



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.47

2003年1月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<http://peptide-soc.jp>

Akabori Memorial Award 受賞に際して

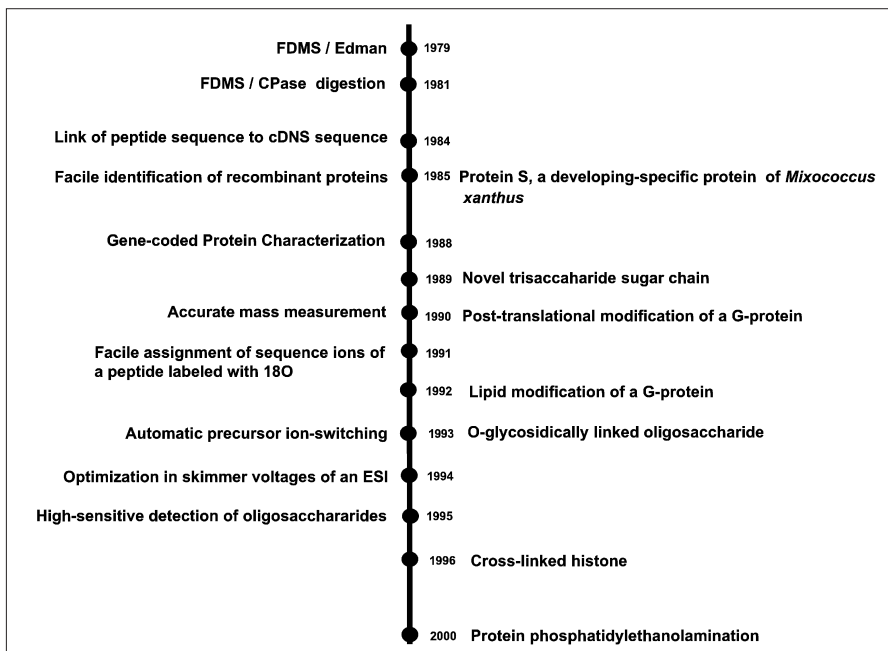
21世紀は、生命科学の時代と言われる。20世紀後半に出現した分子生物学、遺伝子工学、遺伝子科学は、それまでの生物学を一新し、ゲノム情報を基盤として生命現象の解明をはじめとして、生物学のあらゆる分野で革命的な変革をもたらしている。それは、分子レベルでの生命現象や生物機能の解明とそれを可能とした様々な新しい分析技術の開発、改良によって実現されてきたと言ってよいであろう。同時に、分子生物学をはじめとする様々な分野の基礎研究成果を基盤として、新しい分野の開拓、応用による実用化への期待が大きい。

筆者は、1970年代後半より、質量分析によるペプチド・蛋白質の一次構造解析に取り組むこととなったが、当時、すでに、ペプチドの化学合成法はほぼ完成され、また、逆相高速液体クロマトグラフィーによって純度よく精製できるようになっていた。残るは、目的物の確認あるいは副生成物との区別を迅速かつ精確に行う方法を確立することであった。1970年代中頃、ペプチドをはじめとする熱に不安定な生体物質の分子量を正確に測定する市販のイオン化法としては、



下西 康嗣

Field-desorption (FD) が知られているにすぎず、当時の筆者は、FD は測定技術に習熟した者のみに使える難解な方法という程度の知識を持っていたにすぎなかった。しかし、詳細に検討してみると、分子量1,000程度までではあったが、FD 質量スペクトル上に分子イオンを感度よく検出できることを見いだした。それがきっかけとなり、質量スペクトルによって合成ペプチドの同定、確認は容易に行えるようになり、その後、広く利用されることとなった。一方、それと平行して、質量分析による従来とは異なる新しいペプチド・蛋白質の一次構造解析法を考案することともなった¹⁾。その後、蛋白質の酵素消化物の質量スペクトルを直接測定する方法、質量スペクトルで測定される蛋白質消化物の分子量と cDNA の塩基配列をリンクさせる方法²⁾、蛋白質の翻訳後修飾構造の解明など、様々な問題の解決に取り組み、また、それらの解明を行ってきた。それらについては、第39回ペプチド討論会にて詳しく紹介したので、本稿では、概略を図として纏めるにとどめる。今日では、質量分析法は、生体高分子物質の分子量測定を可能とする様々なイオン源、分析計、検出計の技術進化により、X線結晶構造解析法、核磁気共鳴法とともに、ポストゲノム時代におけるペプチド・蛋白質研究の中心課題であるプロテオーム解析、細胞中に存在する全ての蛋白質の発現プロファイル、環境、時間の変化に応じた量的かつ質的变化を詳細に計測するための必須の手段となり、生命科



学研究の発展に貢献しつつある。

ペプチドは、元来、蛋白質の分解物、ペプトン様物質として、名づけられた。しかし、今日では、アミノ酸の残基数、分子サイズに関係なく、あらゆる研究分野、手法において、ペプチドと蛋白質との間の垣根を越え、それらの区別なく、取り扱われるようになってきている。ゲノム情報を利用した新規なペプチドの発見しかりである。筆者は、これまでの研究を通じて、生命現象を司る生物物質の発見、それらの機能の解明など、普遍的な生命現象の解明に取り組むには、伝統的な研究手法から脱皮し、他分野と融合した新しい計測技術の開発など、柔軟な思考、創造的なアイデアが不可欠であると思っている。そのことが、取りも直さず、ペプチド科学の発展に繋がるであろう。

