

生命化学研究レター

(2018年2月)

2. 巻頭言

22世紀の夢をみる、化学はどこに行くのか～Society 5.0を前に～

九州大学大学院工学研究院 三浦 佳子

4. 主催研究会報告

第20回生命化学研究会

7. 研究紹介

7. 化合物で細胞内分子の局在を操る ～SLIPTテクノロジーの可能性～

名古屋工業大学大学院工学研究科 築地 真也

13. 生細胞内でRNAを操る～RNAツールと化合物による細胞機能の理解～

京都大学化学研究所 佐藤 慎一

19. 論文紹介「気になった論文」

東京農工大学大学院工学府生命工学専攻 馬 悦

広島大学大学院医歯薬保健学研究科 中嶋 龍

名古屋大学大学院理学研究科物質理学専攻 吉村 柁彦

28. 海外のラボ便り

南イリノイ大学エドワーズビル校(SIUE)より

Department of Chemistry, Southern Illinois University Edwardsville 住田 美奈子

32. シンポジウム等会告・受賞・異動

2016年ノーベル化学賞 J. Fraser Stoddart 教授講演会・日本化学会 第98春季年会(2018)・第45回生体分子科学討論会 他

編集後記



巻頭言

22世紀の夢をみる、化学はどこに行くのか Society 5.0を前に

九州大学 三浦佳子

21世紀に入って、随分月日も経ち、5分の1近くが過ぎさろうとしている。20世紀に軸足を置いて生きてきた我々世代には21世紀に生きているのは今でも不思議な気がする。

人間の歩みを考えると、科学技術が興ったのは本当に最近のことである。科学のない時代の物語としては例えば、神話、中国の古典、聖書の物語をあげることができる。これらの物語には、人間の知恵を絞った様々な“道具”は登場するのだが、科学とは無縁である。かといって、我々はこれらを理解できないわけではなく、古代の物語にさまざまに想いをはせて、時に楽しみ、共感する。生命化学という側面からこれを考えると、人間という高度な分子機械、分子システムが支えていた面があるので、科学技術のない世界でも意外に高度な文明が築かれているものなのかもしれない。

科学技術が顕在化してきて、世の中を変えるようになってきたのはいつからだろうか。蒸気機関が登場して、産業革命がおこった19世紀あたりから、科学技術に世の中は顕著に影響を受けるようになり、我々の生活は科学技術に立脚した高度文明社会といえるようなものになってきた。列車が、自動車、航空機が誕生してきた。20世紀生まれの私は科学技術にこの世が揺さぶられるような力を感じてきていたし、そうした力への恐れとして環境問題にも懸念を抱いている。化学や有機化学という側面から考えると、尿素合成から始まったとされる有機化学は、低分子、生理活性化合物の全合成、高分子物質の合成などを達成して、薬化学や材料化学を生み出し、我々の生活の多様性と豊かさを物質の側面から達成してきた。

20世紀生まれの我々は、漫画（特にドラえもん）や小説や映画が提供するような、科学技術の夢を他の人と同じように抱いてきた。車は空を飛び、テレビ画面に色々な質問を問いかけたりする。町には、高層ビルと高速道路が縦横無尽にめぐらされて、コンピューターで管理されている。最近、ふとしたときに、今まさに未来を生きていると思うことがある。漫画で見たような、自動運転車が走るようになり（九州大学の中で実験が行われています）、学生は携帯電話に色々なことを尋ねている。21世紀の科学は20世紀の夢そのものなのだ。

20世紀に全く想像できていなかった分野が情報の知に関する分野である。AIについては、何でもできるかのように期待されているが、目標については、模索段階ではっきりしない。情報の知を活かした社会、Society 5.0が提唱されているが、その先にある目標については、豊かな社会ということが提示されているだけで、20世紀的な概念の域を脱していない。これからどうなるのだろうか。サ

イバーな空間と実空間がつながりつつあるが、サイバーとはかけ離れたところにある、物質の科学である”化学”や生命化学“についてはどう変わっていくだろう。

化学は合成法を始めとして、知を集積して実際の物質へと繋げていこうとする性質があるため、対局にある概念でありながら、古くから情報の活用が試みられてきた。ReaxysやScifinderなど合成方法を検索するデータベースが既に作られている。全合成をAIに行わせるようなプロジェクトも既に幾つかの先進的な結果を生み出しているようだ。AIはデータベースから学ぶことは得意であるので、既存の枠にあるような化学の研究だとAIの使い走りになってしまう。ちょっと恐ろしいけど、AIにネタを考えてもらって、人間が実験をして論文にするようなこともあり得るわけだ。

化学者はデータベース外のところに研究の創意を求めていくことがますます重要になる。現代では、化学は、有機化学、無機化学、金属とますます住み分けが進んで、細分化高度化してきている。有機物質も、核酸、ペプチド、糖、プラスチックと、別々に考えていて、どんどん高度化してきている。しかし、そういった閉じた領域の研究に限っているとAIの創意工夫に勝てなくなってしまうのではないかと思う。我々の分野であれば、情報知を上手く活用しながら、生命化学に、高分子を持ち込んだり、核酸を拡張したり、そもそも生命という概念が何か別のものになったり、とこれまでの化学の枠組みを超えた取り組みが一層求められる。そういう意味ではボーダーを超えていく、挑戦と意気込みがますます重要になっていくであろう。研究環境は厳しさを増すかもしれないし、面白さが増大するかもしれない。私は後者であってほしい。

1950年台にアーサー・C・クラークが集合した知性を予見したようなSF小説、「幼年期の終わり」という奇怪な小説を発表している。小説の中では目覚めた知は巨大な知的生命を生み出して、宇宙のどこかに飛んで行ってしまった。21世紀の今、生み出された情報の巨大な知の行き先が22世紀の科学の方向を決めていくだろう。Society 5.0では人間主体の社会とだけ提唱されているが、生命の無限の可能性、宇宙人の襲来？といった想定外のことも含めて、その社会の夢を作っていきたい。それが今後の化学の方向性を考える上でも欠かせない。特に若い世代の創造性に期待を込めて、筆をおきたい。



主催研究会報告

第 20 回 生命化学研究会～未来を拓く生命化学～

当研究会の主要行事である生命化学研究会が、新年の幕開けとともに今年も開催されました。20 回目の節目となった今回は、小澤岳昌氏(東大)と金原数氏(東工大)のお世話により東海道の「天下の険」と謳われた箱根の温泉町で行われ、生命科学分野で活躍する新進気鋭の若手講師による講演と活発な議論が交わされました。今回のプログラムでは 1 演題あたり 50 分と時間に余裕があったこともあり、より深く密度の濃い議論ができました。一日目は上野隆史氏(東工大)、宮成悠介氏(岡崎統合バイオサイエンスセンター)により、たんぱく質集合体の機能材料への応用に関する研究および核内構造体の機能解析を目指したイメージング研究について、それぞれ最新の成果が発表されました。その後、石田 斉氏(北里大)により、闘病の末、昨年 5 月に他界された当研究会理事の故中島敏博氏(化学及血清療法研究所)の思い出話が披露され、全員で黙とうを捧げました。二日目には、福田真嗣氏(慶應先端生命研)、南 豪氏(東大生産研)、五十嵐隆治氏(京大工)により、腸内細菌叢に焦点を当てたマイクロバイオーム研究について、超分子システムによる有機薄膜トランジスタの開発、ダイヤモンド結晶を用いたマルチモーダルセンサーの開発、について研究発表がありました。

主催：日本化学会フロンティア生命化学研究会

会期：2018 年 1 月 5 日(金)、6 日(土)

会場：箱根湯本 四季の宿 箱根路 開雲

幹事：小澤 岳昌(東京大学大学院理学系研究科)、金原 数(東京工業大学生命理工学院)

プログラム

1 月 5 日(金)

13:00-13:05 開会の挨拶

13:05-13:55 上野 隆史(東京工業大学生命理工学院)

「タンパク質ケージによる超分子材料の開発」

13:55-14:45 宮成 悠介(自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター)

「クロマチン高次構造の理解に向けて」

14:45-15:15 石田 斉(北里大学大学院理学研究科)

「中島 敏博氏を悼んで」

15:15-15:35 花村 克悟(東京工業大学・JST さきがけ研究総括)

「さきがけ研究領域の紹介」

15:35-15:45 写真撮影

15:50-17:10 ポスター発表

17:15-17:30 運営委員会

18:30-20:30 夕食

21:00-23:30 総合討論 生命化学が目指すべき 10 年後

1 月 6 日 (土)

9:00- 9:50 福田 真嗣 (慶應義塾大学先端生命科学研究所)

「もう一つの臓器、腸内細菌叢の機能に迫る」

9:50-10:40 南 豪 (東京大学生産技術研究所)

「有機薄膜トランジスタを用いて分子認識情報を読み出す」

10:40-10:50 休憩

10:50-11:40 五十嵐 龍治 (京都大学大学院工学研究科)

「ダイヤモンドを『ナノサイズのセンサー』として活用する」

11:40-12:00 総会, 終了後解散

12:00-13:00 昼食 (希望者)

解散

ポスター発表

P-1 内在性 EGFR の光による活性制御を可能とする光二量体化抗体の開発

太田 椿、遠藤 瑞己、吉村 英哲、小澤 岳昌 (東京大学大学院理学系研究科化学専攻)

P-2 分割型ルシフェラーゼの自発的再構成を用いた GLUT4 の細胞膜存在量発光測定法の開発

宮崎 将司、河村 玄気、小澤 岳昌 (東京大学大学院理学系研究科化学専攻)

P-3 微小液滴の高速選別システムにより RNA 酵素を進化させる

松村 茂祥¹、井川 善也¹、Andrew D. Griffiths² (¹富山大・院理工、²ESPCI Paris)

P-4 ペプチド鎖を用いて光化学的 CO₂還元触媒を創る

石田 齊、小島 千明、大塚 敦史、板橋 淳 (北里大院理)

P-5 132 位にメチレン基を有するバクテリオクロロフィル d アナログが強力に自己会合する

藤原 佳樹、民秋 均 (立命館大学院生命科学研究科)

P-6 1 分子解析により GPCR シグナル伝達の多様性を解明する

豊田 宏明、吉村 英哲、小澤 岳昌 (東京大学大学院理学系研究科化学専攻)

P-7 ロイシンリッチリポタンパク質 OMD は弱い相互作用でコラーゲン線維形態を制御する

田島 卓実¹、長門石 暁^{1,2}、Caaveiro Jose³、黒田 大祐¹、中木戸 誠¹、
相良 洋²、大沼 信一⁴、津本 浩平^{1,2,5} (¹東大院・工、²東大・医科研、
³九大院・薬、⁴UCL・眼科学、⁵東大・創薬機構)

P-8 細胞内環境応答性ペプチドリボ核酸を利用したイスキミア特異的核酸医薬の創製

-RNaseH を活用して高効率 RNA 切断を実現する-

稲垣 雅仁¹、海原 大輔¹、福與 悠里¹、上松 亮平¹、荒木 保幸¹、
山吉 麻子³、石橋 哲²、横田 隆徳²、和田 健彦¹ (¹東北大多元研、
²東京医歯大神経内科、³京大白眉センター)

P-9 非構造的たんぱく質が関与する PPIs を合成分子で制御する

大神田 淳子 (信州大農)



平成 30 年 1 月 5 日 出席者一同



研究紹介

化合物で細胞内分子の局在を操る

～SLIPT テクノロジーの可能性～

名古屋工業大学大学院工学研究科

築地 真也

(stsukiji@nitech.ac.jp)



1. はじめに

この生命化学研究レターは、1999年、私が九州大学(新海征治研究室・浜地格グループ)の博士後期課程2年生のときにスタートした。その記念すべき創刊号で「研究紹介」を(モジャモジャ頭の写真付きで)書かせて頂き、かれこれ18年ぶりに改めて執筆の機会を頂いた。この18年の間に、学位を取得し、その後、米国ニューヨーク州立大学バッファロー校(菅裕明研究室)、東京大学(長棟輝行研究室)、京都大学(浜地格研究室)で修行を積んだ。2010年に長岡技術科学大学で独立する機会を頂き、2015年10月に現所属先である名古屋工業大学に異動した。周りを見ても、私のようにあちこちを転々としてきた人は少ないが、おかげでそれぞれの場所でさまざまな生命研究アプローチを習得させて頂いた。特に、有機合成も遺伝子操作も細胞実験もできるのは私のラボの大きな強みで、小分子化合物から機能性ペプチド、設計タンパク質、そしてそれらが連携して機能する合成シグナル伝達システムなど、さまざまな階層の分子や分子システムを創る研究を展開している。本稿では、私のラボが現在最も力を入れている「タンパク質の細胞内局在を制御する化合物技術(SLIPTテクノロジー)」について紹介したい。以下に、SLIPTテクノロジーの開発に至った経緯から現状と展望、そして今後の課題について述べさせて頂く。

2. 細胞内シグナル伝達への興味のきっかけ

私が本格的に動物細胞を研究対象にし始めたのは、東京大学の長棟輝行研究室に所属してからである。長棟研はタンパク質工学や細胞工学のエキスパートで、特に河原正浩さんのチームが展開しているキメラ受容体¹のプロジェクトを間近で見させて頂いたのが大きなきっかけである。私はそれまで細胞の分子生物学については不勉強だったため、河原グループの研究を通じて、巨大で複雑な増殖因子受容体がリガンド依存的な「二量化」というシンプルな戦略で活性化されることを知り驚いた。また、増殖因子受容体が二量化すると、その細胞内ドメインが近接することで自己リン酸化され、さらにそのリン酸化部位を認識する下流の分子がそこに結合することで細胞質から細胞膜近傍に局在場所を変えるらしい(図1)。とても複雑そうに見えた細胞内シグナル伝達が、分子の二量化(多量化)、近接効果、分子認識といった化学の基本的な原理によって制御されていることを知った。しかも、細胞内シグナル伝達

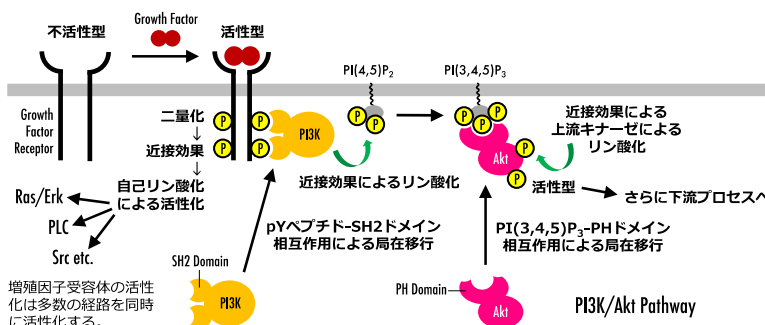


図1 細胞内シグナル伝達メカニズムの概略図 (PI3K/Akt経路を例に)

を人為的に制御できると、細胞のメカニズム解明や治療などに貢献できる可能性がある。これは面白い！。これをきっかけに、自分も何か独自のアプローチで細胞内シグナル伝達を制御できないかと考えるようになった。少なくとも細胞表面受容体の制御は河原さんがやっているのだから、私は細胞の中を狙おう。タンパク質の局在制御はまだあまりやられていない²、面白いかもしれない。自分の直感を頼りに、次に述べる研究を何となくスタートさせた。

