



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.99

2016年 1 月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<http://peptide-soc.jp>

新年のご挨拶

右も左もわからない会長1年目があっという間に過ぎ、2年目の2016年を迎えました。ペプチド学会会員の皆様のご協力により、なんとか2015年度の学会活動をこれまで滞りなく進めることができました。支えていただいた会員の皆様に厚く御礼申し上げます。2015年度は日本ペプチド学会名誉会員の推薦の年にあたっており、宗像英輔先生、植木正彬先生、木村皓俊先生を名誉会員として推薦することに総会でご承認をいただきました。会員の皆様もよくご存じの通り、3名の先生方はいずれもペプチド学会の活動に多年大きく貢献され学会の発展に尽くしてこられました。今後とも、学会活動の活性化などについて御助言を頂きたいと思っております。一方で、2015年は日本ペプチド学会の発展に尽力してこられた名誉会員の御逝去の報に相次いで接した年でもありました。榊原俊平先生と大川乾次先生のお二人です。榊原俊平先生は日本ペプチド学会発足に先立って1987年に神戸で開催された第1回 Japanese Symposium on Peptide Chemistry (JASPEC) を主催されるとともに、1990年の日本ペプチド学会発足に伴い初代会長として学会発展の礎を築かれました。大川乾次先生は日本ペプチド学会創成期の主要メンバーのおひとりで、ペプチド学会発足以前から行われてきたペプチド化学討論会の第18回(1980年)を関西学院大学で主催されました。榊原先生、大川先生の薫陶を受けられた多くの研究者の皆様に現在のペプチド学会が支えられております。ここにあらためてお二人の先生の御貢献に感謝の意を表するとともに心よりご冥福をお祈りいたします。

日本ペプチド学会のもっとも重要な活動である2015年度ペプチド討論会は、大阪大学蛋白質研究所・北條裕信先生と東海大学工学部・稲津敏行先生ならびに片山秀和先生のお世話により平塚市で開催されました。ペプチドをキーワードとした様々な領域の研究が発表され、あらためて学際領域としてのペプチド科学を認識していただけたのではないかと考えております。2016年度の討論会は、10月に京都で赤路が開催をお世話させていただく予定です。ぜひ最新の研究発表を多数お持ちいただきますようお願い申し上げます。また、2015年度の若手ペプチド夏の勉強会は、信州大学農学部・小山正浩先生および中村浩蔵先生と群馬大



赤路 健一

学大学院理工学府・山田圭一先生のお世話により長野県塩尻市で開催されました。130名を超える若手ペプチド研究者の参加による活発な討論が行われ、参加された若手研究者の新たな研究展開につながったことと思います。2016年度の勉強会は電気通信大学の瀧真清先生、東京工業大学の堤浩先生、東京大学の後藤佑樹先生、群馬大学の高橋剛先生のお世話により開催される予定です。多くの若い研究者が参加され、大いに議論していただくことを期待しています。日本ペプチド学会は、年2回程度開催されるペプチドフォーラムの後援も行っております。日本ペプチド学会のさらなる活性化に向け、会員の先生方からの新しい研究展開につながる企画提案をお待ちしております。このようなフォーラムの場をぜひ積極的に利用していただきますようお願いいたします。

2016年度には多くの国際シンポジウムが予定されております。9月には8th International Peptide Symposium となる34th European Peptide Symposium がドイツ・ライプツヒで開催されます。またアジア地区では、20th Korean Peptide Protein Symposium ならびに14th Chinese Peptide Symposium (5th APIPS を兼ねる) が予定されております。日本ペプチド学会の Travel Award などを利用して多くの会員の皆様が参加されることを期待しております。このうち、IPS (International Peptide Symposium) は、原則としてヨーロッパ、アメリカ、アジア・オセアニアで巡回することになっております。このため、2018年がアジア・オセアニア地区担当となります。この開催地について、2015年開催の The 24th American Peptide Symposium での Liaison Committee において2018年 IPS を日本で開催することに賛同が得られました。これをうけ、理事会等での協議により2018年 IPS を京都大学・化学研究所の二木史朗先生を organizer とし、京都大学・薬学部の松崎勝巳先生を co-organizer として京都で開催することといたしました。少し先の話になりますが、すでに開催準備を始めております。会員の皆様には IPS 2018に積極的にご参加頂き、本シンポジウムを日本のペプチド科学の新しい展開を世界に発信する機会にさせていただきたいと考えております。ぜひご支援賜りますようお願いいたします。

冒頭に述べました日本ペプチド学会名誉会員の先生方のご業績とご貢献をあらためて拝見し、日本ペプチド学会の研究者の皆様、特に若い研究者の方々がそれぞれの研究目標に邁進できる環境整備に微力ながら貢献するのが日本ペプチド学会の使命だとあらためて感じております。昨今の経済事情の停滞もあり学会運営

が必ずしも盤石とは言えない状況ですが、会員の皆様方のご支援により学術団体としての使命を少しでも果たせるような活動を進めていきたいと考えております。様々なお立場からの御助言をぜひいただきたく、積極的なご提言をなにとぞよろしくお願い申し上げます。最後になりましたが、皆様方のご健康とご研究の進展を願って新年のあいさつとさせていただきます。

あかじ けんいち
京都薬科大学・薬品化学分野
akaji@mb.kyoto-phu.ac.jp

第52回ペプチド討論会報告

平成27年11月16日から18日の3日間平塚市中央公民館にて、第52回ペプチド討論会を開催させていただきました。本討論会は、東海大学工学部の稲津敏行教授、片山秀和講師と私の3人により運営いたしました。交通の便はそれほど良くなかったにも関わらず、総数399名（一般284名、学生115名）と多くの皆様にご参加いただきました。また発表件数も182題（受賞講演3題、招待講演2題、口頭発表47題、ポスター発表130題）に上りました。久しぶりの関東での討論会開催をめざして努力してまいりましたが、このように盛会のうちに終了することができましたのも、ご参加、ご発表いただいた方々、また本討論会の開催にご尽力いただいた皆様のご支援とご協力の賜物であり、心から感謝申し上げます次第です。

討論会中日に開催された日本ペプチド学会総会では南野直人先生（国立循環器病センター）に日本ペプチド学会賞が授与され、最終日の最後に素晴らしいご講演を頂き、学会を締めくくっていただきました。また奨励賞は臼井健二先生（甲南大学）と片桐文彦先生（東京薬科大学）に授与され、学会賞講演の前にご講演いただきました。受賞されました先生方にお祝い申し上げますとともに、今後ともペプチド学会への相変わらぬご支援をお願い致します。また、総会において、日本ペプチド学会に対して多大なご貢献をされた植木正彬先生、木村皓俊先生、宗像英輔先生に名誉会員証の贈呈が行われました。これまでのご貢献に感謝申し上げますとともに、今後ともご支援の程よろしくお願い申し上げます。

討論会初日は若手口頭発表とし、26名の若手研究者による講演が行われました。そして、優れた研究発表に対して国産化学株式会社のご支援により、Young Investigator Award を文末に記した皆様に授与致しました。また、日本ペプチド学会からJPSポスター賞が文末に記載の方々に与えられました。受賞された皆様にお祝い申し上げますとともに、今後のますますのご発展を祈念いたします。

KPPSからの招待講演者として、Hyung-Sik Won 先生（Konkuk University）および Min-Duk Seo 先生

（Ajou University）にご講演頂きました。また韓国から10名を超える皆様にご参加いただきました。今後のKPPSとJPSとのますますの交流の発展を祈念いたします。また、二木先生、林先生をはじめとする先生方のご努力により、フランス、シンガポール等、海外からの研究者による発表が増え、学会の国際化が進展しています。今後ともこの流れが維持され、ペプチド学会がますます発展して行くことを願っております。

懇親会には予想を遥かに上回る方にご参加いただきました。会場の広さの都合上、懇親会当日にお申し込みを頂きました方をお断りせざるを得なかったことをお詫び申し上げます。後援をお願いいたしました平塚市から落合克宏市長、東海大学から吉田一也副学長に歓迎のご挨拶を頂きました。宴会途中で東海大学吹奏楽研究会の方々に素晴らしい演奏、および東海大学ジャグリングサークル Standの方々に楽しいパフォーマンスをご披露頂きました。多くの方にご参加いただいたこともあって、楽しいひとときをお過ごしいただけたものと思っております。

討論会の前日には東海大学医療技術短期大学講堂にて「いのちをささえるアミノ酸・ペプチド」と題して日本ペプチド学会市民フォーラムを開催いたしました。産学の第一線で活躍の6名の講師の方々にご講演を頂き、高校生を含む100名の方々にご参加いただき成功裏に終了いたしました。

私は、現在大阪大学に勤務しておりますため、会場との打ち合わせ等が難しく皆様に色々ご不便をおかけいたしました。しかし、ご参加いただいた方々からの多大なるご理解とご協力を頂いたこと、また稲津先生、片山先生、事務の熊田もも子さん等東海大学の方々にご尽力いただいたことにより、無事に討論会を終えることができました。またこちらのスタッフの川上、佐藤、朝比奈先生、事務の岡田玲子さん、山口りつ子さん、学会事務局の柄崎令子さんにも多大なるご協力を頂きました。学会運営の実働部隊として東海大学、および大阪大学の学生さんたちが大活躍してくれました。ご協力いただいた皆様に心より感謝申し上げます。

学会初日、2日目朝には会場4階から富士山を眺めることができました。海外からの方も多く、ぜひお伝えしようと思っていたのですが、忙しさのあまりすっかりご案内するのを失念しており、とても残念に思っております。この学会で少しでも神奈川、平塚市周辺をお楽しみ頂けたのなら幸いです。最後に、学会は終わりましたが、まだプロシーディングの出版を残しております。その出版まで皆様のご協力をどうぞよろしくお願い申し上げます。

Young Investigator Award 受賞者（敬称略）

宮島 凜（徳島大学大学院薬科学教育部）
山下 博子（東京工業大学大学院生命理工学研究科）
Cédric Rentier（東京薬科大学薬学部）
道上 雅孝（大阪府立大学理学系研究科）
杉山真季子（九州大学大学院理学研究院）
村山 知（京都大学化学研究所）

ポスター賞受賞者（敬称略）

小早川拓也（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所）

金田 雅仁 (京都大学大学院薬学研究科)
今泉 貴大 (東京理科大学大学院薬学研究科)
谷口 敦彦 (東京大学大学院薬学研究科)
川口 祥正 (京都大学化学研究所)
渡部 直輝 (京都大学大学院工学研究科)

ほうじょう ひろのぶ
大阪大学蛋白質研究所
hojo@protein.osaka-u.ac.jp

平成27年度日本ペプチド学会賞を受賞して

1. はじめに

この度、「生理活性ペプチド探索法開発に基づく新規生理活性ペプチドの発見」の研究課題で、日本ペプチド学会賞を受賞するという荣誉に浴し、本当に有り難くまた光栄に存じております。日本ペプチド学会の皆様へ御礼を申し上げますとともに、本学会の発展や皆様の研究の推進に少しでも貢献できるよう、今後も努めて参りたいと思います。今回の受賞は、宮崎医科大学、国立循環器病研究センターにおいてご指導いただきました松尾壽之先生、寒川賢治先生、一緒に寝食を忘れて研究や議論をして頂きました先生方、共同研究を行って頂きました先生方、そして研究を支援して頂きました皆様のご協力の賜物であり、心より御礼申し上げます。

1975年、大阪大学理学部化学科で4年生となった私は、蛋白質研究所の成田耕造先生の研究室に配属された。3人のスタッフと当時は研究生だった松尾先生に研究テーマを伺い、松尾先生のテーマが面白そうだと選んだことが、今日に至る契機となった。1970年代初頭は、生理活性ペプチド研究の勃興期で、TRH、LHRH、somatostatin (SST)、substance P (SP)、neurotensin (NT) 等が次々に発見された時代であった。松尾先生は、自ら開発したタンパク質C末端決定法 (^3H 標識法) を用いて LHRH の構造を決定し、1977年のシャリー博士のノーベル賞受賞に大きく貢献された^{1,2)}。当時はC末端決定法より派生した His 残基の ^3H 交換滴定法を用いて、タンパク質中の His 残基のミクロ環境を解析する研究をされていたが、LHRH 発見を通じて新物質発見のインパクトを実感されたため、研究室を持てれば新しい物質を探す研究をしたいと仰っていた。この年に enkephalin (Enk) が同定され、内在性モルヒネ様物質の発見から、受容体が存在すれば内在性リガンドが存在するという逆薬理学的概念が証明され、強く心が動かされた³⁾。松尾先生の下にいた学生4名が、寒川先生は言うまでもなく、木村先生は endothelin (ET) や neurokinin (NK)、宮本先生は inhibin や LHRH-II を探索、発見することになるとは、当時は思いもよらなかった。1978年に松尾先生は宮崎医科大学第二生化学教室に着任され、寒川先生は当初から、私は少し遅れて大学院を中退し、長崎大学医学部を経て松尾研究室に合流した。



