の酵素のさらなる機能解明や、シグナル伝達におけるこれら酵素の時間的、空間的、系統的な理解など、まだまだ課題が残されている。プロテインキナーゼは、疾病との関連も多く報告されていることから、大学・研究機関だけでなく、企業でもその阻害剤開発が活発に進められてきた。我々もプロテインキナーゼ C の活性調節分子の創製⁴を検討しており、まだまだプロテインキナーゼに関しても課題は山積みであることを痛感させられている。しかし、それでも利用できる阻害剤は多く知られている。一方、プロテインホスファターゼに目を向けると状況は全く異なる。そもそも有用な阻害剤は、後述する DSP 類に関しては、ほとんど存在しないといっても過言ではない。このことがすべての原因とははっきりと言えないが、プロテインホスファターゼの研究自体がプロテインキナーゼに比べて遅れているように見える。しかし、細胞内のリン酸化カスケードの制御、理解のためには、プロテインホスファターゼの阻害剤開発も重要であると考えている。

RK-682 研究の再スタート

私は 2002 年に袖岡研究室に着任した。当時研究室は東北大多元研にあり、普通の有機系の研究室で、アッセイは酵素レベルの系しか持っていなかった。着任してすぐに袖岡幹子先生から、培養細胞を用いた実験系を研究室で持ちたいと提案があった。理化学研究所の長田裕之先生のご厚意で、長田研究室に二週間お世話になり、幾つかの基礎的実験を学ばせていただく機会を得た。学生時代に天然物の全合成研究に従事していた私にとって、新しい分野の実験技術、概念を身につけることができる貴重なチャンスであった。その時に、「RK-682(図 1)がヘパラーゼの阻害剤として見つかった⁵ので、合成して欲しいものがあるのだけど」と声をかけていただいた。RK-682 は、長田研究室で同定されたプロテインホスファターゼ VHR の阻害剤である⁶。すでに当研究室では、私の着任以前に RK-682 の合成と構造活性相関を検討し終えていて⁷、合成研究としてはやることがほとんどなかった。研究室の冷凍庫に 40 種程度の誘導体が残っているのは知っていたので、その誘導体をもう一度提供し、各種誘導体の中から活性の良い化合物を見つけるのかな?とぼんやり考えていた。しかし彼らからの提案は、4 位水酸基をアルキル化した RK-682 を合成して欲しいということであった。

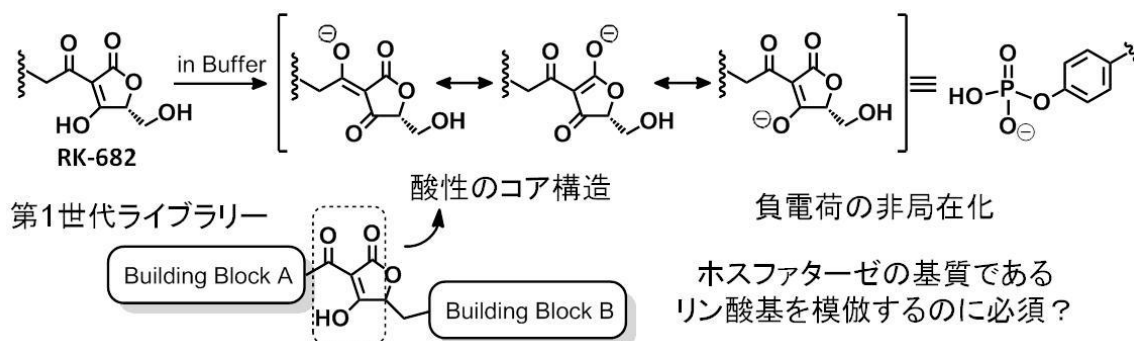
図 1. RK-682 と 4-Me-RK-682 の構造と報告されている阻害活性



以前の研究:天然物 RK-682 と第 1 世代の目的志向型ライブラリー

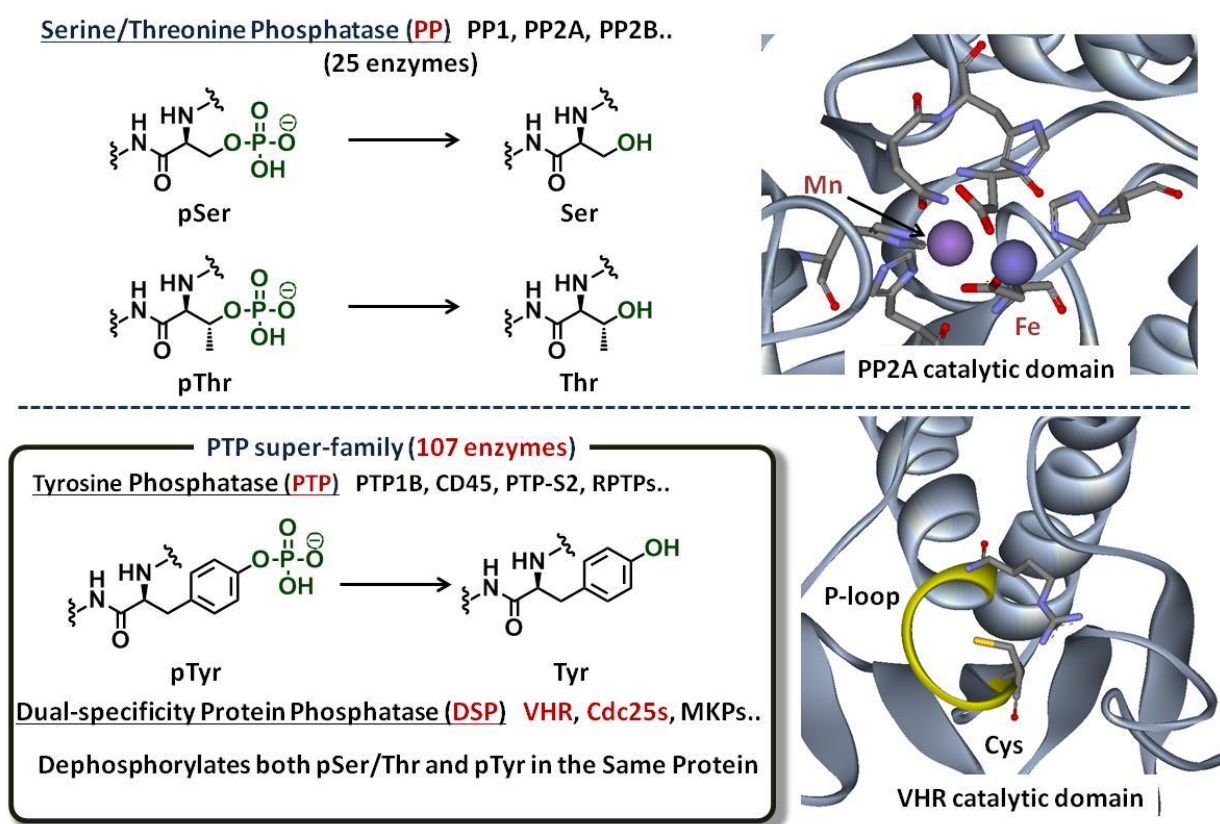
RK-682 は、強酸性の 3-アシルテロン酸構造を持つ脂質様化合物である。通常のアッセイ条件では、4 位水酸基は解離し、アニオン型の構造を持つ。以前の構造活性相関研究で、4 位水酸基をメチル化した 4-Me-RK-682(図 1)が VHR に対する阻害活性を全く示さなかった。このことから当時は、VHR に対する阻害活性にはこの解離型構造が「必須」であると結論付けた。3-アシルテロン酸構造の強酸性は、解離型構造において負電荷が3つの酸素原子に非局在化できることに起因すると考えられる(図2)。この「負電荷の非局在化」によってリン酸モノアニオンの「負電荷の非局在化」を模倣でき、RK-682 が酵素活性中心に結合するであろうと考察した。また VHR と RK-682 の結合モデルからも、この考察がおそらく正しいと支持された。そこで、この 3-アシルテロン酸をリン酸エステルミミック構造と考え、これを「コア構造」とする第 1 世代の目的志向型ライブラリー(Focused Library)が構築された(図 2)⁷。

図 2. RK-682 の解離型構造と負電荷の非局在化、および第 1 世代のライブラリー構造



プロテインホスファターゼは、セリンスレオニンに結合したリン酸基を除去するPP類(25種)³とチロシンに結合したリン酸基を除去するPTP類(107種)²に大きく分類できる(図3)。PTP類には、同じタンパク質上のセリンスレオニン、およびチロシンに結合したリン酸基を除去できる両特性ホスファターゼ(DSP)類も含まれ、VHRはDSP類に分類される。DSP類がPTP類と同じファミリーとして考えられている理由は、共通して活性中心にシステイン残基を含むループ構造(P-loop)を有するためである。合成された第1世代のライブラリーは、DSP類であるVHR、CDC25B、PTP類の1種であるPTP-S2に対して阻害活性が評価された。その結果、ライブラリーの中からこの3種に対してある程度の酵素選択性を持つ化合物が幾つか見出された。しかしながら、上記のようにRK-682自身がヘパラーゼなどの他の酵素を阻害してしまうこと、また細胞レベルでの効果が大幅に低下することなどの問題点が残されていた⁸。

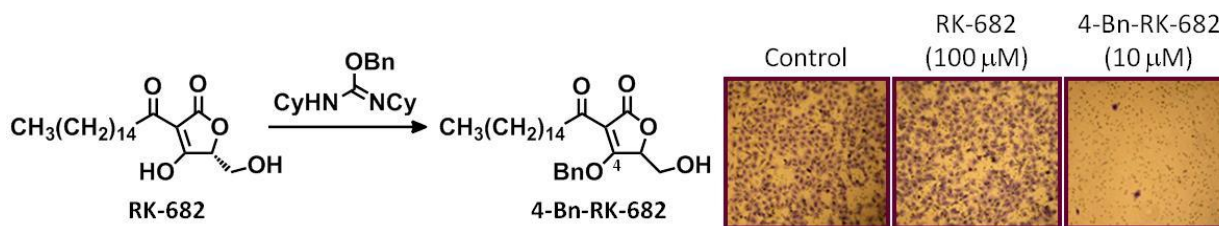
図3. プロテインホスファターゼの分類



ヘパラーゼ阻害剤の研究から DSP 阻害剤開発へ

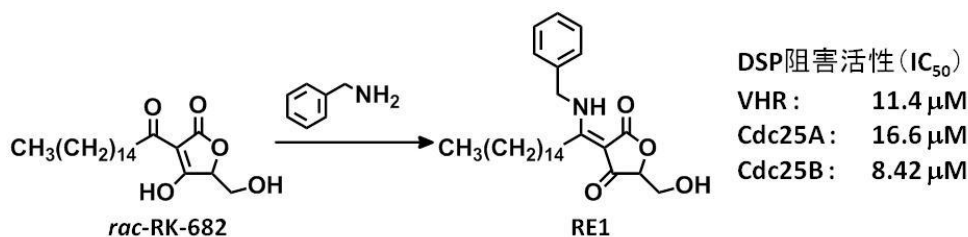
ヘパラーゼは、ヘパラン硫酸を分解する酵素であり、がんの転位、浸潤に関わっていることが知られている。4位をメチル化した4-Me-RK-682がVHRを阻害しなかったことから、4位アルキル体がヘパラーゼに対する阻害活性を示せば、ホスファターゼを阻害しない選択的なヘパラーゼ阻害剤になると期待した。実際ヘパラーゼとRK-682との結合モデルからも、4位アルキル化は阻害活性にポジティブに働くことが推定された。そこで天然物のRK-682を使わせていただき、イソウレアを利用したアルキル化反応によって幾つかの化合物を合成した。アッセイの結果4-Bn-RK-682がVHRを阻害せず、ヘパラーゼをRK-682と同程度阻害することがわかった。さらに4-Bn-RK-682は、HT1080細胞の浸潤、遊走を阻害することもわかった。一方で、RK-682はHT1080細胞に対してまったく効果を示さなかった(図4)⁹。このことから、RK-682が持つ負電荷が、細胞レベルでの効果を低減させていることが示唆された。

図 4. 4-Bn-RK-682 の合成と HT1080 細胞の浸潤抑制活性



細胞レベルで効果を示したので、次に *in vivo* で効果を検証しようということになった。しかし、4-Bn-RK-682は水溶性が低かったので、少しでも水溶性を上げたいと考えた。そこでまず単純に、4位のO原子をN原子に置き換えてみることを考えた。RK-682をBnNH₂で処理して、4-BnNH体ができることを期待したが、3位アシル基がエナミン化された化合物 RE1が生じた。この活性を調べてみると、予期せぬことにヘパラーゼを全く阻害しないことがわかった。さらに意外なことに、この化合物が「負電荷」を持たないにも関わらず、RK-682と同程度 VHR の阻害活性を示したのである(図 5)。このことは、RK-682の構造を基盤として、ヘパラーゼを阻害せずにホスファターゼを阻害できる化合物が創製できる可能性を示唆していた。また、「負電荷」を持たないことから細胞レベルでも使えるホスファターゼ阻害剤になると期待した。

