

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. 20, No.3 (2005. 12. 8)

目 次

◇ 巻 頭 言	
生体関連化学の「これまで」と「これから」……………岡畑 恵雄	1
◇ 研 究 紹 介	
DNA・ペプチドを利用したマテリアルナノアセンブリ構造体の創生 ……………梅津 光央	2
蛋白質翻訳システムの人為的制御とその化学的応用……………山東 信介	6
多糖・ β -1,3-グルカンを1次元ホストとして利用した バイオナノマテリアルの創製……………沼田 宗典	10
抗体を用いた機能性超分子の構築……………山口 浩靖	14
◇ 部 会 行 事	
第20回生体機能関連化学シンポジウム開催報告……………	18
第6回生体機能関連化学部会講演賞……………	19
若手の会サマースクール開催報告……………	20
若手フォーラム開催報告……………	22
◇ お 知 ら せ	
第8回生命化学研究会シンポジウム in 富山 (2006) ……………	24

巻 頭 言

生体関連化学の「これまで」と「これから」

東京工業大学 岡畑 恵雄

2005年9月に名古屋で生体機能関連化学部会の20周年記念シンポジウムが行われた。国武豊喜先生が、その前身の「酵素類似様機能をもつ有機化学反応の研究会」の10年間を含めて30年間の歴史を振り返って特別講演をされた。若い参加者に感想を聞くと初めて聞いたことであり、そんな歴史があったのかと驚かれ、勉強になったとの感想も多かった。研究人生をスタートしてからこの分野で育ってきた著者にとっても改めていろいろと考える機会になった。

著者は、同志社大学大学院の修士課程を卒業してすぐに九州大学の国武研究室の助手になった。修士課程時代には過酸化アロイルのラジカル反応が研究テーマであり、九大に赴任したときに国武先生から酵素モデル反応をするからと言われた。有機溶媒中の反応から水溶液中の反応になり、酵素のことなど何も知らない身にとっては、太垣和一郎先生が書かれた「酵素反応のしくみ」が入門書であった。W. P. Jenks 著「Catalysis in Chemistry and Enzymology」(McGraw-Hill, 1969)を一冊読み終えて何となく酵素反応がわかるような気がしてきた。当時の「酵素類似様機能をもつ有機化学反応の研究会」は春の年会の前日にあり、誰よりも早く手を挙げないとなかなか質問できないほど熱気あふれる研究会であった。いま思えば、その当時は「水溶液中で行う有機反応」を行っていたのであって、「生体内(酵素)反応」にはほど遠い状態であった。

東京工業大学に移り、特に13年前に生命理工学部に移ってからは、積極的にバイオ分野に乗り出し、今では研究室の大半が遺伝子組み換えや大腸菌や動物細胞を使ったタンパク質や酵素の発現に取り組んでいる。自分の学んできた有機化学に比べて生化学や分子生物学はよくマニュアル化され、試薬なども高価ではあるがキット化され、メーカーもかゆいところに手が届くようなサポート体制が整っている。有機化学も生化学の実験も基本的にはKnow-Howのかたまりであり、見習うところは多い。生化学関係の学会では、試薬メーカーや測定機器メーカーもランチョンセミナーなどを開催して積極的に学会に参加している。この点も見習いたい。生化学では核酸はA, T, G, Cの4文字で、アミノ酸も一文字表記であり、化学構造式を書かなくなっている。しかしこの点は見習いたくはない。生化学の講義でもなるべく化学構造式を書いてなぜそうなのかを分子レベルで教えるように心がけている。

当部会は、30年前に生体内でおこる反応を有機化学の言葉で理解することからスタートした。最近では部会シンポジウムの発表の半分以上は「生もの」を扱うようになっている。日化の春季年会の発表件数の中でも1/3が生体関連であり、一大勢力である。日本化学会には、「生体機能関連化学部会」、「バイオテクノロジー部会」、「生命化学研究会」の三つの生体関連のグループがあり、各々が独立してシンポジウムなどを運営している。日本化学会がディビジョン制を取り入れることもあり、将来的には合同あるいは連携して、有機化学の知識を活用しつつ生命現象を分子レベルで解明し、産業界とも連携しながら創薬、健康、疾患の治療などの社会に役立つ分野として発展する様に心がけたい。

研究紹介（部会講演賞）

DNA・ペプチドを利用したマテリアルナノアセンブリ構造体の創生

東北大学 多元物質科学研究所 梅津 光央

mitsuo@tagen.tohoku.ac.jp

1.はじめに

無機・有機を問わずナノアセンブリ構造体の合成・特性の研究は、現在のナノテクノロジーにおいて最も中心をなすものであることは言うまでもない。ナノテクノロジーの注目は、物質をナノサイズにまで微細化することで、バルク状態とは異なる特有の物性発現が期待されることから始まっているが、現在では、ナノクラスターが示す電場・光応答性等を直接活用するナノユニットアセンブリの研究に移りつつあり、その中で、高分子の持つ自己秩序化能を用いたナノマテリアルアセンブリの開発が行われている。そこで今回、自己秩序化能を持つ高分子としてバイオ分子であるDNAやペプチドを用いて我々が行ってきた、ナノユニットの接合やアセンブリ研究を紹介する。

2. DNA 高次構造を利用したナノ粒子アセンブリ^[1]

近年Maoらによって、生体内の遺伝子変換の際にみられるホリデイ連結結合を利用した、約10nmの単位格子が規則配列した網目構造の構築が報告されている。この構造は、設計された塩基配列を持つ8本ないし6本の1本鎖DNAが、4つのホリデイ連結結合を角にしたナノ単位格子を形成し、さらに末端部分に残している単鎖部分を利用して隣接する他の単位格子と2次的に結合することによって形成される。我々は、このDNA高次構造体をナノデバイスのテンプレートとしてとらえ、その上にナノ粒子をテーラーメイドにアセンブリできると考えた(図1)。まずMaoらが設計したDNAナノ単位格子間の連結に使われる1軸方向の1本鎖タグを金ナノ粒子に固定化しているDNAと相補的な配列に置換する。そして、DNA修飾金ナノ粒子と共に高次構造を形成させると、金ナノ粒子が1次配列すると予想される。実際、電子顕微鏡で観測したところ、金ナノ粒子がアセンブリされていることが確認され(図2)、本手法の有効性を実証した。

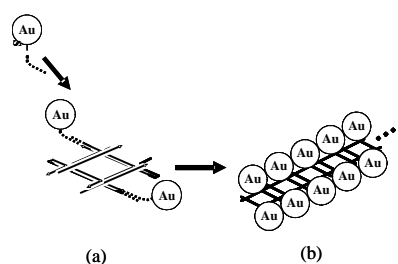


図1. DNA ナノ単位格子を利用した金ナノ粒子アセンブリ

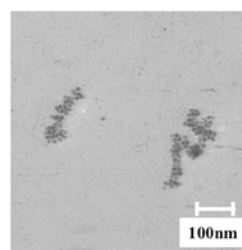


図2. 図1により実際にアセンブリされた金ナノ粒子のTEM画像

3. DNA 自己組織化を利用した次世代水素応答性ナノハイブリッド材料^[2]

DNAの特徴として、非常に選択性の高い相補的な結合の他に、高分子電解質の特性を持つ。DNAは負電荷を帯びたポリマーであり、その表面に金属イオンを濃縮する性質がある。さらに、DNAは通常ひも状だが、金属イオン濃度が増加することによりグロビュール構造と呼ばれる渦上構造を形成する。我々は、このDNAのカチオンイオン濃縮機能とグロビュール転移を利用して、金属ナノ粒子をアセンブリできると考え、小型水素センサーへの応用として注目されているパラジウム(Pd)に関して、DNA-Pdハイブリッドナノアセンブリ体の作成を試みた。

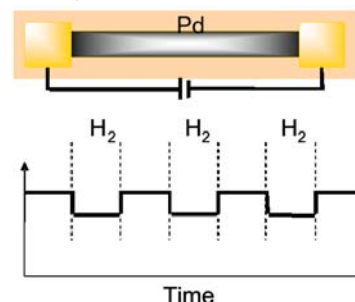
Pd は水素を吸蔵することにより、①電気抵抗が増加する、②体積が膨張する、という特徴があり、小型水素センサーの中核的材料として認知されている。水素吸蔵による「電気抵抗増加」を利用したパラジウムシート水素センサー(図 3a)に関してはすでに開発が進められているが、元々流れている電流量と比較し非常に小さい電気応答性を評価しなければならないため、高感度という面で課題がある。また、水素以外のガスが吸着しても電気抵抗は変化するため、水素選択性という面でも欠点がある。そこで我々は、DNA 上に Pd を析出させ、Pd ナノ粒子がある一定間隔を空けて配列している構造体を作成することによって、水素吸蔵による「体積膨張」で Pd ナノ粒子同士が接触した時のみ電流が流れるシステムの構築を目指した(図 3b)。

図 4 に合成した Pd の TEM 画像を示す。 λ -DNA の非存在下においては、アスコルビン酸還元処理では平均粒子径が約 200nm で粒径分布の広い粒子が得られ(a)、 NaBH_4 還元では粒径が非常に小さい Pd 粒子の乱雑な凝集体が得られた(b)。これは、アスコルビン酸と NaBH_4 の還元力の違いが核発生速度と核成長速度に影響を与えた結果である。一方、 λ -DNA の存在下においては、アスコルビン酸還元の場合には、約 5nm の粒子が集合している約 70 nm の粒径分布の狭い高分散 Pd 粒子が得られ(c)、 NaBH_4 還元でも、ある程度均一な粒子(平均粒径約 25 nm)が連なっている状態が観察された(d)。よって、DNA に Pd イオンを濃縮させた後還元させると、粒径分布の小さい Pd 粒子が形成されると言え、さらに、DNA のグロビュール構造転移と還元速度の違いにより、その形成体の構造も変化させることができることが示唆される。

次に、アスコルビン酸還元した Pd ナノ粒子を電極間に固定して電圧を 1 V で一定に保ちつつ、5 分毎に窒素・1%水素雰囲気下に変化させたときの電流変化を追跡した(図 5)。DNA 非存在下で還元した Pd 粒子は、水素応答性を示さなかったのに対し、アスコルビン酸還元で作成した DNA-Pd ハイブリッド体は、水素を吸蔵することによって体積膨張依存型の電気応答性を示した。これは、DNA-Pd ハイブリッド体が約 5 nm の Pd 粒子の集合体であることから、水素吸蔵により 5 nm の Pd 粒子が体積膨張し接触面積を増加させるためと考えている。

以上、これまでに、DNA 存在下で Pd イオンを還元させることによって、DNA のグロビュール構造転移を利用した Pd ナノ構造体形成を行い、次世代型の Pd 水素センシング機能を発現させるところまで成功している。

