

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. 19, No.3 (2004.12. 1)

目 次

巻 頭 言

国立大学法人化に展望ありや?.....生越 久靖 1

紫綬褒章受章お祝い

新海征治先生の紫綬褒章の受章を祝す.....長野 哲雄 3

研 究 紹 介

リン酸化タンパク質・ペプチドの特異的認識と蛍光センシング・・王子田 彰夫 4

アセチレン連結ポルフィリンの二光子吸収特性と光線力学療法・・小川 和也 8

ペプチド-オリゴヌクレオチドコンジュゲートを利用した

生体分子間相互作用解析.....野島 高彦 12

水晶発振子上の分子の挙動に「手を出す」.....古澤 宏幸 16

部 会 行 事

第 19 回生体機能関連化学シンポジウム開催報告..... 20

第 5 回生体機能関連化学部会講演賞..... 21

第 19 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム開催報告..... 22

日本化学会生体機能関連化学部会講習会報告..... 24

お 知 ら せ

第 8 回バイオテクノロジー部会シンポジウム開催報告..... 26

第 7 回生命化学研究会シンポジウムのご案内..... 27

国立大学法人化に展望ありや？

豊橋技術科学大学監事 生越 久靖

平成 16 年 4 月より、国立大学法人制度が発足し、各大学ともに法人化の立ち上げと準備に膨大なエネルギーと時間を消耗されただろうと思います。そして、法人化された大学の教学と運営の正念場を迎えておられることと思います。私は、大学退官後、高等専門学校に 6 年、現在法人後の大学の監事を勤めております。21 世紀に突入する時期から国立大学・高等専門学校の法人化へ移行する前後の激動期を経験することになりました。大学における研究生活から離れてすでに 8 年経過しておりますので、研究教育の現場におられる皆さんにお役に立てるようなコメントを申し上げる自信はありませんが、かつて部会にいた仲間の一人として外野席から声援を送りたく思います。但し、国立大学だけを対象にしたものではなく、これから始まる公立大学の法人化、既に法人化されている私立大学も共通の問題として考えるべきだと思います。

最近、或る地方大学の先生から法人化後の校費がかなり削られて呆然としていますという悲鳴に近い話を聞かされました。どうも程度の差こそあれ、研究室単位の運営費は削減され、大学運営交付金からは期待出来ない。科学研究費、他の助成団体の補助、委任経理金が無い限り、厳しい状況に置かれているようです。国立大学の法人化をリードされた遠山前文科大臣は、わが国の教育への財政投資は先進諸国に比して低く、特に大学への予算は国として英国並みの 2 倍にすべきであると明言されている。そして、運営費交付金等の国立大学法人の予算の充実が重要であると結んでいる。しかしながら、現実多くの大学の

教官はこれまで配分された少ない校費で研究室の運営を続けてきたが、法人化後はさらに厳しいと聞く。さらに、来年から運営交付金の教育研究費を 1%削減することを財務省と合意している事実は、わが国の経済事情から短期的な施策ではなく、長期にわたるものである。残念ながら、法人化を積極的に支援する実質的な財政的な方策はなく、各大学のやり方に任せるという事態が起こっている。また、学長が限られた予算内で効率的な運営を行うために重点的に予算配分する必要がある。そのために教育研究の末端を窮乏させる事態もあり得る。科研費を含めた外部からの研究教育補助の獲得は激化する可能性があり、統計的に言えば継続して研究費助成を得ることはより難しくなるだろう。したがって、数年後の中期評価を考えると研究費に逼迫している優れた研究者には学内措置で支援することが望ましい。

国立大学の法人化は急に浮上したものでなくて、それなりに歴史的必然性をもつものとして長期にわたり議論が繰り返されてきた。つまり、第二次世界大戦後、大学の形態はアメリカ型の民主化された大学とはいえ、その実態は戦前と変わらない状態であった。この点については、かつて宮城道雄（文部大臣（森内閣）元東工大教授）は「日本の大学」（1965）と「大学の可能性」（1969）の中で日本の産業社会にはたす役割として大学は管理運営面で柔軟な構造に変化させることを提言されていた。彼の大学公社案（1962）は、国立大学法人の範ともなっていると評価されている。当時の社会的な情勢では、かなり進歩的なものとして注目された。しかし、国立大学が文部

省の管轄下の所属機関としての地位を脱することは困難であった。

ベルリンの壁の崩壊で象徴される世界の二極対立構造が瓦解し、世界社会はアメリカが主導する一極構造へ変化し、情報技術の進歩により世界のグローバル化が加速される現代を迎えた。それまで、大学審議会等で大学の将来のあり方が議論されてきたが、グローバル化により惹起された急速な社会情勢の変化は、わが国の時代への対応の遅れを表面化させた。国の構造改革も遅れ勝ちであるが、特に時代の荒波は遅々として進まない大学改革にショックを与え、一挙に国立大学の法人化は加速した。文科省が国立高等教育機関の法人化は高等教育改革の一環とする施策は重要である。遠山プランと称される行財政改革による大学の構造改革の内容とそれまで時間をかけて議論された大学審議会の答申に盛られた大学改革の方策にずれがないのだろうか？さて、グローバル化は世界の指導原理でもなく、世界の仕組みの現象であり、すでにグローバル化から生じる弱者と強者の格差の拡大等の問題があり、同時に反グローバル化も進行する世の中であることを認識しておきたい。また、ポスト工業化社会においても、国を支える科学技術の高度化は言をまたない。

第三者による評価問題は、文科省の主導する構造改革の中でも重要な点であるが、将来評価の結果が予算の重点配分と関係するために公平性、透明性と客観性が尊重されなければならない。しかし、各大学の実施する第三者評価の結果が正当なものかどうか、また各校の心配するところである。国もいろいろなレベルの評価があり、的確な評価制度と評価基準が必要とされる。評価に関する情報を発する大学の積極的な姿勢とそれを受け取る側の社会の適正な理解を求められる。大学の教育研究に携わるものは、我々個々の自己意識の変革を進めながら新時代のあり方を模索せざるを得ない。国立大学の法人化の成否は国の盛衰にかかわるものである。大学の執行部

との相互理解をもつルートを早くつくるのが肝要であると思います。個々の教職員が、目先のことに振り回されずに、法人化に至る経緯を考えることは無駄ではないと思います。以上、私が感じたままを書かせて頂きましたが、紙数の制限もあり、意を尽くせないところもありご容赦下さい。

これは法人化と関係ないことですが、アメリカ化学会の Chem. & Eng News (Oct. 25, 2004) の Insight 欄に面白いことが書かれていました。表題は、「Nobel Prizes and Fuzzy Boundaries」で、その書き出しは、Experience shows you don't have to be a chemist to win the Nobel Prize in Chemistry です。2003 年、2004 年連続してノーベル化学賞の受賞者が化学者ではなくて、生理学、医学、もしくは分子生物学者であることです。その中の受賞者は、現在でなくともいつの日か必ず生理学（医学）の領域でノーベル賞を受賞するだろうと予測されていました。ノーベル化学賞選考委員会の選考委員長をつとめた Wennerstr 嚙教授は理論物理化学者（Lund Univ.）である。彼は、化学をめぐるノーベル賞の候補者は化学にとどまらず広く生理学、分子生物学、医学、物理学の科学者でも問題はないことを語っている。1962 年、Perutz と Kendrew がノーベル化学賞を受賞し、Watson, Crick と Wilkins がノーベル生理学（医学）を受賞した例を挙げ、すでに化学が学際的な要素を含み、分子の概念が多くの分野を包括し拡張されつつある。また成果が化学に直接関係なくても人類の福祉に貢献しておれば問題ないと結論している。工学部電気の出身者である島津の田中さんがノーベル化学賞を受賞されたのもこの委員会の新しい時代に対する見識によるものであろう。化学の学問上の位置づけは、学際化が進行する中で定かな定義は必要でないかも知れない。化学者が他の分野でノーベル賞を受賞される時代もくることを期待したい。部会の更なるご発展を期待しています。

紫綬褒章受章お祝い

新海征治先生の紫綬褒章の受章を祝す

生体機能関連化学部会部会長 長野 哲雄

この度、九州大学大学院工学研究科の新海征治先生が紫綬褒章を受章されました。新海先生は本部会の部会長も務められたこともあり、日本の科学における Top Scientist のお一人です。先生がこの様な栄えある賞をご受賞されたことを心からお祝い申し上げます。

本部会員の先生方は、新海先生についてはよくご存じのこととは思いますが、簡単に先生のご研究歴を紹介させていただきます。先生は九州大学大学院を修了後、カリフォルニア大学サンタバーバラ校にご留学され、その後九州大学工学部助教授を経て、昭和 63 年より九州大学教授を務めておられます。それ以降、大型研究プロジェクトだけを挙げても、創造科学技術推進事業 (ERATO)「新海包接認識プロジェクト」、国際共同研究 (ICORP)「分子転写プロジェクト」、基礎的研究発展推進事業 (SORST)「多糖系遺伝子マニピュレーター」、文部省 COE「分子集積・組織化の精密設計と機能制御」、文科省 21COE「分子情報科学の機能イノベーション」の総括責任者、代表者あるいはリーダーとして活躍されてまいりました。

先生は永年にわたって、分子認識化学ならびに集積機能化学の研究・教育に務め、常に先駆的かつ独創的なアプローチによって新領域を開拓されてこられました。とりわけ、光により駆動する分子機械の創製や外部刺激に応答し機能する分子の構築は我が国が世界に誇る成果となっています。これらの成果により、現在までに日本化学会進歩賞 (昭和 53 年度)、高分子学会賞 (昭和 60 年度)、Izatt-Christensen 国際賞 (1998 年)、Backer Lecture 賞 (1999 年)、Vielberth Lectureship 賞 (2002 年)、日本化学会賞 (2004 年) と数々の学術賞を受賞されておられます。

2003 年末までに、原著論文として 786 報、著書・総説 138 報を発表されており、米国の ISI-Thomson Scientific 社が発表している化学における「論文被引用度・世界トップ 100 人 (1990

- 2000)」に選ばれた日本人二名のうちの一人であること、および過去 10 年間 (1993 - 2003) における同分野での論文被引用度の総数が世界第 8 位にランクされていることなど、先生の研究成果のすばらしさは感嘆するばかりです。

このような赫々たるご業績の先生に紫綬褒章はむしろ当然のことと思われませんが、部会員の一人として、このご受賞を機に更に大きな賞を受賞されることを願っております。この度は誠にありがとうございました。



同時に受賞された東京工業大学・山本隆一先生との記念写真 (11 月 15 日の授賞式にて)

