



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.70

2008 年10月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<http://peptide-soc.jp>

第45回ペプチド討論会開催に向けて

来る10月29日～31日、第45回ペプチド討論会を東京都江戸川区のタワーホール船堀で開催します。実行委員長の東京薬科大学・野水基義、実行委員の東京薬科大学・林良雄、東京医科歯科大学・玉村啓和、早稲田大学・小出隆規の4研究室で本討論会を運営させていただきます。今回はサブタイトルとして「ペプチド科学のスターバースト」と題し、若手の発表機会を増やして多くの方の参加を呼びかけるとともに、ペプチド科学のはじけるような大展開を様々な角度から討論していただきたいと考えています。



野水 基義

日本ペプチド学会は、今や世界のペプチド科学を推進する一つの極として大きな役割を果たしております。昨年は、第44回ペプチド討論会を富山で開催し、国外から30名、国内から420名の参加者を迎えました。本年度のペプチド討論会にも、例年通り韓国からの招待講演者をはじめ諸外国からの参加者が予定されています。このようなグローバル化を意識し、本年も口頭発表の1/3以上は英語での講演とし、ポスターはすべて英語での発表です。すでに220以上の演題が登録されており、理、薬、農、工、医などの基礎・応用の各分野から500名以上の研究者・技術者が参加するものと期待しております。

第45回ペプチド討論会では、近年の創薬研究におけるペプチド科学の重要性をふまえて新たに「ペプチドと創薬研究」という課題を加え、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を中心課題として取り上げ、成果の発表や情報交換の場としての役割を果たしていきたいと考えております。

若手（特に20代の方）の口頭での発表希望が多いため、今回は特別に若手口頭発表を募集したところ、26演題の応募がありました。討論会第1日目に若手口頭発表セッションを予定しており、佐賀大学の佐藤孝先生を審査委員長とした若手10人による座長・審査委員で進行と若手優秀発表賞の選考をしていただくことに

しました。また、例年通り、若手研究者の育成・活性化・自立を願い、若手ポスター賞も設けることにいたしました。さらに、韓国ペプチド学会との交流を目的とした代表者2名の講演を本年も行うとともに、韓国ペプチド学会に対して広く参加を呼びかけており、より緊密な日韓学術交流を目指し努力しております。

本年は「ペプチドと創薬」を新たにテーマに掲げました。討論会3日目は主に創薬関連の発表を予定するとともに、医者としてペプチドを角膜疾患の薬にしようとしておられる山口大学医学部の西田輝夫教授に招待講演をお願いしました。さらに、教育講演として「笑いとプレゼンテーション」と題し、吉本興業(株)に東京薬科大学で実際に行っている講義「芸能・文化」と同様な内容の講義をお願いしました。

今年も多くペプチド研究者が一堂に会して、「ペプチド科学のスターバースト」ともいえる活発な発表・討論が展開されますようお願いしております。

なお、ペプチド討論会の終了日の翌日（11月1日）に東京薬科大学で日本ペプチド学会主催市民フォーラムを開催することになっております。当日は東京薬科大学の東薬祭期間でもあり、東薬祭と共催することになっており、大勢の一般市民の方の参加が期待されます。

最後になりましたが、第45回ペプチド討論会を開催するにあたり、多数の企業・財団から協賛金、広告や企業展示への参加という形でご協力いただきました。詳細は討論会要旨集や討論会ホームページに記載しますが、心より御礼申し上げます。

のみず もとよし
東京薬科大学薬学部
nomizu@ps.toyaku.ac.jp

固相法を利用した環状デブシペプチド 天然有機化合物の全合成

はじめに

本年4月より東北大学大学院薬学研究科反応制御化学分野に着任しました。学生時代から天然有機化合物の骨格合成研究を行ってきましたが、九年前に環状ペプチド類の多彩な構造と生理活性に興味をもち、全合成と同時に誘導体合成の研究を始めました。特にデブシペプチドと呼ばれるエステルを有し、さら



土井 隆行

に非天然型のアミノ酸を含む生理活性天然有機化合物について誘導体合成に適用できる合成法を開発し、構造と活性、さらには天然物を分子プローブとするケミカルバイオロジー研究に展開したいと思っています。本稿では、最近行っています興味深い生理活性を有する天然物の全合成についてご紹介致します。

ボーベリオライド III の全合成

ボーベリオライド III (1) は、北里大学の供田、大村らにより単離構造決定された環状デプシペプチドで、コレステリルエステルの生成を選択的に阻害することによりマクロファージの泡沫化を抑制します。動脈硬化モデル動物を用いたインビボ試験で抑制効果を示すことから、動脈硬化予防治療薬のリードとして期待している化合物です。しかし、側鎖に官能基がないことから天然物からの誘導体合成は困難であり、構造活性相関を明らかにするためには、骨格合成を基にした誘導体合成を行う必要があります。そこで固相法を用いた全合成を行いました¹⁾。2-クロロトリチルクロリドレジン (2) に対し、Fmoc-グリシン (3)、Fmoc-フェニルアラニン (4) を縮合した後、エステルユニット 5 をカップリングしました (図 1)。この際、5 は β -アシロキシカルボン酸であるため活性化エステルにすると β -脱離が問題となりましたが、PyBrop を縮合剤に用いることでこの問題を解決することができました。固相から塩酸-ジオキサンにより切り出した後、6 のマクロラクタム化を行い、ボーベリオライド III (1) を収率よく合成することができました。固相からの切り出しの際に TFA を用い、TFA 塩の状態でマクロラクタム化を行うと、二量化して環化した化合物がかなりの量を生成し、分離が困難でした。アンモニウム塩のカウンターイオンが環化反応に影響するという興味深い知見を得ましたが、他の環状ペプチドの環化反応で試してみると TFA 塩の方が塩酸塩よりも良い場合もあり、一般的な知見を得るには至っていません

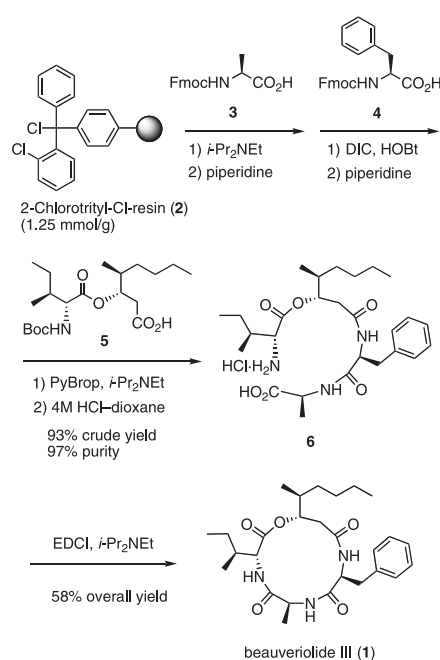


図 1 ボーベリオライド III の全合成

ん。本手法を用いてペプチド側鎖の異なるコンビナトリアルライブラリーを構築したところ、4 の代わりにジフェニルアラニンを用いた時、天然物より10倍高い活性を示すことを見出しました。天然物を超える活性をめざすには、天然アミノ酸にない側鎖を有するものを導入するとおもしろいことが示唆されました。現在は、活性配座を明らかにし、ペプチドミメティクスへの展開を進めています。

スピルコスタチン A の全合成

スピルコスタチン A (7) は、新家、瀬戸らにより単離構造決定された HDAC 阻害活性を有する環状デプシペプチドで、創薬のリード化合物として興味が持たれます。スピルコスタチンを基にした誘導体ライブラリーを構築するため、固相合成を検討しました²⁾。Fmoc 法を用いてペプチド鎖を伸長するため、立体障害が大きく、弱い酸で切断できるクロロトリチルリンカーを用い Fmoc-Val-スタチン (8) をレジンに担持しました (図 2)。Fmoc 基の除去では、通常用いる 20% ピペリジン溶液では完結しなかったため、2% DBU-2% ピペリジンの混合溶液を用い、10分間作用させる操作を 5 回繰り返して行いました。アミノ酸 9, 10, および β -ヒドロキシ酸 11 との縮合を行い、最後にヘキサフルオロイソプロパノールを作用させて固相から切り出し、環化前駆体 12 を単離収率 56% で得ました。スタチン誘導体を固相上に導入すると、固相合成は通常のパепチド縮合条件ではうまく進まず、立体障害などが大きく影響していると考えられます。またシステイン残基 9 の縮合時には、条件によってかなりのラセミ化が観測され、十分な条件検討が必要でした。マクロラクタム化は、椎名らが開発した MNBA を用いましたところ、室温下高収率で進行しました。最後にジスルフィド形成を行い、スピルコスタチン A (7) の全合成を達成しました。本手法を用いて誘導体のコンビナトリアル合成を展開しています。