- (a) 水素吸蔵による電気抵抗増加を利用した Pd 水素センサー
低感度、水素以外のガスの影響大



- (b) 水素吸蔵による体積膨張を利用した Pd 水素センサー
高感度、水素以外のガスの影響無

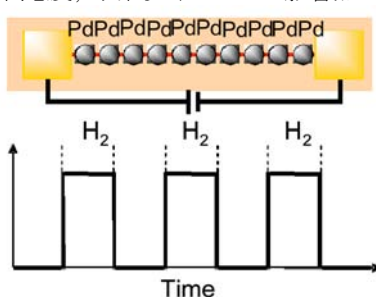


図 3. Pd 水素センサー

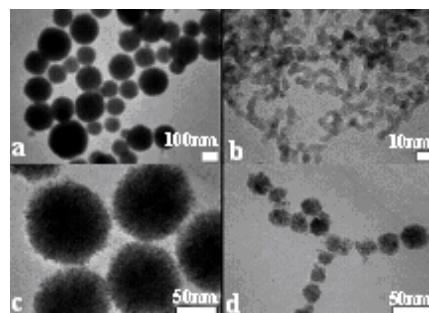


図 4. Pd 粒子の TEM 画像

- (a) アスコルビン酸還元 Pd, (b) NaBH_4 還元 Pd, (c) アスコルビン酸還元 DNA-Pd, (d) NaBH_4 還元 DNA-Pd

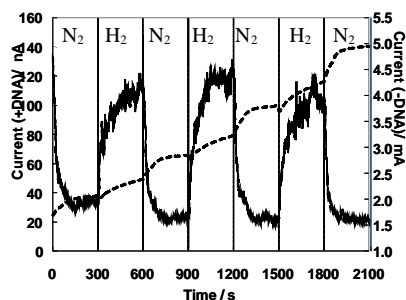


図 5. Pd 粒子の電気応答性

点線 : Pd 粒子, 実線 : DNA-Pd ハイブリッド体

4. バイオミネラリゼーションを利用したマテリアルナノ構造体の作成^[3]

貝類やサンゴなどは二酸化炭素を取り込んで自身の骨格となる炭酸カルシウムを合成し、哺乳類もカルシウムイオンから骨や歯となるリン酸カルシウムを合成している。また、珪藻においては、自分自身の外殻に非晶質珪酸を用いて非常に精巧で緻密な模様を刻み、ナノレベルでのナノクラスターアセンブリを行っている。このバイオミネラリゼーションは、ただ単にイオンからミネラルを鉱化させるだけでなく、遺伝情報に従い、正確に無機結晶成長を制御し、ナノからセンチレベルまで至適な骨格構造を構築している。また、室温・中性水溶液という非常に穏やかな条件で反応が起きるため、熱や極限条件に弱い有機材料とのハイブリッドアセンブリの面でも、バイオミネラリゼーションは魅力的である。近年、無機結晶結合ペプチドには、バイオミネラリゼーション機能を有するものがあることも報告されている。我々はこれら無機結晶結合・合成ペプチドを用いて、室温・中性溶液という非常に穏やかな条件で無機ナノクラスターを基板上へパターンニングしたり、他の手法では達成できない複雑なナノアセンブリ構造体を作成することを目指している(図6)。ここでは、我々が行った酸化亜鉛粒子のバイオ固定化とミネラリゼーションについて紹介する。

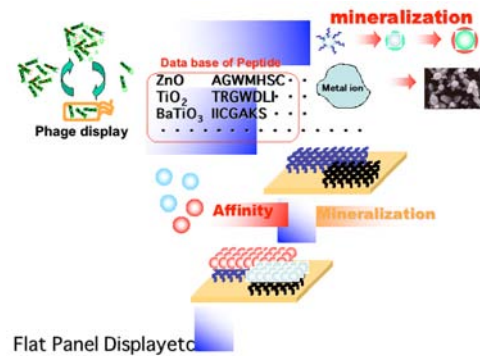


図 6. ペプチドを利用したマテリアルナノ構造体の作成

まず初めに、12 残基のペプチドを提示したファージライブラリーを用いて、酸化亜鉛に対して試験管内選択を行った。3 回目の選択において、導入したファージ数に対する酸化亜鉛結合陽性ファージ数が急激に 300 倍増加した。そこで、それら酸化亜鉛結合陽性ファージから提示ペプチド配列を解析したところ、50%のファージが同一な配列を提示しており、そのペプチドは酸化亜鉛に特異的に結合することが分かった。

そこで、その酸化亜鉛結合陽性ペプチドを基板上へ固定化することによって、室温・中性水溶液中で酸化亜鉛のみの選択的固定化を試みた。ペプチドの固定化は、酸化亜鉛結合陽性ペプチド末端にチオール基を側鎖に持つシステインを導入し、金-チオール結合を利用して金表面に固定化した。そして、未処理金プレートとペプチド固定金プレートを蛍光性酸化亜鉛粒子が分散した水溶液中に各々30分浸し、254nmの紫外光を照射して酸化亜鉛固定化を検出した。その結果、ペプチド固定化プレートにのみ酸化亜鉛由来の緑色蛍光が観測され、酸化亜鉛を基板上へ固定化することに成功していることがわかる(図7)。また、他の無機材料への結合も評価するために、ペプチドが固定化されている金プレートを、蛍光特性を持つ硫化亜鉛と酸化ユウロピウム粒子懸濁液に浸したところ、金プレート上に各々の粒子由来の蛍光を観測することができなく、今回選択された酸化亜鉛結合ペプチドが「ZnO」という組成を特異的に認識していることが示された。これは、ペプチドをインクジェット等でパターンニングすれば、室温・中性水

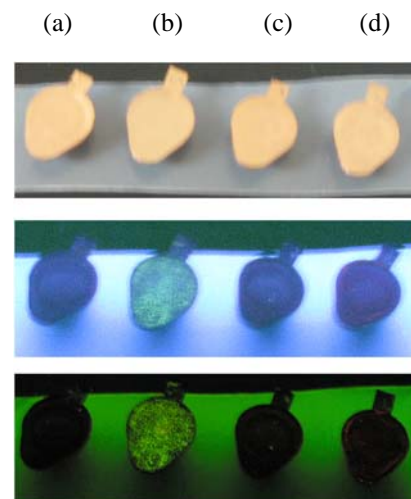


図 7. 金属酸化物懸濁液に浸された金プレート写真(上段：紫外線未照射，中斷：254nm 照射，下段：254nm 照射(撮影時紫外線カットフィルター使用))

- (a) ZnO 懸濁液に浸した後のペプチド未固定金プレート
- (b) ZnO 懸濁液に浸した後のペプチド固定金プレート
- (c) ZnS 懸濁液に浸した後のペプチド固定金プレート
- (d) Eu₂O₃ 懸濁液に浸した後のペプチド固定金プレート

溶液条件下で速やかに酸化亜鉛粒子をパターンニングできることを示唆しており、今後熱や極限環境に弱い有機基板への有力なパターンニング技術として期待できる。

バイオミネラリゼーションについては、水酸化亜鉛のゾル状態に、システインが末端に付与した酸化亜鉛結合陽性ペプチドを添加することによって試みた。添加直後からゾルは急速に沈降し、1日後にはペプチドを添加していないものに比べゾル沈降濃縮相の体積が半分以下になり、3日経過後には容器底部に粒子状の酸化亜鉛の沈殿が観測され、室温で酸化亜鉛を合成することに成功した(図8)。この沈降濃縮も酸化亜鉛の合成も、ペプチドを構成しているアミノ酸を添加しても起こらない。アミノ酸が、酸化亜鉛結合ペプチドのアミノ酸配列に並ぶことによって、初めて酸化亜鉛合成機能が生まれ、室温の環境で酸化亜鉛が合成される。さらに興味深いことに、沈殿物の形状を電子顕微鏡により観察したところ、約20 nmの酸化亜鉛ナノ粒子が規則的にフラワー型モチーフを形成していることが確認された(図9)。これは、バイオミネラリゼーションによりこれまで報告されなかった構造体を作成できることを示唆しており、今後ペプチド・蛋白質が作り出す構造形成と連結することにより、より複雑で至適な構造形成が可能であろう。



図8. 酸化亜鉛結合ペプチド添加後の水酸化亜鉛ゾルの経時変化

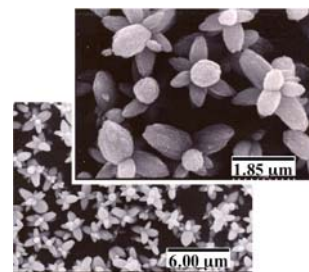


図9. 酸化亜鉛結合ペプチドより形成した酸化亜鉛沈殿物のSEM画像

謝辞 今回紹介した研究は、東北大学多元物質科学研究所阿尻研究室のスタッフ(阿尻雅文教授、名嘉節助教授、大原智助手)と学生の皆様(畠山義治君、水田真道君、富樫貴成君、横尾望さん)の多大な協力のもと成されたものであり、ここに感謝致します。また、ファージ提示法においては、東北大学大学院工学研究科の熊谷泉教授と津本浩平助教授(現東京大学大学院新領域創成科助教授)、無機材料の提供・共同研究においては、大阪大学接合科学研究所の内藤牧男教授と阿部浩也助教授に多大なご協力を頂きました。ここに深く感謝致します。

1. 畠山 義治, 南 昌宏, 梅津 光央, 大原 智, 高見 誠一, 阿尻 雅文, “DNA 高次構造体の形成制御とナノ粒子アセンブリ”, 高分子論文集, 61, 617-622 (2004).

2. M. Umetsu, Y. Hatakeyama, S. Ohara, S. Takami, T. Naka and T. Adschiri, in preparation.

3. M. Umetsu, M. Mizuta, K. Tsumoto, S. Ohara, S. Takami, H. Watanabe, I. Kumagai, and T. Adschiri, “Bioassisted room-temperature immobilization and mineralization of Zinc Oxide - High order structuration of ZnO nanoparticles to a flower-type morphology-“, *Advanced Materials*, 17, 2571-2575 (2005).

蛋白質翻訳システムの人為的制御とその化学的応用



京都大学工学研究科 山東 信介

ssando@sbchem.kyoto-u.ac.jp

はじめに

リボソームを中心とした蛋白質翻訳システムは、“mRNA からの配列依存的な蛋白質の重合”というセントラルドグマの重要な役割を担っている。過去の精力的な研究、並びに、近年実現されたリボソームのX線結晶構造解析から、複雑な蛋白質翻訳システムに対する分子レベルでの理解が可能になってきた。遺伝子配列（遺伝子暗号）から、“相補塩基対形成”という厳密な相互認識機構を利用してペプチド結合転移反応を制御し、「配列」・「分子量」・「かたち」の厳密に制御された高分子（ポリペプチド）を重合する精巧な仕組みは驚くべきものである。加えて、最近では mRNA とリボソームの相互作用様式によって蛋白質翻訳の時間的制御が行われていることも明らかになった。非常に複雑なこれらの反応も微視的にみれば、単純な分子認識化学の時間的・空間的な組み合わせであり、加速度的なケミストリー・バイオテクノロジーの進歩は、蛋白質翻訳システムの理解にとどまらず、人為的制御・工学的（化学的）応用をも可能にしつつある。我々は、糖鎖を利用した分子集合体の構築に関する研究¹⁾に加え、近年、蛋白質翻訳システムの制御と化学的利用に向けた様々なアプローチを行っている。以下に、それらの研究の一例について、有機化学・材料化学的視点から紹介させていただきたい。

ゲノムから直接転写可能な非修飾 RNA をプローブとした(細胞内) 遺伝子センシング²⁾

ゲノムシーケンスのドラフト解析、(1塩基)多型関連解析、さらには、網羅的発現解析技術の進展に伴い、遺伝子検出・診断から得られる情報量も飛躍的に増大している。しかし、従来の遺伝子診断・発現モニタリングはすりつぶした細胞より抽出した DNA/RNA を用いて行われており、遺伝子の変異、発現状況は全細胞の平均値として取り扱われてきた。細胞群を単一細胞の集合（システム）と見た場合、そのシステム内における各単一細胞の状態相違を時間・空間的パラメータと共に計測し、制御する技術は、「システムとしての細胞ネットワーク」に対する新たなアプローチとなりえる。このような長期目標の実現には、細胞の多様性の根源である細胞膜を破壊しない生細胞適合型の遺伝子検出・診断手法が必須である。我々は細胞内蛋白質翻訳システムを利用したアプローチ「非修飾 RNA を用いる細胞内遺伝子センシング」に挑戦している。

