



# PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.65

2007年7月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<http://peptide-soc.jp>

## 糖鎖からペプチドへ

筆者は糖鎖の研究との付き合いが長い。1983年に長崎大学の故砂本順三先生の研究室の助手として採用して頂いて以来約25年間、多糖、糖脂質あるいは糖タンパク質などが含まれた集合体の構造や機能に関する研究を行ってきた。多糖被覆リポソームを用いたドラッグデリバリーシステムの開発や癌に対するワクチン開発などの非常に興味深い研究に関与させて頂いた。1992年に東京工業大学（教授 岡畑 恵雄先生）へ助教として異動し、新規なドラッグデリバリーシステムの開発に加えて、糖鎖認識の動力学解析を行うようになった。糖鎖生物学の進展に伴い、糖脂質や糖タンパク質に含まれるオリゴ糖鎖の生物機能が飛躍的に明らかになってきたことから、糖鎖認識に関する動力学的パラメーターを求めることも重要な研究であった。そこで、糖脂質単分子膜を用いて、レクチン、毒素あるいはインフルエンザウイルスなどの結合性をQCM（水晶振動子マイクロバランス）法で定量的に評価する実験を行なったところ、新たな受容体の発見や結合阻害剤の活性評価など多くの成果を得る事ができた。ちょうどその頃に、ファージ提示ペプチドライブラリーの技術を知った。これを使えば、糖鎖に結合する独自のペプチド配列を取得でき、糖-アミノ酸間の相互作用を研究することも可能になると期待した。しかしながら、当時の学会等で知り得る限り、ファージライブラリーの研究からは必ずしも有用な成果が得られていなかったことから、技術としては時期尚早と思われ、数年は研究への着手を躊躇していた。そんな中、瀧 孝雄先生（大塚製薬株式会社）との共同研究がファージライブラリーを用いた実験を開始するきっかけとなった。



佐藤 智典

## 糖脂質結合性ペプチド

タンパク質による糖鎖の認識においては、おもに水素結合および van der Waals 力が寄与していることが知られている。水素結合では、糖水酸基がタンパク質主鎖や側鎖の NH 基および酸素原子と相互作用している。一方、芳香環を持つアミノ酸は糖の疎水部分と van der Waals 力によって相互作用する。例えばガラクトースの場合、極性 OH 基の向きがピラノース環の片面に偏っているため、他の面が疎水性となってい

る。筆者は、糖鎖を認識するペプチドに一般的な特性があるのかどうか、糖鎖を認識するペプチドを人工的に得ることが出来るのか、という事に興味を抱いた。

糖鎖に結合する新たな分子をファージライブラリーにより探索するには、抗体ライブラリー<sup>1)</sup>、レクチンライブラリー<sup>2)</sup>、ペプチドライブラリー<sup>3)</sup>などが候補になる。筆者らは、ファージの外殻 pIII タンパク質に15アミノ酸残基のランダムペプチドを提示しているファージ提示ペプチドライブラリーを用いている。また、ファージライブラリーの最初のターゲットに選んだのはシアル酸を有するスフィンゴ糖脂質（ガングリオシド）のひとつである GM1 である（図1(A)）。GM1はコレラ毒素の受容体であり、アミロイドが線維化する際の開始点として働いていると考えられている。

ファージ提示ペプチドライブラリーから GM1 に結合するファージを選び出す操作（アフィニティセクション）において、筆者らは単分子膜を用いるという工夫を行なった。有機溶媒に溶解させた脂質分子を水面上に展開すると、有機溶媒が蒸発し、気-水界面単分子膜が形成される（図1(B)）。ここで脂質単分子膜の水面の面積を減少させることで、親水基を水層に疎水性部分を気相に配向した単分子膜が形成される。ガングリオシドのようなスフィンゴ糖脂質も安定な単分子膜を形成するので、基板に累積した単分子膜はリガンドとの相互作用解析に用いることが出来る<sup>4,5)</sup>。このような脂質分子が配向した単分子膜にファージライブラリーを結合させることで、ガングリオシドの糖鎖を認識できるファージを思惑通りに効率よく選び出すことができた<sup>6)</sup>。糖脂質をランダムに物理吸着させたキャスト膜では糖鎖に結合する分子のセクションは上手く行かなかったことから、単分子膜を用いることの利点は明らかであった。アフィニティセクションを数回繰り返すことで GM1 単分子膜に結合するファージクローンが得られ、化学合成した15残基のペプチドは、GM1とコレラ毒素 B サブユニットとの結合を  $IC_{50} = 1.0 \mu M$  で阻害する事がわかった。また、GM1結合性ペプチドは、単分子膜モデルを用いた実験により脂質膜中で形成される GM1 の集合構造に結合していることも見出された<sup>7)</sup>。細胞膜では糖脂質はラフトと呼ばれる集合構造を形成していることから、糖脂質結合性ペプチドはラフトのマーカーとして利用できる可能性も出てきている。

同様の方法で他のガングリオシド（GM2, GM3, GD1a など）に対するアフィニティセクションを行ったところ、各ガングリオシドで異なったモチーフのペプチドが得られたが、ペプチドは配列中には Arg

と芳香族アミノ酸が高い割合で出現しており、ガングリオシドの認識に関与していると考えられた。

最近、このような糖鎖結合性ペプチドが、細胞表面の糖鎖とも結合することが見出されてきたことから、そのような機能を利用した研究へと展開している。

### インフルエンザウイルス結合性ペプチド

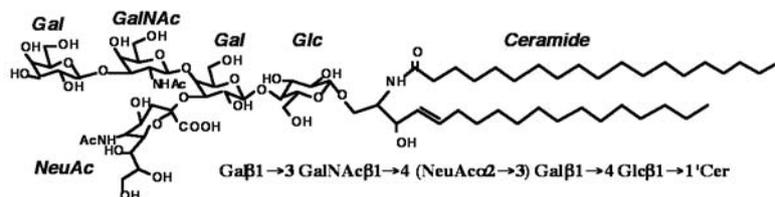
インフルエンザウイルスは、ウイルス表面のヘマグルチニン (HA, 赤血球凝集素) というタンパク質により宿主細胞表面の糖鎖を認識して細胞内に侵入することが判っている。先に述べた糖脂質含有単分子膜を用いてインフルエンザウイルスの結合挙動の定量的な評価を行なう研究において、シアル酸やオリゴ糖鎖の阻害剤としての活性の定量的評価も行なっていた。その中で、フッ素化されたシアル酸誘導体が阻害剤となる事を見出した。このようなインフルエンザウイルス HA の結合を阻害する分子に関する研究は、文献を調べてみると非常に少ないことが判った。それならば感染阻害剤として使えるペプチドをファージライブラリーからスクリーニングしてみるのも面白いのではないかと考えた。HA の糖鎖認識部位に結合するペプチドであれば、ウイルスの感染を阻害できるはずである。そのようなペプチドは糖ミミックペプチドあるいは糖レプリカペプチドと呼ばれている。HA 結合性ペプチドを得るための実験の概略を図 2 に示している。毎年流行しているインフルエンザの HA には異なる亜型が存在していることから、異なる亜型の HA に共通して結合するペプチドを得るのに試行錯誤を重ねた

が、アフィニティセクションの手法を改良する事で HA 結合性ペプチドを得ることに成功した<sup>8)</sup>。ところがペプチド単独ではインフルエンザが細胞に感染する事を阻害する事はできなかった。そこで、アルキル鎖を導入してリポペプチドにすることで、リポソーム表面に提示したり、あるいは自己集合体を形成することで、感染阻害活性の向上が見られるようになった。最近では、インフルエンザウイルスを投与したマウスを用いた実験で延命効果を確認することができた。インフルエンザを投与した群では 8 日後にはマウスが死亡するが、ペプチドを投与した群では 24 日経っても生存していた。これにより、HA 結合性ペプチドが治療薬としての開発につながると期待できるようになってきた。現在臨床で用いられているインフルエンザの治療薬はウイルス上のノイラミニダーゼという酵素を標的にしている。筆者らが目指しているペプチドは、標的タンパク質が異なり、別の作用機序で抗ウイルス効果をもたらすことになる。

### 今後の展望

ファージ提示ペプチドライブラリーの最大の欠点はライブラリー数が少ない事である。15アミノ酸残基が完全にランダムなライブラリーは  $3.3 \times 10^{10}$  であるが、実際に用いているファージのライブラリー数は  $2.5 \times 10^8$  にすぎない。そこで、1 回目のアフィニティセクションで得られた配列に複数箇所の変異をランダムに導入したサブライブラリーを作製して、2 回目のアフィニティセクションを実施している。これに

