

社団法人 日本化学会 バイオテクノロジー部会

# NEWS LETTER

*Division of Biotechnology, The Chemical Society of Japan*

Vol.12, No.1 (2008.11.30)

## 目 次

◆巻頭言	.....	1
◆研究紹介	.....	2
◆学会見聞録	.....	6
◆掲示板	.....	7
◆編集後記	.....	8

## 「今年のノーベル化学賞に想う」

今年のノーベル賞受賞は、日本人の受賞ラッシュで湧きました。なかでも、化学賞の下村先生の受賞理由となった GFP の発見は、日頃から研究室で気軽に扱っている物質であり、大変身近なものに感じられました。また、この受賞は、日本全国にクラゲブームを巻き起こしているようです。山形県の加茂水族館は、廃館寸前の状態でしたが、下村先生の受賞をきっかけに、今や1週間に6000名以上の集客を誇る観光名所の一つとなっています。当研究室でも、このブームにあやかりたいと、早速、後期の学生実験に GFP を取り入れ、学生の人気 up を目論んでいます。

さて、ここで大きな問題は、下村先生のこの偉大な業績の多くが、アメリカ（プリンストン大）での研究成果に対するものであるということです。果たして今の日本の大学で、このような地道な研究が出来るでしょうか？これまで、海にでては、何万匹のクラゲを捕獲し、その内容物の解析に一生を捧げられたこの研究スタイルが、決して今の日本の大学で受け入れられるとは思いません。下村先生は、ノーベル化学賞受賞時のコメントとして、最近の科学研究をめぐる状況に不安を感じると述べられています。最近の研究者は、成果の出やすい目先の成果を追うことが多い。もっと根本原理に迫る研究者が出てきて欲しいと述べておられます。まさに耳の痛い話です。

大学は、今、科研費申請の時期を迎えています。本年度より、府省横断型の研究管理システム（通称 e-Rad）なるものが導入され、エフォート管理が正確になされるようになりました。申請書の額に見合ったエフォートを獲得しようとすると、たちまち100%をオーバーしてしまいます。苦肉の策は、運営管理のエフォートを5%まで小さくしました。ところが、実体はどうでしょう？本年度より部門長（主任）に就任した私の毎日は、運営管理と言ういわゆる雑用に追いまくられ、実際の8割以上の時間を費やしています。しかし、一方で私が米国(MIT)に留学した際も、教授の先生が、このような雑用に追いまくられた姿を見たことがありません。この違いは、どこからくるのでしょうか？将来有望な若手研究者の海外流出を抑えるためにも、今日本と米国の大学のシステムの違いを検証する必要があるのではないのでしょうか？

後藤雅宏（九州大学工学研究院 応用化学部門）

## ◆ 研究紹介 ◆

オンチップセロミクス計測技術を用いた後天的獲得情報の機能解析

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

安田 賢二

### 1. 緒言

生命科学の研究の歴史は、20世紀になって「ゲノム」の発見により、生命を「情報」という観点から理解する流れが飛躍的に発展してきた。ヒトゲノム計画を始めとしたゲノム情報の包括的理解は、コードされているたんぱく質の組み合わせの可能性を示し、また、生命の進化の歴史を示してくれた。しかし、生命の情報というのは、先天的に与えられ世代間を変化せずに伝承する遺伝子に蓄えられた遺伝情報だけではなく、この遺伝情報が与える膨大な潜在的組み合わせから、実際に環境との相互作用や自分自身の学習によって、いずれかの可能性が選択されて最終的に決まるものである。その観点から、最終的に生命システムを理解するには、このような遺伝子が持つ可能性の蓄積情報から、ひとつの解が選択されるプロセス、すなわち後天的獲得情報の理解を進める必要がある。この後天的獲得情報の機構の解明について、われわれは「細胞」を最小ユニットとして構成的に細胞ネットワークを配置することで生命システムの必要最小構成システムを構築して後天的獲得情報を理解する計測手法「オンチップセロミクス計測」技術の開発を進めている。<sup>1)</sup>

