



単一アミノ酸ポテンシャルの解析と 新しい力場開発の試み

はじめに

タンパク質やペプチドの分子構造中にはヘリックス構造やシート構造が多く見られるが、これらの規則的な二次構造はどのようにして生成し、安定化されているのであろうか。一般には、ポリペプチド鎖の疎水的凝集（エントロピー減少）とアミノ酸残基間の水素結合の形成（エンタルピー減少）が二次構造生成の主要因子と考えられている。しかし、ポリペプチド鎖のコンホメーション空間は、これらのアミノ酸間相互作用の他に、個々のアミノ酸が単独でもつ構造特性によっても大きく支配されているはずである。意外にも、これまで「単一アミノ酸の構造ポテンシャル」と「タンパク質やペプチドの分子構造」との関係について厳密な解析がされていなかった。我々は非経験的分子軌道計算によっていくつかのアミノ酸の単一アミノ酸ポテンシャル (Single Amino Acid Potential, SAAP と略す) を精密に求め、その解析を行った。その結果、水中における SAAP もまた、ヘリックス構造やシート構造の重要な形成因子となっていることを明らかにした[1]。本稿では、単一アミノ酸ポテンシャル (SAAP) の重要性について述べ、これを用いた新しい力場 (SAAP 力場)[2, 3]の開発について紹介する。



岩岡 道夫

単一アミノ酸の構造特性

ペプチドの分子構造 (図1) は主鎖の二面角 ϕ, ψ によって記述することができる。与えられた条件下でこれらの二面角が実際にどのような角度になるかは、前述のように「個々のアミノ酸がどのような構造になりやすいのか」と「アミノ酸間にどのような相互作用が働くのか」によって最終的に決まる。まず、個々のアミノ酸の構造特性についてみてみよう。

図2に、非経験的分子軌道計算によって求めたアラニン ($n=1, R=CH_3$) の単一アミノ酸ポテンシャルを示す。計算は、Gaussian 03プログラムを用い、二面角 ϕ, ψ を固定しながら構造最適化を真空中、エーテル中、水中でそれぞれ行った。エーテル中と水中の計算には連続誘電体モデル (PCM) を用いた。

真空中のポテンシャルでは、 $(\phi, \psi) = (-160, 160), (-90, 80), (75, -55)$ 付近に3つの安定領域が

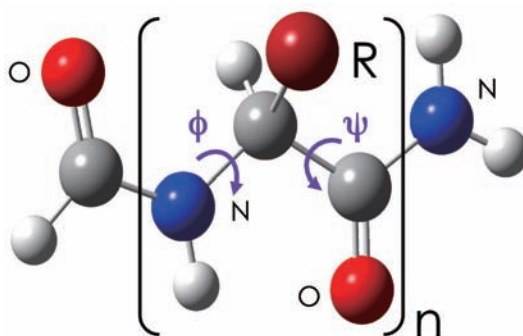


図1 ポリペプチドの分子モデル

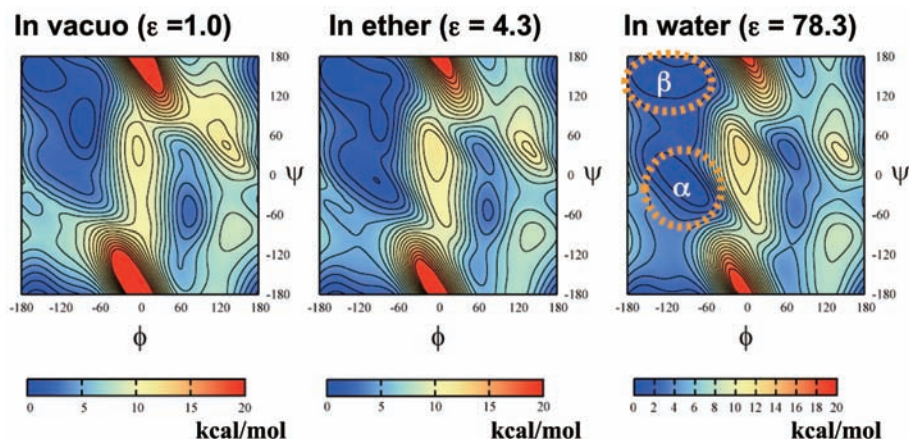


図2 アラニン ($n=1, R=CH_3$) の単一アミノ酸ポテンシャル。計算レベルは HF/6-31+G(d,p) (真空中), HF/SCIPCM/6-31+G(d,p) (エーテル中および水中)。等高線の間隔は 1 kcal/mol。

ある。これらはいずれも分子内水素結合をもつ構造に対応する。エーテル中になると、分子内水素結合をもつ構造が相対的に不安定になり、ポテンシャルマップが大きく変形していることがわかる。水中では、ポテンシャルマップがさらに変形した結果、ヘリックス領域 (α) とシート領域 (β) に2つの大きな安定領域が現れている。以上のことより、アラニンの構造特性は溶媒によって大きく変化すること、水中ではアラニンは単独でも α 構造や β 構造を取りやすいことがわかった。

同様の傾向はグリシン ($n=1$, $R=H$), プロリン ($n=1$, $R=CH_2CH_2CH_2-(N)$), *t*-ロイシン ($n=1$, $R=t-Bu$) の SAAP についても得ることができた。従って、アミノ酸 (正確には、ペプチド結合したアミノ酸) の構造自体に、水中で二次構造を形成しやすい性質が内在しているということができる。ここで注意しておきたいのは、溶媒の誘電率が減少すると二次構造を形成しようとする性質は次第に弱くなるということである。また、*t*-ロイシンの場合には、側鎖の立体効果が大きく、溶媒効果がグリシン、アラニン、プロリンの場合のように顕著ではなかった。

タンパク質中のアミノ酸残基の構造

次に、単一アミノ酸ポテンシャル (SAAP) とアミノ酸が実際にタンパク質中でとる構造との関係について調べてみよう。図3に、タンパク質中のアラニンの Ramachandran プロットとその Boltzmann プロットを示す。

図3 A より、タンパク質中のアラニンはその大部分が α 構造あるいは β 構造になっており、左巻きヘリックス構造 ($\phi=60$, $\psi=45$) も若干存在することがわかる。得られた Ramachandran プロットの分布は、水中におけるアラニンの SAAP (図2, in water) とよく一致している。Boltzmann プロット (図3 B) を見てみると、水中の SAAP を用いた場合に直線関係となっている。このことはタンパク質中のアラニンの構造が水中の SAAP 上でほぼ完全な Boltzmann 分布 (熱平衡状

態) となっていることを示している。同様の Boltzmann 分布はグリシンやプロリンの場合にも得られている。

タンパク質中のアミノ酸残基の統計的構造 (Ramachandran プロット) と水中における単一アミノ酸ポテンシャル (SAAP) の一致は、水中における単一アミノ酸の構造特性がタンパク質立体構造の重要な支配因子となっていることを示しているが、我々はこれに加えて次のような仮説を提案している[1]。

(1) 現存するすべてのフォールド構造におけるアミノ酸 (たとえばアラニン) の統計的構造はそのアミノ酸が単独で示す構造特性をほぼ正確に反映している。したがって、タンパク質の立体構造の進化は統計的にみても発散していると考えられる。

(2) タンパク質のアンフォールド状態からフォールド状態への構造転移において、統計的にみるとアミノ酸 (たとえばアラニン) の構造に変化は見られない。したがって、タンパク質のフォールディング経路は統計的にランダムであると考えられる。

上記の2つの仮説の検証には更なる解析が必要であるが、いずれにしても、単一アミノ酸ポテンシャル (SAAP) という視点でタンパク質やペプチドの立体構造を捉えてみると、これまで見えていなかった立体構造の意外な側面が浮かび上がってくるのがわかるであろう。

単一アミノ酸ポテンシャルを用いた力場開発

SAAP がタンパク質やペプチドの立体構造の形成に重要な役割を果たしている可能性が示された。そこで、SAAP を用いてポリペプチドの分子シミュレーションを行えば、より精度の高い立体構造の解析や予測が可能になるのではないだろうか。このような興味から、我々の研究室では SAAP をパラメーターとして用いた新しい力場 (SAAP 力場) の開発を進めている。ここでは、その基本的な考え方と特徴についてまとめておく。SAAP 力場の詳細については文献[2, 3]を参照されたい。

