



#### 受動拡散により膜透過する中分子 環状ペプチドの探索法の開発

##### 1. はじめに

三重大学に異動して6年が経ち、研究室にも授業にも慣れて参りました。天然由来環状ペプチドの生物有機化学研究を続けるのと並行して、3年ほど前から標題の研究を行っております。未だ荒削りで実用化には程遠い状況ですが、思い切って本ニュースレターにて紹介させていただきます。



増田 裕一

##### 2. 薬になる中分子環状ペプチドの特徴と探索法

創薬モダリティとして中分子環状ペプチドが注目されていることは、本ニュースレターの読者には広く知られていることと思います。環状ペプチドは、アミノ酸残基の組み合わせにより無数の種類が存在し、その置換基が環状構造により三次元的に配置されることで、標的分子と特異的に結合します。分子量500～2000程度の中分子環状ペプチドは、タンパク質表面に結合するのに十分な大きさがあるので、これまで標的にできなかったタンパク質を狙えることが期待されています。また、中分子環状ペプチドの中には、分子サイズが大きいにもかかわらず、受動拡散により細胞膜を透過できるものがあります。その要因の一つとして、アミド結合のNHとC=Oが形成する水素結合様式の切り替えが指摘されています。即ち、水環境中で

は水分子と分子間水素結合を形成して溶解し、細胞膜中では分子内水素結合により親水性官能基を内側に向けて膜をくぐり抜けるモデルが提唱されています<sup>1</sup> (図1)。受動拡散により膜透過できる中分子環状ペプチド医薬は、細胞内タンパク質を標的とすることや、消化管吸収による経口投与が可能なことが期待できます。

ペプチドは、アミノ酸の縮合の繰り返しにより並行合成できることから、化合物ライブラリーを構築することにより活性化合物を探索できます。標的分子と特異的に結合する中分子環状ペプチドの探索法として、固定化ビーズ法、ファージディスプレイ法、mRNAディスプレイ法などが実用化されています。一方で、細胞膜透過性や経口吸収性が高い中分子環状ペプチドの探索はあまり進んでいません。その原因の一つとして、選別した環状ペプチドの同定に用いるタグ部分が、化合物の物性に大きく影響することが考えられます。つまり、タグ部分のサイズが大きかったり、親水性が高かったりすると、分子全体の性質が変わってしまうため、環状ペプチドの膜透過性を正確に評価できなくなるといえます。細胞膜透過性および経口吸収性が高い環状ペプチドを探索するには、タグを用いない新規探索法を確立する必要があると考えました。

##### 3. 天然物探索の経験からヒントを得た「受動拡散により膜透過する中分子環状ペプチドの探索法」

話は変わりますが、三重大学に異動してから天然物の探索研究も行っており、いくつかの生物活性化合物(既知化合物ですが)を単離・構造決定しました。自分で実験を行った感想が二つあります。一つ目は、生物活性化合物を単離する作業も大変ですが、生物活性

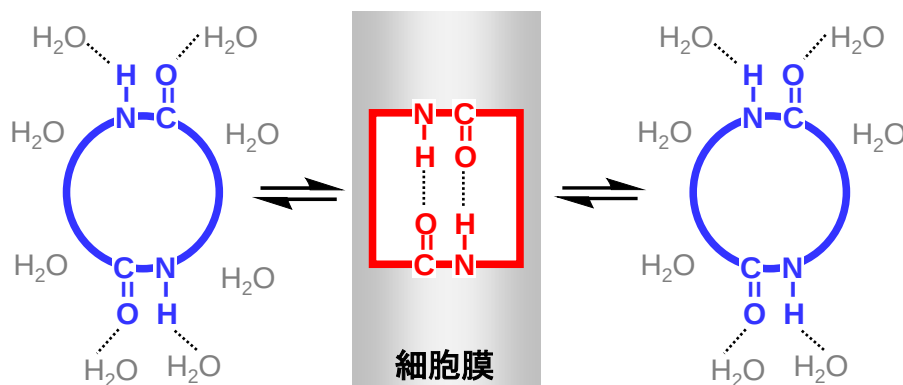


図1 水素結合様式を切り替えながら膜透過する環状ペプチド (参考文献1より一部改変)

に関係がないものを取り除く作業も大変だということです。特に、水溶性が高い化合物は有機溶媒で抽出できないため、塩類を除けず挫折しました。そこで、生物活性に関係がない成分を最初から含まない材料を用意すれば、単離操作が楽になると思いました。二つ目の感想は、単離した化合物が全く未知だと構造解析が大変ですが、構造の目星が付けば意外と何とかなるということです。特に、既知化合物は分析データの一致により同定することができ、標品を用意して比較すれば確実です。以上の経験から、アミノ酸残基の種類や数をあらかじめ決めた環状ペプチドライブラリー（つまり、既知化合物のライブラリー）を作れば、タグを用いなくてもヒット化合物を同定できると考えました。もし、分析データの一致に不安があれば、その構造の環状ペプチド標品を合成して、確認できます。以上を踏まえて、タグを用いずに膜透過性環状ペプチドを探索する方法を考案しました（図 2）。即ち、(1) タグがない環状ペプチドライブラリーを化学合成し、(2) 膜透過性を指標として選別した後、(3) LC-MS/MS を用いて同定する方法、です。この際、(3)での同定を容易にするために、(1)で合成する環状ペプチドのアミノ酸配列をあらかじめ設計することがポイントとなります。このような研究の前例がないか調べたところ、膜透過性環状ペプチド研究の第一人者である Lokey 先生のグループが、split and pool 法により 96 個の環状ペプチド混合物を含むライブラリーを構築し、各化合物の膜透過性を網羅的に解析する研究を行っていました<sup>2</sup>。最近、東京大学の山東先生・森本先生のグループは、128 個の環状ペプチド混合物を含むライブラリーの構築・分析を報告しています<sup>3</sup>。「良いアイデアを思い付いた！」と思っても、誰かに先を越されていることがよくあります。しかし、同様のアイデアでも自分のやり方で研究を進めていけば、異なる終着点に辿り着くだろうと思い、研究を立ち上げることにしました。

#### 4. 環状ヘキサペプチド PF1171F を用いた探索法の試行

まず、適当な環状ペプチドを対象として本探索法（図 2）を試行し、課題を洗い出すことにしました。最初に試行する対象化合物は、ライブラリーの構築が容易で、膜透過性類縁体が必ずヒットするものがよいと考え、私が以前から研究している PF1171F を選択しました。PF1171F は、子囊菌 OK-128 株が生産する環状ヘキサペプチド（Mw: 689）であり、カイコ幼虫に対して経口投与で麻痺を引き起こします<sup>4</sup>。私はこれまでに、PF1171F の固相法を用いた全合成を達成しており<sup>5</sup>、これまでに 30 種類以上の類縁体を合成して

います<sup>5,6</sup>。さらに、PF1171F の膜透過性が高いこと、その膜透過性が麻痺活性および経口吸収性に関わっていることを明らかにしています<sup>6</sup>。従って、膜透過性が高い類縁体を発見したときに、カイコを用いて麻痺活性および経口吸収性との関連を迅速に調べることができます。ライブラリーに含まれる類縁体数は 100 個程度として、探索法の実態を綿密に分析したいと考えました。

以上のことを踏まえて、図 3 に示す探索実験を計画・実行しました。3 カ所のアミノ酸残基において 5 種類の Fmoc アミノ酸の等量混合物をそれぞれ縮合することにより、~125 種類の類縁体ライブラリーを構築しました（図 3A）。これを人工膜透過性試験（PAMPA）に供し（図 3B）、膜透過後の溶液に含まれる類縁体を化学反応により鎖状化した後（図 3C）、LC-MS/MS を用いて分離しながら配列を解析しました（図 3D）。本稿では結果の詳細を示しませんが、膜透過後の溶液から PF1171F を含む複数の類縁体が検出され、そのいくつかのアミノ酸配列を決定することに成功しました（図 3D は一例です）。

しかしながら、この試行を通して多くの問題が露呈しました。まず、5 種類の Fmoc アミノ酸（Ala, Ile, Gly, Phe, Val）の等量混合物を縮合させると、Ile や Val を複数含む類縁体の収率が非常に低いことが判明しました。その原因として、縮合や環化反応における Val や Ile の立体障害が考えられます。縮合に用いる Fmoc-Ile-OH と Fmoc-Val-OH の比率を増やすなどの条件検討を行いました。あまり改善していません。ちなみに、改変する 3 カ所に Ile, Val, Val を有する類縁体 3 種を単一化合物として合成すると、いずれも良い収率で得られました。一般的に、有機合成は単一の化合物を高純度・高収率で合成することを目的としています。本研究のように複数の化合物を均等に合成するとなると勝手が違うようです。アミノ酸の種類により縮収率が異なる問題は、split and pool 法によるライブラリーの構築<sup>2,3</sup>では起きにくいので、導入を検討しています。

