

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. 27, No. 3 (2012. 11. 2)

## 目 次

### ◇ 巻 頭 言

第1回生体機能関連化学部会国際シンポジウム (ISBC2012) へのご参加の勧め  
.....杉本 直己 1

### ◇ 研 究 紹 介

発蛍光プローブによるタンパク質の無洗浄生細胞蛍光イメージング  
.....堀 雄一郎、菊地 和也 2

有機溶媒に溶ける DNA の構造と触媒機能 —有機溶媒中で機能する核酸—  
.....阿部 洋 6

局在性リガンド：細胞機能制御のための新しい分子コンセプト  
.....築地 真也 9

新規赤色蛍光団 TokyoMagenta 類の開発とその応用.....花岡 健二郎 13

生体内代謝プロセスの多重共鳴 NMR モニタリングと多重共鳴 MRI に  
展開可能な高感度化分子プローブの開発.....山田 久嗣 17

### ◇ 部 会 行 事

第27回生体機能関連化学部会「若手フォーラム」開催報告..... 21

第6回バイオ関連化学シンポジウム開催報告..... 26

第6回バイオ関連化学シンポジウム講演賞の講評..... 27

The First International Symposium on Biofunctional Chemistry プログラム..... 28

### ◇ お 知 ら せ

日本化学会第93春季年会(2013)開催案内..... 49

## 巻頭言

# 第1回生体機能関連化学部会国際シンポジウム (ISBC2012) へのご参加の勧め

甲南大学 FIBER 所長(部会長) 杉本 直己

部会員の皆様におかれましては、部会活動にご協力いただき、あらためて御礼申し上げます。

本部会は、バイオテクノロジー部会やフロンティア生命化学研究会とともにバイオ関連シンポジウムを主催し、研究発表の場をご提供し、多くの部会員の皆様にご発表・ご参加をいただいております。本年も、居城先生をはじめ北海道大学の関係者のご協力のもと、9月6日から8日にかけて、のべ四百数十名の方にご参加いただき、盛会のうちにシンポジウムを終えることができました。重ねて御礼申し上げます。

さて、我が国は、昨年3月11日に東日本大震災に襲われ、甚大な損害を受けました。近隣の科学研究者の方々も大きな損害を受けられたことと存じます。1995年1月17日の阪神・淡路大震災では、教授になって9ヶ月余り、立ち上げつつあった研究室や自宅に大きなダメージを受けた私は、到底他人事とは思えませんでした。今回の震災においても、多くの海外の友人から暖かい励ましの言葉をいただきました。しかしながら、何うところによれば、海外の研究者の方々の中には、「日本の科学はもうダメであろう」とか、「これまでのレベルに回復するには10年以上かかるのではないか」という危惧をもたれる向きも多いと聞きました。このままでは、日本はある意味でよくない評価を得てしまうのではないかと懸念されます。丁度、部会独自のイベントが少なくなっていると感じておりましたので、海外の第一線の研究者に、日本のバイオ化学の素晴らしい研究成果を知っていただき、また彼らの成果を聞きながら、フランクに交流を深めるという趣旨で、部会の国際シンポジウムを開催してはどうかと部会役員会に提案し、強いご賛同をいただきました。

このような経緯で、今回、第1回の部会国際シンポジウムを開催いたします。会期は2012年11月28日(水)、29日(木)、30日(金)の3日間、会場は東工大蔵前会館(目黒区大岡山2丁目12-1)です。シンポジウムでは、Protein Interaction, Functional DNA/RNA, Metals in Chemical Biology, Cell Function of Macromolecules, Nanobiotechnology Innovation in Biomolecular Chemistryの5つのセッションがあり、それぞれ北米、欧州、アジア、日本の招待講演者の発表を予定しております。詳細はホームページ(<http://seitai.csj.jp/isbc2012/>)をご参照ください。また、Young Researchers Society for Biochemistryのセッションでは、華々しくご活躍の我が国の若手5名の講演者、また特別講演として元部会長の東工大岡畑恵雄教授にもご講演いただきます。ポスター講演も素晴らしいご講演者によるものですので、部会員の皆様には奮ってご参加いただき、最先端のバイオ化学をエンジョイしていただきますよう、お願い申し上げます。

## 研究紹介

# 発蛍光プローブによるタンパク質の無洗浄生細胞蛍光イメージング

大阪大学・大学院工学研究科<sup>1</sup>、免疫学フロンティア研究センター<sup>2</sup>、JST さきがけ<sup>3</sup> 堀 雄一郎<sup>1,3</sup>、菊地 和也<sup>1,2</sup>

## 1. はじめに

タンパク質の蛍光標識は、生細胞におけるタンパク質の局在や動態を解析するための有用な手法であり、生命科学の研究者にとって必須のものとなっている。なかでも、蛍光タンパク質は最も利用されているイメージングツールであり、蛍光タンパク質を融合タグとして用いることで生細胞中のタンパク質の挙動を容易に可視化することができる。一方、蛍光タンパク質は万能ではなく、タンパク質のサイズが大きいことや近赤外蛍光を十分な明るさで放つタンパク質がないため組織深部をイメージングできないことなどが解決すべき問題として挙げられる。

近年、これらの問題を解決するために、蛍光タンパク質に代わり化学のアプローチに基づく蛍光標識法の開発がなされている<sup>1</sup>。その手法は、合成蛍光プローブを用いることでタンパク質を生細胞イメージングするものであり、化学者の開発した新しいタンパク質の標識技術として大きく発展しつつある。特に、タンパク質との標識反応に伴い非蛍光性から蛍光性へと変化する発蛍光プローブを用いた方法は、タンパク質を高いS/N比で迅速にイメージングできることから脚光を浴びている<sup>2,3</sup>。本稿では、合成蛍光プローブを用いたタンパク質標識法について概説し、我々のグループにおける発蛍光プローブの開発研究について紹介する。

## 2. 合成蛍光プローブを利用したタグタンパク質標識法

合成蛍光プローブを用いた蛍光標識法では、生細胞中の標的タンパク質を標識するために、特定のリガンドと特異的に結合するタンパク質を標的タンパク質の融合タグ（タグタンパク質）として利用する（図1）。このタグタンパク質と標的タンパク質の融合タンパク質を細胞内で発現させ、タグタンパク質のリガンドと蛍光色素を連結した蛍光プローブをその発現細胞に添加する。その結果、リガンドとタグタンパク質の結合を介して、標的タンパク質を特異的に蛍光標識することができる。この手法の利点は、次の3点にまとめることができる。一点目は、特定のタイミングでタンパク質を蛍光標識できることから、パルスチェイス実験により詳細なタンパク質の挙動の解析が可能となることである。二点目は、蛍光色素部分を取り換えることで、近赤外蛍光色素を含めた様々な色素を蛍光プローブに導入できることである。三点目は、選択するタグタンパク質によっては、蛍光タンパク質よりも小さなサイズのものを用いることができることである。すでに、HaloTag<sup>4</sup>やSNAP-tag<sup>5</sup>、テトラスチンタグ<sup>6</sup>などのタグタンパク質（ペプチド）とそれらのプローブが市販化されており、生命科学研究に応用されつつある。

一方、これらのタグタンパク質の市販プローブの問題は、遊離の状態もしくは細胞内成分に非特異結合した状態で蛍光を発することである。このため、タグタンパク質に結合したプローブの蛍光を高いS/N比で検出するには、このような望ましくない蛍光成分を細胞の洗浄操作で取り除く必要がある。

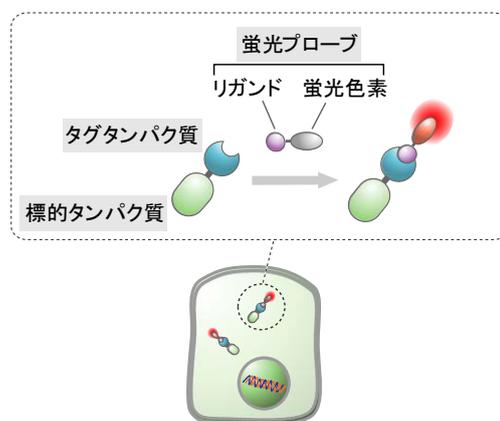


図1. 合成蛍光プローブとタグタンパク質を利用した蛋白質標識法

しかしながら、プローブの構造によっては、除去が困難な場合や洗浄に時間がかかり迅速なイメージングができないことがあるため、これらの問題を解決する新しい方法の開発が望まれていた。

### 3. PYP をタグタンパク質とした発蛍光プローブによるタンパク質標識法の開発

我々は、既存手法の問題を解決するため、遊離の状態では非蛍光性であり、タグタンパク質と結合することで蛍光強度を大きく上昇させる発蛍光プローブの開発に取り組んだ。この発蛍光プローブにより、細胞の洗浄操作を行うことなく迅速にタンパク質をイメージングすることを目指した。

まず、新しいタグタンパク質として紅色硫黄細菌由来の小蛋白質 Photoactive yellow protein (PYP)<sup>7)</sup>に着目した。PYP はリガンドである桂皮酸/クマリンのチオエステル誘導体と共有結合することが知られており<sup>8)</sup>、そのサイズは 14 kDa と蛍光タンパク質の半分の小ささであり、タグタンパク質として魅力的であるといえる。まず、発蛍光プローブとしてクマリンをリガンドとして蛍光色素のフルオレセインと連結した FCTP を設計・開発した (図 2)

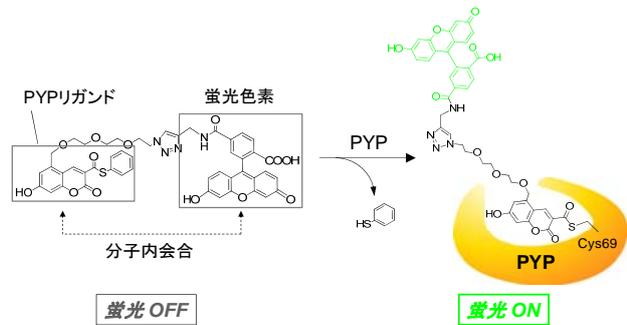


図 2. FCTP による PYP の発蛍光標識の原理

<sup>9)</sup>。以前の研究により、クマリンとフルオレセインを連結した分子は会合消光することが知られていることから<sup>10)</sup>、FCTP は、遊離状態では蛍光色素がリガンドと分子内会合し消光しているが、標識反応に伴い会合が解消されプローブの蛍光強度が上昇すると考えた。

FCTP と PYP を反応させ SDS-PAGE (変性ゲルを使用) で解析したところ、FCTP は PYP と共有結合することが示された (図 3a)。また、細胞溶解液中で同様の反応を行い、SDS-PAGE で解析したところ、PYP を示す位置から単一の蛍光バンドが確認できたことから、夾雑タンパク質が存在する条件においても、FCTP は PYP に特異的に結合することが示された (図 3b)。

実際に FCTP が発蛍光プローブであるかを蛍光スペクトルの測定により調べた (図 3c)。PYP 非存在下では、FCTP の蛍光強度は極めて低いのに対し、PYP との反応に伴い、その蛍光強度は約 20 倍上昇することが明らかとなった。以上の結果から、PYP の標識に伴い蛍光強度が上昇するプローブの開発に成功したことが示された。

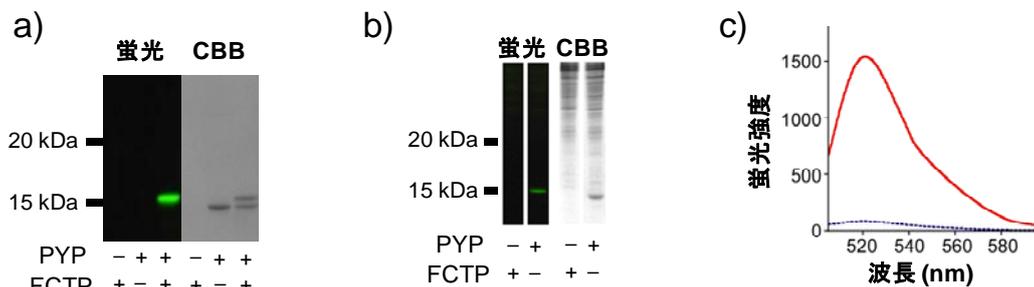


図 3. 発蛍光プローブ FCTP による PYP の標識反応 (a,b) FCTP による PYP の標識反応の SDS-PAGE による解析。左図は蛍光画像、右図は CBB 染色画像を示している。(a)は FCTP と精製した PYP の試験管内における標識反応であり、(b) は FCTP と PYP の細胞溶解液中における標識反応を示している。(c) PYP との結合に伴う FCTP の蛍光強度変化。実線は PYP と FCTP の反応後の蛍光スペクトルで、点線は FCTP のみの蛍光スペクトルである。

#### 4. タンパク質の無洗浄生細胞イメージングが可能なプローブの設計

このようにして、発蛍光プローブの開発に成功したわけであったが、細胞を洗浄することなく迅速にタンパク質をイメージングするには大きな問題があった。それは、反応速度が極めて遅いことであった。FCTP が PYP と完全に反応するのに 24 時間以上の時間を要し、無洗浄生細胞イメージングを達成するためには、反応速度の速いプローブの開発が新たに必要であることが分かった。

FCTP と PYP の結合速度が遅い理由として考えられることは、リガンド部位であるクマリンと色素部位であるフルオレセインの会合が、PYP との結合において立体障害を引き起こしていることである。このため、リガンドと色素が会合しない分子の設計が必要であるものの、プローブの発蛍光スイッチとして色素会合が必須である。そこで、発蛍光プローブを設計するうえで、PYP との結合反応に伴いリガンドからチオール化合物が脱離することに注目した。このチオール化合物に色素会合のための消光基を組み込むことで、標識反応前では、蛍光色素はリガンドではなく消光基と会合し非蛍光性となり、PYP との結合に伴う消光基の脱離によりプローブの蛍光強度が上昇する。この結果、発蛍光標識と反応速度の向上が同時に達成されると考えた (図 4)。設計のポイントとしては、種々の蛍光色素との動的・静的消光を引き起こすニトロベンゼンを消光基として採用したことと、色素とリガンドの $\pi$ - $\pi$ スタッキングを抑制するために、リガンド部位をクマリンから桂皮酸に変更したことである。これらの消光基及びリガンドとフルオレセインを色素として組み込んだプローブを FCANB と名付け合成した<sup>11)</sup>。

SDS-PAGE による解析から、FCANB は PYP と共有結合することが示され (図 5a)、細胞溶解液中においても、FCANB は PYP に特異的に結合することが明らかとなった (図 5b)。さらに、蛍光スペクトルを測定したところ、FCANB は遊離の状態では消光し、PYP との結合により蛍光強度を 15 倍上昇させた (図 5c)。これらの実験から、FCANB は PYP の特異的な発蛍光標識プローブであることが示された。実際に、プローブの反応速度が向上しているかを検討するために、二次速度定数  $k_2$  を決定した。その結果、FCANB の  $k_2$  は  $125 \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$  であり、

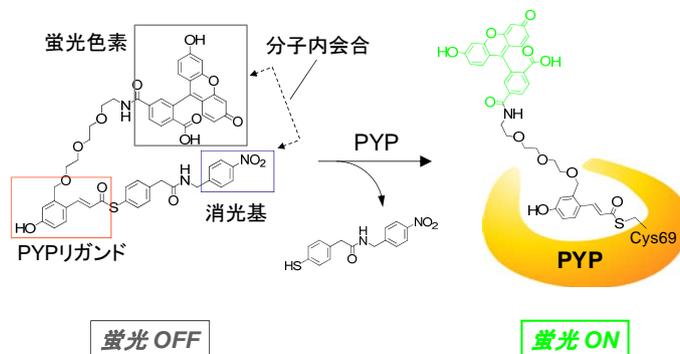


図 4. FCANB による PYP の発蛍光標識の原理

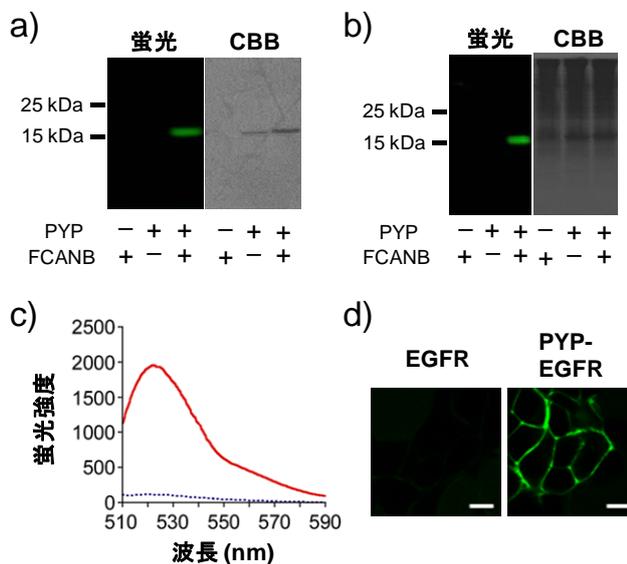


図 5. 発蛍光プローブ FCANB による PYP の蛍光標識。(a,b) FCANB による PYP の標識反応の SDS-PAGE による解析。左図は蛍光画像、右図は CBB 染色画像を示している。(a)は FCANB と精製した PYP の試験管内における標識反応であり、(b)は FCANB と PYP の細胞溶解液中における標識反応を示している。(c) PYP との結合に伴う FCANB の蛍光強度変化。実線は PYP と反応後の FCANB の蛍光スペクトルで、点線は FCANB のみの蛍光スペクトルである。(d) 細胞膜上に発現させた PYP 融合 EGFR の FCANB による無洗浄蛍光イメージング。左図と右図はそれぞれ EGFR のみを発現させた細胞と PYP 融合 EGFR を発現させた細胞の蛍光画像。 Scale bars = 10  $\mu\text{m}$ 。

FCTP ( $k_2=1.11$  ( $M^{-1}s^{-1}$ )) に比べ大きく反応速度が向上したこと (110 倍) が明らかとなった。

最後に、FCANB を用いて、生細胞に発現させた PYP 融合タンパク質を洗浄することなくイメージングすることができるかを検討した。PYP を EGFR (上皮成長因子受容体) と融合し細胞膜上に発現させ、プローブを添加後、細胞洗浄することなくそのまま共焦点蛍光顕微鏡により観察を行った。その結果、細胞内や培地からはほとんど蛍光が観測されなかったのに対し、細胞膜上から強い蛍光シグナルが観測された (図 5d)。以上により、プローブの反応速度を大きく向上させた発蛍光プローブを用いることで、生細胞上の PYP 融合タンパク質を洗浄することなく高感度に観測することができたとはいえる。

#### 4. おわりに

本研究では、蛍光色素の会合を利用した発蛍光プローブを設計・開発し、細胞膜上における PYP 融合タンパク質を洗浄操作を行うことなくイメージングすることに成功した。今後の課題は、細胞内タンパク質をイメージングできる発蛍光プローブを開発することである。今回のプローブは膜非透過性であるために、細胞内タンパク質の標識は困難であるが、分子構造を改変し膜透過性プローブを設計することで、この問題は解決されると考えている。

本手法は、タグタンパク質のサイズが小さく、発蛍光プローブによる無洗浄イメージングができるという利点を有しており、タンパク質の動態を迅速かつ高感度に解析するための有用なツールとなることが期待される。

#### 参考文献

- 1) Jing, C., Cornish, V. W. *Acc. Chem. Res.*, **44**, 784-792 (2011)
- 2) Mizukami, S., Watanabe, S., Akimoto, Y., Kikuchi, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 1623-1629 (2012)
- 3) Komatsu, T., Johnsson, K., Okuno, H., Bito, H., Inoue, T., Nagano, T., Urano, Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 6745-6751 (2011)
- 4) Los, G. V., Wood, K. *Methods Mol. Biol.*, **356**, 195-208 (2007)
- 5) Keppler, A., Gendreizig, S., Gronemeyer, T., Pick, H., Vogel, H., Johnsson, K. *Nat. Biotechnol.*, **21**, 86-89 (2003)
- 6) Griffin, B. A., Adams, S. R., Tsien, R. Y., *Science*, **281**, 269-272 (1998)
- 7) Kamiuchi, M., Hara, M. T., Stalcup, P., Xie, A., & Hoff, W. D. *Photochem. Photobiol.*, **84**, 956-969 (2008)
- 8) van der Horst, M. A., Arents, J. C., Kort, R., & Hellingwerf, K. J. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **6**, 571-579 (2007)
- 9) Hori, Y., Ueno, H., Mizukami, S., & Kikuchi, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 16610-16611 (2009)
- 10) Takakusa, H., Kikuchi, K., Urano, Y., Higuchi, T., & Nagano, T. *Anal. Chem.*, **73**, 939-942 (2001)
- 11) Hori, Y., Nakaki, K., Sato, M., Mizukami, S., Kikuchi, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 5611-5614 (2012)

