

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. 29, No.3 (2014. 12. 9)

目 次

◇ 巻頭言	……………菊地 和也 1
◇ 研究紹介	
還元環境に応答して重合する蛋白質 Protein schackle の開発	……………松長 遼 3
ヘムタンパク質環状集合体の補因子置換による光捕集系の構築	……………大洞 光司 7
刺激応答性マルチブロック型交互両親媒性分子	……………村岡 貴博 11
DNA 四重鎖は転写の二次情報を保持しているか?	……………建石 寿枝 15
◇ 部会行事	
第2回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム 開催報告	
第8回バイオ関連化学シンポジウム 開催報告	
第8回バイオ関連化学シンポジウム講演賞 講評	

融合研究を推進させるには

大阪大学・大学院工学研究科
・免疫学フロンティア研究センター（兼任） 菊地和也

9月24日から26日までドイツ・ハイデルベルグで開催された Labeling & Nanoscopy という学会で講演する機会があった。この会は、現在進歩著しい顕微鏡技術と、生体イメージング用化学プローブ研究、さらにはこれらの技術を生物応用した研究についての講演とポスター発表で構成されていた。まず、主催者の Stefan W. Hell 博士（Max Planck 研究所、Göttingen）のオープニングの会開催の意義説明から学会が開始した。この意義の内容は分野融合の重要性についてであり、まず STED (Stimulated Excitation Depletion) 顕微鏡の実現には適切な光学特性を示す化学プローブを選択・応用することが重要であった、という Hell 博士自身の研究エピソードからはじまり、その後の PALM・STORM 等の超解像顕微鏡 (Superresolution microscopy、nanoscopy と呼ばれる)、誘導ラマン顕微鏡、磁気計測顕微鏡等の新技術への分野融合の例が紹介された。いずれも光学技術に化学プローブを巧妙に取り込んだ例であった。さらに最重要点として、この会では分野が近すぎなくかつ共通の興味を持つ可能性のある研究者に声をかけて集まってもらって、異分野融合を促進することが目的である、との説明があった。講演者のバックグラウンドは応用物理学（光学が多い）、電磁気学、化学、生物学（特に神経化学）と多岐に渡ったが、確かにどの参加者ともディスカッションすることが可能であり、これまでの私の文献検索では全く気がついていなかった目から鱗の話を聞くことができ、生まれたアイデアについてディスカッションすることができた。中には私の現在の研究においてブレークスルーとなり得る研究題材に気がつくことができる内容もあった。これは、机や PC に向かって調べ物をしていただけでは思いつかなかった、であろうネタである。やはり、研究において人と人のふれあいと繋がりがいかに重要かを再認識できる機会であった。このために遠くドイツまで来ているので成果があるのは当たり前なのかもしれないが、成果は期待しても生まれないことも現実である。実際にアイデアを思いついた（気がつかされた？）ときは、言うまでもなく非常にうれしい。また、ヨーロッパ、米国からの参加者はもちろん多かったが、アジアでは中国、韓国からの出席者が多かった（日本人は私と私の研究室の大学院生1名のみ）。特に、顕微鏡技術や新規計測技術においては中国人研究者（米国在住者も含む）の貢献は近年非常に大きいことを目の当たりにした。夕食会や懇親会では、「この様なお見合い会から個人的なディスカッションが始まることで融合研究が進み、この分野が盛り上がり応用研究の有用性がさらに示され、将来的にはこの分野からノーベル賞が出ると良いね」、という内容の会話が多く交わされた（「多く」の表現は定量的ではないが、少なくとも私の周りではよく聞いたので、他でも同じことが言われていたのでは、と考えている）。しかし、上記の「将来的」はわずか2週間であり、10月8日には Hell 博士が今年のノーベル化学賞を受賞することが発表された。確かにこれまでの nanoscopy の進展は目覚ましいものがあり、今後の目標は応用範囲が広がり新たな生命機能の解明に役立てることであろう。このためには、分野融合による技術発展が今後の技術拡散の鍵となり得る。この点については後述する。

Hell 博士に初めて会ったのは同じく分野融合の会議で、日本学術振興会とフンボルト協会の共催である第2回日独先端科学(JGFoS)シンポジウムであった(2005年11月3日-5日、湘南国際村)。日本側の参加者は(敬称略)和田健彦、二木史郎、永次史、原田和雄、菅裕明、と私であり、「何の飲み会ですか?」と聞かれそうなメンバーであるが、飲み会ばかりをしていた訳ではない。和田先生がオーガナイズされたセッション Emerging approaches for real-time molecular and cellular imaging において、私と二木先生の話をはさんで Hell 博士が講演された。論文では知っていたが、この時 nanoscopy についての講演を初めて聴き、講演中の高解像度画像は論文で見た以上の迫力があり、技術革新のポイント(苦労話)も話され、やはり講演を聴かないと分からないことは多いと実感した。これ以降 Hell 博

士との親交が生まれ、私にとっては非常に有意義な機会であった。JGFoS は Labeling & Nanoscopy に比べ、全く交わることがないかもしれない異分野の研究者の集まりで、集中して聴いても理解不可能な講演も多くある。菅先生が戸塚洋二先生に「天文学の研究には予算がどのくらいかかり、どうやって調達されるのですか？」と質問され、その御返事について異分野研究者の感覚の違いを実感したことを覚えている（この返事内容について興味お持ちでしたら、私か菅先生に個人的に聞いてください）。

さて、融合研究を推進するには何が一番必要であろうか？その当たり前の答えは人を知ることであり、その人と人との相互作用で具体的に得られるものは情報である。時々、日本の研究の強みは個々のスモールサイエンスであるという主張を目にするが、確かに鼻屑目をさっ引いても日本全体で要素研究は非常に高レベルのものが多いと言えるのではないかと。しかし、特に私の分野では融合研究の成功例は意外に少ない。「何があれば融合研究が成功するか？」と言われると、分野外からの最先端研究の情報ではないか、というのが本巻頭言での私の主張である。融合研究での成功例はコロンブスの卵のような研究が多いと考えている。この様な研究には、研究の成功後に研究の流れを調べると、特段難しい概念・技術は登場しないが、アイデアそのものが斬新で良く気がついたものだ、と感心するものである。この複数の技術を組み上げたアイデアを練るためには、人との交流による情報と、この情報によって活かされる個々の研究者が持っている独自の技術が必要である、と考えている。

面白いことに、人との繋がりから情報を得ることの重要性を教えてくれたのは、留学先のボスであり人つきあいが苦手そうな Roger Y. Tsien 教授である。Tsien 教授は一般生活では取つきにくい人間であるが、研究のディスカッションでは人が変わったように人と交流を行う。そして、研究ネタを異分野の研究者との親交で得ていた（ように見えた？）。特に専門外の研究者とのディスカッションが得意であり、多くの新しいネタがこの交流から誕生していた。私は Tsien 研究室に留学中 hand made の共焦点顕微鏡を扱う機会があり、融合研究のチャレンジ精神を目の当たりにした。当時は現在のように共焦点顕微鏡は市販されておらず生物応用が可能な応用例も非常に少なかった。この状況下、光学部品を一つ一つ組み上げ、画像取り込みソフトまで手書きのプログラムで全体のシステムが構成されており、このシステムに分子プローブ (FICRhR) を応用していた。このプログラムがすぐ停止してその度にレーザーディスクに書かれた元ファイルを見つけ出して、書き直し修繕を行ったことも、懐かしい記憶である。現在では画像解析のソフトは安価で購入でき、隔世の感がある。この手作りの共焦点顕微鏡を用いた研究はまさに分野融合の成果で、神経細胞における cAMP イメージングが報告され、この研究の継続上に蛍光蛋白質の生物応用研究が展開された。

近年では最先端の光学技術に分子プローブを組み合わせた研究を頻繁に目にする。言うまでもなく、分子プローブの利点は分子デザインが自由なことで、新しい光学技術に見合った分子展開が可能である。言い換えれば、光学技術のフルポテンシャルを、分子プローブを組み合わせることで発揮させることができる。例えば nanoscopy においては、この融合研究によってリアルタイムの生物機能が分子レベルから原子レベルまでも明らかになる夢が秘めている。この夢は実現可能な夢であると考えられている。そして、この分野には化学者が気付いていない、応用研究のネタが多く潜んでいるのではないかと私は想像している。

今年のノーベル賞受賞者の発表は、人との繋がりが融合研究を進展させる、という当たり前のことの重要性を再認識する機会になった。

還元環境に应答して重合する蛋白質 Protein shackle の開発

東京大学大学院新領域創成科学研究科 松長 遼

1. はじめに

蛋白質は生命活動を司る機能性分子である。生体反応を触媒する酵素や異物を認識して免疫反応を誘起する抗体、巧みな構造変化によって運動を生み出す収縮蛋白質など多種多様な役割を担った蛋白質が生体中で活躍している。

そのなかで我々は、力学的な強靱性をもたらす生物材料を担う蛋白質に注目している。たとえば、ヒトの毛髪では、酸型と塩基型の2種類のケラチン蛋白質が会合を重ねてケラチン繊維となり¹⁾、デスマプラキン等の細胞接着蛋白質と結合する²⁾。さらに KAP とよばれる蛋白質群がその周囲を取り囲み²⁾、ジスルフィド結合やイソペプチド結合によって各蛋白質どうしが架橋することで強靱な繊維である毛髪が形成される。また、ザリガニの外骨格は有機物質であるキチンと無機物質である炭酸カルシウムが層状に積み重なって構成されているが、その界面には蛋白質が存在しキチン繊維と結合して炭酸カルシウムの結晶成長を制御する³⁾ことで、両者の長所を兼ね備えた強靱で軽量な有機無機ハイブリッド材料をつくり出している。

以上のように、生物材料中で蛋白質は主役としてもまた脇役としても重要な役割を担っている。そこで、生物を模倣して蛋白質を材料の構成要素として利用することができれば、機能性蛋白質を材料中に含有させたり、環境に応じて構造を変化させたり、異質な材料と特異的に接着したりするなどの蛋白質にしかできないような特性を付与することが可能になるのではないかと考えた。本稿では、レンサ球菌の線毛を構成する蛋白質を改変した重合性蛋白質の設計⁴⁾とその材料応用への展望についてご紹介させていただく。

2. Protein shackle の基本設計

蛋白質を重合することができれば、機能性蛋白質を融合することで新奇な機能性ポリマーを創製することが可能になる。これまでもβアミロイドやコラーゲンなど多量化して線維を形成するような蛋白質(ペプチド)は知られているが、複雑な積層構造を有するために均一な径や表面構造を有した線維を形成する蛋白質を人工的に予測して設計することは困難である。したがって我々は、単純に直列に相互作用して重合するような蛋白質を設計することにした。

そこで注目したのがレンサ球菌の線毛である。これはその先端サブユニットが宿主に結合することで、宿主への感染能に深く関与している組織体である⁵⁾。線毛は Sortase とよばれる酵素によって構成蛋白質が直列に架橋されることにより形成される⁶⁾。線維径は 2-5 nm 程度と非常に細く、また凝集せずに伸長した構造をとる⁷⁾ことから、線毛構成蛋白質はモノマー骨格として最適であると判断した。線毛構成蛋白質のなかでも、比較的解析の進んでいる Spy0128 を利用することにした(図 1(a))。

