社団法人　日本化学会

Newsletter-生体機能関連化学部会-

巻 頭 言

研究室運営あれこれ　荘司　長三　2

部会長挨拶

伊東　忍　5

Award Account

オルガネラ選択的脂質ラベリングとイメージング　田村　朋則　7

磁性ナノ粒子とシナプトタグミン C2 ドメインの相互作用を応用した
カルシウム応答型 fMRI　岡田　智　13

高スループット広帯域ラマンフローサイトメトリー　平松　光太郎　17

Supramolecular Assembly of Engineered Cytochrome b562 Forming
a Thermodynamically Stable Ring-shaped Trimer　大洞　光司　22

ぶらり研究室の旅

同志社大学理工学部 機能分子・生命化学科機能有機化学研究室
伝統と新しい風の両立をめざして　北岸宏亮　27

お知らせ

第 13 回バイオ関連化学シンポジウム UK-Japan Joint Symposium（日英シンポジウム）会告　29

日本化学会第99春季年会　優秀講演賞（学術）・学生講演賞　30

2019 年度　生体機能関連化学部会役員　31

2019 年度　生体機能関連化学部会若手の会支部幹事　32

巻 頭 言

研究室運営あれこれ

名古屋大学 大学院理学研究科
荘司　長三

「お父さん白髪めちゃくちゃ増えたよね」

「大学のお仕事が大変なんだよ」

「大学は楽しいところだって言ってたじゃん。楽しくないの？」

お風呂の湯船に浸かり小学 3 年生になった息子と話しながら、研究は存分に楽しんでいるのだけどなあと返答に窮していると、話題は次の週末に何をして遊ぶのかに移っていった。実際、白髪はこの 10 年でものすごく増えたわけで、何に苦労してきたのだろうとぼんやりと考えていた。本年 4 月より名古屋大学理学部化学科の教授を拝命し、実験室の整備や部屋の片づけなど、慌ただしく過ごしていたところ、村上裕先生（名古屋大学）より今回の巻頭言のお誘いをいただいた。村上先生からは別の会議でご一緒したとき、「トゲトゲした感じで良いですよ」との許可をいただき、皆さんにトゲトゲしていると認識されているのかなあ、おそらく、30 代の頃研究テーマなどについてあちこちで噛みついてきたからだろうと思い返していた。「君の研究は何がしたいのかわからない」などのコメントに、「先生の研究も何が新しいのかよく分かりませんよね？」みたいなことを言い返していたように思う。辛辣なコメントをいただくことも多いのですが、幸いにも研究に関しては相当に楽しませていただいている。さて、何に最も苦労してきたのだろうか。やはり研究室の運営、特に学生の指導については相当に考え、苦悩してきた。何をやってもどうせ誰かには批判されるのだからと、かなり思い切った試行もしてきたように思う。どちらかといえば大人しい後ろ向きな性格であった幼少期に、母親から、「あんたが何か失敗しようと、恥をかこうと、時間が経てば誰も覚えていないのよ。もっと前に出るんだよ！」父親からは、「出べそにならなきゃだめだぞ！」と言われて、常に前を向き、人と違うことをして目立つことを躊躇わないように育てられたおかげで、何かを推し進めるときには、まあ、誰かには批判されるだろうけど前に進もうとしているのならいいか！と思う心だけは形成できているように思う。ちなみに、父親の「出べそ」というのは、「出る杭」のことであるらしいと、なんとなく理解できていた。名古屋大学の渡辺芳人研究室の助教に採用していただき、研究室の諸問題に対応しながら、かろうじて研究を前に進められてはいたものの、当時の私は、新しい研究を立ち上げ、優秀な学生を育て、研究費を獲得しなくてはと勝手に自分を追い込み、不必要に追い込まれていたように思う。そのような中で研究を促進するということだけに固執し、学生の研究の進捗を細かく報告させて半ば監視しているかのような状態にしてみたり、多くの報告書の提出を求めてみた

り、朝から夜遅くまで研究室にいることを評価するような管理体質の研究室になってしまっていた。博士後期課程に進学する学生はほとんどおらず、ほとんどの学生が就職のために修士課程に進学するという状況を作ってしまっていた。一部のやる気ある学生と博士研究員の奮闘によって、いくつかの面白い研究を報告することができるようになってきたところで、この研究室の状況をなんとかしなくては先細っていくだけだという危機感を感じずにはいられなかった。そして、学生を自分の管理下に置くような研究室の体制を創りあげてきてしまったことを深く反省し、現代の学生が研究を楽しめる環境を整備する改革を少しずつ実行することにした。

研究室運営に関して、はじめに変えていく必要があると思ったのは、夜遅くまで研究室にいるということを盲目的に評価する価値観であった。改善すべきは効率であって、学生の拘束時間を増やすことではないはずだ。まずは自分自身が早く帰ることを実行するとともに、学生には、周りを気にして無意味に研究室に夜遅くまで残ることは有益ではないと伝えた。また、無意識のうちに組織の一致団結や統率感を優先させ、全体を均質化するような教育をしてしまっていたのではないかとの反省から、学生の個性を伸ばす方向で自分自身の意識改革を行った。学生の「できていないこと」の指摘を大幅に減らし、学生の「得意なこと・秀でたところ」に積極的に目を向け、それをさらに伸ばすように心がけた。長所を活かして成果があがっているのであれば、「できていないこと」を改めさせることに執着するのではなく、得意分野において「できていないこと」を埋め合わせるだけの成果を目指すよう指導した。さらに、研究室の規則を守らない学生の指導のために、全体規則を厳しくしてしまったことで、やる気のある学生を無用な規則で縛り、自由に研究を謳歌する権利を奪ってしまっていたことに対する反省から、無用なルールもできる限り廃止した。学生の個性を伸ばす教育を目指して私自身が意識改革を行うのと同時に、実験の時間を短縮しても同等の研究成果がでるように、様々な実験の自動化を進めた。学生であっても、ルーティーン作業を極力減らしていこうとする取り組みである。これからの活躍できる人材とは、ルーティーン作業を忍耐でこなす能力に長けた人材ではなく、自ら考えてアイディアを出し実行できる人材であると私は考えており、ルーティーン作業を減らして生み出した時間は、自ら発想する（研究を立案する）時間としてもらいたいのだ。自動化については、資金的にかなり無理をして自動化装置を導入してきた。例えば、全自動器具洗浄機を導入することで、蛋白質精製や有機合成のカラムなどで大量に使う試験管やフラスコなどのガラス器具を手で洗う必要がなくなり、大幅な時間の節約になった。ガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィーにはオートサンプラーを増設し、測定装置の前にずっと張り付いていなくても測定ができるようにした。これら以外にも、バクテリアの増殖を自動でモニタリングできる装置、有機合成のカラム精製の自動化システム（フラッシュ精製システム）、微量サンプルを簡便に測定可能な可視紫外光吸収スペクトル装置、アガロースゲル電気泳動を自動でできるキャピラリー電気泳導装置、最近は、酵素反応溶液調整→酵素反応→有機溶媒抽出→分液（遠心分離）→ガスクロマトグラフィーへのサンプルイ

ンジェクションまでを全自動で行う装置を導入して運用している。番外編として、居室の掃除は、ロボット掃除機 3 台が夜中に自動で行うようになっている。

効率重視といいながら、全く研究成果が出ない研究室になってしまうのではないかと常に怯えながらも意識改革を進め、一つ一つ制限を緩和したり、自動化装置を導入したりすることを続けてきたが、最近になってようやく改革の成果が得られ始めたと感じている。自ら研究を進めることができる環境（自由度）を謳歌する学生が、進んで博士後期課程に進学する事例が続き、ドクターの学生を中心に研究室の研究を強力に前に推し進める体制ができつつある。その博士課程の学生を見て育った 4 年生は、自然と研究に対する姿勢を身に着け、教員がこと細かに指導しなくとも研究能力を高めているように感じる。こういった改革方針では、「あいつも終わった」、「あいつも丸くなったな（身も心も）」などと言われてしまうのかもしれないが、思い切った改革を、批判されることを覚悟で進めている今は、むしろ以前より違う意味でトゲトゲになっているのかもしれません。今後はどうなってしまうのか。薄氷を踏む思いであるというのが正直なところですが、学生とスタッフを信じて、ただただ前に進むのみと考えております。長々と書いてしまいましたが、研究だけでなく、研究室運営についても皆様と議論するきっかけになれば幸いです。

部会長挨拶

2019 年度　生体機能関連化学部会　部会長

大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻・教授

伊東　忍

2019（令和元）年度より、浜地　格先生の後任として、生体機能関連化学部会の部会長を仰せつかりました。1985（昭和 60）年に発足したこの部会も今年で 34 年目を迎える事になりました。1985 年と言えば、私にとって博士課程の最終年度にあたり、「補酵素 PQQ(ﾋﾟﾛﾛｷﾉﾘﾝｷﾉﾝ)の化学的機能の解明」に関する博士論文を仕上げるために必死で頑張っていたことを思い出します。その翌年に、第 1 回生体機能関連化学シンポジウムが、大阪大学工学部の吹田キャンパスで開催されました。実行委員長は、当時大阪大学工学部応用化学科教授の田中敏夫先生で、参加者は 200 名程度であったと思います。当時は、A 会場と B 会場の２つに別れ、生物有機化学分野の研究と生物無機化学分野の研究が発表されていました。研究の内容は、殆どが酵素活性中心のモデル化とその機能解明に関連するものであり、補酵素モデル化合物を用いた反応開発や反応機構の解明、クラウンエーテルなどの大環状化合物を用いた金属イオンの捕捉や分子認識、加水分解酵素モデルの開発と反応機構解明、ポルフィリン錯体などを用いた生体関連金属錯体の構造・機能と反応活性種の解明など、複雑な生体反応をできるだけシンプルなモデルを用いて再現し、その構造や反応機構を解明しようとするものが主流でした。そして昨年（2018 年）、大阪大学の吹田キャンパスで第 33 回生体機能関連化学シンポジウム（第 21 回バイオ関連化学シンポジウム）が民谷栄一教授（実行委員長）のお世話で開催されました。この間、シンポジウムで発表される研究内容は様変わりし、当時のようなシンプルなモデルを用いた研究は殆ど姿を消し、ペプチド、蛋白質、酵素、核酸、糖、脂質、細胞など、生体分子そのものを用いた研究や、メディカルバイオ、環境バイオ、分析・計測・センサー・デバイスの応用開発などに関する研究が主流となっています。まさしく、化学と生物の境界領域におけるダイナミックな研究の変遷を身をもって体験してきました。しかし、私自身は必ずしもこのような学問の大きな流れの本流で研究を推移させてきたとは言いがたく、今更ながら本部会の舵取りをさせて頂いて良いものかどうか、随分と悩みました。ただ、お引き受けするからには、私を育てて頂いた本部会に少しでも恩返しできるように、微力ながら頑張らせて頂きたいと思っております。基本的には、歴代部会長の方針を継承しつつ、さらに本部会を発展させるために新しいことにも少しずつ取り組んでまいりたいと考えております。まず、部会役員会での議論を経て、本部会ニュースレターのリニューアルと部会ロゴの設定を行います。また、和田健彦副部会長のご努力により、以前からの懸案であった新しい部会ホームページの立ち上げにもこぎ着けました。さらに、日本化学会とも密に連絡を取りながら、部会の運営形態の見直しなども行っていきたいと思っております。

昨今、アメリカを中心とする貿易摩擦、イギリスの欧州連合離脱問題、ヨーロッパや中米の移民問題、中東・東アジアの政情不安に加え、まったなしの環境・エネルギー問題など、我々研究者も黙って見過ごすことのできない問題が世界中に山積しています。また、ここ数年における中国の経済・科学の急激な発展には目を見張るものがあり、我々の研究にも重大な影響を及ぼしています。この様に世界の情勢が大きく変わりつつある中、国際的な視点をもって世界をリードして行ける若手研究者の育成にも取り組んで行く必要があると強く感じています。部会メンバーの皆様におかれましては、益々のご支援を賜りますようお願い申し上げます。

Award Account　日本化学会第 99 回春季年会　優秀講演賞

オルガネラ選択的脂質ラベリングとイメージング

京都大学大学院工学研究科
助教　田村　朋則

著者紹介[1]

