



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.106

2017年11月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<http://peptide-soc.jp>

第54回ペプチド討論会の開催にあたって

堺・百舌鳥野。ここには古代に造営された古墳が、1600年の時を経て今も残っています。古墳文化が花開いた時代、大阪湾に程近いこの地には、かつてない巨大な前方後円墳が造営されました。そして、それを取りまく中小の古墳とともに、様々な形状の古墳を擁する古墳群を形成しています。この歴史遺産の地で、第54回ペプチド討論会が開催されます(2017年11月20日[月]~22日[水])。昨年度(会場:京都テルサ, 世話人:京都薬科大学・赤路健一先生)に引き続き関西での開催になりますが、大阪南部での開催は初めてのことであり、大阪府立大学の藤井がお世話させていただきます。会場となる大阪府立大学は、地下鉄御堂筋線「なかもず」駅が最寄り駅で近畿全域からのアクセスも比較的良く、仁徳天皇陵をはじめとする100基を超える古墳群に囲まれた自然豊かなキャンパスです。多くの会員の皆様のご参加を得て活発な討論会になることを願っております。



藤井 郁雄

今年度の発表は、口頭発表48題(内訳:特別講演1題, 受賞講演3題, 招待講演2題, 一般口頭発表18題, 若手口頭発表24題), ポスター発表162題となり、口頭発表・ポスター発表ともに例年並みのお申し込みを頂くことができたことを大変喜んでおります。演題申し込みを頂きました皆様に厚く御礼申し上げます。特筆すべきは、今回の討論会では海外からの参加者がかなり増えていることです。現時点で、韓国からは総勢29名の参加者があり、また、フィリピンからも5名の参加申し込みがされています。参加国もアジアのみならずアメリカやヨーロッパに広がりつつあるようにも思います。大阪という地の利もありますが、本討論会が英語で運営されていることが徐々に世界的に認知されてきたことも一つの要因であろうと思います。これまでの討論会をお世話いただきました多くの先生に感謝申し上げるとともに、これからも日本ペプチド学会の討論会に広く海外から参加いただけることを大いに期待しております。

本年度の討論会では、特別講演として、日本化学会会長である山本尚先生(中部大学・分子性触媒研究センター長)の講演を企画しました(11月21日午後5:30~6:30)。ご存知のように山本先生は、ルイス酸触媒による有機合成化学を精力的に進められてこられました。最近ではペプチド合成への展開に取り組ま

れています。本討論会では、「触媒的ペプチド合成」という演題でご講演頂きますので、どうぞご期待下さい。また、今回の討論会におきましても、KPPS(韓国ペプチド・タンパク質学会)から Hak Joong Kim 先生(Korea University)と Mi Sun Jin 先生(Gwangju Institute of Science and Technology)をお招きして招待講演を企画しました(11月21日午後4:25~5:15)。現KPPS会長の Jeahoon Yu 先生(Seoul National University)、次期会長の Yangmee Kim 先生(Konkuk University)を含め、18名のKPPS会員の方々にご参加頂けることになっております。今年6月に行われた韓国ペプチド討論会(済州島)にも日本から多くの研究者の方々が参加されたこともあり、今後、日韓の学術交流が更に発展することを期待しております。

例年のように討論会3日目には、日本ペプチド学会各賞の受賞記念講演を企画しております(11月22日午後2:30~4:15)。平成29年度日本ペプチド学会「学会賞」は、赤路健一先生(京都薬科大学)に授与されます。これまでの素晴らしいご研究を讃えとともに日本ペプチド学会への多大なる貢献に対して心より感謝致します。また、平成29年度日本ペプチド学会「奨励賞」は、谷口敦彦先生(東京薬科大学)ならびに鳴海哲夫先生(静岡大学)のお二人の先生に授与されます。両先生の益々のご研究の発展を祈念するとともに、日本ペプチド学会への相変らぬご支援をお願いする次第です。受賞記念講演会への積極的なご出席をよろしくお願い致します。なお、授賞式はペプチド学会通常総会(11月21日午後1:00)にて執り行われます。

ペプチド討論会の前日11月19日[日]には、大阪府立大学サテライト「I-site なんば」(大阪市浪速区敷津東2丁目1-41, 最寄り駅:地下鉄御堂筋線「大国町」)にて市民フォーラムを開催致します。本フォーラムは、アミノ酸・ペプチド・タンパク質に関する科学を、より多くの方々にご理解頂くために、ペプチド討論会年会の開催に合わせて、毎年企画されています。今回の市民フォーラムは、「生命を支えるアミノ酸・ペプチド~病気と細胞受容体」を主題に開催致します。本年も産学の第一線で活躍の4名の先生に、「受容体」とは一体何か、病気との結びつきや治療についてわかりやすく解説して頂く予定です。この市民フォーラムにも参加いただくお時間を作っていただきますようお願い申し上げます。

最後になりましたが、本討論会を大阪府立大学で開催するにあたり多くの企業・財団より、協賛、御寄附、広告掲載、企業展示やランチョンセミナー開催のお申し出を頂き、討論会運営に多大のご支援・ご協力

を賜りました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、討論会の準備と運営、プログラム編成等にご協力頂いております組織委員の先生方（児島千恵、中瀬生彦、円谷健、藤原大佑、道上雅孝）ならびに日本ペプチド学会事務局の皆様（宮嶋令子、森川和憲）に心よりお礼申し上げます。今年の討論会が、会員の皆様の活発な情報交換や共同研究の推進、また国内外の交流の機会となるように努力させていただき所存です。皆様のご協力を改めてお願い申し上げます。2017年度第54回ペプチド討論会のご案内とさせていただきます。

ふじい いくお
大阪府立大学大学院理学研究科
生物科学専攻生命化学研究室
fujii@b.s.osakafu-u.ac.jp

ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）用 ¹⁰B-ホウ素化合物の研究開発

1. はじめに

近年、ホウ素中性子捕捉療法（Boron Neutron Capture Therapy: BNCT）は、次世代の非侵襲ながん治療として注目されています¹。この背景には、BNCTの基盤要素技術である中性子発生源が、原子炉から病院併設型の小型加速器に替わり、加速器BNCTによる悪性脳腫瘍や頭頸部がんを対象とした治療が進行している現状が影響していると思われます。約80年前にG. L. Locher（米国）が提唱したBNCTの概念が、ようやく非侵襲ながん医療として実現される時代を迎えようとしています。BNCTは、医学をはじめ、物理工学、化学薬学、生物学などの多岐に渡る学術領域を基盤とする集学的がん治療法であり、さらなる進展・普及には、要素技術の一層の革新が必要とされています。特に、¹⁰B-ホウ素薬剤は中性子発生装置と共に、BNCTの成否を左右する不可欠要素であることから、より効果的な新規ホウ素化合物の開発が強く



服部 能英



切畑 光統



大阪府立大学 BNCT 研究センター

求められています。我々は、これらの状況に対応すべく、2014年に研究活動の中核拠点となるBNCT研究センターを“なかもずキャンパス”内に建築整備しました。また、センター内に新たな学術分野を先導する“ホウ素薬剤化学”講座を設置して、ホウ素化合物の基礎から応用に至る一連の研究を行っています。ここでは、これらを中心に紹介します。

2. BNCTの原理と特長

BNCTは図1に示すように、がん細胞の中で¹⁰B-ホウ素元素と熱中性子の間のホウ素中性子捕捉反応（BNCR）を誘発させ、発生するα粒子や⁷Li反跳核などによってがん細胞のみを破壊に導くことを基本原理としています。ここで、発生したα粒子や⁷Li反跳核の飛程は、それぞれ9 μm、4 μmと細胞径の中に納まり、周囲の正常細胞への影響は少ないと考えられます。従って、BNCRを基盤にしているBNCTは、がん細胞選択的治療法であると言えます。がん治療としてのBNCTは、①正常細胞に対するダメージは通常の放射線より少ない、②放射線治療後に再発したがんも対象となる、③浸潤性のがんや多発がん、放射線抵抗性がんにも効果が期待できる、④がん細胞へのホウ素薬剤の集積程度をPET（陽電子断層撮影）などにより事前確認することで、適応の可否の判断と効果の予測が可能などの特長を有し、がん患者がもう一つの選択肢としてさらなる希望を持ち得る治療と云えます。

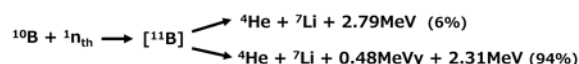
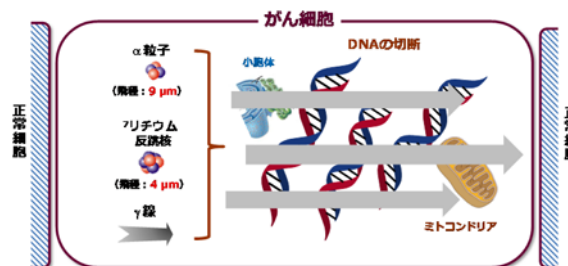


図1 ホウ素中性子捕捉反応（BNCR）とがん細胞選択的BNCTの概念

3. BNCTに用いられる¹⁰B-ホウ素化合物

がん細胞内でホウ素中性子捕捉反応（BNCR）を誘発させるためには、がん細胞に30 ppm以上の¹⁰B-ホウ素原子を選択集積させることが重要で、“¹⁰B-ホウ素をどのようにして腫瘍細胞のみに安全に送達・高集積させるか”が、BNCTの成否を分ける最重要な課題となっています。また、ホウ素薬剤は点滴等で血中に直接投与されることから、ホウ素化合物には、①腫瘍に選択的に集積する（腫瘍／正常細胞比（T／N比）が少なくとも3以上）②腫瘍内のホウ素濃度が30 ppm以上③低毒性と高い安全性④1分子中のホウ素占有率が高く中性領域下で高い水溶性を持つ⑤一定時間、腫瘍組織に滞留し治療後は速やかに排出される⑥PETなどの非侵襲的測定法により体内動態が画像化、把握し得るなどの性質が求められます。



