



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.110

2018年10月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

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

第10回国際ペプチドシンポジウム・ 第55回ペプチド討論会の開催にあたって

第55回ペプチド討論会は第10回国際ペプチドシンポジウム(10th IPS)として開催されます(<http://aeplan.co.jp/10tips/>)。日本ペプチド学会ではこれまで、第1回(1997年、35ヶ国、550名)および第5回(2010年、33ヶ国、750名)とともに京都で開催しており、今回が3度目ということになります。会期は2018年12月3日(月)～7日(金)の5日間です。会場は、ロームシアター京都(口頭発表)と、通りを隔てて隣接する京都市勧業館「みやこめっせ」(ポスター発表・機器展示・ランチョンセミナー)です。京都市内の中心部・岡崎地区に位置し(最寄駅:地下鉄東山)、平安神宮、京都市美術館、京都国立近代美術館、京都市動物園、南禅寺などのほど近くにあります。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。

今年度の発表につきましては、Plenary speakerとして、The Scripps Research InstituteのDale L. Boger教授とUniversity of California San FranciscoのWilliam DeGrado教授(ともに米国科学アカデミー会員)をお招きします。また、Luis Moroder教授(Max-Planck-Institute of Biochemistry Bioorganic Chemistry)によるAkabori Memorial Award受賞講演も行われます。さらに招待・依頼講演約60題を予定しております。一般発表はすでに申し込みを締め切りましたが、口頭発表103題(うち、Young investigators 27題)の申し込みがありました。International Program Committeeによる審査で、口頭発表50題(うち、Young investigators 20題)を選びました。ポスター発表は、約340題の申し込みに加え、惜しくも口頭発表に選ばれなかった演題を含め、400題近くになります。早期参加登録者も約600名あり、盛会となることが期待されます。特筆すべきは、これらの約4割は海外からの申し込みで、まさに国際シンポジウムにふさわしいといえます。平成30年度日本ペプ



二木 史朗



松崎 勝巳

チド学会「奨励賞」受賞者(東京薬科大学・高山健太郎博士および三重大学・増田裕一博士)による講演も含まれます。

会期中には参加者交流・情報交換を目的として、12月3日(月)にwelcome reception(参加費に含まれる)、12月5日(水)にyoung scientists mixer(有料)、最終日にはbanquet(有料)を企画しております。Banquet(着席コースディナー)にはまだ少し余裕がありますが、早めにお申し込み下さい。

今回の市民フォーラムは、総会(12月5日(水)14:20～15:00 ロームシアター京都サウスホール)に引き続き(15:10～17:00 みやこめっせ B1F 大会議室)開催することになりました。京都大学の石真也博士、矢野義明博士、河野健一博士のオーガナイズにより、～自然に息づく万能素材「アミノ酸・ペプチド」～と題して、野水基義先生(東京薬科大学)、大日向耕作先生(京都大学)、堤浩子先生(月桂冠株式会社)にご講演いただきます。この市民フォーラムにも参加していただければ幸いです。

また、関連シンポジウムとして、4th International Conference on Circular Proteins and Peptides(2018年11月28日(水)～11月30日(金)、ペプチドリーム株)、第24回ペプチドフォーラム:International Minisymposium on Peptide-membrane Interaction and Intracellular Delivery(2018年12月8日(土)、京都大学化学研究所)、大阪大学蛋白質研究所セミナー:Frontiers in Peptide Science 2018(2018年12月8日(土)、大阪大学蛋白質研究所)、第25回ペプチドフォーラム:International Forum on Peptides in Drug Discovery(2018年12月10日(月)、東京医科歯科大学生体材料工学研究所)も計画されています。

最後になりましたが、本シンポジウムを開催するにあたり、科学研究費・日本製薬団体連合会や多くのペプチド関連企業・財団よりご支援をいただいております。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International Organizing Committee, International Program Committee, Scientific Advisory Board, Local Organizing Committeeならびにエー・イー企画(屋敷智之様、衛藤匡様)、日本ペプチド学会事務局(宮嶋令子様、森川和憲様)の皆様にご心より御礼申し上げます。今回の国際シンポジウムが世界中のペプチド研究者交流の場となり、特に若手研究者への良い刺激になるよう願ってやみません。晩秋の京都へお出かけいただき、最新のサイエンスとともに名残の紅葉をお楽しみ下さい。

10th International Peptide Symposium
第55回ペプチド討論会

December 3-7, 2018
ROHM Theatre Kyoto and Miyakomesse

Chairs:
Shiroh Futaki, Katsumi Matsuzaki
(Kyoto University)

京都

Kyoto, Japan

Important Dates

Abstract Submission
• Oral Presentation July 31, 2018, 2:00pm JST
• Poster Presentation September 5, 2018, 2:00pm JST

Early Registration
Deadline: September 5, 2018, 5:00pm JST

Late Registration
Deadline: November 7, 2018, 5:00pm JST

Contact:
10th IPS Secretariat: A&E Planning Co., Ltd.
6F Shin-Osaka Grand Bldg. 2-14-14 Miyahara, Yodogawa-ku, Osaka 532-0003, Japan
Tel: +81-6-6350-7163 Fax: +81-6-6350-7164 E-mail: 10ips@aeplan.co.jp

<http://aeplan.co.jp/10thips/>

10th International Peptide Symposium 第55回ペプチド討論会

Plenary Speakers



Dale L. Beger
(The Scripps Research Institute)



William DeGrado
(University of California, San Francisco)

Preliminary List of Speakers

Burkhard Bechinger - University of Strasbourg
Jeffrey W. Bode - ETH Zurich
David Craik - The University of Queensland
Richard D. Dillmarch - Indiana University
Fernando Formaggio - University of Padova
Koichi Fukae - Osaka University
Hosahudya N. Gopal - Indian Institute of Science Education and Research, Pune
Christian P. R. Hackenberger - FMP/Humboldt University
Jeffrey D. Hartgerink - Rice University
Motomu Kanai - The University of Tokyo
Thomas Kodadek - The Scripps Research Institute, Scripps Florida
Takaki Koide - Waseda University
Xuechen Li - The University of Hong Kong
Hyun-Suk Lim - Pohang University of Science and Technology (POSTECH)
Lei Liu - Tsinghua University
Kazunori Matsura - Tottori University
Oleg Melnyk - CNRS/Institut de Biologie de Lille
Yoshitaka Nagai - Osaka University
Makoto Oba - Nagasaki University
Shinya Oda - Kyoto University
Anthony Partridge - Merck Sharp & Dohme (MSD)
Patrick C. Reid - PeptiDream
Takashi Sakurai - University of Tsukuba
Jiwon Seo - Gwangju Institute of Science and Technology
Mark Smythe - Prologon Therapeutics
James P. Tam - Nanyang Technological University
Mortazali Tehrani - Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona)
Motomari Uesugi - Kyoto University
Shaocong Wang - University of Michigan

Annette G. Beck-Sickinger - Leipzig University
Gong Chen - Nanjing University
Margitta Duthé - Leibniz-Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie (FMP)
Takayuki Doi - Tohoku University
Lloyd D. Fricker - Albert Einstein College of Medicine
Shiroh Futaki - Kyoto University
Gilles Guichard - CNRS/University of Bordeaux
Itaru Hamachi - Kyoto University
Ivan Huc - Ludwig-Maximilians-University
Yongmei Kim - Konkuk University
Shohei Koide - New York University
Hee-Seung Lee - Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST)
Yan-Mei Li - Tsinghua University
Qing Lin - State University of New York at Buffalo
R. Scott Loke - University of California, Santa Cruz
Katsumi Matsuzaki - Kyoto University
Les Miranda - Angen
James S. Nowick - University of California, Irvine
Hirofumi Ochiai - Glytech
James G. Ostrowski - University of Montreal
E. James Peterson - University of Pennsylvania
Kazuyasu Sakaguchi - Hokkaido University
Joel P. Schneider - National Cancer Institute
Norbert Sewald - Bielefeld University
Hirosaki Suga - The University of Tokyo
Hiroyasu Tamamura - Tokyo Medical and Dental University
Hiroshi Tsubomi - Tokyo Institute of Technology
John Wade - The University of Melbourne
Jaehoon Yu - Seoul National University

Contact: 10th IPS Secretariat: A&E Planning Co., Ltd.
6F Shin-Osaka Grand Bldg. 2-14-14
Miyahara, Yodogawa-ku, Osaka 532-0003, Japan
Tel: +81-6-6350-7163 Fax: +81-6-6350-7164 E-mail: 10ips@aeplan.co.jp

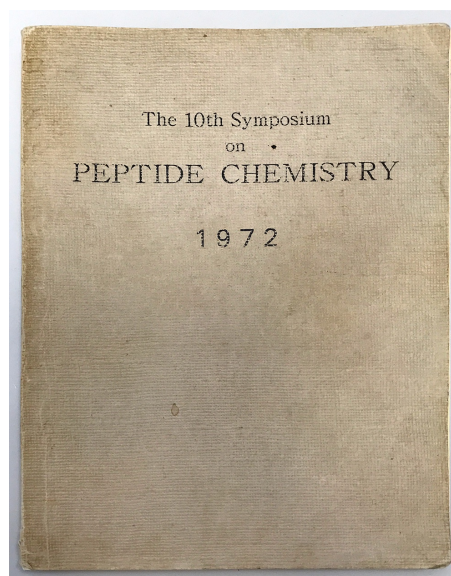
1972 年のペプチド化学討論会

本年 3 月末で約 45 年にわたった大学教員としての生活に終止符を打った。日本ペプチド学会ニュースレターの編集部から寄稿の依頼を受け、「さてどうしたものか」と思ったが拙文を承知の上で引き受けさせていただいた。



北川 幸己

ちょうど教授室に貯まりに貯まった書籍・文献を整理している際に、色褪せた表紙の第 10 回ペプチド化学シンポジウムの Proceedings (写真) が出てきたことから、少し思い出話をしてみたい。ペプチドシンポジウムの Proceedings が現在のようなハードカバーの体裁になったのは、1976 年の第 14 回シンポジウムからと記憶する。またこのときから収載される各発表の概要は全て英文となった。書名こそ“Peptide Chemistry”から現在の“Peptide Science”へと変遷したものの、体裁は変わらず、深緑色の外装表紙に金色の英字で書名が記されたなかなか重厚な装丁のものである。一方、1976 年以前の Proceedings はというと、もちろんハードカバーではなく、各発表の概要は発表者による和文での手書きである。ワープロ文書に慣れた目からすると“古き良き時代”の趣が満載であり、個性的な筆跡にあふれている。この時代にはポスター発表はなく、全て口頭発表であるが、発表概要の末尾に発表者と座長、フロアの質問者で交わされた質疑応答が纏められている。現在のようにペプチドの合成手法が確立されている時代ではないことから、細かな実験手法のノウハウ的な質問も多く見られて面白い。なお、この手書きの質疑応答集は、1981 年の第 19 回シンポジウムまで、ハードカバーの Proceedings とは別の小冊子として編集され、Proceedings とともに配布されている。口頭発表がほとんどであった時代から、その場で発表者と議論・意見交換できるポスター発表が大半を占めるような



