

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. 31, No.1 (2016. 7. 13)

## 目 次

### ◇ 巻頭言

再生を考える.....井原 敏博 1

### ◇ 研究紹介

細胞内レドックス状態と概日時計の関係理解を志向した細胞外電子伝達の研究  
.....石川 聖人 3

Selective C-terminal glycine conjugation based on propargyl ester reactivity  
.....Kenward Vong 6

Horseradish Peroxidase を触媒として利用したチロシン残基選択的なタンパク質ラベル化反応  
.....佐藤 伸一 8

1 細胞ゲノム解析の高精度化と超並列化を実現するマイクロ液滴反応場  
.....細川正人 11

### ◇ 部会行事

第4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 ..... 14  
第10回 バイオ関連化学シンポジウム 開催案内 ..... 15

### ◇ お知らせ

日本化学会第96春季年会 優秀講演賞(学術)・学生講演賞 ..... 17  
平成28年度 生体機能関連化学部会役員 ..... 18  
平成28年度 生体機能関連化学部会若手の会支部幹事 ..... 19

## 再生を考える

熊本大学大学院自然科学研究科 井原 敏博

昨年 9 月に、第 9 回バイオ関連化学シンポジウムを熊本（熊本大学工学部）にて開催させていただきました。台風の直後で空の便の乱れもありましたが、当日は天候にも恵まれ、例年通りの規模で開催することができました。熊本地震はその 7 ヶ月後の出来事でした。報道でご存知のことと思いますが、震源に近い益城から阿蘇や熊本市にかけての被害は甚大です。シンポジウムの前後で、熊本城、水前寺公園、阿蘇など、観光を楽しまれた方にとっては、結果的には、それがしばらくは体験できない貴重な（...表現が難しいです）ものになってしまいました。熊本城の損傷は酷く、西南戦争を耐えた市民自慢の櫓や石垣がいたるところで無残に崩れ落ちています。地下の水脈が変化して水前寺公園の水は枯れました（最近、ちょっと戻ってます）。阿蘇はいたるところで斜面が崩れ、最も重要な橋とトンネルが崩落したため観光はもちろん、住民の生活に大きな支障が出ています。

熊本大学の被害も相当なものがあります。前震と本震、28 時間をあけて震度 7 クラスの揺れに 2 回襲われ、6、7 階にある当研究室の 5 台の HPLC はすべて積み木を崩したように実験台や床に 2 回叩きつけられました。多くの測定機器の制御用パソコンが落下し、また質量分析装置も衝撃を受けて動作不良の状態です。上層階では、ボンベは踊り、実験台は転がり、ドラフトは歩き、固定された本棚は壁ごと倒れました。被害額は、階数にかなり左右されますが、数百万円で収まる場所もあれば軽く億を超えてしまう研究室もあります。工学部では 1 つの建屋を建替えることになるかもしれません。大学全体では、建屋分を除いて、少なく見積もっても 200 億円（井原の推測）を超える被害になるのではないかと思います。

さて、熊本城に話を戻すと、その復旧には 10 年以上を要し、数百億円の費用がかかると試算されています。復旧のために全国から義援金が集まっているというはなしに熊本市民の心は感謝の気持ちでとても暖かくなりました。とはいうものの、熊本城と熊本大学、いずれも国家予算に頼るしかない程の大きな被害額ですが、オーダーとしては同じ規模であることに気づきました。そこで、ふと思いました。熊本大学は、国民の負託に対して、はたして熊本城と同程度に応えることができているのだろうか。片や、かの加藤清正が残してくれた貴重な歴史遺産。

「行ってよかった！日本の城ランキング」ではずっと 1 位をキープする圧倒的な観光資源であり、市民の心の拠り所さえあります。一方で、大学は教育・研究を通して社会に貢献することを旨とし、優秀な人材と希望を社会に提供し続けなければなりません。それぞれ、“過去”と“未来”の夢を形にする役割を担っているという点で対照的ですが、両者の再生には（たまたま？）同じ規模の費用がかかることは妙に私の注意を惹きました。

納税者は、大学からの未来の収穫を露わに目の当たりにすることができません。費用対効果が明白ではないわけで、熊本城修復とはこの意味でも対照的です。再建にも10年かけるわけにはいきません。昨今の我が国の教育・科学研究予算は対GDPでは決して高くないことはわかっていますが、今はただ不確実かもしれない未来への投資を怠らない確かな国の姿勢に期待し、同時に感謝しなくてはいけないと思いました。私たちは1日でも早く大学の再生を果たし、熊本城に負けない社会貢献をしなくてはなりません。同時に、社会への説明責任を、今よりもう少しだけ余計に意識する必要性を感じました。

末筆になりましたが、生体機能関連化学部会に関係する多くの方々から温かいお見舞いの言葉や、研究支援のご提案をいただきました。心から感謝をいたします。ありがとうございました。

細胞内レドックス状態と概日時計の関係理解を志向した  
細胞外電子伝達の研究

東京大学 先端科学技術研究センター 特任助教

(現・名古屋大学 工学研究科化学・生物工学専攻 助教)

石川 聖人

1. はじめに

生体における代謝反応の多くは物質の酸化還元を伴う電子移動反応である。この事実に着目し、著者の研究グループでは、細胞内物質と細胞外電極との電子交換、すなわち細胞外電子伝達 (EET) によって、生細胞の細胞内レドックス状態を操り、測ることを試みてきた[1-3]。本稿では、EET に基づく電気化学測定によって明らかとなったシアノバクテリアの光合成電子伝達系レドックス状態と概日時計システムの相関について述べる。

2. 細胞内レドックス状態と概日時計システム

概日時計は生物が地球の自転に伴う周期的な明暗変化に適応するために獲得した内在性の時間調節機能であり、およそ24時間周期のリズムを生み出している。概日時計はシアノバクテリアからヒトに至る生物種が保有する普遍的な生物システムであるが、興味深いことに、リズムを生み出すコアとなる時計遺伝子は生物種でそれぞれ異なっている。何故、異なる時計遺伝子を有する生物種であっても、同じ周期のリズムを刻むことができるのであろうか。これは翻訳された時計タンパク質が閾値に達すると自身の転写を抑制するという、転写・翻訳フィードバックループ (TTFL) モデルによって説明されてきた。ところが、近年、時計遺伝子の制御下に置かれた代謝、およびレドックスの振動が時計遺伝子の転写にフィードバックを与え、そして、それらが相まってロバストな概日時計システムを形成しているというモデルが新たに提案されている[4]。加えて、細胞内活性酸素種の除去剤として働くペルオキシレドキシ (PRX) のレドックス状態は種を越えて TTFL に非依存的な概日振動を示すことが報告され、話題を呼んだ[5-7]。このように代謝、レドックス状態の振動と概日時計システムの相関は大変注目を集めているものの、代謝やレドックスのリアルタイム測定は困難なこともあり、これらの包括的理解はまだ進んでいない。

3. シアノバクテリア概日レドックスリズムの電気化学検出

電気化学は物質のレドックス状態を知るに優れたツールである。しかしながら、生きた細胞を対象とした実験においては、絶縁性の細胞膜が障壁となって細胞内のレドックス種にアクセスできない。それゆえ、細胞膜を透過する電子伝達分子 (メディエーター) を用いて、細胞外電極との橋渡しを行

