

社団法人 日本化学会  
生体機能関連化学部会

# NEWS LETTER

*Division of Biofunctional Chemistry*  
*The Chemical Society of Japan*

Vol. 25, No.1 (2010. 6. 3)

## 目次

### ◇ 巻頭言

複雑系と生体機能 ..... 鍋島 達弥 1

### ◇ 研究紹介

非天然アミノ酸の導入技術のタンパク質の構造機能解析への応用 ..... 芳坂 貴弘 3

生体分子機械を利用した刺激応答性ナノキャリアの創製 ..... 金原 数 7

抗がん剤インドロカルバズール生合成酵素群の結晶構造解析 ..... 永野 真吾 11

### ◇ 部会行事

第4回バイオ関連化学シンポジウム開催案内 ..... 16

若手フォーラム開催案内 ..... 17

若手の会サマースクール案内 ..... 18

### ◇ お知らせ

平成22年度 生体機能関連化学部会役員 ..... 19

平成22年度 生体機能関連化学部会若手の会支部幹事 ..... 20

## 複雑系と生体機能

筑波大学大学院数理物質科学研究科 鍋島 達弥

もう10年ほど前になると思うが「複雑系の科学」に注目が集まり、数学、物理、化学、生物、さらには材料科学にもわたるその重要性が盛んに議論されたことがある。ただ複雑系とは何であるかが分かり難いため、今ではすっかりそのブームも過ぎ、複雑系を意識した化学分野の研究者は現在それほど多くないであろう。しかし、特に生体機能が関わる研究領域の研究者にとって複雑系とは常に念頭に置くべき基礎的概念であると私は強く思うのである。そこで最初に、複雑系とは何かを考えてみたい。

研究者によってその定義は幾分か異なるようであるが、共通しているのは「複雑系とは複数の構成要素から成り、それぞれが互いに相互作用するために、個々の総和として予想される以上の振る舞いを全体としてする系」とする認識である。こう言うとなおさら分かり難い印象を受けるかもしれないが、簡単な例として野球のチームを挙げることができる。ご存じのように野球では9人が連携することで、個人の単純な足し合わせ以上のチームとしての振る舞いをするようになる。このように考えると複雑系とは、我々を取り巻くいたるところにある至極一般的な事象に当てはまることになる。生命、宇宙、人間社会など、まさに我々人間は複雑系そのものの中にいる存在である。

複雑系を特徴付けるものとして「複雑系は秩序と混沌の狭間にある」といった表現がある。「折角わかりかけてきたのに、これでまた混乱してしまった」と思われた方も多いかもしいが、この表現は確かに難解そうであるものの、化学の概念を使って考えればいたって当然の事柄として理解できるのである。つまり、秩序と混沌はエントロピーがまさに表現するところの状態であり、化学者にとってこれらを制御するのにエネルギー、つまりエンタルピーが関わることは常識である。

さてここで典型的な複雑系である生体を考えてみると、「混沌化」が進めば生体は一つの系たり得なくなり、逆に「秩序化」が進み最も安定な状態になれば、全く動きのない状態、つまり生命活動のない状態になってしまう。したがって複雑系とは「秩序」と「混沌」の狭間にあり、それらの微妙なバランスの上に成り立っていることになる。言い換えれば「複雑系」は、準安定状態あるいは常に変化し続ける系として、外部からエネルギーを得たり放出したりする、いわゆる非平衡の系として存在するのである。

この複雑系を考えるに当たってもう一つ重要なキーワードがある。それは「相互作用」である。構成要素同士が互いに相互作用することによって、個々は全体に、また全体は個々に影響を及ぼし、複雑系としての挙動を示すことになる。生命活動はまさにこれである。このように複雑系と生命活動を関連づけて考えてみると、個々の相互作用の結果生じる「協同効果」の重要性が際立ってくる。生体機能関連化学でこれに特に関係するのは「アロステリック効果」や「フィードバック」である。この概念は単なる調節機構としてだけではなく、機能の伝達や増幅、さらには学習などの高い精神活動にもつながっている。これらの調節機構で重要な役割を果たしているのが、静電相互作用、水素結合、van der Waals力、CH- $\pi$ 相互作用などの非共有結合的な相互作用であることは周知の事実である。

さて協同効果をうまく発現させるためにはエントロピーをうまく制御する「仕掛け」が必要になると一般に考えられている。多くの場合このエントロピー制御が協同効果の本質だと理解され、またこれまでそのように強調されてきたように思うが、相互作用する部位の位置および向きを、相互作用が有利になるようにコントロールすることは、エンタルピーの制御にまさに対応しているのである。前述した複雑系が「秩序」と「混沌」の狭間にあることを思い起こせば、協同効果にその両者が関与するのは明白であると気づく。しかしこのことはさらに別の重要な意味合いも含んでいる。つまり、異なる観点に立った概念でものを見れば、これまで常識として、あるいは思い込んでいたことが実は別の側面や別の相関関係をもっていることが無理なく見えてくることを示しているのである。つまり思

考のブレイクスルーには異なる分野の概念を取り入れるのが非常に有効であることを示す好例となっている。

生体機能関連化学部会の源流は「酵素類似機能を持つ有機反応の研究会」である。30年の時を経てこの分野は劇的に進歩し、その研究対象や内容は多様化、複雑化、そして精密化している。古くから研究されてきた酵素の反応機構においてさえ、今も未解明なところが数多くあるのは間違いのないところであるが、酵素をはじめとするタンパク質やDNA、糖鎖などの生体分子は、複雑系の中でその本当の役割を果たしているのであるから、その役割の本質を明らかにするには、機能が連動・連鎖する一つの複雑系として全体を捉えた検討が必要であると思うのである。そう考えると、この分野の著しい進展をもってしてもそのゴールははるか先の感がある。しかし最近の測定機器、合成・精製手法の目覚ましい進歩を考えれば、化学結合でつながっていない系同士が及ぼし合う作用や、その結果生じる複雑系機能に目を向けることができる時代の入り口に我々は立っているのではないかと思う。

このところ学際領域や融合領域に注目が集まり、これらが一段ともてはやされるようになったが、私が思うところ、研究対象や手法が学際的であるだけではなく、それに加えて、これまでほとんど接することがなかった分野のものの方の見方、その分野では常識であるが我々にはなじみのない概念などに触れることが上述の思考のブレイクスルーを生み出すのではないかと最近特に感じている。心理学の研究で「人は1つの解答とおぼしきものを見つけると問題解決のための思考を停止してしまう傾向が強い」ことが実験的に明らかになっているそうである。思いついた考えが正しければよいが、それが勝手な憶測や推量であることも多く、真理の解明からはほど遠い実験を繰り返してしまうことは我々自身がよく体験している。人そのものが複雑系である以上、ルーチンなものの考え方や思い込みは思考の不活性化につながり、一方活性化には常に外からの刺激が必要となるのは当然のことなのである。

今の生体機能関連部会を見たとき、ここは様々な分野の人が集う格好の場として十分に機能していると思う。しかし複雑系のことをふと思い浮かべたとき、異分野との交流がさらに必要な時代になっていると私は強く感じるのである。この部会の活動を通して一人でも多くの大学院生が、多様な概念に接し、虚心坦懐に物事を考える習慣を身につけることで、「serendipity」が訪れる「prepared mind」をもった研究者へと成長し巣立っていくことを、心から願う次第である。

## 非天然アミノ酸の導入技術のタンパク質の構造機能解析への応用

北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科

芳坂貴弘

### 1. はじめに

タンパク質は基本的に 20 種類のアミノ酸から合成されている。このアミノ酸配列を改変することは、部位特異的変異導入技術などにより、容易に行うことができる。しかしここで利用できるのは、あくまで天然の 20 種類のアミノ酸に限られている。一方、化学合成により天然には存在しないアミノ酸「非天然アミノ酸」を自由に作り出すことができ、ペプチド化学合成などに広く利用されている。このような非天然アミノ酸をタンパク質に自由に組み込むことが可能になれば、タンパク質改変の幅が広がるとともに、全く新しい人工タンパク質のデザインも可能になる。

著者らはこれまでに、通常は 3 塩基であるコドンに 4 塩基に拡張することで、非天然アミノ酸をタンパク質へ部位特異的に導入する手法の開発を行ない、さらにそれをタンパク質の蛍光標識などに応用してきた。本稿ではこのような非天然アミノ酸導入法の原理と応用例について紹介する。