3. 内在性PI3Kシグナルの高速・高効率な活性化 ~使えないし、引用されないけど、これが原点~

ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ (PI3K) は脂質キナーゼの一種であり、細胞膜内膜に存在する脂質ホスファチジルイノシトール-4,5-二リン酸 (PI(4,5)P₂) をリン酸化して、ホスファチジルイノシトール-3,4,5-三リン酸 (PI(3,4,5)P₃) を産生する (図1)³。PI(3,4,5)P₃ は増殖、生存、分化、運動などのさまざまな細胞機能を制御する重要な脂質セカンドメッセンジャーであり、内在性PI3Kを選択的に活性化する技術 (PI(3,4,5)P₃ を人為的に生産する技術) は、PI3KやPI(3,4,5)P₃ の下流経路を解析する強力な手法になるものと期待される。しかし、内在性PI3Kを選択的に活性化できる技術は当時なかった。どのようにすれば、内在性PI3Kを選択的に活性化できるだろう。我々は、その活性化メカニズムに着目した (図1)。非刺激条件下の細胞では、PI3Kは細胞質に存在し、活性を示さない。細胞が増殖因子の刺激を受けると、増殖因子受容体の細胞内ドメインがリン酸化される。PI3Kはこのリン酸化部位を認識するSH2ドメインを有しており、増殖因子受容体のリン酸化部位への結合を介して、PI3Kは細胞質から細胞膜内膜上へ移行する。そして、細胞膜内膜中のPI(4,5)P₂をPI(3,4,5)P₃に変換する。すなわち、PI3Kの活性化には細胞膜移行が鍵となる。我々はこの知見を元に、内在性PI3KのSH2ドメインが認識する合成リン酸化ペプチドを細胞膜内膜上にアンカリングすることができれば、内在性PI3Kを細胞膜にリクルートし、PI(3,4,5)P₃を高効率に人工産生できるのではないかと考えた⁴。

当時、合成ペプチドを細胞内に導入し、さらにそれを細胞膜内膜上にアンカリングするというのは非常に困難であった。そこで我々は、大腸菌ジヒドロ葉酸還元酵素 (eDHFR) と小分子トリメトプリム (TMP) が動物細胞内で高い親和性と選択性で結合する⁵ことを利用し、図2のような系を構築した。この系では、脂質化配列をeDHFRに融合することで、eDHFRを細胞膜内膜上に発現させる。一方、PI3KのSH2ドメインが認識する血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR) 由来のリン酸化配列にTMPを連結したもの (TMP-2pY) を化学合成する。そして、このTMP-2pYを、上述のeDHFR発現細胞にマイクロインジェクションにより導入するというものである。PI(3,4,5)P₃プローブ (PH(Akt)-EGFP) を用いた実験を行ったところ、TMP-2pYのマイクロインジェクション後、1分以内に、TMP-2pYは細胞膜内膜に局在化し、さらにPI(3,4,5)P₃が高効率に産生されることが明らかとなった (図2イメージング像)。免疫染色実験により、内在性PI3Kがた

しかに細胞膜に移行していることも確認できた。一方、TMP-2pYを細胞質に拡散させた場合には、PI(3,4,5)P₃の産生はほとんど起こらず、合成リガンドTMP-2pYを細胞膜内膜に局在化させることが高効率なPI3K活性を引き起こしていることが実証

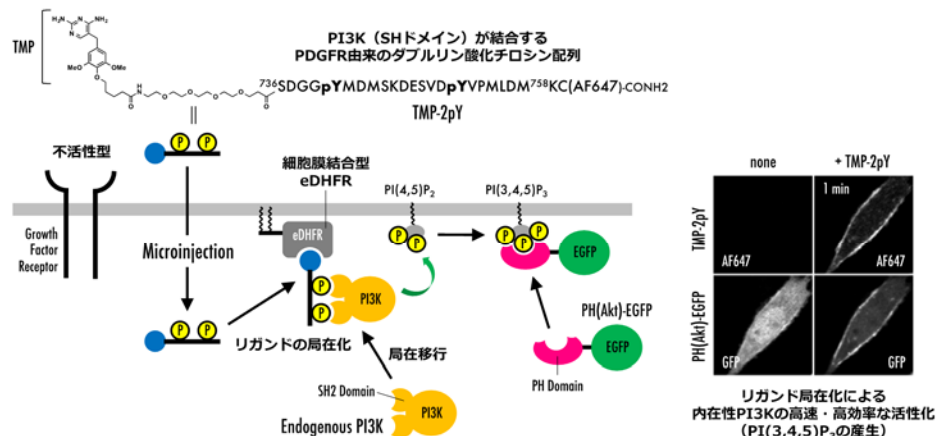


図2 リン酸化ペプチドの細胞膜局在化による内在性PI3Kの活性化

された。残念ながら、本系は、マイクロインジェクションという技術的に難しい手法を使用しているため、汎用性に欠け、誰も使おうと思わないし、論文も全くと言っていいほど引用されない。そりゃそうだ(笑)。しかし、本成果は、標的タンパク質に対するリガンドを細胞内に局在化させることで、その標的タンパク質の局在移行を誘導でき、さらにその局在移行をトリガーとして下流のシグナル経路を活性化できることを示した先駆的な例である(と自分は思っている)。そして、この論文⁴の最後の一文、“*Our next challenge is to develop cell-permeable carriers capable of delivering cargo ligands to specifically defined regions or organelles inside cells*”が、次項で紹介するSLIPTテクノロジーの開発への布石となっている。

4. SLIPTテクノロジーの概念実証

その後、私は、京都大学の浜地格研究室に移籍した。浜地研では、ひとまず局在のプロジェクトは封印し、リガンド化合物を利用した細胞内在性タンパク質の化学ラベリング技術の開発に従事した。浜地研の代表作の一つである「リガンド指向型トシル(LDT)化学」⁶を考案し、ラベル化剤合成からマウスを用いた*in vivo*ラベリング実験まで自ら行ったのは非常に良い経験となった。また、浜地研でさまざまなリガンド誘導体を合成し、細胞にふりかける実験を繰り返したおかげで、細胞内で使うための化合物の分子設計指針を“なーんとなく”予測できるようになった(気がしている)。そして、浜地研を出る一年くらい前から、浜地先生の許可を得て、封印していた局在プロジェクトを再開することにした。その後、私は独立し、長岡技科大、そして名工大でこのプロジェクトを精力的に展開している。

前項で述べたマイクロインジェクションの系を踏まえ、私は、培地に添加するだけで細胞膜を透過し、さらに細胞内の特定領域に自発的に局在化するリガンド化合物を創製したいと考えた。そのような化合物は細胞内の標的タンパク質の局在移行を誘導し、シグナル経路を制御する新しいユニークなツールになるはずである。では、どのようにすればそのようなリガンド化合物を作れるだろう。我々の(超単純な!)アイデアを図3aに示す。この戦略では、「局在性リガンド(self-localizing ligand, SLL)」と命名したハイブリッド型化合物を用いる⁷。局在性リガンドは、標的タンパク質に結合する小分子リガンドに、細胞内の特定のオルガネラや膜領域に結合する別の小分子化合物を「局在化モチーフ」として連結した化合物である。このような分子設計にすることで、局在性リガンドは、細胞膜を透過後、細胞質中の標的タンパク質に結合し、そのタンパク質を局在化モチーフが指定する部位へ移行させることができるものと考えた。この手法は、局在性リガンドによって標的タンパク質の局在移行を誘導することから、「SLIPT (SLL-induced protein translocation) テクノロジー」

(正式名称の登場が遅くなってすみません!)と呼んでいる。以下に、このSLIPTテクノロジーを利用したタンパク質の局在制御とシグナル伝達活性化の例を紹介する。我々は前項でも使用したTMPをリガンドとして使い、eDHFR融合タンパク質の局在を操ることのできる局在性TMPリガンドの創製に取り組んだ。

まず、TMPの「核内」への局在化を試みた。核内にはDNAが貯蔵されていることを踏まえ、DNA結合性化合物

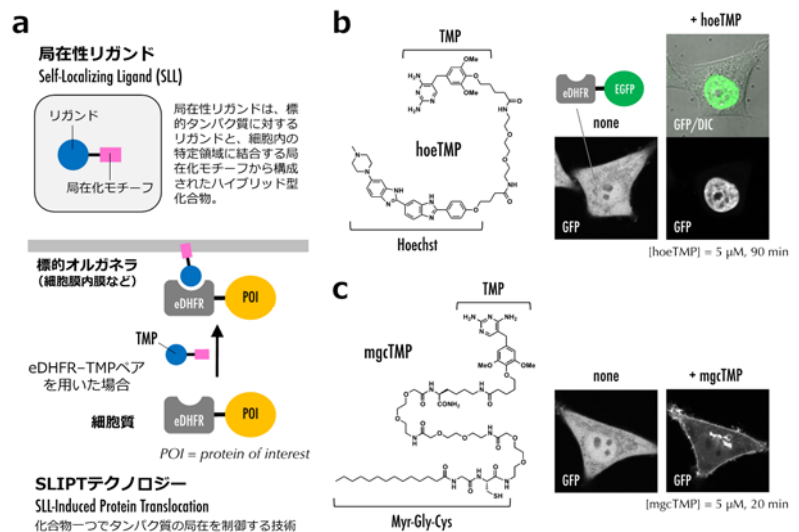


図3 (a) 局在性リガンドとSLIPTテクノロジー (b) hoeTMPによる核内移行 (c) mgcTMPによる細胞膜移行

物を核への局在化モチーフとして利用してみることにした。具体的には、古典的な蛍光核染色剤として知られるHoechstを用い⁸、これにTMPを連結した化合物(**hoeTMP**)を合成した(図3b)。**hoeTMP**をHeLa細胞の培養液に添加し、共焦点レーザー顕微鏡を用いてHoechst蛍光を観察したところ、**hoeTMP**は核内に選択的に局在化することが確認された。そこで、EGFPを融合したeDHFR(eDHFR-EGFP)を発現させたHeLa細胞に対して**hoeTMP**を添加する実験を行った。初期状態では、eDHFR-EGFPは(核質も含め)細胞質全体に分布していたが、培養液に**hoeTMP**を添加すると、緑色蛍光が核内に集まっている様子が観察された(図3b)。この結果は、**hoeTMP**はそれ自身が核局在化するだけでなく、その結合タンパク質であるeDHFR-EGFPを細胞質から核内(クロマチンDNA上)に移行できることを示している。本実験から、局在性リガンドを用いることでタンパク質の局在移行を誘導できることが実証された。

更に我々は、細胞膜内膜に局在化するTMPリガンドの創製にも取り組んだ。細胞膜内膜に局在化することが知られるLynキナーゼのN末端モチーフからミスチン酸-Gly-Cys骨格を抽出し⁹、これを細胞膜内膜局在化モチーフとして用いてみることにした。先と同様のモジュール設計に従って、**mgcTMP**を合成した(図3c)。これをeDHFR-EGFP発現HeLa細胞に添加したところ、eDHFR-EGFPが細胞質から細胞膜へ移行する様子が観察された(図3c)。本系は、局在移行速度も早く、分オーダーで局在移行が完結する。

5. SLIPTシステムを用いて生細胞内に合成シグナル伝達経路を構築する

細胞内には非常に多くのシグナル伝達経路が存在する。増殖因子などの生理的刺激は、細胞内の多数の経路を同時に活性化するため(図1)、これが細胞機能のメカニズム解明を困難にしている。細胞内の特定のシグナル分子や経路を特異的に活性化することができれば、個々の経路と細胞機能の関係を解析するための強力な手法になりうるであろう。そこで我々は、前項で開発したSLIPTシステムを応用し、局在性リガンドをインプットとして活性化させる合成シグナル伝達経路を生細胞内に構築することを試みた。

まず、Akt経路を標的とした。Aktは、細胞生存、アポトーシス、代謝、運動などのさまざまな細胞機能に関与する重要な蛋白質キナーゼである¹⁰。AktはPHドメインとキナーゼドメインから構成されており、通常非刺激条件下では、細胞質に存在する。細胞が刺激を受けると、PI3Kの作用によって細胞膜内膜上にPI(3,4,5)P₃が産生し、PHドメインがこのPI(3,4,5)P₃に結合することで、Aktは細胞膜内膜上へ移行する(図1)。

その後、上流のキナーゼによってThr308とSer473の二カ所がリン酸化されることでAktは活性化し、下流基質をリン酸化する。この知見をもとに、我々は、Akt1のPHドメインをeDHFRに置換し、更に蛍光観察用のEYFPを融合した人工Akt1(YD-Akt1(KD))を設計した(図4a)。これをNIH3T3細胞に発現させ、**mgcTMP**添加前後での蛍光イメージングを行った。その結果、**mgcTMP**の添加によってYD-Akt1(KD)が細胞質から細胞膜へ移行することが確認された。そこで次に、Akt経路の活性をウエスタンブロットティングにより解析した。図4aのレーン1と2の比較から、**mgcTMP**の添加によってYD-Akt1(KD)のリン酸化が引き起こされることが示された。更に、このリン酸化による活性化に伴い、YD-Akt1(KD)は内在性下流基質のグリコーゲン合成酵素キナーゼ(GSK)をリン酸化

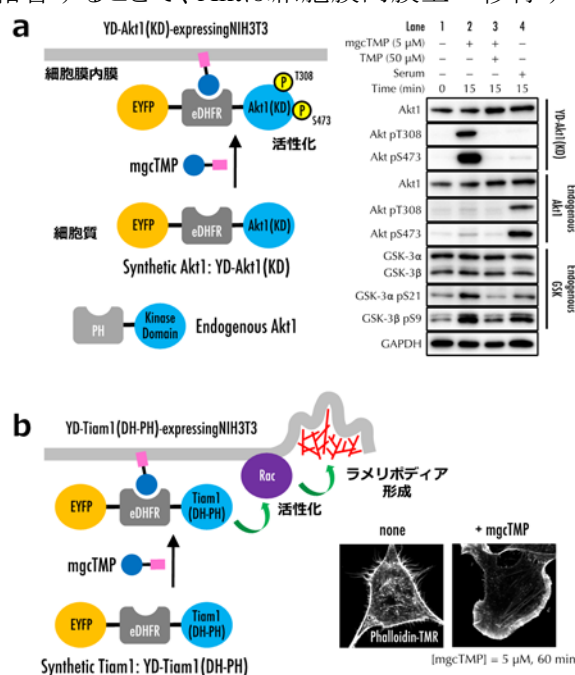


図4 (a) 合成Aktシグナル経路 (b) 合成Racシグナル経路

することが示された。**mgcTMP**は内在性Aktのリン酸化は誘導しないことも確認された(レーン2)。一方、通常の血清刺激では(レーン4)、内在性Aktはリン酸化されるのに対して、YD-Akt1(KD)は全く応答しなかった。以上の結果は、**mgcTMP**という局在性リガンドによってのみ活性化される人工的なAkt経路を生細胞内に構築できたことを示している。本システムは、さまざまな細胞機能におけるAkt経路の役割を解析するための強力なツールになるものと期待される。

mgcTMPを用いたSLIPTシステムは、細胞運動の人工誘導にも応用可能であった。低分子量G蛋白質ファミリーのRacは、細胞運動の重要な制御分子である¹¹。細胞内でRacは細胞膜内膜上に局在しており、上流のGuanine nucleotide exchange factor Tiam1によって活性化されることで、細胞遊走に必要なラメリポディア(葉状仮足)の形成を引き起こす。そこで我々は、**mgcTMP**応答性の人工Tiam1(YD-Tiam1(DH-PH))を設計し、**mgcTMP**によって内在性Racを活性化する合成シグナル伝達システムを構築することを試みた(図4b)。YD-Tiam1(DH-PH)を発現させたNIH3T3細胞に対して**mgcTMP**を添加し、静置後、アクチンをファロイジン染色により可視化した。その結果、**mgcTMP**によって細胞膜の構造が大きく変化し、典型的なラメリポディアが形成している様子が確認された(図4b)。すなわち、**mgcTMP**に応答して内在性Rac経路を活性化する合成細胞システムを構築できた。

細胞膜内膜は情報伝達の最も重要な場の一つであり、AktやRac以外にもさまざまなシグナル分子・経路がここで活性化される。我々は他にも、Ras/MAPK経路の活性化を誘導できることも確認しており(論文投稿準備中)、本手法は、細胞膜内膜上で進行するさまざまなシグナル伝達プロセスを人工的に活性化・制御するための汎用的なケミカルバイオロジーツールとして幅広く利用できそうである。