#### A) ガングリオシド GM1 の構造



#### B) 単分子膜の作製とアフィニティセクション

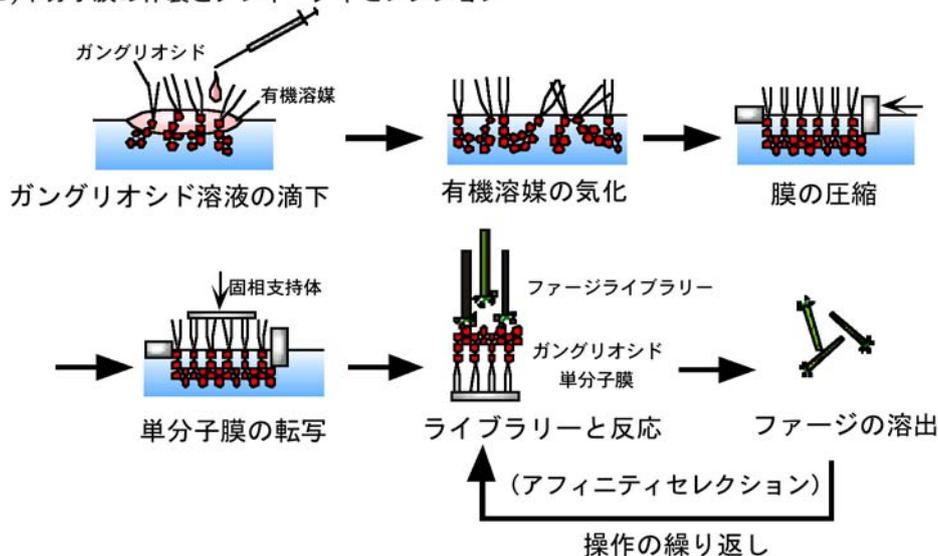
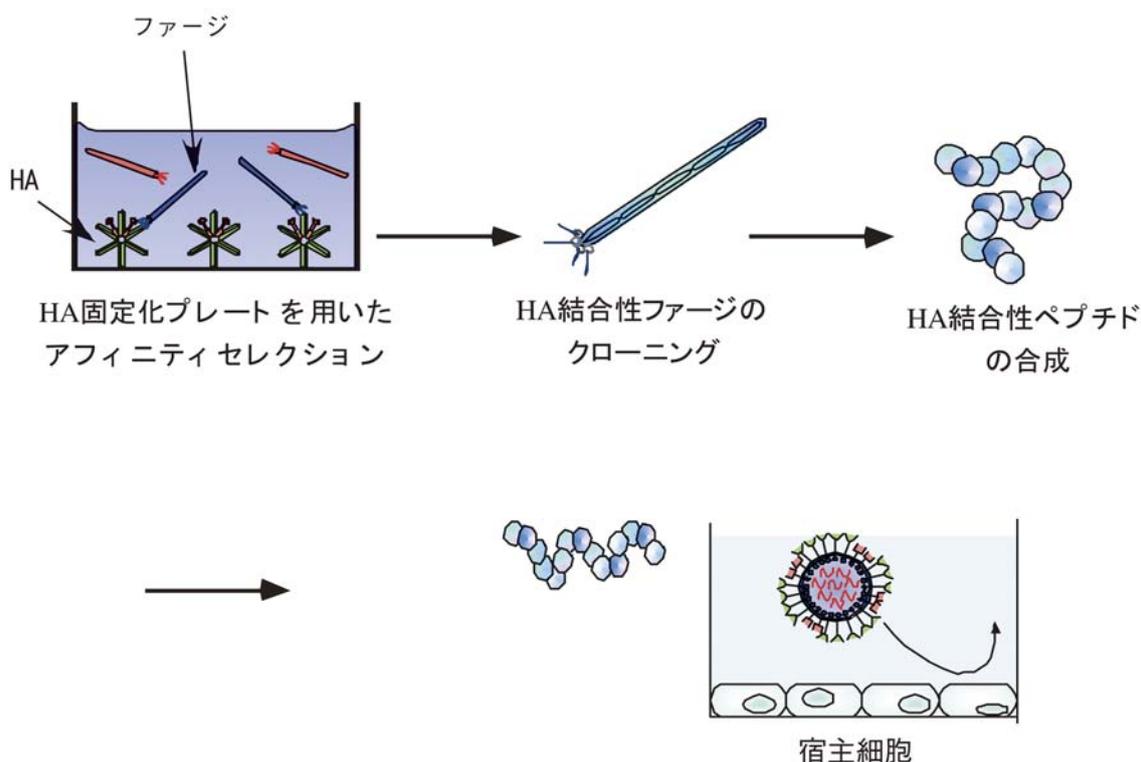


図 1 (A) ガングリオシド GM1 の構造と (B) 脂質単分子膜の作製とそれを用いたアフィニティセクションの概念図



### インフルエンザウイルスの感染に対する阻害効果

図2 インフルエンザヘマグルチニンに結合性を有するペプチドのセレクションと感染阻害実験の概念図

より結合定数の向上したペプチド配列が得られるようになった。このような分子進化的な手法により、ペプチド配列の機能を向上させることにも成功している。これによりライブラリー数の少なさを補えるのではないかと考えている。

糖鎖が関わっている生物機能は多様である。そこで、糖鎖に結合するペプチドおよび糖ミミックペプチドが利用できる範囲も多様であると考えられる。糖鎖の利用技術の開拓と同様に、ペプチドの用途を開拓することも、筆者の研究の楽しみとなってきた。ペプチド化学をもう少し勉強しなくてはならないと思い、昨年三原久和先生がお世話をされたペプチド討論会(43JPS/PEM4)に参加し、その際に学会に入会させていただいた。ペプチド学会への参加はその時が2回目であったが、今後は積極的に参加してみようと思っている。

#### 参考文献

- 1) S.J. Deng, C.R. MacKenzie, J. Sadowska, J. Michniewicz, N.M. Young, D.R. Bundle, S.A. Narang, *J. Biol. Chem.*, **269**, 9533-9538 (1994).
- 2) K. Yamamoto, I.N. Maruyama, T. Osawa, *J. Biochem.*, **127**, 137-142 (2000).
- 3) E.N. Peletskaya, G. Glinsky, S.L. Deutscher, T.P. Quinn, *Mol. Divers.*, **2**, 13-18 (1996).
- 4) 佐藤智典, 蛋白質核酸酵素, **46**, 1247 (2001).
- 5) 佐藤智典, 化学総説 (日本化学会編), 学会出版センター, No 48, 189-198 (2001).
- 6) T. Matsubara, D. Ishikawa, T. Taki, Y. Okahata, T. Sato,

*FEBS Lett.*, **456**, 253-256 (1999).

- 7) T. Matsubara, K. Iijima, M. Nakamura, T. Taki, Y. Okahata, T. Sato, *Langmuir*, **23**, 708-714 (2007).
- 8) T. Sato, M. Sumi, K. Ogino, and T. Taki, *Peptide Science* **2001**, 329-330 (2002).

さとう としのり  
慶應義塾大学 理工学部生命情報学科  
sato@bio.keio.ac.jp

### 自然免疫を調節する細菌複合糖質の合成と生物機能研究への展開

まずは自己紹介をさせていただきます。私は現在大阪大学大学院理学研究科化学専攻学際化学講座天然物有機化学研究室を担当しております。当研究室の歴史は、昭和25年に赤堀研究室の助教授であった金子武夫先生が教授になられた時に始まり、その後、芝哲夫先生、楠本正一先生に研究室が引き継がれてきました。私は昭和56年に芝研究室に配属となり、昭和63年に芝先生がご退官されるまで、芝先生の薫陶を受けてきました。同年、楠本先生が教授になられてから、助手として採用していただき、さらに講師、助教授として教育・研究に携わってきました。平成16年に楠本先生がご退官された後、同年の12月に教授に昇任いたしました。現在は藤



深瀬 浩一

本ゆかり講師，田中克典助教とともに学生，秘書を含め総勢24名で研究に取り組んでおります。

芝研究室時代から行っているバクテリア由来の免疫増強活性複合糖質に関する研究は，自然免疫機構の分子レベルでの解明へと発展し，自然免疫受容体と免疫増強複合糖質の相互作用，生体レベルにおける免疫増強複合糖質の作用などについて研究を進めています。動物細胞上にある糖鎖の合成研究についても力を注いでおり，生命科学研究への展開を模索中です。そのため新たな方法論として，糖鎖や糖タンパク質，糖ペプチドなどの複合糖質の生体内における分布や動態を調べるために，新たな迅速標識法を開発し，生体レベルでの分子イメージング研究を始めました。ここでは自然免疫研究の経緯について，最新の成果を含めて紹介いたします。

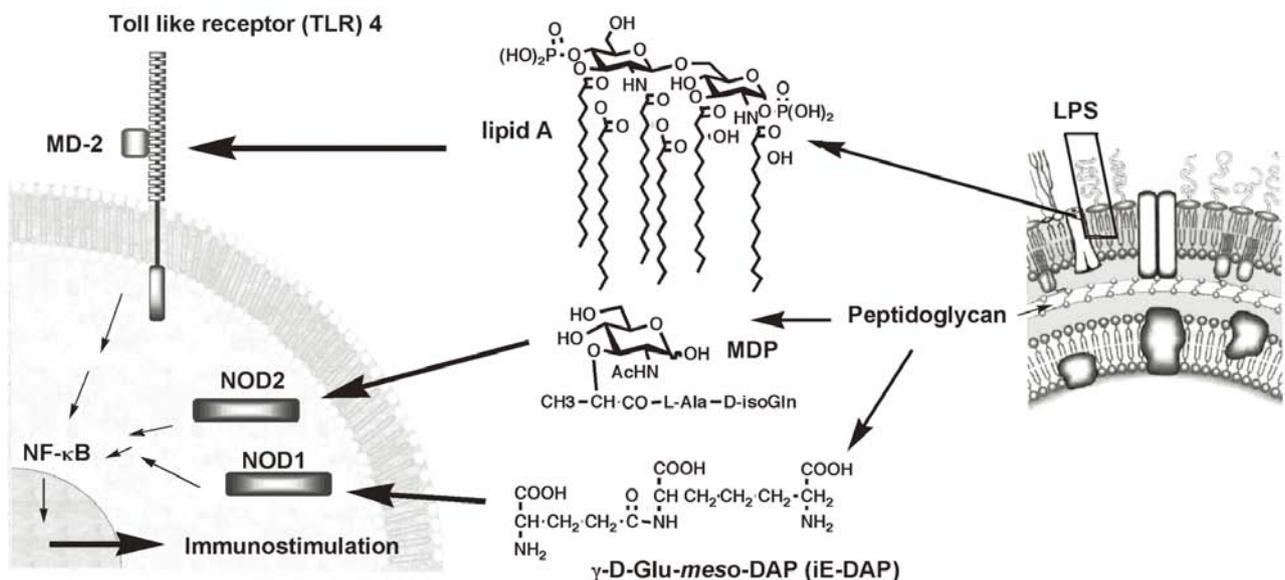
自然界は細菌，ウイルス，カビなどの微生物に満ちており，多細胞生物はこれらの微生物から身を守るための生体防御システムを発達させています。脊椎動物は「獲得免疫」により，病原体由来分子の記憶に基づいて，病原体を速やかに排除します。しかし，細菌やウイルスに初めて遭遇した場合は「自然免疫」が始動し，種々のセンサー受容体を介して様々な病原体が作り出す特有の分子を感知し，炎症反応を引き起こして，侵入者から身を守ります。続いて侵入者に対する抗体が産生され，獲得免疫により侵入者を排除します。自然免疫反応の鍵となるのが，「Toll 様受容体 (TLR)」で細菌やウイルスに特有の分子構造を認識して，炎症反応を引き起こします。TLR は自然免疫に関わるタンパク質ファミリーの 1 つであり，その起源は古く，昆虫，脊椎動物など生物界に広く見られます。TLR は獲得免疫の成立にも重要で，後に述べるように生体防御において極めて重要な役割を果たしています。一方 TLR の過剰な作用により慢性関節リウマチや全身性エリテマトーデス，心血管障害など，深刻な慢性炎症疾患が引き起こされることが明らかにされました。大阪大学微生物病研究所の審良静男先生は種々の TLR による病原体の認識や細胞内のシグナル伝達機構を明らかにされるなど自然免疫系の活性化機構を