重合能を与えるために利用したのが、この蛋白質自身に存在する特殊な分子内結合である。この分子内イソペプチド結合とよばれる Lys と Asn の側鎖間に生じる結合は、Spy0128 を構成する N ドメイン、C ドメインの両者に1つずつ存在している⁸⁾(図 1(a)および(b)左、C ドメインの結合のみ図示)。この結合は耐熱性や耐プロテアーゼ耐性に大きく貢献することが明らかにされている⁹⁾。2010年に Howarth らによって、C ドメインのイソペプチド結合を形成する残基を切り離すように Spy0128 を2つの部分に分割し、それらを別々に合成してから混合すると野生型の構造を再生するようにして自動的に2分子間で特異的で不可逆なイソペプチド結合が形成されることが報告された¹⁰⁾。この

「Isopeptag システム」を利用することにした。

すなわち、Isopeptag とよばれる C 末端のβストランドを N 末端に移すことで、N 末端の Isopeptag

と、別のモノマーの C 末端の Isopeptag 結合ポケットが反応して重合していくような設計を考案した。ただし、この設計では反応制御ができず、自発的に重合が進んでしまい取り扱いが困難である。そこで、C 末端の結合ポケットを、末端に融合したペプチドの「蓋」で覆うことにした。この蓋は Isopeptag の配列とほぼ同様だが、次の 3 点で異なっている。(1) イソペプチド結合を形成する Asn を Ala に変異させた。(2) 長さを少し削ることでポケットから解離しやすくした。(3) ジスルフィド結合を形成できるように Cys を導入した (後述)。

蓋の開閉は、新規に導入した Cys 側鎖チオール基間のジスルフィド結合により制御することにした。ジスルフィド結合は酸化的環境で自発的に形成され、DTT 等の還元剤存在下の環境では結合が開裂する。蓋およびそれと隣り合うストランドの適切な位置にそれぞれ Cys を変異導入することで、可逆なジスルフィド架橋を導入した。酸化環境ではジスルフィド結合により蓋が固定され活性部位が被覆されるために重合反応が起きず、還元環境では結合が開裂して重合反応が開始されることが予想される。

このように設計した蛋白質 (図 1(b)右) を、互いを強固にリンクすることができるという性質に着目して、Protein shackle (PS) と名付けた。

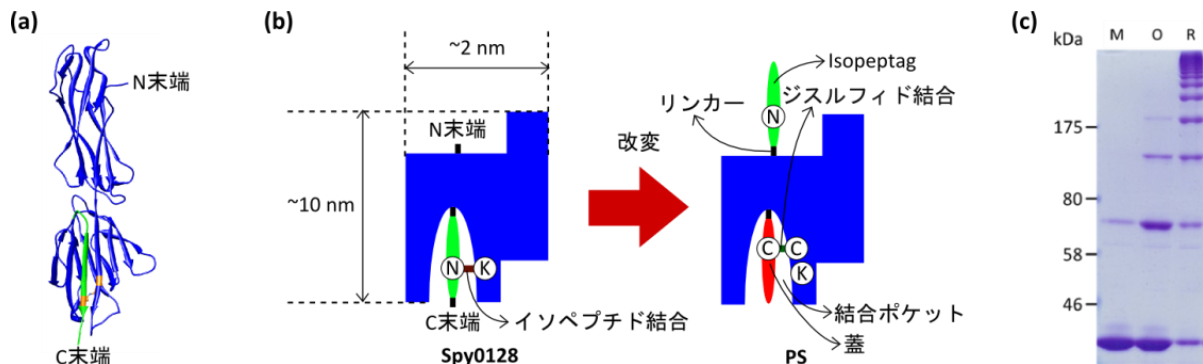


図 1. Protein shackle の設計および反応性

(a) Spy0128 の結晶構造 (PDB 3B2M、chain B)。 (b) Protein shackle の設計。 (c) 反応サンプルの SDS-PAGE。 M : モノマー、O : 酸化環境 (16 h)、R : 還元環境 (16 h)。

3. Protein shackle の反応性とポリマーの形態

大腸菌で発現させ、精製した PS を酸化環境と還元環境に置いた。その結果、酸化環境でもやや反応が観察されるものの、還元環境で著しく重合反応が進行することが確認された (図 1(c))。重合は経時的に進行し、酸化還元環境を切り替えることで、反応の ON/OFF を制御することが可能であることも SDS-PAGE から確認された。後述する FFF-MALS により分子量分布を測定したところ、高分子量側に裾の長い縮合重合様のなだらかな形状の分布を得た (モノマー 35 kDa に対して 24 h 反応サンプルで 100-2000 kDa 程度)。

原子間力顕微鏡 (AFM) によりポリマーの形態観察を行った。マイカ基板に吸着させ乾燥状態で測定をしたところ、高さ 1 nm、長さ数百 nm の柔軟な形状の線維状構造体 (Nanochain) が多数確認された。拡大して観察したところ節目のようなくびれが構造体中に見られ、実際にモノマー粒子が連なって Nanochain が構成されていることが確認できた (図 2)。

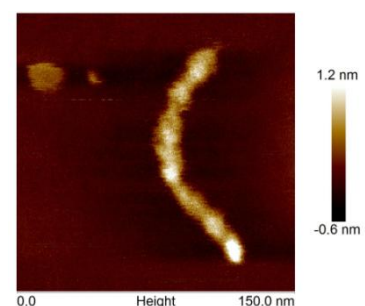


図 2. PS ポリマーの AFM 像

4. サブユニット間非共有結合性相互作用の寄与

さて、前項の FFF-MALS で分子量分布を測定しているときに興味深いデータが得られた。FFF とは Field Flow Fractionation の略で、流動場分離法ともよばれる。詳細は割愛するが、FFF はゲルろ

過クロマトグラフィーとは反対に、粒子径が小さい構造体ほど早く溶出される分離手法である。溶出液を多角度光散乱検出器 (MALS) および濃度測定装置として UV 検出器あるいは示差屈折率 (RI) 検出器により分析することで、各溶出位置における重量平均分子量 M_w を算出することが可能である。

この装置を用いてポリマー溶液の対照サンプルとしてモノマー溶液を測定した際に、非対称な UV 溶出曲線のピークが得られ、このピークの分子量曲線が右上がりになったのだ。つまりモノマーよりも高分子量の構造体が生じていることを意味することから、予期しない非共有結合による多量体形成が示唆された。Spy0128 の構造を最初に報告した論文によると、サブユニットは結晶構造中で直列に配置され、それらの間には特異的な相互作用界面が存在している⁸⁾。我々はこの面と面の相互作用が多量体形成の原因であるという仮説を立てた。しかしながら、ゲルろ過クロマトグラフィーや超遠心分析による解析でも Spy0128 はモノマーの状態しか観測されておらず¹¹⁾、溶液中では存在するとしてもごく弱い相互作用であることが予想される。

このサブユニット間相互作用を阻害するような変異体 (P108E、W141A) を用意したところ、変異前の PS と比較して重合反応速度が著しく減少することが明らかになった。さらに、詳細は割愛するが、Isopeptag 含有ペプチドを阻害剤として用いた重合阻害実験 (図 3(a)) や変異体の FFF-MALS 解析により、実際にこの界面間の非共有結合が会合体の形成を助け、それにより重合反応速度を向上させていることを証明した (図 3(b))。また、AFM 測定により変異体は伸長した構造を保てず、凝集様の構造になることが明らかになったことから、この相互作用が「反応」と「線維構造」の両側面から非常に重要な役割を担っていることが示唆された。

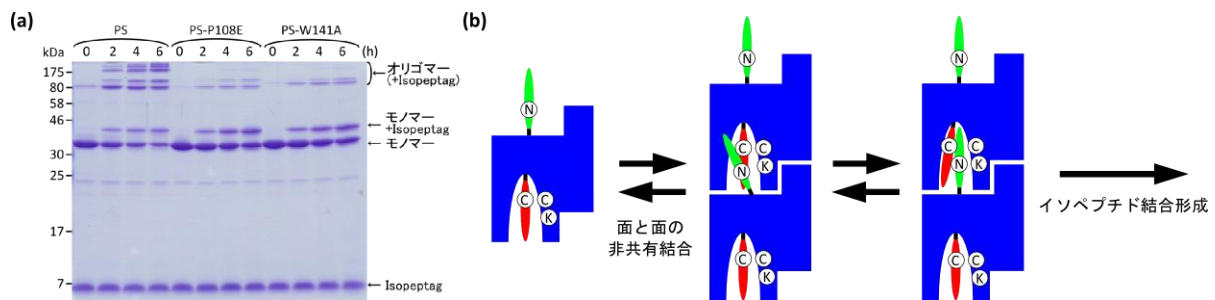


図 3. サブユニット間非共有結合性相互作用の寄与

- (a) Isopeptag 含有ペプチドによる重合阻害実験。モル比 10 倍の Isopeptag 含有ペプチドの存在下でも PS は重合が顕著に進行するのに対し、変異体では Isopeptag 含有ペプチドとの反応が主となる。
- (b) サブユニット間非共有結合性相互作用模式図。面と面の相互作用による会合体が中間体となってイソペプチド結合反応を促進する。

5. Protein shackle の機能化

ここまで PS の基本的な設計と性質について述べてきたが、材料応用するためには機能化が必須である。機能化の一つの手段として、PS の末端に異種蛋白質を融合することにした。そこで、モデルとして N 末端に緑色蛍光蛋白質 GFP を融合した PS (GFP-PS) を用意した。GFP-PS は立体障害の影響から若干反応速度が低下するものの重合可能で、重合による蛍光能の低下も確認されなかった。すなわち、機能を損なうことなく異種蛋白質を PS ポリマーに融合することができることを示した。

続いて、PS ポリマーを異種材料と融合することを目指した。Cys を N 末端に融合した Isopeptag 結合蛋白質 C-Cpro を用意し、Cys のチオール基に対して *N,N'*methylenebisacrylamide を反応させた。このアクリルアミド基を有する C-Cpro 修飾体とアクリルアミド溶液を混合してポリアクリルアミドゲルを調製した。そして、C-Cpro を修飾したゲルと未修飾のゲルそれぞれを、GFP-PS を含む反応液に含浸した。その結果、C-Cpro を修飾していないゲルはバッファーによる洗浄により蛍光能が失われるものの、C-Cpro を修飾したゲルは蛍光能を維持した (図 4)。すなわち、ポリアクリルアミドゲ

ルに PS ポリマーを融合することが可能であることを示した。この手法により、活性を維持したまま酵素を固定できるヒドロゲルや特定の分子や無機材料だけに接着する性質をもったヒドロゲルなどの創製が期待できる。

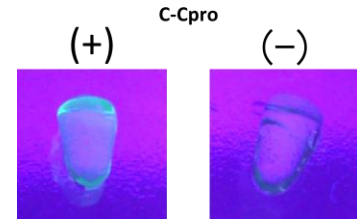


図 4. C-Cpro 修飾ゲルへの GFP-PS ポリマーの固定化

6. おわりに

Protein shackle は機能性蛋白質を周期的に配置可能である安定な蛋白質足場である。今後はどのような「機能」および「構造」で材料として応用していくかが課題となる。「機能」に関しては、冒頭に挙げたような蛋白質の有するさまざまな機能すべてが候補となり、「構造」に関しては、今回紹介した異質材料への融合だけでなく分岐型ポリマーの創製にも取り組み、多様な要請に応えられるようなバリエーションの構築を模索している。「機能」と「構造」の組み合わせ次第で、Protein shackle を用いた新しい概念の材料を生み出していくことができるものと期待している。