アプラトキシシン A の全合成

アプラトキシシン A (13) は Moore らにより単離構造決定された 25 員環デプシペプチドです。ポリケチド部位

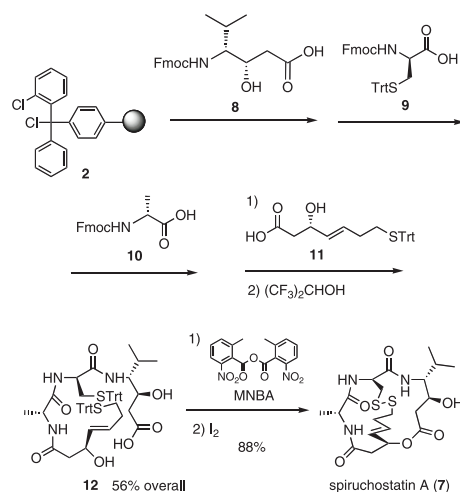


図 2 スピルコスタチン A の全合成

に対して直接チアゾリン環が連結した特異な構造を有しており、34位から39位にネオペンチル位のアルコールを含む四つの不斉炭素をもっています。構成部位としてプロリン残基、三つのメチル化されたアミノ酸残基 (MeLeu, MeAla, Tyr(OMe)), α , β -不飽和システイン誘導体, およびキラルなヒドロキシカルボン酸からなります。アプラトキシシン A は、癌細胞に対し強い細胞毒性を有し、従来の制癌剤にはない作用機構を示すことが提唱されています。天然物自身には誘導体合成に適した官能基がないため、全合成による分子プローブの合成を指向し、固相法によるアプラトキシシン A の全合成を行いました (図3)。トリチルリンカーを有するランタン14を用い、MeLeu 15, MeAla 16, Tyr(OMe) 17を順次縮合した後、あらかじめチアゾリンを構築したアミノ酸18を水酸基遊離のまま導入することができました。Fmoc 基を除去後、ヘキサフルオロプロパノールを用いて固相から切り出し、望む環化前駆体19を得た後、マクロラクタム化を行うことで、アプラトキシシン A (13) を総収率40%で得ることに成功しました³⁾。アプラトキシシン A はチアゾリンを有するため34位の酸性度が高く、重クロロホルム中でも容易に脱水体が生成することが報告されており、酸にも塩基にも非常に不安定な化合物ですが、チアゾリン環をもったまま固相上での縮合を行うことができました。不安定さの原因となるチアゾリン環を合成の最後に構築することも試みましたが、多くのアミド存在下で選択的に望むアミドのみを活性化することは難しく、より高度なチアゾリン構築法を開発する必要があることを認識しました。現在分子プローブを用いた標的タンパク質ネットワーク解析を基に作用機構の解明を進め

ております。

おわりに

これまでほとんどの場合、トリチルリンカーを用いて Fmoc 法による固相上でのアミノ酸の縮合、固相からの切り出し、液相での大環状環化をもとに環状デプシペプチドを合成しています。本手法は不安定な天然物誘導体合成にも利用できる簡便な合成法として非常に有用です。一方、より誘導体合成を簡便化するためには、固相上での環化反応もたいへん魅力的で、Kaiser オキシムリンカー、スルホンアミド Safety-Catch リンカー、ヒドラジンリンカー等を用いて試みていますが、環化体を高純度で得るには至っていません。これに対し固相上でのパラジウム触媒を用いたカルボニル化-マクロラクタム化は環状ペプチドの合成法として有効であることを見出しました⁴⁾。今後、さらに固相上での環化法を開発する必要があると考えています。また、せっかく合成した化合物ですから、これらを用いて是非次のステージに研究を展開していきたいと考えています。誘導体を合成したり、立体配座を計算したりしていると、ペプチドのもつ構造の多様性と、その一方で生理活性発現における構造の特異性という特徴に直面し、ますますペプチドがおもしろくなってきました。

本研究は、東京工業大学大学院理工学研究科高橋孝志教授のご指導の下で行ったものであり、参考文献に記した共同研究者の方々に感謝致します。また、ニュースレターでの執筆の機会を戴き、東京医科歯科大学の玉村啓和先生をはじめとする編集委員の先生方に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Tomoda, H.; Doi, T. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 32-39. 土井隆行, 長井賢一郎, 関口尊文, 藤本伸明, 生田目一寿, 砂塚敏明, 供田 洋, 大村 智, 高橋孝志, 第42回ペプチド討論会, O-011, 大阪, 2005.
- 2) Doi, T.; Iijima, Y.; Shin-ya, K.; Ganesan, A.; Takahashi, T. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1177-1180. Iijima, Y.; Doi, T.; Ganesan, A.; Shin-ya, K.; Takahashi, T. *International Conference of 43rd Japanese Peptide Symposium*, Y2, Yokohama, 2006.
- 3) Doi, T.; Numajiri, Y.; Munakata, A.; Takahashi, T. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 531-534. 土井隆行, 沼尻佳孝, 宗像麻未, 高橋孝志, 第44回ペプチド討論会, O-07, 富山, 2007.
- 4) Kamioka, S.; Shimazu, S.; Doi, T.; Takahashi, T. *J. Comb. Chem.* **2008**, in press. 土井隆行, 上岡正児, 島津さやか, 高橋孝志, 第40回ペプチド討論会, O-10, 千葉, 2003.

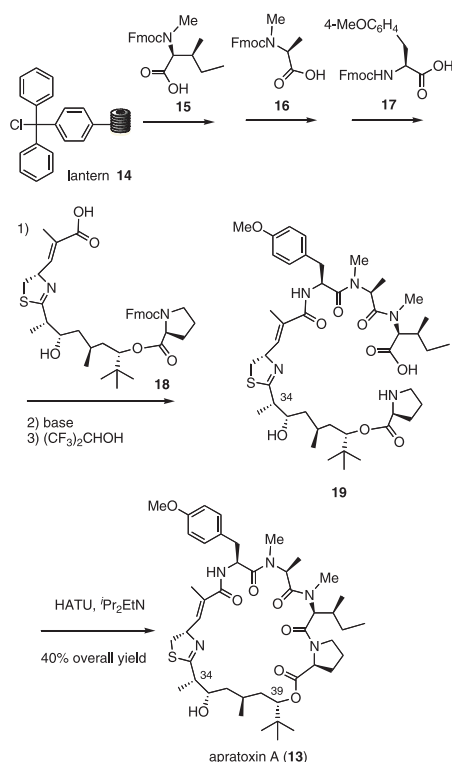


図3 アプラトキシシン A の全合成

とい たかゆき
 東北大学大学院薬学研究科
 反応制御化学分野
 doi_taka@mail.pharm.tohoku.ac.jp
<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~hannou/>

ペプチジルプロリルイソメラーゼの触媒機構の研究

はじめに

タンパク質の機能とその構造とに極めて密接な関係があることは広く認められている事象ですが、特定の構造から特定の機能が生まれるということを示すことのできる例は意外に少ないものです。本稿では、私たちの研究の中から、ペプチジルプロリルイソメラーゼという酵素を対象に、ある特別な構造が機能発現に最低限必要であることを明らかにした例をご紹介します。



伊倉 貞吉

プロリン残基のシス・トランス異性化反応と、ペプチジルプロリルイソメラーゼ

タンパク質を構成するアミノ酸残基は、通常、トランス型のペプチド結合で結合していますが、プロリン残基の場合には直前のアミノ酸残基とのプロリンペプチド結合（プロリンイミド結合）がシス型をとることがあります。また、変性タンパク質ではプロリンペプチド結合がシス型とトランス型との間を行き来していて、平衡状態にあります（図1）。

数残基程度からなるペプチドを用いた研究によれば、水溶液中でのプロリンペプチド結合のシス型とトランス型との自由エネルギー差はわずかに1 kcal/mol程度であり、また、活性化自由エネルギーはおおよそ20 kcal/molと見積もられています。そのため、変性タンパク質における両構造間の転移反応（シス・トランス異性化反応）が極めて遅いので、シス・トランス異性化反応がフォールディング過程の律速段階にあたる例もあります。一方、天然構造までフォールディングしたタンパク質では、プロリンペプチド結合のシス型またはトランス型のいずれかの構造が極端に安定化されてしまい、ループ領域などを除くと、もはやシス・トランス異性化反応はおこりません。このようにプロリンペプチド結合のシス・トランス異性化反応は、本来、自発的かつ可逆的な反応ですが、その速度はプロリンペプチド結合の周囲の環境によって著しく影響を受け、天然タンパク質におけるように事実上

は全く進行しない場合もあります。

ペプチジルプロリルイソメラーゼ（PPIase）は、プロリンペプチド結合のシス・トランス異性化反応を両方向で促進する一群の酵素です。原核生物から真核生物に至るまで約6000種類のPPIaseが確認されており、PPIaseファミリーを形成しています。また、PPIaseファミリーは、アミノ酸配列の相同性に基づき、3つのサブファミリー、シクロフィリン（cyclophilin）、FKBP（FK 506-binding protein）、パルプリン（parvulin）に分類されています。現在確認されているPPIaseの多くは最近のゲノム解析により同定されたものですが、古くは、免疫応答や細胞周期等に関わるタンパク質として発見されてきました（図2）。

シクロフィリンAはエイズウイルスHIV-1の感染に、シクロフィリンDは心筋梗塞や脳梗塞に、それぞれ関与することが知られています。FKBP 12は細胞増殖のシグナル伝達系で機能しているという報告があります。シクロフィリンAやFKBP 12は免疫抑制剤の直



図1 プロリンペプチド（プロリンイミド）結合のシス・トランス異性化反応。図は、Ala-Pro-Alaの3残基ペプチドの例を示しています。

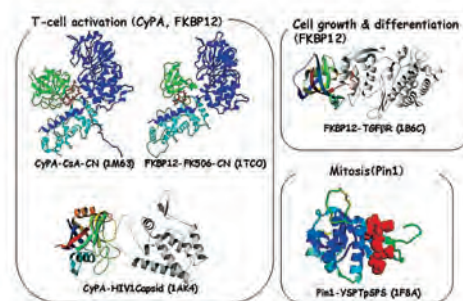


図2 PPIaseファミリーの様々な機能。細胞内の様々なタンパク質とPPIaseが複合体を形成して機能を発現しています。括弧内の記号は、PDBにおけるIDです。

表1 PPIaseの基質結合部位を形成するアミノ酸残基の対応（図3を参照）

FKBP 12	ヒト・シクロフィリン A	大腸菌・シクロフィリン A
Asp 37	Gln 63	Gln 51
Arg 42	Arg 55	Arg 43
Phe 46	Phe 60	Phe 48
Val 55	Leu 122	Leu 108
Trp 59	Phe 113	Phe 99
Tyr 82	His 126	Tyr 120