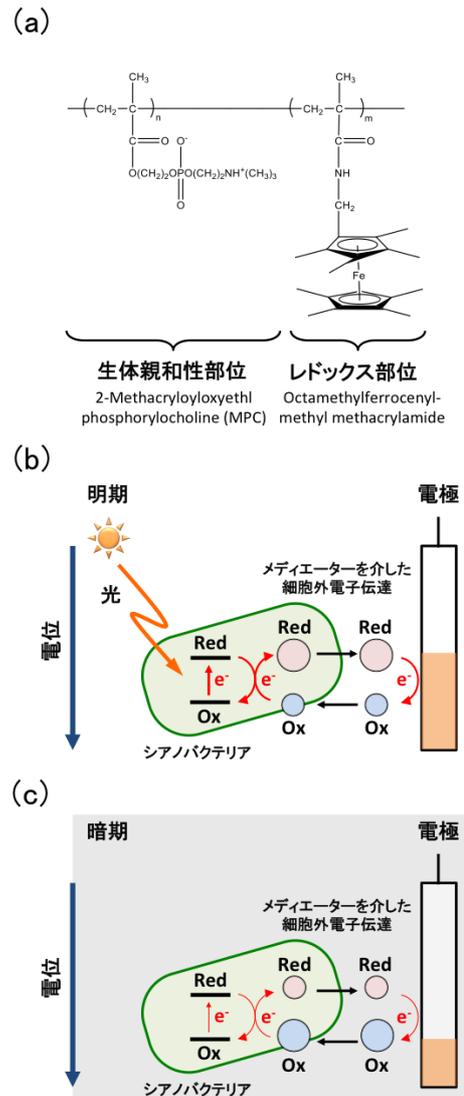


図1. (a) Me<sub>8</sub>-PMFの構造[3]、(b)明期及び、(c)暗期におけるシアノバクテリアのEETに基づく電位測定の様式図。

わせる必要があるのだが、従来の細胞膜透過性のメディエーターは細胞毒性を示すため、長期間の実験に用いるには不向きであった。当研究グループは高い生体適合性を有する分子として知られる 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine とレドックス分子のコポリマーをメディエーターとして用いることで、細胞毒性を軽減させ、長期間に渡る電気化学実験を可能とした[1-3]。シアノバクテリア *Synechococcus elongates* PCC7942 は概日時計を有する最も単純なモデル生物である。この概日時計システムは時計蛋白質 KaiA, KaiB,

KaiC による TTFL と、KaiC のリン酸化状態が 24 時間周期で変化する翻訳後振動 (PTO, Post-Translation Oscillation) によって構成される[7, 8]。さらに最近、外界の明暗変化に応じて光合成電子伝達系内のプラストキノン分子 (PQ) のレドックス状態が変化し、これが概日時計の位相調整に関わることが報告された[9]。この報告に基づき、メディエーター分子 Me<sub>8</sub>-PMF (図 1a) を含むシアノバクテリア培養液の開回路電位を測定したところ、観測電位が概日振動することが明らかとなった[3]。Me<sub>8</sub>-PMF の酸化還元電位 (0.18 V vs. SHE) とレドックス部位の疎水性から、電子交換の主な相手は PQ (0.1 V vs. SHE) と推測している。代表的な測定結果を図 2a に示した。測定開始直後に 12 時間周期の明暗サイクルを与えると、明期では測定電位は負へと変化した。これは光合成によって細胞内は還元的雰囲気となり、測定系内のメディエーターが還元体リッチとなったためである (図 1b)。一方、暗期では測定電位は正へと変化する。これは光合成の停止によって細胞内は酸化的雰囲気となり、メディエーターが酸化体リッチとなったためである (図 1c)。続いて、連続明期へ移行させると、約 24 時間周期の振動が確認でき、恒常的な状態でも約 24 時間の周期を持続するという概日リズムの特徴と一致した。このように生体親和性の電子伝達メディエーターを用いれば、EET に基づく電気化学測定により、光合成電子伝達系レドックス状態のリズムをリアルタイムで観測できる。

#### 4. シアノバクテリアの光合成電子伝達系レドックス状態と概日時計システムの相関

EET に基づく電気化学測定によって観測可能となったレドックスリズムは、シアノバクテリアの概日時計システムとどのような相関があるのだろうか。我々は、時計遺伝子の欠損株 ( $\Delta kaiABC$ ) を野生株と同様の実験に供してみた (図 2b)。12 時間の明暗サイクル時には、野生株と同様の電位の変化が確認できるものの、恒明条件下における概日振動は観測されなかった。次に、*kai* 遺伝子の発現を表す生物発光と、レドックスリズムを恒明条件で数日間測定した後、恒暗条件へ移行させた (図 3)。

光合成独立栄養細菌である *S. elongates* PCC7942 の mRNA 生産は暗期で停止するが、KaiC のリン酸化リズムは持続することが知られている[8]。従って、連続暗条件では PTO は機能するが、TTFL は機能しない状況と見なすことができる。暗期移行後、TTFL は停止することから、やはり生物発光は直ちに減少する (図 3a)。注目すべきは図 3b に示した結果で、レドックスリズムも TTFL リズム消失と共に失われた。これらの結果を合わせて考えると、光合成電子伝達系のレドックスリズムには Kai 振動子が不可欠であること、そして Kai 振動子から生み出される TTFL から時間情報を受取ることで概日振

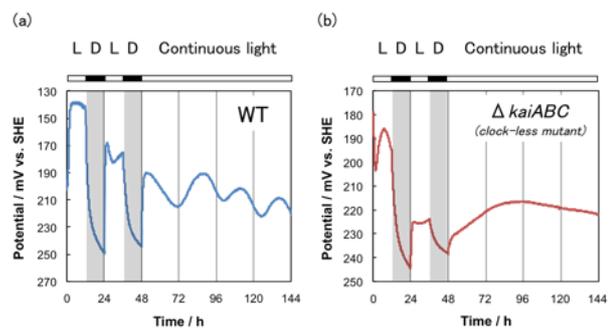


図 2. EET に基づく電位測定の結果. (a) 野生株 (WT)、(b) *kaiABC* 遺伝子欠損株 ( $\Delta kaiABC$ ).

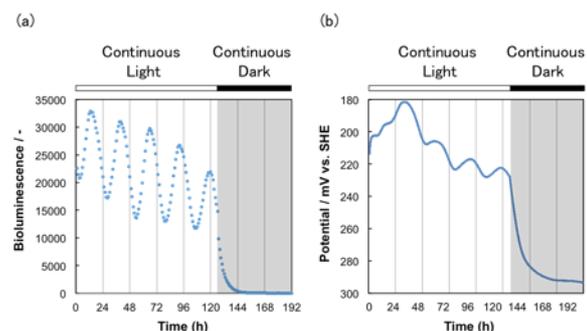


図 3. (a)生物発光リズムと(b)レドックスリズムの同時測定の結果.

動していることが明らかとなった。つまり、光合成電子伝達系のレドックスリズムは Kai 振動子の出力結果と見なすことができる。PQ のレドックス状態が Kai 振動子に入力し、時計の位相調節に関わっているという Kim らの報告を鑑みると、シアノバクテリアは光合成代謝を巻き込んだループ (図 3) を構成することで、概日時計システムをよりロバストなものにしているものと考えられる。

PRX のレドックスリズムは脱核した赤血球細胞や、緑藻類 *Ostreococcus tauri* の mRNA 生産が停止する暗期間においても観察されることから、TTFL とは独立した振動である[5, 6]。 *S. elongates* PCC7942 の PRX にも概日の振動が認められ、*kaiA* 欠損株においても維持すると報告されている[10]。ゆえに、EET に基づく電気化学測定により観測される光合成電子伝達系のレドックスリズムは、PRX のレドックスリズムとは異なっているようである。おそらく、細胞内のすべてのレドックス分子の状態が同様に振動しているわけではないのであろう。ある細胞内のレドックス種は転写時計の時間情報を利用して振動し、あるものは独立して時間管理しているのかもしれない。