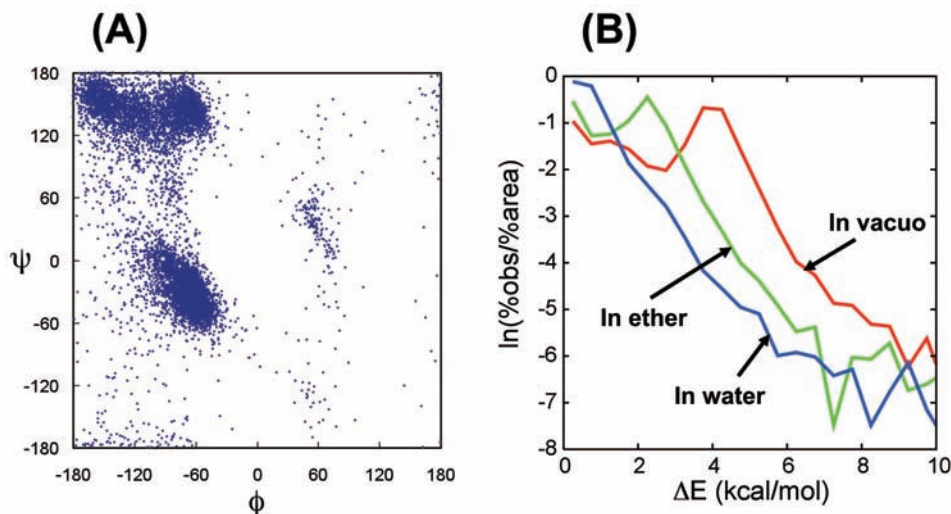


図3 タンパク質中のアラニン残基の Ramachandran プロット (A) およびその Boltzmann プロット (B)。Boltzmann プロット (B) は、図2のポテンシャルマップの相対エネルギーを横軸にとり、そのエネルギー領域に観測された Ramachandran プロット (A) の数密度を対数プロットしたものを示す。

SAAP 力場では、ポリペプチド分子の全エネルギー (E^{TOTAL}) を次のような基本式を用いて表す。

$$E^{\text{TOTAL}} = E^{\text{SAAP}} + E^{\text{INTER}} + E^{\text{OTHERS}} \quad (\text{式 1})$$

ここで、 E^{SAAP} 項は各アミノ酸の単一アミノ酸ポテンシャルの総和、 E^{INTER} 項はアミノ酸間の相互作用の総和、 E^{OTHERS} 項はその他の高次の相互作用を表す。 E^{OTHERS} 項は他の 2 項に比べると重要度は低いと思われるので、現段階では一定として無視している。

E^{SAAP} 項は、グリシンやアラニンのように側鎖の回転自由度がないアミノ酸の場合には二面角 ϕ , ψ を用いて 2 次元のポテンシャルマップで表すことができる。しかし、長い側鎖をもつアミノ酸の場合には側鎖の回転自由度も考慮する必要がある。多次元のポテンシャルマップを非経験的分子軌道計算によって正確に求めることは時間的に不可能であったので、我々は主鎖と側鎖のポテンシャルマップを別々に計算しておき、それらを融合することによって多次元の単一アミノ酸ポテンシャルマップを作成している。また、 E^{INTER} 項としてはアミノ酸間の静電相互作用 (E^{ES}) と Lennard-Jones 型のファンデルワールス力 (E^{LJ}) を考慮している。

$$\begin{aligned} E^{\text{INTER}} &= E^{\text{ES}} + E^{\text{LJ}} \\ &= 332 \sum_{i < j} q_i q_j / \epsilon r_{ij} + \sum_{i < j} (e_i e_j)^{1/2} [(R_{ij}/r_{ij})^{12} - 2(R_{ij}/r_{ij})^6] \end{aligned} \quad (\text{式 2})$$

q_i と q_j は原子 i と原子 j の点電荷 (非経験的分子軌道計算によって求められた Mulliken 電荷; 単位, electron), ϵ は溶媒の誘電率, r_{ij} は原子 i と原子 j の原子間距離 (単位, Å), e_i と e_j は原子 i と原子 j の Lennard-Jones 型ポテンシャルの深さ (単位, kcal/mol), R_{ij} は原子 i と原子 j の原子半径 [それぞれ R_i , R_j (単位, Å)] の和を表す。式 2 の E^{ES} 項と E^{LJ} 項は一つのアミノ酸に属する原子間の相互作用を含まないという点に注意されたい。

ポリペプチドはアミノ酸の共重合体であるから、その全ポテンシャルエネルギーを式 1 のように表すことは、単純ではあるがごく自然な考え方である。SAAP 力場の特徴は次のようにまとめることができる。

1. ポリペプチド分子をアミノ酸単位に分割して考慮している。
2. 非経験的分子軌道計算の結果に基づいた全原子力場である。
3. 主鎖と側鎖の二面角のみを用いてポリペプチドの分子構造を表す。
4. 溶媒効果をパラメーターの中にあらかじめ取り込んでいる。

SAAP 力場を用いると、第 4 の特徴によって、溶媒中でも真空中と全く同じ速さで分子シミュレーションを実行することができる。

SAAP 力場を用いた分子シミュレーション

SAAP 力場の有用性を検証する目的で、モンテカルロシミュレーションプログラム [4] を独自に作成した。このプログラムでは通常のモンテカルロ法の手順に従って、まず、二面角をランダムに一つ選択し、その値をあらかじめ決められた範囲内でランダムに動かし

てポリペプチドの構造を変化させる。次に、新しい構造の全エネルギー (E_{k+1}) を式 1 に従って計算し、メトロポリスのエネルギー評価式 [$\xi \leq \exp\{-\beta(E_{k+1} - E_k)\}$; $\beta = 1/kT$, ただし k は Boltzmann 定数, ξ は $[0, 1)$ の一様乱数] を用いて、もとの構造と新しい構造のいずれを選択するかを決定する。この操作を十分な回数繰り返すことで、ある温度 T における熱平衡状態 (カノニカルアンサンブル) を理論的に生成することができる。

作成したプログラムを用いて Met-エンケファリン (CHO-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-NH₂) の分子シミュレーションを行った結果を図 4 に示す。設定したモンテカルロステップ数はカノニカルアンサンブルを再現するには不十分であるが、得られた結果より、Met-エンケファリンの分子構造について以下のように考察することができる。

真空中では、Gly3 の Ramachandran プロットが示すように、構造検索が有効に行われずに特定の構造にトラップされてしまった。これは、エネルギー相関図において静電相互作用項と全エネルギーが正に強く相関していることからわかるように、真空中では静電相互作用が支配的に作用しているためだと考えられる。SAAP 項やファンデルワールス項は、真空中ではほとんど作用していない。エーテル中でも、特定の構造にトラップされてしまっている。しかしこの場合には、SAAP 項、静電相互作用項、ファンデルワールス項がいずれも弱く全エネルギーと相関している。一方、水中では構造検索が広く行われていることがわかる。また、エネルギー相関図より、水中の Met-エンケファリンの構造は SAAP 項とファンデルワールス項によって支配されていることがわかる。水中では誘電率が高いためにアミノ酸間の静電相互作用はほとんど作用していない。

以上の結果は、真空中では静電相互作用がポリペプチドの分子構造を大きく支配しているのに対して、水中では SAAP とファンデルワールス力が支配的であることを示唆している。また、エーテル中では真空中と水中のちょうど中間的な状態となっているものと推測される。

終わりに

本稿では、タンパク質やペプチドの立体構造の形成において水中における単一アミノ酸ポテンシャル (SAAP) が重要な役割を果たしていることを述べた。水素結合を考慮する以前に、アミノ酸の構造そのものが水中で α 構造や β 構造を取りやすい性質を有している。この興味深い事実は、タンパク質の自発的なフォールディング、アミロイド形成なども関連するものと思われる。SAAP 力場を用いた分子シミュレーションによって、今後これらの詳細を明らかにしていきたいと考えている。

参考文献

- [1] M. Iwaoka, D. Yosida, N. Kimura, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 14475-14482 (2006).
- [2] M. Iwaoka, S. Tomoda, *J. Comput. Chem.*, **24**, 1192-1200 (2003).