図2 臨床に用いられている ^{10}B -ホウ素化合物

これまでに多くのホウ素化合物がBNCT用ホウ素薬剤として報告されてきましたが、臨床研究に用いられているホウ素化合物は、L-フェニルアラニンの骨格を持つ ^{10}B -L-BPAとアニオン性籠型ホウ素クラスター構造を持つBSHおよびGB-10の僅か3例に留まっています(図2)²。これらの中では、 ^{10}B -L-BPAの有効性が最も高く、これを主成分とする世界初のBNCT用ホウ素製剤(SPM-011)が我が国で開発されましたが、今後の適応拡大にはがん腫に対応したより有効な新規ホウ素化合物の開発が強く求められています。

現在のホウ素薬剤の開発研究は、2種類の方法に大別することができます。一つは、DDS (Drug Delivery System) の技術を利用して臨床研究に用いられているL-BPAやBSHを効率的に腫瘍部へ送達するという方法です。もう一つの方法は、がん親和性(指向性)有機分子に直接、あるいはリンカーを介して ^{10}B -ホウ素(原子団)を導入する方法です(図3)。がん親和性分子の標的となるのは、がん細胞表層や組織に特異的に高発現する葉酸やEGFなどの受容体や新生血管組織などです。また、がん細胞の旺盛な増殖を保障するための代謝やエネルギー源となる栄養分子や、低酸素状態などががん細胞の特異な微小環境なども、分子設計の標的とされています。これまでに、核酸、糖、アミノ酸、ポルフィリンなどの生体低分子化合物をはじめ、抗体やアルブミンなどの生体高分子ががん親和性分子として用いられています。一方、 ^{10}B -ホウ素源としては、ボロン酸やホウ素占有率の高い籠型のホウ素クラスター類(Dodecaborate $[\text{B}_{12}\text{H}_{12}]^{2-}$ や α -Carborane $[\text{C}_2\text{B}_{10}\text{H}_{12}]$ およびその誘導体)が常用されています。BNCT用ホウ素化合物の合成においては、がん親和性分子の親和活性を失わせないための化学修飾が重要で、部位特異的で温和な条件下での構築反応の開発が重要です。

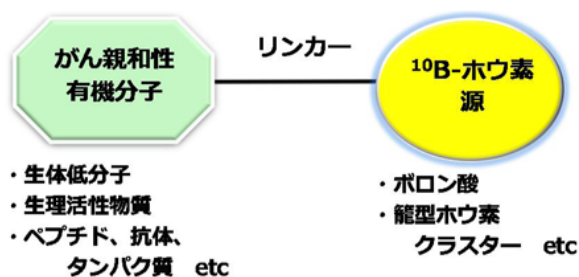


図3 BNCT用 ^{10}B -ホウ素化合物の構造

筆者らは、シンプルな構造を持つ低分子 ^{10}B -ホウ素化合物の開発を目標にして、がん親和性分子にはアミノ酸、ペプチド、コウジ酸などの生理活性物質を、また、 ^{10}B -ホウ素源にはホウ素元素占有率が高く低毒性のドデカボレートを選び、種々のドデカボレート含有ホ

ウ素化合物の設計・合成とBNCT用薬剤としての有用性の評価を行っています。これらの中から、ドデカボレート含有アミノ酸を中心に紹介します。

4. 側鎖にドデカボレートを導入した α -アミノ酸の合成

がん細胞では、異常増殖を保障するためにアミノ酸や糖類などに対する栄養要求性が亢進していることが知られています。筆者らは、 α -アミノ酸をがん親和性分子に見立て、側鎖部に硫黄や窒素元素などのヘテロ原子を介して水溶性のドデカボレートを導入したホウ素クラスターアミノ酸類を設計・合成してきました³。また、これらのがん細胞内のミクロ分布、集積性、中性子線照射による殺細胞効果などの評価を継続して行っています。

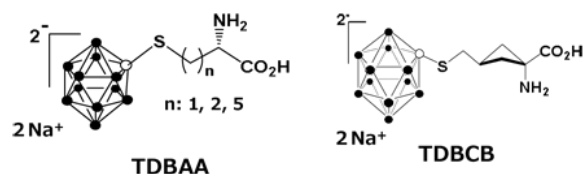


図4 側鎖にドデカボレートを導入したアミノ酸

5. C末端にドデカボレートを導入したL-BPA誘導体の合成

がん細胞では、 Na^+ 非依存的に中性アミノ酸を輸送するL-type amino acid transporter (LAT) が高発現していることが知られています。また、LATのサブタイプであるLAT1は、脳腫瘍や肺癌、前立腺がんなどの多くのがん細胞に高発現するが正常組織には殆ど発現せず、これとは反対に、別のサブタイプであるLAT2は正常細胞に発現するががん細胞には発現しないことが報告されています。BNCTに実用されているL-BPA(図2)は、これらLAT1、LAT2を介してがん細胞および正常細胞に取り込まれることが判明し、長年に渡って未解明であったL-BPAの腫瘍/正常(T/N)細胞集積比の機構が明らかにされました⁴。また、LAT1の基質認識はL-BPAのフェニルボロン酸部およびアミノ基に厳格で、カルボン酸部の構造には寛容であることが構造活性相関の研究から明らかになっています。これらのことから、筆者らはL-BPAのC末端にドデカボレートを導入した誘導体を合成、これらの生物評価を行っています。

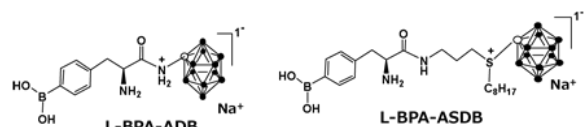


図5 C末端にドデカボレートを導入したL-BPA誘導体

6. 動態解析や濃度分析のツール分子となる抗体および蛍光分子プローブの開発

近年、L-BPA、Bortezomib、Tavorolなどのボロン酸やボリン酸残基を含む薬剤が開発・上市されると共に、 α -カルボランやドデカボレートなどの籠型ホウ素クラスターが、薬剤設計の原子団素子として利用さ

れるなど、ホウ素化合物の薬剤への応用研究が進んでいます。筆者らは、BNCT用ホウ素薬剤の研究開発と並行して、これらホウ素薬剤の濃度や動態を簡便に分析・評価するためのツール分子の開発も行っています。ホウ素化合物は動物体内には殆ど存在せず、ボロン酸残基やホウ素クラスターを特異認識することができれば、生体試料中のホウ素薬剤分布や濃度を解析することが可能です。このような考えから、低分子であるL-BPAやBSHを特異的に認識する抗体を作製、これを用いた免疫染色によるホウ素薬剤の細胞内分布の可視化や、Cell-ELISA法による生体試料中のホウ素薬剤濃度の簡便な定量分析法を開発してきました。最近では、ボロン酸の蛍光分子プローブDAHMIを開発、ライブセルにおけるL-BPAの動態解析を実現しています⁵ (図6)。

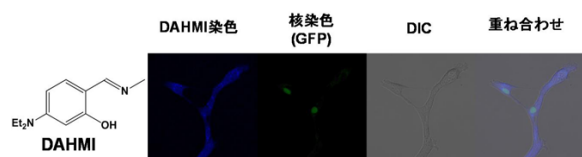


図6 DAHMIによるグリオーマ細胞中のL-BPAのライブセルイメージング

おわりに

BNCTを取り巻く生命科学の進展は急速で、DDS技術の革新や新規な標的受容体の発見などによって、多様なホウ素化合物の開発とBNCTの適応拡大が進展すると期待されます。また、PET検査用ホウ素化プローブのように、BNCT分野で生み出された学術や技術成果の関連領域への波及効果も期待されるところです。

文献

1. Barth, R. F.; Vicente, M. G.; Harling, O. K.; Kiger, W. S. III; Riley, K. J.; Binns, P. J.; Wagner, F. M.; Suzuki, M.; Aihara, T.; Kato, I.; Kawabata, S. *Radiat Oncol* 2012, 7, 146.
2. Soloway, A. H.; Tjarks, W.; Barnum, B. A.; Rong, F.; Barth, R. F.; Codogni, i. M.; Wilson, J. G. *Chem Rev* 1998, 98, 1515-1562.
3. Hattori, Y.; Kusaka, S.; Mukumoto, M.; Ishimura, M.; Ohta, Y.; Takenaka, H.; Uehara, K.; Asano, T.; Suzuki, M.; Masunaga, S.; Ono, K.; Kirihata, M. *Amino Acids* 2014, 46, 2715-2720.
4. Wittig, A.; Sauerwein, W. A.; Coderre, J. A. *Radiat Res* 2000, 153, 173-180.
5. Hattori, Y.; Ishimura, M.; Ohta, Y.; Takenaka, H.; Kirihata, M. *ACS Sens* 2016, 1, 1394-1397.

