

生命化学研究レター

(2013 年 10 月)

2. 巻頭言

風前の科学者

甲南大学 FIBER 杉本 直己

3. 研究紹介

3. 核酸の構造を自在に操作する ～ナノスケールの“楽しい工作”～

関西大学化学生命工学部・JST さきがけ 葛谷 明紀

10. 生体高分子を創って組み合わせていたら合成生物学になっていた

東京工業大学大学院総合理工学研究科 木賀 大介

16. 神経機能を制御する Ca^{2+} チャネル複合体の機能解明

～ Ca^{2+} チャネルの化学生理学～

京都大学工学研究科・地球環境学堂 清中 茂樹

22. 論文紹介「気になった論文」

大阪大学未来戦略機構 上川 裕子

甲南大学先端生命工学研究所 高橋 俊太郎

29. 留学体験記

Bristol 大学留学体験記

Faculty of Science, University of Bristol 吉中 藍

33. シンポジウム等会告

35. お知らせ

受賞

編集後記

Supplementary Information

巻頭言に関するレスポンス

巻頭言

風前の科学者

甲南大学 FIBER 杉本直己

風が吹いている。

アジアの大陸から吹き始めた。暴風になるかもしれない。

日本の科学研究の将来が危惧されている。

「日本は科学技術分野での論文数が伸び悩み、国際的な共同研究の流れに乗り遅れていることが文部科学省の分析でわかった。一方で中国は論文数で世界2位になるなど、躍進が目立つ。」「10年前に比べ、日本の論文数は3%の伸びだったが、中国は約4.6倍になった。日本のシェアは10年前は米国に次ぐ2位だったのが、中国、ドイツ、英国に抜かれ5位に下がった。」とは、2013年3月30日付けの朝日新聞の報道である。これを受けて、4月1日付けの同紙の社説では、我が国の科学論文数が伸び悩んでいることの原因が検討されている。エイプリル・フールにしては厳しい考察である。

まずは、「原因の一つは国際共同研究の流れに乗り遅れていることだ。欧州各国は意識的に「多国籍研究」を進めている。」と指摘している。「もう一つは、学際・分野融合的な部分で次々に生まれているホットな研究領域へのかかわりが弱いことだ。たとえば、数学や工学、生化学、感染症学などの境界ですすむ「ネットワーク科学」への関心は薄い。」とも記載されている。その通りかもしれない。して、その解決策はというと、「内向きの姿勢をあらため、世界の潮流を見失わないことが重要だ。」という。この解決策は一般論過ぎて、何をどう進めるべきなのか一向に見えてこない。これは当たり前で、新聞の論説委員に答えを求めるべきではなからう。彼等は当の研究者ではないから。我々研究者が自らに問い、自らで答えを得るべき問題であろう。

もし答えを国際共同研究に求めるのなら、舶来の技術や商品を真似て高度成長を遂げたときの「どこかの国」の再現にならないかと不安になる。「外国から輸入した商品を次から次へと改良して 消費者の受け入れやすい商品につくりかえ、国内だけでなく、世界中に売り込むようになった国。世界中を席捲しているメイド・イン・ジャパンを貫く特徴はどこにあるか」というと、その大半が日本人の独創になる オリジナル商品でないということである。」と当時、作家邱永漢氏がいみじくも指摘している。商品を科学に、消費者を科学者に換えて読むと、私の危惧が分からう。

さて、彼の社説である。その書き出しはこうだ。「科学に国境はない。どこかの国の研究者が貢献しなくても、人類の集合知としての科学はいつこうに困らない。」

一段と風が強まってきた。向かい風になるのか、追い風になるのか、科学者の進む方向次第である。

我々は、その風の中に立っている。

研究紹介

核酸の構造を自在に操作する

～ナノスケールの“楽しい工作”～

関西大学化学生命工学部

(JST さきがけ「分子技術と新機能創出」研究者兼任)

葛谷 明紀

(kuzuya@kansai-u.ac.jp)



1. はじめに

大学三年生の秋だっただろうか、運動部の先輩を頼って研究室(東大工学部化学生命工学科(当時)小宮山眞研究室)見学に行くと、ポップな音楽が流れる中で先輩たちは大きなDNAの分子模型を組み立てていた。そんな雰囲気惹かれて配属される研究室を選んでから、かれこれ20年近くもDNAを対象に研究活動が続けてきたことになる。今や、分子模型いじりをそのまま分子を使って行うような研究領域が主な専門分野である。好きなことが仕事なのだから、もちろん毎日の研究は楽しい。日々励んできた甲斐あって(?)先日招待講演の機会をいただいた際には、某先生から「DNAオタク」の称号まで頂戴してしまったほどである(光栄です)。

ひとえにDNAを対象にした研究と言っても、これまでに行った内容は、無機化学、有機化学から生物化学、さらには材料学に分類されるようなものまで含まれ(最近は数学や情報科学、機械工学もかじり始めた)、あまりまとまりがあるとは言えない。あえてストーリーをつくるとすれば、いずれの研究も、

- | | |
|----------------------------------|--------------|
| 1. 直鎖状の核酸分子を自在に切り貼りする技術 | → 一次元の核酸操作技術 |
| 2. DNAで平面状ナノ構造体を作成し、ナノ材料を配列化する技術 | → 二次元の核酸操作技術 |
| 3. 平面状のDNAナノ構造体を立体に組み上げる技術 | → 三次元の核酸操作技術 |
| 4. 可動変形するDNAオリガミ構造体を自在に制御する技術 | → 四次元の核酸操作技術 |

のどれかには集約されるだろうか。以下、多少時間軸は前後するが、この分類に従いながら、とある「DNAオタク」が形成されるまでの道のりをご紹介します。

2. 一次元の核酸操作技術

2.1. 基質の局所的活性化を利用したRNAの配列特異的切断

卒業研究から10年にわたり、これまでの研究歴の半分近くをかけて取り組んだテーマが、RNAを配列特異的に切断する修飾DNAの開発である。ランタニドイオンやオリゴアミンがRNAを効率的に加水分解することは、研究室の先輩方が既に見いだしていたので、これを触媒として使用することとした。当時世界標準だった「基質と相補的なDNAに触媒分子を固定化するという設計指針に素直に従って、配位子やオリゴアミンを導入した修飾DNAをたくさん合成したが、思うようにRNAが切れてくれない。切羽詰まって「触媒を固定することは一旦忘れて、逆にRNAの反応性を局所的に高める手段は無いだろうか」と、基質と相補的なDNAの構造をいろいろと変えてみたところ、ほどなくして、RNA/DNA二本鎖中に3塩基

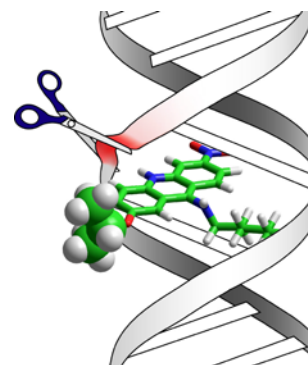


図1 RNA の局所的活性化を利用した選択的切断

と、基質と相補的なDNAの構造をいろいろと変えてみたところ、ほどなくして、RNA/DNA二本鎖中に3塩基

分だけ一本鎖領域(ギャップ)を作っておくと、遊離のランタニドイオンがその中のリン酸ジエステル結合一箇所だけを特異的に切断することを見つけたことができた¹⁾。さらには、DNAにインターカレーターの一つであるアクリジンを導入しておくと、1塩基のギャップであっても、アクリジンの正面だけで触媒に対するRNAの反応性が飛躍的に高まることがわかり、この活性化された部位だけを選択的かつ効率的に切断することに成功した^{2,3)}。アクリジンの構造を最適化したあとの切断活性は、当時報告されていたRNA切断系の中でも1,2を争う高さとなった⁴⁾。この系を使えばRNAを望みの二カ所で切断して望みの小断片を切り出すようなこともでき、1塩基の変異(SNP)と挿入、欠失多型の(indel)同時解析可能な、質量解析による厳密な新規遺伝子診断法を開発することができた^{5,6)}。

2.2. ケージド核酸を利用した制限/連結酵素のいらない遺伝子組み換え法の開発

「切断する技術ができたらつなぐ技術も作りたい」と考えてできたのが、「望みの長さ、望みの配列の非天然粘着末端を有した産物を得られる新しいPCR法(LACE-PCR法)」である⁷⁾。具体的には、光開裂性の保護基を導入した核酸塩基(ケージド核酸)を挿入したプライマーを用いる。この保護基がポリメラーゼによるDNA複製を配列選択的に阻害して、ケージド残基よりも5'側の領域を複製させないようにするのが原理である。PCR増幅後にUVAをあてるだけでこの保護基は除去され、最終的なPCR産物には一切の化学修飾が残らない。

LACE-PCRにより得られる粘着末端は配列や長さに一切制限がなく、自由に設計することができる。ゆえに従来法のようにDNAを切断する制限酵素の認識配列に規定されることはない。また連結酵素を使ってわざわざ共有結合を生成させなくても、複数の断片を自由な組み合わせで、選択的に、かつ安定してつながった状態に保つことができる。断片間のニックはトランスフェクション後に大腸菌内で修復されるので、PCR産物をただ混ぜて大腸菌に加えるだけで遺伝子組み換えが出来る、非常に簡便な系を構築することができた⁸⁾。

3. 二次元の核酸操作技術

核酸は、そのままではいくら切ったりつないだりしても、どこまでもつづく直線状の構造体にしかない。しかし、二重らせんを構成する鎖の片方を適切な位置で別の二重らせんへ乗り換えさせると、二重らせんをいくつも平行に束ねて、平面状のナノシートを作成することができる。DNAナノテクノロジーと呼ばれるこの分野の研究者たちが、DNAを単なるブロックの1ピースとして扱って様々な美しい構造体を作り上げる様には、在学中から魅了されていた。ありがたいことに学位を取得後、DNAナノテクノロジーの創始者であるニューヨーク大学のNed Seeman教授のもとに、日本学術振興会の特別研究員(PD)

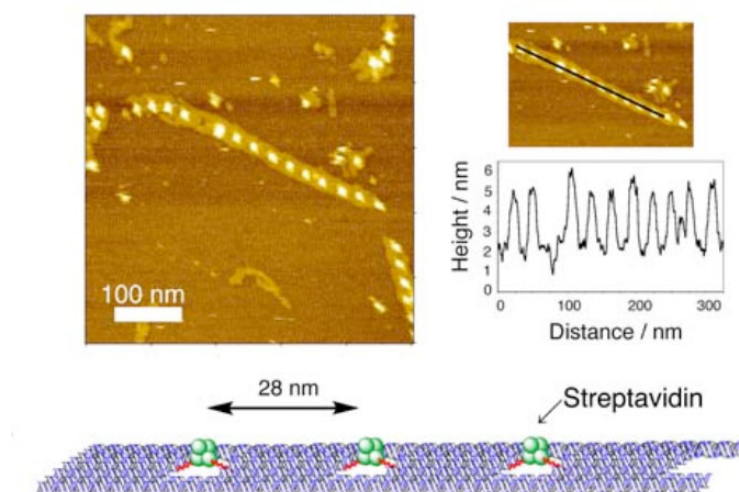


図3 DNA Nanotape 中のウェルへのストレプトアビジンの単分子取り込み

として二年弱滞在する機会を得ることができた。

運命の不思議な巡り合わせで、特別研究員採用期間終了直後には、出身の小宮山研究室に助教として雇っていただけることとなった。そこで最初に作成したのが、9本の二重らせんを束ねた世界最大のDNA タイルである⁹⁾。設計に際して1つ工夫した点が、タイルの内側に配置した二重らせん5本を残りの4本よりも短くして、タイル全体を凹字型にしたことである。このタイルを一直線に自己組織化させることで、10ナノメートル角の窓状切り抜きが27 nm 間隔で埋め込まれた、幅約27 nm のテープ状の構造体を作成できる (DNA Nanotape)。幸いなことに、この切り抜きがタンパクなどのナノ材料を1分子だけ収納するウェルとして利用できることを見いだすことができた。ビオチン修飾したDNAを使用してウェルの中にビオチンを2分子配置すると、これらが協同的に作用して、ストレプトアビジンタンパクを厳密に1分子ずつウェルの中に取り込むことができる。ウェルのサイズを2倍の大きさにするとタンパクが2分子入ってくるため、ウェルの大きさがタンパク1分子分にちょうどフィットしていることが、協同的な相互作用に必須だということがわかる。取り込んだストレプトアビジンは深さ2 nmのDNAウェルの中にあるため非常に安定で、AFMによる測定を何度行っても常に明瞭なイメージを与えた。このことからDNAウェルの作成は走査プローブ顕微鏡を利用した単分子イメージングに有用であることが確認された。

上記のDNA Nanotapeは小さなDNAタイルの自己組織化を利用していたため、その長さを制御することはできなかった。またそれぞれのウェルを区別することも、数多くの種類のタイルを別々に調製する必要がある、現実的ではなかった。これらの問題を解決するため、ウイルスの長鎖一本鎖DNAを折り畳んで望み通りのナノ構造体を作成できるDNA Origamiの技術を活用して、200 nm x 40 nmの棒状の構造の中に10 nm角のウェルを9つ等間隔に組み込んだ構造体を作成した (DNA Nanostick)¹⁰⁾。DNA origami 技術は確かに信頼性が高く、見よう見まねの設計でも、非常に均一な構造体を効率良く作成することに成功した。

DNA Origami技術の最大の特徴は、構造体内のすべての座標を区別できることにある。Nanostickの系でも、9つのウェルの狙った位置のみに、狙った数のストレプトアビジンを取り込むことができた。複数のNanostickを集積化し、二次元のタンパクナノアレイの構築にも成功した。現在では個々のストレプトアビジン分子は自由に出し入れ可能となり¹¹⁾、金ナノ粒子と交互に並べることもできるようになった¹²⁾。また酵素分子のアレイ化にも成功している¹³⁾。

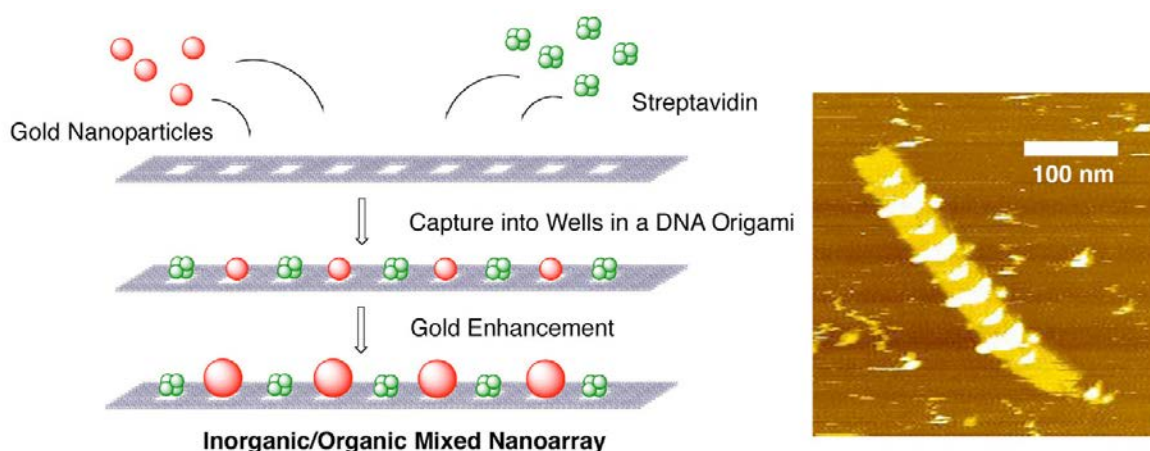


図 4 DNA Nanostick 中のストレプトアビジン/金ナノ粒子交互ナノアレイ

4. 三次元の核酸操作技術

4.1. 8本のDNAからなるナノチューブの構築

ニューヨーク大学滞在時に与えられたのが、このテーマである。DNAを平面ではなく、曲面を描くように平行に束ねると、DNAでチューブ状構造を形成することができる。この当時までに6本のDNAを束ねた構造体(6HB)が報告されていた。チューブの中にゲストを内包することを考えるともう少し太いものが望ましく、8本のDNAを束ねてできる構造体(8HB)の設計を要請された。さらにはゲスト内包のために、4本のDNAでできた半円形のタイルが2つ集積してチューブが閉じるような仕組みも組み込まなければならない。各らせんが内角 120° で結合している6HBは、21塩基おきに2周するDNAとの親和性が良好なため、その設計には既存のDNAナノ構造体構築法をそのまま適用できたが、8HBではそうはいかなかった。全ての条件を満たすDNAの結合パターンを決定するために、色鉛筆を片手に机に向かう日が何ヶ月か続いた。実際に18本の構成DNAを決定してからは、多少の微調整を要した以外には非常にすんなりと研究は進み、自分がfirst authorでニューヨーク大学名義の論文をpublishする、という当初目標をクリアすることができた¹⁴⁾。