出身地：兵庫県淡路市岩屋（明石海峡大橋が架かっている町）
生年月日：1985 年 4 月 4 日
血液型：A 型
家族：妻、長男、次男（４人家族）
出身高校：兵庫県立明石高等学校（船で通ってました）
出身大学・研究室：京大・浜地研　（ポスドクは Caltech）
興味ある研究分野：ケミカルプロテオミクス、脂質解析ツール開発など
趣味：下手な楽器演奏（ピアノ、ホルン、ギター、ウクレレなど）
好きな食べ物：旅館での朝食
嫌いな食べ物：学食の業務用唐揚げ（普通の唐揚げは好き）
性格を一言で：温厚
尊敬する人物：イチロー、岡本太郎、Itaru Hamachi
座右の銘は：自彊不息
京都のオススメは：薩摩の牛太桂店
将来の夢は：べらぼうなものを作って世界と戦える研究者になること
雨の日何してる？：子どもとプラレール
何をしているときが一番幸せ？：家族で太陽の塔に会いに行くとき（我が家のブーム）

Fig. 1 淡路市岩屋の位置とそこに架かる明石海峡大橋（手前が淡路島。よく見ると筆者の実家が写っている）

1. はじめに

リン脂質は細胞膜の主要な構成成分であり、形質膜/オルガネラ膜の形成だけではなく、小胞輸送や細胞内シグナル伝達、膜タンパク質活性の制御など様々な生命現象に深く関与している。リン脂質はグリセロリン脂質とスフィンゴリン脂質の二つに大別され、グリセロリン脂質はヘッドグループの違いによってさらにホスファチジルコリン(PC)、ホスファチジルエタノールアミン(PE)、ホスファチジルセリン(PS)などに分類される(Fig.2a)。これらのリン脂質は主に細胞内の小胞体（Endoplasmic reticulum: ER）や Golgi 体で生合成された後、小胞輸送や膜接触など複数の経路を介して他のオルガネ

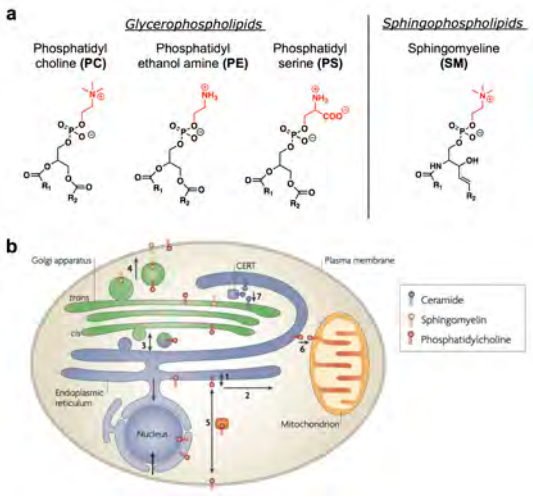


Fig. 2 (a) 主要リン脂質 (b) オルガネラ間脂質輸

ラ膜にリクルートされる(Fig.2b)[2]。輸送されたリン脂質はそこでプロセシングを受けて別の脂質に変換されたり、さらに別のオルガネラ膜に転移したりするなど、細胞内の脂質は非常にダイナミックにその性質・局在を変化させている。こうしたオルガネラ間脂質輸送は細胞の機能発現や恒常性維持において重要な役割を担っていると考えられるが、その詳細なメカニズムや定量的パラメータ（輸送速度、量など）に関する情報は未だ限られている。この原因は、細胞内の特定の場所に存在するリン脂質を選択的に可視化するための手法がほとんど無いためである。脂質は遺伝子に直接コードされていないので、タンパク質のように遺伝子レベルでプローブを標識することはできない。現在、脂質のライブイメージングは主に蛍光修飾した脂質結合タンパク質、あるいは蛍光脂質アナログによって行われている[3]。しかし、前者は形質膜表面の脂質にしか適用できず、後者はオルガネラ選択性がほとんどないため、どちらも脂質のオルガネラ間輸送の解析には不向きである。

こうした背景から、我々は特定のオルガネラ脂質を選択的に蛍光修飾可能な新たな手法を考案した(Fig.3)。本手法では、はじめにアジドコリン(N_3-Cho)の代謝導入法を用いて細胞内のコリン脂質(PC, SM など)をアジド化脂質に変換する[4]。次に、標的のオルガネラに存在するアジド化脂質を「オルガネラ局在性クリック試薬 (organelle-localizable click reagent: OCR)」によって蛍光標識する。ここで使用する OCR はオルガネラ局在性蛍光色素と歪みアルキン(Dibenzocyclooctyne: DBCO)から構成されており、狙ったオルガネラに自発的に濃縮し、そこに存在するアジド化脂質を SPAAC 反応(strain-promoted alkyne-azide cycloaddition)によって修飾可能である。我々は、本手法が ER/Golgi に存在するコリン脂質を選択的に蛍光標識可能であることを実証し、さらに標識した脂質が他のオルガネラに移動する様子を蛍光イメージングによって追跡することに成功した。本稿ではこれら一連の実験結果について紹介する。

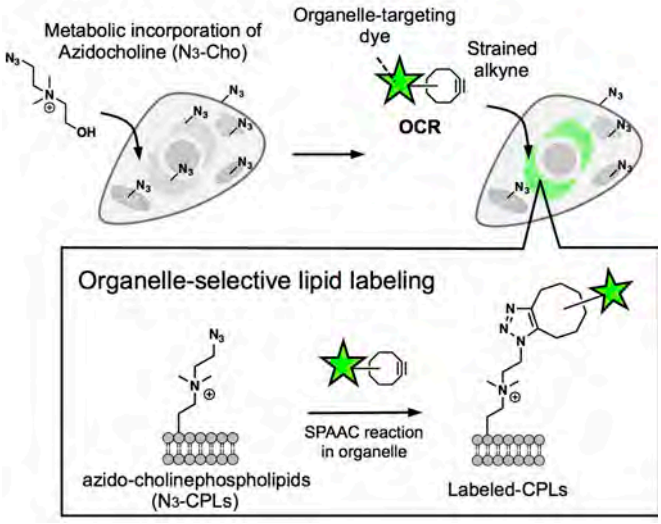


Fig. 3 オルガネラ脂質選択的ラベリングのスキーム

2. ER/Golgi 局在性クリック試薬 1 の設計と細胞内局在

上述のように ER/Golgi はリン脂質の生合成の場であり、ER/Golgi に存在するリン脂質の動態解析は脂質輸送を理解する上で非常に重要である。そこで我々は初めに ER/Golgi 内の脂質を標的とし、ER/Golgi 局在性クリック試薬として化合物 **1** を合成した(Fig.4a)。なお、局在モチーフに採用したロドール色素が ER/Golgi 局在性を示すことは我々の以前の研究において実証済みである[5]。HeLa 細胞に **1** を 100 nM 添加し 15 分後、細胞内局在を共焦点顕微鏡によって確認したところ、**1** 由来の蛍光は ER/Golgi マーカーとよく一致した(Fig.4b)。また、同条件において

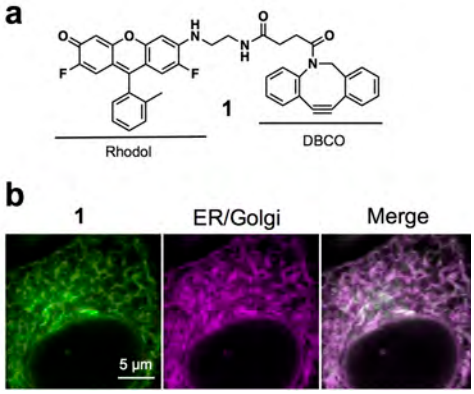


Fig. 4 (a) ER/Golgi 局在性クリック試薬 **1** (b) **1** の細胞内局在

1 の一細胞内濃度を見積もったところ、86 μM と算出された。ER/Golgi が細胞全体の体積の約 15%であると仮定すると[6]、ER/Golgi 内の **1** の濃度は約 573 μM であると推測される。この濃度はアジド脂質-DBCO 間の SPAAC 反応を迅速かつ効率良く進めるのに十分であると予想された。

3. ER/Golgi 内脂質選択的蛍光ラベリング

続いて、目的の ER/Golgi 脂質選択的な蛍光ラベリングが進行するかを確認した。まず、N_3-Cho (500 μM)を含む DMEM 培地で HeLa 細胞を 24 時間培養し、コリン脂質にアジド基を代謝導入した。また、LC-MS 解析によってアジド導入効率は全コリン脂質に対して約 0.3%であることを確認した。この細胞に対して **1** を 15 分処置した後、抽出した脂質を薄層クロマトグラフィー（TLC）によって解析した(Fig.5)。その結果、代謝導入を施した細胞の脂質抽出物から、顕著な蛍光スポットが検出された。この蛍光スポットを TLC から削り出し、クロロホルム/メタノールで抽出後、得られた反応生成物を LC-MSMS によって解析したところ、**1** が修飾された PC に相当するマスピークが検出された(Fig.5)。このことから、細胞内においてアジド化 PC と **1** が反応することが明らかとなった。

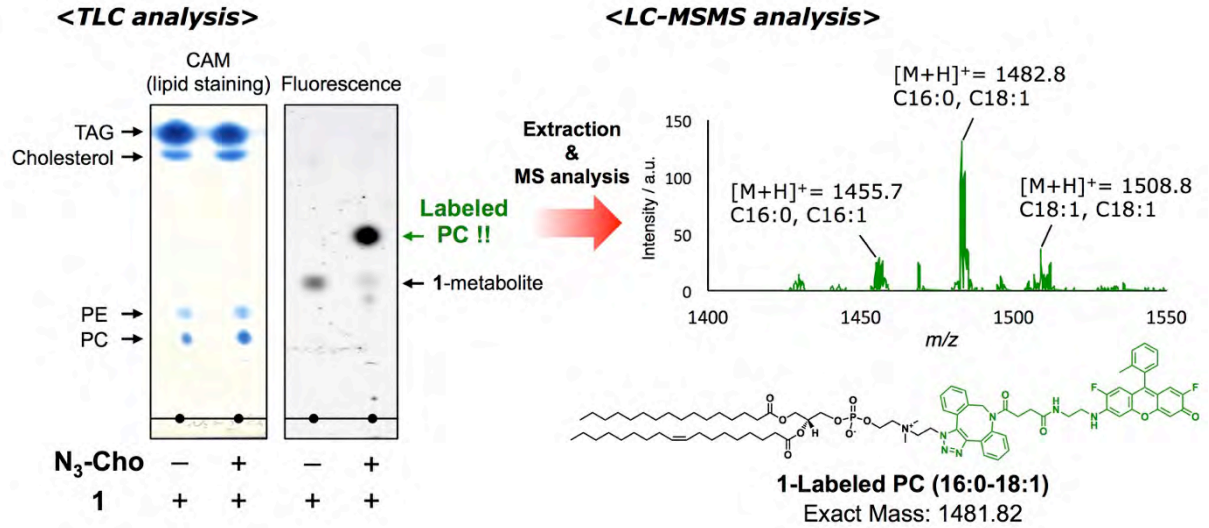


Fig.5 **1-修飾 PC の TLC 解析および LC-MSMS 解析。MS 解析では異なる脂肪酸組成の PC が複数検出され(C16:0/C16:1, C18:1/C18:1 など)、そのシグナル強度パターンは天然 PC の脂肪酸組成と一致した。**

この修飾反応が ER/Golgi で起こるかどうかを確かめるために、同一反応条件における修飾脂質の局在を確認した。このイメージング解析では、遊離（未反応）の **1** がバックグラウンドになってしまうため、まず未反応の **1** が細胞内から洗浄除去可能かどうかを確かめた。その結果、**1** は細胞を血清含有培地で洗浄した後 15 分インキュベートすることで除去可能であることがわかった。そこで次に、修飾反応後の細胞を同様の条件で洗浄し共焦点顕微鏡で観察したところ、ER/Golgi からロドール色素由来の強い蛍光が検出された(Fig.6)。これらの結果から、**1** は ER/Golgi に自発的に濃縮し、そこでアジド化 PC と反応して **1**-修飾 PC を与えることが実証された。なお、ER/Golgi には SM の存在比率が少ないため、我々の手法では **1**-修飾 SM は TLC および

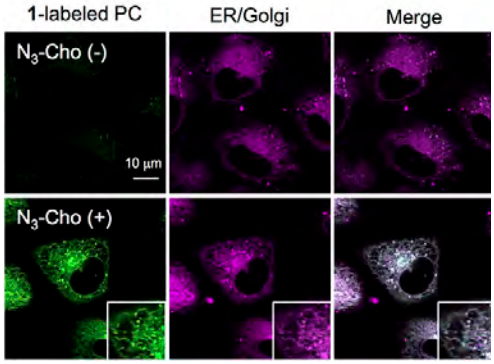


Fig.6 **修飾反応直後の 1-修飾 PC の細胞内局在**

MS でほとんど検出されていない。従って、イメージングで検出されるシグナルはほぼ **1**-修飾 PC 由来であると考えられる。

4. 1-修飾 PC の生化学的・物理化学的特性と細胞内挙動

脂質に蛍光団を標識すると天然の脂質から分子構造が大きく変化するため、タンパク質との相互作用、膜内での安定性、拡散係数などに影響を与えてしまう懸念がある。**1** の修飾が PC に及ぼす影響を確かめるために、我々は幾つかの検証実験を行った。その結果、**1**-修飾 PC は、(i)天然 PC と同様にホスホリパーゼ C やリパーゼによる加水分解を受け、(ii)GUV(ジャイアントユニラメラベシクル)の脂質二重膜に取り込まれて安定に存在し、(iii)細胞内膜における拡散係数(D)は文献値とよく一致することことがわかった（$D_{\mathbf{1}\text{-PC in ER}} = 0.8\ \mu m^2/s$, $D_{\text{FL-PC in cell membrane}} = 0.1\text{–}1.0\ \mu m^2/s$ (文献値)）[7]。これらのことから、**1**-修飾 PC は天然 PC と同様の生化学的・物理化学的特性を示すと考えられる。