### 2. 4 塩基コドンによる非天然アミノ酸の部位特異的導入<sup>1,2)</sup>

4 塩基コドン法の原理を CGGG を例として図 1 に示している。まず、遺伝子上で非天然アミノ酸に置換したい部位のコドンを 4 塩基コドン CGGG に置換しておく。また、この 4 塩基に相補的な配列 CCCG をアンチコドンに持つ tRNA を合成しておき、化学的アミノアシル化法を用いて非天然アミノ酸を結合させる。これらが無細胞翻訳系へ添加すると、4 塩基コドンに置換した部分が 4 塩基アンチコドンを持つ tRNA に読み取られ、非天然アミノ酸へ翻訳される。一方、それ以外の部分は通常通り 3 塩基ずつ天然のアミノ酸へ翻訳されるため、得られるタンパク質には 4 塩基コドンで指定した部位のみに非天然アミノ酸が導入されることになる。ただし、4 塩基コドンの最初の 3 塩基 CGG が天然のアミノアシル tRNA によって翻訳されることも起きうるが、その場合は読み枠が 1 塩基分ずれて、やがて下流に現れる終止コドンによってタンパク質合成は終了してしまう。そのため、非天然アミノ酸が導入された場合のみ、完全長タンパク質が得られることになる。この際、C 末端に精製用の His-tagなどを付加しておくことにより、非天然アミノ酸が導入された完全長タンパク質のみを容易に単離することができる。

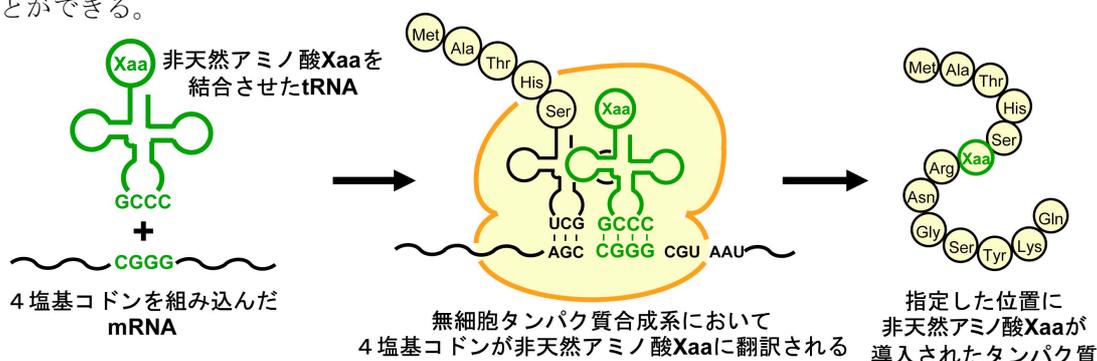


図1 4 塩基コドンを用いた非天然アミノ酸の導入法

### 3. 種々の非天然アミノ酸の設計・合成とタンパク質への導入

著者らはコドンの拡張に加えて、導入する非天然アミノ酸のレパートリーの拡張も行なってきた。種々の芳香族アミノ酸の導入を評価したところ、その導入効率は側鎖構造に大きく依存しており、特に *p*-置換フェニルアラニン誘導体が高い導入効率を示した<sup>2)</sup>。そこで、この基質選択性に基づいて、さらに蛍光基などを有する非天然アミノ酸の設計、合成とタンパク質への導入を試みた。

実際には、フェニルアラニンのパラ位にアミノ基を介して蛍光基を結合させた非天然アミノ酸を新たに設計、合成した。まず、蛍光基としても比較的小さな分子である BODIPY を使用したところ、比較的高効率で導入できることが確認された<sup>3)</sup>。一方、リジンの側鎖アミノ基に結合させた場合は、ほとんど導入することはできなかった。この結果は、タンパク質合成系はフェニルアラニン骨格に対して高い親和性を持ち、そのパラ位にやや大きな置換基を付加しても基質として許容することを示している。このような蛍光標識アミノ酸はタンパク質の機能を保持した状態で蛍光標識したい場合に有効である。特に、活性に影響を与えにくいN末端領域などに導入しておくことで、タンパク質の機能解析を容易に行なうことが可能になる。また、タンパク質のN末端領域であれば、Fluorescein や TAMRA のような構造の大きな蛍光基を導入することが可能であることも見出ししている<sup>4)</sup>。

このような非天然アミノ酸に対する基質選択性を考慮して、さらに多種の非天然アミノ酸の設計、合成も行なっている。ビオチンは、通常はリジンに付加されているが、蛍光基と同様にアミノフェニルアラニンに結合させることで、高効率でタンパク質への導入が可能であった<sup>5)</sup>。また、リン酸化チロシンやアセチル化リジンなどの翻訳後修飾によって生じるアミノ酸を導入することも可能であった。これにより、あらかじめ翻訳後修飾されたタンパク質を合成することができる。さらに、やや長鎖のエチレングリコール鎖 ( $n=4\sim 12$ ) についても、鎖長が長くなるにつれて導入効率が低下するものの、導入が可能であることを見出ししている<sup>6)</sup>。

これらの結果は、翻訳系は非天然アミノ酸に対して非常に寛容であり、適切に分子設計することで、実に様々な構造の機能性分子を基質として許容することを示している。それに加えて、これらの非天然アミノ酸はタンパク質の標識や解析などにも有用であることから、バイオベン

チャー企業と共同で事業化を行ない、様々な蛍光基や機能性分子をタンパク質に導入するための試薬キットとして開発、市販している。

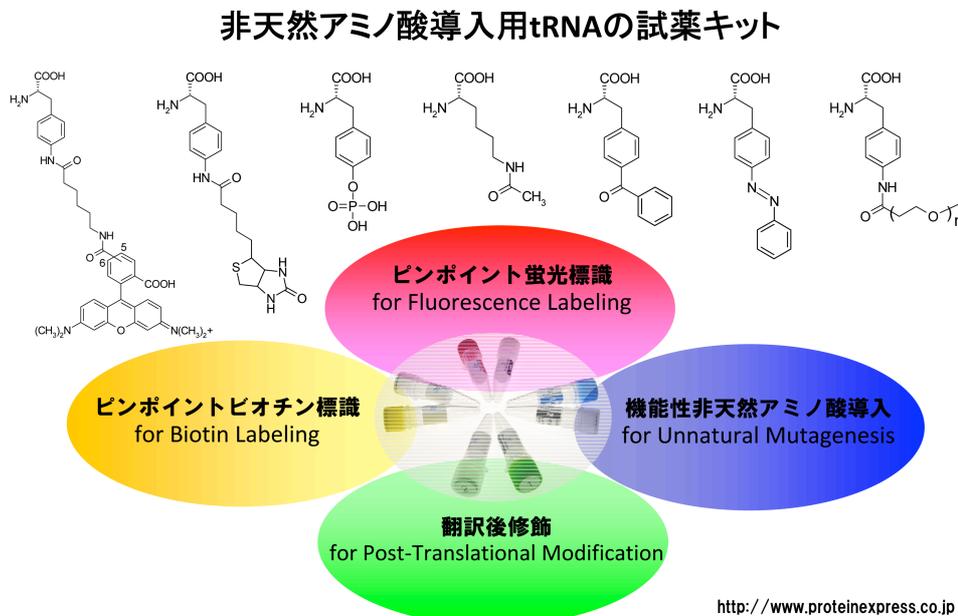


図2 種々の非天然アミノ酸の導入

#### 4. タンパク質の FRET 分析への応用

上記の蛍光標識アミノ酸と、4 塩基コドンを利用した 2 種類の非天然アミノ酸の導入を組み合わせることで、タンパク質の部位特異的な二重蛍光標識と蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) による分析も可能になる。まず、モデルタンパク質としてカルモジュリンを使用して、N 末端部分と内部部位に BODIPY558 および BODIPYFL 標識アミノフェニルアラニンをそれぞれ導入した。Ca<sup>2+</sup>存在下で、カルモジュリン結合ペプチドを添加した場合の FRET 変化を測定したところ、BODIPYFL を Gly40 部位あるいは Tyr99 部位へ導入した場合に、カルモジュリン結合ペプチドの添加に伴って FRET 効率が大きく低下することが観察された<sup>3)</sup>。その際、BODIPY558 を直接励起した場合の蛍光偏光度測定からカルモジュリンと基質ペプチドとの結合が確認されたことから、FRET 変化はカルモジュリンのペプチドへの結合に伴う立体構造変化を反映していると言える。

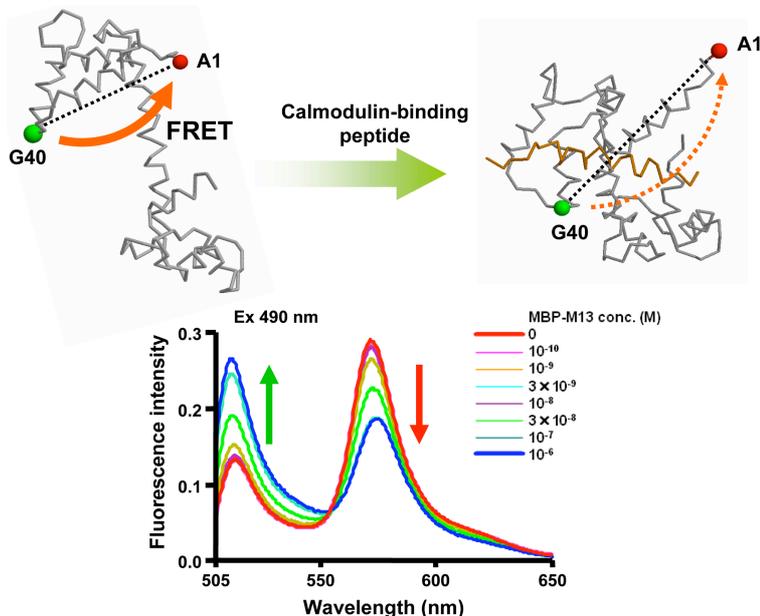


図3 カルモジュリンの FRET 分析

また、マルトース結合タンパク質 (MBP) については、まず種々の内部部位へ蛍光標識アミノ酸を導入して、基質となるマルトースの結合に伴って蛍光強度が大きく変化する導入部位を調べた。その結果、基質結合部位の Trp340 に隣接する Tyr210 および Tyr242 部位に蛍光標識アミノ酸を導入した場合に、蛍光強度が大きく増加することが観察された。これは Trp340 の