6. おわりに

今回、我々は、“タンパク質の細胞内局在を制御する化合物(局在性リガンド)”という新しい化合物コンセプトを提案・実証した。現在は、このSLIPTテクノロジーの拡張と高度化に力を入れており、例えば、局在移行を任意のタイミングで可逆的に制御することで、細胞内シグナルを過渡的に活性化したり、持続的に活性化したりといったことが可能になってきた(論文投稿準備中)。このような技術は、シグナルの持続時間と細胞応答の関係を解明するための有用なツールになるであろう。また、最近では、SNAP-tagとHaloTagに対するSLIPTシステムの創製にも成功しており(論文投稿準備中)、eDHFRの系と併用することで、同一細胞内で最大三種類のシグナル分子・経路を独立に活性化する基盤技術が完成しつつある。我々は、この多成分制御技術を用いて、受容体直下のシグナル伝達経路をコンビナトリアルに活性化し、どのような経路の組み合わせでどのような細胞応答が誘導されるかを解析する準備を進めている。このようなアプローチは、シグナル経路間のクロストークやフィードバックなどを紐解くための強力な手法になり、細胞内シグナル伝達ネットワークと細胞応答の還元的・構成的理解へと繋がるものと考えている。

SLIPTテクノロジーのもう一つの大きな魅力は、本手法は原理上、内在性タンパク質にも適用できることにある。内在性タンパク質を標的とした局在性リガンドは、タンパク質の再配置によって作用する新しい創薬コンセプトに展開できる可能性を有している。例えば、タンパク質の局在移行によって下流経路を活性化する薬剤や、タンパク質の正常な局在を乱すことで機能発現を阻害する薬剤などが考えられる。また、疾患の中にはタンパク質の局在異常が原因のものもあり¹²、その蛋白質の局在を正常に戻すことで治療効果を発揮するようなこれまでにない薬剤の開発にも繋がるかも知れない。我々はこのような局在制御化合物に基づいた創薬アプローチの開拓に向けて現在鋭意研究を進めている。

一方、SLIPTテクノロジーを発展させる上で、二つの大きな課題がある。まず、局在性リガンドを創製するための「局在化モチーフ」が今は極めて限られている。これは、細胞内のオルガネラや膜を認識する化

合物の開発が遅れている(おそらくこれまで着目されてこなかった)ことを示している。今後、標的タンパク質をさまざまな細胞内領域に移行させるためには、細胞内部位特異的局在化モチーフのレパートリーを飛躍拡張することが不可欠である。また、新規リガンドの探索も必要である。これは特に、内在性タンパク質の局在移行によって作用するシグナル活性化剤を創製する上で極めて重要な課題である。ケミカルバイオロジーの発展に伴い、非常に多くの生理活性化合物(小分子リガンド)が報告されてきた。しかし、それらのほとんどは阻害剤である。特に、酵素活性を抑えるタイプの阻害剤が圧倒的に多い。残念ながら、このような阻害剤を用いて局在性リガンドを創製した場合、標的内在性タンパク質の局在場所を変えられても、その標的タンパク質は機能が阻害された状態となっており、下流シグナルを活性化することはできない。したがって、内在性タンパク質の局在移行によって作用するシグナル活性化剤を創製するためには、標的タンパク質に結合はするものの、その酵素活性などの本質的な機能は阻害しないようリガンド化合物が重要になってくる。上述の「局在化モチーフ」の欠如に加え、この「非酵素活性阻害リガンド」の欠如もまさしく化学の未開拓領域を示している。我々は、これらの「局在化モチーフ」や「非酵素活性阻害リガンド」は、SLIPTテクノロジーのみならず、さまざまな新規分子ツールの開発に応用できるものと考えており、これらを効率良くスクリーニングするシステムをこれから手がける予定である。

謝辞

本稿で紹介した成果は、東京大学長棟研、京都大学浜地研、長岡技科大・名工大築地研で実施したものです。本研究に携わってくれた全ての共同研究者の方々に深く御礼申し上げます。また、18年ぶりの執筆の機会を与えてくださった、松浦和則先生(鳥取大学)と大神田淳子先生(信州大学)に感謝いたします。

参考文献

1. (a) M. Kawahara, H. Ueda, T. Nagamune, *Biochem. Eng. J.* **2010**, *48*, 283–294. (b) M. Kawahara, T. Nagamune, *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2012**, *1*, 411–417.
2. タンパク質の局在制御法として、現在では、ラパマイシンによるFKBPとFRBのヘテロ二量化を用いた手法や、光受容体の相互作用ペアを用いた手法が開発され、生命研究に幅広く利用されている(詳細は割愛)。しかし、これらの手法は、標的タンパク質の局在を制御するのに必ず二種類のタンパク質を発現させる必要があり、内在性タンパク質には適用できない。
3. L. C. Cantley, *Science* **2002**, *296*, 1655–1657.
4. S. Hashiro, S. Tsukiji, T. Nagamune, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13568–13569.
5. L. W. Miller, Y. Cai, M. P. Sheetz, V. W. Cornish, *Nat. Methods* **2005**, *2*, 255–257.
6. S. Tsukiji, M. Miyagawa, Y. Takaoka, T. Tamura, I. Hamachi, *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 341–343.
7. M. Ishida, H. Watanabe, K. Takigawa, Y. Kurishita, C. Oki, A. Nakamura, I. Hamachi, S. Tsukiji, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12684–12689.
8. A. Nakamura, K. Takigawa, Y. Kurishita, K. Kuwata, M. Ishida, Y. Shimoda, I. Hamachi, S. Tsukiji, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 6149–6152.
9. S. P. Creaser, B. R. Peterson, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2444–2445.
10. B. D. Manning, L. C. Cantley, *Cell* **2007**, *129*, 1261–1274.
11. K. Burrige, K. Wennerberg, *Cell* **2004**, *116*, 167–179.
12. J. R. Davis, M. Kakar, C. S. Lim, *Pharm. Res.* **2007**, *24*, 17–27.

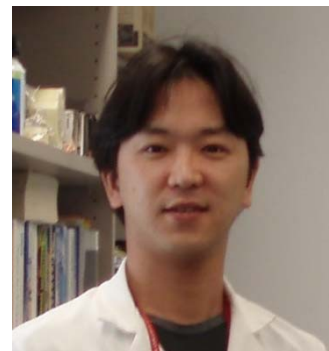
生細胞内で RNA を操る

～RNA ツールと化合物による細胞機能の理解～

京都大学化学研究所

佐藤慎一

(ssato@scl.kyoto-u.ac.jp)



1. はじめに

細胞の恒常性は、核酸・タンパク質・脂質・糖鎖・代謝産物などの生体分子が互いに連携・機能することで維持されています。複雑な細胞機能の理解を深めるためには、それら生体分子の時空間的な機能発現を系統立てて研究することが重要となってきます。筆者は、生細胞において生体分子の動態や増減を時空間的・網羅的に観察・制御できるツールを開発し、それらを利用した細胞機能解析の技術基盤の創生を目指して研究を進めて来ました。筆者が生細胞内で利用する研究ツールとして選んだのは「RNA」と「小分子化合物」。RNA は生体分子で毒性も少なく、直接細胞に発現させることができるのでストレスが低い自然な状態での細胞観察が可能です。また、RNA 自体に高い機能を付加できることも魅力です。小分子化合物は古くから安定に供給できる細胞生物学ツールとしての利用されており、方法を一般化する上で大きなメリットとなります。本稿では、細胞自身が生産する「RNA」を生細胞内で観察したり、機能を制御したりできるような研究ツール・研究方法の開発について紹介させていただきます。

2. 生細胞内 RNA イメージングツール

細胞の中には様々な生体分子で混沌としています。その中で、目的とする分子を正確に認識するような研究ツールを開発することはとても大変です。筆者は、数々の生体分子の中で「RNA」に着目して、その細胞内の局在や動態を観察できるような研究ツール・研究方法の開発に挑戦することにしました。

近年、RNA があらゆる生命現象に関与していることが明らかとなってきています。したがって RNA を研究することは、生命現象の全貌を明らかにする上で極めて重要な課題として位置付けられています。RNA は細胞内でその機能を発揮するために、複雑な時間的・空間的制御を受けます。例えば、タンパク質合成の鋳型となる mRNA は、細胞内局在を高度に制御されています。また、ジャンクと呼ばれてきたノンコーディング RNA は、複雑なプロセッシングを受けた後に機能を発現します。しかし、細胞内における RNA の動的・空間的な制御機構の大部分は未だ謎に包まれています。その一因は、細胞自身が生産する内在性の RNA の動態を観察・解析するためのツールが少ないことなど技術面の難しさにあります。そこで筆者は、不安定な RNA の機能発現に合わせた「速いタイムスケールにおける空間的観察」を可能とするツールが作製出来れば、生命現象の謎の解明に貢献できるのではないかと考えました。

筆者が RNA イメージングツールの開発に利用したのは、「蛍光化合物プローブ」とそれを認識する「機能性 RNA (RNA アプタマー)」です。理由は2つ。博士研究員時代に RNA アプタマーの研究に携わっていたので、RNA 分子に親しみがあり、またその機能に可能性を感じていたこと。もう一つの理由は、所属が

ケミカルバイオロジーの研究室だったので、「化合物」を研究ツールとして利用したいと考えたことです。

まず、蛍光クエンチャーBlack Hole Quencher 1 (BHQ1)と蛍光基からなる蛍光プローブのデザインを行いました(図1)。このプローブは、蛍光基を持っていますが、消光状態になります。しかし、BHQ1 分子に親和性を有する RNA アプタマーが、BHQ1 により消光されている「蛍光基-BHQ1 プローブ」の BHQ1 部分に結合すると、BHQ1 のクエンチャーとしての機能を無効化することで、プローブの蛍光を回復させます。つまり、RNA アプタマー上で蛍光を発することになるので、RNA アプタマーが蛍光標識されます。BHQ1 は幅広い波長領域の蛍光を消光できるので、様々な「色」の蛍光で標的 RNA アプタマーを検出することが可能となります(図1)。BHQ1 クエンチャーを認識する RNA アプタマーは、in vitro selection 法により選出します。この RNA アプタマーをタグとして目的の mRNA に組み込むことで、mRNA の増減をリアルタイムで検出できるようになりました^[1]。しかし、この方法では、細胞内で細胞自身が生産する内在性 RNA を観察することはできません。では、任意の RNA を蛍光標識するには、どうすれば良いのでしょうか？

生細胞内で発現する内在性 mRNA をイメージングするには、mRNA を配列選択的に認識し、蛍光標識する必要があります。筆者が RNA イメージング法を開発する以前、任意の RNA を観察するために、モルキュラービーコンに代表される相補核酸を利用した方法などが開発されていました^[2-7]。相補核酸プローブは、高い標的配列認識能を付加できる素晴らしい RNA 染色法です。しかし、目的 mRNA を特異的に認識・機能するプローブ分子を作製するには膨大な時間と労力が必要であり、また、生細胞内ではプローブ分解や核酸特有のミスアニーリングなどによる偽陽性シグナルが観測されるなど改善するべき点がありました。

筆者は、前述した BHQ1 を認識する RNA アプタマーに RNA 配列認識能を付加することで、任意の標的 RNA を高選択的に蛍光標識できる方法を思いつきました(図2)。BHQ1 認識 RNA アプタマーは、BHQ1 認識ループとそのループ構造を安定化するステム構造からなります(図2a, b)。この RNA アプタマーはステム構造を短くすると、BHQ1 認識ループが不安定化し、BHQ1 の認識能が失われます。この性質を利用して、ステム構造を RNA 認識アームに置きかえれば(図2c)、標的 RNA 存在下でのみ BHQ1 認識ループが安定化し、BHQ1 を捕えることができるようになります(図2d)。この設計では、RNA 認識アームを標的 RNA の配列に合わせるだけで、任意の標的 RNA を蛍光標識できます。この RNA イメージング法は、生細胞内の内在性

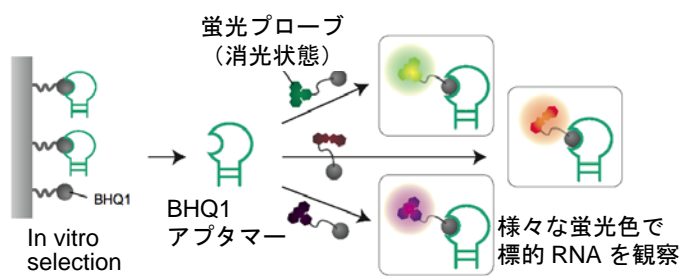
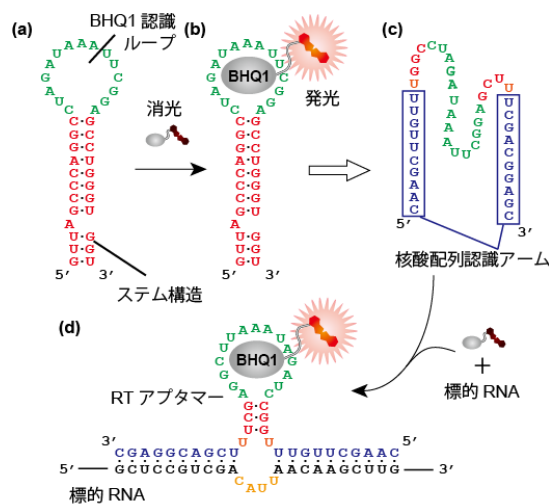


図1. 蛍光化合物プローブを認識する RNA アプタマーの創製と RNA 検出の概念



(e) β -actin mRNA 顆粒のタイムラプスイメージ

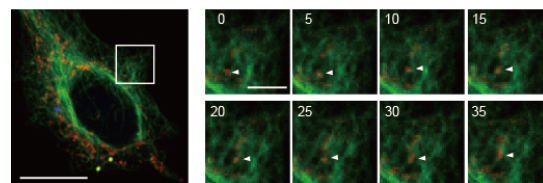


図2. BHQ1 アプタマーによる核酸蛍光標識 (a) BHQ1 認識ループ (緑) とステム構造 (赤) (b) BHQ1 アプタマーと蛍光プローブの結合 (c) ステム構造 (赤) を RNA 配列認識アーム (青) への置換 (d) 標的 RNA への検出モデル (e) 生細胞内 mRNA イメージング

この設計では、RNA 認識アームを標的 RNA の配列に合わせるだけで、任意の標的 RNA を蛍光標識できます。この RNA イメージング法は、生細胞内の内在性

RNA 検出において他のイメージング法に比べて大きな利点があります(図 2)。標的 RNA を認識するアプタマー(RT アプタマー)は、shRNA 発現用のベクターを用いて直接細胞に発現させることができる点です。RT アプタマーは、発現ベクターから恒常的に供給されるので、これまでの相補核酸プローブの問題点であったプローブの不安定性を考慮に入れる必要がありません。また、細胞内で標的 RNA と配列特異的複合体を形成した RNA アプタマー上でのみプローブの蛍光が回復するので、偽陽性シグナルを大幅に軽減できます。本方法の有効性は、HeLa 細胞内での動態が知られている β アクチン mRNA の生細胞内イメージングにより示しました^[8](図 2e)。

細胞の中は、核酸・タンパク質・脂質・糖鎖・代謝産物などの様々な生体分子が存在しています。それら生体分子が織り成す複雑な細胞機能の理解を深めるためには、生体分子の細胞内動態を直接観察することが、とても有効な手段です。しかし、細胞自身が生産する内在性の生体分子を天然のままで観察・解析することは技術的に極めて困難です。この研究では、RNA 分子に着目して生細胞内で利用できるイメージングツールの開発を行いました。筆者は現在、高い機能を付加できる RNA アプタマーを生細胞内で操ることで、他の様々な生体分子の生細胞内局在や動態の観察や制御ができるようになるのではないかと期待して研究を進めています(図3)。