7. 謝辞

本稿の内容はすべて東京大学の津本研究室で実施した研究の成果であり、ご指導いただいた津本浩平教授に心より感謝申し上げます。AFM 測定は東京大学大学院工学系研究科の片岡一則教授、長田健介特任准教授、安楽泰孝助教、Theofilus Agrios Tockary 博士のご協力のもと実施いたしました。この場を借りて深く御礼を申し上げます。また、Jose Manuel Martinez Caaveiro 主幹研究員、長門石曉助教をはじめとして直接、間接問わず多様なアイデアを提供していただいた津本研究室の皆様に深く感謝いたします。本研究は日本学術振興会の科学研究費補助金（特別研究員奨励費 25・5539）の支援により実施されました。

8. 参考文献

- 1) Ishii, D. *et al. J. Mol. Biol.* **408**, 832-838 (2011).
- 2) Matsunaga, R. *et al. J. Struct. Biol.* **183**, 484-494 (2013).
- 3) Kumagai, H. *et al. Faraday Discuss.* **159**, 483-494 (2012).
- 4) Matsunaga, R. *et al. Nat. Commun.* **4**, 2211 (2013).
- 5) Linke-Winnebeck, C. *et al. J. Biol. Chem.* **289**, 177-189 (2014).
- 6) Mandlik, A. *et al. Trends Microbiol.* **16**, 33-40 (2008).
- 7) Quigley, B.R. *et al. Infect. Immun.* **78**, 1294-1303 (2010).
- 8) Kang, H.J. *et al. Science* **318**, 1625-1628 (2007).
- 9) Kang, H.J. *et al. J. Biol. Chem.* **284**, 20729-20737 (2009).
- 10) Zakeri, B. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **132**, 4526-4527 (2010).
- 11) Solovyova, A.S. *et al. Eur. Biophys. J.* **39**, 469-480 (2010).

研究紹介 第8回バイオ関連化学シンポジウム 講演賞

ヘムタンパク質環状集合体の補因子置換による光捕集系の構築

大阪大学大学院工学研究科 大洞 光司

1. はじめに

光合成では、活性中心での酸化還元反応を円滑に進行させるために、大規模な光捕集系を用いて光子密度の低い太陽光エネルギーの効率的な利用を行っている。特に、紅色細菌の光化学系では光捕集系 (LH1 および LH2) と反応中心の構造が明らかにされており、これらは比較的単純であるため、作用機序の解析が進んでいる (図 1) 1。光合成の初期段階において、光捕集に関わる LH2 内で環状に整列したクロロフィル分子は、光により励起したエネルギーを同一色素間での高速エネルギー移動 (エネルギーマイグレーション) を介して活性中心へと集約させ、太陽光エネルギー利用の効率化を達成している。この興味深い性質に着目して、これまでにポルフィリン等の光増感剤を集積させる合成化学的手法や超分子化学的手法を駆使した研究が報告されている 2-4。また近年ではウイルスキャプシドやタンパク質の多量体に共有結合的に色素を化学修飾させた系が報告されている 5-8。しかしながら双方とも煩雑な手法を伴い、調製は容易ではない。一方で、筆者が所属する研究室では、ポルフィリン鉄錯体 (ヘム) を補因子とするヘムタンパク質において、ポルフィリン金属錯体とタンパク質 (ヘムポケット) の相互作用を利用したタンパク質集合化を実施しており 9-10、亜鉛ポルフィリンを用いたタンパク質集合系ではエネルギーマイグレーションを示唆する結果を得ている。

本稿では、環状 6 量体構造を有する天然ヘムタンパク質を用い、ヘムから亜鉛ポルフィリノイドへの置換に基づいた新規な光捕集系構築法 (図 2) について紹介する。

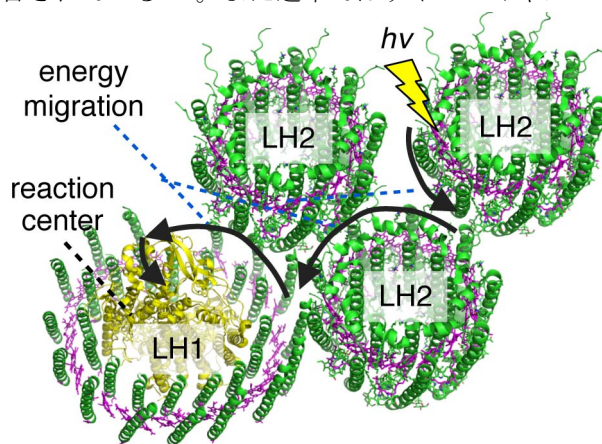


図 1. 紅色細菌の光化学系における光捕集系 (LH1 および LH2) と活性中心の模式図。

2. ヘムタンパク質環状 6 量体に亜鉛ポルフィリンを導入した光捕集系の構築

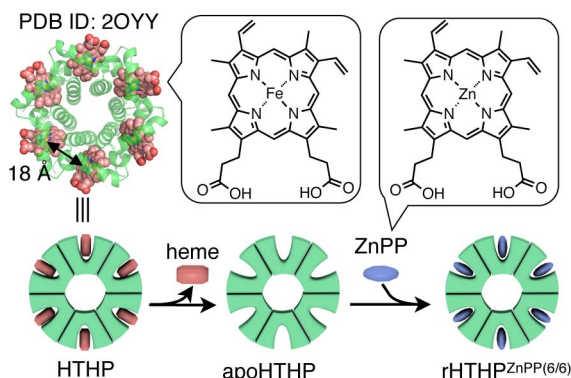


図 2. HTHP の結晶構造および再構成法によるヘムの亜鉛ポルフィリンへの置換の模式図。

ヘムタンパク質環状 6 量体である HTHP (Hexameric Tyrosine-coordinated Heme Protein) は 2007 年に H. Dobbek らにより報告された海洋細菌 *Silicibacter pomeroyi* 由来のヘムタンパク質である 11。結晶構造から、図 2 に示す通り 6 回対象軸を持つホモ 6 量体であることが明らかになっている。それぞれのドメインが 1 つのヘム分子を有しており、隣り合うドメイン内のヘム分子の鉄-鉄間距離は 18 Å である。またヘムはチロシンによる配位結合、疎水性相互作用、水素結合によりタンパク質マトリクス内に保持されている。しかしながら、カタラーゼ様の配位環境を持っている一方で、生体内での機能につ

いては不明である。本研究ではこのタンパク質の構造的特徴に注目し、再構成法によるヘムの亜鉛ポルフィリン (ZnPP) への置換により、光増感剤として機能する ZnPP が HTHP マトリクス内に固定された光捕集系の構築を試みた。

HTHP は遺伝子組み替え大腸菌を用いた IPTG 誘導型の発現により調製した。精製は陰イオン交換カラムおよびゲル濾過カラムを用いて行なった。精製後の SDS-PAGE では、純度の高い単量体に一致する分子量のバンドが観測され、ESI MS では報告されている結晶構造と同様に 6 分子のヘムが結合した 6 量体の分子量が確認された。次に、得られた HTHP からヘムの除去を行なった。pH1.7 でヘムを遊離させ、2-ブタノンを用いて抽出した。中和後の吸収スペクトルを図 3(a)に示す。チロシンが配位したヘムに由来する 402 nm の吸収は消失し、芳香族アミノ酸由来の 280 nm の吸収のみが観測され、HTHP からヘムを除去したアポ体が調製できた。このアポ体に ZnPP を小過剰量加え、陰イオン交換カラムで遊離の ZnPP を除くと、再構成体 rHTHP_{ZnPP(6/6)} が得られた。421 nm に特徴的な吸収極大を有し、既報のアルコールが配位した ZnPP の吸収極大と一致したことから、タンパク質マトリクス内に保持されていることが示された¹²。アポ体および再構成体が 6 量体構造を保っているかを確認するため、サイズ排除クロマトグラフィによる分析を実施した (図 3 (b))。標準サンプルと比較して、HTHP およびそのアポ体、ZnPP を含む再構成体において 6 量体に合致する分子量の成分が確認された。また動的な光散乱により、およそ 5-6 nm のサイズであることが確認され、結晶構造から予測される 6 量体の大きさとよく一致したので、HTHP のアポ体および rHTHP_{ZnPP(6/6)} も 6 量体構造を形成していることが明らかとなった。以上の結果から、HTHP がポルフィリノイド色素を集積化する上で有用なマトリクスとして働くことを示した。

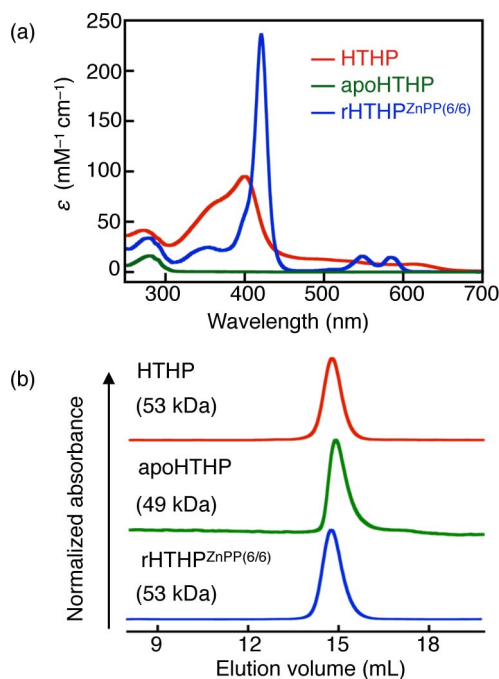


図 3. HTHP、apoHTHP、rHTHP_{ZnPP(6/6)} の (a) 吸収スペクトルおよび (b) サイズ排除クロマトグラフィによる分析

3. HTHP を用いた光捕集系の光化学特性評価

前項で調製した rHTHP_{ZnPP(6/6)} に関して蛍光スペクトルを測定した。Soret 帯の極大吸収である 421 nm で励起した蛍光スペクトルは、ZnPP に由来した 590 nm に極大を持つ蛍光を示した。さらにアポ体を任意の量加えたところ、ZnPP 由来の吸収スペクトルに変化がないにもかかわらず蛍光強度が増大するユニークな現象が観測された。これは rHTHP_{ZnPP(6/6)} において、タンパク質マトリクスにより集積化した ZnPP 同士が励起状態において相互作用し消光を起こしており、アポ体を加えることでこの集積状態が解消され、ZnPP が分散し蛍光強度が回復したものと考えられる。加えるアポ体の量による ZnPP の分散を確認するために Soret 帯の円二色性 (CD) スペクトルを測定した (図 4 (a))。興味深いことに、アポ体をヘム結合部位数換算で 5 当量加えた部分的な再構成体 rHTHP_{ZnPP(1/6)} では、吸収極大と同じ 421 nm のみに極大を持つ正のコットン効果のみが観測されたが、rHTHP_{ZnPP(6/6)} では 2 つの極大を持つ正のコットン効果が観測された。rHTHP_{ZnPP(1/6)} におけるコットン効果は ZnPP に対してキラルに配置されたタンパク質のアミノ酸残基との相互作用によるものと考えられ、他のヘムタンパク質でも観測される典型的なものである。rHTHP_{ZnPP(6/6)} の CD スペクトルにもこのコットン効果が含まれていると考え、差スペクトルを算出した。結果として、極大吸収で正と負に分裂する特徴的なコットン効果が得られ、これまでに報告されているポルフィリンの 2 量体等で観測される空間的に