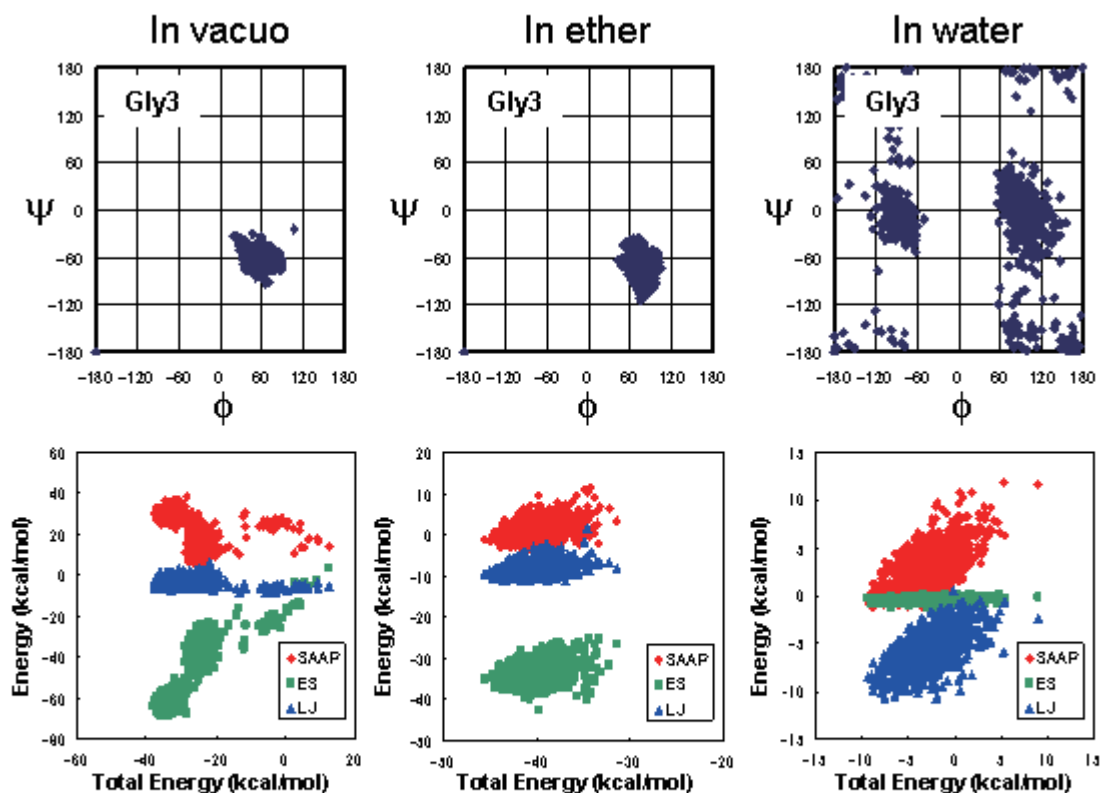


図4 SAAP 力場を用いて行った Met-エンケファリン (CHO-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-NH₂) の分子シミュレーションの結果。初期構造は直鎖状構造, 温度は300 K, モンテカルロステップ数は1,000,000回。上段は Gly3 の Ramachandran プロット, 下段は全エネルギーとその成分の相関プロット。

[3] 岩岡道夫, 生物物理, 44(2), 64-69 (2004).

[4] URL <http://saap.sc.u-tokai.ac.jp>.

いわおか みちお
 東海大学 理学部化学科准教授
 miwaoka@tokai.ac.jp
 URL <http://www.sc.u-tokai.ac.jp/IwaokaLab.htm>

プロテオグリカンの化学合成

私の研究室では, 特異な生化学的機能を持つ, あるいは生合成機構解明のツールになる, コンドロイチン硫酸に関連するプロテオグリカン (PG) やグリコサミノグリカン (GAG) などの糖鎖の化学合成を中心に研究を進めております。このたびペプチドニュースレターへの執筆の機会をいただきましたが, なにごとにもペプチドやタンパクに関しては素人で, 力不足かもしれませんがご容赦願います。



田村 純一

PG は, GAG がコアペプチドに共有結合した複合糖質で, アグリカンのように大きい分子では糖鎖 (GAG) が百本以上あり, 分子量が数百万にもなる巨大分子です。GAG は負電荷のかたまりのような構造ですので, GAG は互いに電氣的に反発し, PG 分子全体としてはコアペプチドを軸とする, 試験管ブラシの

ような姿をしています。本稿では, PG におけるコアペプチドの持つ意味や, PG の化学合成に関する最近の私の研究室の話題について触れてみたいと思います。

GAG 生合成仕分け機構の解明

PG の生化学的機能は, 大概分子の中心から離れた GAG の末端にあります。それゆえ, コアペプチドは構造の維持だけの役割しかないようにみえますが, PG 分子が形成されていく過程で, 大変重要な役割を持つことがわかってきました。PG の糖鎖部分である GAG は, コアペプチドのセリンの水酸基に糖転移酵素によって, 糖残基を単糖単位で伸長して形成されます。図1に示すように, GAG は, コアペプチドに結合した「共通四糖領域」と, 非還元末端側に伸びる「繰返し二糖領域」から構成されます。GAG のファミリーである「ヘパリン/ヘパラン硫酸」と「コンドロイチン硫酸/デルマタン硫酸」は, 繰返し二糖を構成するヘキソサミンとして α -GlcNAc か β -GalNAc のいずれかを持っています。生合成的には, 五番目の糖転移 (つまり最初のヘキソサミン転移) の際に, そのどちらかが転移されることにより, 以後の繰返し二糖が決定されます。最近の研究により, 相当する糖転移酵素が明らかになりました¹⁾。しかし, 依然この仕分け機構だけは謎を残しています。まだ最終的な答えは出ていませんが, コアペプチドに注目して, 徐々に解明の手がかりが見えてきました。Esko らは, ヘパリン/ヘパラン硫酸のある PG は, GAG 結合近傍のコアペプチドに酸性や疎水性のアミノ酸がクラスター状に配置されて

いるという共通点を見いだしました^{2,3)}。彼らはこの構造を模して、芳香環に結合させたキシロースをプライマーに用い、細胞中で糖鎖を伸長させたところ、ヘパリン/ヘパラン硫酸が優勢に得られました^{4,5)}。しかし、天然での動的変化は単純ではありません。コアペプチドに結合した、いわゆる結合領域四糖は、キシロースが一時的にリン酸化されたり、それに続くガラクトースが硫酸化されたりと、ダイナミックな変化をしながら後方に糖鎖を伸長させることが知られています。本題から外れますが、キシロースの2位水酸基に結合したリン酸エステルは、結合領域糖鎖の伸長とともに存在割合を増やします。しかし、四番目のGlcAが結合した時点で急速に欠落が始まります⁶⁾。この事実を裏付けるため、我々の研究室でリン酸化・硫酸化結合領域三糖を合成しました⁷⁾。これを利用することで、リン酸基の存在が四番目のGlcA転移を加速することが明らかになりました⁸⁾。さて、我々はヘパリン/ヘパラン硫酸糖鎖が独占的に伸長しているベータグリカンの535番目のセリンに注目し、結合領域四糖が535番目のセリンに結合した小型PGを固相法と液相法で合成しました⁹⁾(図2)。このPGは、co-expressed EXT1-EXT2による糖転移の結果、類似の糖鎖と比べて、とても高い α -GlcNAc受容能を示すことがわかりました¹⁰⁾。このことから、GAGの生合成仕分けには、近傍のペプチ

ド環境が重要な意味を持つことが明らかになりました。一方、結合領域のGal残基に存在する硫酸エステルの役割はまだ明らかになっていません。ヘパリン/ヘパラン硫酸ではこのGal残基上の硫酸は存在しないことが知られていますので¹¹⁾、仕分け機構に密接な関係を持つ状況証拠として興味深いと思われます。コアペプチドと硫酸基の双方が独立して影響を与えている可能性もあります。いずれにしても、仕分けに関して十分な差が見られることから、コアペプチドが生合成仕分け機構に与える影響は大きいと思われます。

GAG クラスター化による PG 分子の形成

天然のPGのコアペプチドには繰返し構造のような規則性はなく、そこに結合したGAGについても、GAG内やGAG間での均一性は見いだされていません。一本のコアペプチドに構造の異なるコンドロイチン硫酸やヘパラン硫酸(GAG)が何本も結合しているPG分子もあります。したがって一概にPGの機能発現といっても、実は複雑かつ不均一な分子構造をもつGAG集合体がそれぞれの機能を発現している、「分子内社会」のような状況です。しかし天然のPGは、コアペプチドを中心にGAG糖鎖をクラスター状に配置することにより、同種/異種の機能増幅(クラスター効果)をしているのではないのでしょうか。現在、多く