次に、**1**-修飾 PC が天然 PC と同様に ER/Golgi から他のオルガネラ膜に輸送されるかどうかを確かめるために、タイムラプスイメージング解析を行った。その結果、反応開始直後に ER/Golgi から検出された **1**-修飾 PC 由来の蛍光は時間経過とともに徐々に減少し、ER マーカーとのピアソン比（共局在の指標）も徐々に低下することがわかった。その一方、修飾反応後 1 時間以上経過した細胞では、**1**-修飾 PC の蛍光はミトコンドリア外膜や形質膜、リソソームから検出された(Fig.7)。このことから、**1**-修飾 PC は天然 PC と同様、他のオルガネラへの移行能を有しており、本手法がオルガネラ膜間脂質輸送のプローブとして展開可能であることが示された。

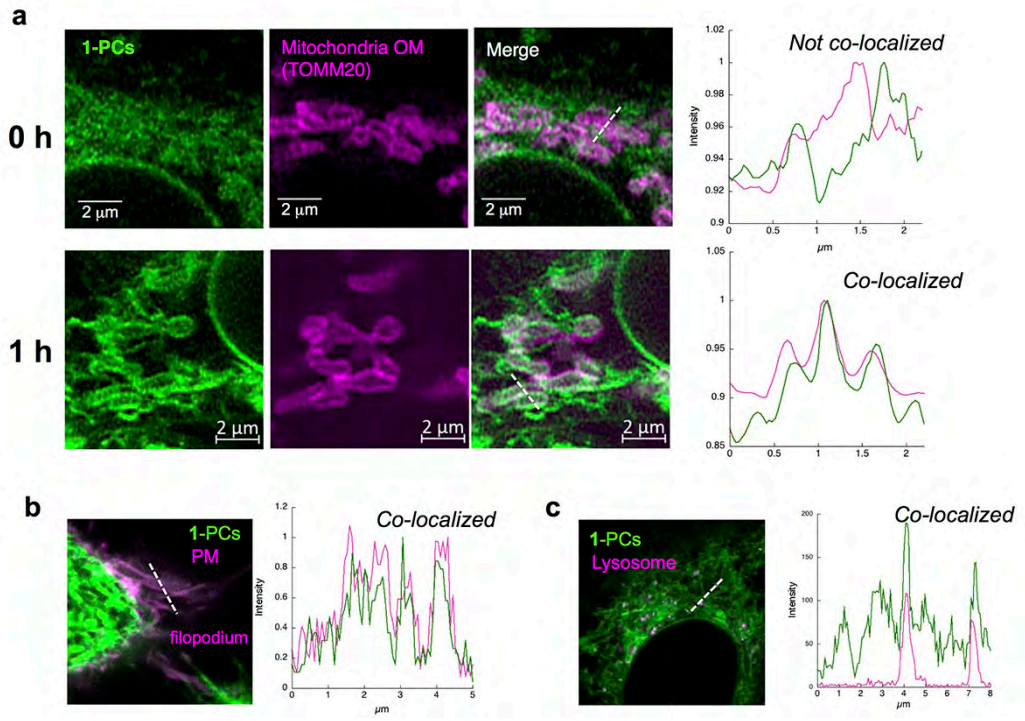


Fig.7 (a)ER/Golgi で修飾された 1-修飾脂質のミトコンドリア移行 (b)形質膜への移行（反応後 3 時間経過後）(c)リソソームへの移行(反応後 3 時間経過後)

5. 1-修飾 PC はオートファゴソーム膜に移動する

上述のタイムラプス実験の過程で我々は ER/Golgi で修飾した脂質がオートファゴソーム膜に移動することを見出した（Fig.8）。また、こうしたオートファゴソーム膜への移行は ER 内腔タンパク質や ER 膜タンパク質では起こらず、**1**-修飾 PC、すなわち脂質に特異的であることがわかった。オートファゴソームは、オートファジーによって誘導されるベシクルであり、細胞内成分のバルク分解および再利用に関わるオルガネラである。オートファジー現象が発見されて半世紀を経て、その生理的な役割の解明は大きく進んだが、オートファゴソーム膜の起源は未だ不明のままである。近年ではその由来として小胞体、ミトコンドリア、細胞膜など様々な説が提唱されており、今なお議論が続いている[8]。これに対して、今回の我々の実験から得られた結果は、オートファゴソーム膜の由来が（主に）ER/Golgi であることを強く示唆している。

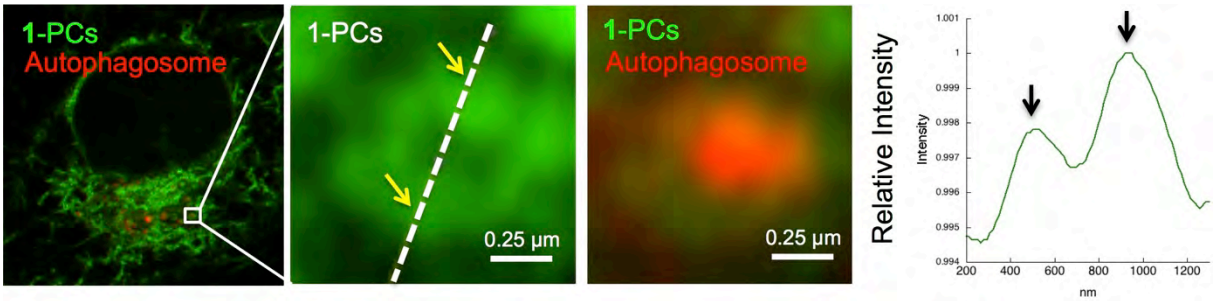


Fig. 8 1-修飾 PC のオートファゴソーム膜への移行

6. おわりに

紙面の都合上紹介しなかったが、本手法は OCR のオルガネラ局在モチーフを変更することで ER/Golgi 以外のオルガネラ脂質の修飾も可能である。実際にミトコンドリア脂質を修飾可能なプローブの開発に成功しており、ER/Golgi とミトコンドリア脂質を同時染色することも可能である。現在はこれらのプローブを駆使して細胞内オルガネラ間輸送に関する定量解析および経路同定を進めており、近く論文発表の形で部会の皆様に報告したいと考えている。

謝辞

本研究は、私が所属する京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻、浜地研究室で行われました。浜地格教授からは学生時代から今に至るまで常に叱咤激励頂き心より感謝申し上げます。また本稿で紹介した内容は藤沢有磨君、土谷正樹君、Shen Yuying 君の努力と試行錯誤の結果得られた成果であり、日々のハードワークに対してこの場を借りて深く感謝致します。脂質の質量分析は同専攻梅田研究室の長尾耕治郎助教から多大なご支援ご助言を頂きました。心より感謝申し上げます。最後に私と息子達に強烈なインスピレーションを与えてくださる妻ならびに太陽の塔に厚く御礼申し上げます。

参考文献

[1] 京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻　森研究室 HP 自己紹介欄より一部改変

[2] Meer, G. Van; Voelker, D. R.; Feigenson, G. W. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.,* **2008**, *9*, 112–124.

[3] Bumpus, T. W.; Baskin, J. M. *Trends Biochem. Sci.* **2018**, *43*, 970–983.

[4] Jao, C. Y.; Roth, M.; Welti, R.; Salic, A. *ChemBioChem*, **2015**, 16, 472–476.

[5] Fujisawa, A.; Tamura, T.; Yasueda, Y.; Kuwata, K.; Hamachi, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 17060–17070.

[6] Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. Molecular Biology of the Cell, 5th ed.; Garland Science: New York, **2008**.

[7] Murase, K., *et al*., *Biophys. J.* **2004**, *86*, 4075–4093.

[8] Lamb, C. A.; Yoshimori, T.; Tooze, S. A. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.,* **2013**, *14* (12), 759–774.

Award Account　日本化学会第 99 回春季年会 優秀講演賞

磁性ナノ粒子とシナプトタグミン C2 ドメインの相互作用を応用したカルシウム応答型 fMRI

産業技術総合研究所生命工学領域
岡田　智

著者紹介：2012 年大阪大学大学院工学研究科博士課程修了（菊地和也教授研究室）。同年マサチューセッツ工科大学生物工学科博士研究員（Alan Jasanoff 教授研究室）。2018 年より産総研つくば研究員。大学院では高分子の物性を活かした MRI 分子プローブの設計・開発、ポスドクではプローブ開発に加えモデル動物を用いた脳機能イメージングへの応用研究を行ってきました。現在も引き続き、磁性材料をベースにライフサイエンスのリサーチツール開発を行っています。6 年間ものポスドク生活では、数えきれない思い出ができました。特に印象に残っているのは、友人であり論文共著者でもある Ben 博士と動物実験に試行錯誤した日々、実験の合間を縫っての MIT トラックでのインターバル走、四季折々の表情を見せるチャールズ川沿いでのペース走、個性豊かな日本人研究者たちと overnight で Ragnar Relay Cape Cod（320 km を 12 人で走る）を走破したこと、帰国直前に子供が生まれドタバタの中最後の実験をつめたこと、レッドソックス時代の上原浩治選手の活躍とワールドシリーズ制覇に大きなパワーをもらったことです。

1. はじめに

ヒトからモデル動物に汎用される脳機能イメージング技術として、functional magnetic resonance imaging（fMRI）が挙げられる。FMRI の検出原理は、神経活動に伴う血中酸化ヘモグロビンの濃度変動に基づくため、fMRI 信号と実際の神経活動部位には時空間的な差異が生じ得る。また S/N 比が低いために統計画像処理が必要であり、ある種の麻酔薬使用時には感度がさらに低下する。よって、これらの技術的限界を超えた fMRI を確立できれば、神経活動の新たな時空間パターンを見出せる可能性がある。そこで、神経活動と細胞外カルシウムイオン（Ca^{2+}）動態の関係に着目した。安静時に 1 mM 以上存在する細胞外 Ca^{2+}は、シナプス伝達に伴って sub-mM レベルで減少することが報告されており、神経活動追跡の直接的な指標となり得る[1,2]。本研究は、細胞外 Ca^{2+}を fMRI 信号へ変換するプローブの開発とモデル動物における Ca^{2+}応答型 fMRI の確立を目的とした。

2. プローブのデザイン

目的のプローブとして、magnetic calcium-responsive nanoparticle（MaCaReNa）を開発した（図 1a）[3]。MaCaReNa は、MRI 造影剤である磁性酸化鉄ナノ粒子とシナプトタグミンの C2 ドメインを混合したプローブである。磁性酸化鉄ナノ粒子は、周囲の水分子プロトンの NMR-T_2 緩和を促進するため、T_2 強調撮像によって低信号（暗い）画像として検出される。さらに、プロトンの T_2 緩和効率はナノ粒子間距離に依存する[4]。つまり、[Ca^{2+}]に応答するように粒子間距離を制御できれば、[Ca^{2+}]を反映した T_2 画像コントラストが得られる。MaCaReNa プローブでは、シナプトタグミンの C2 ドメイン（C2AB）がその役割を果たす。シナプトタグミンはシナプス小胞上に存在する膜タンパク質であり、C2AB ドメイ

ンが sub-mM の Ca^{2+}存在下で細胞内膜のホスファチジルセリン（PS）に結合する。これにより、シナプス小胞と細胞膜の融合が促進され、神経伝達物質が放出されると言われている[5]。これは、Ca^{2+}が C2AB に結合することで、Ca^{2+}結合部位周囲の塩基性アミノ酸残基と、PS の負に帯電したヘッドグループの静電相互作用が強まるためだと示唆されている。これ以外にも、疎水性側鎖が脂質二重層内へ入り込むことが報告されており、複数の要因が協奏的に作用することで、C2AB と PS 含有脂質二重層の結合が起こると考えられている。実際に、C2AB が 0.2 mM 以上の Ca^{2+}存在下において、PS とホスファチジルコリン（PC）から成るリポソームの凝集を引き起こすことが報告されている[6]。MaCaReNa プローブでは、磁性酸化鉄ナノ粒子の表面を PS と PC で脂質コーティングした LCIO（lipid-coated iron oxide nanoparticle）を用いた（図 1a）。これにより、Ca^{2+}存在下で C2AB がリン脂質層を介し て LCIO の凝集を引き起こすと考えた。