筆者は、1958年、大阪大学理学部化学教室赤堀研究室において、卒業研究をスタートし、2000年3月、大阪大学蛋白質研究所を退官するまで約40年にわたり、ペプチド・蛋白質科学の分野において研究に従事する機会を得た。今回、恩師赤堀四郎先生の名を冠した Akabori Memorial Award 2002 を受賞する荣誉に浴し、改めて、この間のペプチド・蛋白質の研究に想いをいたすとともに、この場を借りて、恩師赤堀四郎先生、諸先輩、共同研究者、ペプチド学会会員諸兄姉をはじめとして、これまで物心両面にご指導、ご支援いただいた方々に、心よりお礼申し上げる次第です。

【参考文献】

- 1) Y. Shimonishi, Y.-M. Hong, T. Matsuo, I. Katakuse, and H. Matsuda: A new method for sequence determination of peptide mixtures by Edman-degradation and field-desorption mass spectrometry, *Chemistry Lett.*, 1369-1372 (1979).
- 2) T. Takao, T. Hitouji, Y. Shimonishi, T. Tanabe, S. Inouye, and M. Inouye: Verification of protein sequence by fast atom bombardment mass spectrometry: Amino acid sequence of protein S, a development-specific protein *Myxococcus xanthus*, *J. Biol. Chem.*, 259, 6105-6109 (1984).

(しもにし やすつぐ, 大阪大学名誉教授)

コラーゲン特異的分子シャペロンの 基質認識機構の解明 (平成14年度日本ペプチド学会奨励賞受賞)

まずはじめに、平成14年度本会奨励賞の受賞にあたり、岡田芳男会長をはじめとするペプチド学会の諸先生方、選考委員の先生方、および第39回ペプチド討論会において受賞講演の機会を与えて下さいました山田隆己先生に深く感謝いたします。また、このようにPNJ誌の紙面を頂きまして有り難うございました。本稿では、私が何を考えながらこの研究をおこなってきたのか(今でもおこなっているのか)をまじ



小出 隆規

えつつ、表題の研究を紹介したいと思います。

私は京大薬学部、薬学研究科での学生時代、藤井信孝先生の下でスルフォキドをもちいたジスルフィド結合形成反応の研究をしていました。しかし、ペプチド化学に深く involve されればされるほど、「合成化学としてのペプチド合成はもう終わっているのではないか。何か新しいことをせなあかん」という不安と焦りにかられてきました。これについては、当時助手であった大高さんとよく議論をしていたのを覚えています。ちょうどその頃は Lam, Houghten らのコンビナトリアルライブラリーの論文^{1,2)}が出るか出ないかという時期で、私はこのコンビケム(当時はこのような呼び方すらありませんでしたが)は新しいペプチド科学の流れになると確信し、この流れに乗ろうとしてあがいていましたが、力不足で乗り遅れてしまいました。ここで諦めず喰らいついていけばもうすこし違った方向に研究が展開していたかもしれませんが、後の祭りです。

結局、多くの偶然と少しの必然から、博士課程3年の時に京大再生医科学研究所(当時は胸部疾患研究所)の永田和宏先生のもとでコラーゲン特異的分子シャペロン HSP47の研究を始めることになりました。しかし、本格的に HSP47のコラーゲン認識について研究を開始したのは、しばらくの紆余曲折をへたのち、ポスドクとして京都に帰ってきた1996年10月からです。

まずコラーゲンについて若干の説明をします。コラーゲンは我々脊椎動物のからだの中でもっとも多量に存在するタンパク質です。これまでに二十数タイプのコラーゲンが同定されていますが、その特徴は3本らせん構造を有することです。この3本らせんは、X-Y-Glyの繰り返しからなるポリプロリン型らせんが緩く右巻に巻き付いた特異な二次構造です。

HSP47はコラーゲンを産生する細胞の小胞体に局在する熱ショックタンパク質(HSP)で、小胞体で構造形成の過程にあるコラーゲン前駆体(プロコラーゲン)と特異的に結合していることが分かっていました。しかし、研究をはじめた当初は、その機能が全く分からない(いまでもよく分かっていませんが)という状況にありました。

シャペロンの分子機能を解析するためには、タンパク質-タンパク質相互作用の観点からシャペロンがどのように基質タンパク質を認識しているのかを知ることが重要です。当時、複数のグループから HSP47の(プロ)コラーゲン結合について報告がありましたが、いずれも信用できるデータとは言い難いものでした。私は HSP47の基質であるコラーゲン特有の性質(大きい、溶けない、断片化しにくい、3本らせん構造をとる等)が、HSP47とプロコラーゲンの結合解析の妨げになっているという判断から、まず、HSP47と結合するコラーゲンモデルペプチドを探すことにしました。一般的に分子シャペロンは unfold あるいは misfold したタンパク質と結合して、正しい folding を助けるタンパク質であるとされていました。そこで私は、HSP47もシャペロンである限り3本らせん形成前の1本鎖状態に結合するであろうという「先入観」を持っていました。そこで、少ない手がかりからデザインしたペプチドあるいは化学的に作成したコラーゲン配列のランダムライブラリーなど、かなりの数の1本鎖状態のペ