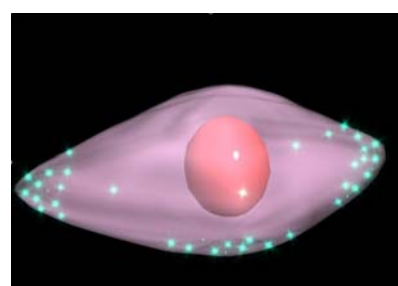
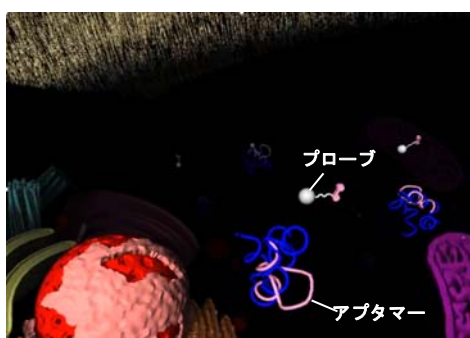


図3. RNA の生細胞内イメージング

3. タンパク質翻訳に関与する RNA G-quadruplex 探索ツール

細胞は、タンパク質の時空間的な発現量を制御することで恒常性を保っています。細胞内では様々なメカニズムによりタンパク質発現が制御されていますが、近年、mRNA 上で形成される G-quadruplex 構造がタンパク質発現に大きく関与していることが明らかとなってきています。しかし、タンパク質翻訳に影響する RNA G-quadruplex 構造は、その存在を見つけ出すことすら困難であり、RNA G-quadruplex 構造が担うタンパク質発現制御機構はほとんど明らかになっていません。筆者は、この謎に満ちた生命現象の研究に新しい切り口を与えるため、小分子化合物ツールを利用した研究アプローチを考案しました。

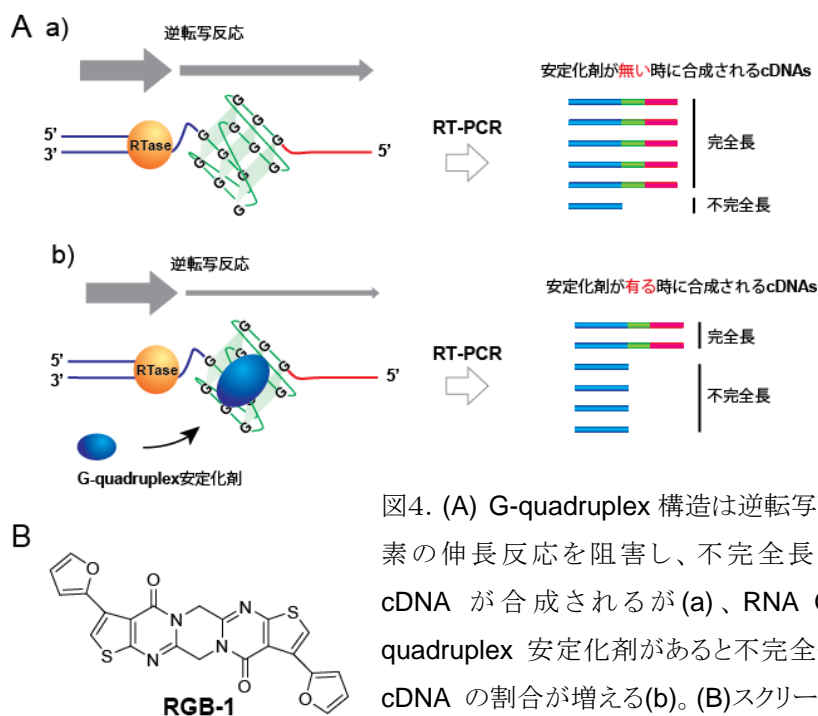


図4. (A) G-quadruplex 構造は逆転写酵素の伸長反応を阻害し、不完全長の cDNA が合成されるが (a)、RNA G-quadruplex 安定化剤があると不完全長 cDNA の割合が増える(b)。(B)スクリーニングにより得られた RGB-1 の化学構造。

RNA G-quadruplex構造はカリウムイオン存在下で極めて安定な構造を取ることが知られています。mRNA上にRNA G-quadruplex構造が存在すると、リボソームによるタンパク質合成反応に影響し、タンパク質翻訳量が抑制されます^[9-10]。その構造安定性は、*in vitro*の実験系でも示されており、例えば、RNA G-quadruplex構造を持つRNAを鋳型にして逆転写酵素反応を行うと、カリウム存在下で不完全長のcDNAが合成されます^[11]。筆者らは、この逆転写酵素の伸長反応を抑制するRNA G-quadruplex構造の性質に着目し、RNA G-quadruplex構造に選択的に結合し、その構造を安定化することで逆転写反応を阻害するような化合物のスクリーニングを行いました。具体的には、化合物処理による不完全長のcDNA量の増加をqPCRで定量化することで、RNA G-quadruplex構造を安定化する化合物のハイスループットスクリーニング系を構築しました(図4)。そして、約8000個の化合物スクリーニングにより、RNA G-quadruplex構造を安定化する化合物RGB-1を見出しました。In vitro試験において、このRGB-1は期待通り、5'非翻訳領域(5'UTR)にRNA G-quadruplex構造を持つmRNAからのタンパク質翻訳を選択的に抑制しました(図5)。そして、RGB-1は構造・性質が類似するDNA G-quadruplex構造には親和性を示さない、RNA G-quadruplex構造選択的な安定化剤であることが分かりました。このボーナス的に得られたRGB-1の高い標的選択性は、筆者らの想像力を掻き立てるものでした。すなわち、この化合物をツールとして利用すれば、「生細胞内でタンパク質翻訳に影響しているRNA G-quadruplexを網羅的に探索できるのではないか？」という新たな研究目標ができたのです。そこで、次にヒト胎児腎細胞293 (HEK293細胞)内におけるRGB-1のタンパク質翻訳抑制活性を、5'UTRにRNA G-quadruplex構造を配置したレポーター遺伝子を利用して評価しました。結果、RGB-1は動物細胞内においても、RNA G-quadruplex構造選択的なタンパク質翻訳抑制活性を持つことが分かりました。次に筆者らは、RGB-1による内在性mRNAからのタンパク質翻訳抑制を評価しました。対象とした遺伝子はガン遺伝子NRAS。NRAS遺伝子は、mRNAの5'UTRにタンパク質翻訳に影響するRNA G-quadruplex構造を持つことが知られている数少ない遺伝子の一つでした。NRAS遺伝子の発現量が高いヒト乳がん細胞(MCF-7細胞)をRGB-1で処理し、そのタンパク質翻訳量をウエスタンブロットにより評価したところ、RGB-1がmRNA発現量に影響することなくタンパク質翻訳量を抑制することが分かりました(図6)。このRGB-1のタンパク質翻訳抑制活性がNRASの5'UTRによる効果であることは、NRASの5'UTRを配置したレポーター遺伝子を作製し、*in vitro*タンパク質翻訳システムを利用して検証しました。このようにして、筆者らは生細胞内に存在するRNA G-quadruplex構造を安定化し、その機能に影響を与える化合物ツールRGB-1を手に入れたのです^[12]。

どの遺伝子の、どの位置に、RNA G-quadruplex構造を形成しているのか？を探索することについては、既にいくつかの研究が報告されています^[13-14]。しかし、タンパク質翻訳抑制などの生理活性が明らかとなっているRNA G-quadruplex構造を発見した例はあまりありません。この研究では、5'UTRにRNA G-quadruplex構造を持つmRNAからのタンパク質翻訳を抑制する化合物ツールRGB-1の開発に成功しました。筆者らは現在、自らが開発した化合物ツールを利用して、細胞自身が生産する内在性mRNAの中に存在するRNA G-quadruplex構造の機能を生細胞内で操ることで、RNA G-quadruplex構造がタンパク質翻訳に影響を与えている遺伝子群の網羅的かつ実験的な探索を目指しています。謎に満ちたRNA G-quadruplex構造が担うタンパク質発現制御機構の一端を明らかにできるのではないかと期待しています。

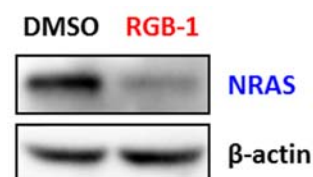


図6. RGB-1 処理による MCF7 細胞内 NRAS 発現抑制

4. おわりに

本稿では、生細胞内でRNAツールを機能させたり、化合物ツールでRNAの機能を制御したりと、「生細胞内でRNAを操る」という視点で筆者が行ってきた研究を紹介させて頂きました。どちらの研究も、自分のオリジナルの研究ツールや方法を考案し、それを利用して新たな研究の切り口を見い出すことを目的とした研究テーマです。筆者には、細胞中の生体分子の夾雑的な環境をすべて考慮に入れて、ベストな研究ツールを設計することはできません。しかし、諸先輩方が悪戦苦闘しながら生み出されてきた方法や知見を参考にして、現在の科学技術を半歩でも前に進めることが出来るような研究ツールの開発がしたいと考えています。

謝辞

ここで紹介した研究成果は、2008年に筆者が京都大学の上杉研究室に異動してからの研究成果です。恵まれた環境で自由に研究をさせて頂いた上杉志成先生と多くのアドバイスを頂いた上杉研究室メンバーにこの場をお借りして感謝申し上げます。また、RNA G-quadruplex安定化剤RGB-1の研究を熱心に進めてくれた勝田陽介博士(現熊本大学助教)に心から感謝いたします。共同研究を通じて、貴重なアドバイスと多大な研究成果で貢献して頂いた弘前大学の萩原正規先生と萩原研究室の学生諸子にも心から感謝いたします。また、筆者が博士研究員時代に厳しくも暖かいご指導により、現在の研究スタイルの土台を作って頂いた、京都大学の森井孝先生にこの場をお借りして心から御礼申し上げます。最後に、本稿の執筆機会を与えてくださった、信州大学農学部の大神田淳子先生に、深く御礼申し上げます。

5. 参考文献

1. A. Murata, S. Sato, Y. Kawazoe, M. Uesugi, Small-molecule fluorescent probes for specific RNA targets., *Chem. Commun.* 2011, 47, 4712-4714.
2. S. Tyagi, F. R. Kramer, Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization., *Nat. Biotech.* 1996, 14, 303-308.
3. D. P. Bratu, B. J. Cha, M. M. Mhlanga, F. R. Kramer, S. Tyagi, Visualizing the distribution and transport of mRNAs in living cells., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003, 100, 13308-13313.
4. D. L. Sokol, X. Zhang, P. Lu, A. M. Gewirtz, Real time detection of DNA · RNA hybridization in living cells., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95, 11538-11543
5. S. Tyagi, O. Alsmadi, Imaging native beta-actin mRNA in motile fibroblasts., *Biophys. J.* 2004, 87, 4153-4162.
6. F. Hovelmann, I. Gaspar, S. Loibl, E. A. Ermilov, B. Roder, J. Wengel, A. Ephrussi, O. Seitz, Brightness through local constraint-LNA-enhanced FIT hybridization probes for in vivo ribonucleotide particle tracking., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 11370-11375.
7. T. Ozawa, Y. Natori, M. Sato, Y. Umezawa, Imaging dynamics of endogenous mitochondrial RNA in single living cells., *Nat. Methods* 2007, 4, 413-419.
8. S. Sato, M. Watanabe, Y. Katsuda, A. Murata, D. O. Wang, M. Uesugi, Live-Cell Imaging of Endogenous mRNAs with a Small Molecule., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 1855-1858.
9. A. Bugaut, S. Balasubramanian, 5'-UTR RNA G-quadruplexes: translation regulation and targeting., *Nucleic Acids Res.* 2012, 40, 4727-4741.
10. S. Kumari, A. Bugaut, J. L. Huppert, S. Balasubramanian, An RNA G-quadruplex in the 5' UTR of the

NRAS proto-oncogene modulates translation., *Nat. Chem. Biol.* 2007, 3, 218-221.

11. M. Hagihara, K. Yoneda, H. Yabuuchi, Y. Okuno, K. Nakatani, A Reverse Transcriptase Stop Assay Revealed Diverse Quadruplex Formations in UTRs in mRNA., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 2350-2353.
12. Y. Katsuda, S. Sato, L. Asano, Y. Morimura, T. Furuta, M. Hagihara, M. Uesugi, A Small Molecule That Represses Translation of G-Quadruplex-Containing mRNA., *J. Am. Chem. Soc.* 2016, 138, 9037-9040.
13. V. S. Chambers, G. Marsico, J. M. Boutell, M. Di Antonio, G. P. Smith, S. Balasubramanian, High-throughput sequencing of DNA G-quadruplex structures in the human genome., *Nat. Biotechnol.* 2015, 33, 877-881.
14. C. K. Kwok, S. Balasubramanian, Targeted Detection of G-Quadruplexes in Cellular RNAs., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 6751-6754.



気になった論文

馬 悦 (ま ゆえ)

東京農工大学大学院工学府 生命工学専攻 博士後期課程 2年

yue-ma@m2.tuat.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」への執筆機会を頂き、誠にありがとうございます。私は現在、東京農工大学大学院工学研究科・長澤和夫教授のご指導のもと、核酸の高次構造の一つである“グアニン四重鎖”構造を安定化する低分子化合物の創製研究に携わっております。グアニン四重鎖は、DNA の複製や、遺伝子の転写調節、がん細胞のアポトーシス誘導など、様々な生命現象において重要な役割を担うと考えられており、当該構造を検出する分子ツールの開発が盛んに行われています。

本稿では、グアニン四重鎖構造(以下、G4)の蛍光検出を目的とし、低分子化合物に着目した分子ツールの開発について、最近報告された論文の中から3報紹介させていただきます。

Copper-Alkyne Complexation Responsible for the Nucleolar Localization of Quadruplex Nucleic Acid Drugs Labeled by Click Reactions

Lefebvre, J.; Guetta, C.; Poyer, F.; Mahuteau-Betzer, F.; Teulade-Fichou, M.-P. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 11365-11369.

