

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. 4 (2013. 2. 7)

目 次

◇ 巻 頭 言	
初心忘るべからず.....	民秋 均 1
◇ 研 究 紹 介	
「ペプチド折り紙」で目指す人工光合成.....	石田 斉 3
細胞質における Ca ²⁺ ダイナミクスを可視化する赤色蛍光プローブの開発	江川 堯寛 7
核酸の高次構造が翻訳伸長反応をコントロールしているか.....	遠藤 玉樹 11
金属錯体型人工 DNA を用いた超分子構造の構築.....	竹澤 悠典 15
◇ 部 会 行 事	
「ISBC2012」開催報告とお礼.....	19
「ISBC2012 ポスター賞」講評.....	20
◇ お 知 ら せ	
日本化学会第 93 春季年会 (2013) 開催案内.....	21

巻頭言

初心忘るべからず

立命館大学大学院 生命科学研究科 民秋 均

春は年会（日本化学会春季年会）を、秋はシンポジウム（バイオ関連化学シンポジウム）を楽しみにしておられる方も多いと思います。今春の年会の開催校として、皆さんのお越しをお待ちしておりますと共に、滋賀県では初めての開催のために、至らない点も多数あると思いますが、大きな心で見えて楽しんで頂ければ幸いです。開催校の後期成績発表・指導（3／25～）と入学式（4／1）の準備のために、例年より時期が早まってしまい、各校の卒業式とかなり重なっていることと思いますが、日程に関してはまず御容赦願えればと思っております。

秋のシンポジウムが突っ込んだ議論の多い、どちらかというとシニアな方の研究発表の場所であるのに対して、春の年会は若い学生さんを中心とした初々しい発表も多く、教育の場としての性格を持っているところも多いと思っています（勿論、企画ものや受賞講演などのじっくり聴ける発表も多いのですが、、、）。私も、約30年ほど前に初めての学会発表を行ったのは、春の年会でした。一年間の研究成果を、方眼紙上にロットリングペンと型を使って手書きでまとめてから、ブルースライドにしての発表でした。パソコンを使ってすぐに修正するわけには行かないので、白塗での修正も技術を要したのものでした。ある程度の時間的な余裕をもって準備しておかなければならなく、今のように直前まで修正するというようなことはなく、練習を重ねて当日の発表を迎えたものでした。緊張しながらの口頭発表は、先輩方の暖かい目で見て頂いた結果、何とか終わることが出来て、ほっとしたことを今も覚えております。

このように最初の頃は緊張の連続でしたが、それから発表を重ねて場数を踏むうちにだんだんと慣れてきて、最近では聴衆の反応を楽しむようになってきました。しかし、春の年会での若い人の発表を聴くときに、謙虚な気持ちを忘れずに発表を行うことの大切さを思い知らされることも多いものです。学部学生（四回生）の発表指導を行いながら、私にとっては何十回目かの指導であっても、本人にとって初めての発表であり、緊張感を楽しんで欲しいといつもエールを送っています。あのときの私もそうであったように、「初心忘るべからず」です。

年会会場の立命館大学びわこくさつキャンパスは、琵琶湖が見える小高い丘の上の広大なほぼフラットなところにあるのですが、郊外型キャンパスのためにアクセスにやや難があります。最寄りのJR南草津駅からバスでのピストン輸送を行います。日本の大動脈である国道一号線を平面交差で渡らなければならない（新幹線はくぐり、名神高速はまたぎますが、、）、朝にお越しいただく際はともかく、夕方のお帰りの際には渋滞が予想されます。十分時間的な余裕をもって行動して頂くことをお勧めします（旅程にも余裕をもって！）。帰り際には、お天気さえよければ、歩いて駅まで下って行ってもいいかもしれません。健脚な方なら30分強のいい運動になります（お越しの際には上りになりますので、お勧めしません）。

大阪方面からJRでお越しの方も多いかと思いますが、一つだけ御注意を。南草津駅は琵琶湖線（東海道線の京都から米原区間の愛称）上の新快速電車も停車する駅なのですが、大阪方面からの新快速の中には、湖西線に向かうものもあります。山科駅で湖西線と琵琶湖線に別れるので、事前に車内放送があるのですが、全く同じ車両なので気づかぬままに乗り過ぎてしまう方が少なからずいらっしゃいます。トンネルを抜けて、琵琶湖が進行方向に向かって右手に見えたらアウトです。急いで京都方面にお戻りいただき、山科から琵琶湖線にお乗換えください。同じ敦賀行きというのに、琵琶湖線回りと湖西線回りがあるというのも、ややこしさに拍車を掛けています。皆さんがお乗り間違えなく、無事お越し頂けるのを丘の上よりお待ちしております。

研究紹介

「ペプチド折り紙」で目指す人工光合成

北里大学大学院 理学研究科・JST さきがけ 石田 齊

1. はじめに

生体機能関連化学ニュースレター研究紹介執筆の機会をいただき、私が現在、さきがけ研究として取り組んでいる「人工光合成」を目指した研究について書かせていただこうと思う。人工光合成は近年、太陽エネルギー変換として注目されている技術であるが、^[1] 故 田伏岩夫先生の著作にも多く見られるように、生体機能関連化学部会 創始期には重要な研究テーマの一つであった。^[2] 私がこれまでどのようにこのテーマに関わってきたかなどの経緯は、最近、生命化学研究レターに「人工光合成の大挑戦： episode」と題して書かせていただいたので、併せて読んでいただければ幸いである。^[3]

人工光合成の定義は曖昧であり、研究者によってそのアプローチは大きく異なっている。私はルテニウム錯体を用いた研究に長く携わっており、これを利用した人工光合成構築を目指している。ルテニウムは生体が利用していない金属であり、生体機能関連化学部会の皆さんには馴染みが薄いと思われるので、これを用いる理由から話を始めたいと思う。

2. なぜルテニウム錯体なのか？

ルテニウム(⁴⁴Ru)は周期表では鉄の下に位置しており、ビピリジンなどのπ系配位子とトリス錯体を形成することにより赤色を呈する(図1)。このことは金属中心からビピリジンπ*軌道への電子遷移(Metal-to-Ligand Charge Transfer (MLCT))に帰属されている。この吸収励起により生じた励起一重項状態の寿命は数百フェムト秒程度と極めて短く、量子収率ほぼ1で項間交差により励起三重項状態を生じることが知られている。この励起三重項状態からは室温リン光発光が観測され、その励起状態寿命は数百ナノ秒から一マイクロ秒程度と比較的長い。このルテニウムトリス(ビピリジン)錯体の励起状態はエネルギー移動を起こすことも知られているが、酸化状態のルテニウム(III)にビピリジンアニオンラジカルが配位したような電子状態である

ことから、酸化力も還元力も高くなっており電子移動反応も起こしやすい。そのため光電子移動を行う光増感剤として、光触媒系の構築に利用されており、配位子を変えることでπ*軌道のレベルを調整することができ、吸収・発光波長、励起状態寿命、酸化還元電位などを制御することが可能ことから、多くの誘導体が合成されている。

鉄(II)トリス(ビピリジン)錯体もルテニウム錯体と同様に着色し、MLCT吸収帯が観測されるが、鉄錯体の場合はルテニウム錯体のようにリン光発光は観測されない。これは³MLCT状態の下に位置する³d-d励起状態を経由する失活が起こるため、ルテニウム錯体では³d-d励起状態は³MLCT状態

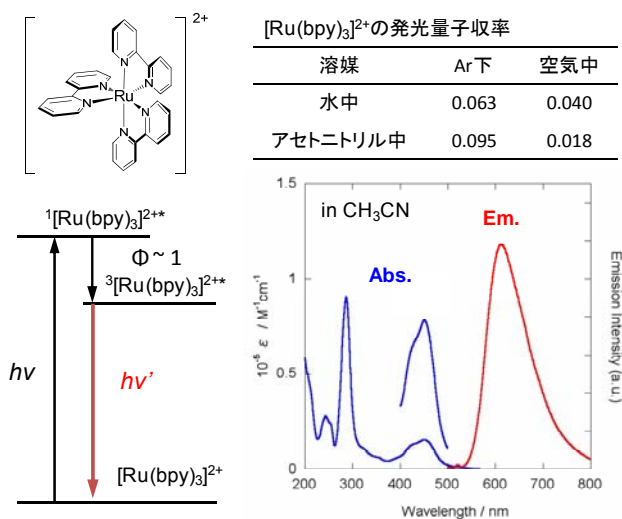


図1. [Ru(bpy)₃]²⁺ のアセトニトリル中における吸収・発光スペクトル。

より高エネルギー側にあるため、温度を高くするにしたがい発光寿命は短くなることが知られている。また鉄トリス(ビピリジン)錯体は溶液中、鉄イオンとビピリジン配位子を混合するだけで容易に生成するが、置換活性なため溶液中、配位子は解離、配位を繰り返している。それに対し、ルテニウム錯体は置換不活性で、一般的に合成には加熱条件が必要であるが、得られた錯体は溶液中でもその構造を保持しており、クロマトグラフィーなどの精製を行うことが出来る。

ルテニウム(II)トリス(ビピリジン)錯体は広く用いられているだけでなく、安定性や利用のしやすさ、吸収発光波長領域が適しているなどの理由で、発光量子収率測定のための基準物質として使われてきた。特にバイオ系プローブの細胞内での発光量子収率を決めるために、しばしば水中、空気下での発光量子収率 0.028 が基準値として用いられてきた。^[4] しかし近年、長波長側の発光スペクトルならびに発光量子収率測定の問題点が指摘されたことから、我々はルテニウム(II)トリス(ビピリジン)錯体の発光量子収率を再検討し、水中、空気下において0.040 という値を報告した。^[5] これまでの値との差は小さいが、基準として用いる影響は大きく、IUPACでも近年、活発に議論がなされている。^[6]

ルテニウム錯体は様々な反応を触媒する。私はルテニウム-ビピリジン系錯体を触媒とする二酸化炭素還元反応を調べてきたが、^[7] この場合はビピリジン配位子が電子リザーバーとなり酸化還元反応を上手く触媒している。

3. ペプチド折り紙で創る二酸化炭素還元触媒

ペプチド折り紙とは、金属に配位可能な官能基をもつ非天然アミノ酸を組み込んだペプチドが、金属錯体を形成することによって折り畳み、人工的な高次構造をとることで機能を発現させることを目的としたペプチドの分子設計に対して名付けられており、その命名の経緯はepisodeに書いた。^[3] 私は、2,2'-ビピリジンの5,5'位にアミノ基とカルボキシル基を有する5'-アミノ-2,2'-ビピリジン-5-カルボン酸(5Bpy)を非天然アミノ酸として用い、機能性金属-ペプチド錯体の分子設計を行ってきたが、^[8] ここではさががけ研究で取り組んでいる二酸化炭素還元触媒の開発について述べる。

ルテニウム(II)(ビピリジン)(ダイカルボニル)(ダイクロライド)錯体は、私が初めて電気化学的二酸化炭素還元触媒となることを報告し、^[7c] その後、活発に研究が進められた金属錯体であるが、光化学的二酸化炭素還元反応の触媒に用いた報告は少なく、トリエタノールアミンを電子源とした光触媒反応系ではその活性は必ずしも高くなかった。^[9] 我々の最近の研究では、ルテニウムトリス(ビピリジン)錯体を光増感剤、NADHモデル化合物である1-ベンジル-1,4-ジヒドロニコチンアミド(BNAH)を電子源とした場合、*N,N*-ジメチルアセトアミド(DMA)/水(9:1)溶液中、光照射($\lambda > 400$ nm)下、BNAHが一電子還元体として作用し、非常に効率よく二酸化炭素の二電子還元に基づく一酸化炭素やギ酸の生成が観測されること、水の還元による水素発生が抑えられ選択的に二酸化炭素還元が進行していることなどが明らかとなった。ここで、ビピリジン配位子を非天然アミノ酸アミド誘導体Ac-5Bpy-NHMeに置換した錯体 *trans*(Cl)-Ru(Ac-5Bpy-NHMe)(CO)₂Cl₂を用いても反応は効率よく進行し、触媒活性の指標となる触媒サイクルを何回転したかを表すターンオーバー数(TON)は、二酸化炭素還元に対して3000に達することが明らかとなった(図2)。