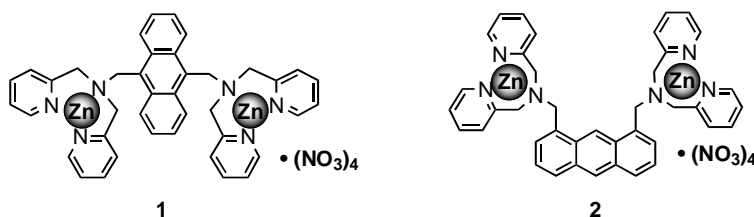
リン酸化タンパク質・ペプチドの特異的認識と 蛍光センシング

九州大学先導物質化学研究所 王子田 彰夫

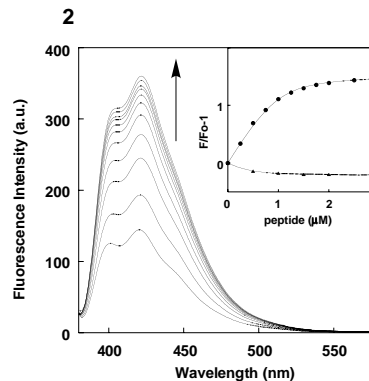
はじめに

翻訳後修飾の一つとしてタンパク質がリン酸化を受けることはご存じのことと思います。個々のタンパク質のレベルでリン酸化を捉えてみれば、タンパク質はリン酸化を受けることによりコンフォメーション変化によって（酵素）活性を ON-OFF したり、細胞内での局在する場所を変えたり、あるいはリン酸化により他のタンパク質と表面相互作用する能力を獲得したりします。もう少し大きな視点として細胞内シグナル伝達のレベルでリン酸化を捉えてみれば、個々のタンパク質のリン酸化—脱リン酸化がシグナルの流れをコントロールする大切な役目を果たしています。そこではリン酸化—脱リン酸化は、シグナルの流れの ON-OFF を行うスイッチとして、またリン酸化の箇所に依存してシグナルをどの方向に流すかを定める切り替えポイントとしての役目を果たしています。タンパク質表面へのたった一つのリン酸基の付加がタンパク質の機能を変化させ細胞内シグナル伝達を巧みにコントロールする、この極めて重要な役目を果たすタンパク質表面のリン酸基を人工小分子で認識したい、そしてその小分子を利用して細胞内シグナル伝達の解明や人工制御を行ってみたい、そのような夢からこのテーマはスタートしました。本小論では、そんな我々の夢から始まったリン酸化タンパク質を標的とした人工レセプター開発について紹介させていただきます。

1. モノリン酸化タンパク質を認識・蛍光センシングできる人工レセプター^{1), 3)}

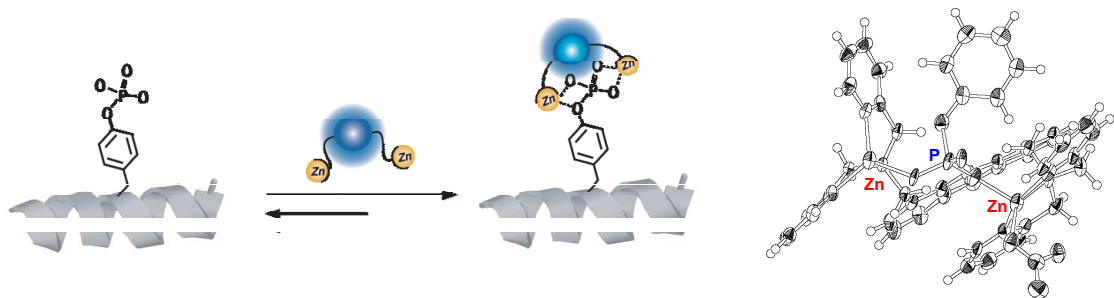


我々がまず、第一世代の人工レセプターとして設計した化合物は 1 と 2 です。我々がこのテーマを始めた当時、水中でリン酸アニオンと強く相互作用できる低分子アニオンレセプターはほとんど知られていませんでした。そこで水中で有効に働く金属 - 配位子相互作用に着目して二核亜鉛錯体 1, 2 を新しくデザインしたのです。左図に示す様に 1 はリン酸化ペプチドとの相互作用によりアントラセン由来の蛍光強度を増加させる蛍光センサーとして機能することを見出しました。結合能力として、1 は



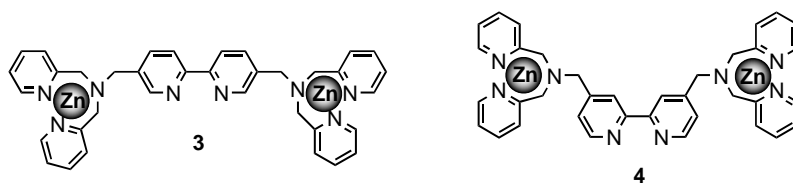
Fluorescence Spectrum change of 1 (1 μ M) upon the addition of a phosphorylated peptide (EEEIpYEEFD). (Inset) Fluorescence titration curve of 1 with the phosphorylated peptide (1) and the corresponding non-phosphorylated peptide (s).

グルタミン酸残基をたくさん持つアニオンリッチなリン酸化ペプチドに対しては最高で 10^7 M^{-1} に達する強い親和性を持つことが明らかとなりました (Figure 1)。一方、アルギニン残基をたくさん持つカチオン性のリン酸化ペプチドに対しては親和性が弱く (場合によっては 10^3 M^{-1} 程度)、配列選択的なリン酸化ペプチド認識能を発現することを明らかとしました。このようなシンプルな構造を持つ人工小分子でも、リン酸化ペプチドに対する配列認識選択性を持っていることは一つの新鮮な驚きでした。これらの亜鉛錯体のリン酸種との相互作用については、当初のデザインどおり二つの Dpa-Zn(II)部位を共同的に用いてリン酸種を挟み込むモードで結合することを 1 とフェニルリン酸複合体の X 線結晶解析により明らかとしています (下図)。一方、これらの亜鉛錯体がリン酸化ペプチドとの結合に伴ってどうして蛍光を上昇させるのか、その蛍光増強メカニズムについては研究が展開していく過程で長い間謎のまま残っていました。紙面の都合上、今回は詳しく説明できませんが、メカニズム解明の糸口はレセプター-2 への一滴の亜鉛水溶液の添加による蛍光強度の上昇でした。様々な検討の結果、1, 2 は分子内に二つの亜鉛錯体部位があって初めて成り立つ PET 解消型のリン酸基アニオンセンシング機構を持つことが分かりました。これについてもう少し詳しくお知りになりたい方は文献 3 をご覧いただきたいと思います。

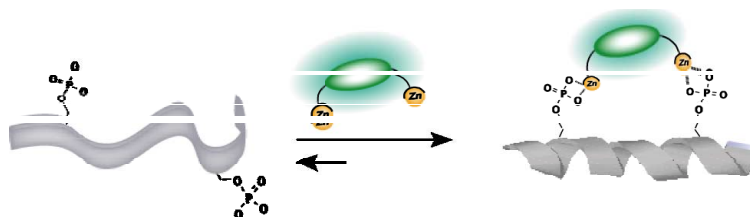


2. 多点 (ハイパー) リン酸化ペプチドを認識できる人工レセプター²⁾

キナーゼによってタンパク質中の隣接するアミノ酸残基が多数リン酸化を受ける多点 (ハイパー) リン酸化と呼ばれる現象が知られています。ハイパーリン酸化現象はサイトカインレセプターの細胞質ドメインなどでよく見られますが、その他にもタウタンパク質の異常ハイパーリン酸化とアルツハイマー病などの神経疾患との関連は有名な話でご存じの方もいらっしゃるかと思います。先に紹介した人工レセプター-1, 2 は一つのリン酸基を二つの亜鉛錯体部位で挟み込む形で認識しました。一方で我々はハイパーリン酸化タンパク質上の複数のリン酸基を架橋型の二点相互作用で認識可能な人工レセプター-3, 4 を設計しました。このような人工レセプターでは、単にタンパク質がリン酸化されているのかいないのかの区別のみではなく、リン酸基の数とリン酸基間の距離といった別のモードの選択性が発生しますのでより高度な分子認識が実現できる可能性があります。



CD により人工レセプター3, 4 と二つのリン酸化セリンを有するペプチドとの相互作用について検討を行うと、例えばレセプター3 は i, i+7 の位置にリン酸化セリンを有するペプチドと強く相互作用して($K_{app} = 1.6 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$)、ペプチドの α -ヘリックス構造を誘起することが明らかとなりました。コントロール実験として単核の亜鉛錯体では α -ヘリックス構造は誘起されないことや、モノリン酸化ペプチドと二核亜鉛錯体との親和性は弱いことなどから、3, 4 がペプチド上の二つのリン酸基を架橋形成により距離選択的に認識していることが明らかとなりました。このような架橋型レセプターでは二つの亜鉛錯体間のスペーサー部分をうまくデザインすることで、新しい相互作用サイトを組み入れてより高い認識選性を発現させたり、蛍光団を導入することによりタンパク質のハイパーリン酸化を蛍光検出するメカニズムを組み入れたたりすることが可能となります。これを目指して現在研究が進行中です。



3. 人工レセプターの分子ツールとしての応用

冒頭にも述べたように、我々の開発した人工レセプターをタンパク質リン酸化の関わる細胞内現象の解析や人工制御に有用な分子ツールとして使ってみたいという考えが当初からありました。以下にこれまでに我々が行った人工レセプターの応用例についての紹介をさせていただきます。

i) フォスファターゼによる脱リン酸化反応の蛍光モニターリング³⁾

人工レセプター1, 2 はリン酸化ペプチドと結合することにより蛍光を増強させます。この蛍光センシング能を活用してフォスファターゼによる脱リン酸化反応の蛍光モニターリングが可能となります。代表的なフォスファターゼである PTP1B を用いて検討を行ったところ基質ペプチドの脱リン酸化反応の進行に伴って時間依存的な蛍光強度の減少が観察されました。このシステムを活用して PTP1B の簡便な阻害剤アッセイが可能になります。

ii) リン酸化タンパク質の SDS-PAGE 上での蛍光検出⁴⁾

人工レセプターを用いて電気泳動ゲル上(SDS-PAGE)でのリン酸化タンパク質の蛍光検出が可能となります。すなわち数種類のタンパク質混合物を用いてゲル電気泳動を行った後、人工レセプター2 を蛍光染色剤として用いるとリン酸化タンパク質のみが選択的に染色され検出できることを明らかとしました。

iii) リン酸化タンパク質—タンパク質間相互作用の阻害

細胞内シグナル伝達に普遍的に見られるリン酸化タンパク質と他のタンパク質との表面相互作用を我々の人工レセプターによって阻害可能かどうかについて検討を行いました。リン酸化タンパク質認識ドメインである WW ドメインと基質リン酸化ペプチドとの相互作用を標的として架橋型レセプターを阻害剤として用いたところ、4 が基質二リン酸