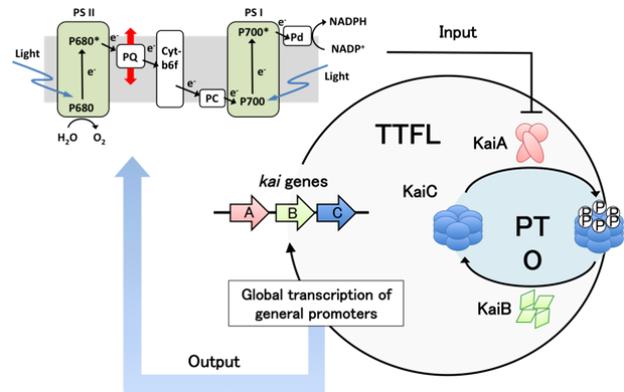


図 4. 本研究で明らかとなったシアノバクテリアの光合成電子伝達系レドックス状態と概日時計システムの相関図。

## 5. おわりに

*S. elongates* PCC7942 の多くの遺伝子は時計遺伝子制御下にあることが知られているため、光合成電子伝達系のレドックス状態が概日振動することは想定できた。しかし、光合成代謝と連動する酸素発生に概日リズムが実験的には認められず、PCC7942 株の代謝と概日時計システムとの関係性はこれまでよくわかっていなかった[11, 12]。本研究の成果によって光合成代謝と概日時計システムの関係性が明確となり、さらに図 4 に示したような新たなループの存在も示唆された。本稿で紹介した細胞内レドックス状態の電気化学検出法は、これまで説明できなかった現象に解を出すためのツールとなり得る。また、他の生物種に対しても本手法は適応できるため、哺乳動物細胞の細胞内レドックス状態検出にも目下挑戦している。

## 6. 謝辞

本研究は著者の前所属先である東京大学で実施されました。本研究を行うにあたり、橋本和仁教授（東京大学、物質・材料研究機構）、中西周次教授（大阪大学）に多大なるご指導、ご鞭撻を賜ったことを、この場を借りて厚く御礼申し上げます。また、多大なご助言、ご協力賜りました加藤創一郎博士（産業技術総合研究所）、大川妙子准教授（名古屋大学）、北山陽子講師（名古屋大学）に感謝申し上げます。本研究は、科学研究費補助金(特別推進 2100010)により実施されました。

## 7. 参考文献

- [1] Nishio et al., *Environ. Sci. Technol. Lett.*, **1**, 40 (2014); [2] Lu et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 2208 (2014); [3] Nishio et al., *Plant Cell Physiol.*, **56**, 1053 (2015); [4] Reddy and Rey, *Annu. Rev. Biochem.*, **83** 165 (2014); [5] O'Neill et al., *Nature*, **469** 498 (2011); [6] O'Neill et al., *Nature*, **469**, 554 (2011); [7] Ishiura et al., *Science*, **281**, 1519 (1998); [8] Tomita et al., *Science*, **307**, 251 (2005); [9] Kim et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 17765 (2012); [10] Edgar et al., *Nature*, **485**, 459 (2012); [11] Yen et al., *Plant Sci.*, **166**, 949 (2004); [12] Johnson and Egli, *Annu. Rev. Biochem.*, **83**: 221 (2014)

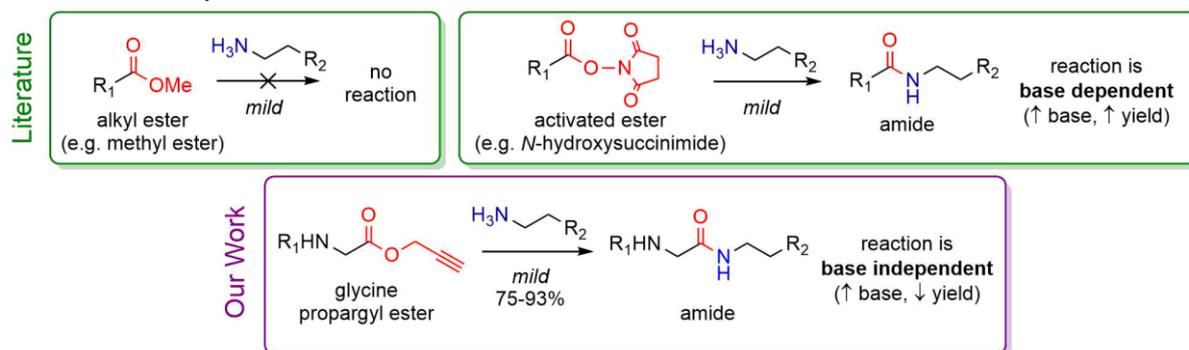
## 研究紹介

Kenward Vong and Katsunori Tanaka

Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory, RIKEN

Chemistry is at the basis of everything that governs life on Earth. Every biological process from protein synthesis to DNA replication is largely dependent on the reactivity and selectivity of specific molecular interactions. As chemical biologists, our primary research interests are directed towards finding ways to manipulate chemistry for biological applications. As such, upon discovery of the unique reactivity of glycine propargyl esters, our focus was solely on how we could apply it to solve biology-related questions.

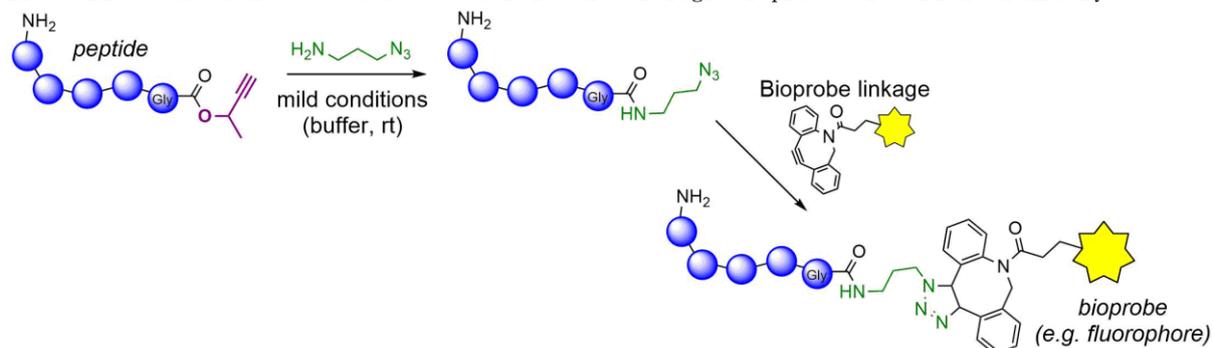
Nucleophilic acyl substitution, one of the most fundamental reactions, occurs when a nucleophile (typically an amine) attacks an ester to form an amide bond. Normally, amide bond formation with alkyl esters are limited due to the stability of the ester. The most common way to increase reactivity is by creating an activated ester with an electron-withdrawing leaving group. The use of activated esters can be found everywhere from nature to our chemistry laboratories.



Even though glycine propargyl esters should be considered stable alkyl esters, thus nonreactive, our research has found that they easily react selectively with linear alkylamines in a base independent manner. Surprisingly, no reactivity was found with amino acids (ex/ glycine, phenylalanine, lysine, serine, and cysteine), peptides (ex/ glutathione), or proteins (ex/ albumin).

Through calculation of the potential energy surfaces (PES) of reaction intermediates, transition states, and products, we have found that a network of hydrogen bonding interactions between multiple amine substrates with the ester potentially stabilizes the transition state. In general, calculated rate constants for various ester substrates largely fall in line with experimental observations with activation barriers found to be low enough for our observed temperature and time conditions.

As a proof of concept, we applied the new found reactivity of glycine propargyl esters towards the design and development of a C-terminal glycine-specific peptide conjugation technique. A series of short, propargylated peptides were shown to react with an azide-containing linear alkylamine in good yields to produce the desired C-terminal linked peptides. In terms of side products, no interference was found with peptide residues containing nucleophilic side chains (ex/ Lys), carboxylic acid side chains (ex/ Asp, Glu), and an exposed N-terminus amine. To further the biological applicability of this work, the free azide can then be attached to a relevant biological probe via click chemistry.