（ ふうたき しろう ）
京都大学化学研究所
futaki@scl.kyoto-u.ac.jp

（ まつざき かつみ ）
京都大学大学院薬学研究科
mkatsumi@pharm.kyoto-u.ac.jp

現在の学会発表スタイルへの転換期でもあったのであろう。

さて著者が初めて学会といったものにデビューしたのが、この第 10 回のペプチド化学討論会（1972 年、札幌）であった。「Substance P の合成」の演題で口頭発表したが、まだ修士課程 1 年次の学生であり、「質問が来たらどうしよう」と京都を出発する前から非常に緊張したことを覚えている。学部 4 年次に矢島治明先生のもとでペプチド合成の手解きを受けて、最初に与えられたテーマであり、私のペプチド研究の原点でもあった。当然のことながら液相法での合成であり、各段階での保護ペプチドの精製には時間がかかり、大変苦勞をした。特にグルタミン含有の保護ペプチドの難溶性には苦勞し、再結晶溶媒に溶かすだけで 1 日を費やしたこともあった。なんとか 1 年半ほどで目的のペプチドが得られ、学会発表に至ったのは幸運であったというしかない。

その後何度かペプチド討論会に、「硫酸化チロシン含有ペプチドの化学合成」に関する内容を中心にポスター発表させていただいた。1972 年当時とは違って Fmoc 固相法に立脚した合成手法の開発と大分子型の硫酸化ペプチドへの展開を行った内容である。古くからチロシン硫酸化を受けたペプチドの化学合成は、硫酸エステル基が酸に不安定なことから難しいものとされていたが、Fmoc 固相法で構築した保護ペプチド樹脂を低温下で TFA による最終脱保護を行うことで硫酸基の損失を最小限に抑制できることを示し、15~20 残基程度の硫酸化ペプチドの簡便な合成法として確立することができた。さらに、チオエステル縮合法を組合せて、大分子型の硫酸化ペプチドの化学合成へと展開することもできた。

近年は勤務する大学の運営等に学部長として関わることが多くなり、自然と学会への足も遠のいた。久しぶりに 2014 年の第 51 回討論会（徳島）に参加したが、徳島は私が新潟へ転任する前に 20 年近く過ごした地でもあり、なつかしく大学構内や近くの街中を散策した。退職が近い時期ではあったが、在籍していた博士課程学生が取り組んでいたインスリン製剤の Fibril 形成について発表を行った。コントロールとしてインスリン製剤として市販されていないインスリンアナログが必要であったことから、これらの化学合成も含めた発表となった。著者が米国留学時（1979~1981）に携わったインスリン誘導体の合成を、研究生生活の最後の発表に応用できたことに感慨深いものを感じている。

最後に冒頭のペプチド学会 Proceedings のことに戻るが、毎年の学会要旨集を英文のハードカバー版として刊行しているというのは、他の学会では耳にしない。編集にあたってこられた毎年のシンポジウム主催者、（財）蛋白質研究奨励会に敬意を表するとともに、今後も日本のペプチド科学の伝統が、深緑色のハードカバー版から伝えられていくことを念願して筆を置く。

（きたがわ こうき
前新潟薬科大学薬学部教授
kouki@nupals.ac.jp）

超分子バイオミメティック錯体の細胞内導入

1. はじめに

同志社大学理工学部の北岸宏亮と申します。このたびは本ニュースレターへの寄稿の機会を与えてくださった大阪府立大学の中瀬生彦先生に心より感謝申し上げます。日頃から二木先生・中瀬先生のご研究を参考に、細々と研究を続けておりました。このような自らの研究を紹介する機会を与えていただき、身に余る光栄に存じます。



北岸 宏亮

筆者はこれまでにシクロデキストリンが形成する超分子錯体についての研究に取り組んできました。その過程でどうしてもシクロデキストリンとポルフィリンの超分子錯体を細胞内に送達させたいという事情があり、膜透過性ペプチドの利用を思いついた次第です。本稿では、筆者がこれまでに取り組んできた超分子錯体と、まだまだ発展途上ではありますが、膜透過性ペプチドを利用した最近の研究成果について紹介させていただきます。

2. CO レセプターとして機能する鉄(II)

ポルフィリン/シクロデキストリン超分子錯体

シクロデキストリン（CD）とは、 α -D-グルコピラノース単位が環状に 6, 7, あるいは 8 つ繋がった環状化合物の総称である（図 1）。内部に疎水空洞を有しており、そこへサイズの適したさまざまな疎水性分子を包接することから、水溶性ホスト分子として、化学分野だけでなく食品、化粧品、医薬分野まで幅広く用いられる。

グルコピラノース単位の数が 7 つである β -CD

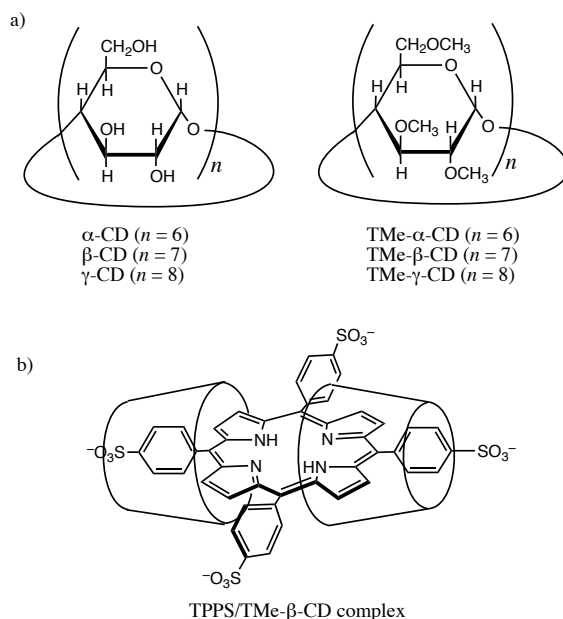


図 1 (a) CD およびメチル化 CD, (b) 水溶性ポルフィリンとメチル化 CD の包接錯体。

のすべての水酸基を *O*-メチル化した 2,3,6-tri-*O*-methyl- β -CD (TMe- β -CD) は、水中でテトラフェニルポルフィリン類と特異的に強く結合し、図 1 に示したような 2:1 の強固な包接錯体を形成する。この包接錯体は極めて安定で、かつポルフィリン周辺に強固な疎水環境を構築することができる。

我々の研究室では、この錯体の特徴を活かしてヘムタンパク質の水中バイオミメティック錯体の開発に取り組んできた (図 2)。水中におけるポルフィリン類の疎水場への隔離は、天然のヘムタンパク質に見られるヘムポケットの機能と類似している。図 2 に示した hemoCD という錯体は、水中でミオグロビンやヘモグロビンと同じように、酸素 (O_2) や一酸化炭素 (CO) と可逆的に結合するバイオミメティック錯体である。ガス分子の結合が可能なポルフィリン Fe(II) 錯体の状態は通常は不安定で、すぐに Fe(III) 錯体へと酸化されてしまう。一方 hemoCD では、メチル化 CD 二量体の包接効果により、Fe(II) の状態が長く保たれる [半減期で約 30 時間 (水中・室温・pH 7)]¹。hemoCD は O_2 結合能がヘモグロビンのものと近いために、血液の代わりに O_2 を運ぶ人工酸素運搬体としての利用が期待される。一方、CO に対する結合能がヘモグロビンのものよりも約 100 倍高く、ヘモグロビンから CO を奪う特性もあることがわかった。

3. 生体内 CO の擬ノックダウン

hemoCD を人工酸素運搬体として用いる目的で、hemoCD 溶液のラットへの血中投与実験を行った。投与後はとくに目立った毒性は見られなかったものの、投与から 30 分程度ですべての hemoCD が尿中へと排出された。この錯体は、水溶性が高く、分子サイズが小さいために、容易に糸球体ろ過されたも

のと考えられる。驚くべきことに、尿中に排出された hemoCD は、CO 錯体であった² (図 3)。ラットには CO ガスを吸わせていない。したがって排出された CO はラットが保有する内在性のもの由来である。

CO は毒性ガスである一方、NO や H_2S と同様に生体内でシグナル伝達を行うガス状メディエーターとしても知られる。しかし、その生理機能の全容は明らかにはされていない。筆者は、hemoCD が内在性 CO を除去する性質を利用すれば、内在性 CO を一時的に低減させた“擬ノックダウン”状態をつくることができ、それを CO の生理機能解明に役立てることができるのではないかと考えた。実際に hemoCD を投与して CO を欠乏させたマウスの体内では、CO を産生するための酵素ヘムオキシゲナーゼ-1 の発現が亢進しており、CO の選択的除去とそれに伴う CO 向上性維持のためのフィードバック機構が我々のバイオミメティック錯体により初めて明らかとなった³。

4. どのようにオクタアルギニンを付けるか？

CO によるシグナル伝達は主に細胞内において行われると考えられている。したがって hemoCD を細胞内に送達し、内在性 CO を捕捉した擬ノックダウン細胞をつくることができれば、CO の生理機能解明がさらに進められると考えた。しかし残念ながら、hemoCD は全く細胞膜透過性を示さなかった。そこで何らかの分子デザインの変更が必要となった。その際、京大の二木史朗先生らがオクタアルギニン (R8) を高性能の膜透過性ペプチドとして研究されていることを知り、その知見を参考に hemoCD に R8 をコンジュゲートさせる合成実験に挑戦した。

hemoCD の分子構造に R8 の部分を追加するにあたり、ポルフィリン側につけるか、CD 側につけるか迷い、結局は両方のアプローチに挑戦した。テトラフェニルポルフィリン側にアミドを介して R8 をコンジュゲートした **1** (図 4) は、良好な細胞膜透過性を示し、TMe- β -CD を加えると 1:2 錯体を形成して細胞質内にポルフィリンが拡がった⁴。しかし残念ながら、**1** の Fe(II) 錯体は、メチル化 CD 二量体に包接させても不安定で、水中で十分な CO 結合能を示さなかった。hemoCD と異なり **1** には置換基にスルホナト基がないために、メチル化 CD 二量体との包接錯体があまり安定化されなかったのではないかと考えた。