クリックケミストリーの代表的な反応である、銅触媒を用いたアジドとアルキンとの Huisgen 1,3-双極子付加環化反応 (CuAAC) は、その高い官能基選択性と温和な反応条件から、標的分子の標識手法として汎用されている。一方、高濃度の銅触媒による毒性の高さから、CuAAC の改良法として、電子不足な歪アルキンを用いた SPAAC (Strain-promoted azide-alkyne cycloaddition) が知られている。著者らは、CuAAC 及び SPAAC により、代表的な G4 標的化合物 (G4 リガンド) の一つである、PhenDC₃ (Figure 1) を細胞内で蛍光修飾し、G4 の細胞内可視化を行った。

筆者らはまず、固定細胞において、CuAAC 及び SPAAC を検討した。PhenDC₃ のアルキン体 (PhenDC₃-alk) と蛍光色素である Cy5 のアジド体 (Cy5-az) を用いて、細胞内で CuAAC を行ったところ、Cy5 由来の蛍光が、核小体にて観察された (Figure 2A)。一方で、PhenDC₃ のアジド体 (PhenDC₃-az) と Cy5 の歪アルキン体 (Cy5-DBCO) を用いて、銅触媒非存在下、SPAAC を行ったところ、Cy5 由来の蛍光は核質にて観察された (Figure 2B)。著者らは、CuAAC の際に用いた銅触媒が蛍光観察される部位に影響を与えていると考え、銅触媒及び Cy5-DBCO を用い、PhenDC₃-az の存在下、及び非存在下にて Huisgen 環化反応を行った。その結果、いずれにおいても核小体にて蛍光が観察された (Figure 2C, D)。また、生細胞において、SPAAC を検討したところ、固定細胞と同様に、核質にて蛍光が観察された。

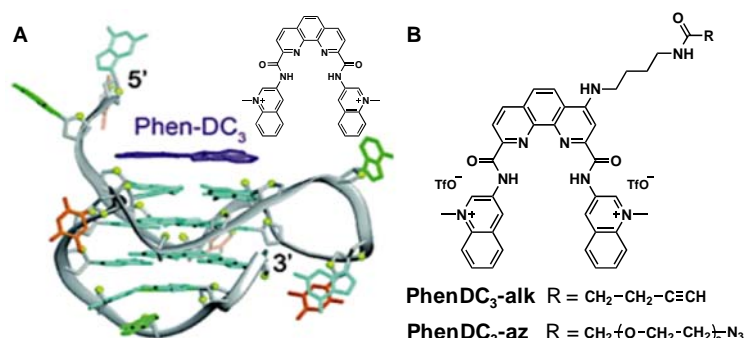


Figure 1. A) PhenDC₃とG4構造との複合体、B) 本論文で用いた PhenDC₃誘導体の構造 (論文より抜粋、一部改変)

これまで、Huisgen 環化反応を用いた G4 可視化(数例)に関して、G4 リガンドは細胞内において、G4 形成可能配列を多く含む核小体へ集積すると考えられていた。しかしながら、本論文では、CuAAC を用いた G4 可視化において、銅触媒と基質(アルキン体)との複合体により、可視化される部位が変化することを明らかにした。一方で、SPAAC による G4 の可視化は、銅触媒を用いないことから、生体内における正確な G4 の局在について知見を与えることが示唆された。これまで、CuAAC において広く用いられてきた銅触媒が、細胞毒性だけでなく、細胞内で蛍光観察される部位に関しても影響を与えることがわかり、G4 可視化を目的とした G4 リガンドの設計に関して、更なる開発の必要性を再認識した。

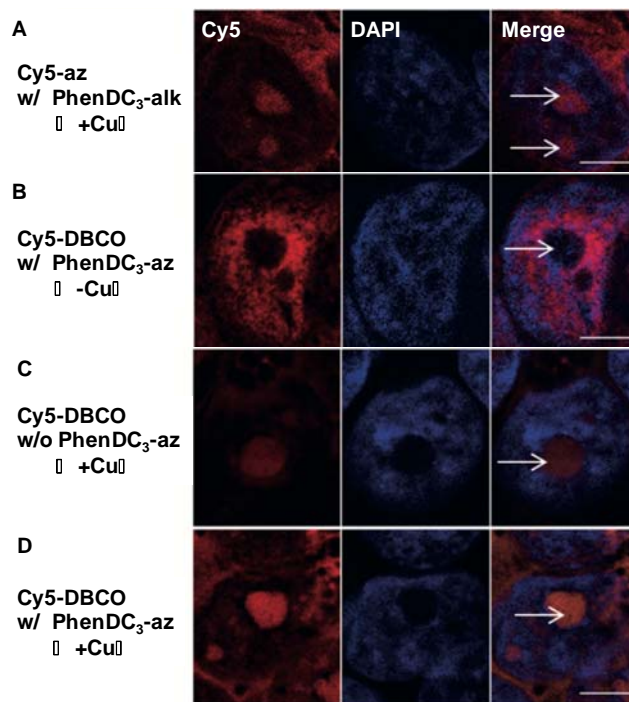


Figure 2. A) Cy5-az/PhenDC3-alk (CuAAC)、B) Cy5-DBCO/PhenDC3-az (SPAAC)、C) Cy5-DBCO/Cu、D) Cy5-DBCO/PhenDC3-az (CuAAC) (論文より抜粋、一部改変)

An Aggregating Amphiphilic Squaraine: A Light-up Probe That Discriminates Parallel G-Quadruplexes

Grande, V.; Doria, F.; Freccero, M.; Würthner, F. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2017, 56, 7520-7524.

G4 は、ゲノムワイドに存在するが、それらの形状(トポロジー)によって、大きく 3 種類(パラレル型、ハイブリッド型、アンチパラレル型)に大別される。これらのトポロジーは、G4 由来の生命現象に関与すると考えられているが、個々のトポロジーを選択的に認識し、蛍光検出する低分子化合物の報告は、数例に留まっている。また、生体内を模倣した分子クラウディング条件下において、G4 構造は“パラレル型のトポロジー”を形成することが示唆されている。そのため、パラレル型 G4 を選択的に検出可能なリガンドは、G4 由来の生体機能を解明するためのケミカルツールになり得る。本論文では、パラレル型のトポロジーを認識した時のみ蛍光を発する、Light-up 型の G4 リガンドを報告した。

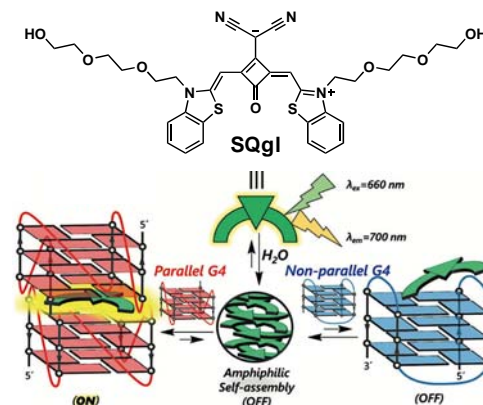


Figure 3. SQglの構造とパラレル型G4を選択的に検出するメカニズム (論文より抜粋、一部改変)

著者らは、1)強力な自己集合、2)標的分子に対する高い選択性、3)長波長側に最大蛍光波長を持つ、この3点に着目し、G4 リガンドとして squaraine 型の低分子化合物(SQgl)を設計した(Figure 3)。SQgl は、モノマーの状態では長波長領域に最大蛍光波長を示すが、水溶液中では自己集合により消光されている。SQgl の自己集合体に対して、種々の核酸配列を滴下したところ、パラレル型のトポロジーを形成する G4 を滴下した場合のみ、リガンドの自己集合が解消され、蛍光を発した。これまでに、G4 と結合した際に蛍光を発する Light-up 型の蛍光 G4 リガンドは、数種類報告されている。しかし、本論文の SQgl は、報告されてきたリガンドの中でも、高いトポロジー選択性と蛍光量子収率を有しているため、本リガンドによる細胞内 G4 の検出や、臨床診断への応用が期待される。

Visualization of NRAS RNA G-Quadruplex Structures in Cells with an Engineered Fluorogenic Hybridization Probe

Chen, S.-B.; Hu, M.-H.; Liu, G.-C.; Wang, J.; Ou, T.-M.; Gu, L.-Q.; Huang, Z.-S.; Tan, J.-H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*. 10382-10385.

RNA 配列で形成される G4 構造(RNA G4)は、細胞プロセスの制御に関して、重要な役割を担うと考えられている。しかしながら、G4 構造に関する研究は、そのほとんどが DNA 配列で形成される DNA G4 に着目しており、RNA G4 の研究は *in vitro* レベルに留まっていた。本論文では、FISH(fluorescent *in situ* hybridization)法を利用し、NRAS 遺伝子の mRNA 上で形成される G4(NRAS RNA G4)を細胞内で“配列選択的”に検出可能な、Light-up 型の蛍光リガンドを報告した。

著者らは、FISH 法と Light-up 型の蛍光 G4 リガンドを組み合わせた“GTFH 法(G-quadruplex-triggered fluorogenic hybridization)”を新たに提唱し、新規プローブを開発した(Figure 4)。このプローブは、2つのパート、1) G4 を認識する蛍光リガンド、2) 標的配列とハイブリダイゼーションする相補配列、から構成される。このように開発された ISCH-nras1 プローブは、標的とする NRAS RNA 上で、G4 形成部位(GRS)をリガンドが認識し、GRS に隣接する配列(TS)とハイブリダイゼーションする。すなわち、本プローブは、NRAS RNA 上で形成される G4 構造を選択的に蛍光検出することが可能である。

コントロールとして種々の RNA 配列やプローブを用いた分光学的実験を行い、ISCH-nras1 が NRAS RNA G4 特異的に蛍光を発するプローブであることを確認した。その後、著者らは、細胞内で NRAS RNA G4 の可視化を検討した。トランスフェクションにより、短鎖オリゴヌクレオチドの NRAS RNA を細胞内に導入し、ISCH-nras1 を添加したところ、当該 RNA を検出することができた(Figure 5A)。また、full-length の NRAS RNA (254 mer)を用いて検討したところ、短鎖の際と同様、NRAS RNA を選択的に可視化することに成功した(Figure 5B)。これまで、G4 の分野において、細胞内での full-length の RNA 検出には成功していなかった。そのため、著者らが報告した配列選択的な GTFH 法により設計されたプローブは、個々の G4 配列が細胞内で示す挙動を理解するための、画期的な手法になり得る。

今回紹介させて頂いた3報の論文は、いずれも低分子化合物に着目した G4 構造の蛍光検出に成功しています。G4 分野の 50 年という歴史の中で、G4 リガンドは、当該分野の発展に大きく貢献してきたと考えられます。今後も、核酸分野における低分子化合物の益々の貢献が期待されます。末筆ではございますが、本原稿の執筆機会を与えて下さいました、信州大学・大神田淳子先生に厚く御礼申し上げます。

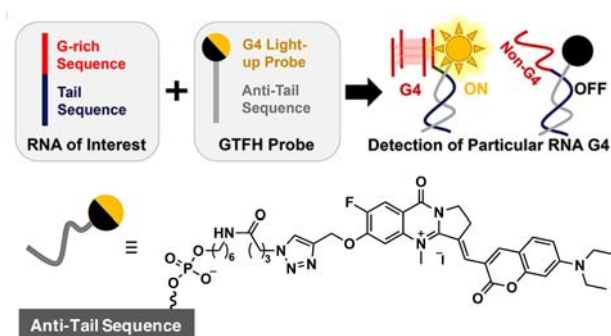


Figure 4. GTFH法のメカニズム(上段)及び ISCH-nras1 の構造(下段) (論文より抜粋、一部改変)

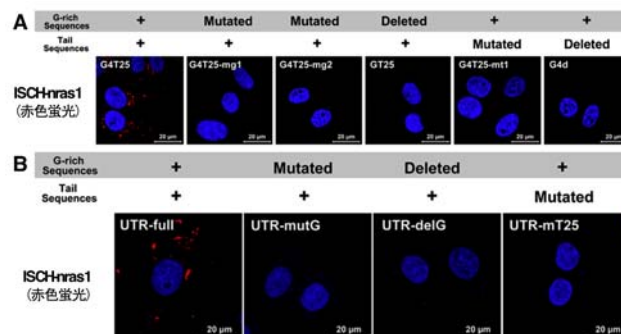


Figure 5. 細胞内のNRAS RNA G4の可視化 A) 短鎖、B) full-length (254 mer) (論文より抜粋、一部改変)

気になった論文

中嶋 龍 (なかじま りょう)

広島大学大学院医歯薬保健学研究科 助教

nakajima@hiroshima-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」への執筆機会をいただきまして、編集委員の先生方に深く御礼申し上げます。私は、2016年3月に筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構(WPI-IIIIS)で、長瀬博教授の指導の下、学位を取得し、同年4月から2017年9月までUniversity of Illinois at Chicago(UIC)のAlan P. Kozikowski研でポスドク研究員として留学し、2017年10月より広島大学大学院医歯薬保健学研究科創薬合成化学研究室(熊本卓哉研)で助教として勤務しております。専門分野は創薬化学であり、主にドラッグデザインした有機化合物の合成を行い、得られた薬理活性データを基にさらに活性が高く、薬物動態毒性(ADMET)の良い誘導体へ変換し、よりドラッグライクな化合物を創出することに重点を置いています。本稿では、最近の低分子医薬品開発におけるFBDD(Fragment-Based Drug Design)を用いた Scaffold hopping戦略やリード最適化の手法をご紹介します。

Discovery of a B-Cell Lymphoma 6 Protein-Protein Interaction Inhibitor by a Biophysics-Driven Fragment- Based Approach

Kamada, Y.; Sakai, N.; Sogabe, S.; Ida, K.; Oki, H.; Sakamoto, K.; Lane, W.; Snell, G.; Iida, M.; Imaeda, Y.; Sakamoto, J.; Matsui, J. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 4358-4368.

B-cell lymphoma 6(BCL6)は、BTB/POZファミリーに属し、胚中心B細胞形成とT細胞の細胞分化を促進することで知られている。また、BCL6はびまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (Diffuse Large B-cell Lymphoma)の細胞分化、増殖にも関与し

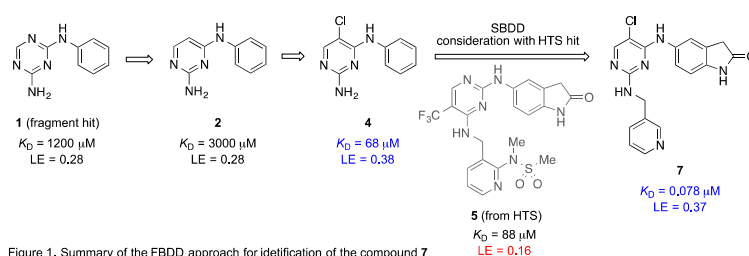


Figure 1. Summary of the FBDD approach for identification of the compound 7

ていると考えられており、自己免疫疾患やがんの治療ターゲットとして期待されている。一方で、これまで報告された低分子のBCL6 inhibitorは活性が低く、 K_i は最高でも μM オーダーであった。近年、筆者らは高活性なペプチド化合物F1324を報告し、その結合様式をX線結晶構造解析により明らかにし、それらの情報を基に低分子で高活性なBCL6 inhibitorの開発に着手した。しかし、BCL6のような蛋白-蛋白相互作用をするものは、深い結合ポケットを有しておらず、創薬ターゲットとして難しい事が知られており、まず親和性の低い低分子のヒット化合物を同定することに重点が置かれた。FBDD(Fragment-Based Drug Design)は、生理学的特性の良い化合物や新奇骨格、リガンド結合部位の同定のため、創薬研究で幅広く用いられている手法である。FBDDでは、はじめに高濃度スクリーニングにより低親和性のフラグメント分子を同定し、そのフラグメント分子を修飾することでより活性の高い化合物へと変換していく。FBDDを行うにあたって、生化学的手法よりもより高感度であるという観点から、SPR(Surface Plasmon Resonance)やNMR(Nuclear Magnetic Resonance)のような生物物理学的評価法がスクリーニングに用いられることがあり、その中でもSPRは低コストで多くの情報(親和性、非特異的結合の有無)が得られるため、FBDDの分析手段として頻繁

に使用される。この論文では、SPRに基づいたフラグメントスクリーニングを実施し、BCL6に結合するトリアジンフラグメント**1**を同定し、さらに**1**はX線結晶構造解析を用いたSBDD(Structure Based Drug Design)により最適化され、より活性の高い**7**への変換に成功した(Figure 1)。FBDDにおいて、スクリーニング系の精度は非常に重要であり、筆者らはBCL6に結合するフラグメント**1**を同定するために、はじめにSPRを用いるスクリーニング系の精度を評価し、最適条件を検討した。分析機器として、Biacore 4000 high-throughput装置を使用し、化合物を流す4つのフローセルに各々5つの異なる検知領域を付与し、選択性、非特異的結合の有無の同時評価を可能にした

(Figure 2)。5つの検知領域として、Neutravidinに捕捉された野生型BCL6とその変異型BCL6、Neutravidin自身、ブランク、そして直接共有結合により定着させた野生型BCL6を用いた。ポジ

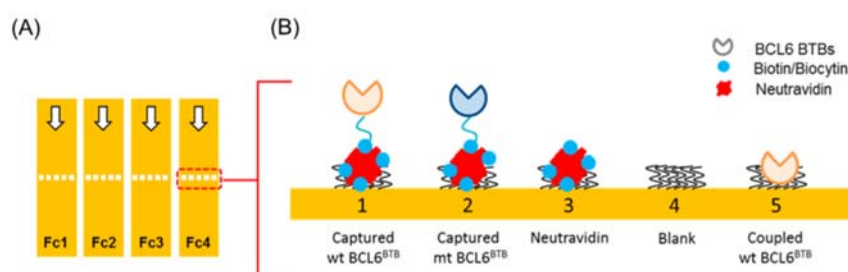


Figure 2. Layout of the sensor chip. (A) Four independent flow cells, each with five detection spots. (B) Protein immobilized in each flow cell.