## 研究紹介（講演賞受賞）

# 有機溶媒に溶ける DNA の構造と触媒機能 —有機溶媒中で機能する核酸—

理化学研究所・伊藤ナノ医工学研究室 阿部 洋

## 1. はじめに

生命現象において核酸分子は情報分子として機能する。一方、1980年代の初めにリボザイムが発見され、核酸が蛋白質酵素と同様な触媒機能を有することが明らかとなった。この発見を契機として、様々な機能を有するリボザイムが発見された。さらに、進化分子工学と呼ばれる人工的な手法でリボザイムを作り出す方法が報告され、天然には存在しない機能を有する RNA 触媒が作られるようになった。また、進化分子工学の手法により、触媒機能がないと思われていた DNA においても触媒機能が見出され、DNAzyme と命名された。2000年代になると、有機化学反応を触媒する核酸触媒が報告されるようになった。これまでに、酸化反応、ディールス・アルダー反応、アルドール反応などの有機化学反応触媒が報告されている。核酸分子触媒の利点は、進化分子工学的手法を用いて、原理的には望みの有機化学反応を触媒できる分子をテーラーメイドに獲得できる点である。筆者は、元々、（今も）有機化学を専門としてきたので、普通の有機化学者が使わない核酸触媒を有機合成反応に利用できないかと考えていた。しかしながら、核酸は水にしか溶けず、これまでは水溶液中で機能する核酸分子しか報告されていない。しかも核酸触媒の利用範囲は限定されている。そこで、我々はもし核酸が有機溶媒中で機能し、触媒機能を発揮することができれば、その利用範囲が大きく広がり、さらには有機合成のための分子触媒としての汎用性も高まると考えた。

## 2. 核酸分子をどのように有機溶媒に溶かすか？

核酸分子はリン酸基部分に負電荷を有するアニオン性ポリマーであり、ほとんどの有機溶媒に溶けない。文献を調べたところ、東工大の稲田先生らのグループがポリエチレングリコール（PEG）を修飾することで蛋白質を有機溶媒に可溶化する手法を報告していた。稲田らの方法にヒントを得て、PEG を DNA に化学修飾することで、DNA を有機溶媒に可溶化できると考えた。アミノ末端を有する 21 塩基の DNA を合成し、N-ヒドロキシコハク酸イミドで活性化された PEG(分子量 10,000)と反応させることで、PEG を DNA 末端にアミド結合で導入することができた（図 1）。PEG-DNA の各種有機溶媒に対する溶解性を検討したところ、クロロホルム、ジクロロエタン、ベンゼン、アセトニトリル、メタノール、エタノールなどに少なくとも 1mM まで溶解することを確認した。

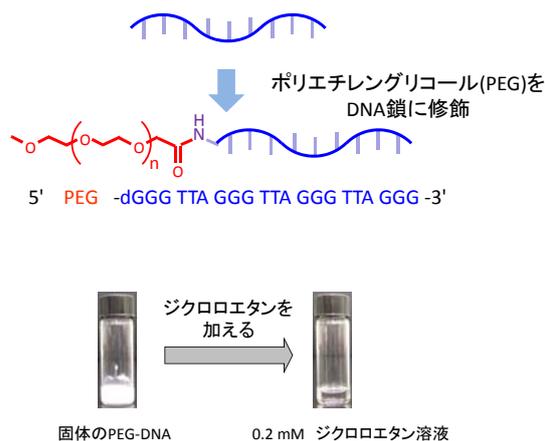


図 1 有機溶媒に溶ける核酸

### 3. 有機溶媒中における DNA の高次構造

水中で機能する核酸分子の高次構造は有機溶媒中でも保持されるだろうか？ 水中と有機溶媒中では分子間相互作用は劇的に変化することが予想される。例えば、静電相互作用や水素結合は有機溶媒中で強くなる。一方、疎水性相互作用や $\pi$ - $\pi$ スタッキングは弱くなることが予想される。そこで、DNA 構造で盛んに研究されているテロメア配列の G カルテット構造に着目し、有機溶媒中での構造解析を行った。ヒトテロメア配列である

Telomere: 5' PEG -d - GGG TTA GGG TTA GGG TTA GGG -3'  
Control: 5' PEG -d - GGA GTG TGT GTG AGG TGA GTG -3'

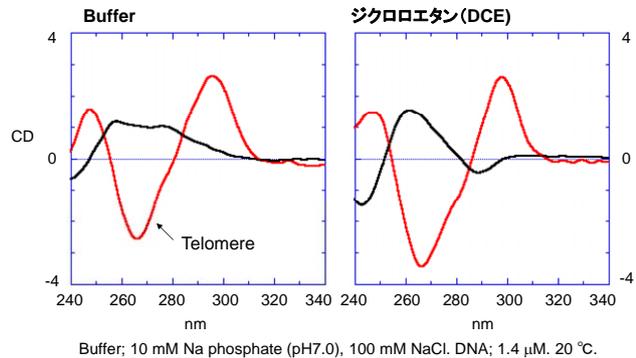


図2 水中と有機溶媒中の G カルテット構造の解析

21 塩基対の DNA は、水溶液中 Na イオン存在下でアンチパラレル型 G カルテット構造を形成することが報告されている。この構造は円偏光二色性測定法 (CD) を用いて解析できる。典型的なスペクトルは 265nm に負のコットン及び 290nm に正のコットンを示す (図 2)。そこで、同じ配列である PEG-DNA をジクロロエタン中に溶解させ CD スペクトルを解析したところ、水溶液中とほぼ同じスペクトルを与えた。このことは、非極性溶媒中でもほぼ同じ G カルテット構造が保たれることを意味した。さらに、PEG-DNA により形成された G カルテットの熱的安定性を水溶液中と有機溶媒中で評価した (図 3)。

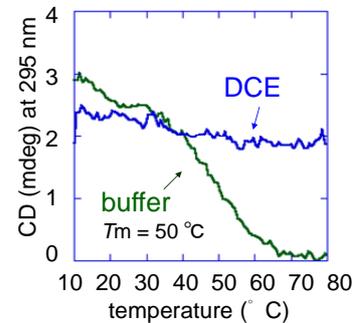


図3 ジクロロエタンと水中における G カルテット構造の熱安定性

その結果、G カルテット構造は水溶液中では 55 度付近で崩壊するのに対して、有機溶媒中では 80 度にしても安定であることが明らかになった。このことは、有機溶媒中で何らかの分子間相互作用が極めて強くなり G カルテット構造を安定化していることを意味する。

### 4. 有機溶媒中で働く核酸触媒

さらに、触媒能を有する DNAzyme が有機溶媒中でも機能するかを検討した。プロトポルフィリン鉄 (ヘミンとも呼ばれる) が G カルテットに結合した DNA-ヘミン複合体は DNAzyme として知られており、酸化触媒作用を示すことが報告されている (図 4)。この DNAzyme は水溶液中でルミノールを触媒的に酸化し、化学発光を起こすことができる。そこで、この DNAzyme が有機溶媒中で機能するかを検証した。G カルテットを形成する 6 塩基の PEG-DNA 及びヘミンをメタノールに溶解させ、ル

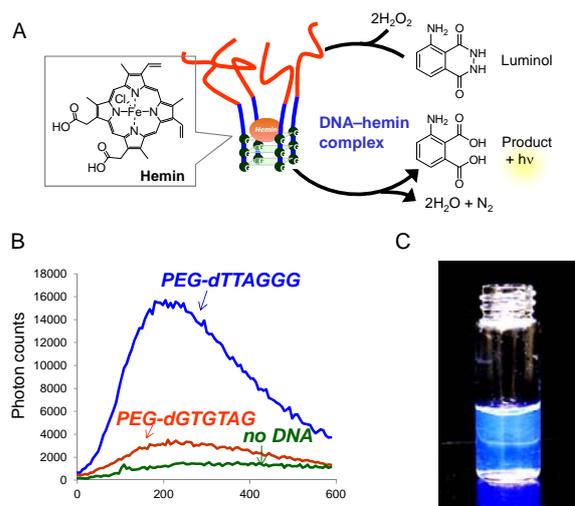


図4 有機溶媒中で働く DNAzyme. (A) DNAzyme の構造と触媒メカニズム、(B) メタノール中のルミノール発光の測定、(C) 発光写真

ミノールを添加すると化学発光が起こることが分かった。この発光は、G カルテット形成配列に特異的に起こることから、G カルテットにヘミンが結合した DNA-ヘミン複合体が触媒活性本体であることは明らかである。

## 5. おわりに

有機溶媒中において核酸分子が水溶液中と同様な高次構造を形成し、その高次構造由来の触媒活性を發揮することを明らかにできた。本手法は、核酸分子の特異な高次構造形成や触媒作用の分子機構を明らかにするための方法論になり得る。また、これまで実際には適用が難しかった核酸触媒の有機化学反応への利用を容易にすることができる。一方、この研究で用いた G カルテットや DNAzyme の高次構造は、水中での進化の過程で創製されたものである。それを PEG 化することで有機溶媒に溶かし、構造やその構造に由来する触媒活性が保たれることを見出したものである。そこで我々は、今、有機溶媒中で進化させ機能を獲得した PEG 化核酸分子を創製したいと計画中である。

## 謝辞

本研究は理化学研究所 伊藤ナノ医工学研究室の伊藤嘉浩主任研究員の有益なアドバイスの下、阿部奈保子修士、柴田綾博士、伊藤圭司修士、伊藤美香修士、實吉尚郎博士及び、東北大学薬学研究科田中好幸准教授との共同研究として行ったものである。以上の方々に感謝いたします。

## 参考文献

1. H. Abe, N. Abe, A. Shibata, K. Ito, Y. Tanaka, M. Ito, H. Saneyoshi, S. Shuto, Y. Ito, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012, 51, 6475-6479
2. D. Herschlag, J. A. Piccirilli, T. R. Cech, *Biochemistry* 1991, 30, 4844-4854
3. T. M. Tarasow, S. L. Tarasow, B. E. Eaton, *Nature* 1997, 389, 54-57;
4. R. R. Breaker, *Nature Biotechnology* 1997, 15, 427-431.
5. Y. Okahata, T. Kobayashi, K. Tanaka, M. Shimomura, *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 6165-6166
6. Y. Inada, H. Nishimura, K. Takahashi, T. Yoshimoto, A. R. Saha, Y. Saito, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984, 122, 845-850
7. H. Mita, T. Ohyama, Y. Tanaka, Y. Yamamoto, *Biochemistry* 2006, 45, 6765-6772
8. Wang Y and Patel DJ, *Structure* 1993, 1: 263-282

## 局在性リガンド：細胞機能制御のための新しい分子コンセプト

長岡技術科学大学 産学融合トップランナー養成センター 築地 真也

### 1. はじめに

細胞内の特定の蛋白質やシグナル伝達経路をコンディショナルに活性化あるいは不活性化することのできる小分子化合物（合成リガンド）は、細胞機能の解明や人工制御のための強力な分子ツールとなる。現在、ケミカルバイオロジーの分野において、さまざまな合成リガンドの開発が進められているが、従来からの暗黙の了解として、リガンド分子は細胞全体を拡散するものである（拡散させて使用するものである）と認識されている。拡散性リガンドの重要性について疑う余地はない。しかし、果たしてそれだけで十分だろうか？。細胞にはさまざまなオルガネラや区画化された領域が存在し、蛋白質はそれぞれが決められた場所に局在化している。シグナル伝達の過程では、非常に多くの蛋白質がその局在場所をダイナミックに変化させる。したがって、蛋白質の細胞内局在がその機能にとって重要であると同様に、合成リガンドの細胞内局在もその分子の細胞内特性を決める重要な因子であると考えられる。しかし、合成リガンドの開発研究においては、通常、化合物の標的蛋白質に対する親和性や特異性などが焦点となり、それらの細胞内局在に目を向けられることはほとんどない<sup>[1]</sup>。我々は、合成リガンドの細胞内局在を精密に制御することができれば、従来の拡散性リガンドでは実現できないユニークな新しい原理に基づいた生体機能制御や創薬が可能になるものと考えている。“合成リガンドの細胞内局在を制御する”というの、言い換えると、細胞内の特定のオルガネラや領域に選択的かつ自発的に局在化する合成リガンド（「局在性リガンド」）を創製するということである（図1）。現在、我々のグループでは、幾つかの方向性を見据えた『局在性リガンドの開発と生物応用研究』を展開している。本稿では、局在性リガンドの基本分子設計について概説し、その応用例の一つとして、最近開発した「局在性リガンドによるコンディショナルな蛋白質局在移行誘導システム<sup>[2]</sup>」について紹介させて頂く。

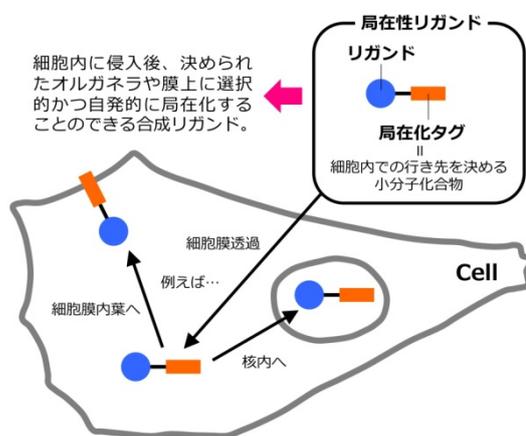


図1 局在性リガンドとモジュール設計の概念図

### 2. 局在性リガンドの基本分子設計

我々は、さまざまな合成リガンドの細胞内局在化に適用可能な汎用性のある分子設計基盤を確立したいと考えている。そこで、図1に示すようなモジュール設計を展開することにした。細胞内の標的となるオルガネラや膜領域に選択的に局在化（結合）することのできる小分子化合物を見出し、それを「局在化タグ」として対象リガンド分子に連結する。これにより、得られたリガンド誘導体はその局在化タグの標的部位に自発的に局在化するものと期待される。

### 3. 局在性リガンドによる蛋白質局在移行誘導

本研究では、大腸菌由来ジヒドロ葉酸還元酵素（eDHFR）の小分子阻害剤として知られるトリメトプリム（trimethoprim, TMP, 右図）を局在化の対象リガンドとして用いることにした。TMPはeDHFRに対して数ナノMの解離定数で結合する<sup>[3]</sup>。一方、哺乳類由来DHFRに対しては1000倍以上アフィニティが低いため、TMPは標準的な動物細胞中ではeDHFR選択的に結合する。



### 3-1. 核内

まず初めに、TMP の「核内」への局在化を試みた。核は遺伝情報の貯蔵庫であることを踏まえ、DNA 結合化合物を核への局在化タグとして利用してみることにした。具体的には、代表的な生細胞核染色剤である Hoechst 化合物を採用し<sup>[4]</sup>、これと TMP を連結した化合物 hoeTMP を設計・合成した(図 2A)。

ヒト子宮頸癌由来の HeLa 細胞を用いて hoeTMP の細胞内局在化能を評価した。hoeTMP を細胞培養液に添加し、37°C で 1 時間インキュベーション後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて Hoechst 由来の蛍光を観察した。その結果、hoeTMP は核内に選択的に局在化することが確認された(図 2D)。

次に、緑色蛍光蛋白質をフュージョンした eDHFR (eDHFR-GFP) 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。添加前の状態では、eDHFR-GFP は(核質も含め)細胞質全体に分布していた(図 2E)。そこへ hoeTMP を添加すると、蛍光の分布が大きく変化し、緑色蛍光が核内に集まっている様子が確認された(図 2F)。この結果は、hoeTMP はそれ自身が核局在化するだけでなく、その結合蛋白質である eDHFR-GFP を細胞質から核内(正確にはクロマチンの DNA 上)に連行し、そこにアンカリングすることが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蛋白質の局在移行を誘導できることが明らかとなった。

### 3-2. 微小管

局在性リガンドによる蛋白質局在制御の一般性を確認するために、TMP を別のオルガネラに局在化させることを試みた。次に狙ったのは、細胞骨格の一つである「微小管」である。微小管はチューブリン蛋白質が重合することでできた繊維状構造体である。そこで、重合チューブリン結合性の薬剤として知られるタキソール(taxol)を微小管に対する局在化タグとして採用し<sup>[5]</sup>、これと TMP を連結した化合物 taxTMP を設計・合成した(図 2B)。先ほどと同様に、eDHFR-GFP 発現 HeLa 細胞に対して

taxTMP を添加したところ、細胞質全体に分布していた eDHFR-GFP が微小管上に集積することが確認された(図 2G)。また、taxTMP を用いて eDHFR-GFP を微小管に移行させた後、フリーの TMP を添加することで、eDHFR-GFP を細胞質に再度戻すことも可能であった(データ非掲載)。したがって、本システムでは、局在性 TMP リガンドとフリーの拡散性 TMP の二種類の化合物を用いることで、生細胞内の蛋白質の局在を可逆的に制御することも可能である。

### 3-3. 細胞膜内葉

更に我々は、細胞膜の裏側(細胞質側)となる細胞膜内葉(the inner-leaflet of the plasma membrane, iPM)に局在化する TMP リガ

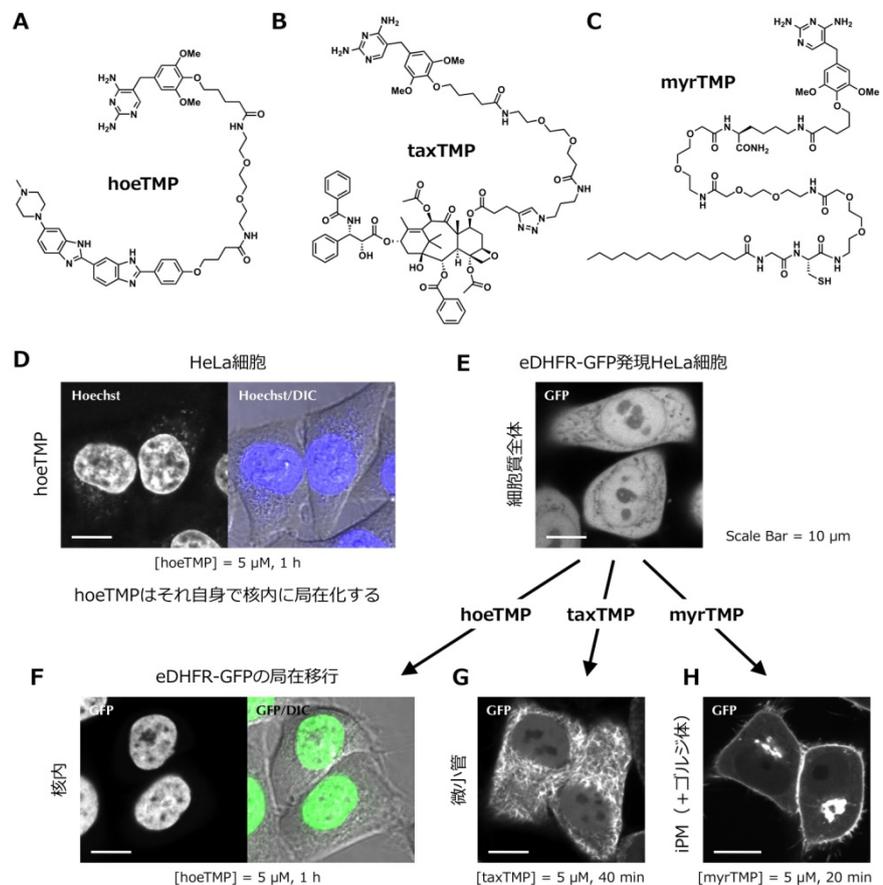


図2 局在性TMPリガンド群の分子構造とeDHFRの局在移行誘導

ドの創製に挑戦した。iPM に局在化することが知られている Lyn キナーゼの N 末端脂質化モチーフからミリスチン酸-グリシン-システイン (MyrGC) 骨格を抽出し<sup>[6]</sup>、これを iPM 局在化タグとして用いてみることにした。この MyrGC タグは、ゴルジ体表面で Cys 側鎖にパルミトイル基が修飾され、その後、iPM に移行・局在化する。これまでと同様のモジュール設計に従って、myrTMP を設計・合成した (図 2C)。eDHFR-GFP 発現 HeLa 細胞に myrTMP を添加したところ、eDHFR-GFP が細胞質から iPM へと移行することが確認された (図 2H：一部ゴルジ体への局在化も見られる)。本系は、局在移行のスピードも早く、5  $\mu$ M の myrTMP 使用時には、およそ 10 分程度で局在移行が完結する。