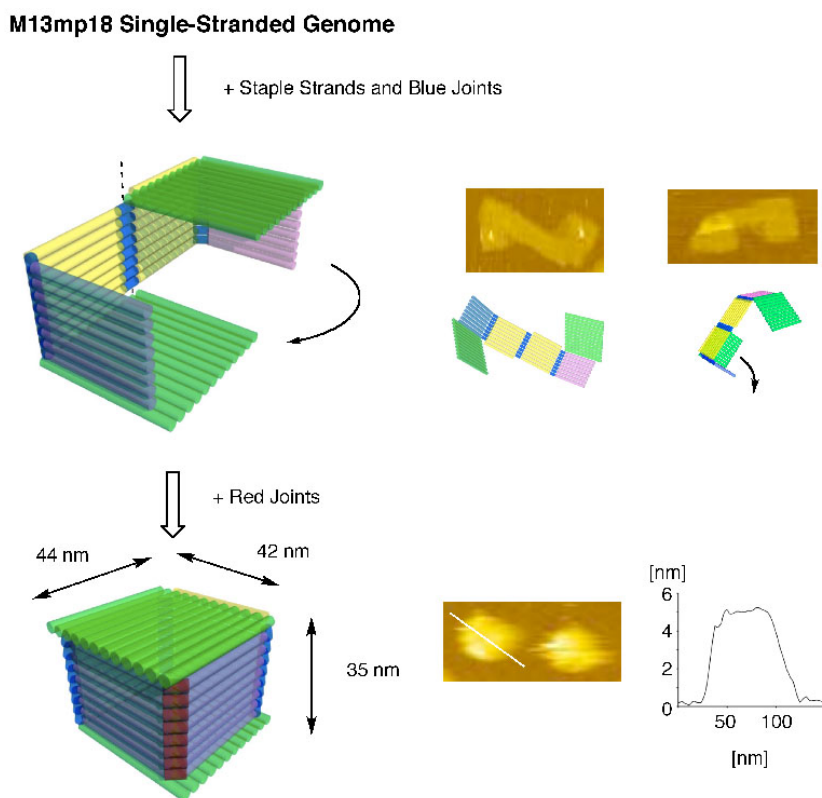


図5 二段階で閉じる箱形 DNA origami 構造体

4.2. 箱形DNA origami構造体の構築

Origami という名前を聞くと、日本人の多くは紙“面”を折る行為を想像するだろう。そのため、DNA origami 構造体をさらに折り畳んで作成した三次元DNA origami は是非とも日本から発信したいと考え、DNA origamiを扱い始めた当初から、密かに箱形DNA origami構造体の設計をあたためていた。

DNA origamiの材料として使用するM13mp18ファージゲノムから6面の正方形を作成すると、出来上がる構造体の大きさはゲノム長からおおよそ40 nm角と計算される。これはほぼタンパクベースのウイルスと同じ大

きさで、内部に有用分子を取り込んでナノリアクターなどとして活用できれば、非常に魅力的な研究になると考えた。そこで8HBの研究を参考に、当初は開いた構造体を形成し、トリガーとなるDNAを加えることで閉じた箱形構造体へと構造変化する、ゲスト取り込みのための二段階構造形成の仕組みを組み込んだ。

もう一つの工夫として、DNA origami の各面同士を結合する際に、「山折り」と「谷折り」を厳密に区別した。ここでもやはり、8HBの設計と格闘した経験が役に立った。DNA origamiは16塩基でらせん1.5周を基準にして構成されているため、8塩基は0.75周(=270°)に相当する。すなわち、らせん間の結合点を8塩基離れた場所に設定すれば、90°の内角で3本のらせんを結合することができるのである。

以上のような方針で設計したDNA origami 構造体は、開いた構造体も閉じて箱形にした構造体も、その構造の違いをAFMで明瞭にイメージすることができた。また、DLSによる粒径の測定結果も計算結果と非常に良く一致し、設計通りの箱形DNA origami構造体の形成は、ほぼ疑う余地の無いものに見えた。より上位のジャーナルを狙おうと、箱の内部に酵素などのゲストを閉じ込めて、ナノリアクターもしくはナノコンテナとしての応用例を示そうと四苦八苦している内に、悲しい知らせに接することになる。デンマークのグループが、やはり箱形DNA origami構造体の研究でNatureにアクセプトされたというのだ。問い合わせると、私も参加予定の国際会議でも発表するという。両者の設計が類似していた場合、彼らの設計を目にしてからの論文投稿は問題となるため、出国までの一週間で速報誌用の原稿を書き上げて投稿をすませるはめになった。論文は無事に採択されたが¹⁵⁾、結果として同年には異なるグループから4種類の似たような中空三次元DNA origami構造体が発表され、業界の競争の激しさを痛感した。なお、DNAナノ構造体内部へのゲストの内包は、現在に至っても成功例がほとんど報告されてこない。内部空間は極多数のリン酸ジエステルが取り囲んでいるため、電気的に異常な状態になっているのかもしれない。

5. 四次元の核酸操作技術

三次元のDNA origami構造体でも世界一番乗りをとることができなかったため、次のターゲットに選んだのが、三次元にさらに時間軸を追加して四次元とした「動く」DNA origami構造体の作成である。前述の箱形DNA origami構造体も二段階で構造変形できるため、これらも動く構造体と言えなくもないが、構造体の動作そのものが構造体の機能に直結しているものを実現したいと考えた。「生体分子の究極の検出法は単分子イメージングだ」と常々考えていることもあり、四次元DNA origami構造体(以下オリガミデバイスと記す)の機能は、「生体分子の単分子検出」とし、自身のターゲットと特異的に結合し、その結合に伴って構造が大きく変化する分子デバイスを作成することにした¹⁶⁾。

そこでデザインしたのが、長さ約170 nmの2本のレバー部から構成されるペンチ型(DNA origami pliers)および鉗子型(DNA origami forceps)の2種類のオリガミデバイスである。これらの構造体を構成する2本のレバーは、オリガミ形成の足場となるM13mp18ファージゲノム中の、リン酸ジエステル結合2本でのみ連結されている。この連結部分はDNA二重らせんが四分岐したHolliday Junction構造に相当するため、Mg²⁺存在下でこのデバイスは、X字型に交叉した構造(cross体)を優先して形成すると予想される。AFM測定の結果もこの予想を支持し、マイカ基板に吸着したデバイスのうちおよそ60%がcross体として観察された。

このようなオリガミデバイスを用いてターゲット分子を検出する手法として、まずターゲット分子をペンチで挟むように1分子だけ捕獲する「pinching機構」を考案した。ターゲット分子と強く結合するリガンドを、デバイスのレバー部に導入した切り込みにそれぞれ1分子ずつ導入しておき、これらを同時に1分子のターゲット分子と結合させる。これによりレバー間に新たな架橋構造が生まれ、通常交叉した状態にあるレバー部が平行な閉じた状態へと変型する。このデバイス全体の構造変化をAFMで観察することにより、ターゲットの存在を検知する。結果として、レバー部をビオチンで修飾することによりストレプトアビジンが、フルオレセインで修飾することにより抗フルオレセイン抗体がペンチ内に1分子だけ捕獲されている

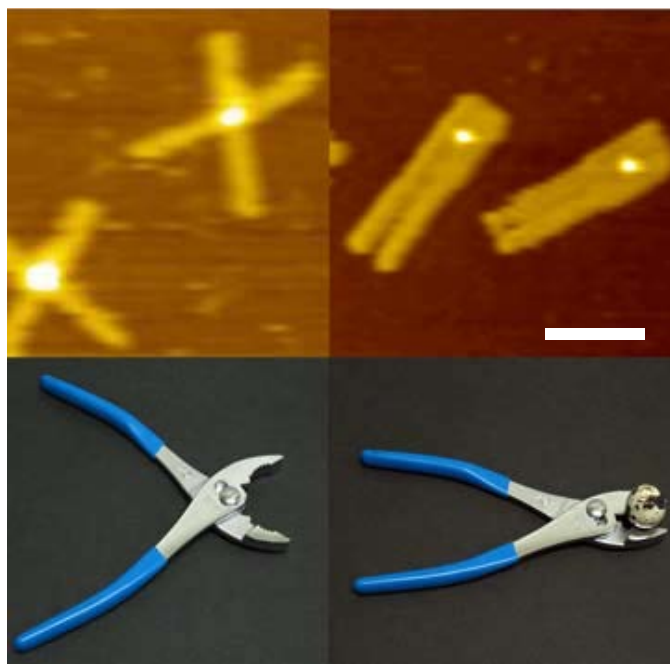


図6 ストレプトアビジン1分子を摘んで閉じるDNA pliers

る様子がAFMではっきりとイメージングされ、これらのタンパクを分子レベルで検出することに成功した。DNA pliersとDNA forcepsを併用することで、複数のターゲットも同時に検出することができる。

抗体等と比較して弱い相互作用しか示さないターゲットでは、1分子の架橋形成に頼るだけではオリガミデバイスの十分な構造変化を誘起できない。そこで、オリガミデバイスのレバー部上で4組のDNA鎖をジッパーの歯のように協同的に作用させる「zipping機構」を検討した。これにより、12 merのヒテロメア配列一本鎖DNAが二量化する性質を利用して溶液中の Na^+ と K^+ を、C-Cミスマッチの安定化を利用して溶液中の Ag^+ の存在を、オリガミデバイスの構造変化として分子レベルで検出することに成功した。

複数の相互作用を協同的に作用させてオリガミデバイスを選択的に閉じるzipping機構とは逆に、ターゲットと検出用DNA鎖との相互作用により、形成時からあらかじめ閉じておいたデバイスを選択的に開くことでターゲットの存在を検知する「unzipping機構」も考えられる。結果として、DNAとRNAの間の鎖交換反応を利用してmicroRNAを、DNAアプタマーを利用してATPを、分子レベルで検出する系の構築にも成功した。また、同様のプロセスでPNAのDNA二重らせんへのインバージョンも検出することができた¹⁷⁾。

以上のように、可動変形する2種のオリガミデバイス、DNA origami pliersとDNA origami forcepsを活用することで、質量数が数十の金属イオンを始めとして、分子量数百の小分子、さらには分子量数万のタンパクまでの幅広いターゲットを、単一の系で同時検出できることが確認された。これらのナノデバイスの構造変化は、AFMのみならず、一般的な研究室の設備でも実施できるゲル電気泳動によっても、明瞭に判別することができる。

6. 今後の展望

これまで様々なDNAナノ構造体を作成してきたが、既に基本構造の構築法についてはめぼしいものが出尽くしており、分野全体の傾向としては「作った構造体で何をするのか」、すなわち「どんな機能を持った分子デバイスをつくれるのか」に、研究者の興味の対象が移っていると強く感じている。そのような状況下で、

今年度より発足した新学術研究領域「分子ロボティクス」の末席にて、情報科学や機械工学の研究者たちと交流できることは独自の領域を切り開くためにおおいに役立ってくれそうである。また、一次元の核酸操作技術についても、単なる切り貼りだけではなく、結んだり、あるいは絡めたりといった、分子のトポロジー制御技術にもまだまだ取り組む余地はある。これまでにシクロデキストリンとDNAのコンジュゲートをいくつか作成してきたが¹⁸⁾、紙面の都合で紹介することができなかった。DNAで構築した様々な構造を、領域の垣根を越えて合成高分子や超分子複合体等に転写することができれば、既存の化学分野にも大きな変革をもたらすはずである。その日を夢見て、今後も「核酸細工」あるいは「分子工作」の腕を磨いていきたい。

謝辞

本文中の研究は主に、東京大学先端科学技術研究センター小宮山眞研究室にて、科学研究費補助金をはじめとする多くの研究助成の援助のもとで行われました。ご指導いただきました小宮山眞教授(現筑波大学)、自由に研究することを見逃してくださっている大矢裕一教授(関西大学)、また同僚、学生諸氏にも深く感謝いたします。

参考文献

- 1) A. Kuzuya, M. Akai, M. Komiyama, *Chem. Lett.* **1999**, 1035–1036. 2) A. Kuzuya, M. Komiyama, *Chem. Commun.* **2000**, 2019–2020. 3) A. Kuzuya, R. Mizoguchi, F. Morisawa, K. Machida, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 6887–6894. 4) A. Kuzuya, Y. Shi, K. Tanaka, K. Machida, M. Komiyama, *Chem. Lett.* **2009**, 38, 432–433. 5) A. Kuzuya, R. Mizoguchi, T. Sasayama, J.-M. Zhou, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1430–1436. 6) T. Sasayama, M. Kato, H. Aburatani, A. Kuzuya, M. Komiyama, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **2006**, 17, 3–8. 7) K. Tanaka, H. Katada, N. Shigi, A. Kuzuya, M. Komiyama, *ChemBioChem* **2008**, 9, 2120–2126. 8) A. Kuzuya, K. Tanaka, H. Katada, M. Komiyama, *Molecules* **2012**, 17, 328–340. 9) A. Kuzuya, K. Numajiri, M. Komiyama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3400–3402. 10) A. Kuzuya, M. Kimura, K. Numajiri, N. Koshi, T. Ohnishi, F. Okada, M. Komiyama, *ChemBioChem* **2009**, 10, 1811–1815. 11) K. Numajiri, M. Kimura, A. Kuzuya, M. Komiyama, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 5127–5129. 12) K. Numajiri, T. Yamazaki, M. Kimura, A. Kuzuya, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 9937–9939. 13) A. Kuzuya, N. Koshi, M. Kimura, K. Numajiri, T. Yamazaki, T. Ohnishi, F. Okada, M. Komiyama, *Small* **2010**, 6, 2664–2667. 14) A. Kuzuya, R. Wang, R. Sha, N. C. Seeman, *Nano Lett.* **2007**, 7, 1757–1763. 15) A. Kuzuya, M. Komiyama, *Chem. Commun.* **2009**, 4182–4184. 16) A. Kuzuya, Y. Sakai, T. Yamazaki, Y. Xu, M. Komiyama, *Nature Commun.* **2011**, 2, 449. 17) T. Yamazaki, Y. Aiba, K. Yasuda, Y. Sakai, Y. Yamanaka, A. Kuzuya, Y. Ohya, M. Komiyama, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 11361. 18) A. Kuzuya, T. Ohnishi, T. Yamazaki, M. Komiyama, *Chem. Asian. J.* **2010**, 5, 2177–2180.