図 5. RE1 と DSP 類に対する阻害活性

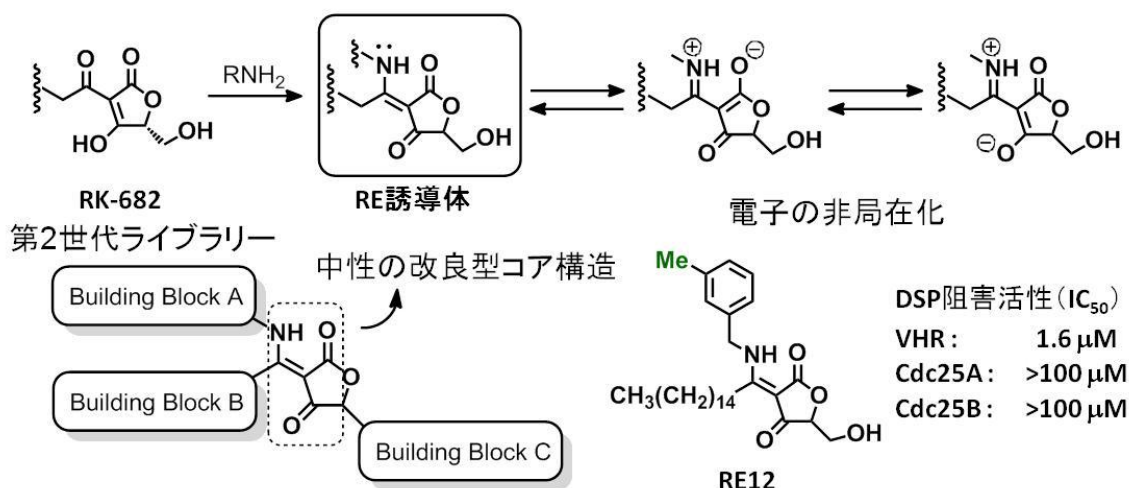


RK-682 Enamine (RE) 誘導体と第 2 世代の目的志向型ライブラリー^{10,11}

RK-682では、「負電荷の非局在化」がリン酸基をミミックする重要な因子と考えていたが、RK-682のエナミン体(RE誘導体)がVHRに阻害活性を示した理由を以下のように考えた。RE誘導体で共鳴構造を考えると、N原子の lone pair の影響により5員環上の2つのカルボニル酸素の電子密度が上昇していることが考えられる。従ってRE誘導体の場合は中性分子ながら、「電子の非局在化」によって母核構造がリン酸基をミミックするようになっていると考えた。そこでこの部分を改良型コア構造とした第2世代のライブラリーを構築し、各種酵素レベルでの阻害活性を検討した(図6)。その結果、RE誘導体はDSP類の中でもVHR、CDC25A、CDC25Bを阻害し、CDC25CやMAP Kinase Phosphatase (MKP)類は阻害しなかった。さらにPTP類であるPTP1B、CD45も阻害しなかった。これらの酵素に対してRK-682は顕著な阻害活性を示すことから、改良型コア構造を持つRE誘導体では酵素選択性が大幅に改善していることがわかった。さらに検討したところ、VHRを選択的に阻害するRE12を見出すことができた(図6)。

RE誘導体は細胞膜透過性があることも期待できた。実際、HL-60細胞の増殖抑制活性を検討したところ、RK-682ではまったく効果を示さなかったのに対し、RE誘導体では大抵の化合物で10 μM以下の濃度で増殖抑制活性を示した。この時点では、RE誘導体が細胞内でもホスファターゼを阻害しているとははっきりと言えなかったが、少なくともRK-682よりは細胞膜透過性が改善していることを確認できた。

図 6. RE 誘導体の共鳴構造と改良型コア構造を持つ第 2 世代ライブラリー



VHR 阻害剤の細胞レベルでの機能評価¹¹

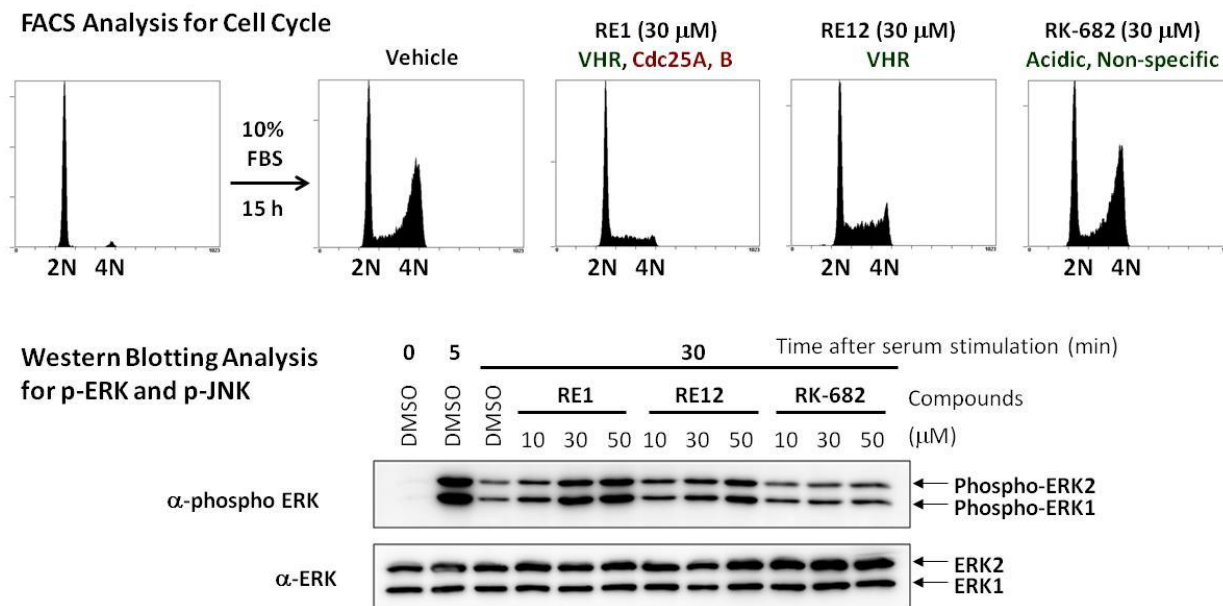
開発した阻害剤が、細胞内で特定のホスファターゼを阻害しているという実験データを得るのは非常に難しかった。理想は RE 誘導体が結合する細胞内のタンパク質を解析することである。私達は、この目的のために RE 誘導体をベースにして結合タンパク質と共有結合を形成する不可逆的阻害剤を開発し、結合タンパク質の同定を試みている(未発表)。一方、RE 誘導体のアフィニティゲルを作成し、結合タンパク質を同定しようとしたが、脂溶性のためか解析が困難であった。論文発表のために VHR 阻害剤の評価法を別に構築する必要があった。

VHR というホスファターゼは DSP 類に分類され、atypical DSP と言われている。90 年代中盤に X 線結晶構造解析¹²が報告され、またその後、分子生物学的手法により MAP Kinase であるリン酸化 ERK や JNK を基質とする酵素であることがわかってきた^{13,14}。DSP 類には、同じ MAP Kinase 類を基質とする MKP 類が存在する¹⁵。これらは基質認識に関わる CH2 ドメインを有し、機能解析が少しずつ進んでいる。VHR は CH2 ドメインを持たず、さらに MAP Kinase のリン酸化が更新しても VHR の発現量は変わらないことから、あまり重要視されていなかった。2006 年に Mustelin らは、HeLa 細胞において VHR が細胞周期調節に直接関与していることを Si-RNA を用いたノックダウン実験によって明らかにした¹⁶。さらに VHR をノックダウンすると、細胞内の ERK、JNK のリン酸化レベルが亢進することも示された¹⁶。彼らの結果は、VHR を阻害すると ERK、JNK の脱リン酸化が抑制され、細胞周期が G1-S もしくは G2-M 期間で停止する可能性があることを意味していた。またその後 VHR が、子宮頸がんや前立腺がんが過剰発現していることが報告され、VHR 阻害剤開発が創薬化学的観点からも重要であることが示されるようになってきている^{17,18}。

まずは VHR 阻害剤で細胞周期を停止できるかどうかを確認しようと考え、HeLa 細胞で種々検討したが、うまく細胞周期を止めることが出来なかった。NIH3T3 細胞に変え血清飢餓にして細胞周期を G0 期に同調させ、血清刺激によって細胞周期を動かす系を試したところ、RE1 と RE12 が G1 期で細胞周期の進行を停止させることを見出した(図 7)。またこの系において ERK、JNK のリン酸化レベルは、血清刺激により亢進し、さらに 30 分後には脱リン酸化反応が進行して、元の低い状態に戻る。RE1 や RE12 は、この脱リン酸化を遅らせ、ERK、JNK のリン酸化レベルを少し高い状態に保てる効果があることがわかった(図 7)。少なくとも *in vitro* では MKP 類を阻害しなかったことから、本結果は RE 誘導体が細胞内 VHR を阻害した結果であると考えている。またこの時、CDC25A も阻害できる RE1 の方が VHR のみを阻害する RE12 よりも細胞周期停止、MAP Kinase の脱リン酸化抑制ともに効果が高いことがわかった。ERK と ERK のリン酸化カスケ

ード上流に存在する Raf-1 の脱リン酸化に CDC25A が関わっていることが報告されている。RE1 によって VHR と CDC25A が共に阻害され、Raf-1 と ERK のリン酸化レベルが共に高くなったことに起因していると考えられることができる。

図 7. VHR 阻害剤 RE1 と RE12 の NIH3T3 細胞に対する効果



VHR 阻害剤はこれまで幾つか報告があるが、そのほとんどは酸性官能基を分子に持つ。またこれらの細胞レベルでの活性については論文内でほとんど議論されておらず、また議論されていたとしても *in vitro* の阻害活性に比べて著しく効果が低下している。私達は、これらの欠点を克服する中性構造の VHR 阻害剤という珍しい化合物を開発した。まだ *in vitro* の阻害活性は十分ではないが、本化合物によって初めて VHR 阻害剤が細胞内で MAP Kinase の脱リン酸化を抑えることを示せたことは、非常に重要な結果であると考えている。現在、ライブラリーの中から CDC25 類に選択的な阻害剤など、さらにユニークな化合物を見出すことに成功している。今後も、これら化合物の改良を少しずつ進めると同時に、未だ効果的な阻害剤のない MKP 類の阻害剤創製にも取り組んでいきたいと考えている。

加水分解されない糖脂質(ガングリオシド)の研究

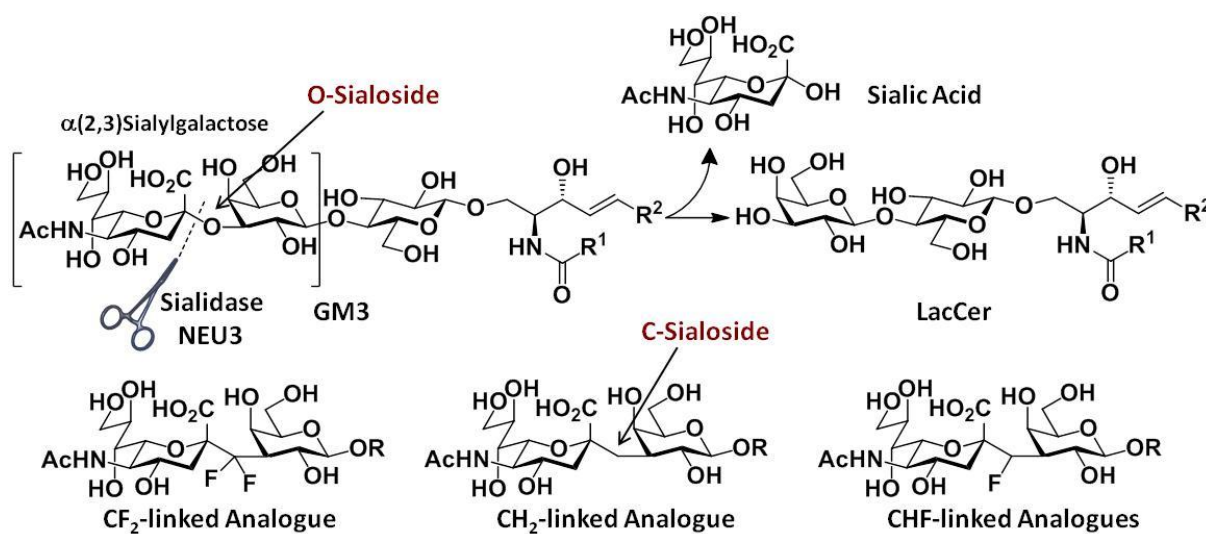
糖脂質は、主に細胞膜上に存在する重要な分子群である。その中で 1 つ以上のシアル酸を含むものを総称してガングリオシドと呼ぶ。ガングリオシドもまたタンパク質リン酸化を制御することが知られている。