TPPS のようなアニオン性ポルフィリンに R8 を縮合させるために混合すると、強固な静電相互作用により沈殿してしまう。そこで、ポルフィリンにテトラグルタミン酸を結合させた **2** (図 4) を合成し、それにメチル化 CD 二量体およびドデカアルギニン (R12) を加えることで、アルギニンとグルタミン酸同士の静電相互作用を介した細胞内導入を狙った⁵。この試みは上手く機能し、CO 親和性の高い包接錯体を細胞内に導入することができた。しかしながら、R12 は細胞毒性が無視できないレベルであり、以降我々の研究室において汎用できるものではなかった。

オリゴアルギニンとアニオン性ポルフィリンとの静電相互作用による沈殿形成を妨げるために、メチル化 CD 二量体を予め混ぜておくとういことが分

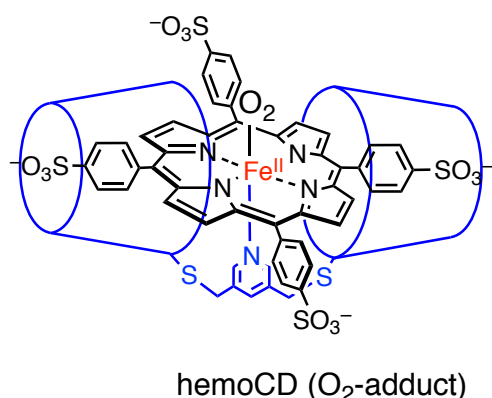


図 2 水中ヘムタンパク質ミメティック錯体 hemoCD。

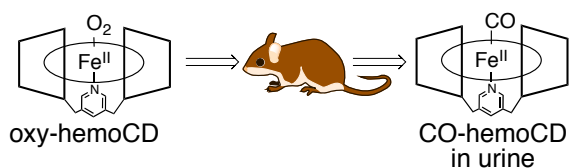


図 3 hemoCD は動物体内の内在性 CO を捕捉して排出する。

かった。その際、水中で混ぜるだけで反応が進行するマレイミド/システイン間の付加反応を採用したのが功を奏した⁶ (図 4)。このようにして合成した R8-hemoCD は、細胞内に侵入し、内在性の CO を捕捉して細胞機能に影響を及ぼした。現在、R8-hemoCD による細胞内 CO の擬ノックダウンと、それによる CO の生理機能解明にアプローチしている。

5. 膜透過性 CD のドラッグデリバリーツールとしての可能性について

上述のように hemoCD の細胞内導入を検討する過程において、メチル化 CD の側鎖にオリゴアルギニンをクリック反応により導入した分子を合成した。図 5 に示した R8 修飾 CD 誘導体 (R8-CD および R8-CD^{Me}) は、TPPS 等のアニオン性ポルフィリンと強く相互作用し、包接錯体を形成した⁷。これらの CD は細胞膜を透過できないポルフィリン類を包接して細胞内へとデリバリーすることが示された。さらに最近、ポルフィリン以外の様々なゲスト化合物についても、包接錯体を形成して細胞内へデリバリーできることがわかってきている。したがって、R8-CD は細胞膜を透過できない分子に対して、非共有結合的に相互作用し細胞内へと運ぶことのできる超分子的細胞内デリバリーを達成できる分子ツールであると考えている。現在、R8-CD を用いたドラッグデリバリーの研究に取り組んでおり、どのような分子の細胞内デリバリーに需要があるのかを模索している。

6. おわりに

ポルフィリンとシクロデキストリンを用いてヘムタンパク質のモデル錯体開発に取り組んできたが、膜透過性ペプチドを利用することにより、研究を生

化学分野へと進展させることができた。ペプチドの利用を始めると、その性能もさることながら、合成や精製方法にも独自のノウハウが有り、大変勉強になった。もうすでに一般的なツールであると思われるが、今後もより多くの化学者がペプチドの性能や多様性に目を向け、自身の系に積極的に取り入れていくようになればと思う。

謝辞

本研究の大部分は同志社大学理工学部の機能有機化学研究室で実施されたものであり、2014 年に退職された加納航治先生、研究に携わった学生・大学院生の皆様に、心より感謝申し上げます。また同志社女子大学薬学部の根本滋先生をはじめ、多くの共同研究者に助けていただきました。この場を借りて心より感謝申し上げます。最後になりましたが本稿執筆の機会を与えていただき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. Kano, K.; Kitagishi, H.; Dagallier, C.; Koder, M.; Matsuo, T.; Hayashi, T.; Hisaeda, Y.; Hirota, S. *Inorg Chem* 2006, 45, 4448–4460.
2. Kitagishi, H.; Negi, S.; Kiriya, A.; Honbo, A.; Sugiura, Y.; Kawaguchi, A. T.; Kano, K. *Angew Chem Int Ed* 2010, 49, 1312–1315.
3. Kitagishi, H.; Minegishi, S.; Yumura, A.; Negi, S.; Taketani, S.; Amagase, Y.; Mizukawa, Y.; Urushidani, T.; Sugiura, Y.; Kano, K. *J Am Chem Soc* 2016, 138, 5417–5425.
4. Kitagishi, H.; Hatada, S.; Itakura, T.; Maki, Y.; Maeda, Y.; Kano, K. *Org Biomol Chem* 2013, 11, 3203–3211.

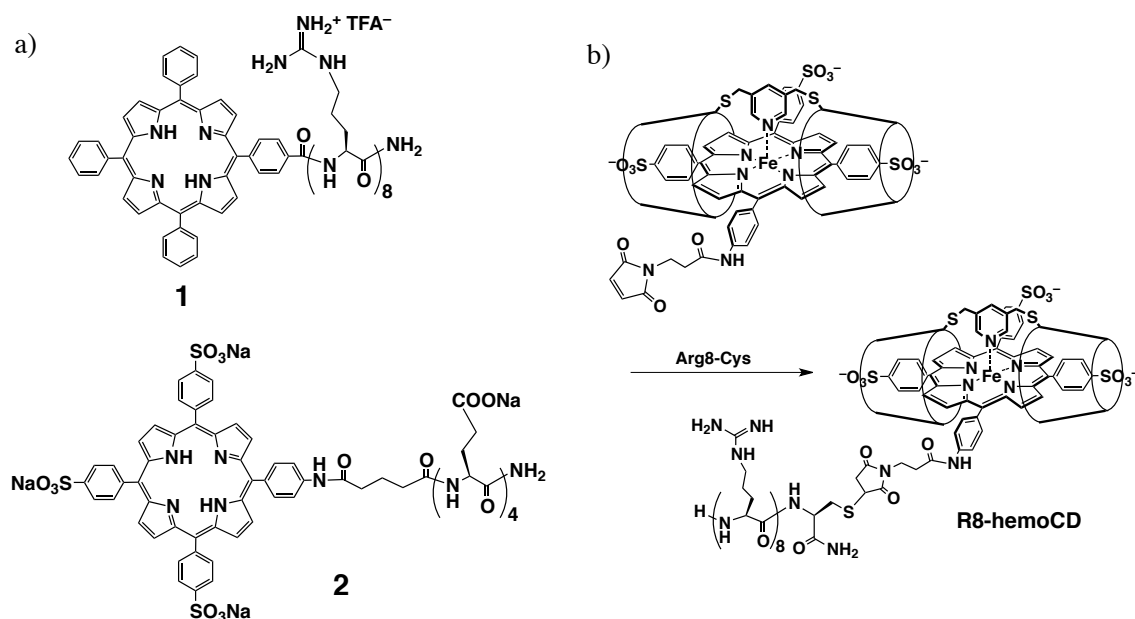


図 4 ペプチド修飾ポルフィリン誘導体。(a) R8 修飾ポルフィリン (1) およびテトラグルタミン酸修飾ポルフィリン (2)。1 は CD と、2 は CD および R12 と錯体を形成して細胞内へと運ばれる。(b) マレイミド修飾 hemoCD とシステイン残基との特異的な反応を利用した膜透過性 CO 除去分子 R8-hemoCD の合成。

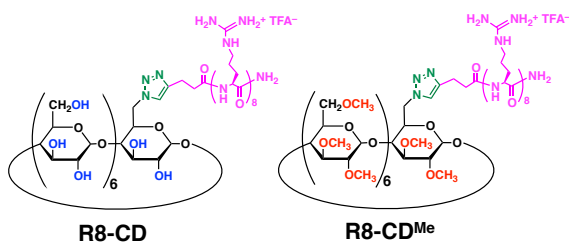


図5 R8 修飾 CD 誘導体。適したゲスト分子を包接し、細胞内にデリバリーする機能を持つ。

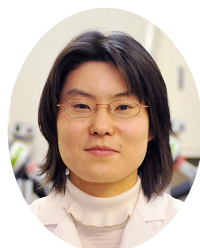
5. Kitagishi, H.; Minami, K.; Kano, K. Chem Lett 2014, 43, 1095–1097.
6. Minegishi, S.; Yumura, A.; Miyoshi, H.; Negi, S.; Taketani, S.; Motterlini, R.; Foresti, R.; Kano, K.; Kitagishi, H. J Am Chem Soc 2017, 139, 5984–5991.
7. Kitagishi, H.; Chai, F.; Negi, S.; Sugiura, Y.; Kano, K. Chem Commun 2015, 51, 2421–2424.