ところで、Ac-5Bpy-NHMeのような非対称二座配位子は、金属錯体形成時に立体異性体を生じる。Ru(Ac-5Bpy-NHMe)-

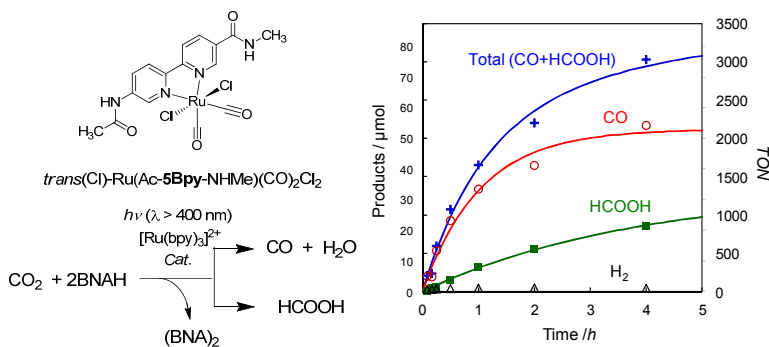


図2. *trans*(Cl)-Ru(Ac-5Bpy-NHMe)(CO)₂Cl₂ 錯体を触媒とする光化学的CO₂還元反応。

(CO)₂Cl₂にもいくつかの異性体が考えられるが、*trans*(Cl)体は1種類の立体異性体しか存在せず、*cis*(Cl)、*cis*(CO)体には非対称ビピリジンの配向の違いによる2種類の異性体が存在する。我々は最近、*trans*(Cl)体が触媒量の還元剤の作用により*cis*(Cl)、*cis*(CO)体へと選択的に異性化し、この反応が連鎖反応により進行することを見出した。^[10] このことは同ルテニウム錯体の立体選択的合成に利用可能であると考えている。

Ru(bpy)(CO)₂Cl₂型錯体は還元条件下、Ru(0)-Ru(0)結合を有するルテニウムポリマーを生成し、このポリマーが電気化学的二酸化炭素還元触媒となることが知られている。このことから、図3に示すような2残基のビピリジン型非天然アミノ酸を導入したペプチドを配位子とする*trans*(Cl)-Ru(bpy)(CO)₂Cl₂型二核錯体は、二酸化炭素還元条件下

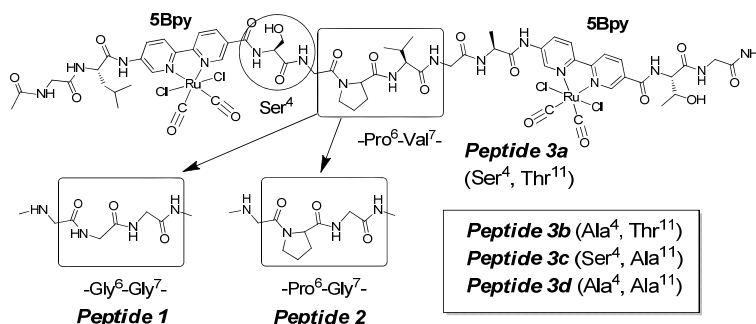


図 3. *trans*(Cl)-Ru(bpy)(CO)₂Cl₂ 型二核ペプチド錯体を触媒とする光化学的 CO₂ 還元反応.

ではRu(0)-Ru(0)結合を生成することで折り畳まれることが期待される。そこで二残基の5Bpyを接続するリンカー部分の配列がフレキシブルな-Gly-Gly-Gly-Gly- (*Peptide 1*)、Type II turn構造を有する-Gly-Pro-Gly-Gly- (*Peptide 2*)、Type VIII turn構造を有する-Gly-Pro-Val-Gly- (*Peptide 3*)の3種類を用い、水素結合性アミノ酸残基として4残基目にセリン(Ser)、11残基目にトレオニン(Thr)を導入したペプチドを合成した。これらのペプチドと[Ru(CO)₂Cl₂]_nを反応させることにより、目的のルテニウム二核錯体を得、BNAHを電子源とする光化学的二酸化炭素還元反応を評価した。いずれの錯体においても触媒的な一酸化炭素およびギ酸生成が観測されたが、3種類のペプチドの中では、*Peptide 3*の活性が高く、リンカーペプチドのターン構造の違いが活性に影響を及ぼすことが示唆された。また、*Peptide 3*においてSer⁴ または Thr¹¹をAlaに置換したペプチドを合成し、その触媒活性を調べたところ、Thr¹¹をAlaに置換したペプチドは活性が低下したことから、触媒活性にThr¹¹が影響していることが示された。このような活性の違いは、触媒活性部位近傍に存在する水素結合性アミノ酸側鎖の作用により、二酸化炭素還元反応に伴う Proton Coupled Electron Transfer (PCET) が効率化されたことによるものと考えられる。このことから、ルテニウム-ペプチド錯体の二酸化炭素還元活性とペプチド構造との相関を検討することによって、高効率な二酸化炭素還元触媒が得られることが期待される。

4. ペプチドを利用した電荷分離型金属錯体：電子移動の方向制御

人工光合成の一つの形として、水の酸化触媒系と二酸化炭素還元触媒系を光増感部位で接続し、水から奪った電子を用いて二酸化炭素を還元する光触媒系が挙げられる(図4)。^[11] このようなシステムを構築するため

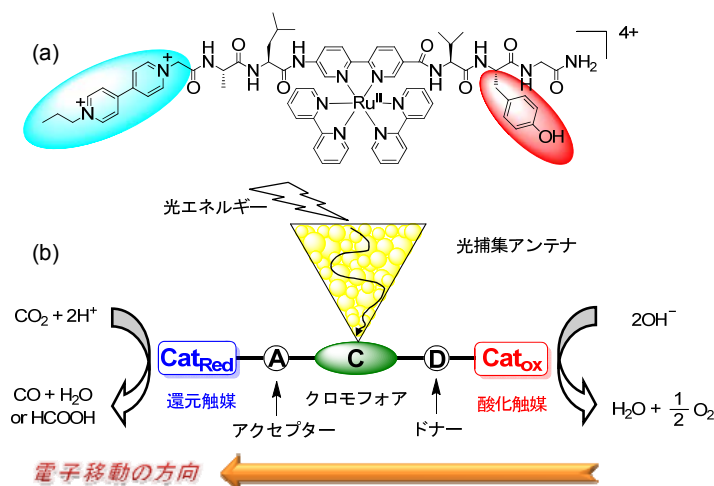


図 4. (a) ペプチド鎖を用いて電子移動の方向を制御した電荷分離型ルテニウム錯体の分子設計と、(b) 人工光合成の模式図.

には、光増感部位に2つの異なる系を接続するとともに、電子移動の方向を制御する必要があるが、このような合成は必ずしも容易ではない。一方、ペプチドには方向があり、様々な異なるユニットを望む順に配列することが可能である。そこでピピリジン型非天然アミノ酸 **5Bpy**を利用して、電子ドナーとしてチロシン残基、電子アクセプターとしてビオローゲンを接続したルテニウムトリス（ピピリジン）型錯体を合成した。^[12] 研究当初は、電荷分離状態がうまく観測できなかったが、現在はルテニウム錯体励起状態からビオローゲンへの速い電子移動の後、チロシンからの電子移動による電荷分離状態が観測されており、この分子設計法は人工光合成系構築に利用可能であると期待される。

5. おわりに

ペプチド折り紙と名付けられた金属配位性非天然アミノ酸を利用する分子設計には、ペプチド高次構造制御による機能性ペプチドの分子設計という側面と、金属錯体に様々な官能基を自在に導入することによる機能性金属錯体の分子設計という二つの側面をもっている。ここでは、このような手法を用いた二酸化炭素還元触媒の開発や、電子移動の方向を制御した電荷分離型金属錯体の設計など、人工光合成を実現するための取り組みについて紹介した。しかし、読者の中にはこの手法を用いた細胞内プローブや医薬品開発の可能性について興味をもたれる方もおられるだろう。このような可能性については別に書かせていただく機会があったので、読んでいただければ幸いである。^[13]

最後になりましたが、ここでご紹介した研究だけでなく、これまでの私の研究を支えてくださった方々、とくに現在、さきがけ研究「光エネルギーと物質変換」でご支援いただいている領域の先生方、共に研究に取り組んでもらっている特任助教 倉持悠輔博士に深く感謝します。

参考文献

- [1] 日本化学会 編, 「人工光合成と有機系太陽電池」, 化学同人, **2010**.
- [2] 田伏岩夫, 松尾 拓, 「明日のエネルギーと化学—人工光合成」(化学増刊), 化学同人, **1979**.
- [3] 石田 斉, *生命化学研究レター* **2013**, *41*, 14-20.
- [4] K. Nakamaru, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1982**, *55*, 2697-2705.
- [5] a) K. Suzuki, A. Kobayashi, S. Kaneko, K. Takehira, T. Yoshihara, H. Ishida, Y. Shiina, S. Oishi, S. Tobita, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 9850-9860; b) H. Ishida, S. Tobita, Y. Hasegawa, R. Katoh, K. Nozaki, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2449-2458.
- [6] 石田 斉, *光化学協会誌「光化学」* **2012**, *43*, 142-151.
- [7] a) H. Ishida, K. Tanaka, T. Tanaka, *Organometallics* **1987**, *6*, 181-186; b) H. Ishida, H. Tanaka, K. Tanaka, T. Tanaka, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 131-132; c) H. Ishida, K. Fujiki, T. Ohba, K. Ohkubo, K. Tanaka, T. Terada, T. Tanaka, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1990**, 2155-2160; d) H. Ishida, T. Terada, K. Tanaka, T. Tanaka, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 905-911.
- [8] a) G. Rama, A. Arda, J.-D. Marechal, I. Gamba, H. Ishida, J. Jimenez-Barbero, M. E. Vazquez, L. M. Vazquez, *Chem.-Eur. J.* **2012**, *18*, 7030-7035; b) H. Ishida, Y. Maruyama, M. Kyakuno, Y. Kodera, T. Maeda, S. Oishi, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1567-1570; c) M. Kyakuno, S. Oishi, H. Ishida, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 3756-3765; d) H. Ishida, M. Kyakuno, S. Oishi, *Biopolymers* **2004**, *76*, 69-82; e) H. Ishida, Y. Inoue, *Biopolymers* **2001**, *55*, 469-478.
- [9] J. M. Lehn, R. Ziessel, *J. Organomet. Chem.* **1990**, *382*, 157-173.
- [10] Y. Kuramochi, Y. Ito, H. Ishida, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *2012*, 1167-1170.
- [11] J. H. Alstrum-Acevedo, M. K. Brennaman, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 6802-6827.
- [12] Y. Shiina, S. Oishi, H. Ishida, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1249-1252.
- [13] 石田 斉, 「ペプチド折り紙: 金属医薬品への可能性」、*遺伝子医学 MOOK21 号「最新ペプチド合成技術とその創薬研究への応用」* (木曾良明 編), メディカル ドウ, **2012**, 199-204.