With our work, we present 2 unique concepts that we believe will be useful to the scientific community; not only by potentially spawning different applications based upon the previously unrecognized glycine propargyl ester reactivity, but also by showing the potential for direct application of C-terminal glycine peptide/protein bioconjugation for biological studies. Using similar approaches, we hope to continue developing more reactions with biological implications in the future to further contribute to better understanding and manipulation of biological processes.

# Horseradish Peroxidase を触媒として利用した

## チロシン残基選択的なタンパク質ラベル化反応

東京工業大学 化学生命科学研究所 佐藤伸一

### 1. はじめに

タンパク質の化学修飾はタンパク質への機能性修飾、標識化・イメージング等の生体機能関連化学において重要な基盤技術の一つである。しかしながら、現在汎用的に用いられているタンパク質の化学修飾法のほとんどは求核性アミノ酸残基（リシン残基、システイン残基）を標的にしたものに限定されるのが現状である。

リシン残基はタンパク質における存在比が高く、反応点が多く存在することから、リシン残基修飾における修飾の個数や反応点の制御が困難である。システイン残基は天然の存在比が少なく、ほとんどはジスルフィド結合を形成していることから、遊離システインを標的にできるタンパク質は限られる。抗体修飾の場合においてはジスルフィド結合を部分的に還元して部位特異的に修飾する手法があるが、タンパク質構造変化による安定性の低下が懸念される。

芳香族アミノ酸残基の分子修飾法の開発は近年、新たなアミノ酸残基修飾法として着目されており、求核性アミノ酸残基に限定される従来のタンパク質修飾技術を拡充する方法論として期待されている。芳香族アミノ酸残基のなかでもチロシン残基はタンパク質表面にも存在し、機能性タンパク質の分子修飾のための良好な標的である。チロシン残基の天然の存在比やタンパク質表面への露出度の多様性を考慮すると、修飾力所の個数や部位を制御しやすい手法としても期待できる。

チロシン残基修飾法の開発は近年盛んに研究されているが、残基選択性や修飾効率に課題を残すものが多いのが現状である。温和な反応条件で効率的にチロシン残基を修飾する手法の開発は未だに困難な標的であると言える。

### 2. ルミノール反応からの着想

坂、Barbas らは 2010 年に環状の diazodicarbonyl 構造を持つ PTAD 誘導体がチロシン残基と ene 反応様の反応メカニズムにより、結合を形成できることを報告している<sup>1</sup>。しかし、PTAD は水中で不安定な構造であり、脱窒素、脱一酸化炭素を伴って、求電子性の副生成物を生じる。これは、ペプチド/タンパク質の N 末端アミンやリシン残基とも結合を形成するため、チロシン残基への選択性の面では改善の余地を残すものであった (Figure 1)<sup>2</sup>。

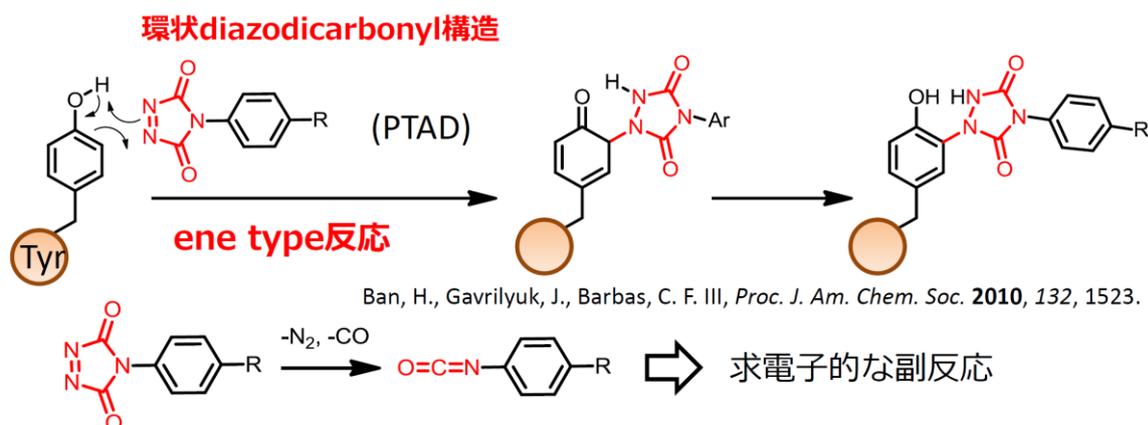
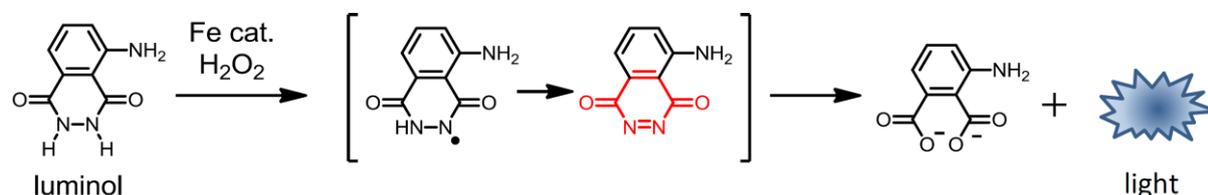


Figure 1 PTAD によるチロシン残基修飾反応

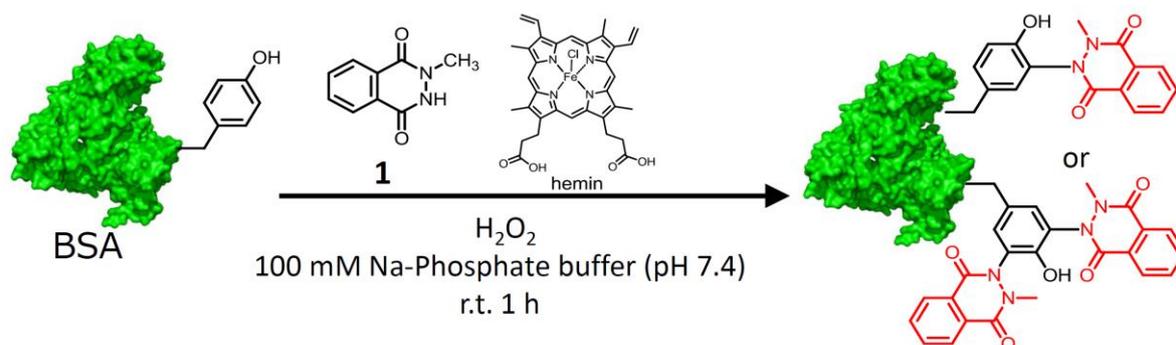
そこで、我々はウエスタンブロットのシグナル検出で汎用されるルミノール発光反応の活性中間体の構造に着目した (Figure 2)。本活性中間体も PTAD 同様、環状 diazodicarbonyl 構造を有することが示唆されており、これは、脱窒素反応 (発光反応) をしても、求電子性の副生成物を生じないため、高いチロシン残基選択性でペプチド/タンパク質を修飾する技術に成り得ると期待した。