きたぎし ひろあき
同志社大学 理工学部
機能分子・生命化学科
hkitagis@mail.doshisha.ac.jp

樹状高分子デンドリマーへの付与による ペプチドの高機能化

はじめに

筆者が日本ペプチド学会に入会したのは、2011年1月のことである。きっかけは、前年の2010年12月に京都で開催された5th International Peptide Symposium（木曾良明先生が主催）での Dr. Louis Moroder Award（優秀発表賞）の受賞であった。当時、テニュアトラック教員^(注)として、研究室を立ち上げて間もない時期であり、自分の研究が評価されたことが大変うれしかったことを今でもよく覚えている。そして、この



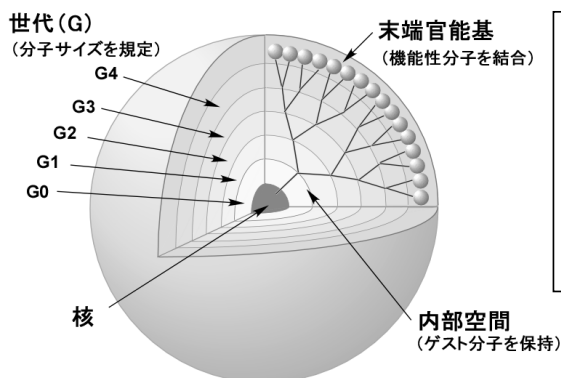
児島 千恵

受賞はその後の私の研究生生活の大きな励みとなった。

このように、ペプチド学会に入会してまだ日が浅いので、簡単に自己紹介をさせていただきたい。筆者は、大阪府立大学大学院工学研究科機能物質科学分野で修士課程を修め、高分子を利用したドラッグデリバリーに関する研究を行った（主査：高岸徹教授、河野健司准教授）。一方、博士課程では京都大学大学院生命科学研究科で分子生物学について学び、イノシトールリン脂質による蛋白質の相互作用制御と細胞膜変形への影響に関する研究を行った（主査：佐邊壽孝教授）。学位取得後は、大阪府立大学の出身研究室（河野健司教授）に戻り、その後、上記のテニュアトラック教員を経て、2014年から現職に就いた。テニュアトラック時代に小さい個人研究室を発足させて、はや10年。この間、少数精鋭の学生さんとともに、高分子を利用したナノメディシンやバイオマテリアルに関する研究を進めている。筆者はペプチド科学を専門とする研究者ではないが、専門外目線からのペプチドの新たな活用法をお示しできればと思う。

樹状高分子、デンドリマー

筆者は、デンドリマーと呼ばれる特長的な高分子化合物のバイオ応用を主題として、研究を進めてきた。デンドリマーは樹状構造をもつ合成高分子化合物であり、機能性材料として様々な分野での利用が検討されている。一般に高分子はモノマーの重合によって合成されるが、デンドリマーは核となるコア分子から段階的な繰り返し反応によって分子鎖を成長させていくため、合成高分子であるにも関わらず分子量が均一でかつ精密に制御することができる。反応の繰り返し回数はデンドリマーの世代数に対応し、これによってデンドリマーの末端数や粒径が決定される。例えば、市販されているエチレンジアミンコアのポリアミドアミン（PAMAM）デンドリマーでは、世代数が一つ増加するにつれて、末端官能基数は2倍に、粒径は約1 nm増加する。また、末端の構造によって表面状態を制御することもできる。さらに、末端の反応性官能基や内部空間を利用して、様々な機能性物質および生理活性物質を共有結合もしくは非共有結合を介して付与することができる。このようにデンドリマーは、粒径や表面状態の制御が可



デンドリマーの特徴

- ①蛋白質と同程度の大きさ
→単分子ナノ粒子として利用
- ②分子サイズや構造を精密に制御
→EPR 効果や組織拡散速度の制御によるデリバリー制御
- ③反応性末端や内部空間に結合&内包可能
→薬物やイメージング剤を担持可能

図1 デンドリマーの構造と特徴。

(AML)の細胞内に選択的に取り込まれる CPP44 ペプチド (KRPTMRFRYTWNPMK) を同定し、これにがん抑制遺伝子 (p16^{INK4a} など) のペプチド (FLDTLVVLHRGPRRRR) を連結したペプチドが AML に対して選択的な抗がん活性を示すことを報告した¹³。また、これらのペプチドの間に腫瘍細胞でみられるカテプシン B の基質配列 (GFLG) を挿入したペプチドは、より高い抗がん活性を示した¹⁴。そこで、デンドリマーのデリバリー能を利用して、さらなる抗がん活性の向上を目指した。図 3 に示すような、CPP44 ペプチドと p16^{INK4a} ペプチドを連結させたペプチドを結合したデンドリマー (直列型) と各々のペプチドを別々に結合したデンドリマー (並列型) を設計した。そして、これらのデンドリマーの AML 細胞への取り込み能と抗がん活性について検討を行った。

CPP44 と p16^{INK4a} を結合させたデンドリマーでは、並列型・直列型に関わらず、ペプチド単独よりも高い抗がん活性を示した。また、並列型のデンドリマーは直列型のデンドリマーよりも抗がん活性が高いことがわかった。一方、CPP44 を結合したデンドリマーでは急性白血病由来の細胞への選択的かつ効果的な取り込みが見られ、並列型のデンドリマーは直列型のデンドリマーよりも細胞への取り込み能が低いことがわかった。このように、並列型のデンドリマーは、直列型のデンドリマーよりも細胞への取り込みが少ないにも関わらず、抗がん活性が高かった。これは、抗がん活性は細胞への取り込みだけでなく、抗がん活性ペプチドの放出挙動も関与していることが示唆された。以上のように、デンドリマーは様々な機能を持つペプチドのプラットフォームとして有用であり、その設計において結合様式が重要であることが明らかとなった¹⁵。現在、このデンドリマーにイメージング剤などを導入して、治療と診断の両方を行うことができるセラノスティックデンドリマーの作製を行っている。

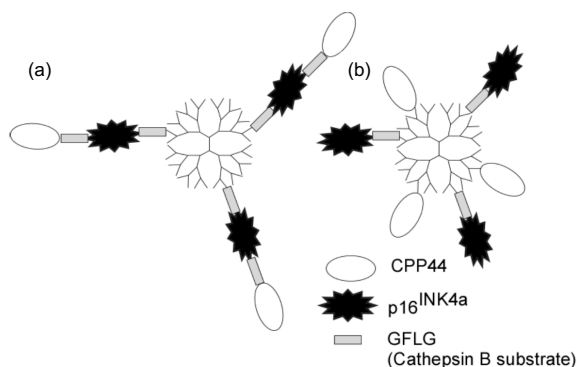


図 3 直接型デンドリマー (a) と並列型デンドリマー (b)。CPP44 は腫瘍ホーミング膜透過ペプチド、p16^{INK4a} は腫瘍殺傷ペプチド、GFLG は腫瘍細胞で高発現しているカテプシン B の基質ペプチドである。

おわりに

このように、ペプチドをデンドリマーという高分子に結合させることで、ペプチド単独では得られない新たな機能を付与することができ、様々なペプチドを組み合わせることで合目的なナノ粒子を設計・作製することが可能であることを示してきた。デンドリマーに付与してみたいペプチドをお持ちであれば、是非、筆者までご一報いただければと思う。

個人研究室での研究は人的・物理的・経済的な制限があるため、多くの研究者の方のご協力を得ながら進めてきた。特に、本稿で記載の研究は、京都工芸繊維大学の田中直毅教授、新潟大学の近藤英作教授、齋藤憲准教授との共同研究にて実施したものである。また、科学研究費補助金、科学技術振興調整費 (若手研究者の自立的な研究環境整備促進)、コスメトロロジー研究振興財団、徳山科学技術振興財団などから研究助成をいただいた。ここに深謝いたします。

(注) テニユアトラック制とは任期付き雇用により、若手研究者が自立した研究環境で研究・教育者としての経験を積み、最終審査によって専任教員となるキャリアパスを提供する制度。

参考文献

1. Kojima, C. *Expert Opin Drug Deliv* 2010, 7, 307–319.
2. Kojima, C. *Smart Materials for Drug Delivery*, RSC, 2013, 94–114.
3. 児島千恵 *化学工業*, 2011, 62, 431–435.
4. 児島千恵; 小川美香子 *バイオマテリアル*, 2012, 29, 88–94.
5. 児島千恵 *ケミカルエンジニアリング*, 2012, 57, 20–25.
6. 児島千恵 *化学工業*, 2015, 66, 855–860.
7. Suehiro, T.; Waku, T.; Nakahira, A.; Tanaka, N.; Kojima, C. *Biopolymers*, 2011, 95, 270–277.
8. Kojima, C.; Suehiro, T.; Tada, T.; Sakamoto, Y.; Waku, T.; Tanaka, N. *Soft Matter*, 2011, 7, 8991–8997.
9. Kojima, C.; Tsumura, S.; Harada, A.; Kono, K. *J Am Chem Soc*, 2009, 131, 6052–6053.
10. Kojima, C.; Suehiro, T. *Chem Lett*, 2011, 40, 1249–1251.
11. Kojima, C.; Irie, K.; Tada, T.; Tanaka, N.; *Biopolymers*, 2014, 101, 603–612.
12. Fukushima, D.; Sk, U. H.; Sakamoto, Y.; Nakase, I.; Kojima, C. *Coll Surf B*, 2015, 132, 155–160.
13. Kondo, E.; Saito, K.; Tashiro, Y.; Kamide, K.; Matsushita, M. *Nat Commun*, 2012, 3, 951.
14. Saito, K.; Iioka, H.; Kojima, C.; Ogawa, M.; Kondo E. *Cancer Sci*, 2016, 107, 1290–1301.
15. Kojima, C.; Saito, K.; Kondo, E.; *Res Chem Intermediates*, 2018, 44, 4685–4695.

自己集合性ブロックポリペプチドによる 機能性ナノファイバーの創製

1. はじめに

名古屋大学の鳴瀧と申します。このたび、中瀬生彦先生より執筆の機会を頂戴しましたこと、厚く御礼申し上げます。筆者は、自己組織化—混沌とした状態から秩序が生まれること—to魅せられ、分子集合体の研究に長年取り組んで参りました。自己組織化との出会いは、東京大学の加藤隆史先生のもとで、超分子液晶や無機結晶の美しい秩序構造に触れたことが原点です。高分子／無機ハイブリッドの研究で、2004年に博士の学位を取得しました。その後、東京医科歯科大学（現京都大学）の秋吉一成先生のもとで、高分子ナノゲルの研究にポストドクとして従事し、自己組織化とバイオ応用の接点に興味を持ちました。そのうちに、両先生とは異なるオリジナルの「マイ分子」をつくりたいという願望が高まり、カリフォルニア工科大学の David Tirrell 先生のもとで遺伝子工学による人工タンパク質合成を学びました。帰国後、2013年に初代の「マイペプチド」が完成し、現在は、このペプチドや誘導体からなる分子集合体を、再生医療研究に役立てたいと奮闘しています。再生医療の勉強を始めてから、個体の発生においても、細胞の「自己組織化」モデルが笹井芳樹先生によって提唱されたことを知りました。自然界における秩序形成の普遍性と多様性に、自己組織化への興味は高まる一方です。前置きが長くなりましたが、本稿では、エラスチン類似ブロックポリペプチドの開発にかかわる経緯、およびその自己集合性と機能について、余談も交えてご紹介したいと思います。



鳴瀧 彩絵

2. エラスチン

エラスチンは、その名のとおりに、弾性 (elasticity) に関わる細胞外マトリクスタンパク質である。日常的に伸縮を繰り返す組織である血管、皮膚、肺、靱

帯などに多く含まれ、生体組織にゴムのような弾性と復元性を与える¹。細胞は、周囲の化学的・電氣的シグナルのみならず、かたさ・やわらかさといった力学特性をも感知してその振る舞いを決定するので、エラスチンは、弾性組織の細胞周辺環境を再現する足場材料として高いポテンシャルを持つと期待される。しかしながら、エラスチンは生体内で高度に化学架橋されており水に溶けないことから、材料としてのハンドリング性に課題がある²。そのため、他の細胞外マトリクス成分であるコラーゲンやフィブロネクチン、ラミニン、ヒアルロン酸などとくらべ、バイオ研究への活用がきわめて遅れている。