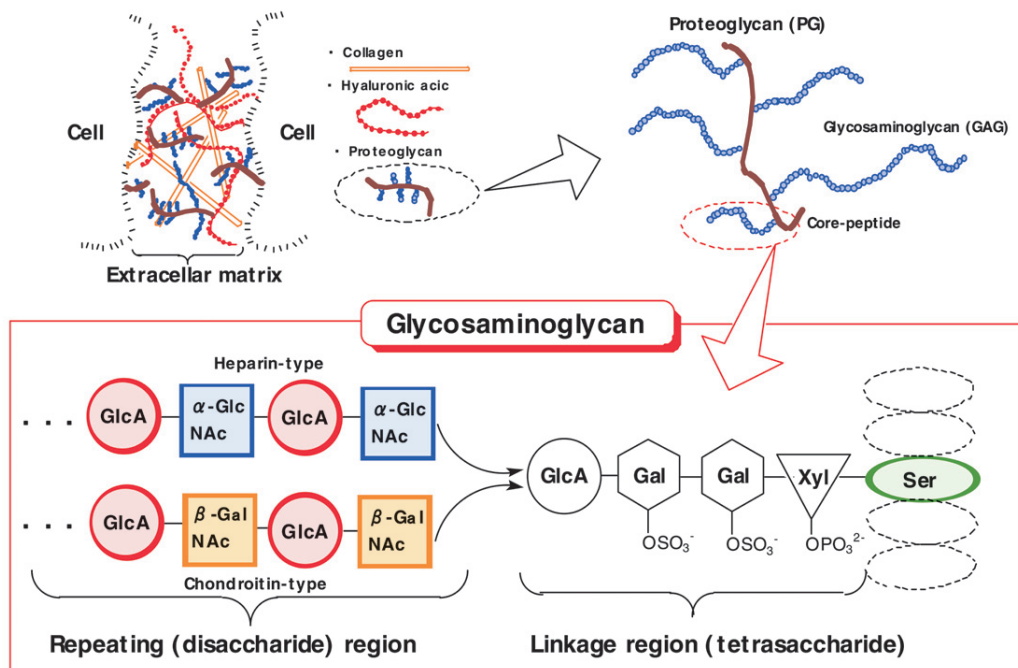


図1 グリコサミノグリカンの分子構造

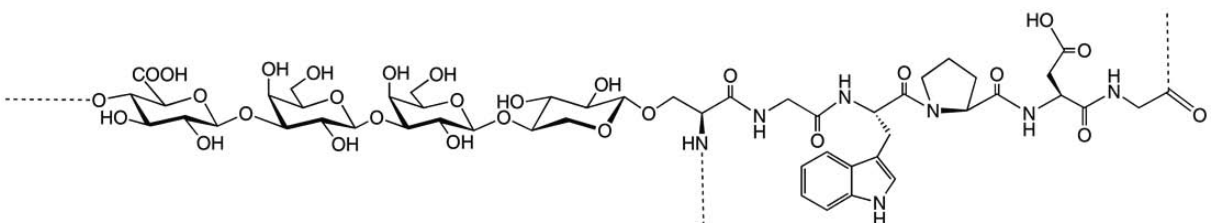


図2 ベータグリカンの部分構造

の研究者の努力により、GAG鎖一本ずつの機能は、次第に明らかになりつつありますが、現実にPGとして天然に存在していることには、それなりの意味があることだと考えています。

気の遠くなるような巨大分子の複雑な機能を明らかにするために、我々の研究室が取り組んでいる人工PGの合成についてご紹介します。PGの機能研究を簡略化するには、均一で規則的な形状のPG、つまり、均一な糖鎖構造を持つGAGが規則的な繰返し構造のペプチドに結合したPGを得ることが最初の課題となります。ここで糖鎖合成の手法について簡単に解説しますと、糖供与体のアノマー位（1位）の炭素を活性化して糖鎖を伸長させる化学合成は、伸長によって新たに生じる1位炭素を、望む立体配置に制御することが重要なポイントになります。このとき2位水酸基にアシル基を装着しておく、隣接基関与により、新たに生じるグリコシド結合が2位水酸基とtransの関係になります。GAGの結合領域の合成における立体制御は、すべてこの方法で解決できます。ヘパリンの繰返し糖鎖部分の合成についてはこの手法が使えませんが、コンドロイチン硫酸の繰返し糖鎖部分では可能です。しかし、完成した保護体糖鎖からアシル基を除去する際に、塩基性条件で処理することになります。PGでは糖鎖がペプチドのセリン水酸基に結合しているので、塩基性条件を強くすると、構成アミノ酸がD型に異性化したり、糖鎖が脱離します。PG合成ではここが大きな問題となります。実際にアシル保護した三糖テトラペプチド： $-(\text{Gal-Gal-Xyl})\text{-Ser-Gly-Ser-Gly}-$ の四量体を合成し、その脱保護（けん化）を行いました。糖鎖が脱離した化合物が得られ、目的物を得ることはできませんでした。多くのアシル基を一度に除去しようとする、最後の一つが外れるまでに、塩基性条件に長く晒さなければなりません。また、反応の前後で極性が大きく変化するので、分子の形状がダイナミックに変化し、保護基の残る疎水性部

分が親水性部分に包み込まれて反応が進行しなくなるなどの不利な点があります。しかし、三糖テトラペプチド単量体の脱保護ではこのようなことはなく、脱保護が可能でした。そこで、保護基のない単量体を使い、そのオリゴマー化ができないか検討を開始しました。

基本的なオリゴマー化の概念を図3に示します。N-末端側分子(A)のカルボン酸に対し、アミノ基遊離の単量体(B)を結合させ、1単位長くなったCとします。その際、Bのカルボン酸は、塩基性条件でなく除去できるアシル基で保護しておきます。また、Aのアミノ基には、検出用のダンシル基を装着させておきます。ダンシル基のある分子は、Bの縮合とアシル除去を繰り返すことでN-末端側に成長します。ペプチドの合成では、一般的にC-末端側には伸長させませんが、ここでは単量体のC-末端がグリシンであるために可能です。近年開発されたDMT-MMは、プロトン性極性溶媒中でもアミド形成が可能な縮合剤です¹¹⁾。単量体どうしの縮合にDMT-MMを用いたところ、メタノール中ではメチルエステルの形成が避けられませんが、水中でもアミドの形成反応は進行し、最大94%という高い縮合収率で、四量体までの合成に成功しました。この分子をプライマーにして、適切に糖転移酵素を選べば、原理的には単一種類のGAGになるようにコントロールできると考えられます。今後、この基質に糖鎖が実際に伸長するのか？糖鎖長の制御はできるのか？位置特異的硫酸化は可能か？等々、解決しなければならない多くの問題が発生すると思いますが、もがいていると意外にいいアイデアや実験結果が生まれてくるものです。今後も謎解きに挑戦し続けたいと思います。

謝辞

共同研究として糖転移反応を行っていただいた、菅原一幸教授（北海道大学）、並びに北川裕之教授（神戸薬科大）にお礼申し上げます。

Synthesis of the Triaosyl Tetrapeptide n+1mer

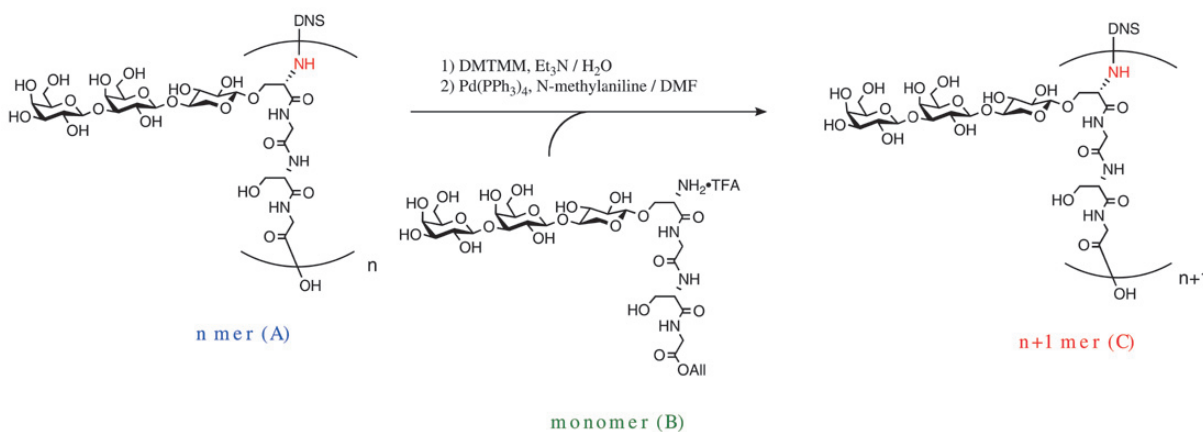


図3 PG結合領域三糖テトラペプチドのオリゴマー化

参考文献

- 1) Kitagawa, H. *Yakugaku Zasshi*, **2002**, *122*, 435-450.
- 2) Zhang, L.; Esko, J. D. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 19295-19299.
- 3) Esko, J. D.; Zhang, L. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 663-670.
- 4) Fritz, T. A.; Gabb, M. M.; Wei, G.; Esko, J. D. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 28809-28814.
- 5) Fritz, T. A.; Agrawal, P. K.; Esko, J. D.; Krishna, N. R. *Glycobiology* **1997**, *7*, 587-595.
- 6) Moses, J.; Oldberg, Å.; Chen, F.; Fransson, L.-Å. *Eur. J. Biochem.* **1997**, *248*, 521-526.
- 7) Tamura, J.; Nishihara, J. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3074-3083.
- 8) Tone, Y.; Pedersen, L. C.; Yamamoto, T.; Izumikawa, T.; Kitagawa, H.; Nishihara, J.; Tamura, J.; Negishi, M.; Sugahara, K. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 16801-16807.
- 9) Tamura, J.; Yamaguchi, A.; Tanaka, J.; Nishimura, Y. *J. Carbohydr. Chem.* **2007**, *26*, 61-82.
- 10) Kim, B.-T.; Kitagawa, H.; Tanaka, J.; Tamura, J.; Sugahara, K. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 41618-41623.
- 11) Sugahara, K.; Yamada, S.; Yoshida, K.; de Waard, P.; Vliegthart, J. F. G. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 1528-1533.
- 12) Kunishima, M.; Kawachi, C.; Morita, J.; Terao, K.; Iwasaki, F.; Tani, S. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 13159-13170.