南野 直人

2. ペプチド抽出・精製法の開発 (以下、敬称略)

それ以降今日まで、生理活性ペプチドの探索法開発とそれを用いたペプチド探索、同定、機能解析に関する研究を行ってきた。最初の技術開発は、ペプチドの消化・分解を抑制した抽出法で、最も基本的かつ重要な技術であった。松尾と寒川は、群馬大学医学部産婦人科の五十嵐と共同し、五十嵐らが収集、調製したブタ視床下部3万頭の抽出物より、卵胞刺激ホルモン放出因子の精製を開始したが、精製は難航していた。視床下部にはモルヒネ様物質も多く含まれるため、寒川は副画分をモルモット回腸に添加し、弛緩活性を示す分画を見出した。HPLC がなかった当時は、カラムクロマトと TLC で精製を行い、手動ダンシル-エドマン法による構造解析で N 末端に Leu-Enk を含む新規ペプチドであることを示し、 α -neo-endorphin (NE) と命名したが、全構造は決定できなかった⁴⁾。トリプシン消化により $\text{R}^6\text{-Leu-Enk}$ を生成するため、このペプチドの C 末端認識抗体を調製し、消化物のラジオイムノアッセイ (RIA) による定量結果を基に精製が可能となった⁵⁾。この RIA を用いてブタ視床下部抽出物を検討した結果、調製済みの抽出物は消化・分解を強く受けていた。

新たな脳抽出物で検討したが、酢酸酸性 (pH 約 2) ではプロテアーゼによる消化は抑制できずに進行し、ゲル濾過上のペプチド画分の重量が増加すること、高分子領域でプロテアーゼの分解活性が高くペプチド画分では非常に低いことが判明した。pH 変動、インヒビター添加など様々な方法試みたが、十分に消化・分解を抑制できなかった。塩酸アセトン条件下での抽出、ゲルろ過でのペプチド調製で改善したが、完全ではなかった。無謀と思えたが、95℃、10分間の加熱処理をすると、プロテアーゼ活性は消失した。但し、酸性条件では Asp-Pro などのペプチド結合の加水分解が著しく、中性条件での加熱、冷却後の酢酸存在下での抽出が最も効率的と判明した。今日でも組織のペプチド濃度測定、抽出を行う論文の多くが、この抽出法を使用している^{6,7)}。

1978年当時は HPLC が発展途上でペプチド精製には使用されておらず、セファデックス類のゲルろ過、イオン交換クロマト、TLC 上の溶媒展開、電気泳動による精製が中心であった。松尾研究室では早期に高压混合グラジエント溶出が可能な機器を購入し、カラムを自分達で詰めて使用を開始した。バッファー系も種々の検討を行い、酸性リン酸バッファー系は塩が残るもののシャープな分離が得られた。その他、ギ酸、ギ酸アンモニウム、TMA/ 酢酸など様々な系を試みたが、最終的には取り扱いが容易でピーク分離の良い TFA/ アセトニトリル系に収斂した⁸⁾。

官能基についても、C18のみならず C8や C4, phenyl, cyanopropyl などを検討し、一度で精製できない時も、官能基を変えた HPLC の繰り返し精製を可能とした。溶媒へのイオンペア試薬の添加、pH 変動も有効であり、精製の最終段階ではこれらを組み合わせ、類似ペプチド混合物でも迅速、高収率に精製できるシステムを作り、精製に臨んだ⁸⁾。 α -NE の最終精製を実施したところ、従来法の精製純度は 50% 程度であった⁹⁾。続いて β -NE、PH-8P (dynorphin A[1-

8])を精製，構造決定し，水野らが中心となり副腎髄質からBAMペプチド3種をはじめとするMet-Enk関連ペプチドも同定した¹⁰⁻¹³⁾。(表1)

3. 活性評価法の拡大とペプチド精製

ペプチド精製では様々な生物活性を評価して，活性画分の精製を進めるのが常法である。検出感度が高く，再現性の高い生物活性評価法が求められるが，実際に利用できる方法は限られている。古典的には，動物個体を用いた血中のホルモン濃度測定法などが用いられたが，感度，再現性ともに問題があった。オビオイドペプチドでは，寒川の導入したモルモット回腸平滑筋標本の弛緩活性を指標として精製を進めた。その後，モルヒネ活性をより正確に反映する電気刺激による回腸縦走筋収縮に対する抑制効果を用いて，活性の検出，強度評価を行った。一方，視床下部抽出物中には，モルモット回腸の収縮活性も広く存在することが

分かってきた。

そこで開発した抽出法でブタ脊髓20kgよりペプチド画分を調製し，モルモット回腸収縮活性を指標とした精製を開始した。ペプチド画分を塩基性から酸性，親水性から疎水性に亘り系統的に分離し，全画分の活性を正確に評価した結果，1983年から2年間に，neuromedin (NM)と命名した6種類，10種のペプチドを精製することができた(図1，表1)。2種のタキキニン¹⁴⁾は，カエルKassininとの高い類似性からneuromedin KとL (NMK, NML)と命名した^{14, 15)}。同時期に筑波大学の宗像，木村らもNK α とNK β を精製し，京都大学の中西らはSP前駆体のcDNA構造解析よりsubstance Kを同定した^{16, 17)}。NML, NK α とsubstance Kは同一物で現在はNKA, NMKはNK β と同じペプチドで現在はNKBと呼ばれる。続いて，カエルBombesin様ペプチドのNMBとNMCを精製し，後者はgastrin-releasing peptide (GRP)の活性構

表1 同定した主要ペプチドと使用組織量，精製ペプチド量，活性評価法の比較

ペプチド名	発表年	対象組織	組織量	精製量	活性評価法
LHRH *	1971	ブタ視床下部	300,000頭	<200 nmol	ラット in vivo 血中 LH濃度
β -neo-endorphin	1981	ブタ視床下部	30,000頭	30 nmol	モルモット回腸弛緩+RIA
neuromedin B	1983	ブタ脊髓	550頭	18 nmol	モルモット回腸収縮
neuromedin U-25	1985	ブタ脊髓	550頭	1.0 nmol	ラット子宮筋収縮
BNP-26, 32	1988	ブタ脳	250頭	0.5 nmol	ヒヨコ直腸弛緩
PACAP-38	1989	ヒツジ視床下部	4,370頭	1.2 nmol	下垂体前葉細胞cAMP産生
CNP-22	1990	ブタ脳	500頭	0.2 nmol	ヒヨコ直腸弛緩
CRSP-1	2003	ブタ脳	250頭	50 pmol	LLC-PK1細胞cAMP産生
NERP-1, -2	2007	TT細胞上清	—	非精製	下垂体バソプレシン分泌
NERP-3, -4	2010	TT細胞上清	—	非精製	エコーリン発現マウス組織
AMP-IBP5	2011	QGP細胞上清	3.2x10 ⁷ 細胞	非精製	抗菌活性

*)LHRHはSchally, 松尾らの精製、構造決定に基づく参考データ。

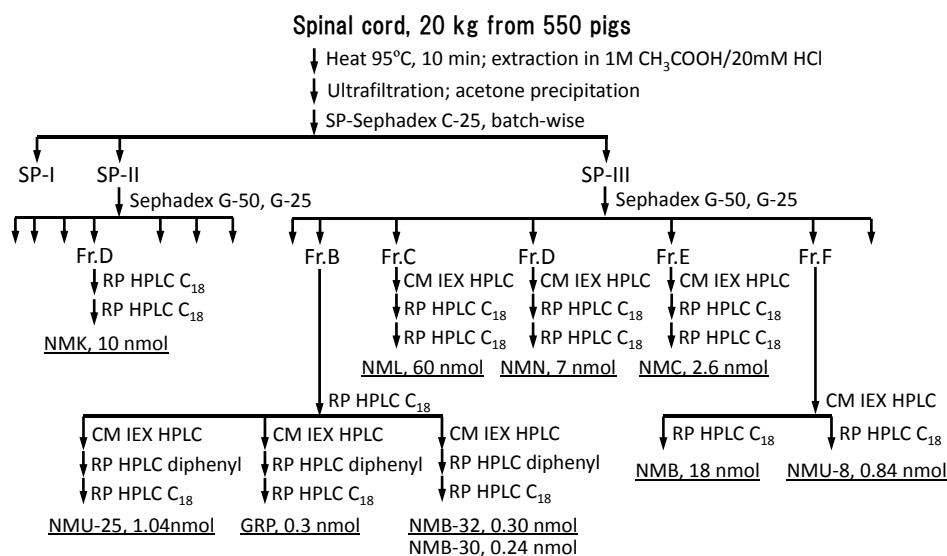


図1 ブタ脊髓からのニューロメジン類の系統的な分離と構造決定

造に相当していた^{18, 19)}。中枢神経系ではNMB、消化管ではNMCとGRPが主体であり、NMBにもGRPに相当するNMB-32が存在することを示した^{20, 21)}。次に、NTに構造・機能が類似するNMNを見出し、後にNT前駆体に含まれることが示された²²⁾。平滑筋標本として、ブラジキニンの活性評価に用いられるラット子宮筋標本の収縮活性を導入、適用したところ、子宮筋収縮活性が強いNMUを同定できた²³⁾。後にNMUがオーファン受容体FM3とFM4の内在性リガンドであることを児島らが証明し、森らは同受容体のリガンドであるNMUの類似ペプチド、NMSを発見している^{24, 25)}。NMUは昇圧活性も有し、エネルギー代謝や免疫・炎症制御にも関わることが明らかにされている(表1, 図1)。

次にヒヨコ直腸を使用したのは、寒川らがatrial natriuretic peptide (ANP)の発見に使用したこと、この弛緩活性が血管弛緩活性と良く相関することによる²⁶⁾。末梢-中枢間で類似ペプチドが存在する事実が蓄積されてきたので、須藤らとブタ脳抽出物に直腸弛緩活性を適用してみた。脳内にANPは存在するものの、主要な直腸弛緩活性物質ではないことを確認して精製を始めたが、大部分の活性は既知のcalcitonin gene-related peptide (CGRP)とvasoactive intestinal peptide (VIP)に由来した。残り3つの活性画分の2つから26残基と32残基のbrain natriuretic peptide (BNP)、最後の活性画分からC-type natriuretic peptide (CNP)を精製できた^{27, 28)}。出発材料に比して精製収量が0.2-0.5 nmolと非常に少なく、当時としては画期的な成果であったが、上述の精製技術と高感度な活性検出法がポイントであった(表1)。脳性と名付けたBNPは、ブタ以外では心臓に局限して発現するため、CNPの発見時にB-type natriuretic peptideと改名した²⁹⁾。BNPの血中濃度は心不全の非常に鋭敏なマーカーで、心不全をはじめとする心疾患に不可欠な診断法となり、世界で年間に1億検体が測定されている。

より普遍的な活性評価法を作るため、細胞内セカンドメッセンジャーの測定を考えたが、1980年代前半にはCaの高感度測定系はなく、イノシトール3リン酸の測定が必要であった。1985年から米国Tulane大学、有村研究室に留学した際に、向下垂体ホルモンの新しい探索法として、下垂体前葉細胞のcAMP産生測定系を上原と作成し、成長ホルモン放出ホルモンなどで有効性を確認した。次に既知の活性ペプチドを陽イオン交換と逆相HPLCで分離し、溶出場所を塩基性と疎水性で表示する2次元マップ上にプロットした。収集したヒツジ視床下部を抽出し、既知活性ペプチドと同じ塩基性と疎水性の基準に従い精製を進め、cAMP産生刺激活性を評価、プロットしたところ、既知の活性ペプチドには一致しない複数の活性ピークが強塩基性画分に認められた(図2A)。私は留学期間が終了して帰国することになり、最終的な同定を続いて宮崎医科大学より留学した宮田に委ねた。幸いペプチドの精製、構造解析は順調に進み、1989-90年に38残基と27残基のPituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP)が報告された^{30, 31)}。VIPと構造が類似するPACAPは、残念ながら下垂体前葉ホルモ