ペプチドをスクリーニングしましたが、全て徒労に終わりました。手も尽きたので、念のためペプチド研から購入した、(Pro-Pro-Gly)₆ とリコンビナント HSP47 の結合を調べたところ、意外にもはじめて特異的な結合が観察されたのです³⁾。

次にすべきことは、(Pro-Pro-Gly)₆ のようなモデル配列ではなく、本当のプロコラーゲン上の結合配列を知ることでした。すでにこのころにはコンビケムがブームとなっていましたので、先の悔しさもあり、何とかコンビケムの網羅的解析を利用して結合配列を決めてやろうと考えました。しかし、化学合成で比較的に長いコラーゲン様ペプチドのライブラリーを作成するには困難がありました。そこで、遺伝子工学的方法でコラーゲン様ペプチドをコードするランダムライブラリーを構築し、HSP47 を bait (餌) とした酵母 two-hybrid スクリーニングを行いました。その結果、Gly-Pro-Y の繰り返し配列の Y をランダム化したライブラリーから選択された HSP47 結合性のペプチドには Arg と Pro が高度に濃縮されていました。また、ランダム化した Y 位の各アミノ酸のスクリーニング後の濃縮率と、そのアミノ酸残基の 3 本らせん安定化への寄与の度合いには、高い正の相関がありました。このことは、HSP47 が 3 本らせん構造を認識して結合していることを強く示唆しています⁴⁾。ここで、HSP47 が 1 本鎖に結合するであろうという私の「先入観」が全くの見当違いであったことが明らかになった訳です。すなわち HSP47 は unfold 状態 (1 本鎖) には結合せず、fold した (3 本鎖) プロコラーゲンに結合するという、分子シャペロンの中ではかなり変わった性質をもっていたということになります。

さて、上記の two-hybrid スクリーニングは、意外な方向に研究が進んでしまったため、実際の HSP47 結合配列を同定できませんでした。そこで、再度合成ペプチドモデルの系に戻して研究を進めました。まず、結合実験を行う温度において 3 本らせんを安定化するためにヒドロキシプロリンを含んだ (Pro-Hyp-Gly)_n 配列をベースとして、先の two-hybrid スクリーニングで濃縮されたアミノ酸残基を組み込んだ多種のペプチドを合成しました。初期の実験から Pro-Hyp-Gly の繰り返し配列に HSP47 が結合しないことが分かっていたので、このシステムでは HSP47 が直接結合するアミノ酸配列を同定することが可能となりました。この 3 本らせんモデルペプチドを用いた構造活性相関の研究から、X-Arg-Gly (X は任意のアミノ酸) という配列を HSP47 結合のためのコンセンサスとして同定することができました。しかし、これだけでは不十分です。実際の基質、すなわち天然のコラーゲン 3 本らせんにおいてもこの配列に特異的に HSP47 が結合することを証明する必要があります。そこで私は、残基特異的な化学修飾をもちいてコラーゲンの官能基修飾を行い、この修飾コラーゲンと HSP47 との結合実験を行いました。その結果は予想通り Arg 残基を修飾した時のみ結合が消失しました。また、分光学的に求めた HSP47 とコラーゲンとのアフィニティーは、X-Arg-Gly のみを特異的に認識すると仮定したときのみ、ペプチドで求めたアフィニティーとの一致を示しました⁵⁾。

上記の一連の研究は、プロコラーゲン特異的シャペ

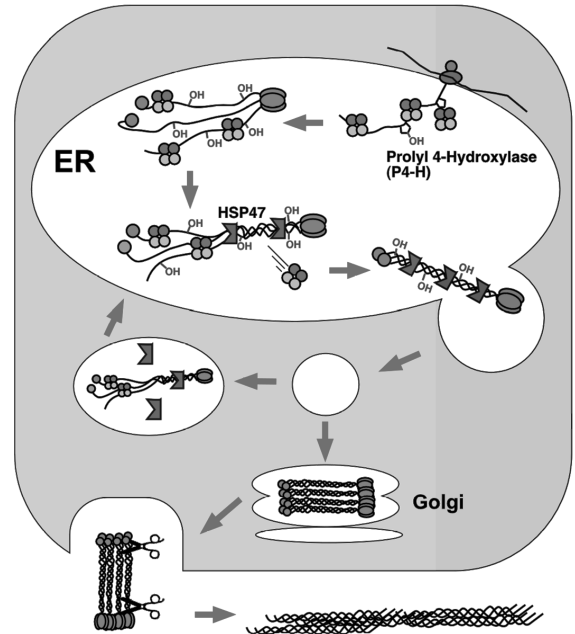


図 分子シャペロンに助けられたプロコラーゲンの folding (仮説)

HSP47 は 3 本らせん形成後の X-Arg-Gly 配列と結合する。一方、プロリン 4-水酸化酵素 (P4-H) は 1 本鎖部分の様々な配列を認識して結合する。