**Figure 2** ルミノール発光反応

### 3. ルミノール誘導体を用いたチロシン残基修飾法の確立

鉄 - ポルフィリン錯体 hemin を触媒として、上記の作業仮説を検証したところ、luminol はチロシン残基と結合したが、その反応効率は低いものであった。そこで、種々の luminol 誘導体を合成し、チロシン残基含有ペプチドとの反応性を評価したところ、N-methyl 構造を有する luminol 誘導体 (Figure 3、化合物 **1**) が効率的にチロシン残基と反応することを明らかにした。Luminol は Figure 2 に示す脱窒素反応を伴う発光反応が優先するのに対して、N-methyl 化されている化合物 **1** では発光反応を示さず、反応性の高い N=N 結合を持つカチオン性化学種が生成するためであると考察している。チロシン残基含有ペプチドとの反応速度定数は  $8.55 \times 10^0 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  であり、Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) 等のクリック反応と比べても遜色ない、十分に速い反応性を示した<sup>3</sup>。さらに、化合物 **1** は天然の 20 種類のアミノ酸残基の中でもチロシン残基とのみ結合を形成し、タンパク質に適用した場合は、よりタンパク質表面に露出した (solvent accessibility の高い) チロシン残基がより修飾され易いという知見も得ている<sup>4</sup>。



**Figure 3** 化合物 **1** によるタンパク質表面チロシン残基の修飾

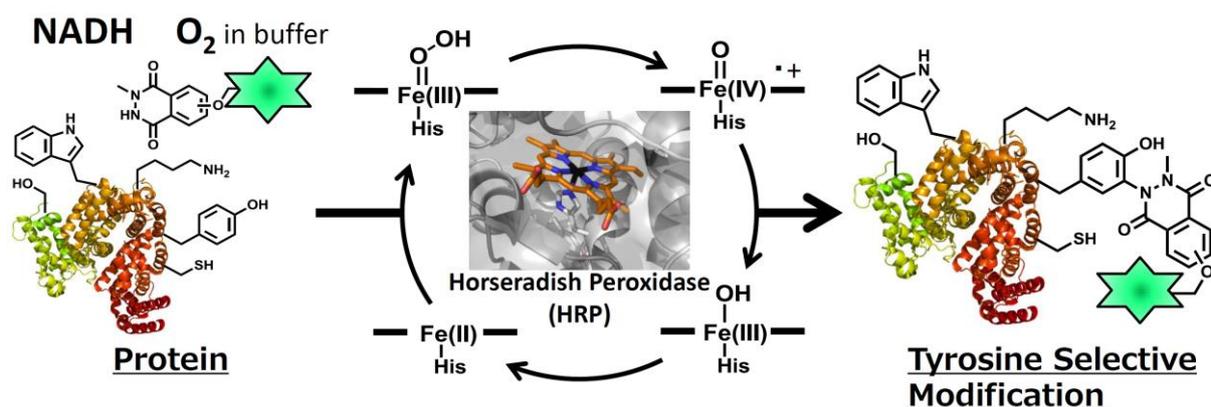
### 4. Horseradish Peroxidase (HRP)を触媒として利用したタンパク質修飾

本反応の触媒としては、hemin 以外にも生体由来のヘムタンパク質を活用することも出来る。中でも HRP によって本反応が効率的に触媒されることが明らかとなった。HRP は生物学の分野で汎用されるタグ酵素であり、HRP を触媒として利用できるタンパク質修飾法の開発は、生物学的な応用面でも有用な手法に展開できると考え、反応条件を種々検討した。

Hemin を使った手法の場合の欠点として、過剰量 (タンパク質修飾の場合、基質に対して 100 当量) の  $\text{H}_2\text{O}_2$  を必要とするため、それに由来する酸化反応が副反応として起きてしまうということが挙げられる。実際にウシ血清アルブミン (BSA) をモデル基質にした検討では、修飾反応はチロシン残基特異的に起きるものの、酸化的な副反応として、遊離システイン Cys34 の酸化が確認された。触媒を hemin か

ら HRP に変更したところ、用いる  $\text{H}_2\text{O}_2$  の量を 1/10 程度に抑えることができ、酸化的副反応を低減させつつ、より効率的に BSA をラベル化できることを明らかにした。HRP を触媒とした本手法は BSA のみならず、タンパク質表面にチロシンが存在する様々なタンパク質やチロシン含有ペプチドに適用でき、hemin を使った手法より効率面で大きく改善することができた。

さらに、ヘム鉄の活性中心の鉄原子のレドックスサイクルに着目した。生体内のオキシダーゼや HRP においては、還元剤 NADH の存在下、溶存酸素を酸化反応の駆動力として、オキソフェリルカチオンラジカル種 (Figure 4 サイクル右上) を生じることが報告されている<sup>5</sup>。そこで、この HRP のオキシダーゼサイクルを用いれば、 $\text{H}_2\text{O}_2$  を全く使用する事無く、HRP を触媒としたチロシン修飾を達成できると考えた。条件検討の結果、NADH 存在下においてはバッファー中の溶存酸素を酸化反応の駆動力として、化合物 **1** の酸化的活性化、タンパク質チロシン残基の修飾に成功した。



**Figure 4** バッファー中の溶存酸素を駆動力とする反応条件でのチロシン残基修飾

## 5. おわりに

水中の温和な反応条件において効率的にチロシン残基を修飾することに成功した。すなわち、hemin を触媒とする第一世代の修飾法に比べ、第二世代の修飾法 (HRP/ $\text{H}_2\text{O}_2$  法) では、 $\text{H}_2\text{O}_2$  の使用量を低減させつつ、修飾効率を大きく向上させることに成功した。さらに、生体のオキシダーゼサイクルをヒントに開発した第三世代の修飾法 (HRP/NADH 法) ではバッファー中の溶存酸素分子が酸化的チロシン修飾の駆動力として作用することを見出した。

## 謝辞

本研究は筆者の所属する東京工業大学 科学技術創成研究院、化学生命科学研究所 中村・布施研究室で行われました。中村浩之教授、実験を担当した中村公亮修士をはじめとする研究室メンバーに感謝申し上げます。本研究の一部は日本学術振興会科学研究費 若手A (15H05490) と新学術領域研究「ダイニングコード」(15H01372) の助成により実施されました。

## 参考文献

- [1] Ban, H., Gavriilyuk, J., Barbas, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1523-1525.
- [2] Ban, H., Nagano, M., Gavriilyuk, J., Hakamata, W., Inokuma, T., Barbas, C. F. *Bioconjug. Chem.* **2013**, *24*, 520-532.
- [3] Lang, K., Chin, J. W. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 16-20.
- [4] Sato, S., Nakamura, K., Nakamura, H. *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10*, 2633-2640.
- [5] Afanasyeva, M. S., Taraban, M. B., Purtov, P. A., Leshina, T. V., Grissom, C. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8651-8658.

# 1 細胞ゲノム解析の高精度化と超並列化を実現するマイクロ液滴反応場

早稲田大学 ナノ・ライフ創新研究機構、JST・さきがけ 細川正人

## 1. はじめに

次世代シーケンサーなどの遺伝子解析技術の進歩により、生体を構成する細胞の多様性/不均一性 (Heterogeneity) が明らかにされつつある。組織内の細胞多様性を 1 細胞レベルで調べることによって、バルク解析では見逃していたレアな遺伝子異常を捉え、多様な細胞から形成される階層構造の実態に迫ることができる。例えば、腫瘍に存在する遺伝子異常(一塩基変異、コピー数変異、欠失・挿入)の不均一性を 1 細胞レベルで正確に明らかにできれば、腫瘍の発生と進展の理解が進み、治療抵抗性や転移能に関連する変異が新たに同定されることが期待され、新しい治療・創薬への貢献へつながる。

ヒト細胞では 1 細胞中のゲノム DNA はわずか 7 pg であり、ゲノム配列を解読するためには、まず DNA を増幅する必要がある。しかし、鋳型となるゲノム DNA 量の少なさゆえに、ゲノム抽出時のロス、DNA の増幅バイアス、外部からのコンタミネーションなどが解析結果に与える影響が非常に大きい。また、現行の分子生物学実験ではウェルプレートフォーマットでの実験が主流であり、一度に数百個の 1 細胞を並列試料調製するのが限度である。1 細胞ゲノミクスは、がん生物学の分野だけではなく、難培養の環境微生物のゲノム解析を含めて非常に多岐にわたる分野で注目されている。しかし、解析の出発点となる全ゲノム増幅の高精度化と並列処理の実現が共通重要課題となっている。