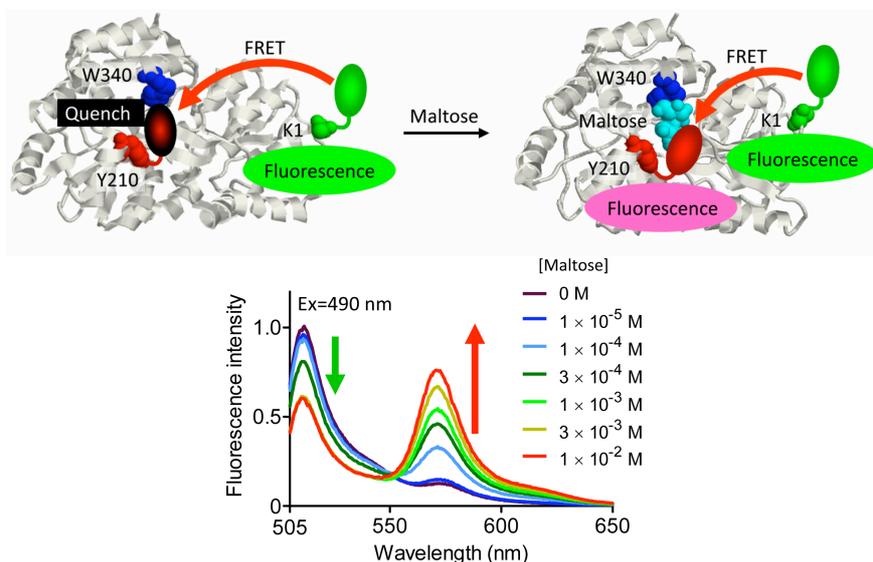


図4 マルトース結合タンパク質の FRET 分析

Phe への置換実験から、Trp による蛍光消光と基質の結合に伴うその解消であることが確認された。そこで、さらに N 末端領域に FRET のドナーとなる蛍光標識アミノ酸を導入することで、FRET と蛍光消光の変化を組み合わせ、基質の結合によるタンパク質の構造変化を大きな蛍光強度比の変化として読み出せることも明らかにした<sup>7)</sup>。

## 5. タンパク質の N 末端特異的蛍光標識法

タンパク質の構造や機能への影響を最小限にするためには、N 末端領域へ蛍光標識することが望ましいが、N 末端にはタンパク質発現を効率化させるタグペプチドが付加されることが多く、その場合は蛍光分子を残してタグペプチドが除去されることが望ましい。そこで著者らは、蛍光標識アミノ酸の代わりに蛍光標識ヒドロキシ酸を用いた、新規 N 末端特異的タンパク質蛍光標識法を開発した。蛍光標識ヒドロキシ酸として BODIPYFL-アミノフェニル乳酸を設計・合成して、様々なタグペプチドの下流に 4 塩基コドン CGGG を挿入してタンパク質に導入したところ、導入後のエステル結合の自発的な分解が起こり、タグペプチドが除去され N 末端に蛍光標識ヒドロキシ酸が付加されたタンパク質が生成することが確認できた。また、直前アミノ酸を 20 種類のアミノ酸にそれぞれ置換した結果、Asn にすることで効率良くエステル結合の分解が起こることも見いだされた<sup>8)</sup>。

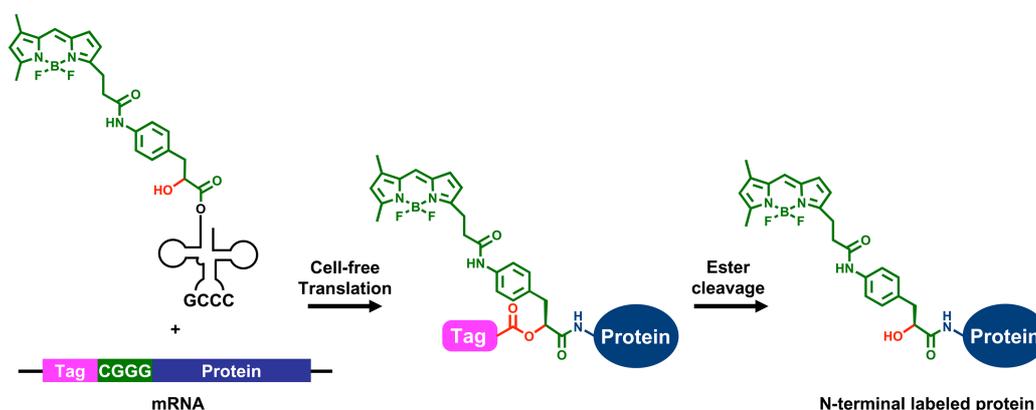


図5 蛍光標識ヒドロキシ酸の導入によるタンパク質の N 末端特異的蛍光標識

さらに、本来は終止コドンである UAG コドンを開始コドンとして使用しつつ、開始 tRNA に非天然アミノ酸や非天然カルボン酸を結合させることで、タンパク質の N 末端に非天然分子を導入する手法も開発している<sup>9-10)</sup>。

これらの手法は、非天然アミノ酸の導入技術の有用性をさらに高めるものであり、今後も様々なタンパク質研究や人工タンパク質合成に応用できると期待される。

## 参考文献

- 1) Hohsaka, T., Ashizuka, Y., Murakami, H., Sisido, M., *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 9778-9779.
- 2) Hohsaka, T., Kajihara, D., Ashizuka, Y., Murakami, H., Sisido, M., *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, 121, 34-40.
- 3) Kajihara, D., Abe, R., Iijima, I., Komiyama, C., Sisido, M., Hohsaka, T., *Nat. Methods*, 2006, 3, 923-929.
- 4) Abe, R., Shiraga, K., Ebisu, S., Takagi, H., Hohsaka, T., *J. Biosci. Bioeng.*, 2010, in press.
- 5) Watanabe, T., Muranaka, N., Iijima, I., Hohsaka, T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007, 361, 794-799.
- 6) Shozen, N., Iijima, I., Hohsaka, T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, 19, 4909-4911.
- 7) Iijima, I., Hohsaka, T., *ChemBioChem*, 2009, 10, 999-1006.
- 8) Watanabe, T., Miyata, Y., Abe, R., Muranaka, N., Hohsaka, T., *ChemBioChem*, 2008, 9, 1235-1242.
- 9) Muranaka, N., Miura, M., Taira, H., Hohsaka, T., *ChemBioChem*, 2007, 8, 1650-1653.
- 10) Miura, M., Muranaka, N., Abe, R., Hohsaka, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2010, 83, 546-553.

## 生体分子機械を利用した刺激応答性ナノキャリアの創製

東北大学多元物質科学研究所 金原 数

### 1. はじめに

タンパク質はそれぞれが独自の立体構造を有しており、それを利用して機能を発現している。我々は、このような生体分子の構造と洗練された機能を上手く利用し、人工物では作り得ないようなナノスケールの機能性物質の創製を目指している。本稿では、シャペロニン (chaperonin) と呼ばれる筒状タンパク質を利用した刺激応答性キャリアの開発について紹介する。シャペロニンは、円筒状あるいは球状の巨大タンパク質集合体であり、生体分子

機械の一つとして知られている<sup>1</sup>。例えば大腸菌由来のシャペロニンGroELの場合、7つのサブユニット (60 kDa) が会合してドーナツ状の環状集合体を作り、さらにそれらが二つ積み重なった二層の円筒構造になっている (図1)。円筒の高さは約14 nm、外径も約14 nmで、中央には内径4.5 nmほどの空孔が広がっている。シャペロニンはATPase活性を有しており、ATPを添加すると構造変化を起こして、空孔が機械的な運動を行う。生体中ではこの動きを利用して、変性タンパク質のリフォールディングを手助けするが、シャペロニンのゲスト取り込み能とATP応答性を利用して、様々なゲストを運ぶためのキャリアとしての応用可能性について検討を行なった。