ロン HSP47 は 3 本らせん形成をした後の X-Arg-Gly を認識して結合するという明快な結論を与えました。これらの知見を基にして、小胞体内腔での分子シャペロンに助けられたプロコラーゲンのフォールディング過程を考えることができます (図)。まず小胞体内に分泌されてきた nascent な 1 本鎖はプロリル 4-水酸化酵素に捕らえられ、プロリン残基の水酸化が起こります。HSP47 はおそらく、プロリン水酸化後の folding 中間体の 3 本らせん領域に結合し、その構造を安定化するものと考えられます。この仮説は HSP47 が高温ストレスにより誘導されることをうまく説明します。また、2002 年の Leikina らによる論文⁶⁾ は、コラーゲンの 3 本らせんの熱安定性は体温以下であることを証明したもので、この知見も上記の HSP47 結合による folding 中間体の安定化機構の存在を示唆するものです。もうひとつの HSP47 の機能として、小胞体におけるプロコラーゲンの側面的集合の阻害が考えられます。実際、HSP47 と解離したプロコラーゲンは Golgi で側面集合して凝集体を形成していることが観察されています⁷⁾。いずれにせよ、今後の課題は、これらの仮説を証明していくことです。すでに私達は HSP47 に結合する 3 本らせんペプチドを自由に設計、合成することができるようになりました。今後もこのようなペプチドツールをフルに活用して研究を進めていきたいと考えています。

本稿で紹介した研究は、単に「あるタンパク質とある別のタンパク質の結合を解析した」というありふれた小さな仕事かもしれませんが、しかし、私自身にとっては非常に楽しく、かつ納得のできる仕事となりました。まず第一に、研究のストラテジーを最初からデザインできたということです。特に、ライバルである生

化学者や細胞生物学者ができなかったことを、デザインしたペプチドを用いた独自のストラテジーで解析できたことに喜びを感じています。第二に、ペプチドのデザイン、化学合成、そして two-hybrid 法を利用したコンピケムなど様々なペプチド科学の手法を駆使できたことです。まさに、「ペプチド屋」のバイオロジーができたのではないかと考えています。また、研究を進めるにあたっては常に HSP47 は何をしているのか？についての作業仮説をもちながら、それを検証していくという進め方ができたことも、私にとってはエキサイティングな経験でした。少々乱暴な言い方ですが、私が大学で研究をはじめたころは「ペプチド屋」は、合成し、活性を見て、構造活性相関をする、というイメージでした。「生化学屋」や「細胞屋」など「生物屋」はタンパクを精製したり、クローニングしたり、免疫沈降、免疫染色ばかりしていました。私は近年、生物系の学会によく参加しますが、やはり一部からは「ペプチド屋」の仕事であって生物学ではないと言われます。しかし、「ペプチド屋」は生物学に対して、古典的な「生物屋」には見えない斬り口を示すことができます。私は、その新しい斬り口から、ひょっとして光り輝くかぐや姫が出てくることを期待しつつ研究を続けます。

最後になりましたが、この研究を遂行するにあたっては、以下の多くの方々から御協力、御支援を賜りました。有り難うございました。永田和宏、藤井信孝、浅田真一、松下 治、頼藤徹也、大高 章、玉村啓和、麻生晶子、高原佳史、湯口真己、川北真由香、今野博行、幸 剛史、佐藤純平、安井典久、夏目 徹、平芳一法、安井裕之、黒田正孝（敬称略）

【参考文献】

- 1) Lam, K.S., *et al.*, *Nature*, **354**, 82-84 (1991).
- 2) Houghten, R.A., *et al.*, *Nature*, **354**, 84-86 (1991).
- 3) Koide, T., *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **274**, 34523-34526 (1999).
- 4) Koide, T., *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **275**, 27957-27963 (2000).
- 5) Koide, T., *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **277**, 6178-6182 (2002).
- 6) Leikina, E., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 1314-1318 (2002).
- 7) Bonfanti, L., *et al.*, *Cell*, **95**, 993-1003 (1998).

こいで たかき、徳島大学工学部生物工学科
e-mail: tkoide@bio.tokushima-u.ac.jp

平成14年度日本ペプチド学会奨励賞を受賞して

このたびは、日本ペプチド学会奨励賞を頂き、大変光栄に存じます。会長岡田芳男先生をはじめ、理事、幹事、評議員、選考委員の先生方にこの紙面をお借りして改めて御礼申し上げます。また、本受賞は私個人としてのみならず、九州大学大学院理学研究院化学部門構造機能生化学研究室（下東研究室）の研究を評価して頂いたものとして大変喜んでおります。