もう一つの大きな問題は、鎖状体の LC-MS/MS 解析が難しいことです。125 種類ならば LC である程度分離できると予想していましたが、鎖状体の LC ピークはブロードで互いに重なりました。その結果、MS/MS スペクトルが複雑になり、解析が困難でした。環状体の方が LC での分離がよいですが、環状体の MS/MS フラグメントは複雑であり、配列解析が困難になります（図 3C）。この問題について、Lokey 先生のグループは解決法を提案しており、環状体の MS/MS フラグメントのパターンから構造を予測する方法を報告しています<sup>7</sup>。あるいは、分子量が同じに

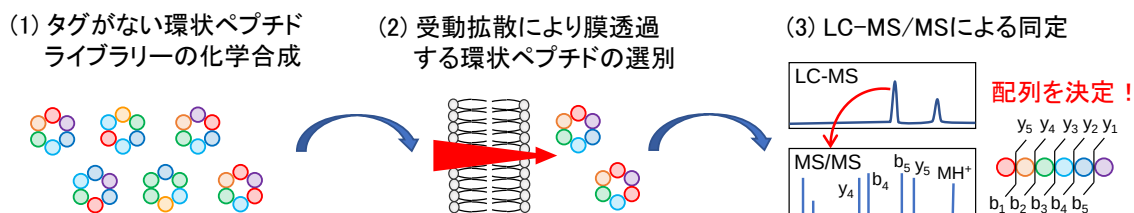


図2 「受動拡散による膜透過性が高い中分子環状ペプチドの探索法」の流れ

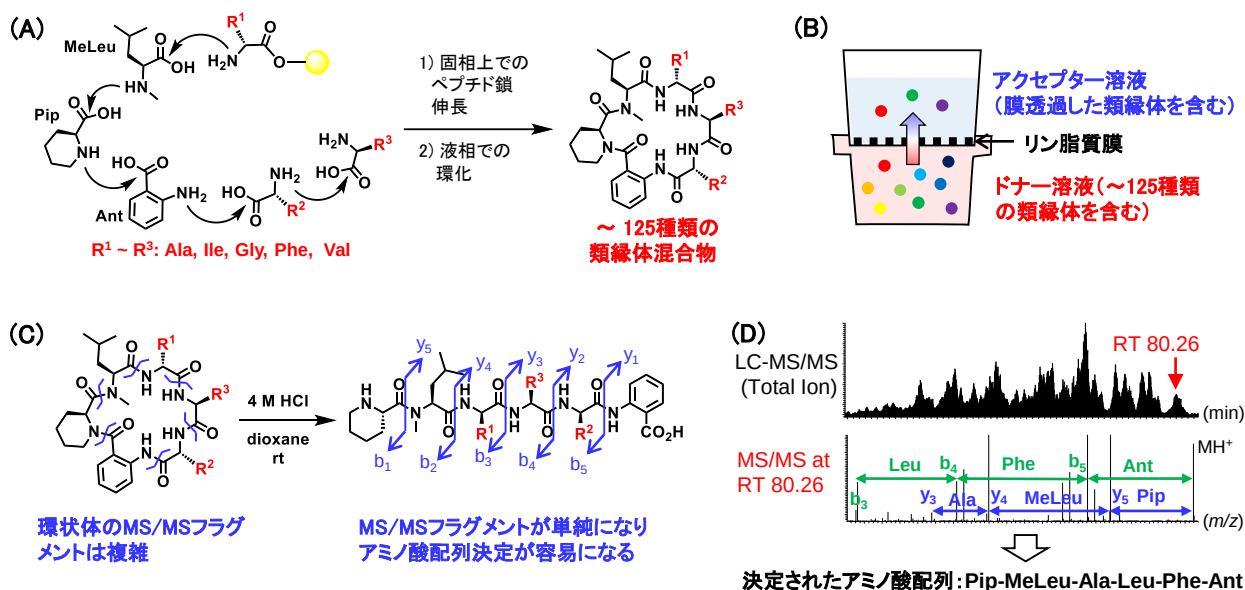


図3 膜透過性が高いPF1171F類縁体の探索。(A) PF1171F類縁体ライブラリーの構築、(B) PAMPAによる膜透過性類縁体の選別、(C) 選別した類縁体の強酸による鎖状化 (Ant-Pip間のアミド結合の開裂)、(D) LC-MS/MSによる鎖状類縁体の配列決定。

ならないように化合物ライブラリーを構築<sup>2,3</sup>すればよいのかもしれませんが。

現在、膜透過性類縁体の選別に用いている PAMPA は、溶媒としてリン酸緩衝液を用いており、余計な夾雑物が混じってこないのが、分析が簡単です。今後、より生体に近い探索系 (例えば、Caco-2 細胞を用いた腸管吸収モデル) への移行や、膜透過した上で標的分子に結合する環状ペプチドの探索を計画していますが、生体分子と区別するのに工夫する必要があります。例えば、ペプチドの側鎖にアルキンを入れておいて、後でクリック反応を用いて検出するようなケミカルバイオロジー的手法<sup>8</sup>と組み合わせることを考えています。

## 5. おわりに

以上のように、化合物 100 個程度のライブラリーで追っている状況ですが、ペプチド化学を生かしたアイデアを考え、コツコツ続けて参ります。

最後になりましたが、本ニュースレターへの寄稿の機会を与えて頂いた九州大学の巢山慶太郎先生に厚く御礼申し上げます。また、本稿で紹介した実験を担当した三重大学大学院生物資源学研究所の井上雄介君に心から感謝致します。

## 参考文献

1. Rezai, T.; Yu, B.; Millhauser, G. L.; Jacobson, M. P.; Lokey, R. S. J Am Chem Soc 2006, 128, 2510-2511.
2. Hewitt, W. M.; Leung, S. S.; Pye, C. R.; Ponkey, A. R.; Bednarek, M.; Jacobson, M. P.; Lokey, R. S. J Am Chem Soc 2015, 137, 715-721.
3. Hosono, Y.; Morimoto, J.; Sando, S. Org Biomol Chem 2021, 19, 10326-10331.
4. Kuo, Y. H.; Kai, K.; Akiyama, K.; Hayashi, H.

Tetrahedron Lett 2012, 53, 429-431.

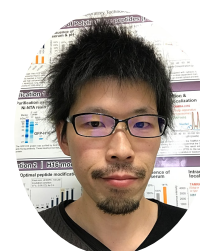
5. Masuda, Y.; Tanaka, R.; Kai, K.; Ganesan, A.; Doi, T. J Org Chem 2014, 79, 7844-7853.
6. Masuda, Y.; Tanaka, R.; Ganesan, A.; Doi, T. J Org Chem 2017, 82, 11447-11463.
7. Townsend, C.; Furukawa, A.; Schwochert, J.; Pye, C. R.; Edmondson, Q.; Lokey, R. S. Bioorg Med Chem 2018, 26, 1232-1238.
8. Morimoto, J.; Amano, R.; Ono, T.; Sando, S. Org Biomol Chem 2019, 17, 2887-2891.

ますだ ゆういち  
三重大学 大学院生物資源学研究所  
創薬化学研究室  
masuda@bio.mie-u.ac.jp  
<https://www.cc.mie-u.ac.jp/~masuda/>

## 細胞膜透過ペプチド：ポリヒスチジンペプチドを利用したリソソーム標的型 DDS

### 1. はじめに

九州大学・巢山慶太郎先生からペプチドニュースレター寄稿のお話をいただき、この度本稿を執筆させていただきましたことになりました。このような貴重な機会をいただきましたことを、厚く御礼申し上げます。「ペプチドと生体膜」というテーマに関連した研究ということで、本稿では、当研究室にてこれまでに進めてまいりました「細胞膜透過ペプチド：ポリヒスチジンペプチドを利用したリソソーム



岩崎 崇

標的型 DDS」についてご紹介させていただきます。

## 2. 背景：リソソーム関連疾患と治療法の問題点

リソソームは、生体分子を消化・再利用し、細胞の恒常性を維持するために不可欠なオルガネラです<sup>1</sup>。約 60 種類のリソソーム酵素が、ペプチド、核酸、炭水化物、脂質などの高分子の加水分解に関与しています<sup>2</sup>。一方で、リソソーム酵素をコードする遺伝子の変異は、リソソーム病 (Lysosomal storage disease, LSD) と呼ばれるヒト遺伝性疾患の原因になることが知られています。LSD は、特定のリソソーム酵素の欠損によって引き起こされる代謝異常であり、様々な神経変性疾患、心血管老化関連疾患、および癌に関連しています<sup>3,4</sup>。

現在の LSD に対する治療法として、リソソーム中で欠損している酵素を、組換え酵素として細胞外部から補充する「酵素補充療法 (Enzyme replacement therapy, ERT)」が主流となっています<sup>5,6</sup>。ERT に使用される組換えリソソーム酵素は、リソソーム内へ輸送するために、高密度のマノース-6-リン酸 (M6P) で修飾される必要があります<sup>7</sup>。M6P 修飾されたリソソーム酵素は、細胞表面の M6P 受容体に結合し、後期エンドソームを介して細胞内リソソームへと輸送されることが知られています<sup>8</sup>。このように、従来の ERT では、組換えリソソーム酵素の M6P 修飾が必須条件であるのですが、残念ながら M6P 修飾リソソーム酵素の効率的な発現系は、一部のリソソーム酵素についてしか存在していません。そのため、現在 50 種類以上のリソソーム酵素が同数の LSD と関連していることが知られている一方で、米国食品医薬品局 FDA で承認されている ERT 用の組換えリソソーム酵素はわずか 9 種類 (12 薬剤) に限定されています<sup>9,10</sup>。