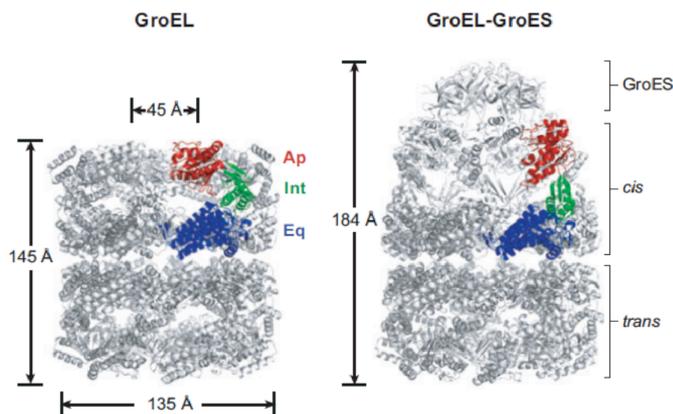


図1 シャペロニン GroEL および GroEL・GroES 複合体の結晶構造

### 2. 半導体ナノ粒子の取り込みと放出<sup>2</sup>

シャペロニンは空孔内に変性タンパク質を取り込むが、人工物を導入した例はなかった。そこでまず、半導体ナノ粒子 (CdS) を用いて、空孔内への導入およびATPによる放出が可能かどうか検討することにした。具体的には、水溶性溶媒であるジメチルホルムアミド中で調製したCdSナノ粒子 (直径2.2 nm) を、Tris-HCl (pH 7.5) バッファー中のシャペロニン (GroELあるいはT. th. cpn) と混合し、ゲルろ過によりシャペロニンを含む成分を精製した。TEM (図2) およびサイズ排除クロマトグラフィー (図3) による解析の結果、目的とするシャペロニン/ナノ粒子複合体が得られたことを確認した。ちなみに、シャペロニンの存在しない条件でCdSナノ粒子のジメチルホルムアミド溶液をバッファーに滴下すると即座に沈殿が生じた。

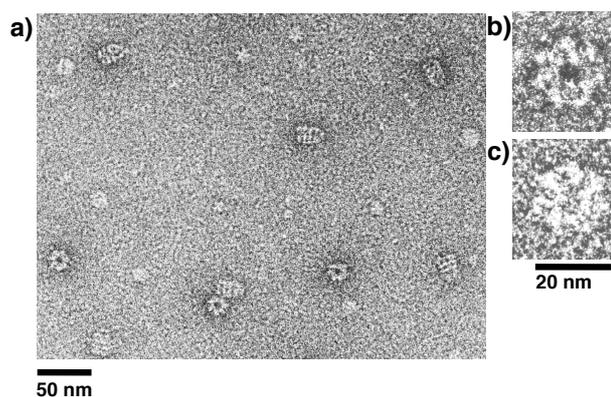


図2 T. th. cpn/CdS ナノ粒子複合体のTEMイメージ図。a), b) 複合体。c) 同条件で撮影した T. th. cpn

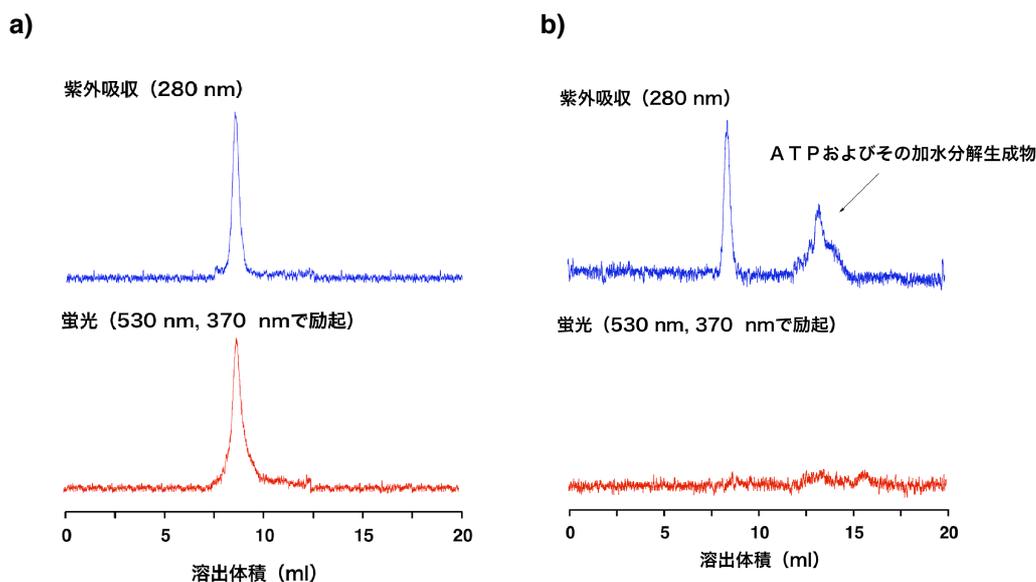


図3 紫外光吸収および蛍光でモニターした *T. th. cpn*/CdS ナノ粒子複合体のクロマトグラム : a) ATP 添加前 ; b) ATP 添加後

得られた複合体は熱的に安定であり、GroELとの複合体では50 °C、*T. th. cpn*との複合体では80 °C付近まで、変性、分解やナノ粒子の放出は起こらなかった。これらの温度は、ホストのシャペロニンの耐熱温度と対応しており、複合体の安定性がホストのシャペロニンの安定性と相関があることが分かった。このように安定なシャペロニン/CdSナノ粒子複合体であるが、生体中でシャペロニンが変性タンパク質にリフォールディングを促進する条件と同様に、ATP、 $Mg^{2+}$ イオン、 $K^+$ イオンを添加したところ、シャペロニンの構造を保ったまま内包したCdSナノ粒子が放出された（図3 b）。このように、シャペロニンが変性タンパク質と同様に人工ゲストを取り込み、さらにATPの添加によりこれを放出することが分かった。

### 3. シャペロニンの化学修飾による機能制御<sup>3</sup>

シャペロニンはATPにより物質の取り込み、放出を制御できるが、機能性物質のキャリアーとしての利用を考えると、物理的刺激による制御ができるほうが好ましい。そこでシャペロニンの化学修飾により光応答性を付与し、その機能を光で制御できないかと考えた。GroELはもともと1サブユニットあたり3つのシステイン残基を有している。まずこれらをすべてアラニンに置換した後、空孔入り口付近（231番）にシステイン残基を新たに一つ導入した変異体を作成した。GroELは環状7量体の2階建て構造をしているため、結果的に1つの空孔入り口あたり7つのシステインを導入したことになる。この変異体に対し、マレイミド部位を有するアズベンゼン誘導体を作用させることにより、入り口に光応答性のアズベンゼンを導入した修飾GroELを得ることに成功した。この修飾シャペロニンに変性GFPを加えたところ、野生型のシャペロニンと同様にこれを取り込むことを確認した。

アズベンゼンは紫外光照射によりトランス体からシス体へ、可視光照射によりシス体からトランス体へと、可逆的に異性化を制御できる。トランス体では分子長が比較的長く、シス体では比較的短くなるため、紫外可視光照射により、開口部の大きさを可逆的にコントロールできることになる。実際、期待通り、このアズベンゼン修飾シャペロニンを用いることで、ゲストとして用いた変性GFPの放出速度を光照射により制御できることが分かった（図4）。ATPの有無および紫外光/可視光という組み合

わせた4つの状態を作り出すことができるが、まず、ATPの存在しない場合には紫外光、可視光いずれを照射した場合にもグストの放出速度は極めて遅いことが分かった (図4、

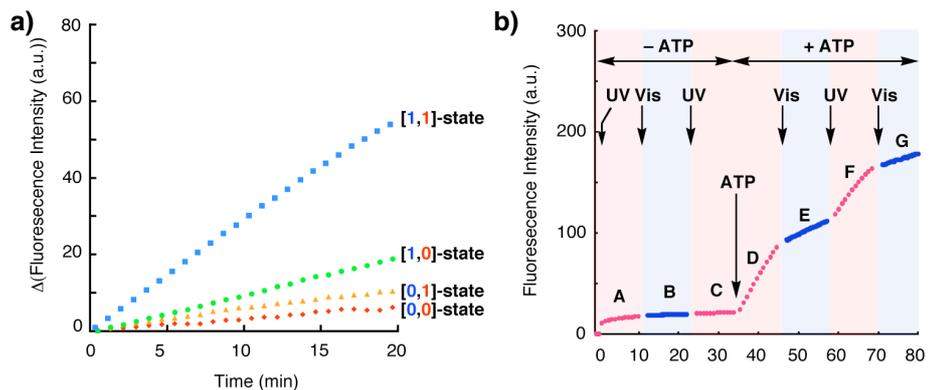


図4 アゾベンゼン修飾シャペロニンによる変性 GFP の放出の様子。a) それぞれ4つの状態単独で検討した場合。 b) 連続して刺激を与えた場合。

[0, 1]state, [0, 0]state)。これに対し、ATP存在下、

紫外光を照射してアゾベンゼン部位をシス体に異性化すると速やかに変性GFPを放出した ([1, 1]state)。ここで、可視光を照射してアゾベンゼン部位をトランス体に異性化すると、放出速度が著しく低下することも分かった ([1, 0]state)。このように、ATPと光という2種類の刺激に応答する修飾シャペロニンを得ることに成功した。

