

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. 30, No.1 (2015. 6. 11)

目 次

- ◇ 巻 頭 言 林 高史 1
- ◇ 研 究 紹 介
- 生体内でクスリを『つくる』酵素封入PIC型ナノリアクターの創製・・・安楽泰孝 3
- ドメインスワップしたミオグロビン二量体のデザインと性質.....長尾 聡 7
- 共焦点顕微ラマン分光法を用いた微細藻類の生体分子イメージング・・・梁 越 11
- ◇ 部会行事
- 第 27 回 生体機能関連化学部会「若手の会サマースクール」開催案内
- 第 3 回 バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム開催案内
- 第 9 回 バイオ関連化学シンポジウム開催案内
- ◇ お知らせ
- 第 95 春季年会 優秀講演賞・学生講演賞 受賞者
- 平成 27 年度 生体機能関連化学部会役員
- 平成 27 年度 生体機能関連化学部会若手の会支部幹事

約30年前のベルティーニ教授との出会い

大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻

林 高史

この時期になると、1986年6月初旬、朝霧のローマ空港に到着したことを思い出す。当時は、まだヨーロッパ直行便は運航されておらず、安価な南回りのルートを選び、途中で飛行機を乗り換えて、約40時間の長旅だった。あのころ、もちろんインターネットもFAXもなく、今のように旅行の前に行き先の風景や建物の様子を画面で調べするなど、とても想像すらできなかった。めざすはフィレンツェ。しかし、海外旅行は初めてで、ローマ空港からどうやってフィレンツェに行けば良いか、全く知らないままに、伊丹空港から搭乗した。とにかくローマに到着すれば何とかなるだろう、と樂觀視していたわけではなく、事前に日本では十分な情報が得られなかったのも、どうしようもなかったというのが正直なところであった。とりあえず人の流れに従い、バスで1時間ほどゆられてローマ駅(テルミニ)に到着し、そこから、身振り手振りでなんとかフィレンツェに行く列車を教えてもらい、さらに3時間半ほどかけて、ようやく夕方フィレンツェ駅に到着した。目的地はフィレンツェ大学化学科だったが、実は、大学が街のどこにあるのかを全く知らず、地図も持ち合わせおらず、今から思えば無謀そのものであった。しかし、フィレンツェ駅のホームにおりたとき、背の高い若い青年が近づいてきて、私の名前を呼びかけてくれた。彼は、私が滞在するラボの博士課程の学生だったのである。彼は、ボスの指示でお昼前から延々と数時間、どの列車に乗って来るかも見当がつかない東洋のちっぽけな学生を、プラットホームで待ち続けていたのである。私はあこのとき、迎えに来てくれる人がいることを予想していなかったのも、初めての海外で、長旅の疲れもあり涙が出るほどうれしかったのを今でも鮮明に覚えている。

さて、前置きが長くなってしまったが、私は翌日からベルティーニ教授の研究室で常磁性NMRの勉強を始めた。ベルティーニ教授は、当時まだ40代半ばであったが、貫禄は十二分で、第1回の生物無機化学国際会議(ICBIC1)を主催した直後であり、ちょうど国際生物無機化学会(SBIC)を立ち上げた第一人者だった(あとになって私はベルティーニ教授の偉業を知ったのであるが)。私はそのとき、まだ大学院修士課程の2回生であり、常磁性のNMRってなんだろう？、生物無機化学ってどんな学問？という情けない状態で、いきなり地球の裏側で新しい科学の分野に触れることになった。しかし、その時の数々の貴重な経験が、今の自分が生物無機化学の分野に進む後押しをしてくれているように思う。ところで、約30年前、まだ修士の学生だった私は、欧米は日本のラボに比べたら格段に環境が整っていて、日本では見たことのないような機器がずらりと並んでいる、という幻想と希望を抱いていた。しかし、ベルティーニ教授のラボを訪れて、えっ？、と学生の私でも驚愕してしまった。ラボには、タンパク質を精製するゲル濾過カラムとイオン交換カラムが数本、それもコールドルームもチャンバーもなく、冷房施設もない暑い研究室の実験台に無造作に立てられていて、あとは、バッファーを作るピーカーやフラスコと、古めかしい巨大な鉄の塊のCaryのUVが一台鎮座してい

るだけであった。そして、隣のぼろぼろの建物の中に、90 MHz の電磁石の NMR が一台だけ。ベルティーニ教授は、実は残念ながら3年前の7月に他界したのであるが、生前の彼を知っている多くの研究者は、彼がヨーロッパ最大級の NMR 研究施設を構え、900 MHz をはじめ、沢山の NMR を所有し、遺伝子工学や、バイオインフォマティクスと構造生物学を駆使して、生体内の金属の挙動や役割の解明をフロンランナーとして活躍していたことを覚えておられるであろう。しかし、私が滞在した約30年前は貧素なラボで、古い電磁石の90 MHz 1台のみで、やりくりしていたわけである。しかし、強調したいことは、ベルティーニ教授はその時すでに構造生物学と生物無機化学を融合した研究成果で200報近い論文を発表し、生物無機化学および構造生物学のリーダーとして活躍しており、今になって思えば、驚くべき事であった。短い留学期間であったが、ベルティーニ教授の研究室で学んだことは、常磁性 NMR の測定法はもちろんだが、論文は必ずしも設備（機器）や研究環境に依存せず、如何に斬新なアイデアと着眼点を確実に研究成果に結びつけるか、また有機的な共同研究を主催するか、という研究への取り組みであった。もちろん、最先端の研究設備は、今まで見る事が出来なかった現象や構造等の新しい世界を我々にいざない、研究が飛躍的に進むことは多々ある。彼も、晩年は大型の NMR を駆使して、複雑なタンパク質の構造を次々に解き明かしていたが、その研究の根幹というか、源流は決して最先端の機器によって得られた産物ではなく、フィレンツェのごちゃごちゃした街中の小さなラボで誕生していたと言っても過言ではないことが、30年経った今、ようやく理解できたような気がする。

さて、私の回顧はともかく、現在の我々の研究を取り巻く環境はどうであろうか。たしかに、この30年、研究設備・施設的环境は大きく向上した（もちろん、まだまだ改良の余地は多分にあるが）。その結果、たしかに研究の進展も大きく加速した。もうひとつ、30年前と大きく違うのは、「時間」のファクターである。地球の裏側にでも、上述の1/3程度の時間で簡単に往来可能になったこともさることながら、普段の仕事もコンピューターを駆使して、論文作成、管理運営がスムーズに出来るようになり、かなりの時間の節約が実現しているはずである。さらに実験においても、解析やデータ処理はコンピューターの利用にともない、我々は相当な研究時間の余裕を享受しているはずである。では、我々は、昔に比べて、研究に、あるいは色々な思考活動に本当に余裕が出来たのであろうか。答えに窮するというのが、本音かもしれない。

ところで、私が20代半ばに出会ったベルティーニ教授は、当時、同じく私の恩師の一人である田伏岩夫教授と並び、新しい学際領域を開拓すべく、トップギアで疾走していたに違いない。しかし、私が留学時に接したベルティーニ教授は、フィレンツェ郊外のトスカーナの田舎に別荘を持ち、私が留学した頃は、週末はそこで農作業をして、自然を優雅に楽しんでいた。ベルティーニ教授は、その丘の中腹にあった別荘の庭から、オリーブ畑やブドウ畑が広がる雄大なトスカーナの丘陵地帯を眺めながら、金属酵素の構造や挙動を NMR で解析してみたらどうだろうか、という新しい研究手法のアイデアに思いを馳せていたのでは、と私は勝手に想像している。現在の我々の日常と何かが違う環境のもとで、ゆっくりと時間が流れ、それが彼のアイデアの醸成につながっていたように思えるのは単なる気のせいだろうか。

生体内でクスリを『つくる』酵素封入 PIC 型ナノリアクターの創製

東京大学大学院 工学系研究科 マテリアル工学専攻 安楽泰孝

1. はじめに

昨今隆盛を極めるボトムアップナノテクノロジーとの関連から、ブロック共重合体の自己組織化を利用して溶液中においてナノ構造体を形成し、幅広い分野での応用が検討されている。このような集合体を形成する駆動力は多種多様で、疎水性相互作用を形成駆動力とするものが最も多く利用されている。一方、静電相互作用を形成駆動力とした集合体については、それらを制御するパラメータ(溶媒のイオン強度、pH、温度、高分子電解質の濃度、荷電鎖長など)の多さから、マテリアルとして制御するのが困難である。当研究室では生体への安全性が担保され、かつ高度にデザインされた荷電性ブロック共重合体を用いて、生体内で即時に活躍可能なナノデバイスを合目的的に開発し、ドラッグデリバリーシステム(DDS)デバイスに新しい方法論を持ち込むことを目指し研究を行っている。その中で固形がんを対象とした一部のシステムについては、既に臨床試験にまで進んでいる¹。

多種多様なキャリアシステムがある中で、最近筆者らのグループで開発した荷電性高分子の静電相互作用による自己組織化を利用した一枚膜構造のナノ中空集合体 PICsome がある。本稿では、PICsome のユニークな特徴を巧みに制御し、生体内においてナノリアクターとして展開することに成功したので紹介する。

2. Polyion Complex Polymersome (PICsome)

PICsome とは、Fig. 1 に示すように、生体適合性に優れるポリエチレングリコール(PEG)とポリアミノ酸由来の反対電荷を有する荷電性セグメントからなる荷電性高分子の静電相互作用による自己組織化を利用した一枚膜構造のナノ中空集合体である。有機溶媒を全く用いずストック高分子水溶液の単純混合で調製できる点で生体及び生体関連物質に優しく、激しい超音波処理、加熱などを調製の定法とする既存の疎水性相互作用型キャリア(リポソーム、ポリマーソーム)と比べて大きな利点を有している。これまでに、調製時に用いるポリマー溶液の濃度を変えることで容易にサイズ制御が可能である(100-400 nm)、内水相への水溶性高分子の封入が可能であり PIC 膜由来の物質透過性能を有する、水溶性の縮合剤を加え PIC 膜中にアミド結合を形成する(PIC 膜を架橋する)ことで、生理条件下でも安定に



Fig.1 酵素を封入した Polyion Complex Vesicle (酵素封入 PICsome)の形成概念図.