はっとり よしひで
大阪府立大学研究推進機構
BNCT研究センター
y0shi_hattori@riast.osakafu-u.ac.jp

きりはた みつのり
大阪府立大学研究推進機構
BNCT研究センター
kirihata@biochem.osakafu-u.ac.jp

膜内ヘリックス間相互作用のリアルタイム計測： GXXXG配列・コレステロールの影響

1. はじめに

この度ペプチドニュースレターへの寄稿の機会を頂きました大阪府立大学の中瀬生彦先生に感謝いたします。今回、モデル膜貫通ペプチドを用いた膜タンパク質の構造形成原理解明のテーマについて最近の進展を紹介いたします。生体膜の疎水部コアには多種多様なタンパク質が膜を貫通した状態で組み込まれており、膜の内外を介して生じる様々な生物機能を担っていますが、大部分はヘリカルなタンパク質であり、膜貫通ヘリックス構造を基本骨格の二次構造としているため、分子内・分子間での膜貫通ヘリックス間の相互作用は、膜疎水部でのタンパク質の安定性を決定する主要な相互作用であると言えます。しかしながら、既存の測定手法には様々な制限があり、膜内でどのような力がどの程度膜貫通ヘリックス間相互作用を安定化させるのか不明な点が多く残っています。

著者らは、アミノ酸配列や脂質組成、またそれらの組み合わせの膜内タンパク質安定性への寄与を系統的に解明できる手法として、これまで脂質二分子膜に組み込んだモデル膜貫通ヘリックスの自己会合を定量するアプローチを取ってきました。本稿では一分子蛍光イメージング法の一つとして独自に開発した単一ペア蛍光測定法を用いて、膜貫通ヘリックス会合・解離のダイナミクスのリアルタイム測定を行った研究を概説します。

2. 膜内ヘリックス間相互作用におけるGXXXG配列の役割

Gly, Ala, Serなどの小さい側鎖を持つアミノ酸、特にGlyは、GXXXGやGXXXGXXXG(Xは任意のアミノ酸)のように、2または3残基の間隔で複数存在することでヘリックスの片面に会合インターフェースを形成することが良く知られている。小さい側鎖を介したヘリックス会合は膜内で特徴的に見られる事¹、また小さい側鎖は十分な疎水性を持たず、単独では膜疎水部に分配しにくい事²から、膜脂質疎水部への露出を避けるように小さい側鎖のクラスター同士が集まるのがヘリックス会合の駆動力となっている可能性がある。また、水素結合やvan der Waals相互作用などの駆動力で特定の会合体構造を形成する場合もある³。以前より、GXXXG配列は必ずしもヘリックス会合を駆動するとは限らず、その強さは周囲のアミノ酸配列や脂質組成に依存する事が指摘されてきたが³、その調節原理は不明な点が多い。また、膜タンパク質はダイナミックに構造変化・相互作用する事が多いため、熱力学的な安定性だけでなく速度論的な安定性も機能理解の為に重要であるが、GXXXGのような会合駆動配列がもたらす動的な安定性に関しては殆ど情報が無い。以上のように、比較的研究例の多い、小さい側鎖によるヘリックス会合の基本的な原理に関しても、研究の余地は多くある。



矢野 義明

3. 単一ペア蛍光測定法による GXXXG 配列, コレステロールの影響測定

著者らは近年、単一ペア蛍光励起エネルギー移動 (sp-FRET) 法によって、脂質ベシクル中で2本の膜貫通ヘリックスの会合-解離過程をリアルタイム計測する手法を開発してきた⁴。またアミノ酸配列や脂質組成の影響を調べるためのモデル膜貫通配列として、(AALALAA)₃をデザインして用いてきた。このペプチドは、様々な組成の膜中で安定な膜貫通ヘリックス構造を形成し、ヘリックスマクロ双極子間の引力によって、逆平行型の会合体を優位に形成する性質を持つ。本研究ではこの配列をホスト配列として、中心に導入したゲスト配列 GXXXG の影響を調べた (AALALAA-AGLALGA-AALALAA)⁵。sp-FRET 法の利点の一つとして、会合のトポロジー (平行 or 逆平行) をコントロール可能な点が挙げられる。図1 (a) に示すように、例えば逆平行型二量体形成を調べたい場合は、FRET ドナーである蛍光色素 Cy3B と、アクセプター色素 Cy5をそれぞれ標識したペプチドの N 末端と C 末端を、ジスルフィド結合で架橋したヘテロ二量体を合成し、低濃度で脂質ベシクルに組み込んだ後に還元することで逆平行型にコントロールが可能である。この手法で典型的な双イオン性リン脂質であるパルミトイルオレオイルフォスファチジルコリン (POPC) 中のヘリックス会合を調べた所、ホスト配列は sm-FRET の時間分解能 (17 msec) で観測可能

な会合-解離を示さなかったが、GXXXG 導入ヘリックスでは平行型・逆平行型いずれにおいてもサブ秒オーダーの寿命で会合-解離のダイナミクスが見られた (図1 (b) に逆平行型会合の sm-FRET データ例を示す)。一方で真核細胞の形質膜に豊富に含まれるコレステロールを30 mol%添加した膜中においては、ホスト配列は逆平行型トポロジーで会合-解離ゆらぎを示すが、GXXXG 導入ヘリックスでは平行型・逆平行型いずれの会合も強く抑制され会合が観測できなかった (図1 (b))。このように、GXXXG 配列の導入によって、膜貫通ヘリックス会合の脂質依存性が逆転する事が明らかになった。

4. おわりに

今回調査した膜内での GXXXG 配列駆動のヘリックス会合に関して、明確な脂質依存性が見られる例を見出し、アミノ酸配列-脂質組成による膜貫通ヘリックス会合制御原理の一端を明らかにすることができた。コレステロール添加によって GXXXG ヘリックスの会合が減弱した理由として、以下のようなメカニズムが考えられる。脂質頭部の小さいコレステロール存在下では、膜疎水部中心付近の側方圧が上昇するため、ホストヘリックスの場合は砂時計型の会合体を形成することで側方圧の一部を解消しうることがわかっている⁶。しかし今回明らかになった GXXXG 会合体は交差角が小さく、側方圧を解消できないためコレス

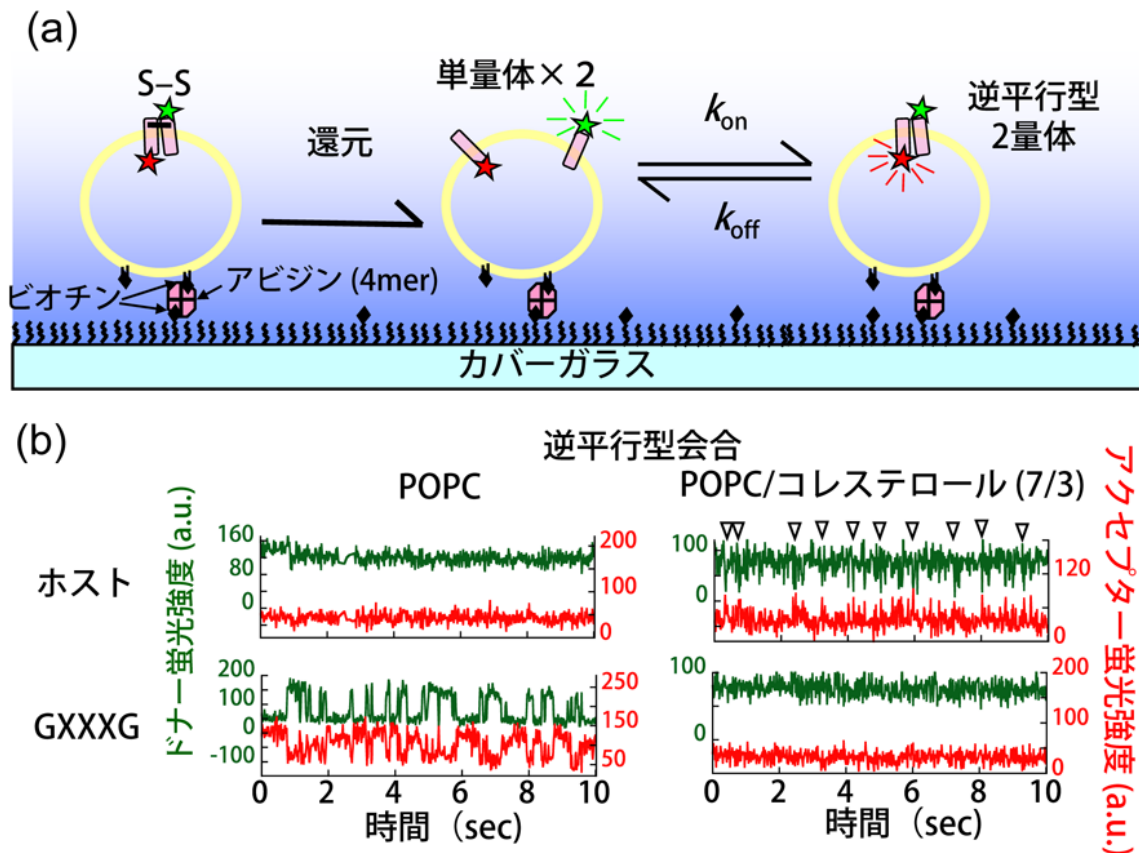


図1 単一ペア蛍光励起エネルギー移動 (sp-FRET) 法による逆平行型会合体の検出 (a) 会合トポロジーの制御。ドナーおよびアクセプター色素が N 末端に標識されたヘリックスが逆平行型に配置するようにジスルフィド形成したヘテロ二量体ヘリックスを合成し、脂質ベシクルに組み込み、ビオチン-アビジン結合によってガラス表面に付加した後、2-メルカプトエタノール還元により逆平行トポロジーを持つ二本のヘリックスを組み込んだ状態を得る。(b) 逆平衡型会合の sp-FRET 測定例。ドナー蛍光 (上) の減少と同期してアクセプター蛍光 (下) が増加した時、過渡的な会合が起こっている (矢尻)。

テロール存在下では不安定になったと考えられる。また、Glyを導入する事によりヘリックス主鎖が曲がり易くなり、ホストヘリックスが形成していたような砂時計型の会合体も不安定になるため、どちらの会合体構造も不安定化して会合が見られなかったと考えられる。今回の結果とは対照的に、GXXXG配列を持つGlycophorin Aではコレステロール添加により会合が促進する例も報告されていることから⁶、未解明の会合制御ルールが他にも存在していると思われる。