研究紹介

生体高分子を創って組み合わせていたら
合成生物学になっていた

東京工業大学大学院総合理工学研究科

木賀 大介

kiga@dis.titech.ac.jp



1 はじめに

「合成生物学」という単語が皆様のお目にかかる機会が増えてきたかもしれない。その本質は、生命が階層性を持ったシステムであることを意識し、ある階層の構成要素を組み合わせ、上位階層となるシステムを構築することを研究手段とすることにある(図1)。このように研究手段に着目した区分から、合成生物学の適用分野は理学にも工学にもあるといえる。研究紹介を執筆させていただけるこの機会に、自己紹介を兼ねて、学生時代に得た経験を独立後に拡張しようとしてきている筆者の、これまでの研究を振り返ってみることにした。

「人工生命をつくりたいんです」という学部生の妄言を、「うん、やってみよう」と受け入れ、さらに様々な経験を積む機会を与えてくださった

横山茂之先生(当時 東京大学理学系研究科生物化学専攻 現・理化学研究所)の懐の広さ、そしてより直接的に様々な発想・技術を伝授して下さった皆様に感謝しながら、アプタマー、遺伝暗号、生体高分子人工ネットワーク、それぞれの研究について紹介させていただきたい。これらが、学部時代から私の頭に取りついて離れない、「なぜいまの生命は4種類の塩基と20種類のアミノ酸を用いているのか」、という疑問に答えるためのステップとなっている。

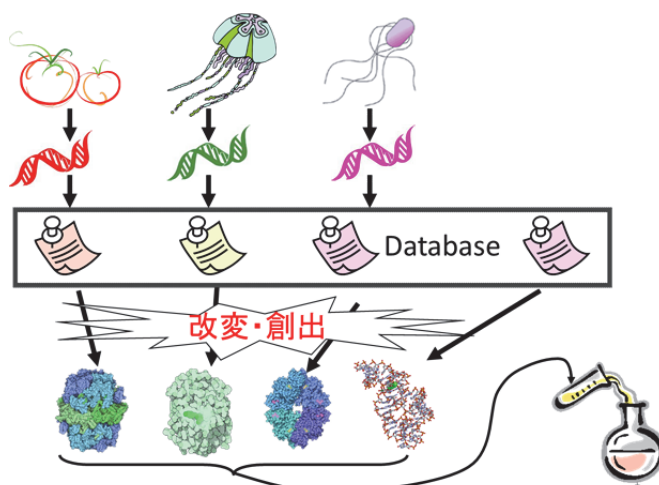


図1 合成生物学では、生命のある階層の「部品」を組み合わせ、上位階層を構築することを研究手段とする。一例として、生体高分子のカタログから必要な部品を選択して試験管内に組み合わせて人工システムを構築することが挙げられる。

2 アプタマーの単離と分子システムの組み込み

1990年に発表された Ellington と Szostak によるアプタマーの創出は(1)、ビルディングブロックとしてのヌクレオチドを組み合わせることで、天然の進化と離れて新規な機能性生体高分子を創出できる、ということを示したという意味において、非常に重要である。Szostak 研で ATP 結合アプタマーを創出したポストドクの東大内でのセミナーに触発され(2)、リボザイムの改変が進化工学によって報告され研究室でもプロジェクトが進行しており、さらに新規なリボザイムの創出も可能であると予想されたこの時期、無鉄砲な学部生は、

核酸塩基代謝リボザイムを創るんだ、と意気込む(ごめんなさい、今現在も自分ではまだ出来ていません)。ここで横山先生から、チャレンジングな仕事はステップごとに分割しなさい、との指導。結果として、研究室の先輩方の持つ諸技術を組み合わせ、基質結合部位としてのキサンチン結合RNAを卒業研究期間内に創出することができた(論文執筆が遅い、という悪弊により発表は後年)(3)。

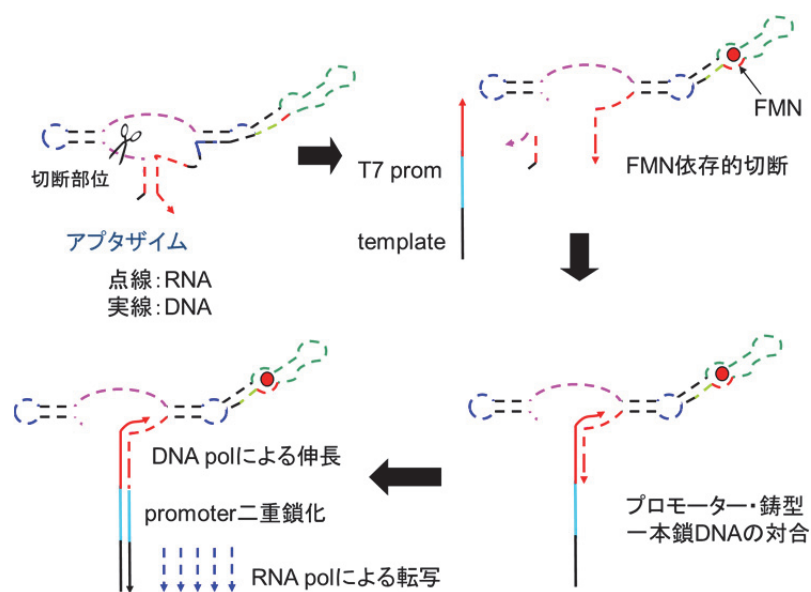


図2 小分子の存在を認識してRNAを生産する分子デバイスの反応スキーム

この研究の過程で、東工

大の関根光雄先生の研究室で当時大学院生であった清尾康志先生(現・東工大准教授)の指導により有機合成操作の入り口を体験し発想に触れられたことが、あやしく楽しい実験を少しでも堅実に進めるための私の大きな糧となっている。独立後の研究では、小分子に依存したアプタザイムの自己切断反応によってトリガーがかかり、数段階の酵素反応が自律的に進行した結果として、試験管内に加えてある鋳型に依存した転写が活性化される反応系を構築している(後述)(4, 5) (図2)。

3 遺伝暗号の改変

遺伝暗号で規定できるアミノ酸の組み合わせを、普遍遺伝暗号に記されている20種類から変えられないか、という研究の第一波の波が1980年代後半に訪れた。国内でも横山先生の師匠である宮澤辰雄教授により、大腸菌培養液のアミノ酸組成を、メチオニンを除いてこれと構造が類似したノロロイシンを加えた組み合わせへと変更することで、アミノ酸の組み合わせを変更したアロプロテインを合成できることが示されていた(6)。20種類のアミノ酸と異なる非天然アミノ酸を有機化学反応を活用してtRNAに結合させタンパク質合成に用いる研究も進められていたが、合成効率の向上のため、翻訳系と同じ溶液内で非天然アミノ酸とtRNAとを結合させる研究が求められていた。

修士課程での研究に目途がたち、アミノ酸の種類に興味を持ち続けていた私は、非天然アミノ酸研究の再開を横山先生に志願し、坂本健作先生(当時横山研助手、現・理化学研究所)と共に、アミノアシルtRNA合成酵素の改変に基づく遺伝暗号の拡張に着手した。この戦略で遺伝暗号に新たなアミノ酸を加えるためには、新規な酵素について、20種類のアミノ酸を認識せず新たなアミノ酸のみを認識する「アミノ酸基質特異性の改変」と、約50種類の内在性tRNAを認識せず、非天然アミノ酸専用のtRNAのみを認識する「tRNA基質特異性の改変」が要求される(図3A)。私はまず後者を担当し、アルギニルtRNA合成酵素がサプレッサーtRNAを認識できるように改変したが(7)、特異性の変化は遺伝暗号の拡張には不十分であった。この酵素のアミノ酸特異性変換が難しかったこともあり、学位取得後、チロシルtRNA合成酵素へと目標を変更した。大腸菌チロシルtRNA合成酵素とチロシンtRNAの組が、真核生物の因子と交差反応しないことが予想されており、また、当時進行していた横山先生のプロジェクトで、真核生物内のチロシンリン酸化シグナルの改変も進んでいたためである。自分自身では立体構造解析を行っていなかったが、

立体構造を眺めることに慣れ親しんでいたことから、立体構造モデルを基盤に多数の変異体を構築し、さらに有効な変異を組み合わせることで、非天然アミノ酸である3-ヨードチロシン特異的な酵素を創出することができた。さらにこれを、遠藤弥重太先生が開発したコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系と組み合わせることで、アンバーコドン特異的に非天然アミノ酸を導入することができた(8)。この最適化過程で得られた知見をもとに行われた、培養細胞内における非天然アミノ酸の導入をお手伝いすることもできた(9)。

アミノアシル tRNA 合成酵素変

異体の創出については、横山先生のプロジェクトのチームリーダーであった平尾一郎先生の研究室で行うことができたことも、その成功に重要であった。スクリーニング系に用いる試薬を高純度に精製する必要があるだけでなく、実験の量・集中度、結果の微小な差異を見逃さない、といった実験科学の基本を再確認できたことは貴重な経験だった。横山先生の研究グループを離れ、東大着任直後の菅裕明先生(当時先端研助教授、現理学系研究科教授)のラボにお世話になった時期に、村上裕さん(現・東大准教授)、齊藤博英さん(現・京大准教授)と机を並べ密に交歓できたことも、私自身の研究室を立ち上げる時期の糧になっている。

2005年に独立した研究室を運営するようになった後には、非天然アミノ酸を加える遺伝暗号の拡張とは逆に、19種類以下のアミノ酸のみをコードする「単純化遺伝暗号表」を、無細胞タンパク質合成系を活用して開発している(10)。この一例では、本来システインをコードする UGU/C コドンがセリンとして翻訳されるため、どのような mRNA を用いてもシステインを持たないタンパク質が合成される(図3B)。この遺伝暗号を用いてタンパク質の進化工学を行うことは、原始のタンパク質を再現するだけでなく、部位特異的に修飾したタンパク質を開発するためにも重要である(11, 12)。

4 DNA コンピュータと人工遺伝子回路

生体高分子を組み合わせることで「人工生命」を創ることを妄想していた学生である筆者にとって、1990年代前半に「つくる」ためには、何かが足りない、ということだけは察することができた。実際に何をすべきか、ということについて、修士の時代から融合領域である分子プログラミングの諸プロジェクト(JSPS 未来開拓事業・分子計算 1996-2001、科研費特定領域・分子プログラミング 2002-2008)に参画できたことが大きな糧になっている。東京大学の萩谷教授が1995年に開講した生命情報学全学ゼミでは、米国の研究者が発表した DNA コンピュータが紹介された(13)。この論文と萩谷先生の視点を横山研究室に持ち帰って論文紹介ゼミの題材としたところ、気づいたら横山先生のアレンジで共同研究(14)とプロジェクトが始まっていた、という流れである。

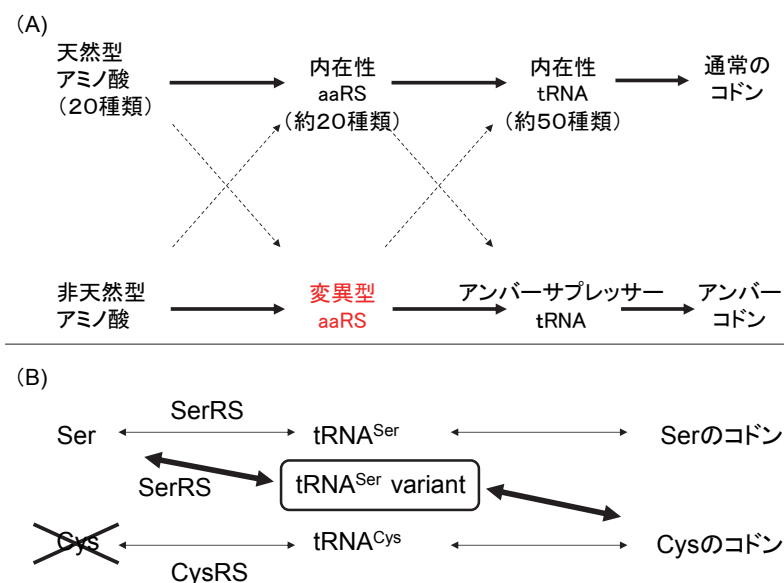


図3 遺伝暗号の改変

(A) 遺伝暗号を拡張して 21 番目の「アミノ酸-tRNA-aaRS」の組を成立させる

(B) 変異体を活用した対応付けの改変による遺伝暗号の単純化

最初の DNA コンピュータの論文が、個々の DNA 分子を単にデータをコードとしたテープとして用いた検索に重点を置いたことに対し、私たちの研究の方向は、多段階の酵素反応や DNA の二次構造形成という、分子が「自律的に」行う反応により複雑な演算を達成したことにある。私が実験を行った共同研究の最初の発表の後(化学・生物系では雑誌論文での公表が重要であることに対し、情報系では国際会議発表のために論文が審査されこれがプライオリティの対象となり、会議後に絞り込まれた発表が論文誌に掲載される)(14)、私自身は遺伝暗号の改変に注力したが、横山研究室では坂本先生とさらにプロジェクトに加わった小宮健さん(当時学部生、現・東工大総合理工学研究科助教)により、自律性に注目した研究が続けられた(15, 16)。

私が 2004 年に助手の職を得たのは、DNA コンピュータのプロジェクトのコアの一人である東大総合文化研究科・陶山明教授の研究室であった。陶山先生は、多段階の酵素反応が自律的に進むことによって、特定の配列を持った RNA 分子が存在するときのみ転写が進行する反応系モデルを提案していた。1 年に満たない在職期間であったが、この反応系を試験管内に実現し、当時博士課程の院生であった瀧ノ上正浩さん(現・東工大講師・さきがけ研究者)に引き継ぐことができた(17)。また、陶山研ではこの系の反応産物である mRNA を同一試験管内で翻訳する系や、リボソーム内でのこの反応系の構築が進んでいる。また、私が独立した研究室を運営するようになってから開発した、小分子の存在に依存して転写を活性化させる前述の系は、この陶山先生の系にインプット・インターフェイスとして接続することを目指している(4, 5)。これらの系を総合することで、特定の小分子群の存在に反応してタンパク質製剤を生産できる、インテリジェントな細胞様 DDS の開発が期待される(18)。

私の研究室から最近発表した、遺伝子を数理モデルに基づいて組み合わせる人工遺伝子回路の研究は、DNA コンピュータ研究の延長にあるともいえる(実際、萩谷先生のプロジェクトが科研費新学術領域「合成生物学」「分子ロボティクス」へと展開している)。この研究では、発生中の細胞の多様化モデルとしての「Epigenetic Landscape」に沿った細胞の内部状態の変化を規定する遺伝子ネットワークのプログラムを DNA に書き込み、この DNA をもった細胞が実際にプログラム通りに多様化することを確認できた(19)(図4)。私たちの仕事に限らず、遺伝子工学の発展形としての合成生物学では、複数の遺伝子を細胞に

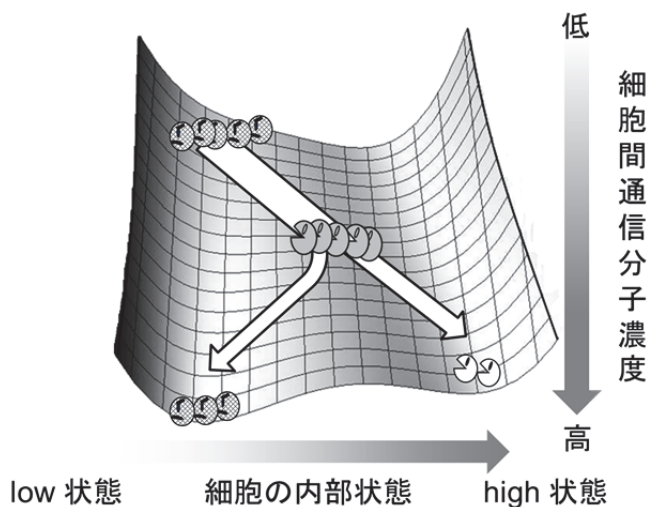


図4 人工遺伝子ネットワークが「発生の地形」上での細胞状態の変化を規定する

導入して活用することが行われている。ここで、天然の遺伝子が、タンパク質などをコードする配列と、その生体高分子をいっただけ生産するか、という制御の情報を併せ持ち、さらに、遺伝子の集合としてのゲノムには、各生物でこの生産制御ネットワークが適切に動作するように情報が書き込まれている、ということをお願いしていただきたい。人工的な遺伝子ネットワークでも、生産制御をプログラミングすることが重要であると容易に想像できる。ここに至って、これまで野生の勘(?)で生体高分子を組み合わせてきた私は壁に直面する可能性があった。これが本節の冒頭で述べた、「つくる」ためには、何かが足りない、ということである。幸い、DNA コンピュータ分野の情報科学・制御工学の先生方とのご交誼からモデリングの感覚を得るこ

とができており、そして、2005 年に助教授として独立した東工大・知能システム科学専攻において、学生に混じってモデリングの講義に出席し、さらに山村雅幸教授の補講によって数理モデルの本質を伝授していただくことができた。結果として、人工生体高分子ネットワークの構築には、Wet の研究と Dry の研究を順次組み合わせることが重要である、という発想を実践できている(20)。

5 これから：「つくる」工学と理学

本稿で紹介してきたように、私は生体高分子を創りまたは改変し、これらを組み合わせて分子システムを構築してきた。つくることは工学となりうるだけでなく、理学ともなりうる。後者については、観察と記載に重点が置かれてきた生物学に軽視されがちだった視点である。とはいえ、リボソームの再構成など、既知の因子群を個々に精製し組み合わせて機能を発揮させることで理解を確認する、といった再構成研究には伝統があり、近年の生体高分子調製手段の進展とともに事例が増えてきている。加えて、「つくる」理学について生物学にみられる特徴的な展開が、生命の普遍性への挑戦である。生命の構成要素の組み合わせについての場合の数が、天文学的数字を超えた数であることを考えれば、同一機能を発揮するために様々なかたちを生物がとってもおかしくない。これは、昆虫、トリ、哺乳類と、それぞれ独立に飛翔のメカニズムを発達させたことで例えることができよう。一方で、普遍遺伝暗号の4ヌクレオチドや 20 アミノ酸など、生物に共通している性質が多く知られている。その普遍性の意義を何かと比べて知るためには、つくることで、普遍性を逸脱した比較対象を用意することが有効であろう。私の遺伝暗号の改変はこの意識により行われた研究であるし、非天然塩基については平尾先生などによる研究が進んでいる(21)。また、昨年東工大は、地球科学と生命科学の融合領域として、WPI-Focus の枠組みで地球生命研究所を発足させた。こちらでは、地球科学と比較ゲノム学による正しい制約のもと、初期の生命と想定されるものをつくる研究が進められる。縁のある Szostak 教授がこの研究所に参画していることは楽しみでたまらない。

有機合成技術は、生命システムに組み込む部品のバラエティを増加させるために極めて重要であり、そして、私自身に新規化合物を合成する能力が欠如していることもある。本稿に記しきれなかった多くの方々からも着想、技術をまなび交歓しながら、私は「つくる」生物学を進めることができてきたように、今後も合成化学者の皆様の研究をサポートし、自分自身の研究も深めることもできれば、との思いを、研究室配属から 20 年の節目の年となる本稿の執筆中により強くした。

謝辞

これまで多々のご指導、ご交誼をくださった皆様、研究室のメンバー、そして本執筆の機会もくださった松浦和則先生に深く感謝します。

参考文献

1. Ellington AD & Szostak JW (1990) In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature* 346(6287):818-822.
2. Sassanfar M & Szostak JW (1993) An RNA motif that binds ATP. *Nature* 364(6437):550-553.
3. Kiga D, Futamura Y, Sakamoto K, & Yokoyama S (1998) An RNA aptamer to the xanthine/guanine base with a distinctive mode of purine recognition. *Nucleic Acids Res* 26(7):1755-1760.
4. Ayukawa S, Sakai Y, & Kiga D (2012) An aptazyme-based molecular device that converts a small-molecule input into an RNA output. *Chem Commun* 48(61):7556-7558.
5. 鮎川翔太郎 & 木賀大介 (2013) 小分子入力を検出する分子デバイスのアプタザイムを利用し

た開発. シーエムシー 30(5):39-46.