エラスチンは、水溶性のモノマータンパク質（トロポエラスチン）の形で細胞から分泌され、自己集合と分子間架橋を経て成熟した線維状組織を形成する。トロポエラスチンは図1のようなドメイン構造を持ち、繰り返しアミノ酸配列に富む分子である³。疎水的なドメインと親水的なドメインが交互に配置しており、疎水的なドメインはエラスチンの自己集合性に、親水的なドメインは架橋反応に関与する。Weissらはトロポエラスチン全長を遺伝子工学的に合成し、バイオマテリアルとして精力的に活用している^{1,4}。トロポエラスチンが *in vivo* で血管の形成を促進し、創傷治癒を促進する効果を持つことが報告されている⁴。

3. エラスチン類似ポリペプチド

エラスチン由来のアミノ酸配列を含み、人工的に作製されるタンパク質は、エラスチン類似ポリペプチド (Elastin-Like Polypeptide; ELP) と呼ばれる。なかでも、トロポエラスチンの疎水性ドメインにおいて頻繁に見られる Val-Pro-Gly-Xaa-Gly (VPGXG) の反復配列をモデル化した poly(VPGXG) は、エラスチンらしい物理化学的性質を示すことが Urry らの一連の研究によって明らかにされた⁵。Poly(VPGXG) は下限臨界共溶温度 (LCST) を持ち、LCST 以上で自己集合して水溶液から相分離する。ここで、poly(VPGVG) の4番目のバリン (V) をプロリン以外のアミノ酸に置換すると、LCST を任意に制御できる。この温度応答性が注目され、ELP は薬剤送達システム (DDS) のキャリアや、組換えタンパク質の精製用タグとして大きく研究が展開した^{6,7}。また poly(VPGXG) は β -turn 構造に富み、その水和状態と関連してエントロピー弾性を示す⁸。このため、ELP を用いて特徴的な力学特性を持つフィルムやゲルを構築し、生体模倣 extracellular matrix (ECM) として利用する試みが進められている^{9,10}。この場合、ELP に、反応

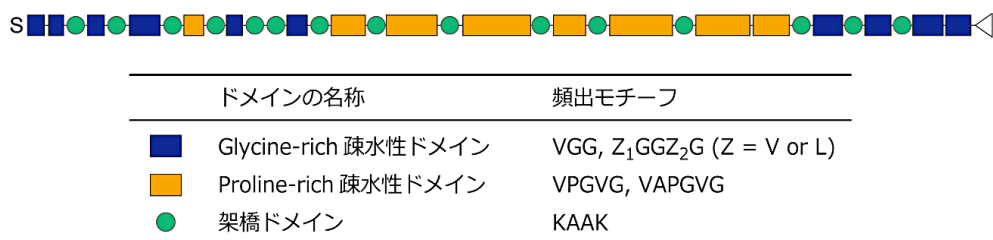


図1 トロポエラスチンのアミノ酸配列に見られるドメイン構造。Sはシグナル配列を示す。

性の高いリシンやシステイン等の残基を導入し、化学架橋して不溶化することがしばしば行われる。また、poly(VPGXG) 配列は細胞接着性に乏しいため、コラーゲンやフィブロネクチン、あるいはラミニンに見られる細胞接着性配列を付加して利用されることが多い。さらに、ELP の興味深い性質のひとつに、血小板を粘着しにくい性質が挙げられる¹¹。ELP へのタンパク質の低吸着性がこの理由として考えられているが、メカニズムは明らかになっていない。この特徴を生かし、抗血栓性の人工血管用材料としての利用が進められている¹²。

4. ナノファイバー形成能を持つエラスチン類似ポリペプチド

生体内においてエラスチンは、線維状の ECM として存在し、細胞を支持している。生体 ECM の形状を模倣するために、エレクトロスピニング法によって ELP を紡糸する研究が報告されている¹³。この場合、形態は模倣できるが、分子の配向性などを含めたマイクロ環境の制御には限界がある。筆者らは、ELP に内在する温度応答性を利用して、自己組織的にナノファイバーを形成するような ELP をつくりたいと考えた。従来の ELP は、LCST 以上で無秩序な凝集体を生じる。これは、poly(VPGXG) の自己集合が、方向性を持たない疎水性相互作用に支配されているからである。そこで本研究では、poly(VPGXG) (P 配列) の両末端に、分子間で水素結合が可能な poly(VGGXG) (G 配列) を配置したトリブロックペプチドをデザインし、この「マイ分子」を **GPG** と名付けた¹⁴ (図 2 (a))。これは、トロポエラスチンの

ドメイン構造 (図 1) をきわめて単純化したモデルに相当する。トロポエラスチンは、プロリンに富むドメインを分子中央部に、グリシンに富むドメインを分子の両末端に有する。グリシンに富むドメインは、自己集合してアミロイド様の線維を形成する傾向があり¹⁵、筆者らはこのドメインがエラスチンの線維形成に関与していると予想した。このようにして開発された **GPG** は、トロポエラスチンの 2 つの疎水性ドメインからなるブロックポリペプチドであるため、“double-hydrophobic (二重疎水性)” のペプチドと定義して論文のタイトルとした¹⁴。余談であるが、筆者は博士論文研究で Cölfen や Antonietti らの “double-hydrophilic” 高分子の論文をよく読んでおり¹⁶、“double-hydrophobic” はこれに着想を得たネーミングである。**GPG** が Cölfen の分子のように、人の印象に残る分子となることを願って命名した。

GPG を冷水に溶解したのち 37 °C 以上に加温すると、自己集合して太さ 50 nm 程度のナノファイバーを形成する。曲がりくねった、柔軟性に富む外観が特徴的であり、アミロイド検出試薬である Thioflavin T や Congo Red でこのナノファイバーは染色されない¹⁶。また、ナノ粒子が連なった数珠状のモルフォロジーを有する。ファイバー形成に伴って水中で沈殿を生じることはなく、透明な分散液として得られる。このことから、基板への塗布や他素材との混合といった使い方ができる。

図 2 (b), (c) は、円二色性 (CD) スペクトル測定および原子間力顕微鏡 (AFM) により、**GPG** 濃度が 20 μM、45 °C の条件でのファイバー形成過程を調べ

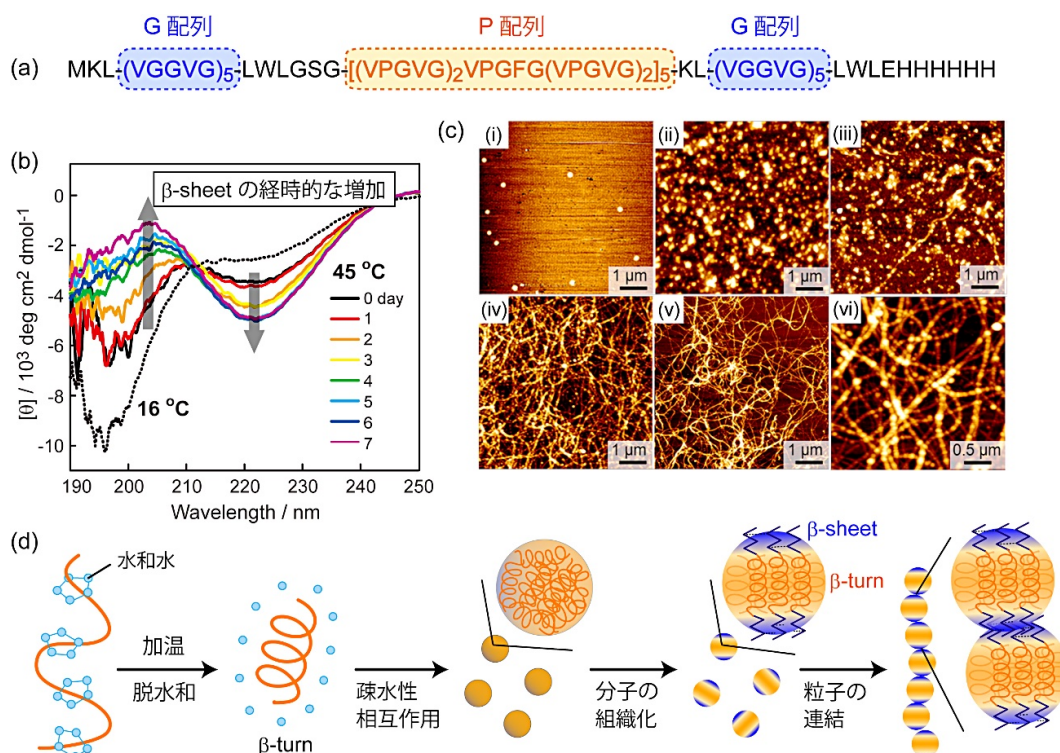


図 2 (a) **GPG** のアミノ酸配列。(b) **GPG** の水中における CD スペクトル。(c) **GPG** の AFM 像：(i) 加温直後、(ii), (iii) 1 日後、部分的にナノファイバーが見られる、(iv) 2 日後、(v) 7 日後、(vi) 7 日後のファイバーの拡大像。(d) 予想される自己集合過程。アメリカ化学会の許可を得て文献 13 を一部改変。

た結果である¹⁴。CD により、冷水中で **GPG** は、ランダムコイル性の高い分子として存在する。この水溶液を加温すると、**GPG** はすぐに β -turn 構造へと転移し、その後一週間かけてゆっくりと β -sheet 構造の割合を増加させていく (図 2 (b))。AFM では、45 °C に加熱して 1 日後まではナノ粒子が観察されるが、2 日後にはナノファイバーへと変化していた (図 2 (c))。数珠状ファイバーの形成過程を図 2 (d) のように予想している¹⁴。まず温度応答性の P 配列が脱水和して β -turn 構造を形成し、疎水的に凝集してナノ粒子を形成する。その後、粒子内で、分子の両極に位置する G 配列が β -sheet 構造を形成する。さらに粒子間で β -sheet 構造が相互貫入し、数珠状のナノファイバーが形成される。対照実験として、各ブロックのみ (P 配列または G 配列) を同じ条件で加温しても、ナノファイバーは得られない。これらは、加温すると瞬時に平衡状態に達し、P 配列は β -turn 構造に富むナノ粒子、G 配列は β -sheet 構造からなる短線維を形成する。一方で、P 配列と G 配列を連結したジブロック体は、トリブロック体と同様に、数珠状ナノファイバーを形成できる。ナノファイバー形成の鍵は、疎水性自己集合による粒子形成が早い段階で起き、その後、P 配列に連結されて運動性の低下した G 配列が、分子間で徐々に β -sheet 構造を形成することにあると考えている。すなわち、各セグメントのブロック化により、2 種類の自己集合が異なるタイムスケールで発現するようになった。ファイバー形成の駆動力は水素結合であるので、トリフルオロエタノール (TFE) のような有機溶媒を系に添加して溶媒の誘電率を低下させると、ファイバー形成時間は 1 時間以内にまで短縮された¹⁷。