### 2. オンチップセロミクス計測のアプローチ：オンチップ細胞ネットワーク構築・計測技術

後天的情報を保持できる最小構成単位は「細胞」であり、また、この後天的情報を反映した「機能」が計測できる最少単位も「細胞」である。生命システムは、この細胞が機能分担をしながら集団となることで、高次な生命システムの機能を実現しているのであるが、まだ「細胞」という最少単位と「組織」「臓器」などの大きな機能単位との間での相関は分析的アプローチで進められているだけで、実際に構成的なアプローチで「細胞」から「臓器」を再構成することには成功していない。図1上段に示したように、従来の細胞の理解は「臓器レベル」での分析的アプローチと、プレート上でランダムに細胞を培養する「細胞レベル」でのアプローチの2つからなっていたが、「オンチップセロミクス」のアプローチは、この間に位置する「細胞ネットワークレベル」での構成的なアプローチでの機能解析を行うものである。ここで重要なことは、細胞集団を特定の空間配置にすることで、本来、臓器が持っているであろう機能の理解を、細胞の階層の上にある細胞集団、組織、臓器レベルでの進めることと、そのような機能を再現する最小構成の細胞ネットワークを細胞から再構築することで各細胞に直接アクセスすることを可能にして、細胞の機能状態の変化計測をリアルタイムで行うことを可能にすることである。実際には、技術レベルでは、図1下段に示すように、細胞の空間配置を細胞培養中であっても構成的に制御することが可能なアガロース（寒天）の集束近赤外光による微細加工技術<sup>2,3)</sup>、そして3つの非破壊で細胞の状態を1細胞レベルで連続計測できる細胞機能計測技術（細胞電位計測、細胞形状計測、細胞分泌物計測）を利用することで、環境の変化に対する細胞の状態の変化を長期に渡って計測し続けることが可能となっている。

現在、これらの技術を利用することで、心臓臓器モデルの構築と、その期外収縮のメカニズムを構成的に理解する「リエントリーモデル」の研究や<sup>4,5)</sup>、神経細胞ネットワークによる長期記憶モデルの構築と<sup>6)</sup>、そのモデルによるアルツハイマーの記憶障害のダイナミクスの再現の研究などを進めている。