細胞膜内のような混合系における遺伝子検出・診断を可能にするプローブの代表例としてモレキュラービーコン(MB)が挙げられる。MB は蛍光・消光分子を両末端に有するヘアピン構造核酸であり、標的核酸のホストゲスト的結合に誘起される構造変化により蛍光を発する。しかし、蛍光消光型 MB は、毒性・安定性など細胞との適合性、及び、多細胞への導入法に問題があり、その利用には一定の制限があった。一方、原核生物由来の RpoS mRNA はステムループ型（シス作用型）の mRNA 構造を有し、トランス作用型 DsrA RNA によって引き起こされる Open-Close 型構造変化（蛋白質翻訳開始に必須なリボソーム結合配列の活性/不活性化）によって蛋白質の翻訳を制御している（図 1a）。また、近年 Collins らによって本機構が原核細胞内での遺伝子発現制御に応用可能であることが示されている³⁾。これらの核酸相互作用は、

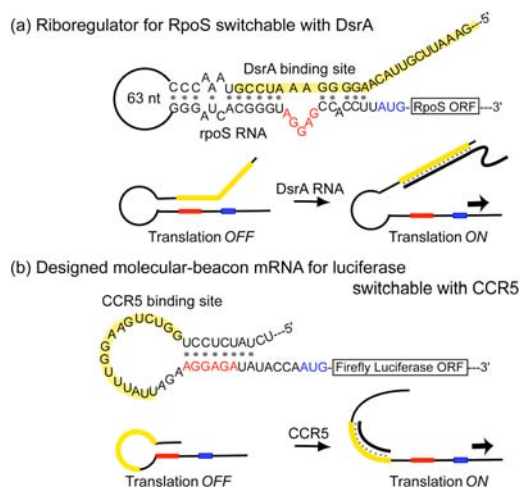


図 1 .原核用MB-mRNAシステムの設計

前述の MB 型構造変化に非常に類似している。我々は、原核細胞蛋白質翻訳システムを用いた細胞適合型遺伝子検出・診断系の構築に向け、MB 型 mRNA(MB-mRNA)の設計を行った。標的遺伝子非存在下ではリボソーム結合配列(RBS: Ribosome Binding Site, 赤色)を MB 型ヘアピン構造にて不活性化し、標的遺伝子存在下においてのみ蛋白質発現が開始される (図 1; 標的遺伝子結合部位, 黄色)。レポーター蛋白質として酵素触媒活性を有するルシフェラーゼを選択し、ルシフェリンを基質とした 2 段階の触媒的シグナル増幅を試みた。HIV 関連遺伝子であるケモカイン CCR5 ハプロタイプを標的とした MB-mRNA をデザインし (図 1b)、大腸菌蛋白質合成システム中における遺伝子検出実験を行ったところ、少なくとも amol~fmol レベルの検出感度で標的遺伝子を検出できることが確認された^{2a)}。また、本系が 1 塩基識別能力を有していることも明らかとなった。



図 2

感度・選択性向上に向け、RNase H Activity-Coupled 大腸菌翻訳系を用いた 3 重触媒システムを作成し、MB-mRNA(for β -galactosidase)を利用した One-Step 遺伝子配列可視化検出にも成功している (図 2、本システムでは RNase H 活性により、MB-mRNA を触媒的に翻訳活性化している)^{2b)}。以上、我々は、ゲノム・汎用されるプラスミドから直接転写可能な非修飾 RNA を用いた遺伝子診断・検出が可能であることを実証することに成功した。今後、真核細胞に適合できるシステムの開発と併せ、細胞内検出、究極的には細胞間コミュニケーション機構解明への応用を図って行く予定である。

我々は、蛋白質翻訳システムを利用した細胞機能解明への展開 (上述) と併せ、リボソームの優れた高分子合成能に着目した化学的応用研究も行っている。それらの研究例について、以下に紹介させていただく。

リボソームによって重合可能な非天然基質の合理的設計：ペプチド転移反応からのアプローチ⁴⁾

配列選択的に基質アミノ酸を精密に重合させるリボソームは生体内に存在する精巧な高分子合成マシンであり、多様な配列・多種の機能分子を含む非天然高分子合成システムとしての応用が報告されている⁵⁾。本稿では書面の都合上割愛させていただくが、近年、我々も細胞内での応用を指向した手法の確立に挑戦している⁶⁾。

様々な応用に向け、リボソームが重合可能な基質の多様性が大きな焦点になっている。化学的アミノアシル化法とナンセンスサプレッション法、あるいは、4 塩基コドン法の利用により、現在までに様々な非天然型基質がリボソームを介して重合可能であることが確認されてきた。しかし、近年の報告では、天然型リボソームは側鎖及び求核基における多様性に対しては非常に寛容であるのに対し、主鎖改変に関しては厳密であることが示唆されている。例えば、 β 位にアミノ基を有する β -アミノ酸は大腸菌リボソームにとって好ましい基質ではないと考えられている⁷⁾。しかし、主鎖長の異なる基質は、その特徴的な構造と誘起される物性の多様性から非常に興味深い化合物であり、その導入法の開発が望まれている。

ペプチド転移反応は、リボソーム A サイトに結合した tRNA の求核性 α -アミノ基が、P サイトに存在する伸張ペプチド末端アミノ酸のカルボニル基を求核攻撃することにより引き起こされる。リボソームによる作用は主に有利な配向によるエントロピー効果と考えられているが、遷移状態安定化に起因すると思われるエンタルピー効果も併せ持つ。一方、tRNA に結合したアミノ酸 α -アミノ基の pKa は 8.0~8.5 程度であり、中性条件における効率的な求核反応では求核性アミノ基の脱プロトン化機構が必要と考えられる。我々は、立体的な障害ではなく、アミノ基の位置における脱プロトン化の不利さが β -アミノ酸の導入を阻害していると仮定した。すなわち、求核性はアミノ基より低く不利であるが、中性条件下においてプロトン化されないヒドロキシ体は β 体であってもリボソームの基質に

成り得るのではないかという仮説である。

本仮説は大腸菌翻訳系におけるアンバーサプレッション実験を用いて検証した。β体における未知の置換基効果を排除するため、側鎖を有しない単純なβ-ヒドロキシプロピオン酸(β-HPA)を基質として用い、β-アラニン(β-Ala)、さらにそのα体であるグリシン(Gly)、α-ヒドロキシ酢酸(α-HAA)をコントロールとして用いた(図3)。

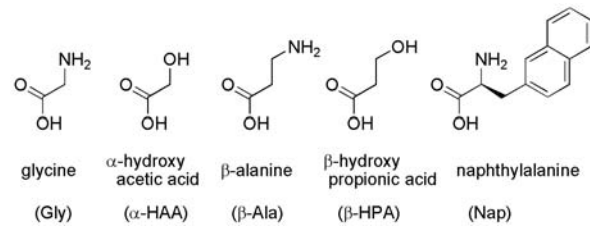
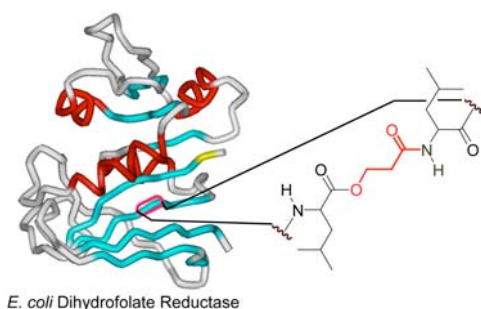


図3. 天然 及び 非天然基質

各基質を酵母 tRNA^{Phe}_{CUA}

末端に化学的にアミノアシル化し、大腸菌 DHFR111 番目に変異挿入した UAG アンバーコドンへの導入を行った。同条件で発現させた Wild Type DHFR をコントロールとし、同ゲル内検量線から導入効率を算出した。Gly 及びヒドロキシ類縁体α-HAA では効率的な導入が確認されたが、主鎖長の長いβ-Ala では non-acylated コントロールと同程度(<5%)のバンドのみ観測され、その明確な導入は確認できなかった。一方、本研究で用いたβ-HPA は~20%の収率で蛋白質への導入が確認され、ヒドロキシ類縁体ではβ体もリボソームの基質となることが実証された。さらに、オリゴペプチドをコードする mRNA テンプレートを用いたアンバーサプレッション実験を行い、MALDI-TOF-MASS による導入基質の確定を行った。ウェスタンブロッティングの結果と同様、β-Ala ではその導入が確認されなかったが、β-HPA では 20%程度の収率での導入が確認され、また、MASS 測定の結果から導入された非天然アミノ酸はβ-HPA であることが実証された。

以上の結果より、ペプチド転移反応機構から設計したβ-ヒドロキシ酸がリボソーム重合の基質に成り得ることが示された。少なくとも化学的アミノアシル化法を用いた場合、β体においてはより求核性の低いヒドロキシ類縁体がβ-アミノ酸よりも導入されやすいという面白い結果である。



導入効率を高めると思われる疎水性側鎖を導入することにより、さらなる導入効率の上昇・多様性の増加が見込まれる。本結果は、非天然基質の合理的設計における新しい指針になると期待している。また逆に、今後の詳細な速度論的解析が必須であるが、導入が明らかになっている基質とともに、焦点となっているペプチド転移化学反応機構解析に向けた Chemical Probe と成り得る可能性がある。

蛋白質翻訳システム試験管内進化系の構築⁸⁾

先に述べたとおり、我々の研究における大きなテーマの1つとして“リボソームが担う機能の人為的拡張”が挙げられる。特に、新しい指針を示しうる合理的設計からのアプローチを主目標に掲げている。一方、複雑な天然の蛋白質翻訳系を改変し、様々な非天然基質を重合するシステムに進化させるためには、合理的設計を超えた新たな試験管内進化系(セレクション系)の開発もまた必須である。

我々は、蛋白質翻訳システムの試験管内進化(*in vitro* selection)を可能にする技術の構築にも挑戦している。具体的には最近我々が Ribosome Display 法⁹⁾(遺伝子型(genotype)である mRNA 上にリボソームを介して表現型(phenotype)であるタンパク質を提示させる genotype-phenotype coupling 法)をもとに開発した Read-through Ribosome Display (Rt-RD)法¹⁰⁾と Griffiths らによって開発されたコンパートメント化法¹¹⁾(IVC 法)を組み合わせた手法である。

tRNA の DNA 配列を鋳型 DNA の 3'末端にフュージョンさせることによって、一つの鋳型 DNA から2種類の RNA (mRNA-tRNA および tRNA) が転写されるように設計する(図4a)。また、開始コドン(ATG)のすぐ後方に FLAG-tag をコードする配列、それに続けてアンバー(TAG)コドンを設

置し、以降は大腸菌 DHFR の遺伝子をコードさせた。この鋳型 DNA を転写・翻訳した際に、転写された tRNA が内在する ARS に認識され(i)、アンバーサプレッサーとしての活性を示せば(ii)、アンバーコドンはリードスルーされ(iii)、FLAG-tag がリボソームトンネルを抜けだして mRNA 上に提示される(iv)、と