サイズと構造を維持可能であることを見出している²。さらに生体内で高い血中循環性を示し、特に150、200 nmはいずれの臓器にも分布しない『超ステルス性を発揮する』ことも見出している。またサイズによっては EPR 効果による腫瘍へ集積も確認されるなど、『医用材料』として有用な可能性を併せ持つことが明らかとなっている³。

一つの応用例として、PICsome の内水層に、臨床において肝臓の造影剤として広く使用されているリゾビスト(酸化鉄微粒子)を封入し、全身投与でマウスの大腸がん(C26)を MRI で像影することに成功している(放射線医学研究所 青木先生、國領先生との共同研究)⁴。

3. 酵素プロドラッグ療法 (EPT)

このように PICsome を DDS キャリアとして用いることで、腫瘍のイメージングが可能であることを明らかにしたが、筆者らは PICsome のユニークな特徴を巧みに組み合わせることで、既存のキャリアでは不可能であった新しい方法論に基づいた DDS を構築できないか検討した。そうした中で、「内水相への水溶性高分子の封入が可能」「PIC 膜由来の物質透過性能を有する」「EPR 効果による腫瘍へ集積性」といった特徴を踏まえ、固形がんにおいて薬剤を「つくる」生体内ナノリアクターへの応用展開を考えた。具体的には、酵素を封入した PICsome を腫瘍に集積させたのちに、酵素反応前には薬理活性を有さないプロドラッグを投与することで、腫瘍においてのみ薬理活性を有する薬剤へと変換し治療を行うといった酵素プロドラッグ療法 (EPT)へと展開できるのではないかと考えた(Fig. 2)。DDS 技術を利用した EPT は、先端医療としての革新的治療法として期待されているが、本来異物として認識される外来の治療用酵素を標的部位に運び、かつ効率良く酵素反応を起こすという一連のシステムを満足し得るナノリアクターが開発されていないのが現状であった。DDS を利用して効果的に EPT を達成するには、①酵素をナノキャリア内に失活することなく封入でき、②標的部位に的確に運搬し、③プロドラッグ投与後は効率よく酵素と反応をする「反応場」が求められる。既存技術の多くは物質透過性が期待できず、*In vivo* ナノリアクターとしての応用は難しく、一連のシステムを十分に満足し得るキャリアが開発されていないのが現状である。PICsome は腫瘍集積性を示すのみでなく、物質の膜透過性に優れていることから『酵素とプロドラッグの反応場』として最適であると考えられる。

そこで β -Galactosidase (β -Gal)を封入した PICsome を調製し(β -Gal@PICsome)、プロドラッグのモデルとして酵素反応が生じた時のみに蛍光を生じる基質(HMDER- β GAL)⁵を用いて腫瘍内における酵素反応を観察することでコンセプトの実証を試みた。

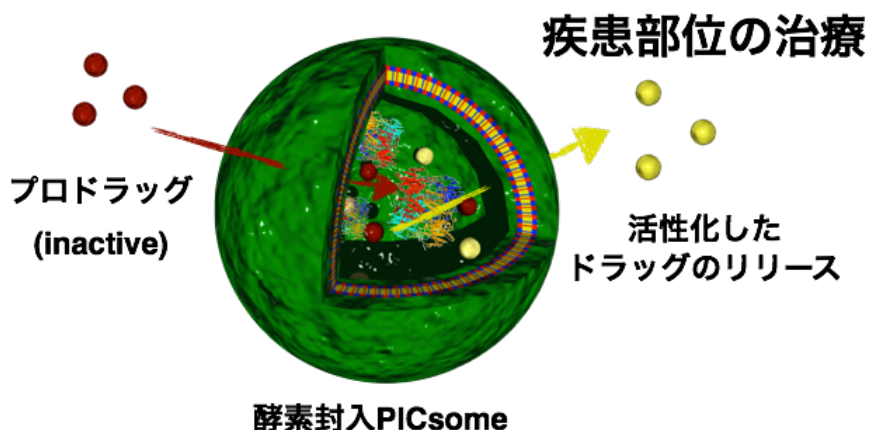


Fig. 2 酵素封入 PICsome による酵素プロドラッグ療法の概念図

4. β -Gal 封入 PICsome による酵素プロドラッグ療法

まず β -Gal@PICsome の調製及び試験管レベルにおける機能評価を行った。動的光散乱(DLS)測定より直径が 100 nm で単分散な粒子(PDI: 0.056)であり、透過型電子顕微鏡(TEM)観察よりベシクル状の構造を有していることを確認した(Fig. 3)。また蛍光ラベル化した β -Gal を封入した PICsome を調製し、蛍光相関分光法(FCS)測定より、PICsome1 個あたり約 2 個の β -Gal を封入していることを明らかにした。

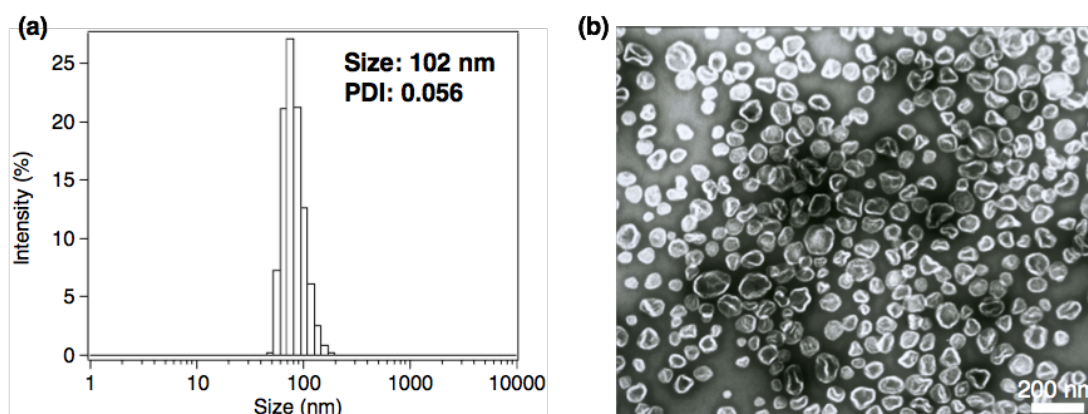


Fig. 3 β -Gal@PICsome の物性評価. (a) 動的光散乱測定. (b) 透過型電子顕微鏡像.

PICsome 内に β -Gal が封入されていることが明らかになったので、続いて速度論的解析 (Michaelis-Menten モデル)を行なったところ、 β -Gal@PICsome では $K_m=82.9$ mM, $V_{max}=110.0$ nM/s であり、 β -Gal のみ ($K_m=43.3$ mM, $V_{max}=105.3$ nM/s)と大きく変わらない値を示した。この結果は、 β -Gal の酵素活性を維持したまま PICsome 内に封入可能であることを示唆する結果である。またゲル浸透クロマトグラフィー (GPC)測定により β -Gal@PICsome の酵素反応の時間変化を追跡したところ、HMDER- β GAL が PICsome の膜を透過して酵素と反応し、さらに生じた蛍光物質(HMDER)がリリースされる事が確認された。

上記のように、試験管レベルで HMDER- β GAL が PIC 膜を透過し、PICsome の内水相に封入された β -Gal と反応し、生成物である HMDER がリリースされることが明らかになったので、続いて *In vivo* における β -Gal@PICsome の機能評価を試みた。 β -Gal 単体、 β -Gal@PICsome (PICsome を蛍光標識)をマウスの大腸がんである C26 を皮下移植した担がんマウスに尾静脈投与(i.v.投与)し、96 時間後に HMDER- β GAL を同様に i.v.投与し *In vivo* 共焦点顕微鏡 (IVRT-CLSM)を用いて腫瘍内での挙動をリアルタイム観察した (Fig. 4)。 β -Gal 単体を投与したマウス群においては腫瘍組織内において酵素反応が確認されなかった。一方、 β -Gal@PICsome を投与したマウス群においては、まず EPR 効果によって腫瘍へ集積した β -Gal@PICsome 由来の蛍光(赤色)が確認され、HMDER- β GAL 投与後から時間経過に伴って腫瘍組織内においてのみ HMDER 由来の蛍光 (緑色)が観察された。またこれらは、*In vivo* イメージングシステム (IVIS)や腫瘍の組織切片観察からも同様の結果が得られた。これらの結果は生体内(特に本研究においては腫瘍組織内)において、酵素を封入した PICsome がナノリアクターとして機能していることを支持する結果である。