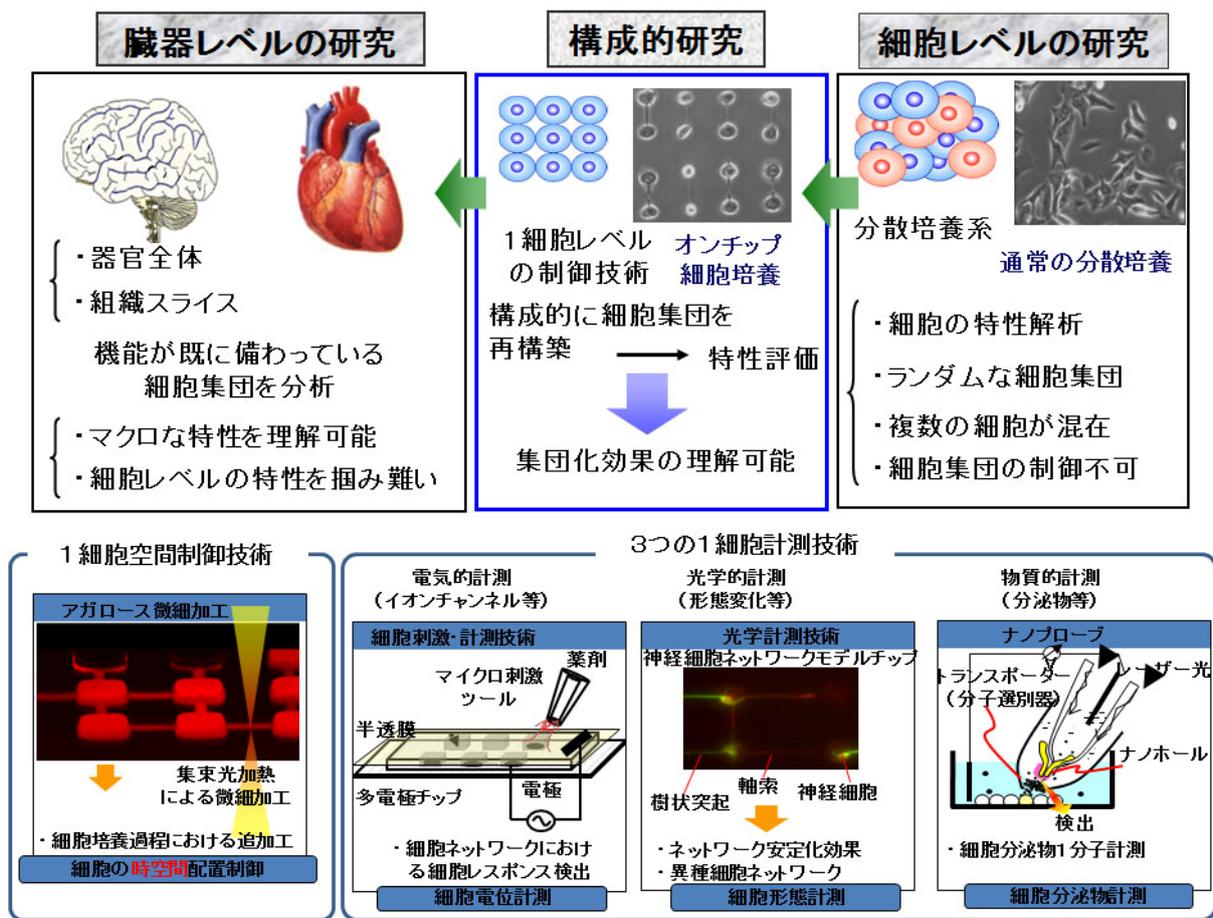


図1 微細加工技術を利用したオンチップセロミクス培養・計測技術

### 3. 結言

1細胞から構成的に構築した細胞ネットワークを用いたオンチップセロミクス計測技術によって「細胞集団が集団サイズの変化によって獲得する特性」「後天的に学んだ獲得情報が、細胞ネットワークにどのように刷り込まれ、保持され、消失して行くか」が明らかにされようとしている。この研究の先にある、「先天的遺伝情報が持つ可能性を、どこまで後天的情報としてわれわれが自由度に制御できるのか」を理解できる日も遠くないと期待している。生命の理解は、生化学的理解、遺伝情報の理解から、微細加工技術を加えた最新の計測技術を駆使することにより、精密で動的な後天的情報を含めた生命情報の理解の段階に進みつつあるのである。

### 参考文献

1. K. Yasuda. Lab-on-Chips for Cellomics (ed. Helene Andersson and Albert van den Berg), 225-256. (2004). (Kluwer Academic Publishers, Netherlands).
2. H. Moriguchi, et al. *Lab Chip*, **2**, 125-130 (2002).
3. A.Hattori, et al. *Sens. & Actuat. B*, **100**, 455-462 (2004).
4. K. Kojima, et al. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **351**, 209-215 (2006).
5. T. Kaneko, et al. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **356**, 494-498 (2007).
6. I. Suzuki, et al. *Lab. Chip*, **5**, 241 – 247 (2005).

外部刺激応答性人工核酸の創製  
- がん細胞特異的遺伝子治療薬の開発を目指して -

東北大学多元物質科学研究所  
和田 健彦  
e-mail: hiko@tagen.tohoku.ac.jp

### 1. 緒言

ヒトゲノム配列決定計画の完了が宣言され<sup>1)</sup>、ゲノムシーケンスのデータに基づく生命化学、生体材料科学は新しい時代に突入した。機能性遺伝子配列、特に遺伝病などの病因遺伝子の配列が明らかにされることで積極的な遺伝子発現制御に基づいたアンチセンス RNA・アンチセンス、siRNA などの遺伝子治療法が可能となり、遺伝子治療用核酸誘導体・核酸関連化合物に関する研究は、最も精力的に研究されている分野の一つである<sup>2,3)</sup>。しかし、従来報告されている遺伝子治療用修飾核酸・核酸モデルは、ターゲット鎖との錯体形成に基づく遺伝情報の発現抑制を目的とし、ターゲット RNA との親和性が高く化学的・酵素的安定性の高い化合物の開発を目的に研究が行われてきた。しかし、単純な抑制的制御だけではなく、ターゲット DNA/RNA との錯体形成/解離機能の制御、すなわち核酸認識能の自在な制御が可能になれば、抑制効果のみならず遺伝情報発現の自在な制御が達成され、遺伝子治療法の新しい応用・適用展開が期待される。この概念を活用すれば例えば、がん細胞特有の細胞内条件変化に応答し、がん細胞のみ遺伝子治療効果を発現する薬剤の開発が可能となり、現在検出困難な極初期段階の見えないがん細胞に対する治療法の開発も見込まれ、有力な遺伝子治療の新戦略構築が期待できる。このような目的のためには、外部刺激によりターゲット核酸に対する認識能・結合親和力が on-off スwitchング制御可能な核酸認識化合物の開発が必要不可欠である。