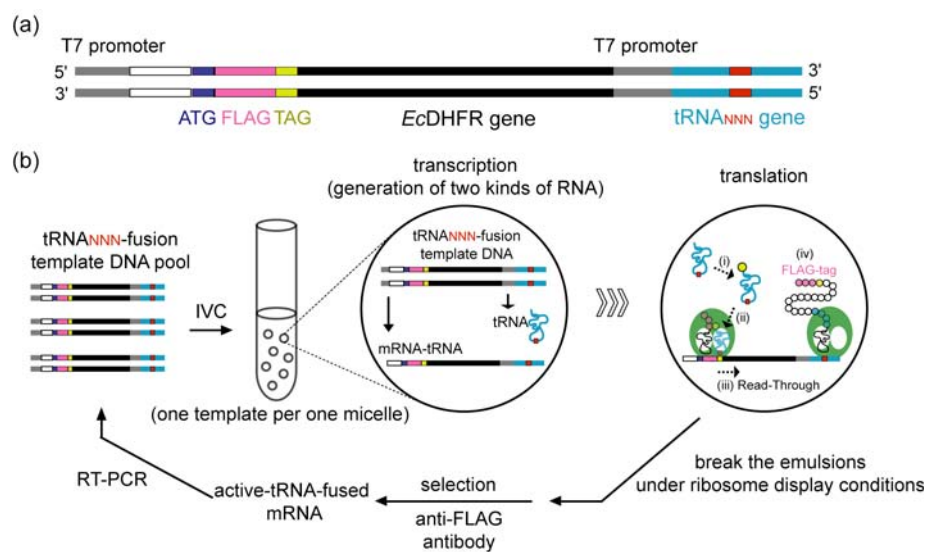


図4. Rt-RD/IVC 法による tRNA の *in vitro* selection

という仕組みである (図 4b)。アンバーサプレッサー活性のある tRNA に、自己の鋳型 DNA から転写された mRNA のみをリードスルーさせるため、IVC 法を用いている。この Rt-RD/IVC 法をもとに、tRNA^{SerU} のアンチコドンループ部にランダム配列を含むプールからセレクションを行ったところ、驚いたことに CUA アンチコドン両サイドに天然型配列を含む tRNA が~40%程度まで Enrich された。本来、tRNA には多様な塩基修飾が施されている。このような修飾がなくとも天然型配列が選択されてきたことは、tRNA の進化過程を理解する上でも面白い結果である。

サプレッサー-tRNA のセレクションは、従来 *in vivo* で行われており、“*in vitro*”における有効な手法は殆ど無かった。我々が設計した Rt-RD/IVC 法は、“*in vitro*”におけるセレクションを可能にしたものである。本研究で示された天然 ARS に認識されるサプレッサー-tRNA の他、サプレッションに関与する種々の核酸・タンパク質に対しても“*in vitro*”での有効なセレクション法になると思われる。現在、本法を用いたアミノアシル転移酵素 (RS) の *in vitro* 試験管内進化に挑戦している。

おわりに

リボソームを中心とした翻訳システムは、非常に精巧で優れたシステムである。現在までに行われた様々な研究をもってしても、未知の部分が多い。本稿で紹介した研究もまだまだ多くの欠点を有している。現在も多くの研究が進行中であり、今後それらの成果を報告したい。

謝辞 本研究は、京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻青山研究室で行われた研究であり、指導教授である青山安宏教授に深く御礼申し上げます。また、本研究遂行にご協力いただいた共同研究者、並びに、学生の方々に心より深謝いたします。

- 1) 例えば Aoyama Y. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 588. 2) (a) Sando, S.; Narita, A.; Abe, K.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5300. (b) Sando, S.; Narita, A.; Ogawa, K.; Aoyama, Y. *submitted*. 3) Collins JJ. et al. *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 841. 4) Sando, S.; Abe, K.; Sato, N.; Kanatani, K.; Aoyama, Y. *submitted*. 5) Budisa, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6426, and references therein. 6) Sando, S.; Kanatani, K.; Sato, N.; Matsumoto, H.; Hohsaka, T.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7998. 7) Tan, Z.; Forster, A. C.; Blacklow, S. C.; Cornish, V. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12752. 8) Ogawa, A.; Sando, S.; Aoyama, Y. *submitted*. 9) Lipovsek, D.; Plückthun, A. *J. Immunol. Methods* **2004**, *290*, 51. 10) Ogawa, A.; Sando, S.; Aoyama, Y. *ChemBioChem in press*. 11) Griffiths, A. D.; Tawfik, D. S. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 338.

研究紹介（部会講演賞）

多糖・ β -1,3-グルカンを1次元ホストとして利用した バイオナノマテリアルの創製

科学技術振興機構 沼田 宗典
numatcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

【はじめに】

生体高分子は厳密な分子認識に基づき自己組織化し、特異な構造を持った巨大超構造体を創り出す。特に核酸はシーケンスを適切に設計することにより集積のためのプログラム化と得られる超構造の制御が可能であり、これまで様々な分子の1次元配列やナノ材料ファブリケーションのための1次元テンプレートとして利用されてきた経緯がある。生命維持のため厳密な分子認識過程とその結果得られる超構造が人工材料の機能とナノメートル領域で融合することにより、新たな機能を持つナノマテリアル群の創出が可能となっている。

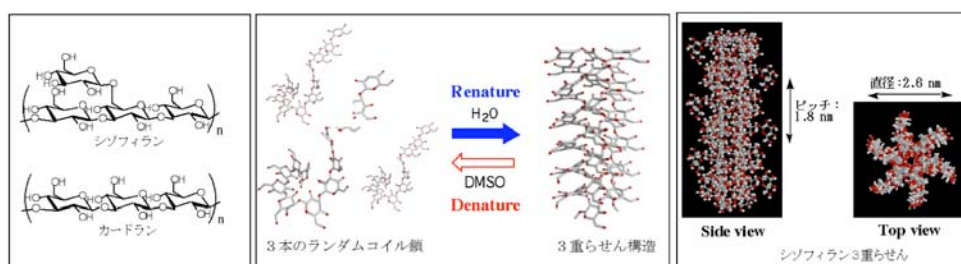


図1： β -1,3-グルカンの構造（シゾフィランは主鎖の3グルコース単位に1つの割合で規則的に側鎖グルコースを持つ、カードランは側鎖を持たない）と可逆的な3重らせん形成過程、及び3重らせんの最安定構造

β -1,3-グルカン類はグルコースが β 1 \rightarrow 3結合で連結したユニークな主鎖構造を持ち、明瞭な構造を持った多糖類である。これら β -1,3-グルカンは主鎖骨格に由来する強いらせん形成能を持ち、天然では均整のとれた右巻き3重らせん構造として存在する。また、ピッチや直径などの構造パラメータは核酸のそれとほぼ同じであり、まさに多糖を構成単位とした天然の超分子構造体であると言える。 β -1,3-グルカン類の溶液特性はさらに興味深い。天然3重らせん構造はDMSOなどの極性有機溶媒中では解離(Denature)し3本のランダムコイル鎖となるが溶媒を水に置換すると再び元の3重らせん構造を自己組織的に再構築(Renature)する(図1)。最近、櫻井らは、 β -1,3-グルカンのRenature過程にある種の核酸が共存すると多糖2本と核酸1本からなるヘテロ3重らせん構造が形成されるという興味深い現象を見出している[1]。この結果は多糖・ β -1,3-グルカンが核酸類似の構造規則性と自己組織性を兼ね備えたユニークな多糖類であることを再認識させるものである。 β -1,3-グルカンの自己組織的ならせん形成過程をキーププロセスとして利用すれば多糖を基体とした全く新しいナノ材料群の創製が可能となるはずである。

【多糖・核酸複合体から多糖・合成高分子複合体への展開】

β -1,3-グルカンが3重らせんを形成する主な駆動力は糖鎖間の疎水性相互作用と考えられている。実際、水中における3重らせんの最安定化構造ではらせん内部に疎水的な1次元ドメインが存在することが明らかとなっている。疎水性1次元ドメインが親水性表面で覆われた両親媒構造はシクロデキストリンのカラム状集積体として捉えることが出来る。ここで、シクロデキストリンはC₆₀などフラーレン類の優れたホストとして機能することがよく知られている。もし、 β -1,3-グルカンがシクロデキストリンの1次元配列体様の機能を持っていれば、同じ炭素ナノ材料であるカーボンナノチューブが1次元疎水空間に取り込まれるはずである。

【 β -1,3-グルカン・単層カーボンナノチューブ複合体の形成】^[2,3]

β -1,3-グルカン鎖が3本らせんに巻き戻る過程に核酸を共存させると β -1,3-グルカン・核酸複合体が

形成される。この複合体形成法をそのまま SWNT に適応してみることにした。

予め酸により処理を施した SWNT の水分散液に β -1,3-グルカンの DMSO 溶液を加えそのまま室温で 2 日間放置した。遠心分離により過剰の β -1,3-グルカンを除去、同時に溶媒を水へと置換し、得られた複合体の AFM による観察を行った。その結果、興味深いことに、 β -1,3-グルカンが SWNT 表面をらせん状に被覆し、シゾフィラン特有の周期構造がナノチューブ表面でも再生されていることが明らかとなっている (図 2)。 β -1,3-グルカンの強いらせん形成能が SWNT 表面での規則的なパターン形成を可能にしていると言える。複合体の高さ方向のプロファイルより形成した複合体の直径は 10-20 nm であり、SWNT 数本のバンドルの表面を β -1,3-グルカンがらせん状に被覆していることが明らかとなった。このように β -1,3-グルカンは核酸以外の高分子とも相互作用し、 β -1,3-グルカンに由来する規則性を持った複合体が形成することが示された。

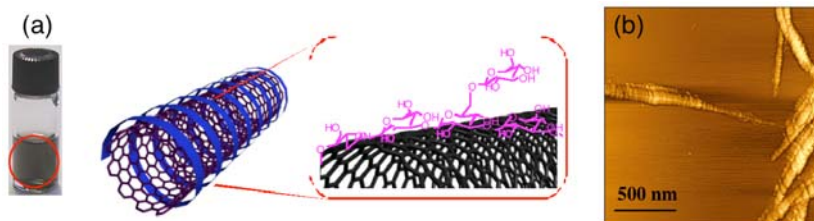


図 2 : (a) シゾフィラン・SWNT 複合体の水溶液とラッピング様式の模式図、(b) 複合体の AFM 像

ここで、 β -1,3-グルカン 3 重らせんの直径が約 2 nm であることを考慮すると、 β -1,3-グルカンはその主鎖構造を柔軟に変化させることにより数倍の直径を持つ SWNT バンドルに巻き付いていることになる。 β -1,3-グルカン・SWNT 複合体形成は β -1,3-グルカンのユニークなラッピング特性を明らかにしてくれる。つまり、(1) 複合体形成の主な駆動力は疎水性相互作用であるため、複合体形成はゲストポリマーの性質にほとんど影響されない、(2) β -1,3-グルカンはゲストポリマーのサイズや形状に合わせて主鎖構造を変化させるため、“Induced fit”型の取り込みが可能となる。このような特性は、 β -1,3-グルカンが SWNT 以外の疎水性ナノ材料に対しその内部空孔を提供し、天然 1 次元ホストとして振る舞う可能性を示唆するものである。この作業仮説を実証するために、 β -1,3-グルカンの 1 次元ホストとしての機能を様々な側面から評価した。以下、そのいくつかの成果を紹介する。