私達がこの研究に着手したのは、宮城県立がんセンターの宮城妙子先生(現東北薬科大)からシアリダーゼ NEU3 のお話を伺ったのがきっかけである。NEU3 は、GM3、GM4 などのガングリオシドに存在するシアル酸のみを切断し別の糖脂質 LacCer、GalCer を与え、オリゴ糖や糖タンパク質上のシアル酸は切断しないという独特の基質特異性を有する(図 8)。またほとんどのがん細胞で NEU3 は過剰発現しており、LacCer の蓄積、アポトーシスの抑制、細胞の運動性亢進など、がんの悪性化に寄与している。このことから NEU3 は、新たな抗癌剤のターゲットとして注目されている。しかしながら、GM3 などのガングリオシドの代謝と NEU3 による癌の悪性化との関係性ははっきりとしていない状態である。

ガングリオシドは、糖鎖構造の多様性により多くの種類が存在するが、それぞれが細胞内情報伝達に違う作用を示すことが示唆されている。厄介なことに、その糖鎖構造は糖加水分解酵素によって代謝を受け、

ダイナミックに構造変化する。GM3 と LacCer のケースは、この代表格と言える。このことから、代謝酵素によって糖構造が変化せず、さらに元のガングリオシドの機能を再現できるミミック分子は、代謝物による影響を排除したガングリオシドの機能解析、ガングリオシドが細胞膜上で形成する microdomain の実態解明等に利用可能であると期待される。しかしながら糖鎖ミミック分子の開発は、これまで様々な有機合成化学的なアプローチが展開されてきたが、未だ発展途上の分野と言っても過言ではない。その理由は、代謝安定アナログとしていったいどのような化合物を設計すればよいか、その明確な設計指針が存在しないことにある。私たちは、ガングリオシドに存在する O-シアロシド結合を安定な C-シアロシド結合に置き換えた際、元のガングリオシドの機能を最も良く再現する連結部は何かを決定したいと考え、CH₂ 連結型、CHF 連結型 (2種のジアステレオマーが存在)、CF₂ 連結型の計 4 種を合成ターゲットに設定した(図 8)。

図 8. シアリダーゼ NEU3 による GM3 の分解とシアリダーゼ耐性型アナログの設計



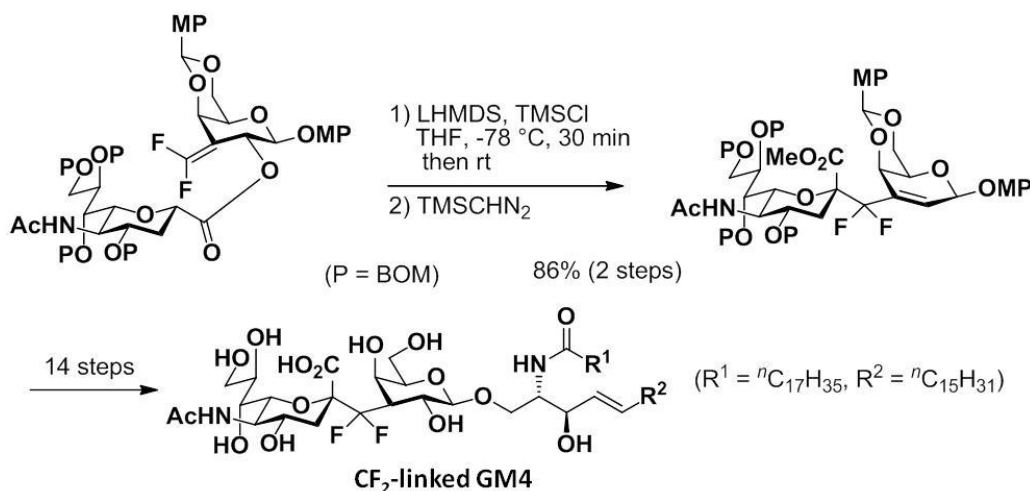
本稿では詳細は割愛するが、これまでに CF₂ 基および CH₂ 基で連結された 2,3-sialylgalactose 構造を Ireland-Claisen 転位反応を利用して立体選択的に合成することに成功した(図 9)。さらに CF₂-連結型アナログをもっともシンプルな GM4 に導き、GM4 のアナログとして機能することを確認することまで完了している(図 9)。現在は、CHF 連結型の合成の立体選択的合成と GM3 への誘導に力を注いでいる。GM3 は、増殖因子受容体 EGFR と相互作用して、EGF の結合に伴う EGFR の自己リン酸化を抑制することが知られている。アナログの阻害活性から、もっとも天然型 GM3 のミミックに相応しい連結部を決定できれば、NEU3 の機能解明に貢献できると考えている。

C-シアロシド結合を有するガングリオシドアナログは、何人かの研究者によって合成が試みられていた。しかしその合成は一筋縄ではいかないものであり、実際私達の GM4 合成例が世界で初めての例である。またフッ素原子導入案は私達のオリジナルであり、今後より発展させていきたいと考えている。

終わりに

今回紹介させていただいた研究は、主に理化学研究所、袖岡有機合成化学研究室で行われたものです。袖岡幹子主任研究員をはじめ、メンバーの皆さんに感謝申し上げます。また本研究は、理化学研究所長田抗生物質研究室、宮城がんセンターとの共同研究です。紙面をお借りして深謝申し上げます。

図 9. CF₂連結型ガングリオシド GM4 アナログの合成



参考文献

- Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. *Science* **2002**, 298, 1912-1934.
- Alonso, A.; Sasin, J.; Bottini, N.; Friedberg, I.; Osterman, A.; Godzik, A.; Hunter, T.; Dixon, J.; Mustelin, T. *Cell* **2004**, 117, 699-711.
- Shi, Y. *Cell* **2009**, 139, 468-84.
- a) Baba, Y.; Ogoshi, Y.; Hirai, G.; Yanagisawa, T.; Nagamatsu, K.; Mayumi, S.; Hashimoto, Y.; Sodeoka, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 2963-2967; b) Baba, Y.; Mayumi, S.; Hirai, G.; Kawasaki, H.; Ogoshi, Y.; Yanagisawa, T.; Hashimoto, Y.; Sodeoka, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 2969-2972; c) Hirai, G.; Shimizu, T.; Watanabe, T.; Ogoshi, Y.; Ohkubo, M.; Sodeoka, M. *ChemMedChem* **2007**, 2, 1006-1009; d) Hirai, G.; Ogoshi, Y.; Ohkubo, M.; Tamura, Y.; Watanabe, T.; Shimizu, T.; Sodeoka, M. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 3609-3612; e) Hirai, G.; Ohkubo, M.; Tamura, Y.; Sodeoka, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 3587-3590.
- Ishida, K.; Teruya, T.; Simizu, S.; Osada, H. *J Antibiot.* **2004**, 57, 136-42.
- Hamaguchi, T.; Sudo, T.; Osada, H. *FEBS Lett.* **1995**, 372, 54-8.
- Sodeoka, M.; Sampe, R.; Kojima, S.; Baba, Y.; Usui, T.; Ueda, K.; Osada, H. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 3216-22.
- Sodeoka, M.; Baba, Y. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **2001**, 59, 1095-1102.
- Ishida, K.; Hirai, G.; Murakami, K.; Teruya, T.; Simizu, S.; Sodeoka, M.; Osada, H. *Mol. Cancer Ther.* **2004**, 3, 1069-77.
- Sodeoka, M.; Hirai, G.; Otani, Y.; Dodo, K. WO2007102368A1, 2007.
- Hirai, G.; Tsuchiya, A.; Koyama, Y.; Otani, Y.; Oonuma, K.; Dodo, K.; Simizu, S.; Osada, H.; Sodeoka, M. *ChemMedChem* **2011**, 6, 617-22.
- Yuvaniyama, J.; Denu, J. M.; Dixon, J. E.; Saper, M. A. *Science* **1996**, 272, 1328-31.
- Todd, J. L.; Tanner, K. G.; Denu, J. M. *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 13271-80.
- Alonso, A.; Saxena, M.; Williams, S.; Mustelin, T. *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 4766-71.
- Boutros, T.; Chevet, E.; Metrakos, P. *Pharmacol. Rev.* **2008**, 60, 261-310.
- Rahmouni, S.; Cerignoli, F.; Alonso, A.; Tsutji, T.; Henkens, R.; Zhu, C.; Louis-dit-Sully, C.; Moutschen, M.; Jiang, W.; Mustelin, T. *Nat. Cell Biol.* **2006**, 8, 524-31.
- Henkens, R.; Delvenne, P.; Arafa, M.; Moutschen, M.; Zeddou, M.; Tautz, L.; Boniver, J.; Mustelin, T.; Rahmouni, S. *BMC Cancer* **2008**, 8, 147-155.
- Arnoldussen, Y. J.; Lorenzo, P. I.; Pretorius, M. E.; Waehre, H.; Risberg, B.; Maelandsmo, G. M.; Danielsen, H. E.; Saatcioglu, F. *Cancer Res.* **2008**, 68, 9255-64.

気になった論文

藤野 智子(ふじの ともこ)

東北大学大学院理学研究科化学専攻 有機化学第二研究室(磯部研究室) 助教

fujino@m.tohoku.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」への執筆の機会を頂き、編集委員の先生方に心より感謝申し上げます。私は現在、東北大学大学院理学研究科、磯部寛之教授のもとで研究を行っています。磯部研究室では、中性のトリアゾール環を架橋部にもつトリアゾール連結型人工核酸の合成、およびその機能の開拓を行っています。生体関連物質の性質・機能を有機化学の観点から捉え直し、自由な分子設計に基づいた有機合成化学によりその新たな可能性を探ることで、独自の物質・性質・概念を創出していきたいと考えております。

今回こうした境界領域研究の先駆的研究として、緻密な分子設計に基づき、生体系を模倣したシステムを実現した3報の論文について紹介させていただきます。1報目は細胞と同じような動的挙動を示すベシクルの自己増殖システムについて、2報目は核酸の自己複製を模倣した、配列をもった構造体の自己複製について、3報目は酵素を用いないRNAの複製に反応についての論文です。

Self-reproduction of supramolecular giant vesicles combined with the amplification of encapsulated DNA

K. Kurihara, M. Tamura, K. Shohda, T. Toyota, K. Suzuki, T. Sugawara, *Nature Chem.* **3**, 775-781 (2011).

原細胞モデルの構築は生命の起源を物質としての観点から理解する上で注目されています。原細胞として最低備わるべき要素には情報物質、触媒、境界の三つが提唱されていますが、これまでそれぞれが独立して研究されてきました。筆者らは原細胞のモデルとして、DNA(情報物質)をDNAポリメラーゼ(触媒)の作用によりベシクル(境界)のなかで増殖させ、これによりベシクルの自己増殖が促進されるという、3つの要素が連携したシステムを初めて実現しました。

筆者らはまず図1aのように、膜分子Vと酸触媒Cにより構成される数マイクロメートルのベシクルの中に1229個の塩基対をもつDNA二重鎖とDNAポリメラーゼおよびDNA二重鎖存在下で発光する蛍光色素

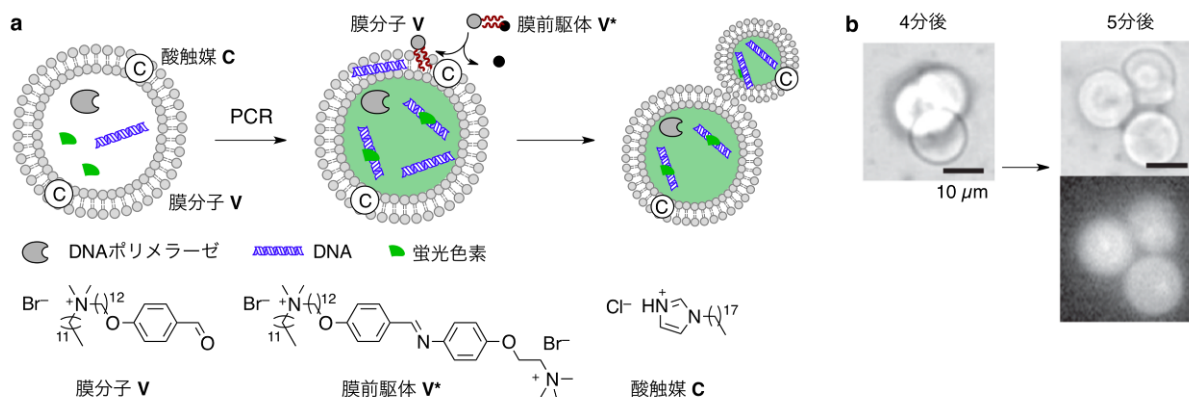


図1. a) ベシクル内でDNAを増幅させた後、膜前駆体を添加することでベシクルが分裂する。 b) 膜前駆体添加後のベシクルの構造変化 (上図：微分干渉顕微鏡像、下図：蛍光顕微鏡像)。 (論文より一部改変)