5. GPG 誘導体による機能性ナノファイバーの創製

GPG 配列は自己集合性においてロバストであり、ナノファイバー形成能を維持したまま、ポリペプチドの C 末端へ様々な機能性モチーフを導入できる¹⁸⁻²⁰。たとえば、トロポエラスチンの架橋ドメインに見られる KAAK モチーフを付加した誘導体は、ナノファイバー形成後に bis(sulfosuccinimidyl)suberate

による化学架橋が可能である¹⁸。未架橋のナノファイバーは、室温以下の温度で可逆的に分解するが、架橋処理したナノファイバーは分解せず、温度変化に対して安定であった。

生体と接触させて用いるバイオマテリアルには抗菌性が求められることが多い。銀は、比較的高範囲の種類の細菌に対して抗菌効果を発揮でき、かつ生体毒性の低い抗菌剤として注目されている。**GPG** に銀結合性モチーフである AYSSGAPMPPF を付加した誘導体は、銀イオンの還元効果を持つ¹⁹。この **GPG** 誘導体からナノファイバーを形成させて架橋したのち、室温の硝酸銀水溶液中で 3 日間処理すると、ファイバー上に銀のナノ粒子が析出する。**GPG** は単独では大腸菌の増殖を抑制できないのに対し、銀担持ナノファイバーは抗菌活性を示した。

最近、**GPG** ナノファイバーを、新しい細胞培養足場として応用する研究を進めている。**GPG** に細胞接着性を付与するために、フィブロネクチン由来の細胞接着性配列である GRGDS を付加した誘導体を作製した²⁰。GRGDS 付加体が形成するナノファイバーは、ポリスチレン製の細胞培養プレートにコーティングでき、血清を含む DMEM 培地と接触させても安定にファイバー構造を保つ。マウス胎仔由来線維芽細胞 (NIH-3T3) を用いて細胞の接着性と増殖性を評価したところ、GRGDS 付加体のナノファイバーはフィブロネクチンと同等の細胞接着性・増殖性を示した (図 3)。一方、未修飾の **GPG** ナノファイバーの細胞接着性はポリスチレンよりも低かった。これらの結果は、自己集合性ナノファイバーにおいて、親水的な GRGDS 配列がファイバー表面に効果的に提示されていることを示している。

6. おわりに

本稿では、エラスチン類似ブロックポリペプチド **GPG** を用いて生体模倣 ECM を作製する取り組みを紹介しました。生体温度でナノファイバーを形成し、ハンドリング性に優れた本ペプチド材料は、基材へのコーティングや他のマトリクスへの混合といった

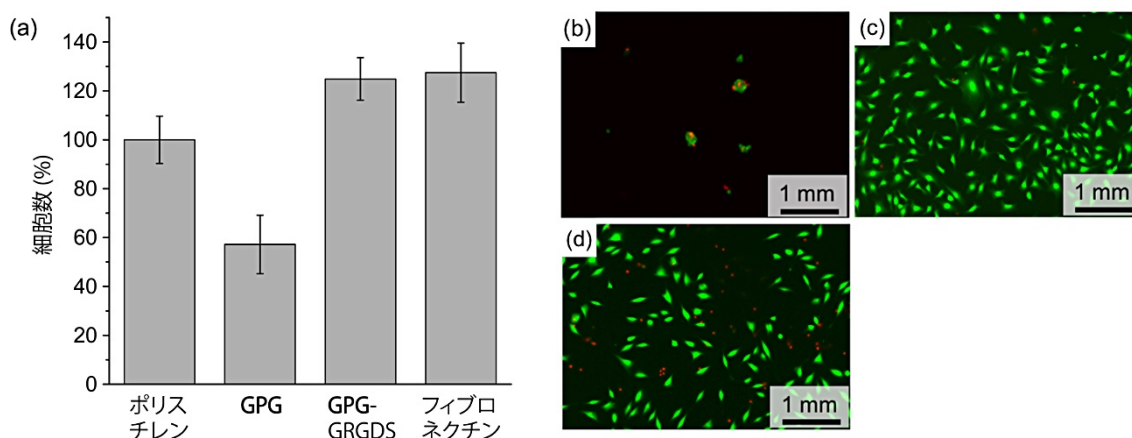


図 3 各表面における NIH-3T3 細胞の (a) 相対的な細胞数および (b-d) 蛍光顕微鏡像：(b) **GPG** ナノファイバー、(c) GRGDS モチーフを付加した **GPG** ナノファイバー、(d) フィブロネクチン。(b-d) において緑は生細胞、赤は死細胞を示す。Wiley の許可を得て文献 19 を一部改変。

使い方が容易です。エラスチン系材料を、コラーゲン並みに世の中で使われる材料にしたい（メジャーデビューさせたい）というのが、筆者の夢です。現在までに、**GPG** は細胞接着性・増殖性において、バイオ研究でよく使用されるコラーゲンやフィブロネクチンと遜色がないことがわかってきました。「では、エラスチンにしかできないことは？」という問いに答えることが、今後の大きな課題です。特に、エラスチン特有の粘弾性特性と、分化を含めた細胞挙動の関係性を明らかにすることが、エラスチンらしさを実証するための重要なテーマであろうと考えています。

本研究は、科研費新学術領域研究「融合マテリアル」(22107005)、若手研究(16H05911)、JST A-STEP(AS2821011e)、新化学技術推進協会奨励賞など、多くの支援により遂行されました。最後になりましたが、研究設備もノウハウもほとんどなかった2009年に、卒論生として研究を開始し、本研究の発展に大きく貢献した Duc H. T. Le 博士(現アイントホーヘン工科大学)に深く感謝します。本研究は、大久保達也先生(東京大学)、大槻主税先生(名古屋大学)の研究室で行われたものであり、研究室の皆様のご協力に御礼申し上げます。

参考文献

1. Mithieux, S. M.; Weiss, A. S. *Adv Protein Chem* 2005, 70, 437–461.
2. Miranda-Nieves, D.; Chaikof, E. L. *ACS Biomater Sci Eng* 2017, 3, 694–711.
3. Tamburro, A. M.; Bochicchio, B.; Pepe, A. *Biochemistry* 2003, 42, 13347–13362.
4. Mithieux, S. M.; Aghaei-Ghareh-Bolagh, B.; Yan, L.; Kuppan, K. V.; Wang, Y.; Garcés-Suarez, F.; Li, Z.; Maitz, P. K.; Carter, E. A.; Limantoro, C.; Chrzanowski, W.; Cookson, D.; Riboldi-Tunnicliffe, A.; Baldock, C.; Ohgo, K.; Kumashiro, K. K.; Edwards, G.; Weiss, A. S. *Adv Healthc Mater* 2018, 7, e1701206.
5. Urry, D. W. *Angew Chem Int Ed Engl* 1993, 32, 819–841.
6. MacEwan, S. R.; Chilkoti, A. *Biopolymers* 2010, 94, 60–77.
7. Floss, D. M.; Schallau, K.; Rose-John, S.; Conrad, U.; Scheller, J. *Trends Biotechnol* 2010, 28, 37–45.
8. Li, B.; Alonso, D. O. V.; Bennion, B. J.; Daggett, V. *J Am Chem Soc* 2001, 123, 11991–11998.
9. Chung, C.; Lampe, K. J.; Heilshorn, S. C. *Biomacromolecules* 2012, 13, 3912–3916.
10. Zhang, Y. N.; Avery, R. K.; Vallmajo-Martin, Q.; Assmann, A.; Vegh, A.; Memic, A.; Olsen, B. D.; Annabi, N.; Khademhosseini, A. *Adv Funct Mater* 2015, 25, 4814–4826.
11. Srokowski, E. M.; Woodhouse, K. A. *J Biomed Mater Res A* 2014, 102, 540–551.
12. Jaffer, I. H.; Fredenburgh, J. C.; Hirsh, J.; Weitz, J. I. *J Thromb Haemost* 2015, 13, S72–S81.
13. Benitez, P. L.; Mascharak, S.; Proctor, A. C.; Heil-

shorn, S. C. *Integr Biol* 2016, 8, 50–61.

14. Le, D. H. T.; Hanamura, R.; Pham, D. H.; Kato, M.; Tirrell, D. A.; Okubo, T.; Sugawara-Narutaki, A. *Biomacromolecules* 2013, 14, 1028–1034.
15. Pepe, A.; Bochicchio, B. *J Soft Matter* 2013, 732157.
16. Sedlak, M.; Antonietti, M.; Cölfen, H. *Macromol Chem Phys* 1998, 199, 247–254.
17. Le, D. H. T.; Okubo, T.; Sugawara-Narutaki, A. *Biopolymers* 2015, 103, 175–185.
18. Le, D. H. T.; Kawakami, R.; Teraoka, Y.; Okubo, T.; Sugawara-Narutaki, A. *Chem Lett* 2015, 44, 530–532.
19. Anh, T. T. H.; Xing, M.; Le, D. H. T.; Sugawara-Narutaki, A.; Fong, E. *Nanomedicine* 2013, 8, 567–575.
20. Le, D. H. T.; Tsutsui, Y.; Sugawara-Narutaki, A.; Yukawa, H.; Baba, Y.; Ohtsuki, C. *J Biomed Mater Res Part A* 2017, 105, 2475–2484.