【 β -1,3-グルカン・ポリアニリン複合体の形成】^[4]

まず、SWNT 同様、剛直で疎水性の導電性高分子であるポリアニリンを用いて β -1,3-グルカンの 1 次元ホストとしての機能を検証してみることにした。水溶液中では凝集・不溶化するポリアニリンも β -1,3-グルカンの 1 次元空孔に取り込むことが出来れば水溶化できると同時に空孔内で 1 次元配向化できるはずである。実際、シゾフィラン・ポリアニリン複合体は水溶性であり溶液はポリアニリン特有の濃青色を呈した。また、水溶液を TEM により観察したところ、長さ 200-300 nm、直径 10-20 nm のファイバー構造を多数確認することができた (図 3)。コントラストはポリアニリンに由来すると考えられ、その長さは用いたシゾフィランとほぼ一致した。これらはポリアニリンがシゾフィラン空孔内に取り込まれ 1 次元に配向していることを示している。この結果は上記の作業仮説を証明するものであり、 β -1,3-グルカンが天然 1 次元ホストとして機能することを強く示唆している。

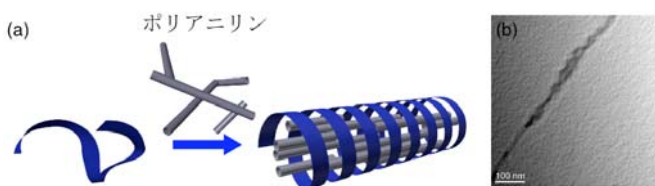


図 3 : (a) シゾフィラン・ポリアニリン複合体の模式図、(b) 複合体の TEM 像

【 β -1,3-グルカン・ポリチオフェン複合体の形成】^[5]

SWNT やポリアニリンなどの剛直なポリマーだけでなく柔軟な主鎖構造を持つ導電性高分子についても複合体を試みた。ポリチオフェンは柔軟な主鎖を持つ導電性高分子であり有効共役長の変化により多彩な色彩変化を引き起こすことが知られている。図 4a に示すように、ポリチオフェンがシゾフィラ

ンの1次元空間に取り込まれた結果、溶液の色が黄色からオレンジへと変化することが明らかとなった。 β -1,3-グルカンとの複合化によりポリチオフェンがランダムコイルから直鎖状のコンフォメーションへと変化したことを示している。また、1次元空孔が不斉環境であることを反映して強い誘起CDも観察された(図4b)。 β -1,3-グルカンが創り出す不斉環境を反映してポリチオフェン主鎖が内部空孔内でねじれていると考えられる。さらに、ポリチオフェン1本が β -1,3-グルカン空孔内で孤立分散化されるため水中でも高分子の凝集が抑制され発光の消光は全く観察されない。様々な分子認識能を持つ化学修飾シゾ

フィランを1次元ホストとして用いることで、生体分子をターゲットとしたセンサー素子やバイオプローブとしての応用研究が期待される。

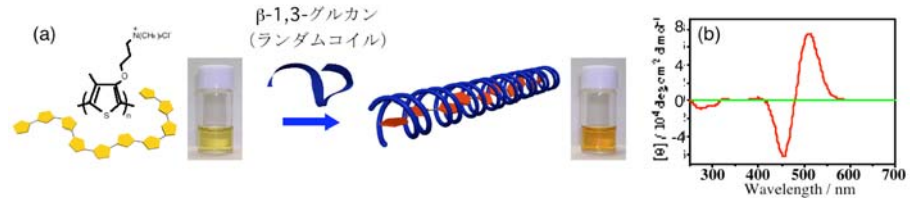


図4：(a) シゾフィラン・ポリチオフェン複合体の形成 (b) 複合体のCDスペクトル

【化学修飾 β -1,3-グルカンを1次元ホストとした導電性高分子の超分子化学的機能化】 [4, 6]

SWNT やポリアニリンが β -1,3-グルカンの1次元空孔内に取り込まれた場合、 β -1,3-グルカンは主鎖2位水酸基側の面でゲストポリマーと相互作用すると考えられる。一方、親水性の β -1,3-グルカン表面(シゾフィランでは側鎖グルコース、カードランでは6位水酸基)はゲストポリマーとの相互作用には関与しないことになる(図2模式図)。 β -1,3-グルカン・核酸複合体も同様の複合体様式をとっていると考えられ、複合化に関与しないシゾフィラン側鎖への官能基導入が遺伝子導入剤の開発に有効であることが実証されている(図5a)。もし、このような化学修飾 β -1,3-グルカンが天然 β -1,3-グルカン同様、疎水性高分子の1次元ホストとして機能すれば、得られる複合体への超分子化学的機能付与が可能となるはずである(図5b)。

そこで、シゾフィランのグルコース側鎖にマンノースを修飾したシゾフィランを用いSWNTあるいはポリアニリンとの複合体形成を試みた。その結果、取り込んだゲストポリマーにレクチン認識能を付与できる事が明らかとなっている。このように化学修飾 β -1,3-グルカンが天然 β -1,3-グルカン同様、1次元ホストとして機能する結果が得られている。今後、様々な機能性ナノ材料を創製する上でこのような超分子化学的機能付与が極めて有効であることは言うまでもない。

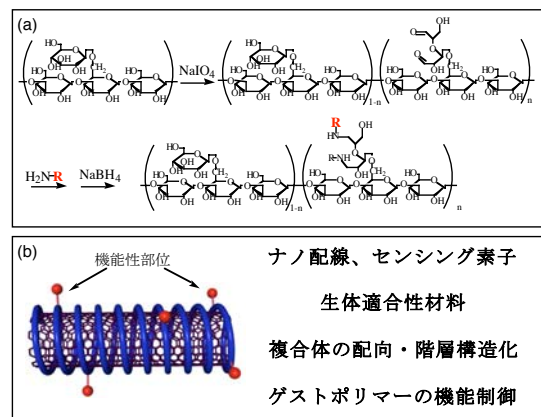


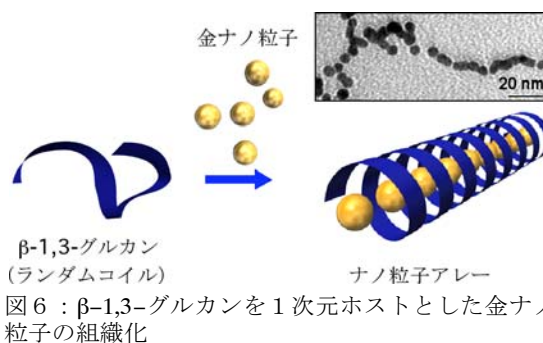
図5：(a) 過ヨウ素酸酸化を利用したシゾフィランへの選択的修飾法、(b) 化学修飾 β -1,3-グルカンを用いたゲストポリマーへの超分子化学的機能付与

【 β -1,3-グルカンを1次元ホストとした無機ナノ粒子の1次元組織化】 [7]

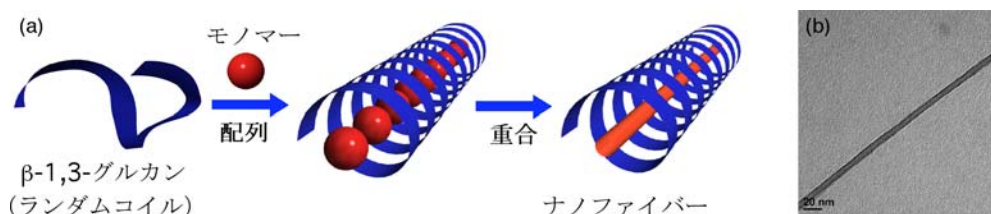
量子ドットや金属ナノ粒子の1次元配列体はメモリーや整流素子として興味を持たれている。近年、これら無機ナノ粒子を簡便に1次元組織化する手法の開発は国内外を問わず活発に行われている。我々は β -1,3-グルカンの1次元ホストとしての機能は無機ナノ粒子の組織化に利用することを考えた。その結果、例えば、直径5ナノメートルの金ナノ粒子水溶液にシゾフィランのDMSO溶液を加えるとRenature過程で金ナノ粒子が疎水空間に取り込まれ、1次元アレーが作成できることを明らかとしている(図6)。 β -1,3-グルカンが本来有する自己組織的ならせん形成能を引き出すことで、一般に困難とされるナノ粒子の1次元組織化が容易に行えることが明らかとなっている。

【1次元ホストから1次元反応場へ】^[8,9]

次に、1次元空間をナノ反応場として利用することを試みた。 β -1,3-グルカンが形成する1次元空間に予め反応性分子を予備組織化し1次元空孔内で重合反応を行うことが出来れば、直径が制御された高分子を得ることができると考えられる。まず、 β -1,3-グルカン空孔内での予備組織化に適したジアセチレン誘導体を合成し、複合体形成を行った後、UV 光照射により重合を開始した。その結果、水溶性のポリジアセチレンが生成する



ことが明らかとなっている。また、同様にアルコキシシランを取り込み1次元空間で縮合反応を進行させると直径が均一なシリカナノファイバーが得られることも明らかとなっている。これらの結果は β -1,3-グルカンが単なる1次元ホストとしてだけでなくモノマーの反応性や反応効率を制御できる1次元重合場として機能する可能性を示唆するものである。



【おわりに】

以上のように構造規則性と自己組織性を持った天然多糖・ β -1,3-グルカンがゲスト分子の形状や大きさ、性質に依存することなく様々な機能性ナノ材料を取り込み1次元ナノコンポジットを与えることを明らかとしてきた。化学修飾 β -1,3-グルカンを用いた1次元ホストとすればコンポジットのさらなる組織化や集積化も可能となるはずである。また、生体適合性の β -1,3-グルカンが様々なナノ材料と生体組織とのインターフェイスとして働けば、毒性や凝集性といった問題から生体内での機能発現が困難であったナノ材料をバイオナノマテリアルに変換することができるであろう。今後、本系がナノテクノロジーだけでなくバイオテクノロジーにおいても重要な役割を果たすことが期待される。

謝辞：本研究は新海征治教授が代表を務める JST SORST プロジェクトの一環であり、直接ご指導頂いた新海先生はじめ、貴重なご助言を賜った北九州市立大学 櫻井和朗先生、上江洲一也先生、大阪市立大学 長崎健先生に心よりお礼申し上げます。また、研究の遂行に協力していただいた九州大学の金子賢治先生、Chun Li 博士、長谷川輝明博士、Ah-Hyun Bae 博士、ならびに新海研究室 SPG グループの学生諸氏に深く感謝致します。

【参考論文】

- [1] K. Sakurai and S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 4520 (2000).
- [2] M. Numata, M. Asai, K. Kaneko, T. Hasegawa, N. Fujita, Y. Kitada, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **33**, 232 (2004).
- [3] M. Numata, M. Asai, K. Kaneko, A.-H. Bae, T. Hasegawa, K. Sakurai, and S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 5875 (2005).
- [4] M. Numata, T. Hasegawa, T. Fujisawa, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Org. Lett.*, **6**, 4447 (2004).
- [5] C. Li, M. Numata, A.-H. Bae, K. Sakurai, and S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 4548 (2005).
- [6] T. Hasegawa, M. Numata, T. Fujisawa, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **2004**, 2150.
- [7] A.-H. Bae, M. Numata, T. Hasegawa, C. Li, K. Kaneko, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **44**, 2030 (2005).
- [8] T. Hasegawa, S. Haraguchi, M. Numata, T. Fujisawa, C. Li, K. Kaneko, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **34**, 40 (2005).
- [9] M. Numata, C. Li, A.-H. Bae, K. Kaneko, K. Sakurai, and S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **2005**, 4655.