固定された色素同士の励起子カップリングによるものと帰属できる。従って、HTHP 内でヘム結合部位に特定の配向で集積しているため、励起子カップリングを含むコットン効果が現れ、また $rHTHPZnPP(1/6)$ では蛍光スペクトルから推察されるように $ZnPP$ の分散が確認できた。

$rHTHPZnPP(6/6)$ および $rHTHPZnPP(1/6)$ について蛍光寿命測定を行った。結果として、その時定数はそれぞれ 1.43 ns および 1.56 ns であった。蛍光寿命が短くなり 1 重項励起状態同士の消光によるものと考えられる。次に、天然の光捕集系やモデル系ではより短い時間領域での 1 重項励起状態の消滅が知られているので、fs パルスレーザーを用いた過渡吸収スペクトル測定を実施した。 $rHTHPZnPP(1/6)$ においては 2 成分系として解析可能であり、約 100 ps と 1.5 ns の時定数の成分が観測された。100 ps の成分はまだ完全な帰属はできていないが、溶媒分子やアミノ酸残基へのエネルギー移動と考えることができる。これに対して $rHTHPZnPP(6/6)$ では約 100 ps と 1.4 ns の時定数の成分に加えて、非常に速い 5 ps の時定数の失活成分が確認された。またこの成分はレーザー強度に依存して成分比が大きく変化し、弱い励起光ではほとんど観測されなくなることから 1 重項同士の消滅によるものと帰属できる。またその時定数はこれまで報告されているモデル系 (0.5–20 ps)²⁻⁴ と近い値であり妥当な結果と言える。従って、本系はこれまでのモデル系と比較して、比較的単純な手法で調製でき、同等の性質を有していることを示唆した。

次にエネルギーマイグレーションが起こっているかを直接観察するためにメチルビオロゲン (MV^{2+}) を消光剤とする蛍光の消光実験を実施した。嫌気下でタンパク質に対して過剰量の MV^{2+} を添加した条件での測定を行い、その蛍光強度変化を Stern-Volmer プロットとして示したものが図 4 (b) である。これらのプロットにおける $rHTHPZnPP(6/6)$ と $rHTHPZnPP(1/6)$ の傾きはそれぞれ $21 M^{-1}$ および $9.2 M^{-1}$ であった。また蛍光寿命における時定数の変化に対しても同様に Stern-Volmer プロットを確認すると蛍光強度の結果とは対照的に $rHTHPZnPP(6/6)$ と $rHTHPZnPP(1/6)$ の双方において傾きは 0 であった。以上の結果から、非常に弱い結合で色素近傍に近づき、1 重項を失活させている静的消光であることが示された。したがって、蛍光強度における Stern-Volmer プロットの傾きは見かけの結合定数として解析でき、 $rHTHPZnPP(6/6)$ の見かけの結合定数の値が $rHTHPZnPP(1/6)$ の値の約 2 倍であることから、色素間のエネルギーマイグレーションが示唆された。

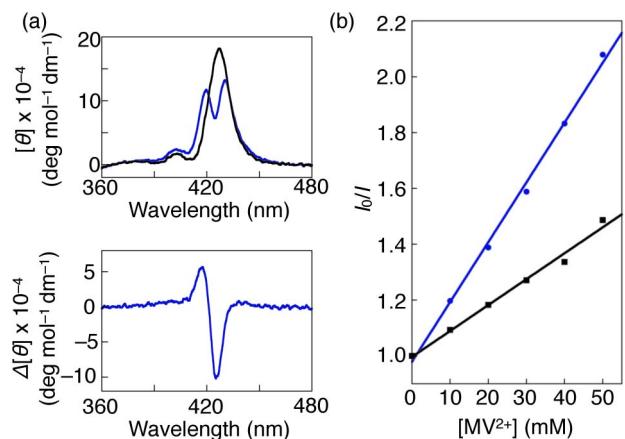


図 4. $rHTHPZnPP(6/6)$ (青)および $rHTHPZnPP(1/6)$ (黒) の (a) CD スペクトルと (b) MV^{2+} を消光剤とする Stern-Volmer プロット。(a) 図中下は $rHTHPZnPP(6/6)$ のスペクトルから $rHTHPZnPP(1/6)$ のスペクトルを差し引いた差スペクトル。

4. HTHP を基盤とする光捕集系の他のポルフィリノイド色素への応用

上記の項目で示した手法の汎用性を確認するために、天然のクロロフィルと骨格構造の近い亜鉛クロリン e6 ($ZnCe6$) を用いてアポ体の HTHP の再構成を行ない、 $rHTHPZnCe6(6/6)$ を調製した (図 5)。サイズ排除クロマトグラフィおよび動的光散乱から $ZnPP$ の場合と同様に 6 量体構造を維持していることを確認した。また蛍光スペクトルにおいて、アポ体の添加量に依存した蛍光強度の増加が確認され、 $ZnCe6$ も $ZnPP$ と同様に部分的に再構成された $rHTHPZnCe6(1/6)$ を調製可能であることが明らかとなっ

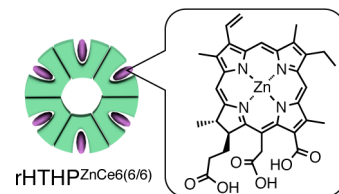


図 5. $ZnCe6$ の分子構造および $rHTHPZnPP(6/6)$ の模式図

た。CD スペクトルにおいても rHTHP^{ZnCe6(6/6)}と rHTHP^{ZnCe6(1/6)}の差スペクトルは正と負の分裂型のコットン効果を示し、ZnPP と同様にへム結合サイトに取り込まれていることが明らかとなった。また rHTHP^{ZnCe6(6/6)}の蛍光寿命が rHTHP^{ZnCe6(1/6)}よりも短く、fs レーザーによる励起では ps オーダーの 1 重項の失活を確認している。MV²⁺を消光剤とする Stern-Volmer プロットにおいても、静的消光により求まる rHTHP^{ZnCe6(6/6)}と rHTHP^{ZnCe6(1/6)}の見かけの結合定数はそれぞれ 1.2 mM⁻¹ および 0.47 mM⁻¹であり、色素集積化により見かけの結合定数の 2.6 倍の向上が見られ、ZnCe6 においても HTHP マトリクス中でエネルギーマイグレーションが起こっていることが示された。

5. まとめと展望

本研究の成果により 6 量体環状へムタンパク質である HTHP がポルフィリノイド系の光増感色素の集積化に有用であることを明らかにした。特に、タンパク質を鋳型あるいは足場とする系でエネルギーマイグレーションを示した系は少なく、超分子的で簡便な本手法は、様々なポルフィリノイド光増感剤のための有用な調製法となる可能性がある。今後、本系はさらに酸化還元触媒と組み合わせた太陽光エネルギーの化学エネルギーへの変換系の開発および天然光合成の作用機序への理解に貢献できると期待される。

謝辞

本研究は、大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻 林研究室にて実施しているものです。林教授には常日頃から多大なるご支援とご指導を頂いており、ここに厚く御礼申し上げます。また多くのアドバイスを頂いた同研究室の小野田晃准教授、実験を実施してくれた真島剛史君に心から感謝致します。蛍光寿命測定および fs レーザーを用いた過渡吸収測定、光化学に関する考察では同大学院同研究科生命先端工学専攻の福住教授および大久保特任准教授にご協力ご助言を頂いており、深く感謝致します。また本研究は、科研費の助成のもと行われました。

参考文献

- 1) Scholes, G. D.; Fleming, G. R.; Olaya-Castro, A.; van Grondelle, R. *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 763–774.
- 2) Hajjaj, F.; Yoon, Z. S.; Yoon, M.-C.; Park, J.; Satake, A.; Kim, D.; Kobuke, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4612–4623.
- 3) Aratani, N.; Kim, D.; Osuka, A. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1922–1934.
- 4) Yang, J.; Yoon, M.-C.; Yoo, H.; Kim, P.; Kim, D. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 4808–4826.
- 5) Miller, R. A.; Stephanopoulos, N.; McFarland, J. M.; Rosko, A. S.; Geissler, P. L.; Francis, M. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6068–6074.
- 6) Witus, L. S.; Francis, M. B. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 774–783.
- 7) Nam, Y. S.; Shin, T.; Park, H.; Magyar, A. P.; Choi, K.; Fantner, G.; Nelson, K. A.; Belcher, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1462–1463.
- 8) Endo, M.; Fujitsuka, M.; Majima, T. *Chem.—Eur. J.* **2007**, *13*, 8660–8666.
- 9) Onoda, A.; Kakikura, Y.; Uematsu, T.; Kuwabata, S.; Hayashi, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 2628–2631.
- 10) Oohora, K.; Onoda, A.; Hayashi, T. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11714–11726.
- 11) Jeoung, J.-H.; Pippig, D. A.; Martins, B. M.; Wagener, N.; Dobbek, H. *J. Mol. Biol.* **2007**, *368*, 1122–1131.
- 12) Komatsu, T.; Wang, R.-M.; Zunszain, P. A.; Curry, S.; Tsuchida, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16297–16301.

刺激応答性マルチブロック型交互両親媒性分子

東北大学多元物質科学研究所、JST さきがけ 村岡 貴博

1. はじめに

膜タンパク質の中には、リガンドとの吸脱着などの刺激に応答して物質透過性を可逆的にスイッチングするイオンチャネルが存在し、シグナル伝達の起点となる重要な働きをしている。このような動的な応答性を有するイオンチャネルの多くは、複数の α -ヘリックスが交互に膜を貫通した複数回膜貫通型構造と呼ばれる立体構造を有することが知られる^[1]。さらにこの立体構造は、親水部と疎水部が交互に並んだ分子配列からなる直鎖ペプチドがフォールディングすることで形作られていることも明らかと成っている。我々はここから着想を受ける形で、類似の立体構造を形作る合成分子を設計し、膜上で働く機能性分子の開発を行っている^[2]。本年1月号の本ニュースターでも報告したとおり、すでに合成分子で複数回膜貫通型構造を模倣することに成功し、さらにその模倣分子が熱的に開閉を行う超分子イオンチャネルを形成することを見出している^[2b]。最近、分子認識部位を導入した両親媒性化合物を用いて、膜タンパク質同様の有機リガンドに応答したイオン透過性のスイッチングに、合成分子で初めて成功した^[3]。さらにこの設計コンセプトで作られた環状両親媒性化合物が、熱に応答した興味深い結晶相転移を示すことを明らかにした^[4]。これら最近の研究成果について、ご報告させて頂きたい。