今回確立したsm-FRET実験系を用いて、上述のようなシンプルなアミノ酸配列の膜貫通ヘリックスであっても、配列や脂質組成の違いが会合力に大きく影響する例が他にも複数見つかってきている。今後膜内でのヘリックス会合駆動力を系統的に調査し、膜タンパク質の機能理解や機能制御に役立つ基本情報を明らかにしたい。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、京都大学薬学研究科薬品機能解析学分野の松崎勝巳教授、近藤小太郎修士、渡邊由宇太修士、木谷亮太修士をはじめメンバーの皆様、ペプチド合成に関して薬品有機製造学分野の大石真也先生、藤井信孝先生、また本稿では紹介しませんでした、2次元IRによるヘリックス会合インターフェースの測定ではUniversity of Wisconsin Madison, Department of ChemistryのMartin Zanni教授、Tianqi Zhang博士、Jia-Jung Ho氏に多大なご協力を頂きました。ここに深く感謝いたします。

文献

1. Walters, R.F.; DeGrado, W.F. Proc Natl Acad Sci USA 2006, 103, 13658-13663.
2. White, S.H.; Wimley, W.C. Ann Rev Biophys Biomol Struct 1999 28, 319-365.
3. Teese, M.G.; Langosch, D. Biochemistry 2015 54, 5125-5135.
4. Yano, Y.; Kondo, K.; Kitani, R.; Yamamoto, A.; Matsuzaki, K. Biochemistry 2015 54, 1371-1379.
5. Yano, Y.; Kondo, K.; Watanabe, Y.; Zhang, T.O.; Ho, J.J.; Oishi, S.; Fujii, N.; Zanni, M.T.; Matsuzaki, K. Angew Chem Int Ed 2017 56, 1756-1759.
6. Anbazhagan, V.; Schneider, D. Biochim Biophys Acta Biomembr 2010 1798, 1899-1907.

やの よしあき
京都大学大学院薬学研究科薬品機能解析学分野
yyano@pharm.kyoto-u.ac.jp

ペプチド科学を基盤技術に用いた 膜タンパク質と生体膜の研究



河野 健一

京都大学化学研究所の河野健一と申します。この度、大阪府立大学の中瀬生彦先生からお誘い頂きまして、寄稿させて頂くことになりました。私は、2014年3月に京都大学大学院薬学研究科、松崎勝巳教授指導の下で博士(薬学)の学位を取得しました。卒業後、2014年4月から同大学ウイルス研究所附属新興ウイルス研究センターで特定助教として1年3ヶ月、2015年7月からは出身研究室(松崎勝巳教授)と同大学物質-細胞統合システム拠点(楠見明弘教授)でそれぞれ3ヶ月間と6ヶ月間、博士研究員として研鑽を積みました。そして、2016年4月から、現職、同大学化学研究所(二木史朗教授)に助教として着任し、現在に至っております。以下に、学生時代から現在まで取り組んでいる研究内容についてご紹介させていただきます。

1. はじめに

細胞膜上に発現する膜タンパク質は、生体でのシグナル伝達やイオン透過などの機能を担っており、生命を維持する上で欠かせない役割を果たしています。その挙動は複雑な脂質組成をもつ膜環境中でダイナミックに変化するため、生体膜中でリアルタイムに測定する手法が望まれています。近年の研究により、膜タンパク質の機能は構造変化だけでなく、会合状態によっても調整され得ると報告されているため、会合状態を明らかにすることは創薬上重要な課題となっています。

現在、タンパク質間の相互作用を研究する上で汎用されている手法は、破壊的測定法と非破壊的測定法に大別することが出来ます。前者の代表例として共免疫沈降法などが挙げられますが、この手法は、本来存在すべき生体膜から膜タンパク質を可溶化しているため、相互作用するはずのないタンパク質との凝集が検出されることもあり、必ずしも膜上の会合状態を反映しているとは限りません。後者の代表例として、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)と生物発光共鳴エネルギー移動(BRET)があります。FRET法およびBRET法は、これまで目的タンパク質に蛍光発光タンパク質を融合させる手法が汎用されていますが、蛍光発光タンパク質融合体は、1)細胞膜表面だけでなく細胞内に局在するタンパク質からも蛍光が検出されるため細胞内のシグナルが膜上のFRET/BRETシグナルを干渉する恐れがある事、2)ドナー融合体とアクセプター融合体の発現比をコントロールするのは容易ではないため定量性に欠ける事、3)蛍光発光タンパク質そのもののサイズが約27 kDaと非常に大きいため目的タンパク質本来の挙動に悪影響を及ぼす可能性がある事、4)コントロールタンパク質で手法の正確性を確認する論文が少ない事、などの問題点が挙げられます。従って、生体膜中における膜タンパク質の会合状態を正確に解析できる手法が未だに確立されて

いないのが現状です。

本研究では、京大・松崎研究室で開発された小分子蛍光ラベル法（コイルドコイルラベル法¹⁾（図1）で生細胞膜上の膜タンパク質を特異的に蛍光標識し、FRETを用いて膜タンパク質の会合状態を定量的に解析する方法を確立するとともに、会合状態に関して論争のある β_2 アドレナリン受容体（ β_2 AR）や、安定な四量体と考えられているA型インフルエンザウイルスM2タンパク質の解析を行いました。

2. コイルドコイルラベル法の原理と特徴

図1Aで示すように、コイルドコイルラベル法^{1,2)}は、負電荷ペプチドであるE3（EIAALEK）₃（正味の電荷：-3）と正電荷ペプチドであるK4（KIAALKE）₄（正味の電荷：+4）間で形成される強固で特異的なヘテロ二量体に基づく標識法です。グルタミン酸残基とリシン残基間での静電的相互作用およびロイシン残基とイソロイシン残基間での疎水性相互作用がその駆動力となっています。まず、E3タグを目的タンパク質のN末端に遺伝子導入し、生細胞に発現させます。次に、固相合成したK4ペプチドのN末端を蛍光標識し、外部から生細胞に加えることで簡潔にラベルが完了します。このラベル法の利点として、1）ラベル時間がわずか1分で完了する事、2）帯電したK4プローブは膜非透過性であるため膜表面上の目的タンパク質のみをラベルすることが出来る事（図2A）、3）高い結合力（ $K_d \sim 5$ nM）を有しているため50 nMで90%の目的タンパク質をラベルできる事、4）ドナーとアクセ

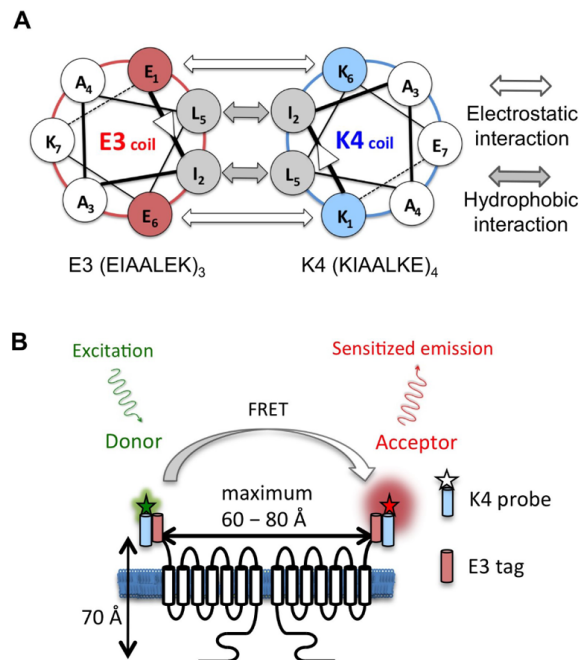


図1 コイルドコイルラベル法と多量体形成タンパク質間FRETの模式図 (A) E3とK4のヘリカルコイル図。EとK間の静電的相互作用とLとI間の疎水性相互作用が駆動力として働く。(B) GPCR二量体形成時のFRET模式図。励起されたドナーからアクセプターへとエネルギー移動が起きる。Alexa568-647ペアはGPCR二量体の最大距離60-80 Åをカバーできる臨界移動距離 R_0 (=82 Å) をもつ。

プターのラベル比率を正確にコントロールすることが可能である事、5）分子量が5-6 kDaと小分子であるため膜タンパク質の機能に悪影響を与えない事、などが挙げられます。特に、4）はFRETを用いた会合状態の定量的な解析法に必要な不可欠な点です。

3. 会合状態の定量的解析法の確立

FRETの蛍光色素ペアとして、臨界移動距離 R_0 (50%のFRET効率を与える距離) が82 Åあるドナー-アクセプターペア (Alexa Fluor 568-647) を用いました。これは、比較的サイズの大きい β_2 AR（単量体：30-40 Å）³⁾が多量体を形成した場合でもFRETを検出できるようにするためです（図1B）。ドナーとアクセプターのK4プローブで膜タンパク質を共染色した後（図2A）、共焦点顕微鏡で観察し、細胞膜部分のスペクトル情報から以下の式に基づいて、見かけ上のFRET効率（ E_{app} ）の実測値を算出しました。

$$E_{app} = \frac{\epsilon_A(\lambda_D^{ex})}{\epsilon_D(\lambda_D^{ex})} \times \left(\frac{F_{AD} - F_A}{F_A} \right) \quad [\text{式1}]$$

- ・ $\epsilon_A(\lambda_D^{ex})$: ドナー励起波長に於けるアクセプターのモル吸光係数
- ・ $\epsilon_D(\lambda_D^{ex})$: ドナー励起波長に於けるドナーのモル吸光係数
- ・ F_{AD} : ドナー存在下でのアクセプターの蛍光強度
- ・ F_A : ドナー非存在下でのアクセプターの蛍光強度^(注1)