接的な受容体でもあり、これらはイムノフィリン (immunophilin) とも呼ばれています。一方、パルプリン・サブファミリーの Pin1 はリン酸化した Ser/Thr-Pro 配列に対する特異性が高く、転写、アポトーシス、アミロイド β の産生調節など様々な局面において機能しています。これらの PPIase はいずれも細胞内ではシス・トランス異性化反応を触媒することにより基質タンパク質のプロリンペプチド結合の周りの構造を変えて活性化・非活性化を制御しているのであろうと考えられています。しかしながら、PPIase によるシス・トランス異性化反応の触媒機構は現在もなお諸説紛々たる状況です。

PPIase の基質結合部位の網羅的変異解析

そこで、私たちは PPIase のシス・トランス異性化反応の触媒機構の解明を目的に研究を行っています。最初に私たちが取り組んだのは、シス・トランス異性化反応の触媒活性 (PPIase 活性) に最低限必要な要件 (アミノ酸残基やその立体配置) を決定することでした。ちょうどプロテアーゼ活性における「触媒 3 残基 (catalytic triad)」と同じように、PPIase 活性における直接的な触媒部位を探すことでした。

この目的のため、まず、PPIase の基質結合部位の解析をおこないました。PPIase の 3 つのサブファミリー

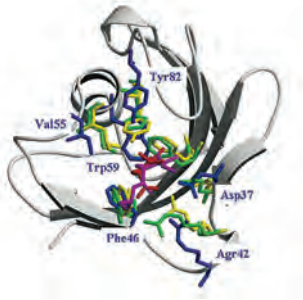


図3 PPIase ファミリーの基質結合部位の共通性。ヒト・FKBP 12 (青色)、ヒト・シクロフィリン A (緑色)、大腸菌・シクロフィリン A (黄色) は基質結合部位の 6 箇所でアミノ酸残基および立体構造の高い類似性を示しました。リボン図で描かれているのは FKBP 12 の主鎖構造であり、網羅的変異解析の対象となったアミノ酸残基名を青字であらわしています。ヒト・シクロフィリン A と大腸菌・シクロフィリン A に結合した基質アナログを、それぞれ赤色とピンク色で描いています。

が同一の祖先から進化したのではないことの結果として、PPIase 同士のアミノ酸配列および立体構造の相同性がサブファミリー間で低いことが知られています。一方、これらが共通に PPIase 活性を獲得したのは、個々のサブファミリーで独立に機能的な収斂進化をした結果だと考えられています。したがって、PPIase 活性に関与している基質結合部位を、サブファミリー間で比較することにより、PPIase 活性に必要な要素が浮き彫りになるはずです。実際に、シクロフィリン・ファミリーと FKBP ファミリーの基質結合部位の立体構造を重ね合わせてみるとその形状はよく似ており、さらに、基質結合部位を構成するアミノ酸残基のうち 6 箇所で見られる共通性が見られました (図 3 と表 1)。

この解析に基づき、私たちは研究の対象としてヒト FKBP 12 を選び、6 つのアミノ酸残基 (Asp 37, Arg 42, Phe 46, Val 55, Trp 59 及び Tyr 82) をそれぞれ他の 19 種類のアミノ酸残基に置換して、酵素活性への影響を解析しました。その結果、意外なことに、各々の残基を側鎖のない Gly に置換しても活性があまり減少しなかったばかりか、中には、40% 近くも上昇するものさえありました (図 4)。そこで、6 種類のアミノ酸残基全てを Gly に置換した FKBP 12 を作成し PPIase 活性を測定したところ野生型と同程度の活性を示しました。これらの実験結果は、PPIase 活性に側鎖の関与が必ずしも必要ではないことを示しています。

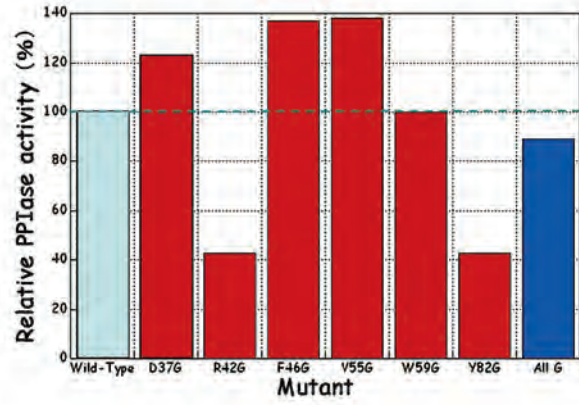


図4 FKBP 12 の Gly 置換体の PPIase 活性 (野生型を 100% とした比活性)。「All G」とは、Asp37Gly/Arg42Gly/Phe46Gly/Val55Gly/Trp59Gly/Tyr82Gly の六重変異体のことです。

表2 FKBP 12 と非 PPIase の PPIase 活性 (実験条件等は、参考文献 [2] を参照)

タンパク質	k_{cat}/K_m ($mM^{-1} \cdot s^{-1}$)
FKBP 12	1980 $\pm$ 250
野生型バルナーゼ	1.6 $\pm$ 1.7
変異型バルナーゼ	92 $\pm$ 3.6
α -アミラーゼ	9.4 $\pm$ 3.0
プロリル・エンドペプチダーゼ	94 $\pm$ 7.1
卵白リゾチーム	0.36 $\pm$ 1.1
ウシ血清アルブミン	0.040 $\pm$ 1.5

注) 野生型バルナーゼ、卵白リゾチーム、ウシ血清アルブミンは、PPIase 活性を発現しないタンパク質の例です。

ちょうどよい凹みがあればよい？！

では、PPIase 活性の発現にはいったい何が必要なのでしょう。上の 6 つのアミノ酸残基の側鎖を FKBP 12 から取り除いた後に残るのは疎水的な凹み（ポケット）だけです。上で得られた結果は、「PPIase 活性はプロリンペプチドを結合できるようなサイズのポケットがあれば発現する」ということを示唆しています。

そこで、PPIase 活性を示さないタンパク質に人工的なポケットを創ることにより PPIase 活性が発現するかどうかを調べることにしました。私たちが選んだのはバルナーゼという RNA 分解酵素です。このタンパク質は、変異を多数導入しても全体構造が壊れにくいことが知られているタンパク質で、ポケットの創製にはうってつけでした。私たちは、バルナーゼに Phe 56 Gly/Arg 59 Gly/His 102 Tyr/Tyr 103 Gly の四重変異を導入して FKBP 12 と同程度のポケットを創り（図 5）、PPIase 活性を測定すると、FKBP 12 の約 4 % の活性を示しました（表 2）。この結果は、ポケットがあれば弱いながらも確かに PPIase 活性を発現することを示しています。

バルナーゼに導入したポケットには、直径約 10 Å で深さ約 6 Å という以外に特徴はありませんでしたので、同じ特徴のポケットを持つタンパク質は天然にも存在している可能性があります。実際に、タンパク質構造データベース（PDB）に登録されているタンパク質を検索してみると、200 種類以上のタンパク質で同様な特徴が見つかりました。その中から、適当に市販されているタンパク質を選び活性を測定すると、 α -アミラーゼが FKBP 12 の約 0.5 %、プロリル・エンドペプチダーゼが FKBP 12 の約 5 % の PPIase 活性を持っていることが確認できました（表 2）。したがって、PPIase 活性の発現に最低限必要な要件は、適当なサイズのポケットの存在であると結論づけることができます。

これらの実験結果に基づき、PPIase によるシストランス異性化反応の触媒機構を考察してみると、「確率論的結合－解離モデル（stochastic binding-releasing model）」により合理的に説明することができます（図 6）。シス型とトランス型の両プロリンペプチドは PPIase の基質結合部位に疎水的相互作用により結合します。結合状態のプロリンペプチドは、シス型とトランス型の中間の歪んだ構造（遷移構造）をとるため、その結合は比較的弱く、すぐに解離します。PPIase から離れたプロリンペプチドは、再びシス型かト

ランス型のいずれかの構造になりますが、その構造は結合前の状態とは無関係に確率的に選択されます。このようにして、PPIase の存在により、プロリンペプチドのシス型とトランス型との交換速度が加速、すなわち、シストランス異性化反応が両方向で促進されます。

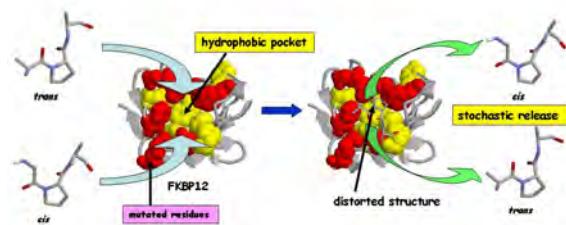


図 6 PPIase によるシストランス異性化反応の触媒機構の「確率論的結合－解離モデル（stochastic binding-releasing model）」ここでは、PPIase の例として、FKBP 12 を用いています。基質結合部位を CPK モデルで表示し、網羅的変異解析の対象となったアミノ酸残基を赤色で示しています。

おわりに

本研究を通じて PPIase 活性の発現には「適当なサイズのポケット」だけが必要であることが明らかになりましたが、単にポケットを創っただけでは、その活性は極弱いものにすぎないこともわかりました。おそらく、天然に存在する PPIase ではポケットの形状を基質の結合に最適化するように進化してきたのではないかと想像できます。PPIase ファミリーに属するタンパク質が約 6000 種類もあるという背景には、「適当なサイズのポケット」という比較的ありふれた構造だけで発現できる機能に起源をもっていることが原因としてあるかもしれません。

謝辞

本稿でご紹介した研究は、東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究所の伊藤暢聡教授の研究室と、東京大学医科学研究所の木下賢吾博士との共同研究により行われたものです。共同研究者の皆様にお礼を申し上げます。また、本研究は科学研究費補助金（特定領域研究「水と生体分子が織り成す生命現象の化学」）の支援を受けて実施されました。

参考文献

- 1) Ikura, T., Ito, N. (2007). Requirements for peptidyl-prolyl isomerization activity: A comprehensive mutational analysis of the substrate-binding cavity of FK 506-binding protein 12. *Protein Science*, **16**, 2618-2625.
- 2) Ikura, T., Kinoshita, K., Ito, N. (2008). A cavity with an appropriate size is the basis of the PPIase activity. *Protein Engineering, Design, and Selection*, **21**, 83-89.