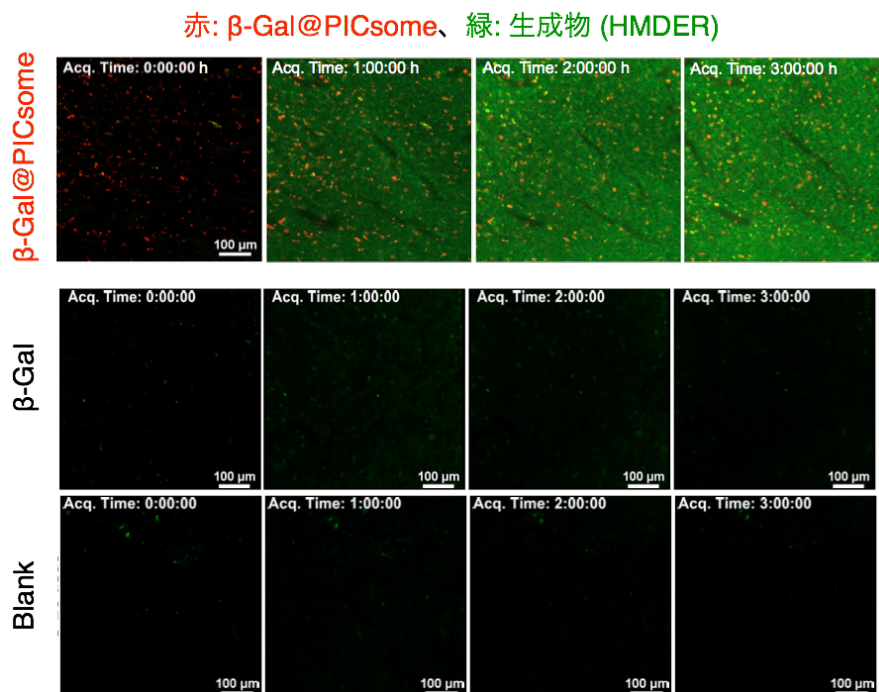


Fig. 4 IVRT-CLSM による腫瘍内での β -Gal@PICsome と HMDER- β GAL に由来する酵素反応のリアルタイム観察. 赤: β -Gal@PICsome. 緑: HMDER

5. おわりに

本稿では酵素封入 PICsome が固形がん(大腸がん)においてプロドラッグを活性化し、クスリを「つくる」といったリアクターとしての機能を紹介したが、一連の機能は酵素の種類を変えるだけで、有害物質を「分解し除去する」機能も賦与することが可能である。現在は、このナノリアクターシステムを用いて、がんのみならず種々の難治性疾患治療へと展開を試みている。

謝辞

本研究は東京大学大学院工学系研究科、医学系研究科片岡研究室において、最先端研究開発支援プログラム (FIRST)、および革新的イノベーション創出プログラム (COI STREAM)の研究として行なわれました。片岡一則教授、岸村頭広准教授 (九州大学)にご指導頂いたことをこの場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、本研究を遂行するに辺り、貴重な蛍光プローブをご提供頂いた東京大学大学院医学系研究科浦野泰照教授、神谷真子助教に深く感謝致します。

参考文献

- [1] H. Cabral, K. Kataoka K, Progress of drug-loaded polymeric micelles into clinical studies. *J. Control. Release.* **2014**, 190, 465-476.
- [2] Y. Anraku, A. Kishimura, M. Oba, Y. Yamasaki, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 1631.
- [3] Y. Anraku, A. Kishimura, A. Kobayashi, M. Oba, Y. Yamasaki, K. Kataoka, *Chem. Comm.* **2011**, 47, 6054.
- [4] D. Kokuryo, Y. Anraku, A. Kishimura, S. Tanaka, M. R. Kano, J. Kershaw, N. Nishiyama, T. Saga, I. Aoki, K. Kataoka, *J. Control. Release.* **2013**, 169, 220.
- [5] M. Kamiya, D. Asanuma, E. Kuranaga, A. Takeishi, M. Sakabe, T. Nagano, Urano, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 12960.

ドメインスワップしたミオグロビン二量体のデザインと性質

奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 長尾聡

1. はじめに

超分子はその制御された立体構造に基づいて新しい機能をもたらし、多くの研究者を魅了してきた。超分子化学の発展は目覚ましく、分子の合成と金属配位を利用して、高度な機能をもつ巨大超分子が次々とつくられている。一方で、私たちの身体に目を向けると、生体内は二重らせん構造の DNA や脂質二重膜など、天然の超分子の宝庫であることに気づく。ポリペプチドからなるタンパク質にも、超分子を形成して機能するものがある。近年、タンパク質が超分子を形成するメカニズムに着目して、タンパク質をデザインし、人工的にタンパク質超分子をつくる試みがなされている。Prof. Yeates のグループは天然状態で 3 量体を形成する bromoperoxidase のサブユニットと 2 量体を形成する M1 virus matrix protein のサブユニットをヘリックスリンカーで連結することによって、ケージ状のタンパク質超分子の作製に成功している^{1a}。Prof. Tezcan のグループは cytochrome (cyt) *cb₅₆₂* の分子表面に導入したヒスチジンと金属の配位結合を利用してタンパク質を配列し、プレート状やチューブ状のタンパク質超分子をつくり出した^{1b}。Prof. Hayashi のグループは myoglobin (Mb) などのヘム再構成を利用してワイヤー状のタンパク質超分子をつくり出している^{1c}。

私達はタンパク質超分子をつくる別のアプローチの仕方として、同一のタンパク質が分子間で構造領域を交換するドメインスワッピング現象に着目し、これまでに cyt *c* や Mb など様々な単量体のヘムタンパク質から形成したドメインスワップ多量体の構造を明らかにしてきた (Figure 1)。Cyt *c* では C 末端領域を交換してポリマー状や環状の多量体を形成し^{2a}、一方、Mb では単量体で活性部位を構成している E および F ヘリックスと EF ループが 1 本の長い α ヘリックスに変化した 2 量体を形成した^{2b}。

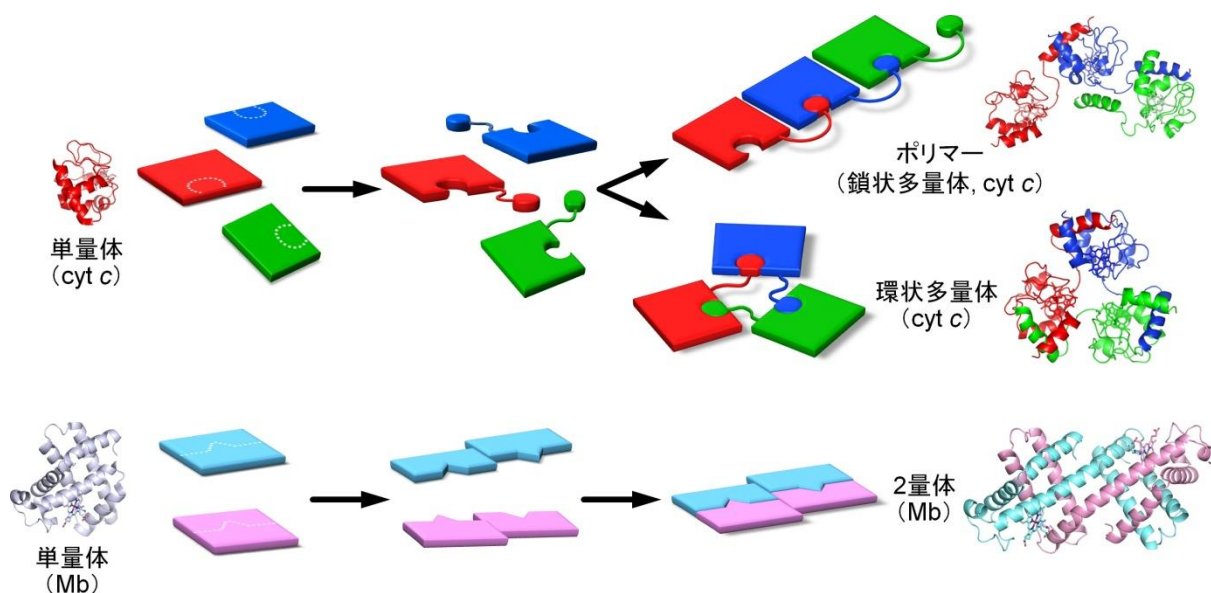


Figure1 ウマ cyt *c* (上) とウマ Mb (下) のドメインスワッピングによる多量体形成の模式図。構造領域が分子間で置き換わった多量体構造をとっている。