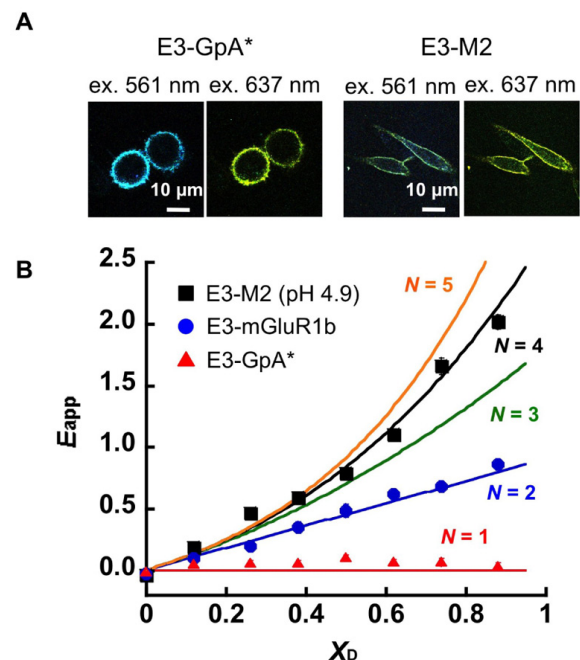


図2 スタンダード膜タンパク質の会合状態と手法の定量的証明 (A) E3-GpA*とE3-M2を一過性発現させたCHO細胞をK4プローブ ($X_0=0.50$) で標識。(B) E_{app} 値の X_0 依存性曲線。単量体 ($N=1$), 二量体 ($N=2$), 三量体 ($N=3$), 四量体 ($N=4$), 五量体 ($N=5$) の理論曲線を式2より算出。これに対して、実験から求めた E3-GpA* (pH 7.4), E3-mGluR1b (pH 7.4), E3-M2 (pH 4.9) の E_{app} 実測値 (式1) をそれぞれ▲, ●, ■でプロットした。

会合数の定量的解析は、 E_{app} の実測値〔式1〕と理論値〔式2〕のグラフを比較する事で行いました（図2B）。

$$E_{app} = E \times \frac{X_D}{1 - X_D} \times [1 - \{X_D(1 - X_U') + X_U'\}^{N-1}] \quad \text{〔式2〕}$$

- ・ X_D : ドナーモル分率 (= $[D] / ([D] + [A])$) (注1)
- ・ E : 真の FRET 効率 (= 1.0) (注2)
- ・ X_U' : 非ラベルフラクション (= 0.1) (注3)

(注1) ドナー存在下ではアクセプターの直接励起分 F_A を求めることはできない。そこで、アクセプター単独染色した別サンプルを用いて、561 nm と 637 nm で励起したときのアクセプターの蛍光強度比 ($R_{561/637}$) をとり、共染色した本サンプルを 637 nm で励起したときのアクセプター蛍光強度に $R_{561/637}$ を乗じることで F_A を算出した。

(注2) ドナーとアクセプターの仕込み時の混合比率。実際の膜タンパク質のラベル比率ではない。

(注3) ドナーとアクセプターが十分に近接して100%の FRET 効率が起きると仮定。

(注4) 50 nM で90%の目的タンパク質をラベルできるため。

コイルドコイルラベル法を用いた FRET 測定で膜タンパク質の会合状態を正しく解析できることを証明するために、単量体（グリコフォリン A 変異体：GpA*）、二量体（代謝型グルタミン酸受容体：mGluR1b）、四量体（M2タンパク質：M2（pH 4.9））を形成することが既に報告されている3つのスタンダード膜タンパク質の解析を行ったところ、理論曲線と対応する結果が得られたことから、この手法を用いて受容体の会合状態を正しく解析可能なことが明らかになりました⁴（図2B）。

4. β_2 AR の会合状態

β_2 AR は、創薬の重要なターゲットとされる G タンパク質共役型受容体（GPCR）の典型例でありながら、その会合状態については研究グループ間で論争が続いていました^{5,6}。2種類の細胞株で β_2 AR の会合状態について調べましたところ、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞では、様々な条件下（温度やリガンド刺激、発現方法）において、全く FRET シグナルが検出されませんでした（図3A）。一方、ポジティブコントロールとして抗 β_2 AR 抗体とプロテイン A で β_2 AR をクロスリンクした場合には FRET シグナルの有意な上昇が見られた（図3A, B）ことから、 β_2 AR が多量体を形成していれば FRET シグナルを検出できることを証明しています。また、ヒト胎児腎（HEK293）細胞でもほとんどの条件において FRET シグナルが検出されませんでした。が、 β_2 AR のアゴニスト（isoproterenol）で刺激した時にのみ、細胞膜上でわずかな E_{app} の上昇が見られました（図3B, iso (membrane)）。そこで、会合状態（ E_{app} 値の上昇）とシグナル伝達（cAMP 応答）の経時変化を追ったところ、多量体形成は刺激開始から少なくとも10分以降でしか検出されなかったのに対して、シグナル伝達は刺激開始からわずか5分後には見られたことから（図3C）、多量体形成よりもシグナル伝達や内在化の

方が早く起こることが分かりました⁴。

これらの結果から、 β_2 AR は定常的にホモオリゴマーを形成しておらず、また、シグナル伝達や内在化に多量体形成は必要ではないことが明らかになりました⁴。筆者は、この他にも GPCR の代表例であるドーパミン受容体 D2R やプロスタグランジン受容体 EP1R、ケモカイン受容体 CXCR4 の会合状態について調べましたが、結果は β_2 AR と同様でした（図3D）。これらの詳細に関しては参考文献7をご覧ください。

5. M2タンパク質の会合状態

M2タンパク質は、A 型インフルエンザウイルスのエンベロープに発現するプロトンチャネルであり、ウイルスの増殖に必要な不可欠な役割を果たしています。近年の報告により、ミセルやリポソーム中において M2 のフラグメントペプチドは安定な四量体を形成すると考えられています⁸、実際の生体膜中での会合状態は明らかにされていません。本研究では、生体膜中における全長 M2タンパク質の会合状態を解析すると共に、プロトンチャネル活性との関連性について調べました。

会合状態の解析結果では、生体膜中における M2タンパク質は、酸性 pH では四量体を形成しますが、中性付近の pH では二量体で存在することを明らかにしました（図4A, B）。つまり、M2は既存モデルで提唱されているような安定な四量体ではなく、pH に応じて会合状態が変化して二量体と四量体の平衡状態にあると考えられます。一方、抗ウイルス薬アマンタジン塩酸塩（Am）存在下では四量体形成が完全に阻害されて、酸性条件（< pH 5.5）でも二量体でしか存在できなくなりました（図4B）。

次にプロトンチャネル活性を調べるため、pH 感受性色素 SNARF-4F を細胞内にローディングし、細胞外液を酸性 pH 溶液に交換しました。M2チャネルを通して細胞内に流入した見かけ上の H^+ 濃度（ $[H^+]$ ）をプロットし、以下の一次指数関数を用いて速度定数 k (s^{-1}) を算出しました。

$$[H^+]_{in}(t) = [H^+]_{out}(0) + ([H^+]_{in}(0) - [H^+]_{out}(0))e^{-kt} \quad \text{〔式3〕}$$

- ・ $[H^+]_{in}(t)$: 細胞外液を酸性 pH に交換してから t 秒後の細胞内のプロトン濃度 (M)
- ・ $[H^+]_{in}(0)$: 外液交換後 $t=0$ 秒に於ける細胞内のプロトン濃度 (M)
- ・ $[H^+]_{out}(0)$: 外液交換後 $t=0$ 秒に於ける細胞外のプロトン濃度 (M)

k 値を細胞膜上の M2 発現量で割って得られた値がチャネル活性 γ ($s^{-1} \text{ protein}^{-1}$) です。解析の結果、四量体（pH 4.9）だけでなく二量体（pH 6.0）でもチャネル活性を有することが分かりました（図4C）。コレステロール除去剤（M β CD）により、二量体では顕著にチャネル活性が低下したのに対して、四量体では変化が見られませんでした。一方、Am 存在下では、両方のチャネル活性が阻害されました（図4C）。