6. Koide H, Yokoyama S, Kawai G, Ha JM, Oka T, Kawai S, Miyake T, Fuwa T, & Miyazawa T (1988) Biosynthesis of a protein containing a nonprotein amino acid by *Escherichia coli*: L-2-aminohexanoic acid at position 21 in human epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85(17):6237-6241.
7. Kiga D, Sakamoto K, Sato S, Hirao I, & Yokoyama S (2001) Shifted positioning of the anticodon nucleotide residues of amber suppressor tRNA species by *Escherichia coli* arginyl-tRNA synthetase. *Eur J Biochem* 268(23):6207-6213.
8. Kiga D, *et al.* (2002) An engineered *Escherichia coli* tyrosyl-tRNA synthetase for site-specific incorporation of an unnatural amino acid into proteins in eukaryotic translation and its application in a wheat germ cell-free system. *P Natl Acad Sci USA* 99(15):9715-9720.
9. Sakamoto K, *et al.* (2002) Site-specific incorporation of an unnatural amino acid into proteins in mammalian cells. *Nucleic Acids Res* 30(21):4692-4699.
10. Kawahara-Kobayashi A, *et al.* (2012) Simplification of the genetic code: restricted diversity of genetically encoded amino acids. *Nucleic Acids Res* 40(20):10576-10584.
11. Amikura K & Kiga D (2013) The number of amino acids in a genetic code. *RSC Advances* 3(31):12512-12517.
12. 木賀大介 (in press) 合成生物学. 進化分子工学の最前線, ed 伏見譲 (エヌ・ティー・エス, 東京), pp 34-40.
13. Adleman L (1994) Molecular computation of solutions to combinatorial problems. *Science* 266(5187):1021-1024.
14. Hagiya M, Arita M, Kiga D, Sakamoto K, & Yokoyama S (1997) Towards Parallel Evaluation and Learning of Boolean μ -Formulas with Molecules. *Preliminary Proceedings, 3rd DIMACS Workshop on DNA Based Computers, University of Pennsylvania*:105-114.
15. Sakamoto K, Kiga D, Komiya K, Gouzu H, Yokoyama S, Ikeda S, Sugiyama H, & Hagiya M (1999) State transitions by molecules. *Biosystems* 52(1-3):81-91.
16. Sakamoto K, Gouzu H, Komiya K, Kiga D, Yokoyama S, Yokomori T, & Hagiya M (2000) Molecular computation by DNA hairpin formation. *Science* 288(5469):1223-1226.
17. Takinoue M, Kiga D, Shohda KI, & Suyama A (2008) Experiments and simulation models of a basic computation element of an autonomous molecular computing system. *Phys Rev E* 78(4).
18. Ayukawa S, Takinoue M, & Kiga D (2011) RTRACS: A Modularized RNA-Dependent RNA Transcription System with High Programmability. *Accounts Chem Res* 44(12):1369-1379.
19. Sekine R, Yamamura M, Ayukawa S, Ishimatsu K, Akama S, Takinoue M, Hagiya M, & Kiga D (2011) Tunable synthetic phenotypic diversification on Waddington's landscape through autonomous signaling. *P Natl Acad Sci USA* 108(44):17969-17973.
20. 木賀大介 (2012) 細胞内における人工遺伝子回路の構築. 合成生物工学の隆起, ed 植田充美 (シーエムシー出版, 東京), pp 34-40.
21. Kimoto M, Yamashige R, Matsunaga K-i, Yokoyama S, & Hirao I (2013) Generation of high-affinity DNA aptamers using an expanded genetic alphabet. *Nat Biotech* 31(5):453-457.

研究紹介

神経機能を制御する Ca²⁺チャネル複合体の機能解明

～Ca²⁺チャネルの化学生理学～

京都大学工学研究科・地球環境学堂

清中 茂樹

(kiyonaka@sbchem.kyoto-u.ac.jp)



はじめに

私は、九州大学(現 京都大学) 浜地格 教授のもとで超分子ヒドロゲルに関する研究に携わり、2003年に学位を取得した。その後、イオンチャネルを中心とした薬理学・生理学研究を行っている生理学研究所(現 京都大学)の森 泰生 教授の研究室にポスドクとして異動した。森研究室においては、ポスドク、助手(助教)、准教授と計9年間お世話になり、外界の環境変化を感知するイオンチャネル(TRPチャネル)に関する研究と、筋肉や神経などの興奮性細胞におけるCa²⁺流入を担う電位依存性Ca²⁺チャネルに関する研究に携わってきた。TRPチャネルに関しても薬理学・生理学を中心にいくつかの研究成果を挙げることができた¹⁾が、ここでは神経系の電位依存性Ca²⁺チャネルの機能についての研究成果について紹介したい。研究内容を理解してもらうため、多少長めに研究背景を述べさせて頂く。また本研究紹介の末尾では、9年間の生物系のラボでの研究に携わった後に、今後どのような方向で研究を進めて行きたいかについて簡単に触れさせて頂く。

1. 神経伝達とは？

神経伝達は、情報の伝達から記憶・学習に至るまでの神経機能における最も重要な素過程の1つである。神経伝達はシナプスと呼ばれる数 μm の微小空間において、ミリ秒オーダーの時間スケールで厳密に制御されている(図1)。活動電位と呼ばれる細胞膜の電位変化が前シナプス終末に届くと、細胞外からのCa²⁺流入が起こり、神経伝達物質が放出される。一方、後シナプスには神経伝達物質に対するイオンチャネル型の受容体が存在し、神経伝達物質が認識されることでイオン流入が起こり、細胞膜の電位変化として次の細胞に情報が伝達される。この神経伝達の強弱が記憶や学習につながり、またその異常が様々な神経疾患に結びつく。

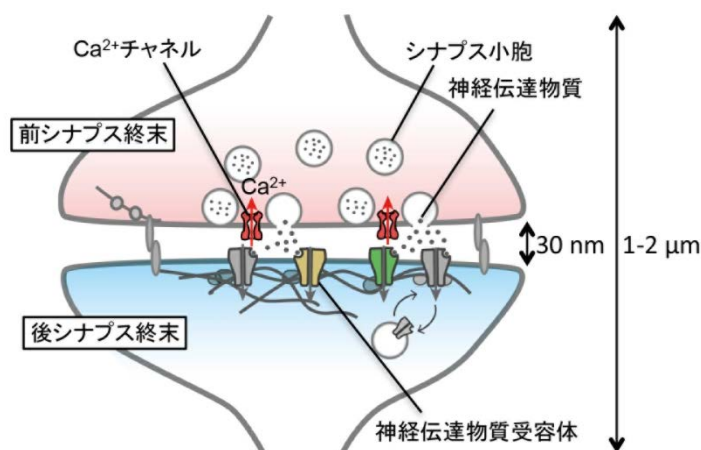


図1. シナプスの構造

神経線維を伝播してきた活動電位に正確に応答して神経伝達が起こるためには、神経伝達物質の放出

が厳密な制御を受ける必要がある。神経伝達物質の放出においては、活動電位に応じた前シナプス終末の Ca^{2+} 濃度上昇が必須である。前シナプス終末には何らかの Ca^{2+} センサータンパク質が存在して、そのタンパク質が Ca^{2+} を認識することで神経伝達物質の放出が起こると考えられており、 Ca^{2+} 流入から神経伝達物質放出に至るまでの分子メカニズムを解き明かすことは、神経生物学の大きな命題の1つに掲げられてきた。

2. シナプス小胞と Ca^{2+} チャネルの距離の重要性

シナプス小胞が前シナプス終末と融合することで神経伝達物質の放出が起こる。その融合は Ca^{2+} 依存的に起こることが1960年代から知られており、 Ca^{2+} の空間分布と神経伝達物質の放出については、詳細な検討がなされてきた。その解明において、実はケミストリーが多大な貢献をしてきた。 Ca^{2+} の重要性に関しては、 Ca^{2+} 選択的なキレート剤として古くから知られるEGTAやRoger Tsienが開発した Ca^{2+} 選択的キレート剤BAPTA²⁾が多用されている。特に重要な研究としては、活動電位に応答した神経伝達物質の放出が起こるためには Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞が近接することが必須であると提唱したCharltonらの研究が挙げられる³⁾。前シナプス終末にBAPTAを加えた際には神経伝達物質の放出が劇的に抑制されるのに対して、 Ca^{2+} に対してほぼ同様の親和性を有するEGTAを加えた場合には、神経伝達物質の放出はほとんど影響を受けなかった。この現象は、EGTAとBAPTAの Ca^{2+} に対する結合速度の違いから説明された。外から流入した Ca^{2+} は、細胞内の Ca^{2+} センサータンパク質に結合すると考えられるが、BAPTAはそのタンパク質に結合する前に Ca^{2+} をキレートする。一方、BAPTAに比べて Ca^{2+} に対する結合速度が遅いEGTAを用いた場合は、 Ca^{2+} はEGTAに結合する前に Ca^{2+} センサータンパク質に結合するという考察である(図2)。この結果から、 Ca^{2+} チャネルを経由して流入した Ca^{2+} は素早く Ca^{2+} センサータンパク質に作用することが推定され、 Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞が近接していることが提唱されるに至った。この論文は1991年に報告され、ケミカルバイオロジーという言葉が提唱される前の研究であるが、まさにケミカルバイオロジーと言えよう。その後、神経活動に対する各種 Ca^{2+} キレート剤の効果、 Ca^{2+} キレート剤に対する Ca^{2+} の結合速度、 Ca^{2+} イオンの拡散速度、ケージド Ca^{2+} を使った実験結果、およびその結果を基にしたシミュレーションが行われ、 Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞との距離および神経伝達物質の放出に関しては、数十nmオーダーのレベルで厳密に解析されるに至っている⁴⁾。

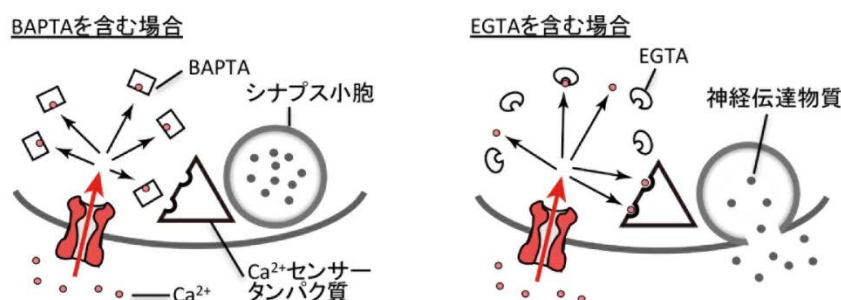


図2. 各種 Ca^{2+} キレーターと神経伝達物質の放出に対する影響の違い

3. 神経伝達物質放出場としてのアクティブゾーン

神経伝達物質の放出は、前シナプスのアクティブゾーンと呼ばれる特殊な構造体で起こる。アクティブゾーンは電子顕微鏡で観察可能なほどタンパク質密度が高い。その形態はシナプスの種類によって異なるが、シナプス小胞、 Ca^{2+} チャネル、 Ca^{2+} 依存的に膜融合を制御する分子装置であるSNAREタンパク質

(syntaxin, SNAP25, synaptobrevin)、 Ca^{2+} センサーと考えられているsynaptotagmin等が、「足場」タンパク質(RIM1、CAST、Munc13、Bassoon、Piccolo)を介して集積している点は共通している。高効率な神経伝達物質の放出やシナプス可塑性は、これらのタンパク質が機能的に共役することで実現すると考えられている。特に Ca^{2+} 流入を担う Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞の距離は厳密に制御されており、その距離の違いが神経活動と関連していることから、その分子メカニズムの解明に大きな興味が集まってきた。

4. アクティブゾーンタンパク質と Ca^{2+} チャネルとの相互作用

前シナプスのアクティブゾーンにおいて活動電位に応答して Ca^{2+} 流入を担う分子が電位依存性 Ca^{2+} チャネルである。 Ca^{2+} チャネルは、主サブユニット(α_1)と副サブユニット(β 、 $\alpha_2\delta$ 、 γ)とで形成されるヘテロなタンパク質複合体である(図3)。 α_1 サブユニットは、膜電位の変化を感知する電位センサー部位および Ca^{2+} を選択的に透過させるイオンポアを有している。すなわち、 α_1 サブユニットは Ca^{2+} チャネルとしての主な機能を有していると言え、シナプス小胞と Ca^{2+} チャネルとの距離を制御する相互作用についても、 α_1 サブユニットが着目されて研究が進められてきた。実際に、膜融合を担うSNAREタンパク質であるsyntaxin、SNAP25が α_1 サブユニットに結合することが生化学的に確認されたが、これらのタンパク質(syntaxin, SNAP25)は Ca^{2+} チャネル活性を不活性化してしまう⁵⁾。高効率な神経伝達物質の放出時には Ca^{2+} 流入が減弱されるとは考えにくいので、 Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞をリンクさせる分子実体の候補としては考えにくい。

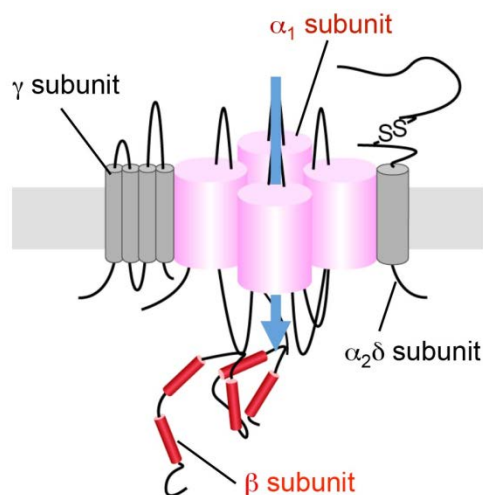


図3. 電位依存性 Ca^{2+} チャネルのサブユニット構成

Ca^{2+} チャネル β サブユニットは、唯一細胞質内に存在し、 Ca^{2+} チャネル活性に不可欠なサブユニットである。 β サブユニットは Ca^{2+} チャネルを小胞体から形質膜に輸送する役割を担っており、 Ca^{2+} チャネルのイオン流入特性も大きく変化させる⁶⁾。また、 β サブユニットは後シナプスの足場タンパク質であるPSD95と同じMUGUKファミリーに属するので、前シナプスのアクティブゾーンでは、 β サブユニットが Ca^{2+} チャネルの集積あるいは制御タンパク質に対する足場的な役割を果たす可能性が考えられた。そこで我々は、 β サブユニット相互作用タンパク質を探索するために酵母two-hybridスクリーニングを行い、約30種類の β サブユニット相互作用タンパク質を同定した。そのうちの1つが、前シナプスタンパク質として知られていたRIM1であった⁷⁾。