抗体を用いた機能性超分子の構築

大阪大学 大学院理学研究科 高分子科学専攻 山口 浩靖

hiroyasu@chem.sci.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

生体系における生命活動は共有結合のような強い結合ではなく弱い分子間相互作用によって特異的に組み立てられる超分子構造の形成により実現している。近年、人工系においても疎水性相互作用、水素結合、配位結合、静電相互作用など様々な分子間相互作用を駆使して小さな分子を集積させる試みが多くなされている。特に環状分子とダンベル型分子とを機械的に組み合わせた構造をもつ化合物「ロタキサン」^[1-3]や化学的には結合していない2個以上の環状化合物が互いに鎖状に連結している化合物「カテナン」(図1)^[4,5]など、物理的に絡み合った分子に多大の関心が寄せられている。これらの超分子は分子素子として興味深い構造を有しており、新規刺激応答材料として期待できる。超分子に高度の機能を付与するには緻密な分子設計を行い、超分子を構成する各ユニットに多くの情報をインプットすることが重要になる。人工系においてこのようなインテリジェント分子を構築することは多くの試行錯誤を必要とするが、生体系はDNAや蛋白質等の生体高分子を用いて難無く種々の機能を発現させている。これら生体高分子を一つのユニットとして人工的に組織化、集積化することができれば本来の機能に新たな機能を付与することが可能になると予想される。

本研究では、人工系ホスト分子よりもより大きく複雑な分子を特異的に認識する「抗体」を超分子構造形成のための材料として注目した。また抗体が結合する抗原分子を工夫することにより、抗体の結合部位を新たな機能性反応場として活用した。本稿では以下の3つのトピックスについて紹介する。

- ・ 抗体の線状超分子形成を利用したバイオセンシング
- ・ 抗体をビルディングブロックとする樹状超分子
- ・ 抗体に遷移金属錯体を導入した新規触媒

2. 抗体の線状超分子形成を利用したバイオセンシング

現在、生体関連物質の検出を目的に酵素、抗体、DNAなどがバイオセンシング素子として利用されている例が多く、酵素センサーはすでに医療計測や食品工業などで実用化されている。しかし、近年様々な合成化合物を検出対象とする必要があり、既存の酵素では適応できない。一方、抗体はありとあらゆるターゲット分子を特異的に検出することを可能にする材料である。抗体を用いた免疫センサーの中でも非標識抗体を用いた表面プラズモン共鳴 (SPR) 免疫センサーは、簡便かつリアルタイムでの検出が可能な迅速方法であり、近年急速に進展した技術である。しかし SPR を検出原理とするバイオセンサーにおいて微量の低分子を検出しようとしても、低分子がセンサーチップ上に固定された抗体と結合したときのシグナル強度は非常に小さい。これはバイオセンサーの応答出力がセンサーチップ表面での密度変化つまり単位面積あたりの重量変化に比例するため、低分子を有意差として検出するにはシグナルを増幅させる必要が有る。本研究では抗体と2価性抗原との超分子形成を利用した低分子検出シグナル増幅法を開発した^[6]。

ここではメチルビオロゲンの検出法を例に述べる。メチルビオロゲンは光化学における電子受容体としてよく用いられている。また除草剤としても用いられていた反面、パーキンソン病をひき起こす物質の一つとしても知られる有害物質である。抗原決定基 **1** を免疫してメチルビオロゲンに対して特異的に結合するモノクローナル抗体を得た。しかしこの抗体を固定したセンサーチップ基板



図1. DNA[2]カテナンの原子間力顕微鏡イメージ

にメチルビオロゲンを添加しても微量のメチルビオロゲンを検出することは困難であった。これは先に述べたようにメチルビオロゲンそのものの分子量が小さいためにバイオセンサーの応答シグナル強度が小さいことに起因する。メチルビオロゲンを特異的にかつ高感度で検出するためには抗体がメチルビオロゲンに結合したことを大きなシグナルとして取り出す必要がある。この問題を克服するシグナル増幅法の一つが抗体と2価性抗原との超分子形成である。抗体を固定したセンサーチップに2価性抗原**2**と抗体を順次

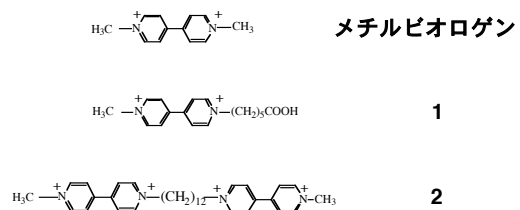
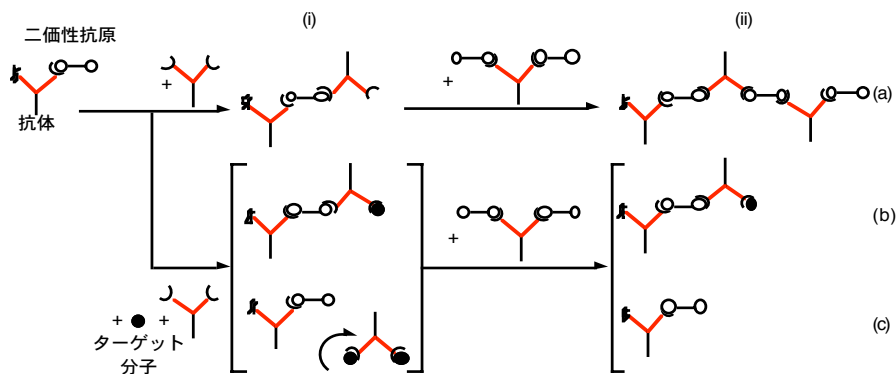


図 2. メチルビオロゲンに対する抗体を作製するために用いた抗原決定基**1**と2価性抗原であるビオロゲン誘導体**2**.

交互に添加すると SPR の応答シグナル強度は抗原-抗体間の会合体の成長とともに増大する。ここで2価性抗原であるビオロゲンダイマー**2**の代わりにメチルビオロゲンを添加すると、センサーチップ上に固定された超分子の末端にある抗体の結合部位にメチルビオロゲンが結合し、ビオロゲンダイマーと抗体の超分子形成が阻害される(スキーム1)^[7]。メチルビオロゲンの分子量257の応答シグナル強度は分子量15万の抗体の結合阻害挙動に置き換わることになる。つまりこのシステムにおいて微量のメチルビオロゲンの存在量は2価性抗原と抗体との超分子形成を阻害した量(完全な超分子形成に基づくシグナル強度からの減少量)としてモニターされる。本システムは低分子を抗体固定基板に添加する単純系に比較して3桁応答感度を増幅できることがわかった^[8]。

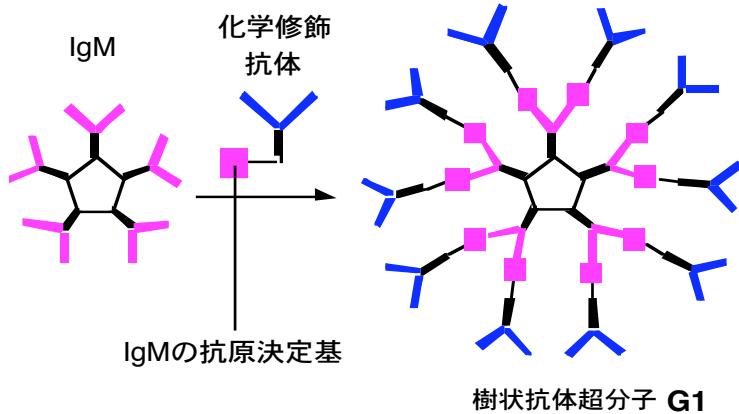


スキーム1 抗体と2価性抗原を用いた低分子高感度検出システム。メチルビオロゲンによる抗体-ビオロゲンダイマー錯体形成阻害と抗体-ビオロゲンダイマー超分子形成。抗体-ビオロゲンダイマー錯体を固定したセンサーチップに抗ビオロゲン抗体とビオロゲン含有サンプルを添加したときの状態(i)と、さらにその後に抗体-ビオロゲンダイマー錯体を添加したとき(ii)。メチルビオロゲン非存在下での抗体-ビオロゲンダイマー超分子錯体形成(a)、およびメチルビオロゲン存在下(b)と(c)。[メチルビオロゲン] < [抗体結合部位]: (b), [メチルビオロゲン] >> [抗体結合部位]: (c)。

3. 抗体をビルディングブロックとする樹状超分子の合成

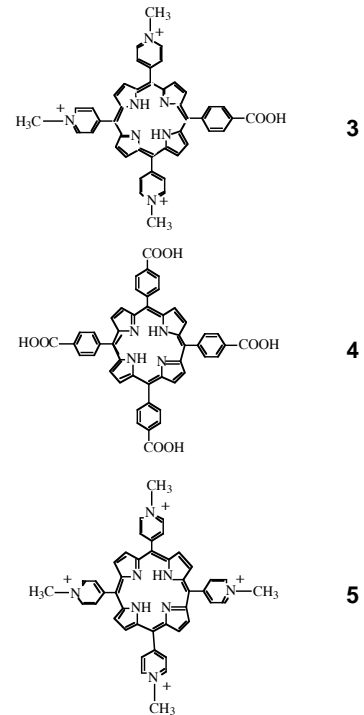
スキーム2に示すようにIgM抗体を核に、化学修飾したIgG抗体を分岐として抗原抗体反応によって抗体を連結した新規樹状超分子を合成した。用いた抗体はカチオン性ポルフィリン(**3**、図3)を免疫して得られた抗体IgMと、アニオン性ポルフィリン(**4**)に結合する抗体IgGである。抗体IgGにはアミンカップリングによりポルフィリン**3**を化学修飾した。IgMと化学修飾IgGを混合して得られた超分子**G1**の構造を原子間力顕微鏡により観察した結果、IgMの直径の2倍の放射状構造体の存在が確認された。IgMそのものの基質特異性は低く、**4**と**5**の両ポルフィリンに結合する。一方IgGは**5**に結合せず、**4**に特異的に結合する。これらIgM、IgGを構成成分とする樹状抗体超分子**G1**は**5**には全く結合せず、**4**にのみ強く結合した。つまり、得られた樹状抗体超分子の基質特異性は極めて高

いことがわかった^[9, 10]。



スキーム 2 樹状抗体超分子 G1 の合成法.

図 3(右図). 抗ポルフィリン抗体 IgM の抗原決定基であるカチオン性ポルフィリン [5-(4-carboxyphenyl)-10, 15, 20-tris-(4-methylpyridyl)] porphine (3), アニオン性ポルフィリン *meso*-tetrakis(4-carboxyphenyl)porphine (4) と 4 置換誘導体 *meso*-tetrakis(4-methylpyridyl) porphine (5).