### 2. 外部刺激応答性人工核酸、ペプチドリボ核酸(PRNA)の設計・合成と機能

このような背景を踏まえ、私は、核酸の認識過程において塩基部の配向が重要であり、効果的な塩基認識にはピリミジン塩基では 2 位カルボニル基が、プリン塩基の場合はピリミジン部が糖部の反対側に存在する *anti* 配向を優先する必要がある、逆の *syn* 配向は塩基認識にとって不利であること、*anti-syn* 塩基部配向は、糖部コンホメーションにより影響を受けることに注目した。すなわち、糖部 2',3'-水酸基を有する核酸認識分子において、外部因子により糖部コンホメーション変化を誘起できれば、塩基部の配向制御が可能となり、その結果として認識制御が期待できる(図1)。そして RNA を核酸認識部位として導入したペプチドリボ核酸(peptide ribonucleic acid; PRNA) と名付けた新しいカテゴリーの人工核酸を設計・合成した<sup>4,5)</sup>。一般にピリミジンヌクレオシドの塩基部は溶液中で、塩基部 2-位カルボニル基と糖部アキシアル位水素間の立体反発に基づき塩基認識・RNA との錯体形成に有利な *anti* 配向を優先する。我々は外部刺激による

塩基認識・RNA との錯体形成に不利な *syn* 配向の誘起を達成するため

1) 塩基部 2 位カルボニル酸素とフラノース部 5'位水素間の水素結合形成、2) フラノース部 2',3'-*cis*-ジオールとホウ酸類との架橋構造形成の協同効果の利用を考案し、5'位水酸基をアミノ基に変換した 5'-アミノウリジン、シチジン (5'-NH<sub>2</sub>-Urd, 5'-NH<sub>2</sub>-Cyd) を合成、ホウ酸類を外部因子とする核酸塩基部の *anti-syn* 配向制御が達成されることを <sup>1</sup>H NMR NOE ならびに円二色(CD)スペクトルにより証明した<sup>4,5)</sup>。

この結果を踏まえ、1)と2)の条件を満足すると共に、様々な塩基配列を有するモデルが容易に合成可能であり、天然核酸と同程度の核酸塩基の繰り返し距離を有する新しいカテゴリーの人工核酸として  $\gamma$ -ペプチドリボ核酸( $\gamma$ -PRNA) を設計・合成した。また、主鎖として  $\alpha$ -helix 構造など高次構造を有することが期