そこで我々は、上記の問題を解決するために、細胞膜透過ペプチド (Cell-penetrating peptide, CPP) を用いた M6P 修飾非依存的な ERT の開発を目指しました。我々はこれまでに、新規 CPP としてポリヒスチジンペプチド: H16 ペプチド (HHHHHHHHHHHHHHHHHH-NH<sub>2</sub>) を報告しております。この H16 ペプチドは、従来のアルギニン・リジンリッチな配列からなる CPP とは異なり、ヒスチジン残基のみから構成される CPP ですが、従来の CPP よりも細胞膜透過効率が強く、また血清中でも安定であることが明らかになっています<sup>11</sup>。さらに、この H16 ペプチドは、細胞膜透過した後にリソソームに効率的に集積するという特徴も有しています。これらの特徴から、H16 ペプチドは細胞内リソソームを標的とした DDS キャリヤーとして有力であるとともに、M6P 修飾非依存的な ERT を実現するためのリソソーム酵素キャリヤーとして期待できます。本研究では、この H16 ペプチドを用いた簡便な (M6P 修飾非依存的な) ERT を開発しましたので、以下に紹介させていただきます。

## 3. リソソーム酵素結合型 H16 ペプチドを使った ERT の開発

我々は、リソソーム酵素を簡便に細胞内への導入し、リソソームに集積させることを目指し、リソソーム標的型 DDS キャリヤーである H16 ペプチドをリソソーム酵素に対して簡便に修飾する方法を考案しました。具体的には、リソソーム酵素の大部分が酸性タンパク質であること (表 1) に着目し、H16 ペプチドをリソソーム酵素に静電相互作用により容易に結合させる方法を開発しました。正電荷を帯びたポリリジン配列 (K10) と細胞膜透過能およびリソソーム集積能を有するポリヒスチジン配列 (H16) を連続させた K10GH16 ペプチド (KKKKKKKKKKGGHHHHHHHHHHHHHHHH-NH<sub>2</sub>) を設計し、混合するだけで酸性リソソーム酵素と結合する方法を考案しました (図 1)。本手法では、M6P 修飾されていない酸性リソソーム酵素に対しても簡単に H16 ペプチドを結合させることができるため、広範囲の酸性リソソーム酵素を M6P 修飾非依存的にリソソームへ輸送することが可能であると考えられます。実際に、我々は酸性リソソーム酵素の一種である  $\alpha$ -galactosidase A (GLA) をモデル酵素として使用し、GLA と K10GH16 ペプチドと混合するだけで、M6P 修飾非依存的な細胞膜透過・リソソーム導入を実証しています<sup>12</sup>。具体的には、LSD の一種である GLA 欠損細胞に対して GLA-K10GH16 ペプチド複合体を細胞外から投与することで、GLA 欠損細胞内のリソソームに GLA を輸送できること、さらに GLA 欠損細胞の表現型 (正常細胞よりも遅い細胞増殖) を回復させることに成功しています。これらの結果は、K10GH16 ペプチドが LSD 細胞のリソソーム酵素の不足を補うことを示唆するとともに、K10GH16 ペプチドは、M6P 修飾非依存的 (すなわち簡便な) ERT 用の DDS キャリヤーとして有用であることを示しています。

## 4. リソソーム酵素内包型 H16 ペプチド修飾リポソームを使った ERT の開発

前述の通り、我々は K10GH16 ペプチドを利用した M6P 修飾非依存的な ERT を開発しました。しかしこの手法は、一度に多数のリソソーム酵素を輸送するには不向きであるという問題点も有していました。そこで次に我々は、一度に多数のリソソーム酵素を輸送できる手法を開発するべく、H16 ペプチドを修飾したリポソームをキャリヤーとした ERT の開発を目指しました。この手法では、M6P 修飾されていないリソソーム酵素である GLA を内包したリポソーム {Liposome (GLA)} を調製し、さらに N 末端にステアシル基 (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-) を導入した H16 ペプチド (Stearl-H16 ペプチド) をリポソーム表面に修飾することで、H16 ペプチド修飾した GLA 内包リポソーム {H16-Liposome (GLA)} を調製しました。この H16-Liposome (GLA) は、GLA 欠損細胞に対して細胞膜透過を示し、GLA 欠損細胞内のリソソームに集積することが確認されました。さらに、H16-Liposome (GLA) は GLA 欠損細胞の低下した細胞増殖を回復させる効果も示しました。この結果か



ら、リソソーム酵素を内包した H16-Liposome は、LSD 細胞のリソソーム酵素の不足を補うことが可能であることが示唆されました。特に、M6P 修飾されていないリソソーム酵素であっても、H16-Liposome

に内包することで LSD 細胞のリソソームへ輸送できることから、H16-Liposome は K10GH16 ペプチドと同様に M6P 修飾非依存的な ERT 用 DDS キャリアーとして利用可能であることが示されました。さらに

表1 リソソーム病に関連する代表的なリソソーム酵素群。Ip はリソソーム酵素の等電点 (Isoelectric point) を示す。

| Lysosomal enzymes                           | Associated LSDs                  | Ip   |
|---------------------------------------------|----------------------------------|------|
| $\beta$ -Hexosaminidase A                   | GM2-gangliosidosis               | 4.93 |
| $\alpha$ -N-Acetylgalactosaminidase         | Schindler disease                | 5.05 |
| Sialidase-1                                 | Sialidosis                       | 5.32 |
| Iduronate-2-sulfatase                       | Hunter syndrome                  | 5.37 |
| $\alpha$ -Galactosidase A (GLA)             | Fabry disease                    | 5.37 |
| $\beta$ -Mannosidase                        | $\beta$ -mannosidase             | 5.42 |
| $\alpha$ -Glucosidase                       | Pompe disease                    | 5.68 |
| Cathepsin D                                 | Neuronal ceroid lipofuscinosis   | 5.90 |
| Arylsulfatase A                             | Metachromatic leukodystrophy     | 5.97 |
| N(4)-(β-N-acetylglucosaminy)-L-asparaginase | Aspartyl glucosamineuria         | 6.11 |
| Cathepsin F                                 | Neuronal ceroid lipofuscinosis   | 6.18 |
| $\beta$ -Hexosaminidase B                   | GM2-gangliosidosis               | 6.32 |
| $\beta$ -Galactosidase                      | GM1-gangliosidosis               | 6.33 |
| Galactocerebrosidase                        | Krabbe disease                   | 6.36 |
| $\alpha$ -L-Fucosidase                      | Fucosidosis                      | 6.36 |
| Cathepsin A                                 | Galactosialidosis                | 6.45 |
| N-Acetylgalactosamine 6-sulfatase           | Mucopolysaccharidosis IV A       | 6.65 |
| Acid lipase                                 | Lysosomal acid lipase deficiency | 6.75 |
| $\alpha$ -N-Acetylglucosaminidase           | Mucopolysaccharidosis III B      | 6.77 |
| N-Sulphoglucosamine sulphohydrolase         | Mucopolysaccharidosis III A      | 6.87 |
| $\beta$ -Glucuronidase                      | Mucopolysaccharidosis VII        | 6.91 |
| Hyaluronidase-1                             | Mucopolysaccharidosis IX         | 6.91 |
| $\alpha$ -Mannosidase                       | $\alpha$ -mannosidosis           | 6.95 |
| Cathepsin C                                 | Papillon-Lefèvre syndrome        | 6.99 |
| Acid sphingomyelinase                       | Niemann-Pick disease             | 7.09 |
| Acid ceramidase                             | Faber's disease                  | 7.35 |
| $\beta$ -Glucocerebrosidase                 | Gaucher disease                  | 7.62 |
| Arylsulfatase B                             | Mucopolysaccharidosis VI         | 7.61 |
| $\alpha$ -L-Iduronidase                     | Mucopolysaccharidosis I          | 8.95 |