この巨大な樹状抗体集積構造物の最外殻表面には世代ごとに異なる分子に特異的に結合する抗原結合部位を配置することが可能である。多数の結合部位を超分子表面に配向させることによりウイルス等の多価抗原と強く結合し、高感度で抗原の存在を検知することができるようになる。つまり精密診断・分析試薬としての利用が期待できる。抗体間をつなぐ抗原分子に蛍光分子を用いると高性能蛍光イメージング材料になる。また樹状構造を構成する抗体分子の隙間に薬物を内包させれば薬物徐放やドラッグデリバリーシステム等の機能性材料としての利用も期待できると考えている。

4. 抗体に遷移金属錯体を導入した新規触媒

今までに図 4 のように合成ポルフィリンと基質あるいは電子受容体を同時に認識できる抗体を得ることによって新たな触媒あるいは光機能を発現させることを目的として、抗体-ポルフィリン錯体の基質・電子受容体に対する特異性^[11]、酸化触媒能^[12]

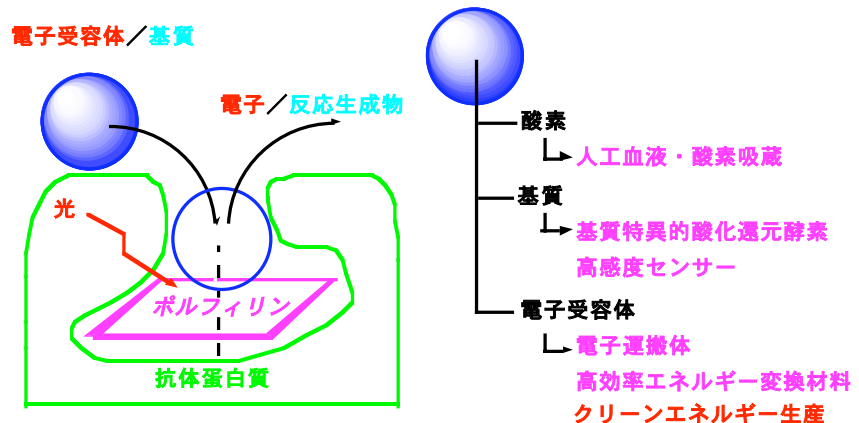


図 4. ポルフィリンと基質あるいは電子受容体を共に取り込む抗体に期待される機能

を検討してきた。特に、生体内に存在しないポルフィリン：カチオン性ポルフィリンに結合する抗体と鉄ポルフィリンとの複合体は酸化酵素の一つ Horseradish Peroxidase (HRP) と類似の触媒活性をもち、さらに高濃度の過酸化水素存在下でもその活性を失わないことがわかった。抗体が結合する人工化合物として生体内には存在しない遷移金属錯体を用いれば、その遷移金属錯体-タンパク質複合体は遷移金属錯体のみでは見られないようなユニークな反応場となると考えた。遷移金属錯体と基質の分子両分子を取り込む鑄型となる分子を設計することにより、高度な反応制御及び立体特異

的触媒反応が可能になると考えられる。本研究ではアキラルなロジウム錯体 **6** (図 5) に対するモノクローナル抗体を作製し、得られたロジウム錯体-抗体複合体が持つ機能を検討した。

一連の細胞工学操作により、ロジウム錯体を特異的に結合する 4 種類のモノクローナル抗体が得られた。これらの抗体は全て IgM であった。アルゴン雰囲気下リン酸バッファー中、抗体 1G8 とロジウム錯体 **6** を混合し、ここにアラニン前駆体である 2-アセトアミドアクリル酸を基質として添加した。この溶液に水素をバブリングし、37°C で 12 時間反応させた後、反応生成物を光学活性カラムを用いた HPLC および GC において分析した。抗体非存在下では *N*-アセチルアラニン *D*-体/*L*-体のラセミ体が

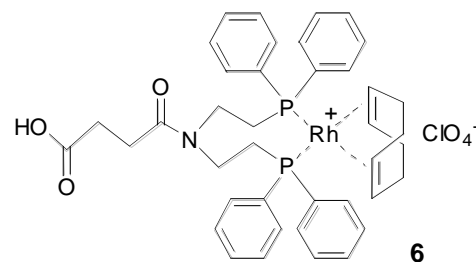


図 5. 抗原決定基として用いたアキラルなロジウム錯体 **6**

得られるのに対して、抗体存在下では *L*-体のみが生成していることがわかった (図 6)。比較として BSA-**6** あるいは他の IgM 抗体とロジウム錯体 **6** との混合溶液を用いて同様の条件下において 2-アセトアミドアクリル酸の水素化反応を行ったところ、これらの反応生成物はすべて *D*-体と *L*-体のラセミ体であった。これらの結果からロジウム錯体 **6** と抗体 1G8 との錯体系におけるエナンチオ選択性はロジウム錯体が本抗体の結合部位に取り込まれることによりはじめて発現されたものであることがわかった。また抗体が結合することによりロジウム錯体の触媒能は向上した。本抗体 1G8 はロジウム錯体と水溶液中において安定な錯体を形成し、基質特異性を有する極めて厳密な不斉水素化触媒となることが明らかになった。

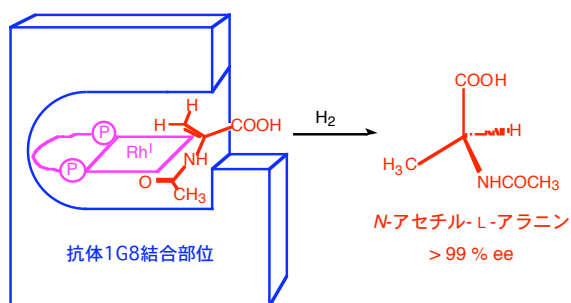


図 6. 抗体 1G8 に結合したロジウム錯体 **6** のエナンチオ選択的不斉水素化反応

5. おわりに

本研究において生体系の優れた機能を人工系に組み込むことにより新規機能発現システムの構築を試みた。自然が秘めた潜在能力を人工系にうまく取り入れてその利点を十分に引き出せれば、本人工低分子-生体高分子複合材料は環境の負荷を軽減できる環境調和材料として活用できるものと考えている。

謝辞 本研究の全般にわたり御指導頂いております大阪大学大学院理学研究科 高分子科学専攻 原田明教授に、この場をお借りし、厚く御礼申し上げます。

- [1] Harada, A. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 456-464.
- [2] Miyauchi, M.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2984-2989.
- [3] Oshikiri, T.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12186-12187.
- [4] Yamaguchi, H.; Harada, A. "Macromolecular Nanostructured Materials" Ed. by Ueyama, N. and Harada, A. Springer Series in Materials Science **2004**, *78*, 258-272.
- [5] 山口浩靖, 原田明 *高分子* **2005**, *54*, 825.
- [6] Yamaguchi, H.; Harada, A. *Chem. Lett.* **2002**, 382-383.
- [7] Yamaguchi, H.; Harada, A. *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 1163-1169.
- [8] 山口浩靖, 原田明 *化学工業* **2004**, *55*, 249-255.
- [9] Harada, A.; Yamaguchi, H.; Tsubouchi, K.; Horita, E. *Chem. Lett.* **2003**, *32*, 18-19.
- [10] Yamaguchi, H.; Harada, A. *Top. Curr. Chem.* **2003**, *228*, 237-258.
- [11] Yamaguchi, H.; Kamachi, M.; Harada, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3829-3831.
- [12] Yamaguchi, H.; Tsubouchi, K.; Kawaguchi, K.; Horita, E.; Harada, A. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 6179-6186.

部会行事

「第20回生体機能関連化学シンポジウム」開催報告

実行委員長：名古屋市立大学 大学院薬学研究科 小田嶋 和徳

第20回生体機能関連化学シンポジウムが9月17日(土)、18日(日)の両日に亘って名古屋市立大学薬学部(田辺通キャンパス)で開催され、盛会のうちに終わりました。今年は幸い台風の影響には遭わず、快晴の天気にも恵まれましたが、愛知万博の観光者の「台風」と重なり、参加者の皆様には宿泊の確保に苦労させてしまいまして申し訳ありませんでした。その一方、シンポジウムでは320名を超える多数の参加者により、生体機能関連化学の研究成果発表および将来の在り方について熱烈な討論が行われ、最後まで大変活発な議論が続いたことに感謝する次第です。今年で第6回目となる生体機能関連化学部会講演賞も、競争率は約3倍でしたが内容的にはかなりの激戦で、今後、若手研究者の登竜門として掛け替えの無い目標となって行くと思われま

す。本シンポジウムは1986年以来、今年で20回目を迎えますが(従来の経緯については講演要旨集を参照)、初期には純人工系による生体モデル研究(biomimetic

chemistry)が主要であったのに対して、10年後にはタンパク質、さらに最近ではDNA、RNAまで対象として、生体分子の人工的改変・機能制御を目指した研究がどんどん増えてきています(biofunctional chemistry)。本シンポジウムは例年、参加者数に対する発表件数の多さが目立っており、今年も210件(口頭発表81件、ポスター発表129件)の発表がありました。また、今回は20周年を機に、国武豊喜先生(北九州市立大学副学長、理化学研究所)に特別講演「Biomimetic ChemistryからBiofunctional Chemistryへ。部会の変遷と思い出」をお願いし、参加者一同には、生体機能関連化学部会の歴史を振り返りながら、将来のいろいろな発展の方向をじっくりと考える機会となりました。

来年の第21回シンポジウムは京都大学の青山安宏先生の主催で行われます。今後も、新しい研究領域の開拓に繋がるような斬新な研究発表、および多数の参加と活発な質疑討論を期待しております。



ポスター会場と懇親会

大変遅くなりましたが、第20回生体機能関連化学シンポジウムの写真集をホームページ上に近々掲載します(<http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/seitai20>)。

第 6 回生体機能関連化学部会講演賞

審査委員長 長野 哲雄
東京大学大学院薬学系研究科

不思議なもので、学術賞は一般に回を重ねる程、競争が激しくなり受賞が難しくなる。本部会の講演賞もその例に漏れず、今回は第6回目を迎えたが、ハイレベルの講演 11 件から厳正な審査の末、4 件が選ばれている。いずれもその差は僅かであり、どの講演者が受賞してもおかしくない内容であった。今回残念ながら受賞を逃した先生には、是非来年度も挑戦するように、審査委員長として強く申し上げておきたい。

念のため、評価項目を以下に示しておく。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、5) 総合評価、それぞれを 5 段階で評価している。応募資格は、部会に加入 1 年以上、受賞時 40 歳以下。

本部会の講演賞に対して外部からの評価も極めて高く、受賞歴はその人の履歴にとって輝かしい評価になる。この機会に部会講演賞の宣伝を周りの先生方にして頂けたら、幸いである。本講演賞選考に当たりご尽力頂いた小田嶋組織委員長、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）

梅津 光央（東北大多元研）

「DNA 自己組織化を利用した次世代水素応答性ナノハイブリッド材料」

山東 信介（京大院工）

「大腸菌リボソームによって重合可能な非天然基質の設計：ペプチド転移反応機構からのアプローチ」

沼田 宗典（科技機構）

「多糖・ベータ 1,3 グルカンを用いた新規ナノコンポジットの創製」

山口 浩靖（阪大院理）

「抗体-ロジウム錯体を用いた不斉水素化反応制御」



講演賞受賞者と青山部会長・長野審査委員長

部会行事

若手の会サマースクール開催報告

広島大学大学院理学研究科 灰野 岳晴
(若手の会 中国四国支部幹事)

第17回(平成17年度)生体機能関連化学部会若手の会サマースクールは中国四国支部が幹事(世話人:灰野岳晴,岩本 啓(広島大学),瀧 真清(岡山大学))となり、宮島グランドホテル有もとにて、8月26、27日(金、土)に1泊2日の日程で行いました。観光地宮島の温泉ホテル施設という事で、リラックスした中、若手参加者を中心に活発な議論が展開できたのではないかと思います。今回のサマースクールでは物理有機化学から天然物有機化学まで幅広い分野の講師の先生方にお越しいただき、2日間の延べ参加者数は79名(講師7名、大学関係19名、学生53名)と盛会のもとにとり行う事ができました。