化ペプチドと架橋形成により強く相互作用し WW ドメインの表面相互作用を阻害できることが明らかとなりました。

おわりに

以上、これまでに我々が行ってきた研究を簡単に紹介させて頂きました。現時点で我々の人工レセプターはリン酸化タンパク質・ペプチドを認識・蛍光センシングできる能力を十分持っていることは証明できた訳ですが、認識選択性はまだまだ不十分であると言わざるを得ません。結合力のほとんどを金属 - 配位子相互作用と静電相互作用に頼っている現時点では抗体のような高度な認識選択性は当然望むべくもないわけです。リン酸化タンパク質は生体内に果たしてどのくらい数があるのでしょうか？また、その他の生体内リン酸種がどのくらいありそしてこれらの細胞内濃度はどのくらいなのでしょう？これらの生体の多様性と複雑性に太刀打ちできるだけのスーパーリン酸化タンパク質人工レセプターをいつかは作ってみたいという夢があります。薬は世の中に存在する人工小分子の中で最上位に位置するスーパー超分子であると私は思っていますが、すばらしい薬分子を眺めながらもしかしたらいつかはそんなことも可能かなと有機合成屋の夢を抱きつつ日々新しいモノ作りに挑戦しながら研究生活を送っております。

最後になりましたが、本研究は浜地 格教授の常日頃の厳しいご助言と浜地研究室学生諸氏の大奮闘の賜であります。この項を借りまして改めて感謝の意を述べさせていただきます。

参考文献

- 1) Akio Ojida, Yasuko Mito-oka, Masa-aki Inoue, Itaru Hamachi *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6256.
- 2) Akio Ojida, Masa-aki Inoue, Yasuko Mito-oka, Itaru Hamachi *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10184.
- 3) Akio Ojida, Yasuko Mito-oka, Kazuki Sada, Itaru Hamachi *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2454.
- 4) Akio Ojida, Takahiro Kohira, Itaru Hamachi *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 1024.



研究紹介

アセチレン連結ポルフィリンの二光子吸収特性と光線力学療法

奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科 小川 和也

e-mail oga@ms.naist.jp

はじめに

二光子吸収とは二個の光子を同時に吸収して分子が励起される現象であり、例えば波長 400 nm に対応するエネルギーギャップに対して半分のエネルギーを持つ 800 nm の光子が二個吸収することで 400 nm の波長を励起したことに同等となる。二光子吸収はレーザー光をレンズで絞った焦点のような光強度の強い場所で起こり、焦点からはずれた光強度の弱い位置では二光子吸収は生じないため三次元的に位置選択的な光励起ができる。従って二光子吸収材料は三次元光メモリや光線力学療法等(PDT)への応用が期待される。特に生体組織への透過性が高い近赤外光が使えるため深部がんの位置選択的治療に有効である二光子 PDT への関心が高まっている。PDT はポルフィリンを光照射することで発生する一重項酸素でがんを死滅させる治療法であるが、従来のポルフィリンは二光子吸収断面積が小さいために二光子 PDT への応用は難しかった。最近我々の研究室において非常に大きな二光子吸収断面積を持つポルフィリンの開発に成功したので紹介したい。

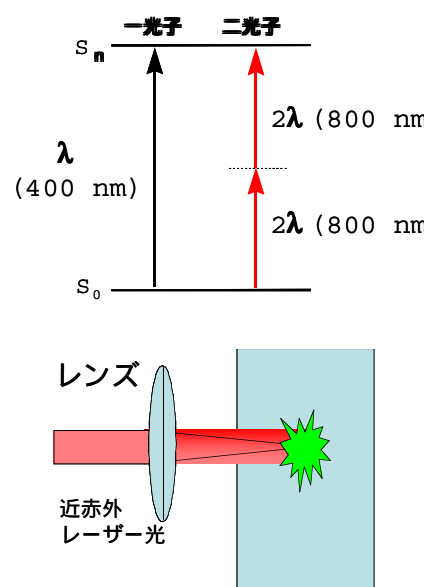
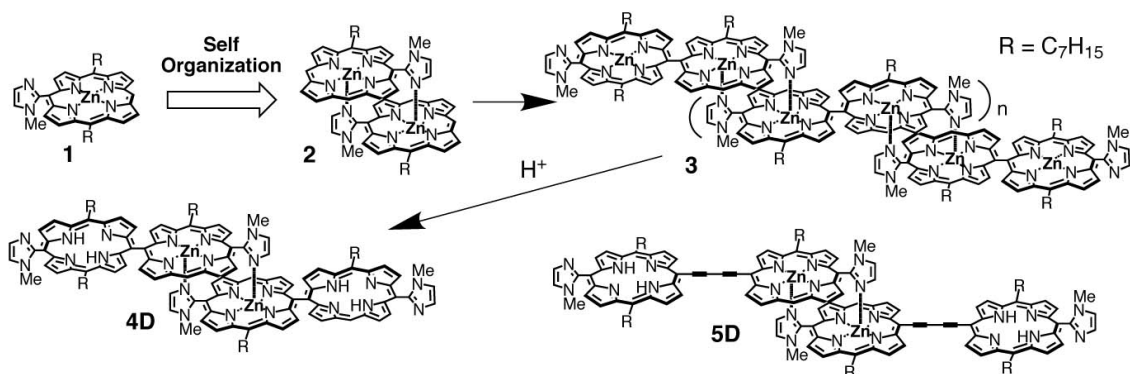


図1 二光子吸収の原理

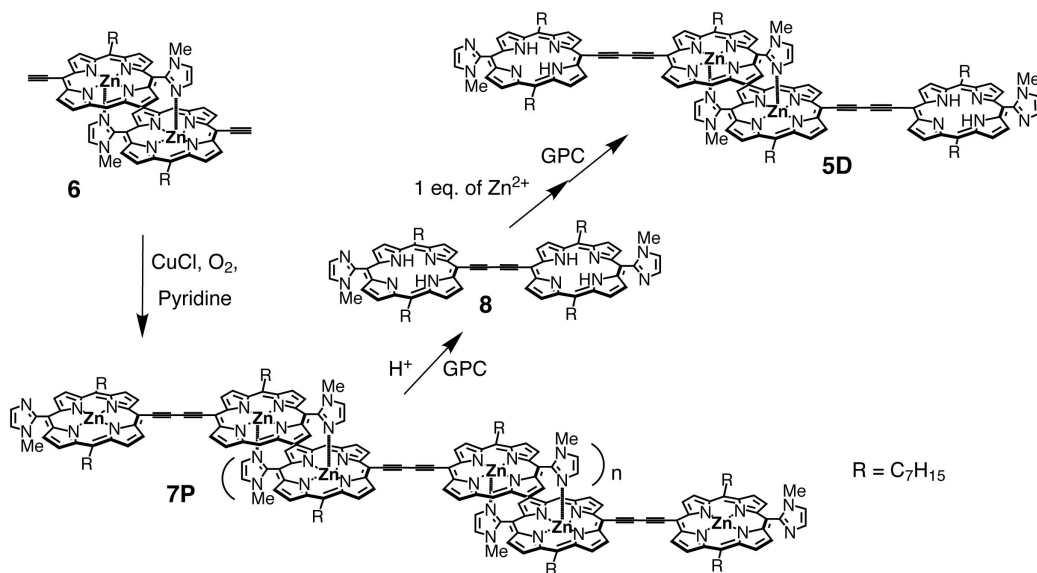
1. 分子設計

二光子吸収は三次の非線形光学現象の一つである。一般に大きな非線形光学特性を示す有機分子の設計指針においては大きな π 共役系を持たせることとドナー・アクセプターを連結して分子分極を大きくすることが重要となる。近年二光子吸収においても大雑把には同様の設計指針が良いことがわかってきており¹⁾、これを我々の超分子システム²⁾に適用した。我々の超分子システムはイミダゾリル亜鉛ポルフィリン二量体²を基本ユニットとするポルフィリン連鎖体であり、このユニットを180度の方向で連結することで一次元方向に伸張できる⁽³⁾。このポルフィリン系にドナー(亜鉛ポルフィリン)・アクセプター(フリーベースポルフィリン)を組み合わせることで^(4D)大きな三次の非線形光学応答が得られることを光カー効果の測定から明らかにしている³⁾。今回このポルフィリン間の共役系の拡張を目的にビスアセチレン結合で連結を試みた^(5D)。



2. 合成

エチニルイミダゾリル亜鉛ポルフィリン **6** をホモカップリングすることでポルフィリン間を連結し(**7P**)、脱亜鉛を行ってから GPC により精製した(**8**)。 **8** と当量の酢酸亜鉛を反応させた後、目的とするモノ亜鉛錯体の二量体(**5D**)を GPC によって単離した。



3. 二光子吸収特性

二光子吸収断面積 $s^{(2)}$ はフェムト秒のパルスレーザーを光源とする Z-scan 測定により決定した。図 2 に二光子吸収スペクトルを示した。参照化合物 **4D** のスペクトルは右上に拡大した。**4D** の $s^{(2)}$ は波長 964 nm において最大値 370 GM を示した。これまで報告されている有機化合物と比べて比較的大きな値であった。一方、**5D** の $s^{(2)}$ は波長 887nm において最大値 7600 GM を示し **4D** の約 20 倍大きな値であった。アセチレン連結で共役系を拡張することで大きな二光子吸収断面積が得られることを確認

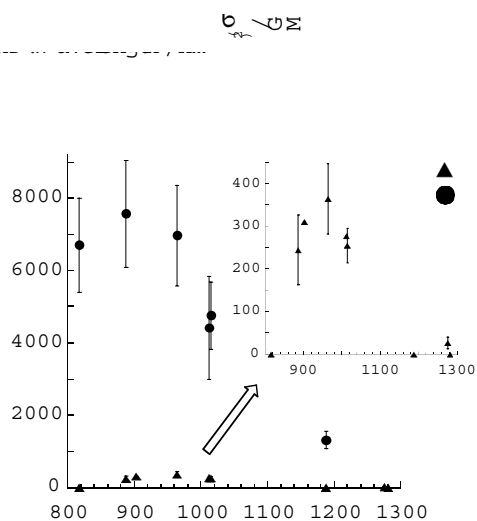
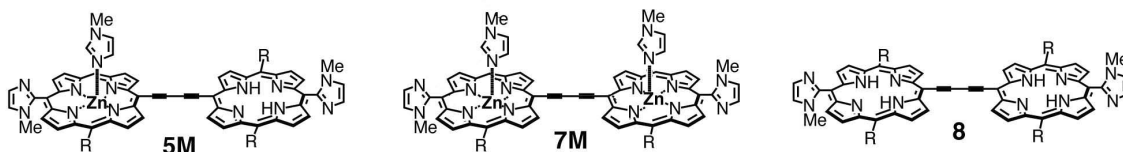