研究紹介（ポスター賞受賞）

細胞質における Ca^{2+} ダイナミクスを可視化する赤色蛍光プローブの開発

東京大学大学院 薬学系研究科 江川 堯寛

1. 背景

カルシウムイオン (Ca^{2+}) 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、細胞内 Ca^{2+} 濃度変動は様々な生体応答を惹起している^{1,2}。その挙動の解析には蛍光プローブを用いたイメージングが大きく貢献しており、現在までに多くの生命現象を解明してきた。特に、 Ca^{2+} プローブのアセトキシメチルエステル体 (AM 体) は、培地に溶解して数十分間細胞を培養するだけで多くの細胞へのロードが可能であるため、様々な実験に汎用されている。これまで Ca^{2+} イメージングには、特に Fura-2、Fluo-3、Oregon Green 488 BAPTA-1 などの緑色蛍光波長を有する Ca^{2+} プローブが広く用いられてきた³。それは、これらプローブが高い蛍光量子収率や細胞内に一様に拡散することなど、生細胞イメージングに適した特性を有しているためである。一方で他の波長域に蛍光を有する Ca^{2+} プローブは、蛍光量子収率が小さいこと、AM 体を用いたロードを行うとプローブが細胞内小器官へ局在することなどの好ましくない特性を有するために応用は限定される。例えば Rhod-2 は赤色蛍光を有する代表的な Ca^{2+} プローブであるが、ミトコンドリアに局在する特性を有する。

2. 本研究の目的・戦略

本研究における目的は、幅広い応用が可能な赤色蛍光 Ca^{2+} プローブの開発である。これは、主に Ca^{2+} が関与する生理現象の解析に、幅広いマルチカラーイメージングの適用を可能とすることが狙いである。マルチカラーイメージングは、波長の異なる複数の蛍光色素または蛍光タンパク質を用いて、一つの系から複数の蛍光シグナルを同時に観察する手法である。 Ca^{2+} はセカンドメッセンジャーとして様々な生命現象において極めて重要な働きをしているため、マルチカラーイメージングにより特定の細胞の標識、あるいは他の生体分子の挙動追跡を行うと同時に Ca^{2+} イメージングを行うことで様々な重要な情報を得ることができる。新規赤色 Ca^{2+} プローブを開発するにあたり、応用性の高い Ca^{2+} プローブの条件として以下の 2 つの特性を有することが特に重要であると考えた。それは高い蛍光量子収率を有すること、および AM 体を用いてプローブをロードした際にプローブが特定の細胞内小器官に局在しないことである。そこで、これら特性を有した赤色蛍光 Ca^{2+} プローブの分子設計を行った。

Fluo-3、Fluo-4、Calcium Green-1、Oregon Green 488 BAPTA-1 などの優れた特性を有する Ca^{2+} プローブの蛍光団母核にはフルオレセインが用いられている。フルオレセインは、高い蛍光量子収率、高い水溶性など、バイオイメージングに適した特性を有する緑色蛍光色素である。本研究では、フルオレセインの優れた特性を保存したまま赤色蛍光を有する新たな色素を開発し、それを蛍光団母核として Ca^{2+} プローブの開発を行う。

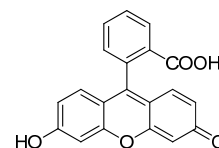


図 1 フルオレセインの構造式

3. 新規赤色蛍光色素 TokyoMagenta 類の開発⁵

長波長蛍光を有するフルオレセイン類似色素を、フルオレセインのキサンテン環 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、ローダミンのキサンテン環 10 位の酸素原子を SiMe_2 に置換することで、キサンテン環上の π^* 軌道および、 Si-Me 結合の σ^* 軌道が相互作用をし、LUMO が安定化することが報告されている⁴。この長波長化戦略がフルオレセインにも適用可能であると考え、10 位 Si 置換フルオレセイン類 TokyoMagenta (TM) の分子設計、開発を行った (図 2a,b)。

TM は水溶液中で赤色蛍光を有し、その吸収、蛍光スペクトルは狙い通り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 2c,d)。以降、新規赤色蛍光色素 TM を用いて、新たな Ca^{2+} プローブの開発を行う。

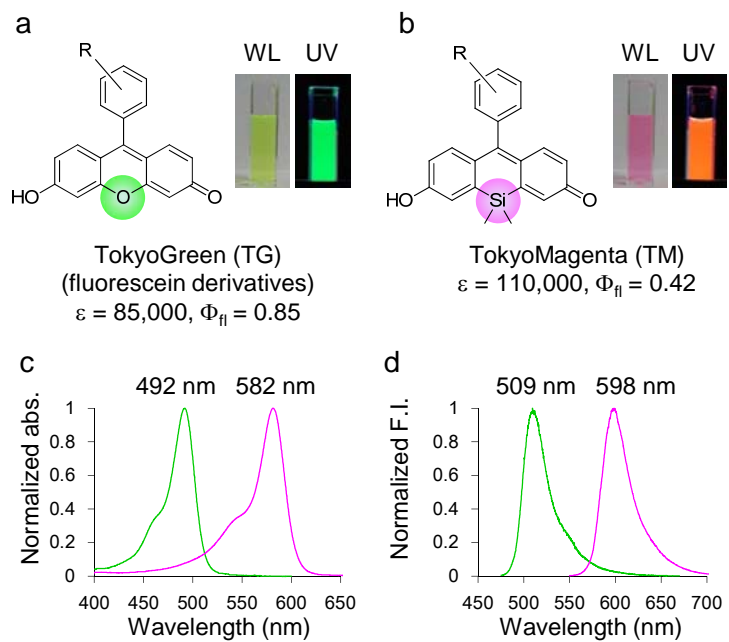


図2 (a,b) TokyoGreen (a)、および TokyoMagenta (b) の構造、モル吸光係数 (ϵ)、蛍光量子収率 (Φ_{fl}) (ϵ 、 Φ_{fl} は、共に R = 2-Me 体を用いて測定)。写真は白色蛍光灯(WL) または紫外線 (UV, 365 nm) 照射下で撮影。(c,d) 2-Me TG (緑)、および 2-Me TM (赤) のリン酸ナトリウムバッファー (pH 9) 中での吸収 (c)、蛍光 (d) スペクトル。

4. 赤色蛍光 Ca^{2+} 蛍光プローブの開発⁶

次に、TM を用いて赤色蛍光 Ca^{2+} プローブの開発を試みた。 Ca^{2+} 選択性の高いキレーターである BAPTA 構造と蛍光団 TM を用いて、新規赤色蛍光 Ca^{2+} プローブ CaTM-1 を開発した (図 3a)。CaTM-1 は Ca^{2+} 濃度依存的な蛍光強度変化を示し、高濃度 Ca^{2+} 存在下での蛍光量子収率が 0.37 と強い蛍光を示したが、蛍光量子収率変化が 5.6 倍 (高濃度 Ca^{2+} 存在下 / Ca^{2+} 非存在下) と小さな値であった (図 3b)。これは、 Ca^{2+} 非存在下における光誘起電子移動 (Photoinduced electron Transfer, PeT) による蛍光の消

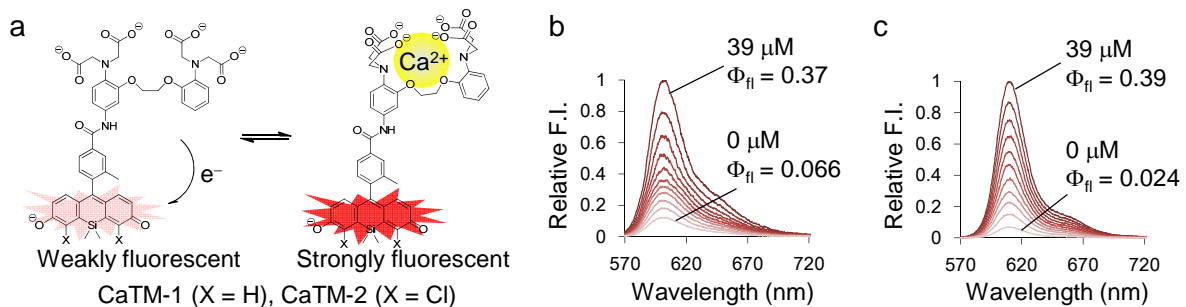


図3 (a) 新規赤色カルシウムプローブ CaTM-1 および CaTM-2 の分子構造と、 Ca^{2+} が配位することによる蛍光強度変化の模式図。(b,c) CaTM-1 (b) および CaTM-2 (c) の Ca^{2+} 濃度依存的な蛍光スペクトル変化。励起波長は 550 nm。

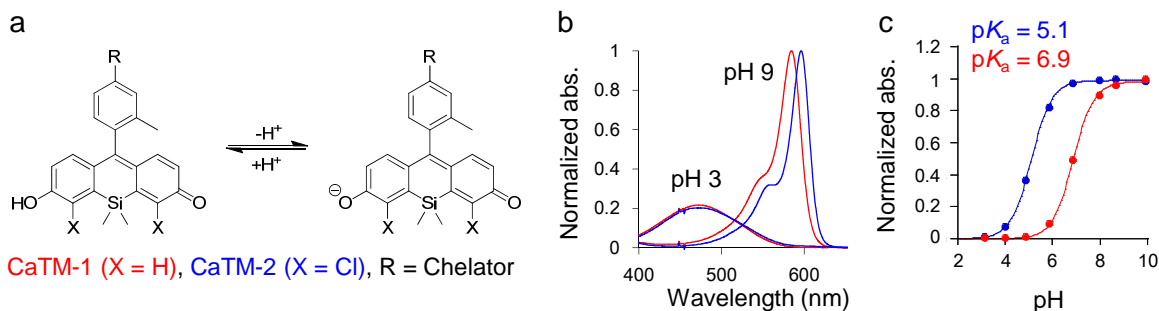


図4 (a) CaTM-1 および CaTM-2 の pH 依存的なアニオンフォーム、ニュートラルフォームの平衡。(b) CaTM-1 (赤) および CaTM-2 (青) のアニオンフォーム (pH 9) およびニュートラルフォーム (pH 3) の吸収スペクトル。(c) 様々な pH の緩衝液中で、それぞれのアニオンフォームの最大吸収波長 (CaTM-1: 585 nm, CaTM-2: 597 nm) の吸光度をプロットしたもの。

光が不十分であることに起因すると考えられる。

そこで、蛍光団の HOMO エネルギーレベルを低下させることで PeT の効率を上げ、それにより蛍光強度変化を改善することを試みた。具体的には、蛍光団 TM に Cl を導入した蛍光団、dichloro TokyoMagenta (DCTM) を蛍光団として採用した。DCTM の HOMO エネルギーレベルは TM のそれに比べ低いと分子軌道計算によって推定されている。CaTM-1 と同様の分子設計で、DCTM を蛍光プローブ母核とした Ca^{2+} プローブ、CaTM-2 を開発した (図 3a)。CaTM-2 の高濃度 Ca^{2+} 存在下での蛍光量子収率は 0.39 と大きな値を示した一方で、 Ca^{2+} 非存在下での蛍光量子収率は 0.024 と CaTM-1 の 0.066 よりも小さく、それにより蛍光量子収率変化は 16 倍と大きく改善された (図 3c)。

さらに Cl を蛍光団に導入することの利点ももう一つある。TM には pH 依存性があり、アニオンフォームに比べニュートラルフォームでは吸収波長が大きくブルーシフトする特性があり、これは CaTM-1 においても保存されている (図 4a-c)。この特性により、塩基性条件下に比べ生理的条件下 (pH~7.4) ではシグナル強度は小さくなる。一方、DCTM を母核としている CaTM-2 の pK_a は CaTM-1 の pK_a に比べ大きく酸性側にシフトしており、これにより生理的条件下でより大きなシグナル強度を示す (図 4a-c)。今後は CaTM-2 の有用性に焦点を絞ってついて検証する。

5. 生物学研究への応用⁶

CaTM-2 を培養細胞に応用した。細胞膜透過性体 CaTM-2 AM を HeLa 細胞にロードすると細胞質

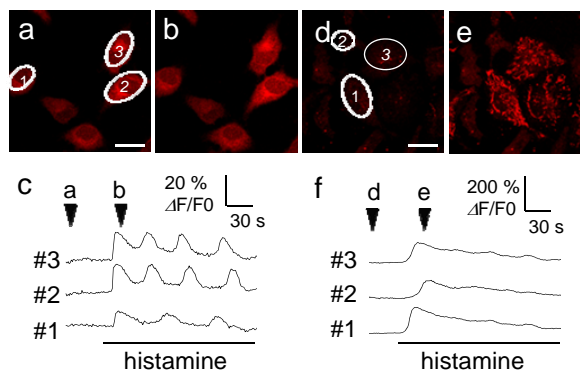


図5 (a-c) CaTM-2 AM を HeLa 細胞にロードし、ヒスタミン刺激を行った時の蛍光像 (a, b)、および蛍光の時間変化 (c)。(d-f) Rhod-2 AM を用いて同様の実験を行った結果。

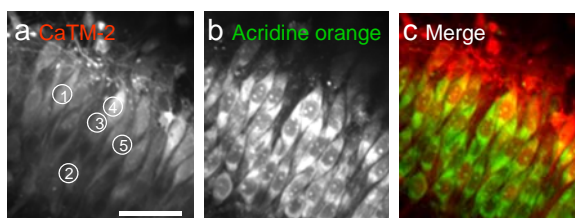


図6 CaTM-2 AM を用いたラット脳切片中の神経細胞の自然発火の観察。(a-c) CaTM-2 (a)、細胞を同定するために用いた Acridine orange の蛍光像 (b)、および Merge (c)。(d) CaTM-2 の蛍光変化。

全体から CaTM-2 由来と考えられる蛍光が観察された。CaTM-2 AM が実際に細胞膜を透過し、細胞内エステラーゼにより切断され CaTM-2 となり Ca²⁺センサーとして機能するかを確かめるため、ヒスタミン刺激による Ca²⁺濃度上昇のイメージングを行った。CaTM-2 AM をロードした HeLa 細胞にヒスタミン刺激を行うと、細胞内 Ca²⁺濃度変動を蛍光強度変化として観察することが可能であった (図 5a-c)。