たむら じゅんいち
鳥取大学 地域学部 地域環境学科
jtamura@rstu.jp

マイクロ波を利用した糖ペプチド合成研究

マイクロ波は一般的に周波数 300 MHz-300 GHz (波長 1 mm - 1 m) の電磁波である。物質にマイクロ波が照射されると、マイクロ波の照射によって発生する電界で乱された電気双極子が激しく回転、振動することにより、物質内部から急速な発熱が起こる。いわゆる一般的な加熱とは「外部からの熱伝導と対流」によるものであるが、マイクロ波加熱の場合は「内部発熱」による加熱である点で異なる特徴を有している。

化学反応におけるマイクロ波加熱の利用は1986年の報告が最初であり^{1,2)}、それ以来多種多様な化学反応におけるマイクロ波利用が数多く報告されており、現在もなお増加の一途をたどっている³⁾。ペプチド合成におけるマイクロ波の利用は1992年に初めて報告があり、マイクロ波の照射がカップリング反応の促進効果をもたらすことが明らかにされた⁴⁾。しかし、その報告以降、マイクロ波効果の定量的な評価の報告がほとんどなく、また反応条件の検討に必要な固相合成用途のマイクロ波装置の市販がなかったために、ペプチド合成研究においては10年以上もの間、マイクロ波利用



松下 隆彦

法はあまり普及していなかった。

糖ペプチド合成法の問題点

糖ペプチドの合成法は、アミノ酸の側鎖に糖鎖を導入した糖アミノ酸を合成シントーンとして、通常の保護アミノ酸と同様に固相合成に用いる方法が一般的である。この方法の利点は、ペプチド鎖の任意の箇所にも複数の糖鎖を持つ糖ペプチドが合成可能な点である。合成に必要な糖アミノ酸は、現段階では市販品が極限られているため、一般には独自に調製する必要がある。従って、糖ペプチド合成の際には、「貴重な糖アミノ酸を小過剰の使用にとどめながらも高い収率を得ること」が求められる。しかし実際の合成においては、合成単位である糖アミノ酸自体の高さに起因する縮合効率の低下がしばしば発生する。特に、高糖アミノ酸残基の次の残基がまた連続して糖アミノ酸である場合には、反応モニタリングを注意深く行いながら縮合反応を繰り返すなど工夫を要する。結果として高収率を確保するためには通常のペプチド合成以上に大過剰の糖アミノ酸を要してしまうことが多い。

このような糖ペプチド固相合成に特有の諸問題を解決するためには、種々のアミノ酸誘導体や反応試薬が混在する複雑な反応系を一様に高活性化する手法が開発されるのが望ましい。その候補としてマイクロ波の利用は大変魅力的である。なぜならば、反応系に電磁波を照射するだけの簡便かつクリーンな方法であり、過去の数多くのマイクロ波利用報告から求む効果を発揮する可能性が示唆されるからである。そこで著者らは近年種々の化学反応における高収率化、反応時間の大幅短縮、および選択的反応が報告されているマイクロ波の効果に着目し、糖ペプチド固相合成におけるマイクロ波の利用について検討を行ってきた⁵⁻⁸⁾。本稿ではこれまでに得られた成果について報告する。

固相合成に向けたマイクロ波装置の改変

マイクロ波固相合成の検討を始めた当初は家庭用電子レンジを用いて予備検討を行い、マイクロ波の照射により糖アミノ酸の縮合反応が促進される手応えを得た。しかし実験条件を毎回安定に再現するには電子レンジの利用では限界があったため、化学反応用途に市販されていたマイクロ波式化学実験装置「グリーン・モチーフ・I」(株式会社IDX)を購入し、糖ペプチド固相合成へ適応させるべく改良を施した。本装置における反応系の攪拌方式はマグネチックスターラーを想定した設計になっており、固相合成に必要な攪拌・振とう機能を有してはなかったため、装置外部に設置した攪拌器の振とう運動を装置内部に設置する反応容器に連動させるための機構を自作して取り付け(図1)。反応時の温度は反応系に熱伝対を差し込んでモニターした。

糖アミノ酸の縮合反応におけるマイクロ波効果

アラニン残基を導入したTentaGel レジンに対し、ヒドロキシル基がアセチル保護されたコア2型分枝三糖を側鎖に持つFmoc化スレオニンの縮合反応を行った。その際に、マイクロ波照射による加熱条件(50℃)、通常の外部加熱条件(ドライオーブン中50℃)、および非加熱条件(室温)のそれぞれの条件

下において Fmoc 定量法により糖アミノ酸導入率の経時変化を追跡した (図 2)。定常状態に達した20分後の導入率を比較すると、まず非加熱条件では92%、通常加熱条件では93%とその差はわずかに1%であった。しかし、マイクロ波加熱条件下では98%まで到達していた。外部加熱条件との差は5%であり、この反応率向上はマイクロ波特有の効果によるものであるといえよう。逐次合成法においてはわずか5%の差が最終的な収率に大きな差を生む。例えば20残基のペプチドを合成する場合には19回の縮合反応が必要である。アミノ酸一残基当たりの平均導入率が93%と98%であるとすれば、ペプチドの総収率はそれぞれ25%と68%となる。

また、マイクロ波の利用は合成コストの削減においても大きな進歩をもたらした。一般に市販されていない貴重な糖アミノ酸を小過剰 (1.5等量) の使用にとどめてもお効率的な合成を達成できたことは、マイクロ波の利用が省資源化に有効であると言い換えることができる。

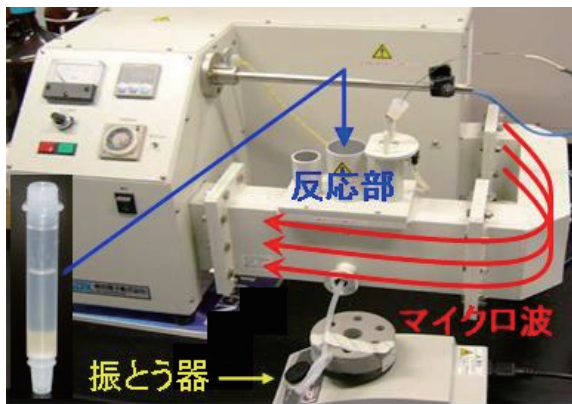


図1 振とう機能を導入したマイクロ波有機化学反応実験装置グリーン・モチーフI (株式会社IDX)

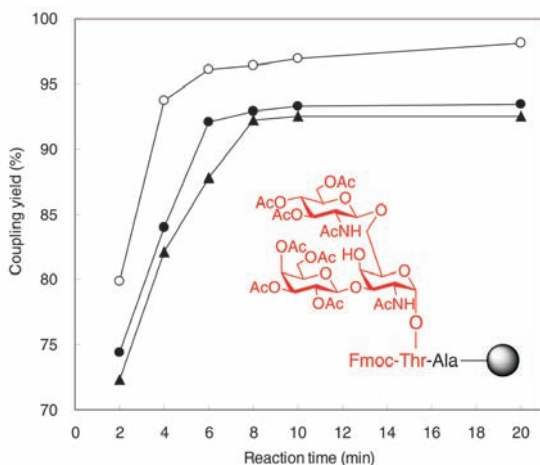


図2 コア2型糖アミノ酸をアラニン担持固相担体へ導入する際の反応率。Fmoc-Thr(AcCore2)-OH (1.5等量), HBTU (1.5等量), HOBT (1.5等量), DIPEA (3.0等量), DMF。マイクロ波加熱 (50°C, ○), 外部加熱 (50°C, ●), 非加熱 (室温, ▲)。

糖ペプチド固相合成におけるマイクロ波効果

マイクロ波の効果をより明らかにするため、ムチン型糖タンパク質MUC1のタンデムリピート領域を合成する上で最も困難であると思われる分岐型の core2糖鎖が5箇所のセリン、スレオニン残基に導入された20残基の糖ペプチドをモデルとし、化学合成を行った (図3)。反応を非加熱条件にて進めると、計99時間にて総収率41%で目的とする糖ペプチドが得られた (図4, Entry1)。一方、マイクロ波照射による50°Cの加熱条件下では、糖アミノ酸縮合反応を12時間から20分に、通常の Fmoc 保護アミノ酸縮合反応を2時間から10分に、さらに脱 Fmoc 反応を20分から3分にそれぞれ短縮して行ったにも関わらず、総収率は計7時間で非加熱条件とほぼ同じ44%で得られた (図4, Entry3)。しかし、通常の加熱条件 (ドライオープン中50°C) 下にて同条件で合成した場合、総収率は15%に低下した (図4, Entry2)。この結果は、マイクロ波の照射が大幅な反応時間の短縮に効果を発揮したことを示す。

続いて TFA 処理により樹脂から切り出しを行った後、HPLC および MALDI-TOF MS を用いて反応副産物の同定、比較を行った (図5)。検出された副産物 A ~ E は、側鎖に高い保護基や糖鎖を持つアミノ酸のカップリング反応が完全には進んでいないことを示す化合物である。マイクロ波非照射下においては、加熱系と非加熱系のどちらも反応初期の糖アミノ酸導入時に反応が未完了であることを示す化合物 B および C が多く確認された。一方、マイクロ波照射を行った反応系においては、糖アミノ酸が連続する5つ目の糖アミノ酸導入時に、反応未完了を示す化合物 D が最も多く確認された。しかし、同様に高い糖アミノ