Acidic  
Basic

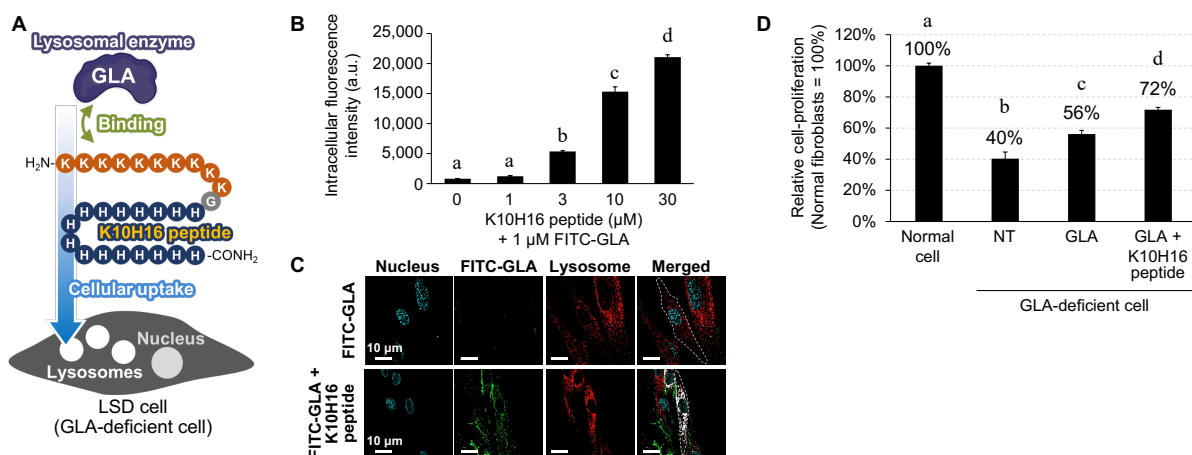


図1 (A) K10GH16 ペプチドを利用したリソソーム標的型 DDS のスキーム。(B) FITC-GLA (1 μM) と混合した K10GH16 ペプチド (1 ~ 30 μM) の GLA 欠損細胞における細胞内取り込み。FITC-GLA-K10GH16 ペプチド複合体の細胞内取り込みはフローサイトメーターにて定量した。(C) FITC-GLA (1 μM) と K10GH16 ペプチド (30 μM) の複合体の GLA 欠損細胞内の分布。白色スポットは、FITC-GLA と細胞内リソソームの共局在を示す。破線は細胞膜の輪郭を示す。(D) GLA 欠損細胞に対する GLA-K10GH16 ペプチド複合体の ERT 効果。GLA (1 μM) 単独、または GLA (1 μM) と K10GH16 ペプチド (30 μM) の複合体存在下で GLA 欠損細胞を 72 時間培養し、Cell Counting Kit-8 を用いて細胞増殖率を定量した。NT は未処理区を示す。データは平均値 ± S.D. を表す。異なる文字は有意差を示す ( $p < 0.05$ , Turkey's test)。文献 12 を改変して掲載。

H16-Liposome を利用した本手法は、一度に多量のリソソーム酵素を補充できる ERT の基盤技術になり得ると期待されます<sup>13</sup>。

## 5. H16 ペプチド修飾リソソームを使った ERT の開発

ここまで、我々は K10GH16 ペプチドや H16 ペプチド修飾リポソームを利用した M6P 修飾非依存的なリソソーム酵素の DDS を開発してきました。しかしながら、これらの手法は組換えリソソーム酵素を

利用するという共通点を有しているため、組換えタンパク質として入手可能なリソソーム酵素以外には利用できないといった問題点がありました。前述のように、リソソーム病に関与しているリソソーム酵素は 50 種類以上存在していますが、M6P 修飾の有無にかかわらず、組換え酵素として入手可能なリソソーム酵素はごく一部に限られています。すなわち、K10GH16 ペプチドや H16 ペプチド修飾リポソームを利用した ERT でも同様に、輸送可能なリソソーム酵素が限定されるといった問題点が存在してしま

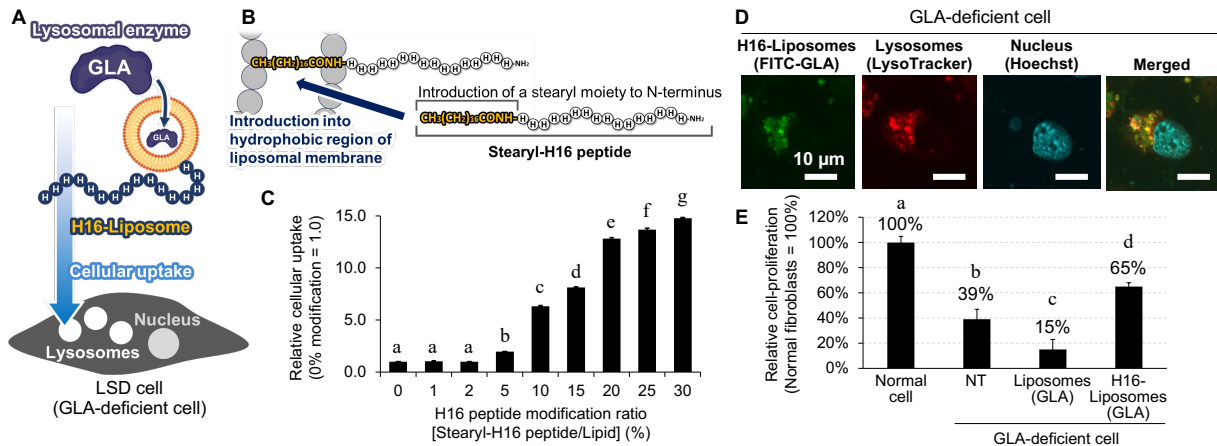


図 2 (A) H16-Liposome を利用したリソソーム標的型 DDS のスキーム。(B) H16-Liposome の調製スキーム。脂質フィルム {Dioleoylphosphatidylcholine : Cholesterol = 10 : 1 (mol/mol)} を FITC-GLA を含む緩衝液で水和し、超音波処理によりリポソームを形成した。調製したリポソームを Mini-Extruder (Avanti) を用いて約 100 nm の粒径に調整し、ゲルろ過カラムを用いて精製した。最後に、リポソームの疎水性領域に Stearyl-H16 ペプチドを導入した。(C) リポソーム表面の Stearyl-H16 ペプチド修飾比率と細胞膜透過。Stearyl-H16 ペプチドは、リン脂質 (Dioleoylphosphatidylcholine) に対して 0 ~ 30 mol% でリポソーム表面に修飾した。H16-Liposome の細胞取り込みは、フローサイトメーターにて定量した。(D) H16-Liposome (FITC-GLA) の GLA 欠損細胞内の分布。(E) GLA 欠損細胞に対する H16-Liposome (GLA) の ERT 効果。Liposome (GLA) または H16-Liposome (GLA) 存在下で GLA 欠損細胞を 72 時間培養し、Cell Counting Kit-8 を用いて細胞増殖率を定量した。NT は未処理区を示す。データは平均値  $\pm$  S.D. を表す。異なる文字は有意差を示す ( $p < 0.05$ , Turkey's test)。文献 13 を改変して掲載。

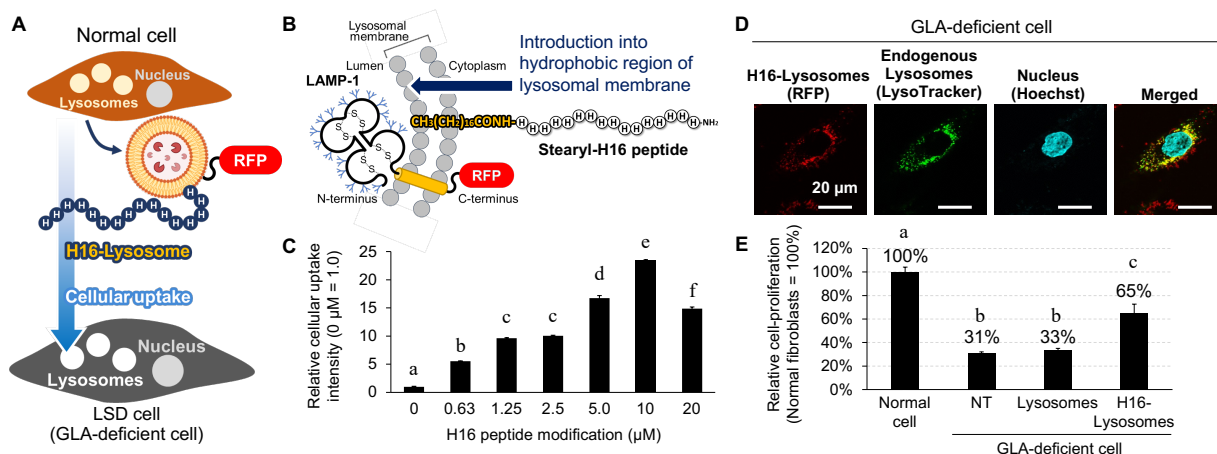


図 3 (A) H16-Lysosome を利用したリソソーム標的型 DDS のスキーム。(B) H16-Lysosome の調製スキーム。リソソーム膜タンパク質である LAMP-1 に RFP を融合発現したヒト細胞を構築し、この細胞より単離した RFP 発現リソソームの膜疎水性領域に Stearyl-H16 ペプチドを導入した。(C) 単離したリソソーム表面の Stearyl-H16 ペプチド修飾比率と細胞膜透過。単離した RFP 発現リソソーム (5.0  $\mu$ g/mL) に対して 0 ~ 20  $\mu$ M の Stearyl-H16 ペプチドを修飾し、GLA 欠損細胞に対する細胞内取り込みをフローサイトメーターにて定量した。(D) H16-Lysosome の GLA 欠損細胞内の分布。(E) GLA 欠損細胞に対する H16-Lysosome の ERT 効果。単離した Lysosome 単独 (5.0  $\mu$ g/mL) または H16-Lysosome (10  $\mu$ M Stearyl-H16 peptide, 5.0  $\mu$ g/mL lysosomes) 存在下で GLA 欠損細胞を 72 時間培養し、Cell Counting Kit-8 を用いて細胞増殖率を定量した。NT は未処理区を示す。データは平均値  $\pm$  S.D. を表す。異なる文字は有意差を示す ( $p < 0.05$ , Turkey's test)。文献 14 を改変して掲載。