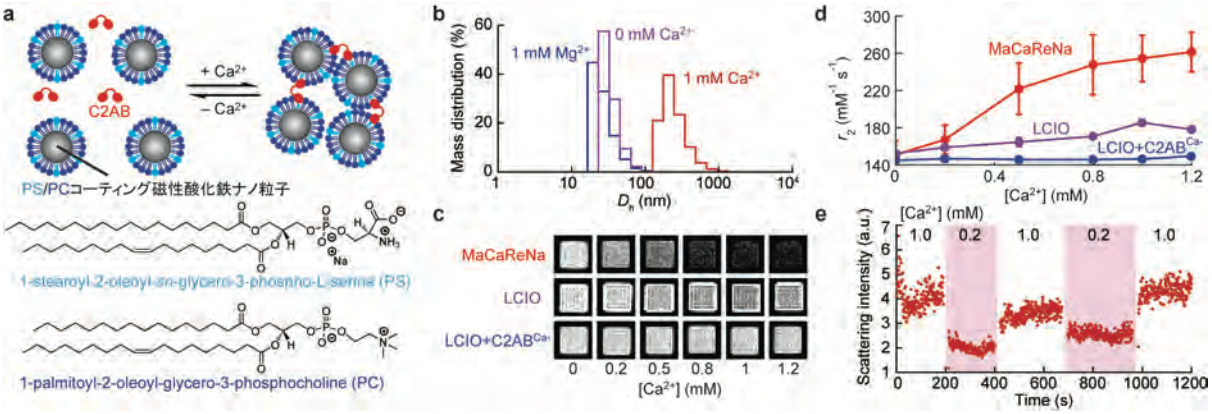


図 1. プローブデザインと人工脳脊髄液中における機能評価。(a) MaCaReNa プローブ（1 nM LCIO と 2.5 μM C2AB より構成）。(b) MaCaReNa の流体力学的粒子径重量分布。(c) 7 T スキャナによる MaCaReNa 溶液の T_2 強調画像（T_R/ T_E = 2000/72 ms）。(d) [Ca^{2+}]に対する MaCaReNa の横緩和能 r_2。(e) [Ca^{2+}]の動的変動に対応した MaCaReNa の散乱光強度経時変化（遊離の[Ca^{2+}]が 0.2 と 1.0 mM となるように BAPTA と $CaCl_2$ を交互に添加）。

動的光散乱によって、MaCaReNa プローブ（1 nM LCIO と 2.5 μM C2AB から構成）の Ca^{2+}応答性を確認した。Ca^{2+}フリーでは、35 ± 1 nm であったプローブの流体力学的直径は、1 mM Ca^{2+}存在下では 262 ± 14 nm まで増大した（図 1b）。また原子間力顕微鏡においても、Ca^{2+}に応答した凝集体の形成が確認された。Mg^{2+}には応答しなかったことから、MaCaReNa の Ca^{2+}特異性が明らかとなった。プローブ溶液の T_2 強調画像を 7 T スキャナを用いて測定したところ、[Ca^{2+}]に応答したコントラストが得られた（図 1c）。また T_2 短縮能である横緩和能 r_2 も、0.2–1.0 mM の[Ca^{2+}]において大きく応答した（図 1d）。これらの結果から、プローブが神経活動時の細胞外 Ca^{2+}の検出に適した親和性を有することがわかった。一方、ネガティブコントロールである、「LCIO のみ」と「LCIO と Ca^{2+}結合能を欠失した C2AB 変異体（$C2AB^{Ca-}$）の混合プローブ（$LCIO+C2AB^{Ca-}$）」では、T_2 変化はほとんど観察されなかった。Ca^{2+}キレート剤と $CaCl_2$ を交互に加えながら散乱光強度の経時変化を追跡したところ、プローブが Ca^{2+}に応答し秒単位で可逆的に凝集・解離することが示唆された（図 1e）。

3. ラット脳内における Ca^{2+}応答型 fMRI

生きたラット脳内において、MaCaReNa プローブによる Ca^{2+}応答型 fMRI のモデル実験を行った。通常の fMRI 信号が抑制される麻酔下にあるラットの脳線条体に、*in vitro* と同濃度のプローブ 7.2 μL を

投与した。さらに 100 mM KCl 投与による脱分極刺激をしながら、1 スキャン 12 秒の T_2 強調高速 spin-echo 法で撮像した。その結果、MaCaReNa プローブ投与部位において、通常の fMRI の 10 倍近い約 20%もの信号変化が見られた（図 2a)。プローブ投与部位の信号強度は、刺激開始とほぼ同時に上昇し、刺激停止から約 5 分でベースラインへと戻った（図 2b)。同様の刺激を複数回繰り返したところ、信号変化率と応答速度は維持されており、プローブが脳内においても可逆的に機能することがわかった（図 2c)。一方で、「LCIO+C2AB^{Ca-} と KCl 刺激」および「MaCaReNa と NaCl 偽刺激」では、信号変化が観察されなかったことから、MaCaReNa が細胞外 Ca^{2+}に応答していることが示唆された。また、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸（1 mM）の投与においても、KCl 刺激と同様の信号変化が観察された。

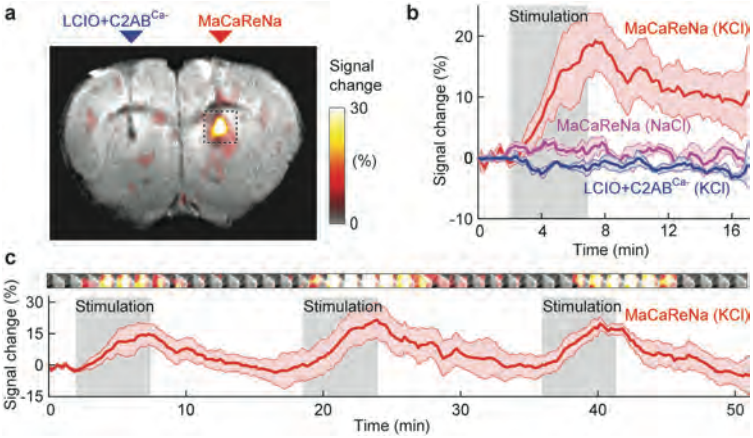


図 2. 生きたラット脳内における Ca^{2+}応答型 fMRI。(a) 右脳と左脳に、MaCaReNa と LCIO+C2AB^{Ca-}をそれぞれ投与した後、両脳を 100 mM KCl で刺激した際の fMRI（解剖学的画像と信号変化カラー画像の重ね合わせ）。(b) プローブ投与部位の信号変化タイムコース。(c) 3 回の連続刺激時の信号変化タイムコースと fMRI（1 フレーム 1 分）。

さらに、より短いタイムスケールで起こる生理条件に近い神経活動の検出を目指し、電極による電気刺激実験を行った。プローブを投与した線条体は、中脳領域から伸びる内側前脳束と呼ばれるドーパミン神経細胞軸索からの入力を受け、運動・意思決定に関与することが知られている[7,8]。そこで、内側前脳束の電極刺激時における線条体の活動を、1 スキャン 4 秒の超高速撮像である spin-echo echo-planar 法で追跡した。その結果、プローブは電極刺激にほぼ応答した秒レベルの信号変化を引き起こした一方、ネガティブコントロールである「MaCaReNa と脳反対側刺激」と「LCIO のみと脳同側刺激」では信号変化が観察されなかった（図 3ab)。興味深いことに、刺激終了後に MRI 信号はベースラインへ一度戻ったが、再度上昇しその状態が持続した（図 3b)。線条体の細胞外電位変化を記録すると、電極刺激停止とともに一時終息に向かった神経活動が、再度活発化し持続していることが明らかとなった（図 3c)。よって、持続した MaCaReNa の信号応答は、線条体神経細胞の神経活動に起因することが示唆された。以上の結果より、MaCaReNa プローブが、異なる脳領域にまたがる神経活動を秒レベルで検出できることが実証された。

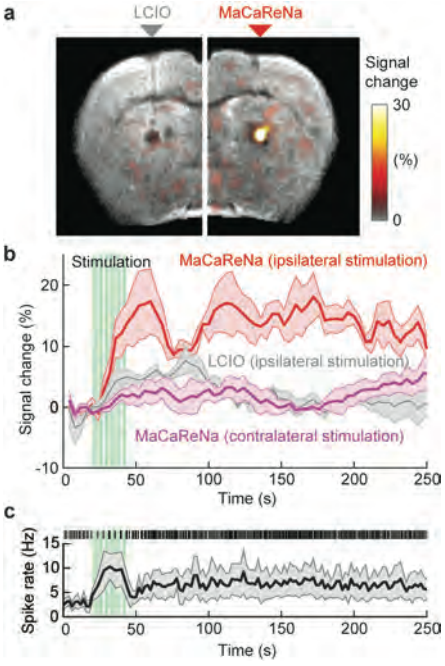


図 3. 内側前脳束電極刺激時における Ca^{2+}応答型 fMRI。(a) 右脳に MaCaReNa、左脳に LCIO を投与し電極刺激した際の Ca^{2+}応答型 fMRI。(b) プローブ投与部位の信号変化タイムコース。(c) 細胞外電位変化のタイムコース。

4. おわりに

脂質コーティング磁性ナノ粒子と組換え C2AB から成る MaCaReNa プローブを用いて、生きた動物脳内で Ca^{2+}応答型 fMRI に初めて成功した。また本研究は、磁性ナノ粒子プローブを脳機能イメージングへ応用した初めての例でもある。本研究を基に、脳機能イメージングが大きく進展することが期待できる。現在のところ、プローブを脳内に直接投与しており、イメージング範囲が投与部位周辺に限られている。今後、プローブデザインの最適化や薬物送達技術との併用により、非侵襲的な脳広域へのデリバリー法を確立できれば、本プローブの重要性がさらに高まると考えられる。

謝辞

本研究は、著者の前所属先であるマサチューセッツ工科大学 Jasanoff 研究室で行われました。Jasanoff 教授ならびに共同筆頭著者である Bartelle 博士、Li 博士、Lee 学部生には心より感謝申し上げます。電気生理学実験は、同大学 Sur 教授、Breton-Provencher 博士との共同研究です。本研究は、日本学術振興会海外特別研究員制度および上原記念生命科学財団ポストドクトラルフェローシップの助成を受けました。

参考文献

[1] C. Nicholson, G. T. Bruggencate, R. Steinberg, H. Stöckle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 1287–1290.

[2] M. C. Wiest, D. M. Eagleman, R. D. King, P. R. Montague, *J. Neurophysiol.* **2000**, *83*, 1329–37.

[3] S. Okada, B. B. Bartelle, N. Li, V. Breton-Provencher, J. J. Lee, E. Rodriguez, J. Melican, M. Sur, A. Jasanoff, *Nat. Nanotechnol.* **2018**, *13*, 473–477.

[4] Y. Matsumoto, A. Jasanoff, *Magn. Reson. Imaging* **2008**, *26*, 994–998.

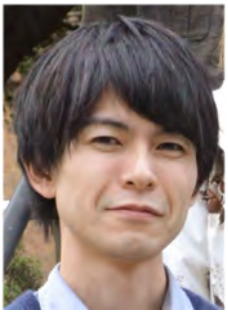
[5] T. C. Südhof, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2012**, *4*, a011353.

[6] J. Diao, T. Y. Yoon, Z. Su, Y. K. Shin, T. Ha, *Langmuir* **2009**, *25*, 7177–7180.

[7] J. Olds, P. Milner, *J. Comp. Physiol. Psychol.* **1954**, *47*, 419–427.

[8] A. G. Ewing, J. C. Bigelow, R. M. Wightman, *Science* **1983**, *221*, 169–171.