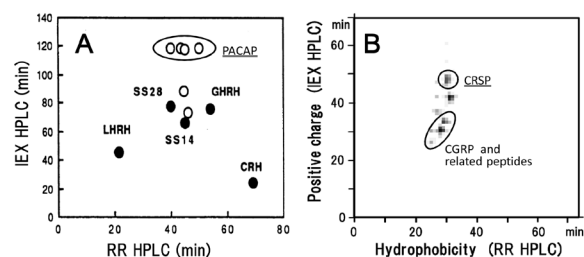


図2 cAMP産生を指標とする生理活性ペプチド精製 (A) PACAP, (B) CRSPの精製時におけるcAMP産生活性と既知ペプチドの溶出位置

ンの産生・分泌を変動せず、星状細胞などの間質系細胞に作用すること、脳内ではグリア細胞が産生して神経細胞を保護することが明らかにされている。

1999年頃より、腎近位尿管細胞由来LLC-PK1細胞のcAMP産生刺激活性を指標として、ブタ脳の抽出物の精製を片測と開始した。当時開始したペプチドーム研究と連携し、PACAP精製時より精度を上げた塩基性と疎水性の2次元マップ上に、既知の活性ペプチドの溶出位置と測定した活性強度をプロットした結果、CGRPやカルシトニン(CT)とは異なる活性物質の存在を確認した。当該画分より精製を繰り返して、Calcitonin Receptor-Stimulating Peptide (CRSP)を2003年に報告した³²⁾。ブタ、ウシ、イヌにはCRSPや類似遺伝子が3種以上存在するが、霊長類やげっ歯類には存在せず、ヒトやラットでは2種あるCGRPかCTがその作用を代行すると推定された。残念な結果となったが、哺乳類の進化過程でも遺伝子の重複、組換えが活発に起こることを示す一例と考えられる³³⁾。血小板のcAMP産生刺激活性を指標として、北村と寒川はアドレノメデュリン(AM)を1993年に発見している³⁴⁾。細胞内Caの測定法は、大きく進歩して高感度測定が可能となったので、脳抽出物と種々の培養細胞を組み合わせで検討したが、新規ペプチドの発見に至らなかった。

4. 構造決定法の高感度化、高精度化

Edman法による構造決定も1970年頃より自動化が進められ、成田研究室ではBeckman社シーケンサーを保有していたが汎用できるものではなかった。1975年当時は手動ダンシル・エドマン法を用いて1日に2サイクル程度しか同定できず、疎水性ペプチドやC末端部にリジン残基が多いペプチドの構造決定は困難であった。1983年にApplied Biosystems社のGas-phaseシーケンサーが発売され、Edman反応を陽電荷ポリマーで覆った膜上で反応させる仕組みは、感度や反応効率に革新をもたらした。サントリーへの依頼解析で機器の能力を実感した松尾の尽力により、国立大学としては初めて同機を研究室に導入できた。

機器導入後の運転と管理を担当したが、当初は液体窒素トラップを付け減圧下で溶媒除去を行ったため、維持作業が大変であった。試料も1 nmol以上必要であったが、タンパク質では25-30残基を構造決定できる(最高50数残基)能力は絶大であった。PTHアミノ酸同定用の逆相HPLC系も改善を続け、検出感度の上昇に努めた。機器の改良もあり、2000年頃には

1 pmol 程度で構造解析が可能となった。数年で機器が2台となったが、休まずに稼働していた。

構造決定における第2の革新は、質量分析 (MS) の進歩による。大阪大学蛋白質研究所の高尾の教示により、1990年代後半に Micromass 社の Q-ToF などのタンデム質量分析計が開発されたことを知った。従来のようにペプチドを単離しなくとも、Gas-phase シーケンサー以下の量で構造決定が可能となった。LC と組み合わせた ESI-LC-MS 法が発展するとともに、MALDI 法を用いる ToF-ToF 型機器も開発され、2000 年代初頭にかけてペプチドの構造解析技術は飛躍的に向上した。構造決定感度の向上は言うまでもないが、修飾構造の推定が大きく進んだ。シーケンサーの感度上昇と共に、例えば SP や CGRP では多種類のマイナーペプチドが分離され部分構造を決定できたが、それらの全構造は不明であった^{15, 27)}。質量分析計を用いて構造決定率が上昇したため、それらの生成理由を推定し、研究手技による2次的変化であれば、改善策を採ることが可能になった。

最近の高分解能機器の開発により質量測定精度が大きく向上し (誤差 0.01 Da 以下)、解裂法でも CID (Collision-Induced Dissociation) に加えて ETD (Electron Transfer Dissociation) などの配列や修飾構造に依存しない解裂法が開発された。私共の研究室では、佐々木の尽力によりこれらを用いた解析が可能となり、データ解析システムの改善も含めて、修飾構造の同定、分子量 10000 を超えるペプチドの解析例が増えてきた³⁵⁾。このような構造解析能力、解析感度の向上により、生物活性に基づいて精製を行う場合は、試料の大部分を活性評価に用いる時代となっている。

一方、〇〇 fmol で構造決定といった表現がよく用いられるが、多量にある試料の 5 fmol と、20 fmol しかない試料の 5 fmol では、構造決定の難易度は全く異なる。極微量試料では容器などへの吸着ロスが大きく、突然消失する例もある。シーケンサーの時代には非イオン性洗剤添加などの手法を用いていたが、質量分析計では禁忌であり、低吸着性容器の使用、有機溶媒添加など様々な方法を試行錯誤している状態である。

5. ペプチドーム解析の開始

上述のようなタンデム質量分析計の出現により、ペプチドを高純度に精製して構造決定する必要がなくなったことが、ペプチドーム解析開始の一つの理由である。今一つは、NM 類やオピオイドペプチド類の精製において、95℃、10 分間の熱処理でプロテアーゼを失活させた抽出物では、低分子量ペプチド画分 (<1500Da) で観測されるピークの多くが、生理活性ペプチド前駆体由来のペプチドと気づいたことである²²⁾。実際、我々の発見したペプチドは、ほぼ全てが生体内に存在する「内在型」ペプチドであることが証明され、大きな特長となっている。このような事実より、先ずタンデム質量分析計を用いてペプチドを網羅的に構造解析してカタログ化し、前駆体タンパク質の構造、プロセッシング部位、修飾構造、動物種間での配列保存性などの情報より生理活性ペプチド候補が選択可能となる予想した。また、塩基性と疎水性に基づく

一定ルールで試料を分離し、その分画の一部を質量分析計等にて構造解析して存在するペプチド情報をカタログ化し、残りの分画を用いて種々の生物活性評価法を行うと、両情報の統合により生理活性ペプチドの効率的な同定が可能と考えた。

これまでの経験から脳を標的組織とし、構造解析のみを行うペプチドーム解析にはマウス脳、生物活性評価も行う解析にはブタ脳 (遺伝子情報が直ぐに公開予定とされていた) を対象とした。マウス脳のゲル通過、イオン交換クロマト後の逆相 HPLC 分離物の構造解析では、タキキニン類をはじめとする生理活性ペプチドは同定されてきたが、オピオイドペプチドは CID 法の MS/MS スペクトルが悪いため、2000 年当時は同定できない場合が多かった。また、質量分析計の質量精度が低く分子量 2500 程度が解析限界であったが、分子量増大に伴い、細胞質タンパク質や構造タンパク質の消化分解ペプチドが急増した。プロテアソーム、リソゾームなどのタンパク質の品質管理系や代謝系で能動的に消化、産生されるペプチドも含まれると推定されるが判定不能で、生理活性ペプチドの対象となる分泌タンパク質由来ペプチドは 20% 程度にすぎなかった³⁶⁾。細胞内タンパク質の消化分解ペプチドが大量に含まれる上、質量分析計で同定できているペプチドの割合が低いいため、組織を対象とするペプチドーム解析は 2005 年に一旦中止した。

6. 分泌ペプチドーム解析

国立がん研究センターの佐々木は、神経内分泌細胞株培養上清のペプチド解析より良好な構造情報が得られ、特に刺激分泌後の培養上清より生理活性ペプチドなどが同定できる可能性を見出し、高尾と共同研究を開始した。ペプチドーム解析の趣旨と一致するため、2004 年より国立循環器病研究センターに移動し、試料調製、解析を進めた。

ヒト甲状腺髄様癌由来細胞株 (TT 細胞) に短時間の分泌刺激した後、培養上清を回収し、ペプチド画分を濃縮、還元アルキル化後、逆相 HPLC で分離し、質量分析計で解析した結果、230 ペプチドを同定できた。由来組織を反映し、CT/CGRP 前駆体由来ペプチドが多数観測された。生理活性ペプチドの主要な修飾である C 末端アミド化に着目して検索すると 19 種のペプチドが選択され、CT/CGRP 前駆体に由来しないペプチドから、NeuroEndocrine Regulatory Peptide (NERP)-1 と NERP-2 を同定した³⁶⁾。これらは甲状腺などの内分泌組織に存在するが、視床下部に最も高濃度で存在し、視索上核と室傍核より下垂体後葉に至る大細胞性神経分泌ニューロンにバソプレッシン (AVP) と共存していた。高張食塩水やアンジオテンシンの脳室内投与で惹起される血中 AVP 濃度の上昇を NERP-1 と 2 は抑制し、内在性の AVP 分泌制御因子と考えられた。

TT 細胞上清を徹底解析した結果、最終的に 800 ペプチドが同定され、99% 以上は細胞外に分泌、放出されるタンパク質に由来した。CT/CGRP 以外に、GRP, PACAP, NMU, SST などの前駆体由来ペプチドも同定され、分泌ペプチドの網羅的解析 (分泌ペプチドーム解析) が新規生理活性ペプチド探索に有用と推定さ

れた³⁷⁾。NERP 前駆体の VGF タンパク質に由来するペプチドを整列させると、前駆体は約15ペプチドに選択的に変換されると推定された (図3)。この切断様式はラット視床下部、下垂体でも保持され、腫瘍由来細胞株と生体組織で同じペプチドの生成が確認された³⁸⁾。15種のペプチドの内、40残基以内のペプチドを合成して活性を評価した。協和発酵キリンでは、Ca 依存性発光タンパク質エコーリンを全身に発現するマウスを開発していたので、提供いただいた。組織片にペプチドを投与して発光量を測定した結果、NERP-1と2を含む5種に反応が認められ、生理活性を有することが分かった³⁹⁾。タンパク質からプロセッシングを受けて生成する内在ペプチドを基盤に、網羅性の高い生物活性評価法を組み合わせ、生理活性ペプチドを探索できることが証明できた (図3)。

臓器由来の神経内分泌細胞株 (QGP) については、培養上清中の強塩基性ペプチド画分について先ず解析を行った。特に塩基性が強く、ヘパリン結合配列とジスルフィド (SS) を有するペプチドに着目して検討した結果、哺乳類では2番目に強力な抗菌ペプチドであることが判明し、Antimicrobial Peptide Derived from Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein 5 (AMP-IBP5) と命名した⁴⁰⁾ (表1)。本ペプチドは、IBP5で推定される SS 結合とは異なる SS 結合を有するため、SS 結合に組換えが生じた IBP5にプロセッシング酵素が作用して生成する可能性がある。また、視床下部と下垂体に局限して存在するため、抗菌活性以外

の機能を有する可能性も想定される。

ごく最近、ラット心臓非心筋細胞の培養上清のペプチドーム解析を報告した⁴¹⁾。この細胞は線維芽細胞を主体とした初代、二代培養細胞で、分泌顆粒を含まない間質系細胞である。このため、長時間放置した細胞上清を回収する必要がある、消化・分解を受ける可能性が高いが、幸い部分的な消化も認められるものの質の高い解析結果が得られた。つまり、細胞を選択すれば、一般的な培養細胞でも分泌ペプチドーム解析が可能なが示されたといえる。AM 前駆体は、副腎髄質と同様に4ペプチドへ変換されていたが、C 末端ペプチドがリン酸化され、シグナルペプチドの切断予測部位が誤っていた。この他、ET1、AM2前駆体由来するペプチドも同定された。

線維芽細胞を主体とするため、コラーゲンなどの細胞外マトリックスに由来するペプチドが主体であったが、生理活性ペプチド前駆体の選択的切断、膜タンパクの特異的 shedding、プロテアーゼなどの活性化による限定切断などにより生成するペプチドも多数同定された。これらのペプチド配列より、逆にタンパク質の特異的切断部位を同定することが可能となった。実際、構造類似性や予測プログラムより推定された切断部位には高い割合で間違いが見出された。つまり、酵素消化処理をしない生体内ペプチドの回収、構造解析は、内在するペプチドのカタログ化のみならず、生体内のタンパク質の存在様式、機能分子の実態把握のためにも必要と考えられた。