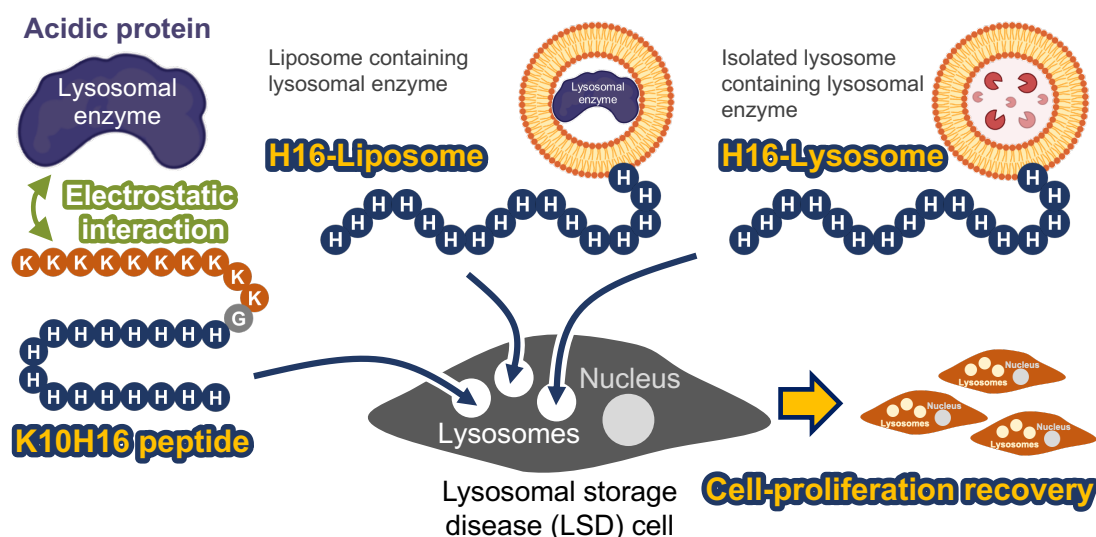


図4 H16 ペプチドを利用したLSD 細胞に対する M6P 非依存的な酵素補充療法 (ERT) またはオルガネラ補充療法 (ORT) の概略図

た。そこで、これらの問題点を克服し、組換え酵素として存在しないリソソーム酵素も輸送可能な ERT を開発するために、我々はリソソームそのものを丸ごと、LSD 細胞内へ導入する手法を考案しました。LSD 細胞内へリソソーム酵素を輸送する手法は酵素補充療法 (Enzyme replacement therapy, ERT) と呼ばれていますので、我々はリソソームそのものを丸ごと LSD 細胞内へ輸送する手法をオルガネラ補充療法 (Organelle replacement therapy, ORT) と (勝手に) 命名し、その開発を試みました。原理としては非常にシンプルでありまして、前述のリポソームの代わりに、ヒト正常細胞から単離した正常なリソソーム (リソソーム酵素を全て保有しているリソソーム) に Stear1-H16 ペプチドを修飾した H16 ペプチド修飾リソソーム (H16-Lysosome) を調製して、LSD 細胞内へ導入するというものです。前述のリポソームは粒径が約 100 nm のものを使用していたのに対して、単離リソソームは粒径が約 500 ~ 1,000 nm になりますので、サイズの H16 ペプチドを使ってリソソームを丸ごと細胞内へ導入できるのか? という心配はありましたが、結果的にはまったく問題なく、H16-Lysosome は LSD 細胞内に取り込まれ、最終的に LSD 細胞の細胞増殖率を回復させるに至りました。これらの結果から、H16 ペプチドはかなり大きな物質 (この場合は粒径約 500 ~ 1,000 nm のリソソーム) も細胞内へ輸送可能であることが示唆されました。また、H16-Lysosome を利用したオルガネラ補充療法 (ORT) という概念を実証することができたと言えます。この H16-Lysosome を利用することで、多種・多量のリソソーム酵素を一度に細胞内へ補充することが可能になりますので、現在は治療法 (ERT) が確立されていない LSD や、複数のリソソーム酵素の欠損に起因している LSD など、幅広い LSD に対応できる汎用的な治療基盤技術が確立できたと考えています<sup>14</sup>。今後は、リソソーム以外のオルガネラにも H16 ペプチドを修飾して細胞内輸送することも考えておりますが、それはまた別の機会にご紹介できればと思います。

## 6. おわりに

以上の研究より、我々の研究室では K10GH16 ペプチド、H16 ペプチド修飾リポソーム、H16 ペプチド修飾リソソームといった様々な方法を駆使して、LSD 細胞内へリソソーム酵素またはリソソームを丸ごと輸送する酵素補充療法 (ERT) またはオルガネラ補充療法 (ORT) を開発してきました (図 4)。これらの手法は、リソソーム酵素の M6P 修飾非依存的に LSD 細胞の増殖率を回復させることができましたので、従来の LSD 治療法の問題点、すなわち M6P 修飾リソソーム酵素に依存した ERT を改善することができると考えております。現在はまだ *in vitro* 実験による概念実証の段階に過ぎませんが、今後は LSD モデル生物を利用した *in vivo* 実験により、さらに実証データを積み重ねていく所存です。

本研究は、JSPS 科研費 (15K18689)、野口研究所、加藤記念バイオサイエンス振興財団のご支援を受けて実施しました。この場を借りて御礼申し上げます。また最後になりましたが、本稿執筆の機会を賜りましたペプチドニュースレター編集委員の先生方に厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

1. Settembre, C.; Fraldi, A.; Medina, D. L.; Ballabio, A. Nat Rev Mol Cell Biol 2013, 14, 283-296.
2. Lysosomal Enzymes Research Area: R&D Systems. <https://www.rndsystems.com/research-area/lysosomal-enzymes> (accessed on September 1, 2020).
3. Platt, F. M.; Boland, B.; van der Spoel A. C. J Cell Biol 2012, 199, 723-734.
4. He, L. Q.; Lu, J. H.; Yue, Z. Y. Acta Pharmacol Sin 2013, 34, 605-611.
5. Clarke, J. T. R.; Iwanochko, R. M. Mol Neuro-



- biol 2005, 32, 43–50.
6. Bruni, S.; Loschi, L.; Incerti, C.; Gabrielli, O.; Coppa, G. V. *Acta Myol* 2007, 26, 87–92.
  7. Saftig, P.; Klumperman, J. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009, 10, 623–635.
  8. Coutinho, M. F.; Prata, M. J.; Alves, S. *Mol Genet Metab* 2012, 105, 542–550.
  9. Enzyme Replacement Therapy. <https://www.uhcprovider.com/content/dam/provider/docs/public/policies/comm-medical-drug/enzyme-replacement-therapy.pdf> (accessed September 1, 2020).
  10. Intravenous Enzyme Replacement Therapy (ERT) for Gaucher Disease. <https://www.uhcprovider.com/content/dam/provider/docs/public/policies/comm-medical-drug/intravenous-enzyme-replacement-therapy-gaucher-disease.pdf> (accessed September 1, 2020).
  11. Iwasaki, T.; Tokuda, Y.; Kotake, A.; Okada, H.; Takeda, S.; Kawano, T.; Nakayama, Y. *J Control Release* 2015, 210, 115–124.
  12. Iwasaki, T.; Murakami, N.; Kawano, T. *Biochem Biophys Res Commun* 2020, 533, 905–912.
  13. Hayashi, T.; Shinagawa, M.; Kawano, T.; Iwasaki, T. *Biochem Biophys Res Commun* 2018, 501, 648–653.
  14. Hayashi, T.; Okamoto, R.; Kawano, T.; Iwasaki, T. *Molecules* 2019, 24, 2995.