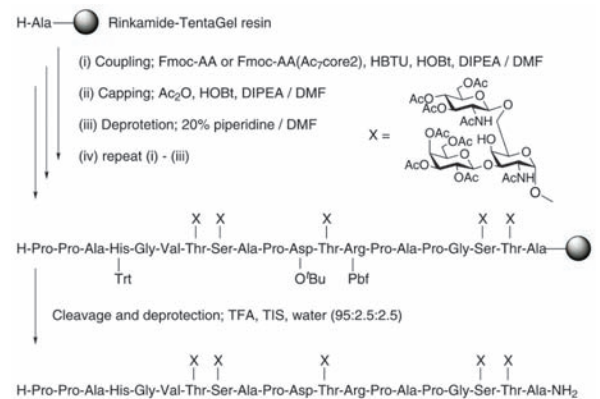


図3 MUC1糖ペプチドの合成スキーム

Entry	1	2	3	4
Resin	TentaGel	TentaGel	TentaGel	PEGA
Microwave (~40 W)	-	-	+	+
Temperature	rt (25 °C)	50 °C	50 °C	50 °C
Reaction time				
(i) Coupling				
for Fmoc-AA (3.0 equiv.)	2 hr	10 min	10 min	10 min
for Fmoc-AA(Ac ₂ Core2) (1.5 equiv.)	12 hr	20 min	20 min	20 min
(ii) Capping (for all residues)	5 min (at room temperature)			
(iii) Fmoc Deprotection	20 min	3 min	3 min	3 min
Total reaction time	99 hr	7 hr	7 hr	7 hr
Yield of target compound	41%	15%	44%	67%
Average reaction yield per residue	96%	91%	96%	98%

図4 MUC1糖ペプチド合成の結果

酸が連続する反応初期の Ser-Thr については問題なく進行していたことが明らかになった。

マイクロ波による反応促進を施してもなお反応後期のカップリングが問題になったため、今度は TentaGel レジンよりも DMF に対する膨潤度が高く、骨格が柔軟な樹脂である PEGA レジンを用いて同様のマイクロ波照射条件下にて反応を行った (DMF に対する膨潤度は TentaGel レジン=4.7ml/g, PEGA レジン=17.8ml/g)。その結果、途中で停止した副生成物はほとんど検出されなくなり、標的とする糖ペプチドの合成収率は67%に達した (図4, Entry4)。これはアミノ酸一残基当たりの平均収率が約98%と高収率で合成が進行した計算になる。

まとめ

糖ペプチドは生化学的研究のみならず、癌をはじめとする疾病の予防、診断や治療など医療分野への応用用途が見込まれる魅力的な化合物であるが、これまででは決して合成の容易な化合物ではなかったため、その作用機能などの解明研究が立ち遅れている感があった。マイクロ波は通常、“加熱”方法のひとつとして認識されており、糖ペプチドの様に多官能基性で決して安定体といえない化合物の合成にはあまり活用されていなかったが、著者らはマイクロ波の利用によって比較的大きな糖ペプチドでも迅速かつ効率的に合成することに成功した。そして糖ペプチドとエピトープ解明研究への展開にフォーカスさせた100種以上の MUC1 癌関連糖ペプチドライブラリを1年足らずで構築し^{8,9)},

実際に創薬分野への応用展開を進めている。

上述のとおり、同じ50℃の加温であってもマイクロ波照射条件の方が外部加熱条件よりも優れた縮合効率を示すこと、そして他にも糖化学反応研究においてマイクロ波の非加熱効果の存在を示唆する結果を得ている^{7,10)}ことから、マイクロ波特有の効果を明確に説明するためには、物理的性質を含めたより詳細な検討が今後必要であると考えられる。今回ご紹介した研究成果は既に市販されている装置を改良して進めたものであるが、著者らのこれまでの研究結果を基に、シングルモード導波管によるペプチド固相合成に適したマイクロ波利用合成装置の開発を現在進めている。マイクロ波の効果を理解し、積極的に利用することは省エネルギー・省資源 (廃液, 廃試薬の削減) といったグリーンケミストリーの理念に通ずるものである。環境負荷の低減が求められる今日、マイクロ波効率固相合成に向けたハードの開発も含めて今後とも糖ペプチド化学の発展に貢献していくことができると考えている。

謝辞

この度はニュースレターでの執筆の機会を与えてくださいました東海大学の北條裕信先生に御礼申し上げます。本研究は創薬シーズ探索研究ラボの西村紳一郎ラボ長のご指導の下で行ったものであり、多くのご指導ご協力をいただきました清水弘樹博士, 比能洋博士をはじめとするラボの皆様にご心より感謝いたします。最後に、本研究の成果は科学研究費補助金 (若手研究 (スタートアップ)), 東京理化学器械株式会社の援助を受けて得られたものであり、ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) Gedye, R. *et al. Tetrahedron Lett.* 27, 279-282 (1986)
- 2) Giguere, R. J. *et al. Tetrahedron Lett.* 27, 4945-4949 (1986).
- 3) Lidström, P. *et al. Tetrahedron* 57, 9225-9283 (2001).
- 4) Yu, H.-M. *et al. J. Org. Chem.* 57, 4784-4875 (1992).
- 5) Matsushita, T. *et al. Org. Lett.* 7, 877-880 (2005).
- 6) Matsushita, T. *et al. J. Org. Chem.* 71, 3051-3063 (2006).
- 7) Shimizu, H. *et al. Koubunshi Ronbunshu* 64, 883-896 (2007).
- 8) Fumoto, M. *et al. J. Am. Chem. Soc.* 127, 11804-11818 (2005).
- 9) Ohyabu, N. *et al. Glycobiology* 16, 1152 (2006).
- 10) Yoshimura, Y. *et al. Tetrahedron Lett.* 46, 4701-4705 (2005).

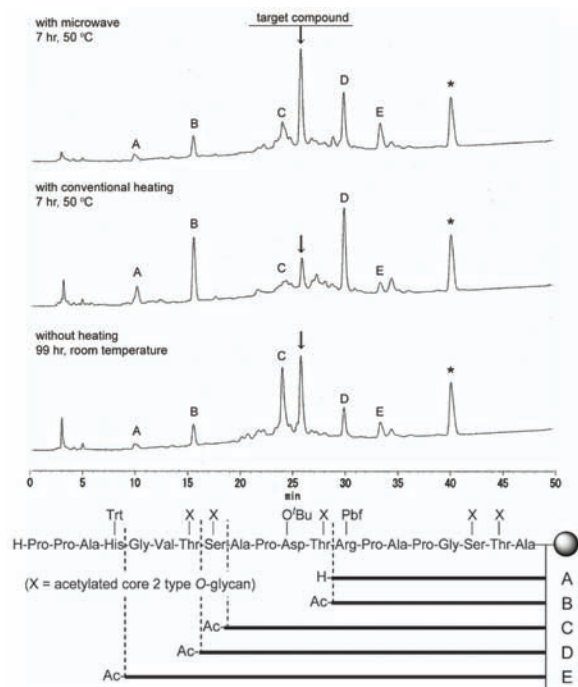


図5 HPLC および MALDI-TOF MS を用いた各合成条件における副生成物の分析。HPLC 中の A ~ E は固相合成における不完全体副産物で、その対応構造は下方に示した。図中の矢印は目的とする糖ペプチド、アスタリスクは非ペプチド成分を示す。

まつした たかひこ
産業技術総合研究所 北海道センター
創薬シーズ探索研究ラボ
t-matsushita@aist.go.jp

質量分析による糖ペプチドの構造解析

はじめに

質量分析による糖タンパク質の構造解析は、現在のところ糖タンパク質をそのままの形で行う所謂トップダウン方式で行うことは極めて困難で、通常各種プロテアーゼで分解した後の糖ペプチドを解析して行われる。本稿では、この様にして得られた糖ペプチドの質量分析による解析の現状を報告する。



鈴木 實

MALDI イオン化と ESI イオン化

マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) は、試料に固体及び液体のマトリックスを添加したものにレーザー照射する事でイオンを生成するイオン化法である。一方エレクトロスプレーイオン化 (ESI) は、溶液をスプレーヤーという極めて細いキャピラリーに高電圧を印加しながら通過させてイオンを生成させるイオン化法で、MALDI イオン化法とともに現在最も広く使用されている方法である。この二種のイオン化はそれぞれの長所・短所がある故、場面場面でどちらのイオン化を用いるかが決められており、決して理由無くは選択されているのではない。