Award Account　日本化学会第 99 回春季年会 優秀講演賞



高スループット広帯域ラマンフローサイトメトリー

東京大学大学院理学系研究科
JST さきがけ
平松　光太郎

著者紹介：光を使って新しい現象を明らかにすることを軸に研究をしています．学生時代は超高速円二色性分光法の開発など，極限的な分光法開発を行っていましたが，最近は分光法を用いて、いかに生命科学的に意味のある情報を抽出できるかに興味が移ってきました．現在は細胞を蛍光標識せずに観察できるような手法の開発を主に行っています．生物を相手にすると，均一な物質を研究しているときには考えることのなかった再現性の問題や細胞ごとの個性の問題に直面し，戸惑うことが多い一方で，予期せぬ結果に出会う頻度も高く，日々わくわくしながら研究を進めています．将来的には細胞集団の不均一性とマクロに見た機能の関係を明らかにできるような手法の開発を目指しています．

1. はじめに

フローサイトメトリーは一細胞分解能を保ちつつ多数(10,000 以上)の細胞を測定できる手法であり，現代の微生物学，免疫学，血液学において欠かすことのできない分析手法である．初期のフローサイトメトリーでは，細胞が電極間を通過することによるインピーダンスの変化により細胞数をカウントできる（コールターカウンター）のみであったが，1960 年台には免疫染色と蛍光検出とを組み合わせることで，様々な表面マーカーを検出することができるようになった．蛍光検出によって実に多用な細胞形質を高速かつ正確に計測することが可能である一方で，染色の前処理の必要性，蛍光色素による細胞毒性，細胞機能の変化や色素の退色，色素以外からの自家蛍光の影響，目的部位に結合していない色素からの背景信号などといった蛍光色素を導入することに由来する問題も多い．蛍光色素の高い感度と免疫染色の選択性の恩恵があまりに大きく，これらの課題に目を向けられることは少ないが，もし染色することなく細胞内の物質定量が可能となれば，様々な新しい応用が期待できる．特に，品種改良や医療応用を目的として，特定の形質をもった細胞を分取して利用するような応用では染色による細胞の影響は無視できない．そのような問題を解決する一案として，本研究では，分子を無標識に測定できるラマン分光法に着目し，ラマン分光フローサイトメーターの開発を行った．本稿ではその装置の概要と藻類細胞の一細胞解析への応用について紹介する．

2. 高スループット・広帯域ラマンフローサイトメーター

ラマン分光法では分子の振動に由来する光の非弾性散乱を測定するため，細胞内に含まれる生体分子を染色せずに定量することができる．ラマン分光法と顕微イメージングを組み合わせたラマンイメージングは，蛍光イメージングと相補的な細胞の可視化手法として近年広く使われるようになってきた[1]．中でもコヒーレントラマン散乱を用いたイメージングでは従来の自発ラマン散乱の信号強度の低さが克服され，ビデオレートでのイメージングも可能となっている．ラマン分光フローサイトメトリーが実現すれば，多数（>10,000）の細胞内の分子を標識することなく，一分子ごとに定量すること

が可能となる．特に蛍光染色を用いた検出が難しい代謝生成物などの小さな分子の検出が可能となり，これまで観ることの出来なかった細胞形質の観測や，それに基づく細胞分取も可能になると期待される．（自発）ラマン分光を用いたフローサイトメトリーは 2000 年代からいくつか報告されているが，スループットが 10 細胞/秒程度と蛍光を用いたフローサイトメトリーと比べ 3 桁以上低く実用的ではなかった[2].

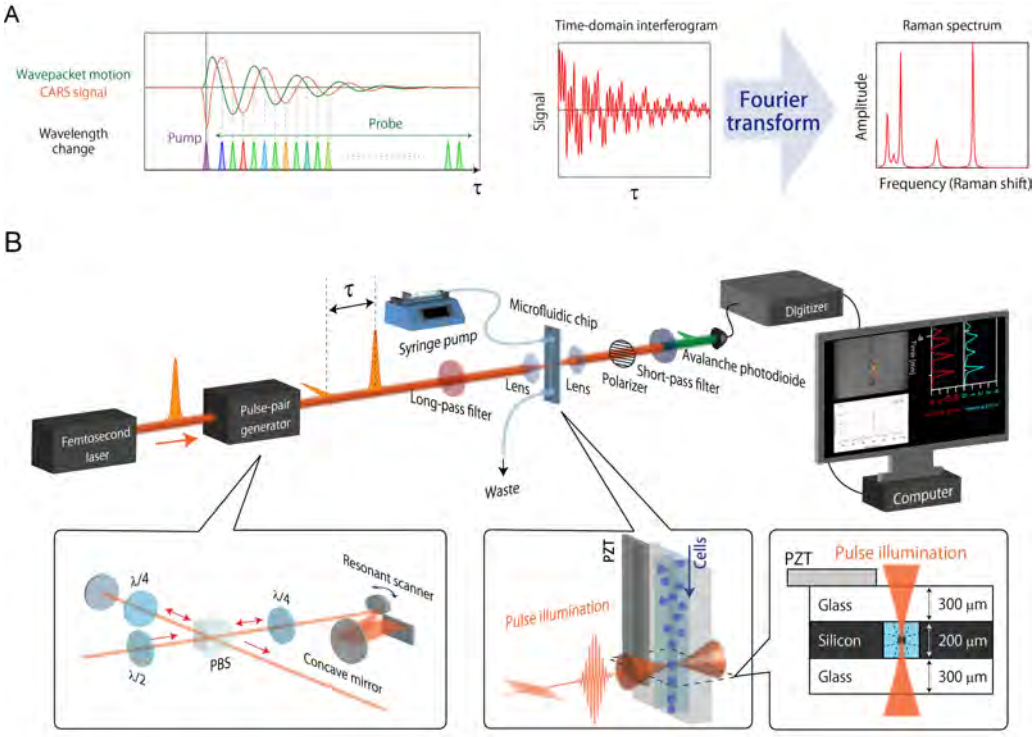


図 1. 高スループット・広帯域ラマンフローサイトメトリー. **A:** FT-CARS の測定原理.　ポンプパルスによって分子振動を励起し，その時間発展をプローブパルスの周波数変化によって検出する．**B:** FT-CARS フローサイトメーターの概略図．フェムト秒レーザーの出力を特殊な光学系でパルスペアに分解し，サンプルに照射する．サンプル中の分子振動によって生じるプローブパルスの波長変化を波長フィルタと光ディテクタによって検出する．

この壁を打ち破るため, 本研究では Fourier-transform coherent anti-Stokes Raman scattering（FT-CARS）法に基づく高速（24,000 spectra/s）ラマン分光法[3]と音響波を用いたマイクロ流体デバイス中での細胞整列技術[4]を用いることで，高スループット（> 1,000 細胞/秒）・広帯域（400-1600 cm^{-1}）無標識フローサイトメトリーを実現した[5]．FT-CARS 法では（分子の振動周期よりも短い）2 つのパルス光を用いて分子振動を時間領域で測定する(図 1A)．1 つ目のパルス（ポンプ光）を分子に照射すると，照射の瞬間を起点として様々な分子振動が一斉に励起される．ある間隔をおいて 2 つ目のパルス（プローブ光）を照射すると，その瞬間の分子振動の位相によって，プローブ光は異なる周波数変化を受ける．そのため，ポンプ-プローブ光の間隔を変化させながらプローブ光の周波数を測定すれば分子振動を測定できる．実際には図 1B に示す装置を開発し，プローブ光の周波数変化を波長フィルタの透過光強度の変化として測定した．FT-CARS 法ではポンプ-プローブ光の間隔を走査するレートで測定のレートが決まるが，本研究ではレゾナントスキャナを用いる事で高速（12 kHz）にパルス間隔を走査することで，1 秒あたり 24,000 スペクトルの測定レートを実現し，マイクロ流体デバイス中を高速（> 1 cm/s）に流れる細胞に対して一細胞分解能を保った測定を実現した．

3. 微細藻類の一細胞解析への応用

開発した装置の応用の一例として，多数のヘマトコッカス細胞中のアスタキサンチン含有量の一細胞解析を行った．アスタキサンチンは高い抗酸化作用から活性酸素に起因するさまざまな疾病を抑制する効果が期待されている [6]．その産生効率を無標識評価することができれば，アスタキサンチンの効率的生産につながり，産業的重要性が高い．一方で，アスタキサンチンをはじめとするカロテノイドは蛍光の量子収率が極めて低く，従来の蛍光フローサイトメトリーでの評価は困難である．図 2A に示すように，ヘマトコッカス細胞を窒素欠乏条件下で 0-5 日間培養し，ヘマトコッカス 1 細胞中の（クロロフィルに対して相対的な）アスタキサンチン含有量の日ごとの変化を観測した（図 2B）．0 日目では殆どの細胞が少量のアスタキサンチンしか含有していないのに対し，時間とともにアスタキサンチン含有量が増加する様子を無標識で検出することに成功した．さらに，窒素欠乏導入後 1 日目といった早い段階においても一部の細胞は高いアスタキサンチン含有量を示した．このような細胞を用いることで高効率な物質生産へと繋げられると期待される．

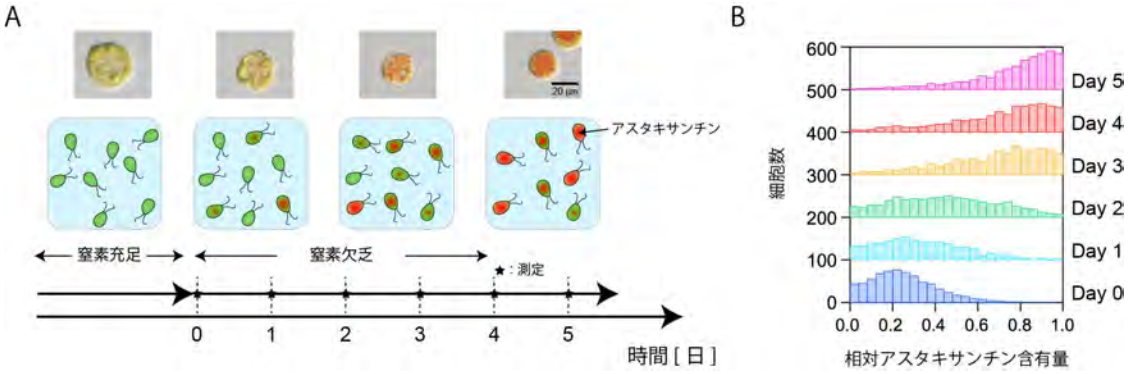


図 2. ヘマトコッカスの 1 細胞代謝解析 A：ヘマトコッカス細胞中のアスタキサンチン含有量の 1 細胞解析の概略図と各時点における細胞の顕微鏡写真, B：窒素欠乏条件培養 0〜5 日目のヘマトコッカス細胞群を本手法で解析することによって得られた細胞内アスタキサンチン含有量の分布.

また，より一般的に細胞の代謝活性を評価する手法として，安定同位体標識の導入による二酸化炭素固定能の一細胞解析を行った．図 3A に示すように，窒素欠乏条件導入と同時に培養に用いる二酸化炭素を $^{13}CO_2$ に切り替え，細胞内分子の炭素を ^{13}C へと置換した．窒素欠乏導入後 2 日目から二酸化炭素を $^{12}CO_2$ へと戻し，細胞内アスタキサンチン中の炭素原子がどのように ^{12}C へと置き換わるかを，本手法を用いて追跡した．図 3B は各条件で測定したヘマトコッカス細胞の平均のラマンスペクトルである．$^{13}C \rightarrow ^{12}C$ の置換によってアスタキサンチンの C=C 伸縮モードの波数が高波数側にシフトしているのが見て取れる．さらに、^{13}C と ^{12}C に対応する 2 つのピークの強度とピーク位置を一細胞のラマンスペクトルに関して解析すると，図 3C,D に示すような結果となった．ピークシフトは細胞による $^{12}CO_2$ 取り込みの結果によるものなので、各々のピーク強度の比率からヘマトコッカス一細胞の二酸化炭素固定能を見積もることができる．また，図 3D に示したピーク位置も培養期間に応じて系統的に変化していることが見て取れる．これは細胞中でのアスタキサンチン分子の立体配座を反映していると考えられ[7]，広帯域ラマン分光法ならではの分子構造情報が抽出できることを示している．