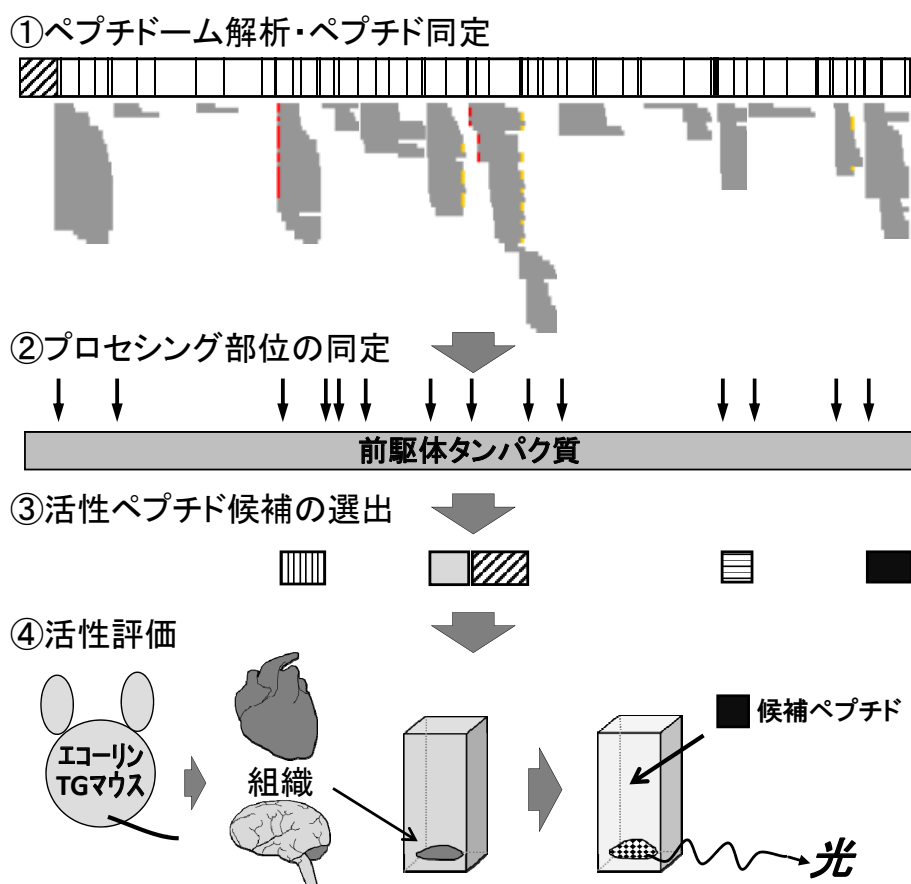


図3 ペプチドーム解析に基づく生理活性ペプチド探索法
生体に内在するペプチドと幅広い生物活性評価法を組み合わせ、生理活性ペプチドの発見を進める。

6. 終りに

過去40年間に研究技術は大きく発展し、生理活性ペプチドの概念も少しずつ変わりつつある。生理活性ペプチド探索から私の研究は出発したが、多くの技術的進歩により生体内ペプチドのカatalog作成が可能となり、精密なペプチドカatalogの作成がペプチドの発見や理解に不可欠、という考え方に変わって来た。この考えを諾とする方々の研究参加と研究の発展を期待したい。

大学卒業後は医学部と国立高度専門医療研究センターで勤務してきたが、医学応用を念頭に置きつつも、ペプチド分子の構造と機能を知るという視点で研究を進めてきた。その過程で、進化的な淘汰を経て獲得されたペプチドの構造や機能の多様性は、機能発現だけではなく、環境変動や疾患などに対して、個体として統合的な適応を可能とするために獲得されてきたと推察している。生体内ペプチドに学ぶべき事柄は未だ数多くあり、ペプチドに関わる生理、病態生理現象を注視、理解していくことが、研究の発展や新しい発想に必要と考えている。

最後に、一緒に研究を進めて頂いた皆様に心より感謝申し上げ、筆を置きたい。

文献

- 1) Matsuo, H.; Arimura, A.; Schally, A.V.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1971, 43, 1334-1339.
- 2) 松尾壽之 科学 1978, 48, 537-547.
- 3) Hughes, J.; Smith, T.W.; Kosterlitz, H.W.; et al. *Nature* 1975, 258, 577-580.
- 4) Kangawa, K.; Matsuo, H. *Biochem Biophys Res Commun* 1979, 86, 153-160.
- 5) Kangawa, K.; Mizuno, K.; Minamino, N.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1980, 95, 1467-1474.
- 6) 寒川賢治; 南野直人; 松尾壽之 新生化学実験講座 9, ホルモン I (日本生化学会編); 東京化学同人; 東京, 1991, 51-76.
- 7) 南野直人; 寒川賢治; 松尾壽之 新生化学実験講座 9, ホルモン I (日本生化学会編); 東京化学同人; 東京, 1991, 102-116.
- 8) 南野直人; 寒川賢治; 松尾壽之 新生化学実験講座 1, タンパク質 I 分離・精製・性質 (日本生化学会編); 東京化学同人; 東京, 1990, 257-286.
- 9) Kangawa, K.; Minamino, N.; Chino, N.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1981, 99, 871-878.
- 10) Minamino, N.; Kangawa, K.; Chino, N.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1981, 99, 864-870.
- 11) Minamino, N.; Kangawa, K.; Fukuda, A.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1980, 95, 1475-1481.
- 12) Mizuno, K.; Minamino, N.; Kangawa, K.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1980, 95, 1482-1488.
- 13) Mizuno, K.; Minamino, N.; Kangawa, K.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1980, 97, 1283-1290.
- 14) Kangawa, K.; Minamino, N.; Fukuda, A.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1983, 114, 533-540.
- 15) Minamino, N.; Kangawa, K.; Fukuda, A.; et al. *Neuropeptides* 1984, 4, 157-166.
- 16) Kimura, S.; Okada, M.; Munekata, E.; et al. *Proc Japan*

Acad 1983, 59 Ser. B, 101-104.

- 17) Nawa, H.; Hirose, T.; Nakanishi, S.; et al. *Nature* 1983, 306, 32-36.
- 18) Minamino, N.; Kangawa, K.; Matsuo, H. *Biochem Biophys Res Commun* 1983, 114, 541-548.
- 19) Minamino, N.; Kangawa, K.; Matsuo, H. *Biochem Biophys Res Commun* 1984, 119, 14-20.
- 20) Minamino, N.; Kangawa, K.; Matsuo, H. *Biochem Biophys Res Commun* 1984, 124, 925-932.
- 21) Minamino, N.; Sudoh, T.; Kangawa, K.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1985, 130, 685-691.
- 22) Minamino, N.; Kangawa, K.; Matsuo, H. *Biochem Biophys Res Commun* 1984, 122, 542-549.
- 23) Minamino, N.; Kangawa, K.; Matsuo, H. *Biochem Biophys Res Commun* 1985, 130, 1078-1085.
- 24) Kojima, M.; Haruno, R.; Nakazato, M.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 276, 435-438.
- 25) Mori, K.; Miyazato, M.; Ida, T.; et al. *EMBO J* 2005, 24, 325-335.
- 26) Kangawa, K.; Matsuo, H. *Biochem Biophys Res Commun* 1984, 118, 131-139.
- 27) Sudoh, T.; Kangawa, K.; Minamino, N.; et al. *Nature* 1988, 332, 78-81.
- 28) Sudoh, T.; Minamino, N.; Kangawa, K.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1990, 168, 863-870.
- 29) 南野直人 生化学 1991, 63, 94-119.
- 30) Miyata, A.; Arimura, A.; Minamino, N.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 164, 567-574.
- 31) Miyata, A.; Jiang, L.; Dahl, R.D.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1990, 170, 643-648.
- 32) Katafuchi, T.; Kikumoto, K.; Minamino, N.; et al. *J Biol Chem* 2003, 278, 12046-12054.
- 33) Katafuchi, T.; Yasue, H.; Minamino, N.; et al. *Peptides* 2009, 30, 1753-1762.
- 34) Kitamura, K.; Kangawa, K.; Kawamoto, M.; et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1993, 192, 553-560.
- 35) Sasaki, K.; Osaki, T.; Minamino, N. *Mol Cell Proteomics* 2013, 12, 700-709.
- 36) Minamino, N.; Tanaka, J.; Kuwahara, H.; et al. *J Chromatogr B* 2003, 792, 33-48.
- 36) Yamaguchi, H.; Sasaki, K.; Minamino, N.; et al. *J Biol Chem* 2007, 282, 26354-26360.
- 37) Sasaki, K.; Takao, T.; Minamino, N.; et al. *Mol Cell Proteomics* 2009, 8, 1638-1647.
- 38) Mishiro-Sato, E.; Sasaki, K.; Minamino, N.; et al. *J Neurochem* 2010, 114, 1097-1106.
- 39) Sasaki, K.; Yamasaki, M.; Minamino, N.; et al. *J Proteome Res* 2010, 9, 5047-5052.
- 40) Osaki, T.; Sasaki, K.; Minamino, N. *J Proteome Res* 2011, 10, 1870-1880.
- 41) Tsuchiya, T.; Minamino, N.; Sasaki, K.; et al. *J Proteome Res* 2015, 14, 4921-4931.

みなみの なおと
国立循環器病研究センター
創薬オミックス解析センター
minamino@ncvc.go.jp

平成27年度日本ペプチド学会奨励賞を受賞して

この度は日本ペプチド学会奨励賞という大変名誉ある賞を賜り、非常に嬉しく思っております。会長の赤路健一先生をはじめ、理事、監事、評議員の先生方、また、選考委員の諸先生方に本稿の紙面をお借りして心より感謝申し上げます。



臼井 健二

私は東京工業大学大学院生命理工学研究科三原久和教授の研究室で学位を取得後、米国スクリプス研究所の Jeffery W. Kelly 教授の研究室や東京工業大学大学院生命理工学研究科小島英理教授（現在は総合理工学研究科）の研究室で博士研究員、2009年から甲南大学フロンティアサイエンス学部にて講師として赴任し現在に至っております。本学部がナノバイオを中心とする科学・工学を扱う学部となっておりまして、私もペプチドを利用してナノバイオ領域に応用展開できる研究テーマを主に遂行しております。

本稿では受賞の対象となりました「二次構造を形成する設計ペプチドを用いたナノバイオ工学への展開研究」について紹介させていただきます。

1. はじめに

生体内での様々な生理的活動はタンパク質を中心とした機能・特性をもつ生体分子が担っています。これら生体分子はこれまで、主に医薬品、化粧品や食品などのバイオ分野への応用利用が中心でした。しかしながら近年では、バイオ分野のみならず、電子材料、機械材料、環境材料といった、ナノ材料分野の領域にまでその応用範囲を広げつつあります。このようなナノバイオ領域全般に広く応用展開できる生体分子としてペプチドは有望な分子の一つと考えられます。その理由といたしましては、釈迦に説法にはなりますが、1) タンパク質の小型版であり、タンパク質の機能・特徴をある程度模倣できること、2) 構造を形成するように設計や合成が比較的容易であること、3) 非天然アミノ酸や標識分子などの機能性人工分子を容易に付与できること、4) 抗菌、膜透過、無機物沈殿、特定分子結合など、様々な機能性の配列が知られており、それらを付加することができること、などが挙げられるかと思ひます。

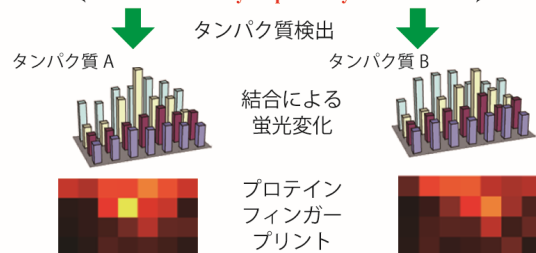
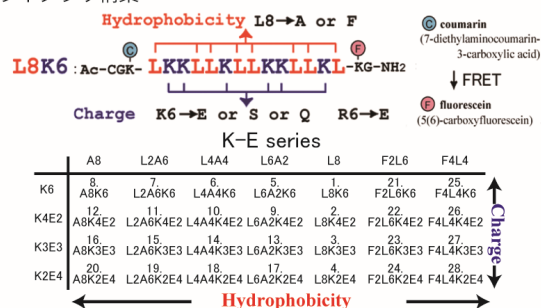
このような特徴・利点を持つペプチドに魅せられて、私は学生時代からこれまで一貫して、二次構造を形成する人工ペプチドを設計・合成し、それを用いた、タンパク質・細胞解析用マイクロアレイの開発、人工二次構造体やナノ構造体の構築などを行ってきました。バイオ分野に注力されがちなペプチド研究ですが、私は敢えてナノバイオ分野に比重をおいた研究を行うことを意識してきました。それによって、少しでも日本のペプチド研究の裾野が広がることを期待して・・・、と言えれば格好が良いのですが、本音は現在 PI ではあるもののまだまだ若輩者ですので、諸先生方とともに同じ分野で勝負しても敵わないと考え、少しでも違う分野で自分ができることを突き詰め