本稿では、ESI イオン化より生体夾雑物の影響が少なく、且つより操作が簡便な MALDI イオン化法による糖ペプチドの構造解析例に関して報告する。

MALDI-TOF MSⁿ による糖ペプチドの構造解析

リボヌクレアーゼ B を、常法に従って 2-メルカプトエタノール及びヨードアセトアミドで還元アルキル化

を施してトリプシン消化した後、セファロース CL-4B で糖ペプチドを選択的に捕集して MALDI-TOF MS 測定し、得られたスペクトルを図 1A に示した。この図に示したように、リボヌクレアーゼ B 由来糖ペプチドが m/z 1900 から 2600 近辺に 5 本のピーク (m/z 1935, 2097, 2259, 2421 及び 2583) が 2 本のセットで、ヘキソース分子の差を想起させる 162 Da おきに出現している。勿論これら 10 本のピークはそれぞれ MALDI-TOF 質量分析法により解析されているが、今回はこの中の m/z 1935 のピークのみに着目した解析例を以下に示す。

m/z 1935 をプリカーサーイオンとした MS/MS スペクトル (図 1B) では、分子からヘキソース分子が脱離したイオンが m/z 1773, 1611, 1449, 1287 及び 1125 に観察されるとともに、N-アセチルヘキソサミン脱離に起因するイオンも m/z 922 及び 718 に観察されることから、この糖ペプチドは、GlcNAc2Man5 のハイマンノース糖鎖を有するものと直ちに推定される。

次に、この糖ペプチドのアミノ酸の種類及び配列に関する情報を得るために、図 1B で得られたイオンの中でペプチド由来のイオン (m/z 718) をプリカーサーイオンとした MS/MS/MS 解析を行った結果を図 1C に示した。この結果、 b_2 (m/z 227 及び 244), b_3 (m/z 341 及び 358), b_4 (m/z 471) 及び y_5 (m/z 631) などのイオンが観察されることから、この糖ペプチドの種類及び配列は、(S-R-N-L-T-K) であることが推定される。

糖ペプチドの構造解析にあたり上述の糖鎖構造情報及びペプチド構造情報とともに必須な情報は、糖鎖の結合位置の情報である。この問題は、 m/z 1935 をプリカーサーイオンとした MS/MS スペクトルで還元末端の GlcNAc が一部残された形のイオンが m/z 801 (peptide + 84) に強く観察されていることから (図 1B 及び

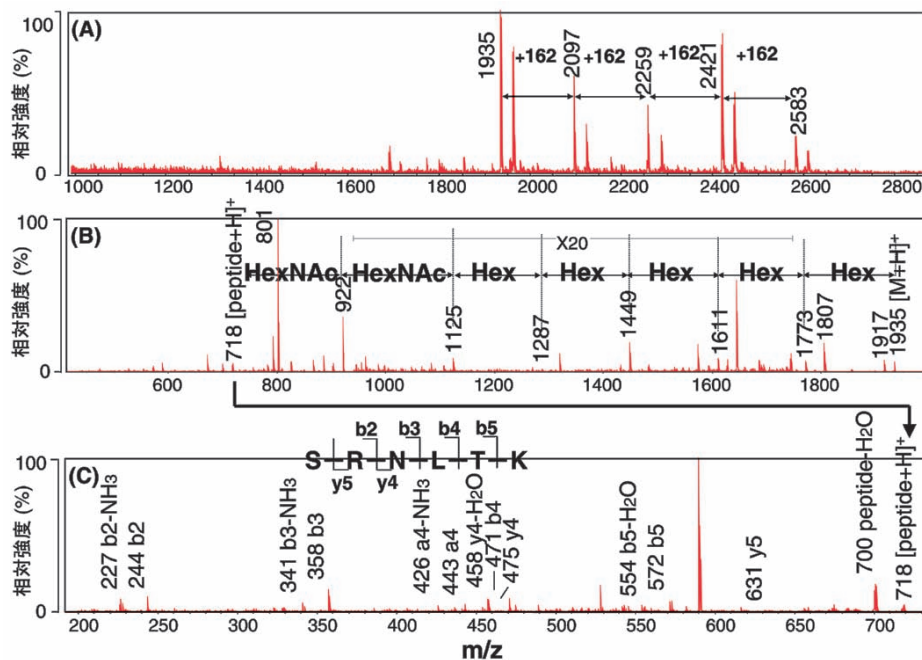


図 1 リボヌクレアーゼ B 由来糖ペプチドの MS スペクトル (A), MS/MS スペクトル (B), 及び MS/MS/MS スペクトル (C)

図2A), このイオンを選択してMS/MS/MS解析を行って糖鎖結合位置情報を得ることで解決される。図2BにそのMS/MS/MSスペクトルを示した。糖鎖の断片を有するイオンである $b3^*$ (m/z 441), $b4^*$ (m/z 554), $b5^*$ (m/z 655及び673)とともに, $y4^*$ (m/z 558)のイオンが観察されることから, この糖ペプチドの糖鎖 (GlcNAc2 Man5) は, N-末端から三番目のAsn (N) に結合していることがスペクトルから初めて明確になる。

誰でも解析出来るスペクトルを目指して

以上, MALDI-TOF MS, MS/MS(MS^2), 及びMS/MS/MS(MS^3)による糖ペプチドの構造解析例を示したが, スペクトル解析に馴染みのない方にとってはかなりストレスのかかる作業である。そこで, 極めて容易に糖ペプチドの構造解析可能な方法を紹介する。前述の様に糖ペプチドの構造解析は, 糖ペプチドを構成するペプチド部分のアミノ酸の種類及び配列に関する情報を得る事, 糖鎖部分の構造情報を得る事, 及びそ

の結合位置に関する情報を得る事, の三点である。とすれば, ペプチドのN-末端からアミノ酸を不完全に順次切り出して, 最終的にアミノ酸一個ずつ異なるペプチド混合物を生成するラダーシーケンス法を糖ペプチド構造解析にとり入れてMALDI-TOF MS解析を行えば良いこととなる。実際の操作では, 約20:1の比率のフェニルイソシアネート (PIC) とフェニルイソチオシアネート (PITC) の試薬を糖ペプチドのN-末端アミノ酸のアミノ基に作用させ, PC及びPTC糖ペプチドとした後にTFAで処理する。PC誘導体は分解せずに残る一方, PTC誘導体だけがATZアミノ酸としてN-末端アミノ酸一個が遊離して, N-末端から二番目のアミノ酸のアミノ基が露出することとなる。この操作を繰り返すことにより, N-末端アミノ酸が一個ずつ減少したPC化糖ペプチド混合物を得て, MALDI-TOF MS解析を行う (図3)。

図4には, O-結合型糖鎖を有する化学合成糖ペプチドに上述の操作を施して得られたMALDI-TOFマス

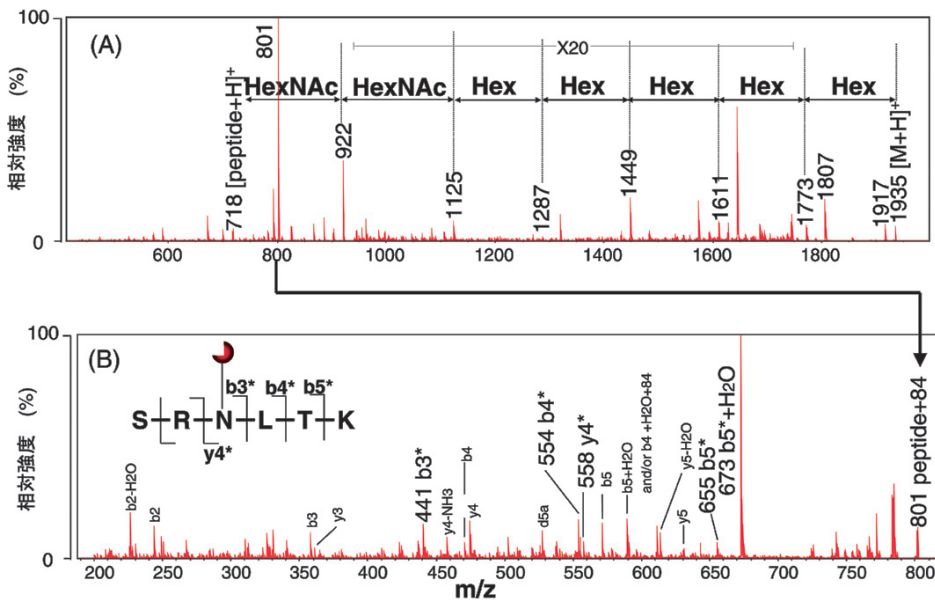


図2 リボヌクレアーゼ B 由来糖ペプチドのMS/MS スペクトル (A), 及びMS/MS/MS スペクトル (B)