以上の結果をまとめると、図4D で示すように、M2タンパク質は pH に応じて会合状態が変化し、四量体でも二量体でもチャネル活性を示します。M2二

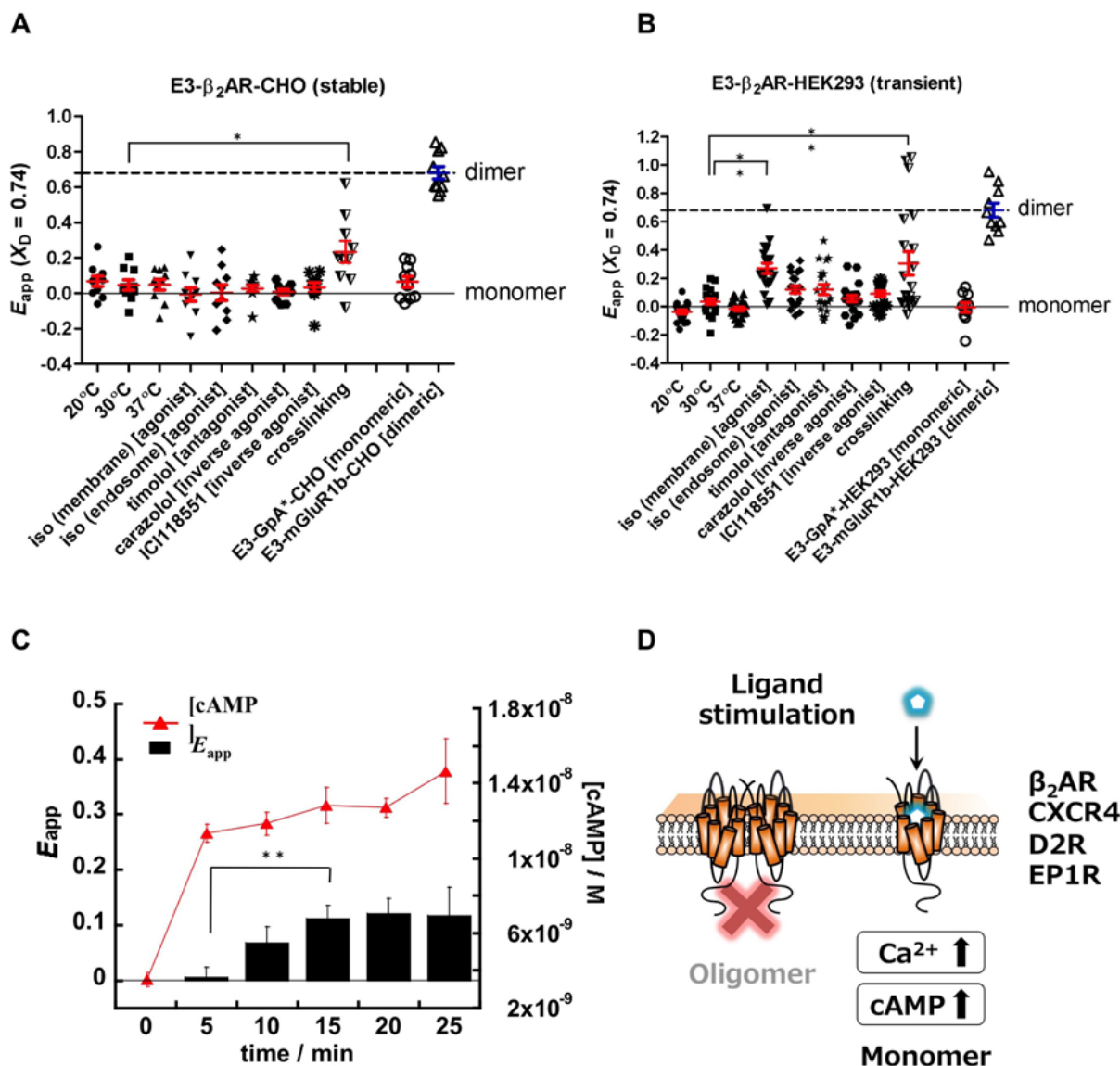


図3 E3-β₂ARの会合状態と機能との関連性 (A) CHO細胞に安定発現させたE3-β₂ARの E_{app} 値の変化。コントロール：E3-GpA*-CHO（一過性発現）とE3-mGluR1b-CHO（一過性発現）。 $X_D=0.74$ でラベル。iso: isoproterenol。membraneとendosomeは膜領域とエンドソーム領域の解析結果。ダッシュ線と直線は単量体と100%二量体をそれぞれ形成した時の E_{app} の理論値。(B) HEK293細胞に一過性発現させたE3-β₂ARの E_{app} 値の変化。(C) HEK293細胞に一過性発現させたE3-β₂ARをisoproterenol刺激した時の E_{app} 値とcAMP応答の経時的変化。(D) GPCR会合状態と機能のモデル。

量体はコレステロールと複合体を形成しており、プロトン伝達経路を形成するのにコレステロールが必要不可欠です。一方、四量体は中央部分にポアを有しているため、チャネル活性にコレステロールを必要としません。Amは、M2二量体に結合することで四量体形成とチャネル活性を阻害しています。これらことから、M2チャネルの最小機能単位は二量体であると考えております⁹。

6. おわりに（将来への展望）

筆者は学生時代から、膜タンパク質の会合状態と機能の関連性を研究してきましたが、奥が深く興味の尽きる事はありません。昨年より二木教授と共に生体膜の物性と膜透過ペプチドに関する研究を進めて参りました¹⁰。近年、膜タンパク質の会合や機能は、生体膜の物性（張力や曲率、側方圧など）にも影響されるこ

とが報告されています。生体膜の物性が膜タンパク質の活性化の鍵を握っているのであれば、細胞内外のシグナル伝達にも関与している可能性を示唆しています。将来的に膜物性の観点から細胞機能制御機構を解明し、さらには創薬の種を提案するような研究が出来れば、全く新しい切り口からのアプローチになりますので個人的には面白いと考えております。

References

1. Yano, Y.; Yano, A.; Oishi, S.; Sugimoto, Y.; Tsujimoto, G.; Fujii, N.; Matsuzaki, K. ACS Chem Biol 2008, 3, 341-345.
2. Yano, Y.; Kawano, K.; Omae, K.; Matsuzaki, K. Methods Enzymol 2012, 504, 355-370.
3. Fung, J. J.; Deupi, X.; Pardo, L.; Yao, X. J.; Velez-Ruiz, G. A.; Devree, B. T.; Sunahara, R. K.; Kobilka, B. K. EMBO J 2009, 28, 3315-3328.

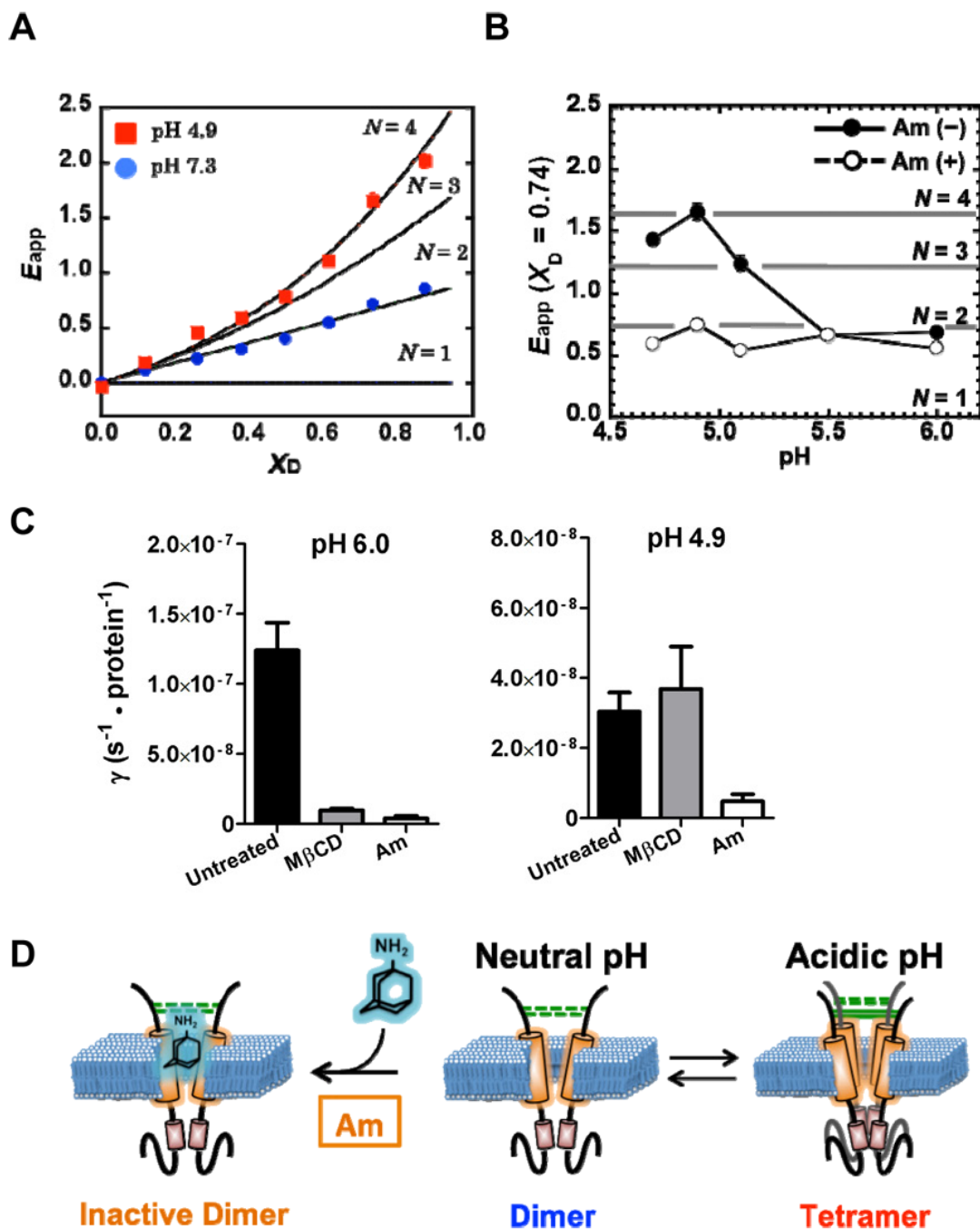


図4 E3-M2の会合状態のpH依存性 (A) pH 4.9と7.3におけるM2の会合状態。Fig. 2Bに同じ。(B) アマニタジン (Am) 存在下と非存在下における E_{app} 値のpH依存性。上の直線から四量体 ($N=4$)、三量体 ($N=3$)、二量体 ($N=2$)、単量体 ($N=1$) の理論値。(C) チャネル活性のpH依存性。コレステロール除去処理 (M β CD) 及びAm添加時の結果。(D) 二量体-四量体平衡モデル。中性pHでは二量体として存在し、酸性pHでは四量体を形成する。Am存在下では四量体形成及びチャネル活性を阻害される。

- Kawano, K.; Yano, Y.; Omae, K.; Matsuzaki, S.; Matsuzaki, K. Anal Chem 2013, 85, 3454–3461.
- Bouvier, M.; Heveker, N.; Jockers, R.; Marullo, S.; Miligan, G. Nat Methods 2007, 4, 3–4; author reply 4.
- Salahpour, A.; Masri, B. Nat Methods, 2007, 4, 599–600; author reply 601.
- Kawano, K.; Yagi, T.; Fukada, N.; Yano, Y.; Matsuzaki, K. J Pept. Sci 2017, 23, 650–658.
- Stouffer, A. L.; Acharya, R.; Salom, D.; Levine, A. S.; Di Costanzo, L.; Soto, C. S.; Tereshko, V.; Nanda, V.; Stayrook, S.; DeGrado, W. F. Nature 2008, 451, 596–599.
- Kawano, K.; Yano, Y.; Matsuzaki, K. J Mol Biol 2014, 426, 2679–2691.
- Murayama, T.; Masuda, T.; Afonin, S.; Kawano, K.; Takatani-Nakase, T.; Ida, H.; Takahashi, Y.; Fukuma, T.; Ulrich, A.S.; Futaki, S. Angew Chem Int Ed 2017, 56, 7644–7647.