た結果と言ったところです。それでは以下、私が行ってきた研究トピックスを紹介いたします。

2. 二次構造を形成する人工ペプチドを用いたマイクロアレイの開発

学生時代から現在に至るまで、タンパク質解析や細胞解析を目指したマイクロアレイ開発へ向けた一連の研究を立ち上げ、検出用ペプチドライブラリの構築¹⁾、アレイ化²⁾、検出法の開発³⁾、データ解析法の確立⁴⁾といった、基盤的課題を精力的に解決してきました。ペプチドをアレイの捕捉剤に用いる利点としましては、二次構造形成配列を設計でき、タンパク質との結合特異性の向上が見込めること、標識分子をペプチド側に位置特異的に導入できること、抗菌、膜透過ペプチドなど、細胞制御、応答配列が知られていることなどが挙げられます。特にタンパク質解析アレイ⁵⁾においては、タンパク質の量や有無のみしか検出できない従来アレイとは一線を画す、タンパク質の機能や特性を解析できる新しいアレイの概念を提案しています(図1)。これは、様々な配列のペプチドと調べたいタンパク質の総当たりの結合パターンを指紋に見立て、そのパターンをデータ処理、統計解析することでタンパク質の性質が詳細に解析できる画期的手法です⁶⁾。さらに細胞解析においても、タンパク質解析と同様の概念で細胞種や分化の度合いを解析する手法を開発しました^{7,8)}。また、測定ペプチドを光切断リンカーを介してアレイに固定し、測定時に光照射によりペプチドを遊離させ、リアルタイムかつ詳細に細胞近傍でのペプチドの挙動が観察可能であるアレイ開発も行いま

ライブラリ構築



データ解析

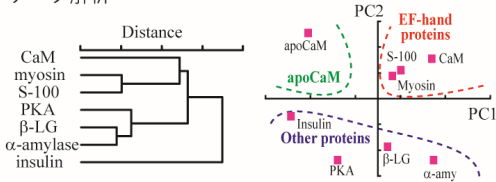


図1 設計ペプチドを用いたタンパク質検出・解析用マイクロアレイの概要

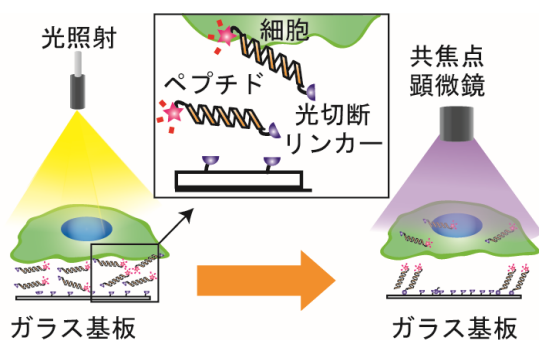


図2 光切断リンカーを用いたペプチドアレイの概要

した(図2)^{9,10)}。以上のようなアレイ開発は、ペプチド工学に留まらず、表面化学、光学、情報学や統計学といった異分野を積極的に融合させる必要があります。現在、私が先ほど述べたようなナノバイオ、特にナノ分野へ研究の目をシフトできたのも、この研究の経験のおかげなのかなと思います。現在はより多くの解析や疾病などを見いだせるペプチドアレイをめざし、パターンによる解析技術をもっと簡便にもっと生物学的意義との関連付けができないか、またデータをもとにライブラリのペプチド配列も絞り込めないかなどの統計学的データ解析手法のさらなる確立を目指しています。

3. アミロイドβペプチドの凝集に関する研究および検出解析システムの開発

アミロイドβペプチド(Aβ)に関する研究は三原研在籍時ではなく、2006年から米国スクリプス研究所Kelly研究室に所属した時から始めました。アルツハイマー病の原因物質といわれているAβは、試験管内ではμMレベル未満では凝集しないのに対し、生体内でnMレベルで凝集することが知られています。生体内ではコレステロール酸化体(化合物1(2))と結合することで凝集性が増すのではという仮説があり、私は実際に酸化コレステロール修飾Aβ(Aβ₄₀-1(2))という非常に凝集が強い人工ペプチドを作製して、nMレベルで凝集現象がみられることを示しました(図3)¹¹⁾。さらに、2008年からは、東工大小島研究室にて、引き続きAβに関する研究を行い、Aβの細胞内での局在と線維化状態を同時に検出できるユニークな蛍光発光融合タンパク質の開発に成功しています¹²⁾。これらの研究を行っているうちに、数多くのアミロイド研究がなされているにもかかわらず、モノマー化方法や、線維化方法が統一されていないことが、アミロイド研究の大きなブレイクスルーがなかなか起きない原因ではないかと考えるようになりました。そこで最近では、アミロイド性ペプチドを簡便に完全にモノマー化でき、条件を統一して再現性良く線維化実験が行えるシステムの構築を試みています。

4. 甲南大学における設計ペプチドを用いたナノバイオ工学研究と教育

まず、ペプチド二次構造の拡張に挑戦し、核酸と融合し、新規二次構造である四重鎖様構造を創製することを試みています。核酸のグアニンリッチ配列による

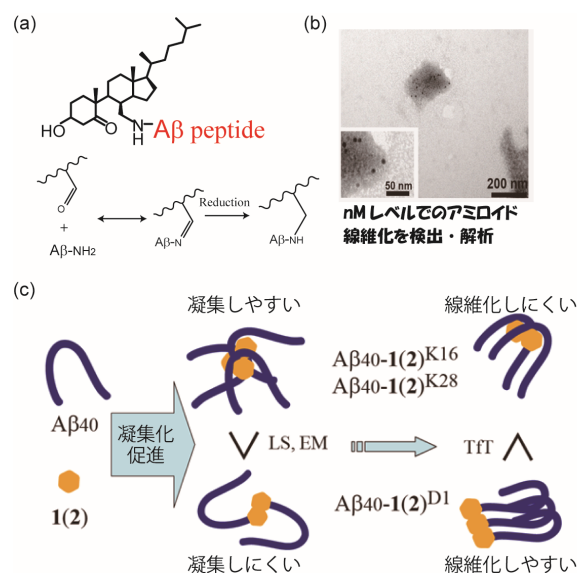


図3 アミロイドβペプチドの凝集に関する研究概要。(a) 酸化コレステロール(1(2))修飾Aβ。(b) immunogold TEM測定によるnMレベルでの凝集の確認。(c) 1(2)の修飾により未修飾よりも凝集は促進されるが、修飾位置(AβのN末(D1)、16番目のLysの側鎖(K16)、28番目のLysの側鎖(K28))によって凝集の度合いは異なる。

四重鎖構造は疾病、老化などに関与しバイオ分野において重要かつ現在注目されている構造であります¹³⁾、ナノワイヤー構造も形成することからナノ電子回路構築などのナノ分野でも注目されつつあります。そこで本研究ではPNAのグアニンに富む配列と、その間にプロテアーゼの基質配列を挿入した人工ペプチドを創製することで、プロテアーゼ非存在下では、ペプチド-核酸複合構造を形成し、プロテアーゼ存在下では複合構造がくずれ、もとの構造に戻るという二次構造スイッチングが可能となるシステムを構築しました(図4a)¹⁴⁾。本システムを目的タンパク質のコードしてあるDNAの上流に配置すれば、バイオ分野ではタンパク質発現制御システムが構築できます。また、ナノワイヤーを形成するグアニンに富んだDNA配列に、本ペプチドを作用させるとワイヤーが形成されず、プロテアーゼを添加すると再びワイヤーが形成される、ナノ構造体形成のスイッチシステムの構築も期待できます。さらに最近では四重鎖DNAとAβとを組み合わせて新たなナノ構造体ができないかといった研究にも挑戦しています。

また、バイオミネラリゼーション研究にも取り組み、PNAとペプチド、DNAを利用して、無機物沈殿現象を位置特異的に制御しようというユニークな研究も行っています。具体的にはDNAの両末端付近と相補的に結合するPNA配列を持つシリカ沈殿ペプチドを設計・合成し、DNAと複合させ、ペプチド部分のみにシリカ、DNA部分にカルシウムの凝集沈殿を促すことで、ダンベル型の有機-無機複合体の形成を試みています。本研究により、無機物沈殿の位置特異的制御の基礎的概念・手法の確立が期待できます(図4b)¹⁵⁾。

さらに研究だけではなく、教育においても本学部において世界でも類の見ない試みを行っております。学

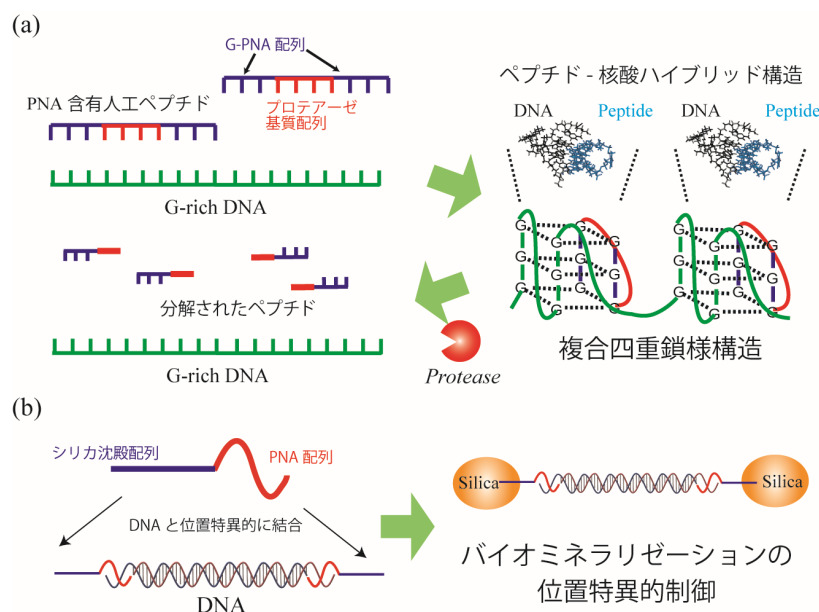


図4 甲南大で立ち上げた研究の概要。(a) グアニンリッチ DNA の構造変化を制御するペプチドの創製。(b) ペプチドと DNA を用いた無機物沈殿の位置特異的制御。

部2年生の学生実験におきまして、ペプチド固相合成を教えております。C末端付近にトリプトファン、N末端にはダンシル基を配置する以外はほぼ自分の好きなアミノ酸を選んで合成できるというユニークな試みで、出来たペプチドのFRET効率や、プロテアーゼでの切断の違いなどを、各々のペプチド配列を比べることで考察させるといった内容で行っています。

5. おわりに

本稿では私が携わってきた二次構造を形成する設計ペプチドを用いたナノバイオ工学への展開研究について概説しました。私が行ってきた研究により少しでも、ペプチド研究のナノバイオ分野への様々な展開の一助になればと思います。また、私の研究・教育活動により少しでもペプチド学会・ペプチド科学のお役に立てられればと思います。最後になりましたが、当該研究は、東京工業大学大学院生命理工学研究科の三原久和先生、スクリプス研究所のJeffery W. Kelly先生、Evan Powers先生、東京工業大学大学院総合理工学研究科の小島英理先生、龍谷大学理工学部物質化学科の富崎欣也先生の御指導と御協力のお陰で遂行することができました。本紙面をお借りして、深く感謝申し上げます。また、研究を遂行するにあたってご協力いただいた多くの学生諸氏、共同研究者の先生方に改めて御礼申し上げます。これからも更なるペプチド研究の発展に貢献し、また自身の研鑽を積み上げていく所存です。今後ともご指導、ご鞭撻のほど、よろしくお願い申し上げます。

文献

- 1) Usui, K.; Takahashi, M.; Nokihara, K.; Mihara, H. *Mol Divers* 2004, 8, 209-218.
- 2) Usui, K.; Tomizaki, K.-y.; Ohya, T.; Nokihara, K.; Mihara, H. *Mol BioSyst* 2006, 2, 113-121.
- 3) Watanabe, S.; Usui, K.; Tomizaki, K.-y.; Kajikawa, K.; Mihara, H. *Mol BioSyst* 2005, 1, 363-365.
- 4) Usui, K.; Tomizaki, K.-y.; Mihara, H. *Mol BioSyst* 2006, 2, 417-420.
- 5) Tomizaki, K.-y.; Usui, K.; Mihara, H. *ChemBioChem* 2005, 6, 782-799.
- 6) Usui, K.; Tomizaki, K.-y.; Mihara, H. *Methods Mol Biol* 2009, 570, 273-284.
- 7) Usui, K.; Kikuchi, T.; Kikuchi, K.; Mie, M.; Kobatake, E.; Mihara, H. *Bioorg Med Chem Lett* 2014, 24, 4129-4131.
- 8) Usui, K.; Kikuchi, T.; Mie, M.; Kobatake, E.; Mihara, H. *Bioorg Med Chem* 2013, 21, 2560-2567.
- 9) Usui, K.; Kikuchi, T.; Tomizaki, K.-y.; Kakiyama, T.; Mihara, H. *Chem Commun* 2013, 49, 6394-6396.
- 10) Usui, K.; Tomizaki, K.-y.; Mihara, H. *Methods Mol Biol* 2016, 1352, 199-210.
- 11) Usui, K.; Hulleman, J. D.; Paulsson, J. F.; Siegel, S. J.; Powers, E. T.; Kelly, J. W. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009, 106, 18563-18568.
- 12) Usui, K.; Hulleman, J. D.; Paulsson, J. F.; Siegel, S. J.; Powers, E. T.; Kelly, J. W. *Peptide Science* 2009, 2010, 21-22.
- 13) Okada, A.; Usui, K. *Chemical Biology of Nucleic Acids: Fundamentals and Clinical Applications*; Springer: Berlin, 2014; 459-475.
- 14) Usui, K.; Okada, A.; Kobayashi, K.; Sugimoto, N. *Org Biomol Chem* 2015, 13, 2022-2025.
- 15) Ozaki, M.; Nagai, K.; Nishiyama, H.; Tsuruoka, T.; Fujii, S.; Endoh, T.; Imai, T.; Tomizaki, K.-y.; Usui, K. *Chem Commun* 2015, in press.