Ca^{2+} チャネル β サブユニットは、唯一細胞質内に存在し、 Ca^{2+} チャネル活性に不可欠なサブユニットである。 β サブユニットは Ca^{2+} チャネルを小胞体から形質膜に輸送する役割を担っており、 Ca^{2+} チャネルのイオン流入特性も大きく変化させる⁶⁾。また、 β サブユニットは後シナプスの足場タンパク質であるPSD95と同じMUGUKファミリーに属するので、前シナプスのアクティブゾーンでは、 β サブユニットが Ca^{2+} チャネルの集積あるいは制御タンパク質に対する足場的な役割を果たす可能性が考えられた。そこで我々は、 β サブユニット相互作用タンパク質を探索するために酵母two-hybridスクリーニングを行い、約30種類の β サブユニット相互作用タンパク質を同定した。そのうちの1つが、前シナプスタンパク質として知られていたRIM1であった⁷⁾。

5. RIM1は Ca^{2+} チャネルの近傍に小胞を繋ぎとめ、チャネル活性を持続させる

RIM1は、アクティブゾーンに存在し、シナプス小胞に局在するsmall G proteinであるRab3に結合するタンパク質として知られる。我々はRIM1が Ca^{2+} チャネル β サブユニットと相互作用することを見いだした。そこで、この相互作用が神経伝達物質の放出に及ぼす影響に関して、シナプス小胞の集積と Ca^{2+} チャネル活性の2点に着目して評価した。シナプス小胞の集積に関しては、全反射顕微鏡によって形質膜近傍における小胞の動態を評価した。その際には、神経様細胞であるPC12細胞を用いて神経伝達物質を含む小胞を蛍光タンパク質(NPY-Venus)で可視化した。RIM1を過剰発現させると、ドックした(細胞膜と接した)小胞の数が上昇し、逆にRIM1と β サブユニットの結合を阻害するとドックした小胞の数が減少した。この結果は、

RIM1と β サブユニットの結合は小胞を膜近傍、特に Ca^{2+} チャネル近傍に接近させることを意味した。 Ca^{2+} チャネル活性については、BHK細胞への Ca^{2+} チャネルの組み換え発現系および内在的に Ca^{2+} チャネルとRIM1を発現するPC12細胞を用いて評価した。組み換え発現系においては、RIM1が存在することで Ca^{2+} チャネルの不活性化が抑制され、 Ca^{2+} 流入量が劇的に増加した。PC12細胞においては、RIM1と β サブユニットとの結合の阻害やsiRNAによるRIM1のノックダウンによって、 Ca^{2+} チャネル不活性化が促進され、 Ca^{2+} 流入が減弱した。

これらの結果から、我々は、RIM1と β サブユニットの結合は、シナプス小胞を Ca^{2+} チャネル近傍に連結し、その状態でプレシナプス Ca^{2+} チャネル活性を持続させるという、神経伝達物質放出における2つの必須な機能を担っていると考察した(図4)。我々の報告とほぼ同様の時期に、Schochらは、RIM1とそのアイソフォームRIM2(図5を参照)の両者を遺伝子欠損させたマウスの中樞神経系の解析結果を報告した^{8a)}。興味深いことに、RIM1とRIM2の欠損はアクティブゾーンの構造や自発的な神経活動に影響を与えず、 Ca^{2+} 流入依存的な神経伝達物質放出が損なわれていた。また、RIM1を遺伝子欠損した線虫の神経筋接合部においては、細胞膜と接したシナプス小胞の集積が損なわれることも報告されている^{8b)}。これらの結果は、我々の実験結果と一致しており、 Ca^{2+} 流入とシナプス小胞をつなぎとめる分子実体がRIM1と β サブユニットの結合であることを強く示唆した。さらにごく最近、RIM1欠損マウスの詳細な解析がなされた⁹⁾。彼(Sudhof)らは α_1 サブユニットとRIM1が相互作用すると主張しているが、それ以外は我々の実験結果が支持されている(我々は β サブユニットとRIM1との結合を阻害すると、RIM1の Ca^{2+} チャネルに対する効果がなくなることを実証しているのだが...)。以上の結果から、長年熱望されてきた Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞を連結させる分子実体は、RIM1と Ca^{2+} チャネルとの結合であると断言できよう。

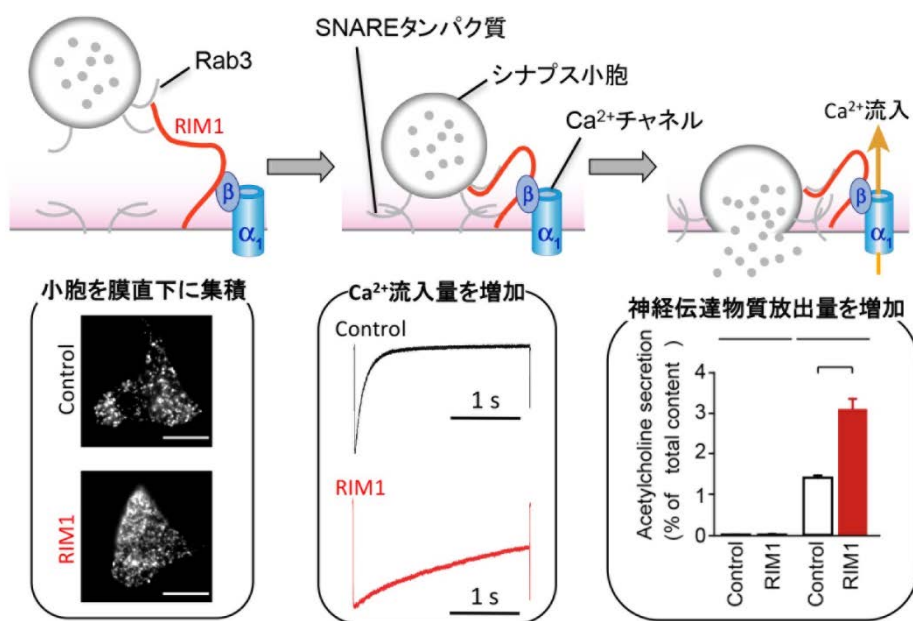


図4. RIM1と β サブユニットの結合による神経伝達物質放出の増強メカニズム

6. Ca^{2+} チャネルに対する機能修飾がRIMファミリー共通の機能である

RIM1には4種類のアイソフォームが存在する。上記のRIM1は α 型と呼ばれ、約1500の長いアミノ酸配列を有し、N末端にはRab3結合部位、C末端には β サブユニット結合部位を有する。一方、RIMには γ 型と呼ばれる約300アミノ酸残基からなる短いアイソフォームも存在し、 β サブユニットが結合するC末端領域しか存在しない。中でも、短い γ 型しか存在しないRIM3やRIM4の生理的機能は不明なままであった。

我々は、 γ -RIMも α -RIM (RIM1やRIM2) と同様に β サブユニットと相互作用し、 Ca^{2+} チャネルの不活性化を抑制することで Ca^{2+} 流入を増強させることを明らかにした¹⁰⁾。すなわち、RIMファミリーに共通する機能が Ca^{2+} チャネルに対する機能修飾と言える。

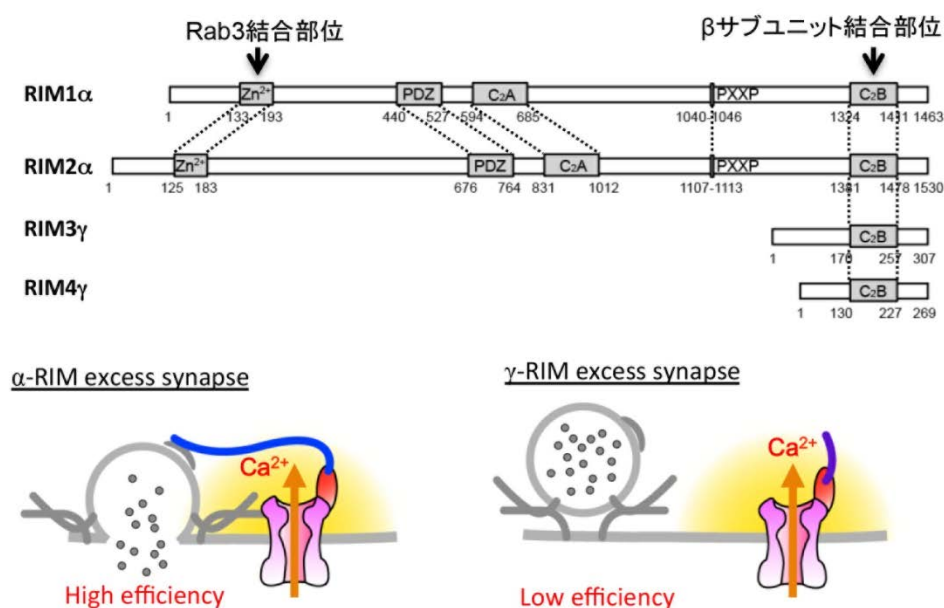


図5. RIMファミリーのサブユニット構成と神経伝達物質放出に対する効果

神経様細胞であるPC12細胞を用いて評価した際も、 Ca^{2+} 流入を増強して神経伝達物質であるアセチルコリン放出を正に制御することがRIMファミリーに共通の機能であったが、 γ -RIMは神経伝達物質を含む小胞の細胞膜直下への局在を阻害した。また、ラットから単離した小脳顆粒細胞においては、siRNAによる γ -RIMの発現抑制は、 α -RIMの発現抑制ほどには、神経伝達物質であるグルタミン酸放出を抑制しなかった。これらの結果から、神経細胞においては、 Ca^{2+} チャネルの機能向上がRIMファミリーに共通する機能であるが、 Ca^{2+} チャネル近傍へのシナプス小胞の集積に関しては、 α -RIMと γ -RIMが競合的に β サブユニットとの複合体形成に関わることが明らかとなった(図5)。

7. β_4 サブユニット依存的な遺伝子発現の制御

神経においては、持続的な Ca^{2+} チャネルの活性化は遺伝子発現を制御することが知られる。これまでは、持続的に流入した Ca^{2+} がCREB等の転写因子の核移行を引き起こして転写が制御されていると考えられてきた。ごく最近、我々は、 β_4 サブユニットが複数の異なるタンパク質と相互作用することで、神経活動依存的な遺伝子の転写を直接制御していることを見出した¹¹⁾。 β サブユニット相互作用タンパク質をさらに詳細に解析した結果、プロテインホスファターゼ2A (PP2A) 副サブユニットであるB56 δ が、本来形質膜上に存在する Ca^{2+} チャネルの副サブユニットとして存在する β_4 サブユニットを核に移行させることを見出した。興味深いことに、B56 δ と β_4 サブユニットの相互作用および β_4 サブユニットの核移行は神経活動依存的に起こった。また、核内の β_4 サブユニット複合体は、PP2AによるヒストンH3の脱リン酸化を引き起こした。 β_4 サブユニット変異マウス (*lethargic*マウス) は、運動失調や癲癇^{てんかん}を起こすことが知られるが、小脳におけるmRNA量を網羅的に解析した結果、*lethargic*マウスにおいてはチロシンヒドロキシラーゼ (TH) の発現が増加していた。また、クロマチン免疫沈降実験から、 β_4 サブユニット複合体がTH遺伝子プロモーター領域に結合することを見出した。すなわち、核内の β_4 サブユニット複合体は、PP2AによるヒストンH3の脱リン酸化を引き起こし、TH遺伝子の転写を抑制すると考えられる。以上の結果から、神経活動依存的な電位依

存性Ca²⁺チャネルの活性化は、Ca²⁺依存的な転写制御だけでなく、β₄サブユニットとB56δの過渡的複合体形成を介したエピジェネティクスの転写制御を引き起こすことが示唆された。

興味深いことに、β₄サブユニットにおいては、小児癲癇を引き起こす欠失変異 (R481X) が同定されている。この変異においては、全長519アミノ酸残基のβサブユニットのうち、変異によりC末端が欠落して481アミノ酸残基となっている¹³⁾。しかしながら、このC末端の欠失は、Ca²⁺チャネルの形質膜移行や機能修飾に影響を与えないので、癲癇の原因は不明であった。我々は、この欠失変異体 (β₄(1-481)) では、B56δとの相互作用が失われて核移行しないことを明らかにした(図6)。前述した結果を踏まえると、この患者においては、チロシンヒドロキシラーゼ (TH) の発現が増加していると考えられる。チロシンヒドロキシラーゼは、神経伝達物質であるカテコールアミン類の合成酵素であり、その発現量の変化が癲癇と関連することが知られる。以上の結果から、β₄サブユニットの変異による病態の原因は、β₄サブユニットとB56δとの結合阻害およびそれに伴う転写の異常であると、我々は考えている。

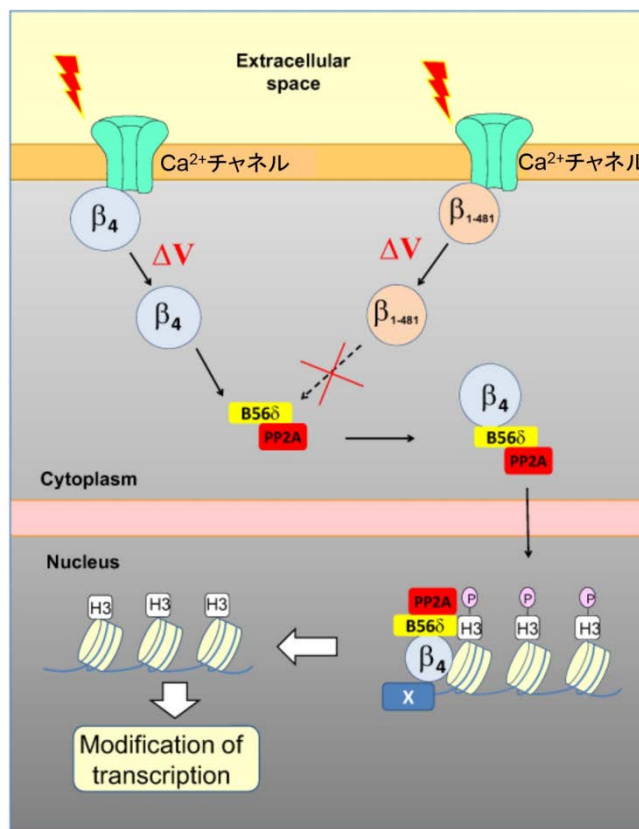


図6. β₄サブユニット依存的な転写制御のメカニズム

おわりに

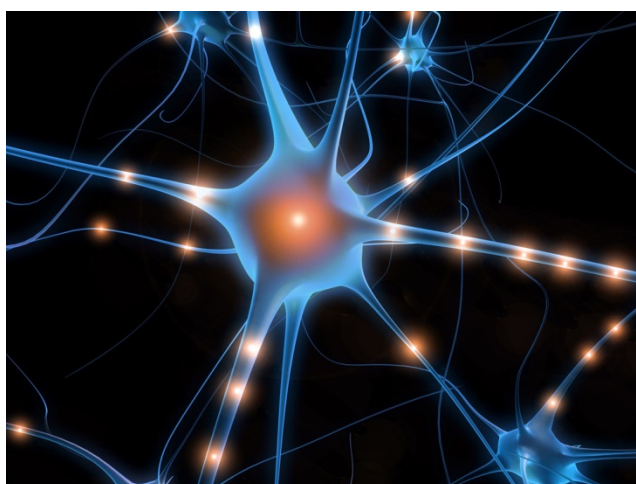
神経系の電位依存性Ca²⁺チャネルに関して分子メカニズムが待望されていた、Ca²⁺チャネルとシナプス小胞を連結する分子メカニズム^{7, 10, 12)}、およびCa²⁺チャネルの副サブユニット自体がエピジェネティクスの転写制御を行うという新しい研究展開¹¹⁾について概観させて頂いた。文量の関係から詳細は触れなかったが、研究展開の中でタンパク質化学的なアプローチも用いており、個人的には化学者としての特徴もだせたのではないかと考えている。昨年度の7月から京大 浜地研の准教授に着任し、再び化学を母体とした研究展開を行うつもりだが、森研究室で9年間培ってきた神経科学の知見を元にして、鬱(うつ)病、統合失調症、痴呆など社会的に問題を抱えた神経疾患を中心に、化学的な視点からそのメカニズム解明・解決方法に関する研究を展開できればと考えている。その重要な位置づけとして、2.で述べたCa²⁺キレート剤を利用したCa²⁺チャネルとシナプス小胞の距離決定などが挙げられ、これらの研究のように神経細胞内の現象をナノメートル単位で定量的に明らかにできればと考えている。

最後に、本稿で紹介した研究は、筆者が京都大学 工学研究科 森泰生 研究室に所属していた際に得られた成果であり、森泰生 教授をはじめとして、本研究に携わってきた森研究室の教員、学生および学外の多くの共同研究者に深くお礼を申し上げます。