#### 4. シャペロニンナノチューブ<sup>4</sup>

続いて、光照射により極性が大きく変化するフォトクロミック分子としてスピロピランを導入することを考えた。今回は311番目のリジンと314番目のロイシンをシステインに置換し、システインが14個づつ各空孔の入り口に存在するGroEL変異体(図5)を作製した。これに対し、マレイミド部位を有するスピロピラン誘導体(図6)を添加し、システイン残基にスピロピランを導入した。修飾後、紫外可視吸収スペクトルを測定したところ、水溶液(バッファー)中ではスピロピランが一部自発的にメロシアニン型に異性化し、系中では常にスピロピランとメロシアニンが共存した状態にあることがわかった。

当初の目的は、このスピロピラン部位を利用した機能の光制御であったが、偶然、修飾後のこの変異体GroELが会合体を作ることを見いだした。すなわち、塩化マグネシウムの添加によりGPCクロマトグラム上で高分子量成分の割合が著しく増加することが分かった。このサンプルを透過型電子顕微鏡により観察したところ、修飾GroELが1次元的に自己集積し、長いチューブ状の会合体を形成していることが分かった(図7)。

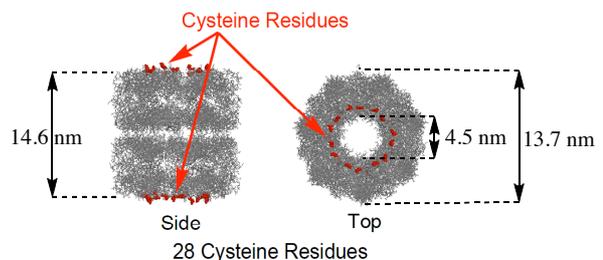


図5 新たに作製した GroEL 変異体。

このチューブ状会合体の形成挙動を詳細に検討した結果、まずスピロピラン/メロシアニンによる化学修飾が必須であることが分かった。さらに添加する金属塩について検討を行った結果、塩化マグネシウムだけでなく、カルシウムや亜鉛などの2価の金属イオンの添加によって会合体の形成が起こることが分かった。また、会合体を形成した試料にEDTAを添加すると解離することも分かった。これらのことから、このチューブ状会

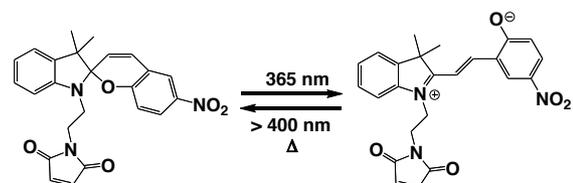


図6 修飾に用いたスピロピラン誘導体(左)とメロシアニン誘導体(右)の光異性化挙動。

合体形成には、スピロピラン／メロシアニン部位と金属イオンとの配位が関与していると考えられる。

TEM像からこの会合体は、GroELの空孔入り口どうしが連結した中空のナノチューブであることが予想される。そこで、GroELが変性タンパク質を取り込むことを利用して、このナノチューブ内にゲストを導入することを試みた。まず、ウシ由来の変性  $\alpha$

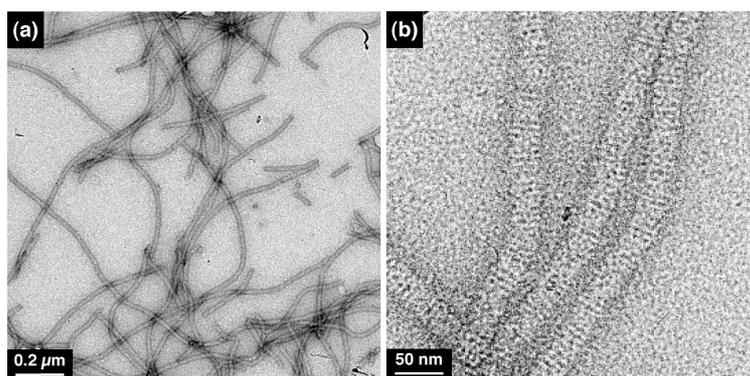


図7 シャペロニンナノチューブのTEM像

-lactalbuminを蛍光ラベル化し2価の金属イオンの存在しない条件でスピロピラン／メロシアニン修飾GroELに加えたところ、天然型GroELの場合と同様に、この変異体にも取り込まれることが分かった。この状態に塩化マグネシウム添加したところナノチューブが形成された。ここで得られたナノチューブのサイズ排除クロマトグラムにおいて、変性  $\alpha$ -lactalbuminに由来する蛍光でモニターしたクロマトグラムが、紫外光吸収でモニターしたクロマトグラムと重なることが分かった。すなわち、変性  $\alpha$ -lactalbuminが取り込まれたまま、ナノチューブ形成が起こることが分かった。このようにシャペロニンの最大の特徴であるゲスト取り込み能を利用してナノチューブの中にゲスト分子を取り込ませることに成功した。また、前もってナノチューブを形成したところに変性  $\alpha$ -lactalbuminを添加しても、取り込みが起こらないことも分かった。

## 5. まとめ

シャペロニンは、生体における役割が詳細に検討されている一方で、材料化学的な観点からこれを利用しようという試みは全くなかった。GroELは望みの位置にシステインを導入した変異体を比較的容易に得ることができるため、化学修飾と組み合わせることで、人工物では実現できない動的応答性を持つナノスケールの機能性ホストとなることを示すことができた。シャペロニンをはじめとする生体分子機械は、分子の機械的な動きと機能がリンクした非常にユニークな特色を持っており、今後、これらにヒントを得た様々な刺激応答性物質の開発が期待される。

## 謝辞

本稿で紹介した内容は、東京大学大学院工学系研究科の相田卓三教授とともに行なった研究成果です。また、共同研究者の東京農工大学大学院工学研究科の養王田正文先生および東京工業大学大学院生命理工学研究科の田口英樹先生に御礼申し上げます。

## 【参考文献】

- [1] K. Braig, Z. Otwinowski, R. Hegde, D. C. Boisvert, A. Joachimiak, A. L. Horwich, P. B. Sigler *Nature* **1994**, *371*, 578-586.
- [2] D. Ishii D., K. Kinbara, Y. Ishida, N. Ishii, M. Okochi, M. Yohda M, T. Aida *Nature* **2003**, *423*, 628-632.
- [3] S. Muramatsu, K. Kinbara, H. Taguchi, N. Ishii, T. Aida *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3764-3769.
- [4] B. Shuvendu, K. Kinbara, N. Oya, N. Ishii, H. Taguchi, T. Aida *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7556-7557.

## 抗がん剤インドロカルバゾール生合成酵素群の結晶構造解析

鳥取大学 工学研究科 永野真吾

### 1. はじめに

放線菌などの微生物や植物は、複雑な化合物を二次代謝産物として生産し、その多くが有用な生理活性を示す。1943年に発見された結核特効薬ストレプトマイシン以来、7,000種類以上の生理活性物質が放線菌から見出され、現在では生物由来の生理活性物質の約6割を放線菌産物が占めている。

1977年、大村らは放線菌 *Streptomyces staurosporeus* から当時新規骨格であったインドロカルバゾール構造を有する化合物を発見し、スタウロスポリンと命名した。以来レベッカマイシンなどインドロカルバゾール骨格を持つ化合物が50種類以上、主に放線菌から発見されている。これらの中には抗がん剤や糖尿病性網膜症治療薬などとして臨床試験が進められている化合物が含まれ、インドロカルバゾールは医薬品として期待される基本骨格の一つとなっている (図1)。

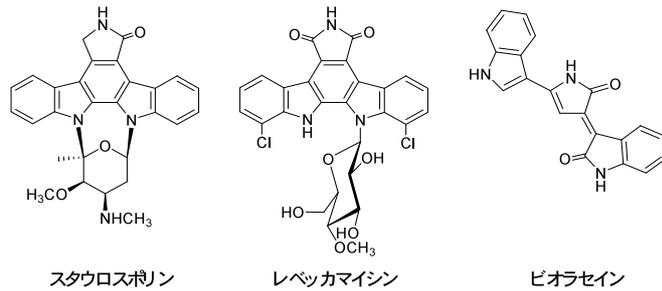


図1. インドロカルバゾール系化合物の構造

インドロカルバゾールが放線菌によって作られる経路は、遺伝子破壊実験などにより詳細が明らかとされている。スタウロスポリン生合成には14種類の酵素が関与しており、主に3段階(1)トリプトファンの変性によるクロモピロリン酸(CPA)の生成、(2) CPAよりインドロカルバゾール基本骨格の構築、(3) インドロカルバゾール骨格への糖付加および糖修飾からなる (図2)。また、抗がん活性や抗ウイルス活性を示すビオラセインは、インドロカルバゾールとは大きく異なる骨格構造をもつが、その生合成経路の前半部分はインドロカルバゾールと共通であり、それらの反応を担う酵素にも高い