を内包させ、PCR により DNA を増幅しました。続いて膜前駆体 V^* を添加したところ、4 分後にベシクルの分裂が開始し、5.5 分後には分裂が完結する様子が観測されました (図 1b)。分裂した娘ベシクルは親ベシクルと同様に蛍光の発光を示したことから、娘ベシクルにも DNA 二重鎖が内包されていることがわかりました。さらにこのベシクルの分裂が PCR の DNA の増幅により促進されていることを数値的解析により明らかにしました。この機構について筆者らは次のように考察しています。まず増幅された DNA がカチオン性のベシクル膜中に取り込まれることで、ベシクル外部に存在するカチオン性の膜前駆体 V^* の酸触媒 C による加水分解を誘発します。これより生成した膜分子 V がベシクルの外側の膜に取り込まれることでベシクルの外側でのみ膜分子 V の数が増大し、膜の外側と内側のバランスが崩れベシクルの分裂が起こります。このシステムは情報物質の自己複製と境界の自己増殖が連携していることから、原細胞モデルを実現した初めての例ということができ、生命の起源を理解する手がかりとなることが期待されます。

Self-replication of information-bearing nanoscale patterns

T. Wang, R. Sha, R. Dreyfus, M. E. Leunissen, C. Maass, D. J. Pine, P. M. Chaikin, N. C. Seeman, *Nature* **478**, 225-228 (2011).

DNA は触媒作用により自己複製し、指数関数的に増幅する象徴的な例であるといえます。筆者らはこの自己複製を機能性物質や構造体の創製に拡張することをめざし、DNA タイルを構成単位 (モチーフ) とすることで、モチーフの組み合わせによる配列をもった構造体が自己複製するシステムを実現しました。

筆者らはモチーフとして、図 2a に示すように 3 本の平行に並んだ二重螺旋 (波線) からなる 3 次元構造をもった DNA タイルを設計しました。この DNA タイルは、螺旋軸に垂直な方向に 7 つのヌクレオチドからなる 4 本の DNA 短鎖 (破線) をもち、これが比較的弱い結合力で錯形成することにより次世代の配列を指示します。一方、螺旋軸と平行な方向には、9 つのヌクレオチドからなる 6 本の DNA 鎖 (太線) をもちます。これらの DNA 鎖は 18 個のヌクレオチドからなる 3 本のリンカー (図 2b) との錯形成を介して、強い結合力で次世代のモチーフ間を結合させ、その構造体を保持させる役割を担います。筆者らはこれらの錯形成能の違いを利用することで、モチーフのもつ配列を次世代に伝達させることに成功しました。まず、溶液中で構築し

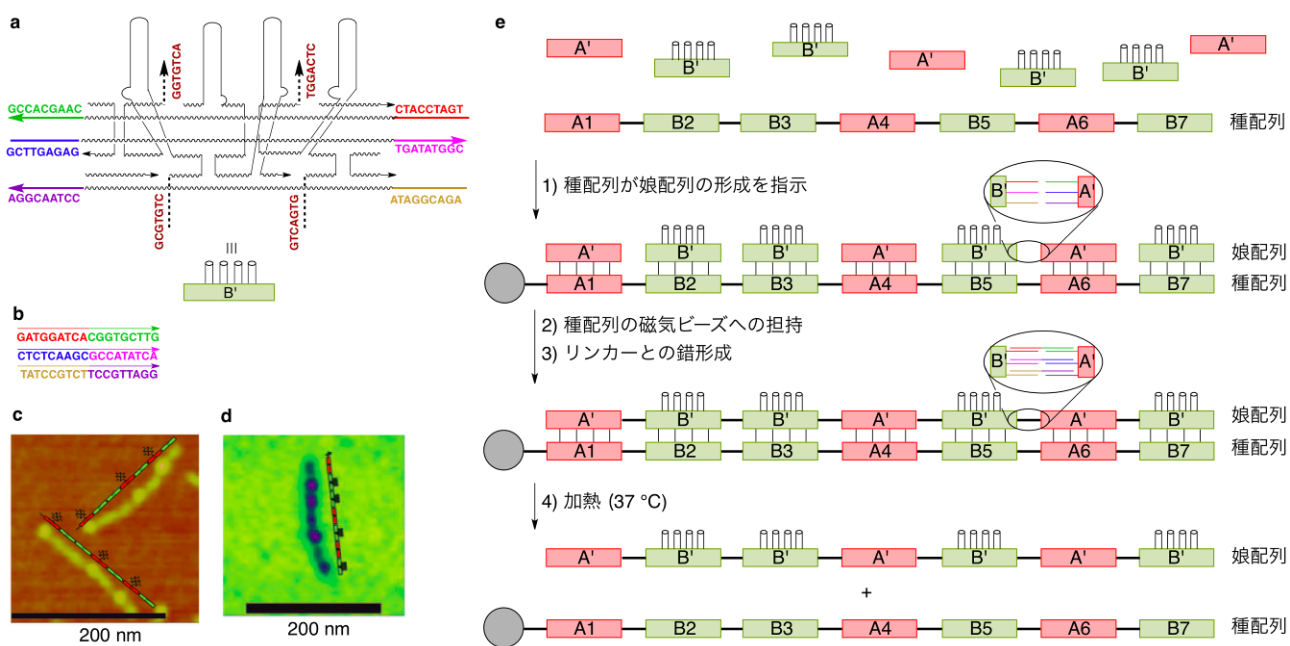


図2. a) DNAタイルモチーフ(B')の構造. b) モチーフ間を連結するリンカーの構造. c) 種配列のAFM画像. Bモチーフはビオチンにより修飾している. d) 娘配列のAFM画像.娘配列のうち70%が正しい塩基配列を持っていた. e) DNAタイルモチーフの自己複製の概略図. (論文より一部改変)

た7つのモチーフからなる種配列(ABBABAB, 図2c)が、溶液中に存在するA'およびB'モチーフに対して娘配列(A'B'B'A'B'A'B')を形成するよう指示します(図2e)。続いて種配列を固相担体へ担持させた後、リンカーを介してモチーフ間を錯形成させ、最後に加熱により娘配列を種配列から解離させました。AFM画像解析から、得られた構造体のうち種配列に対応する娘配列が70%の割合で含まれていることが明らかになりました(図2d)。筆者らはさらにその娘配列を鋳型にし、同様に孫配列を構築することにも成功しており、比較的高い確率でモチーフの配列という情報が次世代に伝達されたことを実証しました。本手法は様々なパターンや機能をもつ自己複製材料の実現を可能とするものであり、今後大量に複雑な構造体を構築する強力な手法となることが期待されます。

Efficient enzyme-free copying of all four nucleobases templated by immobilized RNA

C. Deck, M. Jauker, C. Richert, *Nature Chem.* **3**, 603-608 (2011).

無生物から生命の初期状態への移行期においては、多くの触媒活性のある自己複製可能なポリマーが存在していたと考えられています。この生命の初期状態においてはRNAワールドが存在していたとする説がありますが、RNAが酵素のない状態で自己複製できるかどうかは未だ解明されていません。これまで酵素を用いないRNAの複製反応が試みられてきましたが、ヌクレオチドを修飾せずに、4種の核酸塩基からなる混合塩基配列をもったRNAの複製に成功した例はありませんでした。今回筆者らは、RNAの複製反応が短鎖のオリゴボヌクレオチドを共存させることで誘発されることを活用し、酵素を用いずに混合塩基配列をもったRNAが効率よく複製できることを実証しました(図3)。

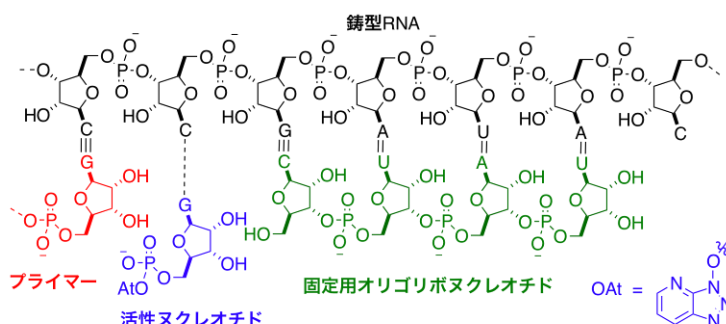


図3. 酵素を用いないプライマーの伸長反応 (論文より一部改変) .

筆者らはまず従来のRNAの複製反応において、基質である活性ヌクレオチドの加水分解物が反応の阻害因子であることに着目し、活性ヌクレオチドを含む溶液を定期的に入れ替える手法を採用しました。さらに反応の選択性を向上させるべく、図4aのように鋳型RNAの反応点近傍を短鎖のオリゴボヌクレオチドで固定化することで、酵素を用いずに4種の核酸塩基をもつヌクレオチドがそれぞれほぼ定量的に結合することを見いだしました。各伸長反応後にMALDI質量分析スペクトルにより解析を行った結果、それぞれ対応する単一のピークが観測されたことから、複製反応が塩基配列に特異的に進行したことを明らかにしました。本手法は無生物のなかでRNAが自己複製を行っていた可能性を示唆するものであり、生命誕生の謎に迫るものであると考えられます。

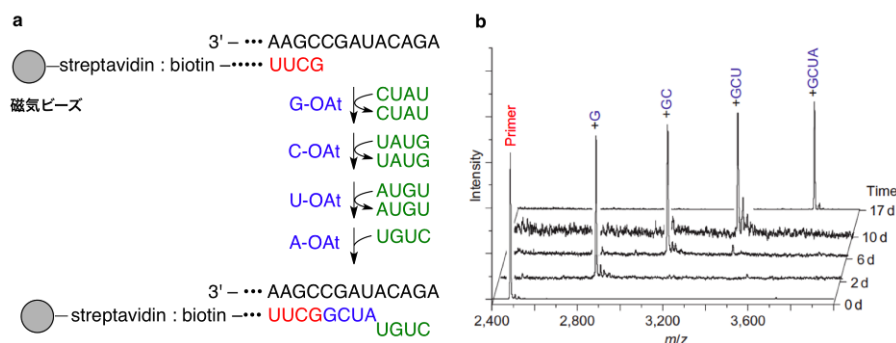


図4. a) 鋳型RNA上での伸長反応. b) 各伸長反応後のMALDI質量分析スペクトル (論文より一部改変) .

気になった論文

川口 充康 (かわぐち みつやす)

東京大学大学院薬学系研究科 薬品代謝化学教室 博士課程 3年

ff097008@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」への執筆機会を与えていただきまして、誠に有り難うございます。私は現在、東京大学大学院薬学系研究科、長野哲雄教授のもとでケミカルバイオロジー特に創薬化学に関する研究を行っております。今回は「気になった論文」として、当研究室で研究を行っておりますケミカルバイオロジー研究の中から、最近報告された新たな蛍光プローブに関する研究を2報、そして線虫を用いた phenotype-based screening に関する研究を1報紹介させていただきます。

A near-IR reversible fluorescent probe modulated by selenium for monitoring peroxynitrite and imaging in living cells