そこで我々は、組織中の個々の細胞の超並列ゲノム解析を実現するために、マイクロ流体デバイス を基盤とした新しい 1 細胞ゲノム解析技術の開発に取り組んでいる。これまでに、流体力学的効果を用いてマイクロ流路中の水溶液の定常流からピコリットル容量の液滴を連続形成し、これらを超微量な化学反応容器として用いる手法を提案している<sup>1</sup>。この液滴に、核酸や細胞、薬剤を封入すれば、各液滴内で生化学反応を並列進行させることができる。本方式では、理論上では細胞や試薬を封入した数百万の反応環境を 1 時間以内で作ることが出来るため、従来法の限界を超えた超並列的な 1 細胞ゲノム解析を実現できると考えた。本稿では、マイクロ液滴を用いた 1 細胞ゲノム解析への展開として「1 細胞ゲノム増幅の高精度化を実現する液滴区画化反応」と「1 細胞ゲノム増幅の超並列化を実現する液滴融合反応」を紹介する。

## 2. 1 細胞ゲノム増幅の高精度化を実現する液滴区画化反応

1 細胞の微量ゲノム増幅における一番の大敵は反応環境の汚染である。市販の全ゲノム増幅試薬では 5  $\mu\text{L}$  の反応場で 5~50 個のコンタミネーション DNA 断片が存在すると言われる<sup>2</sup>。ここで、通常のマイクロリットルサイズのゲノム増幅反応液を数十万個のマイクロ液滴反応場へと変換する事を考えた。理論的には、反応液をピコリットル容量の液滴までサイズダウンすると、1 反応区画当たりのコンタミネーション DNA の存在率は従来法の千分の 1 以下になり、非特異的な増幅を排除した反応環境を実現することが出来る。反応場の微小区画化の更なる効果として、コンタミネーション DNA 断片と標的 DNA との増幅競争を排除でき、増幅バイアス発生の低減を同時に実現可能と考えた(図 1)。

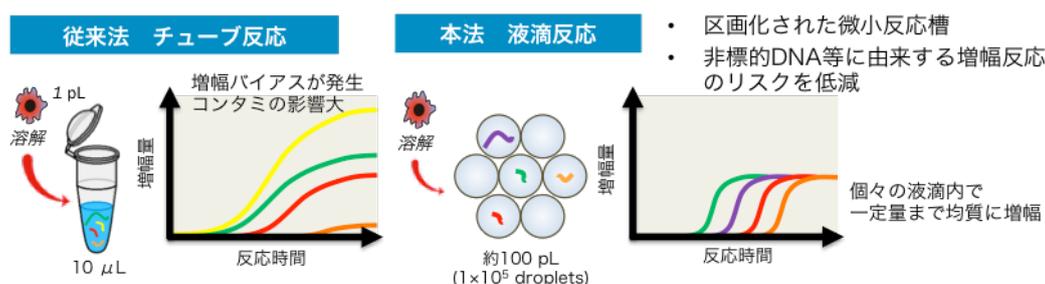


図 1 液滴区画化反応による高精度な 1 細胞ゲノム増幅のコンセプト

我々が開発したマイクロ流体デバイスでは、水溶液の定常流をオイルでせん断することで液滴を毎秒 1000 個の速度で生成する。この時、液滴径は 30–140  $\mu\text{m}$  (14 pL–1.4 nL) の範囲で制御可能である。細胞または DNA 分子を含む水溶液をデバイスに導入すると、細胞や分子がポアソン分布に従って液滴中に封入・区画化される。本液滴は熱安定性が高く、核酸増幅のための加熱・酵素反応を経ても形状が安定的に維持される。DNA 結合性蛍光色素を利用すれば、液滴内部での phi29 ポリメラーゼによる 1 分子 DNA の鎖置換増幅をモニタリングできる(図 2)。1 細胞ゲノム解析に向けた実証試験として、大腸菌 1 細胞から抽出したゲノム DNA 断片(約 5 fg)を  $10^5$  個のピコリットル液滴に分配し増幅反応を行った。この結果、コンタミネーション DNA 由来の増幅を従来の約 1500 分の 1 に抑制できた。これは、微小反応場中ではコンタミネーション DNA の過剰増幅が抑制された効果と考えられる。次に、次世代シーケンサーにて増幅産物の塩基配列を読み取り、大腸菌の全ゲノム領域に対するカバー率を求めた。すなわち、1 細胞ゲノム DNA の増幅産物から読み取った配列情報を元に、全ゲノムをどれだけ復元できるかを調べた。この結果、本法で得られた増幅産物では、従来法と比べて約 30% 広くゲノム領域をカバーし、全ゲノムの約 90% を復元することができた(図 2)<sup>3</sup>。上記の結果より、本法では増幅バイアスとコンタミネーションリスクを抑えて高精度な 1 細胞ゲノム解析を実現できることが示された。本法は、未知の難培養微生物からドラフトゲノム配列を獲得する際などに有効な試料調製法であると考えている。

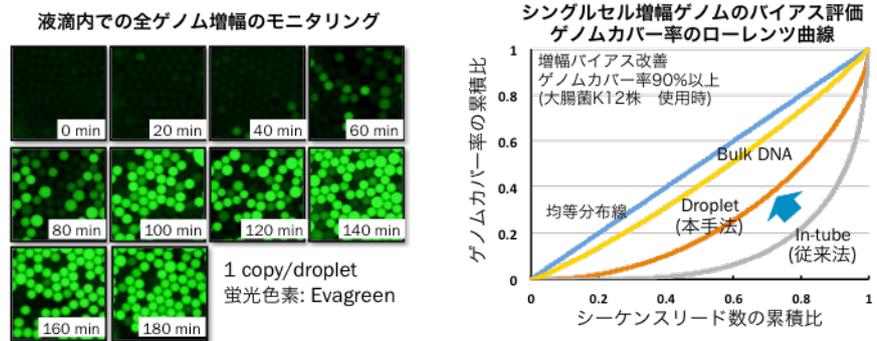


図 2 液滴区画化反応による 1 細胞ゲノム増幅の効果

### 3. 1 細胞ゲノム増幅の超並列化を実現する液滴融合反応

上記の開発により、まず液滴を反応場として用いることで 1 細胞ゲノムの高精度化を実現できることを示した。次に必要なのは 1 細胞ゲノム解析の超並列化である。これは、1 細胞の捕捉、細胞溶解、ゲノム増幅、シーケンスライブラリの調製などの多段階で複雑な工程を多数の細胞に対して並列的に行うことである。これを実現するために、マイクロ液滴を微小な流路内で連続融合させるシステムを開発し、1 細胞ゲノム解析に必要な連続多段階の反応を数十万の細胞に対して超並列的かつ迅速に実施する系を確立しようと考えている(図 3)。