うすい けんじ
甲南大学フロンティアサイエンス学部
バイオ計測化学研究室
kusui@center.konan-u.ac.jp

平成27年度日本ペプチド学会奨励賞を受賞して

この度は、日本ペプチド学会奨励賞という名誉ある賞を頂戴し、大変光栄に存じます。学会長の赤路健一先生をはじめ、理事、監事、評議員、選考委員の諸先生方に本紙面をお借りして、改めて深く御礼申し上げます。本稿では、受賞の対象となりました「ペプチド性バイオマーカーや分子プローブを用いた医薬分野への応用研究」について、受賞講演では紹介できなかった部分も含め概説させていただきます。



片桐 文彦

はじめに

私は、学部4年時の研究室配属で藤井信孝教授の主宰する薬品有機製造学分野に配属し、以後、大きく研究分野を替えながらも「ペプチド」をキーワードとした研究に従事してまいりました。京都大学薬学部並びに大学院薬学研究科修士課程に在学中は、藤井信孝教授、大高章助教授（当時、現 徳島大学教授）、玉村啓和講師（当時、現 東京医科歯科大学教授）のご指導の元、アミド結合を二重結合に置換した非水解性ペプチドミメティックスの合成研究に携わらせていただきました。大学院終了後は、大分医科大学（現 大分大学）医学部附属病院薬剤部に入職し、武山正治教授・薬剤部長のご指導を受け、薬剤師としての業務に携わる傍ら、生理活性ペプチドをバイオマーカーとする病態・薬効解析研究に従事いたしました。この間に、自らの研究を論文にまとめて投稿したり、次の研究テーマを発案したりと、研究者としての端緒を開いたと思います。これらの研究の一部をまとめ、京都大学より博士（薬学）を取得することができました。その後、東京薬科大学薬学部病態生化学教室に着任してからは、それまでの生理活性ペプチドをバイオマーカーとする病態・薬効解析研究に加え、医療分野への応用を目的に細胞生物学を基盤とした細胞接着ペプチドの分子プローブとしての開発研究を新たに展開してきました。

生理活性ペプチドをバイオマーカーとする病態・薬効解析

私は、生理活性ペプチドをバイオマーカーとして捉えて体液中濃度を測定・解析することにより、臨床診断や薬効解析への応用研究を行ってきました。大分大学在籍時は、血液や唾液中の消化管ペプチド（脳腸ペプチド）をバイオマーカーとして消化管作動薬や漢方薬の薬効評価を行いました。特に漢方薬は経験的に用いられることが多く、かつ複合成分の製剤のため、臨床で行われる血中薬物濃度を指標とした薬効評価は不可能な薬剤です。東洋医学の根本的な考え方として、病気を治療する（原因を除去する）のではなく、病態（体質）を改善することが目的であることから、慢性疾患の治療が中心であり、即座に目に見える効果が期待できません。また、漢方薬の投与が奏効する患者（responder）と全く効かない患者（non-responder）

に分かれ、繰り返し診察を行い、処方内容を変更することで、その患者にあった調合を決定していくのが本来の治療方法となっています。私は、主に慢性的な消化器症状（胃もたれ、食欲不振など）に効果があるとされる漢方方剤2剤（小半夏加茯苓湯、二陳湯）を単回投与した際の血漿中脳腸ペプチド濃度を測定することで、それらの薬効が脳腸ペプチド（ソマトスタチン、ガストリン、モチリン）濃度を变化させることに起因していることを明らかにしました^{1,2)}。

また、視床下部から分泌される生理活性ペプチドのキスペプチンに着目し、病態との関連の解明と診断への応用を目指して研究を行ってきました^{3,4)}。キスペプチンは、視床下部-下垂体-性腺（HPG）軸（図1）という生殖をコントロールする調節ユニットのさらに上位に位置し、視床下部からの性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）分泌を調節する生理活性ペプチドとして位置付けされています。HPG軸のどこかに障害が起こると性腺機能低下症を発症します。本来であれば、GnRH濃度を測定することで、その原因を特定し、治療を行うべきですが、GnRHは末梢血で測定することができません。一方、キスペプチンは末梢でも測定することが可能で、私たちはいくつかの症例の血漿中キスペプチン濃度を測定し、性腺機能低下症の原因によって、血漿中のキスペプチン濃度が様々に変化することを明らかにしました⁴⁾。また、最近、HPG軸を中心とした性腺刺激ホルモンや性ホルモン以外の因子が、キスペプチン分泌に影響を与えていることを示唆する結果が得られてきました（図1）³⁾。現在、関連すると考えられるペプチドを網羅的に測定し、キスペプチンを介したHPG軸の調節機構の解明を目指して研究を展開しています。

ラミニンペプチドライブラリーを用いたペプチド性分子プローブの開発

東京薬科大学に着任後は、基底膜の主要糖タンパク質であるラミニンのアミノ酸配列を網羅するペプチドライブラリーを構築し、種々の評価系を用いたスクリーニングによるラミニン活性ペプチドの同定、活性ペプチドの機能解明と構造活性相関研究を行ってきました。基底膜は、個体の発生や分化あるいは

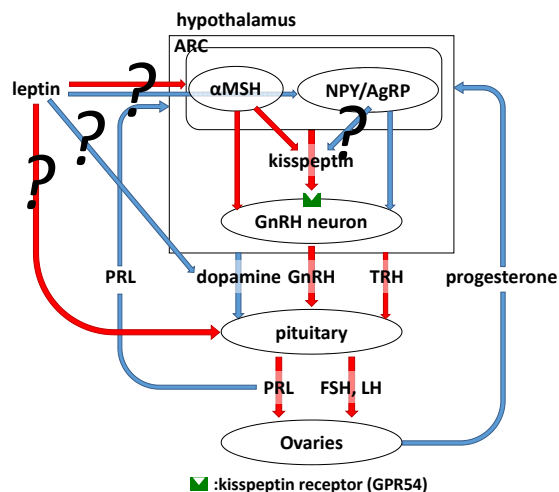


図1 HPG軸を取り巻く生理活性物質

んの増殖・転移などに深く関与している細胞外マトリックスで、ラミニンがその主要な機能を担っています。ラミニンは α 、 β 、 γ の3種類の鎖から構成される糖タンパク質で、5種類の α 鎖、3種類ずつの β 鎖と γ 鎖の組み合わせで、ラミニン-111 ($\alpha1\beta1\gamma1$) からラミニン-523 ($\alpha5\beta2\gamma3$) の19種類のラミニンアイソフォームが同定されています。各アイソフォームは発生段階や組織特異的に発現し、器官形成、神経網再生、血管新生、創傷治癒など様々な機能に関与しています。私は現在までに、全11種類のラミニンサブユニットのアミノ酸配列を網羅する合成ペプチドライブラリー（全24,244残基、2,546種類のペプチド）をデザイン・合成し、様々なスクリーニングに附すことで、細胞接着ペプチドを見出し、機能解明を行い、構造活性相関研究によって疾患の原因究明や治療を目指したペプチド性分子プローブの開発を行っています（図2）。主な研究ターゲットはインテグリン特異的なリガンドの探索で、現在までにラミニンペプチドライブラリーを細胞接着スクリーニングに附すことで、多くのインテグリン結合ペプチドを報告してきました⁵⁻⁸⁾。直近では、ラミニン β 鎖のアミノ酸配列を網羅するペプチドライブラリーを細胞接着スクリーニングに附すことにより、インテグリン $\alpha3\beta1/\alpha6\beta1$ に結合する B67 (IPYSMEYEILIRY, マウスラミニン $\beta1$ 鎖255-266) を見出しました⁹⁾。ラミニンはサブユニットによっては相同性が高く、ペプチドに分解した場合も相同性の高いペプチドがデザインすることができます。ラミニン $\beta2$ 鎖のB67に相当する配列 B2-64 (LPRAMDYDLLLRW, マウスラミニン $\beta2$ 鎖618-630) は細胞接着活性を示さなかったため、B67とB2-64の配列を基本にアミノ酸を置換したペプチドを用いた実験から、8番目のGluがインテグリン結合活性に不可欠であることを見出しました⁹⁾。

また、ラミニン α 鎖のC末端領域は、5つの球状モジュール（LGモジュール）が連なった構造を形成しており（Gドメイン）、X線結晶構造解析によって各LGモジュールは14本（A-N）の β ストランドが重なり合った構造を形成していることが明らかとなっています（図3）。その中でもEストランドとFストランド、およびそれをつなぐループ領域はタンパク質の表面に露出し、生物活性を担っていることが示唆されています。そこで、本領域（EFループ領域）を網羅するペプチドを用いて細胞接着活性を評価したところ、インテグリン $\alpha2\beta1$ 結合活性には折り返し構造が必要であること、かつ折り返し領域に「酸性アミノ酸-Gly-塩基性アミノ酸」モチーフを含む必要があることが明らかとなりました（図4）¹⁰⁾。一方、Gドメインのアミノ酸配列から中心にGlyを配し、どちらかに酸性アミノ酸残基が位置する配列を抽出したところ、必ずしも細胞接着活性を示すとは限らず、また、これらの円二色性スペクトル解析から、細胞接着活性を示すペプチドは何らかの2次構造を形成しており、ランダムコイル構造を形成するペプチドは細胞接着活性を