野瀬 健

さて、受賞の対象となりました「生理活性ペプチドの相互作用における 性相互作用に関する研究」について簡単に述べさせていただきます。

私は学部4年生で研究室に配属になった当初より九州大学理学部化学科において下東康幸先生の指導を受け、大学院修士1年のころ「トロンピン受容体内蔵リガンドペプチドの構造 - 活性相関研究」の研究テーマを頂きました。トロンピン受容体は7回膜貫通型Gタンパク質結合型の受容体で、受容体分子自身にリガンドを内蔵しているというユニークな構造が注目されていましたが、当時、下東先生は米国 NIH に短期留学中で、いち早くこの内蔵リガンドペプチドに注目されたようです。FAX 原稿でポリプロピレンカラムを使用した手動固相ペプチド合成法とリガンドペプチドの構造を送って来られたので、急いでいくつかのペプチドを合成しました。これが、私のペプチドとの最初の出会いです。ところで合成したペプチドの活性測定は、当初 NIH から帝京大学姉崎病院に戻られた荻野良男博士との共同研究として神経芽腫細胞に発現したトロンピン受容体を用いて実施し、その後はミドリ十字（現：三菱ウェルファーマ）の井上佳久博士らとの共同研究による血小板凝集活性測定法に変更しました。しかし、自分たちで活性測定する必要性から、九州大学理学部生物学科の岩永貞明先生の研究室（川畑俊一郎先生）より光散乱法を用いた血小板凝集活性測定装置をお借りし、医学部において自分たちの血液を採血して血小板を抽出することでアッセイ系を構築しました。その後、活性測定法は最終的に現・佐賀医科大学の藤田亜美博士らによる受容体発現系を使用したアッセイへと発展しました。そして、合成リガンドペプチドの残基置換アナログを用いた構造 - 活性相関研究を行ったところ、2位に存在しているフェニルアラニン残基が活性に必須で、側鎖フェニル基の性が受容体活性化に最も重要な構造要因であることが判明しました。この2位フェニルアラニンの重要性を検討するため、手始めに市販のフェニルアラニンアナログを用い置換体を合成したところ、側鎖フェニル基のパラ位にフッ素が存在するものが活性を増強することを見い出しました。そこで、この活性増強の原因を詳しく調べるため市販されていない光学活性な含フッ素フェニルアラニン19種を合成する必要に駆られました。このフェニルアラニン合成法は泉屋研究室において下東らにより既に開発されており、今回は光学分割のための酵素処理反応の追跡に逆相 HPLC を用いる改良を加えて実施しました。その結果、全ての種類のフッ素置換フェニルアラニンを合成し、これをペプチド合成に用いたことで、受容体との結合および活性化に主要なベンゼン環水素がメタ位に存在し、CH/ 相互作用を受容体の芳香環の系と形成していること明らかとなりました（図1）。さらに、受容体とリガンドペプチドの結合構造を解析するため、コンピュータ上でのホモロジーモデリングの手法で受容体の立体構造を構築しました。これには、計算化学に造詣の深い井上佳久氏に手ほどきを受けることができましたが、これにはペプチド討論会の場を介した出会いがあったことを忘れることはできません。実際のモデリングは、結晶構造が解析されたロドプシンの立体構造を鋳型としたホモロジーモデリングを行ない、リガンド結合部位を推定

しました。これを用いての変異受容体作製の実験が現在も継続されています。また、井上氏とはジペプチド性キモトリプシン阻害剤の阻害機構についても多くの議論を交わし、共同でX線結晶構造解析を実施しました。キモトリプシンはペプチド鎖中の芳香族アミノ酸のC末端側のペプチド結合を加水分解し、その時に芳香族アミノ酸側鎖をS1ポケットに収納しますが、当研究室で合成されたジペプチドインヒビター D-Leu-L-Phe-NHBz(*o*-F)には2箇所に芳香環が存在しており「そのどちらがS1ポケットに入っているのだろうか」ということが議論となりました。それまでの研究において、ジペプチド単独の立体構造をNMRで解析すると1位と2位のアミノ酸側鎖間でリジッドな疎水性コアを形成していることが判明していました。このNMRの測定にあたっては当時九州大学歯学部におられた河野敬一先生にご指導いただき、私自身が測定を行なうことができました。その結果より我々は、2位フェニルアラニンが形成する疎水性コアはS1ポケットには入りきれずC末端のベンジル基がS1ポケットに入っていると判断しておりました。はたして、結晶構造解析の結果はその通りであり、これまでの構造-活性相関研究の結果を確認することができました(図2)。興味深いことに、結晶構造よりジペプチドインヒビターはキモトリプシンと複数の π/π 、 CH/π 相互作用により結合していることが判明し、これは分子認識において π 系を介した分子間相互作用が非常に重要であることを示す例として注目されました。

このように π 系の関わる分子間相互作用について2

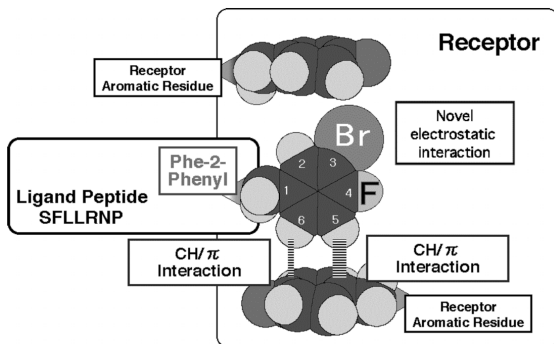


図1 トロンピン受容体内蔵リガンドペプチド2位フェニルアラニン側鎖の受容体による認識機構

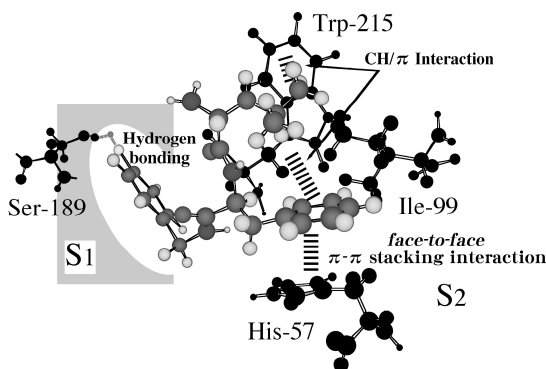


図2 ジペプチド阻害剤のキモトリプシン阻害機構

つの例を記しましたが、生理活性ペプチド中のフェニルアラニン、チロシン、トリプトファン側鎖が関わる系相互作用は、実質的には静電的な相互作用であり、分子認識に重要な役割を果たしています。私達は、他の多くの生理活性ペプチドに存在する芳香族アミノ酸の分子認識における重要性は同様であろうと推察しており、このような観点から種々検討を続けております。

最後になりますが、この間の多くの方々のご指導、ご協力により様々な実験を行なうことができたことに心より御礼申し上げます。特に、今回の受賞に直接関わる研究で協同してくれた研究室の後輩諸氏に深く感謝致します。最後に重ねて下東康幸教授のご指導に感謝するとともに、自らも後輩の指導に力を尽くしていくことで恩返しをしたいと思っております。

のせ たける,九州大学理学研究科
e-mail: nosesc@mbx.nc.kyushu-u.ac.jp

ピッツバーグでのサバティカル(サバイバル?)