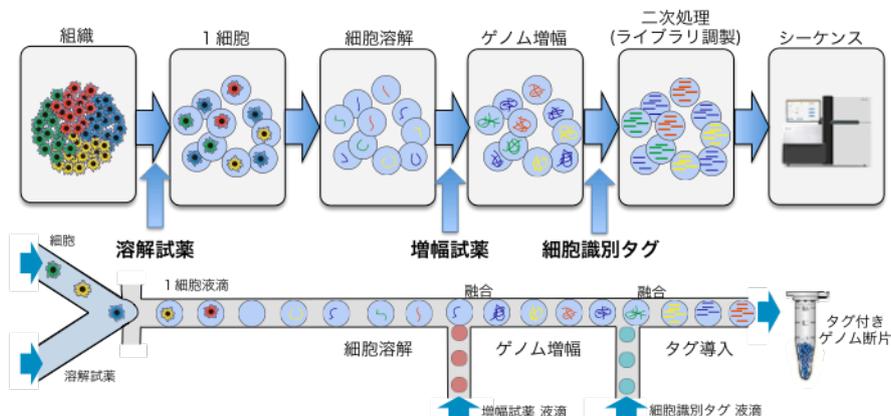


図 3 液滴融合による超並列的 1 細胞ゲノム解析のコンセプト

上：1 細胞ゲノム解析フロー、下：解析フローに対応したマイクロ流路構造模式図

はじめに、微小液滴内に連続封入した1細胞に対して、並列的に全ゲノム増幅を行うため、2種の液滴を高速に融合させるマイクロ流体デバイスを開発した。溶液の流速およびオイル中の界面活性剤濃度を調整することで、毎秒200個、融合効率90%以上の液滴融合を可能とした。液滴融合デバイスを用いて、大腸菌1細胞の溶解物を含む液滴と増幅試薬液滴とを融合させ、全ゲノム増幅反応を行った。増幅反応後にDNA結合色素由来の蛍光を示す液滴の割合を測定した結果、50万の液滴の約8%からゲノム増幅が検知された。これは、液滴に封入した約4万個の1細胞のゲノムを並列的に増幅したことを示している。この内、液滴を1個ずつ取り出して液滴内の増幅産物のシーケンスを行った結果、単一液滴成分から80%以上のゲノムカバー率を有するゲノム増幅産物を得ることが出来た。本システムを応用することにより、理論的には10万個以上のシングルセルを対象としたゲノム増幅が可能である。ゲノムサイズの大きなヒト細胞を対象とした検証結果でも、同様に並列ゲノム増幅が可能である事を確認しており、現在はその増幅バイアスや塩基配列の複製精度などの評価を進めている。

#### 4. おわりに

本稿では、1細胞ゲノム解析に向けたマイクロ液滴の2つの応用例を紹介した。ピコリットル容量の液滴は、極めて均質で独立閉鎖的な反応環境として機能し、外部または細胞間のコンタミネーションを完全排除した形で、1細胞ゲノムの増幅を可能とする。個々の液滴内で増幅されたゲノムは、ライブラリとして保管が可能であり繰り返しの利用ができるため、様々な応用展開が見込める。我々の論文報告以降、同様に液滴を反応場とした全ゲノム増幅法が提案され、1細胞ゲノム解析に貢献する技術としてのマイクロ液滴利用の可能性が相次いで報告されている<sup>4</sup>。マイクロ液滴はシンプルな流路構造で、容易に調製が可能でありながら、生成・融合・分割など様々な操作を行うことができる。これをモジュールとして組み合わせることで、より複雑な解析システムを構築することも可能と考えている。近い将来に、マイクロ液滴反応場を利用したシステムをゲノム・エピゲノム・トランスクリプトームなど様々な階層での統合1細胞解析を実現する技術基盤として確立したいと考えている。

#### 謝辞

本研究の実施にあたりご指導頂いた早稲田大学理工学術院 竹山春子教授、ならびに共同研究者の皆様へ深く感謝申し上げます。本研究の一部は、JST さきがけ、科研費 若手研究(B)(26820365)の助成により実施されました。

#### 5. 参考文献

1. Hosokawa M, Hoshino Y, Nishikawa Y, Hirose T, Yoon DH, Mori T, Sekiguchi T, Shoji S, Takeyama H., Droplet-based microfluidics for high-throughput screening of a metagenomic library for isolation of microbial enzymes., *Biosensors and Bioelectronics*, 67, 379-385, (2015)
2. Blainey, P. C., Quake, S. R. Digital MDA for enumeration of total nucleic acid contamination. *Nucleic acids research*, 39(4), e19-e19. (2011)
3. Nishikawa Y., Hosokawa M., Maruyama T., Yamagishi K., Mori T., Takeyama H., Monodisperse Picoliter Droplets for Low-Bias and Contamination-Free Reactions in Single-Cell Whole Genome Amplification, *PLOS ONE*, 10(9), doi: e0138733, (2015)
4. Tay A., Kulkarni R. P., Karimi A., Di Carlo, D. Research highlights: enhancing whole genome amplification using compartmentalization. *Lab on a Chip*, 15(23), 4379-4382, (2015)

# 「若手フォーラム」開催案内

## 第4回 バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム

### (第31回生体機能関連化学部会若手フォーラム・第4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、石川県立音楽堂で開催されます第10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、5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れば幸いです。

#### 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：** 2016年9月6日(火) 13:30~18:30 (予定)

**会場：** 金沢駅東もてなしドーム地下イベント広場 [アクセス] JR 金沢駅隣接  
若手フォーラム Web ページをご参照ください

(<http://www.jaist.ac.jp/ms/labs/t-yamaguchi/bio-wakate2016/index.html>)

**発表申込締切** 2016年7月29日(金)

**予稿原稿締切** 2016年7月29日(金)

**参加予約申込締切** 2016年7月29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5名の招待講演を開催 13:30~16:35

1. 機能性人工タンパク質の創製と疾患治療への応用の試み (神戸学院大) 角田慎一
2. 生体分子の分光スペクトルに現れる H/D 同位体効果の理論解析 (広島市大) 兼松佑典
3. ラマン顕微鏡：分光分析とイメージングとの融合 (阪大) 藤田克昌
4. 植物に学ぶ触媒デザイン：水から酸素をつくる鉄5核錯体 (分子研) 正岡重行
5. 凍結濃縮を利用した両性電解質高分子ナノキャリア/タンパク質複合体の細胞内デリバリー (北陸先端大) 松村和明

**ポスター発表** 17:00~18:30 (予定)

#### 参加および発表申込方法

参加登録は、申込フォームに必要事項を記入の上、第4回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム実行委員会(E-mail: [bio-wakate2016@jaist.ac.jp](mailto:bio-wakate2016@jaist.ac.jp))までメール添付にてお申し込みください。(メールの件名を「若手フォーラム参加申込」としてください。)ポスター発表希望有の場合、要旨(Word形式とPDF形式に変換した要旨ファイル)もあわせて提出してください。申込フォームおよび要旨テンプレートはWebページ(<http://www.jaist.ac.jp/ms/labs/t-yamaguchi/bio-wakate2016/index.html>)よりダウンロードしてください。

参加登録費 学生 無料 一般 1,000円

懇親会費 3,000円程度(予定) (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

〒923-1292 石川県能美市旭台1丁目1番地 電話(0761)51-1641 E-mail:[takumi@jaist.ac.jp](mailto:takumi@jaist.ac.jp) 代表世話人：山口 拓実 (北陸先端大) 世話人：齋藤 真人 (阪大) 柴田 知範 (阪大) 瀬月内 健一 (塩野義製薬株式会社 創薬疾患研究所) 藤枝 伸宇 (阪大) 渡邊 貴嘉 (北陸先端大)

## 第10回バイオ関連化学シンポジウム

### 開催案内

- 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：** 日本化学会、日本薬学会、生物工学会、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  
**協賛：** 高分子学会  
**会期：** 2016年9月7日（水）、8日（木）、9日（金）  
**会場：** (1) 石川県立音楽堂、(2) もてなしドーム地下イベント広場  
(1)金沢市昭和町 20-1、(2) 金沢市木ノ新保町 2番 [交通] JR 金沢駅 東口 エスカレーターを降りてすぐ