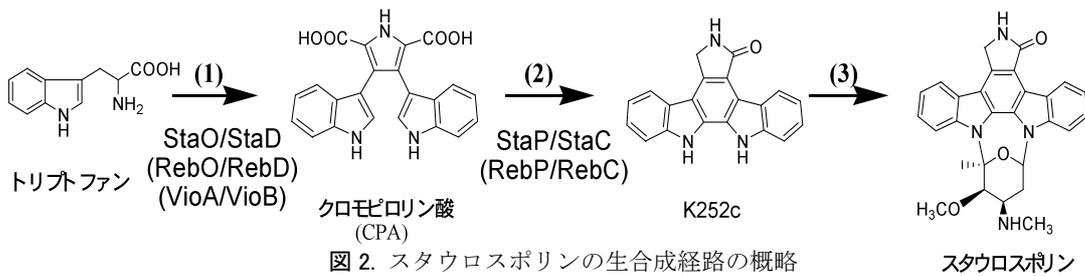


図2. スタウロスポリンの生合成経路の概略

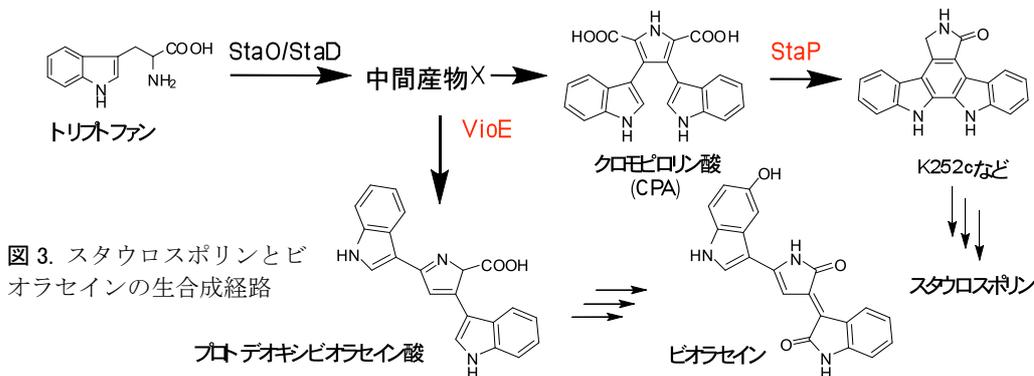


図3. スタウロスポリンとビオラセインの生合成経路

相同性があることが知られている (図 3)。筆者は富山県立大学の尾仲康弘博士らと共同でスタウロスポリン、ビオラセイン生合成酵素の結晶構造解析などを行い、インドロカルバゾール生合成酵素群の仕組みを構造に基づいて解明し、ヘム酵素、フラビン酵素から補酵素を持たない VioE と多様な酵素が連携して生合成するシステムの全容解明を目指している。

## 2. インドロカルバゾール基本骨格を構築するシトクロム P450 StaP (StaP)

StaP は CPA を基質としてインドロカルバゾールの基本骨格を作り出す、インドロカルバゾール生合成系の鍵酵素の一つである。シトクロム P450 は、主に基質の水酸化反応などを触媒し、薬物代謝やステロイドホルモンの生合成などを行うヘム酵素として知られている。しかし、StaP は通常の P450 とは異なり、二つのインドール環の間で C-C カップリング反応を行いインドロカルバゾールの基本骨格を作り上げているが、その反応メカニズムは不明であった。

### 2-1. 結晶構造

そこでわれわれは StaP と基質 CPA との複合体の結晶構造解析を行った(1)。C-C カップリング反応を行う StaP の全体構造は三角プリズム構造であり、通常の水酸化反応を行う P450 と大きな違いは見られなかった(図 4)。基質が結合した活性部位を見ると、ヘムに対してほぼ垂直に CPA が位置していた。また、基質は 9 本の水素結合により強固に保持されており、そのうちの 7 本が基質のカルボン酸に集中していることから、基質認識にカルボン酸が重要であることが伺われた。基質のインドール環はヘムから 3.5Å とかなり近いが C-C カップリングを受ける部位はヘムから離れており、ヘムが直接 C-C 結合を作ることは困難と思われた。基質が結合した StaP と同様にインドール環がヘム近くに存在し、酸化還元反応を行う酵素としてシトクロム c ペルオキシダーゼ(CcP)がよく知られており、この酵素ではヘムがトリプトファンのインドール環から電子を引き抜いてインドールラジカルを生成し、酵素反応を進めている。我々は StaP でも CcP と同様にヘムが基質のインドール環から電子を引き抜きラジカル的に C-C カップリング反応が進んでいるのではないかと推定した。

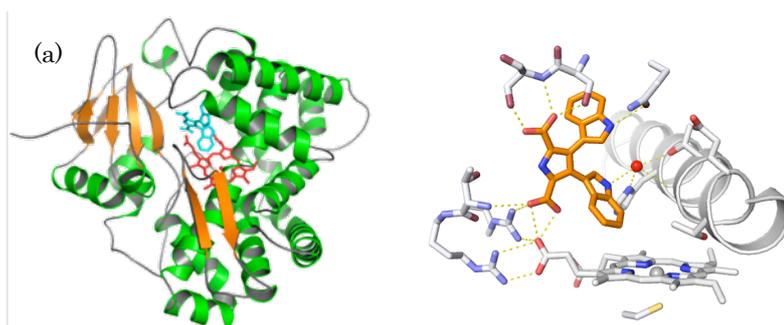


図 4. StaP の全体構造(a)と基質結合部位(b)

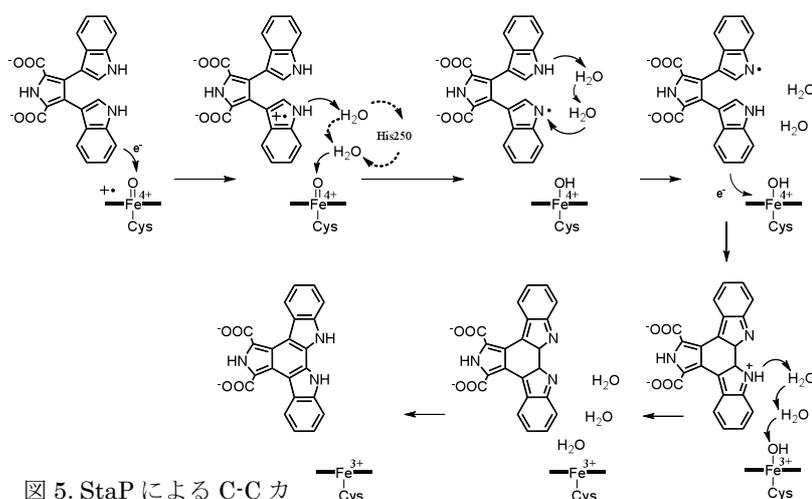


図 5. StaP による C-C カップリングメカニズム

この酵素ではヘムがトリプトファンのインドール環から電子を引き抜いてインドールラジカルを生成し、酵素反応を進めている。我々は StaP でも CcP と同様にヘムが基質のインドール環から電子を引き抜きラジカル的に C-C カップリング反応が進んでいるのではないかと推定した。

### 2-2. 理論計算によるインドールカチオンラジカル生成の可能性の検証

われわれはイスラエルの Sason 博士らと共同で結晶構造に基づいた理論化学計算によりインドールラジカルが生成する可能性を検証した(2,3)。DFT QM/MM 計算の結果はわれわれが推定したとおり、高酸化状態となったヘムは基質のインドール環から一電子を引き抜きインドールラジカルが生成する

ことを示した。興味深いことに、この電子移動は基質と酵素との水素結合の強さによって大きく変化すること、すなわち酵素と基質の適切な結合が酵素反応を進めるために必要であることが示唆された。C-C 結合を作るためにはインドールラジカルが生成した後、基質からプロトンが引き抜かれる必要がある。理論計算は基質近傍の水分子を経由してヘムへプロトンが移動すると予測した。果たして C-C カップリングが起こらない基質(CI<sub>2</sub>-CPA)が結合した場合はプロトンの移動経路となる水分子が存在しないこと、つまりこの水分子が C-C 結合を作るために必要であることを結晶構造解析は明らかとし、理論計算を裏付ける結果となった。これら理論計算と結晶構造解析から支持されるインドロカルバゾール骨格の構築メカニズムを図 5 にまとめた。

### 3. ビオラセイン骨格を構築する VioE

インドール環を二つ持つビオラセインは *Chromobacterium violaceum* 等が生産する青色の天然物であり、インドロカルバゾールと同じくトリプトファン 2 分子がカップリングして基本骨格が作られる。Walsh ら、尾仲らは生化学的な実験からそれぞれ独立にトリプトファン 2 分子のカップリング反応から不安定な中間産物 X がつくられ、これが自発的に CPA に変化すると提案した(図 3)。VioE は中間産物 X をビオラセイン骨格へと変換する酵素であり、スタウロスポリンなどに代表されるインドロカルバゾールとビオラセインを作り分ける重要な酵素とみなすことができる。