F. Yu, P. Li, G. Li, G. Zhao, T. Chu, K. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 11030-11033 (2011).

活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) は、様々な疾患への関与が示唆されているように負の側面を持つと同時に、情報伝達分子として正の側面も合わせ持つ非常に興味深い分子種であります。細胞内は通常還元的であり、様々な刺激やストレスにより ROS が産生され一時的に酸化環境になっても、GSH など還元剤の作用により速やかに還元状態へと戻され恒常性を維持していると考えられます。現在までに ROS を標的とした蛍光プローブの報告は多くありますが、いずれも一度 ROS と反応すると蛍光性となったままになってしまうため、細胞内の redox 環境の変化をダイナミックに捉えることはできませんでした。今回、Han らはパーオキシナイトライト (ONOO⁻) 選択的に蛍光強度上昇を示し、一方で還元的環境では無蛍光性に戻るような "reversible" ROS プローブの創製に成功しました (図 1 左)。筆者らは glutathione peroxidase (GPx) の活性中心に存在するセレン原子 (Se) に着目し、Se を redox 環境の認識部位として用いた Cy-PSe を開発しました。開発した Cy-PSe は光誘起電子移動 (PeT) によりほぼ無蛍光性ですが、ONOO⁻ と特異的に反応して蛍光性の Cy-PSeO になることが分かりました。また、*in vitro* における検討から酸化された Cy-PSeO は GSH や L-cysteine などの還元剤により再び無蛍光性の Cy-PSe に戻ることが分かりました。しかも、その reversibility は少なくとも 5 サイクル蛍光性にほぼ影響なく繰り返すことができることを示しています。続いて筆者らは、Cy-PSe をマウスマクロファージ由来の RAW264.7 細胞を用いた生細胞系へと応用しました。Cy-PSe を細胞へロードするのみでは、蛍光はほぼ観察されませんが、ONOO⁻ ドナーである SIN-1 を添加することにより、蛍光強度の上昇が観察されました (図 1 右 a, b)。続いて、ROS 捕捉剤である GST を添加することにより蛍光強度の低下が観察されましたが、さらに SIN-1 を添加することにより再び蛍光強度上昇が観察されました (図 1 右 c, d)。この結果は、GST の添加による蛍光強度の低下が色素の褪色や細胞からの漏出によるものでないことを意味し、生細胞系においても Cy-PSe は ONOO⁻ を reversible に検出できていると考えられます。今後、こうした reversible ROS プローブによる細胞の redox 環境変化のダイナミックな観察により、ROS の生理的・病理的役割に関する研究が大いに進展すると期待されます。

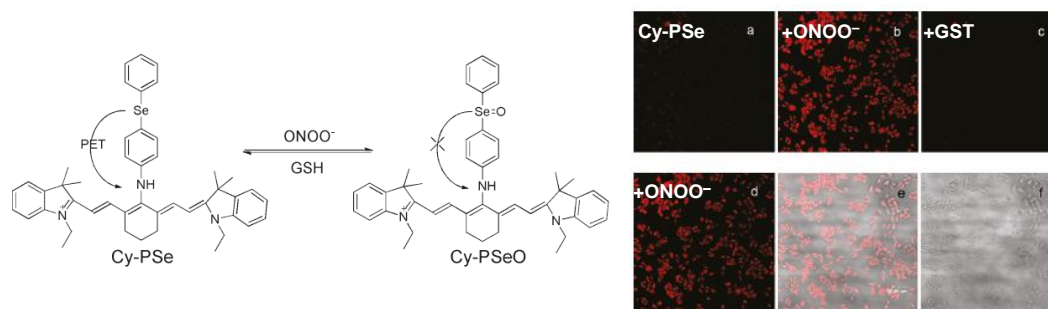


図1 左: Reversible ROS プローブ (Cy-PSe) の構造と ONOO⁻ および GSH への反応性。右: Cy-PSe の生細胞系における ROS および還元剤との reversible な反応性。(論文より一部改変)

Reaction-based fluorescent probes for selective imaging of hydrogen sulfide in living cells

A. R. Lippert, E. J. New, C. J. Chang, *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 10078-10080 (2011).

硫化水素 (H₂S) は活性硫黄種 (RSS) の一種であり、一酸化窒素 (NO)、一酸化炭素 (CO) に続く第三のガス性シグナル伝達分子ではないかと近年注目されています。H₂S は他のガス性シグナル伝達分子と同様に様々な生理的・病理的な機能を担っていると考えられていますが、詳細についてはほとんど明らかになっていません。これは、生理的な条件下で H₂S を高感度かつ特異的に検出できる解析ツールの開発が遅れていたことによると考えられます。今回紹介する論文で、Chang らは世界で初めて H₂S を高感度かつ特異的に検出可能な蛍光プローブである SF 類の開発に成功しました。筆者らの開発した SF2 はアジドを H₂S に対する反応部位として持ち、反応前はスピロ環を巻き可視光領域に吸収・蛍光が弱いのにに対し、アジドが還元されアミンに変換されることで蛍光強度上昇が起こります (図 2 a, b)。しかも、その反応は H₂S に特異的であり、細胞内に高濃度で存在する GSH やシステインを始めその他の RSS や ROS、活性窒素種 (RNS) にはほとんど反応性を示しませんでした (図 2 c)。また、SF2 を用いた生細胞中における H₂S の検出にも成功しています (図 2 (d-f))。H₂S を検出する蛍光プローブに関する研究は本論文を皮切りに次々と報

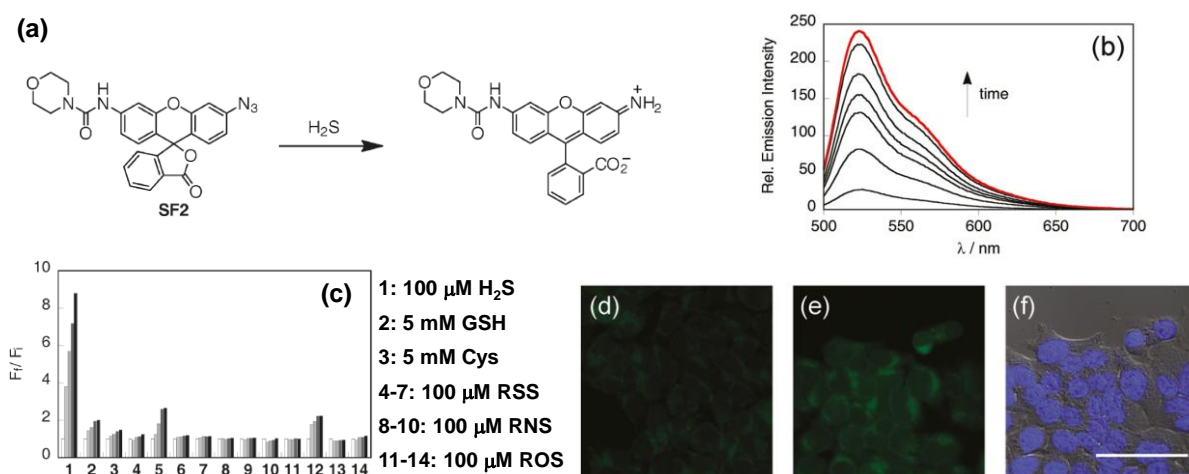


図2 (a) SF2 の構造と H₂S との反応。(b) H₂S 添加により蛍光スペクトル変化。(c) SF2 の H₂S に対する反応特異性。(d-f) H₂S の生細胞イメージング。(d) SF2 をロードするのみ。(e) 250 μM NaSH をロード後。(f) BF イメージ。(論文より一部改変)

告され、特異的 H₂S 検出の新たな戦略が示されています (*J. Am. Chem. Soc.* **133**, 18003 (2011), *Nat. Commun.* **2**, 495 (2011))。今後、SF₂ を始めとする特異的 H₂S 検出プローブを用いた解析により、真に endogenous な H₂S が存在するのか、存在するならばどういった生理的・病的機能を担っているのかが解明されることを期待したいと思います。

A whole-organism screen identifies new regulators of fat storage

G. A. Lemieux, J. Liu, N. Mayer, R. J. Bainton, K. Ashrafi, Z. Werb, *Nat. Chem. Biol.* **7**, 206-213 (2011).

創薬研究を行う際にはターゲットを予め決めて行われることが殆どですが、困難な場合もあります。例えば、今回紹介する筆者らがターゲットとして選択した脂肪蓄積機構を制御する化合物の探索などがそれにあたります。生体内のエネルギー制御システムが非常に複雑に絡み合うために、cell-base のスクリーニングでヒットした化合物では、動物個体においては作用しないことが非常に多いと考えられています。そこで近年、線虫やゼブラフィッシュなど動物個体を用いた phenotype-based screening に注目が集まっています。実際、Werbらは線虫を用いた phenotype-based screening を行うことで、脂肪制御作用を有する化合物の探索を行いました。(ヒトやマウスと線虫とで脂肪蓄積機構は非常に類似していると考えられています。) 図3 a に実験系の概略を示しますが、3200 化合物を線虫に添加し、脂肪染色試薬である Nile Red を用いて線虫を染色し、蛍光強度を観察して脂肪蓄積制御作用を評価しています。まず、コントロール実験として AMPK のアゴニストであり、脂質代謝の促進および脂質合成の阻害を引き起こす AICAR を用いることで線虫の Nile Red による染色が弱くなり、系が work することを確認しました (図3 b)。実際に screening を行った結果、脂質蓄積量を減少させる化合物 (F17, F21 など)、および増加させる化合物 (E8 など) がそれぞれ見出されました (図3 c)。10 つのヒット化合物 (特にここでは F17 に注目) の作用点を検討するため、様々な脂質代謝に関わる遺伝子に変異を入れ化合物の作用を評価した結果、F17 は AMPK signaling pathway に作用していることが明らかになりました (図3 d)。AMPK は複数の触媒ドメインから構成されていますが、F17 は特に aak-1 を変異させた場合に脂肪蓄積抑制作用が消失したことから、aak-1 を介した AMPK signaling に作用していると考えられます。しかしながら、F17 の作用は aak-1 だけでは十分に説明できず、更に精査

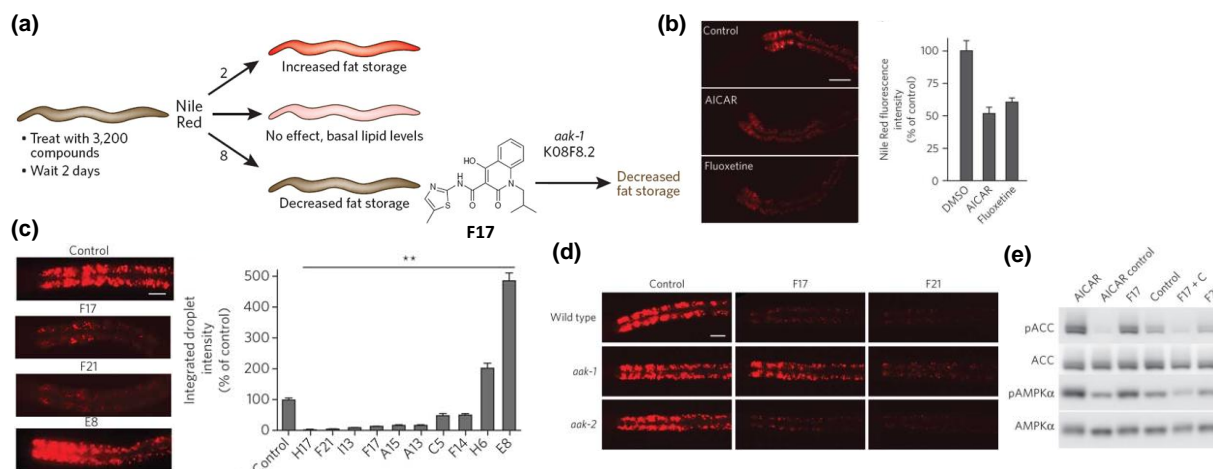


図3 (a) phenotype-based screeningの概略、およびF17の構造。(b) コントロール実験。(c) screeningの結果。左:線虫のNile Redによる染色像。右:Nile Redによる染色強度。(d) F17はaak-1を介してAMPK signalingに作用する。(e) HepG2細胞を用いたF17の作用点の検討。(論文より一部改変)

した結果、K08F8.2という転写因子にも作用していることが分かりました。また、筆者らはF17の構造活性相関を検討し、F17の構造 (図3 a) のどの部分が重要かについても詳細に検討を行っています。最後に、ヒト由来の細胞株であるHepG2細胞を用いて、F17がヒト細胞においても同じ作用を有するか検討しました。その結果、F17の作用によりpAMPK α が増加することからAMPK α の活性化が引き起こされていること、さらにAMPKの活性化の結果生じると考えられるacetyl-CoA carboxylase (ACC) のリン酸化 (pACC) が引き起こされていることから、F17はヒト由来の細胞においても確かに線虫と同じ経路に作用していることが確認できました。このようなphenotype-based screeningに基づく創薬研究は非常に興味深いと感じますが、今回の論文でもそうであるように化合物の直接的な作用点があはつきりしないという問題があります。今後、より詳細な解析が行われることでそれが解決され、糖尿病や肥満などの疾病に対する新たなターゲットが見出される日が来ることを期待したいと思います。



気になった論文

村上 慎 (むらかみ まこと)

東北大学大学院 多元物質科学研究所 和田研究室 博士課程 2年

b0sd5029@s.tohoku.ac.jp

この度は生命化学研究レターへの執筆の機会を頂き感謝致します。現在私は、東北大学大学院多元物質科学研究所 和田健彦教授の下、生体機能分子の構造変化の高感度・高時間分解能解析を目指したCD (circular dichroism) 測定装置の開発とその応用、をテーマに研究に取り組んでおります。近年、Riboswitch に代表されるように、核酸やタンパク質をはじめとする生体高分子の構造ならびにその構造変化が生体機能の調整・制御に重要な役割を果たす系が多数発見されています。このため生体高分子の構造およびその構造変化の動的挙動の検出・同定法の開発、そしてこれらの情報に基づく生体情報の調整・制御機構の解明が重要な研究課題となっています。