ティブコントロールとしてBCoRペプチドを使用し、検知領域それぞれの精度の評価を行った結果、変異型BCL6がフラグメントスクリーニングにおいて、最適な検知領域であることが示唆された。

上記のSPR-basedフラグメントスクリーニングにより、フラグメント**1**が同定され、そのLE(Ligand Efficiency)が求められた(LE = 0.28)。LEが0.29以上であることが、経口投与可能な医薬品として開発可能な目安であるため、**1**は高活性なBCL6 inhibitorを開発するのに良い出発物質であると考えられた。そこでフラグメント**1**の構造活性相関が検討された結果、塩素原子を有するピリミジン誘導体**4**が活性の高いフラグメントであることが示唆された($K_D = 68 \mu\text{M}$, LE = 0.38)。一方で、SPR-basedフラグメントスクリーニングとは独立して、ELISAを用いたハイスループットスクリーニング(HTS)により化合物**5**が見出されていたがLEが0.16と低かった。筆者らはフラグメント**4**と化合物**5**の類似構造に着目し、これらのハイブリット化合物を合成することで、より高活性でLEの高い化合物の創出を試みた。以上の分子設計により、合成されたハイブリット化合物**7**は非常に活性が高く($K_D = 0.078 \mu\text{M}$)、またLEが0.37と優れており、経口投与可能なBCL6 inhibitorとして有望であることが示唆された。これらのことからSPRを用いたスクリーニングによるFBDDは、BCL6のような蛋白-蛋白相互作用する難しい創薬ターゲットのヒット、リード化合物の決定に有用であると考えられる。

Investigating the Antibacterial Activity of Biphenylthiazoles against Methicillin- and Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA and VRSA)

Hagras, M.; Mohammad, H.; Mandour, M. S.; Hegazy, Y. A.; Ghiaty, A.; Saleem, M. N.; Mayhoub, A. S. J. *Med. Chem.* **2017**, *60*, 4074-4085.

年間70万人以上が薬剤耐性感染症により死亡し、国際連合はこれを”fundamental threat”であると宣言した。過去数十年、いくつかの病原性細菌は、多くの治療薬に対する耐性機構を獲得してきたことは明らかであり、中でも*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌)は世界規模で問題とされている。*S. aureus*は、 β ラクタム系、マクロライド系、その他様々な抗生物質に対して耐性を示し、アメリカでの薬剤耐性感染症死者の約半数は、methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)が原因である。従って多剤耐性*S. aureus*に有効な新しい治療薬の開発は急務である。筆者らの研究

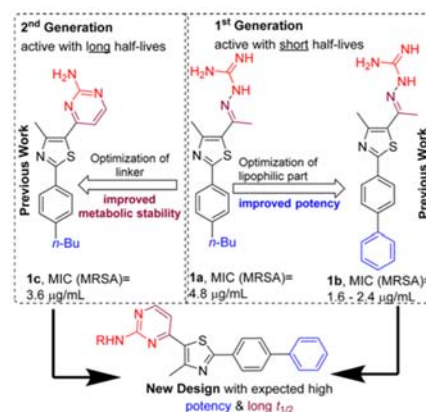
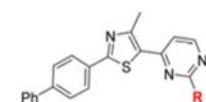


Figure 1. Development progress of phenylthiazole antibiotics.

グループは、新奇骨格を有する抗生物質の開発に重点を置き、第一世代Phenylthiazole誘導体**1a**を以前報告した(Figure 1)。Phenylthiazole誘導体は、二つのペプチドグリカン合成酵素を阻害することで、細菌の細胞壁合成を妨害し、抗菌活性を示す。第一世代は臨床でMRSAに対して頻繁に使用されるバンコマイシンよりも活性が低かったが、活性発現速度がバンコマイシンよりも速いという点で優れていた。バンコマイシンは抗菌活性が出始めるまで遅く、臨床において感染部位の拡大を止めることに失敗することが度々観測されていたため、Phenylthiazole類はより迅速に効き目があらわれる抗生物質になり得ると期待された。しかし、第一世代は肝代謝が速く、半減期が短いという欠点があった。それを改善するために代謝安定性を下げていると考えられるSchiff結合(C=N)をピリミジン環に内包することで克服できると考え、第二世代Phenylthiazole誘導体**1c**が設計、合成され、肝代謝安定性の向上が達成された。また、第一世代の構造活性相関によりビフェニル基を導入すると、活性が向上することが判明しており、それら(**1b**と**1c**)のハイブリット化合物を合成することで、活性の向上、肝代謝安定性の獲得が実現できると考えた(Figure 1)。そこで筆者らは、ビフェニル基は固定し、抗MRSA活性に重要と考えられているピリミジン部位の置換基の構造活性相関研究を行った(Table 1)。

はじめに、置換基を除去したが抗MRSA活性が消失したため(Entry 4)、次に種々の窒素を有する置換基の検討を行った。Entry 4-8, 14-22を比較すると、エチル基(Entry 14)までは抗MRSA活性を有するが、それ以上脂溶性を上げると抗MRSA活性が低下したため、極性を上げるため piperazinyl **10**, morpholinyl **26**, hydroxyazetidiny **27**を合成した(Entry 9, 23, 24)。その結果、化合物の極性の向上は抗MRSA活性の向上につながることを示唆された。そこで、極性官能基を有する種々の誘導体を合成した結果、Piperazinyl誘導体**36**は(Entry 33)、最も高い抗MRSA活性を示した(MIC = 0.39 µg/mL)。36が得られたので、バンコマイシン耐性株に対しても有効かどうか調査した。その結果、種々のバンコマイシン耐性株に対して、バンコマイシンよりも100倍高い活性を示した。また、36は二時間以内に活性を発現し、活性発現に二十四時間を有するバンコマイシンと比較し、かなり有利であることが示唆された。また、肝代謝安定性に関しても、36は第一世代**1a**(半減期:29分)と比較し、半減期が151分と非常に長かった。以上のことから、36は抗MRSA治療薬として期待されたが、ビフェニル基の脂溶性が高いため、水への溶解性と膜透過性が悪く、経口投与薬としての開発が断念された(Table 2)。今後は、36の水溶性、膜透過性の向上が課題である。

Table 1. Minimum inhibitory concentration (MIC in µg/mL) of newly synthesized biphenylthiazoles vs. MRSA (2658 RCMB)^a



Entry	R	Cpd	MIC (µg/mL)	Entry	R	Cpd	MIC (µg/mL)
1	NA	1a	4.7	20	-NMe ₂	23	>25
2	NA	1b	2.4	21	-NEt ₂	24	>25
3	H	4	>25	22	-N	25	>25
4	-NH ₂	5	6.25	23	-N	26	3.12
5	-NHCH ₃	6	12.5	24	-N	27	3.12
6	-NHCN	7	>25	25	-NH-NH ₂	28	1.56
7		8	>25	26	-NH-N	29	3.12
8		9	>25	27	-NH-N	30	0.78
9		10	6.25	28	-NH-NH	31	1.56
10		11	>25	29	-NH-NH	32	1.56
11		12	>25	30	-NH-N	33	12.5
12		13	>25	31	-NH-N	34	>25
13		14	>25	32	-NH-N	35	0.78
14	-NEt	17	6.25	33	-NH-N	36	0.39
15	-NHPr	18	>25	34	-NH-N	37	>25
16	-NHBu	19	>25	35	-NH-N	38	>25
17		20	>25	36	-NH-N	39	>25
18		21	>25	37	-NH-N	40	>25
19		22	>25	38	-NH-N	41	>25
				39	NA	Van.	1.56

Table 2. Evaluation of Solubility of Tested Compounds, Reserpine, Tamoxifen, and Verapamil in Phosphate Buffered Saline (PBS)

compd tested	solubility limit (µM)
1a	62.5
1b	2.7
31	2.2
36	2.3
reserpine	31.3
tamoxifen	15.6
verapamil	>500

^aSolubility limit corresponds to the highest concentration of test compound where no precipitate was detected (OD₅₄₀).

気になった論文

吉村 柁彦 (よしむら まさひこ)

名古屋大学大学院理学研究科物質理学専攻(化学系) 博士課程 3年

yoshimura.masahiko@c.mbox.nagoya-u.ac.jp

このたび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、ありがとうございます。私は現在、名古屋大学大学院において伊丹健一郎教授および萩原伸也准教授、土屋雄一朗特任准教授のご指導のもと、植物のケミカルバイオロジー研究に取り組んでいます。植物は植物ホルモンとよばれる物質をみずから生合成し、発芽や伸長生長、開花などの様々な生命現象を制御しています。私は「オーキシシン」と「ストリゴラクトン」とよばれる 2 つの植物ホルモンに着目し、その作用機序解明に向けた研究を行っています。これまでに様々な植物ホルモンが発見されており、その機能と作用機序の解明に向けた研究が展開されています。本稿では、気孔の開閉制御を司る植物ホルモン「アブシシン酸」にスポットライトを当て、最新のケミカルバイオロジー研究を紹介したいと思います。

はじめに

植物は気孔とよばれる小さな孔をもっており、環境変化に応じてこの孔を開閉することで、光合成に必要な二酸化炭素の取り込みや蒸散など植物と大気間でのガス交換を調節しています。アブシシン酸(ABA)は気孔を閉じるはたらきをもつ植物ホルモンであり、植物は周囲の環境が乾燥しているのを察知すると ABA を生合成して気孔を閉じることで乾燥から身を守っています。2009 年、Cutler らは化学遺伝学的手法を用いることで、PYR1/PYLs というタンパク質がアブシシン酸の受容体タンパク質であることを明らかにしました(図1)¹。今回の「気になった論文」ではアブシシン酸受容体の機能制御を目指した研究について取り上げます。



図 1. アブシシン酸受容による気孔閉口。

Agrochemical Control of Plant Water Use Using Engineered Abscisic Acid Receptors

Park, S.-Y.; Peterson, F. C.; Mosquana, A.; Yao, J.; Volkman, B. F.; Cutler, S. R. *Nature* **2015**, 520, 545.

Cutler らは PYR1 の ABA 結合部位の立体構造を大きく改変することで、アブシシン酸とは構造的に全く異なる分子を受容する改変型 PYR1 を作成することに成功しました。彼らは除草効果のない農薬分子 15 種とアブシシン酸結合部位にアミノ酸変異を導入した PYR1 変異体 475 種との網羅的な結合評価を行い、最終的に mandipropamid という農薬に対して高い結合親和性をもつ改変型受容体 PYR1^{MANDI}を見出しました(図 2)。

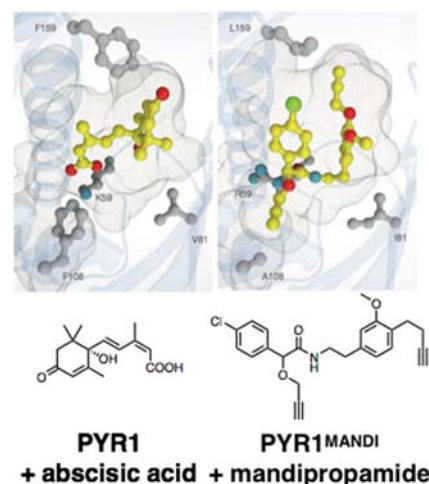


図 2. アブシシン酸と野生型受容体 PYR1、mandipropamid と改変型受容体 PYR1 MANDI の結晶構造解析(論文の図を改変)。

アブシシン酸結合部位の構造を大きく改変したことにより、PYR1^{MANDI} と ABA の結合親和性は大きく低下しています。そのため、PYR1^{MANDI} を植物に発現させても内生の ABA に応答することはありません。実際に、PYR1^{MANDI} をモデル植物であるシロイヌナズナに発現させた PYR1^{MANDI} 過剰発現株は野生株と同様の表現型を示し、mandipropamide で処理したときに気孔の閉鎖が見られました。さらに図 3c のように、mandipropamid で処理した PYR1^{MANDI} 過剰発現株は乾燥に対して強くなっていることがわかります。また、アブシシン酸受容体による気孔閉鎖のシステムは様々な植物種に広く保存されているため、シロイヌナズナに限らずトマトなどの実用植物に応用することも可能です(図 3)。

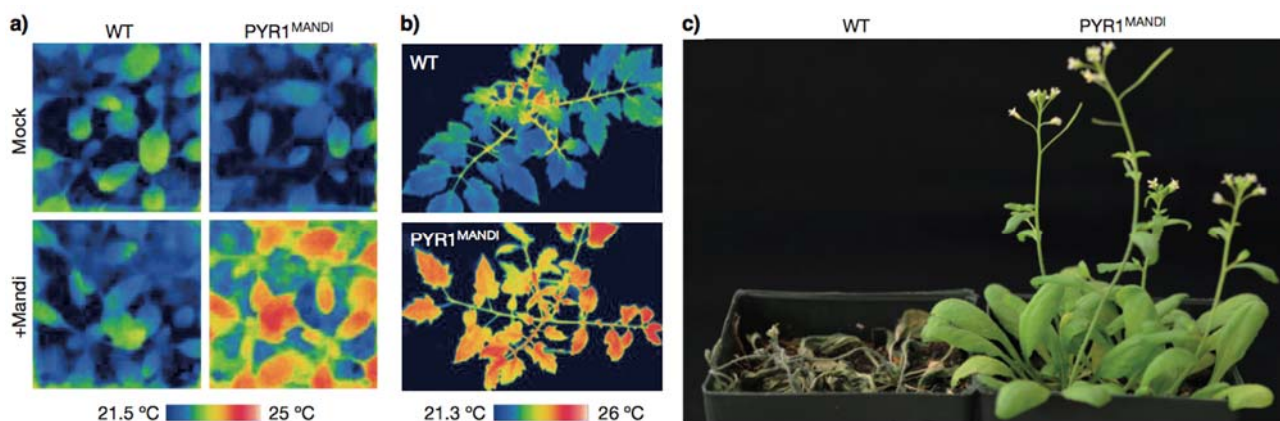


図 3. PYR1^{MANDI} を過剰発現した a)シロイヌナズナと b)トマトの mandipropamid 処理下における葉温の観察。c)シロイヌナズナ野生株と PYR1^{MANDI} 過剰発現株の mandipropamid 処理下での乾燥耐性評価(論文の図を引用)。

この手法は様々な結合分子と受容体の組み合わせに適用可能であり、今後、様々な植物ホルモン受容体に応用されることで、気孔の開閉運動だけでなく、発芽や伸長成長、果実形成などを自在にコントロールできるようになるかもしれません。

A Rationally Designed Agonist Defines Subfamily IIIA Abscisic Acid Receptors as Critical Targets for Manipulating Transpiration

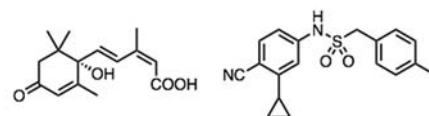
Vaidya, A. S.; Peterson, F.C.; Yarmolinsky, D.; Merilo, E.; Vestraeten, I.; Park, S.-Y.; Elzinga, D.; Kaundal, A.; Helander, J.; Lozano-Juste, J.; Otani, M.; Wu, K.; Jensen, D. R.; Kollist, H.; Volkman, B. F.; Cutler, S. R. *ACS. Chem. Biol.* **2017**, *12*, 2842.