#### 3-1. VioE の結晶構造

VioE は補酵素や金属を持たない単純タンパク質である。われわれはこの酵素の結晶構造を 2.0Å 分解能で決定した(4)。VioE は逆平行βシートを主要な構造としており、野球グローブを二つ背中合わせにしたようなダイマーとして存在していた(図 6a)。グローブのボールが入る部分に相当する分子表面に正電荷を帯びたポケットが存在し、VioE の基質となる中間産物 X はカルボン酸を持つと推定されることを考慮するとここが基質結合部位であると考えた。

#### 3-2. 活性部位を改変した変異体の酵素活性

基質が負電荷を持つと考えられることから、基質結合には正電荷をもつアルギニンやリジンが関わっていると推定し、VioE 分子表面の塩基性アミノ酸に対してアラニンスキャンニングを行った。結晶構造から推測したように分子中央のポケットにあるアルギニンのみ活性の変化が見られた。さらにこのポケットを形成するほぼすべての残基についてもスキャンしたところ、このポケットが基質結合部位であり、ポケットの中でも底面と側壁の一部のアミノ酸が酵素活性の発現に必要とされることが明らかとなった(図 6b)。

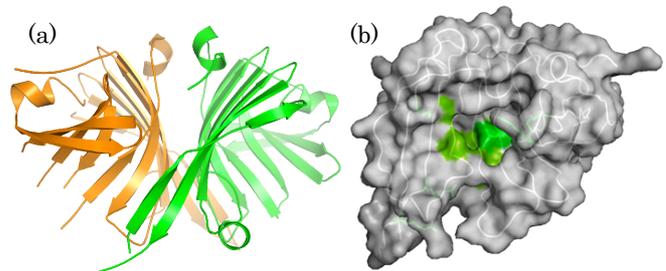


図 6. VioE の全体構造(a)とアラニンスキャンニングの結果(活性が低下した残基を緑で示した) (b).

#### 3-3. 基質アナログとの複合体結晶構造とドッキングシミュレーション

ここまでは順調に酵素の構造-機能相関の解析を進めることができた。しかし、VioE では基質が不安定であるため基質結合型の構造解析が難しい。そもそも基質の構造すら推定されてい

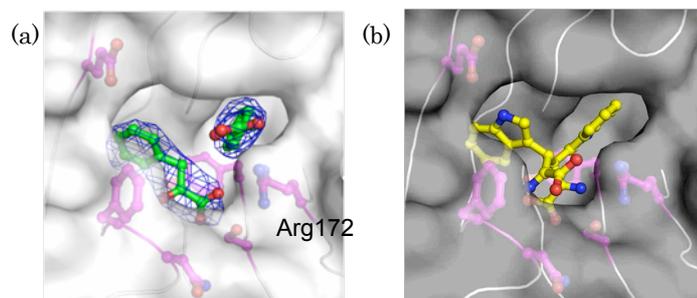


図 7. 基質アナログとの複合体結晶構造(a)と推定基質のドッキングシミュレーションの結果(b).

るに過ぎなかった。そこでフェニルピルビン酸が推定されている基質のアナログとして用いられると考え、その複合体の結晶構造解析を行った(図 7a)。基質ポケットと考えられた部位には期待通り、基質アナログが二分子収まっていた。この複合体構造はこのポケットが基質結合部位であることを支持すると同時に、基質である中間産物 X のカルボン酸は Arg172 と水素結合し、芳香環はポケットの隅に納まった結合様式を持っていることを示唆した。

さらに我々はこの構造を使って推定基質 X のドッキングシミュレーションも行った(図 7b)。最も安定な結合様式では二つのインドール環は足を広げたようにポケットの隅に向かっており、極性を持つピルビン酸部位は Arg172 に接近していた。これらの特徴は基質アナログの場合とほとんど同じであった。

これらの結晶構造解析、ドッキングシミュレーションおよび Walsh らの生化学的な実験結果から VioE の反応メカニズムは図 8 のように考えられた。不安定な中間産物 X は自発的に CPA と変化するが、VioE の基質ポケットに捕捉されると自発的な変換反応が抑制されるとともに VioE の酸塩基触媒によってインドール環の転移反応が促進されビオラセイン骨格が作られると考えられた。

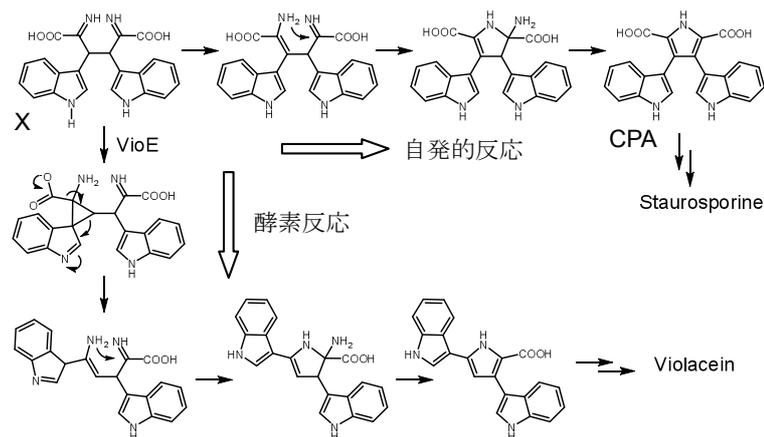


図 8. VioE によるビオラセイン骨格構築のメカニズムと中間産物 X の自発的反應

#### 4. インドロカルバゾール生合成の巧みさと今後の展開

インドロカルバゾールとビオラセインの生合成のキープレイヤーである StaP と VioE 二つの酵素について結晶構造解析、変異体解析、理論化学計算やドッキングシミュレーションなどを通してこれらの天然物を作り出す自然の巧みさを垣間見てきた。その中で明らかになった生合成の鍵は中間産物や反応中間体の不安定さであるように思われる。たとえば VioE の基質となる中間産物 X は不安定であるために、二つの生合成経路の分岐点となり VioE が反応場を提供することでそれを制御している。今後は、中間産物 X を作り出す鍵酵素 StaD の構造解析や、今回触れることができなかったフラビン酵素 StaC、RebC によるレベッカマイシンとスタウロスポリンの作り分けを制御する仕組みの解明に取り組んでいきたい。

#### 5. 謝辞

本研究は富山県立大学尾仲宏康准教授との共同研究である。StaP、VioE の結晶構造解析はそれぞれ牧野正知博士、平野 聡博士が行った。VioE の理論化学計算は Sason Shaik 教授、Yong Wang 博士らとの共同研究の成果である。また、筆者が理化学研究所播磨研究所在籍中に研究の機会を与えていただいた城 宜嗣主任研究員、ならびに結晶構造解析に関して多くの有益なアドバイスをいただいた杉本 宏博士に感謝いたします。

#### 6. 参考文献

1. Makino, M., Sugimoto, H., Shiro, Y., Asamizu, S., Onaka, H. \*, and Nagano, S. \* *PNAS* 2007, *104*, 11591-11596.
2. Wang, Y., Chen, H., Makino, M., Shiro, Y., Nagano, S., \*, Asamizu, S., Onaka, H., \* and Sason,

- S.\* *JACS* 2009, 131, 6748-6762.
3. Wang, Y., Hirao, H., Chen, H., Onaka, H., Nagano, S., and Shaik, S.\* *JACS* 2008, 130, 7170-7171.
  4. Hirano, S., Asamizu, S., Onaka, H. , Shiro, Y., and Nagano, S.\* *JBC* 2008, 283, 6459-6466.