初日は、招待講演を4件、懇親会、二日目は招待講演を3件という日程で行いました。初日の招待講演では、まず、竹内正之先生(九大院工)に「分子情報処理システム:小分子から超分子集合体まで」というタイトルで、アロステリックな包接挙動を示す有機小分子から超分子を利用した分子情報処理システムへの応用についてお話をいただきました。続いて秋根茂久先生(筑波大化学系)からは、「オリゴオキシム配位子の協同的錯形成に基づく新規な超分子システムの構築」というタイトルでお話を頂きました。salomo配位子を利用した亜鉛複核錯体の生成とそのアロステリックな金属イオン包接能についてお話を伺う事ができました。藤原好恒先生(広大院理)からは「原生動物の泳動に対する強磁場の影響」というタイトルで強磁場のミドリムシやミドリゾウリムシ、ミドリムシの泳動に対する影響や磁場効果全般に関する興味深いお話を伺いました。世良貴史先生(京大院工)からは「人工DNA結合タンパク質を用いた生命現象の操作」のタイトルでご講演をいただきました。人工DNA結合タンパク質の設計と合成、およびそれらを利用した生命機能の操作について最新のお話を分かりやすくしていただきました。その後、懇親会でも非常に盛り上がり、その後各部屋での飲み会へと移りましたが、夜遅くまでそちらの方も盛り上がっていたと伺っております。これらは、ひとえにご参加頂いた講師の先生をはじめとする皆様が、若い学生の方とも紳士にお話頂いたご協力の賜物であると、この場を借りて是非お礼を述べさせて頂きたいと思います。翌日2日目は、上

田 実先生(東北大院理)より「生物現象解明を目指す天然物化学の新潮流-植物の生理現象を例として-」という題目でご講演を頂きました。植物のマメ科植物の就眠運動やハエトリソウの補食運動の制御物質探索や機能との関係について興味深いお話をして頂きました。平岡秀一先生(東京大院理)からは「配位数および配位方向変化を利用した動的金属錯体の開発」のタイトルでお話しをいただきました。金属配位を利用した世界最小の分子ボールベアリングの紹介や、カプセル型分子集合体の合成と動的挙動についてお話しいただきました。最後に、深瀬浩一先生(阪大院理)には「糖鎖合成と糖鎖のケミカルバイオロジー：免疫増強複合糖質における展開」と題してご講演をいただきました。糖鎖合成の最前線とその免疫機構への関わりについて最近の展開についてお話しいただきました。

それでは最後になりましたが、大変貴重な補助金を頂く事で、このような有意義なサマースクールを開催できました事に対し、生体機能関連化学部会、日本化学会事務局の皆様、この場を借りて厚くお礼申し上げます。

部会行事

第 20 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 17 年度若手の会代表幹事 吉岡 資郎

第 20 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラムは、東海支部幹事（岡崎統合バイオ・吉岡資郎、名市大・梅澤直樹）が担当となり、9 月 16 日（金）に岡崎コンファレンスセンターで開催されました。多くの方々の協力を得て、56 名（講師 4 名、一般 25 名、学生 27 名）の方に参加していただきました。場所柄（学生は分子研・岡崎統合バイオをあまり知らない？）かどうかはわかりませんが、例年より学生の参加が少なかったようです。

フォーラムは、講師の先生 4 名による依頼講演 5 件、学生・若手研究者によるポスター発表 32 件、そして懇親会の順で行いました。まず、各講師の先生の発表について簡単にふれたいと思います。最初の依頼講演は、名古屋工業大学工学研究科の水野稔久先生に「会合性蛋白質を用いた構造デザイン」の演題でご講演いただきました。熱安定性の非常に高いイソロイシンジッパーペプチドを基本構造として用いたヘテロトリマーや金属応答性のコイルドコイルのデザインについてお話しいただきました。次に、光を利用したランダム構造→コイルドコイル構造のスイッチング、金属イオン応答性 DNA 結合タンパク質の合成に成功した例、さらに現在取り組んでおられるコイルドコイル依存的な酵素活性制御のデザインについてもお話しいただきました。最初の講演から質疑応答は活発で、予定時間をはるかに超過してしまいました。続いて、岡崎統合バイオサイエンスセンターの藤井浩先生に、「モデル錯体や発現酵素を使った金属酵素機能発現メカニズムの解明とその応用」という演題でご講演いただきました。地球上での窒素サイクルの話から始まり、亜硝酸還元酵素の説明、そしてモデル錯体を用いた亜硝酸還元反応のメカニズムを解明した最新の知見についてお話しいただきました。次に、ヘムオキシゲナーゼと呼ばれるヘムを分解する酵素における酸素活性化機構および基質の酸化サイトを思いのままに変換する方法について説明していただきました。特に、後者は NMR や結晶構造解析を用いた大変説得力のあるお話でした。酵素反応のメカニズムを化学の力で見事に解き明かす仕事に、感銘を受けた皆さんも多かったのではないのでしょうか。さて、生体機能関連化学シンポジウムでは企業の方の参加が少ないということです。それを意識して、3 番目に講演される先生には東洋紡の京基樹先生をお招きし、「生体分子アレイを用いた表面プラズモン (SPR) イメージング法による多点ラベルフリー相互作用解析」の演題でご講演いただきました。京先生は”MultiSPRinter”と呼ばれる装置を開発・市販化に携わられました。講演では、表面プラズモン共鳴の基本から装置の概略、そして装置のアプリケーションの例に至るまで丁寧に説明し

ていただきました。転写因子が結合する DNA 配列の解析、DNA のヘアピン構造形成の観察、さらにはキナーゼ阻害剤の網羅的な解析など、生物学的に有用な領域まで装置を応用されていました。最後の依頼講演は、東京大学先端科学技術研究センターの菅裕明先生にお願いしました。菅先生には、「人工リボザイム：科学的興味と無限の可能性」と「このままで、日本の科学者は切磋琢磨できるのか？」の2件のご講演を続けて行って頂きました。最初のご講演では、RNA ワールドの概念に基づく RNA 機能のうちトランスレーションに着目した研究、つまりアミノ酸と RNA をエステル結合でつなげる（アミノアシル化）tRNA を発見した話をしていただきました。続いて非天然アミノ酸をタンパク質中へ簡単に導入するための” Flexiresin”（アミノアシル tRNA を2時間で合成できる）について説明されました。最後に、先生の著書「切磋琢磨するアメリカの科学者たち」（共立出版）およびフォーラムの3ヶ月前に文科省で話された内容、さらに東大先端研での教育改革の試み（PPP 改革）についても示していただきました。米国の研究システムを参考とし、日本ではどのような研究システムが最も良いのか？そして、切磋琢磨できる研究者となるためには、Presentation（英語での）、Proposal（研究計画書）そして Performance の向上が必要である。会場にいた皆さんは自分なりにいろいろと考えたことと思います。このように、今回のフォーラムでは、ペプチド、リボザイム、モデル錯体、タンパク質、そしてそれらを分析する手法、さらには日本の研究システムまで、幅広い内容を取り扱いました。講師の先生は非常に丁寧にお話してくださいましたので、参加者の皆さんは自分の専門以外であったとしても、良く理解出来たものと思います。質疑・応答も非常に活発に行われ、講演終了の予定時間を大幅に越えてしまいました。

5件の依頼講演の後、32件のポスター発表を行いました。講演に引続きポスター発表の議論も非常に熱く、ポスター発表の途中で開始した懇親会の「乾杯」もまともに行えない程でした。今年度若手の会幹事の皆さんに審査員になって頂き、18名の学生の中から3名のポスター賞を選出しました。その結果、ポスター発表最優秀賞は星野友君（東工大）、優秀賞には野中洋君と穴井孝浩君（いずれも九大院工）の2名が選出されました。賞状とともに図書券を贈呈しました。

このようなフォーラムを開催することは私としても初めての経験でしたが、これまでに参加した他の若手の会と比べても内容・質ともに良いものであったと自負しています。参加者の皆さんにとっても大変有意義な時間を過ごしていただけたものと信じています。このような会にすることができたのは、快く講演を引き受けてくださった4名の講師の先生のお陰であり、この場をお借りして深く感謝致します。さらに、多大な補助金なしではこのような有意義な若手フォーラムは開催出来なかったと思います。生体機能関連化学部会の皆様、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。

お知らせ

第8回生命化学研究会シンポジウム in 富山（2006） テーマ：「個性ある生命化学の展開」

主催：日本化学会生命化学研究会

会期：2006年1月13日（金）

会場：富山大学 黒田講堂（富山市五福3190）

（JR富山駅前から路面電車で15分大学前下車、徒歩3分、正門入りすぐ右手）

富大へのアクセス URL：<http://www.toyama-u.ac.jp/jp/Outline/access/>

プログラム：

「精密分子認識に基づく電気化学活性 DNA プローブの開発」

井上将彦（富山大・薬）

「糖質薄膜を用いた機能材料設計」

三浦佳子（北陸先端大・材料科学）

「ほ乳類細胞の機能を十分に引き出すことをめざした細胞工学的取り組み」

寺田 聡（福井大・工）

「体内時計ペースメーカーニューロンの細胞内Ca²⁺ダイナミックス」

池田真行（富山大・理）

ポスター発表

「光応答性核酸を用いた新規遺伝子操作法の開発」

藤本健造（北陸先端大・材料科学）

「高機能性蛋白質の創製」

小島英理（東工大・生命理工）

「老化やストレスによって生じるタンパク質中のアミノ酸のラセミ化」

藤井紀子（京都大・原子炉実験所）

ポスター発表の募集

申込み〆切：2005年12月9日（金）

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 fbc8@jaist.ac.jp までお送りください。電子メールでの送付が難しい場合は、プリントアウトしたものを郵送ください。講演要旨の提出をもって発表申込みといたします。

* 発表者の方も別途以下の事前参加申込をよろしくお願ひします。

参加費（要旨集およびミキサー代込み）

事前振込は、2005年12月9日（金）まで

参加費 生命化学研究会会員 5,000 円（当日 7,000 円）、非会員 6,000 円（当日 8,000 円）、
学生 2,000 円（当日 3,000 円）

参加費を12月9日（金）までに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ください。研究室で一括して送金された場合は、振込人
および参加者氏名・人数がわかるようにお知らせください。

振込口座：郵便局 00780-1-93686

口座名：生命化学シンポジウム2006 富山

（お振込みは郵便局備え付けの振込用紙をご使用下さい。手数料は70円です。）

シンポジウムポスター発表ならびに参加の問合せ・申込先

〒923-1292 石川県能美市旭台 1-1

北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科 芳坂貴弘

電話：0761-51-1681 FAX：0761-51-1149

電子メール：fbc8@jaist.ac.jp

第8回生命化学研究会シンポジウム in 富山（2006）世話人

篠原寛明（富山大工）hshinoha@eng.toyama-u.ac.jp

芳坂貴弘（北陸先端大材料）hohsaka@jaist.ac.jp

小野 慎（富山大工）shinono@eng.toyama-u.ac.jp

ニュースレター Vol. 20, No. 3 2005年12月8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：依馬 正, 栗原和枝, 増田秀樹