2. リガンド応答型イオンチャネルの開発

今回新たに、疎水部として不斉部位を介して2つの蛍光性ジフェニルアセチレン(DPA)を連結し、その先に親水的なオクタエチレングリコールを、リン酸エステルを挟んで結合した膜挿入分子 **1** を光学活性体として合成した。**1** は両末端にトリイソプロピルシリル(TIPS)基を有しているが、それを脱保護した **2** も合わせて合成した。光学活性体を用いることにより、円偏光二色性(CD)スペクトルを用いて構造に関する情報を得ることができるメリットが生まれる。また芳香族部の近傍にマイナスチャージを有するリン酸エステルを配置することで、フェネチルアミン (PA)などの芳香族アミンとの相互作用を期待した。まず **1, 2** のコンフォメーションについて、THF・水溶液中にて分光学的手法を用いて解析した。濃度一定(5.0 mM)の下、重THF および重THF/重水混合溶媒にて **1** の ¹H NMR を測定した所、重水の割合が増加するに連れて、芳香族プロトンに帰属されるシグナルが高磁場シフトした。Diffusion Ordered Spectroscopy (DOSY)測定による拡散係数測定から、これらの測定条件において分子集合体がほとんど形成されていないことが示された。従って、高極性溶媒中ではDPA部分が分子内で集合していることが示唆された。CDスペクトルの溶媒依存性についても調べた。THF中では弱いコットン効果しか見られなかったが、水の割合が増えるに連れて、260–320 nmのDPAの吸収領域のコットン効果が著しく増加した(図1a)。さらに水中において、0.034–3.4 μ Mの濃度範囲でCDスペクトルにほとんど変化が見られなかったことから、この増加したコットン効果は分子のキラルな構造に由来するものと考えられる。一般に2つの色素が近接している場合、強いコットン効果が見られることから、CDスペクトルからも **1** は水中においてDPA部分が分子内でスタックしたフォールディング構造を形成していることが支持された。**2** についても同様のスペクトル結果が得られたことから、水中でフォールディングしていることが示された。

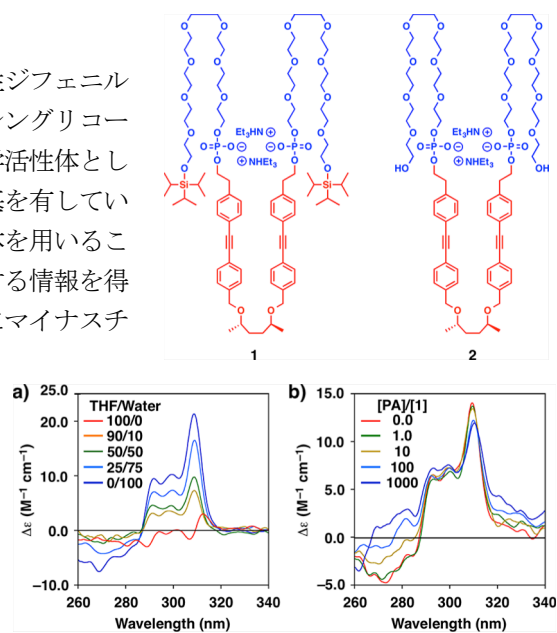


図1. CD spectral changes of **1** a) in the mixtures of THF and water, and b) in the addition of 2-phenethylamine (PA) in 20 mM HEPES buffer (pH 7.5).

続いて、**1**、**2** の脂質二分子膜への導入、および膜中でのコンフォメーションについて調べた。**1** または **2** をリン脂質 DOPC とクロロホルム中で混合し、溶媒留去後、水和することでベシクルを調整した。蛍光顕微鏡観察から、得られたベシクルの脂質二分子膜中に **1**、**2** が含まれていることが示された。スピンラベルされたリン脂質を用いた変異蛍光消光解析から、**1**、**2** いずれも DPA 部分が膜の内側に存在し、リン脂質のアルキル基とほぼ平行方向、つまり膜面に対しほぼ垂直方向を向いていることが示された。

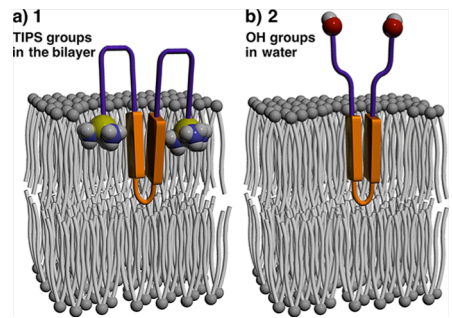


図 2. Schematic drawing of the conformations of a) **1** and b) **2** in a DOPC bilayer.

DOPC 脂質二分子膜中の **1**、**2** は、水中とよく似た CD スペクトルを示したことから (図 1b 赤線)、それらはフォールディングした構造で膜中に埋まっていることが示唆された。さらに分子末端の TIPS 基、水酸基が膜に埋まっているかどうかについて、単分子膜の π -A 等温線から分子専有面積を求めることで調べた。その結果、DOPC 中の **1**、**2** の分子専有面積 A_1 、 A_2 は 1.0 nm^2 、 0.43 nm^2 と算出された。 A_2 は、分子モデルから計算されるフォールディングした疎水部 (2つの DPA 部) の断面積 0.441 nm^2 と近いことから、**2** の疎水部はフォールディングした構造で膜中に存在し、水酸基は膜外にあることが示唆された (図 2b)。一方 A_1 は、2つの DPA 部と 2つの TIPS 基の断面積の合計 1.11 nm^2 とほぼ一致することから、**1** の TIPS 基は膜中に埋まっていることが示唆された (図 2a)。

リガンドとして PA を使い、脂質二分子膜中の **1**、**2** との相互作用について調べた。PA 添加に伴い、**1**、**2** いずれも CD スペクトル変化を示したことから、両者で相互作用していることが明らかとなった (図 1b)。またこの滴定過程を蛍光スペクトルでモニターした所、蛍光波長の長波長シフトが見られたことから、リガンドとの複合化により膜挿入分子が集合していることが示唆された。**1** と PA との解離定数は、ピアコア表面プラズモン共鳴 (SPR) システムから $370 \mu\text{M}$ と求められた。一方 **2** と PA との解離定数は、CD スペクトル変化から $577 \mu\text{M}$ と求められた。

このリガンドとの吸脱着によるイオン透過性変化について、平面膜系でのカリウムイオンをモニターする微弱電流測定により調べた。**1** を含む DOPC 脂質二分子膜は、 80 mV の電圧下においてほとんど電流を示さなかった (図 3a)。この平面膜の上部に PA を加えた場合も、ほとんど変化は見られなかった (図 3b)。ここで興味深いことに、平面膜下部にも PA を加えた場合、電流の大きな増加が見られた (図 3c)。ステップ状の電流プロファイルであったことから、イオンチャネルを通じたイオン透過が示唆された。Hille の式からイオンチャネルの内径は約 0.87 nm であることも算出された。 β シクロデキストリン (βCD) は水中で PA と相互作用することが知られる。そこで βCD を平面膜上部に加えた所、電流は著しく減少し、下部にも加えると電流はほとんど見られなくなった。その後 PA を平面膜両部に加えると、再び電流が観測された。従って、**1** は PA との複合化によりカリウムイオン透過性を向上させ、 βCD を用いて PA を外すことにより、可逆的に透過性をスイッチングできることが示された。この電流透過性の濃度依存性を調べ、Hill 解析を行った結果、Hill 係数は 3.1 と算出された。このこ

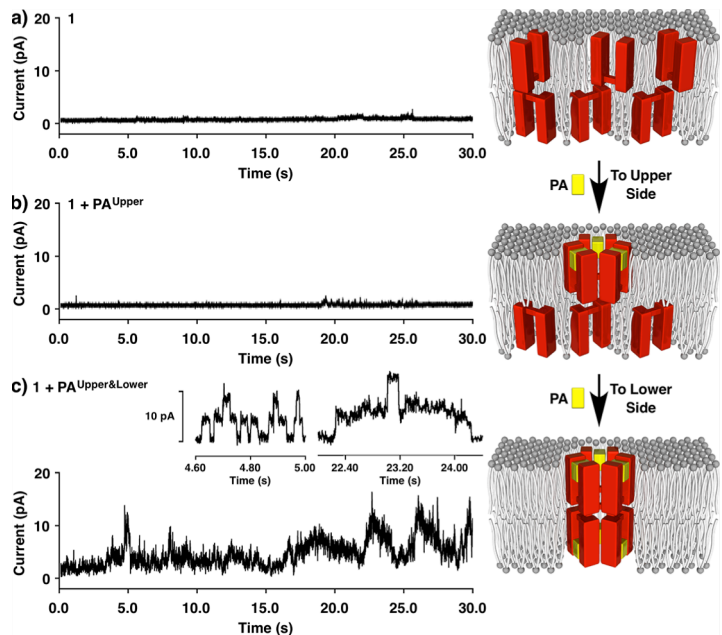
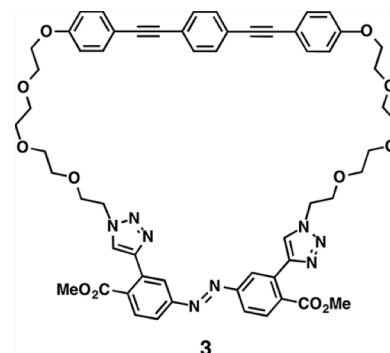


図 3. Conductance recordings at $+80 \text{ mV}$ of a DOPC bilayer containing **1** (10 nM) in HEPES buffer (20 mM , $\text{pH } 7.5$) a) before and b) after the addition of PA ($0.20 \mu\text{M}$) into the upper chamber (*cis*) c) followed by the addition into the lower chamber (*trans*) at $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

とから、**1**・PA 三量体が上下で重なることで超分子イオンチャンネルが形成されていることが示唆された。一方 **2** は、PA の有無に関わらずイオン透過性は見られなかった。上記の通り、**2** も PA と相互作用することから、**1** において膜に埋まっている TIPS 基がアンカーのように働き、チャンネル形成に有利な効果を与えているものと推察される^[3]。**1**・PA がイオンチャンネルを形成する完全なメカニズムは未だ明らかにできていないが、PA との複合化による **1** の電荷遮蔽やコンフォメーション変化が、静電相互作用や van der Waals 相互作用などによりハーフチャンネル形成を促し、それがさらに膜の上下で van der Waals 相互作用などによりスタックし、イオンチャンネル形成へとつながっているものと考えられる。

3. 温度応答単結晶-単結晶相転移によるミリメートルスケールでの結晶の機械的運動

親水部と疎水部が交互に並んだ交互両親媒性化合物に関する研究の中で、膜中での機能に加え、化合物そのものの物性についても興味湧き、その単純な分子として **3** を得た^[4]。興味深いことに、**3** は柔軟性の高いテトラエチレングリコール (TEG) を 2 本有し、比較的大きな分子であるにも関わらず、クロロホルムなどの溶液を蒸発させることで簡単に針状の単結晶を与えた。THF/ヘキサン蒸気拡散法により、mm から cm オーダーの巨大な単結晶を得ることに成功した。DSC によりこの単結晶の相転移を調べた所、422 K の融点に加え、333 K にも転移が見られた。融点以下からの冷却過程では、329 K に相転移が見られ、以降の加熱・冷却において可逆的なプロファイルが得られた。



温度変化に伴う結晶の変化を観察した所、予想外にも、結晶が 333 K の相転移点で折れ曲がり運動を示すことを発見した。図 4 は、長さ 2 cm 程度の針状単結晶を、片末端（写真右側）を固定した状態でホットプレート上に置き、横から撮影した写真である。326 K において直線状であった結晶が、相転移点をわずかに超えた 335 K で上へ曲がり、338 K で再び直線状へと戻った。冷却時も相転移点付近の 330 K で同様の折れ曲がり運動が見られた。このメカニズムを探るため、相転移前後 (273 K と 343 K) で X 線結晶構造解析を行った。273 K での解析から、結晶は *Pc* の空間群から成り、一对の **3** 分子が *a* 軸方向にスタックしていた。*a* 軸方向にはアゾベンゼンとビスフェニルエチニルベンゼン (BPEB) 部が交互に並び、その分子内、分子間での距離はそれぞれ 3.7, 3.5 Å であったことから、両者の間に π - π 相互作用が働いていることが示唆された。この解析に用いた単結晶を加熱し、343 K での構造解析を行った。空間群は 273 K と同じ *Pc* であった。興味深いことに、この相転移において TEG 鎖中のトリアゾール環に近い炭素原子 (図 5, 矢印) や BPEB 部に近い炭素原子がフリップしていることが明らかとなった。ポリエチレングリコールは温度変化に伴いコンフォメーションを変化させることが知られ、その効果が相転移につながったものと考えられる。対照的に、芳香族部の位置やコンフォメーションは、相転移前後でほとんど変化が見られなかった。こうしたコンフォメーション変化だけでなく、分子のパッキングにも変化が見られ、加熱過程において、特に *a*