明らかにしたことから大きな注目を集めています。

自然免疫研究の礎を築いたのが，微生物由来の免疫増強物質に関する研究です。細菌細胞壁ペプチドグリカンやグラム陰性菌のリポ多糖などの細菌複合糖質による免疫増強作用はそれぞれ20世紀中頃，19世紀末というようになりに古くから知られていました。これらの細菌複合糖質の示す免疫増強作用の物質的な基盤を最初に明らかにしたのが，芝先生，楠本先生を中心とする大阪大学グループと共同研究者のグループです。大阪大学歯学部の小谷先生らと協力して1975年にペプチドグリカンの免疫増強活性を示す最小構造がムラミルジペプチド (MDP) であることを明らかにしました。なお同時期に (わずかに早く) フランスの Lederer さんも同様の結果を発表しています。分子量わずか500程度の小分子が細胞壁全体の活性を表していることは大きな驚きでした。大腸菌のような腸内細菌のリポ多糖 (LPS) は，強い免疫増強作用を示すだけでなく，その過剰な作用により強い炎症が引き起こされ重篤な場合はショックにより死に至ることから内毒素とも呼ばれます。LPS 中の糖脂質であるリピド A が内毒素作用を示すことが Westphal らによって示されていましたが，芝先生，楠本先生は1983~85年にリピド A の構造決定ならびにその合成に成功し，LPS の生物活性はその一部分であるリピド A が担っていることを立証しました<sup>1)</sup>。

このようにして生体は微生物に特徴的な化学構造を厳密に認識して免疫を増強することが明らかにされましたが，認識機構については全く不明でした。大阪大学グループは LPS の生合成前駆体であるテトラアシル型リピド A の合成を行い，この化合物がヒトにおいては LPS のアンタゴニストとして作用することを見出しました。この発見によって LPS 受容体の存在が示され，その探索研究が行われました。その結果 CD14 や LBP (lipopolysaccharide binding protein) などの結合タンパク質が見出されましたが，膜貫通部位を有する真の受容体はなかなか明らかになりませんでした。

Toll はショウジョウバエの発生の初期過程において背腹のパターン形成に関わる受容体として見出された



もので、1996年に昆虫の自然免疫に関わる受容体であることが明らかにされました。これを基にTLRが発見され、さらにTLR4がLPSの受容体であることが明らかにされました。なお当初はTLR2がLPSの受容体であるとも報告されましたが、後にこれはLPSに混入していたリポタンパク質の影響であることがわかり、合成リポドAを用いた検証によりTLR4がLPS受容体であることが確認されました。一方、三宅らはTLR4の結合タンパク質としてMD2を見出し、MD2がシグナルの伝達に必須であることを明らかにし、我々の合成リポドAを用いてMD2が直接の認識に関わっていることが明らかにされました。

我々は、LPS受容体の探索を目的として、リポドAの一位リン酸基とアノマー炭素の間にエチレングリコールが挿入されたホスホノキシエチル(PE)類縁体がリポドAと同等の活性を示すことから、不安定なグリコシルリン酸を持たないPE-類縁体について放射性標識体の合成を検討していました。そのために効率的な合成法ならびに精製法を確立するなど大変な努力を要してようやく合成に成功しましたが、TLR4受容体の探索には間に合いませんでした。しかし標識体を用いてTLR4-MD2とリポドAが複合体を形成することが明確に示されました。またアンタゴニストのTLR4-MD2への結合量は、活性型である大腸菌型ヘキサシルリポドAの結合量の約2倍であることが明らかになりました。これは二つのTLR4-MD2が大腸菌リポドA一分子に結合して二量化し、活性化と細胞内へのシグナル伝達が起こることを示しています。一方アンタゴニストはTLR4-MD2と1:1で結合するので、TLR4-MD2を活性化しないものと考えています<sup>1)</sup>。

LPSではリポドAはKdoと呼ばれる酸性糖を介して多糖部と結合しています。我々はKdo二残基がリポドAに結合したRe変異株LPSを合成し、Kdo残基が活性を増強すること、すなわちTLR4-MD2はリポドAに加え、Kdo部も認識することを見出しました<sup>2)</sup>。ペスト菌は27°Cで生育するとヘキサシルリポドA構造を発現するが、哺乳類の体温である37°CではアンタゴニストであるテトラアシルリポドAを発現します。我々はそのLPSの生物活性に興味を持ち、テトラアシルリポドAにKdoが2残基結合したLPSを合成したところ、この化合物もテトラアシルリポドAと同様にアンタゴニスト作用を示しました。ペスト菌LPSのアンタゴニスト作用が、感染初期の自然免疫反応を阻害し、ペスト菌の病原性に影響を与えているものと考えられます。最近37°CにおいてもヘキサシルリポドAを発現する変異ペスト菌が感染能を失うことが見出され、病原体の感染阻止における自然免疫の重要性が明らかにされました<sup>2)</sup>。我々は以上の他にも様々なリポドAや類縁体のライブラリーを合成し、活性発現に重要な構造要因や活性発現機構の解析を行っています<sup>3)</sup>。

ペプチドグリカン(PGN)はN-アセチルグルコサミンとムラミン酸が交互に結合した糖鎖が網目状に架橋された巨大分子です。上記のようにPGNの活性発現に必要な最小構造はムラミルジペプチド(MDP)であることが当研究室で見出されていましたが、その活性発現機構は最近まで未知でした。我々は未開拓の領域であったPGNフラグメントの合成研究を行い、ミ

シガン大学の猪原らと協力して受容体とその認識構造の探索を行いました。その結果PGN受容体候補であるtoll like receptor 2(TLR2)は、PGNの基本骨格を認識しないと結論し<sup>4)</sup>、猪原らとの共同研究により細胞内のNOD2がPGNの受容体であり、その最小認識構造がMDPであることを明らかにしました<sup>4,5)</sup>。なおNOD2の変異によりその機能が失われるとクローン病になりやすいことが示されています。

一方NOD1はグラム陰性菌PGNに特有のジペプチド構造 $\gamma$ -D-Glu-meso-diaminopimelic acid(iE-DAP)を認識して免疫系を活性化することを明らかにしました<sup>6)</sup>。iE-DAPが免疫増強作用を示すことは藤沢薬品によって明らかにされていましたが、その受容体を特定したことになります。さらに強力なアゴニストを求めて探索を進め、iE-DAPの数百倍の活性を有するtetradecanoyl-iE-DAPを見出しました。in vivoにおけるNOD1の役割を明かにするために、この化合物を作用させたところNOD1の刺激によってケモカインの誘導ならびに抗体産生の増強は見られるが、TLRとは異なり炎症性のサイトカインを誘導しないことが明らかになりました<sup>7)</sup>。NOD1は腸管などの粘膜上皮細胞において高度に発現しており、TLRが働くよりも先に生体防御に関わっているのだと思われます。

NOD1の機能が欠損した人は喘息になりやすいように、自然免疫に関わる受容体は、アレルギー、自己免疫疾患、癌などと密接に関わっています。これらの解析に自然免疫を調節する化合物は有用であるし、それらを用いて自然免疫受容体の機能を制御することで、抗腫瘍、抗アレルギー、あるいはワクチン作用の増強など新たな免疫療法の開発につながるものと期待されます。

以上のように我々の研究室では以前から、医学・生物学との境界領域において、生物活性分子が関与する生命現象を生体との相互作用に基づいて解明するという研究領域を開拓してきました。この領域は国際的に大きな潮流となって発展しており、その一部はケミカルバイオロジーとして注目されております。我々はこれまで同様に生命化学の基盤となる研究を展開し、新天地を開拓していくと同時に、独創的で個性豊かな後進を育成したいと考えています。

## 参考文献

- 1) Kusumoto, S.; Fukase, K. *Chem. Rec.* **2006**, *6*, 333.
- 2) Montminy, S. W.; Khan, N.; McGrath, S.; Walkowicz, M. J.; Sharp, E.; Conlon, J. E.; Fukase, K.; Kusumoto, S.; Sweet, C.; Miyake, K.; Akira, S.; Cotter, R. J.; Goguen, J.D.; Lien, E. *Nature Immunol.* **2006**, *7*, 1066.
- 3) Fujimoto, Y.; Adachi, Y.; Akamatsu, M.; Fukase, Y.; Kataoka, M.; Suda, Y.; Fukase, K.; Kusumoto, S. *J. Endotoxin Res.* **2005**, *11*, 341.
- 4) Inamura, S.; Fujimoto, Y.; Kawasaki, A.; Shiokawa, Z.; Woelk, E.; Heine, H.; Lindner, B.; Inohara, N.; Kusumoto, S.; Fukase, K. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 23.
- 5) Inohara, N.; Ogura, Y.; Fontalba, A.; Gutierrez, O.; Pons, F.; Crespo, J.; Fukase, K.; Inamura, S.; Kusumoto, S.; Hashimoto, M.; Foster, S. J.; Moran, A. P.; Fernandez-Luna, J. L.; Nunez, G. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 5509.