Mbの全体および活性部位をみると、単量体の構造と2量体の部分構造は非常に似ており、2量体ではヘムの近位ヒスチジン(His93)と遠位ヒスチジン(His64)はそれぞれ異なるプロトマーに属していることが分かる(Figure 2)。私達は、ドメインスワッピングを利用したタンパク質超分子構築のさらなる発展を目指しており、本研究では、ドメインスワッピングにより形成したMb 2量体の一酸化炭素(CO)結合特性を調べ、Mbを分子デザインして異なる2つのヘム配位構造を有するMbヘテロ2量体を作製した。

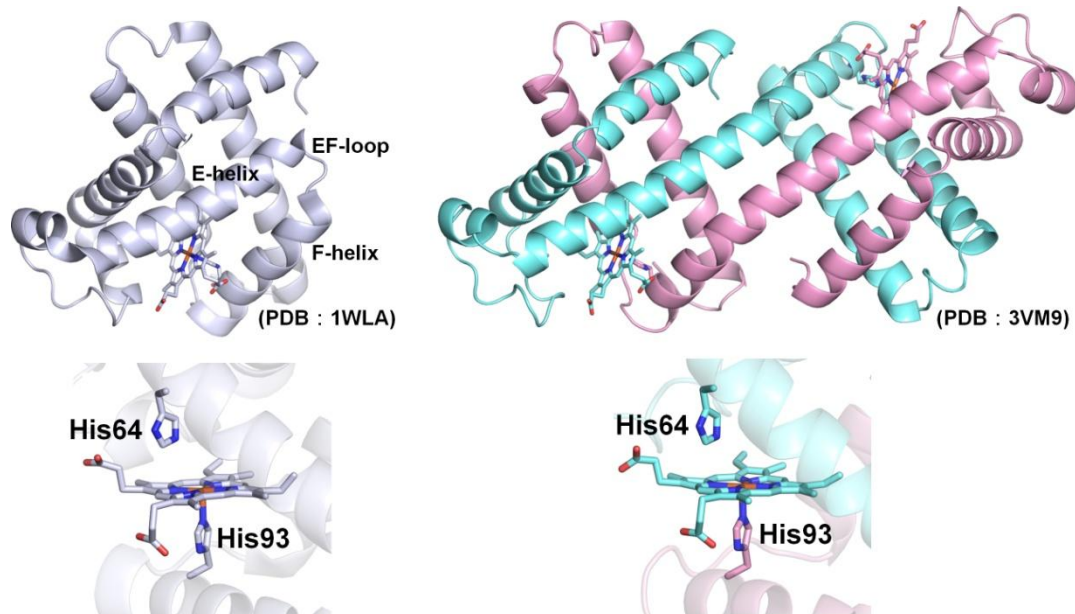


Figure2 ウマ Mb の単量体 (左) と 2 量体 (右) の立体構造。上は全体、下は活性部位の構造。単量体を灰色、2 量体のプロトマーをそれぞれ桃色とシアン色で示した。

2. ミオグロビンのドメインスワップ 2 量体の一酸化炭素結合挙動

Mb は 8 本の α ヘリックス (A-H ヘリックス) と E および F ヘリックスの間の疎水空間にヘムをもち、ヘムには酸素の他に CO などが結合可能である。CO 結合型 Mb (MbCO) は酸素結合型 Mb よりも安定であるため、これまでに様々な分光法による測定が行われてきた。Mb にエタノールを加えて凍結乾燥した後、得られた粉末を緩衝液に再溶解し、ゲルろ過クロマトグラフィーにより酸化型 (met 型) 2 量体を精製した。CO 雰囲気下でジチオナイトを加えて Mb を還元し、MbCO を得た。MbCO の単量体と 2 量体は似た吸収スペクトルを示し、MbCO の CO 伸縮振動は、単量体および 2 量体の両方において 1932 と 1944 cm^{-1} に観測された。共鳴ラマン分光法により観測されたデオキシ Mb の鉄-ヒスチジン伸縮振動 ($\nu_{\text{Fe-His}}$) と MbCO の鉄-CO 伸縮振動 ($\nu_{\text{Fe-C}}$) の振動数はそれぞれ単量体と 2 量体で変化しなかった ($\nu_{\text{Fe-His}}$, 220 cm^{-1} ; $\nu_{\text{Fe-C}}$, 507 cm^{-1})。これらの結果より、デオキシ Mb の鉄-ヒスチジン結合強度および MbCO の鉄-CO 結合強度は 2 量化により変化しないことが判明した。時間分解共鳴ラマン散乱測定により、CO 光解離後のヘム活性部位の構造変化のダイナミクスは単量体と 2 量体で変化がないことが分かった (単量体, $(5.2 \pm 1.8) \times 10^6 \text{ s}^{-1}$; 2 量体 $(6.2 \pm 1.1) \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ (室温))。これらの結果より、ヘム配位構造、ヘム鉄に結合している CO 周りのタンパク質構造、タンパク質緩和挙動は単量体と 2 量体で同じであることが分かった。活性部位構造は単量体と 2 量体で似ていたが、Mb 2 量体の CO 結合速度定数 ($(1.01 \pm 0.03) \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (20°C)) は単量体の CO 結合速度定数 ($(0.52 \pm 0.02) \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (20°C)) の約 2 倍大きかった。2 量体の CO 結合速度定数が単量体よりも大きかったのは、2 量化により Xe3 空洞 (一酸化炭素が結合するサイトの一つ) と溶媒間のチャンネルが拡大したためと解釈した (Figure 3)。以上の結果より、Mb の単量体と 2 量体で活性部位構造が似ていても、タンパク質構造の変化により CO の結合特性が異なることが判明した³。

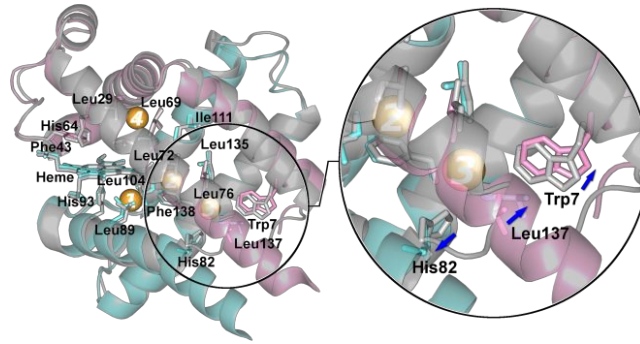


Figure 3 Mb の Xe3 空洞と溶媒間のチャンネル。単量体を灰色、2 量体のプロトマーを桃色とシアン色で示した。CO が結合する 4 つのサイトを黄色球で示した。

3. ドメインスワッピングによる異なった 2 つのヘム配位構造を有する Mb ヘテロ 2 量体の構築

生体内には一分子中に複数のヘムをもったマルチヘムタンパク質も存在する。これらのヘムは異なる環境下であり、分子内の電子伝達などの機能と関わっているものがある。さて、ドメインスワッピングにより形成するタンパク質超分子において、異なるヘム環境をつくるためにはヘテロな多量体を作る必要がある。ドメインスワッピングにより 2 量化した Mb で新たに形成した 2 本の長い α ヘリックス (単量体における E および F ヘリックスと EF ループから構成) 間には、K78-E85 および K79-D141 の塩橋が 2 つずつ計 4 つある (Figure 4)。

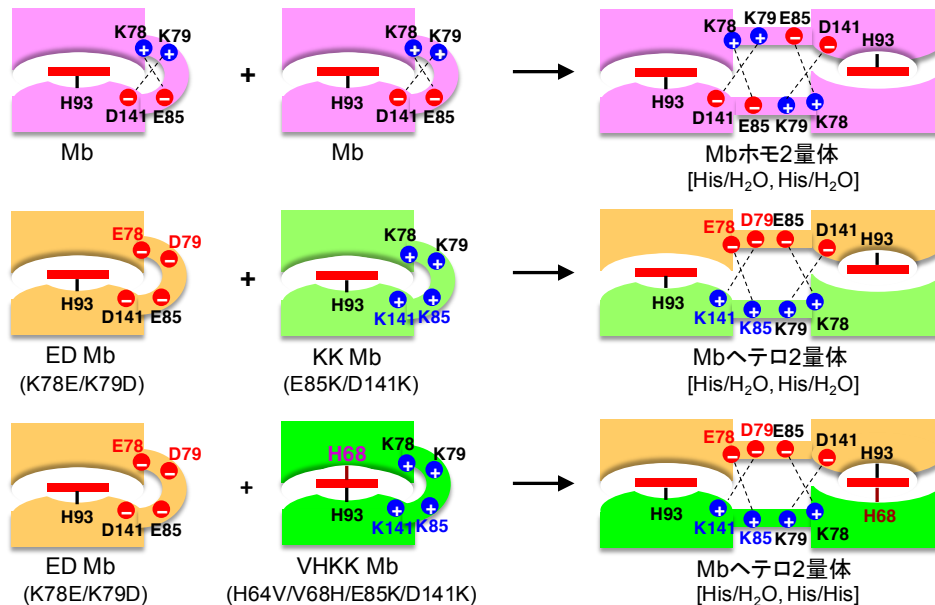


Figure 4 Mb ヘテロ 2 量体の分子デザイン。上段は野生型 Mb のホモ 2 量体、中段は変異型 ED Mb と変異型 KK Mb のヘテロ 2 量体、下段は変異型 ED Mb と変異型 VHKK Mb のヘテロ 2 量体。