一方で、ミトコンドリアに局在することが知られている既存の赤色蛍光 Ca²⁺プローブ Rhod-2 AM を用いて同様の実験を行った。予想に反して刺激を加えていない状態では目立った局在は観察されなかったが、ヒスタミン刺激を加えると既存の報告と同様にミトコンドリアからのシグナルが主に観察された (図 5d-e)。

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 Ca²⁺濃度変動として捉えることに成功した (図 6)。

6. 総括

本研究では赤色蛍光色素 TM を分子設計、開発し、TM を母核として高い蛍光量子収率を有し、細胞質に一樣に拡散する赤色蛍光 Ca²⁺プローブ CaTM-2 の開発に成功した。現在汎用されている Ca²⁺プローブの多くは緑色領域に蛍光波長を有するため、GFP 発現細胞における Ca²⁺イメージングなどのマルチカラーイメージングには適さないものが多い。また、既存の赤色蛍光 Ca²⁺プローブ Rhod-2 は、AM 体を用いてロードを行うとミトコンドリアへ局在するために生物学研究における応用は一部に限られている。新たに開発した Ca²⁺プローブ CaTM-2 は細胞質に一樣に拡散し、細胞質における Ca²⁺の挙動を解析することができる点において Rhod-2 よりも優れている。今後、CaTM-2 が様々な研究に応用され、マルチカラーイメージングを通して生物学研究の新たな知見の創出に貢献することを期待する。

謝辞

本研究を統括され、ご指導、ご鞭撻を賜りました東京大学大学院薬学系研究科、薬品代謝化学教室、長野哲雄教授には特段の感謝の意を表します。長野教授には素晴らしい研究環境を与えて頂きました。また、直接ご指導頂いた花岡健二郎准教授に心より感謝いたします。花岡准教授はいつでも研究に関する相談に乗っていただき、いつも的確なアドバイスをくださいました。さらに、この研究における一部の実験を遂行し、頻繁に議論をしていただいた平林和久氏に感謝いたします。最後に、脳神経カルシウムイメージングの実験に関し共同研究いたしました、同研究科、薬品作用学教室、松木則夫教授、池谷裕二准教授に深く御礼を申し上げます。

参考文献

1. M. J. Berridge, M. D. Bootman, H. L. Roderick, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2003**, *4*, 517–529.
2. D. E. Clapham, *Cell* **2007**, *131*, 1047–1058.
3. 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**.
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. T. Egawa, K. Hirabayashi, Y. Koide, C. Kobayashi, N. Takahashi, T. Mineno, T. Terai, T. Ueno, T. Komatsu, Y. Ikegaya, N. Matsuki, T. Nagano, K. Hanaoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* in press.

核酸の高次構造が翻訳伸長反応をコントロールしているか

甲南大学 先端生命工学研究所 遠藤 玉樹

1. はじめに

甲南大学先端生命工学研究所（FIBER）ではこれまで、核酸高次構造の熱力学的安定性に関して定量的な解析を進めてきた。特に、細胞内のように極度に分子が込み合ったクラウディング環境に着目し、このような環境下では特異な核酸高次構造（主に三重鎖構造や四重鎖構造などの Hoogsteen 塩基対を含む高次構造）が安定化されることを見出している。FIBER では現在、non-canonical structures と呼べるような核酸の特異な高次構造が、細胞内での遺伝子発現過程において様々な役割を担って存在していると考え、その役割を詳細に解析する研究を進めている。本稿では、FIBER における研究の中でも、筆者らが中心に進めている、RNA 高次構造が及ぼす翻訳反応への影響の解析について紹介させていただく。

2. 翻訳伸長反応過程における mRNA 構造の役割

情報を有する核酸分子から機能を供するタンパク質分子への直接的な変換を行う翻訳反応は、生命現象の根幹を成す最も重要な反応の一つである。タンパク質を構成するアミノ酸の配列は、1957 年に F. H. Crick によって提唱された「Sequence Hypothesis」にもあるように、塩基配列によって一義的に決定される¹。そして、タンパク質の構造と機能は、主としてアミノ酸の配列によって決定される。そのため mRNA は、翻訳反応における鋳型分子となり、核酸レベルでの一次配列とタンパク質レベルでの一次配列（アミノ酸配列）とをつなぐ中間分子として見られがちである。しかしながら、転写により生じた mRNA は、単に一本鎖核酸として塩基配列を呈するだけでなく、分子内での様々な相互作用を介して複雑な高次構造を形成する。

翻訳伸長を行うためには、リボソームは mRNA 構造を一本鎖状態に解きつつ内部へと取り込む必要がある。よって、翻訳領域（open reading frame: ORF）中に安定な mRNA 構造が存在すると、翻訳伸長反応の速度低下や一時的な停滞が起これ、その結果として細胞内での遺伝子発現に影響を与える。例えば、ORF 中のシュードノット構造は翻訳伸長反応を一時的に抑制し、その上流に位置する「滑り配列」と呼ばれる配列と協働的に機能して、リボソームのフレームシフトを引き起こすことが知られる²。さらには近年、翻訳伸長段階における速度変化が、遺伝子発現量だけではなく、新生タンパク質の構造形成にまで影響を与える可能性が示唆され始めている^{3,4}。このような報告例は、「mRNA の構造が積極的に翻訳速度を規定し、ひいてはタンパク質の構造と機能までも調節しているのではないだろうか？」という新たな概念（protein folding codon）⁵を想起させる。しかしながら、どのような RNA 高次構造、またはどの程度安定な RNA 構造があると、翻訳伸長反応がどの程度影響を受けるのかといった実験的な検証はほとんど行われていない。そこで筆者らは、FIBER がこれまで培ってきた核酸高次構造の熱安定性に対する化学的な知見を基に、ORF 中に形成される RNA 高次構造とその熱安定性が、翻訳伸長反応過程にどのような影響を与えるのかを解析することにした。

3. 翻訳伸長反応の継時的な解析手法の構築

翻訳反応過程を解析しようとした場合、一般的に生体外（*in vitro*）翻訳を利用した実験系が用いられる。翻訳反応過程は、大きく、開始・伸長・終結の 3 つの過程に分けられるが、その律速段階は開始過程にある。そのため、ある一定反応時間経過後にリボソームがどこまで翻訳伸長を行ったかは、それぞれのリボソームが翻訳を開始したタイミングに大きく依存してくる。このことは、翻訳伸長反応に焦点を当てて解析しようとした場合、開始過程にある律速段階が影響して詳細な解析が困難になることを意味している。そこで、筆者らは、翻訳を開始したリボソームを mRNA 上の特定の位置で強制的に停止させ、リボソームを完全に同調させうえで翻訳の伸長反応を再開させる「Synchronized

Translation」という手法を構築した (図 1) ⁶。

Synchronized Translation では、翻訳に必要なタンパク質因子を任意に調整可能な再構成型無細胞タンパク質合成系、PURE system を利用する ⁷。筆者らは、翻訳される mRNA の配列、および翻訳溶液の調整において、下記のような工夫点を加えて実験系を設計した。

「mRNA の配列設計における工夫点」

1. N 末端に T7-tag 配列が翻訳されるようにし、抗体を用いて精製したのち、MALDI-TOF/MS による翻訳産物の分子量解析を可能にする。
2. T7-tag の下流に UAG (アンバー) コドン配置し、非天然蛍光アミノ酸を翻訳産物に導入することで、電気泳動後の翻訳産物のイメージングを可能にする。
3. mRNA の 3' 末端側から終止コドンを取り除き、翻訳反応のマルチターンオーバーを防ぐ。

「翻訳溶液調製における工夫点」

1. 一段階目の反応で、特定のアミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) を翻訳溶液から取り除き、特定のアミノ酸をコードするコドンの手前で強制的に翻訳反応を停止させる。
2. 特定の aaRS と同時に終結因子も取り除き、非天然蛍光アミノ酸の導入効率を高める。
3. 二段階目の反応で、特定のアミノアシル tRNA を含む翻訳溶液を加えて翻訳を再開させる。
4. アミノアシル tRNA 合成酵素と同時に終結因子も加え、遅れて翻訳が開始される伸長反応をアンバーコドンの位置で終結させる。

我々は、以上のような設計に基づき、Synchronized Translation による翻訳伸長反応の継時的解析を行った (図 2A)。その結果、翻訳再開後 46 アミノ酸の伸長反応を行うのに一分弱の時間を要し、その間に 3 カ所で特徴的に翻訳伸長反応が滞ることが分かった (図 2a, b, c, d)。さらには、継時的に回収した産物を精製して分子量解析した (図 2B)。その結果、翻訳伸長反応が滞っていた 3 カ所のうち、2 カ所はレアコドンが原因となっていることが明らかとなった。一分という時間スケールで翻訳伸長反応を評価し、反応が停滞する位置までを特定した研究例はこれまでになく、翻訳伸長反応に焦点を当てた解析のための基盤技術を構築することが出来た ⁶。

4. ORF 中に存在する四重鎖構造による翻訳反応への影響

ORF 中に形成される RNA 構造として、四重鎖構造に着目した。前述のように、FIBER ではこれまで、分子クラウディング環境下において、Watson-Crick 塩基対を基本とする核酸の二重鎖構造が不安定化する一方で、Hoogsteen 塩基対を有する四重鎖構造は安定化されることを見出している ⁸⁻¹⁰。近年、様々な mRNA の 5' 非翻訳領域にグアニンに富んだ配列が存在し、これらが四重鎖構造を形成して遺伝子発現を抑制するという報告が相次いでいる。しかしながら、ORF 中に四重鎖構造を形成し得る (quadruplex forming potential: QFP) 配列があった時に、翻訳伸長反応が抑制されるのかどうかは明らかではない。安定な RNA 構造は翻訳伸長反応を妨げると予測されるが、伸長段階にあるリボソームは下流の mRNA 構造を解くためのヘリカーゼ活性を有することも知られている。そのため、たとえ ORF 中に四重鎖構造があったとしても翻訳伸長反応に大して影響を及ぼさない可能性も考えられる。

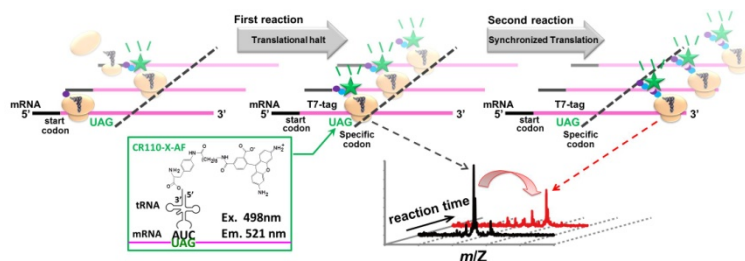


図 1 Synchronized Translation の概念図。First reaction で特定の位置で翻訳反応を一時停止させる。Second reaction で翻訳反応を再開させ、同調した翻訳伸長反応を継時的に解析する。

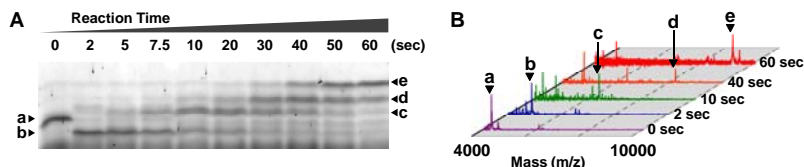


図 2 翻訳伸長反応の経時変化解析。A) First reaction 終了後(0 sec)、および Second reaction 開始後に継時的に回収した翻訳産物を SDS-PAGE に展開し、翻訳産物に導入した非天然蛍光アミノ酸のシグナルを検出した。B) 回収した各翻訳産物を anti-T7 tag 抗体で精製し、MALDI-TOF/MS で分子量を解析した。