2001年8月から2002年7月までの1年間ピッツバーグへ行って参りました。大変充実した毎日を送らせていただき、私自身とてもハッピーでしたが、それと同時に第38回ペプチド討論会を長崎でお世話させていただいていたのにも関わらず、長崎大学の研究室を放ったらかしにしてしまい、青柳教授をはじめ研究室のメンバーに多くの負担を押し付けてしまいました。まずこの場で身内に詫言わせていただいて、そして、この紙面でペプチド学会の皆様にもどのように新留がピッツバーグで楽しんできたかということをお伝えできれば幸いです。



新留 琢郎

まずは生活について

ピッツバーグは地理で学んだようにアメリカの有名な鉄の産地でアパラチア山脈の西側、エリー湖の南約200キロに位置します。街自体は森の中に家が並ぶとても静かなところ(写真1)。今では製鉄所跡が



写真1 ピッツバーグの閑静な住宅街(アパートの窓から)

遊園地になっていたりショッピングモールになっていたりしていますが、石碑に「この鉄で2度の世界大戦に勝利した,,,」という文句が誇らしげに書かれています。これを見ると同時テロ直後というタイミングも手伝って、複雑な心境になったりもしますが、住人はとても親切で、ちょっとでも困っているとスーパーのレジだろうが、銀行だろうが、バス停だろうがとにかく助けてくれます。むしろ、ちょっと雰囲気の良いところにあるスーパーの店員がより親切だったりすることにびっくりするくらいです。食事はすぐにアメリカ人の通常食べるようなものは耐えられなくなって、しかし、日本からの食材は高価だし,,,ということで、「中国米国食材系日本食」という軟着陸点を見つけました。街の中国人社会の安いスーパーで米や調味料を調達して、アメリカ一般のスーパーで手に入れた安い肉、野菜を料理するというものです。嫁さんも含めて家族全員首を傾げながら食べておりました。帰国後、首を傾げることはなくなったので、やはり、おかしな味だったのでしょう。また、子供の学校(幼稚園)でも往生しました。アパートから一番近所の私立学校に入れたのですが、学校のシステムが分からない、それに関する単語を知らない、親(自分も嫁さんも)がうまく英語をしゃべれない。子供がしゃべれない問題は数カ月でどうにか改善されてくるものの、親がしゃべれないのは学校とのやり取りあるいはボランティア活動などで大変な障害になりました。これには苦労しました。研究室で実験している方がよっぽど楽なのです。ある程度子供が大きくなったところでの海外生活はこんなにも大変なのか、ということを知ることができました。

本題の研究編

私のお世話になった研究室はピッツバーグ大学薬学部において、動物体内での遺伝子デリバリーに関する研究をしています。そのボスの Prof. Leaf Hunag はリボソームを使った手法について、非常に多くの業績を残している人です。遺伝子デリバリーの世界では有名なこの方は台湾出身の中国人で平日は教授、休日は教会の牧師とハードワーカーです。当然、我々に対しても厳しく、顔色がいいと「元気そうだな、実験が足りないんじゃないか!」とまじめにいう人です。ディスカッションでも厳しくて、私も結構やり込まれました。英語についても彼自身苦労してきたこともあってかいつも「ちゃんとした英語をしゃべろ!」「こうやって説明するんだ!」と手を緩めません。そんな厳しい環境の中、私のもったテーマは「プラスミド DNA の肺上皮細胞への選択的デリバリー」というもので、リガンドあるいは抗体修飾したペプチド核酸(PNA)をプラスミド DNA に三重鎖形成で結合させ、静脈投与から肺上皮へ送達させるという作戦です(図1)。PNA の合成はペプチド屋としての誇りをかけて取り組み、すぐに完成したのですが(実は自動合成機で作るから簡単だったんです。)、リガンドあるいは抗体修飾して、本題の肺へのデリバリーがなかなかうまくいきません。数ヶ月経つと貴重な抗体はなくなるわ、私のテクニックが悪いと怒られるわ、さんざんな目に遭いました。このテーマが中止になるまで約9か月。結局まともな結果は得られませんでした。