- 6) Chamailard, M.; Hashimoto, M.; Horie, Y.; Masumoto, J.; Qiu, S.; Saab, L.; Ogura, Y.; Kawasaki, A.; Fukase, K.; Kusumoto, S.; Valvano, M. A.; Foster, S.J.; Mak, T. W.; Nunez, G.; Inohara, N. *Nature Immunol.* **2003**, *4*, 702.
- 7) Masumoto, J.; Yang, K.; Varambally, S.; Hasegawa, M.; Tomlins, S. A.; Qiu, S.; Fujimoto, Y.; Kawasaki, A.; Foster, S. J.; Horie, Y.; Mak, T. W.; Nunez, G.; Chinnaiyan, A. M.; Fukase, K.; Inohara, N. *J. Exp. Med.* **2006**, *203*, 203.

ふかせ こういち  
 大阪大学大学院理学研究科化学専攻  
 天然物有機化学研究室  
 koichi@chem.sci.osaka-u.ac.jp

### ヒト複合型糖鎖をもつ糖タンパク質の化学合成



梶原 康宏



山本 直毅

タンパク質には、糖鎖が結合した糖タンパク質が存在する。糖鎖は、タンパク質のアスパラギンあるいは、セリン、スレオニンの側鎖に結合している。糖タンパク質の多くは、細胞表層で細胞間相互作用などに関与している。特に、アスパラギンに結合したヒトのN型糖鎖 (Fig. 1) は、糖残基10個以上から構築され、そしてタンパク質分子を覆うことで、タンパク質の抗原性、輸送、3次元構造の維持など、タンパク質の機能発現に寄与している。しかし、糖タンパク質は、構成するアミノ酸配列が同一であっても、糖鎖構造が不均一なことによる混合物として存在している。糖鎖は、タンパク質の翻訳後修飾における代表的な分子として知られているが、その機能はいまだ明確に調べ尽くされていない。タンパク質上の糖鎖機能を調べるためには構造の明確な糖鎖をもつタンパク質を調製することが必要であるといわれ続けている。最近、酵母にヒト型糖鎖1を持つ糖タンパク質を発現させる方法が見出された<sup>1)</sup>。また、その糖鎖構造の種類は限定されるが単一構造の糖鎖をもつ糖タンパク質が効率よく発現できるようになっており、糖タンパク質製剤開発の点からも注目を集めている。私たちの研究室では、鶏卵から得られるシアリルグリコペプチドからシアリル糖鎖アスパラギン1 (Fig. 1) を大量に得る方法を確立している<sup>2,3)</sup>。そして、この糖鎖アスパラギンを原料に、単一構造のヒト型糖鎖をもつ大型ペプチドや糖タンパク質の化学合成の検討をおこなってきた<sup>2,3)</sup>。ここでは、これまで得られた成果を紹介する。

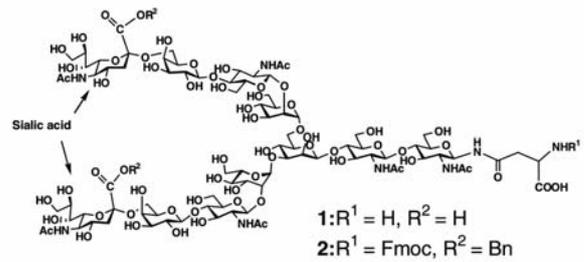


Fig. 1 Complex type sialyloligosaccharyl-asparagine

### アスパラギン結合型シアリル糖鎖ペプチドの合成

ヒト型糖鎖1は、化学的に調製するには高度な合成技術が要求され、糖ペプチド合成に必要な量を確保することは困難であった。そこで、鶏卵から大量に得られる糖鎖アスパラギン1を利用する糖ペプチド合成を検討することにした<sup>2)</sup>。糖鎖ペプチドの合成はFmoc固相合成法を利用することが簡便であることから、まず、シアリル糖鎖1に9-fluorenylmethyl-oxy-carbonate (Fmoc) 基を導入した後、シアル酸のカルボキシル基のみを選択的に保護する検討を行った。炭酸セシウムを用いて水溶液中でカルボキシル基をセシウム塩とした。そして、溶媒をDMFに換え、ベンジルプロミドを反応させたところ、シアル酸のカルボキシル基のみ選択的にベンジルエステル化することに成功し2を得た。次にシアリル糖鎖2を実際にペプチドの固相合成に利用する検討を行った。一般に、Fmoc法によるペプチドの固相合成が完了すると、トリフルオロ酢酸 (TFA) を用いて固相からペプチドを切り出す操作を行う。しかし、この過程で、酸に弱いシアル酸残基が加水分解され糖鎖から欠如することが危惧されていた。そこで、糖鎖2を糖ペプチドの固相合成に利用するために95%TFA溶液に溶解させシアル酸残基が酸加水分解されるかどうか安定性を<sup>1</sup>H-NMRを用いて調べた。その結果、<sup>1</sup>H-NMRで観測する限り糖鎖2は95%TFA溶液で3時間処理してもシアル酸残基が加水分解されないことを見いだした。これは、カルボキシル基がベンジルエステル化されることで2位から1位への電子求引性が向上することが原因と考えている。そこで、ヒトエリスロポエチンに含まれる配列 (ALLVNSS:Nに糖鎖が結合) 3など、様々なシアリル糖鎖ペプチドの合成を検討した。また、この糖ペプチド合成の際、遊離の糖水酸基へのアミノ酸によるエステル化が危惧されたが、固相合成に用いるFmoc-アミノ酸を40 mM以下の濃度に設定して反応させれば、この問題を回避することができた (Fig. 2)<sup>3)</sup>。

### 11 kDaのシアリル糖鎖タンパク質の合成

次に、この糖ペプチド合成法を用いて糖タンパク質 (MCP-3) の合成を検討することにした。タンパク質を合成するには、全長のペプチド鎖をいくつかのフラグメントに分けて合成後、それらフラグメントをNative Chemical Ligation (NCL) を用いて連結していくルートが簡便である。幸いこのMCP-3は、分子内に4つシステイン残基を持つので、11, 36番目のシステイン残基のところで分けた3つのフラグメント (6, 7, 8) の合成を計画した (Fig. 5)。そしてそれぞれ

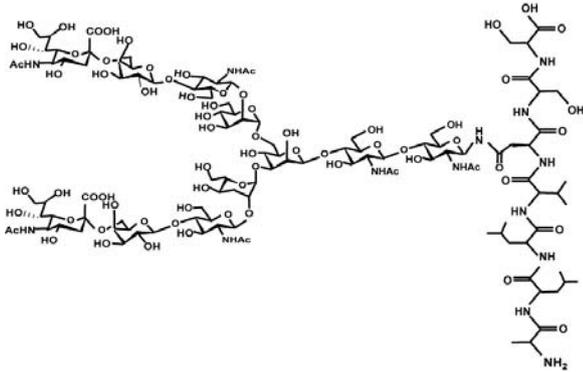


Fig. 2 エリスロポエチンがもつ糖ペプチドフラグメント

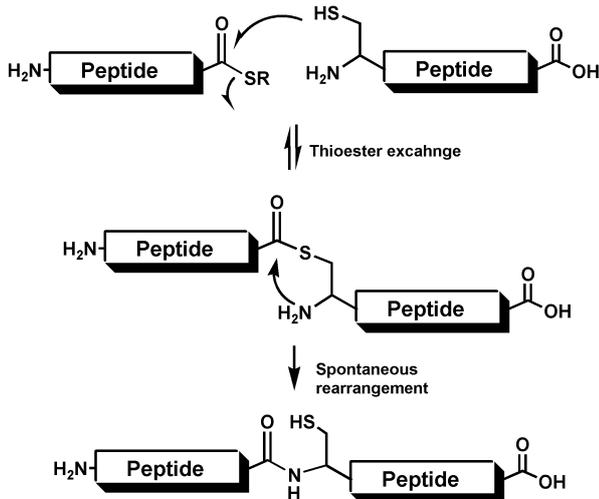


Fig. 3 Native Chemical Ligation

を合成して順次NCLで連結して全合成を検討することにした。また、NCLを利用するにはC末端にチオエステル基を有するペプチドフラグメントが必要である。特に、フラグメント6は、糖鎖を持つので、糖鎖ペプチドチオエステルの新規合成法が必要であった。そこで、Fmoc法による簡便な糖ペプチドチオエステル体の合成を検討した。通常ペプチドのチオエステル体は、ペプチドのC末端に相当するアミノ酸をチオエステル化して固相上に固定化後、Boc法でペプチドを伸長しそしてHFを用いることで調製する。しかし、糖鎖がHF処理により加水分解されるために、この方法を用いることができなかった。そこで、ペプチドの側鎖が保護された糖ペプチドを酢酸処理により固相上から切り出し、そしてC末端のアミノ酸のカルボキシル基をチオエステル化する方法で糖ペプチドチオエステル体6を得る検討をした (Fig. 4)。まず、HMPBリンカー上に最初のアミノ酸を結合させ、カルボジイミド、HOBT法でMCP-3のフラグメント6に相当するアミノ酸を伸長した。糖鎖アスパラギンをペプチドに結合させる際は、3-(diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-one (DEPBT)を用い、その後、ペプチド鎖を伸長後、酢酸で処理してペプチド側鎖が保護された糖鎖ペプチドを得た (化合物4)。そして、このペプチドのC末端のカルボキシル基に対して、