#### 4. 局在性リガンドを Input とする合成シグナル伝達経路の生細胞内構築

細胞内には非常に多くのシグナル伝達経路が存在する。通常の生理的刺激は多数のパスウェイを同時に活性化するため、このことが細胞機能の作用機序解明研究を難しくしている。細胞内の特定のシグナル伝達経路やシグナル分子を選択的かつ人工的に活性化することができれば、個々のパスウェイと細胞機能の関係を詳細に解析するための強力な手法となりうる。そこで我々は、上述の蛋白質局在移行誘導システムを拡張し、局在性リガンドを Input として活性化することのできる合成シグナル伝達経路を生細胞内に組み込むというを試みた。

今回 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<sup>[7]</sup>。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、細胞質に存在する。細胞が (増殖因子などの) 刺激を受けると、PI3 キナーゼの作用によってイノシトールリン脂質の PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> が産生し、これに応答して Akt は iPM 上へ移行する。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活性化し、下流経路を活性化する。本研究では、Akt の PH ドメインを eDHFR に置換し、更に蛍光観察用に YFP を融合した改変型 Akt コンストラクト YD-Akt<sub>KD</sub> を設計した (図 3A)。そして、myrTMP を用いて YD-Akt<sub>KD</sub> の iPM 局在移行と活性化を誘導可能なシステムを構築することを試みた。

マウス繊維芽細胞 NIH3T3 に YD-Akt<sub>KD</sub> を発現させ、myrTMP 添加前後での蛍光イメージングを行った。その結果、myrTMP の添加によって YD-Akt<sub>KD</sub> が細胞質から iPM へ移行することが確認された (データ非掲載)。そこで次に、Akt 経路の活性をウエスタンブロッティングにより詳細に解析した (図 3B)。レーン 1 と 2 の比較から、myrTMP の添加によって YD-Akt<sub>KD</sub> のリン酸化が誘導されることが示された。更に、このリン酸化 (=活性化) に伴って、内在性下流基質であるグリコーゲン合成酵素キナーゼ (GSK) のリン酸化レベルも上昇していた。myrTMP は内在性 Akt のリン酸化は誘導しないことも確認された。

一方、通常の血清での刺激を行ったところ (レーン 4)、内在性 Akt はリン酸化されるのに対して、YD-Akt<sub>KD</sub> は全く応答しなかった。以上の結果は、myrTMP によってのみ活性化されるセンセティックな Akt 経路を生細胞内に構築できたことを示している。

iPM はシグナル伝達の最も重要な場の一つであり、Akt 以外にもさまざまなシグナル伝達経路がここで活性化される。我々は

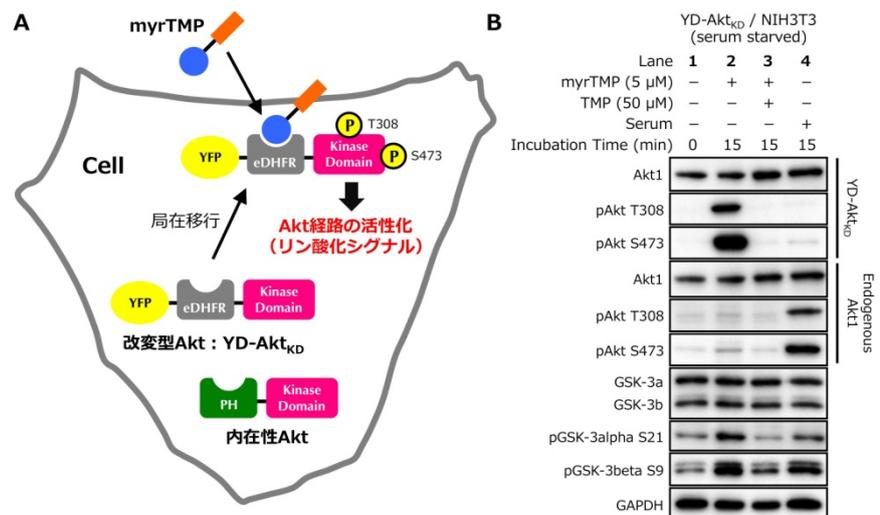


図3 myrTMPによる合成Akt経路の選択的活性化

この他にも、myrTMP と蛋白質工学を組み合わせることで、PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> の産生、内在性 Rac の活性化と細胞運動、内在性 Ras/MAPK 経路の活性化を誘導することのできる合成シグナル伝達システムを構築することに成功している。本手法は、iPM 上で進行するさまざまなシグナル伝達プロセスを人工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。

## 5. おわりに

本稿では、我々が現在進めている局在性リガンドプロジェクトの成果の一部を紹介させて頂いた。今回、局在性リガンドを用いることで、蛋白質の局在移行を誘導できることが明らかとなった。従来の認識では、蛋白質の局在がそのリガンド分子の局在を決める。つまり、細胞質蛋白質に対するリガンドは（その標的蛋白質との結合により）細胞質に局在化し、核内蛋白質に対するリガンドは核内に局在化する。一方、本研究からのメッセージは、その逆も可能であるということである。リガンド分子が明確な細胞内局在性を示せば、標的蛋白質の局在を（その標的蛋白質が拡散移動できる範囲で）変えたり決めたりすることができる。したがって、局在性リガンドによる蛋白質局在制御の原理を応用することで、今後さまざまな新規の細胞機能制御システムや薬剤を開発できるであろう。

局在性リガンドの分子コンセプトを発展させるためには、合成リガンドをさまざまなオルガネラや細胞内領域に選択的に配置するための「小分子局在化タグ」を拡充する必要がある。リガンドに限らず、合成化合物を細胞内の特定部位に局在化させるためのケミストリーというのはまだ極めてプリミティブな段階にある。具体的に言うと、細胞表面（脂質などを用いる）とミトコンドリアの中（ホスホニウムカチオンなどを用いる）については、現時点で割と容易に狙うことができる。しかし、狙えない場所の方が圧倒的に多い。我々は、今後、新規の局在化タグとなる分子構造を探索・開発し、リガンド化合物だけでなく、蛍光プローブなどのさまざまな合成分子ツールを細胞内の狙ったオルガネラ上に精密に配置するための分子基盤（細胞内分子局在化学）を確立していきたいと考えている<sup>[8]</sup>。

## 謝辞

本研究は、京都大学大学院工学研究科の浜地格教授のもとで立ち上げ、現所属先にて鋭意展開しているものです。浜地先生には、学生時代から現在に至るまで（そしてこれからも）多大なる御支援と御指導を頂いており、ここに厚く御礼申し上げます。また、本研究の実験を進めて頂いた当研究室の石田学博士、渡部秀章氏、滝川和正氏、および浜地研究室の栗下泰孝氏に深く感謝致します。本研究は、科研費（23651214）および中島記念国際交流財団からの研究助成のもと行われました。

## 参考文献等

- [1] 既存の薬剤を標的蛋白質の局在場所へターゲティングしようとする試みがこれまでに報告されているが（L. Rajendran *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, *9*, 29-42.）、まだ大変限られたものである。
- [2] M. Ishida, H. Watanabe, K. Takigawa, Y. Kurishita, I. Hamachi, S. Tsukiji, *submitted*.
- [3] L. W. Miller, Y. Cai, M. P. Sheetz, V. W. Cornish, *Nat. Methods* **2005**, *2*, 255-257.
- [4] フェノール性水酸基を介して Hoechst 色素に別の分子をコンジュゲートした化合物がこれまでに報告されている（例えば、M. Dasari *et al.*, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3300-3303）。しかし、それらの Hoechst 誘導体が生細胞の核内に局在化するかどうかを評価した論文はこれまでにない。
- [5] R. K. Guy, Z. A. Scott, R. D. Sloboda, K. C. Nicolaou, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 1021-1031.
- [6] S. P. Creaser, B. R. Peterson, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2444-2445.
- [7] B. D. Manning, L. C. Cantley, *Cell* **2007**, *129*, 1261-1274.
- [8] 我々は、今回紹介した Hoechst タグを用いることでさまざまな核局在性蛍光プローブを開発することにも成功している。

## 新規赤色蛍光団 TokyoMagenta 類の開発とその応用

東京大学大学院薬学系研究科 花岡 健二郎

### 1. はじめに

我々生物を構成する細胞の内側では、様々な種類のタンパク質や金属イオンなどの無数の分子がその濃度、局在、活性を連続的に変化させ、細胞の機能/恒常性を制御している。つまり、それら分子の協奏によって、個々の細胞は情報処理、伝達を行い、アポトーシスなどの様々な生体応答を引き起こしている。そのため、細胞内におけるそれら生体分子の挙動を継時的に時々刻々と解析することは生物学研究において重要な課題であり、現在に至るまでに多くの研究が行われてきた。そのなかでも、蛍光分子や蛍光タンパク質を用いたイメージング技術は細胞内における様々な生体分子の挙動をリアルタイムに観察する手法として非常に有効であり、今日の生命科学研究の進展に大きく貢献している。我々は近年、さらに高度な蛍光イメージングを可能とすべく、有機小分子を基礎とした新たな蛍光団の開発とその応用に取り組んでおり、本稿ではその研究内容について紹介させて頂く。

### 2. 赤色蛍光を有するフルオレセイン類似蛍光色素 TokyoMagenta 類の開発

蛍光イメージングにおいて、蛍光団を特定の標的分子を検出できるようにセンサー化した化合物、すなわち、蛍光プローブが汎用されており、有機小分子をもととした蛍光プローブの蛍光団母核としては、「フルオレセイン」という緑色蛍光色素が特に汎用されている。これはフルオレセインが、高い水溶性、高い蛍光量子収率、確立した蛍光制御機構など蛍光プローブの蛍光団母核として多くの長所を有しているためである。例えば、生細胞染色に用いられている Calcein AM や、カルシウムプローブ Fluo-3、Fluo-4 などはフルオレセインを蛍光団母核として用いた蛍光プローブの代表例であり、実際に

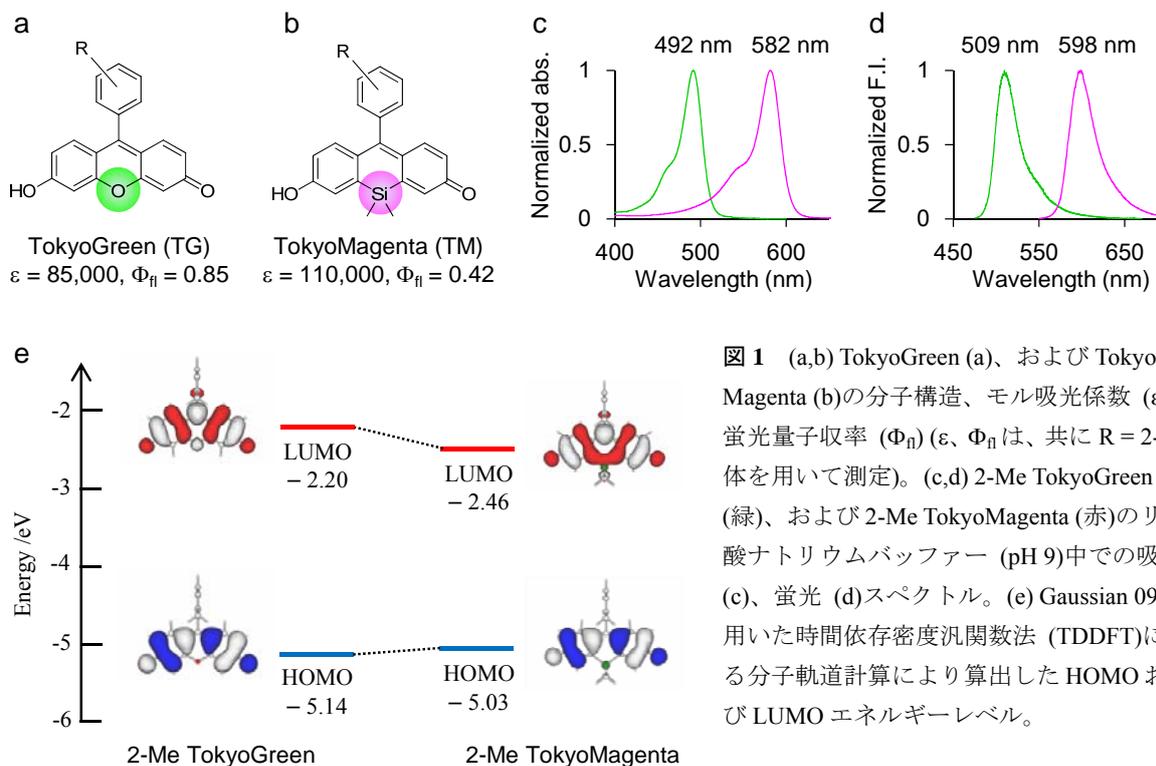


図1 (a,b) TokyoGreen (a)、および TokyoMagenta (b)の分子構造、モル吸光係数 ( $\epsilon$ )、蛍光量子収率 ( $\Phi_f$ ) ( $\epsilon$ 、 $\Phi_f$ は、共に R = 2-Me 体を用いて測定)。(c,d) 2-Me TokyoGreen (緑)、および 2-Me TokyoMagenta (赤)のリン酸ナトリウムバッファー (pH 9)中での吸収 (c)、蛍光 (d)スペクトル。(e) Gaussian 09 を用いた時間依存密度汎関数法 (TDDFT)による分子軌道計算により算出した HOMO および LUMO エネルギーレベル。

現在、多くの生物学研究に応用されている<sup>1,2</sup>。このようなフルオレセイン骨格を用いて開発された蛍光プローブは生物学研究に必要不可欠なものとなっているが、それらは全て緑色光の波長領域に蛍光波長を有するため、例えば、汎用される緑色蛍光タンパク GFP を発現させた細胞、動物に応用することや、他の緑色蛍光プローブとの共染色を行うことは不可能である。そこで我々は、フルオレセインの蛍光プローブの蛍光団母核としての優れた特性を保持したまま、長波長蛍光を有する新たな蛍光団を開発し、それによってマルチカラーイメージングなど蛍光イメージングの可能性をさらに大きく広げることを目指した。このような蛍光波長を赤色光や近赤外光の波長領域へと移動させることで、同時に自家蛍光を低く抑え、かつ、高い組織透過性をも得ることができる。

長波長蛍光を有するフルオレセイン類似色素を、フルオレセインにおけるキサンテン環の 10 位 O 原子を他の原子に置換することにより開発することを試みた。これまでに、キサンテン環上の $\pi$ 共役系近傍に Si-Me 結合が存在することで、キサンテン環上の $\pi^*$ 軌道および、Si-Me 結合の $\sigma^*$ 軌道とが結合性相互作用をし、LUMO が安定化することが報告されている<sup>3,4</sup>。これをもとに、我々は 10 位 Si 置換フルオレセイン類 TokyoMagenta (TM) の設計、開発を行った (図 1a,b)<sup>5</sup>。その結果、狙い通りに水溶液中での TM の吸収波長、蛍光波長が共に、フルオレセイン誘導体である TokyoGreen (TG) と比較して 90 nm もの大きな長波長化を示した (図 1c,d)。さらに、分子軌道計算によって TM、TG の HOMO および LUMO エネルギーレベルを計算したところ、TG と比較して TM の LUMO エネルギーレベルは大きく低下しており、この LUMO エネルギーレベルの安定化が波長変化の主な要因であると考えている (図 1e)。

### 3. $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性検出蛍光プローブの開発

光学特性を精査する中で、TM に特徴的な光学特性を見出した。TG および TM には pH 依存的にアニオン型、ニュートラル型の平衡が存在し、アニオン型は強蛍光性、ニュートラル型は弱蛍光性を示す (図 2a)。それら構造変化に伴う最大吸収波長の変化は、TG では 53 nm であるのに対し、TM では 111 nm と非常に大きな値を示した (図 2b)。この実験結果から、キサンテン環の酸素原子上の構造変化

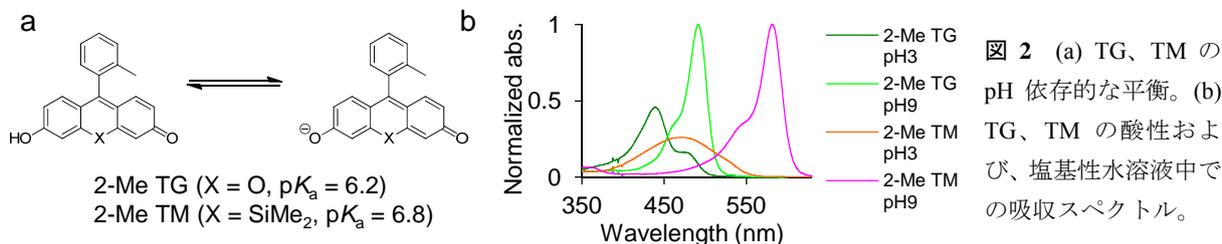


図 2 (a) TG、TM の pH 依存的な平衡。(b) TG、TM の酸性および、塩基性水溶液中での吸収スペクトル。

をスイッチとすることで、高い S/N を示す蛍光プローブの開発が可能であると考えた。つまり、ニュートラル型と酸素原子がアルキル化された化合物とが類似の光学特性を有すると推測し、例えば、アルキル化された TM 誘導体が標的分子とする特定の酵素などにより脱アルキル化を受けることでアニオン型の TM が生成し、その際、アニオン型のプローブ分子のみが励起されるよう励起波長を適切に選択することで、大きな蛍光強度上昇が実現できると考えた。実際に、この蛍光プローブの分子設計戦略が可能であるか検証するため、我々は $\beta$ -ガラクトシダーゼの基質となる蛍光プローブ、2-Me TM  $\beta$ gal の設計、開発を行った (図 3a)。2-Me TM  $\beta$ gal の吸収スペクトルは 2-Me TM のニュートラル型のスペクトルと類似しており、 $\beta$ -ガラクトシダーゼとの酵素反応により吸収波長は大きなレッドシフトを示した (図 3b)。さらに、アニオン型での最大吸収波長によりプローブ分子を選択的に励起することで、酵素反応前後での大きな蛍光強度上昇を実現した (図 3c)。このように励起波長を適切に選択することでアニオン型のプローブ分子を選択的に励起することができたのは、アニオン型とニュートラル型の 111 nm もの非常に大きな吸収波長の変化に因るものである。さらに、2-Me TM  $\beta$ gal を HEK293  $\beta$ -ガラクトシダーゼ高発現細胞 (lacZ+) および非発現細胞 (lacZ-) にロードしたところ、高発現細胞からのみ強い蛍光が観察された (図 3d,e)。これまでに TG を母核とした $\beta$ -ガラクトシダーゼプローブも報告

されているが、これはベンゼン環部位の酸化電位を厳密に制御し光誘起電子移動によって蛍光強度の大きな変化を実現している<sup>6</sup>。そのため、TG を用いたプローブではベンゼン環部位の分子構造が大きく制限されている。一方で TM を用いた波長変化型プローブでは、ベンゼン環部位の酸化電位の厳密な制御が不必要であり、水溶性官能基や細胞内局在制御構造などをベンゼン環部位へと付与できるため、様々な目的に応じた自由度の高い分子設計が可能であり、より個々の研究目的に適合した蛍光プローブの開発が可能であると考えている。