## 第4回バイオ関連化学シンポジウム

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

- 主 催：** 生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、生体機能関連化学・バイオテクノロジーディビジョン、フロンティア生命化学研究会
- 共 催：** 日本化学会他
- 会 期：** 2010年9月24日（金）、25日（土）、26日（日）
- 会 場：** 大阪大学 豊中キャンパス共通教育管理講義棟  
〒560-0043 豊中市待兼山町1-16  
大阪モノレール柴原駅下車北西へ徒歩約10分、または阪急電車宝塚線石橋駅下車東へ徒歩約15分

- 発表申込締切：** 6月28日（月）  
**予稿原稿締切：** 7月26日（月）  
**参加登録（予約）締切：** 8月9日（月）

**内容：** 生体機能、バイオテクノロジー、生命化学に関する日本化学会2部会・1ディビジョン・1研究会の合同シンポジウム。

**発表形式：** 口頭ならびにポスター

\*口頭発表（15分発表、5分質疑、3会場）は原則として1研究室1件まで。但し、申込は2件まで可。この場合は発表優先順位をつけ、2件目の採否は実行委員会の判断による。

**参加申込方法：** WEBサイト (<http://jointsympo.csj.jp>) から発表申込、予稿原稿の提出、参加登録のすべての手続を行う。

**部会講演賞：** 生体機能関連化学部会あるいはバイオテクノロジー部会のいずれかの部会員になって1年以上が経過し、受賞時40才以下の部会員が対象。賞応募申請は発表申し込み時点で受付を行う。

**参加登録費：** 8月9日（月）（参加登録（予約）締切）まで・・・

部会員：一般5,000円、学生3,000円、非部会員：一般7,000円、学生4,000円

8月10日以降・・・上記の各参加種別に2,000円プラス。

\*いずれの価格にも予稿集代金が含まれています。

\*予稿集の事前送本は予定していません。事前に予稿原稿の閲覧ができるよう、PDFでの限定公開を計画しています（9月15日以降）。

**懇親会：** 9月25日（土）。費用5,000円（必ず事前に申込のこと）。

**実行委員長：** 深瀬浩一（大阪大学大学院理学研究科化学専攻）

**連絡先：** 深瀬浩一（〒560-0043 豊中市待兼山町1-1 大阪大学大学院理学研究科化学専攻）

Tel: 06-6850-5388, Fax: 06-6850-5419, E-mail: koichi@chem.sci.osaka-u.ac.jp

## 「若手フォーラム」開催案内 第25回 生体機能関連化学シンポジウム「若手フォーラム」

生体機能関連化学部会・若手の会では、大阪大学で開催されます親シンポジウムの前日に「若手フォーラム」を開催致します。生体機能関連分野において第一線で活躍する若い大学および企業研究者の中から、4名の先生に講演していただきます。また、ポスドク、学生など若手の研究者の発表、交流の場として、ポスターセッションと懇親会を行います。生体機能関連化学全般に渡る研究発表を30件程度募集します。学生の発表者の中から数名にポスター賞を授与する予定ですので、このフォーラムを機に若手研究者および学生の方々の刺激を得るために是非とも声をかけて頂き参加を促していただければ幸いです。

### 開催案内

主催：日本化学会 生体機能関連化学部会 若手の会

会期：9月23日（木）13:50～20:00

会場：大阪大学 吹田キャンパス 荒田記念館

大阪府茨木市美穂ヶ丘11-1

<アクセス> ○ 大阪モノレール阪大病院前下車 徒歩15分

○ 阪急電車千里線 北千里駅（終点）下車 東へ徒歩 約20分

[http://160.193.139.51/~ytachi/wakate\\_Forum2010/access.html](http://160.193.139.51/~ytachi/wakate_Forum2010/access.html)

発表申込締切：8月20日（金）

予稿原稿締切：8月27日（金）

参加予約申込締切：9月3日（金）

発表形式 招待講演およびポスター発表（学生を対象にポスター賞あり）

### 招待講演

大学および企業の若手研究者4名の招待講演を開催 14：00～17：00

**ポスター発表**（懇親会を兼ねて開催、ポスター賞有） 17：20～19：30

### 参加および発表申込方法

発表題目、所属、発表者氏名（講演者に○）、連絡先（住所、電話、E-mail）を明記の上、予稿原稿を添えてE-mailにてお申し込みください。予稿原稿テンプレートファイルはWebページよりダウンロードしてください。（[http://160.193.139.51/~ytachi/wakate\\_Forum2010/info.html](http://160.193.139.51/~ytachi/wakate_Forum2010/info.html)）

参加登録費 学生 1,000円 一般 2,000円（懇親会費込み）

（参加登録費および懇親会費は当日受付にてお支払い下さい。）

### 申込先および問い合わせ先

〒567-0047 大阪府茨木市美穂ヶ丘8-1

大阪大学産業科学研究所 第3研究部門 精密制御化学研究分野 中谷研究室

代表世話人：堂野 主税

E-mail [cdohno@sanken.osaka-u.ac.jp](mailto:cdohno@sanken.osaka-u.ac.jp)

世話人：館 祥光（大阪市立大学理学研究科）、佐藤 健二郎（武田薬品工業（株））

## 第22回生体機能関連化学若手の会サマースクールのご案内

生体機能関連化学若手の会サマースクールは、生体機能関連化学分野を中心とした若手研究者を対象とし、自由な討論や意見交換を通して相互の親睦を図るため、毎夏に行われています。本年は下記の先生方の御講演に加えて、参加者によるポスター講演も企画しております。なお本年より学生が参加しやすいように日本化学会からの運営資金が増額されたため参加費が抑えられていますので、ふるってご参加ください。

主催 生体機能関連化学部会 若手の会  
共催 日本化学会  
会期 2010年7月16日（金）～17日（土）  
会場 国民宿舎「関ロジ」(三重県亀山市関町新所 1574-1)  
ホームページ (<http://www.city.kameyama.mie.jp/seki lodge/>)

交通 JR関駅からバスにて送迎。

招待講演（敬称略）

1. 「非天然塩基対を用いた遺伝暗号の拡張と米国バイオフーマにおける核酸医薬研究について」  
松田 成夫 (Alnylam Pharmaceuticals, Department of Drug Discovery, Scientist)
2. 「(脳の分子レベルからの理解を目指した) 構造生理学の現状と展望」  
藤吉 好則 (京都大学大学院理学研究科 教授)
3. 「核酸化学のニュートレンド」  
杉本 直己 (甲南大学先端生命工学研究所 所長・甲南大学フロンティアサイエンス学部 教授)
4. 「iPS細胞研究の今と今後の展開」  
中川 誠人 (京都大学 iPS細胞研究所 講師)
5. 「代謝経路とその制御回路の進化分子工学」  
梅野 太輔 (千葉大学大学院工学研究科 准教授)
6. 「有機小分子蛍光プローブの精密設計に基づく、新たな生細胞応答観測・in vivoがんイメージング」  
浦野 泰照 (東京大学大学院医学系研究科 教授)

参加申込方法

申込みフォームをHP(<http://seitaisummer2010.matrix.jp/index.html>)からダウンロードし、氏名、所属、連絡先、ポスター講演希望の有無を明記の上、下記申込先までE-mailにて申し込みください。参加費は郵便局備え付けの郵便振替払込用紙を使用し、以下の口座に振込んでください。

参加費 一般 8,000円 学生 5,000円 (懇親会込)

振込先 静岡信用金庫 静大前支店 (034) 普通 0234627 生体機能関連サマースクール2010

なお申込締め切り等はお問い合わせください。

申込先・問合先 サマースクール2010世話人 (大吉崇文、荘司長三、山田泰之)  
(代) TEL: (054) 238-4760, E-mail: [takanoriyoshi@yahoo.co.jp](mailto:takanoriyoshi@yahoo.co.jp)

## お知らせ

### 平成22年度 生体機能関連化学部会役員

#### 【部会長】

渡辺 芳人（名大院理）

#### 【副部会長】

杉本 直己（甲南大理工・FIBER）

鍋島 達弥（筑波大院数理）

#### 【幹事】

青野 重利（岡崎統合バイオ）

浦野 泰照（東大院薬）

大槻 高史（岡山大院自然）

片山 佳樹（九大院工）

塩谷 光彦（東大院理）

島本 啓子（サントリー生有研）

杉山 弘（京大院理）

高木 昌宏（北陸先端大マテリアル）

民秋 均（立命大薬）

堂野 主税（阪大産研、若手代表）

西村 紳一郎（北大院先端生命）

浜地 格（京大院工）

深瀬 浩一（阪大院理）

三原 久和（東工大院生命理工）

和田 健彦（東北大多元研）

#### 【監査】

岡畑 恵雄（東工大院生命理工）

## お知らせ

### 平成22年度 生体機能関連化学部会若手の会支部幹事

#### 【北海道・東北支部】

萩原 伸也（東北大多元研）

松尾 保孝（北大電子研）

#### 【関東支部】

高橋 俊太郎（東工大院生命理工）

花岡 健二郎（東大院薬）

山口 哲志（東大院工）

#### 【東海支部】

大吉 崇文（静大理）

荘司 長三（名大院理）

#### 【関西支部】

佐藤 健二郎（武田薬品）

舘 祥光（阪市大院理）

堂野 主税（阪大産研）

#### 【中国・四国支部】

中田 栄司（徳島大院ソシオテクノサイエンス）

森 重樹（愛媛大総合科学研究支援センター）

#### 【九州支部】

狩野 有宏（九大院先導研）

野中 洋（九大稲森フロンティア）

ニュースレター Vol. 25, No. 1 2010年 6月 3日発行

事務局：101-8307 東京都千代田区神田駿河台1-5, 日本化学会生体機能関連化学部会

Office of the Secretary : The Chemical Society of Japan, 1-5 Kanda-Surugadai, Chiyodaku, Tokyo 101-8307, Japan

URL: <http://seitai.chemistry.or.jp/>

mail to: [seitai@chemistry.or.jp](mailto:seitai@chemistry.or.jp)

編集委員：青野重利, 片山佳樹, 塩谷光彦