図 2 二光子吸収スペクトル

した。さらに末端にフリーベースを導入した効果とイミダゾリル亜鉛ポルフィリンによる組織化の効果を調べるためにモノ亜鉛錯体(5M)、ビス亜鉛錯体(7M)、ビスフリーベース(8)を測定した。



5M と 7M は 5D と 7P のクロロホルム溶液に 3000 等量の 1-メチルイミダゾールを加えて調製した。5M の最大 $\sigma^{(2)}$ は 5D の約 1/4 に相当する 1800 GM であった。これは亜鉛とイミダゾールによる配位組織化が二光子吸収断面積の増強に寄与していることを示している。また非対称である 5M の 1800 GM は、対称構造を取る 7M の 1200 GM、8 の 1000 GM と比べて約 2 倍であり分子分極の増大効果を示している。これらの結果は最近報告された理論計算による予測と良く一致している⁵⁾。

表 1 各ポルフィリンの二光子吸収断面積

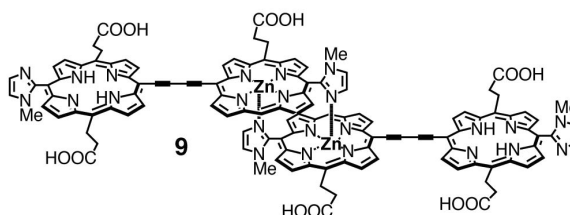
sample	4D	5D	5M	7M	8
$\sigma^{(2)}$ / GM	370	7600	1800	1200	1000

励起状態吸収による影響が小さいフェムト秒レーザーを用いた場合、二光子吸収断面積が 1000 GM を超える化合物は過去の報告においてあまり知られておらず非常に大きな値である。また、報告されている従来のポルフィリン単量体は数十 GM であり、PDT の臨床で使われているフォトフリンのユニットであるヘマトポルフィリン単量体は 1.5 から 2 GM である。5D で得られた 7600 GM はこれの約 4000 倍であり、二光子 PDT の実現に大きく近づけた。

4. 光線力学療法への応用

PDT は外科手術を行わないことから QOL の高い治療法として知られている。しかし現在薬剤として使われているフォトフリンの場合、光照射波長が 630 nm であり生体組織を透過することが難しいため表層部のがんが対象となる。はじめに述べたように二光子 PDT では組織透過性の高い近赤外光を使えさらに三次元方向での位置選択的光励起ができるため、正常組織に悪影響を与えずに深部のがんだけを破壊することができる。

5D が PDT 活性を有するかを確認するためにトルエン中において一重項酸素の測定を行った。波長 733 nm の一光子励起の条件で 1270 nm の発光を測定したところ一重項酸素に特徴的なシグナルが観測された。そこで 5D を二光子 PDT に適用するために水溶化を試みた。これはポルフィリンの側鎖にカルボキシル基を導入することで行った(9)。9 の水溶液中での二光子吸収断面積



は **5D** とほぼ同じであり十分に大きな二光子吸収特性を示した。また水溶液中において一重項酸素の測定を試みたところプロトポルフィリンと比べてほぼ同程度の発生能を示した。さらに HeLa 細胞を用いて PDT 活性を調べたところヘマトポルフィリンと遜色ない高活性を示し、PDT として有効であることを確認した。

以上、我々の研究室で開発した二光子色素が高い PDT 活性を有することが明らかとなり、二光子 PDT へ向けてマウス等を用いた二光子照射の検討が次の課題となる。

本研究の二光子吸収の測定は産総研の鎌田賢司、太田浩二両主任研究員との共同研究、細胞実験は東工大の大倉教授のグループ、また浜松医大の平野教授のグループとの共同研究であり、甚大なご協力を頂いたことに感謝申し上げます。

参考文献

- 1) (a) Albota, M. et al. *Science* **1998**, *281*, 1653;
(b) Reinhardt, B. A. et al. *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 1863
- 2) (a) Ogawa, K.; Kobuke, Y. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 4070;
(b) Kobuke, Y.; Ogawa, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2003**, *78*, 689.
- 3) Ogawa, K.; Zhang, T.; Yoshihara, K.; Kobuke, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 22.
- 4) Ogawa, K.; Ohashi, A.; Kobuke, Y.; Kamada, K.; Ohta, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13356.
- 5) Zhou, X; Ren, A.-M.; Feng, J.-K. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5623.

ペプチド-オリゴヌクレオチドコンジュゲートを利用した 生体分子間相互作用解析

九州大学大学院工学研究院応用化学部門 野島 高彦

nojimtcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

<http://www.takenaka.cstm.kyushu-u.ac.jp/>

はじめに

生体分子間相互作用の解析ツールとして、蛋白質やペプチドを搭載した生体分子チップの開発が、基礎生命科学分野から創薬分野に至るまでの様々な領域で求められている。しかし、急速に実用化レベルに達した DNA チップと比較して、ペプチドや蛋白質実験対象とするチップに関しては、開発の余地が大きく残されている。その理由の一つとして、化学的バリエーションに富むペプチドや蛋白質の固定化方法が確立していないことが挙げられる。本稿においてはこの課題を解決するために筆者らが開発している、(1) 一本鎖 DNA(ssDNA)を固定した金チップ、(2) ssDNA とペプチドとが共有結合した「ペプチド-オリゴヌクレオチドコンジュゲート(POC)」、そして(3) 新しい概念のマスクング剤「アクリジン化ポリエチレングリコール(APEG)」から構成されるペプチド-蛋白質間相互作用検出法について紹介したい。

このシステムの概略図を図 1 に示した。(A) 5'-末端チオール修飾 ssDNA を金基板表面上に固定した後にメルカプトヘキサノールでマスクングを施し、(B) この DNA と相補的配列を持つ POC を二重鎖形成させる。続いて (C) APEG のアクリジン部位を DNA に結合させ、DNA 鎖間がエチレングリコールのネットワークで覆われるようなマスクングを施し、(D) ターゲットとなる蛋白質の相互作用を観察する。このようなシステムが実現可能であるかどうかを検証するため、性質のよくわかったペプチド-蛋白質相互作用系をモデルとして選び、実証実験を行った。

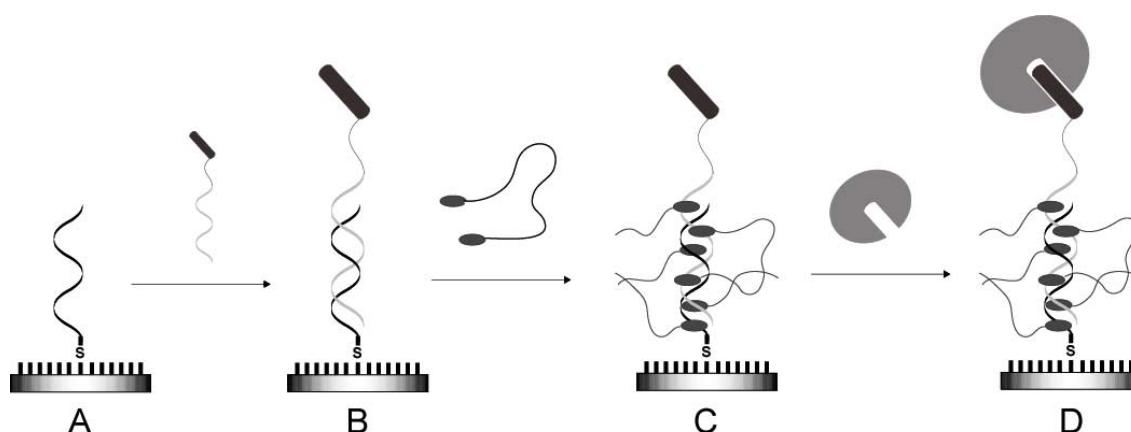


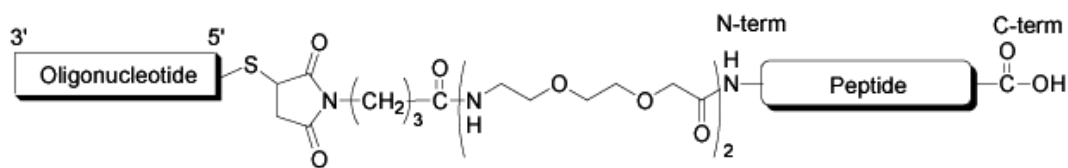
図 1. ペプチド-オリゴヌクレオチドコンジュゲート(POC)を利用したペプチドチップの概略。(A) 一本鎖 DNA(ssDNA)を金基板表面に固定しておき、(B) ここに POC を二重鎖形成させ、(C) APEG によるマスクングを施し非特異的吸着を抑える。これにより (D) 目的蛋白質との特異的相互作用が達成される。

1. POC によるペプチドチップの作製

実証実験においてはリボヌクレアーゼ A (RNase A) に由来する 2 種類のポリペプチド鎖間相互作用を用いた。RNase A を蛋白質加水分解酵素サブチリシンで処理すると、20 残基の短鎖ペプチド (S-peptide) と 104 残基の蛋白質 (S-protein) とに分解されるⁱ。両者は会合することによって RNase 活性を復活させることが知られている。そこで本実験においては、S-peptide をペプチド部位に持つ POC を保持したペプチドチップの作製と、このチップ上における S-peptide-S-protein 相互作用を検討した。

本実験で用いた POC 及び APEG の構造を図 2 に示す。POC 合成には、ペプチド部位と核酸部位とを別々に調製した後に両者を結合する手法を用いたⁱⁱ。ペプチド部位となる 19 mer の S-peptide は、FastMoc 法に基づく手法ⁱⁱⁱにより調製した。ここで、N-末端を活性化しておくことにより、5'-アミノアルキル修飾オリゴヌクレオチド (24 残基、5'-HS-(CH₂)₆-CGA CGT TGT AAA ACG ACG GCC AGT-3') との共有結合が可能な状態としておいた。両者を二官能性架橋試薬で連結し、HPLC により精製した。HPLC で単一ピークを示すことを確認した後、MALDI TOF-MS により分子量をチェックした。APEG はアミノ基を両末端に持つ PEG (M_w=4000) から合成したものであり、平均重合度は 90、100 mM の NaCl 存在下、二重鎖 DNA に対する結合定数は $3.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、座位数 $n=9$ であることを別途確認してある。^{iv}

A



Oligonucleotide : (5')-CGA CGT TGT AAA ACG ACG GCC AGT (24 mer)

Peptide : H-KETAAAKFERQHMDSSSTA-OH (19 mer)

B

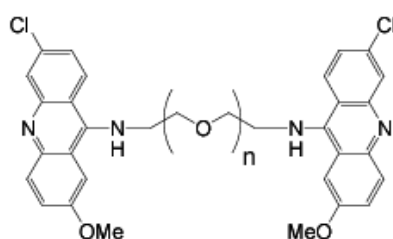


図 2. 本研究で用いた化合物の化学構造式。

(A) ペプチド-オリゴヌクレオチドコンジュゲート(POC)と (B) APEG.