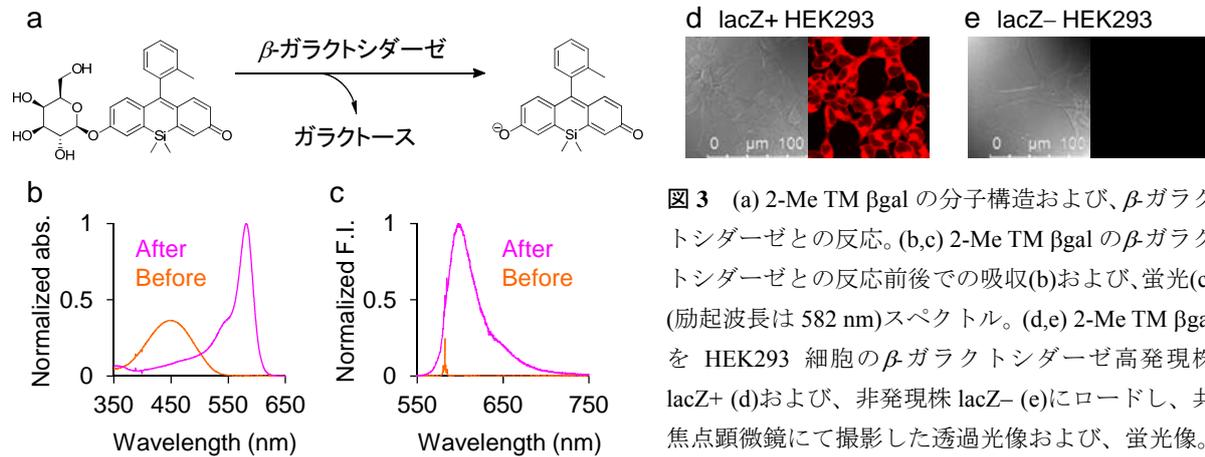


図3 (a) 2-Me TM βgal の分子構造および、β-ガラクトシダーゼとの反応。(b,c) 2-Me TM βgal のβ-ガラクトシダーゼとの反応前後での吸収(b)および、蛍光(c) (励起波長は 582 nm) スペクトル。(d,e) 2-Me TM βgal を HEK293 細胞のβ-ガラクトシダーゼ高発現株 lacZ+ (d) および、非発現株 lacZ- (e) にロードし、共焦点顕微鏡にて撮影した透過光像および、蛍光像。励起波長、検出波長はそれぞれ 580 nm、600-620 nm。

#### 4. 細胞質における Ca<sup>2+</sup> をモニターする蛍光プローブの開発

カルシウムイオン(Ca<sup>2+</sup>)は生体の重要なセカンドメッセンジャーとして多くの生命現象に関与し、特に細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度変動は様々な生体応答を惹起している。そのため、細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度変動の可視化は、蛍光イメージングの分野において最も注目されている研究領域の一つとなっている。現在、緑色蛍光を有する Fluo-3 や Fluo-4 などの Ca<sup>2+</sup>蛍光プローブが広く用いられているが、長波長を有する Ca<sup>2+</sup>プローブは限定的な応用に留まっている。例えば、赤色蛍光を有する Ca<sup>2+</sup>プローブで最も有名な Rhod-2 は、そのカチオン性のためミトコンドリアに局在しやすい特性があり、主にミトコンドリアにおける Ca<sup>2+</sup>イメージングに用いられているが、細胞質における Ca<sup>2+</sup>の挙動解析には適していない。一方で、細胞質における Ca<sup>2+</sup>はセカンドメッセンジャーとして多くのタンパク質に作用し、その濃度変動が様々な生体応答を引き起こすため、その可視化は非常に重要である。そこで我々は、TM を用いて幅広い応用が可能な細胞質 Ca<sup>2+</sup>をモニターできる蛍光プローブの開発を試みた。Ca<sup>2+</sup>選択性の高いキレーター、BAPTA (1,2-bis(*o*-aminophenoxy)ethane-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid) 構造と TM を用いた Ca<sup>2+</sup>プローブ CaTM-1、さらに蛍光団に塩素原子を導入することで CaTM-1 の Ca<sup>2+</sup>濃度依存的な蛍光強度変化を改善したプローブ CaTM-2 を開発した (図 4)。塩素原子導入により蛍光強度変化が改善した理由は、塩素

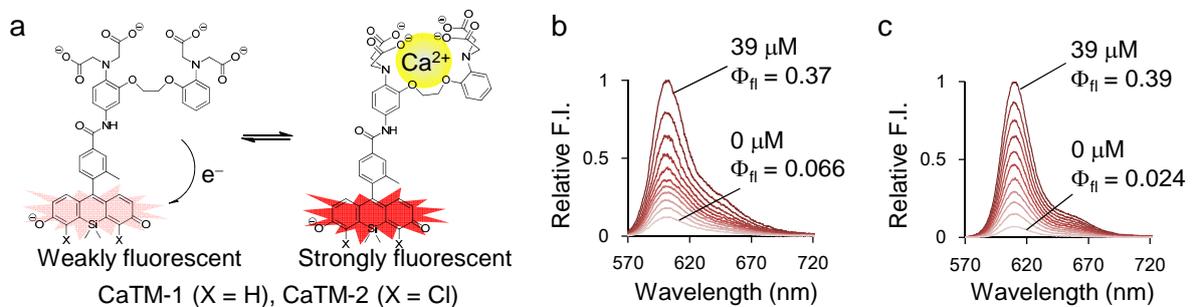


図4 (a) 新規赤色カルシウムプローブ CaTM-1 および CaTM-2 の分子構造と、Ca<sup>2+</sup>が配位することによる蛍光強度変化の模式図。(b,c) CaTM-1 (b) および CaTM-2 (c) の Ca<sup>2+</sup>依存的な蛍光スペクトル変化。励起波長は 550 nm。

原子が蛍光団の HOMO エネルギーレベルを低下させ、 $\text{Ca}^{2+}$ 非存在下において光誘起電子移動による蛍光の消光効率が上がったためと考えている。さらに、CaTM-2 の細胞膜透過性体 CaTM-2 AM を合成し、これを用いることで HeLa 細胞におけるヒスタミン刺激による細胞質  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変動の可視化に成功した (図 5 a-c)。一方、Rhod-2 AM は同様の実験を行った結果、ミトコンドリアにおける  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変動を可視化した (図 5 d-f)。また、CaTM-2 AM の生物学研究における更なる有用性を示すため、ラット脳スライス切片へと応用した結果、神経細胞の活動を発火に伴った細胞質  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変動として捉えることに成功した (図 6)。

## 5. おわりに

複数の蛍光プローブを同時に用いるマルチカラーイメージングは、複数の生体分子の同時解析や、細胞種、細胞内小器官など同定した上でのイメージングなどに有用とされる。蛍光プローブの蛍光団母核として汎用されているフルオレセインを、その分子構造の多くを保存したまま長波長化した新規赤色蛍光団 TokyoMagenta は、マルチカラーイメージングの可能性を大きく広げることが期待される。本稿では具体的に、 $\beta$ -ガラクトシダーゼプローブ、カルシウムプローブの開発を紹介したが、これらの蛍光制御原理を用いることで、フルオレセインを母核とした他の緑色蛍光プローブも赤色領域にて再現できると考えている。今後、本研究によって生物学研究の進展に大きく貢献していきたい。

## 6. 謝辞

本研究は東京大学大学院薬学系研究科、薬品代謝化学教室、長野哲雄教授の研究室で行った研究成果であり、長野教授には特段の感謝の意を表します。また、実験を遂行してくれた江川堯寛氏および、脳神経カルシウムイメージングの実験に関し共同研究致しました、同研究科、薬品作用学教室、松木則夫教授、池谷裕二准教授、分子軌道計算に関し共同研究致しました、同研究科、基礎有機化学教室、内山真伸教授、吉田健吾博士に深く御礼を申し上げます。

## 7. 参考文献

1. J. P. Y. Kao, A. T. Harootunian, R. Y. Tsien, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 8179–8184.
2. I. Johnson, M. T. Z. Spence, Ed. *The Molecular Probes® Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies 11th Ed.* Molecular Probes, Inc. **2010**.
3. S. Yamaguchi, K. Tamao, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1998**, 3693–3702.
4. M. Fu, Y. Xiao, X. Qian, D. Zhao, Y. Xu, *Chem. Comm.*, **2008**, 1780–1782.
5. T. Egawa, Y. Koide, K. Hanaoka, T. Komatsu, T. Terai, T. Nagano, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 4162–4164.
6. Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose and T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 4888–4894.

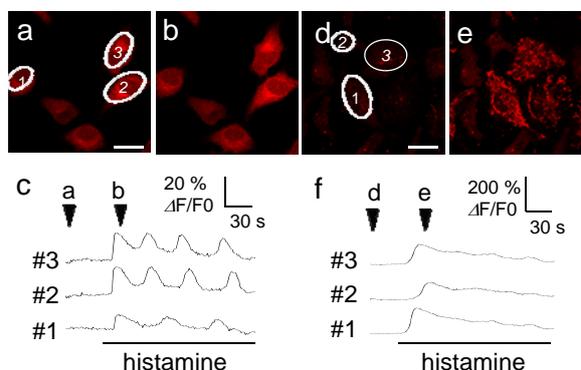


図 5 (a-c) CaTM-2 AM を HeLa 細胞にロードし、ヒスタミン刺激を行った時の蛍光像 (a,b) および、蛍光強度の時間変化 (c)。 (d-f) Rhod-2 AM を用いて(a-c)と同じ実験を行った結果。

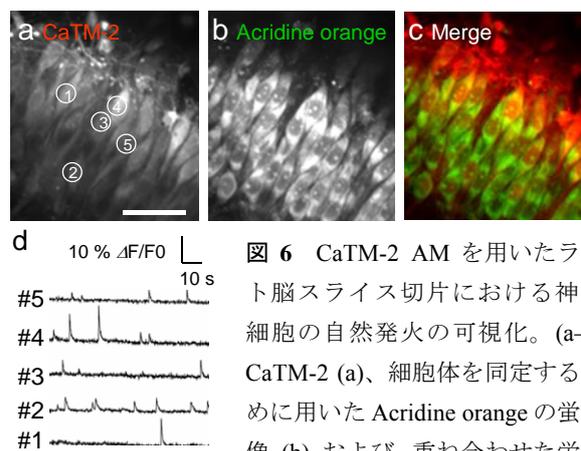


図 6 CaTM-2 AM を用いたラット脳スライス切片における神経細胞の自然発火の可視化。 (a-c) CaTM-2 (a)、細胞体を同定するために用いた Acridine orange の蛍光像 (b) および、重ね合わせた蛍光像 (c)。 (d) CaTM-2 の蛍光変化。

## 研究紹介（講演賞受賞）

# 生体内代謝プロセスの多重共鳴 NMR モニタリングと 多重共鳴 MRI に展開可能な高感度化分子プローブの開発

京都大学 学際融合教育研究推進センター先端医工学研究ユニット 山田 久嗣

## 1. はじめに

生体内では酵素反応や代謝反応など様々な化学反応が集積し、一連の生体反応を構成している。これら生体内での化学反応プロセスを「その場」で、「そのままの状態」で追跡する手法の開発は生体機構や発病機構の解明に大きく寄与する。その手法として、観たい反応基質である”分子プローブ”を駆使した生体イメージング技術が期待されており、代表的なものとして、蛍光分子を用いる蛍光イメージング法、放射性同位元素を用いるポジトロン断層（PET）法、安定同位元素を用いる核磁気共鳴（NMR）法などが精力的に研究されている。とりわけ、NMR 技術は低侵襲かつ個体深部の観察に優れるため、水の緩和過程を測定する磁気共鳴イメージング（MRI）として臨床現場で利用されている。一方で、NMR 法（ $^1\text{H}$  NMR だけでなく他核 NMR も含めて）は、観たい分子の出現・消失プロセスの観測だけでなく、分子の構造変化も直接観測できる点で、原理的に他のイメージング技術と一線を画する。生体内で”分子プローブ”そのものを NMR 観測できれば、生体深部での化学プロセスを低侵襲で観測できる非常に有用なイメージング技術になるだろう。しかし、 $^1\text{H}$  核（水の  $^1\text{H}$  核）を観測する通常の MRI では、生体内に膨大に存在する水や脂質の  $^1\text{H}$  核の中から、”分子プローブ”のシグナルを選択的に検出することは極めて困難である。そこで我々は、”分子プローブ”を選択的に観測できる  $^1\text{H}$  NMR 技術として「多重（三重）共鳴法」に着目して研究を進めている。

本稿では、この手法を応用してピリミジン系抗がん剤の副作用発現に関連するウラシル異化代謝反応を基質/代謝物選択的に追跡した研究結果と、多重（三重）共鳴 MR イメージングへの展開を目指した高い選択性と高い感度を有する新しい分子プローブとして、安定同位元素を集積化した生体適合性高分子タグの開発に向けた取り組みについて紹介したい。

## 2. 多重共鳴 NMR 法について

多重共鳴法は、異なる Larmor 周波数をもつ核の間で磁化（コヒーレンス）を移動させる手法であり、主にタンパク質や核酸の高次構造解析の分野で広く用いられてきた<sup>1)</sup>。この手法を MRI に応用した先駆的な例として、 $^1\text{H}$ - $\{^{13}\text{C}\}$  HMQC（Hetero Nuclear Multiple Quantum Coherence）MRI を用いて  $^{13}\text{C}$ -グルコースの *in vivo* イメージングに成功した研究<sup>2)</sup>があるが、我々は更なる選択性の向上を目指して  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$  配列をターゲットとする三重共鳴法に焦点をあてた<sup>3-6)</sup>（もちろん、三重共鳴法はこの配列に限定されない。 $^1\text{H}$ - $\{^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}\}$  三重共鳴法の例は文献を参照されたい<sup>7-9)</sup>）。

$^1\text{H}$ - $\{^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}\}$  三重共鳴法は、 $^1\text{H}$  核の磁気共鳴シグナルを隣接した  $^{13}\text{C}$  核、さらに  $^{15}\text{N}$  核へと磁化移動させ、最終的にそれを  $^1\text{H}$  核へと戻してシグナルを観測する（図1）。いわゆる、異種核の *J* カップリングを介して磁化移動が起こる INEPT（Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer）法を応用したものである。生体内には様々な炭素・窒素含有化合物が存在するが、天然存在比（ $^1\text{H}$ : 100%,  $^{13}\text{C}$ : 1.1%,  $^{15}\text{N}$ : 0.37%）を考慮すると  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$  という化学結合は生体内に極わずかである（天然存在比率: 0.004%）。従って、安定同位元素である  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  核を配置した分子プローブを設計・合成し、それを三重共鳴法により解析すれば、生物由来の膨大な夾雑物の中から、分子プローブ由来の  $^1\text{H}$  核（ $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$  配列の  $^1\text{H}$  核）を高選択的に観測することができる。

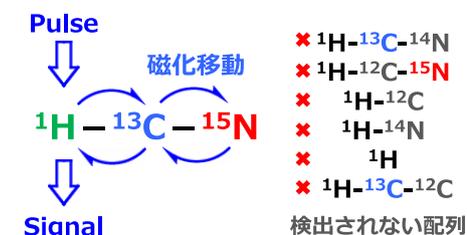


図1  $^1\text{H}$ - $\{^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}\}$  三重共鳴法の概要

### 3. $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ラベル化ウラシルの異化代謝反応および臨床薬剤効果の三重共鳴 NMR 解析<sup>5)</sup>

$^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}\}$  三重共鳴法をピリミジン系抗がん剤の副作用発現に関連するウラシル異化代謝反応に応用した。5-フルオロウラシル (5FU) に代表されるピリミジン系抗がん剤は、投与量の大部分 (約 80%) が分解され  $\beta$ -アラニン類縁体に異化代謝される。この異化代謝反応を阻害すれば、5FU の抗腫瘍効果を高めることができる。しかし一方で、異化代謝異常の患者へ 5FU を投与すると重篤な副作用を引き起こすことが知られており、生体内でウラシル異化代謝反応の挙動を選択的に追跡できれば、抗がん剤の副作用の予測や診断に繋がるのが期待される。

ウラシルは、3 段階を経て異化代謝される。ジヒドロピリミジン脱水素酵素による還元、 $\beta$ -ウレイドプロピオン酸への加水分解を経て、最終的に  $\beta$ -アラニンへ変換される (図 2)。基質であるウラシルと代謝物である  $\beta$ -アラニンはともに“H-C-N”の結合をもつが、その化学シフトやカップリング定数 ( $J_{\text{CH}}$ ,  $J_{\text{CN}}$ ) はそれぞれ異なる。

そこで、我々はウラシルの 6 位の炭素を  $^{13}\text{C}$  核に、1 位の窒素を  $^{15}\text{N}$  核で標識した  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  ラベル化ウラシルを異化代謝追跡用の分子プローブとして設計した。すなわち、このプローブの異化代謝反応を、化学シフトとカップリング定数を最適化した  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}\}$  三重共鳴 NMR でモニターすれば、基質 (ウラシル) と代謝物 ( $\beta$ -アラニン) を化合物選択的に追跡できると考えた。

実際に、異化代謝酵素が多数含まれるマウス肝臓組織抽出液中でのラベル化ウラシル (0.5 mM) の異化代謝反応を、 $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}\}$  三重共鳴 NMR 法を用いて解析した結果を示す。通常の  $^1\text{H}$  NMR 測定では、組織抽出物由来のあらゆる  $^1\text{H}$  シグナルが検出され、目的とするピークの同定は困難であった (図 3 A)。また、一次元の  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$  二重共鳴 NMR スペクトルでも、依然として多数のノイズピークが観測され、 $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$  二重共鳴法ではバックグラウンドノイズを完全に抑制することは難しい (図 3 B)。一方で、 $\beta$ -アラニンに最適化した  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}\}$  三重共鳴 NMR 測定 ( $^{13}\text{C} = 36.3 \text{ ppm}$ ,  $^{15}\text{N} = 30.5 \text{ ppm}$ ,  $J_{\text{CH}} = 145 \text{ Hz}$ ,  $J_{\text{CN}} = 5.2 \text{ Hz}$ ) からは、

代謝物である  $\beta$ -アラニンのメチレン  $^1\text{H}$  シグナル (3.09 ppm) のみが検出され、ウラシルに最適化 ( $^{13}\text{C} = 143 \text{ ppm}$ ,  $^{15}\text{N} = 110 \text{ ppm}$ ,  $J_{\text{CH}} = 184 \text{ Hz}$ ,  $J_{\text{CN}} = 7.7 \text{ Hz}$ ) した  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}\}$  三重共鳴 NMR スペクトルでは、基質ウラシルの  $^1\text{H}$  シグナル (7.44 ppm) 強度の減少がみられた (図 3 C)。NMR ピーク積分値から算出した異化代謝収率は、およそ 80%であった。

次に、マウス体内におけるラベル化ウラシルの異化代謝反応を追跡した。その結果を図 4 に示す。左後肢に colon26 大腸癌細胞を移植したマウスにラベル化ウラシル ( $300 \mu\text{g g}^{-1}$ ) を腹腔内投与し、一時間後に各臓器 (癌、血液、肝臓、腎臓、心臓および小腸) を採取した。組織抽出液を各組織重量で規格化した後、ウラシルおよび  $\beta$ -アラニンに最適化した  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}\}$  三重共鳴 NMR 法で測定した。ウラシ

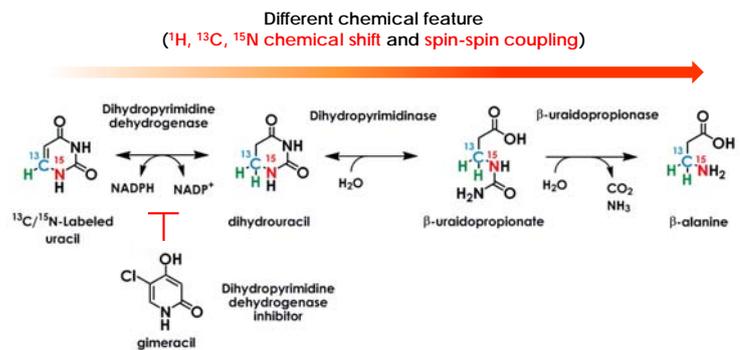


図 2  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  ラベル化ウラシルの異化代謝反応。臨床薬剤のギメラシルはジヒドロピリミジン脱水素酵素反応を阻害する。