しかし、不幸だったのは実はボスとネズミさんたちだけで、私自身この間にいろいろな知識とテクニックを盗むことができました。特に動物実験に関するテクニックです。同じ研究室に「Dr. Feng Liu」という中国人がいて、彼は1999年に「マウスに2ミリリットル弱(全血量に等しい)のプラスミド溶液を尾静脈から数秒以内で注射することで、肝臓に非常に高い遺伝子発現が起こる」ことを発見した人です。この方法はそのまま人間には適用できませんが、プラスミド DNA 自体である条件さえ整えば細胞内へ取り込まれ、遺伝子発現が起こるということを示しています。遺伝子を運ぶキャリアー分子についてあてもないこうでもないと必死に議論している我々に衝撃を与えた話題だったのです。さて、話を戻してそんな彼は当然、マウスを扱わせると天才的な能力を発揮して、まるでエッペンチューブを扱うようにマウスを扱います。プラスミドのチェックも制限酵素で切断してアガゲルでチェックなどとエレガントな方法は使わず、マウスに注射して発現すればオケー!という動物的な手段を使います。彼とはデスクが隣でよくいろいろなことを話し、また、テクニックを教えてもらっていたのです。これがこの1年間で一番大きな収穫だったと思います。残りの3か月は、「腫瘍組織へのリボソームの選択的デリバリー」というテーマをもらったのですが、これも不幸だったのはボスとネズミ(写真2)だけでした。

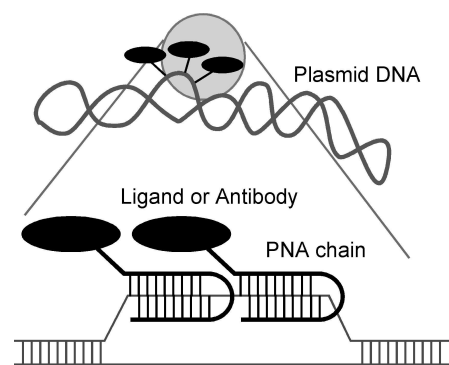


図1 プラスミド DNA の肺上皮細胞への選択的デリバリー想像図



写真2 ヒトのがん細胞を植えられたヌードマウス

番外編

アメリカの大学は多くがそうと思いますが、大学の施設が大変充実していました。図書館に行けばほとんどの雑誌は手に入るし、電子ジャーナルもほぼ不自由なく利用できます。また、ラジオアイソトープも自分の実験台で使えますし、そして、何よりも体育館が充実しておりました。初期の頃は週一回夜に研究室の日本人、インド人、中国人を集めてバドミントンをして楽しみ、その後、プール（50 m、室内、温水の本物）がタダで使えるという情報を仕入れ、そうなると毎日のように帰宅前にプールで泳いでいました。当然、帰宅後の風呂は省略できます。朝から夕方まで実験に専念して、夜には泳いで、家では一缶40セントのビールが待っている、日本では考えられない生活を満喫できたのです。週末は家族と広い公園でのんびり遊んで、ショッピングモールで買い物と本当に楽しい生活を送ることができました。しかし、周りにはポストク身分で死にそうな苦勞をしている日本人もいました。私はこちらでのポジションをもつてのサバティカルだったので、このようなお気楽極楽な生活をさせていただいたと思っております。そういった余裕のなかでいろいろなものを見させていただきました。今となっては夢のような話ですが、夢の中での経験をこれから現実の世界で活かしていくよう努力していきたいと思っております。

〔にいどめ たくろう、長崎大学工学部〕
e-mail: tanido@net.nagasaki-u.ac.jp

27th European Peptide Symposium に参加して

27th European Peptide Symposium (27th EPS) は、2002年8月31日から9月6日までの7日間にわたり、ナポリ大学Ettore Benedetti教授のお世話により、イタリア・ソレントにて開催されました。

ソレントは、南イタリアの中心都市ナポリから西に鉄道で約1時間の距離にある小都市で、欧州でも有数のリゾート地として知られています。私の訪れた学会開催期は、夏のさかりは過ぎていたようですが、それでも日中の陽射しは強く、かなり暑く感じられました。街中は、最も暑い昼間の約3時間を昼寝の時間 siesta として全店休業状態となる一方で、比較的涼しくなる夜遅くまでイタリアはもとより欧州各国からバカンスに訪れた多くの人々で賑わっていました。

シンポジウムのすべてのプログラムは、サテライトワークショップ“Peptides as Diagnostics”を含め、街の中心地から坂を上った高台に位置する Hilton Sorrento Palace Hotel において行われました。81件の口頭発表は1700席を有する大きなホールで行われ、連日活発な討論が繰り広げられました。このうち、学会3日目には、Celebration of 100th Anniversary of Emil H. Fischer's First Synthesis of a Peptide と称したセッションが企画され、著名な7名の先生方によ



大石 真也

り、ペプチドの化学合成にかかわるこれまでの研究や、現在あるいは今後の展開についての講演が行われました。

口頭発表が終わった夕方以降に開かれたポスターセッションでは、幅広い領域から550余の話題が提供され、所狭しと並んだポスターの前では若手研究者が積極的に討論に参加する姿が数多く見られました。ペプチド類の化学合成の領域として分類された発表が全体の約4割を占め、欧州ではペプチド科学の基盤技術として合成化学が重視されている印象を受けました。

日本からは、4件の口頭発表（産総研・中村先生、東工大・三原先生、京大・二木先生、大高先生）と数多くのポスター発表がエントリーされ、どの発表に対しても、多くの参加者から質問やコメントが寄せられていたようです。私もまた、これまで約2年半にわたり取り組んできたペプチドミメティックの合成と応用に関する研究について発表する機会をいただき、初めて国外の学会において評価を受けることができました。国内の学会では研究に携わる方の数が少ないペプチドミメティックのテーマですが、欧州の大学の学生はもとより予想外に企業関係者からのアプローチが多く、有意義なディスカッションをすることができました。なお、今回の学会ではポスター賞が設けられていたものの、残念ながら日本からの発表の受賞はありませんでした。欧州での日本の研究への注目を見積もる指標として、今後の受賞が期待されることはないかと思えます。