固体基板における POC 固定化に関して詳細な知見を得るために、水晶発振子(QCM)用チップ^vを用いた検討を行った(図 3)。まず、QCM チップの金コート表面(2.5 mmφ, 4.9 mm²)を硫酸-過酸化水素水で洗浄、および水洗した後、5'-SH 修飾 ssDNA(POC と相補的配列)水溶液をディップし、一晚室温放置することによって ssDNA 修飾チップとし、さらにメルカプトヘキサノールによるマスキングを施した。このチップに対して生理的条件下水溶液中で POC を滴下し(図 3A) 二重鎖形成の様子をチップ上の重量変化として QCM でモニタした(Affinix Q^{vi},

Initium, Inc.) . 続いてここに APEG を滴下して行ったところ(図 3A) , APEG 滴下量に応じて振動数変化が観測された . これが POC 二重鎖との相互作用に基づく重量変化であり , 金表面に対する非特異的吸着でないことは , 図 3B に示したとおり DNA 非存在下において QCM センサグラムに変化が見られないことからわかる .

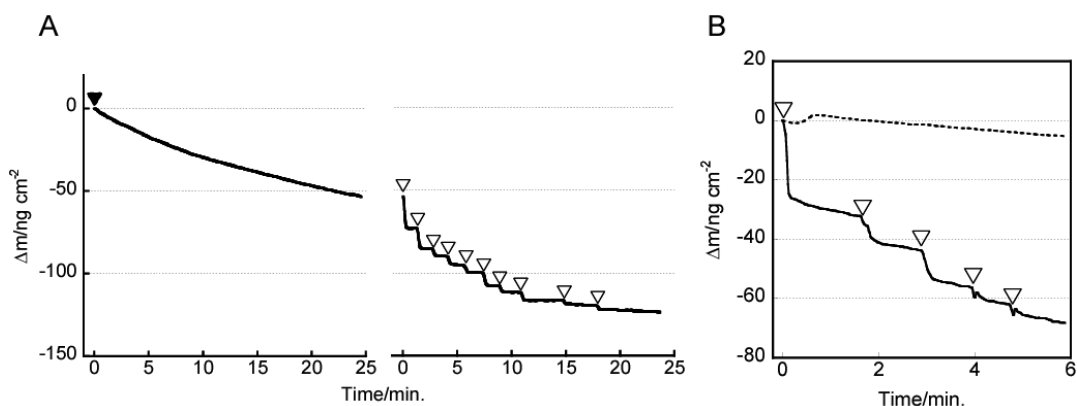


図 3. QCM を用いた APEG マスキング形成の観測 . (A) ssDNA が固定された金チップに POC を与えて()二重鎖形成させた後 , APEG を滴下して行った() . 振動数減少が生じたことから APEG が相互作用して行ったことが判る . (B) DNA が存在しない金チップ(メルカプトヘキサノールによるマスキングが施されている)に APEG を滴下しても有意な振動数変化は認められない(破線)が , ssDNA が固定された金チップには APEG が結合する(実線) .

2. POC を用いたペプチド-蛋白質相互作用検出

このようにして構築されたチップ上においては , 見かけ上 PEG のランダムなネットワークの上に S-peptide が呈示された状態となっていることが予想される . この場合 , ここに S-peptide と無関係な蛋白質を与えても PEG ネットワークが金表面への非特異的吸着を阻止してくれることが期待される . 一方 , S-protein を与えた際に , 特異的な S-peptide-S-protein 相互作用が生じ , これに基づく QCM センサグラム応答が得られるはずである . そこで我々は等電点の大きく異なる 2 種類の蛋白質 , 牛血清アルブミン (BSA)($pI=4.7$) とリボヌクレアーゼ A (RNase A)($pI=9.3$) を用いて特異性を検証した .

APEG によるマスキングを施さなかった場合 , BSA は非特異的に POC 固定化チップに相互

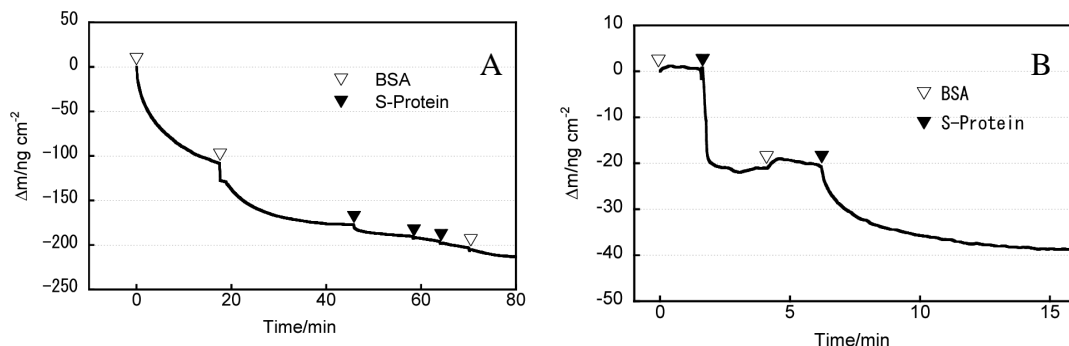


図 4. ペプチド-蛋白質相互作用における APEG マスキングの効果 . (A) APEG マスキングを施さなかった場合 , BSA を滴下すると()非特異的相互作用が生じ , 後から目的蛋白質 S-protein を滴下しても()相互作用が妨害されるが (B) APEG マスキングを施した場合は BSA 滴下に伴う()振動数変化は認められず S-protein を加えた際()に特異的に相互作用が観測された .

作用し、QCM 振動数変化を与えた(図 4A)。この場合、BSA 滴下後に S-protein を与えても十分なセンサグラム応答が得られなかった。これは BSA による非特異的な相互作用が、S-peptide-S-protein 相互作用を著しく阻害したためと考えられる。一方、POC 固定化 QCM チップを APEG で十分にマスキングしておいた場合には、BSA 滴下に伴う振動数変化は認められなかったが、その後に S-protein を与えた場合には振動数の減少がみられた(図 4B)。このことから、APEG によるマスキングが、POC チップに対する BSA の非特異的吸着を効率よく防いだことが判る。なお、同様の操作を RNase A を用いて行った際にも図 4B と同様の結果が得られることを確認している(data not shown)。以上の結果から、APEG マスキング法がチップ上における生体分子間相互作用に適したマスキング法であることが示された。

おわりに

先行する技術 DNA チップの場合と異なり、ペプチドや蛋白質をターゲットとした生体分子チップには開発の余地が大きく残されています。今後も生命現象の解明と応用に資する分析技術の実現を目指して行きたいと思っています。^{vii}

本稿で紹介した研究は、九州大学大学院工学研究院応用化学部門助教授・竹中繁織博士の研究グループで行われたものです。関係者の皆様にお礼申し上げます。

参考文献

- i) R. T. Raines, *Chem. Rev.*, **98**, 1045-1065 (1998).
- ii) N. J. Ede, G. W. Tregear and J. Haralambidis, *Bioconjugate Chem.*, **5**, 373 (1994).
- iii) K. Ohtsuka, R. Kajiki, M. Waki, T. Nojima and S. Takenaka, *Analyst*, **129**, 888-889 (2004).
- iv) K. Ohtsuka, K. Uemura, T. Nojima, M. Waki and S. Takenaka, in preparation.
- v) S. Fukusho, H. Furusawa and Y. Okahata, *Chem. Commun.*, **2002**, 88-89 (2002).
- vi) http://www.initium2000.com/affinix_q.html
- vii) 野島 高彦, 大塚 圭一, 脇 道典, 竹中 繁織, 「水素結合を利用したサーフェースエンジニアリング」, ソフトマテリアルの新展開, シーエムシー出版, 印刷中。

水晶発振子上の分子の挙動に「手を出す」

東京工業大学 大学院生命理工学研究科 生体分子機能工学専攻
古澤 宏幸

はじめに

物質を加熱したり冷却すると固体、液体、気体といわゆる物質の三態に変化する。では生体を加熱するとどうなるのか。大腸菌では熱ショックを受けるとそのストレスに耐えるためのタンパク質群を発現するよう遺伝情報転写システムがシフトすることが知られている。生体が「生きている」と思わせる挙動はこうした外界の変化を検出・判断し対応できる点であろう。生体はタンパク質をはじめとして様々な生体分子を利用してこうした機能を実現している。生体の優れた機能を理解し模倣していくためには、分子レベルでは分子間相互作用、さらに機能レベルでは分子複合体や分子の離散集合するシステムとしての理解が重要であると思われる。

水晶発振子は、水晶薄板の両面に金電極を蒸着し交流電圧を印可することにより水晶板を規則正しく振動させたものである。その電極上に物質が吸着するとその質量に応じて振動数が変化することが知られており、マイクログラムの質量変化を検知できることから微量天秤として利用されている。基板上の質量変化を高感度かつ経時的に測定できることから、水晶発振子は基板上で生じる分子間相互作用の観察などに応用されてきた。さらに我々は分子間相互作用の観察のみならず、水晶発振子のその場観察の結果に基づいて基板上での事象に「手を出す」ことを試みている。

本稿では、生体分子間相互作用のさらには分子複合体のメカニズム解明を目指して、水晶発振子を利用した我々の取り組みを紹介させて頂く。

1. 分子をその場で集める¹

生体内で複数分子が機能するシステムの根源には生体分子間相互作用における分子認識能の存在が不可避である。ある分子がどのような分子を認識するか調べる方法として、候補となる多数の分子プールの中から相互作用する分子を集め網羅的に調べる方法が簡便である。では相互作用した分子を集めるのに便利なツールはないだろうか。分子を捕まえたことを検出しかつ捉えた分子をその場回収できる道具として水晶発振子の応用を試みた。