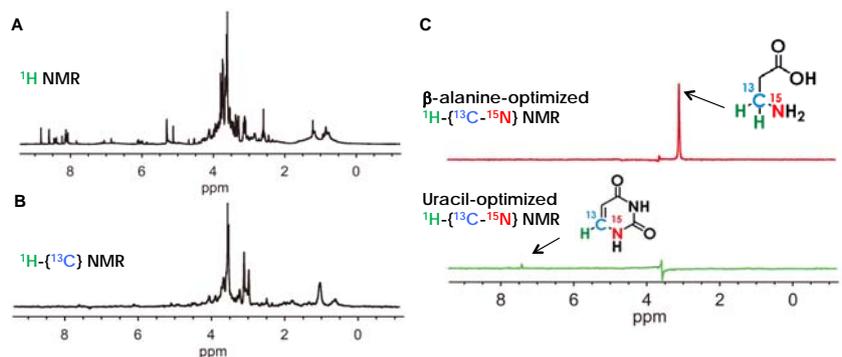


図 3 マウス肝臓組織抽出液中におけるラベル化ウラシル異化代謝反応の NMR モニタリング。(A)  $^1\text{H}$  NMR スペクトル。(B)  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$  二重共鳴 NMR スペクトル。(C)  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}\}$  三重共鳴 NMR スペクトル; (上)  $\beta$ -アラニンに最適化したもの、(下) ウラシルに最適化したもの。

ルに最適化した三重共鳴 NMR スペクトルでは、全ての臓器でウラシルの蓄積が認められたが、肝臓組織ではそのピーク強度が著しく低下した。β-アラニンに最適化した三重共鳴 NMR では、肝臓においてのみ強い β-アラニンピークが検出された。この結果から、ウラシルはマウス体内で非特異的に組織分布すること、ウラシルが肝臓において選択的に β-アラニンに変換されることが明らかとなった。

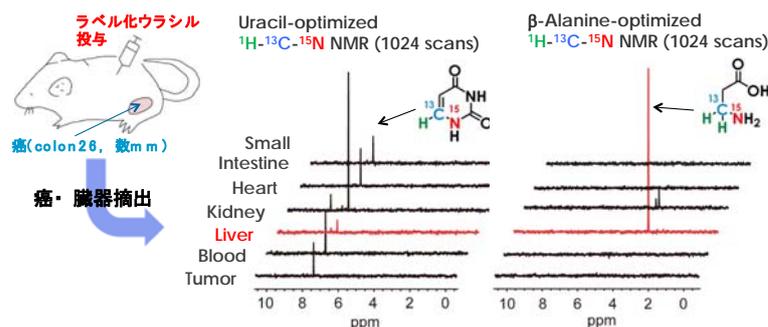


図4 マウスにおけるラベル化ウラシル異化代謝反応の $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\{-^{15}\text{N}\}}$  三重共鳴 NMR モニタリング。(左) ウラシルに最適化した NMR スペクトル、(右) β-アラニンに最適化した NMR スペクトル。各組織重量でピーク強度を規格化している。

この手法は、異化代謝反応に及ぼす阻害剤効果の評価にも応用が可能である。ギメラシル (5-chloro-4-hydroxy-2-pyridone) はジヒドロピリミジン脱水素酵素反応を阻害する臨床薬剤として知られている (5FU との併用により抗腫瘍効果が増大する) (図2)。ラベル化ウラシル( $2.3 \mu\text{mol g}^{-1}$ )と、各種濃度のギメラシルを投与した後、肝臓組織抽出物を $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\{-^{15}\text{N}\}}$ 三重共鳴 NMR で測定した。その結果、ギメラシルの投与量の増加とともに β-アラニンの生成量が減少し、0.1 当量 ( $0.23 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) で異化代謝反応は完全に抑制された (図5)。このように、 $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  核でラベル化したウラシルプローブと $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\{-^{15}\text{N}\}}$ 三重共鳴法を利用することにより、*ex vivo* 環境下ではあるが、ウラシル異化代謝反応を基質 (ウラシル) / 代謝物 (β-アラニン) 選択的に追跡できること、臨床薬剤ギメラシルによる異化代謝過程の阻害効果を直接評価することに成功した。

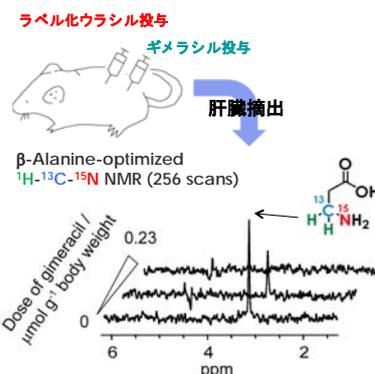


図5 マウス体内でのウラシル異化代謝反応に及ぼすギメラシル (ジヒドロピリミジン脱水素酵素阻害剤) の効果。

#### 4. シグナルの高感度化に向けて: $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 核を集積化した生体適合性高分子タグの開発

これまで述べてきた多重 (三重) 共鳴法は、生体内に膨大に存在するバックグラウンドノイズを抑制することにより、安定同位元素ラベルした分子プローブの選択性を上げて検出している。しかし、蛍光イメージング法や PET 法と比較して、NMR イメージングの最大の弱点は本質的に検出感度が低いことである。三重共鳴法を活用しても分子プローブ自体の感度が低ければ、そのシグナルを MR 画像化することは難しい。実際、上述の $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ラベル化ウラシルの検出限界は NMR スペクトルレベル (256 回の積算) で  $4.5 \mu\text{M}$  であり、とても満足できる感度ではない。しかし、安定同位元素 ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  核) を集積化した分子プローブならば、1 分子当たりの NMR シグナル強度が上がり、高感度に三重共鳴 NMR 解析ができるのではないかと考えた。そこで我々は、 $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\{-^{15}\text{N}\}}$ 三重共鳴 NMR / MR イメージングへの展開が可能な高い選択性と高い感度を有する新しい分子プローブとして、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  核でラベルした生体適合性高分子タグの開発に取り組んでいる。<sup>6)</sup>

その分子骨格として、メチル基を $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  核でラベル化した $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ラベル化コリン<sup>3)</sup>に着目した。この骨格は、1 分子あたり 9 個の等価な $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\{-^{15}\text{N}\}}$ 配列をもち、高分子化 (安定同位元素を集積化) しても単一の三重共鳴シグナルを与えることが予想される。また、ホスホリルコリン骨格を有する 2-メタクリロイルホスファチジルコリン (MPC) ポリマーが極めて高い生体適合性を有している点から、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ラベル化コリンポリマー ( $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC) タグをデザインした (図6)。 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ラベル化コリンからホスホロアミダイト法により $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ラベル化 MPC ( $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -MPC) モノマーを合成し、マレイミド基を保護した開始剤から原子移動ラジカル重合 (ATRP) して、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC タグを合成した。

実際に、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC タグ (分子量  $M_n = 18000$ ) の  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}\{-^{15}\text{N}\}$  三重共鳴シグナル強度は、同濃度の  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -MPC のシグナル強度の約 40 倍に増大し、30 nM の低濃度においても高感度で検出可能であることが実証された (図 6)。また、マウス肝臓組織抽出液中においては  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC の  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}\{-^{15}\text{N}\}$  三重共鳴シグナルのみが選択的に検出され、そのシグナル感度が nM オーダーに達することを明らかにした。感度と選択性の向上に関する重要な分子設計指針を得ており、本プローブの *in vitro* 三重共鳴 MR 画像化ができると確信している。現在、このタグの *in vitro* および *in vivo* 三重共鳴 MRI 検出に向けて研究を進めている。また、この高分子タグは、末端の保護基を除去してマレイミド基に変換すれば、タンパク質や抗体をタグ化して標的指向性をもつ分子プローブに拡張できることも利点である。現在、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC タグを用いて乳癌特異的抗 Her2 部分抗体を修飾することに成功し、標的指向性を有する分子プローブへの展開を進めている。

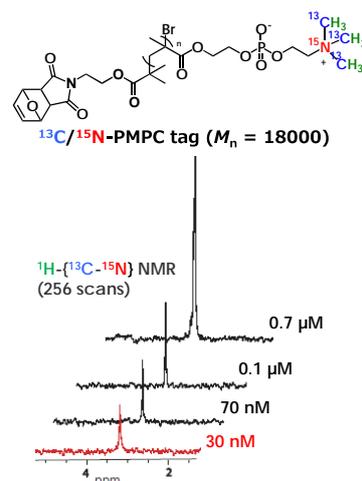


図 6 (上)  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC タグの構造。(下)  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -PMPC の  $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}\{-^{15}\text{N}\}$  三重共鳴 NMR スペクトル。

## 5. おわりに

本稿では、多重（三重）共鳴法を、抗がん剤の副作用発現に関連する代謝反応追跡に応用した研究と、三重共鳴 MRI への展開を目指した高感度化分子プローブの開発に関する研究について紹介させて頂いた。この分子プローブは生体内に存在する元素（安定同位元素）で構成されている点で、他の MR 分子プローブと異なり毒性等の危険性が少ないことも特徴である。今後、*in vivo* 三重共鳴 MR イメージングを達成するには、分子プローブ設計に基づく更なる感度向上はもちろんのこと、測定装置および撮像法の最適化も重要な検討課題である。乗り越えるべき壁は高いが、次世代の高次生体イメージング法の開発に向けて、日々挑戦している。

## 謝辞

本研究は、京都大学における文部科学省科学技術振興調整費プログラム「高次生体イメージング先端テクノハブ」の支援のもとで行われたものであり、近藤 輝幸 教授 (京都大学)、青山 安宏 教授 (同志社大学)、山東 信介 教授 (九州大学) のご指導に心から感謝いたします。多重共鳴 NMR 解析では、京都大学 工学研究科の白川 昌宏 教授、朽尾 豪人 准教授にご指導を賜りました。多重共鳴 MRI への応用展開について、京都大学 情報学研究科の松田 哲也 教授、杉原 文徳 博士 (現 大阪大学)、今井 宏彦 助教、高山 裕生 助教に有益なご助言・ご助力を賜りました。ここに厚く御礼申し上げます。また、研究遂行にご助力頂いた近藤研究室 木村 祐 助教、共同研究者、学生諸氏に深く感謝致します。

## 文献

- 1) Fan, T.; Lane, A. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2008**, *52*, 69–117 and references therein.
- 2) van Zijl, P. C. M.; Scott Chesnick, A.; DesPres, D.; Moonen, C. T. W.; Ruiz-Cabello, J.; van Gelderen, P. *Magn. Reson. Med.* **1993**, *30*, 544–551.
- 3) Aoyama, Y.; Shirakawa, M. *et al. PCT Int. Appl.* **2009**, WO 2009/031712.
- 4) Yamaguchi, K.; Ueki, R.; Yamada, H.; Aoyama, Y.; Nonaka, H.; Sando, S. *Anal. Methods* **2011**, *3*, 1664–1666.
- 5) Yamada, H.; Mizusawa, K.; Igarashi, R.; Tochio, H.; Shirakawa, M.; Tabata, Y.; Kimura, Y.; Kondo, T.; Aoyama, Y.; Sando, S. *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 535–542.
- 6) 近藤輝幸、青山安宏、山田久嗣、山東信介ら 特願 2012–118061.
- 7) Mizusawa, K.; Igarashi, R.; Uehira, K.; Takafuji, Y.; Tabata, Y.; Tochio, H.; Shirakawa, M.; Sando, S.; Aoyama, Y. *Chem. Lett.* **2010**, *39*, 926–928.
- 8) Doura, T.; Nonaka, H.; Sando, S. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1565–1567.
- 9) Ueki, R.; Yamaguchi, K.; Nonaka, H.; Sando, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 12398–12401.

## 部会行事

### 第27回生体機能関連化学部会「若手フォーラム」開催報告

北海道大学電子科学研究所（若手フォーラム世話人代表） 松尾保孝

第27回生体機能関連化学部会若手フォーラムは、若手の会東北・北海道支部幹事である萩原伸也（東北大学多元物質科学研究所）、三友秀之（北海道大学電子科学研究所）と前北海道支部幹事の松尾保孝（北海道大学電子科学研究所）が世話人となり、9月5日（水）に北海道大学創成科学研究棟5階大会議室（招待講演）ならびに2階サイエンスプラザ（ポスターセッション）において開催いたしました。この時期の北海道にしては本州と変わらぬ非常に暑い状況でしたが講師4名、一般14名、学生34名の合計52名の参加の下に開催されました。

今回は地方開催ということもあり、招待講演セッションは北海道大学から2名、道外から2名の形で講演者をお招きして行いました。講演は「天然物を用いる創薬化学：抗多剤耐性菌剤シーズの獲得を目指して」（市川聡先生 北海道大学）、「糖誘導体・糖ペプチドの環化と機能制御」（比能洋先生 北海道大学）として創薬などの観点から2件、「合成リガンドを用いた核酸機能のスイッチング」（堂野主税先生 大阪大学）、「核酸を動くナノデバイスに編み上げ」（葛谷明紀先生 関西大学）という生体分子である核酸をテーマとした2件、計4件の生体機能に関連した講演を頂きました。今回の講師陣は新進気鋭の助教、准教授のお立場にあり、日頃は学生たちと共に実験に邁進されている先生方でした。講演にもそういった視点からの内容が含まれており若手には非常に意義深いものであったかと思えます。また同時に、JST さきがけ研究やベンチャー企業を兼務されていることから研究展開の方向性を含めての話もあり、世話人や一般参加者にとっても意義深い講演となりました。会場からも積極的に質問が行われることで有意義な招待講演セッションとなりました。

引き続き、講演の会場から移動してポスターセッションを行いました。発表件数は33件となり学生や若手研究者からの質の高い発表が行われました。同世代同士でのディスカッションから新しい交流が生まれたものと思っております。また、約2時間との短い発表時間ではありましたが研究への意欲を駆り立てる場になったのであれば幸いです。その中で、招待講演者や若手会幹事、本フォーラムへ



の支援をいただきました公益財団法人サントリー生命科学財団・寺様の投票により、特に優秀な発表と認められた学生の方々の選考を行いました。その結果、三木卓幸さん（京都大学）、伊藤健一郎さん（東京大学）、荒井みさきさん（北海道大学）、杉村尚俊さん（北海道大学）の4名を優秀賞として表彰し、賞状と副賞を授与いたしました。今回の表彰を糧に、さらなるステップアップを期待しています。懇親会は例年と同様にポスター発表と同時進行で行いました。発表している学生、参加研究者間の交流もさることながら、サイエンスプラザが非常にオープンな環境であることから北海道大学創成科学研究棟で研究を行っている異分野のメンバーからも飛び入りの参加が行われました。学会とは雰囲気異なる自由な環境で、有意義なディスカッションの場を提供できたものと思っております。

最後に、本会の運営と開催に関しましてご協力頂きました世話人の方々、若手会幹事の方々、ならびに日本化学会坂下修一様に厚く御礼申し上げます。また、会の運営を支えてくれました千歳科学技術大学の本間君と金沢君、および生体機能関連化学部会、公益財団法人サントリー生命科学財団、高分子学会北海道支部の支援に感謝いたします。



## 開催プログラム

招待講演 1 「天然物を用いる創薬化学：抗多剤耐性菌剤シーズの獲得を目指して」

市川 聡（北海道大学 大学院薬学研究院）

招待講演 2 「糖誘導体・糖ペプチドの環化と機能制御」

比能 洋（北海道大学 先端生命科学研究院）

招待講演 3 「合成リガンドを用いた核酸機能のスイッチング」

堂野 主税（大阪大学 産業科学研究所）

招待講演 4 「核酸を動くナノデバイスに編み上げる」

葛谷 明紀（関西大学 化学生命工学部）

## ポスターセッション

P-01\* 翻訳速度に依存した翻訳異常終結の評価

○廣瀬 敦<sup>1</sup>, 高橋 俊太郎<sup>2</sup>, 岡畑 恵雄<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東京工業大学生命理工学研究科, <sup>2</sup>甲南大学先端生命工学研究所 (FIBER))

P-02\* LDAI 化学によるアイソザイム選択的なタンパク質ラベリング

○三木 卓幸<sup>1</sup>, 藤島 祥平<sup>1</sup>, 安井 亮介<sup>1</sup>, 浜地 格<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京都大学工学研究科)

P-03\* マウス乳酸脱水素酵素を利用した核磁気共鳴レポータータンパク質

○西原 達哉, 野中 洋, 山東 信介 (九州大学稲盛フロンティア研究センター)

P-04\* ムチン型糖ペプチドを用いた頻出モチーフの NMR 構造解析

○早川 瞬<sup>1</sup>, 松下 隆彦<sup>2</sup>, 西村 紳一郎<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北海道大学生命科学院, <sup>2</sup>北海道大学先端生命科学研究院)

P-05\* ケイ素保護基を利用した糖ペプチドの迅速固相合成法

○藤井 宏圭<sup>1</sup>, 松下 隆彦<sup>2</sup>, 比能 洋<sup>1,2</sup>, 西村 紳一郎<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>北海道大学生命科学院, <sup>2</sup>北海道大学先端生命科学研究院)

P-06\* 固体応用を志向した超高感度核磁気共鳴分子プローブ：プラットフォーム構造の提案

○秦 龍ノ介, 野中 洋, 山東 信介 (九州大学稲盛フロンティア研究センター)

P-07\* 活性酸素種の生体イメージングを目指した <sup>19</sup>F NMR 分子プローブ

○安 琪<sup>1</sup>・土谷 享<sup>1</sup>・杉原 文徳<sup>2</sup>・山東 信介<sup>1</sup> (<sup>1</sup>九州大学稲盛フロンティア研究センター, <sup>2</sup>大阪大学免疫フロンティア研究センター)

P-08\* マイクロアレイによるヒアルロン酸 (HA) と Toll Like Receptor 2 (TLR2) 反応条件最適化

○荒井 みさき<sup>1</sup>, FAYNA GARCIA-MARTIN<sup>2</sup>, 松下 隆彦<sup>2</sup>, 比能 洋<sup>2</sup>, 西村 紳一郎<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北海道大学生命科学院, <sup>2</sup>北海道大学先端生命科学研究院)

P-09\* 酵素化学合成的アプローチによるジストログリカン糖ペプチドとラミニンの相互作用解析

○菊地 星矢<sup>1</sup>, 比能 洋<sup>2</sup>, 西村 紳一郎<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北海道大学生命科学院, <sup>2</sup>北大院先端生命科学研究院)

P-10\* リガンド指向型トシル化学における反応性のチューニングと <sup>19</sup>F プローブラベリング

○高橋 直哉<sup>1</sup>, 田村 朋則<sup>1</sup>, 高岡 洋輔<sup>1</sup>, 浜地 格<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京都大学工学研究科)

P-11\* 基質型自己会合性蛍光プローブによる MMP 活性の特異的検出

○福山 嘉晃, 松尾 和哉, 水澤 圭吾, 高岡 洋輔, 濱地 格 (京都大学大学院工学研究科)