（ いわさき たかし  
鳥取大学 農学部 生体制御化学分野  
itaka@tottori-u.ac.jp  
<http://muses.muses.tottori-u.ac.jp/faculty/itaka/> ）

## 膜結合ペプチドの固体 NMR 構造解析

### 1. はじめに

横浜国立大学 大学院工学研究院の川村 出と申します。この度は、九州大学の巢山先生から本ペプチドニュースレターの“ペプチドと生体膜”をテーマとした企画へ執筆のご依頼をいただき、大変光栄に存じます。巢山先生や編集委員の先生方に心より御礼申し上げます。私は生体系固体 NMR 法を駆使した膜タンパク質・膜結合ペプチド・自己組織化ペプチドの構造解析に取り組んでおります。天然においてこれまでに数多くの抗菌性ペプチドが発見され、その立体構造と機能の関係性は抗菌メカニズムの理解とともに、その様な情報は活性の向上を目的としたペプチドの *de novo* デザインにつながるものであり



川村 出

ます。本記事では筆者が行った D アミノ酸含有抗菌ペプチドやナノポアペプチドの構造解析についてご紹介いたします。

### 2. 抗菌ペプチド

カエルは自らの皮膚の皮膚線から抗菌ペプチドを含む粘液を分泌させ、化学的な生体防御システムとして利用している<sup>1</sup>。ペプチドの産生においては、mRNA から目的ペプチドコード領域を含む前駆体タンパク質が翻訳され、プロセシングと翻訳後修飾ののちに抗菌ペプチドが産生される<sup>1,2</sup>。主な翻訳後修飾としてはペプチドの構造安定性に寄与する C 末端のアミド化やジスルフィド結合の形成であるが、さらに別な翻訳後修飾として、ペプチド中の特定のアミノ酸残基における L 体-D 体の転移反応がある。この反応は L/D-ペプチジルイソメラーゼによって、基質となるペプチド中のある残基の C $\alpha$  炭素のプロトンを引き抜き、逆側から新たなプロトンが付与され、その残基のみが D 体へ立体転移する<sup>3</sup>。キバラスズガエル (*Bombina variegata*) 由来の 20 残基の抗菌ペプチドであるボンビニン H2 と H4 の生成にもこの反応が関与し、ボンビニン H2 の 2 残基目の L 体イソロイシンが D 体のアロイソロイシンに変換されることでボンビニン H4 となる (ボンビニン H2 と H4 はジアステレオマーの関係)。一次構造は次の通りである。

Bombinin H2:

Ile-(L-Ile)-Gly-Pro-Val-Leu-Gly-Leu-Val-Gly-Ser-Ala-Leu-Gly-Gly-Leu-Leu-Lys-Lys-Ile-NH<sub>2</sub>

Bombinin H4:

Ile-(D-*allo*-Ile)-Gly-Pro-Val-Leu-Gly-Leu-Val-Gly-Ser-Ala-Leu-Gly-Gly-Leu-Leu-Lys-Lys-Ile-NH<sub>2</sub>

このペプチドは抗リーシュマニア原虫活性を有し、特に D-*allo*-Ile を有するボンビニン H4 は H2 より数倍強い活性を示すとともに細胞膜への相互作用が報告されている<sup>4,5</sup>。

そこで、我々は反応場である細胞膜中におけるペプチドの D-*allo*-Ile<sub>2</sub> の役割に注目するとともに、マイクロ波アシスト固相ペプチド合成法により化学的にボンビニン H2 と H4 を合成し、細胞膜との相互作用の解析に利用した<sup>6</sup>。この際、キラルカラム (CROWNPAK CR-I) を用いても良好なジアステレオマー分離が可能であることも示した<sup>7</sup>。ペプチドと細胞膜との相互作用を調べるために、リーシュマニア原虫模倣膜リポソームを調製した。その細胞膜の脂質構成比はホスファチジルエタノールアミン (PE) : ホスファチジルコリン (PC) : ホスファチジルイノシトール (PI) : ホスファチジルセリン (PS) : エルゴステロール (ERG) = 4 : 4 : 2 : 1 : 6 としてある<sup>4</sup>。<sup>31</sup>P NMR 測定によって、ペプチド濃度が高い場合 (ペプチド : 脂質のモル比 > 1 : 200 以上) に、0 ppm 付近に膜小断片を示唆する信号が観測され、ペプチド同士が会合して膜分断が進行することが示唆された (図 1)。また、同濃度で黄色ブドウ球菌模倣膜と作用



させたところ、膜分断活性を示さなかったことから、ボンビニンはリーシュマニア膜に対して特異的な相互作用を示すものと考えている。しかしながら、H2 と H4 の  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルパターンには大きな違いはみられず、この測定からは活性の強度に差異は見られなかった。続いて N 端のコンフォメーションを比較する目的で振動円偏光二色性分光 (vibrational circular dichroism : VCD) を適用し、VCD/IR スペクトルを観測した。この解析によって示されたモデルによれば、ボンビニン H4 の N 末端側の Ile1 と D-allo-Ile2 の側鎖の関係は主鎖骨格に対してシス型が安定であり、H2 はトランス型が安定であった。これは両親媒性の抗菌ペプチドが水-細胞膜界面を経て、脂質二分子膜内の疎水的な環境で働くことを想定すると、ペプチド中の特定アミノ酸残基が D 体に置換されることで、その残基の周囲との相互作用によって局所的に疎水的な領域が変化するため、細胞膜とペプチドとの相互作用に変化をもたらすことが期待される。そのため次に分子動力学 (MD) シミュレーションにより、ペプチドとリン脂質との相互作用を調査した。ペプチドの初期状態を水溶液中や膜貫通状態などに設定し、H2 と H4 の各シミュレーションを行った。このうち、水溶液中に存在していたペプチドが細胞膜表面と相互作用する際に、H2 と H4 の吸着挙動に差が見られた。具体的には、H4 の N 末端側が細胞膜表面に相互作用する際に、Ile1 と D-allo-Ile2 の側鎖のコンフォメーションは gauche(-) と gauche(-) をと

り、Ile の sec-ブチル基同士がコンタクトすることで疎水的なアンカーを作り出し、細胞膜中に比較的容易に侵入していくことが見られた (図 2)。一方で、H2 はシミュレーション期間中 (1000 ns)、二つの側鎖の関係がほぼトランス型で存在し、強力な疎水性のアンカーは形成できないことが判明した。これは VCD の結果とも一致しており、ボンビニンの膜結合の分子レベルでのようすを示した初めての報告となった。これらの研究から、2 残基目に D 体のアミノ酸を配置することによって、N 末端の柔軟な構造も助けとなり、前後のアミノ酸側鎖とコンタクトが許され、細胞膜との特異的な相互作用が生じていることが示唆された。このような N 端に疎水性アミノ酸の連続かつ 2 残基目が D 体であるペプチドはいくつか報告されており、抗菌活性との関連は興味深い<sup>8</sup>。ペプチドの膜攪乱能を評価するために、微細加工技術を利用したマイクロデバイス中に人工の細胞膜を固定化し、そこに抗菌ペプチドを添加してペプチドどうしが会合して細胞膜に孔のような欠損を与えた場合に生じる障害電流のパターンを計測する。その結果、H2 は長い時間をかけてナノサイズの孔を形成するのに対して、H4 はそれより早く孔を形成することを観測した。さらに天然では H2 と H4 が共存していることが想定されるため、H2 と H4 を混合させたところ、中間的な機能を示したため、2 種類のペプチドが共同で孔を形成して働いていることを示した<sup>9</sup>。