一例として フェージ由来の RNA 結合性の N ペプチドに結合する RNA 分子の捕捉を検討した。水晶発振子上に N ペプチドを固定化し、様々な配列の RNA 分子が入った溶液に浸したときの基板上の質量変化を観察しながら、引き上げて基板表面から捕捉分子を回収した。基板から回収した RNA 分子は酵素的に増幅した後にもう一度、発振子と相互作用させた。この操作を5回繰り返し行った(図 1A, B)。

水晶発振子は N ペプチドと結合するような RNA 分子を捉えると振動数が減少した。捉えた分子で同じ操作を繰り返すと、水晶発振子上にさらに多くの N ペプチド結合性の RNA が捕捉されるため、振動数は繰り返すごとに減少(基板上の質量増加)した(図 1C)。得られた RNA

配列を調べたところ実際に N ペプチドに結合する RNA 配列であることがわかった。分子捕捉ができていたことが確認できた。さらに RNA と接触しているアミノ酸残基 (図 1B) を別の残基に置換したところ、捕捉される RNA 配列が異なることがわかった。すなわち、本手法を用いることでタンパク質の RNA 配列に対する認識メカニズムを明らかにできると期待される。

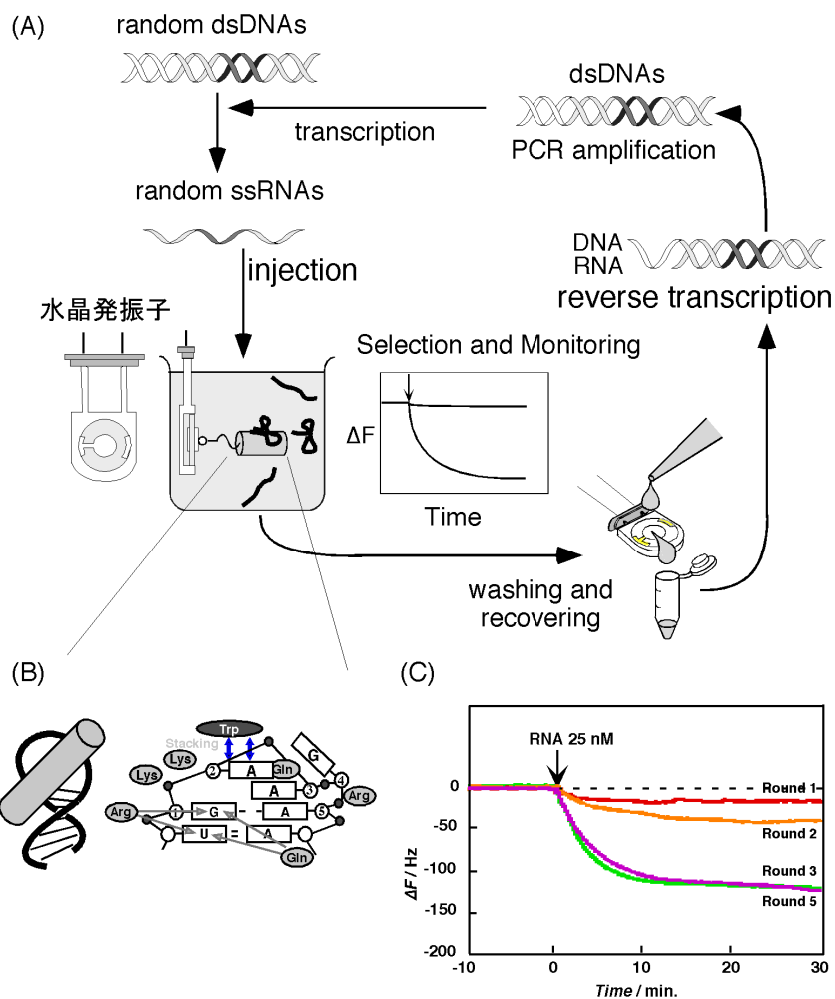


図 1 (A) N ペプチド固定化水晶発振子上での RNA のセレクション・スキーム
 (B) N ペプチドと RNA との相互作用の模式図
 (C) 5 回のセレクション操作における振動数変化の観察の様子

2. 酵素反応を一斉にスタートさせる^{2,3}

酵素反応の観察は、溶液中で酵素と基質を混合しその生成物を時間と共に追跡する手法が一般的である。水晶発振子はその基板上で生じている物質の変化を経時的に観察することが可能であることから、酵素-基質複合体の形成を基板上で確認することが可能である。スタート・ラインの位置についての酵素-基質複合体を、あるトリガーによって一斉にスタートさせることで酵素の反応を直接観察できると考えられる。ここでは二本鎖 DNA に対して ATP 依存的に DNA 鎖を分解する酵素 (ATP-dependent DNase) の反応挙動の観察を試みた (図 2)。

水晶発振子上に所定量の二本鎖 DNA を固定化し、続いて ATP 非存在下で DNase を添加したところ、振動数が減少（基板上的質量増加）しその振動数変化から DNA に対して 1 : 1 で複合体を形成している様子が観察された（図 2a）。振動数が一定となり複合体が形成した段階で、系の中に所定量の ATP を添加したところ、振動数は上昇（基板上的質量が減少）し DNA の分解及び酵素の脱離が観察された。一斉に加水分解反応が始まる初速度を振動数変化から求めることにより酵素の k_{cat} を直接求めることができた。酵素-基質複合体を直接観察できる特徴があり、酵素反応を観察する新たな手法となることが期待できる。

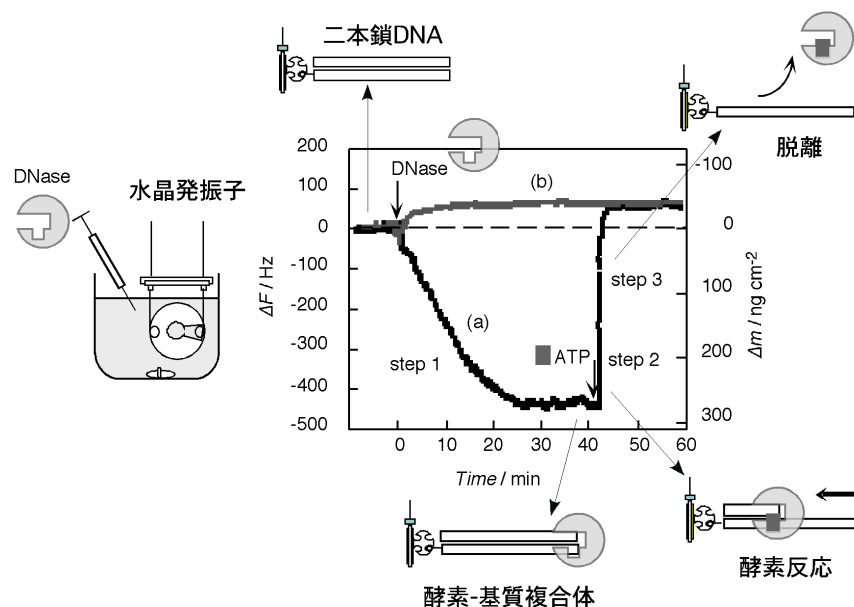


図 2 水晶発振子上での酵素-基質複合体形成と酵素反応一斉開始の観察
(a) ATP 非存在下で酵素添加の場合 (b) ATP 存在下で酵素添加の場合

3. 酵素反応途中で逆反応を起こす⁴

タンパク質分解に関わるユビキチン-プロテアソーム・システムは多数の因子が関与する生体システムの一つである。標的タンパク質がユビキチンを次々と付加されるとポリユビキチン鎖を分解シグナルとして認識するプロテアソームにより分解される。ユビキチン付加には基本的に 3 種類の酵素が関与し、初めに E1（ユビキチン活性化酵素）と ATP 依存的に結合した後、E2（ユビキチン結合酵素）、E3（ユビキチン・リガーゼ）へと渡されていき、標的タンパク質へ転移されていく。ここでは、基板の上にユビキチンを固定化し、最初のステップである E1 への転移反応の観察を試みた。

水晶発振子基板上にスペーサーを介してユビキチンを固定し、E1 を添加した（図 3A）。E1 の結合途中に逆反応を生じる PP_i を添加したところ、添加時期に応じて基板上的最終的な質量は増加したが、逆反応により基板から解離する E1 の量（振動数が上昇した量）は常に同量であった。このことは、逆反応可能な中間体は基板の上に一定量のみ存在し、ユビキチンに転移した不可逆な E1 の量は時間と共に増加していることを示している（図 3B）。基板上で生じる分子反応において経時的に逆反応を起こす手法は酵素反応の新たな情報源と期待できる。

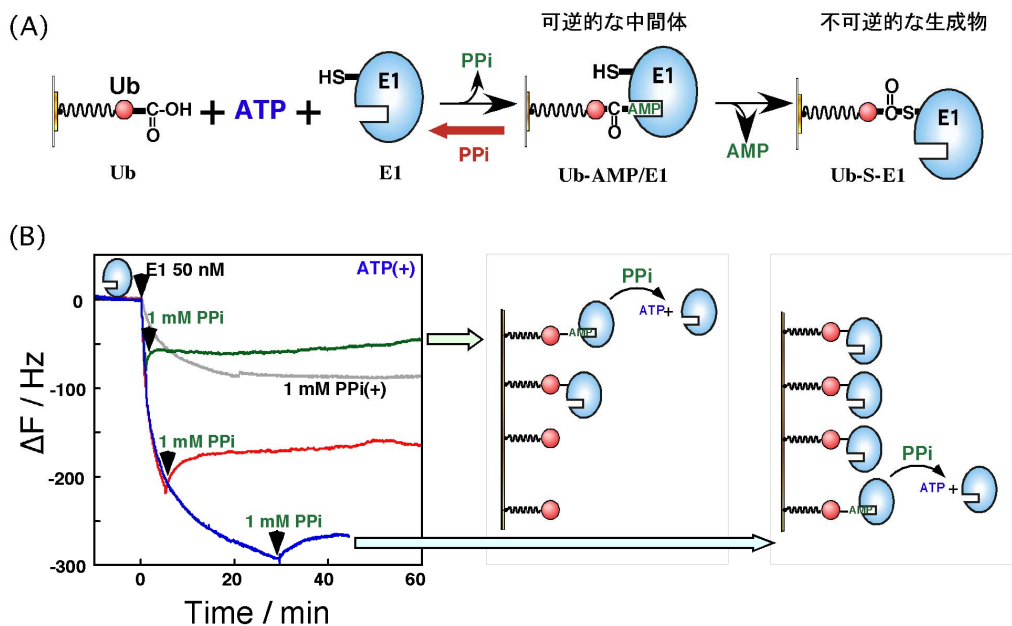


図3 (A) ATP 依存的なユビキチンと E1 との反応スキーム
 (B) E1 添加後から 1, 5, 30 分後に逆反応試薬を添加したときの振動数変化の様子