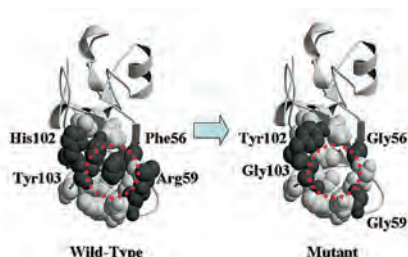


図 5 バルナーゼに Phe 56 Gly/Arg 59 Gly/His 102 Tyr/Tyr 103 Gly の四重変異を導入することによるポケットの創製。

いくら ていきち
東京医科歯科大学大学院
疾患生命科学研究所 准教授
ikura.str@tmd.ac.jp

三回対称性ペプチドの自己集合によって ナノ構造を創る

はじめに

ペプチドに関する研究を始めてから、まだ5年ほどの新参者ですが、この度はペプチドニュースレター・ジャパンへの執筆の機会を与えてくださり、誠にありがとうございます。これまで私は、水晶発振子マイクロバランスを用いた気相分子認識の研究¹⁾や、糖鎖コンジュゲートに関する研究²⁾、DNA ナノ集合体に関する研究^{3,4)}など、ペプチドとはあまり縁のない研究を進めてきましたが、ひょんなことから5年前にペプチドの魅力に誘われ、ペプチドを用いたナノ化学の研究を始めました。ここでは、その経緯と研究内容について紹介したいと思います。



松浦 和則

生体超分子における対称性

2001年に名古屋大学から九州大学に異動した際に、何か新しい研究テーマを探そうと教科書（ストライヤーの「生化学」）を何気なく見ていたところ、有機化学者にはおなじみのフラレン C₆₀のような骨格構造のものが現れた。細胞のエンドサイトーシスに関わっているタンパク質集合体「クラスリン」である。生体超分子には、こんなすごい構造があるのかと驚いたが、興味深かったのは、それが単純な三回対称性のタンパク質サブユニット（triskelion）の自己集合によって形成されているということである。色々調べてみると、ある種の球状ウイルスも、三回対称性のペプチドユニットの自己集合によって形成されているようである。例えば、トマトブッシースタントウイルスは、 β 構造を有する三回対称性ペプチドユニットが自己集合して、正十二面体の骨格構造を形成するのである。このように生体は、対称性の高い自己集合ユニットを利用して、効率の高いナノ構造形成を自発的に行っているのである。そこで私は、このような考え方を人工のナノ構造体構築に応用できないだろうかと考えた。その頃、DNA ナノ構造体に興味があった私は、まずは自己相補性末端を有する三回対称性の DNA (Self-complementary DNA Three-way Junction) の自己集合を検討した⁵⁾。その結果、DNA の濃度に依存して数十 nm ～数 μ m の球状集合体を水中で構築することに成功した。しかし、DNA は所詮ポリアニオンであ

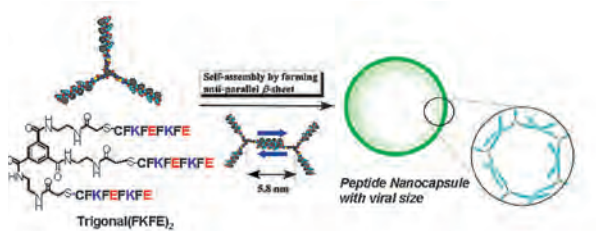


図1 三回対称性 β シート形成ペプチドの自己集合によるペプチドナノカプセルの構築の模式図

るので、構造多様性に乏しいと思われる。やはり、自然界のウイルスキャプシドやクラスリンのように、タンパク質・ペプチドを用いた方が、疎水性・親水性・正負電荷などの構造・性質の多様なナノ構造体を構築できるのではないかとと思われる。そのようなわけで、私は、以下に述べるペプチドを用いたナノ構造体の研究をすることになったのである。

三回対称ペプチド Trigonol (FKFE)₂の自己集合

天然のウイルスにより近い人工のナノ構造体構築のために、 β -シート構造に基づく繊維状集合体を容易に形成することが報告されている自己集合性ペプチド FKFEFKFE⁶⁾を三回対称に配置したコンジュゲート分子 Trigonol (FKFE)₂を設計・合成した(図1)^{7,8)}。CD スペクトルおよび FT-IR スペクトルから、Trigonol (FKFE)₂が酸性水溶液 (24 μ M, pH 3.3) 中で逆平行 β -シート構造を形成していることが示唆された。この酸性水溶液の動的光散乱 (DLS) 測定から、19.1 $\pm$ 4.0 nm の粒子が存在していることがわかった。この大きさは、Trigonol (FKFE)₂がフラレン様の幾何構造や正十二面体構造を取ったときの大きさ（それぞれ約27 nm および約16 nm）に匹敵する。また、この溶液を吸着させたマイカ基板を原子間力顕微鏡 (AFM) で観察すると、直径35-70 nm、高さ2.3 $\pm$ 0.4 nm のドーム状構造体が観察された(図2 A)。一方、ペプチド CFKFEFKFE は、幅約40 nm、高さ約1.0 nm のアミロイド繊維状構造体が観察された。さらに、Trigonol (FKFE)₂を吸着させたマイカ基板の走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察では、直径22-34 nm の球状構造と50-100 nm サイズの凹んだ構造体が観察された(図2 B)。これは、Trigonol (FKFE)₂の中空カプセル構造が基板上で潰れて凹んだためと思われる。

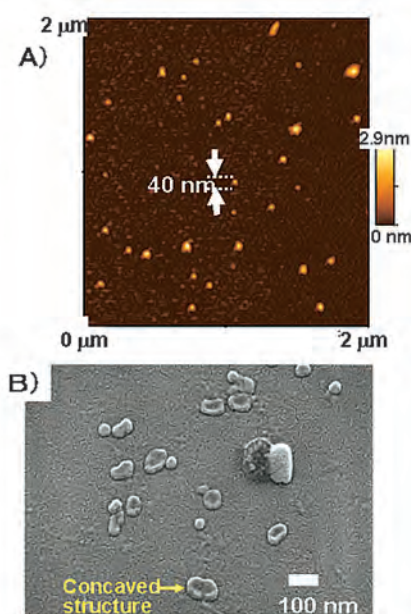


図2 Trigonol(FKFE)₂のマイカ基板上における AFM 像 (A) および SEM 像 (B)

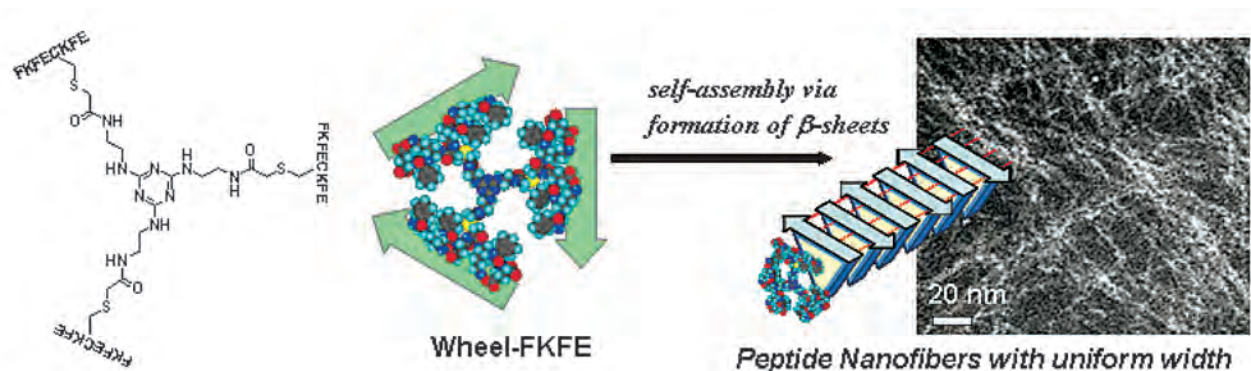


図3 Wheel型三回対称性 β シート形成ペプチドの自己集合によるペプチドナノファイバーの形成

周回型ペプチド Wheel-FKFE の自己集合

次に、類似の β -シート形成ペプチド FKFECKFE を周回状の三回対称に配置したコンジュゲート Wheel-FKFE を合成し、水中での自己集合挙動を観察した⁹⁾。この Wheel-FKFE の場合は、Trigonal(FKFE)₂ の場合と異なり、 β -シートを形成する pH において均一な太さ (3.0 nm) の繊維状構造体を与えることがわかった (図3)。これは、Trigonal (FKFE)₂ が逆平行 β シートのみを形成するのに対し、Wheel-FKFE の場合は、平行 β シートも形成しうるためではないかと考えられる。ペプチド FKFECKFE 単独では、不均一な太さのリボン状構造体になるのに対し、三回対称の Wheel-FKFE とすることで、一分子レベルの太さ (3.0 nm) の均一な繊維を与えるという点では興味深いと思われる。

三回対称性グルタチオンの自己集合

また最近、より単純な天然トリペプチドであるグルタチオン (γ -Glu-Cys-Gly) を三回対称性に配置したコンジュゲート (図4) を合成し、水中での自己集合挙動を観察したところ、100-250 nm 程度の大きさのカプセル状集合体を形成することがわかった¹⁰⁾。現在オリジナルペーパーを投稿中なので、詳しいデータは割愛するが、グルタチオンのような両親媒性でない (水に易溶の) ペプチド分子を三回対称性とする事で、ベシクル状の構造体が得られるという発見は、今後の有機系分子集合体を設計する上で大変興味深いと思われる。