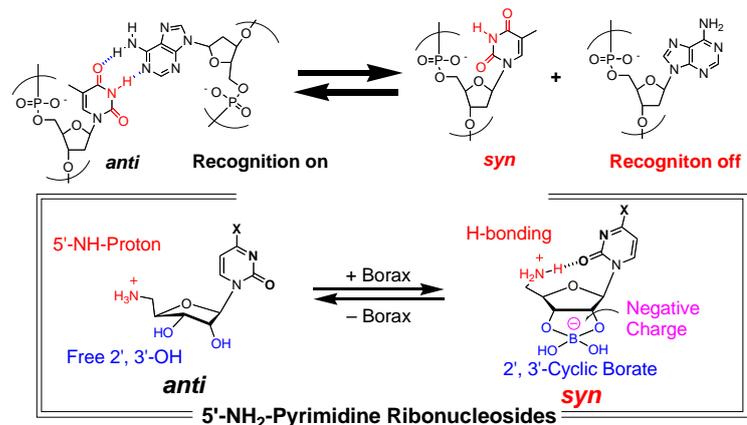


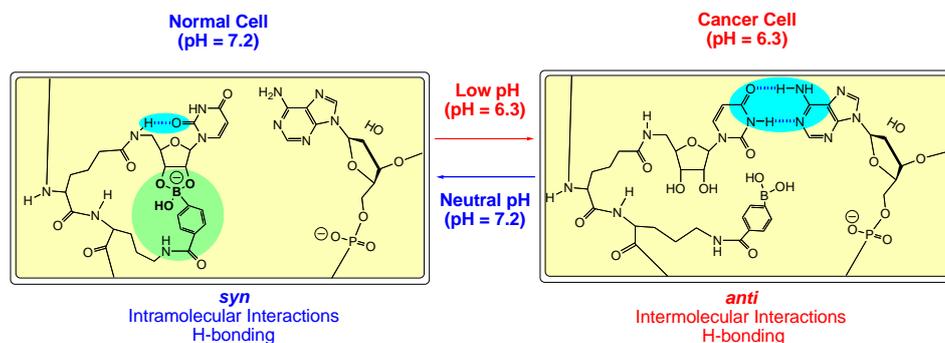
Figure 1 Strategy for active control of nucleobase orientation by borates.

待される  $\alpha$ -PRNA も設計・合成した<sup>5)</sup>。

### 3. PRNA による核酸認識・錯体形成挙動ならびに可逆的錯体形成・解離制御

PRNA とターゲット DNA・RNA との錯形成挙動、錯体安定性、そして錯形成・解離制御能を検討した。PRNA オリゴマーの塩基認識能は、相補的ならびにミスマッチ配列を有する DNA/RNA を用いて検討し、PRNA は核酸塩基間の特異的水素結合により形成されていることが明らかになった。PRNA オリゴマーと相補的 DNA オリゴマーのリン酸緩衝液中における  $T_m$  値は、DNA 錯体の  $T_m$  と比較すると 1 塩基当たり 1~2°C 高い値を示し、PRNA は天然核酸と比較してより安定な錯体を形成することが明らかになった。また、アミノ末端と天然核酸の 3'末端を同じ側に有する *anti-parallel* 型錯体が、*parallel* 型錯体より安定に存在することが示され、DNA 鎖方向に対する良好な識別能を有することが示された。つぎに PRNA の開発目的である、外部刺激による錯体形成・解離制御について検討した。約 40% の大きな単色効果を示し、安定な PRNA・DNA、PRNA・RNA 錯体を形成している溶液に、少量のホウ酸を添加すると、いずれの PRNA 錯体形成系でも淡色効果、 $T_m$  とも観測されなくなり、安定な PRNA・核酸錯体が迅速に解離したことが示された。つまり DNA・DNA 錯体より安定に形成されていた PRNA・核酸錯体は少量のホウ酸の添加により、迅速かつ効果的に解離することが示され、PRNA を用いることによりホウ酸を外部刺激として核酸との錯体形成・解離制御が達成されることが明らかとなった。このような効果的な錯体解離は、PRNA の塩基部がホウ酸添加により *syn* 配向を優先するため DNA/RNA との塩基対形成が困難になったことに加え、ホウ酸エステル形成にともなうホウ素上に生じる負電荷による核酸との静電的な反発の協同効果に基づくと考えている。このように PRNA は、ホウ酸存在下 pH などを外部刺激として、標的 RNA との錯体形成・解離の可逆的制御が可能で次世代の遺伝子治療薬としての潜在能力を有することは明らかとなった。

これらの知見を踏まえ、下記に示す分子内にフェニルボロン酸を導入した細胞内環境応答型新規 PRNA を用い、pH7.2 ではターゲット mRNA と相互作用することなく、酸素濃度が低下したがん細胞(pH6.2~6.5)でのみ治療効果を発現する極初期の「見えないがん細胞においても抑制機能を発現する」遺伝子治療薬を目指した研究に展開している。さらに分子内に Arg を導入し高効率細胞導入能を有する  $\alpha$ -PRNA、PRNA と RNA との錯体への RNaseH 活性付加による触媒的 mRNA 分解機能を目的とし、DNA と PRNA をハイブリッド化した PRNA-DNA キメラ人工核酸についても開発を行っており、細胞膜透過性に優れ、触媒量で大きな効果を発現する次世代の遺伝子治療薬開発を医学部との協同研究により推進している。