4.1 *in vitro*における翻訳伸長反応の停滞

我々は、大腸菌をモデルに全遺伝子を検索し、5つの QFP 配列が ORF 中に存在することを見出した。これら 5つの QFP 配列は、全てがパラレル型の四重鎖構造を形成した(図 3A, B)。中でも、*eutE* 遺伝子由来の QFP 配列は、3 mM KCl、40 wt% PEG200 (平均分子量 200 のポリエチレングリコール) 存在下で $\Delta G_{37}^{\circ} = -7.97 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ という非常に安定な四重鎖構造を形成した。そこで、ORF の 3'側に *eutE* 遺伝子由来の QFP 配列を導入した mRNA (wild-type mRNA)、および QFP 配列に同義変異(翻訳されるアミノ酸配列は同じになる塩基変異)を加えて四重鎖構造を形成できないようにした mRNA (mutant mRNA) を設計し、Synchronized Translation による翻訳伸長反応への影響を解析した(図 3C, D)。その結果、mutant mRNA では、翻訳伸長反応再開 60 秒後には最後まで翻訳伸長された産物(図 3D, f)を確認できたのに対し、wild-type mRNA の場合では、翻訳伸長反応再開 20 から 300 秒後にわたり、伸長反応が途中で停滞している産物(図 3C, i)が確認された。MALDI-TOF/MS による分子量解析の結果、QFP 配列から 6 塩基のスペーサーとなる配列を挟んだコドンの位置で伸長反応が停滞していることが明らかとなった。つまり、wild-type mRNA 上に形成された四重鎖構造が、リボソームによる mRNA の取り込みを阻害することで翻訳の伸長反応が停滞したと考えられる(図 3E)。さらに、QFP 配列を一塩基ずつ 3'側にずらしていった mRNA を作製して評価したところ、常に QFP 配列から 5-7 塩基を挟んだコドンの位置で伸長反応が停滞していた。つまり、3 塩基ずつ移動するリボソームのトランスロケーション反応に合わせて、3 塩基周期で伸長反応の停滞位置がずれていくと考えられる(データ未掲載)。

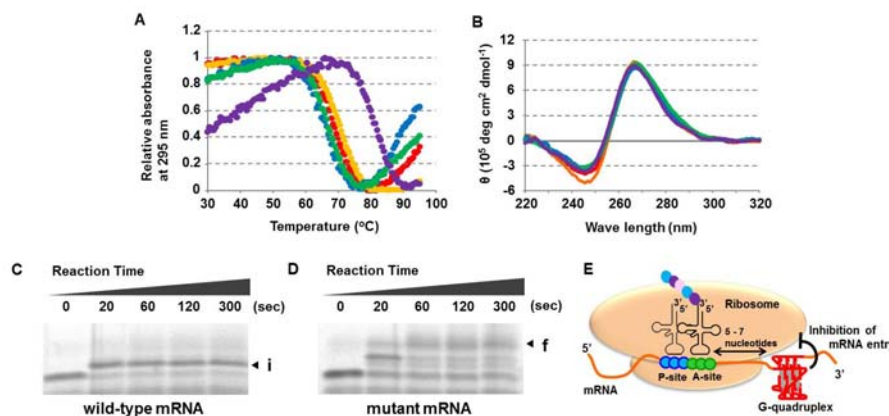


図 3 ORF 中の四重鎖構造による翻訳伸長反応の停滞 (*in vitro*)。A, B) *eutE* (紫)、*glyQ* (青)、*pudP* (赤)、*rnlA* (緑)、*yebZ* (黄) 遺伝子由来 QFP 配列の 295 nm における UV 融解曲線(A)および CD スペクトル(B)。測定は 50 mM MES-LiOH (pH 7.0)、3 mM KCl、40 wt% PEG200 の緩衝溶液で行った。C, D) wild-type mRNA (C)および mutant mRNA (D)の Synchronized Translation による翻訳伸長反応の経時変化解析。継時的に回収した翻訳産物を SDS-PAGE に展開し、蛍光シグナルを検出した。E) 四重鎖構造を介した翻訳伸長反応停滞の概念図。

4.2 *in cell*における翻訳反応の抑制

ORF 中の四重鎖構造が翻訳伸長反応を停滞させることが *in vitro*にて明らかとなったため、細胞内での翻訳反応(遺伝子発現)に対する影響を評価した。前述の QFP 配列 5種類(wild-type QFP)、およびそれらの同義変異配列(mutant QFP)を ORF に導入したレポーター遺伝子を構築し、ヒト乳癌細胞株 MCF-7 に導入してその発現を評価した。その結果、5種類全てにおいて、wild-type QFP 配列を有する遺伝子の発現量が mutant QFP 配列を有する遺伝子の発現量よりも低くなった(図 4A)。また、より安定な四重鎖構造を形成する QFP 配列ほど、より強く遺伝子発現を抑制することも示された(図 4B)。ORF 中に形成される四重鎖構造は、細胞内でも翻訳伸長反応を抑制することで遺伝子発現量を低下させ、その遺伝子発現抑制の度合いは四重鎖構造の熱安定性に依存することが考えられる。また一方で、*eutE* 遺伝子由来の QFP 配列を一塩基ずつ 3'側にずらしていったレポーター遺伝子も作製して評価したところ、3 塩基周期で遺伝子発現の抑制効果も変化するも見出した(データ未掲載)。このことは、四重鎖構造の熱安定性と共に、ORF 中の読み枠に対してどの位置関係で四重鎖構造が存在するかということも遺伝子発現の抑制度合いを決定する重要な因子になることを示している。

5. おわりに

本稿では、RNA 高次構造による翻訳伸長反応への影響解析に関して、四重鎖構造による翻訳反応の抑制を例に挙げ、研究の流れと成果を踏まえつつ紹介させていただいた。*in vitro*での実験系では、Synchronized Translation という解析手法を構築したことにより、翻訳伸長反応に焦点を当てた継時的な伸長反応解析が可能となった。現在は、四重鎖構造以外にも特異な高次構造を形成する mRNA を様々作製し、それぞれの構造安定性がどの程度翻訳伸長反応に影響するのかを系統的に解析する実験を進めている。また、より定量的な解析を目指して、翻訳伸長反応のリアルタイム解析を可能にする手法の構築にも取り組んでいる。*in cell*

での実験系では、QFP 配列を人為的に導入したレポーター遺伝子で発現が抑制されることを示した。我々は、天然の遺伝子においても、ORF 中の QFP 配列が四重鎖を形成した場合には、翻訳反応が一時的に停滞するなどして新生タンパク質の構造や機能にまで影響しているのではないかと考えている。そこで、特にヒトの遺伝子における ORF から QFP 配列を検索し、その遺伝子の発現や機能に対する QFP 配列への変異の影響を評価している。今後、翻訳伸長反応を介した non-canonical な mRNA 構造によるタンパク質構造と機能への寄与が明らかとなれば、高次構造レベルで核酸とタンパク質とを対応させる新たなセントラルドグマコードを提唱できるのではないかと考えている。

謝辞

本研究は、科学研究費補助金、および私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（2009-2014 年度）からの助成により、FIBER 所長、杉本直己教授の指揮のもとに行われました。研究の着想段階では、中野修一博士、三好大輔博士、建石寿枝博士を中心とした、FIBER における核酸高次構造と熱安定性に対する化学環境効果の研究成果が基盤となっています。実験では、理化学研究所の清水義宏博士、および株式会社ジーンフロンティアより、生体外翻訳に必要な試薬を提供していただき、川崎悠修士、木下みさ研究補助員の努力により遂行されました。以上の方々に厚くお礼申し上げます。

参考文献

- 1 F. H. Crick, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **1958**, *12*, 138-163.
- 2 D. P. Giedroc, P. V. Cornish, *Virus Res.*, **2009**, *139*, 193-208.
- 3 E. P. O'Brien, M. Vendruscolo, C. M. Dobson, *Nat. Commun.*, **2012**, *3*, 868.
- 4 G. Zhang, Z. Ignatova, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2011**, *21*, 25-31.
- 5 杉本直己, 遠藤玉樹, *現代化学*, **2010**, *472*, 26-31.
- 6 T. Endoh, Y. Kawasaki, N. Sugimoto, *Anal. Chem.*, **2012**, *84*, 857-861.
- 7 Y. Shimizu, A. Inoue, Y. Tomari, T. Suzuki, T. Yokogawa, K. Nishikawa, T. Ueda, *Nat. Biotechnol.*, **2001**, *19*, 751-755.
- 8 D. Miyoshi, T. Fujimoto, N. Sugimoto, *Top. Curr. Chem.*, in press,
- 9 S. Nakano, H. Karimata, T. Ohmichi, J. Kawakami, N. Sugimoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 14330-14331.
- 10 S. Pramanik, S. Nagatoishi, N. Sugimoto, *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 4815-4817.

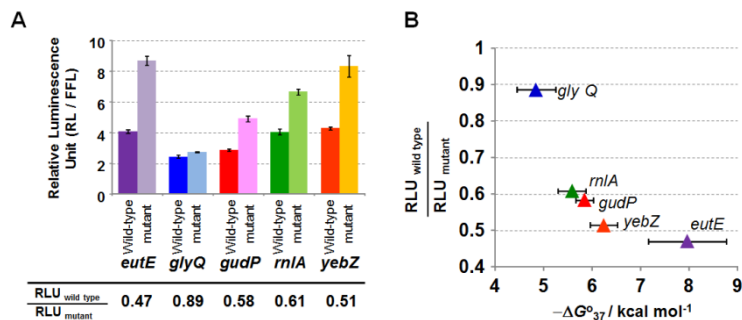


図 4 ORF 中の四重鎖構造による遺伝子発現の抑制 (*in cell*)。A) MCF7 細胞内におけるレポーター遺伝子発現。wild-type QFP および mutant QFP を ORF 中に導入した *Renilla luciferase* (RL) を発現するベクターを、firefly luciferase (FFL) を発現するベクターと共に細胞内へ導入し、24 時間後の遺伝子発現を Dual Luciferase Assay により評価した。mutant QFP を導入した RL の発現に対する wild-type QFP を導入した RL の発現抑制率をグラフの下に示してある。B) QFP 配列が形成する四重鎖構造の熱安定性と遺伝子発現抑制率との相関。UV 融解曲線から算出した四重鎖構造の熱安定性 ($-\Delta G_{37}^{\circ}$) に対して、遺伝子発現の抑制率をプロットした。

金属錯体型人工 DNA を用いた超分子構造の構築

東京大学大学院 理学系研究科 化学専攻 竹澤 悠典

1. はじめに

DNA は、核酸塩基間の相補的な水素結合により配列特異的に会合し、遺伝情報の蓄積・複製・増幅を担う情報分子である。DNA の持つ秩序だった周期構造や高度な分子認識能は、分子レベルのものづくりにおいても非常に魅力的である。特に、DNA ナノテクノロジーや DNA オリガミなど、配列設計に基づいて多様なトポロジーを持った DNA 高次構造を構築する技術が急速な発展を見せていることは言を俟たない。一方で、金属配位結合に基づく分子認識や自己集合も、その構造の多様性や可逆性から超分子構造体の構築原理として極めて有用であり、今までに多種多様な超分子金属錯体が合成されている。我々は、これらの金属錯体の分子設計指針を取り入れることで、DNA ナノ構造のプログラム性を向上させることができると考え、DNA 鎖中に金属錯体を導入した金属錯体型人工 DNA の合成をおこなっている。そこで本稿では、金属錯体形成による人工 DNA 三叉路構造(3WJ)の安定化を中心に、金属錯体型人工 DNA を用いた超分子構造の構築の試みを紹介したい。

2. 金属錯体型人工 DNA

DNA は水素結合を介して相補鎖を認識し、塩基対形成によって会合し、二重鎖をはじめとする高次構造を形成する。金属配位子を核酸塩基として有する人工ヌクレオシドを DNA 鎖に導入すると、適切な金属イオンの存在下、天然の核酸塩基間の水素結合を金属配位結合に置き換えた金属錯体型塩基対をつくることできる^[1,2]。たとえば、Cu²⁺イオンと選択的に錯体形成するヒドロキシピリドン配位子を有する人工ヌクレオシド(**H**)は、DNA 二重鎖中で金属錯体型塩基対(**H**-Cu²⁺-**H**)を形成する。同様に、ピリジン型ヌクレオシド(**P**)は、Ag⁺イオンや Hg²⁺イオン存在下で金属錯体塩基対(**P**-Ag⁺/Hg²⁺-**P**)を形成する。筆者らは、**H** と **P** の両方を含む人工 DNA オリゴマーをテンプレート配位子とすることにより、金属錯体型塩基対(**H**-Cu²⁺-**H**, **P**-Hg²⁺-**P**)の形成により、DNA 二重鎖中への Cu²⁺イオンと Hg²⁺イオンの異種金属の配列特異的な集積化に成功した (図 1a)^[3]。