参考文献

1. a) Yamamoto S, Shimizu S, Kiyonaka S, Takahashi N, Wajima T et al. *Nature Med.* **14**, 738-747 (2008).
b) Takahashi N, Mizuno Y, Kozai D, Yamamoto S, Kiyonaka S et al. *Channels* **2**, 287-298 (2008). c) Kiyonaka S, Kato K, Nishida M, Mio K, Numaga T et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 5740-5745

- (2009). d) Miyagi K, Kiyonaka S, Yamada K, Miki T, Mori E *et al. J. Biol. Chem.* **284**, 34400-34412 (2009). e) Numaga T, Nishida M, Kiyonaka S, Kato K, Katano M *et al. J. Cell Sci.* **123**, 927-938 (2010). f) Takahashi N, Kuwaki T, Kiyonaka S, Numata T, Kozai D *et al. Nature Chem. Biol.* **7**, 701-711 (2011).
2. Tsien RY, *Biochemistry* **19**, 2396-2404 (1980).
 3. Adler EM, Augustine GJ, Duffy SN, Charlton MP *J. Neurosci.* **11**, 1496-1507 (1991).
 4. a) Neher E *Neuron* **20**, 389-399 (1998). b) Meinrenken CJ, Borst JG, Sakmann B *J. Neurosci.* **22**, 1648-1667 (2002).
 5. a) Sheng Z-H, Rettig J, Takahashi M, Catterall WA *Neuron* **13**, 1303-1313 (1994). b) Bezprozvanny I, Scheller RH, Tsien RW *Nature* **378**, 623-626 (1995). c) Zhong H, Yokoyama CT, Scheuer T, Catterall WA *Nature Neurosci.* **2**, 939-941 (1999).
 6. Mori Y, Friedrich T, Kim MS, Mikami A, Nakai J *et al. Nature* **350**, 398-402 (1991).
 7. a) Kiyonaka S, Wakamori M, Miki T, Uriu Y, Nonaka M *et al. Nature Neurosci.* **10**, 691-701 (2007). b) Miki T, Kiyonaka S, Uriu Y, De Waard M, Wakamori M *et al. Channels* **1**, 144-147 (2007). c) Weiss N, Sandoval A, Kiyonaka S, Felix R, Mori Y *et al. Pflügers Arch.* **461**, 447-459 (2011).
 8. a) Schoch S, Mittelstaedt T, Kaeser PS, Padgett D, Feldmann N *et al. EMBO J.* **25**, 5852-5863 (2006). b) Koushika SP, Richmond JE, Hadwiger G, Weimer RM, Jorgensen EM *et al. Nature Neurosci.* **4**, 997-1005 (2001).
 9. a) Kaeser PS, Deng L, Wang Y, Dulubova I, Liu X, Rizo J *et al. Cell* **144**, 282-295 (2011). b) Han Y, Kaeser PS, Südhof TC, Schneggenburger R *et al. Neuron* **69**, 304-316 (2011).
 10. Uriu Y, Kiyonaka S, Miki T, Yagi M, Akiyama S *et al. J. Biol. Chem.* **285**, 21750-21767 (2010).
 11. a) Tadmouri A, Kiyonaka S, Barbado M, ROusset M, Fablet K *et al. EMBO J.* **31**, 3730-3744 (2012). b) Ronjat M, Kiyonaka S, Barbado M, De Waard M, Mori Y *et al. Channels* **7**, 119-125 (2013).
 12. Kiyonaka S, Nakajima H, Takada Y, Hida Y, Yoshioka T *et al. J. Biochem.* **152**, 149-159 (2012).
 13. Escayg A, De Waard M, Lee DD, Bichet D, Wolf P *et al. Am. J. Hum. Genet.* **66**, 1531-1539 (2000).



気になった論文

上川 裕子 (かみかわ ゆうこ)

大阪大学未来戦略機構 特任助教

ykamikawa@mls.eng.osaka-u.ac.jp

このたびは、生命化学研究レター気になった論文の執筆機会を与えてくださり、ありがとうございます。

私は2007年3月に東京大学にて学位を取得し、オランダアイントホーフエン工科大学において博士研究員、その後化粧品会社ロレアルにおいて3年余の企業研究員を経て、2012年に大阪大学菊地和也先生の下に移り、2013年4月より特任助教として勤めております。現在は、生体機能解明のための新規ツール開発を目的とし、細胞内タンパク質の特異的蛍光標識と、標的特異的輸送担体の開発という2つのテーマに取り組んでおります。今回は、生体内蛍光イメージングをキーワードに、本年出版された breakthrough paperの中から、新規蛍光タンパク質に関する論文、次いで新規蛍光プローブに関する論文、最後に新しい生体組織イメージング手法に関する論文の3報を紹介させていただきます。

A Bilirubin-Inducible Fluorescent Protein from Eel Muscle

A. Kumagai, R. Ando, H. Miyatake, P. Greimel, T. Kobayashi, Y. Hirabayashi, T. Shimogori, and A. Miyawaki, *Cell* **2013**, *153*, 1602-1611.

蛍光イメージングの立役者といえば蛍光蛋白質です。下村、Chalfie、Tsien らが2008年に GFP の研究でノーベル化学賞を受賞し、一層の注目が集まるとともに、生命現象解明の有用なツールとして、近年の当該分野の発展も目覚ましいものがあります。しかしながら、従来の蛍光タンパク質は、全て常時発光性で、合成蛍光プローブのように蛍光スイッチング機能を持つものは報告されていませんでした。

宮脇らは脊椎動物由来の蛍光タンパク質を探索し、ニホンウナギに新規蛍光タンパク質を見出しました。まず、ウナギの筋線維が蛍光を示すという報告をもとに、標的蛍光タンパク質の全配列を決定し、クローニングを行いました。このタンパク質を大腸菌で発現させても蛍光は発しませんが、哺乳類細胞にトランスフェクションすると強い緑色蛍光を示しました。UnaGと名付けられたそのタンパク質には、蛍光を発するためのコファクターが存在するはずだと考え、哺乳類細胞に発現させたホロ体の UnaG を抽出してリガンドの候補化合物を質量分析により検討しました。続いて、アポ体の UnaG のリコンビナントタンパク質を作製し、実際にリガンドと結合することで発光が得られるか検証しました。その結果、ビリルビンが特異的リガンドとして同定されました。ビリルビンとは、古い赤血球が破壊されるときに生成される黄色い色素です。X線構造解析により得られた UnaG のビリルビン認識構造は図1のようになります (図 1)。

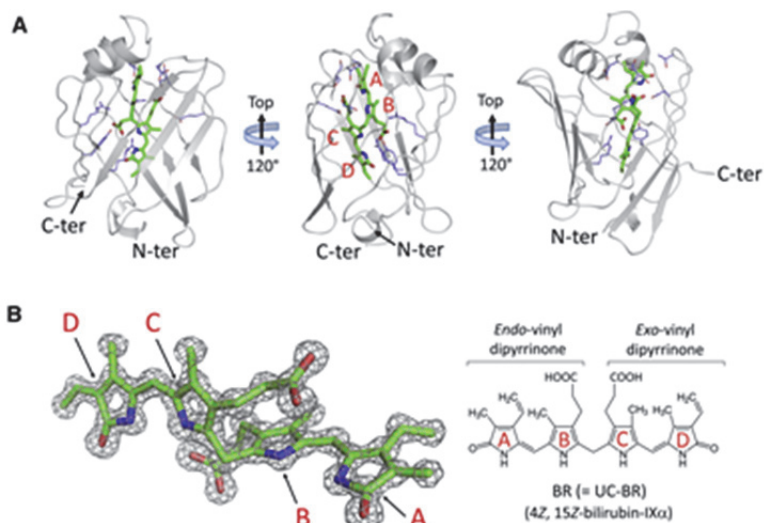


図 1. 新規蛍光タンパク質 UnaG および基質ビリルビンの構造.

この UnaG-ビリルビンシステムには、ツールとして優れた特性が数多く見出されました。高い基質特異性、高い蛍光量子収率、pH に対する安定性、GFP が発光特性を持たない嫌気環境に対する安定性などです。加えてビリルビン自体が肝機能マーカーとして用いられていることから、UnaG-ビリルビンシステムはそれ自体新しい高感度診療手法として期待できます。このように今回宮脇らは、初のスイッチング型蛍光タンパク質を、初めて脊椎動物から見出し、従来の蛍光タンパク質が抱えていた課題を解決し、新たなツールを提供しました。

A Near-Infrared Fluorophore for Live-Cell Superresolution Microscopy of Cellular Proteins

G. Lukinavičius, K. Umezawa, N. Olivier, A. Honigsmann, G. Yang, T. Plass, V. Mueller, L. Reymond, I. R. Corrêa Jr, Z-G. Luo, C. Schultz, E. A. Lemke, P. Heppenstall, C. Eggeling, S. Manley and K. Johnsson, *Nat. Chem.* **2013**, 5, 132-139.

タグタンパク質を使ったラベル化は、蛍光タンパク質に代わる生体内タンパク質イメージングの重要なツールとして近年注目されています。具体的には、標的タンパク質と遺伝子工学的に融合した小タンパク質であるタグと、タグに特異的に結合する有機小分子蛍光プローブから構成され、マルチカラー、発光スイッチングなど、ツールとして使い勝手のよい機能を持つことが特徴です。SNAP-tag, Halo-tag のような代表選手は、市販され、多くの研究者が利用しています。

一方で、タグと組み合わせて用いるプローブとしては、生体による吸収のない近赤外領域に発光波長を持ち、かつ細胞膜透過性を有しており、非特異吸着の少ないものが要求されています。

今回 Johnsson らは骨格に Si を有する silicone-Rhodamine (SiR) にカルボニル基を導入した一連の新規近赤外蛍光プローブを開発しました (図2)。カルボニル基の導入により、高極性環境では蛍光性の双性イオン型、低極性環境では無蛍光性のスピロラクトン環型をとることが可能となり、細胞膜透過性が向上するとともに、細胞内の疎水性部位への非特異吸着に由来するバックグラウンドを抑えることに成功しました (図 3)。

実際にこれらのプローブを用いて、核、ミトコンドリア、など異なる細胞小器官およびアクチン線維を選択的にイメージングしました (図 3)。筆者らはさらにこのプローブの応用性を、超解像イメージング (GSDIM/STORM) に適用することで

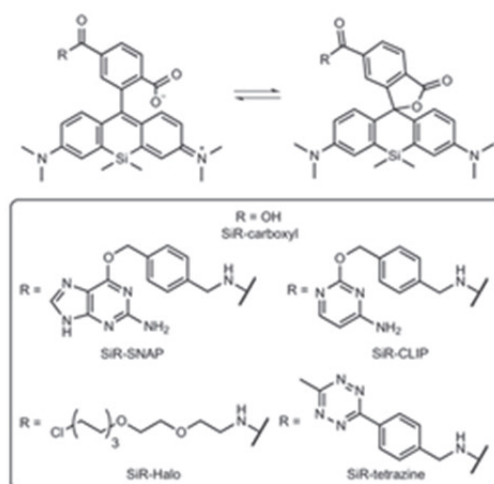


図 2. SiR-carbonyl プローブの構造。

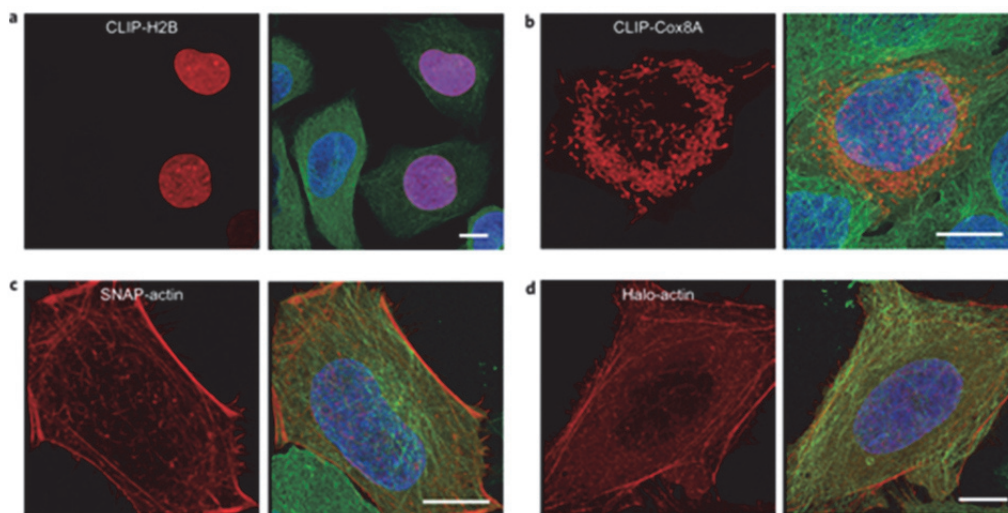


図 3. HeLa 細胞における SNAP (c, 赤), CLIP (a,b, 赤), Halo (d, 赤) -tag 融合タンパク質および EGFR- α -tubulin (緑), H2B-mCherry (青) の共焦点顕微鏡像。

示しています。

Structural and Molecular Interrogation of Intact Biological Systems

K. Chung, J. Wallace, S.-Y. Kim, S. Kalyanasundaram, A. S. Andalman, T. J. Davidson, J. J. Mirzabekov, K. A. Zalocusky, J. Mattis, A. K. Denisin, S. Pak, H. Bernstein, C. Ramakrishnan, L. Grosenick, V. Gradinaru, K. Deisseroth, *Nature* **2013**, 497, 332-337.

脳はニューロンの複雑なネットワークから構築され、その構造と機能の相関の解析は医学的にも極めて重要です。現行の手法では、脳の超薄切片を全領域に渡って作製し、そこから再構築するという形でしか、脳全体を可視化する方法はなく、必然的にその過程で失われる情報があります。最大の課題は、脳の構成成分が光の透過を妨げることにありました。今回 Deisseroth らは、化学的手法を用いた全く新しい脳全体の 3D 可視化技術を開発しました。CLARITYと名付けられたその技術は、光吸収と散乱の要因である生体成分を、高分子ハイドロゲルで置換えてしまうことで、構造を維持しつつ脳全体を透明化し、外部から非侵襲的に全体の観察を可能としました (図 4)。具体的な行程は3段階です。まず脳をアクリル酸系モノマーと、固定剤であるホルムアルデヒドに浸漬し、タンパク質や、核酸のような必要生体成分をモノマーと共有結合させます (図4 Step 1)。続いて、熱を加えて重合を進行させ、ハイドロゲルのメッシュに脳を固定化します (図4 Step 2)。最後に、脂質等ホルムアルデヒドによる架橋を受けなかった生体成分を電気泳動によって洗い流します (図4 Step 3)。この手法により、光透過性のみならず、抗体のような高分子の透過性も向上し、脳全体の構造を非侵襲的に、免疫染色や蛍光タンパク質で可視化できるようになりました。筆者らはこの手法を用いて、マウスの脳全体のマッピングを行い、大脳皮質、海馬、視床などの構造が正確に保持されていることを示しました。さらに、CLARITYの利点はそのリサイクル性にあります。ハイドロゲル構造は極めて安定であり、組織透明化に用いたのと同じ電気泳動法によって、抗体を変性させ除去することが可能です。ヒトの脳のような貴重なサンプルから、より多くの情報を得ることができるこの手法は、脳神経疾患の解明を加速すると期待されます。