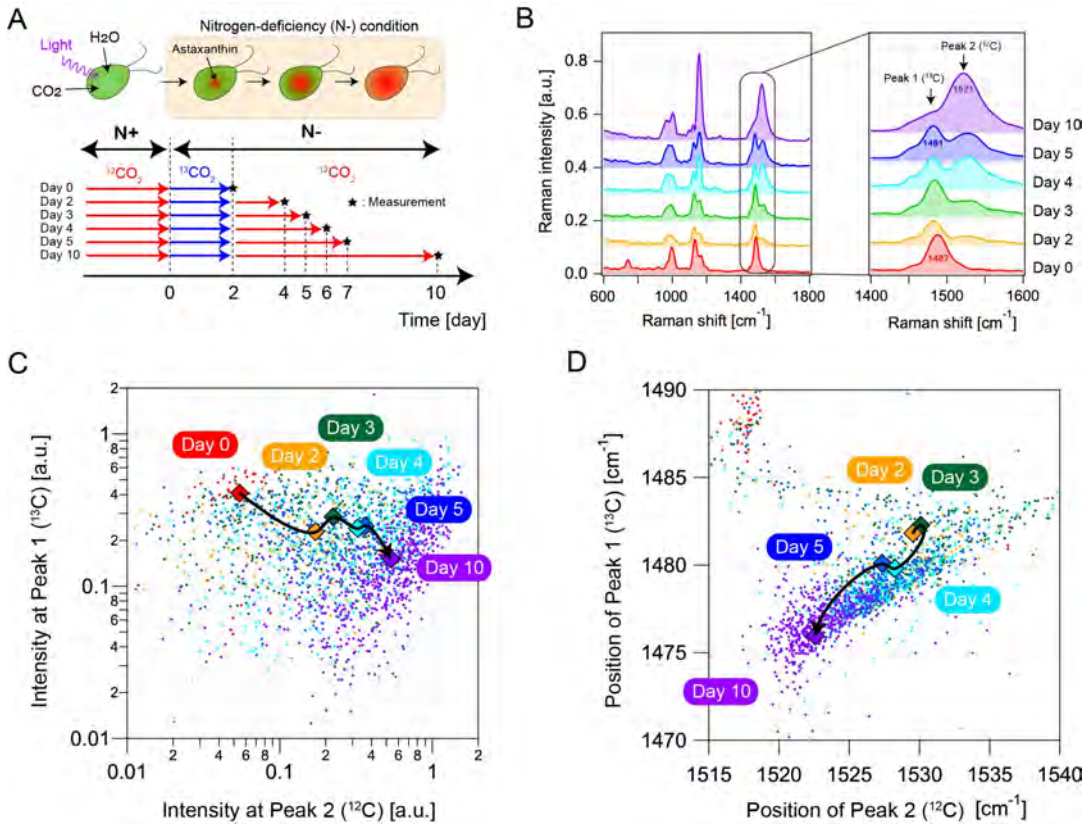


図 3. 安定同位体導入によるヘマトコッカス細胞の代謝活性評価．A: 細胞培養及び測定スキーム
B: 各条件で測定したラマンスペクトルの平均　C: ^{13}C および ^{12}C に対応するピークの強度の散布図
D: ^{13}C および ^{12}C に対応するピークの位置の散布図

4. おわりに

本項では大規模細胞集団を無標識に測定することのできる新しいフローサイトメトリー技術の開発と藻類の一細胞解析への応用について概説した．この研究を始めてから，（自発）ラマン散乱を用いたフローサイトメトリーの開発や応用を行っている研究者数名と議論する機会があった．無標識に分子構造情報を取得できるラマン散乱はフローサイトメトリーの新しい modality として非常に魅力的であるものの，とにかくスループットが低く実用化が難しいというのが共通見解であった．本研究では従来のラマンフローサイトメトリーに比べ 2-3 桁のスループット向上を実現し，その実用化に向けて歩みを進めることが出来た．さらなるスループットの向上，感度の向上，細胞分取機能の実装など，実用化に向け多くの改善点が残されているが，その結果，ラマンフローサイトメトリーによってさまざまな未踏分野に到達できると筆者は信じている．たとえば，細胞の持つ様々な物質生産能力を遺伝子改変等によって最適化し，従来の化学工業的プロセスでは合成の難しい物質を細胞に産生させる「スマートセル産業」が注目を集めているが，多数細胞中の代謝生成物をラマンスペクトルによって直接定量できれば非常に効率的にスマートセルの作製が可能になると期待される．また，血液などの液体検体からさまざまな疾病の予知・発見を行うリキッドバイオプシーでは，血液中の種々の細胞を高速かつ高精度に測定することが必要となる．従来の蛍光法では検出できなかった疾病の検出や予知も，本手法の潜在的な応用の一つである．

謝辞

本研究は，私が所属する東京大学理学系研究科，合田研究室で行われました．合田教授をはじめとする共同研究者の方々に感謝致します. また, 本研究は内閣府の革新的研究開発推進プログラム(ImPACT)の支援を受けて進められました．ここに感謝申し上げます.

参考文献

[1] Zhang, C. & Cheng, J.-X. *APL Photonics* **3**, 90901 (2018).

[2] Song, Y., Yin, H. & Huang, W. E. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **33**, 1–8 (2016).

[3] Hashimoto, K., Takahashi, M., Ideguchi, T. & Goda, K. Broadband coherent Raman spectroscopy running at 24,000 spectra per second. *Sci. Rep.* **6**, 21036 (2016).

[4] Antfolk, M., Muller, P. B., Augustsson, P., Bruus, H. & Laurell, T. Focusing of sub-micrometer particles and bacteria enabled by two-dimensional acoustophoresis. *Lab Chip* **14**, 2791–2799 (2014).

[5] Hiramatsu, K. *et al.* High-throughput label-free molecular fingerprinting flow cytometry. *Sci. Adv.* **5**, eaau0241 (2019).

[6] Guerin, M., Huntley, M. E. & Olaizola, M. Haematococcus astaxanthin: Applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnol.* **21**, 210–216 (2003).

[7] Kaczor, A. & Baranska, M. Structural changes of carotenoid astaxanthin in a single algal cell monitored in situ by Raman spectroscopy. *Anal. Chem.* **83**, 7763–7770 (2011).

Award Account　日本化学会第 99 回春季年会 優秀講演賞

Supramolecular Assembly of Engineered Cytochrome b_{562} Forming a Thermodynamically Stable Ring-shaped Trimer

大阪大学院工学研究科
大洞　光司

著者紹介：本稿の著者、大洞光司（姓は「おおほら」と読みます）と申します。大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻林研究室で 2011 年にヘムタンパク質の自己集合化の研究内容で学位を取得し、同年より同研究室にて助教として、日夜、研究・教育活動に専念しています。学生の間に半年間、バーゼル大学 Thomas Ward 教授の下に短期留学しタンパク質集積化の研究を行いました。また助教の間にも 2 ヶ月間、アーヘン工科大学の Ulrich Schwaneberg 教授の下に留学し、タンパク質の分子動力学計算について学びました。2015 年度から 2018 年度までは JST さきがけ「革新的触媒」の兼任研究者として、低級アルカン類水酸化の人工酵素の開発に従事しました。現在はヘムタンパク質の化学的・遺伝子工学的改変による人工酵素、光捕集系、生体材料の開発をテーマとして、研究活動に取り組んでいます。これまでに PCCP Prize 等を受賞し、幸いなことに、研究成果を高く評価していただいております。生体機能関連化学部会とは縁が深く、学生の頃からバイオ関連化学シンポジウムに出席し、教員になってからは 2014 年に第 8 回同シンポジウムにおいて講演賞を受賞しました。2017-2018 年度は生体機能関連化学部会若手の幹事を務め、また 2018 年度は、バイオ関連化学シンポジウムが関西で開催されたことに伴い、若手幹事の代表を仰せつかっておりました。その際には、シニアの先生方には本部会の若手が関連する協議事項等で、また若手の先生や学生さんには同シンポジウムのポスター賞や若手フォーラム等で大変お世話になりました。今後も生体機能関連化学部会の発展に貢献できるよう精進してまいります。最後に、個人的なことになりますが、カメラが最近の趣味で 2 歳の息子を被写体にして楽しんでいます。

1. はじめに

近年、タンパク質の巨大複合体を基盤として新規バイオマテリアルを構築する研究が注目されている。 しかしながら、魅力的な機能を有するタンパク質を自在に集積化するボトムアップ的なアプローチはまだ発展途上な段階である。 そこで、我々は機能のよく研究されているヘムタンパク質に着目し、ヘムとヘムポケット間の特異的な超分子相互作用を利用したヘムタンパク質集合体について報告している[1]。 具体的には、合成ヘムをヘムタンパク質表面へ部位特異的に共有結合を介して修飾し、続いて本来のヘムを除去することで、連続的な再構成を促し自己組織化集合体を構築している。 この手法で得られる超分子集合体は柔軟な繊維状の形状であり、またヘムの 3 量体の添加や集合体の架橋により 2 次元や 3 次元構造体へ展開できる。最近では、ヘムタンパク質ユニットとして単純な構造のシトクロム b_{562} を用いる系において、タンパク質表面に修飾するヘムの位置を最適化した変異体を用い、ヘムとヘムポケット間相互作用に加えて、表面のタンパク質間相互作用を誘起することで精密に制御された構造を有するヘムタンパク質集合体の構築を達成しており[2]、この系をさらに展開した集合体が、光誘起電子移動や細胞取込系においてユニークな性質を示すことを報告している[3]。本研究では、

同変異体を用いて異なる長さのリンカーを用いた場合に、特異的に環状 3 量体を形成することを見出し、その詳細を評価した（Figure 1）[4]。

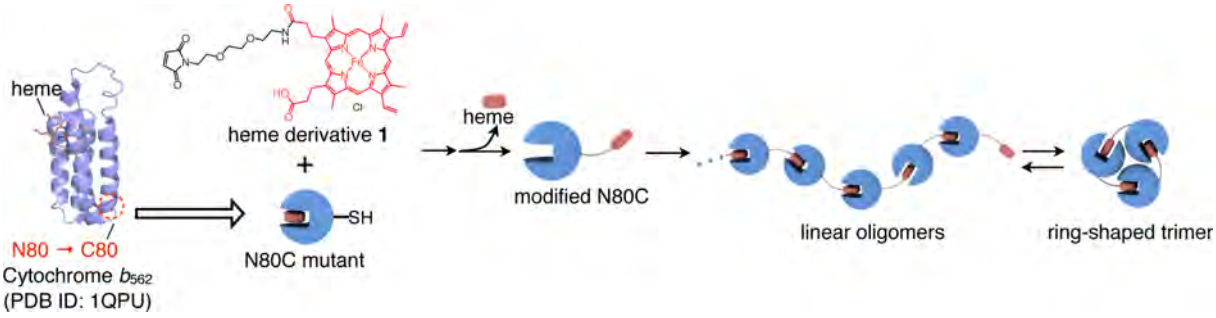


Figure 1. ヘムタンパク質超分子集合体調製の模式図

2. モノマーユニットの調製

まず、シトクロム b_{562} の変異体 N80C を大腸菌により発現し、イオン交換カラムおよびサイズ排除カラムにより精製した。野生型のシトクロム b_{562} はシステインを含まないので、N80C 変異体は唯一の反応点としてシステインを有する。次に、タンパク質表面に修飾するヘム誘導体 **1** を合成した。プロトポルフィリン IX を原料として、ヘムとマレイミド基のリンカーが、これまで利用してきたエチレンジアミン由来の短いリンカーよりも長く、酸素を 2 原子含む Figure 1 のリンカーを有するヘム誘導体 **1** を調製した。N80C 変異体とヘム誘導体 **1** を反応させ、共有結合的にタンパク質表面にヘムを導入し、その後、酸性条件下で遊離のヘムを除去、中和し、モノマーユニットを調製した。同定は、LC-MS を用いて修飾後の分子量を確認するとともに、未修飾タンパク質が含まれていないことを確かめた。

3. ヘムタンパク質超分子集合体の構造評価

中和後のモノマーユニットは自己集合していると考えられる。分析用のサイズ排除クロマトグラフィ（SEC）を用いて、サイズの評価を実施した。結果を Figure 2 に示す。この実験では大きな分子量を持つ成分ほど早く溶出する。モノマーユニットの濃度の高い条件では、明らかに大きな成分が含まれており、また幅広い分子量分布を示し、これまでのヘムタンパク質集合体と同様に繊維状集合体を形成していることが期待された。次に徐々にモノマーユニットの濃度を低くして、同様の実験を行なった。大変興味深いことに、大きな分子量成分の減少とともに、10.9 mL に溶出する成分のみが明らかに増大していることがわかった。この成分は明らかにモノマーの分子量よりも大きく、単純に大きな分子量成分が減少し小さな分子量成分が疎らに増える、あるいはモノマー成分が増えるようなこれまでの集合体の挙動と異なる。何量体であるかを確認するために、まずヘムを除去した野生型シトクロム b_{562} のアポタンパク質によるキャッピング実験を行なった。アポタンパク質を加えることで、小さな分子量の成分が増え、小さい方から順番