おわりに

我々は、球状ウイルスやクラスリンの自己集合原理を模倣し、「三回対称性ペプチドの自己集合によるナノ構造構築」といった新しい概念を創出してきています。現在のところ、ナノ構造を作るだけの研究ですが、今後、ペプチドで構築したナノ構造体を医学分野への応用などを目指して研究を進めていきたいと思えます。最後に、本研究を進めるにあたり、多大なご協力をいただきました九州大学大学院工学研究院 君塚信夫教授をはじめとする研究室スタッフや学生諸君 (図5) に深く感謝いたします。また、研究を遂行するにあたり、資金面の援助をいただいた科学技術振興機構 (JST) に深く感謝いたします。

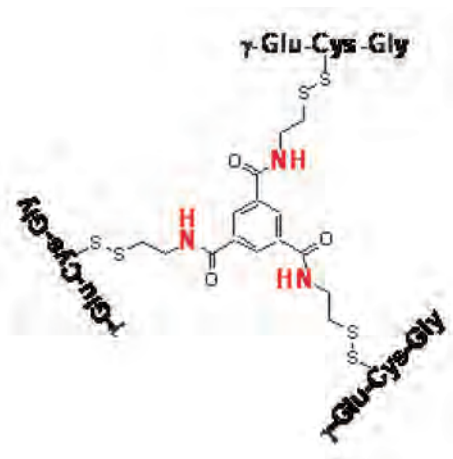


図4 水中でナノ集合体を形成するトリゴナルグルタチオンの構造



図5 2007年度 松浦グループの写真

参考文献

- 1) 松浦和則, 高分子, 50巻, 10号, 732 (2001).
- 2) 松浦和則, 化学と工業, 54巻, 2号 (化学のフロンティア2001はばたけ若き研究者たち), 179 (2001).
- 3) 松浦和則, BIO INDUSTRY, Vol. 20, No. 8, 5 (2003).
- 4) 松浦和則, 生命化学研究レター, No. 23, 4 (2007).
- 5) K. Matsuura, K. Masumoto, Y. Igami, T. Fujioka and N. Kimizuka, Biomacromolecules, 8, 2726 (2007).

- 6) D. M. Marini, W. Hwang, D. A. Lauffenburger, S. Zhang, R. D. Kamm, *Nano Lett.*, **2**, 295 (2002).
- 7) K. Matsuura, K. Murasato, and N. Kimizuka, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 10148 (2005).
- 8) K. Matsuura, K. Murasato, A. Kawaharada, and N. Kimizuka, *Peptide Science* 2006, 371 (2006).
- 9) K. Murasato, K. Matsuura, and N. Kimizuka, *Biomacromolecules*, **9**, 913 (2008).
- 10) K. Matsuura, K. Murasato, A. Kawaharada, H. Matsuyama, T. Fukuda, and N. Kimizuka, *Abstract Book of 2nd Japan-Australia Symposium in The 60th Divisional Meeting on Colloid and Surface Chemistry*, The Chemical Society of Japan, 3G 03 (2007).

まつうら かずのり
九州大学大学院工学研究院
応用化学部門・准教授
JST さきがけ 構造制御と機能 研究員兼任
ma2ra-k@mail.cstm.kyushu-u.ac.jp
<http://www.kimizuka.cstm.kyushu-u.ac.jp/>

遺伝暗号の拡張による非天然アミノ酸の タンパク質への導入法

ペプチドの化学合成では、様々な非天然アミノ酸を自由に利用できるメリットがあるものの、長鎖のタンパク質を得ることは一般的に容易ではない。そのようなタンパク質に非天然アミノ酸を導入するためには、生体由来の翻訳系を用いた手法が有効である。我々は、通常の3塩基からなる遺伝暗号を4塩基へ拡張することで、非天然アミノ酸をタンパク質の望みの位置へ導入できる手法を開発してきた。本稿では、この4塩基コドン法の原理と、最近の応用展開について紹介させていただきたい。



芳坂 貴弘

4 塩基コドン法の原理

タンパク質合成の際には、遺伝暗号表に従って3つ並びの核酸塩基（コドン）が、それぞれ対応するアミノ酸に翻訳されている。一方、非天然アミノ酸をタンパク質に導入するためには対応するコドンは存在しないため、新たに何らかのコドンを創り出す必要がある。我々はそのために、通常は3塩基からなるコドンを4塩基に拡張した「4塩基コドン」に対して非天然アミノ酸を導入するという新規手法を開発した^{1,2)}。

4塩基コドンを用いた非天然アミノ酸導入法の原理を図1に示す。まず、タンパク質の非天然アミノ酸を導入したい位置のコドンを4塩基コドン（図ではCGGG）に置換しておく。一方、これに相補的な4塩基アンチコドン CCCGを持つtRNAに、化学的アミノアシル化法（3'末端の2個のヌクレオチドを欠損させたtRNAを作製しておき、別に化学合成したアミノ酸-ジヌクレオチド結合体をRNAリガーゼによって連結させる手法）によって非天然アミノ酸を結合させておく。このtRNAを、4塩基コドンを組み込んだ遺伝子とともに無細胞翻訳系へ加えると、4塩基コドンが4塩基アンチコドンを持ったtRNAによって読み取られ、その結果、非天然アミノ酸が導入されたタンパク質が合成されることになる。ただしこの際に、4塩基コドンの最初の3塩基のみを天然のtRNAが読み取ってしまうこともあるが、その場合には読み枠がずれて、やがて下流に現われる終止コドンによってタンパク質合成は停止する。したがって、非天然アミノ酸が導入された場合にのみ、完全長タンパク質が得られることになる。

この原理に従って、実際に様々な4塩基コドンについて調べたところ、CGGGやGGGUなど8種類程度のコドンで非天然アミノ酸の導入が可能であることが確認されている。また、非天然アミノ酸としてはタンパク質合成系の基質選択性のために構造的な制限はあるものの、これまでに百種類以上の多種多様なものが導入されている。

タンパク質のピンポイント蛍光標識

4塩基コドンの応用として、最近我々はタンパク質をピンポイントに蛍光標識する手法を開発した。タンパク質の蛍光標識には主に化学修飾法が用いられてい

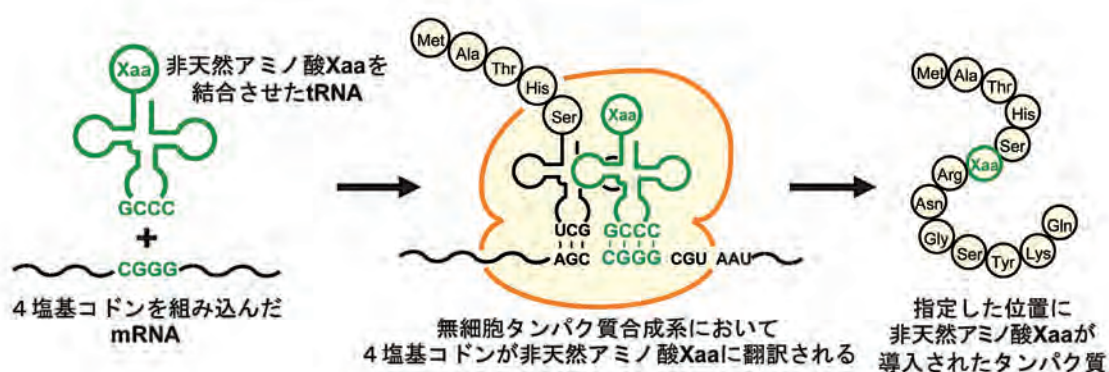


図1 4塩基コドンを用いた非天然アミノ酸のタンパク質への導入法

るが、標識する位置や量を制御することは難しく、タンパク質の構造や活性に影響を及ぼす可能性があった。一方、GFP（緑色蛍光タンパク質）と融合発現させる場合には、その大きな分子量（約30 KDa）による立体障害が問題となる場合があった。

そこで、小さな蛍光標識分子をタンパク質の指定した位置へ導入するために、あらかじめ蛍光標識した非天然アミノ酸を化学合成しておき、それを4塩基コドンを用いてタンパク質へ導入することにした。その際、タンパク質合成系の基質となるように蛍光標識非天然アミノ酸を設計し、図2に示すBODIPYFLあるいはBODIPY 558を結合させたアミノフェニルアラニンを用いた場合に、比較的効率良くタンパク質へ導入できることを見出した³⁾。また、蛍光標識分子としてTAMRAを用いることで、1分子蛍光相関分光法によりタンパク質間相互作用を容易に計測できることも確認した。（なお、蛍光標識アミノ酸導入用のtRNA試薬キットがバイオベンチャー企業の（株）プロテイン・エクスプレスと共同で製品化されており、4塩基コドン用はオリンパス（株）、アンバーコドン用は（株）フナコシからそれぞれ販売されている。）

さらに、2つの4塩基コドンによって、緑色のBODIPYFLおよび赤色のBODIPY 558をタンパク質の指定した2ヶ所に導入しておき、タンパク質の立体構造

変化を蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の変化として計測する手法も開発した³⁾。モデルタンパク質としてカルモジュリンを用いた場合、カルモジュリン結合ペプチドやカルシウムイオンの結合によって生じる立体構造変化をFRETの変化として明確に計測することができた。

これらの手法はタンパク質の相互作用や構造変化を解析するための研究ツールとしてだけでなく、そのタンパク質をターゲットとする薬剤開発にも有用であり、今後の幅広い利用が期待される。

非天然アミノ酸を含むペプチドライブラリー

複数種類の非天然アミノ酸を導入できるという4塩基コドン法の特徴は、非天然アミノ酸を導入したペプチドライブラリーにおいても有用である。一般的に用いられているファージディスプレイやリボソームディスプレイなどの通常のタンパク質合成システムを用いたペプチドライブラリーでは、20種類のアミノ酸の組み合わせしか使用できないために、その多様性は限られてしまう。そこで、非天然アミノ酸導入技術を用いることで多種類の非天然アミノ酸を加えたペプチドライブラリーを構築した⁴⁾（図3）。