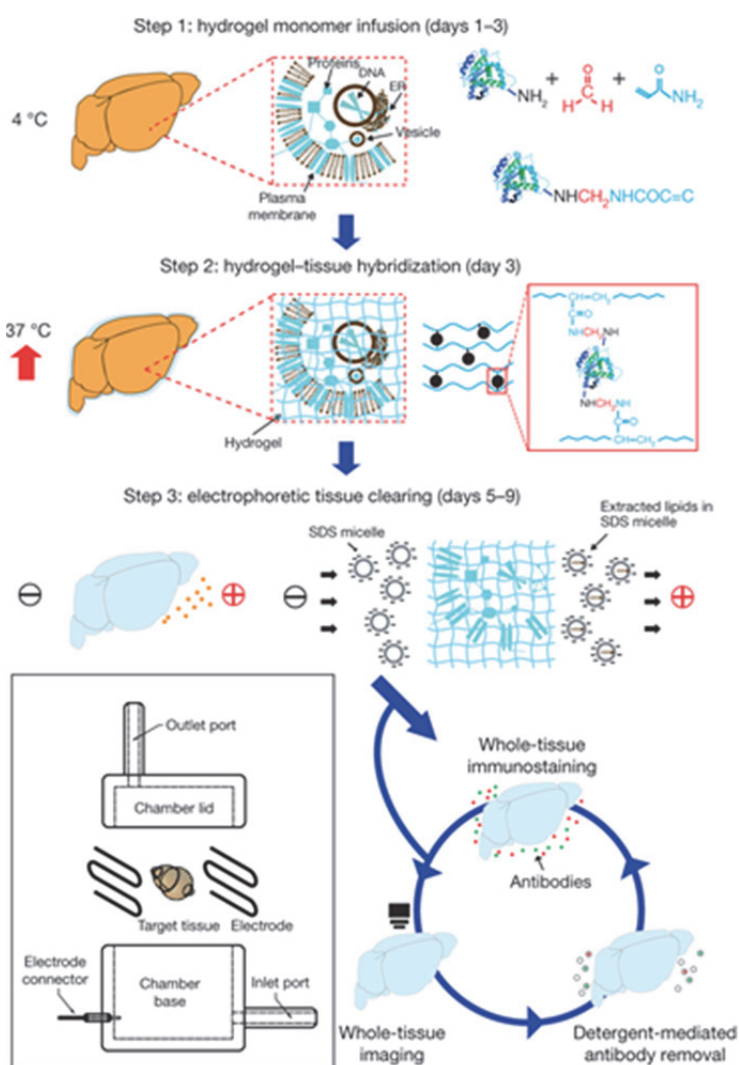


図 4. CLARITY の実験プロトコール。

今回紹介させて頂きました3報は当該分野において高い独創性、あるいは実用性、新規性を有しており、今後の生命現象解明に大きく貢献することが期待されます。最後になりましたが、本執筆の機会を与えて下さいました鳥取大学松浦和則先生に感謝いたします。

気になった論文

高橋 俊太郎 (たかはし しゅんたろう)

甲南大学先端生命工学研究所 講師

shtakaha@center.konan-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レターの“気になった論文”への執筆の機会を与えて頂き、深く感謝申し上げます。私は東京工業大学で学位を取得、特任助教を経て、2012年6月より甲南大学先端生命工学研究所（杉本直己所長）の講師として着任いたしました。宜しくお願ひ申し上げます。現在は核酸の熱力学特性が関与する生命現象、特に熱力学パラメータである圧力が与える効果について研究しております。圧力を変化させることは系の体積変化に直結するため、熱による変化とは異なるアプローチで生命現象を明らかにすることや、生体反応を制御する摂動として利用することなどが期待できます。細胞自体、分裂や伸展などにより発生する機械的な摂動を受けることで細胞機能が影響を受けたり、深海に住む好圧菌など高い圧力が生育に不可欠な生物も存在したり、圧力は生命現象にとって実は身近な存在であります。今回はそんな身近でありながらあまり知られていない生命現象における圧力の効果に着目し、生体分子の構造変化や反応に関連する最近の気になった論文を紹介させていただきます。

Pressure modulation of Ras-membrane interactions and intervesicle transfer

S. Kapoor, A. Werkmüller, R. S. Goody, H. Waldmann, and R. Winter, *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 6149-6156 (2013).

細胞膜上での分子間相互作用を調べることは、細胞への圧力などの機械的ストレスの影響を知る上で重要です。Rasタンパク質は膜と相互作用し、ストレス伝達経路で重要な役割を果たすことが知られていますが、圧力などのストレスによって起こる生化学的なメカニズムは不明でした。そこで著者らは、蛍光修飾を施した脂質化Rasタンパク質と、DOPCリポソームを種々の圧力下で混合した際のFRETを利用することで、Rasと生体膜間との相互作用の動力学と体積変化を測定しました。その結果、圧力を上げることでRasの結合速度、解離速度は共に加速されました。速度の圧力依存性から算出した結合および解離の活性化体積 $\Delta^{\ddagger}V$ を求めると、解離反応の $\Delta^{\ddagger}V$ の方が小さく、結果としてfinal stateはinitial stateより大きい体積を示しました(図1A)。体積は圧力によって小さくなりますので、高圧下ではRasと膜の相互作用は不安定化することが分かりました。一方で、DOPC/DPPC/Cholの混合リポソームとの相互作用では、結合速度はDOPC膜と同様、圧力増加に応じて加速したのに対し、解離速度は減少しました。Rasの脂質アンカリングは膜上の脂質が相分離してできるdisorderした領域で起きやすい。したがって

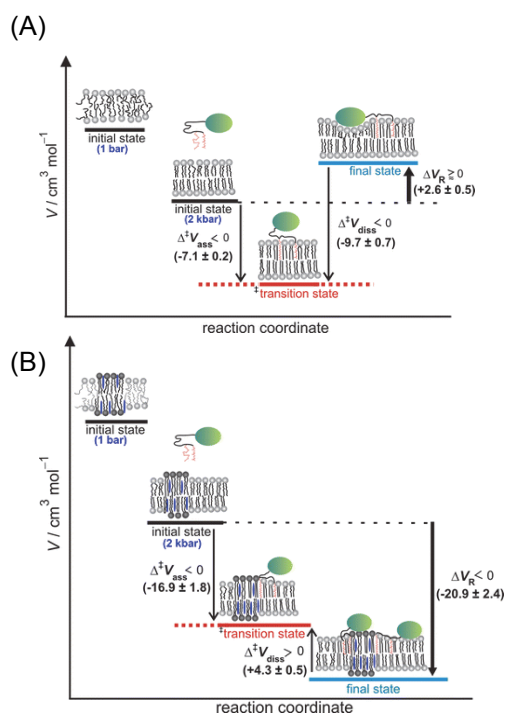


図 1 Ras タンパク質と(A) 均一脂質膜 (DOPC 膜) および (B) ラフト様ドメイン形成膜 (DOPC/DPPC/Chol 混合膜) 間での相互作用における体積プロファイル。(文献から一部改変)

加圧されることでdisorderした膜成分が減少すると、Rasがラフト様ドメインで局所的にクラスターを形成し、安定化する可能性があります。実際、体積はfinal stateはinitial stateより小さく、このような混合膜では高压下においてRasはラフトドメインに集積してコンパクトな形状をとる性質があることが示唆されました(図1B)。

これらの結果が意味することは、圧力等の機械的ストレスが加わった際に、局所的な膜の構成成分に応じて膜上のシグナル伝達分子の結合や解離のダイナミクスが変調し、それぞれの下流の伝達経路の活性化が促される可能性であります。反応の体積変化を定量化し、圧力などの摂動が関与するバイオメカノセンサー機構の一つを明らかにしたという点で本報は注目に値する論文です。

Key stabilizing elements of protein structure identified through pressure and temperature perturbation of its hydrogen bond network

L. Nisius and S. Grzesiek, *Nat. Chem.*, **4**, 711-717 (2012).

タンパク質内の水素結合ネットワークを調べることは、タンパク質全体の安定性とそれらが寄与する機能への相関を知る上で重要であると考えられます。通常は熱安定性の評価を行います、タンパク質は低温下でも圧力を加えることによって変性することから、包括的なタンパク質安定性の記述には圧力依存性も同時に評価する必要があります。著者らはユビキチンをモデルとして高感度温度圧力可変NMR分光システムを開発し、ポリペプチド主鎖同士のアミドプロトンとカルボニル基間のN-H $\cdots$ O=C 3結合スカラーカップリング($^3J_{\text{NC}}$)をH(N)CO-TROSY法で評価しました。まず、温度一定で圧力を変化させた際の各 $|^3J_{\text{NC}}|$ 値は、圧力増加に応じて大きく変化するものや、ほとんど変化しないものが観察されました(図2A)。 $|^3J_{\text{NC}}|$ 値は水

素結合間の距離を示すことから、圧力によって各水素結合の安定性変化が異なることを示しています。さらに各温度条件における圧力効果をプロットすることで得られる $^3J_{\text{NC}}(p, T)$ の3次元プロット(図2B)から、 $|^3J_{\text{NC}}|$ 値の圧力および温度微分の値を計算し、各水素結合の安定性に与える圧力及び温度の効果を評価しました(図3)。その結果、ほとんどの水素結合は圧力及び温度変化に対して影響が小さく、熱力学的に安定であることが分かりました。これらの水素結合の多くは、 α ヘリックスや β ヘアピンに見られる距離が20残基以内という比較的近くのアミノ酸同士の組み合わせでした。一方で、圧力や温度によって熱力学的安

定性が大きく変化する水素結合も見つかりました。興味深いことに、これら熱力学的に大きく影響を受ける水素結合は27残基以上離れた遠いアミノ酸同士でした。しかし、遠距離の水素結合は必ずしも熱力学的に大きな影響を受けるわけではなく、中には20残基以上離れているアミノ酸同士の水素結合でも熱力学的に安定なものも発見されました。これらの水素結合はユビキチン全体の立体構造を保つ重要な役割がある一方で、他の関連タンパク質が結合する表面に位置するものでした。すなわち、ユビキチン化などの過程においてタンパク質が受ける機械的なストレスに対してもその構造を保つことができるのです。

この研究は、タンパク質の構造と機能が、圧力という熱力学的情報によって結びつけられた画期的なも

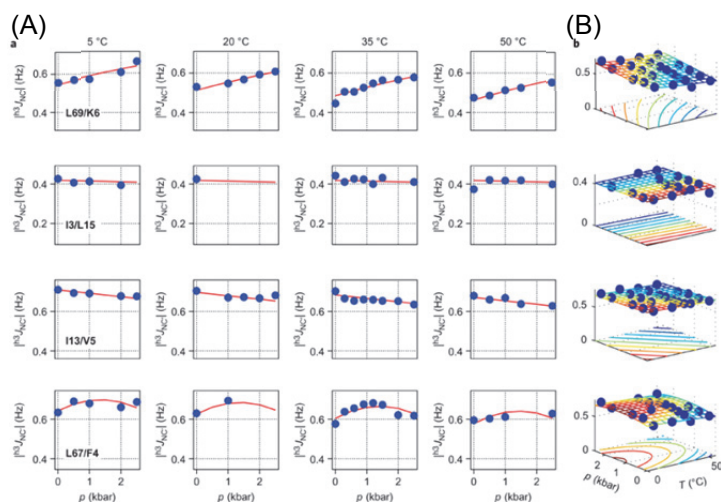


図 2 ユビキチン内の代表的な水素結合の圧力-温度依存性。(A) 代表的な水素結合の各温度における $|^3J_{\text{NC}}|$ 値の圧力依存性。 $|^3J_{\text{NC}}|$ 値が高いほど安定である。(B) $|^3J_{\text{NC}}|$ 値の圧力、温度に対する3次元プロット。(文献より引用)

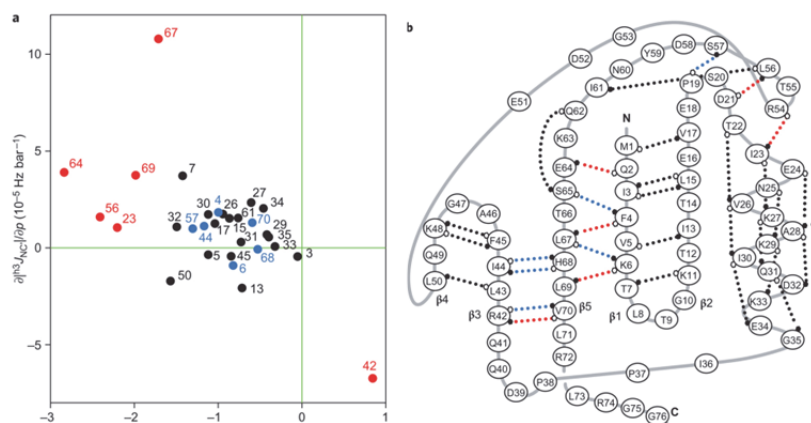


図 3 ユビキチン内の各水素結合の圧力および温度に対する安定性。左のグラフの縦軸は ΔH_{H} 値の圧力微分、横軸は温度微分を示し、原点に近いほど変化が小さく熱力学的に安定であることを示す。20 残基未満の距離にある水素結合(黒)は原点付近に位置し、20 残基以上のものは原点から離れ(赤)、熱力学的に不安定である。一方で離れていても安定なもの(青)も存在する。右はユビキチンの立体模式図で水素結合の色は左のプロットの色と対応している。(文献より引用)

のであり、タンパク質のフォールディングやタンパク質と相互作用する生体分子のメカニズム、さらには薬剤の開発といった応用に大きく貢献できる方法論であると期待できます。

Volumetric characterization of sodium-induced G-quadruplex formation

H. Y. Fan, Y. L. Shek, A. Amiri, D. N. Dubins, H. Heerklotz, R. B. Macgregor, and T. V. Chalikian, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 4518-4526 (2011).

生体分子である核酸に対する圧力効果も以前より研究対象とされてきました。しかし、高圧力で変性しやすいタンパク質と比べて、Watson-Crick型二重鎖構造は高圧力をかけてもほとんど構造が変わらないことが分かっていました。一方で、4つのグアニン塩基から形成される四重鎖構造に関する報告はなく、そこで著者らはヒトテロメア配列由来のDNA四重鎖構造の安定性の圧力依存性を評価しました(図4A)。高圧力条件下においてUV融解測定を行ったところ、圧力を上げるにつれて融解温度(T_m)が大きく減少することが確認されました(図4B)。つまり、グアニン四重鎖構造はWatson-Crick型二重鎖とは異なり、圧力を加えることによって不安定化することが確認されました。50 mM NaCl存在下、ヒトテロメア配列の四重鎖形成に伴うモル体積変化 ΔV_{tr} は $56.4 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ と算出されました。この値は、Calf Thymus由来のDNAと比較して変化量が一桁大きく、圧力で変性しやすいタンパク質と同程度の値でした。これは脱水和による寄与が非常に大きく、 ΔV_{tr} 値のさらなる解析により、四重鎖構造形成時に103個の水が放出されることが算出されました。これは全体の18%もの水和水に相当します。

圧力によってこれだけの構造変化をする核酸構造は現在のところ他にはありません。これらの結果を生化学的観点から見てみると、標準構造の二重鎖とは異なり、グアニン四重鎖構造が圧力に対して構造変化の感受性が大きいことは、核酸の非標準構造の役割の新たな一面を示唆しているかもしれません。近年、テロメラーゼの活性制御だけでなく、ゲノムDNA中の四重鎖構造によって遺伝子発現制御が積極的に行われている例が報告されており、こういった四重鎖に関わる細胞機能が圧力変動によっても制御される例が存在するのではないかと考えています。

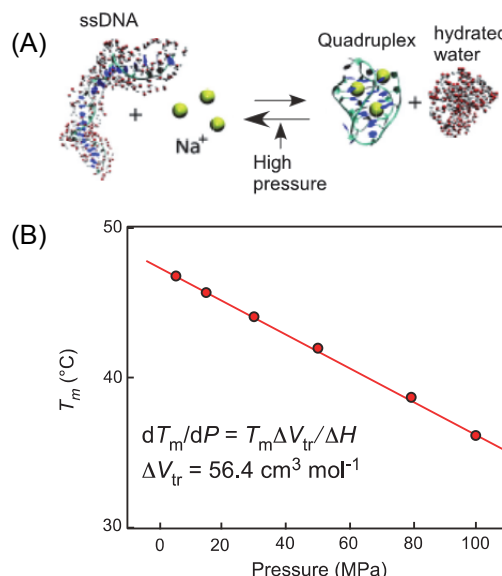


図 4 (A) DNA 四重鎖形成時の反応式。(B)ヒトテロメア四重鎖配列の融解温度の圧力依存性。(文献より一部改変して引用)

留学
体
験
記

Bristol 大学留学体験記

Department of Chemistry, Faculty of Science,
University of Bristol

吉中 藍

Ai.Yoshinaka@bristol.ac.uk



私は昨年東京大学理学系研究科化学専攻の橘和夫教授のもとで学位を取得し、現在イギリス Bristol 大学の化学科でポスドクとして働いております。2012 年 8 月からイギリスに住み始めましたので、既に 1 年が経過しました。イギリスで暮らし、研究するなかで気付いたこと、イギリスでの生活情報などを書いていきたいと思います。

1. 海外ポスドクポジションへのアプライ

日本から海外へポスドクとして出る場合、学術振興会などの留学フェローシップを獲得して行くことが最も一般的かと思いますが、私は直接研究室のポジションにアプライする形をとったので、こんな留学へのアプローチの仕方もある、ということで少し詳しくご紹介してみます。