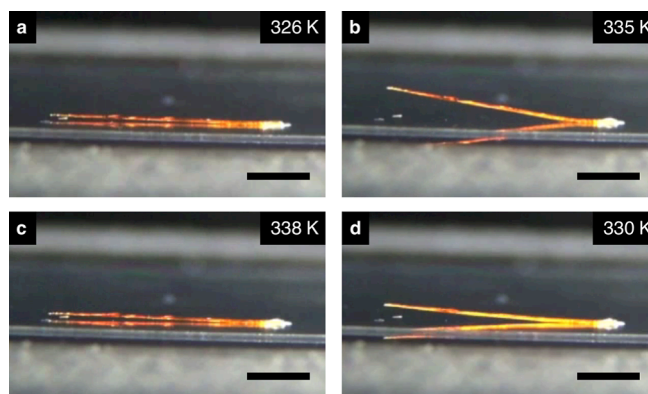


図 4. Snapshots of the macroscopic motion of a single crystal of **3** on a hot stage during a-c) heating and c,d) cooling processes between 326 and 338 K. Scale bars: 5.0 mm.

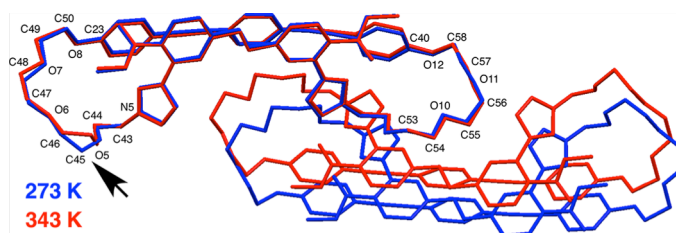


図 5. Merged X-ray crystal structures of **3** at 273 (blue) and 343 K (red).

軸方向にスタックしていることが示唆された。この解析に用いた単結晶を加熱し、343 K での構造解析を行った。空間群は 273 K と同じ *Pc* であった。興味深いことに、この相転移において TEG 鎖中のトリアゾール環に近い炭素原子 (図 5, 矢印) や BPEB 部に近い炭素原子がフリップしていることが明らかとなった。ポリエチレングリコールは温度変化に伴いコンフォメーションを変化させることが知られ、その効果が相転移につながったものと考えられる。対照的に、芳香族部の位置やコンフォメーションは、相転移前後でほとんど変化が見られなかった。こうしたコンフォメーション変化だけでなく、分子のパッキングにも変化が見られ、加熱過程において、特に *a*

軸の格子定数が最大の変化 (2.6%の伸び) を示した。ここで a 軸は、針状結晶の長軸方向に対応することから、ホットプレート上での加熱において、結晶下部から相転移が始まりその長さが伸びることが、結晶が曲がる原因であることが明らかとなった。さらに加熱を続けることにより、結晶全体が相転移する結果、内部の分布が均一となり直線状に戻ると考えられる。

Irie らにより、ジチエニルエテン誘導体からなる単結晶の光による屈曲運動が報告されている^[6]。この場合、紫外光、可視光照射にともなう閉環、開環反応が利用されている。Irie らは、結晶中の閉環体、開環体の分布勾配が分子パッキングの縮みや伸びを引き起こし、その結果、単結晶の屈曲運動につながっていると考察している。ここで密に詰まった色素分子による強い吸収などにより、光は結晶の内部まではほとんど届かない。従って光反応を用いる場合、結晶中の分子全てを異性化させ、分布勾配を解消することは技術的に困難であり、単結晶を直線状に戻すには、逆反応を引き起こす別の波長の光を照射する必要がある。つまり結晶の屈曲、再直線化には2つの刺激 (2波長の光) を用いる必要がある。これに対し本系の場合、熱は結晶全体へ伝わるため、最終的に分布勾配は解消される。従って、加熱 (または冷却) という1つの刺激だけで、結晶の屈曲と再直線化の両方を引き起こすことができる。また本系では、共有結合の組み換えは行われず、サブ Å スケールのコンフォメーション変化で mm スケールの結晶運動を引き起こしており、この点も特徴的である。

4. おわりに

イオンチャネルの研究において、膜タンパク質の構造を真似るという着想から、リガンド応答型のイオン透過スイッチというまさに膜タンパク質が行っている機能を模倣するに至った。溶液中と比べ、膜中の分子の測定手段は限られるが、分光学的測定や π -A 等温線解析、SPR 測定と様々な測定技術を駆使して、コンフォメーション、リガンドとの相互作用について詳細に解明することができた。その中で、分子末端の構造の違いがイオン透過性に大きく影響することは予想外の発見であった。また、膜挿入分子から派生する形で行った環状交互両親媒性化合物の研究は、偶然得られた単結晶から始まった。結晶が曲がる、とは全く予想しておらず、その発見の際は大変興奮した。最近 3 より一回り大きな類縁体も、興味深い相転移挙動を示すことが明らかとなり、今後もこの交互両親媒性化合物が持つ性質を解き明かしていきたいと考えている。

5. 謝辞

本研究は東北大学多元物質科学研究所 生命類似機能化学研究分野 金原数教授の研究室で行った成果であり、金原教授のご指導に心から感謝の意を表します。イオン伝導度測定では、東京大学大学院工学系研究科の野地博行教授、田端和仁講師にご協力頂きました。ピアコア SPR 測定では、東京大学大学院工学系研究科の津本浩平教授、長門石曉助教にご協力頂きました。X 線結晶構造解析では、東北大学多元物質科学研究所の芥川智行教授、星野哲久助教にご協力頂きました。ここに厚く御礼申し上げます。最後に、研究遂行にご助力頂いた遠藤貴宏氏、嶋建也氏をはじめ研究室メンバーに深く感謝致します。

6. 参考文献等

- [1] B. K. Kobilka *et al.* *Nature*, **2007**, *450*, 383.
- [2] (a) T. Muraoka, T. Shima, T. Hamada, M. Morita, M. Takagi, K. Kinbara, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 194; (b) T. Muraoka, T. Shima, T. Hamada, M. Morita, M. Takagi, K. V. Tabata, H. Noji, K. Kinbara, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 19788; (c) T. Shima, T. Muraoka, T. Hamada, M. Morita, M. Takagi, H. Fukuoka, Y. Inoue, T. Sagawa, A. Ishijima, Y. Omata, T. Yamashita, K. Kinbara, *Langmuir*, **2014**, *30*, 7289; (d) T. Shima, T. Muraoka, K. V. Tabata, H. Noji, K. Kinbara, *Pure Appl. Chem.*, **2014**, *86*, 1259.
- [3] T. Muraoka, T. Endo, K. V. Tabata, H. Noji, S. Nagatoishi, K. Tsumoto, R. Li, K. Kinbara, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 15584.
- [4] T. Shima, T. Muraoka, N. Hoshino, T. Akutagawa, Y. Kobayashi, K. Kinbara, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 7173.
- [5] D. M. Cortes, L. G. Cuello, E. Perozo, *J. Gen. Physiol.*, **2001**, *117*, 165.
- [6] (a) S. Kobatake, S. Takami, H. Muto, T. Ishikawa, M. Irie, *Nature*, **2007**, *446*, 778; (b) M. Morimoto, M. Irie, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 14172.

DNA 四重鎖は転写の二次情報を保持しているか？

甲南大学 先端生命工学研究所 (FIBER) 建石 寿枝

1. はじめに

遺伝情報が伝達される機構を解明することは、ヒトゲノム計画によって公表されたゲノムの一次情報を活用するための重要な課題である。遺伝情報伝達に重要な転写過程では、RNA ポリメラーゼが鋳型となる DNA の二重鎖をほどこきながら移動し、DNA の塩基配列を読み取って RNA を合成する。この際、RNA ポリメラーゼの動きは一定ではなく、RNA ポリメラーゼの移動速度が急激に低下する“Pause”、RNA ポリメラーゼの動きが完全に滞る“Arrest”や、DNA 上をすべる“Slippage”が起こる^[1]。一般的に、“Pause”が起こると RNA の生産量が低下し、“Slippage”では、転写される RNA の鎖長が長く（または短く）なり、また“Arrest”では RNA ポリメラーゼの動きが停止した部位で切り離された短い RNA が産生される。このような RNA 産生に関わる変化を転写変異といい、例えば、ヒトの中枢神経系におけるβ-アミロイド前駆体タンパク質の遺伝子や低リポタンパク血症や血友病に関わる遺伝子において転写変異が報告されており、変異した RNA の産生と疾患発症の関連を調べる研究が行われている^[2]。

転写変異を引き起こす部位は、DNA の配列すなわち一次情報によって決まっていると考えられている（図 1）。DNA の標準的な構造は二重鎖であるが、DNA は三重鎖、四重鎖、十字型などの非標準構造も形成できる。このような非標準構造は特定の塩基配列で形成され、例えば、グアニンの連続配列では四重鎖が形成されることがある。近年、鋳型 DNA 上における非標準構造の形成によっても転写変異は引き起こされることが明らかになった^[3]。興味深いことに、従来から報告されている転写変異を起こす DNA 配列よりも、四重鎖などの“構造”を介して誘起される転写変異は Arrest を誘起する効率が高い^[3]。我々の研究所 (FIBER) では、細胞内を模倣した溶液環境下では、二重鎖は不安定化されるが、四重鎖をはじめとする非標準構造は安定化されることを見出している^[4]。溶液環境は細胞周期によって著しく変化するため、細胞内では環境変化にตอบสนองして DNA 構造も変化している可能性がある（図 1）。このような DNA の“構造”が遺伝子発現をはじめとする生命現象を調整する役割をもつのではないかと我々は着想し、FIBER では研究を遂行している。従来の転写変異の研究では転写産物 RNA の発現量や塩基配列の変化が注目されてきた。しかし、転写された RNA は 1 本鎖であるが、RNA のフォールディング（折り畳まれ方）は RNA の機能発現や翻訳効率に重要である。そこで我々は、転写の鋳型となる DNA は、塩基配列という一次情報を有するだけでなく、DNA の“構造”によって転写 Arrest を誘起して転写される RNA の構造を変え、時間軸に沿って遺伝子発現を調節する Timeline Code としての機能を有しているのではないかと仮説を立てた。