かわの けんいち
京都大学化学研究所
kawano.kenichi.2u@kyoto-u.ac.jp

21st Korean Peptide Protein Society Symposium (KPPS 2017) 参加報告

21st Korean Peptide Protein Society Symposium (KPPS) が2017年6月25～27日の3日間、韓国済州島のHotel Maison Gladにて開催されました。Jaehoon Yu教授 (Seoul National University) によって開催された本シンポジウムには韓国以外にも日本、アメリカ、インドといった国々から約110名が参加し、日本人は東京薬科大学から林良雄教授と小林美咲さん、東北大学から吉田将人助教、大阪府立大学から藤原大佑助教、東京医科歯科大学から玉村啓和教授と私の計6名が参加致しました (図1)。

開催地である済州島は韓国南部に位置する最大の島であり、壮大な自然と新鮮な海産物を楽しむことができる美しい島です。韓国有数の観光地で海外旅行者への対応に慣れている方も多かったこともあり、私自身初めての海外渡航でしたが不安に感じるところは殆どありませんでした。貴重な海外学会参加の機会ということで思い切って参加を決めました。研究のみならず現地の文化や人との交流も深められた充実した3日間であったように思います。

シンポジウムでは、「Biological systems & chemical biology」「Peptide synthesis & medicinal chemistry」「Bionano applications of peptides and proteins」「Understanding biological functions with structural information」の4つのセクションからペプチド・タンパク質に関わる多種多様な最先端の研究が紹介されており、日本人からも吉田将人助教、藤原大佑助教が講演をされて活発な議論を巻き起こしていました。特に吉田将人助教の講演の際、スライド中に広がる化合物群が1人の学生により合成されたことを告げる度、会場の学生がどよめいていたのは強く印象に残っています。また、本シンポジウムでは若手研究者の議論も重視されており、7人の若手研究者を含む21件の口頭発表と40件のポスター発表を通じた活発な議論が展開



海老原健人

されたことも印象的でした。

私は今回 Young Scientist Session にてオーラルプレゼンテーションを行う1人に選ばれました。初めての国際学会で口頭発表を行うというプレッシャーは想像以上に重く、緊張で時間配分や聴衆視線をあまり意識することができませんでした。加えて英語発音の拙さなどもあり、興味を持ってくれた方は多くはないだろうと落胆していたのですが、その後のポスターセッションで多くの先生方や学生に来て頂けました。それでもあまり上手く英語返答できたとは言い難い出来ではありましたが、真摯に話を聞きに来て頂いた方々を見て、英語が下手であることを理由にして喋らないよりも拙い英語であっても伝えようと努力することが大切であることを強く感じました。勿論、適切な表現ができれば最善ではありますが、コミュニケーションを図る上では相手に言葉が通じないことを恐れてしまっただけでは何も始まらないことを実感し、もっと積極的に議論に参加する姿勢を持たなければならないことを痛感しました。

このような貴重な機会を下さった世話人の Jaehoon Yu 教授および KPPS 組織委員の各関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。また、今回の発表では幸運にも“Young Scientist Award”を受賞することができました (図2)。KPPS への参加及び、この度の受賞は玉村啓和教授、共同研究でお世話になりました国立感染症研究所エイズ研究センター第三室村上努室長の御指導により実現することができました。この場を借りて御礼申し上げます。また本学会参加に際して、日本ペプチド学会より Travel Award としてご支援頂きました。日本ペプチド学会の役員及び選考委員の先生方に御礼申し上げます。

次回の22nd Korean Peptide Protein Society Symposium は2018年6月25-27日に韓国の麗水 (The Ocean Resort) にて開かれる予定です。最後になりましたが、このような執筆の機会を与えて下さった東京薬科大学林良雄教授、大阪府立大学中瀬彦彦講師、およびペプチドニュースレター編集委員の先生方に心より御礼申し上げます。



図1 参加者全員での集合写真、韓国で流行中のポーズらしいです



図2 受賞時の写真, Jaehoon Yu 教授, 玉村啓和教授とともに

えびはら けんと
東京医科歯科大学 医歯学総合研究科
ma160010@tmd.ac.jp

25th American Peptide Symposium 参加報告

25th American Peptide Symposiumが6月17日から6月22日の6日間、カナダのWhistlerにあるWhistler Conference Centerにて開催されました。私はこれまで海外に行ったことがなかったため、本学会への参加は楽しみであったものの、少し不安がありました。



森崎 巧也

一日目は、ホテルへと向かうだけでしたが、バンクーバー空港からバスでホテルまで向かう際、予約したのにチケットがないから乗せることはできないと言われました。結局、乗客リスト表の自分の名前を指さし、「ここに名前はあるんです」とひたすらいふことで乗せてくれました。その後は現地の人が分かりやすく説明してくれたため、トラブルはありませんでした。特にスーパーの店員は私が日本人だとわかると日本語で話してくれました。

学会自体は二日目から始まりました。私は英語が苦手で、英語を聞きとるのに必死でしたが、スライドの内容と照らし合わせ何とか話についていくことができました。

三日目には、ポスター発表をさせていただきました。3分間プレゼンテーション時には緊張で流暢に話すことができず、たどたどしい英語になってしまいました。また質疑タイムでは、質問を完璧に聞き取ることは難しかったものの、質問の大まかな内容などは聞き取ることができました。しかし自分の考えを英語で答えることが一番難しく、きちんとした答えを伝えられなかったり、答えるのにかなり時間を使ったりと、自分のspeaking力の無さを痛感し、これだけは普段から英語で会話しないと身につかないと実感しました。ただ時間がかかっても根気強く説明することで、

質問者の方々は理解してくれました。次の機会ではより有意義なディスカッションをできるよう、日ごろから英語での会話に取り組みたいです。また少し空いた時間に他の人のポスターを見に行きましたが、環状ペプチド合成に関するポスターが多い印象を受けました。最近、海洋生物や植物からの環状ペプチドの単離文献をよく目にする事が多く、またペプチド創薬における活性ペプチドの環状化は活性向上のための手法として第一選択肢になっていることもあり、環状ペプチド合成研究が盛んにおこなわれているのかなと思いました。特に私はtryptathionineのような特殊な結合を有する環状ペプチド合成に興味をもち、自分も少し



写真1



写真2



写真3

環状ペプチド合成に取り組みたいと思いました。研究に対しますますモチベーションが上がった良い一日となりました。

四日目は午前中しか講演会がなかったため、午後は参加していた日本人の方々とラフティングに参加しました。ラフティングは日本でも体験したことはありましたが、日本の川とは激しさが違い、カナダの川はかなり荒れていました。また私たちは4人でボートに乗ったため（他のグループは5-6人）、パドルを漕ぐ負担が増え結構疲れました。しかし最後まで楽しみ、みんな笑顔で無事にラフティングから帰ってくることができました。



写真4



写真5



写真6

五日目は、私の研究室の教授である大高章先生たちと一緒に、ウィスラー・マウンテンとブラックコム・マウンテンに登りました。二つの山はゴンドラで行き来できるようになっていました。山頂付近は4℃くらいで6月とは思えないくらい寒く、雪も積もっていました。しかし、その寒さを吹き飛ばすくらい素晴らしい絶景を見ることができました。また野生のクマにも出会うことができ、日本ではなかなか味わうことのできない経験をしました。

六日目の夜はclosing banquetに初めて参加しました。closing banquetでは発表の表彰などが終わると大勢でダンスを始め、有名な先生方も陽気にダンスをしていて驚きました。またclosing banquetの後には、参加していた日本人の方々と一緒にお酒を飲みながら、カナダでの最後の夜を過ごしました。

今回のAPSでは、まず英語でのディスカッションの難しさを改めて痛感しました。また多くの分野の講演を拝聴し、良い刺激を受け非常に貴重な経験となりました。これもすべて大高章先生をはじめとした先生方の日頃のご指導のおかげであります。この場を借りて厚く御礼申し上げます。最後になりましたが、このような執筆の機会を頂きました、日本ペプチド学会の役員の先生方・ペプチドニュースレター編集委員の先生方に深謝いたします。

もりさき たくや
徳島大学大学院 薬科学教育部
機能分子合成薬学分野
c401641003@tokushima-u.ac.jp

第49回若手ペプチド夏の勉強会開催報告



大庭 誠



加藤太一郎



出水 庸介

本年度の若手ペプチド夏の勉強会は、平成29年8月5日から8月7日までの3日間、長崎県長崎市の長崎ブルースカイホテルで開催され、長崎大学大学院大学院医歯薬学総合研究科（田中・大庭研究室）、鹿児島大学大学院理工学研究科（伊東・加藤研究室）、国立医薬品食品衛生研究所（有機化学部）のスタッフ20名がお世話をさせていただきました。交通の不便な地での開催、また迷走していた台風5号が長崎を直撃するのではないかと心配もありましたが、北は北海道から南は鹿児島まで全国から158名の研究者の方々にご参加いただき、盛会のうちに無事終えることができました。今年も、