今回は、DNAの高次構造決定に関する最近の論文、ならびにDNAミスマッチ検出における最先端研究について紹介したいと思います。

Transient Hoogsteen base pairs in canonical duplex DNA

E. N. Nikolova, E. Kim, A. A. Wise, P. J. O'Brien, I. Andricioaei, H. M. Al-Hashimi, *Nature* **470**, 498-504 (2011).

二重らせんDNA構造の多様性ならびに柔軟性に対する塩基配列の影響は、転写因子によるDNA認識、ヌクレオソームポジショニングなど、その情報発現制御において重要であることが報告されている。この結果、従来あまり重要視されていなかった過渡的な準安定状態が生体機能制御に重要な役割を果たすことが近年明らかになってきており、これらの検出法開発に関する研究が精力的に行われている。

NMR分光法は溶液中での分子構造決定に対して有効な測定法の一つであるが、従来過渡種の測定や時間分解能に関する限界が指摘されてきた。この問題を解決する方法の一つとして、近年NMR relaxation dispersion法が提案され、タンパク質構造ならびに構造変化の動的挙動検出への適用が報告されている。この手法では存在比が小さい過渡的な中間状態であっても、その化学シフトを測定可能であるため、非常に有効な方法論として注目されている。加えてマイクロ秒からミリ秒スケールでの現象を捉えることが可能であり、この時間領域における構造変化には生体機能と関連した重要なプロセスが含まれているためその適用範囲も広く、生体関連物質を扱うサイエンスにとって有効な方法論として期待されている。

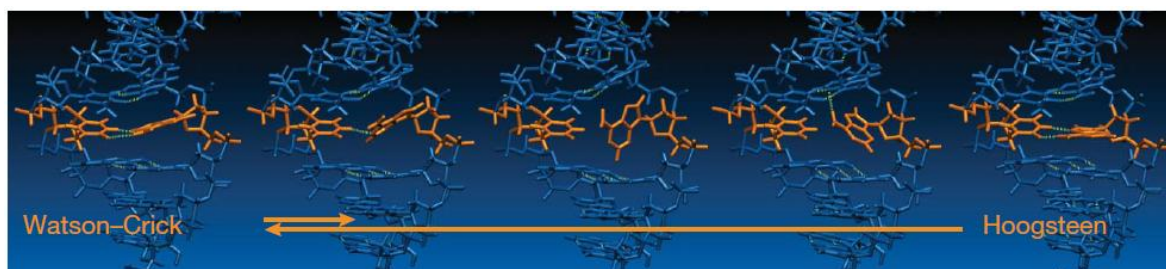


図1 ワトソン・クリック型塩基対とフーグスティーン型塩基対間の構造変化(論文より抜粋)

筆者らはこれまでに、NMR relaxation dispersion法の適用範囲を拡大し、核酸にも適用可能なSelective Carbon R_{1ρ} NMP法を開発している。本論文では標準的な二重らせんDNAに同手法を適用し、準安定状態の構造推定を行った。その結果、サブマイクロからミリ秒程度の寿命を持ち、存在比が1%もない準安定状態の存在が確認された。そこで修飾DNAならびに密度汎関数法により算出された化学シフトに対する比較から準安定状態の構造推定を行った。その結果、ワトソークリック型塩基対を形成しているA・TならびにG・C塩基対の一部がフーグスティーン型塩基対に転移することを見いだした(図1)。

筆者らが開発したNMR relaxation dispersion法により、核酸に対しても過渡的に存在する準安定構造を検出・同定出来ることが可能となった。今回観測された結果から、ワトソークリック塩基対により形成される標準的な二重らせんDNAは、その構造多様性のために、潜在的にフーグスティーン塩基対を形成できるポテンシャルを持つと推測された。転写因子に特異的に結合する二重らせんDNA中に観測されるフーグスティーン型塩基対ならびに損傷DNA中に見られる同塩基対の存在はその一例と思われる。準安定構造が重要なカギとなるプロセスはゲノムの中に数多く存在していると推測され、今後同手法を用いた生体機能制御機構の解明が期待される。

Structure of human telomeric DNA in crowded solution

B. Heddi, A. T. Phan, *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 9824–9833 (2011).

ヒトテロメアDNAは数千のd(TTAGGG)繰り返し配列からなり、がんの増殖にはテロメアーゼによるテロメアDNAの非短縮化が重要な役割を担っている事が報告されている。このDNAは分子内で特徴的な4重鎖構造を形成することから、この構造

表1 ヒトテロメアDNAの配列の違いによる4重鎖構造の多様性
(Htelo1とHtelo2はループ配置が異なる)

Name	Sequence 5'-3'	Conformation
Htelo1	TAG ₃ (TTAG ₃) ₃	(3+1)-type
Htelo2	TAG ₃ (TTAG ₃) ₃ TT	(3+1)-type
Htelo3	G ₃ (TTAG ₃) ₃ T	Basket-type
Htelo4	AG ₃ (CTAG ₃) ₃	Chair-type

をターゲットとした抗がん剤開発が注目されている。DNA4重鎖構造はカウンターカチオンや配列の違いによる構造多様性を有し、これまでにカリウムイオン希薄水溶液中における *in vitro* レベルでの研究から、すべての主鎖配向が平行な propeller-type や主鎖配向のうち3本が平行な(3+1)

-type、カゴ状の basket-type など、少なくとも4種類の異なる4重鎖構造を取ることが報告されている(表1)

一方、細胞内の生体分子は多数の分子により「混みいった」分子クラウディング環境内で機能しており、他の生体物質による水の活量の低下等が原因となり、4重鎖DNA構造への影響が考えられる。このような背景の下、筆者らは幾つかのDNA配列(表1)を用いて、種々のクラウディング分子(PEG 200、8000、35000、Ficoll 400、EtOH、ACN、DMSO)の添加 or 存在が4重鎖DNAの構造多様性に与える影響について、主に site-specific low-enrichment ¹⁵N labeling および ²H labeling を施したDNAを用いた NMR 解析により検討を行った。その結果、分子クラウディング環境下では4つの配列すべてが propeller-type に構造変化していることが判明した(図2)。

propeller-type は他の4重鎖構造と比べ、疎水環境である塩基部が溶媒に露出した構造のため、溶媒やクラウディング分子の影響を受けやすい特徴を有している。そこで筆者らは構造変化の原因追及のため、propeller-type に対して分子クラウディング環境を考慮した分子動力学計算を行った。その結果、主状態としてクラウディング分子がDNA塩基部に局在することが推察された。加えてクラウディング分子の濃度増加

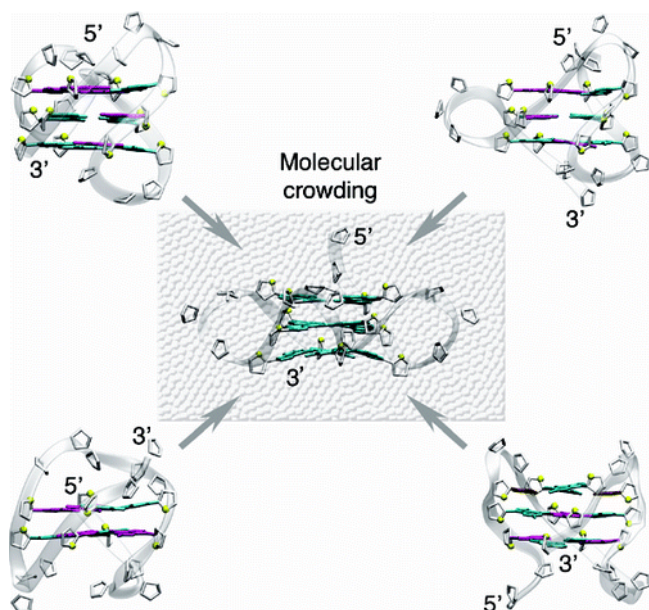


図2 分子クラウディング効果によるDNA4重鎖の構造変化
 (左上) *Htelo1*; (3+1)-type、(右上) *Htelo2*; (3+1)-type、(左下)
Htelo3; basket-type、(右下) *Htelo4*; chair-type、(中央)
 propeller-type (論文より抜粋)

に伴い、二つの parallel-type 4 重鎖 DNA 分子が疎水部を重ねるようにスタックした高次構造を形成していることが NMR により指摘されていることと合わせ、構造変化の原因として DNA に対する水の活量の低下が推測された。

分子クラウディング環境下ではヒテロメア DNA の構造は希薄水溶液中と比較し大きく異なることが示され、DNA に対する水の活量低下が構造変化の主な原因であると推察された。生体内における生体分子の構造や動的挙動などの理解を進めるため、このような *in vitro* 環境での分子クラウディングを考慮した研究はますます重要になるだろう。

Label-free detection of single-base mismatches in DNA by surface-enhanced Raman spectroscopy

E. Papadopoulou, S. E. J. Bell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **50**, 9058–9061 (2011).

DNAの高次構造ならびに動的挙動の検出法としては、蛍光体をDNA末端に導入する手法が広く用いられている。蛍光は一分子検出に用いることが可能な高感度検出法であるが、動的挙動に関するより多くの情報を得るためにはFRET pairなどを導入するなどさらに工夫が必要である。一方、振動分光であるラマン散乱分光法では原理的に分子の各振動モードが観測されることから、ラベルフリーな生体分子の構造や相互作用解析への展開が期待されている。しかしながらラマン散乱は微弱な信号であるため、このままでは単一分子レベルでの研究には展開が困難である。そこで近年、表面増強ラマン分光法 (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) に注目が集まっている。SERSとは、金属表面の典型的な *in vitro* 環境であり特殊な環境ではあるものの、通常のラマン散乱より 10^3 - 10^6 倍程度に増強された信号を得ることが可能であり高感度化を達成することができる。

SERSを用いたDNA研究において、DNA末端をチオール化することで金属表面に結合させる手法が一般的に用いられている。金属表面に対して「立った」DNAはその構造を保持することができるため、溶液中の構造に近い状態で解析可能である。しかしながら「立った」DNA鎖内のアデニンがラマン散乱衝突断面積が特に大きいため、他の塩基に比べそのシグナルは極めて大きく検出される。そのため配列情報を得るための定量的な解析は困難であった。

そこで筆者らはこの問題の解決のため、single strand (ss) DNAをあえてAgコロイド表面に非特異的に直接吸着させる手法を提案している。この手法では、表面に吸着したDNAが金属と塩基間の非特異的に結合するため、水溶液中での高次構造情報を得ることは困難である。しかしながら、これまで解析を困難としていたアデニン由来のシグナルは他の塩基由来のシグナルと同程度まで減少し、詳細な配列情報を定量的に得ることが可能となった。本論文では、この手法を用いて二つのssDNA間(DNA-4, DNA-5)の一塩基

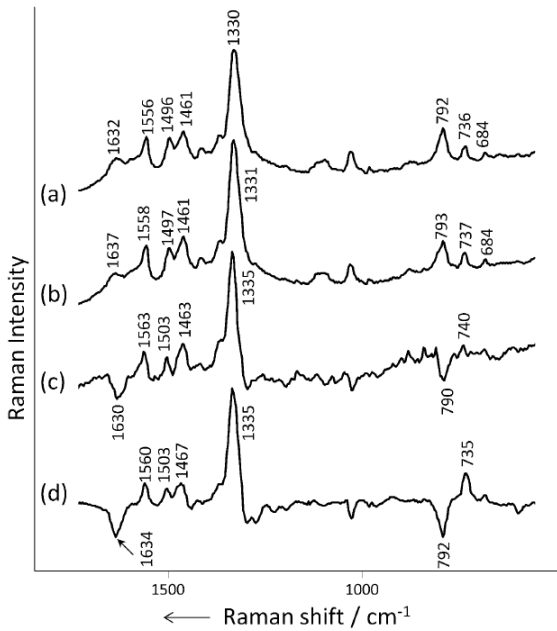
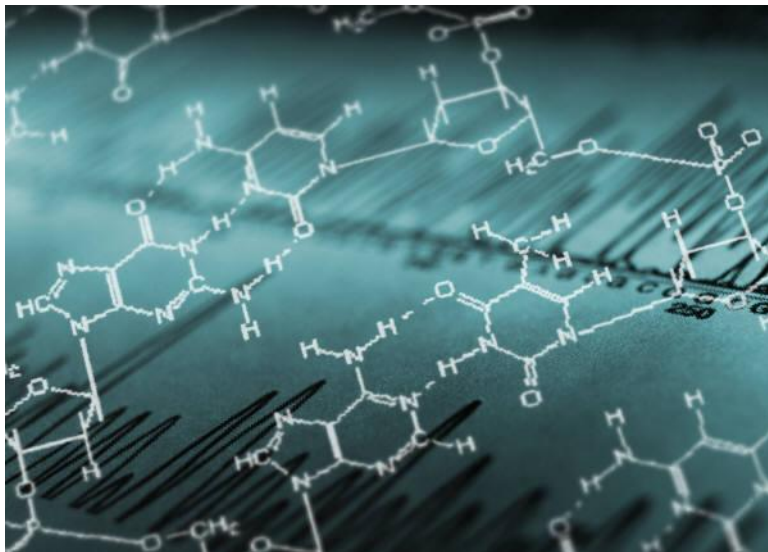