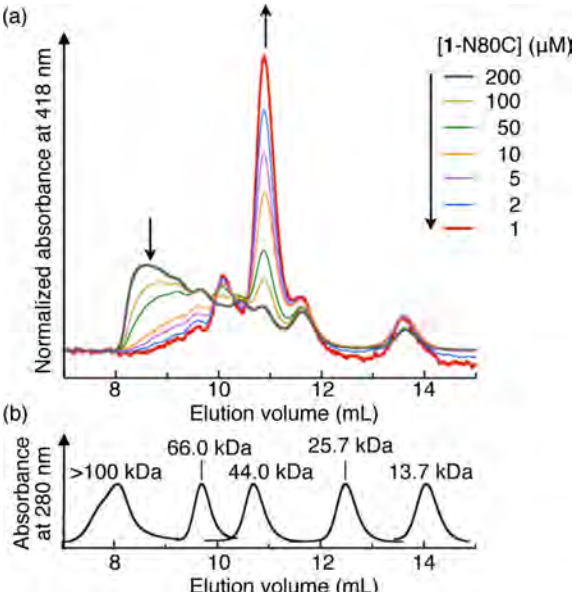


Figure 2. SEC の測定結果。(a) モノマーの濃度を変化させた際のクロマトグラム。(b) 標準サンプル。

に 1,2,3…量体と帰属することができる。ユニークなことに、10.9 mL はちょうど 2 量体と 3 量体の成分の間の溶出量であるとがわかった。次に、この成分の単離を試みた。詳細は次節で取り扱うが、幸いなことに、単離した成分は安定であることがわかった。その結果、この成分の ESI-MS による質量分析と可視紫外吸収スペクトル測定を行うことができた。質量分析では、3 量体によく一致する分子量の多価イオンピークが観察され、デコンボリューションにより親ピークがちょうど 3 量体のシミュレーションスペクトルに一致することを確認した。また可視紫外吸収スペクトルにおいては、ヘムに由来する 400 nm の Soret バンドにショルダーを示す集合体全体のスペクトルと異なり、全くショルダーのない野生型シトクロム b_{562} のスペクトルと完全に一致した。これは、従来の系でも考察してきたことであるが、集合体は繊維状であるため末端に溶媒に露出したヘムを有し、スペクトルにショルダーを示す。一方で、完全に一致した 10.9 mL の成分は露出したヘムを有さないことになる。このことと、質量分析で 3 量体であること、SEC において 2 量体と 3 量体の繊維状集合体の間に溶出することから 10.9 mL の成分は環状 3 量体であると考えた。

直接観察を実施するために、名古屋大学の内橋先生のご協力の下、高速原子間力顕微鏡（AFM）を用いた高分解能の構造観察を実施した（Figure 3）。SEC において 10.9 mL に溶出する成分の単離した溶液を、マイカ基板上で観察した。結果として、15 nm ほどの環状の像が確認された。一方で、濃縮した集合体成分においては繊維状の集合体が観察されたことから、環状の集合体が間違いなく形成していることを示した。さらに、平面上に集合した環状 3 量体をモデリングし、AFM のシミュレーションを実施した。その結果、実験で得られた像と非常によく一致し、溶液中での種々の測定と同様に環状 3 量体の形成を確認した。

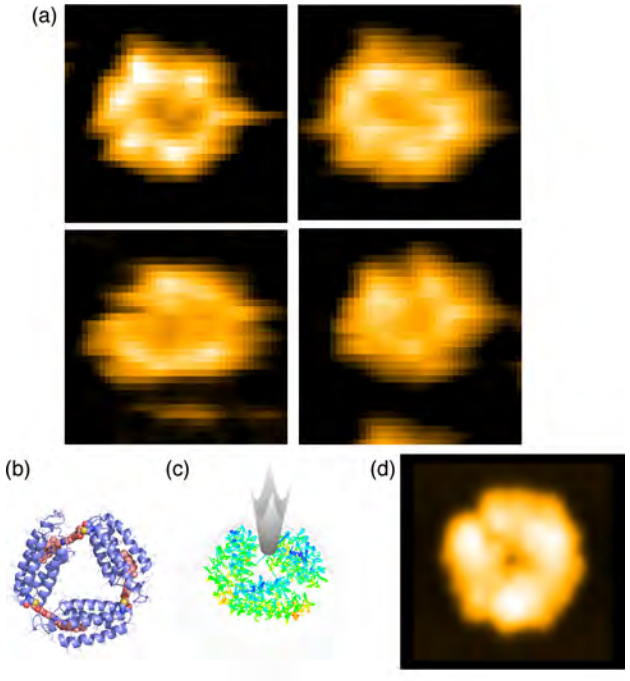


Figure 3. AFM の測定結果。(a) 代表的な環状構造の像。(b) 平面上に環状 3 量化したモデル。(c) AFM シミュレーションのセットアップ。グレーは探針を示す。(d) (c) によるシミュレーションの結果。(a)および(d)の像の一辺はいずれも 20 nm。

4. 環状 3 量体の安定性評価

種々の測定を用いて、環状 3 量体の熱力学的および速度論的な安定性を評価した。まずグアニジン塩酸塩を変性剤とする滴定実験を行なった。CD スペクトルのコットン効果の強度を指標として、変性の割合を算出した。その結果、α-ヘリックスが半分変性したことを示すグアニジンの変性濃度$[GdmCl]_m$を、環状 3 量体が 1.8 M、集合体全体が 1.4 M、アポの野生型シトクロム b_{562} が 1.0 M、ホロの野生型シトクロム b_{562} が 2.1 M であると決定した。このことから、環状 3 量体は集合体全体やアポの野生型シトクロム b_{562} よりも明らかに熱力学的に安定であり、ホロの野生型シトクロム b_{562} に近い値を示すことが明らかになった。これは、シトクロム b_{562} の安定性がヘムの結合の有無によって大きく変わる事実と一致している。さらに加熱変性における CD スペクトル変化においても同様の結果を得ている。

次に速度論的な安定性の評価を実施するために、SEC において 2 つの実験を行なった。まず、環状 3 量体が生成する過程を観察するために、熱変性後に SEC を測定した。80 ºC に加温した後、1 分 25

ºC で静置したサンプルは、繊維状集合体の形成を示すが、ほとんど環状 3 量体を含んでいなかった。しかしながら、5 分静置したサンプルは平衡化したものと同様の環状 3 量体の含有量であったことから、一旦、繊維状の集合体が形成し、その後、数分で環状 3 量体を形成することが示された。次に、環状 3 量体の分解過程について、SEC で 10.9 mL の環状 3 量体の成分を単離し、溶液を濃縮後、0 時間、24 時間静置したサンプルと熱変性後平衡化したサンプルを SEC で評価した。ユニークなことに、24 時間後でも 70%ほどの環状 3 量体の成分を維持していることが明らかになった。変性後に再平衡化したサンプルは 50%以上繊維状の成分を含んでいることから、速度論的に非常に安定であることが明らかになった。これらをまとめて考察したエネルギーダイアグラムを Figure 4 のように提案する。変性した集合体は、速い過程で一旦、繊維状の集合体を形成し、その後、環状 3 量体を形成する。環状 3 量体はヘムが全てタンパク質に取り込まれていることから熱力学的に安定であり、濃度に大きく依存して安定度が変わる繊維状集合体に遷移するには大きな活性化エネルギーを越える必要があり、一度単離すると濃縮しても速度論的にトラップされた準安定状態である。

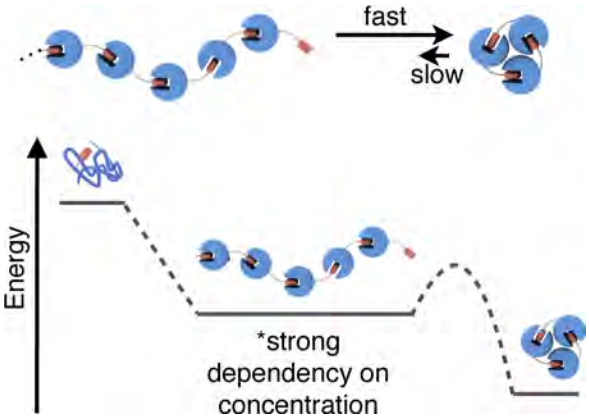


Figure 4. 本系において予想される上記の集合化におけるエネルギーダイアグラム。環状 3 量体は熱力学的にも速度論的にも安定であるという実験事実に基づき考察した。

5. おわりに

本研究は、我々が報告してきたヘムタンパク質の超分子集合体において、安定な環状集合体の形成を示した初めての例である。これまでに他の研究者によって様々な環状タンパク質集合体が報告されてきたが[5]、多くは結晶構造という特殊な条件下で同定しており、溶液中でも形成していることを示す例は限られている。本系はヘムのタンパク質への取り込みが良い指標となり、溶液中でも環状集合体を形成していることを明らかにした。今後は、さらなる自在な集合化制御と機能化および材料への応用を目指す予定である。また本成果の詳細は *Chem. Commun.*において公開済であり、幸いなことに Front Cover に選出された (Figure 5)。このイラストでは、希釈状態では環状集合体を、濃縮状態では繊維状集合体を形成することを、コーヒーの濃い薄いと湯気の形にたとえて表現した。

Figure 5. 本研究をハイライトした表紙のイラスト。

謝辞

本研究は、本著者が所属する大阪大学院工学研究科、林研究室で行われました。素晴らしい研究環境の場の提供と熱い議論を交わし、ご指導、ご助言くださる林 高史教授に感謝いたします。またいつも鋭い視点でご助言くださる小野田 晃准教授にお礼申し上げます。原子間力顕微鏡測定においてご協力

いただいた名古屋大学大学院理学研究科 内橋貴之教授にお礼申し上げます。また実質的に実験を行なってくれた卒業生の梶原 竜太氏（H30 年度博士卒）および藤巻 錦氏（H25 年度修士卒）に感謝申し上げます。

参考文献

[1] (a) Oohora. K.; Onoda, A.; Hayashi, T. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11714. (b) Oohora, K.; Hayashi, T. *Curr. Opjn. Chem. Biol.* **2014**, *19*, 154. (c) Oohora, K.; Onuma, Y.; Tanaka, Y.; Onoda, A.; Hayashi, T. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 6879.

[2] Oohora, K.; Fujimaki, N.; Kajihara, R.; Watanabe, H.; Uchihashi, T.; Hayashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 10145.

[3] (a) Kajihara, R.; Oohora, K.; Hayashi, T. *J. Inorg. Biochem.* **2019**, *193*, 42.; (b) Oohora, K.; Kajihara, R.; Jiromaru, M.; Kitagishi, H.; Hayashi, T. *Chem. Lett.* **2019**, *48*, 295.

[4] Oohora, K.; Kajihara, R.; Fujimaki, N.; Uchihashi, T.; Hayashi T. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 1544.

[5] (a) Luo, Q.; Hou, C.; Bai, Y.; Wang, R.; Liu, J. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 13571.; (b) Bastings, M. M. C.; de Greef, T. F. A.; van Dongen, J. L. J.; Merkx M.; Meijer, E. W. *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 79.; (c) Li, Q.; So, C. R.; Fegan, A.; Cody, V.; Sarikaya, M.; Vallera, D. A.; Wagner, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17247.; (d) Bai, .; Luo, Q.; Zhang, W.; Miao, L.; Xu, J.; Li, H.; Liu, J.; *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10966.; (e) Radford, R. J.; Tezcan, F. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9136.

ぶらり研究室の旅

同志社大学理工学部 機能分子・生命化学科

機能有機化学研究室

伝統と新しい風の両立をめざして

表題の研究室で教員をしております北岸宏亮と申します。「ぶらり研究室の旅」栄えある第一回ということで，僭越ながら私どもの研究室について紹介します。あまりかた苦しくないように，という編集の先生からのご依頼でしたので，研究室の経緯や現状，今後の目標などについて，ざっくばらんに記させていただきます。

同志社大学「機能有機化学研究室」は，先代の加納航治先生(現・同志社大学名誉教授)が 1995 年に当時の有機合成化学研究室から独立されるタイミングで，小寺政人先生と共に立ち上げられました。それから加納・小寺体制の機能有機化学研究室が 2007 年まで続きました。2008 年の学科改編の際に人見 穣先生と私が教員として赴任し，小寺・人見研(分子生命化学研究室)と加納・北岸研（機能有機化学研究室）に分派しました。赴任直前に加納先生から「新体制になり研究室名を変えるタイミングなので，何が良いか」と聞かれました。しかし私にとって「機能有機化学研究室」は出身研究室でもありましたから，研究室の名前がなくなってしまうことは悲しい，という気持ちをお伝えしたところ，名前をそのまま残していただくことになりました（加納先生からは「保守的なやっちゃなぁ」と言われてしまいましたが…)。

2008 年から 6 年間，加納先生と一緒に教員として研究室でお仕事させていただきました。公私ともに実に様々なことを教えていただきました。特に論文執筆については懇切丁寧に叱咤激励いただき，感謝してもしきれません。学生から助教にわたる若い時に偉大な指導者に出会えたことは私の人生の宝物です。

2014 年 3 月に加納先生が定年により退職されました。その際，学科の学生定員減にともなう教員削減により，加納先生の分の教員枠が消滅しました。当時 34 歳の私ひとりが研究室に残ることになり，「他の研究室に合併してもらったほうがよいのでは」とも考えましたが，やはり私は「機能有機化学研究室」への思い入れが強く，わがままを言いまして一人体制での研究室を継続させていただきました。このような現状をお許しいただいております本学科の先生方には，大変感謝しております。

以上のような事情もあり，加納先生の退職後でも継続して成果を出さねば！と肩肘張りながら 2014 年に新体制がスタートしました。教員 1 名に学生 17 名という体制です。主な研究テーマは助教時代から取り組んできたシクロデキストリンを用いた人工ミオグロビンモデル化合物の合成および物性評価です。さらに，これらのモデル化合物を積極的に生体（動物や細胞）に導入し，生体内で仕事をさせることを試みました。我々のモデル化合物は有機溶媒中ではなく水中で機能するように設計しております。図 1 中に示したミオグロビンモデル”hemoCD”は水中で一酸化炭素(CO)への結合親和性が高いために，生体に導入するとガス状シグナル分子として機能する内在性 CO を捕捉し，

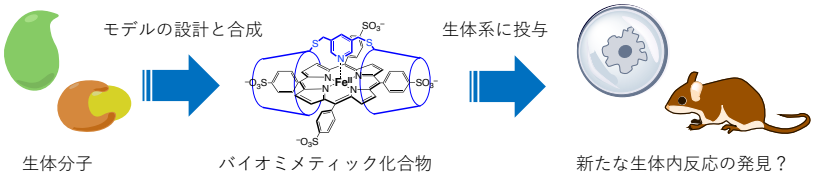


図1．生体に投与するバイオミメティック化学.