そこで、私達はこれらの塩橋を形成しているアミノ酸を組み換えてヘテロ 2 量体をつくることを考えた。まず、78 番目と 79 番目のリシンをそれぞれグルタミン酸とアスパラギン酸に置換した変異体 (ED Mb) と 85 番目のグルタミン酸と 141 番目のアスパラギン酸をそれぞれリシンに置換した変異体 (KK Mb) を作製した。ED Mb と KK Mb にそれぞれエタノールを加えて凍結乾燥した後、緩衝液へと再溶解させると、ED Mb ではホモ 2 量体が約 8% 形成していたものの 45°C で 30 分間加熱するとすべて単量体に解離し、KK Mb では全く多量体を形成しなかった。一方、ED Mb と KK Mb を 1:1 で混合した場合では同様の操作により 2 量体が約 18% 形成し、45°C で 30 分間加熱後も 2 量体が約 12% 存在していた。この結果より、ED Mb と KK Mb から成るヘテロ 2 量体が形成したことが示唆された。次に、2 量体の

分子内に異なる2つのヘム環境を構築するためにKK Mbの64番目のヒスチジンと68番目のバリンをそれぞれバリンとヒスチジンに入れ替えた変異体(VHKK Mb)を作製した。これら2つの変異をMbに導入すると、ヘムがヒスチジン/ヒスチジン配位構造をとることが知られている。VHKK Mbのみではエタノールにより多量体を全く形成しなかったが、ED MbとVHKK Mbを1:1で混合した場合には約30%の2量体を形成した。この2量体は45°Cで30分間加熱後も約24%存在していたことから、ED MbとVHKK Mbから成るヘテロ2量体構造をとっていると推測された。X線結晶構造解析により、予想した通りこの2量体がED MbとVHKK Mbから成るヘテロ構造をとっており(Figure 5)、2本の長い α ヘリックス間にE78-K85、D79-K141、D141-K79の塩橋が形成していることが明らかとなった。また、ヘム配位構造のうち1つはヒスチジン/水、もう一方はヒスチジン/ヒスチジンの配位構造をとっていた。以上の結果より、プロトマーの接触界面における塩橋の組合せをデザインすることにより、ヘテロ2量体が作製でき、異なる2つのヘム配位構造をもつヘテロ2量体も作れることが示された⁴。

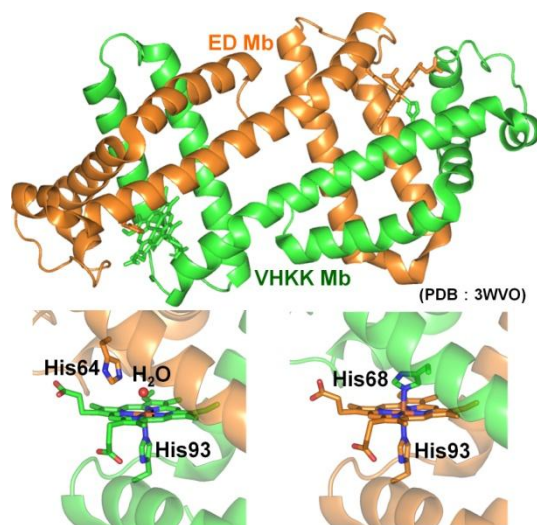


Figure 5 ED MbとVHKK Mbのヘテロ2量体。上は全体、下は活性部位構造。2量体のプロトマーをそれぞれ緑色とオレンジ色で示した。

4. おわりに

今回、私達はドメインスワッピングにより形成したMb 2量体のCO結合挙動を明らかにし、異なる2つのヘム配位構造をもつMbヘテロ2量体の作製に成功した。今後、タンパク質超分子の研究は超構造をとることで如何に高次機能を発現するかにシフトしていくと予想される。本研究の成果は高次機能を発現する分子設計の知見を与えると考えられる。

謝辞

本研究は、私の所属している奈良先端大物質、廣田俊教授の研究室で行われました。廣田教授ならびに学生の皆様、研究員として実験していた南華大学の林英武教授に感謝申し上げます。共鳴ラマンスペクトル測定では大阪大学大学院理学研究科の水谷泰久教授、石川春人講師に、X線結晶構造解析では兵庫県立大理学部樋口芳樹教授、庄村康人助教(現茨城大学理工学研究科准教授)にお世話になりました。皆様に深く感謝致します。本研究の一部は日本学術振興会科学研究費若手研究B(No. 24750163)の助成により実施されました。

5. 参考文献

- [1] (a) Y. T. Lai, D. Cascio, T. O. Yeates, *Science* **2012**, *336*, 1129.;(b) J. D. Brodin, X. I. Ambroggio, C. Tang, K. N. Parent, T. S. Baker, F. A. Tezcan, *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 375-382.;(c) K. Oohora, A. Onoda, H. Kitagishi, H. Yamaguchi, A. Harada, T. Hayashi, *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 1033-1038.
- [2] (a) S. Hirota, Y. Hattori, S. Nagao, M. Taketa, H. Komori, H. Kamikubo, Z. Wang, I. Takahashi, S. Negi, Y. Sugiura, M. Kataoka, Y. Higuchi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 12854-12859.;(b) S. Nagao, H. Osuka, T. Yamada, T. Uni, Y. Shomura, K. Imai, Y. Higuchi, S. Hirota, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 11378-11385.
- [3] S. Nagao, H. Ishikawa, T. Yamada, Y. Mizutani, S. Hirota, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2015**, *20*, 523-530.
- [4] Y. W. Lin, S. Nagao, M. Zhang, Y. Shomura, Y. Higuchi, S. Hirota, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 511-515.

共焦点顕微ラマン分光法を用いた微細藻類の生体分子イメージング

東京農工大学大学院工学研究院 梁 越

1. はじめに

微細藻類は高等植物と比較して生育速度が速く、また食物原料と競合しないため、バイオ燃料として使用できる脂質やサプリメントとして付加価値の高いカロテノイド等の有用物質生産株として利用されている。このような生体分子の合成機構のダイナミクスを理解することは、有用物質の高生産や高品質化において重要である。一般に脂質やカロテノイドの解析にはガスクロマトグラフ質量分析 (Gas Chromatograph-Mass Spectroscopy: GC-MS) や高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) が用いられている。GC-MS や HPLC は細胞から抽出工程を経る *in vitro* 解析であり、*in vivo* とは異なる環境で測定せざるを得ない。実際に脂質やカロテノイドが細胞内のどこで合成され、またどの様に輸送されていくのかというダイナミクスを理解するためには、細胞を非破壊的にモニタリングできる解析手法が必要となる。このような *in vivo* ダイナミクス解析は、有用物質の生産過程や輸送経路の機構解明に寄与できると考えられ、生産性の向上や品質の改善に重要である。

本研究では、脂質・カロテノイド等の生体分子の合成過程や輸送経路の解明に向けて、生体分子の *in vivo* ダイナミクス解析法の確立を目指した。具体的には、非破壊的に試料の定性・定量解析が可能な顕微ラマン分光法を使用し、解析モデル生物としてオイル高蓄積珪藻 *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 株を用いた。顕微ラマン分光法は試料の特定領域へ励起光を照射することで、領域内の各点からラマンスペクトルを取得し、ラマンスペクトル内の特定のバンド強度面積に基づき分子の分布を可視化するものである (Puppels et al. 1990)。さらに顕微ラマン分光法は、分子の分布を可視化するだけでなく、ラマン散乱光の強度に基づく標的分子の定量解析も可能である (Lin et al. 2010)。細胞内でのダイナミクス解析においては、各生体分子の詳細な組成まで解析できることが望ましく、顕微ラマン分光法を活用したさらなる解析技術の確立が必要である。当研究室では、脂質高蓄積株である海洋羽状目珪藻 *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 株を単離している (Matsumoto et al. 2014)。当該株はバイオディーゼル燃料 (BDF) として利用可能なパルミチン酸やパルミトレイン酸を主とした脂質を高蓄積 (60% (w/w)) するため、BDF 生産の候補株として期待されている。また、*F. solaris* は細胞内に 2 つの油滴と呼ばれるオルガネラと 1 つの葉緑体をもつことから、顕微ラマン分光法で解析する対象として適していると考えられる。本研究では、ラマンスペクトルの解析としてフィッティング解析による細胞内の脂肪酸組成解析と局在イメージングを行った。さらに、励起波長および励起光出力を検討し、同一細胞内でのカロテノイドの組成解析と局在変化をモニタリングした。

2. 顕微ラマン分光装置による *in vivo* 脂肪酸解析

532 nm Nd:YAG レーザー (COHERENT, Compass™315M Diode-Pumped Laser, Santa Clara, USA)、ポリクロメータとして分光器 (SOLAR TII Ltd, MS3504i, Tokyo,

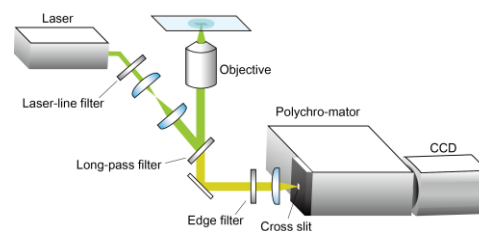


Fig. 1 The schematic of experimental set-up of the 532 nm excited Raman microspectrometer.