図3 SERS スペクトル a) DNA-4、b) DNA-5、c) DNA-5とDNA-4との差スペクトル ((b) - (a))、d) 参照スペクトル (poly A minus poly C) (論文より転載)
 (DNA-4) ATA-AAT-CGC-CAT-TCG-TTG-ACT-AA、
 (DNA-5) ATA-AAT-CGC-CAT-TCG-TTG-ACT-AC

の違いの検出に成功している。DNA-4とDNA-5の差スペクトル(図1c)はアデニンとシトシンの差に相当し、参照データであるpoly Aとpoly Cの差スペクトル(図1d)とほぼ同等の結果を示したことから、新規手法の有用性が実証された。

筆者らの手法を用いることでDNA配列中の一塩基の差を検出することが可能となった。SERSはDNA塩基配列決定への応用も期待されており、その高感度検出能とスペクトル特性を生かした生体分子の構造や配列、相互作用解析への応用が期待される。



留学
体験
記

Wayne 州立大学留学体験記

Department of Chemistry, Wayne State University

榊原 揚悟

(ysgo@chem.wayne.edu)



私は現在ミシガン州デトロイト市にあるWayne State University (以下Wayne大学)の化学研究科に2007年9月から大学院留学しており、Prof. Christine Chowの指導の下、博士号取得を目指して日々研究しています。まず初めに私の米国大学院留学に先立ち多大なご助力をいただいた京都大学の杉山弘先生、また留学体験記執筆という素晴らしい機会をくださった大阪大学の大神田淳子先生に厚くお礼申し上げます。現在進行形ではありますが、私が経験した留学の苦労話や大学システムの違いなど、これから大学院留学を考えている研究者の皆様の役に少しでもたてば幸いです。

デトロイトにあるWayne大学はやっぱり怖い所？

ミシガン州デトロイト。そこはモーターシティと呼ばれるように車産業を基盤として発展し、一時代を築いた都市として知られています。デトロイト中心部にはGeneral motors本社、近隣にはFordやChryslerなどアメリカを代表する車会社の本社があります。しかしながら治安はあまり良いとはいええず、映画の8 mileやロボカップ、アメリカのテレビドラマDetroit 1-8-7などの舞台にもなっているように犯罪が多発している地域もあります。そんな中心部にWayne大学はあります。そのような場所柄、大小様々な犯罪に巻き込まれる確立が大きいのでは？と思われるかもしれませんが。しかし意外にもキャンパス生活で不運にも犯罪に遭遇することはじつは稀です。キャンパス内は24時間デトロイト警察とキャンパスポリスが定期的に巡回しており学生の安全を保障しています。私は毎日夜中まで研究し徒歩で帰宅していますが幸いにもそのような犯罪に巻き込まれたことはありませんし、巻き込まれた知り合いもおりません。しかし、今現在のデトロイトが凶悪犯罪都市の一つであることもまた事実。少し車をダウンタウンから外に走らせると廃墟と化した建物や焼け落ちた家が放置されています。誤解していただきたいくないのは「そういう危険地帯もある」ということであり、Wayne大学はそういった地帯からは外れているということです。他のアメリカの大学同様の危機管理意識で過ごしていれば、デトロイトという暗いイメージとは違いごく普通の大学生活が送れ、さまざまな文化に触れることのできる場所だと思います。また、アメリカ都市の復興のエネルギーを肌で感じることも可能な場所だと思います。



Wayne 州立大学化学科(写真中央)。手前の二つの建物は講義棟。右奥に見える2つの建物は Wayne 州立大学の学生寮。



(写真左)Wayne 大学学生寮の一つ、University Tower。T 字型の建物でかなり多くの学生が住んでいます。私はここで約 2 年過ごしました。(写真中央)ダウンタウンからほんの少し行った場所にある廃ビル。元はホテルだったと聞いています。このようなビルがデトロイトには多く佇んでいます。(写真右)ミシガン中央駅。かつての交通の中心地でしたが、今は駅周辺も廃墟化が進み、人通りもありません。

Wayne大学での研究者生活

Wayne大学は科学研究大学としての評価を得ています。Wayne大学化学科生物化学分科の特徴は、アメリカのそれぞれの大学で顕著な研究傾向が見られたりするように、今流行りのRNAに関する研究です。私の所属する研究室は大腸菌リボソームRNAに関する研究を行っています。大学にはRNA関連研究室が集まったRNAクラブがあり、クラブを通じて他の学部、研究室との交流が盛んに行われています。例えば週に一回、RNAクラブ参加研究室が持ち回りで研究発表、ディスカッションが行われ、自分の専門外の研究知識を幅広く取り入れることができます。またこのような研究発表の場は自分の研究をいかに面白く、簡潔に、分かり易く伝えるか、というプレゼンテーション能力を磨ける場でもあり、他の学生やポスドクの発表スタイルからも学ぶことができます。私もRNAクラブで研究発表を過去2年間に2回行いました。研究へのアドバイスはもちろん、発表の仕方、データの見せ方などのアドバイスなども貰えて非常に勉強になりました。

このような積極的な研究室間の交流の恩恵は大きく、自分の研究室でやれない実験だけど試してみたい実験、なども比較的簡単に行える機会を与えています。ひとつ例を挙げると、私の所属研究室は*in vitro*実験が主であるため、大腸菌遺伝子ノックアウト実験は経験者がいなかったのですが、RNAクラブを通じ知り合った友人の助けをかりてストレスなく即試すことができました。最近では、single molecule研究室に多くの学生が出入りしてsingle molecule実験をしています。他にも医学部との共同研究、他大学との共同研究に恵まれており、自分の知識や経験、人脈を伸ばすチャンスが非常に多いのが、Wayne大学に限らずアメリカの大学研究の特徴の一つだと思います。

また、第一線で活躍している他大学の教授達と研究関係以外で知り合う機会にも恵まれています。セメスターにもよりますが、ほぼ毎週あるBiochemistryセミナーに招待された講演者と数名の大学院学生(特にSeniorの学生)が昼食する機会があります。私も数回参加し、世界的に有名な教授、研究室をはじめ数年の若手教授など様々なタイプの研究者から研究の苦労話やこれからの研究についての話を聞くことができました。こういった機会を通じてポスドク先を探したり、実際にポスドクとしてその研究室に行った人もいます。さらにセミナー関連では、大学学部が選抜したファカルティの最終候補たちの生の研究発表を聞くことができ、自分のプレゼンテーション技術や知識を伸ばす機会になっていると思います。

留学苦労話

1) 大学事務員との交渉が最初の関門！？ いや、英語が関門です

留学渡米初日にこれから住む予定の大学寮の部屋の鍵と契約書を貰いにいった時の話です。オフィスの人に名前とWeb上から事前登録しておいた事を何とか英語で伝えましたが、どうやら私の名前は登録者

名簿にでてこないようでした。入学許可証、ビザなどの書類を見せても駄目で、言われたことは「君の住む場所はないよ」でした。大きな荷物を何個も抱えて放り出され、頭が真っ白になったのですが、このままでは大変なことになると悟り、靴から引っ張り出した電子辞書片手にもう一度交渉しなおし、さらに他の事務員を呼んでもらった上で、空きの部屋はないかと頼み込み、やっとの思いでvisitor用の寮の部屋の鍵と契約書を貰うことができました。これが私の最初の留学体験であり、あ〜アメリカに来たんだ、という実感だったと記憶しています。

さらに渡米後すぐに体験したことでは、Social Security Number取得の際に事務手続き上のミスで問題が発生し給与の支払が止まったうえ、大学との契約を解除されそうになりました。この時も自分の生活がかかっていたため直接事務員に理由を確認しにいったのですが、あまりにも話が噛み合わず言い争いになってしまい警備員を呼ばれて追い出されたこともあります。後日再び訪問し他の事務員に話しをすると、事務員が私の提出書類上にある住所をコンピュータに誤記入していたためにセキュリティ上の問題が発生し、Social Security Numberの発行が差し止められていたということが分かりました。無事問題は解決しましたが、当時は「帰国するしかないのか」と頭を抱えたのを覚えています。こういった事務上の問題は多くの留学生がすくなく経験していることだと思います(実際知り合いの日本人の方々はみな同様の経験をしていました)。そこで私がまず学んだのは、とりあえず落ち着いて、そして交渉すること、でした。

2) 英語が苦手な大学院生は授業も大変。

授業でももちろんのこと色々と問題を抱えていました。といっても科学ではなく英語が問題でした。私は留学前に英会話など触れることもないような人間(逃げていただけかもしれませんが)だったにも関わらず「まあ大丈夫だろう」と訳の分からない自信をもってアメリカに悠然と乗り込みました(今思うと本当に無謀ですが・・・)。そんなわけで当然ながら授業で話している内容がまったく分かりませんでした。方言やスピード、発音など当たり前ですがすべて人によって違い、英会話教材とは違うと感じました。あまりの理解できなさに、あるクラスでは不定期Short Quizのアナウンスを聞き逃してしまい、次回のクラスで呆然としたこともあります(結局半分以上空欄で提出したのですが、その時の教授の困惑した表情を今でも覚えています)。それからからはクラスで知り合いを作る努力をしました。

3) Teaching Assistant (TA) というアルバイト。

それでも選択授業の科学の内容それ自体は基礎中心でしたので、テキストを使い予習復習をしてテスト関連を乗り越えることができました。ほとほと困ったのがTAとして学部生に教える立場のクラスでした。私が教えるクラスのミーティングで担当教授からどのようなスタイルなのかを前もって聞いていたのですが、アメリカ初のティーチングクラスでいざ教室に行くと、そこにはアメリカに来て数週間の自分と30人程度の本場アメリカ人学生しかおらず、頭が真っ白になったのを今でも鮮明に覚えています。Assistantとありますが教えるのは大学院生(TA)でありそこに助けてくれるひとはいません。準備不足を思い知った瞬間でした。教える内容は基礎的な内容でありながら英語で教えることの難しさを痛感した時間でもありました。何度聞きなおしても学生の英語が聞き取れず学生に諦められたことも何度かありました。質問が理解できてあまりの語彙不足で質問に答えられず黒板に全てを書いたこともあります。今振り返ってみると最初の4ヶ月(1 Semester)をよく乗り切ることができたものだと思います。今でももちろん英語で教えるためには膨大な準備期間が必要ですが、4年間色々な形で学生を教える機会を持てたことは大きな自信に繋がっていると思います。

アメリカの大学院プログラム

ポストドクとして海外留学する方は多いですが、Ph.D.取得を目指して留学する日本人はまだまだ少数派だと思います。どこにいても中国人やインド人、韓国人留学生を見かけるのに対して、日本人大学院留

学生を見かけることは少ないと思います。もしかしたら大学院留学を思い立っても情報不足で諦める人がいるかもしれません。私自身も情報を得るのに苦労しました。私は日本で修士号を取得した後、アメリカ大学院のPh.D.プログラムに入ったのですが、その際、システムの違いが解らず悩んだことを覚えています。そこで、主にWayne大学から見た大学院の一般的なシステムの違いなどを簡単に紹介したいと思います。

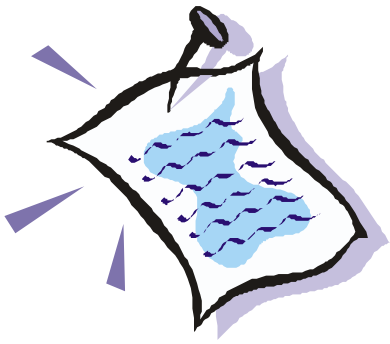
まず初めに日本とアメリカでは一般的な大学院生のシステムが全く違います。アメリカの理系大学院生は授業料から生活費、保険費用に至るまでをResearch Assistant (RA)かTeaching Assistant (TA)、もしくは奨学金取得者になることによって最初から全てを賄っています。Wayne大学のRAは研究室の教授が雇い主で仕事は研究です。TAは大学学部が雇い主であり、学部生の授業を持つこととなりますが、もちろんラボでの研究もしなくては卒業ができません。Wayne大学では、入学初年度はほぼ全ての学生がTAとして契約をし、研究室配属後のRAかTAかは配属先の研究室の研究資金の量に関連してきます。年間にもらえる額は、大学間はもちろん、学部、研究室、契約内容によっても大きく変わります。ここでは学生でも車を持つこともできますし、時間さえあれば旅行も色々できます。このようにアメリカの大学院生は給料を貰え、独立した環境で研究をできるために、家庭を持っている大学院生も多いです。