P-12\* 立体配座固定化による反応性向上を目指した新規架橋反応剤の開発

- 井田 裕太<sup>1</sup>, 岩本 直生<sup>1</sup>, 草野 修平<sup>1</sup>, 萩原 伸也<sup>1</sup>, 永次 史<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東北大学多元物質科学研究所)
- P-13\* 肝細胞増殖因子 c-Met に結合する特殊環状ペプチドの開発と生理活性評価  
○伊藤 健一郎<sup>1</sup>, 菅裕 明<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 東京大学大学院理学系研究科)
- P-14\* Tb(III)錯体によるチロシンキナーゼ阻害剤評価法の確立  
○秋葉 宏樹<sup>1</sup>, 須磨岡 淳<sup>2</sup>, 津本 浩平<sup>3</sup>, 浜窪 隆雄<sup>1,4</sup>, 小宮山 眞<sup>2</sup> (<sup>1</sup> 東京大学大学院工学系研究科先端学際工学専攻, <sup>2</sup> 筑波大学生命領域学際研究センター, <sup>3</sup> 東京大学医科学研究所, <sup>4</sup> 東京大学先端科学技術研究センター)
- P-15 抗体修飾ナノニードルを用いた細胞分離の力学解析  
○川村 隆三<sup>1</sup>, シルベルベルク ヤロン<sup>1</sup>, 柳 昇桓<sup>2</sup>, 深澤 今日子<sup>3</sup>, 石原 一彦<sup>3</sup>, 中村 史<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup> 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門, <sup>2</sup> 東京農工大学大学院工学研究科生命機能科学部門, <sup>3</sup> 東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻)
- P-16\* 蛍光基を導入した・ループペプチドの合成及びファージ提示法の検討  
○佐々木 隆弘, 新井 佳菜子, 堤 浩, 三原 久和 (東京工業大学大学院生命理工学研究科生物プロセス専攻)
- P-17\* 細胞膜透過性・ヘリックスペプチド結合金ナノ粒子の細胞導入特性  
○西村 仁孝, HYEJIN PARK, 堤 浩, 三原 久和 (東京工業大学大学院生命理工学研究科生物プロセス専攻)
- P-18\* 酵素反応により伸長した DNA ブラシを利用した新規リフトオフ法の開発  
○鈴木 康修<sup>1</sup>, 江口 明日美<sup>1</sup>, 松尾 保孝<sup>2</sup>, 新倉 謙一<sup>2</sup>, 居城 邦治<sup>2</sup> (<sup>1</sup> 北海道大学 大学院総合化学院, <sup>2</sup> 北海道大学電子科学研究所)
- P-19 細胞内のプラスミド DNA を対象とした ARCUT を用いた相同組換による遺伝子改変  
○愛場 雄一郎<sup>1</sup>, 池戸 彰之<sup>1</sup>, 韓 悦<sup>2</sup>, 小宮山 眞<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 筑波大学生命領域学際研究センター (TARA センター), <sup>2</sup> 東京大学先端科学技術研究センター)
- P-20\* RIFS-QCM 同時測定法を用いた DNA 上での酵素反応速度の解析  
○植村 建介<sup>1</sup>, 川崎 剛美<sup>2</sup>, 岡畑 恵雄<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 東京工業大学生命理工学研究科, <sup>2</sup> 株式会社 KRI)
- P-21\* リン脂質共存下でのヒドロゲナーゼを用いた光水素発生  
○伊藤 栄紘, 大倉 一郎, 蒲池 利章 (東京工業大学大学院生命理工学研究科)
- P-22\* His リアクティブタグシステムによる細胞表面蛋白質イメージング  
○若山 翔<sup>1</sup>, 内之宮 祥平<sup>1</sup>, 野中 洋<sup>2</sup>, 王子田 彰夫<sup>3</sup>, 浜地 格<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 京都大学工学研究科, <sup>2</sup> 九州大学稲盛センター<sup>3</sup>九州大学 薬学研究科)
- P-23\* 量子ドットに提示した糖ヌクレオチドのライブセルイメージング  
○平根 望巳<sup>1</sup>, 比能 洋<sup>2</sup>, 西村 紳一郎<sup>2</sup> (<sup>1</sup> 北海道大学院生命科学院, <sup>2</sup> 北海道大学院 先端生命科学研究所)
- P-24 光応答性 ATP アナログによる生体分子モーター機能の光制御  
○亀井 敬<sup>1</sup>, 深港 豪<sup>1</sup>, 玉置 信之<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 北海道大学電子科学研究所)
- P-25\* 細胞骨格(微小管)を対象としたフラグメンテーション試験法の開発とその破壊挙動の評価  
○濱野 芳美<sup>1</sup>・井上 大介<sup>2</sup>・角五 彰<sup>1,2</sup>・佐田 和己<sup>1,2</sup> (北大理<sup>1</sup>, 北大院総化<sup>2</sup>)
- P-26\* Successive active self-organization of microtubules in an inert chamber system  
○ARIF MD. RASHEDUL KABIR<sup>1</sup>, DAISUKE INOUE<sup>2</sup>, AKIRA KAKUGO<sup>2</sup>, KAZUKI SADA<sup>2</sup> AND JIAN PING GONG<sup>3</sup> (<sup>1</sup>DIVISION OF BIOLOGICAL SCIENCES, GRADUATE SCHOOL OF SCIENCE, HOKKAIDO UNIVERSITY<sup>2</sup>GRADUATE SCHOOL OF CHEMICAL SCIENCES AND ENGINEERING, HOKKAIDO UNIVERSITY

<sup>3</sup>FACULTY OF ADVANCED LIFE SCIENCE, HOKKAIDO UNIVERSITY)

- P-27\* ペプチドリボ核酸-DNA キメラ人工核酸の合成と核酸認識および遺伝情報発現制御への展開-5  
- RNASE H による RNA 複合体切断活性評価とプロテアーゼ耐性の検討 -  
○上松 亮平<sup>1</sup>, 水谷 達哉<sup>1</sup>, 荒木 保幸<sup>1</sup>, 坂本 清志<sup>1</sup>, 松山 洋平<sup>2</sup>, 山吉 麻子<sup>2</sup>, 村上 章<sup>2</sup>, 和田 健彦<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東北大学多元物質科学研究所, <sup>2</sup>京都工芸繊維大学工芸科学研究科)
- P-28\* 2光子顕微鏡における HRP ビームを使った高分解能イメージング  
○一本嶋 佐理<sup>1</sup>, 日比 輝正<sup>1,2</sup>, 小澤 祐市<sup>2</sup>, 洞内 響<sup>1</sup>, 佐藤 綾耶<sup>2,4</sup>, 栗原 誠<sup>5</sup>, 橋本 信幸<sup>5</sup>, 横山 弘之<sup>2,4</sup>, 佐藤 俊一<sup>2,3</sup>, 根本 知己<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>北大電子研, <sup>2</sup>JST・CREST, <sup>3</sup>東北大多元研, <sup>4</sup>東北大 NICHE, <sup>5</sup>シチズンホールディングス (株))
- P-29\* 細胞表面固定化核酸アプタマーを利用した細胞機能解析  
○徳永 武士<sup>1</sup>, 並木 繁行<sup>2</sup>, 山田 雄大<sup>1</sup>, 今石 高寛<sup>1</sup>, 野中 洋<sup>1</sup> 廣瀬 謙造<sup>2</sup>, 山東 信介<sup>1</sup> (<sup>1</sup>九州大学稲盛フロンティア研究センター, <sup>2</sup>東京大学大学院医学系研究科)
- P-30\* 新規透徹剤を用いたマウス固定脳の顕微鏡観察における深部到達性の向上  
○青柳 佑佳, 川上 良介, 根本 知己 (北海道大学電子科学研究所光細胞生理研究分野)
- P-31\* 表面増強ラマン散乱を用いた生薬の解析  
○本間 教嗣<sup>1</sup>, 松尾 保孝<sup>2</sup>, 居城 邦治<sup>2</sup>, 木村-須田 廣美<sup>1</sup> (<sup>1</sup>千歳科学技術大学, <sup>2</sup>北海道大学電子科学研究所)
- P-32\* 化学発光タンパク質を内包したウイルスカプセルの作製と細胞内観察  
○杉村 尚俊<sup>1</sup>・新倉 謙一<sup>2</sup>・澤 洋文<sup>3</sup>・斉藤 健太<sup>4</sup>・永井 健治<sup>4</sup>・居城 邦治<sup>2,5</sup> (<sup>1</sup>北海道大学大学院総合化学院, <sup>2</sup>北海道大学電子科学研究所, <sup>3</sup>北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター, <sup>4</sup>大阪大学産業科学研究所, <sup>5</sup>JST -CREST)
- P-33\* 慢性腎臓病モデルラットにおける心疾患の可視化  
○金沢 恭祐<sup>1</sup>, 日高 公介<sup>1</sup>, 植野 秀俊<sup>1</sup>, 木村-須田 廣美<sup>1</sup> (<sup>1</sup>千歳科学技術大学)

## 部会行事

### 第6回バイオ関連化学シンポジウム開催報告

北海道大学（実行委員長）居城邦治

本シンポジウムは2012年9月6日（木）～8日（土）の会期で、北海道大学高等教育推進機構において開催されました。涼しい気候で熱い議論を交わせると期待していたのですが、最高気温は6日25℃、7日29℃、8日30℃と例年になく気温が上がりました。北海道では5月に唯一の原発が停止したことにより、夏季の計画停電の恐れがありましたが、会期中の停電も回避され、無事にシンポジウムは終了しました。

今回は全国から430名と地方開催にしては多くの参加者を頂戴して盛会となりました。今回のシンポジウムは、第27回生体機能関連化学シンポジウム、第15回バイオテクノロジー部会シンポジウム、第15回生命化学研究会シンポジウムの合同シンポジウムであり、日本化学会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の主催で行われました。口頭発表は招待講演2件、一般講演105件の合計107件、ポスター発表は220件と数多くの優れた研究発表が行われ、熱い討論が戦わされました。実行委員一同、会員の皆様にシンポジウムのよりよい環境を提供できたことに安堵すると同時に、全国からお越しいただいた皆様に深く感謝申し上げる次第です。

なお本シンポジウムを開催するにあたり多くの企業よりご支援を頂戴致しました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、実行委員の北海道大学の石森浩一郎教授、佐田和己教授、森川正章教授、新倉謙一准教授、三友秀之助教ならびに各研究室のスタッフ・学生の方々の献身的な協力に感謝申し上げます。

来年の第7回バイオ関連化学シンポジウムは、名古屋大学の浅沼浩之先生を実行委員長にして、東山キャンパスで開催されます。本研究分野の益々の発展のために、皆様には奮ってご参加いただきますようよろしくお願い申し上げます。



会場玄関



A会場



講演賞受賞者と杉本部会長・民谷部会長・深瀬会長  
(提供：京都大学 田邊一仁先生) @懇親会会場



企業展示とポスター発表

## 部会行事

### 第6回バイオ関連化学シンポジウム講演賞の講評

東北大学多元物質科学研究所（審査委員長） 和田健彦

本年度の第6回バイオ関連化学シンポジウムは昨年同様、生体機能関連化学部会とバイオテクノロジー一部会と生命化学研究会とが合同で行ったものであり（第27回生体機能関連化学シンポジウム・第15回バイオテクノロジー部会シンポジウム・第15回生命化学研究会シンポジウム）、講演賞は第6回バイオ関連シンポジウム講演賞となります。居城邦治先生を組織委員長として札幌でおこなわれた本会は、多様な分野から430名の参加者を集め大盛況であったことを反映し、講演賞に応募された研究者の分野は多岐にわたりました。A. 分子認識・超分子・モデル系、B. ペプチド・蛋白・酵素、C. 遺伝子関連、D. 糖・脂質、E. 細胞など主に五つのカテゴリーに分類された講演賞の応募は、29件と一昨年より10件多かった昨年よりさらに増え大変な激戦となりました。

どの講演も高い研究レベルで、独創性も高く、発表もよく工夫されたもので、審査委員は良い意味で大変頭を悩ませ、慎重に議論を重ねました。研究テーマの新規性・独創性、実験データの質と量、解析・結果の妥当性と新規性、(異分野研究者も意識した)発表の分かりやすさ、質疑応答などの観点から厳正に審査を行い、特に優れた下記の4件を講演賞として選出しました。

グローバルレベルの視点で見た研究のオリジナリティーとレベル(質・量ともに)の高さを大前提とし、慎重に評価を行いました。特に、そのテーマに対する本人の寄与・情熱、研究の意義・独創性と波及効果を異分野の方にも分かって貰えるよう伝えたい…その熱意が、どれだけ審査委員に届いたかも重要な因子であったと思われます。今回講演賞を受賞された4件の講演以外にも、受賞に値する講演が多数であり、受賞された方だけでなく、多くの若手の皆さんのますますのご活躍、そしてご発展につながればと願っています。

最後に、大変お忙しい中ご協力いただいた審査員の重責をお引き受け頂いた7名の先生方に心よりお礼申し上げます。

#### 受賞講演者-発表演題(五十音順, 敬称略)

阿部 洋(理研)「有機溶媒に溶けるDNAの構造と触媒機能」

築地真也(長岡技大産学連携センター)「局在性リガンド：細胞機能制御のための新しい分子コンセプト」

花岡健二郎(東大院薬)「新規赤色蛍光団 TokyoMagenta 類の開発とその応用」

山田久嗣(京大先端医工)「高感度多重共鳴NMR解析に向けた安定同位体ラベル化高分子タグの開発」

## 部会行事

### The First International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2012)

主催 日本化学会生体関連機能化学部会

会期 11月28日(水), 29日(木), 30日(金)

会場 東工大蔵前会館(目黒区大岡山2丁目12-1)〈交通〉東急大井町線または目黒線「大岡山駅」  
前 徒歩1分

参加費 一般:15,000円 学生:5,000円(当日)

懇親会 11月29日(木)同会場にて開催 一般:10,000円 学生:5,000円(当日)

詳細 ISBC2012のHP <http://seitai.csj.jp/isbc2012/index.php> をご参照ください。参加は、日本化学会生体関連機能化学部会の部会員に限ります。現在部会員でない方は、部会員登録後、参加をしてください。会場受付でも部会員登録が可能です(日本化学会会員3,000円、日本化学会非会員4,000円、学生会員2,000円の部会費の支払いが必要です)。

問合先 日本化学会生体機能関連化学部会事務局

電話 (03) 3292-6163 E-mail [seitai@chemistry.or.jp](mailto:seitai@chemistry.or.jp)

# ISBC

## 2012



### The First International Symposium on Biofunctional Chemistry

November 28-30, 2012

at Tokyo Tech Front,  
Tokyo Institute of Technology, Japan

Organized by

Division of Biofunctional Chemistry,  
The Chemical Society of Japan

# ORGANIZING and SCIENTIFIC PROGRAM COMMITTEE

## ORGANIZING COMMITTEE

Naoki SUGIMOTO, Chair	Konan University
Tatsuya NABESHIMA, Vice-Chair	University of Tsukuba
Shigetoshi AONO	Okazaki Institute for Integrative Bioscience
Koichi FUKASE	Osaka University
Itaru HAMACHI	Kyoto University
Kuniharu IJIRO	Hokkaido University
Yoshiki KATAYAMA	Kyushu University
Hisakazu MIHARA	Tokyo Institute of Technology
Shinichiro NISHIMURA	Hokkaido University
Takashi OHTSUKI	Okayama University
Yoshio OKAHATA	Tokyo Institute of Technology
Keiko SHIMAMOTO	Suntory Foundation for Life Sciences
Mitsuhiko SHIONOYA	The University of Tokyo
Jyunya SHIRAI	Takeda Pharmaceutical Company Limited
Hiroshi SUGIYAMA	Kyoto University
Masahiro TAKAGI	Japan Advanced Institute of Science and Technology
Hitoshi TAMIAKI	Ritsumeikan University
Yasuteru URANO	The University of Tokyo
Takehiko WADA	Tohoku University
Yoshihito WATANABE	Nagoya University

## SCIENTIFIC PROGRAM COMMITTEE

### Section I: Protein Interaction

Hisakazu MIHARA, Section Chair	Tokyo Institute of Technology
Hitoshi TAMIAKI	Ritsumeikan University
Takashi OHTSUKI	Okayama University

### Section II: Functional DNA/RNA

Naoki SUGIMOTO, Section Chair	Konan University
Hiroshi SUGIYAMA	Kyoto University
Takehiko WADA	Tohoku University

### Section III: Metals in Chemical Biology

Tatsuya NABESHIMA, Section Chair	University of Tsukuba
Mitsuhiko SHIONOYA	The University of Tokyo
Shigetoshi AONO	Okazaki Institute for Integrative Bioscience

### Section IV: Young Researchers Society for Biochemistry

Osami SHOJI, Section Chair	Nagoya University
Yasutaka MATSUO	Hokkaido University
Eiji NAKATA	Kyoto University

### Section V: Cell Function of Macromolecules

Koichi FUKASE, Section Chair	Osaka University
Masahiro TAKAGI	Japan Advanced Institute of Science and Technology
Yoshiki KATAYAMA	Kyushu University

### Section VI: Nanobiotechnology Innovation in Biomolecular Chemistry

Itaru HAMACHI, Section Chair	Kyoto University
Kuniharu IJIRO	Hokkaido University
Yasuteru URANO	The University of Tokyo

# CONFERENCE SCHEDULE

## **Registration and Information Desk**

November 28<sup>th</sup>, 2012 8:30 -17:15 at Kuramae Hall

November 29<sup>th</sup>, 2012 8:30 -17:15 at Kuramae Hall

November 30<sup>th</sup>, 2012 8:30 -17:15 at Kuramae Hall

Abstract, Name card, Request for receipts, Questions or assistance

## **Reception (invited speakers and organizers only)**

Reception will be held on Wednesday, November 28<sup>th</sup> from 18:20 in Royal Blue Hall

## **Banquet (All participants)**

Banquet will be held on Thursday, November 29<sup>th</sup> from 18:20 in Royal Blue Hall

## **Coffee and refreshments**

Coffee and refreshments will be available in the Gallery

# NOTE TO THE AUTHORS

## Oral Presenters

One LCD projector with PC (Microsoft PowerPoint for Windows, Microsoft PowerPoint for Macintosh) will be available in the oral presentation room. It is expected that you will provide your own PC, and multiplug switches for projector will be ready for you. Please remember to bring your power cable to your presentation (AC 100V, 50 Hz). We also request all the speakers to bring their data by memory sticks (USB type) or CD-R's, in case of trouble with the PC. Please bring the PPT file with the information of its version and your name and title.

---For Macintosh users

Please bring your external output terminal if it is not built into your own computer.

---Before presentation

During the break before your presentation, please hand a PC or a data to the projection staff. Mouse, laser pointer and clock will be prepared on the speakers desk. Please control their slides themselves.

---After presentation

Users of own PC expected to take off their PC after session at the speakers desk. Copy file will be completely deleted by projection staff after the conference.

## Poster Presenters

The size of a panel for a poster is 110 cm wide and 160 cm tall. Double-stick tape and thumbtacks will be supplied at the site.

---Poster Set Up

8:30 - 12:00, Wednesday, November 28<sup>th</sup>

--- Discussion Time

13:40 - 14:20, Wednesday, November 28<sup>th</sup> Odd-numbered

14:20 - 15:00, Wednesday, November 28<sup>th</sup> Even-numbered

13:40 - 14:20, Thursday, November 29<sup>th</sup> Odd-numbered

14:20 - 15:00, Thursday, November 29<sup>th</sup> Even-numbered

---Poster Removal

12:00 - 12:30, Friday, November 30<sup>th</sup>

Please keep the poster be presented during the symposium for the participants. Poster that is still on the board after conference will be removed by the Secretariat.