シンポジウム全体を通して、ペプチド結合を含む化合物（ペプチドミメティックに関して言えば、ペプチド結合すら含まない化合物）に関する研究を幅広く取り扱うEPSは、日本におけるペプチド討論会よりむしろ、くすりというテーマで化学から生物、医療まで幅広く取り扱い、多くの研究者が参加する薬学会年會に近い趣の学会のように感じられました。普段日本の他の学会ではよく目にするいくつかのテーマを、ペプチドの観点からとらえることにより興味深く見聞きすることができたと思います。

また、シンポジウム会場のロビーでは、多くの世界各国の企業のブースが設けられており、積極的なセー



日本ペプチド学会のブース

ルスが展開されていました。また、折り鶴等のさまざまな日本ならではの彩られた日本ペプチド学会のブースでは、本年および来年のペプチド討論会の案内とともに、学会誌 Peptide Science のバックナンバーの紹介が行われていました。米国ペプチド学会からは、来年7月にボストンにて開催される18th American Peptide Symposium が紹介され、ロゴ入りのペンライトが配布されていました。

一方、日ごとに異なる方面への Excursion が企画され、こちらにも多くの参加者があったようです。ソレントの近くには、世界遺産で知られるポンペイやアマルフィ海岸、青の洞窟で有名なカプリ島といった南イタリアの中でもよく知られた観光地があります。なかでも、学会3日目の Free Afternoon に企画されたポンペイの古代都市遺跡へのツアーには、学会参加者の大半が参加されていたようで、ヴェスーヴィオ火山のふもとに向けて十数台のバスを連ねての小旅行でした。

次回2004年の28th EPSは、3rd International Peptide Symposium (3rd IPS) として、チェコ・プラハにて開催されます (http://www.kenes.com/28eps 参照)。欧州で開催される最初の IPS として歴史に残る有意義なシンポジウムとなることを期待しています。

最後になりましたが、私の本シンポジウムへの参加は、日本ペプチド学会の若手研究者参加支援事業の助成によるものであり、学会役員、選考委員の先生方に心より御礼申し上げます。

【おおいし しんや、京都大学大学院薬学研究所】
e-mail: soishi@pharm.kyoto-u.ac.jp

第40回ペプチド討論会

日 時

平成15年10月29日(水)~31日(金)

会 場

かずさアカデミアホール
(千葉県木更津市矢那1637)

主 催

日本ペプチド学会

討論主題

- 1) ペプチドの合成法および反応
- 2) 生理活性ペプチドの単離精製、構造決定および合成
- 3) ペプチドの構造 - 機能相関
- 4) ペプチドの薬学的・医学的研究
- 5) ペプチドのコンフォメーション
- 6) ペプチドの de novo 設計, mimetics
- 7) その他広くペプチド科学に関する研究

発表形式

A) 口頭発表, B) ポスター発表
(発表形式の決定は世話人にご一任下さい。)

使用言語

今回、口頭発表は日本語または英語の選択制とし、すべてのプレゼンテーションの表記言語は英語に統一します。

発表申込方法

氏名(発表者に下線)、所属、連絡先(〒、住所、

Tel, Fax, E-mail)、発表領域(討論主題より選択)、希望発表形式、口頭発表の場合の使用言語、題目、300字程度の講演要旨(プログラム編成用)を E-mail でお送り下さい。

申 込 先

40jps@noguchi.or.jp

講演申込締切り

7月4日(金)必着

参 加 費

日本ペプチド学会正会員	4,000円
学生会員	1,000円
共催学会会員	8,000円
共催学会学生会員	3,000円
非会員	10,000円
非会員学生	4,000円

世話人代表

植木 正彬
〒162-8601 新宿区神楽坂1-3
東京理科大学理学部応用化学科
Tel (03) 5228-8258
Fax (03) 5235-2214
E-mail: maueki@ch.kagu.tus.ac.jp
(事務局) E-mail: 40jps@noguchi.or.jp

【学会より】

平成14年度総会議事録および第47回理事・第19回評議員合同会議事録はホームページに掲載されています。

ホームページを定期的にご覧下さい。ニュースレターにおいて定期的に掲載できないご案内などホームページにて掲載します。またホームページ、ニュースレターへのご意見、ご提案を事務局(ホームページ連絡先)までお寄せ下さい。

http://peptide-soc.jp

PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会
〒562-8686 箕面市稲4-1-2
(財)蛋白質研究奨励会内

編集委員

三原 久和(担当理事)
(東京工業大学大学院生命理工学研究科)
TEL 045-924-5756, FAX 045-924-5833
e-mail: hmihara@bio.titech.ac.jp
坂口 和靖(九州大学大学院理学研究院)
TEL 092-642-2585, FAX 092-642-2607
e-mail: kazu1scc@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp
熊谷久美子(麟ペプチド研究所)
TEL 0727-29-6105, FAX 0727-29-5179
e-mail: kumiko@peptide.co.jp
永田 宏次(東京大学生物生産工学研究センター)
TEL 03-5841-3073, FAX 03-5841-8030
e-mail: unagata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

(本号編集担当：三原 久和)