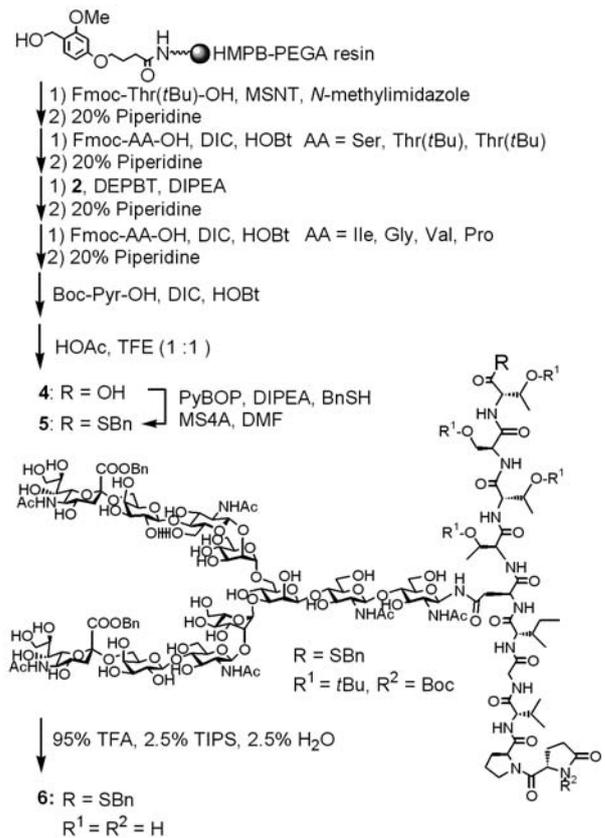


Fig. 4 Synthesis of glycopeptide-thioester

ンジルチオールを縮合させてチオエステル5を構築した。また、この際、低温でかつ過剰のベンジルチオールを反応させC末端のアミノ酸がエピメリゼーションする前にチオエステルを構築するようにした。そして95% TFAで処理し、ペプチド側鎖の保護基を除去し、目的とする糖鎖ペプチドチオエステル6を得ることに成功した<sup>9</sup>。また、他のペプチドのC末端をこの方法でチオエステル化する検討もおこなった。HPLC、質量分析等を用いて分析する限りでは、C末端のアミノ酸のエピメリゼーションは2%程度以下と最小限に抑えることができた。しかし、アミノ酸配列やペプチド鎖の長さ依存してC末端のアミノ酸の反応性は変化し、エピメリゼーションが全く起こらないようにすることは困難と考えられる。そのため、精製、利用する糖鎖ペプチド-チオエステル体には、C末端へのD-アミノ酸の混入がないことを常に分析し確認しておく必要がある。現在その簡便な分析法の確立も検討している。

ペプチドチオエステル体7は、Kent, Dawsonらが確立した方法を利用して調製した。固相にチオエステルを介してアミノ酸を結合させ、その後Boc法でアミノ酸を伸長し、そして、N末端にチアゾリジンで保護したシステイン残基を導入することで合成した。フラグメント8は、通常Boc法で合成した。まず、Kentらの報告したNCLの条件 (6M Guanidine-HCl, 0.1M リン酸緩衝溶液 pH 7.6) を用いてフラグメント7と8を連結させ、N末端のシステインの保護基であるチアゾリジンをmethoxyamine-HCl塩を用いて除去した。そして糖鎖ペプチドフラグメント6と2度目のNCLを行った。反応は24時間で終了した。続いて、その反

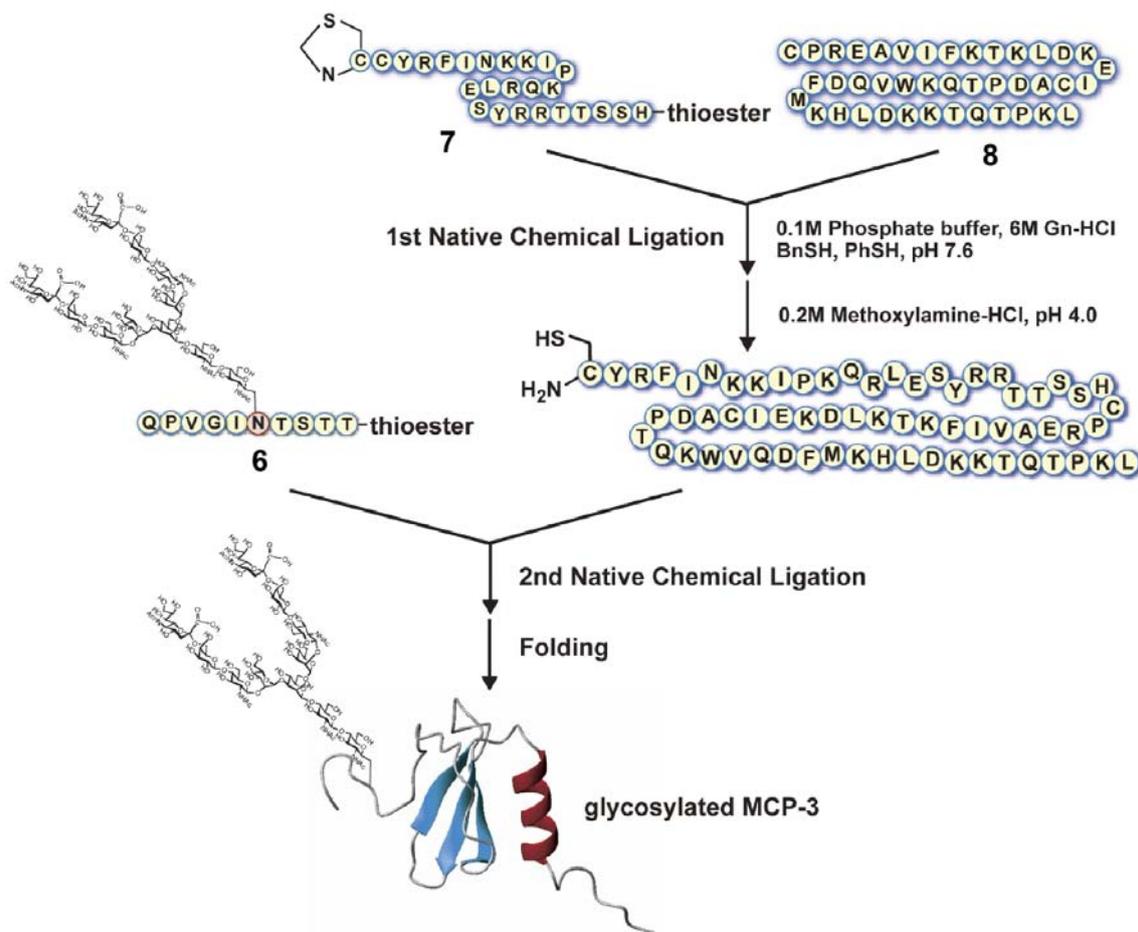


Fig. 5 ケモカイン MCP3の合成

応溶液に空気を5分間吹き込んでジスルフィド化をおこなった。HPLCでフォールディング過程が終了したことを確認し、シアル酸のベンジルエステルを50 mM NaOHで15分間処理した。HPLCで精製し、質量分析をしたところ目的とするケモカイン MCP-3を得ることに成功した<sup>9)</sup>。得られた MCP3が目的とする3次元構造を形成しているかどうかは、NMRあるいはX線結晶構造解析を待たなくては正確なことは言えないが、HPLC、質量分析を用いたフォールディング実験では、糖鎖をもたない MCP3等のフォールディング実験と同様の挙動を示した。すなわち、親水性のアミノ酸残基はタンパク質表面へ、また疎水性アミノ酸は、内側へ配向するためにタンパク質の極性が向上し、HPLC分析での保持時間が早くなった。また、ジスルフィド結合を2本形成することによる水素原子4つ分の減少が、明確に質量分析により確認できるとともに、HPLCで観測されるピークもシャープなものとなった。

今後、様々な糖タンパク質を化学合成して、糖鎖がタンパク質へ与える影響を調べる研究をしていきたいと考えている。特にN型糖鎖は、タンパク質のループ部位に多く見られる。ヘリックスやシート部位にはそれほど結合していないようである。なぜ糖鎖はヘリックス部位などへ結合する確率が低いのか興味尽きない。化学合成は糖鎖を任意の部位へ結合させることができるので、発現法では得られない糖タンパク質を調製することが可能であることから、今後、NMR等を

測定しながら、このような疑問を解決できる研究を展開していきたいと考えている。

#### 参考文献

- 1) Hamilton, S. R.; Bobrowicz, P.; Bobrowicz, B.; Davidson, R. C.; Li, H. Mitchell, T.; Nett, J. H.; Rausch, S.; Stadheim, T. A.; Wischnewski, H.; Wildt, S.; Gerngross, T. U. *Science* **2003**, *301*, 1244–1246.
- 2) Yamamoto, N.; Ohmori, Y.; Sakakibara, T.; Sasaki, K.; Juneja, L. R.; Kajihara, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2537–2540.
- 3) Kajihara, Y.; Suzuki, Y.; Yamamoto, N.; Sasaki, K.; Sakakibara, T.; Juneja, L. R. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 971–985.
- 4) Kajihara, Y.; Yoshihara, A.; Hirano, K.; Yamamoto, N. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1333–1340.
- 5) Yamamoto, N.; Takayanagi, A.; Yoshino, A.; Sakakibara, T.; Kajihara, Y. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 613–625.
- 6) Yamamoto, N.; Dawson, P. E.; Kajihara, Y. submitted.