上述した金属錯体型塩基対は、核酸塩基対の積層構造に合わせ、平面構造をとる錯体として設計されている。一方で、八面体型六配位などの配位構造を持つ金属錯体を用いることで、二重鎖以外の構造を構築することができる。先に示したヒドロキシピリドン配位子は、Fe³⁺イオンと 3:1 錯体 (**H**₃Fe³⁺)を形成する。ヌクレオシド **H** のみからなる DNA 鎖 5'-**H**_n-3' (*n* = 1-4)を用いると、**H**₃Fe³⁺錯体の形成により 3 本の鎖が自己集合し、1~4 個の Fe³⁺イオンを集積した三重鎖構造ができあがった (図 1b)^[4]。このように、金属錯体の配位構造に基づいて、DNA の会合構造の設計が可能であると考えられる。

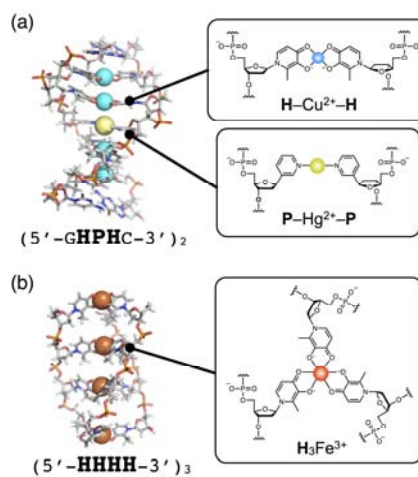


図 1 (a) 人工 DNA 二重鎖による異種金属の集積化 (b) 人工 DNA 三重鎖による Fe³⁺イオンの集積化

DNA は直径 2 nm の高分子であり、ナノサイズの電線やデバイスへの応用も期待されている。我々は最近、北京大学の Guo 研究室と協同で、金属錯体型塩基対を含む DNA 二重鎖の電気伝導度の測定をおこなった (図 2) [5]。詳細は割愛するが、金属錯体型塩基対 $\mathbf{H-Cu^{2+}-H}$ を 1 ヶ所を含む DNA 二重鎖は天然型 DNA と同様の電導性を示し、金属イオンを加えないときはミスマッチ塩基対 ($\mathbf{H-H}$) として振る舞い、電導性の低下が見られた。このように、金属イオンの添加・除去により物性や安定性、構造を制御できることも、金属錯体型人工 DNA の特長である。

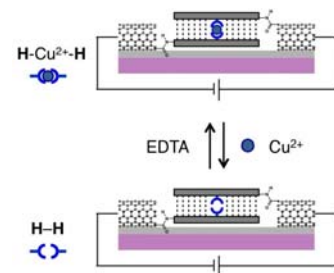
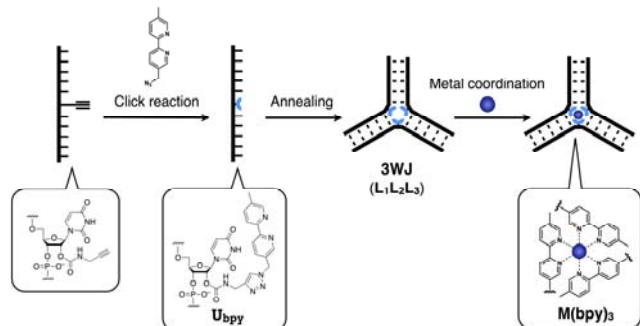


図 2 金属錯体型人工 DNA の電導性制御

DNA は自動合成機を用いた逐次縮合により、望んだ長さや配列のオリゴマーを合成でき、かつ人工のヌクレオシドモノマーを望みの箇所に導入することも可能である。そのため、DNA の配列設計のレパートリーに金属配位子型ヌクレオシドを加えることで、DNA 構造の設計が広がると考えている。

3. 金属錯体形成による人工 DNA 三叉路構造の安定化

前節で示したヒドロキシピリドン塩基対 ($\mathbf{H-Cu^{2+}-H}$) を含む DNA 二重鎖は、天然配列の DNA に比べて、融解温度 (T_m) にして 約 6 °C の上昇を示す。Cu²⁺ イオンを含まないミスマッチ ($\mathbf{H-H}$) の状態と比較すると、13 °C の安定化が見られる [6]。Carell らが開発したサレン型の金属錯体型塩基対では、30 °C 以上の安定化に成功している [7]。このように、DNA 二重鎖中に 2:1 錯体である金属錯体型塩基対を導入すると、錯体形成により二本の鎖がクロスリンクされ、二重鎖構造を安定化することができる。



L_1/S_1 5'-GAA GGA ACG XAC ACT CGC AG-3'
 L_2/S_2 5'-GTT CCA CGC XAC GTF CCT TC-3'
 L_3/S_3 5'-CTG CGA GTG XAG CGT GGA AC-3'
 L_1-L_3 : X = U_{bpy}, S_1-S_3 : X = T

図 3 金属錯体形成による人工 DNA 三叉路 (3WJ) 構造の安定化。U_{bpy}: ビピリジン (bpy) 修飾ウリジン誘導体。L₁, L₂, L₃: ビピリジン修飾人工 DNA 鎖。S₁, S₂, S₃: 天然配列の DNA 鎖。

それでは、金属錯体形成によってその他の DNA 構造を安定化できないだろうか。特に、DNA ナノテクノロジーにおいて重要なモチーフである分岐構造を安定化することができれば、錯体形成を駆動力とした DNA ナノ構造構築や構造変換などが期待できる。そこで、我々はターゲットとして 3 本の DNA 鎖からなる三叉路構造 (3WJ) を選び、金属錯体形成による安定化を検討した [8]。分子設計の概略を図 3 に示した。それぞれの DNA 鎖に金属配位子を導入し、分岐部分で 3:1 錯体を形成することにより、3 本の鎖をクロスリンクすることが本研究の狙いである。

三叉路構造を組むことが知られている DNA 配列 (S₁, S₂ および S₃) [9] を使い、配位子として種々の金属イオンと 3:1 錯体を形成するビピリジン (bpy) を選択した。三叉路構造にフィットするよう、分岐の内側を向く 2' 位に、リンカーを介して配位子を導入することとした。今後の配位子のスクリーニングを念頭

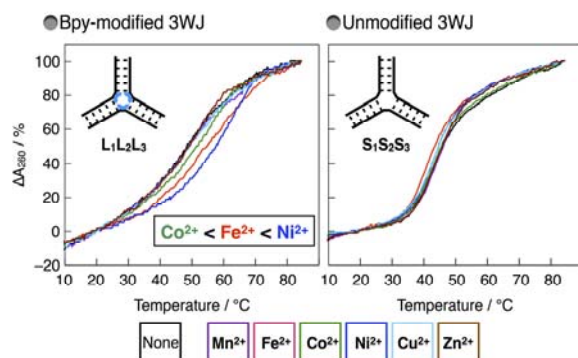


図 4 人工 DNA 三叉路構造 (L₁L₂L₃) および天然型 DNA 三叉路構造 (S₁S₂S₃) の各種遷移金属イオン (M²⁺) 存在下における融解曲線。[DNA 3WJ] = 1.0 μM, [M²⁺] = 0, 1.0 μM, 10 mM MOPS (pH 7.0), 100 mM NaCl, 0.2 °C/min. $\Delta A_{260} = \{A_{260}(t \text{ °C}) - A_{260}(20 \text{ °C})\} / \{A_{260}(85 \text{ °C}) - A_{260}(20 \text{ °C})\} \times 100$.

に置き、クリック反応による修飾をおこなった。まず既報のルートに従って 2'位にアルキンを導入したウリジン誘導体を合成し、これを中央を含む DNA オリゴマーを合成した。Cu⁺触媒の存在下、ビピリジンのアジド体との Huisgen 反応をおこない、DNA 鎖へ配位子を導入した。合成した 3 種類の修飾 DNA 鎖(L₁, L₂ および L₃)を混合し、アニーリングを経て、分岐部分に 3 個のビピリジン配位子を有する DNA 三叉路構造 L₁L₂L₃ を調製した。

次に金属錯体形成による安定化を評価するため、種々の金属イオン存在下での融解実験をおこなった (図 4)。金属イオンを加えないときは、三叉路構造 L₁L₂L₃ はなだらかな融解曲線を示し、融解温度は約 46 °C と見積もられた。Mn²⁺, Cu²⁺ および Zn²⁺ イオンを加えたときは、金属イオン非存在下とほとんど同じ融解曲線を示した。一方で、1 当量の Fe²⁺, Co²⁺ および Ni²⁺ を加えた場合は、融解曲線が右にシフトし、三叉路構造が安定化されたことが明らかとなった。安定化の度合いは、Ni²⁺ (ΔT_m = +9 °C) > Fe²⁺ (+5 °C) > Co²⁺ (+3 °C) の順であり、これは [M(bpy)₃]²⁺ 錯体の β₃ 値 (順に log β₃ = 20.2, 17.2, 15.9) と同様の傾向を示した。このことは、DNA 三叉路構造中でビピリジンの 3:1 錯体が形成されたことを強く示唆する結果である。一方、ビピリジンを持たない未修飾の DNA ジャンクション、すなわち天然配列の DNA S₁S₂S₃ では、金属イオンの添加による安定化は見られなかった (図 4 右)。

もっとも大きな安定化が見られた Ni²⁺ イオンについて、当量を変えて三叉路構造 L₁L₂L₃ の融解曲線を測定したところ、0 当量から 1 当量までは融解曲線が徐々に右にシフトした (図 5)。1 当量、すなわちビピリジン配位子と Ni²⁺ イオンの比が 3:1 のときに最大の安定化が見られた。この結果も、[Ni(bpy)₃]²⁺ 錯体の形成を支持している。また、0.3 当量あるいは 0.7 当量の Ni²⁺ イオンを加えたときは、融解曲線は二段階の遷移を示しており、これは Ni²⁺ イオンが結合した三叉路構造と結合していない構造の 2 種類が存在することに由来すると考えられる。

次に、ビピリジン修飾 DNA 鎖(L₁, L₂, L₃)と天然鎖(S₁, S₂, S₃)の両方を用い、含まれるビピリジン配位子の数を 0 から 3 個まで変えた三叉路構造(S₁S₂S₃, S₁S₂L₃, S₁L₂L₃ および L₁L₂L₃)を調製し、同様の実験をおこなった。図 6 に示すように、ビピリジン配位子が 0 個から 2 個の場合は、Ni²⁺ イオンを加えても融解温度の上昇は見られなかった。すなわち、Ni²⁺ イオンによる構造安定化を示すのは、分岐部分に 3 個のビピリジンがある場合のみであった。従って、三叉路構造の安定化は、Ni(bpy)₃²⁺ 錯体の形成によって 3 本の DNA 鎖がクロスリンクされたためだと考えられる。UV 吸収スペクトル (図 7a) においても 318 nm に Ni(bpy)₃²⁺

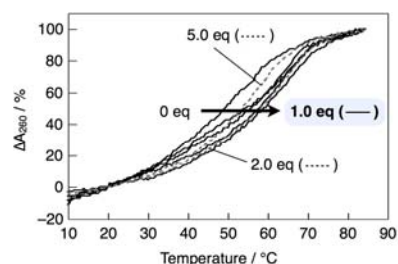


図 5 人工 DNA 三叉路構造(L₁L₂L₃)の Ni²⁺イオン存在下における融解曲線。[L₁L₂L₃] = 1.0 μM, [Ni²⁺] = 0, 0.3, 0.7, 1.0 (—), 2.0, 5.0 μM (---), 10 mM MOPS (pH 7.0), 100 mM NaCl, 0.2 °C/min.

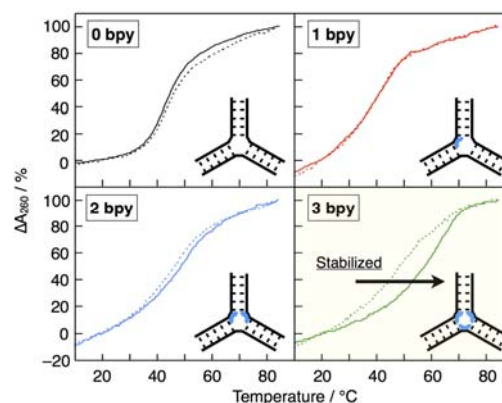


図 6 ビピリジン配位子を 0-3 個導入した DNA 三叉路構造の Ni²⁺イオン存在下における融解曲線。0 bpy: S₁S₂S₃, 1 bpy: S₁S₂L₃, 2 bpy: S₁L₂L₃, 3 bpy: L₁L₂L₃. [DNA 3WJ] = 1.0 μM, [Ni²⁺] = 0 (···), 1.0 μM (—), 10 mM MOPS (pH 7.0), 100 mM NaCl, 0.2 °C/min.