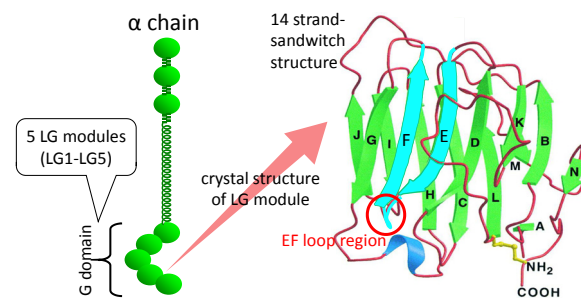


図3 ラミニン α 鎖GドメインとLGモジュールのX線結晶構造解析

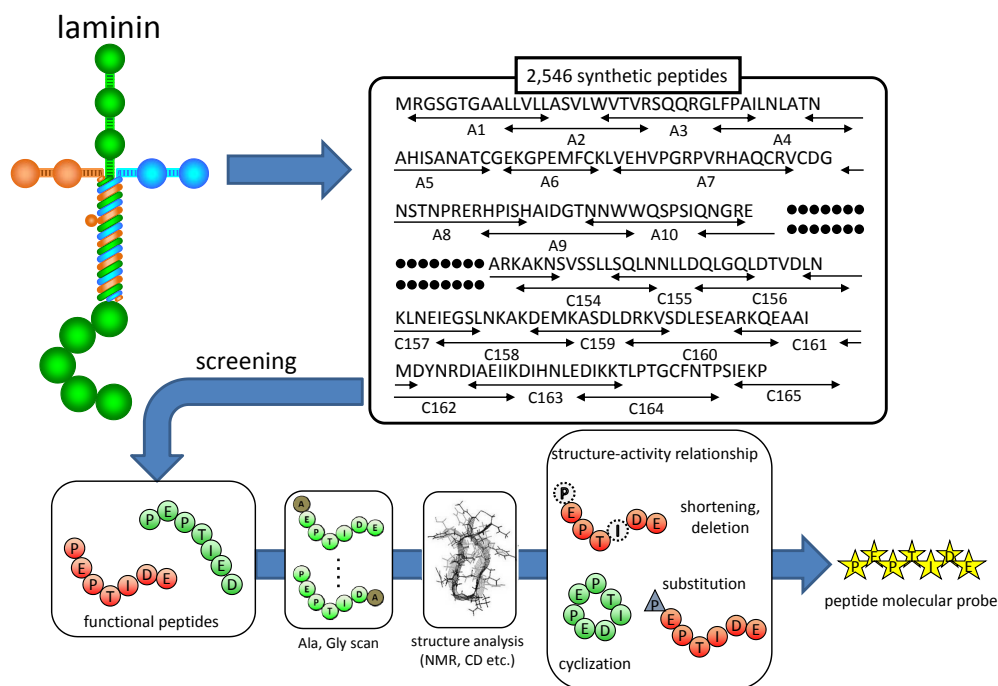


図2 ペプチド性分子プローブの開発戦略

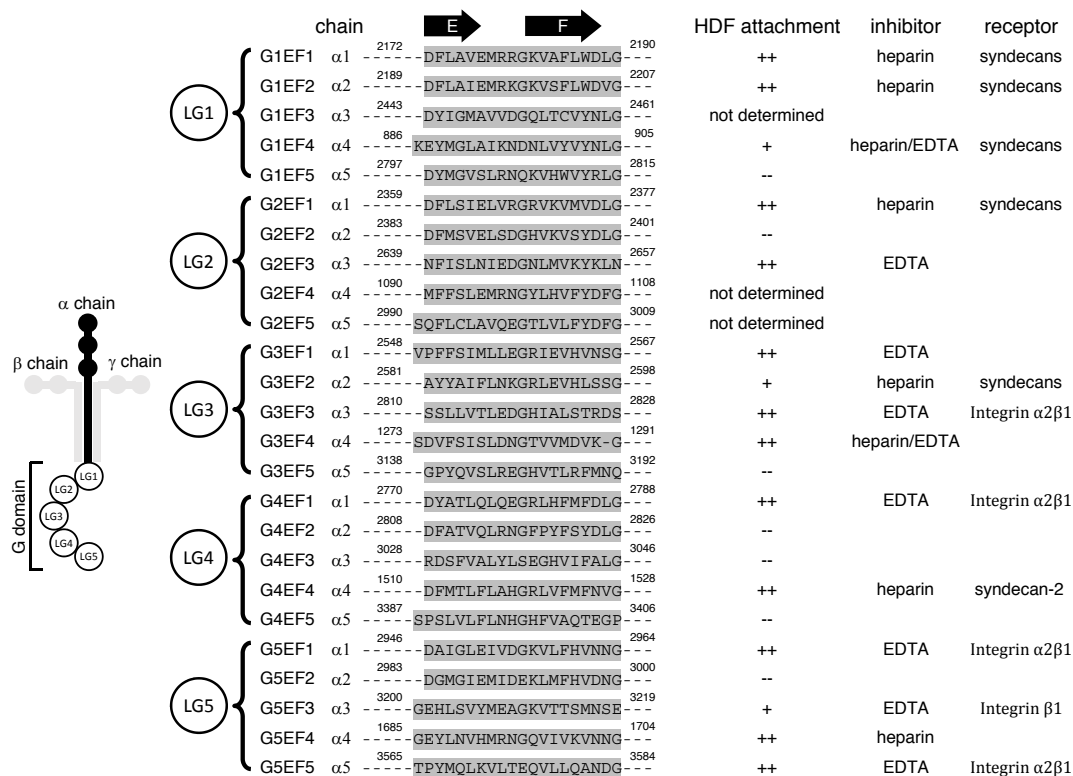


図4 EFループ領域配列由来ペプチドの細胞接着活性

示さないことがわかってきました（論文準備中）。最近では、これまでの研究を継続するとともに、iPSやES細胞などの接着に重要であるインテグリンα6β1に結合するペプチドA2G10（SYWYRIEASRTG、マウスラミニンα2鎖2223-2234）の構造活性相関研究など、幅広い領域で応用可能なペプチド性分子プローブの開発に取り組んでいます。

おわりに

最後になりますが、本奨励賞にご推薦いただき、ならびに本稿の大半の研究に対してご指導頂きました野水基義先生に心から感謝申し上げます。一人の研究者として導いていただいた、武山正治先生に深く感謝申し上げます。学生時代より未熟な私を温かく見守り、ご指導いただいた藤井信孝先生、大高章先生、玉村啓和先生、また、現職で新しい分野の研究に携わるに際しご指導ご協力いただいている吉川大和先生、保住建太郎先生に深く御礼申し上げます。研究にご協力いただいた、共同研究者の方々、大分大学医学部附属病院の同僚、東京薬科大学薬学部病態生化学教室の学生諸氏に心よりお礼申し上げます。まだまだ未熟な身ですが、これからも多くの研鑽を積み、研究を発展させ、日本ペプチド学会、日本のペプチド科学の発展に少しでも寄与していきたいと考えております。今後とも、ご指導ご鞭撻の程、よろしくお願い申し上げます。

参考文献

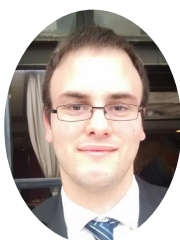
- 1) Katagiri, F.; Inoue, S.; Sato, Y.; Itoh, H.; Takeyama, M. Biol Pharm Bull 2004, 27, 1679-1682.
- 2) Katagiri, F.; Itoh, H.; Takeyama, M. Biol Pharm Bull 2004,

- 27, 1674-1678.
- 3) Katagiri, F.; Kotani, M.; Hirai, T.; Kagawa, J. Biochem Biophys Res Commun 2015, 458, 663-666.
- 4) Kotani, M.; Katagiri, F.; Hirai, T.; Kagawa, J. Endocr J 2014, 61, 1137-1140.
- 5) Hozumi, K.; Akizuki, T.; Yamada, Y.; Hara, T.; Urushibata, S.; Katagiri, F.; Kikkawa, Y.; Nomizu, M. Arch Biochem Biophys 2010, 503, 213-222.
- 6) Urushibata, S.; Hozumi, K.; Ishikawa, M.; Katagiri, F.; Kikkawa, Y.; Nomizu, M. Arch Biochem Biophys 2010, 497, 43-54.
- 7) Urushibata, S.; Katagiri, F.; Takaki, S.; Yamada, Y.; Fujimori, C.; Hozumi, K.; Kikkawa, Y.; Kadoya, Y.; Nomizu, M. Biochemistry 2009, 48, 10522-10532.
- 8) Katagiri, F.; Ishikawa, M.; Yamada, Y.; Hozumi, K.; Kikkawa, Y.; Nomizu, M. Arch Biochem Biophys 2012, 521, 32-42.
- 9) Katagiri, F.; Takagi, M.; Nakamura, M.; Tanaka, Y.; Hozumi, K.; Kikkawa, Y.; Nomizu, M. Arch Biochem Biophys 2014, 550-551, 33-41.
- 10) Katagiri, F.; Hara, T.; Yamada, Y.; Urushibata, S.; Hozumi, K.; Kikkawa, Y.; Nomizu, M. Biochemistry 2014, 53, 3699-3708.

かたぎり ふみひこ
東京薬科大学薬学部病態生化学教室
katagiri@toyaku.ac.jp

Cédric Rentier, 52nd Japanese Peptide Symposium
oral session young investigator award winner

After a Master degree in Organic Chemistry from University of Cergy-Pontoise (France), I joined in late 2011 the team of Prof. Anna Maria Papini for a PhD thesis, in a cotutelle project between Universities of Cergy-Pontoise and Florence (Italy), which taught me early the importance of mobility and international collaborations in research. Being appointed Temporary Research & Teaching Assistant in 2014–2015 at the University of Cergy-Pontoise during my final year of PhD, I graduated in July 2015. I joined in October 2015 the team of Prof. Yoshio Hayashi in Medicinal Chemistry department of the Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, as a post-doctoral fellow.



Cédric Rentier

First and foremost, I would like to thank the organizing committee, the Chairmans Prof. Hironobu Hojo, Prof. Toshiyuki Inazu and Prof. Hidekazu Katayama and all the symposium staff. This 52nd Japanese Peptide Symposium was definitely a success no matter which angle you look at it, and I am glad I have been able to attend.

Recognition is also due to my former PhD advisors, Prof. Anna Maria Papini and Prof. Paolo Rovero, who made me the young scientist and taught me peptide chemistry, without ever forgetting that there is also more to it than mere amide bonds.

Finally, I would not have been able to come in Japan without the trust of Prof. Yoshio Hayashi, which undoubtedly deserve my highest appreciation.

The prize was given in recognition for a part of my PhD work presented in a “Young Investigator” talk entitled “Peptides of the dihydrolipoamide acetyltransferase as synthetic probes of autoantibodies in primary biliary cirrhosis”. This research work aims to apply the novel concept of “Chemical Reverse Approach” to the design, the production, and the immunological screening of synthetic antigens able to specifically detect autoantibodies in sera of patients affected by immune-mediated diseases. Such specific autoantibodies are considered disease biomarkers and

can be used to develop novel diagnostic/prognostic tools for the aforementioned pathologies.¹⁾

Primary biliary cirrhosis (PBC) is an autoimmune cholestatic disease of the liver, characterized by progressive destruction of intrahepatic bile ducts.²⁾ Specific antimitochondrial autoantibodies directed against a lipoylated epitope of the PDC-E2 protein, are considered relevant for the disease. The PDC-E2 protein is involved in the energetic cycle of mitochondria.

However, literature remained unclear about the exact role played by the various elements of the protein in terms of immunogenicity, especially regarding the sequence of amino acids, the three-dimensional conformation and the exact structure of lipoyl group.

Synthesis of lipoylated molecular probes based on a fragment of the native protein PDC-E2(167–186) was developed and optimized. For this, the set-up of the synthesis of lipoylated building became necessary, because literature did not provide a practical approach for the controlled introduction of lipoyl group.³⁾ Synthesis of Fmoc-Lys(Ne-lipoyl)-OH diastereoisomers has been developed and optimized for the selective introduction of lipoamides (*R*) or (*S*) into the peptide antigens.⁴⁾

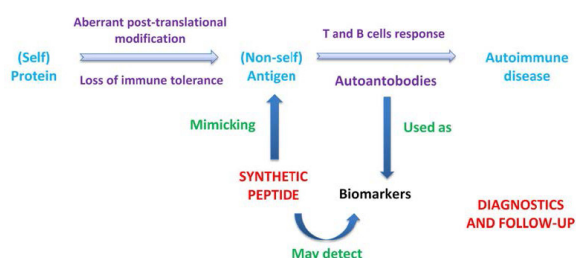
These new synthetic antigens were tested on PBC patients’ sera. The results showed that: 1) the PDC-E2 sequence is fundamental for antibody recognition; 2) dithiolane lipoyl-lysine chirality does not seem to have any significant influence on antibody recognition; 3) the unlipoalated analogue of the native protein appears to detect a more relevant antibody titer than the lipoylated one.

Conformational analysis (CD, NMR and molecular modeling) demonstrated that the presence of the lipoyl moiety to the PDC-E2 changing the three-dimensional structure, by hydrophobic interactions between the lipoylation and other residues (especially Ile).⁵⁾

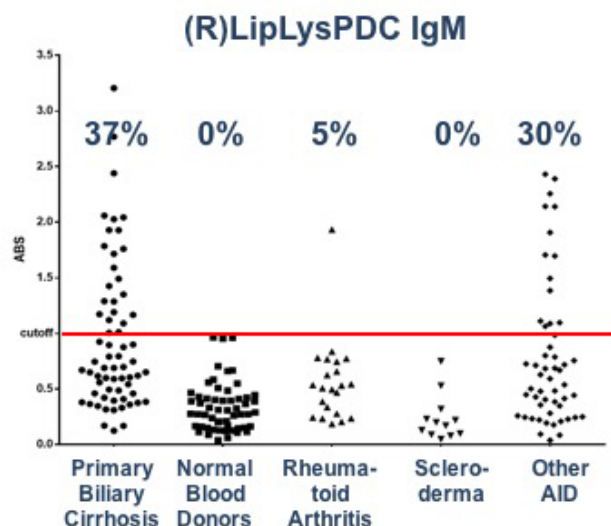
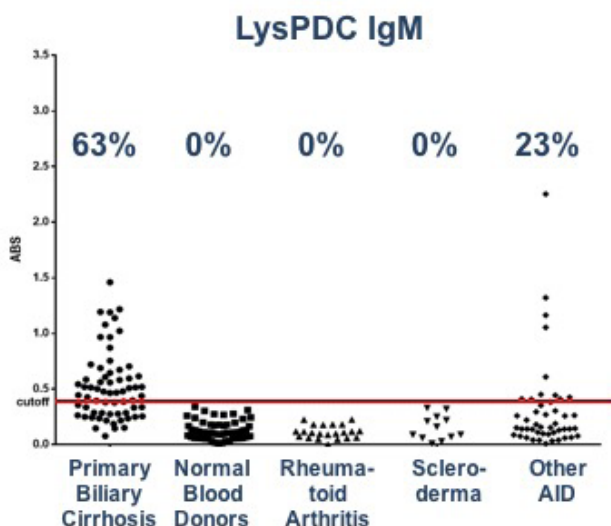
This could be an assumption in favor of a “epitope masking”, and a delipoylation as post-translational modification which would be one of the events at the origin of the PBC.

The award given by the Japanese Peptide Society comes as a recognition, not only for me but also for all my collaborators, that the research performed in a European context is of the highest quality and the proof that Japanese scientific community is also very attentive and open-minded to overseas works.