日本ペプチド学会から運営費の一部をご援助いただいたほか、いくつかの企業、長崎国際観光コンベンション協会からも協賛をいただきました。参加者を代表して厚く御礼を申し上げます。

今回の夏の勉強会では、特別講演3件、依頼講演8件、留学体験記1件、一般講演18件、およびポスター発表56件を行いました。特別講演を行っていただいた、東京医科歯科大学・玉村啓和先生、東京薬科大学・林良雄先生、熊本大学・森岡弘志先生からは、ペプチド研究の魅力、また通常の学会講演では拝聴できない研究に対する先生方の哲学についても熱くお話しいただき、研究者を志す若手にとって貴重な経験になったと思います。依頼講演では、早稲田大学・山口潤一郎先生、九州大学・松島綾美先生、東京大学・小松徹先生、鹿児島大学・橋口周平先生、理化学研究所・沼田圭司先生、東京工業大学・布施新一郎先生、九州大学・岸村顕広先生、静岡大学・佐藤浩平先生、留学体験記では東北大学・菅井祥加さん、といった新進気鋭の若手の先生方から、ユーモアを交えて学生にとっても身近な話題を提供していただくとともに、ペプチド・タンパク質の合理的な設計から生命化学に有用な分子ツール創製、創薬への展開などホットな研究トピックスを幅広くお話しいただきました。特別講演、依頼講演だけでなく、学生の発表が中心の一般講演も非常にレベルの高い内容であり、ペプチド若手研究者の今後を期待させる発表ばかりでした。参加者数158名と準備した会場のキャパシティーいっぱいの状態でしたが、皆熱心に講演を聞き知識を深めていました。各講演後の討論は途切れることなく鋭い質問

が続き、時間を超過することも多々ありました。また講演の間の休憩時間にも熱心に議論する姿が見られ意義のある交流が図られたのではないかと思います。勉強会開催期間中、各種の賞について厳正な審査を行い、最終日の閉会式において12名の学生と3つの研究室を表彰させていただきました。一般講演の最優秀講演賞は徳島大学・成瀬公人さん、優秀講演賞は大阪府立大学・野口公輔さん、鳥取大学・林大輝さん、北海道大学・中川夏美さん、優秀ポスター賞は東京大学・橘椋さん、東京大学・細野裕基さん、東京大学・宮入匡平さん、鹿児島大学・鶴田篤弘さん、東京薬科大学・大村紀子さん、討論部門の優秀討論賞は東京大学・小松大和さん、早稲田大学・平和馬さん、徳島大学・上田将弘さん、研究室紹介賞は鳥取大学・松浦研、東京大学・菅研、九州大学・片山研が選ばれました。受賞者の方々には賞状と副賞を贈らせていただきました。本当におめでとうございます。この受賞を機会によりいっそう研究に励んでいただきたいと思います。また、昨年より設けました研究室紹介賞についても、みなさんの所属する研究室を理解し、他の参加者に知っていただく良い機会になると思いますので、次回以降もユニークな紹介をする研究室が出てくることを期待しています。さらに、本幹事会で、日本ペプチド学会と若手ペプチド勉強会の橋渡し役、若手研究者の意見・要望の汲みあげ役として、東京薬科大学・高山健太郎先生に若手ペプチド勉強会の代表者になっていただくことが承認されました（任期は2017年8月6日から3年間）。高山先生、今後も永遠の若手研究者として大車輪の活躍を期待しています。



集合写真

閉会式終了後は、秋のペプチド討論会での再会を約束して帰っていく学生をたくさん見かけ、本会への参加をきっかけにペプチド研究に対するモチベーションが上がっているのを見かけました。2泊3日の合宿のような形式でたくさんの講演に触れて知識を深め、懇親会で仲間との絆を深めてペプチド討論会に臨むという流れを作るのが夏の勉強会の大きな意義の一つではないかと感じました。今回は、学生さんからの発表希望が多数あったこと、運営側としても希望者には全員発表してもらいたいとの想いにより、ほとんど休憩時間のない非常にタイトなスケジュールとなっていました。せめてもの償いではありませんが、長崎のお土産（長崎カステラ、よりより）を用意させていただきました。また、会場の都合上、勉強会、ポスター発表、懇親会と全てを同会場にて行わざるをえませんでした。参加者の方々も積極的に設営・撤去にご協力いただき、大変助かりました。この場を借りて皆様に感謝申し上げます。

最後に勉強会の運営の話になりますが、今年も過去の運営資料を引き継いだおかげで、それに沿ってスムーズに準備を行うことができました。来年度（第50回）の勉強会は静岡大学の鳴海哲夫先生、佐藤浩平先生が世話人となり、平成30年8月5日（日）から7日（火）まで、静岡県浜松市の方広寺にて開催が予定されています。昨年同様、本会の運営ノウハウに関しても引き継ぎを行いますので、さらに内容、規模ともに充実させながら、第50回若手ペプチド夏の勉強会を開催できるようにサポートしていく所存です。

最後になりましたが、今回へのご厚意に重ね重ね心より感謝申し上げます。次回以降も変わらぬご支援とご協力のほど、何卒よろしくお願いいたします。

おおば まこと
長崎大学 薬学部
moba@nagasaki-u.ac.jp

かとう だいいちろう
鹿児島大学 理学部
k0035454@kadai.jp

でみず ようすけ
国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部
demizu@nihs.go.jp

第54回ペプチド討論会

日 時：2017年11月20日（月）～22日（水）
会 場：大阪府立大学 中百舌鳥キャンパス
（大阪府堺市中区学園町1-1）

討論会ホームページ：

<https://www.peptide-soc.jp/jps54/>

主 催：日本ペプチド学会
共 催：日本化学会・日本薬学会・日本農芸化学
会・日本蛋白質科学会

討論主題：

1 アミノ酸およびペプチドの化学

- 2 生理活性ペプチドの単離、構造決定および合成
- 3 ペプチド合成の新規な戦略と方法論
- 4 ペプチドの構造－機能相関
- 5 ペプチドの医学・薬学的研究
- 6 ペプチドに関連したケミカルバイオロジー
- 7 ペプチドを用いる材料科学的研究
- 8 その他広くペプチド科学に関する研究

発表形式：一般口頭、若手口頭（ともに基本的に英語）とポスター（英語）

懇 親 会：ホテル・アゴーラ リージェンシー堺（旧
リーガロイヤル堺）11月21日（火）19：30

問い合わせ先：第54回ペプチド討論会事務局

〒599-8531 大阪府堺市中区学園町1-1

大阪府立大学大学院理学系研究科

（世話人代表：藤井郁雄）

TEL/FAX：072-254-9834

E-mail：jps54@b.s.osakafu-u.ac.jp

日本ペプチド学会市民フォーラム2017

「生命を支えるアミノ酸・ペプチド
～病気と細胞受容体」

日 時：2017年11月19日（日）13：30～16：30

会 場：I-site なんば（大阪府立大学サテライト）
2階 カンファレンスルーム
（大阪市浪速区敷津東2丁目1番41号 南海
なんば第1ビル2・3階）

ホームページ：

<https://www.peptide-soc.jp/jps54/>

講演予定者：

松井久典 先生（武田薬品工業株式会社）

伊東祐二 先生（鹿児島大学）

松島綾美 先生（九州大学）

佐藤 毅 先生（京都薬科大学）

《平成29（2017）年度 年間行事予定》

平成29年11月19日（日）

第95回理事会・36回評議会合同会議

平成29年11月19日（日）

日本ペプチド学会市民フォーラム

場 所：I-site なんば（大阪府大阪市）

世話人：藤井 郁雄（大阪府立大学）

平成29年11月20日（月）～11月22日（水）

第54回ペプチド討論会

場 所：大阪府立大学（大阪府堺市）

世話人：藤井 郁雄（大阪府立大学）

平成29年11月21日（火）

平成29年度日本ペプチド学会通常総会

平成29年12月（未定）

第96回理事会

編集後記

ペプチドニュースレター 106号をお届けします。11月20日（月）～22日（水）に開催の第54回ペプチド討論会のご案内や研究紹介、海外学会参加報告や若手ペプチド夏の勉強会開催報告等、今回も盛りだくさんの内容になっております。105号よりはじめましたアンケートサイトにつきまして、今号におきましても掲載記事へのご意見を頂けると幸いに存じます。今後のニュースレター作成のための参考にさせていただきたいと思いますので、ぜひコメント等をお寄せください。

<https://goo.gl/T9aRf1>

（編集委員：中瀬 生彦）

PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会

〒562-8686 箕面市稲 4-1-2

一般財団法人蛋白質研究奨励会内

編集委員

林 良雄（担当理事）

（東京薬科大学薬学部薬品化学教室）

TEL・FAX 042-676-3275

e-mail：yhayashi@toyaku.ac.jp

中馬 吉郎

（新潟大学理学部理学科化学プログラム）

TEL・FAX 025-262-6160

e-mail：chuman@chem.sc.niigata-u.ac.jp

中瀬 生彦（大阪府立大学 NanoSquare 拠点研究所）

TEL・FAX 072-254-9895

e-mail：i-nakase@21c.osakafu-u.ac.jp

北條 恵子（神戸学院大学薬学部分子薬学部門）

TEL 078-974-4005, FAX 078-974-5689

e-mail：hojo@pharm.kobegakuin.ac.jp

大石 真也（京都大学大学院薬学研究科）

TEL 075-753-9268, FAX 075-753-4570

e-mail：soishi@pharm.kyoto-u.ac.jp

（本号編集担当：中瀬 生彦）