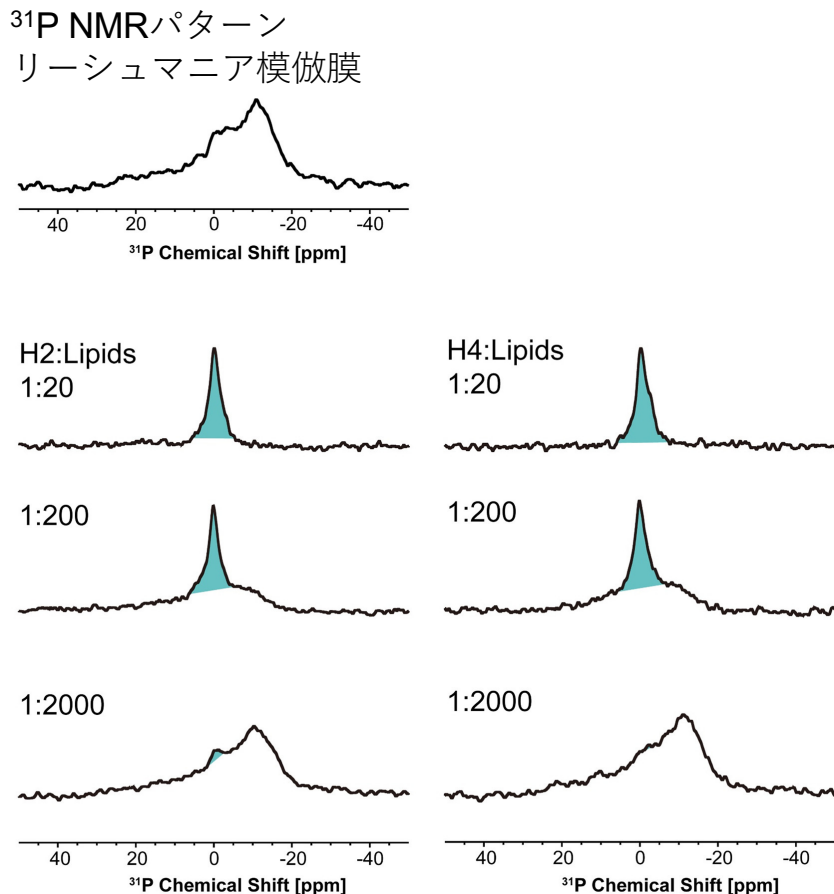


図1 リーシュマニア原虫模倣膜の  $^{31}\text{P}$  NMR パウダーパターン。青色部分は膜分断を示唆する信号

### 3. ナノポアペプチド

ナノポアは膜タンパク質が生体膜中に形成するナノ細孔であり、このポアを通過する一分子を電気的に検出するナノポアセンシング法が急速に発達している。この方法においては検出対象の分子の大きさや形状によって適切なナノポアを用いる必要がある。これまでに人工設計されたタンパク質やペプチドによるナノポアの構築例<sup>10</sup>はあるものの、一分子検出に適したサイズのナノポアを作成することは課題であった。このような背景のもと、農工大 川野竜司教授を中心に、甲南大 白井健二准教授との共同研究により、ナノポアを形成するペプチド SV28 の設計と一分子計測を達成した<sup>11</sup>。膜中で安定な  $\beta$  ストランドを形成する様に 1 次構造を適切に設計した SV28 ペプチドは分子動力学シミュレーションによる解析において、脂質膜中で自発的に会合しベータバレル型のナノポアを形成することを示した。さらに固体 NMR 測定によって、DOPC リポソームにおける SV28 の [ $^{13}\text{C}$ ] Val10, [ $^{13}\text{C}$ ] Gly16, および [ $^{15}\text{N}$ ] Val22 の NMR シグナルを観測し、それらの化学シフト値は  $\beta$  シートの二次構造に対応しました。加えて、原子間距離測定 REDOR 法を使用して、SV28 の Val10 のカルボニル炭素と Val22 のアミド窒素の間の原子間距離を約 4.4 Å と推定し、 $\beta$  ストランド間の水素結合の形成を示した (図 3)。これにより、膜中で  $\beta$  ヘアピン構造が形成されていることを実験的に明らかにした。この様な分子構造を持つペプチドが膜中で会合することによってナノポアを形成することを利用して、分子が通過する際に変化する電流の計測・解析により、SV28 ナノポアが一分子 DNA やポリペプチドを検出する能力を有していることを実証

した。

### 4. おわりに

抗菌ペプチド・ナノポアペプチドと生体膜に関する我々の研究について紹介した。生体膜の内部は誘電率が低い疎水的な環境でありながら、ペプチドとの特異的な結合によって膜内外のイオン・物質輸送を可能にしている。このような事象はペプチドごとに異なる性質を生み、その理解とシステム化には、ペプチドの *de novo* 設計・巧みな合成技術・様々な構造解析手法と物性評価が重要であります。筆者においてもペプチド学会の学際的なネットワークや様々なサポートなどを利用して、ペプチド-生体膜研究についてのさらなる発展に努めていきたい。

最後になりましたが、本研究は愛媛大学 佐藤久子教授、東京農工大学 川野竜司教授、甲南大学 白井健二准教授に多大なご助力をいただきました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

### 参考文献

1. Conlon, J. M. Cell Mol Life Sci 2011, 68, 2303-2315.
2. Iwamuro, S.; Kobayashi, T. Methods Mol Biol Peptidomics (Springer) 2010, 615, 159-176.
3. Jilek, A.; Mollay, C.; Tippelt, C.; Grassi, J.; Mignogna, G.; Müllegger, J.; Sander, V.; Fehrer, C.; Barra, D.; Kreil, G. Proc Natl Acad Sci USA 2005, 102, 4235-4239.
4. Mangoni, M. L.; Papo, N.; Saugar, J. M.;

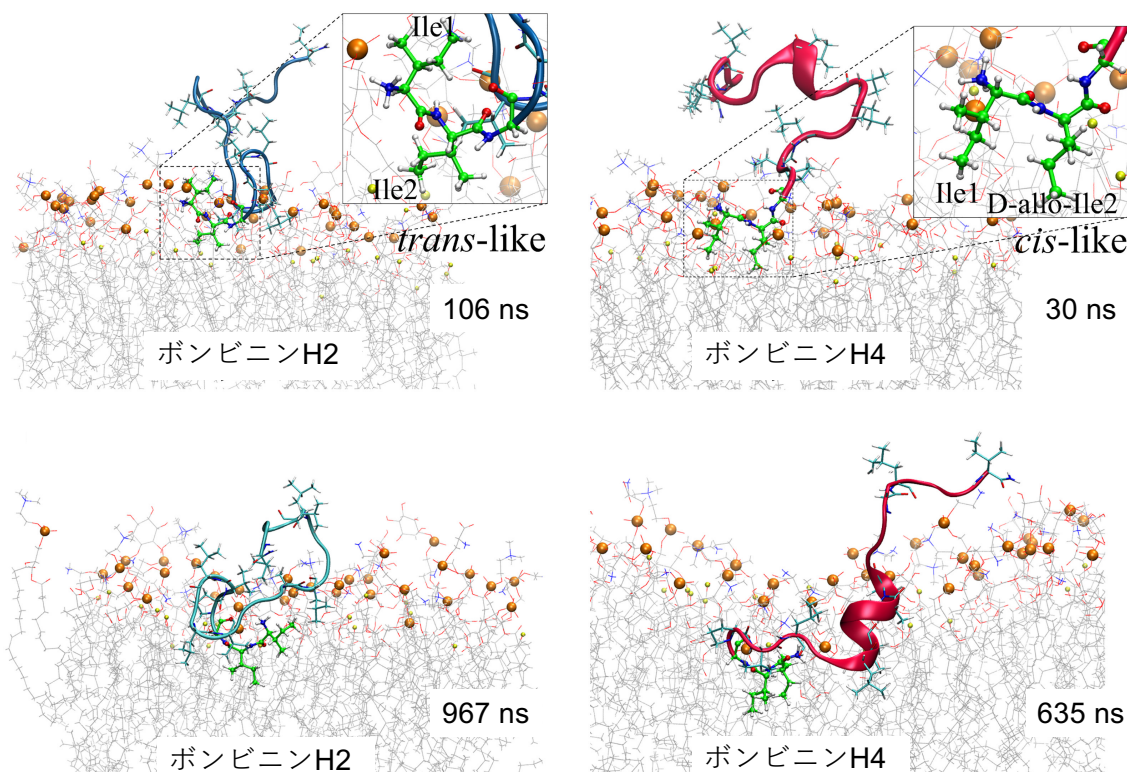


図2 分子動力学シミュレーションによるボンビニンの膜表面相互作用のスナップショット

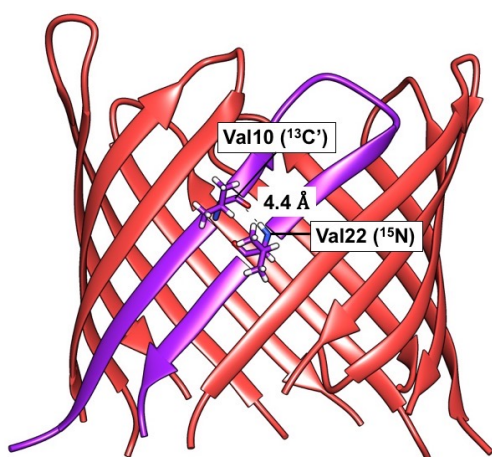


図3 膜中におけるSV28の構造モデルとNMR原子間距離測定の結果

- Barra, D.; Shai, Y.; Simmaco, M.; Rivas, L. *Biochemistry* 2006, 45, 4266–4276.
- Marr, A. K.; McGwire, B. S.; McMaster, W. R. *Future Microbiol* 2012, 7, 1047–1059.
  - Mijiddorj, B.; Kaneda, S.; Sato, H.; Kitahashi, Y.; Javkhlantugs, N.; Naito, A.; Uede, K.; Kawamura, I. *Biochim Biophys Acta -Proteins Proteomics-* 2018, 1768, 789–798.
  - Kawamura, I.; Mijiddorj, B.; Kayano, Y.; Matsuo, Y.; Ozawa, Y.; Ueda K.; Sato, H. *Biochim Biophys Acta -Proteins and Proteomics-* 2020, 1868, 140429.
  - Sekiya, Y.; Shimizu, K.; Kitahashi, Y.; Oyama, A.; Kawamura, I.; Kawano, R. *ACS Appl Bio Mater* 2019, 2, 1542–1548.
  - Mijiddorj, B.; Matsuo, Y.; Sato, H.; Ueda, K.; Kawamura, I. *Applied Sciences* 2019, 9, 2601.
  - Vorobieva, A. A.; White, P.; Liang, B.; Horne, J. E.; Bera, A. K.; Chow, C. M.; Gerben, S.; Marx, S.; Kang, A.; Stiving, A. Q.; Harvey, S. R.; Marx, D. C.; Khan, G. N.; Fleming, K. G.; Wysocki, V. H.; Brockwell, D. J.; Tamm, L. K.; Radford, S. E.; Baker, D. *Science* 2021, 371, eabc8182.
  - Shimizu, K.; Mijiddorj, B.; Usami, M.; Mizoguchi, I.; Yoshida, S.; Akayama, S.; Hamada, Y.; Ohyama, A.; Usui, K.; Kawamura, I.; Kawano, R. *Nature Nanotechnology* 2022, 17, 67–75.