Japan)、検出器として Electron Multiplying CCD (ANDOR TECHNOLOGY, Newton, Belfast, Northern Ireland) を備えた倒立型顕微鏡 (Nikon, ECLIPSE Ti, Tokyo, Japan) を用いて脂肪酸解析を行うための顕微ラマン分光装置を構築した (Fig. 1)。細胞培養は 1 段階目で細胞増殖を行い、2 段階目に脂質蓄積を誘導する 2 段階培養を用いた。2 段階培養開始から 0、24、48、72 時間後の藻体を回収し、マイクロキャビティー アレイとアガロースゲルを組み合わせた方法によってイメージング測定時の細胞移動を防いだ (Osada et al. 2014)。捕捉した細胞に対し、励起波長 532 nm の共焦点顕微ラマン分光装置を用いたラマンイメージング測定を行い、取得したスペクトルのバンド強度面積に基づき、タンパク質 ($1,003\text{ cm}^{-1}$)、カロテノイド ($1,526\text{ cm}^{-1}$)、脂質 ($1,445\text{ cm}^{-1}$) のラマンイメージングを構築した (Fig. 2)。構築したラマンイメージから、*F. solaris* 内油滴サイズの増加が観察され、タンパク質 ($1,003\text{ cm}^{-1}$) とカロテノイド ($1,520\text{ cm}^{-1}$) は葉緑体と考えられる領域に局在していた。また、BODIPY 505/515 によって脂質を染色し、共焦点レーザー蛍光顕微鏡によって蛍光画像を撮像したところ、得られた蛍光画像と脂質 ($1,445\text{ cm}^{-1}$) のラマンイメージは同様の局在を示していた。したがって、顕微ラマン分光装置を用いることで染色することなくタンパク質、カロテノイド、脂質の細胞内分布を可視化できることが示された。次に、脂肪酸のフィッティング解析に組み込む標品スペクトルを取得するために脂肪酸ライブラリを構築した。測定する脂肪酸標品はエイコサペンタエン酸 (EPA)、アラキドン酸、リノレン酸、ステアリン酸、パルミトレイン酸、パルミチン酸、ミリスチン酸の 7 種類を準備し、励起波長 532 nm、出力 1 mW、露光時間 10 秒で測定した (Fig. 3)。

取得した標品スペクトルライブラリから、脂肪酸の指紋領域は $700 - 1,800\text{ cm}^{-1}$ であると示唆された。そこで、フィッティング領域として $700 - 1,800\text{ cm}^{-1}$ の領域に着目した。また、脂質のバンドが観測されない領域にマスク (フィッティング解析する領域から除外すること) をかけることで、脂肪酸以外のバンドの影響を最小限にできると考えられた。そこで、カロテノイドやタンパク質は $1,004$ 、 $1,160$ 、 $1,525\text{ cm}^{-1}$ 付近にバンドが観測されるため (Abdullah Chandra Sekhar Talari et al. 2014)、フィッティング領域は $988 - 1,722\text{ cm}^{-1}$ で、マスク領域は $988 - 1,048$ 、 $1,112 - 1,215$ 、 $1,508 - 1,640\text{ cm}^{-1}$ とし

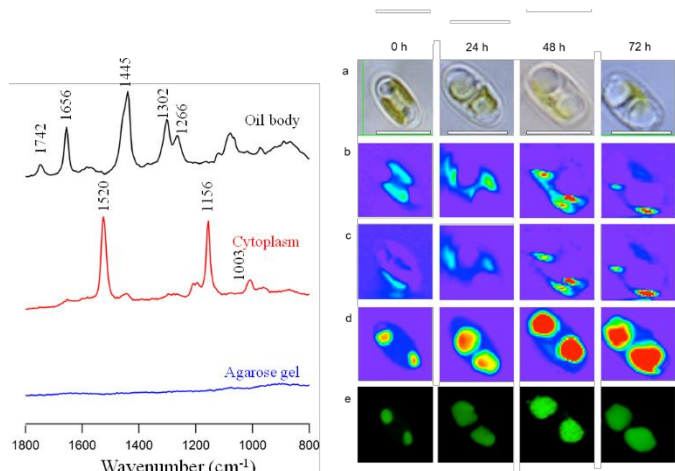


Fig. 2 Raman spectra of *F. solaris* and gallery of Raman images and fluorescent images obtained at different time points at 0, 24, 48 and 72 h after lipid accumulation induction. A: Raman spectra of oil bodies, chloroplast, extracted lipid, and agarose gel. B: (a) Bright field image of *F. solaris*. Scale bar; 5 μm . (b-d) Raman images at (b) $1,003\text{ cm}^{-1}$ (protein), (c) $1,526\text{ cm}^{-1}$ (carotenoid) and (d) $1,445\text{ cm}^{-1}$ (lipid). (e) fluorescent images of cells stained with BODIPY 505/515.

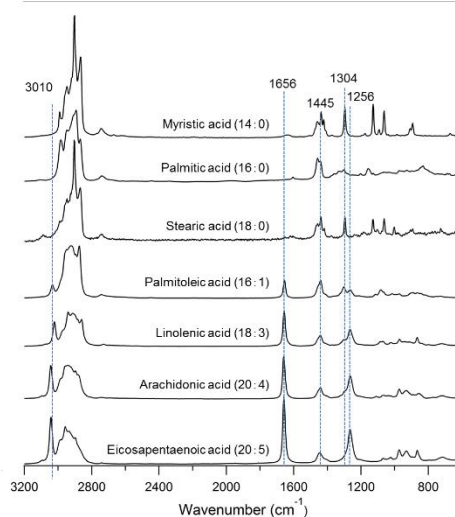


Fig. 3 Gallery of Raman spectra obtained from standard fatty acids.

た。得られた抽出した脂肪酸メチルエステルと生細胞のスペクトルに対し、最適化したフィッティング・マスク領域、バックグラウンド関数でフィッティング解析を行った。本研究で用いているフィッティング解析は以下の手順で行った。まず、EPA、パルミトレイン酸、パルミチン酸の標品スペクトルを線形結合で表現した。次に、高次関数をバックグラウンドとして組み合わせた、最小二乗法によって取得したラマンスペクトルを最も再現する各係数を算出した。その後、算出された係数に基づき脂肪酸組成を算出した。得られた脂肪酸組成比と GC-MS 解析結果を比較することでラマンフィッティング解析の精度の評価を行った。さらに、抽出した脂肪酸メチルエステルの解析結果と比較することで *in vivo* 脂肪酸組成を評価した (Table 1)。その結果、脂肪酸メチルエステル試料の GC-MS 解析結果とフィッティング解析結果が一致し、フィッティング解析の有効性が示された。そこで、*in vivo* での油滴内の脂肪酸組成を解析した結果、細胞から抽出した脂肪酸組成と比較して EPA (C20:5n3) 含量に差異が見られた。これは、*in vitro* 解析では、油滴以外の EPA を含む脂肪酸が混入したためであると考えられた。このことからラマンイメージングの *in vivo* 脂肪酸解析における優位性が示された。

Table 1 Fatty acid compositions analyzed by GC-MS and Raman fitting analysis. Fatty acid compositions are represented as mean

Condition	Method	Fatty acid composition (%)		
		C16:0	C16:1	C20:5n3
Extracted lipid	GC-MS	45.6 (±0.3)	49.6 (±0.3)	4.8 (±0.1)
Extracted lipid	Raman fitting	46.0 (±2.3)	49.4 (±2.8)	4.6 (±0.6)
<i>In vivo</i>	Raman fitting	41.2 (±0.7)	55.5 (±0.7)	3.3 (±0.4)

3. 顕微ラマン分光法による *in vivo* カロテノイド解析

上記までの検討において、532nm の励起光下では、色素の光退色が認められた。そこで、光退色の影響を低減する取り組みとして、1064nm の励起光を利用したラマンイメージングを行った。光源として、ダイオード 1,064 nm 励起 Q-switched Nd:YAG laser Nd:YAG レーザー (Spectra Physics T40-X30S- 106Q, repetition rate 10 kHz, pulse duration 30 ns)、ポリクロメータとして分光器 (HORIBA Jobin Yvon, iHR320, 150 grooves/mm grating, Kyoto, Japan)、検出器として CCD (Andor, iDus DU420A-BV, Belfast, Northern Ireland) に InP/InGaAsP 近赤外イメージンシファイア (Hamamatsu Photonics, 26 × 128 pixels, quantum efficiency approximately 4% for 0.9-1.4 lm) を装備させ、ピエゾ電動ステージ (Madcity, Nano-LP-100, Zürich, Switzerland) を外付けした倒立型顕微鏡 (Nikon, ECLIPSE Ti, Tokyo, Japan) を用いて顕微ラマン分光装置を構築した (Fig. 4)。この装置を用いて *F. solaris* におけるカロテノイドの光退色評価、および励起光による生育への影響評価を行い、モニタリングに向けた励起光出力を検討した。次に 6 時間毎にラマンイメージング測定を行い、細胞内カロテノイドの局在をモニタリングした。さらに *in*

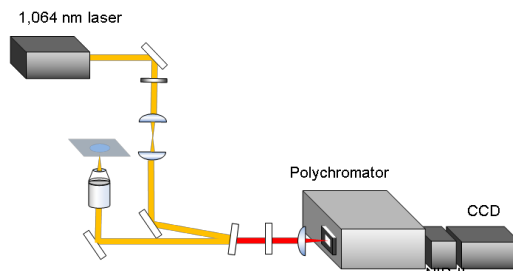


Fig. 4 The schematic of experimental set-up of the 532 nm excited Raman microspectrometer.