実際には、10残基のランダムアミノ酸配列をコードするNNK（Nは4種類の核酸塩基のいずれか、KはGまたはT）の繰り返し配列中に、4塩基コドンVG GT（VはA、C、Gのいずれか）を組み込むことで、3種類の非天然アミノ酸を加えた。またNNK配列中にはアンバーコドンTAGが出現するため、これを非天然アミノ酸に翻訳させるとともに、途中でタンパク質合成が停止するのを防いだ。このようなDNAを鋳型として、4種類の非天然アミノ酸をそれぞれ付加したtRNAとともに、無細胞翻訳系においてmRNAディスプレイ法によってタンパク質合成を行なった。その結果、4種類の非天然アミノ酸を含む24種類のアミノ酸のランダム配列を持つペプチドライブラリーが構築され、実際にストレプトアビジンに結合するペプチドの選択を行なったところ、ベンゾフェノンを含む非天然

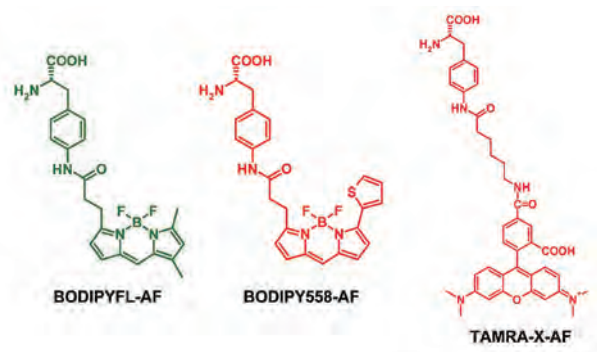


図2 タンパク質へ導入可能な蛍光標識アミノ酸の例

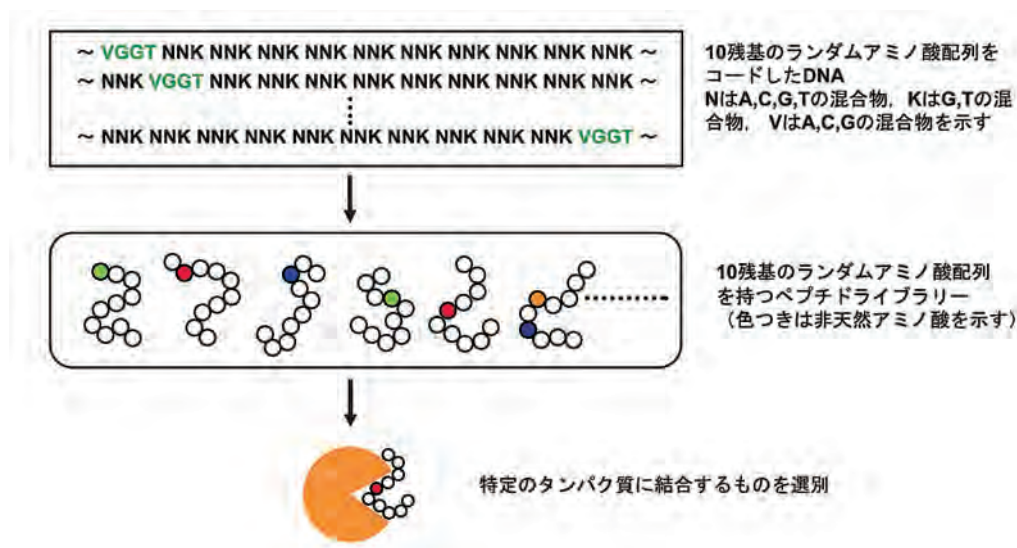


図3 非天然アミノ酸を含むペプチドライブラリー

アミノ酸含有ペプチドが得られた。

このような非天然ペプチドライブラリーは、オーダーメイド的に非天然アミノ酸をペプチドライブラリーに加えることができるため、標的分子に対して指向性を持たせたペプチドライブラリーを構築することが可能になり、目的の結合ペプチドを高確率で取得できると期待される。また、タンパク質の一部分にこのような手法を適用することで、非天然アミノ酸を導入したタンパク質をランダム変異させて、有用な人工タンパク質を取得することも将来的に可能になるだろう。

おわりに

非天然アミノ酸の導入技術は、これまで困難だったタンパク質の部位特異的な標識や修飾を可能にしてくれる。このような手法は、タンパク質の構造や機能を研究するための基盤技術として大いに活用されることが期待される。ただし、無細胞翻訳系を使用しているためにタンパク質の合成量が数十 μ g/mL 程度に限られるという課題もある。これに対しては、アミノアシル tRNA 合成酵素の変異体を用いて細胞内で非天然アミノ酸導入タンパク質を大量発現させることも可能になってきている⁵⁾。今後は、特定の非天然アミノ酸を導入したタンパク質の大量合成にはこの細胞内発現を利用し、少量のタンパク質の構造機能研究やランダム変異には無細胞翻訳系を利用するなど、用途に応じた使い分けも可能になるだろう。

なお4塩基コドン法は、筆者が岡山大学在籍時に宍戸昌彦教授のご指導のもとで開発されたものであり、その後の応用も岡山大学と北陸先端科学技術大学院大学の多くの方々のご協力により行われました。この場をお借りして深く感謝いたします。

参考文献

- 1) T. Hohsaka, D. Kajihara, Y. Ashizuka, H. Murakami, M. Sisido, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 34-40 (1999)
- 2) T. Hohsaka, Y. Ashizuka, H. Taira, H. Murakami, M. Sisido, *Biochemistry*, **40**, 11060-11064 (2001)
- 3) D. Kajihara, R. Abe, I. Iijima, C. Komiyama, M. Sisido, T. Hohsaka, *Nature Methods*, **3**, 923-929 (2006)
- 4) N. Muranaka, T. Hohsaka, and M. Sisido, *Nucleic Acids Res.*, **34**, e7(2006)
- 5) L. Wang, P. G. Schultz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 34-66 (2005)

ほうさか たかひろ
北陸先端科学技術大学院大学
マテリアルサイエンス研究科准教授
hohsaka@jaist.ac.jp

コラーゲン、コラーゲンペプチドあるいは 似非(えせ)科学と科学リテラシーについて

はじめに。ペプチ堂(?)

現在わが国で生活を営んでいる人なら誰でも、一日に一回や二回は「コラーゲン」という言葉を見たり、聞いたりしていることでしょう。また、最近では「ペプチド」という言葉も一般にずいぶん広く知られるようになってきたようです。この拙文を書きはじめて、二十年ほど前に巷でペプチドという言葉が通じなくて難儀したことをふと思い出しました。私がまだ学生で、若手ペプチド夏の勉強会の幹事の手伝いをしていたときのことで。ある買い物をして店の人からもらった領収書には「若手ペプチ堂夏の勉強会様」と書かれてありました。いったいあのおばさんは、何の勉強会だとおもっていたのですね。

それから年月がたって、私は研究を生業とするようになりました。プロになってから今までコラーゲン、ペプチド、あるいはコラーゲンペプチドを中心として仕事をしてきました。「コラーゲンやペプチドの研究をしています」と自己紹介すると化粧品か健康食品会社の研究員だと思われることがほとんどですが、否、大学で基礎研究をおこなっている科学者です。本稿では、私の立場から見える近年の「コラーゲンあるいはコラーゲンペプチド」ブームについて書きたいと思います。

人口に膾炙するコラーゲン

今、Googleで「コラーゲン」を検索してみると、なんと約 10,300,000件ヒットします。このうち上位にランクされるカテゴリーは健康食品あるいは化粧品です。「コラーゲンペプチド」を検索語とした場合には、約 211,000 件がヒットします。語尾に「ペプチド」が付くと、より健康食品にカテゴライズされる割合が高くなります。「ビタミン」は、すべての種類をひっくめて約 19,800,000 件、ちなみに「ペプチド学会」は約 42,300 件です。このことから、いかにコラーゲンが人口に膾炙しているかがおわかりいただけるでしょう。



小出 隆規



話はそれますが、膾はなます、炙はあぶり肉のことです。昨年私は都内のスーパーの食肉売り場で「コラーゲン」という商品シールが貼られたパックを発見しました。なんと「おすすめ品」です（写真）。なんと豚の耳の炙（燻製）をコラーゲンと呼んでいるのです。

この命名法を採用するなら、あなたの耳もコラーゲン、あなたの鼻も唇もコラーゲン。「ああ君はなんて美しいコラーゲンなのでしょう・・・」とささやいたっていいのです。動物の骨、皮膚、結合組織のタンパク質成分の多くの割合がコラーゲンで占められていますから。

もうひとつ面白いのを見つけました。「コラーゲン入りゼリー」というものです。そもそもゼリーというものは、熱変性したコラーゲン（ゼラチン）が冷えて固まったもののことです。ここまでくると、「卵黄入りハードボイルドエッグ」とか「米ぬかエキスイ配合本醸造酒」でもなんでも来いです。もうわけがわかりません。

さて、なぜコラーゲンやコラーゲンペプチドという言葉がやたらと食品に使われるようになったのでしょうか？答えは簡単です。もちろん「美容と健康にいいから」です。これは本当でしょうか？

コラーゲン、コラーゲンペプチドは美容と健康にいい？

雑誌広告欄にあるA社開発担当Pさんのコメント（事実に基づいた、筆者による再構成）

「弊社のXXXコラーゲンペプチドは、みずみずしい海からうまれた（注1）良質の天然コラーゲン（注2）を腸から吸収されやすい低分子ペプチド（注3）にしたものです。若いコラーゲン（注4）は年齢と共に減少することが学術論文（注5）で報告されています。したがって、年齢に応じて内側からおぎなうことが重要です。弊社のコラーゲンペプチドはバストアップにも効果があり、特許を出願中（注6）です。」