## DAYLY SCHEDULE (ISBC 2012 PROGRAM at a Glance)

NOV.28 WED	NOV.29 WED	NOV.30 WED
9:20-9:30 Opening Remarks <b>Naoki Sugimoto</b> (Chair of the Division, Konan University, Japan)		
<b>Section I</b> 9:30-10:10 <b>Donald Hilvert</b> (ETH Zurich, Switzerland) 10:10-10:50 <b>Donald A. Bryant</b> (Pennsylvania State University, USA)	<b>Section III</b> 9:30-10:10 <b>Jung-Hye Roe</b> (Seoul National University, Korea) 10:10-10:50 <b>Yoshitsugu Shiro</b> (RIKEN SPring-8 Center, Japan)	<b>Section V</b> 9:30-10:10 <b>Carston R. Wagner</b> (University of Minnesota, USA) 10:10-10:50 <b>Ick-Chan Kwon</b> (Korea Institute of Science and Technology, Korea)
10:50-11:10 Coffee Break		
11:10-11:50 <b>Sihyun Ham</b> (Sookmyung Women's University, Korea) 11:50-12:30 <b>Takeaki Ozawa</b> (The University of Tokyo, Japan)	11:10-11:50 <b>Yi Lu</b> (University of Illinois at Urbana-Champaign, USA) <b>Gerard Roelfes</b> (University of Groningen, The Netherlands)	11:10-11:50 <b>Mikiko Sodeoka</b> (RIKEN, Japan) <b>Bert Poolman</b> (University of Groningen, The Netherlands)
12:30-13:40 Lunch		
13:40-15:00 Poster session  13:40-14:20 odd numbers 14:20-15:00 even numbers	13:40-15:00 Poster session  13:40-14:20 odd numbers 14:20-15:00 even numbers	<b>Section VI</b> 13:40-14:20 <b>Bing Xu</b> (Brandeis University, USA) 14:20-15:00 <b>Frank Caruso</b> (The University of Melbourne, Australia)

<p><b>Section II</b> 15:00-15:40 <b>Thomas Carell</b> (Ludwig-Maximilians-University, Germany) 15:40-16:20 <b>Jonathan B. Chaires</b> (University of Louisville, USA)</p>	<p><b>Section V</b> 15:00-15:30 <b>Satoshi Yamaguchi</b> (The University of Tokyo, Japan) 15:30-16:00 <b>Akira Onoda</b> (Osaka University, Japan) 16:00-16:30 <b>Hirohide Saito</b> (Kyoto University, Japan)</p>	<p>15:00-15:20 Coffee Break 15:20-16:00 <b>Vasilis Ntziachristos</b> (Technical University of Munich, Germany) 16:00-16:40 <b>Shoji Takeuchi</b> (The University of Tokyo, Japan)</p>
<p>16:20-16:40 Coffee Break</p>	<p>16:30-17:00 Coffee Break</p>	<p><b>16:40-17:20</b> 【Plenary Lecture】 <b>Yoshio Okahata</b> (Tokyo Institute of Technology, Japan)</p>
<p>16:40-17:20 <b>Kazuhiko Nakatani</b> (Osaka University, Japan) 17:20-18:00 <b>Xiang Zhou</b> (Wuhan University, China)</p>	<p>17:00-17:30 <b>Hiromu Kashida</b> (Nagoya University, Japan) 17:30-18:00 <b>Satoshi Nishimura</b> (The University of Tokyo, Japan)</p>	<p><b>17:20-17:30</b> Closing Remarks <b>Tatsuya Nabeshima</b> (Vice Chair of the Division, Tsukuba University)</p>
<p>18:20- Welcome Reception (Royal Blue Hall)</p>	<p>18:20- Banquet (Royal Blue Hall)</p>	

# PROGRAM

## INVITED SPEAKERS

---

NOVEMBER 28 WED (KURAMAE HALL)

9:20 – 9:30

Opening Remarks

**Naoki Sugimoto**

*Chair of the Division, Konan University, Japan*

### **SECTION I PROTEIN INTERACTION**

9:30 – 10:10 (Chair: Hisakazu Mihara, Tokyo Institute of Technology)

**O I-1 Designer Enzymes**

**Donald Hilvert**

*ETH Zurich, Switzerland*

---

10:10 – 10:50 (Chair: Hitoshi Tamiaki, Ritsumeikan University)

**O I-2 Characterization of Chlorosomes Containing Bacteriochlorophylls *e* and *f***

**Donald A. Bryant**

*Pennsylvania State University, USA*

Coffee Break (10:50 – 11:10)

---

11:10 – 11:50 (Chair: Hisakazu Mihara, Tokyo Institute of Technology)

**O I-3 Understanding Protein Aggregation in Water**

**Sihyun Ham**

*Sookmyung Women's Univerisity, Korea*

---

11:50 – 12:30 (Chair: Takashi Ohtsuki, Okayama University)

**O I-4 Imaging and Control of Biological Functions Using Protein-Fragment Reconstitution Analyses**

**Takeaki Ozawa**

*The University of Tokyo, Japan*

Lunch (12:30 – 13:40)

Poster Session (13:40 – 15:00)

## **SECTION II FUNCTIONAL DNA/RNA**

15:00 – 15:40 (Chair: Takehiko Wada, Tohoku University)

### **O II-1 The Chemistry of Stem Cell Development**

**Thomas Carell**

Ludwig-Maximilians-University, Germany

---

15:40 – 16:20 (Chair: Naoki Sugimoto, Konan University)

### **O II-2 An Integrated Discovery Platform for G-Quadruplex Binding Drugs**

**Jonathan B. Chaires**

University of Louisville, USA

---

Coffee Break (16:20 – 16:40)

---

16:40 – 17:20 (Chair: Naoki Sugimoto, Konan University)

### **O II-3 Small Organic Molecules Regulating RNA Structure and Function**

**Kazuhiko Nakatani**

Osaka University, Japan

---

17:20 – 18:00 (Chair: Hiroshi Sugiyama, Kyoto University)

### **O II-4 Targeting to Nucleic Acid: Drug Design and Biomedical Applications**

**Xiang Zhou**

Wuhan University, China

---

---

NOVEMBER 29 THU (KURAMAE HALL)

**SECTION III METALS IN CHEMICAL BIOLOGY**

9:30 – 10:10 (Chair: Shigetoshi Aono, Okazaki Institute for Integrative Bioscience)

**O III-1 Metal-Dependent Gene Regulation in Bacteria**

**Jung-Hye Roe**

*Seoul National University, Korea*

---

10:10 – 10:50 (Chair: Shigetoshi Aono, Okazaki Institute for Integrative Bioscience)

**O III-2 Functional Characterization of Some Hemoproteins Based on Their Molecular Structures**

**Yoshitsugu Shiro**

*RIKEN SPring-8 Center, Japan*

Coffee Break (10:50 – 11:10)

---

11:10 – 11:50 (Chair: Mitsuhiro Shionoya, The University of Tokyo)

**O III-3 Metallo- DNAzymes and Their Applications in Directed Assembly of Nanomaterials, Sensing and Imaging**

**Yi Lu**

*University of Illinois at Urbana-Champaign, USA*

---

11:50 – 12:30 (Chair: Mitsuhiro Shionoya, The University of Tokyo)

**O III-4 Enantioselective Catalysis by Artificial Metalloenzymes Based on DNA**

**Gerard Roelfes**

*University of Groningen, The Netherlands*

Lunch (12:30 – 13:40)

Poster Session (13:40 – 15:00)

## **SECTION IV YOUNG RESEARCHERS SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY**

15:00 – 15:40 (Chair: Eiji Nakata, Kyoto University)

**O IV-1 Photo-Cleavable Chemical Tools Working at Biointerfaces for Externally Controlling Biomolecules and Living Cells**

**Satoshi Yamaguchi**

*The University of Tokyo, Japan*

---

15:30 – 16:00 (Chair: Yasutaka Matsuo, Hokkaido University)

**O IV-2 Programmed Hemoprotein Assemblies toward Biodevices**

**Akira Onoda**

*Osaka University, Japan*

---

16:00 – 16:30 (Chair: Yasuyuki Yamada, Nagoya University)

**O IV-3 Synthetic RNA-Protein Complexes for Controlling Cell Signaling**

**Hirohide Saito**

*Kyoto University, Japan*

Coffee Break (16:30 – 17:00)

---

17:00 – 17:30 (Chair: Shinya Hagihara, Tohoku University)

**O IV-4 Preparation of Novel Artificial Base Pairs for Functionalization of DNA**

**Hiromu Kashida**

*Nagoya University, Japan*

---

17:30 – 18:00 (Chair: Tomoya Hirano, Tokyo Medical and Dental University)

**O IV-5 In Vivo Multi-Photon Molecular Imaging Technique Visualizes Parenchymal and Interstitial Cell Cross-Talks in Chronic Inflammatory and Adult Common Disease Applications**

**Satoshi Nishimura**

*The University of Tokyo, Japan*

---

---

NOVEMBER 30 FRI (KURAMAE HALL)

**SECTION V CELL FUNCTION OF MACROMOLECULES**

9:30 – 10:10 (Chair: Koichi Fukase, Osaka University)

**O V-1 Chemically Self-Assembled Nanostructures (CSANS) for Targeted Drug, Protein and Oligonucleotide Delivery**

**Carston R. Wagner**

*University of Minnesota, USA*

---

10:10 – 10:50 (Chair: Yoshiki Katayama, Kyushu University)

**O V-2 Visualizing Enzyme Activities in Theragnosis**

**Ick-Chan Kwon**

*Korea Institute of Science and Technology, Korea*

---

Coffee Break (10:50 – 11:10)

---

11:10 – 11:50 (Chair: Carston R. Wagner, University of Minnesota)

**O V-3 Cell Death Control Molecules**

**Mikiko Sodeoka**

*RIKEN, Japan*

---

11:50 – 12:30 (Chair: Kouhei Tsumoto, The University of Tokyo)

**O V-4 Traffic in Crowded Environments and Osmosensing Mechanisms of Membrane Transport Proteins**

**Bert Poolman**

*University of Groningen, The Netherlands*

---

Lunch (12:30 – 13:40)

## SECTION VI NANOBIO TECHNOLOGY INNOVATION IN BIOMOLECULAR CHEMISTRY

13:40 – 14:20 (Chair: Kuniharu Ijiro, Hokkaido University)

**O VI-1 Biological Functions and Applications of Self-Assembly of Small Molecules in Cellular Environment**

**Bing Xu**

*Brandeis University, USA*

---

14:20 – 15:00 (Chair: Kuniharu Ijiro, Hokkaido University)

**O VI-2 Moving into the Biological Realm with Designer Particles Prepared via Materials Chemistry and Template Assembly**

**Frank Caruso**

*The University of Melbourne, Australia*

---

Coffee Break (15:00 – 15:20)

---

15:20 – 16:00 (Chair: Itaru Hamachi, Kyoto University)

**O VI-3 Multispectral Optoacoustic Tomography (MSOT) for Advancing Nano-Medicine**

**Vasilis Ntziachristos**

*Technical University of Munich, Germany*

---

16:00 – 16:40 (Chair: Itaru Hamachi, Kyoto University)

**O VI-4 Microfluidic Technology for Biomolecular Processing**

**Shoji Takeuchi**

*The University of Tokyo, Japan*

---

16:40 – 17:20 (Chair: Naoki Sugimoto, Konan University)

**PL A Translating Ribosome along mRNA Monitored on a Quartz Crystal Microbalance**

**Yoshio Okahata**

*Tokyo Institute of Technology, Japan*

---

17:20 – 17:30

Closing Remarks

**Tatsuya Nabeshima**

*Vice Chair of the Division, Tsukuba University, Japan*

---

# POSTER PROGRAM

---

## NOVEMBER 28 & 29 (POSTER SESSION SPACE)

40 minutes odd numbers, then 40 minutes even numbers

- P1**      **Development of Zinc Finger Enzymes for Genome Engineering**  
**Wataru Nomura, Akemi Masuda, Hirokazu Tamamura**  
*Department of Medicinal Chemistry, Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University*
- P2**      **Novel Methods for Blocking the Amyloidogenesis of Prion Proteins**  
**Masatoshi Saiki<sup>1</sup>, Tomoya Miyazaki<sup>1</sup>, Hisayuki Morii<sup>2</sup>, Shinji Hashimoto<sup>1</sup>**  
*1 Faculty of Engineering, Tokyo University of Science*  
*2 National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*
- P3**      **The Regulation Mechanism of Gene Expression in Translation Termination**  
**Shuntaro Takahashi<sup>1,2</sup>, Naoki Sugimoto<sup>2,3</sup>, Yoshio Okahata<sup>2</sup>**  
*1 Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research (FIBER), Konan University*  
*2 Department of Biomolecular Engineering, Tokyo Institute of Technology*  
*3 Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST), Konan University*
- P4**      **Selective Localization of Alzheimer's Amyloid Beta and Peptide-Induced Membrane Dynamics**  
**Masamune Morita, Mun'delanji Vestergaard, Tsutomu Hamada, Masahiro Takagi**  
*School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology*
- P5**      **Rational Alteration of Enzyme: Introduction of CH/ $\pi$  Interaction to the Transition State**  
**Daiki Yoshida, Yasuko Nakano, Tadashi Ema**  
*Division of Chemistry and Biochemistry, Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University*
- P6**      **The Effect of Oxidized Cholesterol on the Membrane Dynamics Induced by Alzheimer's Amyloid Beta**  
**Huong Thi Thanh Phan, Takahiro Hata, Masamune Morita, Tsuyoshi Yoda, Mun'delanji Vestergaard, Tsutomu Hamada, and Masahiro Takagi**  
*School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology*
- P7**      **Protein Labeling with Split SNAP-Tag by Protein-Protein Interaction Dependent Reconstitution in Living Cells**  
**Tatsuhiko Naoki, Masayasu Mie, Eiry Kobatake**  
*Dept of Biological Information, Tokyo Institute of Technology*
- P8**      **A Simple Approach for the Reconstitution of Hemoproteins**  
**Norifumi Kawakami<sup>1</sup>, Osami Shoji<sup>2</sup>, Yoshihito Watanabe<sup>1</sup>**  
*1 Research Center for Materials Science, Nagoya University*  
*2 Department of Chemistry, Graduate School of Science, Nagoya University*

- P9**      **Holoabzyme and Site-Directed Chemical Mutation**  
Takeshi Tsumuraya, Fumihiro Ishikawa, Ikuo Fujii  
*Department of Biological Science, Graduate School of Science, Osaka Prefecture University*
- P10**      **Creation of Simultaneous Dual-Color Sensing System for Caspase Activities Using Split-Fluorescent Proteins**  
Seiji Sakamoto, Anna Hugo, Mika Terauchi, Yasuyuki Araki, Takehiko Wada  
*Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University*
- P11**      **Cell Selective Drug Delivery Using Cell Penetrating  $\alpha$ -Helix Peptides Conjugated with Gold Nanoparticles**  
Hyejin Park, Hiroshi Tsutsumi, Hisakazu Mihara  
*Department of Bioengineering, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology*
- P12**      **Development of the Time-Resolved CD System for Detection of Structural Change Dynamics of Biomolecules (XVII) - Study on the Dynamics of Photo-Induced Structural Change of Photoactive Yellow Protein by Time-Resolved CD Measurement -**  
Makoto Murakami, Yoshiki Hamada, Yasuyuki Araki, Seiji Sakamoto, Mihoko Ui, Kazushi Kinbara, Takehiko Wada  
*Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University*
- P13**      **Development of New DNA Sensors Based on Unique Interactions between Hydrated Ionic Liquids and DNAs**  
Hisae Tateishi-Karimaita<sup>1</sup>, Naoki Sugimoto<sup>1,2</sup>  
*1 Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research (FIBER), Konan University*  
*2 Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST), Konan University*
- P14**      **Suppression of Gene Expression Depending on Stability and Position of G-Quadruplexes in Open Reading Frame**  
Tamaki Endoh<sup>1</sup>, Naoki Sugimoto<sup>1,2</sup>  
*1 Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research (FIBER), Konan University*  
*2 Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST), Konan University*
- P15**      **Construction of Stable DNA Three-way Junctions Based on Metal Complexation**  
Yusuke Takezawa, Jean-Louis H. A. Duprey, Shuhei Yoneda, Mitsuhiko Shionoya  
*Department of Chemistry, Graduate School of Science, The University of Tokyo*
- P16**      **Self-localizing Ligands: New Tools for Conditional Control of Protein Translocation and Cell Signaling**  
Manabu Ishida<sup>1</sup>, Hideaki Watanabe<sup>2</sup>, Kazumasa Takigawa<sup>2</sup>, Yasutaka Kurishita<sup>3</sup>, Itaru Hamachi<sup>3</sup>, Shinya Tsukiji<sup>1</sup>  
*1 Top Runner Incubation Center for Academia-Industry Fusion, Nagaoka University of Technology*  
*2 Department of Bioengineering, Nagaoka University of Technology*  
*3 Department of Synthetic Chemistry and Biological Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University*
- P17**      **Physiological Function and Some Properties of Possible Aerotaxis Transducer Htr8 from**

**Extremely Halophilic Archaeon *Haloarcula japonica***

**Toshitaka Matsubara<sup>1</sup>, Teppei Tadikara<sup>1</sup>, Yoshihiro Kubota<sup>1</sup>, Takayuki Kosaka<sup>1</sup>, Takatoshi Ozawa<sup>1</sup>, Rie Yatsunami<sup>1</sup>, Toshiaki Fukui<sup>1</sup>, Kaoru Nakasone<sup>2</sup>, Nobuyuki Fujita<sup>3</sup>, Mitsuo Sekine<sup>3</sup>, Tomonori Takashina<sup>4</sup>, Satoshi Nakamura<sup>1</sup>**

1 Department of Bioengineering, Tokyo Institute of Technology

2 Department of Biotechnology and Chemistry, Kinki University

3 National Institute of Technology and Evaluation

4 Department of Applied Bioscience, Toyo University

**P18 Analysis of Carotenoids in *Haloarcula japonica* and Characterization of *Ha. japonica crtI* Homologs**

**Ai Ando<sup>1</sup>, Rie Yatsunami<sup>1</sup>, Shinichi Takaichi<sup>2</sup>, Toshiaki Fukui<sup>1</sup>, Kaoru Nakasone<sup>3</sup>, Nobuyuki Fujita<sup>4</sup>, Mitsuo Sekine<sup>4</sup>, Tomonori Takashina<sup>5</sup>, Satoshi Nakamura<sup>1</sup>**

1 Department of Bioengineering, Tokyo Institute of Technology

2 Nippon Medical School

3 Department of Biotechnology and Chemistry, Kinki University

4 National Institute of Technology and Evaluation

5 Department of Applied Bioscience, Toyo University

**P19 Use of Poly(ethylene glycol) for the Study of Nucleic Acid Interactions**

**Shu-ichi Nakano<sup>1,2</sup>, Hidenobu Hirayama<sup>1</sup>, Yuuichi Kitagawa<sup>1</sup>, Daisuke Yamaguchi<sup>1</sup>, Hayato Sangan<sup>1</sup>, Daisuke Miyoshi<sup>1,2</sup>, Naoki Sugimoto<sup>1,2</sup>**

1 Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST), Konan University

2 Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research (FIBER), Konan University

**P20 Molecular Crowding Effects on DNA G-Quadruplex**

**Daisuke Miyoshi<sup>1,2</sup>, Takeshi Fujimoto<sup>1</sup>, Shu-ichi Nakano<sup>1,2</sup>, Naoki Sugimoto<sup>1,2</sup>**

1 Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST), Konan University

2 Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research (FIBER), Konan University

**P21 Single Molecule Level DNA Analysis Based on Charge Transfer Measurement**

**Kiyohiko Kawai<sup>1</sup>, Atsushi Maruyama<sup>2</sup>, Tetsuro Majima<sup>1</sup>**

1 The Institute of Scientific and Industrial Research (SANKEN), Osaka University

2 Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University

**P22 The Invention of Intracellular Environmental Response Artificial Nucleic Acid (PRNA) and its Applications to Cancer Cell Specific Oligonucleotide Therapeutics**

**Uematsu Ryo<sup>1</sup>, Mizutani Tatsuya<sup>1</sup>, Sakamoto Seiji<sup>1</sup>, ARAKI Yasuyuki<sup>1</sup>, Yamayoshi Asako<sup>2</sup>, Nakase Ikuhiko<sup>3</sup>, Murakami Akira<sup>2</sup>, Futaki Shiroh<sup>3</sup>, Inoue Yoshihisa<sup>2</sup>, Wada Takehiko<sup>1</sup>**

1 Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials (IMRAM), Tohoku University

2 Kyoto Institute of Technology, 3Institute of Chemical Research, Kyoto University

**P23 The Interaction between Sugar Linked Schiff Based Zn Complexes and DNA under the Crowded Conditions**

**Misaki Nakai<sup>1</sup>, Akari Hirata<sup>1</sup>, Hironobu Fukuda<sup>1</sup>, Shigenobu Yano<sup>2,3</sup>, Yasuo Nakabayasi<sup>1</sup>**