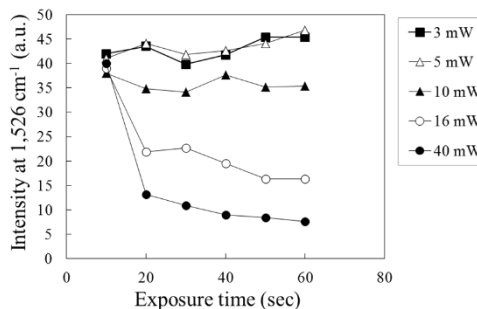


Fig. 5 Evaluation of photodamage based on the intensity at 1,526 cm⁻¹ (carotenoids C=C stretch).

in vivo 脂肪酸組成解析と同様のフィッティング解析法を用いて、*in vivo* カロテノイド組成解析を行った。出力 5 mW 以下では光退色が生じず、励起光による生育への顕著な影響は示されなかった (Fig. 5)。さらに、細胞分裂に伴う同一細胞ラマンイメージング測定を行い、*in vivo* カロテノイド局在および組成解析が可能であった (Fig. 6)。以上から本研究によって、1064nm の励起光を用いた顕微ラマン分光法とフィッティング解析によって微細藻類の脂質・カロテノイドの *in vivo* ダイナミクス解析が可能であった。

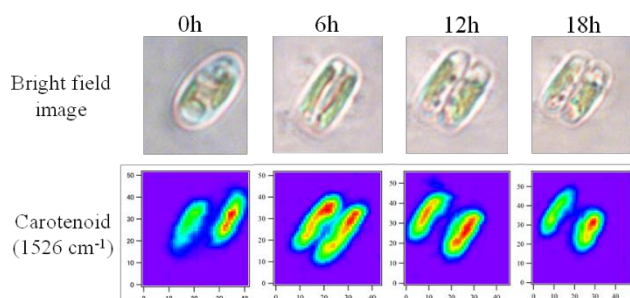


Fig. 6 Time-lapse bright field and constructed Raman images of carotenoid in *F. solaris*.

4. おわりに

本研究から、顕微ラマン分光法と多変量解析を組み合わせることで微細藻類における非侵襲的な単一生細胞 *in vivo* ダイナミクス解析手法としての応用が示された。また、バイオディーゼル燃料生産においては、大量培養した微細藻類の藻体収穫時期の決定のために、細胞内の脂質、カロテノイド蓄積量のモニタリングは極めて重要である。本研究で確立した手法は抽出やメチルエステル化などの化学反応を行う手法と比較して、簡易かつ迅速に、脂質とカロテノイドの定量・定性解析ができる。そのため、このような培養工程にある藻体の評価に適用できると考えられることから工学的意義は大きい。

謝辞

本研究の遂行にあたり、熱心なご指導を賜りました東京農工大学大学院工学研究院生命分子工学・海洋生命工学研究室 田中剛教授、吉野知子准教授に心から感謝申し上げます。また、顕微ラマン分光測定においては、台湾国立交通大学 濱口宏夫教授、早稲田大学 先端科学・健康 医療融合研究機構 安藤正浩 博士にご助言を賜り、厚く御礼申し上げます。本研究は、JST-CREST からの助成により実施されました。

参考文献・注釈

- Puppels GJ, Demul FFM, Otto C, Greve J, Robertnicoud M, Arndtjovin DJ, Jovin TM. 1990. Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microspectroscopy. *Nature* 347(6290):301-303.
- Lin C-C, Kuo M-T, Chang H-C. 2010. Review: Raman Spectroscopy - A Novel Tool for Noninvasive Analysis of Ocular Surface Fluid. *Journal of Medical and Biological Engineering* 30(6):343-354.
- Matsumoto M, Mayama S, Nemoto M, Fukuda Y, Muto M, Yoshino T, Matsunaga T, Tanaka T. 2014. Morphological and molecular phylogenetic analysis of the high triglyceride-producing marine diatom, *Fistulifera solaris* sp nov (Bacillariophyceae). *Phycological Research* 62(4):257-268.
- Osada K, Hosokawa M, Yoshino T, Tanaka T. 2014. Monitoring of cellular behaviors by Microcavity array-based single-cell patterning. *Analyst* 139(2):425-430.

第27回生体機能関連化学部会「若手の会サマースクール」開催案内

生体機能関連化学部会若手の会サマースクールは、生体機能関連化学分野の研究に携わる学生および若手研究者を中心に、自由な討論や意見交換を通じて相互の親睦を図るため毎年夏に行われています。第27回となる今回は、7/17(金)～7/18(土)に自然豊かな神戸市の神戸セミナーハウスで開催いたします。今回も、第一線で活躍されております幅広い分野の先生方にご講演いただきます。またポスターセッションによる研究発表の場を企画しており、これらを通じ熱い討論を交わし情報交換いただくとともに、親睦も深めていただければと思います。学生による発表から数件をポスター賞として表彰します。皆様お誘い合わせの上、奮ってご参加くださいますようお願い申し上げます。

主催 日本化学会生体機能関連化学部会若手の会

共催 日本化学会

会期 7月17日(金)13時～18日(土)13時

会場 神戸市立神戸セミナーハウス(神戸市北区道場町生野字 ロクゴ318-2)

[アクセス] <http://www.pb-k.jp/kobeseminarhouse/access/access.html>

発表申込締切 6月19日(金)

予稿原稿締切 6月19日(金)

参加登録予約申込締切 6月19日(金)

発表形式 ポスターによる一般発表を募集します。また、学生による発表から数件をポスター賞として表彰します。

招待講演(50音順)

1. 化学する楽しみ: Interest-driven 研究と disease-oriented 研究の橋渡し
(東大院薬) 浦野泰照
2. 核酸を活用した分子工作 ～ナノスケールからマクロスケールまで～
(関西大化学生命工) 葛谷明紀
3. 蛋白質構造研究の最前線: 生体高分子のはたらく姿を捉える
(阪大蛋白研) 栗栖源嗣
4. 抗腫瘍活性天然物プラジエノライドのケミカルバイオロジー
(エーザイ) 小竹良彦
5. X線照射下で駆動する生体関連材料を設計する
(青山学院大理工) 田邊一仁
6. 活性酸素種を操るための生物無機化学
(同志社大理工) 人見 穰

発表申込方法 下記HPを参照

予稿原稿 下記HPを参照

参加登録費 一般12,000円、学生9,000円。要旨集代、宿泊朝昼夕食事代、懇親会費含む。

懇親会 7月17日(金)19時半～。会費は参加費用に含む。

参加登録予約申込方法 下記HPを参照

申込先・問合せ先 561-0825 大阪府豊中市二葉町3丁目1番1号 塩野義製薬株式会社 コア疾患創薬研究所 瀬月内 健一 電話 06-6331-5438

E-mail: seitai27@chem.eng.osaka-u.ac.jp HP: <http://www-bfc.mls.eng.osaka-u.ac.jp/seitai27/>

「若手フォーラム」開催案内

第3回 バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム (第30回生体機能関連化学部会若手フォーラム・ 第3回バイオテクノロジー部会若手フォーラム)

生体機能関連化学部会 若手の会、バイオテクノロジー部会 若手の会では、熊本大学で開催されます第9回バイオ関連化学シンポジウムの前日に「若手フォーラム」を開催します。バイオ関連化学の分野において第一線で活躍する大学および研究機関の研究者の中から、4名の先生に講演して頂きます。また、ポスドク、学生など若手研究者の発表、交流の場として、ポスターセッションと懇親会を行います。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広く発表を募集致します。このフォーラムを機に若手研究者および学生の方々の刺激を得るために是非とも声をかけて頂き参加を促して頂けたら幸いです。

開催案内

主催： 日本化学会生体機能関連化学部会若手の会、日本化学会バイオテクノロジー部会若手の会

共催： 日本化学会生体機能関連化学部会、日本化学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

会期： 2015年9月9日(水) 13:00~20:00

会場： 熊本大学黒髪キャンパス 百周年記念館
熊本市中央区黒髪 2-39-1

〈アクセス〉 熊本大学HPをご参照ください (<http://www.kumamoto-u.ac.jp/campusjouhou>)

発表申込締切 2015年7月31日(金)

予稿原稿締切 2015年8月7日(金)

参加予約申込締切 2015年7月31日(金)

発表形式 招待講演およびポスター発表

招待講演 大学および研究所の若手研究者4名の招待講演を開催 13:05~16:00

1. ペプチドアレイを用いたアレルギー解析 (東京工業大学) 大河内 美奈
2. 環状オリゴ糖を用いた、がん治療戦略の構築 (熊本大学) 本山 敬一
3. 磁性ナノ粒子を用いた医療技術の開発 (九州大学) 井藤 彰
4. 化学的な細胞操作に基づく生体組織モデルの構築 (大阪大学) 松崎 典弥