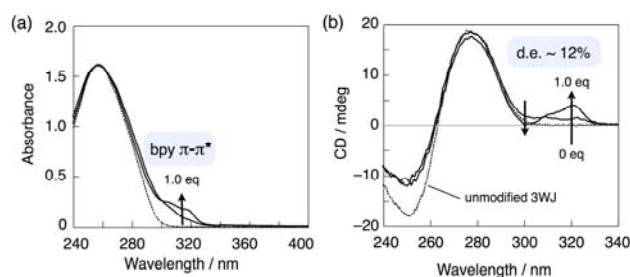


図 7 DNA 三叉路構造の(a) UV 吸収スペクトル および(b) 円二色性 (CD)スペクトル。天然型 DNA 三叉路構造 S₁S₂S₃ (···) および Ni²⁺イオン存在下・非存在下の bpy 修飾人工 DNA 三叉路構造 L₁L₂L₃ (—)。[DNA 3WJ] = 2.5 μM, [Ni²⁺] = 0, 2.5 μM, 10 mM MOPS (pH 7.0), 100 mM NaCl, l = 1.0 cm, 20 °C.

錯体の形成を示す新たな吸収が現れ、金属錯体形成により DNA の分岐構造を安定化できることが示された。

図 8 には、三叉路構造の分岐部分に形成された $\text{Ni}(\text{bpy})_3^{2+}$ 錯体の推定構造を示した。ビピリジンの 3:1 錯体には、facial (*fac*) 体と meridional (*mer*) 体という幾何異性体が存在する。モデル研究から、三叉路構造中では *fac* 体をとっていると考えられた。CD スペクトル (図 7b) を見ると、320 nm 付近に正のコットン効果が現れており、*A* 体が多く生成したことが示された (d.e. = 12% と見積もられた)。DNA のキラリな環境を反映して、 $\text{Ni}(\text{bpy})_3^{2+}$ のキラリティーが誘起されたと考えられる。

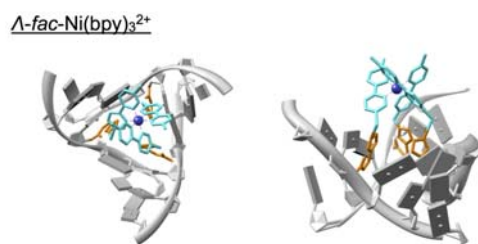


図 8 DNA 三叉路の分岐点に形成した $\text{Ni}(\text{bpy})_3^{2+}$ 錯体の推定構造。図には *A-fac* 体を示した。

4. おわりに

本研究では、ビピリジン配位子を導入した人工 DNA 鎖を用いて三叉路構造を構築し、 Ni^{2+} イオンの添加により 3:1 錯体が形成し、3 本の DNA 鎖のクロスリンクにより安定性が上昇することを見出した。DNA 鎖内部に金属配位子を導入し、核酸塩基間の水素結合に加えて金属錯体形成をデザインすることで、DNA 二重鎖だけでなく三叉路構造のような分岐構造も安定化できることが示された。同様の分子設計は、十字型構造など他の DNA 分岐構造にも適用可能であると考えている。さらには金属錯体型人工 DNA の分岐構造を用いて、金属錯体形成を駆動力とした DNA 高次構造の誘起や、配位結合の組み換えをトリガーとした構造変換を実現したいと考えている。

謝辞

本研究は、東京大学大学院理学系研究科化学専攻生物無機化学研究室の塩谷光彦教授のもとでおこなったものであり、塩谷教授のご指導に心から感謝いたします。また、実験を中心に進めていただいた博士研究員の Jean-Louis Duprey 博士 (現在は英国 Birmingham 大学)、および学生諸氏に深く感謝いたします。本研究は、グローバル COE プログラム「理工連携による化学イノベーション」、科学研究費補助金、および公益財団法人 新世代研究所「ATI 研究助成」の支援のもとおこなわれました。篤く御礼申し上げます。

参考文献

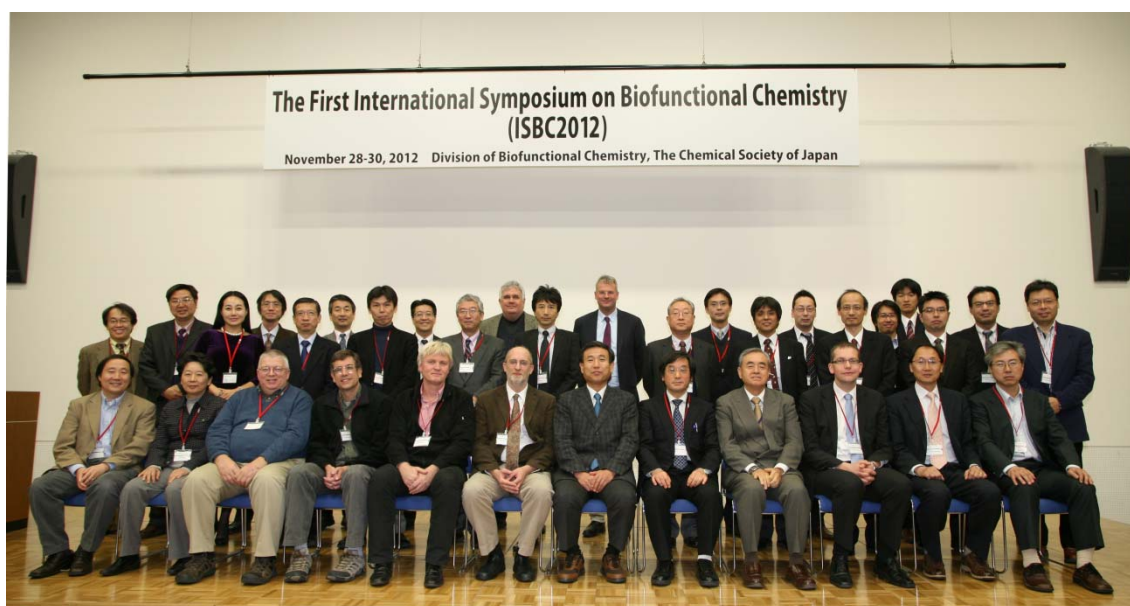
- 1) Takezawa, Y.; Shionoya, M. Metal-mediated DNA base pairing: alternatives to hydrogen-bonded Watson-Crick base pairs, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 2066–2076.
- 2) Tanaka, K.; Tengeiji, A.; Kato, T.; Toyama, N.; Shionoya, M. A discrete self-assembled metal array in artificial DNA, *Science* **2003**, *299*, 1212–1213.
- 3) Tanaka, K.; Clever, G. H.; Takezawa, Y.; Yamada, Y.; Kaul, C.; Shionoya, M.; Carell, T. Programmable self-assembly of metal ions inside artificial DNA duplexes, *Nat. Nanotechnol.* **2006**, *1*, 190–194.
- 4) Takezawa, Y.; Maeda, W.; Tanaka, K.; Shionoya, M. Discrete self-assembly of iron(III) ions inside triple-stranded artificial DNA, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 1081–1084.
- 5) Liu, S.; Clever, G. H.; Takezawa, Y.; Kaneko, M.; Tanaka, K.; Guo, X.; Shionoya, M. Direct conductance measurement of individual metallo-DNA duplexes within single-molecule break junctions, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 8886–8890.
- 6) Tanaka, K.; Tengeiji, A.; Kato, T.; Toyama, N.; Shiro, M.; Shionoya, M. Efficient incorporation of a copper hydroxypyridone base pair in DNA, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12494–12498.
- 7) Clever, G. H.; Polborn, K.; Carell, T. A highly DNA-duplex-stabilizing metal-salen base pair, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 7204–7208.
- 8) Duprey, J.-L. H. A.; Takezawa, Y.; Shionoya, M. Metal-locked DNA three-way junction, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, *52*, 1212–1216.
- 9) Probst, M.; Wenger, D.; Biner, S. M.; Häner, R. The DNA Three-way junction as a mould for tripartite chromophore assembly, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 755–759.

部会行事

「ISBC2012」開催報告とお礼

筑波大学数理物質系（副部長）鍋島 達弥

The 1st International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2012) は2012年11月28日から30日まで、本部会主催の国際シンポジウムとして東京工業大学の蔵前会館で開催されました。一般参加者123名（内、外国人講演者15名）、学生参加者26名の合計149名と予想以上の参加があり、和やかな雰囲気の中、大変盛況なシンポジウムとなりました。Protein Interaction, Functional DNA/RNA, Metals in Chemical Biology, Cell Function of Macromolecules, Nanobiotechnology Innovation in Biomolecular Chemistryの4セッションに加えて、若手研究者の企画による Young Researchers Society for Biochemistry の合計5つのセッションが設けられ、それぞれの分野で世界をリードする研究者による講演26件と若手研究者による63件のポスター発表が行われました。ポスター発表の研究水準も極めて高く、特に若手部会員による優れた発表4件に対してはポスター賞が授与されました。シンポジウムでは終始、非常に活発な質疑応答が行われ、熱気に包まれた三日間となりました。また最後の講演として、長年にわたり本部会を支えて頂きました元部会長の岡畑恵雄先生による基調講演が行われるなど、当分野の研究者の心に深く残る実り多きシンポジウムとなりました。当初目的とした、東日本大震災後の我国の当該分野の活性化、国際交流の推進、および当部会の研究者の優れた研究成果の発信に多少なりとも貢献ができたものと、組織委員一同、大変嬉しく思っております。ここに組織委員会を代表して参加者の皆さまに厚くお礼申し上げます。また本シンポジウムの開催を発案された部会長の杉本直己組織委員長、および各セッションを担当された組織委員の先生方、会場の手配からさまざまな運営までお世話頂きました東京工業大学の緒先生方および研究室の学生さんたち、部会の事務局としてお手伝い頂きました日本化学会の坂下修様にこの場を借りて改めてお礼申し上げます。今回のISBC2012の開催が当該分野のさらなる発展、特に若手研究者の益々の活躍に繋がればと心より願う次第です。



部会行事

「ISBC2012ポスター賞」講評

京都大学大学院工学研究科（審査委員長）浜地 格

11月28日から30日までの3日間、日本化学会生体機能関連化学部会主催の国際会議ISBC2012 (International Symposium on Biofunctional Chemistry)が、杉本部長を組織委員長、鍋島副部長を副委員長、部会幹事全員を組織委員として、東京工業大学蔵前会館で盛会に開催されました。25件を超える招待講演の他に、63件のポスター発表が行われ、活発な議論が繰り広げられました。ポスターは2日間に渡って掲示され、午後に2時間程度のobligation timeが設定されており、国外からの招待講演者を含めて参加者全員で、ゆったりとした時間の中、様々な議論／情報交換が行われていました。この国際会議では、特に博士課程学生からポスドク、若手スタッフをencourageするという意味合いも込めて、37歳以下の生体機能関連化学部会員を対象にしたポスター賞が設定されました。若手部会員から40件の応募があり、その中から厳正な審査を経て、以下4件の優れたポスター発表に関してISBC2012 Poster Awardが授与されました。本部会の近年の発展・拡張を反映して、ポスター賞に応募された発表者の研究分野は多岐にわたりました。研究テーマの新規性・独創性、実験データの質と量、解析の妥当性、また今回は、国際会議であることも意識して、英語での説明や質疑応答も加味した採点と致しました。厳正に審査を行い、うち特に優れた4件を選び、2日目のバンケットの際に表彰式が行われました（副賞図書カード1万円）。どの発表も高い研究レベルで独創性も高く、ポスター自体も大変見やすく分かりやすくも工夫されたもので、審査委員は大変頭を悩ませました。外国人招待講演者からも同様の意見を頂いています。選ばれた4件以外にも優れたポスターは多くあり、大接戦であったことをここに申し添えておきます。

最後に、大変お忙しい中、2日間に渡ってご協力頂いた12名の審査員の先生方、会場で色々な援助を頂いた東工大の皆様にご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)

江川 堯寛 (東大院薬) 「Development of a Red Fluorescence Probe for Monitoring Dynamics of Cytoplasmic Calcium Ion」

遠藤 玉樹 (甲南大FIBER) 「Suppression of gene expression depending on stability and position of G-quadruplexes in open reading frame」

竹沢悠典 (東大院理) 「Construction of stable DNA three-way junctions based on metal complexation」

Nusrat Jahan Sanghamitra (京大物質-細胞統合システム) 「Penetrating Live Cells via a Screw Structured Motif of Bacteriophage T4」