かわむら いずる  
 横浜国立大学 大学院工学研究院  
 機能の創生部門  
 kawamura-izuru-wx@ynu.ac.jp  
<http://www.ikawamura.ynu.ac.jp/>

## 2022 年度日本ペプチド学会 「学会賞」候補者推薦募集

2022 年度日本ペプチド学会「学会賞」候補者を学会賞選考規程および内規に従って募集します。

下記の「推薦理由書の作成にあたって」に従って、会長宛の推薦書類（推薦書、業績リスト、主要論文 3 編、ペプチド討論会の発表リストからなる）を作成し、日本ペプチド学会事務局まで郵送ください。また、同時に、郵送書類の PDF ファイルを電子メールで送付してください。

書式（Microsoft Word ファイル）は以下の URL からダウンロードしてください。

<https://www.peptide-soc.jp/files/award/forms/gakkai.docx>

書類の送付先：

〒 562-0015 箕面市稲 4-1-2

日本ペプチド学会事務局

日本ペプチド学会 2022 年度「学会賞」候補者受付

PDF ファイルの送付先：

日本ペプチド学会事務局

E-mail : [jps@peptide-soc.jp](mailto:jps@peptide-soc.jp)

締切：

2022 年 5 月 31 日（郵送分は消印有効）

申し込み後 1 週間経っても事務局から受け取りのメールが届かない場合には、事務局宛に必ず確認のメールをくださるようお願いいたします。

推薦理由書の作成にあたって：

- 1 ページ目様式を含め A4 用紙に作成のこと。
- 用紙の余白は上下左右とも 2.5 cm とり、タイトルを除いて 11～12 ポイント程度の活字で印字すること。
- 原稿は横書きとし、
  - ・推薦者：所属、会員番号、氏名（捺印）
  - ・被推薦者：研究課題、所属、ペプチド学会会員番号、氏名に続いて本文を 2,000 字程度にまとめること。
- 業績リストならびに主要論文 3 編までのコピー（各 1 部）、ペプチド討論会（含 ペプチド化学討論会）での発表リスト一覧を添付すること。
- なお、PDF ファイルでは捺印無しのものをご送付下さい。

## 2022 年度日本ペプチド学会 「奨励賞」候補者推薦募集

2022 年度日本ペプチド学会「奨励賞」候補者を奨励賞選考規程および内規に従って募集します。

下記の「推薦書の作成要領」に従って、会長宛の推薦書類（推薦書および添付の主要論文 3 編からなる）を作成し、日本ペプチド学会事務局まで郵送くださ



い。また、同時に、郵送書類の PDF ファイルを電子メールで送付してください。

書式 (Microsoft Word ファイル) は以下の URL からダウンロードしてください。

<https://www.peptide-soc.jp/files/award/forms/shorei.docx>

書類の送付先：

〒 562-0015 箕面市稲 4-1-2

日本ペプチド学会事務局

日本ペプチド学会 2022 年度「奨励賞」候補者受付

PDF ファイルの送付先：

日本ペプチド学会事務局

E-mail : [jps@peptide-soc.jp](mailto:jps@peptide-soc.jp)

締切：

2022 年 5 月 31 日 (郵送分は消印有効)

申し込み後 1 週間経っても事務局から受け取りのメールが届かない場合には、事務局宛に必ず確認のメールをくださるようお願いいたします。

推薦書の作成要領：

1. 所定の様式に従って、A4 判用紙に作成のこと。
2. 1 頁目に、推薦者および被推薦者とも、日本ペプチド学会会員番号を明記すること。
3. 1 頁目に、被推薦者の生年月日および年齢を明記し、奨励賞選考規程および内規に準じていることを明示すること。
4. 推薦者は 1 頁目に氏名を記入し、捺印した書類を郵送、送付すること。ただし、PDF ファイルでは捺印無しのもを送付しても良い。
5. 「推薦理由」は 2,000 字程度で記載すること。
6. 対象の研究業績リストは、新しい年代のものから順に番号を付して記し、主要論文 3 編には番号の前に◎印を付すこと。なお、主要論文 3 編のコピー (各 1 部) を添付すること。電子メールで送付の書類では、各論文の PDF ファイルを同時に添付して送付すること。
7. ペプチド討論会での発表リストは、新しい年代のものから順に番号を付して記し、本人が発表のものには番号の前に○印を付すこと。

### Akabori Memorial Award 2022 授賞候補者推薦募集

We are now calling for Nominations for the Akabori Memorial Award 2022. Please send a set of the relevant documents by June 30, 2022. The recipient of the Akabori Memorial Award 2022 is required to give his/her Award Lecture at the 59<sup>th</sup> Japanese Peptide Symposium, which will be held in Sendai, Japan, from October 26<sup>th</sup> to 28<sup>th</sup> in 2022.

### How to submit a nomination

Please prepare following documents in PDF format and send them by E-mail.

1. A brief statement of nomination (no more than 1,000 words).
2. The nominee's Curriculum Vitae and List of Publications.
3. One additional recommendation letter in support for the nominee.
4. No more than 5 selected reprints (PDF files).

\* Each nominator may propose only one candidate for the Award.

### The documents should be sent to:

The Japanese Peptide Society

4-1-2 Ina, Minoh-shi, Osaka 562-0015

E-mail: [jps@peptide-soc.jp](mailto:jps@peptide-soc.jp)

### Deadline

June 30, 2022.

## 日本ペプチド学会からのお知らせ

### 《2022 年度行事予定》

2022 年 4 月

**Peptide Newsletter Japan No. 124 発行**

2022 年 4 月 16 日 (土)

**第 110 回新旧合同理事会 (オンライン)**

2022 年 7 月

**Peptide Newsletter Japan No. 125 発行**

2022 年 8 月 8 日 (月) ~ 10 日 (水)

**第 54 回若手ペプチド夏の勉強会**

場 所：公益財団法人 大学セミナーハウス

(またはオンライン開催)

世話人：谷口 敦彦, 田口 晃弘,

今野 翔 (東京薬科大)

2022 年 10 月

**Peptide Newsletter Japan No. 126 発行**

2022 年 10 月 25 日 (火)

**第 111 回理事会・第 40 回評議員会合同会議**

2022 年 10 月 26 日 (水) ~ 28 日 (金)

**第 59 回ペプチド討論会**

場 所：トークネットホール仙台 (仙台市民会館)

世話人：土井 隆行 (東北大), 今野 博行 (山形大)



2022 年 10 月 27 日 (木)  
2022 年度日本ペプチド学会通常総会

2022 年 10 月 29 日 (土)  
日本ペプチド学会市民フォーラム 2022

2023 年 1 月  
Peptide Newsletter Japan No. 127 発行

2023 年 1 月 (予定)  
第 112 回理事会

#### 《海外関連学会》

2022 年 5 月 8 日 ~ 13 日  
14<sup>th</sup> Australian Peptide Conference  
Gold Coast Queensland, Australia  
<https://www.apc2022.org/>

2022 年 6 月 11 日 ~ 6 月 16 日  
27<sup>th</sup> American Peptide Symposium  
Whistler, BC, Canada  
<https://aps2022.org/>

2022 年 6 月 27 日 ~ 28 日  
25<sup>th</sup> Korean Peptide Protein Society (KPPS) Annual Symposium  
Busan, South Korea

2022 年 8 月 28 日 ~ 9 月 2 日  
36<sup>th</sup> European Peptide Symposium/12<sup>th</sup> International Peptide Symposium  
Sitges, Spain  
<https://www.eps2022.com/>

#### 編集後記

ペプチドニュースレター No. 124 号をお届けいたします。本号は「ペプチドと生体膜」をテーマとして、薬物送達システムやペプチド医薬、抗菌活性といった医療とも関わりの深い研究を行っている先生方にご執筆をお願いしました。生体膜とペプチドの相互作用に関する化学は非常に意義深く、精緻な研究の展開に感銘を覚えました。年度末のご多忙中、ご執筆を頂きました先生方に心より感謝申し上げます。また、本号でも読者アンケートを実施いたしますので、ご協力のほどよろしくお願いいたします。

年度が変わろうとしています、新型コロナウイルス関連は依然として見通しの立たない状況が続いております。学会等もオンライン開催が浸透しつつある昨今ですが、オンサイトでの開催が少しでも多く叶うことを願ってやみません。本年度が日本ペプチド学会に関わる皆様方にとって、実りある一年になりますよう祈念申し上げます。

124 号アンケートフォーム URL :  
<https://forms.gle/5BEbbUZfYFV2S1w76>

(編集委員：巢山 慶太郎)

#### PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会  
〒562-0015 箕面市稲 4-1-2  
一般財団法人蛋白質研究奨励会内  
発行日：2022 年 4 月 22 日

#### 編集委員

玉村 啓和 (担当理事)  
(東京医科歯科大学 生体材料工学研究所)  
TEL 03-5280-8036, FAX 03-5280-8039  
E-mail : tamamura.mr@tmd.ac.jp  
巢山 慶太郎 (九州大学 基幹教育院)  
TEL 092-802-5849  
E-mail : suyama@artsci.kyushu-u.ac.jp  
矢野 義明 (武庫川女子大学 薬学部)  
TEL 0798-45-9961  
E-mail : yyano@mukogawa-u.ac.jp  
吉矢 拓 (株式会社ペプチド研究所)  
TEL 072-643-4411, FAX 072-643-4422  
E-mail : t.yoshiya@peptide.co.jp  
児島 千恵 (大阪公立大学 大学院工学研究科)  
TEL 072-254-8190  
E-mail : kojima@chem.osakafu-u.ac.jp

(本号編集担当：巢山 慶太郎)