ポスター発表 (懇親会を兼ねて開催) 16:20~19:55

参加および発表申込方法

発表題目、所属、発表者氏名(講演者に○)、連絡先(住所、電話、E-mail)を明記の上、E-mailにてお申し込みください(申込先: byfabst@nano.sojo-u.ac.jp)。参加のみの方は、氏名、所属、連絡先をE-mailで送信ください。予稿原稿はテンプレートをWebページ (http://www.nano.sojo-u.ac.jp/bioforum/bioforum/TOP_PAGE.html) よりダウンロードし、2MB以内で作成したものをE-mailにて送信してください。

参加登録費 学生 1,000円 一般 2,000円 (懇親会費込み)

(参加登録費および懇親会費は当日受付にてお支払いください。)

問い合わせ先

〒860-8555 熊本市中央区黒髪 2-39-1

熊本大学大学院自然科学研究科

代表世話人：北村 裕介 (E-mail: ykita@kumamoto-u.ac.jp)

世話人：若林 里衣 (九州大学大学院工学研究院)、田丸 俊一 (崇城大学工学部)、齋藤 真人 (大阪大学大学院工学研究科)、林 修平 (崇城大学生物生命学部)

第9回バイオ関連化学シンポジウム (第30回生体機能関連化学シンポジウム、第18回バイオテクノロジー部会 シンポジウム)

会 期：2015年9月10日(木)～12日(土)
会 場：熊本大学工学部 黒髪南地区キャンパス
(〒860-8555 熊本市中央区黒髪 2-39-1、熊本市中心部(通町筋、水通町)からバスで15分)
主 催：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
共 催：日本薬学会、高分子学会、電気化学会、日本化学会—生体機能関連化学・バイオテクノロジーディビジョン、フロンティア生命化学研究会、ホスト-ゲスト・超分子化学研究会、熊本大学拠点形成研究B
協 賛：有機合成化学協会
内容：全国のバイオ関連化学の研究者、学生による研究発表および討論を行い、ペプチド・タンパク質・酵素、分子認識・超分子・モデル系、遺伝子関連など、幅広いバイオ関連化学のための情報交換の場を提供する。若手研究者、学生の育成のため講演賞、およびポスター賞の授与も行う。

発表申込締切：6月24日(水)

予稿原稿締切：7月17日(金)

参加登録(予約)締切：7月24日(金)

参加申込方法：WEBサイト (<http://jointsympo.csj.jp>) から発表申込(下記各賞へのエントリーを含む)、予稿原稿提出、参加登録のすべての手続を行う。

発表形式：口頭ならびにポスター(*登壇者は発表申込時点で両主催部会いずれかの会員に限る)。口頭発表(15分発表+5分質疑、3会場)は原則として1研究室1件まで。ただし、申込は2件まで可。この場合は発表優先順位をつけ、2件目の採否は実行委員会の判断による。

部会講演賞：受賞時40才以下で学位(博士)を有し、両主催部会に入会して1年以上が経過した部会員が対象。一般講演同様、最新の研究成果を中心とした発表であること。賞応募申請は発表申し込み時点で受付を行う(詳細はWEBサイト参照)。

ポスター賞(新設)：両主催部会のいずれかの部会員の学生が対象。申込は1研究室2件を上限とし、教員の推薦を受けられるものに限る。賞応募申請は発表申し込み時点で受付を行う。申込多数の場合、事前審査で選考されたもののみ本審査を行う(詳細はWEBサイト参照)。

参加登録費：

7月24日(参加登録(予約)締切)まで

部会員：一般5,000円、学生3,000円

非部会員：一般7,000円、学生4,000円

7月25日以降・・・上記の各参加種別に2,000円プラス。

*いずれも予稿集代(事前送本はしない)を含む

懇親会：9月11日(金)ホテル日航熊本(中央区通町筋)

参加費 7,000円

連絡先：井原敏博(熊本大学大学院自然科学研究科産業創造工学専攻)

Tel: 096-342-3873, Fax: 096-342-3679, E-mail: toshi@chem.kumamoto-u.ac.jp

日本化学会第95春季年会 優秀講演賞（学術）・学生講演賞
ご受賞おめでとうございます！

優秀講演賞（学術）

（生体機能関連化学関係・講演番号順・敬称略）

安楽 泰孝	東京大学	大学院工学系研究科	腫瘍においてクスリを「つくる」酵素封入PICSomeの創製
長尾 聡	奈良先端科学技術大学院大学	物質創成科学研究科	ドメインスワップしたミオグロビン二量体のデザインと性質
LIANG, Yue	東京農工大学	大学院工学研究院	共焦点顕微ラマン分光法を用いた微細藻類の生体分子イメージング
山越 博幸	名古屋市立大学	薬学研究科	アルキタグラマンイメージングを利用した低分子化合物の生細胞観察
安部 聡	東京工業大学	大学院生命理工学研究科	蛋白質結晶細孔設計による機能性分子の集積制御

学生講演賞

（生体機能関連化学関係・講演番号順・敬称略）

西原 達哉	九州大学	大学院工学府	高感度NMR分子センサーへの挑戦 (3): 多様な核偏極NMR分子センサーを実現する分子設計指針の提案
吉本 将悟	名古屋大学	大学院工学研究科	高付着性細菌由来ナノファイバータンパク質AtaAの分離精製と接着特性解析
内田 紀之	東京大学	大学院工学系研究科	光反応性モレキュラグルーを用いたGTP応答性チューブリンベシクルの作成と薬剤送達システムへの応
田良島 典子	徳島大学	大学院薬科学教育部	Intelligent RNA expressing device (iRed) を利用した新規遺伝子発現抑制法の開発
杉村 尚俊	北海道大学	大学院総合化学院	ウイルス内部ナノ空間を利用したRNA分解反応場の構築とその評価
中村 彰伸	長岡技術科学大学	工学研究科	局在分子設計と蛋白質工学による新規蛋白質局在制御システムの開発
高原 茉莉	九州大学	工学府	酵素-DNA アプタマー複合体の高効率調製を志向した酵素反応系の構築
村上 真淑	大阪大学	大学院理学研究科	シアリル糖タンパク質エリスロポエチンの網羅的合成及びそれらを用いた生理活性評価
西山 康太郎	東京大学	理学系研究科	5-ヒドロキシウラシル塩基の金属錯体形成に基づくDNA二重鎖の熱的安定性の制御
土居 哲也	名古屋大学	大学院工学研究科	電荷移動相互作用を利用した疑似塩基対の開発および人工二重鎖形成
KIM, Sooyeon	大阪大学	産業科学研究所	Far-red fluorescence detection of intracellular singlet oxygen during photodynamic therapy
米田 耕三	筑波大学	数理物質科学研究科	海洋産マクロリドMycalolide類の作用機序に関する研究
田部 博康	京都大学	物質-細胞統合システム拠点	蛋白質結晶への有機金属錯体集積による一酸化炭素ガス放出材料設計と細胞応答観察
秦 龍ノ介	九州大学	工学府	疾病関連酵素の解析を目的とする高感度核偏極分子プローブの設計
木崎 誠一郎	京都大学	理学研究科	Tetタンパク質によるDNA脱メチル化の機構

お知らせ

平成27年度 生体機能関連化学部会役員

【部会長】

三原 久和（東工大院生命理工）

【副部会長】

浜地 格（京大院工）

伊東 忍（阪大院工）

【幹事】

青木 伸（東理大薬）

浅沼 浩之（名大院工）

浅見 泰司（武田薬品）

居城 邦治（北大電子研）

井原 敏博（熊本大院自然）

上野 隆史（東工大院生命理工）

浦野 泰照（東大院薬）

王子田 彰夫（九大院薬）

大槻 高史（岡山大院自然）

小澤 岳昌（東大院理）

山東 信介（東大院工）

島本 啓子（サントリー生命科学財団）

高木 昌宏（北陸先端大マテリアル）

廣田 俊（奈良先端大物質創成）

深瀬 浩一（阪大院理）

和田 健彦（東北大多元研）

若林 里衣（九大院工・若手代表）

【監査】

杉本 直己（甲南大学FIBER）

鍋島 達弥（筑波大数理）

お知らせ

平成27年度 生体機能関連化学部会若手の会支部幹事

【北海道・東北支部】

三友 秀之（北大電子研）
鬼塚 和光（東北大多元研）

【関東支部】

竹澤 悠典（東大院理）
正木 慶昭（東工大院生命理工）
平野 智也（東京医歯大生体研）

【東海支部】

神谷 由紀子（名大エコトピア研）
平山 祐（岐阜薬科大創薬）

【関西支部】

瀬月内 健一（塩野義製薬コア疾患創薬研究所）
高田 忠雄（兵庫県立大院工）
藤枝 伸宇（阪大院工）

【中国・四国支部】

鈴木 優章（島根大院総合理工）
池田 俊明（広島大院理）

【九州支部】

北村 裕介（熊本大院自然）
若林 里衣（九大院工）※若手の会代表幹事

ニュースレター Vol. 30, No. 1 2015年 6月 11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：伊東 忍、浦野泰照、島本啓子