お知らせ

日本化学会第 93 春季年会(2013)開催案内

主 催	公益社団法人 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)
重要な期日	参加予約申込 2013 年 1 月 23 日~2 月 22 日 プログラム公開日 2013 年 2 月 19 日(予定) 講演予稿集発行日 2013 年 3 月 8 日
日程と内容	3 月 22 日(金): AP・ATP・受賞講演・特別企画・ポスター・展示会・ATP 交流会 3 月 23 日(土): AP・ATP・受賞講演・ポスター・展示会・ATP ポスター・会長講演・ 表彰式・懇親会 3 月 24 日(日): AP・ATP・受賞講演・ポスター・展示会 3 月 25 日(月): AP・ATP・受賞講演・特別企画
問合せ先	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 会期前 TEL: 03-3292-6163 E-mail: nenkai@chemistry.or.jp 会期中 TEL/FAX: 077-599-4399 (内線: 2999) ※3 月 21 日~25 日 URL: http://www.csj.jp/nenkai/93haru/

■プログラムについて

19日公開予定ですので、会員の方には生体機能関連化学部会に関連する箇所のみで作成したプログラムをメール配信にてお送り致します。

今年度は、9. 天然物化学(構造、合成、生合成など)分野と「ケミカルバイオロジー」について同一会場にてプログラムが組まれております。

興味をお持ちの方は、参加登録を行い、会場へお越し下さい。

日本化学会第93春季年会(2013) 日程表

2012/12/20

建物名・フロア	教室名	会場記号	3月22日AM	P	3月22日PM	3月23日AM	P	3月23日PM	3月24日AM	P	3月24日PM	3月25日AM	3月25日PM	教室名	会場記号	
コーニングハウスⅠ	C101	-	クローク											C101	-	
	C102	S1	委)「人工光合成」研究の最前線					中)人工光合成						C102	S1	
	C103	A1/S2	企)ものづくり合成戦略	企)ラジカル化学		委)日加国際交流シンポジウム		特)Prof.Pierre BRAUNSTEIN / 委)TCR	アジア国際シンポジウム(光化学)			企)設備利用と技術支援	企)新規薬剤・診断薬創成	C103	A1/S2	
	C104	A2	07A.有機化学-構造と物性				PB	07A.有機化学-構造と物性						C104	A2	
	C105	A3	07A.有機化学-構造と物性					PB	07A.有機化学-構造と物性					C105	A3	
	C106	A4	07A.有機化学-構造と物性					PB	07A.有機化学-構造と物性					C106	A4	
	C107	A5/S3	企)バイオ創薬		07B.有機化学-反応機構	07A.有機化学-構造と物性		PB	07A.有機化学-構造と物性					C107	A5/S3	
	C108	S4	企)光化学・生物学マリアージュ							委)化学論文数減少シンポ	中)分子設計と分子技術				C108	S4
	C109	S5	企)機動分子核酸		企)有限無限ナノ空間					委)分子スピントロニクス	委)配位プログラミング				C109	S5
	C202	A6	14.コロイド・界面化学					PC	14.コロイド・界面化学						C202	A6
	C203	A7	14.コロイド・界面化学						PC	14.コロイド・界面化学					C203	A7
	C204	-	LANコーナー/休憩室												C204	-
	C205	A8	14.コロイド・界面化学					PC	14.コロイド・界面化学						C205	A8
	C206	S6		企)光機能化学							委)化学遺産市民公開講座				C206	S6
	C305	S7		企)サステイナブル高分子							中)エレクトロニクス新時代				C305	S7
	C306	S8		企)複合励起光化学							委)第4回日英シンポジウム2013				C306	S8
	コーニングハウスⅡ	C506	-	年会本部											C506	-
		C601	S9							委)第3回日中若手化学者フォーラム					C601	S9
C604		-	休憩室											C604	-	
C605		B1/SA	06.錯体化学・有機金属化学		特)Prof.Warren J. Hehre	PA	18-資源利用		委)化学教育フォーラム			06.錯体化学・有機金属化学		C605	B1/SA	
C606		B2/SB	19-エネルギー	PB	19-エネルギー							企)日本発プロセス化学	企)ラボオートメーション	C606	B2/SB	
C801		B3	05.無機化学			PA	05.無機化学		アジア国際シンポジウム(錯体化学)			06.錯体化学・有機金属化学		C801	B3	
C802		B4	06.錯体化学・有機金属化学			PA	06.錯体化学・有機金属化学							C802	B4	
C803		B5	06.錯体化学・有機金属化学			PA	06.錯体化学・有機金属化学							C803	B5	
C804		B6	06.錯体化学・有機金属化学			PA	06.錯体化学・有機金属化学							C804	B6	
フォレストハウス		F101	C1	15.材料化学					PC	15.材料化学					F101	C1
	F102	C2/SC	16.材料の機能					PC	16.材料の機能		企)元素ブロック高分子	企)マイクロ・ナノ分析		F102	C2/SC	
	F103	C3/SD	企)ナノ粒子応用と作製		17.材料の応用				PC	委)男女共同参画シンポ		企)生命科学での分子活性化	企)ルミネッセンス化学	F103	C3/SD	
	F104	C4		PA	20-環境・グリーンケミストリー、地球・宇宙化学				PC	22.有機結晶				F104	C4	
	F105	C5	12.高分子						PA	12.高分子				F105	C5	
	F106	C6	12.高分子						PA	アジア国際シンポジウム(高分子)		09.天然物		F106	C6	
	F108	D1	09.天然物	PC	09.天然物									F108	D1	
	F109	D2	09.天然物	PC	09.天然物					アジア国際シンポジウム(天然物)			09.天然物	F109	D2	
	F110	D3	08G.有機化学-有機電子移動化	PB	08G.有機化学-有機電子移動化		08H.有機化学-ハイスループット合成						09.天然物	F110	D3	
	F111	D4	08F.有機化学-有機光化学	PB	08F.有機化学-有機光化学					10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー				F111	D4	
	F112	D5	10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー	PC	10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー									F112	D5	
	F201	E1	10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー	PC	10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー									F201	E1	
	F202	E2	10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー	PC	10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー									F202	E2	
	F203	E3	99.ケミカルバイオロジー	PC	99.ケミカルバイオロジー					10.生体機能関連化学・バイオテクノロジー		99.ケミカルバイオロジー			F203	E3
	F204	E4	08A.有機化学-脂防族・脂環式化合物						PB	08A.有機化学-脂防族・脂環式化合物					F204	E4
	F205	E5	08A.有機化学-脂防族・脂環式化合物						PB	08A.有機化学-脂防族・脂環式化合物					F205	E5
	F206	E6/SE	08A.有機化学-脂防族・脂環式化合物						PB	08A.有機化学-脂防族・脂環式化合物		企)マイクロ波化学	企)有機分子触媒		F206	E6/SE
	F301	F1/SF	企)界面デバイス	企)放射光XAFS	08B.有機化学-芳香族化合物				PB	08B.有機化学-芳香族化合物		企)単結晶X線基礎	企)超巨大計算機時代の化学		F301	F1/SF
	F302	F2/SG	中)ケミカルバイオロジー新展開	中)柔らかな複雑系	08C.有機化学-複素環化合物				PB	08C.有機化学-複素環化合物					F302	F2/SG
	F303	F3	08D.有機化学-ヘテロ原子化合物						PA	08D.有機化学-ヘテロ原子化合物					F303	F3
	F304	F4	08E.有機化学-有機金属化合物						PA	08E.有機化学-有機金属化合物					F304	F4
	F305	F5	08E.有機化学-有機金属化合物						PA	08E.有機化学-有機金属化合物					F305	F5
	F306	F6/SH	08E.有機化学-有機金属化合物						PA	アジア国際シンポジウム(有機金属)	企)分子性材料の多重機能化				F306	F6/SH
	プリズムハウス	P106	-	印刷・試写/休憩室											P106	-
P107		G1	11.分析						PB	11.分析				P107	G1	
P108		G2			01-化学教育				PA					P108	G2	
P109		G3	21.理論・情報・計算化学	PA	21.理論・情報・計算化学					アジア国際シンポジウム(理論・情報・計算化学)		21.理論・情報・計算化学		P109	G3	
P110		G4			13.触媒									P110	G4	
P111		G5			13.触媒									P111	G5	
P112		G6	02-物理化学-構造		PC	02-物理化学-構造								P112	G6	
P113		G7	03-物理化学-物性		PC	03-物理化学-物性								P113	G7	
P114		G8	04-物理化学-反応		PC	04-物理化学-反応				アジア国際シンポジウム(物理)		04-物理化学-反応		P114	G8	
ホール		SJ	学会賞			表彰式				学会賞		市民講座		ホール	SJ	
アクロスウイング	1	ロビー	-	総合受付										ロビー	-	
アドセミナリオ	2-4	-	P	付設展示会/ポスター										-	P	
ラルカディア	R101	H1			T3B-バイオ技術の新展開: バイオ電池	T1A-資源・次世代エネルギーと環境: 太陽光発電技術								R101	H1	
	R102	H2			T2B-新材料開発最前線: プリンテッドエレクトロニクス						T1B-資源・次世代エネルギーと環境: 燃料電池・水素エネルギー技術			R102	H2	
	R103	H3			T2A-新材料開発最前線: 微細パターン化技術	T2C-新材料開発最前線: 自己組織化技術・融合マテリアルを支えるバイオメディクス研究の最前線								R103	H3	
	R201	H4			T1D-資源・次世代エネルギーと環境: 未利用熱エネルギー技術	T1E-資源・次世代エネルギーと環境: 多様化する炭素資源					T1C-大型蓄電技術			R201	H4	
	R202	H5/SK			T3A-バイオ技術の新展開: 生物機能	T3C-バイオ技術の新展開: ノノメディシン	委)JACI化学技術戦略セッション				委)博士セミナー 企業で活躍する博士たち				R202	H5/SK
エポック立命21	1	エポックホール	PD		ATPポスター/JSTポスター								エポックホール	PD		

●分類名の前の数字/記号…[01-22…アカデミック・プログラム],[T1-T3…ATP],[企…特別企画],[中…中長期テーマ],[委…委員会企画]

●会場記号…[企・中・委]の実施時のみS1~SK会場として使用。それ以外はA1~H5会場として使用

●ポスター…アドセミナリオにて3月22日-24日の3日間で実施。時間帯はPA(10:00-11:30)、PB(12:30-14:00)、PC(15:00-16:30)の3種類 ※その他に ATPポスター(エポック立命21にて実施。3/23 12:00-13:30)、およびJSTシンポジウムポスター(エポック立命21にて実施。3/23 午前)

日本化学会 第93春季年会

立命館大学びわこ・くさつキャンパス マップ



会場記号	建物
総合受付	アクロスウイング
クローク	コラボリングハウス I
印刷、試写コーナー	プリズムハウス
LANコーナー	コラボリングハウス I
A1~A8会場	コラボリングハウス II
B1~B6会場	コラボリングハウス II
C1~C6会場	フォレストハウス
D1~D5会場	
E1~E6会場	
F1~F6会場	
G1~G8会場	プリズムハウス
H1~H5会場	インテグレーション コア・ラルカディア

会場記号	建物
S1~S8会場	コラボリングハウス I
S9会場	コラボリングハウス II
SA, SB会場	コラボリングハウス II
SC~SH会場	フォレストハウス
SJ会場	プリズムハウス
PA, PB, PC会場 (ポスター/付設展示)	アドセミナリオ
PD会場 (ATPポスター/ JSTシンポジウムポスター)	エポック立命21
実験教室	エクセル2
年会本部	コラボリングハウス II
ATP交流会(22日) JST交流会(22日) 年会懇親会(23日) アジアシンポジウム(24日) 男女共同参画懇親会(24日)	ユニオンスクエア 2F

■飲食施設他

会場記号	建物・営業日
生協食堂(カフェテリア)	ユニオンスクエア 1F 22日(金)~25日(月)
生協食堂(ユニオンFC)	ユニオンスクエア 2F 22日(金)、23日(土)
シー・キューブ	シー・キューブ 1F 22日(金)、23日(土)、25日(月)
サブウェイ	セントラルアーク 1F 22日(金)~25日(月)
コンビニ(ユニオンショップ)	ユニオンスクエア 1F 22日(金)~25日(月)
ATM	フォレストハウス付近
喫煙場所	★参照

ニュースレター Vol. 27, No. 4 2013年 2月 7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

編集委員：民秋 均, 大槻高史, 島本啓子、高木昌宏