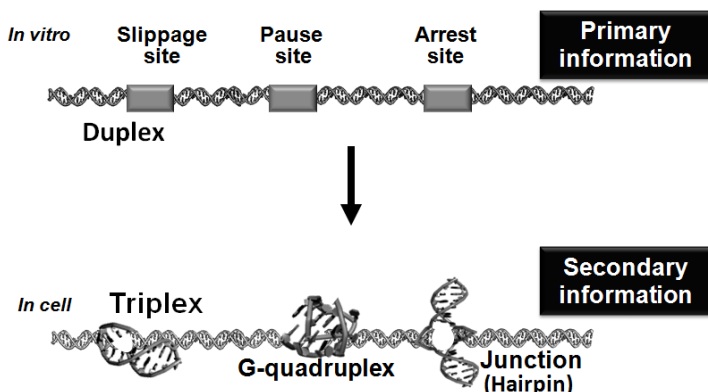


図 1. 試験管内での DNA 二重鎖の構造と細胞内環境での DNA の構造多様性

2. DNA 四重鎖は転写変異を誘起する

まず DNA 四重鎖構造が転写変異に及ぼす影響を解析するため、同じループ配列をもち、G-カルテットの枚数を、2、3、4 と変化させた四重鎖を設計し、これらの構造と熱安定性を円二色性分散計と紫外可視分光光度計を用いて解析した。その結果、四重鎖はアンチパラレル型、ミックスド型、パラレル型と異なる構造

(トポロジー) をもち、また、それぞれ安定性も異なることが示された (図 2)。そこで、これらの四重鎖を形成する配列 (図 3a、X 部位) を T7 プロモーター配列の下流に挿入した 6 種類の鋳型 DNA と四重鎖を形成しない Linear 配列を設計した (図 3b)。転写実験では、T7 RNA ポリメラーゼを用いて、それぞれの鋳型 DNA からマルチターンオーバーの条件で転写反応を 90 分間行い、転写された RNA を変性 PAGE (UREA-PAGE) に展開して転写産物 RNA を解析した (図 4)。その結果、どの鋳型

DNA から転写を行った場合でも、転写が鋳型 DNA の 3' 末端まで進行したことを示す全長の転写産物 RNA (70 塩基) が確認された (図 4、レーン L、Q1~Q6)。さらに、四重鎖を形成する鋳型 DNA からは、Slippage または Arrest に由来する産物 RNA も確認され、四重鎖が転写変異を誘起することが示された。特に、Q3、

Q5、Q6 の安定な四重鎖を形成する鋳型 DNA では、全長転写産物 RNA の生産量が顕著に (50% 以下) 低下した (図 4、レーン Q3、Q5 及び Q6)。さらに、これらの鋳型 DNA から転写された

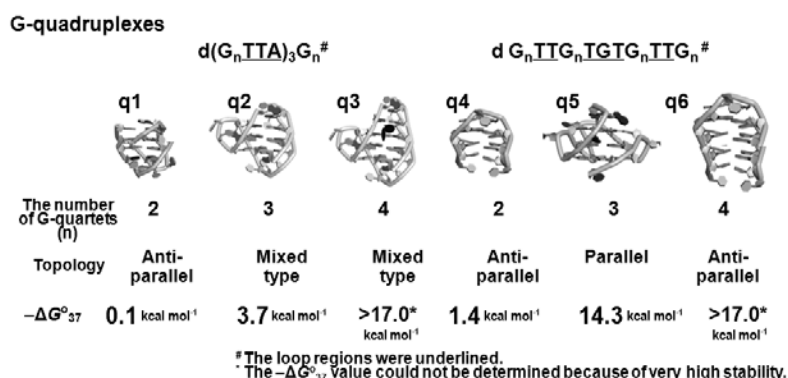


図 2. 鋳型 DNA 鎖中に形成される四重鎖の構造とその安定性。

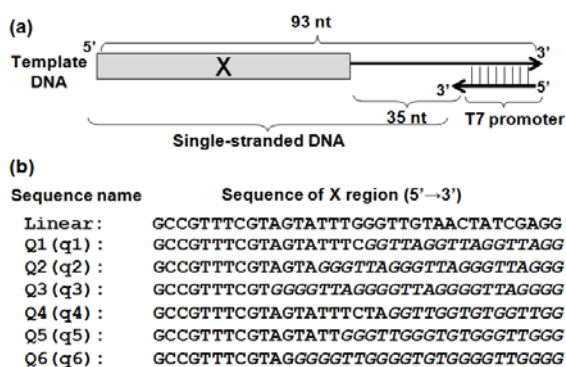


図 3. (a) 四重鎖を形成する DNA 配列領域 (X) を挿入した鋳型 DNA の配列。(b) X 領域の配列とそれぞれの配列名。

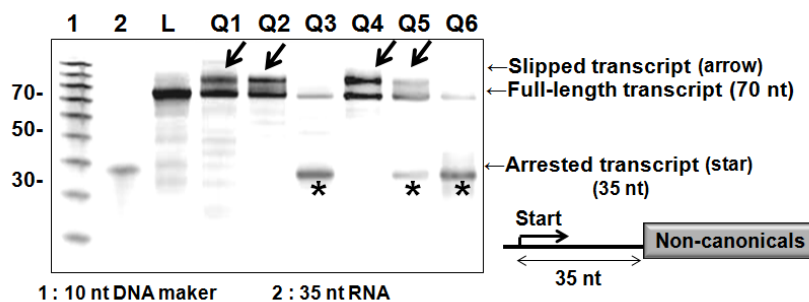


図 4. 四重鎖構造を形成する鋳型 DNA 鎖から転写された RNA の電気泳動解析。転写反応は、マルチターンオーバーの条件で 30 mM KCl, 40 mM Tris-HCl (pH 8.0), 8 mM MgCl₂, and 2 mM spermidine を含む溶液で行われた。完全長の転写産物 (Run-off)、転写反応途中での終結 (Arrest) および滑り現象 (Slippage) を起こした産物の位置を星印及び矢印で示した。レーン L は鋳型 DNA である Linear から、レーン Q1-Q6 はそれぞれの鋳型 DNA から転写された転写産物 RNA を泳動させた。

産物では、RNA ポリメラーゼが鋳型 DNA 上で転写を一定時間停止し (Arrest)、鋳型 DNA から解離したと思われる短鎖の転写産物 RNA も確認された (図 4、Q3、Q5 及び Q6 における星印)。また、Q3、Q5 及び Q6 中の四重鎖はトポロジーがすべて異なることから、Arrest が誘起されるか否かは四重鎖のトポロジーではなく、安定性によって決まっていることがわかった。つまり、鋳型 DNA に安定な四重鎖が形成されると、RNA ポリメラーゼが四重鎖を解離させることができずに鋳型 DNA 上で停止し、Arrest が誘起されると考えられる^[3]。

3. DNA 四重鎖は転写産物 RNA の構造と機能を制御する

リボザイムは基質となる RNA を切断する酵素活性をもつ RNA であり、リボザイムを含めた鎖長の長い RNA は最安定な構造の他に準安定な構造も形成する。正しくフォールディングされたリボザイムは、基質 RNA と結合し、切断反応に対して活性のある構造を形成した後、基質 RNA が切断される。一方で、ミスフォールドされた準安定な構造のリボザイムも基質と結合するが、このような複合体は基質を切断できない^[5]。そのため、基質 RNA の切断効率によって正しくフォールディングされた RNA の量を見積もることができる。そこで、DNA 四重鎖による転写 Arrest が RNA のフォールディングに及ぼす影響を定量的に解析するために、鋳型 DNA である Linear および Q5 の X 部位 (図 3a) の上流に、ミスフォールディングしやすいとされるリボザイム配列 Rz を導入した鋳型 DNA (L_Rz および Q5_Rz) を設計した。四重鎖を形成しない L_Rz では、転写開始から

Run-offまでの時間は0.5秒以下である。そのため転写された RNA は、転写後にフォールディングすると考えられる。一方で、リボザイム RNA が転写された直後に四重鎖によって Arrest が引き起こされれば、転写中にリボザイム RNA のフォールディングが進行すると考えられる (図 5)。

まず、設計した鋳型 DNA

を用いて転写を反応行い、転写反応終了後 (120 分後)、基質 RNA を添加し、各時間の切断産物 RNA をゲル電気泳動にて定量化した。その結果、リボザイムによる基質 RNA の切断反応は 15 分後に飽和し、L_Rz から転写されたリボザイムは全基質 RNA 量の 36% しか切断できなかった。すなわち、L_Rz から転写されたリボザイムは 36% 正しくフォールディングしているが、64% はミスフォールドしていることがわかった。一方で、リボザイム配列の下流に四重鎖をもつ Q5_Rz から転写されたリボザイムでは、切断された RNA 量は全基質の 74% まで増大した。さらに、DNA 四重鎖がより安定化されるように、溶液の KCl の濃度を 30 mM から 50 mM に上げた溶液中でも Q5_Rz の転写反応をおこなった。その結果、切断された RNA 量は全基質の 80% となり、鋳型 DNA の四重鎖が安定であるほどリボザイムの基質切断の効率が上昇することが示された。

転写中の RNA ポリメラーゼはリボザイムの配列を転写した後、四重鎖の手前で一旦 Arrest される (図 5)。リボザイム配列の 5' 側の部位にミスフォールドしやすい塩基配列が存在するため、四重鎖によって転写が一旦停止することで、ミスフォールドしやすい塩基配列でも正しくフォールディングされるのではないかと考えられる。これらの結果から、鋳型 DNA の四重鎖が転写 Arrest を介して転写産物 RNA の構造及び機能を変える新しい機構が実験的に示された。

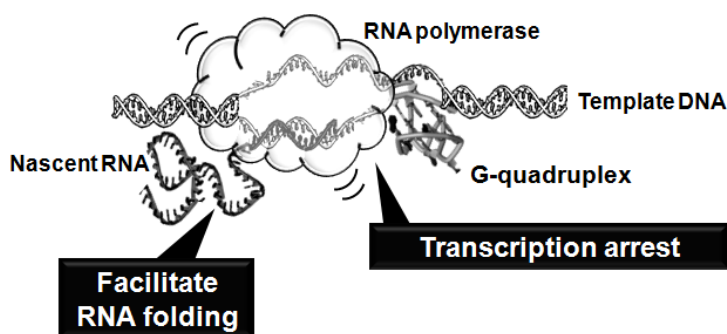


図 5. DNA 四重鎖による転写 Arrest と転写された RNA のフォールディング

4. おわりに

本稿では、FIBER で注目している非標準構造に制御される生命現象の一例として、四重鎖が転写変異に及ぼす影響について紹介した。本稿では、四重鎖の影響を定量化するために、シンプルなモデル DNA 配列を用いたが、四重鎖を形成可能な配列はヒトのゲノム配列上に 30 万カ所も存在する^[6]。例えば、ヒトの rRNA は生命活動の維持において必須の RNA であるが、鋳型 DNA にグアニン連続配列を多く含むため、*in vitro* 実験では正しく転写されにくいと予測される。さらにこの RNA の二次及び高次構造は非常に複雑であるため、どのようにフォールディングされているのかは明らかになっていない。興味深いことに、rRNA の鋳型 DNA の配列には四重鎖を形成可能な部位が複数箇所存在している。四重鎖によって転写速度を調整することで、複雑な rRNA の構造を正しくフォールディングさせる機構があることを、本研究結果は推測させる。さらに、近年、細胞内で転写された RNA 自身が四重鎖を形成する場合、翻訳されるアミノ酸の配列や鎖長が変化することも見出され^[7]、遺伝子発現機構における非標準構造の重要性が認知されつつある。