同じ広告ページにある、コラーゲンペプチドの権威W大学K教授（注7）のコメント

「みずみずしいお肌は健康なコラーゲンによってつくられます。」

*注1

狂牛病騒動以降、家畜由来のタンパク質成分を人体に適用することに抵抗を感じる雰囲気が蔓延し、魚由来コラーゲンの商業利用が盛んになってきました。

*注2

コラーゲンと同じものを人工的に作成するのは非常に困難ですので「天然」から精製したものを用いています。商業利用されるコラーゲンの材料は魚類を含む動物です。植物コラーゲンという名称をつけている商品もありますが、植物にコラーゲンはありません。どうやら植物中に存在するヒドロキシプロリン含有タンパク質を植物コラーゲンと呼んでいるようです。筆者の調査では、納豆の糸（ポリグルタミン酸）を植物コラーゲンと呼んでいると思われる商品もありました。

*注3

魚類のコラーゲンは、3重らせん変性温度が低いものが多いため、ゲル化、保湿を目的としたネイティブ

コラーゲンとしての利用よりも、断片化した後ペプチドとして健康食品に用いられることが多いようです。

*注4

どうやら、化学架橋形成が起こる前の水溶性コラーゲンを「若いコラーゲン」と呼んでいるようです。座布団1枚。

*注5

学術論文の引用には上記注4類似のデータの曲解が多く見られます。

*注6

特許出願というのは宣伝・広告における差別化の方法として使われるケースが多いようです。

*注7

私嘘は言っていない、と開き直るのは、想像力が欠如しておられるのでしょうか。

しかしその一方、2007年6月22日付け朝日新聞日曜版「いまさら聞けない」欄では、「コラーゲン たくさん食べて「肌ぶるぶる」は幻想」とぼささりです。また、高校化学Ⅱ（大日本図書）の話題 Topic 欄には「特殊なアミノ酸組成のタンパク質：コラーゲン」というタイトルを掲げ、「コラーゲンを食べても人体のコラーゲンが増えるわけではない」という一文で締めくくられています。

現在の科学の知識（常識）に照らして考えれば、コラーゲンやコラーゲンペプチドを食べたからといって、それがそのまま吸収されて体内でコラーゲンに再構築されることはもちろんありません。生レバーを食べても肝臓が再生しないのと考えるのが科学的には妥当であるのと同じです。すでにコラーゲンの食品としての栄養価は極めて低いことが知られています。コラーゲンは必須アミノ酸であるトリプトファンを全く含みませんし、異常アミノ酸であるヒドロキシプロリン、ヒドロキシリジンを多く含みます。これらコラーゲン特有の異常アミノ酸は、ポリペプチドが合成された後に酵素による翻訳後修飾によって生成します。したがって、これら異常アミノ酸がコラーゲンの生合成時に再利用されると考えることは誤りです。

では、逆の質問をしてみましょう。コラーゲンやコラーゲンペプチドを食べて美しくなったり健康になるって言うのは真っ赤な嘘なんですか？と。これは痛いところを突かれました。科学者である限りこの質問に明快に答えることは不可能だと思います。「ない」ことを証明することは、「ある」ことを証明するよりもはるかに困難なことなのです。

消費者は、売り手は、そして科学者はどういう行動をとるべきか？

巷にはびこるモラルの低い売り手は、これからも似非（えせ）科学的広告手段を活用して、科学的知識が乏しくかつ美容・健康に対する欲求が高い消費者の購買意欲をそそり続けることでしょう。私はモラルの高い売り手ももちろんいることを知っています。彼らは、地道な基礎研究を行って、コラーゲンペプチドの中から、特異な生理活性をもつペプチドを探索しています。個々については述べませんが、これまでに学術雑誌にはいくつかのペプチドに生理活性がある（ある

いはありそうな) ことを示すデータが発表されています。ただ、その成果の多くは必ずしもレベルの高い雑誌には発表されず、そのためあまり人目に触れていないことが残念です。われわれコラーゲンの研究に携わる基礎研究者は、それらの成果をよりサイエンスとして確固たるものにするために協力をする必要があるのではないか、と考えています。

一方、消費者は悪徳業者に騙されて無駄なお金を費やさないうえにも、商品を科学的に吟味し選択できるだけの能力をつけるべきだと思います。一般に対する科学リテラシー向上のための努力もわれわれ研究者は意識して行うべき時代が来ているのではないかと思います。

おわりに

ルルル・電話が鳴りました。

「もしもし、私〇〇社の××と申します。実は当社のお茶に含まれるコラーゲンの効能についてコメントをいただきたいのですが・・・」

「植物にはコラーゲンはないはずですが・・・」

何カ月かあと、ルルル・電話が鳴りました。

「テレビ番組の制作をしております△△企画の□□と申します。韓国の参鶏湯(サムゲタン=鶏のお粥)を食べるとお肌にいいらしいのです。コラーゲンがスープに溶け出して(中略)科学的な見地からご説明いただけませんか」

きっとどこかの大学の先生がそれなりの回答をするんだろうなあと想像しつつコメントをせず私は電話を切りました。

それにしても「コラーゲンペプチド」すばらしいネーミングです。「ゼラチンの加水分解物」と呼んだなら、あんまり美容と健康に効きそうには思えませんね。そんなことを思いながら私の研究室では今日もコラーゲンペプチドの研究をしています。誰一人としてそれを食べようとはしませんが。

こいで たかき
早稲田大学先進理工学部
化学生命化学科
koi@waseda.jp

NIHでの海外研修報告

私が所属します東京医科歯科大学生体材料工学研究所が開講する「医歯工連携による人間環境医療工学の構築と人材養成プログラム」(JST)の一環として、2008年7月から1ヶ月の間、アメリカ、メリーランド州のフレデリックとベセスダにあるNational Institutes of Health(NIH)のNational Cancer Institute(NCI)にて海外研修を行ったので、報告をさせていただきます。

ショッピングモールや多くの博物館が揃うために、買い物や観光を楽しむ人で大変な賑いをみせるワシ



大橋 南美



Bldg. 10からの眺め



Peter 研メンバーとの会食

トン D.C. 中心部から地下鉄でおよそ30分のところにあるベセスダは、閑静な住宅街、豊かな緑、そして治安が良いという好条件を兼ね揃えています。ベセスダ駅などがある街中には様々な国(特にアジア系が充実している)の飲食店があり、食事時にもなると人々でとても賑わいます。また、平日休日に関係なくランニング、ウォーキングそしてサイクリングを楽しむ人達が多くみられ、みな気持ち良さそうに汗を流していました。このベセスダに拠点を置く NIH は、米国政府機関 the U.S. Department of Health and Human Services の一部で、27の研究機関およびセンター施設からなり、世界中の研究者に対して指導的、財政的な援助を提供しています。NIH を構成する機関の1つである NCI は、世界で最も大きながん研究機関として、研究室レベルのがん研究と、そこでの成果を迅速に実際の治療現場で活かすために支援などを行っています。NCI はベセスダだけでなく、フレデリックのキャンパスにも建物があります。ベセスダ-フレデリック間でシャトルバスが走っており、およそ40分の所要時間で行き来が出来ます。ベセスダは敷地内にたくさんの建物があり、最初のうちは出口が分からなくなり迷ったりもしました。フレデリックは同じ敷地内に陸軍基地がありますが、重々しい雰囲気はなくむしろのんびりとした空気が流れていました。大きなパラボナアンテナや水鳥が集まる池のほわりには古い水車小屋などもあり、スケールの大きさを感じました。また、フレデ

リックの街中は古い町並みが美しく、とても良い雰囲気でした。

NCI-フレデリック Center for Cancer Research, Laboratory of Medicinal Chemistry の Chief, Victor E. Marquez 博士（以前、玉村教授が留学していました）の紹介のもと、およそ一ヶ月間の海外研修期間中のほとんどもを、ベセスダキャンパスの Bldg. 37にある Center for Cancer Research, Laboratory of Cancer Biology and Genetics, Molecular Mechanisms of Tumor Promotion Section の Chief, Peter M. Blumberg 博士の研究室にお世話になりました。研究室のメンバーは私を含めて13人で、ハンガリー、中国やロシアなど色々な国から集まっていました。ラボミーティングは毎週火曜の夕方であり、始まる前には皆でケーキを食べる時間が設けられおり、日本ではあまりみかけることのないサイズのケーキ（味は美味しかったです）が準備されていました。ミーティング中におかわりする人もいて、とても和やかな雰囲気でした。Peter の研究室はハンディキャッパーの受け入れにも積極的で、ミーティングでは2人の手話通訳士が交代で常時通訳をしていました。私も掲示板に貼ってあった手話のポスターを見ながら少し練習をしてみました。上手く通じませんでした。

Peter の研究室では、ラジオアイソトープを用いて、がんプロモーターであるホルボールエステルとその受

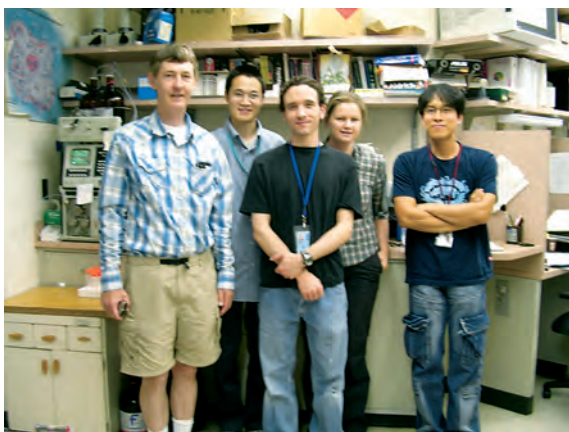
容体との結合活性を Scatchard 解析により測定し、その受容体を標的にした合成リガンドの K_i 値をホルボールエステルとの競合阻害実験により出す方法を確立しています。私のアメリカでのテーマは、このアッセイ法の取得でした。直接指導していただいた Nancy さんをはじめ、英語に不慣れな私と根気よくディスカッションをしてくれた Peter やラボの皆さんのおかげでなんとか技法は取得できたので、1日も早く日本の研究室で再現したいです。