なるたき あやえ
名古屋大学大学院 工学研究科
応用物質化学専攻
ayae@chembio.nagoya-u.ac.jp

オランダ、ユトレヒト大学での研究留学体験記

1. はじめに

私は、京都大学薬学部を2018年3月に卒業し、現在ライデン大学で化学を専攻しています。吉貞亮治です。このニュースレターでは京都大学在学中に行った、ユトレヒト大学での留学生活についてご報告させていただきます。具体的には2017年2月から2018年1月までは交換留学生として、2018年2月と3月には訪問研究員として Utrecht Universiteit, Department of the Chemical Biology and Drug Discovery に所属し、Assistant Professor Dr. S. A. K. Jongkees のもとでプロジェクトに従事しました。この記事では、留学に至った経緯、研究内容、学部生での留学経験の影響、ユトレヒト大学の環境、現地生活、今後の展望について順に述べさせていただきます。



吉貞 亮治

2. 留学に至った経緯

大学に入る頃から、私は自分の将来の選択の幅を広げ、何かしたいと思ったときに対応できるような基盤を持っていたいという思いがありました。薬学部に入ったのも、化学・物理・生物が全部好きだし、全部勉強できる環境にいればどれかに興味が掘り下がったときに対応できるという思いでした。留学を考えたのも将来博士や研究職として海外の研究がしたくなったときのための土台づくりという意味が大きかったです。

真剣に留学を考え始めたのは、ふとしたことでした。学部二年生の夏ごろに海外の大学院に進学した先輩方の話を聞く機会があり、深く考えることもなく講演を聞きました。どうせいいことしか言わないでしょ、と冷めた思いでしたが、悔しくも鍛えられているという先輩たちが輝いて見えて、私ももしかしたら…と思ったのが留学に向けて動き出したスタートです。半年くらいは自分で英語力向上に取り組みましたが、留学制度などをきっちり調べていくうちに、当時の薬学部では留年せずに留学することは難しいことがわかりました。さらに、留学して日本でも学べるような授業では意味がない、研究での留学をしたいと考えていましたが、どうしたらいいかわかりませんでした。留年は避けることと、授業をとるのではなく研究がしたい、というわがままな悩みをもって、当時担任だった大石先生に相談しました。その後、何度かの面談を通して方向性を確認し、半年ほどかけて、薬学部に新たに、外国大学での研究留学、しかも留年しなくてもいいという制度を承認・確立していただきました。

まだまだ安心はできず、大学を選んで、先生を見つけてという次の難関へ。大学選びは研究留学で行く以上、研究力がある大学でかつ英語で生活できる環境、ということが条件でした。京都大学の交換留学協定の提携校の中から研究力のある大学を選び、学内選考を通過してから、興味のある研究室にメールでアポイントメントを取りました。やはり、どんな教育を受けてきたかもわからない異国の学部生を積極的に歓迎する研究者は少なく、指導教官を見つけなければいけない締切の2日前によく Dr. Jongkees からご連絡を頂きました。そこからは研究内容や、どのような教育をしていただけるのか、を打ち合わせて、ついに留学が実現することになりました。たくさんの方の協力とご理解の上でこの機会をいただけたこと、本当に感謝しています。

3. 研究内容

1年を通して、2つの研究に従事しました。1つ目はタンパク質上にNグリコシル化を位置選択的に導入するシステム構築のため、タンパク質合成後に特異的な反応の基質となるアミノ酸誘導体の合成を行いました。今までの、Nグリコシル化の酵素による付加は、修飾を受けるタンパク質の立体構造による影響を受けることや、複数のコンセンサス配列を選択的に識別できないことなどから、選択的な修飾を施したタンパク質を得るための完璧なアプローチとは言えません。そこで Dr. Jongkees のグループでは、新たなNグリコシル化タンパク質の合成法の確立を目指して、*in vitro* 翻訳系でのタンパク質合成後に位置選択的な修飾を施す方法の開発を試みていました。私はその第一ステップとして、Asp側鎖を改変し、特異的なNグリコシル化に適した活性化アミノ酸の合成を行い、安定性と反応性の評価しました。これらの非天然アミノ酸は Flexizyme と呼ばれるアミノアシル化酵素を用いて genetic code reprogramming による、*in vitro* 翻訳系にてタンパク質を合成するために使われます。さらにその非天然アミノ酸残基の側

鎖に特異的な反応を施すことにより、糖を結合させることで位置選択的糖鎖修飾を達成する、という構想を立てています。

2つ目の研究プロジェクトでは、非天然アミノ酸を組み込むことによるペプチド阻害剤の最適化を試みました。具体的には、human pancreatic α -amylase (HPA) を阻害モデルケースとして、既知のペプチド阻害剤への非天然型アミノ酸の導入を行うことで、優れた基質特異性や、阻害活性を有するペプチド阻害剤ができることを示しました。この研究においては、ノナペプチドの阻害剤の中で HPA の作用部位に水素結合を作る L-Tyr の代わりに L-DOPA を導入することで追加の水素結合を得て、阻害作用が向上することを示しました。また、ペプチドの安定化のための環化がその立体構造に与える影響を CD スペクトル解析により分析するとともに、構成アミノ酸をそれぞれアラニンに置換することで、各アミノ酸が結合や阻害作用にどのように貢献しているかを示しました¹。

4. 学部生での留学について

少しバイアスが掛かっているかもしれませんが、私は学部生の間に留学しておいて本当に良かったと思っています。その理由として、1) 大学院の積極的な吟味、2) 将来の幅を広げる能力と自信の向上が挙げられます。

1つ目について、学部卒業後の進路のうち、数多の大学院の中から、自らに必要な力をつけられる環境を選ぶことができました。

限られた時間の中でなにか一つでも多くのことを学ぶ、と意気込んで臨んだ留學生活の中で、自分に足りないもの、自分に必要な今後の環境を積極的に探しました。様々な国から来た様々な考えの人の話を参考にしながら、修士課程で自分がやるべきことは何か、悩みました。その結果、1つの研究室で2年間研究に集中する日本の環境ではなく、複数の研究室でプロジェクトと人々に関わり、かつ、たつぷりと授業での学びも受けることができる大学院だと考えました。もし学部4年次に留学していなかったら、京都大学の大学院か、単純に英語圏や有名な大学に出願していたと思います。これらは決して劣った選択ではありませんが、カリキュラムやその教育体制、生活環境までしっかりと吟味して、私にあった最高の決断ができたと思っています。このような異なる価値観を体験したことにより、数ある大学院の中からの最適な進路の選択に向けての考えが、深まったと思います。

2つ目について、一年間海外で研究した、学術論文になる成果も出た、という経験はとても自信になりました。日常の英会話レベルから、未知の内容について頭を使って理解する、研究の中での英語に対応できるようになりました。更には、メールで連絡を取るときの自然でフォーマルな英語や、プレゼンテーションでは、かろうじて理解できる英語や書き言葉の表現ではなく、ネイティブだったらどう表現するだろうと悩む経験を通して、不自然な英語に対して敏感になりました。自分で書いた文章を担当教

員に見てもらったとき、「ネイティブの（隣の席の）同僚に添削してもらったの？」と聞かれたときは、心の中でガッツポーズしたのを覚えています。科学論文を読む際は、さらっと読むことができなかったが、実際に論文を書く作業を通して、どういうところに大事な情報があるのか、どうやって考察し、結論付けるのか、少しずつコツを掴みつつあると感じています。当然、まだまだ未熟ですが、今の自分を過去と比べると抵抗なく論文に手が出せるようになりました。

必ずしも留学だけが能力を伸ばす手段ではないですが、私がここで体験記として残すことで、挑戦してみたいという後輩たちが続けば嬉しいです。

5. ユトレヒト大学の環境

ここでは所属先研究室での研究室の日常の様子から、いくつか私が体験した・感じたことを述べます。

まず、研究室の構成と雰囲気について。5人のPIと5、60人のメンバーで構成されるような大きな研究室でした。人の出入りも非常に激しく、時期に関係なく新たなメンバーが入ったり、抜けたりする環境でした。待っているあまり話しかけてくれないので、私から積極的に話しかけていくことで初めて認知されていき、そうした会話の中で、反応や実験のコツからオランダ生活の知恵まで多くのことをここで教えてもらいました。



写真1 当時の Jongkees グループのメンバー。右から私、Dr. Jongkees, Ph.D. 学生の Vito と Mign-long。



写真2 大会で撮影した Debating Society の集合写真。

生活リズムについて。研究室のコアタイムは9時から17時で、朝は時間どおりに来て、昼食をほぼ必ず決まった時間に食べ、やることをやって帰る、というのが日常のスタイルでした。明るい時間とにかく仕事をすすめるのが彼らのスタイルのようで、17時過ぎには半分くらいは帰宅し、19時ごろには数人しかいません。もちろん、夜の時間を使って家で論文を読んだり、勉強したりするのが普通で、休日来て実験を進めたりする人もいるから、決して楽という意味ではないですが、日本との働き方の違いを少なからず感じました。

学生のレベルについて。修士課程の学生と博士課程の学生の間に大きなレベルの差を感じました。もちろん一概には言えませんが、博士課程の学生はミーティングでの指摘の鋭さ、知識の豊富さ、プレゼンの仕方などが数段階上だと思われ、いつも魅了されました。この背景には、給料を受け取り研究する、責任ある立場としての博士候補生という環境があると思います。自分でプロジェクトを考え、研究の計画を提案し、ポジションを獲得するという就職活動の中で、様々な技術や知識、能力を洗練させたという話を聞き、私も少なくとも二年後にはこうなりたい、という指針を得ました。

そんな彼らに比べ、まだまだ未熟な私でしたが、担当教員の Dr. Jongkees が近い距離で接してくださったのは本当に幸いでした。学生実習以外で有機化学の実験に関わった経験がない状態で、しかも英語もかろうじて話して聞ける、というレベルで飛び込んだので、毎日実験に関する質問をし、うまく行かなければその理由や改善策を話し合いました。学会でポスターを出したいといえ、快く挑戦を許してくれて、プレゼンの仕方なども親身にアドバイスしてくださいました。彼が出張や休暇のときでも SNS やメールで実験のディスカッションや卒業論文の原稿の添削をして惜しみなく指導してくださり、本当に力をつけていただきました。ご指導いただくとともにいつも親身になって接していただき、心から感謝しています。

最後に、大学全体の雰囲気について。ユトレヒト大学では、研究室を超えた交流が頻繁に行われます。同じ建物内の研究室の合同セミナーや、Faculty 内・大学内でのシンポジウムで交流する機会がたくさんありました。コーヒープレイクやランチプレイク、ドリンク（会場での立呑み宴会）などの時間は社会的に話しかけ、お互いの科学を深める機会が多数あり、とてもたくさんの科学者に会い将来の研究ネタのヒントを蓄える期間になりました。ゲストスピーカーとして来られていた先生方にも休憩時間にお話させて頂けるなど、たくさんのチャンスに恵まれました。

6. 現地生活について

私はオランダ語が話せません。それでも留学して学ぶこと・生活することは可能です。オランダでは、国民の92%の人が英語を使うことができる（イギリスは97%）と言われています。スーパーのレジ打ちでも清掃員の方でも、すぐに英語に切り替えて話を

してくれます。非オランダ語話者を含む輪の中では、英語で話してくれるので困ることはないですが、一方で、オランダ人同士はオランダ語で会話するので、その辺で話している会話にスッと入っていくのがはばかれたりもします。さらに、住民登録や家の契約、銀行などの手続きなどもオランダ語の書類が主流のため、オランダ語を話せる・読めると生活の質はもう一段階上がるのになあ、と感じました。