まとめ

水晶発振子を用いて、これまでの微量天秤としての利用方法だけでなくその場観察の結果に基づいて基板上での事象に積極的に「手を出す」ことで、マクロな操作を付加する試みや、酵素反応の新たな観察方法が可能である点を示してきた。特に動的な分子複合体形成や分子の離散集合するシステムの解明において有効であると期待でき、今後はリボソームの翻訳系など複雑な系への応用を検討している。

本研究は、東工大院生命理工 岡畑恵雄教授、岡畑研究室の学生であった福所しのぶ博士、松野寿生博士、南出麻子修士、現在博士課程在学中の村川明子さんとの共同研究で行った。

参考論文

- (1) H. Furusawa, A. Murakawa, S. Fukusho, and Y. Okahata, *ChemBioChem*, 217-220 (2003)
- (2) H. Matsuno, H. Furusawa, and Y. Okahata, *Chem. Commun.*, 470-471 (2002)
- (3) H. Matsuno, H. Furusawa, and Y. Okahata, *Biochemistry*, in press (2004)
- (4) H. Furusawa, A. Minamide, and Y. Okahata, submitted

部会行事 (シンポジウム・研究会報告)

第 19 回生体機能関連化学シンポジウム開催報告

シンポジウム実行委員長
東京大学大学院薬学系研究科 長野 哲雄

今年の日本列島は、6 月中旬から 10 月初旬までの猛暑に加えてたびたびの大型台風の襲来、11 月には新潟で大地震、まさに天変地異、数々の大災害に見舞われました。新潟の人々が現在も生活基盤を奪われ、悲惨な生活を強いられていることに心からお見舞い申し上げます。

さて、本シンポジウムは 10 月 8 日、9 日の両日、東京大学弥生キャンパスにある弥生講堂一条ホールで行われました。このシンポジウム開催時も関東地方はまさに台風の直撃を受け、会場の外は暴風雨。逆に、会場内は閉じこめられた 300 名の参加者で熱の入った討議が繰り広げられ、お陰様で盛り上がりました。主催者としては帰宅の足も奪われた参加者に申し訳ないとは思いつながら、雨風のお陰で最後まで活発な議論が続いたことに感謝した次第です。本シンポジウムは例年、参加者数に対し、発表件数(約 200 件)の多さが目立っており、今年も口頭発表希望者にポスター発表に変更をお願いしました。また今年で第 5 回目となるシンポジウム講演賞も 3 倍の競争率でかなりの激戦。いずれの内容

も極めてレベルの高いもので、この傾向は今後も続くものと思われます。今年の実行委員を以下に示しました。おめでとうございます。

王子田 彰夫(九大院・工)

「人工レセプターによるリン酸化タンパク質・ペプチドの特異的認識」

小川 和也(奈良先端大院・物質)

「アセチレン結合で連結した超分子ポルフィリンによる二光子光線力学療法」

野島 高彦(九大院・工)

「ペプチド-DNA コンジュゲートを利用したペプチド-蛋白質相互作用検出」

古澤 宏幸(東工大院・生命理工)

「水晶発振子を用いたユビキチン-プロテアソーム系タンパク質転移反応の観察」

来年の第 20 回シンポジウムは名古屋市立大学薬学部の小田嶋先生の主催で行われることになりました。多数の先生方の参加を期待しております。



ポスター会場と懇親会

第5回 生体機能関連化学部会講演賞

審査委員長 小夫家 芳明 (奈良先端大院大・物質創成)

講演賞は5回目を迎え、生体機能関連シンポジウムの行事としてしっかりと定着した感が強い。講演賞の趣旨は、部会活動を支えている若手研究者が、より本質的な意義ある研究に取り組み、研究のオリジナリティーとアカウンタビリティを獲得、説得力のある討論能力を磨いてもらうことにある。これにより、本部会と部会員の研究活動の一層の活性化が期待されよう。

このような観点から以下の4つの評価項目について5段階絶対評価を行った。

- 1) 研究の意義、重要性
- 2) 研究の独創性
- 3) 発表のわかりやすさ
- 4) 質問、コメントに対する対応

最後に4段階の相対総合評価を集計して、応募者11名の中から上位者について選考委員会で議論の上、4名の受賞者を選出した。

選考委員会は申請者の幅広い領域を公平にカバーできる6名から構成した。

今後とも講演賞は継続し、上記の目的に幾らかでも寄与できれば幸いと思う。昨今は自己・外部評価が盛んに行われている。大学内での評価は分野間の比較が困難で、ややもすれば一人よがりになり勝ちで、結局論文数や引用度数を重要な因子とせざるを得ない点があるが、これらの数値以外に、研究の意義、フィロソフィーを熱く語れるこのような関連学会での積極的な評価はより多く活用されて然るべきと思う。受賞者は大いに結果を活用して頂きたいし、来年度以降そのような観点からもどしどし応募して頂きたい。

応募資格は既にご存じとは思いますが、部会に加入1年以上、受賞時四十歳以下なので、この機会に部会への加入を同僚・ポスドク・院生などに宣伝して頂ければ幸いである。

本講演賞選考に当たりご尽力頂いた長野哲雄生体機能関連化学部会長、審査委員各位に厚く御礼申し上げます。

講演賞受賞者・発表演題 (五十音順、敬称略) (研究紹介として掲載)

王子田 彰夫 (九大院・工)

人工レセプターによるリン酸化タンパク質・ペプチドの特異的認識

小川 和也 (奈良先端大院・物質)

アセチレン結合で連結した超分子ポルフィリンによる二光子光線力学療法

野島 高彦 (九大院・工)

ペプチド-DNA コンジュゲートを利用したペプチド-蛋白質相互作用検出

古澤 宏幸 (東工大院・生命理工)

水晶発振子を用いたユビキチン-プロテアソーム系タンパク質転移反応の観察

第 19 回 生体機能関連化学シンポジウム 若手フォーラム 開催報告

平成 16 年度生体機能関連化学部会若手の会幹事 高橋 剛

第 19 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラムは関東支部が幹事 (東工大・古澤宏幸、田畠健治、高橋剛) となり、東京工業大学すずかけ台キャンパスにて、10 月 7 日(木)に開催しました。今年度の部会シンポジウムの会場は東京大学でしたが、担当幹事が皆東工大生命理工であったため、若手フォーラムの会場は東工大で行いました。部会員の先生方の多大なご協力により、82 名 (講師 5 名、一般 31 名、学生 46 名) の方々にご参加頂くことができました。参加者の方々には東工大すずかけ台キャンパスを知ってもらう良い機会になったものと思います。フォーラムは、講師の先生方による依頼講演 5 件、学生・若手研究者によるポスター発表、懇親会の形で行いました。

最初の依頼講演は、横浜市立大学の木寺詔紀先生に「タンパク質の分子動力学シミュレーション：巨大システムのダイナミクスからタンパク質機能の理解へ」の演題でご講演頂きました。巨大なタンパク質分子が形成する複雑な構造と機能の相関について、コンピュータシミュレーションを用いて再現する試みを非常に分かりやすくお話し頂きました。シミュレーションの結果から得られるタンパク質のダイナミクスな動きを再現しながらご説明されたため、学生の方々も非常に熱心に講演を聞き、質問されていました。続いて、東北大学の津本浩平先生に「タンパク質相互作用の特異性と親和性：変異導入から何が分かったか」の演題でご講演頂きました。タンパク質が行う複雑な分子認識システムについて、抗体と抗原の相互作用を例とし

てご紹介いただきました。多数のアミノ酸変異体を用いた相互作用解析から得られる膨大な実験データに基づき、タンパク質分子間の相互作用におけるアミノ酸側鎖の役割やタンパク質間の分子認識の特異性について分かりやすくお話し頂きました。次に、北海道大学の市川和彦先生に「バイオミネラリゼーションに関わるタンパク質；海の生き物の知恵に学ぶ」の演題でご講演頂きました。海の生物が作り出す様々なバイオミネラルについて、現在までのバイオミネラル研究の歴史を紐解きながらお話し頂きました。また海の生物の知恵を生かして、人工的に石灰化を行うシステムの構築について紹介頂きました。続いて、東京工業大学の猪飼篤先生に「タンパク質・細胞のナノ力学と細胞操作技術の開発」の演題でご講演頂きました。細胞やタンパク質を物理化学の言葉で理解するために、原子間力顕微鏡 (AFM) の原理から、AFM を用いた細胞の操作技術に関する研究例を紹介頂きました。また AFM の探針と基板の間に挟み込んだタンパク質を引き伸ばしてタンパク質に働く力を調べる方法もご紹介頂きました。依頼講演の最後に、東京大学の小澤岳昌先生に「プロテインスプライシングを利用した蛍光・発光プローブの会発とその応用」の演題でご講演頂きました。緑色蛍光タンパク質 (GFP)、ルシフェラーゼ等の蛍光・発光タンパク質を分断し、それらをプロテインスプライシングを利用して再構成するシステムを用いた研究をご紹介頂きました。このシステムを利用することで、細胞内におけるタンパク質間の相互作用や局在化を調べる技術

への展開についてお話頂きました。細胞が生きている状態で、その細胞内のタンパク質の働きや相互作用を明らかにする試みに、会場から非常にたくさんの質問がなされていました。今回の若手フォーラムでは、「タンパク質」をキーワードとして、タンパク質そのものの物理化学的性質やタンパク質間相互作用に関する研究や、細胞内でのタンパク質の機能に関する研究まで、非常に多岐に渡りご講演頂くことができました。講師の先生方もそれぞれのご研究を化学の言葉を使って分かりやすくご説明されたため、参加者の方々も良く理解でき、ご自身の研究に役立つものになったと思います。

以上の 5 人の講師の先生にご講演頂いた後、

ポスター発表(29 件)を行いました。どれもが熱い議論を活発に行っており、参加したの方々にとって非常に有意義なポスター発表になったものと思います。またポスター会場で行った懇親会でもポスターボードを囲んだ討論が最後まで活発に行われていました。