核酸の構造は化学的観点からも非常に興味深い。二重鎖の構造形成には、核酸塩基間の水素結合・スタッキング相互作用が重要であることは言うまでもないが、核酸の水和やカチオンとの結合も構造安定性を決める重要な因子である。特に非標準構造の形成には核酸と水やカチオンの相互作用が重要であり、これらの相互作用は溶液環境（塩濃度・共存溶質の濃度）によって顕著に促進（または抑制）される^[8]。生命は、核酸の標準構造である二重鎖に遺伝情報を保持する役割を託した。二重鎖構造が Watson と Crick によって見出されてから 60 年が経過し、解析されたゲノム配列（一次情報）を基に医療・診断を行う技術が確立されつつある。一方で、核酸の非標準とされる構造に対しても解析が進められ、細胞内での周辺環境変化によって化学的相互作用が変化し、核酸の“構造”が調整されている可能性が示唆されている。生命は、二重鎖では果たせない転写・翻訳などの生命現象を制御するという“機能”を核酸の非標準構造に託しているのではないか。この非標準構造に秘められた機能を化学的に解き明かすことで、核酸を医療・産業分野で応用できる技術を開拓できると期待される。

謝辞 本研究の遂行にあたり、熱心なご指導を賜りました甲南大学 FIBER 所長 杉本直己教授に心から感謝申し上げます。本研究の一部は、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業、科学研究費補助金（No. 24245033 および No. 26810094）、公益財団法人ひょうご科学技術協会および甲南学園平生太郎基金科学研究奨励助成金からの助成により実施されました。

[参考論文]

- [1] J. W. Shaevitz, E. A. Abbondanzieri, R. Landick, S. M. Block, *Nature* **2003**, 426, 684-687.
- [2] aK. J. Howe, C. M. Kane, M. Ares, Jr., *RNA* **2003**, 9, 993-1006; bJ. Strathern, F. Malagon, J. Irvin, D. Gotte, B. Shafer, M. Kireeva, L. Lubkowska, D. J. Jin, M. Kashlev, *J Biol Chem* **2013**, 288, 2689-2699.
- [3] H. Tateishi-Karimata, N. Isono, N. Sugimoto, *PLoS One* **2014**, 9, e90580.
- [4] aH. Tateishi-Karimata, S. Nakano, N. Sugimoto, *Curr Protoc Nucleic Acid Chem* **2013**, Chapter 7, Unit7 19; bH. Tateishi-Karimata, S. Pramanik, S. Nakano, D. Miyoshi, N. Sugimoto, *ChemMedChem* **2014**, 9, 2150-2155.
- [5] S. Nakano, H. T. Karimata, Y. Kitagawa, N. Sugimoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 16881-16888.
- [6] J. L. Huppert, S. Balasubramanian, *Nucleic Acids Res* **2005**, 33, 2908-2916.
- [7] aT. Endoh, Y. Kawasaki, N. Sugimoto, *Angew Chem Int Ed Engl* **2013**, 52, 5522-5526; bT. Endoh, Y. Kawasaki, N. Sugimoto, *Nucleic Acids Res* **2013**, 41, 6222-6231.
- [8] aH. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, *Angew Chem Int Ed Engl* **2012**, 51, 1416-1419; bH. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, *Nucleic Acids Res* **2014**, 42, 8831-8844.

第2回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム 開催報告

(第29回生体機能関連化学部会若手フォーラム)

若手フォーラム世話人代表
愛媛大学 総合科学研究支援センター 森 重樹

第2回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラムは、生体関連若手会中国・四国支部の森 重樹(愛媛大学)、池田 俊明(広島大学)、前田 千尋(岡山大学)、及びバイオテクノロジー部会から齋藤 真人(大阪大学)が世話人となり、9月10日(水)に岡山大学津島キャンパスにおいて開催いたしました。昨年に引き続き、生体機能関連化学部会だけではなく、バイオ関連シンポジウムに参加するバイオテクノロジー部会、フロンティア生命化学研究会、ホスト・ゲスト・超分子化学研究会からも発表を募集いたしました。その結果、学生50名、一般20名、招待講演者4名、計74名の非常に多くの方にご参加いただきました。

今回は最先端で活躍する化学、生化学の分野から4名の先生を講師としてお招きし、それぞれ「フラーレンおよびフラーレン誘導体を用いる光線力学治療薬を目指して」(池田 篤志 先生 広島大学)、「固相ケミカルツールを用いた標的タンパクの選択的単離・機能化法の開発」(高橋 大介 先生 慶應義塾大学)、「誘導ラマン散乱顕微鏡による無標識生体イメージング」(小関 泰之 先生 東京大学)、「環境微生物の有用活用および共生細菌の機能解明」(モリ テツシ 先生 早稲田大学)というタイトルで講演いただきました。また、一般口頭発表として「UNDERSTANDING TOPOISOMERASES: NANOROBOT MAGICIANS OF THE ENZYME WORLD」(Dr. Jonathan G. Heddle 理化学研究所)というタイトルでご発表いただきました。講演はどれも興味深く、会場の方からも活発な議論が飛び交い大いに盛り上がりました。また、モリ先生と Dr. Heddle には英語にてご講演いただきました。これからグローバルに活躍することが期待される学生や若手研究者にとって、とてもよい刺激になったと思います。



ポスター発表は講演に引き続いて行われ、42件（うち学生38件）もの発表をいただきました。こちらにも講演と同様に非常に活発な議論が行われました。また、今回も優秀なポスター発表に対して学生ポスター賞の授与を行いました。審査には招待講演者も含め、16名の先生にご尽力いただきました。その結果、特に優秀な発表と認められた中島 彩夏さん（名古屋大学大学院理学研究科）と藤田 健太さん（東京工業大学大学院生命理工学研究科）の2名を学生ポスター賞受賞者として表彰するとともに、バイオ関連化学シンポジウム懇親会に招待いたしました。また、ポスター発表終了後にはおよそ一時間半の懇親会を行いました。スケジュールの都合で少し短い時間でしたが、講演会場とはまた違った盛り上がりを見せ、研究室・身分の垣根を超えた交流ができました。実際に、この若手フォーラムをきっかけに共同研究への展開を考えているという声もありました。若手フォーラムを通じて普段関わり合いの少ない学生、研究者間で交流が生まれ、新しい化学の発展に寄与することができましたら幸いです。



最後に、本会の運営と開催に関しましてご協力頂きました世話人の方々、若手会幹事の方々、ならびに日本化学会 坂下 修一 様に厚く御礼申し上げます。また、合同若手フォーラムの件をご快諾頂きました日本化学会生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、フロンティア生命化学研究会、ホストゲスト・超分子化学研究会の先生方に厚く御礼申し上げます。さらに、事前準備や当日の運営でお世話になった岡山大学依馬研究室、広島大学灰野研究室の皆様、および生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、公益財団法人サントリー生命科学財団、中国ケミー株式会社のご支援に感謝いたします。

第8回バイオ関連化学シンポジウム開催報告

岡山大学（実行委員長）大槻高史

2014年9月11日から9月13日までの間、岡山大学・津島キャンパスにおいて、第8回バイオ関連化学シンポジウムが開催されました。今回のシンポジウムは、第29回生体機能関連化学シンポジウム、第17回バイオテクノロジー部会シンポジウム、第17回生命化学研究会シンポジウムでもあり、日本化学会の3つの部会・研究会（生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、フロンティア生命化学研究会）およびバイオテクノロジーディビジョンの主催で行われました。

晴れの国おかやま（雨の日数が少ない県なのでこう呼ばれています）らしく晴天に恵まれ、449名もの参加者が集まりました。実行委員を代表して、参加者の皆様に厚く御礼申し上げます。今回、招待講演2件、口頭発表110件、ポスター発表214件が行われ、3日間に渡り活発な討論が行われました。一般発表は岡山大学津島キャンパス一般教育棟で行い、招待講演だけはバスで移動して岡山全日空ホテルで行いました。その後、同ホテルで懇親会も行いました。シンポジウムへの参加者数は地方には若干多めかと思われる程度でしたが、懇親会への参加者数が予想より大幅に多かったことは嬉しい誤算でした。しかしその結果、料理が少ないと感じた方がいたかもしれません。お詫び申し上げます。

一般講演においては、40歳以下の大変優れた若手研究者4名に対して、部会講演賞が授与されました。審査委員長の片山佳樹先生より報告がありますので、詳細はここでは省略します。片山先生および審査委員の先生方、お疲れ様でした。



最後に、本シンポジウム開催にあたりご支援をいただきました多数の企業・団体に厚く御礼申し上げます。また、実行委員の先生方（岡山大学の依馬正教授、世良貴史教授、渡邊和則助教、前田千尋助教、岡山理科大学の永谷尚紀准教授）および日本化学会の坂下修一氏には、様々な面でご協力・ご尽力いただいたことを御礼申し上げます。

なお、来年のバイオ関連化学シンポジウムは、井原敏博先生を実行委員長として、熊本大学で開催される予定です。本シンポジウムおよび本研究分野の今後の益々の発展を祈っております。

「第8回バイオ関連化学シンポジウム講演賞」講評

第29回生体機能関連化学シンポジウム・第17回バイオテクノロジー部会シンポジウム・第17回生命化学研究会シンポジウム合同シンポジウム講演賞

審査委員長 片山 佳樹
九州大学大学院工学研究院

本講演賞は、これまで日本化学会生体機能関連化学シンポジウムあるいはバイオ関連合同シンポジウムにおいて3、4件の優れた若手研究者の講演に対して授与されてきました。今回のシンポジウムは生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、フロンティア生命化学研究会が合同で行ったものであり、講演賞は第8回バイオ関連シンポジウム講演賞となります。大槻先生を実行委員長として岡山大学でおこなわれた本会が多様な分野から500名以上の参加者を集め大盛況であったことを反映し、講演賞に応募された研究者の分野は多岐にわたりました。ペプチド・蛋白・酵素、分子認識・超分子・モデル系、核酸関連、分析・計測・センサ・デバイスの四つのカテゴリーに分類された講演賞の応募は、23件と大変な激戦でした。どの講演も高い研究レベルで、独創性も高く、発表もよく工夫されたもので、審査委員は良い意味で大変頭を悩ませ、選考委員会でも大激論が交わされました。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、結果の新規性、発表の（異分野研究者も意識した）分かりやすさ、質疑応答などの観点から厳正に審査を行いました。世界標準の視点で見た研究レベル（質・量ともに）の高さを大前提とした評価で、特に優れた4件を講演賞として選出しました。ただ、選に漏れた講演も、どれも受賞してもおかしくないレベルであったことを申し添えます。そのテーマにかける本人の情熱、研究の意義、独創性と波及効果を非専門の人にも分かってもらいたいという熱意が、どれだけ審査委員に届いたかが大きなウエートを占めたと思われます。このような機会が、受賞された方だけでなく、多くの若手の皆さんのますますの活躍につながればと願っています。

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

受賞講演者-発表演題(五十音順, 敬称略)

大洞 光司 (阪大院工)

「ヘムタンパク質環状集合体の補因子置換による光捕集系の構築」

建石 寿枝 (甲南大FIBER)

「DNA 四重鎖は転写の二次情報を保持しているか？」

松長 遼 (東大院新領域)

「還元環境に応答して重合する蛋白質Protein shackleの開発」

村岡 貴博 (東北大多元研)

「PEGの構造修飾によるタンパク質関連機能の展開」

ニュースレター Vol. 29, No. 3 2014年 12月 9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：島本啓子、高木昌宏、伊東 忍