2012 年 4 月、私は 3 月卒業が叶わず、ポスドク先も決まっておらず、学術振興会の奨励金は支給が終了し、学科や大学からの学費支援もオーバードクターの為得られない、というなかなか切羽詰まった状況にありました。夏までの卒業を見据え、まずは海外ポスドクを探しはじめていました。修士課程の時にカリフォルニア、サンディエゴの the Scripps Research Institute に短期留学した経験が、海外で研究してみたいという気持ちを後押ししていたからです。博士課程で共同研究をして頂いた大阪大学の藤原敏道先生がお知り合いの教授を何人か紹介してくださり、CV (履歴書) を送ったりメールでやりとりしたりしていましたが、まだ決定には至っていませんでした。そんな 4 月のある日、私は Oxford 大学のホームページの求人情報をふと思い立って見はじめました。そこで私の博士課程での研究経験がとても役立ちそうなポスドクポジションの募集があったのです。よく詳細を見てみると、Oxford と Bristol での共同研究資金で各大学 1 人ずつポスドクを雇用するという内容でした。私のスキルが役立ちそうなのは Bristol 側。締め切りはいつかな、と思い読み進めていくと、それは、その日の夕方 17 時！その時午後 13 時半。Bristol 大学はオンラインアプリケーションの形を取っていました。大急ぎで関連論文に目を通し、以前他の教授に送った CV とカバーレターを開き、募集の内容に沿って強調する部分を変え、送信完了したのは 16 時 59 分でした。その応募先が私の現在のボス、Dek Woolfson 教授です。その後 longlist に入ったので照会先 3 人から推薦書 (メール可) をもらってくださいと連絡があり、博士課程で所属した研究室の橘和夫先生、共同研究していただいた藤原先生、そして専攻長を含めること、となっていたので当時の専攻長の小澤岳昌先生に推薦書を書いて頂きました。みなさんお忙しい中嫌な顔ひとつせず書いてくださり、大変有難かったのを覚えています。ほどなくして、shortlist に入ったので Skype で面接をします、と連絡がありました。この時点で私を含め 3 人の候補者が残っていたようです。面接では博士課程での研究発表を 30 分ほどし、内容についての質問に答えた後、一般的な質問もされました。聞かれたことは、他のポジションにアプライはしているのか、いつから来られるか、ポスドク後はどうす

るつもりか、やってもらおうプロジェクトについてこんなプランを立てているけれどどう思うか・何か提案はあるか、この研究室に来て新たに学んでみたいと思っている事はあるか、などでした。その後 Dek の携帯で研究室を見せてもらい、また他のメンバーとも Skype 越しに話をしました。Skype 面接当日はドキドキでしたが、熱意を伝える言葉、アピールポイントについては英語をあらかじめ考えておいたので、なんとかこなすことができました。英語面接は多くの日本人にとって不安だと思うのですが、職を探す際には誰もがするように、アプライ先の HP を見て研究内容を把握し、関連論文を何本か読んで、自分がどんな点で役立てるか、その研究室の研究のどこに興味を持っているかをあらかじめ明確にして良く準備しておくことが大切だと思いました。さて、週末を挟んで再び Skype で結果を聞くことになり、これまたドキドキしながら Skype で聞いた結果は、「君にオファーするよ」でした。他の候補があるならすぐに返事しなくてもいいよ、と言われたのですが、面接での研究室の雰囲気がとても良かったので、行きます！！ありがとうございます！！と二つ返事でイギリス行きを決めたのでした。

2. Bristol での生活

実は私はアプライするまで恥ずかしながら Bristol がどこにあるかも知りませんでした。Bristol はイギリスの南西部に位置し、人口およそ 50 万人、これはイギリスの都市の中で 8 番目で南西部最大の都市です。港があることからかつては貿易都市として発展しました。ロンドンからは電車で 2 時間弱なので人の行き来が活発です。街の中心に大学があり、治安も良く大変暮らしやすいと感じています。



Bristol の観光名所、Suspension Bridge 周辺

○ビザ取得

イギリスのビザを取得するのはやや面倒でした。研究者が取得するのは Tier 2 (General) で Skilled worker としてのビザです。まず雇用主である大学側からビザ申請のための手続きをしてもらい、その証明書番号 (Certificate of Sponsorship に割り振られる番号) を添えてビザ申請センターに書類一式を提出します。そこで必要なのが英語の試験結果です。試験は TOEFL、TOEIC などいくつかの種類を受け付けてくれますが、私は結果が比較的早くわかり、研究者が解きやすそうな TOEFL を受験しました。Writing, Reading, Speaking それぞれ基準点がイギリス国境管理局によって定められているのでそれをクリアしなければなりません。Speaking の点数がぎりぎりひやっとなりました。

○家探し

家探しはイギリスにおいてとても難しいことのひとつです。イギリスでは建物を建て直すことはほとんどないので大変古い物件が多く、注意深く水周りなどを見る必要があります。良い物件は瞬時に取られてしまうので、一人暮らし希望の場合は不動産屋さんに行って常に新しい情報を手に入れ、ある程度探す期間を長めにとると確実です。またフラットシェア希望の場合は Gumtree といった掲示板広告サイトで探すことができます。私はとりあえず最初の 2 週間を大学の学生寮を借りて暮らし、その間に住むところを探しました。結局研究室で隣の席だった人が近く研究室を離れる事が決まっており、そこに入らないかと言ってくれたので、現在はスペイン人のフラットメイトとそのフラットをシェアして暮らしています。日本でも少しずつ広まりつつあるフラットシェアですが、イギリスでは社会人でもシェアしている人は沢山います。誰かと暮らすことが苦でなければ、英語

を話す機会が増え、文化交流ができ、何より大学の外に友人ができるので、個人的にはシェアが断然おすすめです。

○普段の生活

Bristol は比較的都会なので生活に必要なものは揃いますし、郵便配達はしっかりしているのでインターネットショッピングも気軽にできます。また、イギリスの食事はまずいなんて言われますがそんなことはありません。イギリス人はデザートに関しては天才的で、またパブで食べられるハンバーガーやフィッシュアンドチップスなどいわゆるパブフードも十分美味しいです。またインド、中国はもちろん、イタリアン、スパニッシュ、レバニーズ、カリビアン、タイ、ベトナムミズなど世界中の料理が食べられます。日本食も人気なので、Bristol にも何軒も日本食レストランがありますし、日本食材も基本的な調味料はスーパーで買えます。物価は贅沢品および外食は高いですが、食料品は非課税なので、スーパーで買う食材は東京よりも安いです。世界各国の調味料が手に入るので自炊が楽しくておすすめです。が、イギリスはスーパーの出来合いのレディーミールやレストランのお持ち帰りが広く普及しているので毎日自炊しなくても問題なく暮らせます。

○気候

寒いです。ただし雪は積もるほどは降りません。夏は最高でも 25-27 度程度で過ごしやすく、21 時過ぎまで明るくて、今年は雨も多くなかったので印象がとても良いです。8 月後半からどんどん涼しくなり、10 月にはもう冬らしくなってきた、日も短くなります。12 月頃になると朝 8 時くらいまで暗く、15 時くらいには日が沈み始めて天気も曇りがちなのでクリスマスの楽しげな雰囲気だけが頼りです。それでも Bristol はイギリスの中では晴れの日が多く良い方ようです。

3. Bristol 大学での研究生活

Bristol 大学は Faculty of Science が強いことで有名で、2008 年の政府の学術評価報告書では Oxford と Cambridge に続き国内第 3 位を獲得しています。従って研究レベルは大変高く、潤沢な資金に裏打ちされて分析機器も最先端の物が揃い、ポスドクも多数いますし学生の質も高いです。

私のボスの Dek はまだ 40 代の若手教授です。専門は coiled-coil peptides で、Chemistry と Biochemistry の教授を兼任しています。研究室は常勤の研究者が 1 人、ポスドクが 6 人、博士課程の学生が 4 人でこじんまりしています。しかし Dek の研究室経営手腕はすばらしく、この 1 年だけで Science を含むトップジャーナルに 6 報の論文を発表しました。そんな研究室生活はどのようなものかをご紹介します。

○勤務時間

研究室の開始は朝 9 時です。9 時半までには全員揃うという感じです。そして夕方はみんな遅くても 18 時くらいには帰ってしまいます。安全管理が厳しく、一人では実験することが原則として許されていないので、実験ができるのは概ね 18 時までになります。日本での習慣が抜けず夕方にデスクワークをしていると大体帰りが一番最後になってしまうので、研究室の同僚には働きすぎ



Dek(中央)と同僚と。Dek のお宅での BBQ の後で。

やない？と心配されます・・・。イギリスで良く聞くティータイムはありません。研究室によるようです。日本より勤務時間は短いと思いますが、仕事時間が限られている分みんな集中して働くからかきちんと研究は進んでいきます。金曜日には早めに切り上げて、みんなでパブに行ってビールを飲むのが恒例です。

○研究スタイル

研究室のメンバーの専門はペプチド化学をベースとして有機合成化学、X線結晶構造解析、NMR、バイオインフォマティクス、細胞生物学と多岐に渡っています。同じであるのは研究目標、coiled-coilペプチドに基づく人工タンパク質の創成とタンパク質フォールディングの理解、および新規素材への応用、のみです。一つの目標に向かって各人が異なるアプローチを以て迫るので自ずとメンバー同士の技術融合が新たな結果を生んで行きます。これこそが Woolfson 研の強みであると感じています。教授はアイディアを出し合うのが大好きで、研究室メンバー全員参加のブレインストーミングを行うこともあります。大人数でのブレインストーミングの楽しさを知ったのもイギリスに来てからでした。クレイジーなアイディアをたくさん出して、どれが価値ある研究になるか、そしてどうやったらできるか考えようというスタイルが Woolfson 研ではうまく機能しています。

○他研究室との連携、共同研究

Bristol に来て強く感じたのが、研究室が広く開かれているということです。試薬の貸し借りはもとより、技術交換、機器の共有など学内研究室での人の行き来がとても活発です。学部や修士の学生さんは短期で実験をする事が多いので入れ替わり立ち替わり学生さんもやってきます。さらに他大学との共同研究も大変多く、特に Dek は共同研究に熱心なので現在のメンバーほぼ全員が外部に共同研究者を持っています。私も最初の応募要項にあった通り Oxford の Hagan Bayley 教授と私のプロジェクトの相方であるポスドクと連携して研究を進めています。Dek は共同研究先に行ってもその技術を学んでくることも推奨しているので、Hagan の元に2週間ほど滞在し相方ポスドクと一緒に実験する機会もいただきました。その道のプロに学ぶことで効率的に研究が進んでいく様子を肌で感じています。

5. まとめ

私は3年契約を結んで Bristol にやってきました。よく言われることですが、直接雇用してもらうとその財源の研究資金を獲得する際に定めた目標を達成せねばならないので、お客さんではなくチームの一員になることができます。プレッシャーも大きいですが、私は Woolfson 研に来てチームプレーの強さ、楽しさを知りました。夫を日本に残し単身渡英したのですが（認めてくれた夫にはただただ感謝です）、その価値があったと思っています。研究者という職は良くも悪くも流動性があります。留学を考えている皆さんにはそれを良い方向に活かし、ぜひ実行に移してほしいなと思います。世界中から集まる人々の言葉に耳を傾け、その価値観を知り、またその人たちがどうやって研究しているかに触れることは必ず糧になるはずです。もしこの文章でその後押しができればこれ以上嬉しいことはないなと思います。

最後になりますが、現在の私があるのも、橘先生、小澤先生、そして藤原先生のおかげと心より感謝しております。またこの執筆機会を与えてくださいました松浦先生にも厚く御礼申し上げます。



シンポジウム等会告

第 16 回生命化学研究会 ～創る・調べる生命化学～

主催 日本化学会フロンティア生命化学研究会

会期 2014 年 1 月 9 日(木)昼～10 日(金)昼

会場 KKR ホテル熱海(〒413-0005 静岡県熱海市春日町7-39, TEL 0557-85-2000)

<http://www.kkratami.com>

交通:JR熱海駅より徒歩 8～10 分、またはタクシー800～1,000 円

小田原厚木道路・西湘バイパスより 20km、約 40 分

講師:浜窪隆雄(東大先端研)、濡木理(東大理)、田端和仁(東大工)、大栗博毅(北大理)、斎藤博英(京大 CiRA)、小路弘行(株式会社 PRISM Pharma)、鈴木勉(東大工)

会費:参加登録費 11,000 円、宿泊費(食事代込)14,000 円(当日徴収)

参加申込:氏名・所属・役職(学年)・E-mail アドレス・ポスター発表の希望の有無を明記の上、11/18(月)までに下記の連絡先へ申し込みください。

定員:80 名

ポスター発表募集(件数は 40 件迄)

要旨締切:11/18(月)ポスター発表希望者は A4 白黒半ページ、テンプレートを私用の上作製し、申し込み時に添付ファイルとして下記連絡先迄送付してください。テンプレートは生命化学研究会ホームページ(<http://res.tagen.tohoku.ac.jp/FBC/>)よりダウンロードできるようになる予定です。

問い合わせ・連絡先:153-8902 東京都目黒区駒場 3-8-1 東京大学大学院総合文化研究科 村上裕

e-mail: murah@bio.c.u-tokyo.ac.jp Tel/Fax: 03-5465-8850

幹事:村上裕(東大総合)、菅裕明(東大理)

The 2nd International Symposium on Chemical Biology of Natural Products: Target ID and Regulation of Bioactivity

Date: October 28 (Mon) ~ 29 (Tue), 2013

Venue: PACIFICO YOKOHAMA

Pacifico Yokohama The Conference Center Renovation 5F

(The Reception is held in The Conference Center Renovation 6F)

<http://chembiochem.jp/eng/2013/04/11/the-2nd-international-symposium-on-chemical-biology-of-natural-products/>

Invited Speakers

Dong-Chan Oh (College of Pharmacy Seoul National University, Korea)

Ho Jeong Kwon (Yonsei University, Korea)

Kazunori Koide (University of Pittsburgh, USA)

Kazuro Shiomi (Kitasato University, Japan)

Paul J. Hergenrother (The University of Illinois, USA)

Yukishige Ito (RIKEN, Japan)

新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー～分子標的と活性制御～」 第4回若手研究者ワークショップ

化学・生物学・医学の各領域を横断的に研究する若手ケミカルバイオロジー研究者を育成するため、研究発表と討論を通して領域内における研究者相互の理解を深め、領域横断的な発想と研究の推進を促すことを目的としています。若手教員・大学院生の積極的な参加をお待ちしております。

主催：新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー～分子標的と活性制御～」総括班

日時：平成25年10月29日(火) 14:00～(受付開始13:00～)

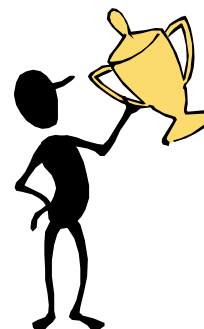
会場：横浜ワールドポーターズ 6階イベントホール

〒230-0001 横浜市中区新港 2-2-1

<http://chembiochem.jp/blog/2013/09/09/wakate/>

お知らせ

受賞



後藤 佑樹（東大院理）

バイオ関連化学シンポジウム講演賞

「PatD-FIT システム：アゾリン含有ペプチドの汎用合成系」

(2013 年 9 月 23 日)

堀 雄一郎（阪大院工）

バイオ関連化学シンポジウム講演賞

「環境応答性発蛍光プローブと PYP タグを利用した細胞内蛋白質高速イメージング技術の開発と生物応用」

(2013 年 9 月 23 日)

遠藤 玉樹（甲南大 FIBER）

バイオ関連化学シンポジウム講演賞

「新生 RNA の転写共役フォールディングを利用した RNA 構造スイッチの設計」

(2013 年 9 月 23 日)



編集後記

3月に私の師匠である岡畑先生の最終講義および同窓会に行ってきました。同窓会では、岡畑先生の東工大での30年間を総括する講演がありました。その最後のスライドが岡畑先生らしく、印象的だったので、以下に載せておきます。



さて、本号および次号にわたって、甲南大の杉本先生に巻頭言二部作を執筆いただいております。杉本先生の「巻頭言の内容について意見を募り、掲載してほしい」という御希望がありましたので、本号の **Supplementary Information** として、何人かの方の意見を掲載させていただきました。

また、生命化学研究会の **Facebook** も立ち上がっておりますので、情報交換や意見交換にご活用いただければと思います。個人的にも、最近ようやく **Facebook** を始めてみました。

次号の生命化学研究レター(No.44)は、大神田さんの担当により、2014年2月頃の発行を予定しております。ニュースレター改善のために、みなさんからのご要望・ご意見をお待ちしております。下記の編集担当まで、ご連絡をいただければ幸いです。

平成 25 年 10 月 1 日

松浦和則

鳥取大学大学院工学研究科

ma2ra-k@chem.tottori-u.ac.jp

編集担当

井原敏博(熊本大学)

大神田淳子(京都大学)