気孔の開閉を制御する分子を開発する上で、アブシシン酸受容体である PYR1/PYLs は有力な分子標的的です。アブシシン酸受容体には PYR1 に加え PYL1 から PYL13 までの 14 個のホモログタンパク質が存在し、そのすべてが気孔の閉鎖を含む ABA 応答を制御している重要な受容体タンパク質だと考えられてきました。今回、Cutler らは化学遺伝学的アプローチにより、14 個のファミリータンパク質の中でも特にサブファミリー IIIA に属する PYR1 と PYL1 が ABA 応答において中心的な働きを担っていることを明らかにしました。彼らは計算化学と合成化学を駆使することで、PYR1 と PYL1 に対して高い選択性と結合親和性をもつ小分子 cyanabactin (CB) を設計しました(図 4)。開発した CB でシロイヌナズナを処理したところ、

ABA で処理したときと同程度で、複数の ABA 応答性遺伝子の発現と気孔の開鎖が見られました (図 5)。

一方、CB で *pyr1;pyl1* (PYR1 と PYL1 の機能欠損変異体) を処理したところ、ABA 応答性遺伝子の発現誘導と気孔の開鎖が見られませんでした。この結果は、CB 処理による ABA 応答性遺伝子の発現と気孔の開鎖は PYR1 と PYL1 の活性化に由来するものであることを示しており、彼らはサブファミリー IIIA に属する PYR1 と PYL1 が気孔の開鎖を含む ABA 応答を制御する上で重要な標的になると結論づけています。

乾燥地域で植物を生育させる際、植物への乾燥耐性付与は大きな課題となります。最もシンプ



	Clade	ABA	Cyanabactin (CB)
		IC ₅₀	
PYR1	IIIA	111 ± 3.8 μM	87 ± 3 μM
PYL1	IIIA	231 ± 13 μM	656 ± 109 μM
PYL2	IIIB	39 ± 2.3 μM	3266 ± 13 μM
PYL3	IIIB	16 ± 0.1 μM	6712 ± 1761 μM
PYL4	II	29 ± 9 μM	> 10000 μM
PYL5	II	18 ± 5 μM	150 ± 31 μM
PYL6	II	11 ± 2 μM	> 10000 μM
PYL8	I	101 ± 32 μM	> 10000 μM
PYL9	I	168 ± 31 μM	> 10000 μM
PYL10	I	116 ± 40 μM	> 10000 μM
PYL11	II	201 ± 30 μM	> 10000 μM

図 4. ABA と CB のサブタイプ選択性.

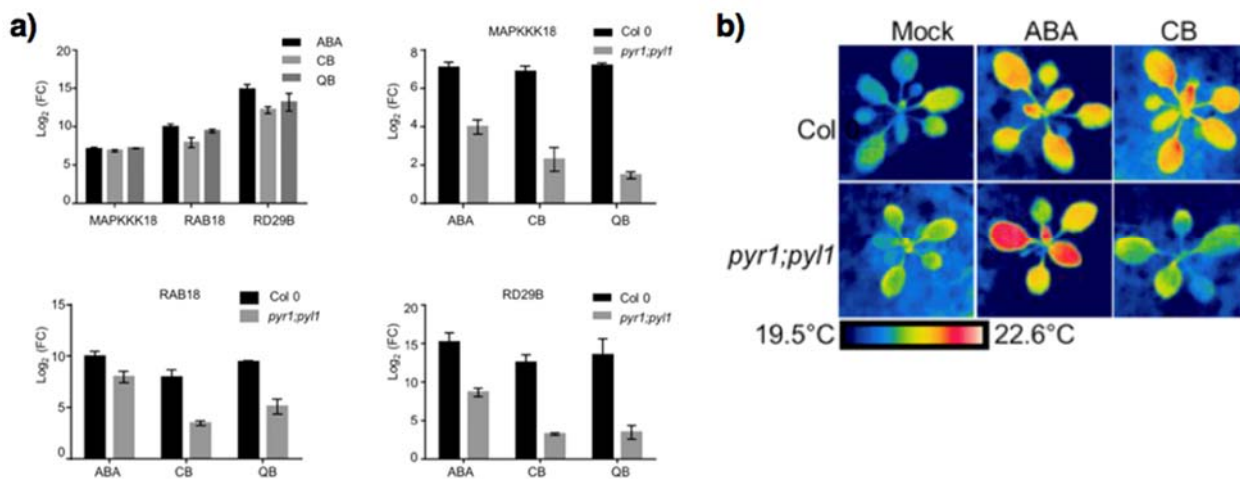


図 5. a) 化合物処理による ABA 応答遺伝子の発現量定量. b) 化合物処理による葉温の観察.(論文の図を引用).

ルな解決策は ABA そのものを農薬として利用することですが、ABA は光安定性、代謝安定性に乏しく、農地に散布するにはコストがかかり過ぎてしまうことから実用的ではないと考えられています。こうした背景から ABA に代わり気孔閉鎖を高効率で誘導できる合成小分子の開発が求められてきました。本研究を通して、気孔の閉鎖制御を含めた ABA 応答の中心的な役割を担う受容体タンパク質サブファミリーが明らかになり、またこの機能を活性化するための合理的な分子設計指針も示されました。今後、分子構造のさらなる最適化により実用農薬の開発が期待されます。

Reference

- [1] (a) Park, S.-Y.; Fung, P.; Nishimura, N.; Jensen, D. R.; Fujii, H.; Zhao, Y.; Lumba, S.; Santiago, J.; Rodrigues, A.; Chow, T.-F. F.; Alfred, S. E.; Bonetta, D.; Finkelstein, R.; Provar, N. J.; Desveaux, D.; Rodriguez, P. L.; McCourt, P.; Zhu, J.-K.; Schroeder, J. I.; Volkman, B. F.; Cutler, S. R. *Science* **2009**, *324*, 1068. (b) Ma, Y.; Szostkiewicz, I.; Korte, A.; Moes, D.; Yang, Y.; Christmann, A.; Grill, E. *Science* **2009**, *324*, 1064.

南イリノイ大学エドワーズビル校(SIUE)
よりDepartment of Chemistry
Southern Illinois University Edwardsville

住田 美奈子

msumita@siue.edu

筆者は、日本の私立高校を卒業した後、渡米し1995年にコロラド大学(University of Colorado at Boulder, Boulder, CO) を化学専攻で卒業。大学在学中に、血を見ると卒倒するのに医学部志望というむちゃくちゃな進路希望を、教授たちに指摘され、急遽、研究者を夢見て大学院進学に変更。1999年にDr. Douglas Dyckes (University of Colorado at Denver, Denver, CO) の元でunnatural amino acidsの有機合成を学び、修士号を取得。その後、2006年にDr. Christine Chow (Wayne State University, Detroit, MI)の研究室でRNA modificationでPh.D.を取り、2012年までDr. Charles Hoogstraten (Michigan State University, East Lansing, MI)の元でポストドクをしました。時期はリーマンショックの真ただ中！ 紆余曲折を経て、2015年から南イリノイ大学エドワーズビル校(Southern Illinois University Edwardsville, Edwardsville, IL)で、教育と研究を行っています。

外国人としてアメリカで生きていくこと

外国人がアメリカで職を得て、生きていくためにはビザの問題に直面します。学生時代は学生ビザ(F-1)が、日本人の場合は比較的簡単に取得でき、問題ないのですが、ポストドクになった途端に専門職ビザ(H-1B)にするのか、交換留学・研究ビザ(J-1)にするのか問題になってきます。J-1のほうが研究室にとっては、安く済み、簡単に取れるので勧められる場合も多いと思いますが、後のことを考えるとH-1Bのほうがいいように思います。J-1、H-1B共に永住権の申請はできるのですが、J-1の場合はアメリカ滞在後2年間のアメリカ国外生活が条件になってますので、それを回避するための書類が必要になります。筆者はH-1Bだったので、J-1についてはもっと詳しい方にお任せします。

H-1Bから永住権取得の方法は、主に3種類が考えられます。1つはアメリカ人、もしくはアメリカ永住者との結婚、1つは勤務先からのサポート、そしてNational Interest waiverを使って個人で永住権を取得する方法です。ポストドクの場合は、まず大学からのサポートは得られません。永住権がないと、企業での就職はとてども不利になります。将来大学に残るなら、その時に大学がサポートしてくれるだろうと思うかもしれませんが、最近では政治的なこともあり、永住権がないと、とんでもなく優秀な業績がない限り、書類選考の時点ではじかれます。

筆者は3番目のNational Interest Waiverを利用して永住権を取得しました。この条件になるのが研究職の場合、修士号以上の学位を持っていること、申請者の研究がアメリカにとって利益になること、申請者がその研究分野でトップレベルであることです。トップレベルというと、次期ノーベル賞など、とんでもないことを想像してしまいがちですが、そうではなく、要は移民局の審査員に、“すごい”と思わせればいいのです。普通は推薦状が6通ほど必要になりますので、申請者、または申請者の担当教授のネットワークが大事になってきます。もちろん、論文が多くて引用されていたり、認められていたりすると有利になります。そして、弁護士がきちっとそろえて送付したにもかかわらず、あの書類がない、この書類がないと移民局からの連絡で、再び書類を送った後に、永住権が取得できます。私の場合は、運が悪かっただけかもしれませんが...

外国人として大学で仕事を得ること

アメリカ人にとっても、外国人にとっても、アメリカの大学でテニュアトラックのポジションを得る事は簡単ではありません。噂によると、化学、生化学の場合は全米のポスドクの10%未満が得られるようです。大学もR1といわれる研究に重点を置く大学、主に学部生の研究、教育をする大学(SIUEはこれにあたります)、また、教育に重点を置く大学と3つに分かれます。当たり前のことですが、どの仕事もそれぞれに大変で、それぞれに有利な点、不利な点があります。R1には、研究施設が充実してますし、他の教授たちから助言が得やすい分、競争率はとても高いです。SIUEのような大学は、研究も自由にさせてくれますが、講義の時間もR1に比べると多くなります。就職の際には、自己分析だけでなく、それぞれの大学の徹底した分析が必要になります。

まずは必要な書類(cover letter、curriculum vitae、research proposal、teaching philosophy、など)を希望する大学のウェブサイトを送ると、数か月ほどで電話での面接があります。だいたい10人ぐらいが書類選考から選ばれて電話面接(30分ぐらい)に進みます。その後、さらに選考があり、2、3人が大学に招待されて1日から1日半の面接を受けることになります。面接は飛行機を降りて空港で出迎えてくれた教授に会うところから始まり、空港に見送ってくれた教授と別れるまで続きます。大学によって、様式はそれぞれですが、基本的には学科の教授たち、学部長と個人面談(30分ぐらいずつ)、ポスドクで行ってきた研究発表(50分)の後、教授たちとResearch proposal、Teaching philosophyについての質疑応答があります。大学生の教育に重点を置く大学でしたら、課題を出されて、その課題に対する模擬講義も面接ではよくあるスタイルです。その後、1か月ほどやきもきした後、運が良ければポジションのオファーがやってくるわけです。

大学院生、ポスドクは、現在外国人の割合が増えており、60%を超えるところもありますが、教師陣を見ると、割合的には多いところでも、~20%といったところでしょうか。筆者も学生時代、また学会でも経験がありますが、学生にとっては、講義で何を言っているのかさっぱりわからないと困りますので、英語は最初の問題になります。外国人である以上、アクセントがあるのはしょうがないです。生まれた時から英語を話している方々と全く同じには話せません。しかし、自信をもって、少しスピードを落として、クリアに話すことはできるはずですが。外国人教授が多いところだと耳が慣れてくるのか、どうしても評価が若干あまくなり、さらに外国人教授が、特に同じようなアクセントを持つ教授が増える傾向にあるように見受けられます。

リーマンショック以降、さらに大学院生、ポスドクの人員費が跳ね上がり、政府の研究予算は削られ、厳しい状況が続いています。さらに、大学の授業料の高騰、卒業後に仕事がないため奨学金が返せないなどの

問題もあり、大学も発展するか衰退するか二極化しております。そのため、ポジション取得、また研究費用取得の競争もさらに激化しています。現在では、R1といわれる大学にテニユアトラックとして就職するためには、生化学系ですとポストドクでScience、Nature、Cellでの論文が必須ともいわれております。筆者は、伝統のあるトップレベルの研究室と研究費用を争うよりは、額は少ないけど確率が若干高い中規模校用の研究費用をねらって、イリノイ州で1番勢いのあるSIUEを選択しました(SIUEはNational Science Foundation (NSF)で中規模校での研究開発で、2位にランクされています)。SIUEでは、生化学(Biochemistry)、生物物理化学(Biophysical Chemistry)のクラスを担当させていただいております。

女性として科学分野で生きていくこと

日本でも最近では女性科学者がリケジョとして、もてはやされているようですが、実際は、まだまだ男性優位な状況であることは変わりません。時間をかけて、ステレオタイプを変えていく以外方法がないような気がします。少し古い統計ですが、2013年6月16日のニューヨークタイムズによると、13%の日本の学者が女性であり、その割合はヨーロッパ、アメリカ、韓国と比べても低いとありました。

アメリカは、日本と比べると、まだ女性のチャンスが多いのかもしれませんが、どこにでも外国人差別、女性差別をはじめ、いろいろな差別はあります。それは、アメリカの大学でも科学会でも同じことです。人間は同じところよりも、違うところに目が行ってしまう生き物であり、その違いを観察、研究することで科学が発展してきたため、しょうがないのかもしれませんが...

女性の教授の割合がR1よりも中規模校の方が多という点も、原因の1つは差別にあるのかもしれませんが。大学院生、ポストドクとしては、女性の割合も増えてきておりますが、大学の教師陣を見てみると、特にR1では少ないように思います。女性の場合、生物的にも、社会的にも制約が多いため、とても器用な方でない限り、何かを犠牲にしないとイケないのかもしれませんが。アメリカには少数の人種、性別等への優遇措置(Affirmative action)もありますが、これもいい点、悪い点があり、上手に機能しているようには思えません。

また、いろいろところで筆者もよく忠告されますが、女性の敵は女性でもあるようです。筆者自身は鈍感なだけかもしれませんが、そのような経験がなく想像でしかありませんが、多くの女性研究者はそのような優遇措置をもとせず、個々の実績で現在のポジションを勝ち取ってきた方々だと思います。そのためか、男性研究者と比べて他の女性研究者への評価が著しく厳しくなる方がいるようです。この問題に関しても、時間をかけてステレオタイプを変えていくしか方法はないのでしょうか。

南イリノイ大学エドワーズビル校(SIUE)

ミズーリ州のセントルイスーランバート国際空港から30分、西部開拓の玄関口であるゲートウェイアーチを見ながら、トムソーヤの冒険でおなじみのミシシッピ川を超えて、イリノイ州に入ったエドワーズビル市に南イリノイ大学エドワーズビル校はあります。広大なキャンパスには、野生の鹿やたぬき、七面鳥など、大自然がいっぱいです。GMOでおなじみのMonsanto、私たちもお世話になってるSigma-Aldrich、またバドワイザーで有名なAnheuser Buschの本社がセントルイスにあるため、化学、生化学を専攻する学生も多いです。SIUEはPh.D.のプログラムはありませんが、中規模校のわりに研究施設が整っており、またイリノイ大学、セ

ントルイス・ワシントン大学、ミズーリ大学セントルイス校など、近隣の大学との共同研究も盛んなため、大学卒業後、また修士号を取得後に他大学の博士課程に進む学生も多いです。

筆者の研究室では、工学部とバイオセンサーの共同開発研究をしており、Aptamer開発を中心にmodified nucleosidesの有機合成、RNAの構造解析を行っております。まだまだ、新しい研究室ですが、大学生も、院生も自由にアイデアを出しあえることが強みだと思っています。大学を卒業したから、博士号をとったからといって、就職が有利になる時代、成功できる時代はずっと昔に終わっています。これから、AIがますます発達していく中、人間として、想像力を働かせること、論理的に考えることが生き残るためにさらに重要になってくるような気がしてなりません。筆者自身も、学生たちと一緒に頑張っていきたいと思います。

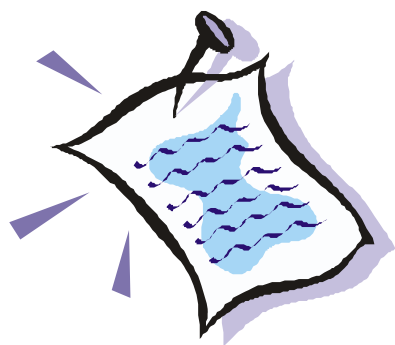
最後になりましたが、忍耐強く、また、温かくご指導していただきました、Drs. Douglas Dyckes、Christine Chow、Charles Hoogstraten、大変ありがとうございました。そして、つたない文章ですが、このような機会をくださいました大神田淳子先生に感謝申し上げます。