### References

- 1) Lander, E. S. et al., *Nature* **2001**, 409, 860. (b) Venter, J. C., et al, *SCIENCE* **2001**, 291, 1304-1351.
- 2) For reviews, see: (a) J. Haasnoot, E.M. Westerhout, B. Berkhout, *Nature Biotechnology* **2007**, 25, 1435. (b) N. Sahu, G. Shilakari, A. Nayak, D. V. Kohli, *Current Chemical Biology*, **2008**, 2, 110.
- 3) (a) P. E. Nielsen, *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 624. (b) 岩瀬礼子、村上章、*有合成* **2002**, 60, 1179 (c) 和田健彦、井上佳久、*有合成* **2005**, 63, 63.
- 4) T. Wada, N. Minamimoto, Y. Inaki, Y. Inoue, *Chem Lett*, **1998**, 1025.
- 5) T. Wada, N. Minamimoto, Y. Inaki, Y. Inoue, *Nucleic Acids Res. Symp. Ser.* **1998**, 39, 29; b) T. Wada, N. Minamimoto, H. Sato, Y. Inoue, Y. *Nucleic Acids Res. Symp. Ser.* **1999**, 42, 145; c) T. Wada, N. Minamimoto, Y. Inaki, Y. Inoue, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 6900; d) T. Wada, H. Sato, Y. Inoue, *Nucleic Acids Res. Suppl.*, **2001**, 1, 45; e) H. Sato, Y. Hashimoto, T. Wada, Y. Inoue, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 7871; f) 和田健彦、井上佳久、*有合成* **2005**, 63, 63; 和田健彦、井上佳久、*タンパク・核酸・酵素* **2005**, 50, 463.

## ◆ 学会見聞録 ◆

「第3回バイオ関連化学合同シンポジウム」に参加して

第3回バイオ関連化学合同シンポジウムは2008年9月18-20日に大会実行委員長である岡畑恵雄先生(東京工業大学・生命理工)のオーガナイズの下、東京工業大学・すずかけ台キャンパスにおいて開催された。本大会は、日本化学会に属する2部会と2研究会(生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、フロンティア生命化学研究会、ホスト-ゲスト・超分子化学研究会)が合同で開催するシンポジウムであり、口頭発表138件、ポスター発表約256件、企業等によるATP発表12件が行われた。開催期間中は、関東地方への台風の接近に伴う悪天候にも関わらず約600名の参加者が集い、活発な議論が展開された。

本大会は4つの団体の合同シンポジウムでありながら、口頭発表は3つの会場において行われた。それ故に、各セッションにおいては部会・研究会の枠を超えた発表が続き、慣れ親しんだ分野でありながら新鮮なアプローチに感銘をうけた参加者も少なくなかったと思われる。また逆に、発表者は異なる視点からの質問や提案を会場から多数受けることとなり、大いに刺激を受けたことであろう。またそれは、ポスターセッションにおいても同様であったと思われる。ポスター会場は約1時間半の間、常に混雑し、活発な議論が繰り広げられていた。

口頭発表の中からは、部会講演賞の選考も行われ、第2日目の懇親会中に受賞者の発表が行われた。部会講演賞の受賞者は、大阪大工・水上 進氏、東京大新領域・長門石 暁氏、岡山大自然・瀧 真清氏、同志社大理工・人見 穰氏 以上4名の方々である。講演賞発表時の総評では、講演賞の選考対象であったいずれの講演も非常に優れたものであったが、目的が明確に示され、他分野の人々にも内容が理解できるものであったかどうか、ポイントであったとの御指摘があった。このような御指摘は、日頃専門分野での発表に慣れた我々が忘れがちなポイントであり、合同シンポジウムならではのものだったと思う。また懇親会中には、次回バイオテクノロジー部会シンポジウムが、福岡にて生体機能関連化学部会シンポジウムと合同で開催される予定であることが発表された。

懇親会翌日の最終日は、台風一過の晴天に恵まれた。この最終日の最終セッションまで多くの参加者による活発な議論が続けられ、第3回バイオ関連化学合同シンポジウムは終了した。