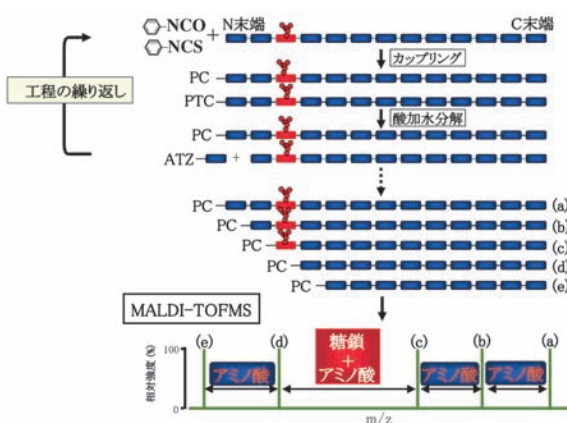


図3 N-末端プロテインラダーシーケンス法の原理

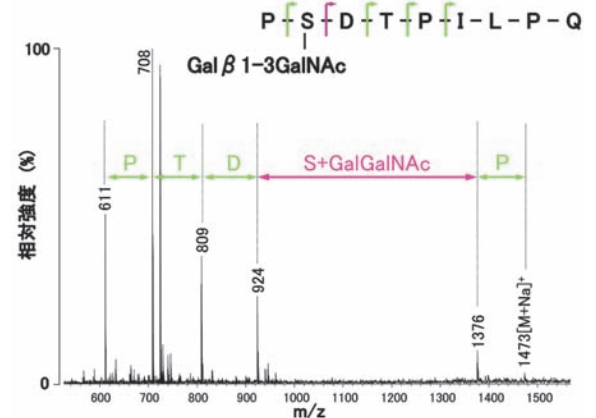


図4 N-末端ラダーシーケンスで得られ糖ペプチド由来PC化混合物のMALDI-TOF マススペクトル

スペクトルを示した。その結果, [M+Na] (m/z 1473) から N-末端アミノ酸が脱離したイオンが m/z 1376 にまず出現し, 次に Ser (S) に結合した糖鎖が Ser とともに脱離したイオンが m/z 924 に観察されることから, 糖鎖の分子量に関する情報と, 糖鎖結合位置情報の両方が得られることが判る。更に, m/z 809, 708及び611のイオンが観察されることから, N-末端から三番目, 四番目及び五番目のアミノ酸の種類情報が, それらの質量差から次々と解析され, 自動的にこの順にアミノ酸が連なっていることが明らかになる。本法はシアル酸含有糖ペプチドに対する化学的安定性, 及びサイクル数の限界などの問題を抱えているものの, シンプルなスペクトルによる容易な糖ペプチドの構造解析を可能にする方法であることから, 今後の発展が期待されるものと考えられる。

終わりに

質量分析による糖ペプチドの構造解析は, 未だ始まったばかりであると思われる。本稿で述べた方法も, 感度の問題も含め必ずしも満足できる解析法として確立されている訳ではない。しかし, 新しいイオン化やこれまでと異なった試料調製法などのアイディアで明日にも大きく発展する可能性があり, 今後どのような切り口で展開して行くか極めて興味深い。

参考文献

- 1) 鈴木 實, 田中耕一, 富永晃生, 御石浩三, 飯田順子, 伊藤恵実, 後藤菜穂子, 鈴木明身, 質量分析によるグライコプロテオミクス II, 蛋白質核酸酵素, **48(8)**, 1194-1199 (2003)
- 2) 福山裕子, 和田芳直, 山崎雄三, 尾島典行, 山田真希, 田中耕一, MALDI-QIT-TOFMS を用いた糖タンパク質の新規構造解析手法, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **52**, 328-338 (2004)
- 3) Chait, B. T., Protein ladder sequencing, *Science*, **262**, 89-92 (1993)
- 4) Suzuki, Y., Suzuki, M., Nakahara, Y., Ito, Y., Ito, E., Go-to, N., Iida, J., and Suzuki, A., Structural characterization of glycopeptides by N-terminal protein ladder sequencing, *Anal. Chem.*, **78**, 2239-2243 (2006)
- 5) 鈴木 實, マススペクトロメトリーによる糖鎖解析, *THE LUNG perspectives*, **15**, 89-94 (2007)

すずき みのる
理化学研究所, ケミカルバイオロジー研究領域
疾患糖鎖研究チーム
m-suzuki@riken.jp

日本ペプチド学会からのお知らせ

第10期(平成20年4月~平成22年3月)の理事, 監事, ならびに評議員が決まりました。

会長 相本三郎 (大阪大学)
副会長兼事務局 木村皓俊 (ペプチド研究所)
庶務 下東康幸 (九州大学)
会計 赤路健一 (京都府立医科大学)

渉外 大戸昌彦 (岡山大学)
広報 野水基義 (東京薬科大学)
理事 大高 章 (徳島大学)
岡田芳男 (神戸学院大学)
木曾良明 (京都薬科大学)
二木史朗 (京都大学)
監事 塩入孝之 (名城大学)
植木正彬 (東京理科大学)
評議員 小出隆規 (早稲田大学)
小林祐次 (大阪薬科大学)
齋藤一樹 (京都薬科大学)
坂口和靖 (北海道大学)
高尾敏文 (大阪大学)
玉村啓和 (東京医科歯科大学)
豊島 正 (ペプチド研究所)
林 良雄 (東京薬科大学)
日高雄二 (近畿大学)
深瀬浩一 (大阪大学)
藤井郁雄 (大阪府立大学)
藤井信孝 (京都大学)
北條裕信 (東海大学)
松崎勝巳 (京都大学)
南野直人 (国立循環器病センター)
三原久和 (東京工業大学)
向井秀仁 (京都薬科大学)
若宮建昭 (近畿大学)

会長選任の評議員

岡元孝二 (九州工業大学)
川崎紘一 (神戸学院大学)
栗山尚浩 (ワイエムシイ)
杉村和久 (鹿児島大学)
辻 尚志 (味の素)
長澤寛道 (東京大学)
西村 紀 (島津製作所)
南方宏之 (サントリー生物有機科学研究所)
山田隆己 (甲南大学)

第45回ペプチド討論会 開催のお知らせ

—ペプチド科学のスターバースト—
会期: 2008年10月29日(水)~31日(金)
会場: タワーホール船堀 (東京都江戸川区船堀4-1-1)
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. ペプチドと創薬研究
9. その他 広くペプチド科学に関する研究

発表申込・アブストラクト受付: 8月1日(金)~31日(日)

発表形式: 口頭(英語・日本語)またはポスター
(今回は若手シンポジウム, かけ込みポスターを企画しております。詳しくは下記 HP を参照してください)

発表申込方法：下記 HP の「第45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、E-mail 及び郵送にて送付

受諾通知：9月15日(月)頃 (E-mail にて通知)

参加登録料：一般 (ペプチド学会員・共催学会員) 6,000円, (非会員) 13,000円 (プロシーディング込), 学生 (ペプチド学会員・共催学会員) 3,000円, (非会員) 6,000円 (プロシーディングなし), 10月1日以降, 詳細は HP 参照。

懇親会：タワーホール船堀 参加費：一般8,000円, 学生4,000円。

(参加および懇親会の登録は当日のみで, 事前参加登録はありません)

討論会世話人：野水基義 東京薬科大学薬学部

問合せ・申込先：

〒192-0392 八王子市堀之内1432-1 東京薬科大学薬学部内

第45回ペプチド討論会事務局 保住建太郎

TEL : 042-676-5662 or 5669 FAX : 042-676-5662

E-mail : jps-45@bus.toyaku.ac.jp

ホームページ : <http://www.societyinfo.jp/jps45/>

(11月1日(土) 市民フォーラム, 東京薬科大学)

新編集委員



坂本 寛

この度編集委員に新たに加わることになりました。しばらく学会から遠ざかっておりましたが、寄り道した分いろいろな分野からの情報をお伝えして、学会の発展に微力ながら貢献したいと思います。どうぞよろしくお願いたします。



松島 綾美

ペプチド学会は学生時代からずっと親しんでいる大切な学会です。微力ながら編集委員として本学会の皆様のお役に立てるよう尽力したいと思います。どうぞ宜しくお願い申し上げます。

第46回ペプチド討論会 開催のお知らせ

第46回ペプチド討論会は、岡元孝二先生 (九州工業大学) の世話で以下のように開催されます。

ペプチド討論会

日時：2009年11月4日(水)～6日(金)

場所：北九州国際会議場 (北九州市小倉区:JR 小倉駅の隣)

市民フォーラム

日時：2009年11月7日(土)

場所：北九州国際会議場 (北九州市小倉区:JR 小倉駅の隣)

なお、2009年11月8日(日)～11日(水)には The 3rd Asia-Pacific International Peptide Symposium が韓国済州島で開催の予定です。

編集後記

本号は北條先生に編集を担当していただきました。編集委員が入れ替わり、最初の号ということもあり、なかなか手際よく編集作業が進まなかったところもありましたが、何とか PNJ No. 69 を発行することができました。2008年4月より3人の編集委員が入れ替わりました。三原久和先生、坂口和靖先生、前田衣織先生、長い間編集委員としてご尽力いただきありがとうございます。今年度は下記の5人の編集委員で頑張っていきたいと思っておりますので、よろしくお願申し上げます。(野水)

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

野水 基義 (担当理事)

(東京薬科大学薬学部)

TEL・FAX 042-676-5662

e-mail: nomizu@ps.toyaku.ac.jp

坂本 寛 (九州工業大学大学院)

TEL 0948-29-7815, FAX 0948-29-7801

e-mail: sakakan@bio.kyutech.ac.jp

玉村 啓和 (東京医科歯科大学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

松島 綾美 (九州大学大学院理学研究院)

TEL 092-642-4353, FAX 092-642-2607

e-mail: ayami@chem.kyushu-univ.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)