研究以外でディベートとオーケストラのクラブに入っていました。ディベートでは英国議会を模した形式で様々な社会問題について議論します。オランダは世界の中でもこの形式のディベートにおいてトップレベルに強い国で、多数の大会に参加して強い人々に揉まれて鍛えられました。論理的な主張・反駁の仕方、説得力のあるスピーチの構成などを磨くよい機会になりました。オーケストラでは、すべての指導がオランダ語でなされる中、雰囲気では何を言われているか読み取り、数字と音楽記号と頻出の単語だけ聞き取れるようになって、なんとか生きながらえました。音楽は言語を超えて楽しめ、開放感を与えてくれるものだと改めて感じました。

7. 今後の展望

先述のように、このユトレヒトでの経験を受けて、オランダの修士課程に進学することを決意し、現在はライデン大学の大学院にて化学を専攻しています。2年間の授業、研究計画を各自が組み立てるという設計になっていてとても自由度の高いカリキュラムの中で学んでいます。研究科内の科目に限らず、どの大学のどの授業を受けてもいいという制度なので、現在は化学科の授業の他、今まで学んでこなかったプログラミングやアルゴリズム、統計などにも挑戦して、さらなる飛躍を遂げたいと思っています。修士課程終了後の進路については未定ですが、この2年間でまた最適な選択ができるように精進したいと思います。勉学以外では、カリキュラムや講義のデザインに関わる委員会に出願したり、他にも何か外国人としてオランダやライデンに還元できることをできたらと思っています。また、日本とのつながりも保っておきたいと思っており、大学院出願に向けた準備の経験を何かしらのかたちで後輩たちに還元するため、海外大学院の進路相談や出願書類などのアドバイザーも個人で行っています。ペプチド学会に所属されている方にも何かしらの形でお役に立つことができればと思いますので、ご興味いただけた方はご連絡いただければと思います。

8. 最後に

1年間の留学を終え、目標や今後やるべきことを再発見することができました。私にとって、この留学は、人生の大事なステップアップの時間として忘れられないものになりました。この体験を書かせていただいたことで、少しでも皆様の役に立てば光栄です。

今回の記事の掲載にあたって、ご機会を頂きました中瀬生彦先生、大石真也先生、編集の皆様にご礼申し上げます。また、私の留学を受け入れて頂

きましたユトレヒト大学、Dr. A. K. Jongees、留学をご支援いただきました京都大学薬学部、トビタテ！留学 JAPAN にも改めて感謝の意を述べさせていただきます。

文献

1. Yoshisada, R.; Gijzel, L. V.; Jongkees, S. A. K. ChemBioChem 2017, 18, 2333–2339.

よしさだ りょうじ
Graduated School of Chemistry,
Universiteit Leiden
r.yoshisada@umail.leidenuniv.nl

第50回若手ペプチド夏の勉強会開催報告

本年度の若手ペプチド夏の勉強会は、平成30年8月5日から8月7日までの3日間、静岡県浜松市にある大河ドラマ「女城主・井伊直虎」でもおなじみの臨済宗方広寺派大本山方広寺で開催され、静岡大学工学部間瀬・佐藤研究室および鳴海研究室のスタッフ19名がお世話をさせていただきました。勉強会当日は、北は北海道から南は長崎まで全国から184名の研究者の方々にご参加いただき、過去最大規模の勉強会として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、多くの企業や団体から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5件、依頼講演6件、一般講演12件、およびポスター発表70件を行いました。特別講演を行っていただいた、蛋白質研究奨励会・相本三郎先生、長浜バイオ大学・向井秀仁先生からは、ペプチド研究の歴史と魅力、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。また、早稲田大学・マイケル・コイデル（小出隆規）先生からは研究に携わるものとして身に着けるべき倫理観についてご講演いただき、方広寺・巨島善道先生には普段拝聴する機会の少ない法話を頂戴しました。さらに今回特別に参加いただいたチューリッヒ工科大学・Jeffrey W. Bode先生にはペプチド・タンパク質の化学に関する内容に加え、若手研究者を鼓舞する研究哲学についてもご講演いただきました。依頼講演では、静岡大学・間瀬暢之先生、東京薬科大学・野水基義先生、東京医科歯科大学・玉村啓和先生、北



佐藤 浩平



鳴海 哲夫

海道大学・渡邊瑞貴先生，東京大学・光野秀文先生，北海道大学・鎌田瑠泉先生から，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。実り多い議論を通じて、時間と哲学を共有していただきました先生方に重ねて御礼を申し上げます。また，特別講演ならびに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。各講演後の討論は途切れることなく鋭い質問が続き，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16名の学生と1つの研究室を表彰させていただきました。一般講演部門最優秀賞は東京大学・栗木優五さん，一般講演部門優秀賞は東京大学・河上直也さんおよび徳島大学・小宮千明さん，ポスター発表部門優秀賞は東京大学・梁瀬将史さん，東京大学・萩原洲介さん，東京医科歯科大学・神村拓美さん，静岡大学・児玉有輝さん，近畿大学・田川翼さん，鳥取大学・山本昂久さん，鳥取大学・植村優那さん，鳥取大学・大村昂誠さん，鳥取大学・佐藤祐希さん，徳島大学・成瀬公人さん，徳島大学・上田将弘さんおよび徳島大学・安養寺啓太央さん，学生討論部門優秀賞に徳島大学・小林大志郎さん，研究室紹介部門優秀賞に早稲田大学・小出研究室が選ばれました。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。なお，今回は多くの学生さんに参加いただ

くために学生参加費を低く設定したことから，副賞は協賛いただいた企業・財団からご提供いただきました“レア”ノベルティグッズとさせていただきます。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。

さらに，幹事会において，今後の本勉強会のあり方について議論が交わされ，日本ペプチド学会若手の会会則および若手ペプチド夏の勉強会開催細則を新たに制定することが承認されました。昨年若手の会代表に就任された東京薬科大学・高山健太郎先生を中心に，50年の歴史ある本勉強会の良き伝統を継承しつつ，ペプチド科学の次の50年を担う若手研究者を輩出できる勉強会へと発展させていく所存です。

さて，記念すべき第50回の勉強会をお世話させていただくにあたり，遠州弁（浜松市などの静岡県西部の方言）で「やってみよう」「やろうじゃないか」という意味の「やらまいか」をキーワードに，例年の勉強会の雰囲気は継承しつつ，「何かいつもと違うことをやってみよう」ということで開催準備をスタートさせました。まずは，「出世の街」として知られる浜松で開催するからには，多くの若手研究者，特に学生さんに参加いただかないと意味がないとの思いから，学生参加費を極力低く設定しました。また，お寺での開催という利点を生かすために，法話および座禅を企画しました。さらに，本勉強会のWEBサイトを活用し，開催内容の発信に留まらず，準備状況をブログ形式で発信するという試みにも挑戦しました。特に，特別講演ならびに依頼講演の先生方のインタビュー記事は，学生さんが普段の学会会場では話しかけづらくても今回の勉強会で話しかけるきっかけになればと期待し，初めて企画しました。WEBサイトは学生さんを中心に予想以上の方々にご覧いただ



写真1 集合写真

いていたようで、世話人一同驚いたとともに「やらまいか」精神に基づいた今回の試みを受け入れていただけた嬉しさを感じた瞬間でもありました。

来年度（第 51 回）の勉強会は北海道大学の鎌田瑠泉先生が世話人となり、平成 31 年 8 月 5 日（月）から 7 日（水）まで、北海道小樽市のおこばち山荘にて開催が予定されています。最後になりましたが、本勉強会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。

（ さとう こうへい
静岡大学 工学部
sato.kohei@shizuoka.ac.jp ）
（ なるみ てつお
静岡大学 工学部
narumi.tetsuo@shizuoka.ac.jp ）

《2018（平成 30）年度行事予定》

平成 30 年 12 月 3 日（月）
第 98 回理事会・第 37 回評議会合同会議

平成 30 年 12 月 3 日（月）～ 12 月 7 日（金）
第 10 回国際ペプチドシンポジウム／
第 55 回ペプチド討論会
場 所：ロームシアター京都、みやこめっせ
（京都府京都市）
世話人：二木 史朗、松崎 勝巳（京都大学）

平成 30 年 12 月 5 日（水）
平成 30 年度日本ペプチド学会通常総会

平成 30 年 12 月 5 日（水）
市民フォーラム 2018
場 所：みやこめっせ 地下 1 階 大会議室
（京都府京都市）
世話人：大石 真也、矢野 義明、河野 健一
（京都大学）

平成 30 年 12 月 8 日（土）
第 24 回ペプチドフォーラム「International Mini-Symposium on Peptide-Membrane Interaction and Intracellular Delivery」
場 所：京都大学 化学研究所（京都府宇治市）
世話人：二木 史朗（京都大学）
中瀬 生彦（大阪府立大学）
Jaehoon Yu（ソウル大学）

平成 30 年 12 月 10 日（月）
第 25 回ペプチドフォーラム「International Forum on Peptides in Drug Discovery」
場 所：東京医科歯科大学 生体材料工学研究所
（東京都文京区）
世話人：玉村 啓和（東京医科歯科大学）

林 良雄（東京薬科大学）

平成 31 年 1 月 26 日（土）
第 99 回理事会

編集後記

ペプチドニュースレター 110 号をお届けします。本号では、第 10 回国際ペプチドシンポジウム・第 55 回ペプチド討論会の開催案内（二木史朗先生、松崎勝巳先生）、ペプチド化学討論会のとても貴重な回想録（北川幸己先生）、ペプチドマテリアル研究（細胞内導入・ナノファイバー）で最先端の研究を展開されている北岸宏亮先生、児島千恵先生、鳴瀧彩絵先生の研究紹介、吉貞亮治さんの留学体験記、そして盛会におわりました第 50 回若手ペプチド夏の勉強会開催報告（佐藤浩平先生、鳴海哲夫先生）ととても盛り沢山な内容となっております。本号でも読者アンケートを実施いたします。ご協力のほど宜しくお願い申し上げます。

秋が深まり、もうすぐ紅葉の美しい季節がやってまいります。京都で開催の第 10 回国際ペプチドシンポジウムで皆様にお会いできることを楽しみにしております。

110 号アンケートフォーム URL：
<https://goo.gl/forms/3pebTrEYVkoIv8c92>

（編集委員：中瀬 生彦）

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：2018（平成 30）年 10 月 25 日
編集委員
坂口 和靖（担当理事）
（北海道大学大学院理学研究院）
TEL 011-706-2698, FAX 011-706-4683
E-mail: kazuyasu@sci.hokudai.ac.jp
中瀬 生彦（大阪府立大学大学院理学系研究科）
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
鎌田 瑠泉（北海道大学大学院理学研究院）
TEL 011-706-2721, FAX 011-706-4683
E-mail: kamadar@sci.hokudai.ac.jp

（本号編集担当：中瀬 生彦）