その機能を停止させた「擬ノックダウン」状態へと導くことがわかりました。この特性を生かしてこれまで明らかになっていなかった内在性 CO の生理機能の解明を試みております。

バイオミメティック化学は従来，生体分子の構造や機能をよりよく再現することで，自然界のメカニズムを解明することが目的とされてきました．しかしながら，タンパク質等の生体分子を対象とする分光学的手法の進歩により，この大義はかなり薄れていると言えます．一方，バイオミメティック化学において合成されたモデル化合物は必ず「天然系とよく似ているけれど，どこか（機能や分子サイズなど）違うもの」になります。ここがバイオミメティック化学の面白いポイントなのではないかと考えております。すなわち hemoCD のようなモデル化合物が生体に作用すると，生体は通常ではないレスポンスを示します．そのときの挙動を調査すれば，未知の生命現象の解明につながるかもしれません。

さて話は変わりますが，最近，同年代の先生との会話で，自分で実験しなくなってきた(できなくなってきた)，という話題がよく挙がります。研究費を獲得して新しい装置を導入しても，説明会にも出席できずに最新の装置に触れるのはもっぱら学生さん，という類の話題です。私も研究室で教員ひとりになり，研究費申請，論文作成，講義準備など，終日 PC の前で過ごしておりました。教員とはこのような仕事なのだと納得しつつ，日々過ごしておりました。しかしある日，休み期間で学生さんが少ない時期に，ふと思い立って合成実験をスタートしました。学生さんへの指導や，論文リバイズのための実験ではなく，原料合成の実験を開始しました。学生さん達と同じスペースの実験机をもらい，ガラス器具の場所をいちいち聞きながら，ほそぼそと実験をスタートさせました。いざ実験をはじめると，楽しくて夢中になり，最近では朝一番に研究室を開けて掃除し，メールの返信そっちのけで（すみません！）朝から実験しております。集中して実験をしていると，次々と試したいアイデアが浮かんできます。実験は，なぜ自分が化学を志したのかを強烈に思い起こさせてくれました。そうです，実験を通して見える化学反応が好きで，化学職人になりたくて研究室に残る道に進んだのです。

「教員は自分で実験するべきか否か」は，状況により異なる考え方があるかと思います。実際に実験に多くの時間を割いてしまうと，他の大事な仕事が滞ります。「こんなこと(実験)をしていていいのだろうか，実験は学生さんのものではなかろうか」という罪悪感が生まれてきます。しかし一方で，教員が一人の大人として真剣に実験に取り組む姿は，どんな国際会議に連れていくよりも学生さんの刺激になるのではないかと，そう考えるようになりました。今後は時間や体力がなくなっていくのでしょうが，邪魔にならない範囲でできる限り長い間，実験に向き合いたいと今では考えています。「先生，次エバポいいですか？」「ごめんごめん，すぐどけるわ」みたいな会話を何年後でもできるような，そんな研究室をめざしたいと思っております。

図2．研究室風景（筆者は左端）.

連絡先：同志社大学理工学部機能分子・生命化学科
e-mail: hkitagis@mail.doshisha.ac.jp
住所：〒610-0321 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
電話番号：0774-65-7442（直通）
ホームページアドレス：http://www1.doshisha.ac.jp/~kkano/index.html

お知らせ

第 13 回バイオ関連化学シンポジウム＋UK-Japan Joint Symposium（日英シンポジウム）
－ 第 34 回生体機能関連化学シンポジウム・第 22 回バイオテクノロジー部会シンポジウム －

主　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
共　催：　日本化学会・東北大学大学院工学研究科・東北大学多元物質科学研究所・ネットワーク型物質デバイス領域共同研究拠点・ダイナミックアライアンス・高分子学会・日本薬学会　他（予定）
会　期：　9 月 4 日(水)～9 月 6 日(金)
会　場：　東北大学青葉山東キャンパス　工学研究科工学部中央棟・サイエンスホール他
HP：https://www.eng.tohoku.ac.jp/map/access.html,
https://www.eng.tohoku.ac.jp/map/?menu=campus&area=c
[交通]　仙台駅から仙台市地下鉄東西線「八木山動物公園」行きに乗車、「青葉山」駅で下車後、徒歩８分程度
発表申込期間：　5 月 13 日(月)～6 月 21 日(金)
予稿原稿投稿期間：　7 月 1 日(月)～7 月 26 日(金)
事前参加登録申込期間：　5 月 13 日(月)～7 月 26 日(金)
討論主題：　ペプチド･タンパク質・酵素・核酸・分子認識・超分子・生体モデル系・遺伝子関連などが関連する幅広いバイオ関連化学
発表形式：　口頭発表・ポスター発表
申込分類：　１）分子認識・超分子･モデル系、２）ペプチド・蛋白質・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
ポスター発表：原則 1 日目および 2 日目
口頭発表：　全日で 15 分間発表、5 分間質疑応答
＊口頭発表は原則として、1 研究室 1 件まで。ただし、申込みは 2 件までは可とする。
発表申込方法：　下記のシンポジウム・ホームページから
参加登録費：　[事前登録]　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 27 日(土)～当日］部会員：一般 7,000 円、学生 5,000 円、非部会員：一般 9,000 円、学生 6,000 円
懇親会：　9 月 5 日(木)　東北大学・大学院工学部中央棟 1 階あおば食堂カフェテリアにて。会費：[事前申込]一般 4,000 円、学生 3,000 円、[7 月 27 日(土)～当日申込]一般 6,000 円、学生 5,000 円
事前参加登録申込方法：下記のシンポジウム HP から
申込先・問合先：　〒980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1　反応棟１号館４階４０４　和田健彦研究室内　第１３回バイオ関連化学シンポジウム事務局　TEL:022-217-5608；FAX: 022-217-5609　E-Mail：hiko@tohoku.ac.jp　http://jointsympo.csj.jp/

お知らせ

日本化学会第９９春季年会　優秀講演賞（学術）・学生講演賞

優秀講演賞（学術）

平松 光太郎	東京大学	大学院理学系研究科	高スループット広帯域ラマンフローサイトメトリー
田村 朋則	京都大学	大学院工学研究科	オルガネラ選択的脂質ラベリングと蛍光イメージング
大洞 光司	大阪大学	大学院工学研究科	Supramolecular Assembly of Engineered Cytochrome b562 Forming a Thermodynamically Stable Ring-shaped Trimer
岡田 智	産総研	健康工学研究部門	磁性ナノ粒子とシナプトタグミン C2 ドメインの相互作用を応用したカルシウム応答型 fMRI

学生講演賞

両角 明彦	東京大学	大学院薬学系研究科	細胞内グルタチオンの求核付加・解離平衡に基づく超解像蛍光イメージングプローブの開発
日高 拓也	京都大学	大学院理学研究科	塩基配列選択的 DNA 結合化合物を用いたミトコンドリア DNA の制御
小笠原 宏亮	名古屋大学	大学院理学研究科	リン置換基の化学修飾によるホスファキサンテン pH プローブの開発
鈴木 和人	名古屋大学	大学院理学研究科	デコイ分子を利用したシトクロム P450BM3 による立体選択的酸化反応系の開発
鈴木 亮人	東京大学	大学院工学系研究科	球状錯体による酵素の安定化及びリフォールディング
西澤 周平	東京工業大学	生命理工学院	TMG キャップ構造誘導体を有する UsnRNA の化学的合成
堀江 直宏	大阪大学	大学院薬学研究科	グアニジン架橋修飾オリゴヌクレオチドの簡便な合成法の開発
島田 有彩	大阪大学	大学院理学研究科	ハイマンノース型糖鎖を有するシアル酸転移酵素の半化学合成と酵素活性評価
平山 翔太	大阪大学	大学院工学研究科	Construction of a Micellar Assembly of Hexameric Hemoprotein and Evaluation of its Photochemical
MAFY Noushaba	北海道大学	生命科学院	Dynamic Photocontrol of CENP-E and Chromosome Movements During Cell Division
NGUYEN Tien Khanh	東京工業大学	生命理工学院	Design of in vivo protein crystals containing foreign enzymes

おめでとうございます。

お知らせ

２０１９年度　生体機能関連化学部会役員

【部会長】

伊東　忍（阪大院工）

【副部会長】

浅沼　浩之（名大院工）

和田　健彦（東北大多元研）

【幹事】

青木　伸（東理大薬）

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（九州大院薬）

大槻　高史（岡山大院自然）

小澤　岳昌（東大院理）

高木　昌宏（北陸先端大マテリアル）

築地　真也（名工大材料フロンティア）

廣田　俊（奈良先端大物質創成）

藤井　浩（奈良女大院自然）

堀川　学（サントリー生命科学財団）

本間　実咲（武田薬品）

水上　進（東北大多元研）

村上　裕（名大院工）

山口　浩靖（阪大院理）

山東　信介（東大院工）

人見　穣（同志社大理工）

藤本　ゆかり（慶應大理工）

三浦　佳子（九大院工）

松浦　和則（鳥取大院工）

小和田　俊行　（東北大・若手の会代表）

【監査】

浜地　格（京大院工）

三原　久和（東工大生命理工）

お知らせ

２０１９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】

松尾　和哉 (北大電子研)

小和田　俊行 (東北大多元研) ※ 若手の会代表幹事

【関東支部】

森本　淳平 (東大院工)

佐藤　伸一 (東工大化生研)

塚越 かおり (東京農工大院工)

【東海支部】

吉井　達之 (名工大院工)

有安　真也 (名大院理)

【関西支部】

田村　朋則 (京大院工)

多幾山　敬 (塩野義製薬)

蓑島　維文 (阪大院工)

【中国・四国支部】

平尾　岳大 (広島大院理)

杉川　幸太 (広島大院工)

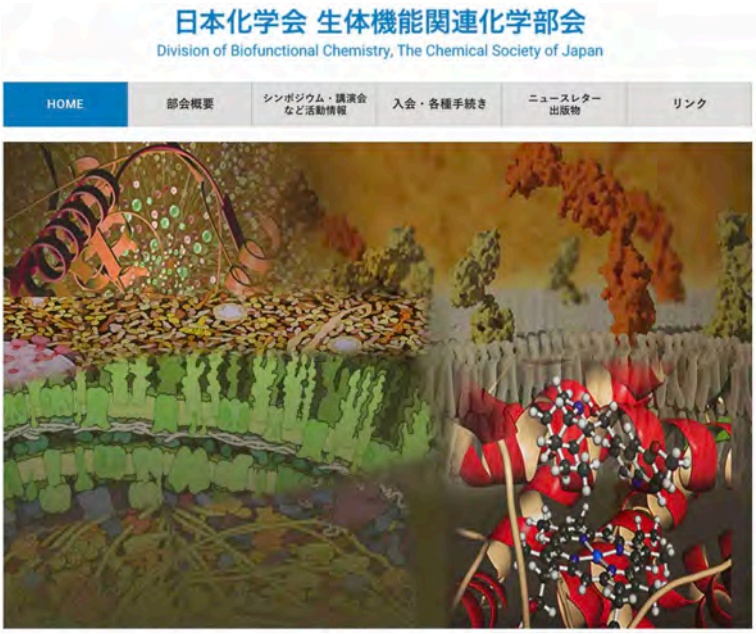
【九州支部】

内之宮　祥平 (九大院薬)

勝田　陽介 (熊本大院先端)

新ホームページ情報

https://seitai.chemistry.or.jp



ニュースレター　Vol. 34, No. 1　2019年6月20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
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:山東 信介、村上 裕、人見 穣、王子田 彰夫