かじはら やすひろ  
 横浜市立大学・大学院国際総合科学研究科  
 kajihara@yokohama-cu.ac.jp  
 やまもと なおき  
 大塚化学株式会社・探索研究所・大塚プロテックラボ  
 yamamoto@opt.kol.u-tokyo.ac.jp

## リボソームによる特殊ペプチドの合成

私にとって2006年11月に横浜で開催された国際会議が、最初のパペチド学会への参加でした。そこでは研究者の皆さんの活発な議論と、ペプチドへの情熱に圧倒されながら楽しい時間を過ごしました。今回は、この国際会議への参加がきっかけで寄稿をさせて頂くことになりました。本稿では、私の現在の研究テーマについて紹介させて頂きたいと思います。



村上 裕

### 1. はじめに

天然で産生されるペプチドの中には、様々な特殊な構造（蛋白質に含まれない構造）をその骨格や側鎖に持つものがあります（**特殊ペプチド**）。このような構造は、ペプチドの安定性・膜透過性を上げることが知られており、そのため特殊ペプチドの中には、薬剤の候補化合物として注目を集めるものも多数あります。そこで近年、特殊ペプチドのライブラリーを人工的に作成して、そこから薬剤候補を探索しようとする試みがなされています。

これらの特殊ペプチドは、通常、非リボソーム型ペプチド合成酵素とよばれる酵素群で合成されます。これは主に、アミノ酸の活性化を触媒する蛋白質、合成途中のペプチドを保持する蛋白質、アミノ酸を縮合する蛋白質からなっており、これらが多数連なることで、特定のアミノ酸配列を持つペプチドを合成します。そこで、これら蛋白質の組み合わせを人工的に変換し、様々な特殊ペプチドの合成を行う試みがなされていますが、今のところ、それほど多様性の高いペプチドライブラリーを調製するには至っていません。その理由の一つとして、非リボソーム型ペプチド合成酵素が、鋳型を用いないでペプチド合成を行う酵素であることが上げられます。すなわち、個々の非リボソーム型ペプチド合成酵素は、1種類のペプチドを合成するために最適化しており、単純に蛋白質の組み合わせを変換するだけでは、その多くは本来の活性を失ってしまうのです。

一方、リボソームはペプチドを鋳型依存的に合成する酵素です。すなわち、リボソームは様々な配列を持つペプチドの合成に最適化された酵素であり、ペプチドのライブラリーを作成するための都合のよい酵素であると考えられます。それでは、非リボソーム型ペプチド合成酵素で合成されるような特殊な構造を持つペプチドを、リボソームを用いて合成することはできるでしょうか？生化学の教科書では、「リボソームはmRNAを鋳型として、20種類の**通常アミノ酸**を縮合し、蛋白質を合成する」と書かれています。すなわち、「リボソームは特殊な構造をもつアミノ酸（**特殊アミノ酸**）を使用できないため、特殊ペプチドは合成できない」ということが答えになります。しかしながら、ここで話を終わらせては面白くありません。そこで筆者らは、特殊アミノ酸を含むペプチドを、リボソームで自在に合成する技術を開発しようと考えました。

### 2. 遺伝暗号のリプログラミング

なぜリボソームを用いたペプチド合成では、使用できるアミノ酸が20種類の通常アミノ酸に限られるのでしょうか？以下ではこの問いから、特殊アミノ酸を導入する戦略について説明します。

リボソームはmRNAを鋳型として蛋白質を合成します。mRNAは、A, U, C, Gの4種類の塩基で構成されており、この内の3塩基の並びからなる配列がコドンと呼ばれる1アミノ酸に対する暗号単位となります。すなわち、 $4 \times 4 \times 4 = 64$ が暗号の種類で、それぞれの暗号にアミノ酸が指定されています。この暗号とアミノ酸の対応関係は、遺伝暗号と呼ばれ、ほぼすべての生物に普遍であることから、特に**普遍遺伝暗号**と呼ばれています。

この遺伝暗号を決定している分子がアミノアシルtRNAです。tRNAはL字型のRNA分子で、コドンと相補的な塩基対を形成する3塩基の並び（アンチコドン）を持ち、さらにそのコドンに対応するアミノ酸を3'末端の水酸基に結合しています。これが、ペプチドを合成しているリボソームのA部位に入り込み、リボソームが提示しているmRNA上のコドンと結合します。もし、ここでコドンとアンチコドンが適合すると、tRNAに結合しているアミノ酸がペプチドの伸長に利用されます。これらのことはtRNAがコドンとアミノ酸の関係を直接決定する、アダプター分子であることを示しています。

それでは、特殊アミノ酸を含むペプチドを合成するにはどうすれば良いでしょうか？答えは簡単で、アダプター分子であるtRNAに特殊アミノ酸を結合させれば良いのです。これにより、任意のコドンに特殊アミノ酸を指定することができ、任意の遺伝暗号を作ることができます。あとは、この任意の遺伝暗号を持つ反応系にmRNAを加えれば、特殊ペプチドが合成できます。この技術は遺伝暗号のリプログラミングと呼ばれ、特殊ペプチドを合成するための新技術として注目されています<sup>1-3)</sup>。

しかしながら、遺伝暗号のリプログラミングを達成しているグループは、我々の研究室も含めて世界で数えるほどしかありません。それではなにが、遺伝暗号のリプログラミングの障害となっているのでしょうか。それは特殊アミノ酸でアシル化したtRNAの合成です。通常アミノ酸には、それぞれを認識してtRNAをアシル化する酵素が存在します。しかしながら、特殊アミノ酸にはそのような酵素が存在しません。そこで、特殊アミノ酸でアシル化したアミノアシルtRNAを人工的に合成する必要があります。

最初に遺伝暗号のリプログラミングを提案したForsterらは、半合成法を使用してアミノアシルtRNAを合成しました<sup>1)</sup>。これはHechtらが20年以上も前に開発した方法です<sup>4)</sup>。これには、(I)ジヌクレオチド(pdCpA)を合成する(II)pdCpAに特殊アミノ酸を化学的に結合させる(III)アシル化したpdCpAを、T4RNAリガーゼを用いてtRNAに連結する(IV)アミノ酸上の保護基を外す、の複数段階の反応が必要です。この煩雑さのため、この方法を用いて遺伝暗号のリプログラミングを行うことは、時間と労力のかかる作業となります。次いで、遺伝暗号のリプログラミン

グを達成したSzostakらは、既存のアミノアシルtRNA合成酵素のアミノ酸認識の曖昧さを利用しました<sup>2)</sup>。しかしながらこの方法では、使用できる特殊アミノ酸が、通常アミノ酸に構造的に似ているものに限られてしまうという欠点を持ちます。

### 3. アミノアシル tRNA 合成リボザイムの創製

そこで我々は、人工的に創製したリボザイムを用いてこの tRNA のアミノアシル化反応を触媒させようと考えました。リボザイムとは触媒機能をもつ RNA のことで、現在は進化工学的手法を用いることで、望みの機能を持つリボザイムを得ることができます。まず tRNA の 5' 末端に多様性が10の15乗の完全にランダムな RNA を連結したプールを調製します。次に、この RNA プールをシアノメチルエステルで弱く活性化したアミノ酸と作用させます。アミノ酸の  $\alpha$ -アミノ基には、ピオチンを連結してあるため、これを自身の 3' 末端に付加した RNA は、自身をピオチン標識化することになります。そこで、ピオチンを強く結合することで知られるストレプトアビジンを固定化した担体を用いて、活性 RNA を釣り上げることができます<sup>5)</sup>。最後には、得られたリボザイムを tRNA の共通末端配列のみを認識するように再進化させることで、すべての tRNA をアシル化できるリボザイムを創製することに成功しました<sup>6-7)</sup>。

しかし、このリボザイムには遺伝暗号のリプログラミングを行う上で致命的な欠点がありました。それはこのリボザイムが、アミノ酸基質として芳香族側鎖を持たないものを基質とできないことでした。この弱点を克服するため、次に基質の再設計を行いました。以前の研究で、リボザイムは図 A の芳香族側鎖を認識しますが、 $\alpha$ -アミノ基や脱離基は認識しないことが分かっていました。そこで図 B に示すように、脱離基に芳香族を持つ基質を合成しました。これにより基質アミノ酸の側鎖がリボザイムの認識から外れ、様々な特

殊アミノ酸を使用できるようになると考えられます。また、この設計の“ミソ”は、双方の基質で認識部位である芳香族と、反応点であるカルボニルの炭素の位置が保存されていることです。このため新しい基質は、既存のリボザイムの基質となることが予想されます。実際に、この基質を合成してリボザイムとの反応を試したところ、弱いながらも活性があることが分かりました。そこで、既存のリボザイムを新しい基質に最適なものに進化させ、最新のリボザイムを創製しました<sup>3)</sup>。こうして我々が創製したリボザイムは、ほぼすべてのアミノ酸を基質とすることができ、また様々な tRNA をアシル化できるため、遺伝暗号のリプログラミングに最適なものになりました。