**発表申込締切** 2016年6月29日（水）

**予稿原稿締切** 2016年7月15日（金）

**参加登録(予約)締切** 2016年7月22日（金）

**内容** ペプチド・タンパク・酵素、分子認識・超分子・モデル系、遺伝子関連などが関連する幅広いバイオ関連化学

**申込分類** 1) 分子認識・超分子・モデル系、2) ペプチド・蛋白・酵素、3) 核酸関連、4) 糖・脂質、5) メディカルバイオ、6) 環境バイオ、7) 分析・計測・センサー・デバイス

**発表資格** 登壇者は両主催部会いずれかの会員である必要がございます。  
現在未入会の方は、締切日の10日前を目安に、入会手続き（WEBでのお申込と初年度会費の納付）を完了させて下さい。※講演申込時に、ご自身の会員番号の入力が必要となります。  
入金後、1週間程度で正式な会員番号がお手元に届きます。※講演申込締め切りまでに会員番号が届かない可能性がある場合は、部会の会員申込の際に発行された仮番号（MEではじまる）にてご登録をお願いします。

#### ■両主催部会

- ・生体機能関連化学部会⇒<http://seitai.chemistry.or.jp/index.html>
- ・バイオテクノロジー部会⇒<http://bio.chemistry.or.jp/index.html>

■部会へ入会するには⇒<http://www.chemistry.or.jp/application/admission/index.html>

**発表形式** 口頭発表およびポスター発表 ※本シンポジウムでは、英語での発表を推奨しております。

**口頭発表：** 全日で15分発表、5分質疑。

※ 英語でのスライド作成を推奨しております。

※ 口頭発表は原則として1研究室1件まで。但し、申し込みは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。

**ポスター発表：** 原則、一日目および二日目。ただし、発表件数が多い場合はその限りではない。

※ 英語でのポスターパネル作成を推奨しております。

### 参加および発表申込方法

「発表申込」、「予稿原稿の提出」、「事前参加登録」はすべて、本WEBサイトより行う。

ユーザー登録を行う⇒<http://jointsympo.csj.jp/reg16/entry.php>

ユーザー登録とは⇒[http://jointsympo.csj.jp/guide\\_lecture.php](http://jointsympo.csj.jp/guide_lecture.php)

ログインをして申込⇒<http://jointsympo.csj.jp/reg16/login.php>

### 部会講演賞

- 1) 受賞時40歳以下で学位（博士）を有し、両主催部会のいずれかに入会して一年以上が経過した部会員が対象。
- 2) レビュー講演のような内容ではなく最新の研究成果を中心とした発表を審査対象とする。
- 3) 賞応募申請は発表申し込み時点で受付を行う。

### 学生ポスター賞

- 1) 両主催部会のいずれかの部会員の学生が対象。
- 2) 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。
- 3) 賞応募申請は発表申し込み時点で受付を行う。

※ただし、申込多数の場合、予稿を用いた事前審査で選考されたもののみ本審査を行う。

### 参加登録費

- 1) 事前参加登録：7月22日（金）まで…部会員：一般7,000円、学生3,000円、非部会員：一般9,000円、学生4,000円
- 2) 当日参加登録：7月23日（土）以降…※当日会場にて受付 部会員：一般9,000円、学生5,000円、非部会員：一般11,000円、学生6,000円

※いずれの価格にも予稿集代金が含まれています。

※予稿集の事前送本は予定していません。

### 懇親会

日程：9月8日（木）夕刻開催 参加費：8,000円（当日申込も可能）。 会場：ANAクラウンプラザホテル金沢

### 問い合わせ先

実行委員長：高木昌宏（北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス系）

連絡先：（第10回バイオ関連化学シンポジウム事務局）

Tel:0761-51-1650, E-mail: takagi@jaist.ac.jp

## 日本化学会第 96 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）

氏名	所属機関	演題
石川 聖人	東京大学	細胞内レドックス状態と概日時計の関係理解を志向した細胞外電子伝達の研究
柏崎 玄伍	京都大学	次世代シーケンサーを用いた、設計の異なる PI ポリアミドの DNA 配列認識能比較
VONG Kenward	理化学研究所	Selective C-terminal glycine conjugation based on propargyl ester reactivity
PRADIPTA Ambara Rachmat	理化学研究所	見過ごされていたアルキルアジドの反応性に基づくアクロレインの検出
佐藤 伸一	東京工業大学	ルミノール誘導体を用いたチロシン残基選択的な化学修飾法開発
斉藤 毅	筑波大学	睡眠覚醒を制御する低分子オレキシン受容体作動薬の開発
細川 正人	早稲田大学	シングルセルゲノム増幅の高精度化・超並列化を実現する微小液滴反応場
山平 真也	東京大学	Turn on 型 PEG 脂質表面の開発と複数種細胞の光配置技術

### 学生講演賞

（生体機能関連化学関係・講演番号順・敬称略）

氏名	所属機関	演題
河村 玄気	東京大学	熱ショック因子の概日時計における統合的役割の解明に向けた発光プローブの開発
木内 達人	大阪大学	ハイマンノース型糖鎖を持つエリスロポエチンの精密化学合成とそれらを用いた糖タンパク質品質管理機構の解明研究
NGUYEN Minh Hien	大阪大学	Specific and Gradient 15N isotope-labeling method for synthetic proteins towards NMR analysis
西尾 洸祐	東京大学	TET1 阻害大環状ペプチドの開発
佐藤 翔吾	東京工業大学	抗生物質テトラセノマイシン類の全合成
中山 泰彰	慶應義塾大学	連続的 Overman/Claisen 転位の開発と(+)-Neostenine の全合成
菅原 恒	北陸先端科学技術大学院大学	局所麻醉薬添加によって低下する脂質膜相分離構造の熱安定性
松本 咲	大阪大学	小分子誘起型-1 リボソームフレームシフトによる細胞内での遺伝子発現制御
中嶋 龍	筑波大学	ナルトレキソンを出発原料としたプロペラン骨格を有するオピオイド $\kappa$ 受容体選択的リガンドの設計・合成
関 陽平	東京大学	遷移金属を用いないトリプトファン選択的天然タンパク質生体共役反応の開発
野村 勇作	北海道大学	単量体型スペクトマイシンの全立体異性体全合成と SUMO 化阻害活性
澄本 慎平	慶應義塾大学	海洋シアノバクテリア由来新規エナミドの単離と構造
宮本 昂明	奈良先端科学技術大学院大学	ドメインスワップしたシトクロム $cb_{562}$ 二量体と $Zn-SO_4$ クラスターを内包するタンパク質ナノケージ
有吉 純平	京都工芸繊維大学	RISC 機能の制御を目指した遺伝子発現制御素子の開発 (IV) アンチセンス核酸の化学構造が RISC からの microRNA 解離効果に与える影響
吉村 証彦	名古屋大学	ストライガ問題解決に向けたケミカルバイオロジー
根岸 走	東京工業大学	蛋白質結晶内ジスルフィド形成による超分子構造体の構築

## お知らせ

### 平成28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】

伊東 忍（阪大院工）

浜地 格（京大院工）

#### 【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（熊本大院先端科学）

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）

藤枝 伸宇（阪大院工・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28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）  
小松 徹（東大院薬）

#### 【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】

藤枝 伸宇（阪大院工）※若手の会代表幹事  
瀬月内 健一（塩野義製薬創薬研）  
柴田 知範（阪大産研）

#### 【中国・四国支部】

鈴木 優章（島根大院総合理工）  
杉川 幸太（広島大院工）

#### 【九州支部】

内之宮 祥平（九大院薬）  
石塚 匠（宮崎大医）

ニュースレター Vol. 31, No. 1 2016年 7月 13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](mailto:seitai@chemistry.or.jp)

編集委員：浦野 泰照, 伊東 忍, 王子田 彰夫