アメリカでの生活にも慣れてきた頃、1日だけ NIH-フレデリックの Victor E. Marquez 博士の研究室を訪問しました。Victor の研究室では、細胞内シグナル伝達系においてリン脂質の加水分解により生じる diacylglycerol (DAG) 骨格を β -lactone 環に環化することで固定化した、lactone 環誘導体を創製しており、その結合活性評価を Peter 研に依頼しています。フレデリックでは、Victor 研の設備やモデリングの作業を見学させていただきました。また、docking study を利用した分子設計や、tag reader を用いて合成化合物の情報をソフトウェアで管理する固相合成法を利用した化合物ライブラリーの作製などについて、Victor 博士から直接に色々なお話を聞くことができました。さらに、Laboratory of Medicinal Chemistry の Terrence R. Burke, Jr. 博士の研究室も見学させていただきました。Terry 先生はとても日本通な方で、特に京都について熱心に話されていました。シャトルバスの時間もあり、フレデリックには半日程しか滞在できませんでしたが、とても充実した有意義な時間を過ごせました。

NIH での1ヶ月は、思っていた以上に濃厚なものでした。海外に不慣れということもありますが、世界各国から人や情報が集まる NIH では、刺激を受けるものが多すぎてバク気味の日々でした。最初のうちは不安だらけでしたが、Peter 先生をはじめ Peter 研のみなさまの心強いサポートのおかげで、無事に1ヶ月をおえることが出来ました。厚く御礼申し上げます。また、受け入れの手続きを初め、特にフレデリックに伺った際にとてもお世話になった Victor 先生とその研究室のみなさん、そして Terry 先生とその研究室の方々へ、こころより感謝申し上げます。また、何かとトラブルを起こした時や不安で元気を無くしてしまっ



Peter 研メンバーと



Terry 研のメンバー



Victor 先生と



アメリカンサイズのパンケーキ

た際に、向こうで働く日本人の方々（野水研出身の鈴木喜晴さん [NIH・NIDCR] 等）にもとてもお世話になりました。こころより感謝申し上げます。そして、このような形で海外研修について紹介する機会を与えてくださった、ペプチドニュースレター編集委員の先生方に感謝申し上げます。そして、今回の海外研修の機会とご支援をいただいた生材研人材養成プログラム実行委員の先生方にこの場を借りて、厚く御礼申し上げます。アメリカでの経験を、日々の実験生活に活かしていきたいと思います。

おおし なみ
東京医科歯科大学 医歯学総合研究科
ohashi.mr@tmd.ac.jp

第41回若手ペプチド夏の勉強会 開催報告

今年で第41回目を迎えました若手ペプチド夏の勉強会は、京都大学化学研究所 生体機能設計化学（二木史朗研究室）と京都大学大学院薬学研究科薬品機能解析学分野（松崎勝巳研究室）がお世話させていただき、平成20年8月3日から5日までの3日間、京都府城陽市公共の宿プラムイン城陽におきまして開催いたしました。昨年度の北海道・小樽市での勉強会は、比較的涼しい中で行われたのに対して、今回の勉強会期間中は、気温が日中35℃を超える大変暑い毎日でしたが、全国各地から多数の若手（自称若手も含む）研究者が集い、密度の濃



中瀬 生彦



矢野 義明

いスケジュールの中、活発な議論を行ないました。多くの方々から勉強会へ多大な御協力をいただきましたこと心から御礼申し上げますとともに、会の詳細に関しまして、ここで報告させていただきます。また、勉強会開催にあたりまして、本年度の勉強会もJPSより運営費の一部を交付していただきました。参加者を代表しまして、関係各位に厚く御礼申し上げます。

開催前から、様々な大学・企業等から会に関する問い合わせが多数相次ぎ、勉強会及びペプチド科学分野への関心の高さを強く感じました。「京都の夏の暑さに負けない、多数の“熱い”若手参加者をお待ちしています」と参加者募集を始めましたが、最終的には、大学・研究所27研究室及び2社の企業から、合計138人もの参加者（勉強会運営スタッフも含む）がプラムイン城陽に集まりました。日程の都合で残念ながら参加できなかった方が多数おられましたこと、心からお詫び申し上げます。今回、私達がプラムイン城陽を会場として選んだ理由は、JR京都駅からアクセスしやすく、合宿施設として整っている事（京都高校総体のために設立）等が上げられます。但し、参加人数の割に講演会場が若干狭く、会議椅子を全員利用すると特に後ろ側からスクリーンが見えにくいといった事が悩みの種でしたが、合宿らしく前列60席程を座椅子にして、またスクリーン自体も座席後ろ側にもう1台用意して改善を図りました。講演者のほとんどが座椅子の聴衆の前でお話するのは初めてとおっしゃっていましたが、スクリーンの見やすさだけでなく、学会やシンポジウムとは違って、発表者と聴衆の“近さ”を促すものになったと思います。

さて講演プログラムですが、前回の勉強会と同様に2泊3日の日程で、7件の特別講演（1件は留学体験）と12件の一般講演、及び勉強会初日には参加全ての研究室紹介（事前に紹介冊子も作成）を行いました。以下、特別講演の講師の先生と演題を紹介させていただきます。杉浦幸雄先生（京都大学名誉教授、同志社女子大学薬学部 教授）「ブルー銅蛋白質からプレオマイシン、そして亜鉛フィンガー蛋白質へ〜ケミカルバイオ



ロジーの走りとしてのペプチド金属錯体の研究」, 松崎勝巳先生 (京都大学大学院薬学研究科 教授)「生体膜の構造と機能解明: ペプチド科学からのアプローチ」, 梅澤直樹先生 (名古屋市立大学大学院薬学研究科 准教授)「アミノ酸, ペプチドの化学的性質を利用した生体高分子の選択的認識と検出」, 中馬吉郎先生 (北海道大学大学院理学研究院 助教)「リン酸化と脱リン酸化によるタンパク質制御機構〜p53誘導性ホスファターゼ PPM1D を中心にして〜」, 大石真也先生 (京都大学大学院薬学研究科 助教)「ペプチド結合とペプチドミメティクス」, 山田圭一先生 (群馬大学大学院工学研究科 助教)「N-メチルアミノ酸含有ペプチドの化学」, 野村渉先生 (東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 助教)「TSRI 研究留学記 - Zinc Finger を使って何が出来るか? -」 幅広いペプチド科学研究領域からの各講師の先生は, これまでの研究成果のみならず, 学会では聞けない研究への熱い気持ちや苦労話といった内容の濃いご講演をされ, また聴衆からの多数の活発な質問も相次ぎ, 議論が大変白熱いたしました。

一般講演におきましては, 3〜4 演題で 1 つのセッションを行ない, 大学院生の方々に座長を務めていただきました。各演題では, スケジュールが大幅にずれ込む程の活発な質疑応答がなされ, 発表する側・聴講する側の双方にとって, 実りある時間になったと思います。新規ペプチド合成法の開拓, 生理活性ペプチドの探索, 膜タンパク質の機能構造解析, 疾患に関わるペプチドの機序解明やケミカルバイオロジーにおけるペプチドの有用性等といった幅広い分野にわたる御研究の成果は, それぞれが非常に興味深く, 参加者一同

が大いに刺激を受けたものと思います。そして, 本勉強会ではテクニカルセミナーもプログラムに盛り込み, 島津製作所から島圭介氏による“ペプチドの分析に用いられる質量分析装置”に関して基礎から応用・解析までお話いただき, 熱心に聴講する多くの大学院生の姿が見受けられました。質量分析装置は, ペプチド科学研究にとって非常に大切な装置ですが, 基礎的な部分に関してあまり知らずに日頃利用している研究者が多いと思います。今回のセミナーを通じて, 今後にお役立ていただければと考えております。以上の様に, 非常に密度の高いスケジュールの中, いずれのセッションにおいても白熱した議論が交わされ, 参加者それぞれに勉強会を楽しんでいただけたと思います。また, 夏の勉強会では, 毎年会の活性化に貢献された若手研究者を表彰しておりますが, 参加者による投票の結果, 一般講演部門優秀賞に岩崎崇さん (筑波大学 連携大学院農業生物資源研究所 D2)「カプトムシディフェンシン由来改変ペプチドのマルチターゲット」, 学生討論部門優秀賞に松下修門さん (京都大学大学院農学研究科 応用生命科学専攻 D3) が選ばれました。誠にありがとうございます。

来年度 (第42回若手ペプチド夏の勉強会) は, 東京薬科大学の保住建太郎先生と山崎有理先生が世話人となり, 東京 (八王子セミナーハウス) にて開催が予定されております。今回の勉強会における幹事会にて, 様々な反省点や, 今後の勉強会の日程のあり方, 内容等に関しまして話し合われましたが, これからも夏の勉強会を毎回ブラッシュアップすべく沢山の方々からの貴重なご意見を取り入れて, さらに発展できればと心より思います。

以上、第41回若手ペプチド夏の勉強会は上記のように行なわれましたが、これまでの長い勉強会の歴史の中、先輩方が培ってきた“ペプチド科学領域を超えた自由に討論できる場”を大切にし、若手研究者がペプチド科学研究を一層押し進めるために貢献できる勉強会と更になり得るよう、今後とも本会を発展させるべく協力していく所存でございます。末筆になりますが、JPSをはじめ、参加者の皆様、ご援助、ご支援いただきました多くの方々に心より感謝申し上げますとともに、これからは御指導、御鞭撻を賜りますよう、何卒宜しくお願い申し上げます。

なかせ いくひこ
京都大学化学研究所
生体機能設計化学
nakase@scl.kyoto-u.ac.jp
やの よしあき
京都大学大学院薬学研究科
薬品機能解析学分野
yyano@pharm.kyoto-u.ac.jp

PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会

〒562-8686 箕面市稲4-1-2

(株)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：玉村 啓和)