### 4. 特殊ペプチドの合成

次に、このリボザイムを遺伝暗号のリプログラミングに応用して、特殊ペプチドを合成することを試みました。ここまで言及しませんでしたでしたが、実際に遺伝暗号のリプログラミングを行う際は、まず、コドンを空白にする必要があります。これには、上田教授らが開発した再構成無細胞翻訳系という特殊な翻訳系を用います<sup>8)</sup>。これは、精製したリボソームや翻訳に関わる蛋白質群（約30種類）とアミノ酸やエネルギー源を混ぜ、翻訳系を再構成したものです。まず、我々はこの再構成無細胞翻訳系からアミノ酸を除くことで、遺伝暗号の一部を空白にできることを証明しました。次に、リボザイムでアシル化した複数のアミノアシル tRNA を加えることでこの空白にしたコドン (AGU, AAC, CAG) に、それぞれアセチルリシン、シトルリン、*p*-ヨウ化フェニルアラニンを指定しました。さらに、この改変した無細胞翻訳系に mRNA を加えることで、鋳型依存的に特殊ペプチドが合成できることを証明しました<sup>3)</sup>。

### 5. 今後の展望

現在は、このリボザイムを応用して様々な特殊ペプチドの合成を進めています。例えば、側鎖だけでなく主鎖に特殊な構造を持つ、ペプチドやポリエステルを mRNA 鋳型依存的に合成できることを証明しました（投稿準備中）。また一部ではありますが、従来、リボソームに受入れられないとされてきた特殊アミノ酸を含むペプチドも合成できることが分かってきました（未発表）。将来は、リボソームの改変や蛋白質因子の改変などにより、さらに多様な構造を持つペプチドが合成できるようになると考えています。

さらに本方法は、mRNA 提示法と組み合わせることで、その鋳型依存的に特殊ペプチドを合成するという特徴を最大限に利用できるようになります。mRNA 提示法は、mRNA とそれから合成されたペプチドを共有結合で連結する方法です。これは、mRNA がペプチドを一分子単位で提示するという、提示法としては究極の方法と言えるでしょう。そのため提示されるペプチドの多様性は、10の12-13乗にも及ぶと考えられています。これと本方法と組み合わせることで、10の12-13乗の多様性を持つ特殊ペプチドライブラリーから、望みの活性を持つ特殊ペプチドを選択できるようになると考えられます。また本方法では、特殊アミノ酸と

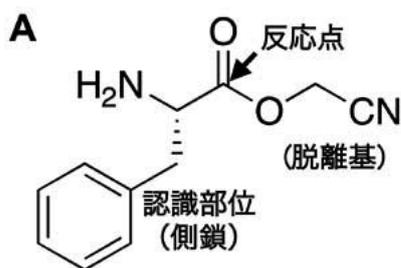


図 A



図 B

して、化学選択的な反応をする官能基を持つものを導入することができるので、化学的に安定な結合でペプチドを環状化することも可能です。将来は、この環状化ペプチドライブラリーから、疾患の原因となる標的蛋白質に特異的に結合して、その活性を阻害するような特殊ペプチドを選択することを目指しています。今後、本方法が、様々な疾患に対する薬剤の開発に寄与できるようになればと期待しています。

#### 参考文献

- 1) Forster, A. C.; Tan, Z.; Nalam, M. N.; Lin, H.; Qu, H.; Cornish, V. W.; Blacklow, S. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 6353-6357.
- 2) Josephson, K.; Hartman, M. C.; Szostak, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11727-11735.
- 3) Murakami, H.; Ohta, A.; Ashigai, H.; Suga, H. *Nat. Methods* **2006**, *3*, 357-359.
- 4) Heckler, T. G.; Chang, L. H.; Zama, Y.; Naka, T.; Chorghade, M. S.; Hecht, S. M. *Biochemistry* **1984**, *23*, 1468-1473.
- 5) Saito, H.; Kourouklis, D.; Suga, H. *EMBO J.* **2001**, *20*, 1797-1806.
- 6) Murakami, H.; Saito, H.; Suga, H. *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 655-662.
- 7) Murakami, H.; Kourouklis, D.; Suga, H. *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1077-1084.
- 8) Shimizu, Y.; Inoue, A.; Tomari, Y.; Suzuki, T.; Yokogawa, T.; Nishikawa, K.; Ueda, T. *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 751-755.

むらかみ ひろし  
ケミカル・バイオテクノロジー・ラボ  
東京大学先端科学技術研究センター  
hmura@rcast.u-tokyo.ac.jp

#### 第10回 Korean Peptide Symposium に参加して

第10回 Korean Peptide Symposium が、2006年11月29日 から12月2日の日程でソウル大学で開催されました。若手研究者セッションの8件の口頭発表を皮切りに、Jean Martinez 教授（フランス）の基調講演、13件の招待講演がありました。招待講演者は、オーストラリア



相本 三郎

1名、イギリス1名、中国1名で、日本からは木曾良明会長（京都薬科大学）、軒原清史ハイペップ研究所代表取締役（兼 南京医科大学）と相本（大阪大学）の3名でした。また、韓国の関連分野の研究者7名も招待講演を行いました。ポスター発表は45題で、日本からは谷口敦彦君（京都薬科大学）がポスター発表を行いました。シンポジウムへの参加者は150人程度で、じっくり聴き、お互いが顔見知りになるにはちょうどいい規模のシンポジウムでした。

今回の参加は、講演者の推薦を打診された木曾会長から、「第10回という記念すべきシンポジウムだから、お祝いの意味を込めて会長と副会長が参加しましょう。」ということで参加させていただきました。

韓国ペプチドシンポジウムは、第1回から毎回国外から講演者を招待しており、日本ペプチド学会からは過去10回のシンポジウムで延べ14人が基調講演あるいは招待講演を行っております。わたしは第3回と今回の2回招待していただきましたが、熱心に講演を聴き討論をする韓国の学生さんや流暢に英語を話される教授陣にはいつも感心させられます。

第3回シンポジウムに招待されたとき、懇親会で年配の先生から、「若い人たちはこれから仲良くやって



招待講演演者ならびに韓国ペプチド学会役員一同

くださいよ。」と言われたのを今でも鮮明に覚えております。その後、21世紀になるのを機会に、相互交流をしようとの提案が韓国ペプチド学会からあり、2001年より日本と韓国のペプチド討論会で毎回2名の研究者が相互に講演をすることになりました。時折生じる両国間の政治的あつれきにも流されず、両国のペプチド学会は学术交流をとおして相互協力と相互理解の輪を着実に広げております。そのおかげもあって、今では研究者や多くの学生さんが韓国から日本のペプチド討論会に参加するという状況になっており、喜ばしく思っております。

ところで、谷口君はポスター賞を受賞しました。日本ペプチド学会の若手会員の皆さんも、ぜひ韓国ペプチドシンポジウムに参加されてはいかがでしょうか。

最後になりましたが、10周年を迎えた韓国ペプチド学会に対し心から祝福いたしますとともに、これからも順調に両国学会の交流が発展することを心より期待しております。

あいもと さぶろう  
大阪大学蛋白質研究所  
蛋白質化学研究部門  
蛋白質有機化学研究室  
aimoto@protein.osaka-u.ac.jp

### 1st Indian Peptide Symposium に参加して

2007年2月22日～23日、インド・ハイデラバードにある Acharya N G Ranga Agricultural University において、第1回インド・ペプチド・シンポジウムが開催されました。昨年発足のインド・ペプチド学会が主催、現地企業のジュピターバイオサイエンス社とテク



木曾 良明



Mariusz Skwarczynski

ノコンセプト社が全面協力を当たった、その名の通りインドで初めてのペプチド学会でした。今回は第1回ということで、日本ペプチド学会を代表し木曾良明会長が主賓として正式招待されました。

ペプチド研究者の増加およびその学術的貢献の発展に伴い、インドでは長い間、ペプチド関連学会の立ち上げが待ち望まれていました。そのような中ついに2006年、インド・ペプチド学会 (ISP) が発足しました。初代会長は国際遺伝子工学・バイオテクノロジーセンター (ICGEB) センター長の V. S. Chauhan 教授、副会長はインド科学研究所 (IISc) 所長の P. Balaram 教授、そして事務局長はテクノコンセプト社会長の Rakesh Arora 氏。本部はニューデリーの ICGEB 内に置いています。2007年5月現在の会員数は84人。インド国内のペプチド研究者に発表と討論の場を提供し、海外のペプチド学会との交流を確立、深めることを学会目的としています。事務局長の Arora 氏は「インドのペプチド研究は進化の過程にあり、特にペプチド創薬の分野では大きな成長が見込まれる。世界はいまやゲノムからプロテオームの時代が変わろうとしており、ワクチン開発ではペプチドの需要が高い。」と学会 HP で語っています。インド・ペプチド学会は、設

**HYDERABAD:** Peptides, which are versatile molecules and considered natural pharmaceuticals, are likely to play a major role in healthcare delivery with research focussing on developing cost-effective, new generation drugs, said Yoshiaki Kiso, Chairman, Japanese Peptide Society.

Speaking at the inaugural function of a two-day national symposium on peptides here on Thursday, he said that nature had designed peptides for a variety of functions as chemical messengers, neurotransmitters, highly active stimulators and inhibitors.