1 Materials and Bioengineering, Kansai University

2 Innovative Collaboration Center, Kyoto University

3 Graduate School of Material Science, Nara Institute of Science and Technology

- P24 Development of Various Functional Fluorescent Molecules Based on the Construction of Coumarin Library**  
Tomoya Hirano<sup>1</sup>, Takuya Shiraishi<sup>1</sup>, Haruka Sakai<sup>2</sup>, Marie Kinoshita<sup>2</sup>, Aya Tanatani<sup>2</sup>, Hiroyuki Kagechika<sup>1</sup>  
 1 *Institutes of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University*  
 2 *Department of Chemistry, Faculty of Science, Ochanomizu University*
- P25 A Method for Site-Specific Glycosylation of Proteins**  
Azusa Yakata<sup>1</sup>, Kenichi Hatanaka<sup>2</sup>, Takashi Ohtsuki<sup>1</sup>  
 1 *Graduate School of Science and Technology, Okayama University*  
 2 *Institute of Industrial Science, The University of Tokyo*
- P26 Synthesis of Proteins Including a Non-natural Amino Acid in Mammalian Cells**  
Takuma Ohtsuka<sup>1</sup>, Satoshi Neki<sup>1</sup>, Kodai Machida<sup>2</sup>, Hiroaki Imataka<sup>2</sup>, Takashi Ohtsuki<sup>1</sup>  
 1 *Dept. of Med. Bioeng. Sci., Okayama University*  
 2 *Dept. of Mat. Sci. and Chem., University of Hyogo*
- P27 Development of Hypoxia-Sensitive Fluorescence Probes for Multicolor Imaging**  
Kenjiro Hanaoka, Wen Piao, Tetsuo Nagano  
*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo*
- P28 Development of a Red Fluorescence Probe for Monitoring Dynamics of Cytoplasmic Calcium Ion**  
Takahiro Egawa, Kenjiro Hanaoka, Yuichiro Koide, Tetsuo Nagano  
*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo*
- P29 Role of Hydrogen Bonds in HutZ, Heme Degradation Enzyme from *Vibrio cholerae***  
Yukari Sekine<sup>1,2</sup>, Takeshi Uchida<sup>1,2</sup>, Toshitaka Matsui<sup>3</sup>, Masao Ikeda-Saito<sup>3</sup>, Koichiro Ishimori<sup>1,2</sup>  
 1 *Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University*  
 2 *Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University*  
 3 *Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University*
- P30 Structural Basis for the Transcriptional Regulation of Heme Homeostasis in *Lactococcus lactis***  
Hitomi Sawai<sup>1</sup>, Hiroshi Sugimoto<sup>2</sup>, Masaru Yamanaka<sup>1</sup>, Yoshitsugu Shiro<sup>2</sup>, Shigetoshi Aono<sup>1</sup>  
 1 *Okazaki Institute for Integrative Bioscience and Institute for Molecular Science, National Institutes of Natural Sciences*  
 2 *RIKEN SPring-8 Center, Harima Institute*
- P31 An Artificial Metalloenzyme; Utilization of Mononuclear Metalloprotein Containing 4-His Metal Binding Motif**  
Nobutaka Fujieda, Ken-ichi Ishihama, Yuki Taniguchi, and Shinobu Itoh  
*Graduate School of Engineering, Osaka University*
- P32 Metal Cluster Formations and Their Functions in the Assembled Protein Cavity**

**Yuya Tanaka, Satoshi Abe, Takafumi Ueno**  
*Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology*

**P33 Preparation of Photoinduced Hydrogen Evolution System Using Membrane Bound Hydrogenase with Phospholipid**

**Hidehiro Ito, Ichiro Okura, Toshiaki Kamachi**

*Department of Bioengineering, Tokyo Institute of Technology*

**P34 Heme Demetallation Enzyme from *Vibrio cholerae***

**Takeshi Uchida<sup>1</sup>, Miho Sasaki<sup>2</sup>, Koichiro Ishimori<sup>1</sup>**

*1 Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University*

*2 Department of Chemistry, School of Science, Hokkaido University*

**P35 Cytoprotective Effects of Nonheme Iron and Manganese Complexes with Superoxide Dismutase Activity**

**Yutaka Hitomi<sup>1,2</sup>, Shoko Matsuda<sup>1</sup>, Akiko Nomura<sup>2</sup>, Yuji Iwamoto<sup>1</sup>, Akihiro Kashida<sup>1</sup>, Kengo Arakawa<sup>1</sup>, Masashito Kodera<sup>1,2</sup>**

*1 Department of Molecular Chemistry and Biochemistry, Doshisha University*

*2 Centre for Nanoscience Research, Doshisha University*

**P36 Synthesis of Sugar Coated Lanthanide Nanoparticles for 5-Aminolevulinic Acid Mediated Near-Infrared Photodynamic Therapy**

**Atsushi Shimoyama<sup>1</sup>, Hiroya Watase<sup>1</sup>, Yu Liu<sup>1</sup>, Izumi Sotokawa<sup>1</sup>, Shun-ichiro Ogura<sup>1</sup>, Yuichiro Hagiya<sup>1</sup>, Kiwamu Takahashi<sup>2</sup>, Katsushi Inoue<sup>2</sup>, Tohru Tanaka<sup>2</sup>, Hideya Yuasa<sup>1</sup>**

*1 Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology*

*2 SBI Pharmaceuticals Co., Ltd.*

**P37 Unique Catalytic Activity of a Posttranslational Heterocyclase Revealed via an Artificial In Vitro Biosynthesis System**

**Yuki Goto<sup>1,2</sup>, Yumi Ito<sup>1</sup>, Yasuharu Kato<sup>1</sup>, Shotaro Tsunoda<sup>1</sup>, Hiroaki Suga<sup>1</sup>**

*1 Department of Chemistry, Graduate School of Science, The University of Tokyo*

*2 PRESTO, JST*

**P38 Model of Avian Magnetic Compass: Artificial Radical Pair System Induced by Blue Light**

**Yoshimi Oka**

*Frontier Research Core for Life Sciences, University of Toyama*

**P39 Biosynthesis of Bacteriochlorophylls in Phototrophic Bacteria Performing Anoxygenic Photosynthesis**

**Yusuke Tsukatani<sup>1</sup>, Haruki Yamamoto<sup>2</sup>, Jiro Harada<sup>3</sup>, Taichi Yoshitomi<sup>1</sup>, Tadashi Mizoguchi<sup>1</sup>, Yuichi Fujita<sup>2</sup>, and Hitoshi Tamiaki<sup>1</sup>**

*1 Graduate School of Life Sciences, Ritsumeikan University*

*2 Graduate School of Bioagricultural Science, Nagoya University*

*3 Department of Medical Biochemistry, Kurume University School of Medicine*

**P40 Enhancement of the Hydrolytic Activity of Cellulose Nanocrystal Fibers by Novel Incubation Methods**

**Hiromichi Okura<sup>1</sup>, Masahisa Wada<sup>2</sup>, Takeshi Serizawa<sup>1</sup>**

- 1 *Department of Organic and Polymeric Materials, Tokyo Institute of Technology*  
2 *Graduate School of Agricultural and Life Science, The University of Tokyo*

**P41 Novel Strategy to Control Fluorescent Property of Asymmetric Xanthene Scaffold toward Rationally Designable Fluorescent Probe**

**Eiji Nakata, Takashi Morii**

*Institute of advanced Energy, Kyoto University*

**P42 Penetrating Live Cells via a Screw Structured Motif of Bacteriophage T4**

**Nusrat J M Sanghamitra<sup>1</sup>, Hiroshi Inaba<sup>2</sup>, Dan Ohtan Wang<sup>1</sup>, Suji Kanamaru<sup>3</sup>, Fumio Arisaka<sup>3</sup>, Kazuhiro Aiba<sup>1</sup>, Norio Nakatsuji<sup>1</sup>, Susumu Kitagawa<sup>1,2</sup>, Takafumi Ueno<sup>1,3</sup>**

1 *Institute of Integrated Cell-Material Science, Kyoto University*

2 *Graduate School of Engineering, Kyoto University*

3 *Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology*

**P43 Interaction between Flavonoids and a Biomimetic Membrane**

**Bindu Chahal, Mun'delanj C.Vestergaard, Tsuyoshi Yoda, Masahiro Takagi**

*School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology*

**P44 Charge-Induced Transition in Membrane Mesoscopic Structures: Lateral Domains and Vesicular Shapes**

**Hiroki Himeno, Tsutomu Hamada, Masahiro Takagi**

*School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology*

**P45 Development of the Detection System for Expressed Gene in Isolated Single Cells on Compact Disk (CD)-Shaped Device**

**Shunsuke Furutani<sup>1</sup>, Naoki Shozen<sup>1</sup>, Hidenori Nagai<sup>2</sup>, Yuri Aoyama<sup>1</sup>, Izumi Kubo<sup>1</sup>**

1 *Department of Bioinformatics, Faculty of Engineering, SOKA university*

2 *National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*

**P46 On the Performance of Newly Developed Near Infrared Window-Emitting Firefly Luciferin Analogs for Deep Site Imaging**

**Satoshi Iwano, Obata Rika, Satoshi Kojima, Takashi Hirano, Shojiro Maki, Haruki Niwa**

*Department of Engineering Science, The University of Electro communications*

**P47 Porous Lysozyme Crystals as Reaction Vessels for Controlling Magnetic Properties of CoPt Nanoparticles**

**Satoshi Abe, Takafumi Ueno**

*Department of Biomolecular Engineering, Tokyo Institute of Technology*

**P48 Synthesis and Performance of a New Firefly Luciferin Analog Emitting Light within Near-Infrared (NIR) Window**

**Kazuto Ito<sup>1</sup>, Nobuo Kitada<sup>1</sup>, Satoshi Iwano<sup>1</sup>, Rika Obata<sup>1</sup>, Shojiro Maki<sup>1</sup>, Haruki Niwa<sup>1</sup>, Tsuyoshi Saito<sup>2</sup>, Shigeru Nishiyama<sup>2</sup>**

1 *Department of Engineering science, The University of Electro-Communications*

2 *Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Keio University*

**P49 Development of New Firefly Luciferin Analogs**

**Chihiro Miura, Satoshi Iwano, Kazuto Ito, Takashi Hirano, Shojiro Maki, Haruki Niwa**  
*Department of Engineering Science, The University of Electro-Communications*

**P50 Synthesis of Fluorescent Unnatural Streptavidin and Application to Molecular Biosensor for Biotin**

**Xianwei Zhu<sup>1</sup>, Hiroaki Shinohara<sup>2</sup>**

*1 Graduate School of Innovative Life Science for Education, University of Toyama*

*2 Graduate School of Science and Engineering for Research, University of Toyama*

**P51 NMR Spectroscopic Approaches to the Conformational Dynamics of Oligosaccharides by Paramagnetic Tagging**

**Takumi Yamaguchi<sup>1,2,3</sup>, Ying Zhang<sup>1,2,3</sup>, Koichi Kato<sup>1,2,3</sup>**

*1 Institute for Molecular Science and Okazaki Institute for Integrative Bioscience, National Institutes of Natural Sciences,*

*2 Sch. Phys. Sci., The Graduate University for Advanced Studies*

*3 Grad. Sch. Pharm. Sci., Nagoya City University*

**P52 Organic Nanotube Drug Nanocarrier**

**Wuxiao Ding, Mitsutoshi Masuda, Toshimi Shimizu**

*Nanotube Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*

**P53 Design and Construction of Hydrogels Composed of Gold Nanoparticle and Filamentous Virus**

**Toshiki Sawada, Takeshi Serizawa**

*Department of Organic and Polymeric Materials, Tokyo Institute of Technology*

**P54 Shape-Dependent Cellular Uptakes of Gold Nanoparticles and Their Vaccine Immunogenicity**

**Tatsuya Matsunaga<sup>1</sup>, Kenichi Niikura<sup>2</sup>, Tadaki Suzuki<sup>3</sup>, Shintaro Kobayashi<sup>4</sup>, Hiroki Yamaguchi<sup>4</sup>, Takafumi Ninomiya<sup>5</sup>, Hirofumi Sawa<sup>4</sup>, Kuniharu Ijiro<sup>2</sup>**

*1 Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University*

*2 RIES, Hokkaido University*

*3 Dept. of Pathol., NIID*

*4 CZC, Hokkaido University*

*5 Sapporo Medical University School of Medicine*

**P55 Molecular Design of Synthetic Viral Capsids**

**Kazunori Matsuura<sup>1</sup>, Yuusaku Mizuguchi<sup>2</sup>, Nobuo Kimizuka<sup>2</sup>**

*1 Graduate School of Engineering, Tottori University*

*2 Graduate School of Engineering, Kyushu University*

**P56 Evaluation of Importance of Nuclear Import in Artificial Viral Gene Delivery Using Programmable Cellular Image Tracer**

**Takeshi Nagasaki<sup>1</sup>, Takeshi Kawazu<sup>1</sup>, Kazumi Hakamada<sup>2</sup>, Yusuke Oda<sup>3</sup>, Jun Miyake<sup>2</sup>, Kazuo Maruyama<sup>3</sup>**

*1 Graduate School of Eeg., Osaka City University*

*2 Graduate School of Eng. Sci., Osaka University*

*3 Faculty of Pharm. Sci., Teikyo University*

- P57 Characterization of Crystallizing Lysozyme Solutions by Forward Light Scattering**  
**Takashi Wakamatsu<sup>1</sup>, Hiroshi Koibuchi<sup>2</sup>**  
*1 Department of Electrical and Electronics System Engineering, Ibaraki National College of Technology*  
*2 Department of Mechanical and Systems Engineering, Ibaraki National College of Technology*
- P58 Application of Chaperone-like Activity of Amyloid Fibril of Peptides from  $\alpha$ A-Crystallin for Treatment of Neurodegenerative Disorders**  
**Sayuri Fukuhara, Tatsutoshi Nishigaki, Nobuhiko Tsuchiya, Tomonori Waku and Naoki Tanaka**  
*Department of Bio-molecular Engineering, Kyoto Institute of Technology*
- P59 PET-Dependent Fluorescence Sensing of Enzymatic Reactions Using Large and Tunable pKa Shifts of Aliphatic Amines**  
**Yuji Oshikawa, Manabu Nakazono, Akio Ojida**  
*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University*
- P60 Design of a Highly Reactive Peptide Tag-Probe Pair for Selective Covalent Labeling of Cell Proteins**  
**Shigekazu Tabata<sup>1</sup>, Munetsugu Kido<sup>1</sup>, Kazushi Tani<sup>1</sup>, Itaru Hamachi<sup>2</sup>, Akio Ojida<sup>1</sup>**  
*1 Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University*  
*2 Department of Synthetic Chemistry and Biological Chemistry, Kyoto University*
- P61 Red/Near-Infrared Fluorescent Ar,O-BODIPY Dyes Bearing a Water-Soluble Tag: Their Application to Cellular Staining**  
**Masaki Yamamura, Shinya Yazaki, Michio Shimamura, Tatsuya Nabeshima**  
*Graduate School of Pure and Applied Sciences & Tsukuba Research Center for Interdisciplinary Materials Science, University of Tsukuba*
- P62 Unidirectional Cloning with a Sandwiched Zinc Finger Nuclease**  
**Tomoaki Mori<sup>1,2</sup>, Kazuki Shinomiya<sup>1</sup>, Yasuhiro Aoyama<sup>1,3</sup>, Takashi Sera<sup>1,2</sup>**  
*1 Department of Synthetic Chemistry and Biological Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University*  
*2 Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University*  
*3 Faculty of Science and Engineering, Doshisha University.*
- P63 Encapsulation of Drugs in Virus-like Particles and Their Glutathione-Triggered Release in Cells**  
**Kenichi Niikura<sup>1</sup>, Naotoshi Sugimura<sup>2</sup>, Hirofumi Sawa<sup>3</sup>, Kuniharu Ijiro<sup>1</sup>**  
*1 Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University*  
*2 Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University*  
*3 Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University*

## お知らせ

### 日本化学会第 93 春季年会 (2013) 開催案内

主 催 日本化学会

会 期 2013 年 3 月 22 日 (金) ~ 25 日 (月)

会 場 立命館大学びわこ・くさつキャンパス (滋賀県草津市野路東 1 丁目 1-1)

実行委員長 中條善樹 (京都大学大学院工学研究科・教授)

#### 重要な日程

講演申込期間 2012 年 11 月 14 日 ~ 11 月 29 日

予稿原稿提出期間 2013 年 1 月 8 日 ~ 17 日

参加予約期間 2013 年 1 月 23 日 ~ 2 月 22 日

プログラム公開 2013 年 2 月 19 日 (予定)

予稿集発行日 2013 年 3 月 8 日 (予定)

問合先 日本化学会 企画部 年会係

〒101-8307 東京都千代田区神田駿河台 1-5

電話 (03) 3292-6163 E-mail: nenkai@chemistry.or.jp

URL: <http://www.csj.jp/nenkai/>

#### 講演申込分類 (10. 生体機能関連化学・バイオテクノロジー)

- A. 機能性低分子・分子認識 (錯体, ポルフィリン, 補酵素, イオン, ラジカルなど)
- B. 核酸 (モデル化合物を含む)
- C. タンパク質・酵素 (タンパク質工学, 酵素工学, ペプチド, モデル化合物を含む)
- D. 糖 (糖鎖工学, モデル化合物を含む)
- E. 脂質・生体膜 (モデル化合物, モデル膜を含む)
- F. 細胞 (バイオプロセス, 細胞工学, 代謝工学, 培養工学を含む)
- G. 生命情報 (ゲノム, 遺伝情報発現など)
- H. 環境バイオテクノロジー・食品バイオテクノロジー・バイオセンサー
- I. メディカルバイオテクノロジー
- J. 生体触媒反応
- K. ケミカルバイオロジー (作用機構, バイオイメーjing, ラベル化, 機能制御など)
- ※9. 天然物化学と同一会場でプログラムが組まれます (予定)
- L. その他

#### アドバンスト・テクノロジー・プログラム (ATP) の紹介

春季年会では産業界が注目する化学技術分野を中心とする研究発表を通じて産学官の交流・深化を図る目的で、2005 年よりアドバンスト・テクノロジー・プログラム (ATP) を実施してきました。9 年目を迎える今期の ATP では、従来の企画を大きく刷新し、注目度の高い喫緊の課題に対応しうるセッ

ション構成でのプログラムを提供していくことを計画しております。また今季から優秀講演賞（産業）の審査を ATP ポスターで行うこととし、対象部門も従来のアカデミック・プログラム（AP）の 5 部門から全部門に拡大して、7 つの産業適用分野で募集、審査いたします。奮ってご応募下さい。（生体機能関連化学に関連する分野を下記に記載）

#### T1. 資源・次世代エネルギーと環境（仮）

趣旨：東日本大震災と原発事故を機に、エネルギー問題がより顕在化してきています。本セッションは下記 5 つのサブセッションを設定し、化学が果たせる役割を産学官で共に考える情報交流の場を提供します。多数の参加と熱気溢れる議論を期待しています。

#### T2. 新材料開発最前線

趣旨：現在、産業界から注目を集めている新材料として「A：次世代リソグラフィ」、 「B：プリンテッドエレクトロニクス」、 「C：自己組織化技術、融合マテリアルが支えるバイオメテイクス研究の最前線」の三つのサブセッションを設定しました。特に「C：自己組織化～」では、強調セッションとして 3 日間連続開催する予定であり、「分子から生物まで」、「学術から産業まで」、周辺領域を包含する広範な内容について分野を超えた活発な議論を期待しています。

#### T3. バイオ技術の新展開

趣旨：ヒトゲノムが解明され、まさにポストゲノム時代のまっただ中、新たなバイオ技術も生まれているが、それをいかに展開し、科学・産業・社会のイノベーションに結び付けるかが、我々の大きな使命であり、社会の大きな期待であります。本セッションでは、現在社会で大きな問題となっている食糧問題、電力問題、また、医療ニーズを取り上げ、これらに対して、バイオの技術がどこまで解決策を提供できるか、どこまで迫れるかについて徹底的に議論する目的で、以下の 3 つのシンポジウムを企画しました。第一線で活躍する講演者と参加者が一堂に会し、新たなバイオ技術の研究開発と課題、その展開による新たな産業の創生、すなわち、グリーンイノベーション、ライフイノベーションへの挑戦について、講演（基調、招待、依頼）やミキサー等を通じ、広く深いアイデアと知恵、そして技がぶつかり合う、かつ夢のあるシンポジウムといたします。

**日本化学会第93春季年会(2013)**



**2013年3月22日(金)～25日(月)**  
**立命館大学 びわこ・くさつキャンパス**



**講演申込締切: 2012年11月29日**  
**予稿原稿締切: 2013年 1月17日**  
**参加予約申込: 2013年 2月22日**



ニュースレター Vol. 27, No. 3 2012年 11月 2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：民秋 均, 大槻高史, 島本啓子、高木昌宏