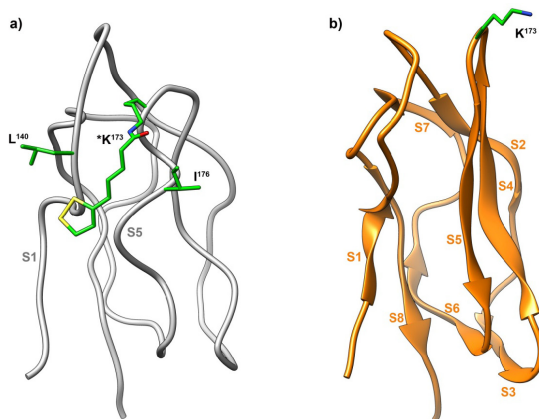
As a scientist, this is an additional motivation to work harder than ever. Research has become a very competitive world in the last few years, and it is difficult for young people to fit in, in Japan, Europe, or wherever you can imagine. Motivated and talented people are still around, waiting for occasions to shine. These prizes are the perfect opportunity and I wish there were more for young generations.



Schematic representation of the Chemical Reverse Approach



Results of the ELISA tests using Lys¹⁷³PDC-E2(167-186)- KKKK and [(R)-Lipoamide-Lys]¹⁷³PDC-E2(167-186)- KKKK as synthetic antigens with several patients' sera cohorts.



Molecular modeling, ribbon representation of lipoylated (left) and unlipoylated (right). Only side chains of relevant amino acids are represented.

References

- 1) Papini, A.M. *Journal of Peptide Science* **2009**, *15*, 621-628.
- 2) Selmi, C.; Bowlus, C.L.; Gershwin, M.E.; *et al. Lancet* **2011**, *377*, 1600-1609.
- 3) Rentier, C.; Pacini, G.; Nuti, F.; *et al. Topics in Heterocyclic Chemistry* **2015**, *in press*, DOI 10.1007/7081_2015_193.
- 4) Rentier C.; Pacini, G.; Nuti, F.; *et al. Journal of Peptide Science* **2015**, *21*, 408-414.
- 5) Pacini, G.; Carotenuto, A.; Rentier, C.; *et al. Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *58*, 6619-6629.

セドリック レンティール
東京薬科大学薬学部
crentier@toyaku.ac.jp

7th International Peptide Symposium (IPS) 参加報告

7th International Peptide

Symposium (IPS) が、2015年12月9日-11日の3日間、シンガポールのワン・ノースに位置するバイオポリスで開催されました。ワン・ノースは、シンガポール国立大学の近く、シンガポールの都心部から少し西に外れた場所にある地域を指します。



秋柴美沙穂

(都心から外れているといっても有名なマライオンまで電車で30分ほどです。)ここは、シンガポールにおける研究開発の拠点として、計画的に設計された地域です。バイオポリスは、バイオ部門を担うエリアを指し、公共の研究機関と企業の研究所が同一の敷地内にあります。設備・インフラを共有することで、研究開発の連携を促進・効率化しているそうです。このエリアを歩くと、世界的に名が知られる大手企業のロゴが至る所で目につきます。見た目はおしゃれなビジネス街で、研究所とは思えないスタイリッシュな場所でした。毎朝の学会会場への通勤(?)で、キャリアウーマンになったような気分が味わえました。

私にとって今回のIPSは二度目の国際会議への参加とシンガポール滞在でした。ちょうど1年前の2014年の12月に、シンガポール国立大学で開催された3rd Asian Chemical Biology Conferenceでポスター発表した際は、簡潔な説明ができず悔しい思いをしており、今回は昨年の反省を活かす機会と思って参加しました。この一年間での学会経験なども積み重なってか、前回よりは自信を持って行うことができたと思います。嬉しいことにポスターには多くの方が興味を持ってくださり、自分の研究を面白いと思ってくれる人が広い世界のどこかにいるということに、単純にとってもわくわくし、今後研究を進めていくうえで大変励みになりました。



バイオポリスの12棟のビル（+P&Gビル）。ビルはそれぞれChromosやProteosなどバイオにちなんだ名称がつけられています。



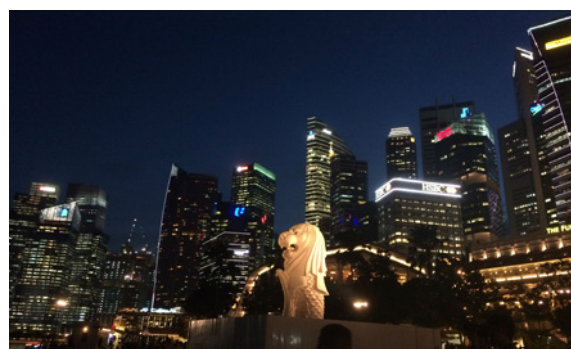
ホテル近くのショッピングモール。クリスマスモードにあふれていました。

学会での休憩中、機会を得てオーガナイザーの一人であるTam先生にご講演について質問すると、とても丁寧に、そして嬉しそうに研究について説明してくださったことが記憶に残っています。素敵な対応をして頂いた経験は、今後もこのような機会を積極的に設けようというやる気を与えてくれました。しかし同時に、理解するので精一杯で、議論をするにはまだまだ英語力も知識も足りないことを痛感しました。興味を持った研究についてその研究者自身から直接話を聞くことは非常に楽しく、次の機会ではもっとその楽しさを感じられるよう、精進していこうと思います。

所属研究室から学生として1人での参加ということで、同じ日本からの学生と共に行動をさせてもらいました。そのおかげでシンガポールならではの夜景や食事を賑やかに楽しむことができ、とても楽しい時間を



シンガポールのローカルフード、チリクラブ。殻を割って手をベタベタにしながら食べます。しっかり詰まった身と甘辛いタレが本当においしいです。奥の揚げパンをタレに付けたものが最高でした。



マーライオン公園にて

過ごしました。

今回の発表で、Best poster awardを受賞することができました。IPSへの参加、賞の受賞は二木史朗教授をはじめとする諸先生方の日頃の御指導により実現することができました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

本学会参加に際して、日本ペプチド学会よりTravel Awardとしてご支援を頂いたこと、そしてこのような執筆の機会を頂いたことを併せて、日本ペプチド学会の役員および選考委員の先生方・ペプチドニュースレター編集委員の先生方に心より御礼申し上げます。

あきしば みさお
京都大学化学研究所生体機能設計化学
akishiba.misao.87m@st.kyoto-u.ac.jp

第22回ペプチドフォーラム 「機能性分子としてのペプチドと医薬品創製」

日 時：2016年3月5日（土）13：00～17：50
（受付開始12：30より）

会 場：金沢大学 サテライト・プラザ
（金沢駅よりバス約5分→武蔵ヶ辻で下車後、徒歩約3分）

http://www.adm.kanazawa-u.ac.jp/ad_koho/satellite/

〒920-0913 石川県金沢市西町三番丁16番地

金沢市西町教育研修館内 Tel 076-232-5343

主催：日本ペプチド学会

共催：日本薬学会，日本化学会

後援：北陸大学

世話人：興村桂子（北陸大学）

小野 慎（金沢工業大学）

- ・ 合成糖鎖によるレクチン様分子シャペロンの基質認識機構の解明
（富山大）迫野昌文
- ・ 非天然アミノ酸導入技術のバイオ医薬への応用展開
（北陸先端大）芳坂貴弘
- ・ 発癌関連ホスファターゼに対する新規基質同定法と阻害剤の開発
（新潟大）中馬吉郎
- ・ ペプチドを用いた細胞内デリバリー
（京大）二本史朗
- ・ 特殊環状ペプチドによる人工細胞増殖因子の創製
（金沢大）松本邦夫
- ・ 膜脂質を動かすペプチドのデザイン
（富山大）中野 実
- ・ ラミニンの活性ペプチドを用いた人工基底膜の創製
（東京薬大）野水基義

事前参加登録：

参加をご希望の方は2月29日（月）までに、事務局宛にメールでご登録ください。

（当日参加可）

参加費：無料

申込・問合せ：

〒920-1181 石川県金沢市金川町ホ3番地

北陸大学 薬学部 臨床薬学教育センター

興村桂子

Tel: 076-229-1165

E-mail: k-okimura@hokuriku-u.ac.jp

生命分子機能研究会セミナー 2016 「生命分子・ペプチド科学に基づく創薬： 医療への貢献」

日時：2016年3月18日（金）13：00～17：40

会場：長浜バイオ大学 命江館3階 中講義室3

主催：生命分子機能研究会

共催：長浜バイオ大学，長浜バイオ大学ペプチド科学研究室

協賛：日本ペプチド学会，日本薬学会，日本化学会，日本農芸化学会，日本生化学会，日本薬理学会，日本内分泌学会，日本病態プロテアーゼ学会

後援：日本ケミカルバイオロジー学会，ペプチド機能研究会

スケジュール

13：00～13：05

はじめに 木曾良明（長浜バイオ大学）

13：05～13：35

丸山 透（小野薬品）

「生理活性脂質創薬の新たな展開」

13：35～14：05

西田晴行（武田薬品）

「新規カリウムイオン競合型アシッドブロッカー
ボノプラザンフマル酸塩（TAK-438）の創製」

14：05～14：35

山村由孝（大塚製薬）

「バソプレッシン V2- 受容体拮抗薬サムスカの創薬と臨床応用」

14：35～15：10

深瀬浩一（阪大理）

「機能集積中分子の創製を目指して：反応集積による合成的アプローチ」

15：10～15：30

休憩

15：30～16：05

川上浩司（京大医）

「医療ビッグデータを用いた臨床研究の現状と展望」

16：05～16：35

野尻 崇（国循ペプチド創薬）

「ANPの血管保護作用による癌転移抑制効果の発見－世界初の臨床試験開始－」

16：35～17：10

中尾一和（京大医）

「トランスレーショナルサイエンス－稀少難病から生活習慣病へ」

17：10～17：15

おわりに 向井秀仁（長浜バイオ大学）

17：15～17：40

ミキサー

18：00～20：00

情報交換会（長浜ロイヤルホテル）

参加費：一般 2,000円，学生 無料

（当日お支払い下さい。）

情報交換会参加費：

一般 8,000円，学生 3,000円

（当日お支払い下さい。）

参加登録：必要，定員140名，参加を希望される方は3月11日（金）までにメールにてご登録下さい。（余裕があれば当日も受け付けます。）

連絡先：〒526-0829 滋賀県長浜市田村町1266番地

長浜バイオ大学ペプチド科学研究室

担当：向井秀仁

メール：biomol@nagahama-i-bio.ac.jp

電話：0749-64-8113 Fax：0749-64-8140

Web: <http://www.nagahama-i-bio.ac.jp/>

<http://biomol.kenkyuukai.jp/>

日本ペプチド学会
平成 28 (2016) 年度 年間行事予定

平成28年年初から

Akabori Memorial Award, 奨励賞, Travel Award
募集

平成28年度 4 月 (予定)

第91回新旧合同理事会

平成28年 8 月 3 日 (水) ~ 8 月 5 日 (金)

第48回ペプチド若手夏の勉強会

世話人: 瀧 真清 (電気通信大学)

堤 浩 (東京工業大学)

後藤佑樹 (東京大学)

高橋 剛 (群馬大学)

平成28年10月25日 (火) (予定)

第92回理事会・35回評議会合同会議

平成28年10月26日 (水) ~ 10月28日 (金)

第53回ペプチド討論会

場 所: 京都テルサホール (京都府京都市)

世話人: 赤路健一 (京都薬科大学)

平成28年10月27日 (木) (予定)

平成28年度日本ペプチド学会 通常総会

平成28年10月29日 (土)

日本ペプチド学会市民フォーラム

場 所: 京都薬科大学 (京都府京都市)

世話人: 赤路健一 (京都薬科大学)

平成28年12月 (未定)

第93回理事会

平成28年度: 海外ペプチドシンポジウム

(若手参加支援対象分)

平成28年 6 月24日 ~ 6 月25日

20th Korean Peptide Protein Symposium

平成28年 7 月 4 日 ~ 7 月 7 日

5th APIPS (14th Chinese Peptide Symposium,
Nanjing, China)

平成28年 9 月 3 日 ~ 9 月 9 日

34th European Peptide Symposium, 8th IPS (Leipzig,
Germany)

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

林 良雄 (担当理事)

(東京薬科大学薬学部薬品化学教室)

TEL・FAX 042-676-3275

e-mail: yhayashi@toyaku.ac.jp

中馬 吉郎 (新潟大学理学部化学科)

TEL 025-262-3130, FAX 025-262-6168

e-mail: chuman@chem.sc.niigata-u.ac.jp

中瀬 生彦 (大阪府立大学ナノ科学・材料研究セ
ンター)

TEL・FAX 072-254-9895

e-mail: i-nakase@21c.osakafu-u.ac.jp

保住 建太郎 (東京薬科大学薬学部)

TEL・FAX 042-676-5670

e-mail: hozumi@toyaku.ac.jp

松島 綾美 (九州大学大学院理学研究院)

TEL 092-802-4159, FAX 092-802-4180

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

(本号編集担当: 松島 綾美)