教育システムにも違いがあります。Wayne大学化学科では研究能力はもちろん、グラントを書く能力、研究発表能力の向上にも同程度に重点が置かれています。大学院レベルのクラスでは、まったく携わったことのない分野であろうと本格的な研究計画書を書くことを求められ、計画発表からディスカッション、そしてディフェンスまでをクラスで行います。グラントライティングの重要性に関しては、私がある教授と昼食を共にしたとき、グラントを書く訓練を学生のうちから定期的に行っていないと将来独立したときに苦労するよ、という体験談を聞きました。例え良いアイデアや結果を持っていてもそれをいかに人々に分かり易く、かつ面白く伝えるかという能力がここでは必要だと教わりました。このような訓練を体験できたのは大きかったです。

研究室選びは入学後にローテーションと面接を採用している大学が多いと思います。入学前に教授との面接を課す大学もいくつか知っています。Wayne大学は面接形式を採用しています。私は研究室を決めてから入学したのですが、私のような学生はごく少数だったと入学後に知りました。研究室選びに関しては、目当ての研究室の競争率が高く、そこに入れなくなるということもよく聞く話です。面接やローテーションの期間中に自分をアピールしなければならないのもそのためだと思います。第一候補から落ちた場合、第二候補の教授が受け入れてくれればよいのですが、最悪の場合、所属なしになってしまい、Ph.D.候補生になれないこともあるようです。1年目を終えずに他の大学や他の学部に移っていった人を何人も見ました。また学生の数などは研究室の資金に密接に関連しており、研究資金がなくなってしまう若い教授が学生を他の研究室に移籍させるような話もあり、アメリカの研究室の生存競争の激しさを物語っています。

最後に

Wayne大学化学科はもちろん他の大学においても学生は多国籍であり、アメリカでは本当に色々な文化や風習に触れることができます。私は、教えていたアラブ人学生がラマダン中なのを知ってルールや例外など根掘り葉掘り聞いたこともあります。自分の知らない文化を直接聞くことができることは、新鮮な経験でした。反対に、日本の文化や風習に興味を持ってくれることも多々あります。そういった時、日本のことをよく知らない自分に驚くとともに日本の素晴らしい所の再認識にもつながりました。まだまだ継続中だとはいえ、こうして留学体験記を書きながら自分の留学生活を振り返ってみると、日本だけではこんな経験できなかったのだらうなと思います。また、私がそんな海外留学をできているのは、私をサポートし励ましてくれたすべての方々のおかげなのだ、と感謝しています。ありがとうございます。これから大学院留学を考えている方には、当初は英語力に問題があってもアメリカでPh.D.とれそうなんだな、と少しでも励みになれば幸いです。



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。

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～

- ◆ 日時：2012年3月10日(土) 13:00～17:00
- ◆ 会場：コクヨホール (品川)
(<http://www.kokuyo.co.jp/showroom/hall/>)
- ◆ 対象：高校生から一般の方
- ◆ 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
- ◆ 後援：内閣府、文部科学省他
- ◆ 定員：300名
- ◆ 申込〆切：定員に達し次第〆切
- ◆ 会場アクセス：東京都港区港南1-8-35 品川駅港南口(東口)から徒歩2分
- ◆ 申込方法：ウェブサイト(以下)をご覧ください。
ウェブサイト：<http://square.umin.ac.jp/FIRST/>

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、大学で最先端のナノバイオデバイス技術を研究するとともに、その技術を用いた次世代ゲノム解析技術、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ルス検査、呼気による疾患診断、花粉などのアレルギー超高感度検査に応用するための研究開発を大学と企業が共同で進めています。

このプロジェクトの成果と、その結果生まれてくる未来の

安心・安全な健康社会を、大学、企業の研究者が分かりやすく解説する公開シンポジウムを開催します。また、ナノバイオデバイスを実際に体験できる展示も行いますので、皆様のご参加をお待ちしています。

【公開シンポジウム プログラム】

- 12:00 開場
- 13:00 川合知二 大阪大学特任教授・最先端研究開発支援プログラム中心研究者
「私たちのDNAを1分子で観る、知る方法」
- 13:40 馬場嘉信 名古屋大学教授・革新ナノバイオデバイス研究センター長
「私たちの病気を早期発見し健康を守る最新ナノテク」
- 14:10 質疑応答
- 14:20 ナノバイオデバイスを体験しよう
阪大ブース、名大ブース、Panasonic ブース、東レブース、東芝ブース、JMAC ブース
- 15:00 下野 健 パナソニック(株)
「痛みを伴わない疾病診断」
- 15:20 源間信弘 東芝(株)
「電流検出方式を用いたウイルス・病原菌検出用DNAチップ」
- 15:40 滝澤聡子 東レ(株)
「マイクロRNAの検出による新しい検査・診断法の可能性」
- 16:00 中江裕樹 (特非) バイオチップコンソーシアム(JMAC)
「1分子解析技術の実用化が巻き起こすナノバイオ市場への新風」
- 16:40 質疑応答

このシンポジウムは、内閣府・最先端研究開発支援プログラムの支援を受けて開催します。

(情報提供：馬場嘉信)

革新ナノバイオデバイスに関する最先端研究開発国際シンポジウム

International Symposium on Innovative Nanobiodevices ,
ISIN2012

- ◆ 開催日：2012年3月21日～22日
- ◆ 開催場所：名古屋大学豊田講堂(地下鉄名城線 名古屋大学駅下車徒歩5分)
- ◆ 主催：FIRST 川合プロジェクト
内閣府 平成23年度最先端研究開発戦略的強化事業
- ◆ 開催実行委員長：川合知二(大阪大学産業科学研究所教授)、馬場嘉信(名古屋大学革新ナノデバイス研究センターセンター長)

◆ 招待講演者：

川合知二(大阪大学)

Shad Thaxton (Northwestern University)

Jean-Louis Viovy (Institut Curie)

鷲津正夫(東京大学)

Steven A. Soper (University of North Carolina, Chapel Hill)

Aaron R. Wheeler (University of Toronto)

Leming Shi (National Center for Toxicological Research/FDA)

Marc Salit (National Institute of Standard and Technology)

民谷栄一(大阪大学大学院)

Eva-Kathrin Sinner (University of Natural Resources and Life Science (BOKU))

Gary K. Beauchamp (Monell Chemical Senses Center)

落谷孝広(国立がん研究センター)

◆ スコープ：

1分子解析技術を基盤としたナノバイオデバイスは、米国NIHが指摘するように、DNAの超高速シーケンスやウイルスの超低濃度・超高感度検出など、市場で要求される超高速・超高感度検出技術の最も重要なコア技術である。本国際シンポジウムでは、1分子解析技術開発およびナノ

バイオデバイス研究とその医療応用を進めている世界の最先端研究者による招待講演と一般講演・ポスター発表およびパネルディスカッションを通して、1分子解析技術およびナノバイオデバイスの医療応用分野について、最新情報の交換と議論を行うことを目的としている。さらに、最先端技術の国際標準化や医療機器承認のガイドラインの世界標準を策定している世界の担当者の招待講演とポスター発表およびパネルディスカッションを通じて、1分子解析技術およびナノバイオデバイスの国際標準化や医療機器承認ガイドライン策定への課題についても意見交換と議論を行うことを目的としている。これらの講演・発表と議論を通して、1分子解析技術およびナノバイオデバイスが切り拓く未来医療と次世代ヘルスケアについて展望する。

- ◆ アブストラクト提出締切日：2012年1月27日(金)

- ◆ 参加登録：無料

- ◆ 参加登録方法：以下ホームページより

学会 URL：<http://square.umin.ac.jp/isin2012/>

(情報提供：馬場嘉信)

第2回アジアケミカルバイオロジー会議

The Second Asian Chemical Biology Conference

<http://www.chem.sci.osaka-u.ac.jp/lab/fukase/acbc2>

主催：フロンティア生命化学研究会

協賛：日本化学会他

会期：平成24年7月4日(水)～7月6日(金)3日間

会場：サザンビーチホテル&リゾート沖縄(〒901-0305 沖縄県糸満市西崎町1-6-1)

[交通] 那覇空港より約10km(車で約20分)

- ◆ 発表申込締切：4月30日(月)

- ◆ 予稿原稿締切：5月20日(日)

- ◆ 参加登録締切：4月30日(月)

- ◆ 討論主題：ケミカルバイオロジー分野の最先端研究について、以下の主領域を中心に討議する。1. タンパク質、ペプチド、2. 糖鎖、脂質、複合体、3. 核酸、4. 低分

子生物活性分子、5. 細胞

- ◆ 発表形式：招待講演及び一般研究発表（一般研究発表はポスター）
- ◆ 発表申込方法：下記のシンポジウム HP から発表申込、参加登録などの手続きを行います。予稿原稿提出方法についても HP をご参照下さい。

<http://www.chem.sci.osaka-u.ac.jp/lab/fukase/acbc2>

- ◆ 参加登録費：事前登録（4月30日まで）大学・官公庁 40,000 円、企業 45,000 円、学生 20,000 円；（5月1日以降）大学・官公庁 45,000 円、企業 50,000 円、学生 25,000 円
- ◆ 参加登録予約申込方法：発表申込方法に記載
- ◆ 問合せ先：〒560-0043 大阪府豊中市待兼山町 1-1 大阪大学大学院理学研究科内

ACBC2 事務局（実行委員長 深瀬浩一）

Tel: 06-6850-5388 Fax: 06-6850-5419

HP: <http://www.chem.sci.osaka-u.ac.jp/lab/fukase/acbc2>

E-mail: acbc2@chem.sci.osaka-u.ac.jp

（情報提供：深瀬浩一）



お知らせ

【異動】

- ◆ 瀧 真清 准教授
電気通信大学大学院 情報理工学研究科
化学生物学研究室 (東6号館8階821号)
〒182-8585 東京都調布市調布ヶ丘1-5-1
Tel: 042-443-5980
E-mail: taki@pc.uec.ac.jp

【受賞】

- ◆ 浦野 泰照 (東京大学大学院医学系研究科 教授)
第8回 日本学術振興会賞
「がん診断に資する論理的精密設計に基づく蛍光プローブの開発」
- ◆ 津本 浩平 (東京大学医科学研究所 教授)
第8回 日本学術振興会賞
「基礎科学から産業展開を目指すタンパク質相互作用の精密解析」
- ◆ 松浦 和則 (九州大学大学院工学研究院 准教授)
第8回 日本学術振興会賞
「DNAやペプチドの自己集合特性を活用したナノ構造体の構築」
- ◆ 今西 未来 (京都大学化学研究所 助教)
平成24年度 日本薬学会奨励賞
「人工DNA 結合タンパク質のデザインと細胞機能制御への展開」

【編集後記】

菊地さん、円谷さんとともに年末の第14回生命化学研究会をお世話させていただきました。師走の多忙な季節であったにも関わらず、遠方から多数の皆さんにご参加頂き、無事に盛会の内に終えることができました。改めて御礼を申し上げます。準備に際して菊地さんと話し合い、大きな出口を想起させる分子科学をということで、”In-cell

interactions”のテーマにちなんだご研究の中から7名の講師の方々に話題をご提供頂きました。本号の巻頭言で菊地さんが、“後に残る研究”を論じておられますが、そうした研究に向けて邁進することこそが科学者の使命であるとも思います。大局を見据えた研究展開ができていますかどうか、常に自問してゆく必要を改めて感じております。

今号では、天然物をモチーフにした生理活性化合物の合成研究を及川さんに、Zinc fingersを用いた人工たんぱく質による遺伝子発現制御の研究を今西さんに、阻害剤開発が難しいとされているphosphatases低分子阻害剤に向けた挑戦を平井さんに、それぞれ大変わかりやすくご紹介頂きました。今号でも3名の若手の皆さんに文献紹介をお願いし、また、現在アメリカでPh. D.の取得に向けて奮闘されている榊原さんには、経験した者しか知りえない在米大学院生生活の一部を生々の声で語って頂きました。榊原さんのような存在に奮起され、海外武者修行を決意する若手の方々が増えることを願っています。

次号 (No. 39) は、井原さんのご担当により2012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。ぜひ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)

2012年 (平成24年) 2月1日

生命化学研究レター編集委員

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

熊本大学 井原 敏博
toshi@chem.kumamoto-u.ac.jp

大阪府立大学 円谷 健
tsumu@b.s.osakafu-u.ac.jp

九州大学 松浦 和則
ma2ra-k@mail.cstm.kyushu-u.ac.jp