最後になりましたが、若手フォーラムを開催するにあたり、快く講演を引き受けて頂き、また最新の研究成果をご発表頂きました講師の先生方に深く感謝致します。また大変貴重な補助金で、このような有意義な若手フォーラムを開催できたことに対し、生体機能関連化学部会、日本化学会事務局の皆様がこの場をお借りして厚く御礼申し上げます。



依頼講演



ポスター発表

日本化学会生体機能関連化学部会講習会 「細胞の機能を観る、調べる、利用する」報告

東北大学大学院環境科学研究科 末永 智一、珠玖 仁

平成 14 年 10 月 29 日 (金) 東北大学工学部内 青葉記念会館において、日本化学会生体機能関連化学部会講習会「細胞の機能を観る、調べる、利用する」が開催されました。講師として長野 哲雄先生 (東大院薬)、丸山 厚先生 (九大先導研)、西澤松彦先生 (東北大院工)、二木史朗先生 (京大化研)、津本浩平先生 (東北大院工) をお迎えし、各方面での最先端のトピックスについてご講演いただきました。講習会ということで、背景となる世界の研究動向まで掘り下げた上で、各先生の研究の軌跡を丁寧に追っていく形式の発表でした。45 分間という限られた時間のなかで、演者の方々より、学生にも分かりやすいよう基本原理・コンセプトからの説明があり、講演の途中でも質問が飛び交う終始和やかな雰囲気での会でした。

長野哲雄先生は「細胞の機能を観る」という演題で、主に蛍光プローブを用いた細胞機能の探索の研究についての講演でした。センシング対象としては細胞内 NO のイメージングやガラクトシダーゼ活性検出のデータが中心でした。フルオレセインの構造を例に PeT (photoinduced electron transfer) の現象と研究のコンセプトを明快に説明していただきました。分子設計における学問的面白さと実用性を兼ね備え、蛍光プローブ創製の研究が極めて魅力的な研究分野であることを改めて感じた次第であります。

丸山 厚先生は「核酸シャペロン機能を持つ高分子材料の設計と DNA ナノテクノロジーへの展開」と題しての講演でした。ポリカチオンと糖で構成される新規高分子化合物により核酸シャ

ペロン活性の機能を創出し、DNA の 3 重鎖形成や鎖交換反応の活性化エネルギーを低下させ、反応を迅速に進行させる研究や SNP (一塩基遺伝子多型) への応用など大変興味深いご研究についてご説明いただきました。

西澤松彦先生は、「電気化学バイオリソグラフィによる細胞のネットワーク培養」という演題での講演でした。細胞のパターン形成や細胞デバイス、細胞-細胞間インタラクションの可視化など、様々な細胞を自在に並べた写真と動画に感銘を受けました。ケミストリーとバイオ、マイクロマシーニングなどを併せた学際的領域でのご研究であり、中でも電気化学バイオリソグラフィという新規な手法を中心にご紹介いただきました。

二木史朗先生は「アルギニンペプチドを用いたタンパク質・薬物の細胞内デリバリー」と題し、比較的分子量の配列特異的ペプチドが細胞内輸送を著しく促進する現象に着目した講演でした。ペプチド合成を研究のバックグラウンドとして様々な配列のペプチドに対する細胞内取込特性を調べる過程で、アルギニン多量ペプチド (特に 8 量体) が優れた輸送能を有することを見出されています。

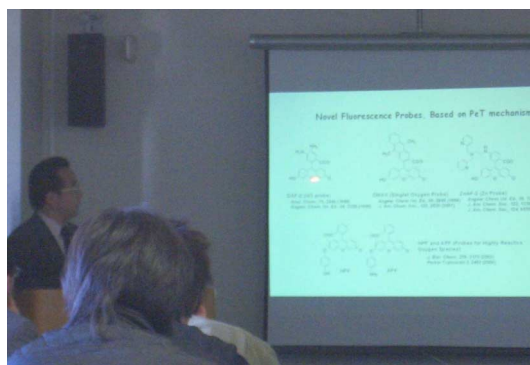
津本浩平先生は「癌免疫療法への応用を目指した抗体工学」という演題での講演でした。二重特異性抗体断片 (diabody) は抗体可変領域からなる最小の二重特異性人工抗体であり、リンパ球と癌細胞を一分子で同時に認識することを可能とします。低分子であるがゆえに、ヒトに対しても低免疫原性を示し、腫瘍への浸潤性の

向上などが期待されます。抗体工学的手法を駆使して、抗体のヒト型化・サイトカインとの融合など様々な組換え型抗体の考案、作製について順を追ってご説明いただきました。

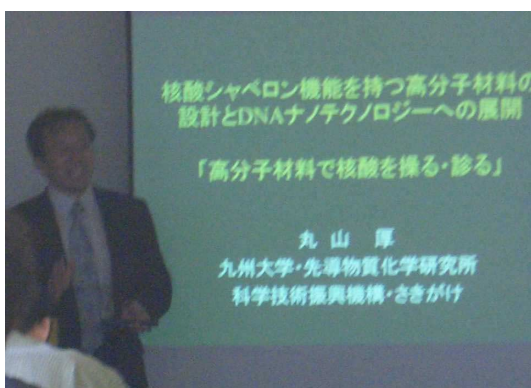
大学院生を中心とした 30 人程度の聴衆で聴講させていただきましたが、大変中身の濃い、あっという間の 4 時間半であり、興奮冷めやらぬまま一気にこの報告書を書いております。



講演会の様子



長野哲雄 先生



丸山 厚 先生



二木史朗 先生

お知らせ（シンポジウム・研究会報告）

第 8 回バイオテクノロジー部会シンポジウム開催のご報告

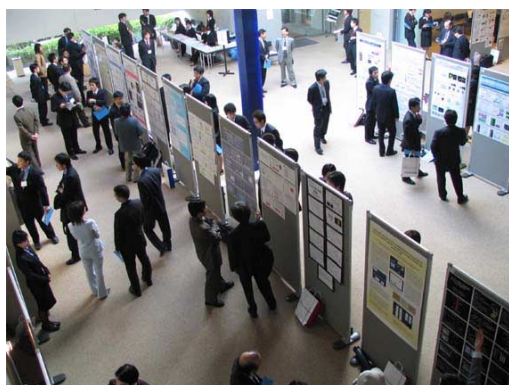
世話人 杉本 直己（甲南大学 FIBER・理工学部）
事務局 藤井 敏司（甲南大学 FIBER・理工学部）

去る 11 月 6 日（土）甲南大学平生記念セミナーハウスにおいて第 8 回バイオテクノロジー部会シンポジウム（主催：日本化学会バイオテクノロジー部会、共催：日本化学会、甲南大学先端生命工学研究所（FIBER））が開催されました。おかげさまで、122 名の方々にご参加を頂き、盛会のうちに終了致しましたことを生体機能関連化学部会会員の皆様にご報告申し上げるとともに、厚く御礼申し上げます。

昨年は、生体機能関連化学部会との合同シンポジウムという形で開催されましたが、今回、初めて単独での開催をさせていただきました。午前の部では 63 件の一般講演発表（ポスター形式）が行われ、2 時間にわたり各所で熱い議論が展開されておりました。午後の部では、シリー

ズ「産官学における 21 世紀のバイオテクノロジー」と題して、高木昌宏先生（北陸先端大院）、中村聡先生（東工大院）、西村顕先生（白鶴酒造（株））、古林万木夫先生（ヒガシマル醤油（株））、三宅正人先生（産総研 RICE）による特別講演がありました。産官学それぞれの立場でのバイオテクノロジーの将来展望に胸ときめかせる貴重な時間を共有いたしました。

終了後の懇親会では、甲南大学学長・杉村芳美の歓迎の挨拶、バイオテクノロジー部会長・大倉一郎先生（東工大院）の乾杯のご発声の後、各所で歓談の輪が広がりました。副部会長・松永是先生（東京農工大院）による中締めのお言葉で、第 9 回シンポジウムへ向けての発展を祈念して散会を致しました。



シンポジウム当日の一般講演発表（左）および特別講演（右）の様子

お知らせ (シンポジウム)

第7回生命化学研究会シンポジウム・仙台(2005) 「化学から生命へ、そして生命から化学へ」

主催：日本化学会生命化学研究会

共催：日本化学会東北支部、日本農芸化学会東北支部、日本薬学会東北支部

会期：2005年1月21日(金)

会場：フォレスト仙台(宮城県教育会館) 仙台市青葉区柏木 1-2-45

ポスター発表申込・事前振込〆切：12月24日(金)

講演予定：

1. 生命化学における環境効果 - Back To The Cell
(甲南大・先端生命工学研) 杉本 直己
2. 化学遺伝学研究への有機化学的アプローチ
(東北大・院生命) 及川 雅人
3. プロテインスプライシングを用いたタンパク質再構成システムについて
(東大・院理) 小澤 岳昌
4. トレハロースの生理機能に関する物理化学的研究
(東工大・生命) 櫻井 実
5. 分子シャペロンを利用した材料化学
(東大・院工) 金原 数
6. プリオン病治療法の開発
(東北大・院医) 堂浦 克美
7. (演題未定)
(理研・脳科学) 宮脇 敦史

ポスター発表の募集：

一般講演としてポスター発表を受付けます。発表希望者は、A4 版用紙 1 ページ縦 (上下左右に 2.5 cm の余白) に、題目・発表者 (連名の場合は発表者に下線)・所属・同所在地 (連絡先) および要旨本文を記載し、電子メール (Microsoft word 添付書類) で下記申込先までお送り下さい。

参加費 (要旨集およびミキサー代込み)：

生命化学研究会会員 4,000 円 (当日 5,000 円) 共催学会会員 5,000 円 (当日 6,000 円)
非会員 6,000 円 (当日 7,000 円) 学生 2,000 円 (当日 3,000 円)

参加費を下記口座に振込み後、すぐにお振込み内容(氏名、所属、振込金額、会員・共催学会会員・非会員・学生の別、連絡先、振込日)を、電子メールもしくは FAX にて下記までお知らせ下さい。

振込口座：郵便局 02250 - 5 - 41364

口座名：生命化学シンポジウム 2005

問合せ・申込先：

〒981-8555 仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1

東北大学大学院生命科学研究科 小川智久

電話：022-717-8808 FAX：022-717-8807

電子メール：ogawa@biochem.tohoku.ac.jp

ホームページ：<http://www-pclab.ph.tokushima-u.ac.jp/FBC/7thSymp.html>

世話人：小川智久(東北大院生命)・岩淵好治(東北大院薬)・津本浩平(東北大院工)

ニュースレター Vol.19, No.3 2004年12月1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/> mailto:seitai@chemistry.or.jp

編集委員：増田秀樹，栗原和枝，依馬 正