SIUE、また筆者の研究室に興味のある方は以下のWebsitesをご覧ください。

<https://www.siue.edu/artsandsciences/chemistry/>

<http://www.siue.edu/~msumita/>





シンポジウム等会告

2016年ノーベル化学賞 J. Fraser Stoddart 教授 講演会のご案内

2018年3月16日(金)に、(米) Northwestern 大学より J. Fraser Stoddart 先生をお招きし、東京大学の安田講堂にて講演会を開催致します。ご存じの通り、Stoddart 先生は、分子トポロジーそして分子機械の創造のご業績により、2016年のノーベル化学賞の榮譽に輝かれました。ご受賞以来、大変ご多忙にされている中の貴重なお時間を頂いて、“My Journey to Stockholm”と題してご講演いただきます。Stoddart 先生のご研究とその哲学に直接触れられる滅多にない機会ですので、貴研究室ならびに貴専攻の学生・若手研究者へお勧め下さいますようお願い申し上げます。なお、会場の安田講堂は700名(1階席)収容できますので、万障お繰り合わせのうえ奮ってご参加下さい。

日時： 2018年3月16日(金) 15:00 - 17:00 (14:30開場)

場所： 安田講堂(東京大学本郷キャンパス)

参加費： 無料(事前参加登録不要)

対象： 学生・研究者(学内、学外問わず)

主催： 東京大学大学院理学系研究科 化学専攻
同工学系研究科 化学・生命系3専攻

後援： 文部科学省新学術領域研究「配位アシンメトリ」

*セキュリティの都合上、当日入口にて、学生証(職員証)を拝見し、研究室の代表者の方にはお名前とご所属のご記入をお願いする点、ご了承下さい。

*会場地図：http://www.u-tokyo.ac.jp/campusmap/cam01_00_01_j.html

以上、大変ご多忙の折と存じますが、どうぞ宜しくお願い致します。

世話人代表

東京大学

塩谷 光彦(理学系研究科) / 藤田 誠(工学系研究科)

E-mail: shionoya@chem.s.u-tokyo.ac.jp / mfujita@appchem.t.u-tokyo.ac.jp

日本化学会 第98 春季年会 (2018)

<http://www.csj.jp/nenkai/98haru/>

特別企画

女性科学者が拓く生命化学

Frontiers of Women Young Scientists in Bioorganic Chemistry and Chemical Biology

我が国の女性科学者の割合はまだ低い。女性研究者数の底上げには適切なロールモデルの可視化が必要である。様々な偏見や困難をしなやかに乗り越えながら研究活動を継続し、優れた研究成果を通じて社会に貢献する、いわば“not to be brave, but to be bold”を地で行く自然体の女性研究者像はまさにロールモデルとしてふさわしい。こうした研究者たちの可視性を高めることは、次世代を勇気づけ女性科学者としての夢やキャリアパスを描く一助になるとともに、協働する男性の意識も変革することが期待できる。本企画では、生命化学の、特に生体材料、核酸、たんぱく質、イメージングの分野で、独創的な切り口で問題に取り組む新進気鋭の女性研究者を結集し、最新の研究成果とともに今後の発展性を議論したい。

日時：2018年3月20日（火） 13:30-16:30

会場：日本大学理工学部 船橋キャンパス

13:30-13:35 趣旨説明 大神田淳子（信州大農）

（座長）大神田淳子（信州大農）

13:35-14:00 若林里衣（九大院工）「ペプチド構造体へのタンパク質集積化」

14:00-14:25 建石寿枝（甲南大 FIBER）「四重らせん構造による新規の転写制御機構：がん進行過程におけるノンコーディング DNA の役割」

14:25-14:35 討論と PC 接続

座長 永次 史（東北大多元研）

14:35-15:00 山吉麻子（京大白眉・京大院理・JST さきがけ）「遺伝子発現のエピジェネティック制御機構の支配を目指した機能性核酸の創製」

15:00-15:25 神谷真子（東大院医）「分子内スピロ環化平衡に基づく革新的バイオイメージングツールの創製」

15:25-15:35 討論と PC 接続

座長 島本啓子（サントリー生科財団）

15:35-16:00 櫻井香里（東農工大工）「生物活性分子の作用機構解明に向けた標的タンパク質探索法」

16:00-16:25 今西未来（京大化研）「遺伝子発現を制御する人工タンパク質の創製」

16:25-16:30 クローリング 島本啓子（サントリー生科財団）

（大神田）

コラボレーション企画

JST さきがけ「統合1細胞解析のための革新的技術基盤」領域-1期生(平成26年度採択)-

第2回研究成果報告会：革新的なバイオイメージングと1細胞解析技術開発

2016年10月に発足したJST-さきがけ「1細胞解析」研究領域では、細胞の表現型・機能・個性やネットワークを1細胞レベルで定量的・網羅的に極限の精度と分解能で解析するための革新的基盤技術の創出を目指し唯一無二の方法論・ツール開発に挑戦する若手研究者を幅広い分野から結集して研究を推進してきました。

今回の成果報告会では、初年度採択のさきがけ研究者の中から7名の研究者が、さきがけプログラムの中で取り組んだ革新的なBioimagingと1細胞解析技術の開発とその生物学研究への展開についてわかりやすく紹介します。

また、領域アドバイザーの秋吉一成先生（京都大学大学院工学研究科）の特別講演「新規バイオナノトランスポーターの設計と医療応用」を予定しています。

The seven PRESTO researchers in JST-PRESTO Program "Single Cell Analysis" would present their cutting edge technologies and science in Bioimaging and Single Cell Analysis.

In addition, The Research Program Advisors, Professors Kazunari Akyoshi (Graduate School of Engineering, Kyoto University) would make special lecture on "Design of New Bio-Nanotransporters and Biomedical Applications".

主催：国立研究開発法人科学技術振興機構

日時：平成30年3月22日（木） 9:30～16:30（受付 9:15～）

場所：日本大学理工学部 船橋キャンパス

9:30 - 9:40 Opening Remarks 浜地 格研究総括（京都大学）

Session1：最先端の顕微鏡技術と1細胞解析

（座長）小澤 岳昌（東京大学大学院理学系研究科）

9:40-10:20 藤芳 暁（東京工業大学理学院）

10:20-11:00 高橋 康史（金沢大学理工学研究域）

11:00-11:40 五十嵐 龍治（京都大学大学院工学研究科）

特別講演

（座長）浜地 格（京都大学大学院工学研究科）

11:40-12:25 秋吉 一成（京都大学大学院工学研究科）「新規バイオナノトランスポーターの設計と医療応用」

12:25-13:30 休憩

Session2：1細胞Omics解析のフロンティア

（座長案）：島本 啓子（サントリー生命科学財団）

13:30-14:10 川井 隆之（理化学研究所生命システム研究センター）

14:10-14:50 寺尾 京平（香川大学工学部）

14:50-15:00 休憩

Session3：新規イメージングプローブと1細胞解析

（座長案）馬場 嘉信（名古屋大学大学院工学研究科）

15:00-15:40 神谷 真子（東京大学大学院医学系研究科）

15:40-16:20 檜田 啓（名古屋大学大学院工学研究科）

16:20-16:30 Closing Remarks 科学技術振興機構

（浜地）

第45回生体分子科学討論会

日時： 2018年6月22日(金)～23日(土)
場所： 大阪市立大学田中記念館(大阪市住吉区杉本3-3-138)
主催： 第45回生体分子科学討論会実行委員会
共催： 日本化学会、日本生物物理学会、日本電気学会、大阪市立大学大学院理学研究科、工学研究科、大阪府立大学大学院生命環境科学研究科、大阪市立大学「笑顔あふれる知と健康のグローバル拠点事業」
討論主題： 生体分子の立体構造、電子構造、相互作用、分子認識、機能調節、反応、情報伝達、電子伝達

招待講演者(50音順)：

佐藤守俊(東京大学大学院総合文化研究科)、高野順平(大阪府立大学大学院生命環境科学研究科)、坪井泰之(大阪市立大学大学院理学研究科)

募集発表形式：口頭・ポスター

発表申込締切：2018年4月27日(金)

発表要旨締切：2018年5月18日(金)

参加登録締切：2018年5月18日(金)

参加費(事前登録) 一般5,000円、学生3,000円

参加費(当日登録) 一般6,000円、学生4,000円

懇親会費(事前申込) 一般5,000円、学生2,000円

懇親会費(当日申込) 一般6,000円、学生3,000円

実行委員会委員：

中島 洋(阪市大院理)、長崎 健(阪市大院工)、西岡孝訓(阪市大院理)、藤枝伸宇(阪府大院生命環境)

問合せ先： 第45回生体分子科学討論会実行委員会事務局

〒558-8585 大阪市住吉区杉本3-3-138

大阪市立大学大学院理学研究科 物質分子系専攻内

中島 洋

討論会のホームページ：<http://www.biomol45.com>

第45回 生体分子科学討論会(大阪)

The 45th Symposium on Biomolecular Science

開催日程	2018年6月22・23日
会場	大阪市立大学 田中記念館
締切	発表申込 4月27日(口頭・ポスター) 要旨提出 5月18日 事前参加登録 5月18日
討論主題	生体分子の構造・相互作用・認識・調節・反応・情報伝達 電子伝達

招待講演者(50音順)

佐藤 守俊 東京大学大学院総合文化研究科
高野 順平 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
坪井 泰之 大阪市立大学大学院理学研究科



(中島)

**第 43 回錯体化学国際会議
(International Conference on Coordination Chemistry, ICC2018)**

<http://www.iccc2018.jp/index.html>

日時：平成 30 (2018) 年 7 月 30 (月) ～8 月 4 日 (土)

場所：仙台国際センター

Coordination Chemistry and Drug Discovery and Biomedical Sciences(S59)というシンポジウムを開催することになりました。

Organizer : Prof. Shin Aoki (Tokyo University of Science) Prof. Takakazu Nakabayashi (Tohoku University, Japan) Prof. Christopher Orvig (University of British Columbia (UBC), Canada) Dr. Bruno Therrien (Universite de Neuchatel, Switzerland) Prof. Milan Melnik, Slovakia (Technical University, Slovakia)

<http://www.iccc2018.jp/session59.html>

ポスター発表と口頭発表を募集しています。口頭発表は、ポスター発表の中から選考され、選ばれた方には、口頭発表とポスター発表を両方行っていただくことになります。

<http://www.iccc2018.jp/custom13.html>

発表申込の締切は、2018 年 2 月 15 日 (木) です。

(青木)

第 16 回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム(SHGSC2018)のお知らせ

<https://sites.google.com/site/shgsc2018/>

主催：ホスト-ゲスト・超分子化学研究会 (AHGSC)

<http://www.chem.tsukuba.ac.jp/hgsupra/>

協賛：日本薬学会・日本化学会・有機合成化学協会

討論主題：「分子認識」と「超分子」を中心とする有機化学・無機化学・分析化学・高分子化学・生化学・生体関連化学・材料科学・超分子化学・バイオテクノロジー化学など、分子間相互作用が関わるすべての研究が討論主題に含まれます。

日時：平成 30 (2018) 年 6 月 2 (土) ～3 日 (日)

場所：東京理科大学野田キャンパス

<https://sites.google.com/site/shgsc2018/akusesu-1>

特別講演：佐々木 茂貴先生 (九大薬)

招待講演：林 高史先生 (阪大工)、有賀 克彦先生 (物質・材料研究機構)

一般発表：口頭およびポスター発表

SHGSC 受賞講演：

本シンポジウムでは、Springer 社発刊 Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 誌と連携して、賞「SHGSC Japan Award of Excellence 2018」を設け、公募

します。受賞者には、シンポジウムにおいて受賞講演をお願いするとともに、上誌へ掲載する総説の執筆を依頼します。掲載論文には"SHGSC Japan Award of Excellence 2018" と明示されます。

応募期間： 2018年1月5日（金）～2月2日（金）

応募先メールアドレス：

shgsc2018@rs.tus.ac.jp

懇親会： 2018年6月2日（土）1日目プログラム終了後に会場にて

会費：

参加費（事前登録）； 一般 7,000 円、学生 4,000 円

参加費（5月8日以降：当日支払）； 一般 8,000 円、学生 5,000 円

懇親会費（事前登録）； 一般 7,000 円、学生 4,000 円

懇親会費（5月8日以降：当日支払）； 一般 8,000 円、学生 5,000 円

参加費＋懇親会費 振込先口座

千葉銀行（0134）江戸川台支店（079） 普通預金口座 3673297

シンポジウムまでのスケジュール：

発表申込； 2018年3月5日（月）～3月30日（金）

講演要旨； 2018年4月10日（火）～4月27日（金）

事前参加登録； 2018年3月26日（月）～5月7日（月）

「SHGSC2018 実行委員長

青木 伸（東京理科大学薬学部生命創薬科学科）」

Bioinorganic Chemistry and Applications (impact factor: 1.974)で Open

Special Issue “Metallosupramolecular Architecture for Biomedical and Material Sciences” を企画しています。

Lead Guest Editor: Shin Aoki (Tokyo University of Science)

Guest Editor： Takafumi Ueno (Tokyo Institute of Technology)

Yasuhiro Funahashi (Osaka University)

Yasuyuki Yamada (Nagoya University)

<https://www.hindawi.com/journals/bca/>

<https://www.hindawi.com/journals/bca/si/431263/cfp/>

投稿締め切りは2018年4月6日（金）、発行予定は2018年8月です。

皆様からのご投稿をお待ちしています。

よろしくお願い申し上げます。

（青木）

お知らせ



受賞

大矢裕一（関西大学教授）

平成 29 年度 日本バイオマテリアル学会賞（科学）

「生分解性高分子の合成手法開拓と刺激応答型医用材料としての応用」
(2017 年 11 月)

山東信介（東京大学教授）

第 14 回（平成 29 年度）日本学術振興会賞

「生体系の分子計測・イメージングにおける画期的 NMR 分子プローブの開発」
(2017 年 12 月)

秋吉一成（京都大学教授）

平成 29 年度 第 70 回日本化学会賞

「生体機能性を有する自己組織化ナノ材料の創製とバイオ応用」
(2018 年 1 月)

浜地 格（京都大学教授）

平成 29 年度 第 70 回日本化学会賞

「細胞夾雑系有機化学の開拓」
(2018 年 1 月)

小澤岳昌（東京大学教授）

平成 29 年度 第 35 回日本化学会学術賞

「タンパク質化学を基盤とする生体分子イメージングと光操作法の開発」
(2018 年 1 月)



【編集後記】

～生命化学研究レターのバナーができました～



今後、幹事メンバーの研究室サイトに掲示してゆく予定です。クリックすると研究会の掲載ページにリンクしていますのでバックナンバーも簡単にご覧頂けます。この機会に周辺の方々や学生さんにご一読をお勧め頂ければ幸いです。作成して下さいました井原さん、ありがとうございました。

今号の巻頭言では三浦さんがAIと未来の研究のありかたについて言及されています。私も先日ある会合でAIが「ひらめき」を得意とするという話を聞き、ひょっとするとそう遠くない将来、「AIが研究のネタ出し、人間が実行部隊」という構図が、現実になりうるのかもしれないと感じました。経験やデータに捕らわれない人間ならではの冒険力や、「海外のラボ便り」で住田さんも述べられているように豊かな想像力と共感力（コミュニケーション力ともいう？）が、今後、発展的にAIと共存するためのカギになってゆくのかもしれません。

お忙しいところ力作をご執筆頂いた7名の皆さま、ありがとうございました。次号は井原さんのご担当で、発行時期は現在調整中です。レターに関しまして皆様からのご要望・ご意見をお待ちしております。

2018年（平成30年）2月7日

大神田 淳子

生命化学研究レター編集委員

第56号編集担当：大神田 淳子

信州大学、johkanda@shinshu-u.ac.jp

井原 敏博

熊本大学、toshi@chem.kumamoto-u.ac.jp

松浦 和則

鳥取大学、ma2ra-k@chem.tottori-u.ac.jp