\*1 The Hindu 紙 2月23日号の抜粋

Research is on to develop new generation peptide-based drugs that will be more effective, according to Yoshiaki Kiso, chairman of Japanese Peptide Society.

Addressing a two-day national symposium on peptides here on Thursday, Kiso said that Peptides have huge potential as drugs and were considered as natural pharmaceuticals. Nature has designed peptides for a large variety of specific functions as chemical messengers, neurotransmitters, and highly active stimulators.

He said that peptides play a key role in physiological activities and have been used for the treatment of various killer diseases like diabetes, endocrine disorders, HIV, cancer, heart-related problems.

\*2 Business Standard 紙 Web 版 2月23日号の抜粋

立当初より今回のシンポジウム開催に向けて邁進し続けてきました。

さて、シンポジウム初日のオープニング・セッションでは、開会挨拶の後、木曾教授が主賓として祝辞を述べ、続いてインド・ペプチド学会会長の V. S. Chauhan 教授によるスピーチと記念講演、また K. M. Sivanandiah 教授（バンガロール大学）への功労賞授与式が行われました。興味深かったのは、インド式の開会セレモニーが行なわれたことで、オリエンタルな装飾が施された燭台に、主賓である木曾会長と、Chauhan 会長とが共にろうそくの火を灯しました。

その後は2日間にわたり6つのセッションが開かれました。セッションごとのテーマを紹介します。Session I: Peptides as Drugs or Potential Drugs, Session II: Synthetic Methods and Analytical Techniques in Peptide Research and Development, Session III: Oral Paper Presentation, Session IV: Peptide Conformation and Structure—Activity Relationships, Session V: Poster Papers—Discussion, Session VI: Peptide Biology, Drug Targets, Diagnostics and Immunology

全体として23題の招待講演、8題の口頭発表、25題のポスター発表、参加者約200名という比較的小規模の学会ではありましたが、ヨーロッパ、アメリカ、日本のペプチド関連企業の参加、発表、展示もありにぎやかでありました。会期中は活発な討論が繰り広げら

れ、新興国インドのペプチド科学界が大きく発展していく様子が強く感じられるシンポジウムでした。

開会翌日には早速、インドの全国紙 The Hindu\*<sup>1</sup>や経済新聞 Business Standard の Web 版\*<sup>2</sup>に、ペプチドについての記事が掲載されました。両紙は「健康・医療分野の将来を担うペプチド」と題し、木曾会長や V. S. Chauhan 会長の談話も織り交ぜながら、「ペプチドはアミノ酸が結合してできた分子の総称であり、その生物学的役割は化学伝達物質、神経伝達物質、高活性刺激物質、阻害物質と幅広い。従来薬に比べてコストや副作用の面で優れ、これまで糖尿病、内分泌機能障害、HIV、がん、心臓疾患などの治療薬に使われてきた。近い将来にも多くの新薬が市場に出される見込み。健康・医療の分野で重要な役割を担うであろう」と記事をまとめています。

ところで学会とは別の話になりますが、今回の滞在中、インド化学界の重鎮 Prof. Javed Iqbal 先生（インドで第2の製薬会社レディス社）と教え子で以前木曾会長の研究室のポスドクであった S. Rajesh 博士（バイオコン社）の訪問を受けました。木曾会長は今回の渡印前に Iqbal 先生より招待講演を依頼されましたが、残念ながらお互いの日程が合わず実現できませんでしたので、わざわざご多忙の間を縫って木曾会長に会いに来て下さいました。短い時間ではありましたが、私自身も著名な Iqbal 先生と話ができて光栄でした。



開会セレモニーにて



招待講演者と木曾会長



木曾会長による祝辞



左から、Mariusz Skwarczynski, Yoshiaki Kiso, Rajesh S. N.

## [参考]

インド・ペプチド学会 HP <http://www.indianpeptidesociety.org/>  
インド・ペプチド学会の Web フォーラム <http://groups.google.com/group/indianpeptidesociety/>  
Business Standard 紙 <http://www.business-standard.com/>

その他写真は、インド・ペプチド学会の HP にも掲載されています。学会 HP 左下 [Newsroom] 内の [Short Glance of First Indian Peptide Symposium] をクリックしてください。

きそ よしあき  
京都薬科大学  
創薬科学フロンティア研究センター  
kiso@mb.kyoto-phu.ac.jp

まりうす・すくふあるちんすき  
京都薬科大学 21世紀C OE プログラム  
COE 研究員  
marius@poppy.kyoto-phu.ac.jp

## 早福昭介先生のご逝去を悼む

立教大学名誉教授 早福昭介先生は、去る5月15日享年69才でお亡くなりになりました。先生は新潟県にお生まれになり、新潟大学をご卒業後、立教大学大学院に進学され、1963年に修士課程修了と同時に立教大学化学科助手として奉職されました。その後、1986年に教授、そして2003年に名誉教授になられております。

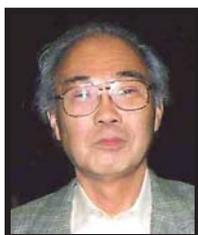
先生は、ペプチド学会に創成期よりご参加され、その発展を支えて来られました。その間、研究テーマは gramicidin S, bradykinin, substance P, fibronectin etc. と一貫して「生理活性ペプチドの構造-活性相関に関する研究」に精力的に取り組んでおられました。

早福先生は、実に温厚なお人柄で、40年におよぶ研究・教育生活の中で、我々の発する難問愚問に対して、いつも熱心に、にこやかに応えていただきご指導いただきました。ご退官後は庭木にもご趣味を広げておられたと伺っておりました。

急のご逝去にただただ驚いているしだいです。

ここにあらためて早福昭介先生の日本のペプチド化学へのご貢献に心より感謝を捧げ、ご冥福をお祈り申し上げます。

田巻 誠 (東邦大学)



## [学会より]

### 第44回ペプチド討論会

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,  
日本生化学会  
後 援 (財) 富山県高等教育振興財団  
会 期 平成19年11月7日(水)~11月9日(金)  
会 場 富山国際会議場 富山市大手町1番2号  
発表申込・アブストラクト受付期間  
8月1日~8月31日  
(発表申込・アブストラクトの締切が同日  
です)

受諾通知 9月15日頃 (E-mailにて通知予定)

#### 討論主題

- 1) アミノ酸・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) ペプチドのコンホメーション
- 7) ペプチドの設計と材料科学
- 8) その他 広くペプチド科学に関する研究

#### 発表形式

- イ) 口頭発表: 日本語または英語による一般講演  
(討論を含めて20分, 液晶プロジェクター使用)
- ロ) ポスター発表: 英語

注: プログラム編成により発表形式の変更をお願いすることがあります。英語発表を優先させていただきます。同じ研究室から2件以上の発表を希望される場合、2件目以降は英語発表としていただきます。

**発表申込方法** 日本ペプチド学会 HP (<http://www.peptide-soc.jp>) の「第44回ペプチド討論会のご案内」より入力フォームをダウンロードし、電子メール ([jps-44@protein.osaka-u.ac.jp](mailto:jps-44@protein.osaka-u.ac.jp)) および郵送 (〒565-0871 吹田市山田丘3-2 大阪大学蛋白質研究所 第44回ペプチド討論会実行委員会) の両方でお願ひします。7月中旬までに学会ホームページに入力フォームを掲載する予定です。

発表者は、発表時、日本ペプチド学会2007年度会員(一般会員, 学生会員)に限ります。なお、共同研究者としての連名発表はこの限りではありません。

**参加登録** 事前参加登録の締切 10月1日(月)

参加登録は、参加登録料を郵便振込により送金したのち、「第44回ペプチド討論会のご案内」に記載した必要事項を記入の上、電子メール ([jps-44@protein.osaka-u.ac.jp](mailto:jps-44@protein.osaka-u.ac.jp)) でお願ひします。

振込先: 口座名称 第44回ペプチド討論会, 口座番号 00990-0-139947

(重要) 日本化学会あるいは日本薬学会会員の方で、会員証のコピーを E-mail に添付あるいは郵送により提出した場合、参加登録料は主催学会会員と同等の扱いとなります。会員番号の通知のみでは受理できません。当日参加登録の際には会員証をご呈示ください。

## 参加登録料

事前登録（10月1日までに振込）

一般（含プロシーディング）：

（主催学会会員）5,000円，（非会員）11,000円

学生（プロシーディング無し）：

（主催学会会員）1,500円，（非会員）4,500円

（注）10月1日以降は一般会員で1,000円，学生会員で500円高くなります。

（注）プロシーディング代：2,000円

**懇親会** 11月8日（木）富山全日空ホテル

参加費：一般 8,000円

学生 4,000円

**討論会世話人** 相本三郎 大阪大学蛋白質研究所，  
小野慎 富山大学工学部

## 問い合わせ先

〒565-0871 吹田市山田丘3-2 大阪大学蛋白質研究所

第44回ペプチド討論会実行委員会

担当：川上徹，佐藤毅，川口真理

E-mail: jps-44@protein.osaka-u.ac.jp

Tel：06-6879-8601

Fax：06-6879-8603

詳しくは日本ペプチド学会ホームページをご覧ください。

## PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会

〒562-8686 箕面市稲4-1-2

（有）千里インターナショナル内

## 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（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

玉村 啓和（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

前田 衣織（九州工業大学情報工学部）

TEL 0948-29-7830, FAX 0948-29-7801

e-mail: iori@bse.kyutech.ac.jp

北條 裕信（東海大学工学部）

TEL 0463-58-1211（代），FAX 0463-50-2075

e-mail: hojo@keyaki.cc.u-tokai.ac.jp

（本号編集担当：北條 裕信）