本会に参加して、バイオ関連化学合同シンポジウムが今後ますます裾野を広げ、発展していくであろうことを確信した。



会場での1コマ



講演賞受賞者と各部会長・大会実行委員長

## ◆ 掲 示 板 ◆

環太平洋国際化学会議（Pacifichem2010）におけるシンポジウムへの参加について

来る 2010 年 12 月に予定されている環太平洋国際化学会議(Pacifichem2010)においてバイオテクノロジー部会幹事である松永是教授（東京農工大学）提案のシンポジウムが採択されました。開催日時は不明ですが、バイオテクノロジー部会員の皆様へ本誌においてご連絡差し上げます。今後の動向にご注目頂き、是非ご参加をご検討頂きます様宜しく願い申し上げます。

Biological Chemistry（部門 7）

**Single-Cell Analysis #91**

提案者：松永是 | Guohua Zhou | Steven Boxer

---

The building blocks of life, the cell, is the basic unit of all known living organisms. Over the past decade, the understanding of these basic units has grown tremendously, revealing new insights on intracellular processes and new cellular mechanisms. The differences within cell types and their unique biomolecular processes further extends the complexity of them, intriguing many researchers as to how they function and play a critical role in system functionality. Cell-cell interaction is also a complex system in which it controls cellular activities of cells within microenvironments and coordinates cell actions. This symposium will highlight and focus on many of the new approaches that combine to bring "single-cell analysis" to a greater forefront and illustrate their use in biological applications, including topics on component analysis of single cells, cell and material interface analysis, single cell analysis imaging, metabolomics, sequencing etc. The symposium aims to be a unique international convention, welcoming some of the world's most renowned scientists, and providing participants with an opportunity to exchange information, ideas, new research findings and innovations to the field.

## ◆ 編集後記 ◆

まずは、今回のニュースレターの発行が遅れてしまいましたこととお詫び申し上げます。編集の依頼はかなり前に受けていたのですが、いろいろな雑事に対応に追われ延び延びとなってしまいました。部会長の濱地先生にはご迷惑をおかけいたしました、申し訳ありません。

さて、今年度のノーベル化学賞は、下村 脩博士（日本）、マーティン・チャルフィー博士（米国）、ロジャー・Y・チエン博士（米国）が、「緑色蛍光タンパク質（GFP）の発見とその応用」という業績で受賞されることが決定した。日本人がノーベル化学賞を受賞するのは 2002 年の田中さん以来ということで、マスコミ各社が特集記事等で下村博士を紹介している。今では GFP はレポータータンパク質として、細胞機能や生体機能の解析には必要不可欠な物質であり、化学、生物、医学、薬学、農学など幅広い分野で繁用されている。しかし、下村博士の言によると、オワンクラゲの生物発光の研究し GFP を発見した 1960 年頃には、今日の状況を全く予期し得なかったとのことである。今回の受賞で改めて感じたことは、知的好奇心を育みサポートすることの大切さである。下村博士は、クラゲの発光メカニズムを解明するために何十万匹ものクラゲを採取されたとのことである。まさに知的好奇心がなせた業であろう。

転じて自問してみる。自分のやりたい研究をしているだろうか？若い頃はおもしろいと感じたことはがむしゃらにやる体力と時間があった。今の若い研究者と比べると研究費はあまりなかったが、いろいろな先生にお願いして最新の研究設備を使わせていただき、また安いパーツを買ってきて独自の測定装置を自作して研究に打ち込んだ。思ったような成果が出ないこともあったが、それなりに充実し満足していた。今はどうだろうか？管理運営に関わる仕事が増えてきて研究に費やす時間が極端に減ってきている。加えて、体に無理が利かなくなってきたこともあり、じっくりゆっくり物事が考える余裕がなくなった。体力は別にして、最近の若い研究者も余裕がなくなっているように思う。

これは研究者を取り巻く環境が大きく変わってきていることに起因している。外部資金獲得のために、鼻先にニンジンをぶら下げられ、自分の意志とは異なる方向に無理矢理走らされている感じもする。近視眼的な成果や業績が要求され、とくかくインパクトファクターの高い雑誌に多くの論文を掲載させようと奔走する姿も目にする。このような状況は日本の研究アクティビティを高く保つ上で、決して悪いこととは思わないが、いつ役に立つかわからないような、知的好奇心に基づく言わば地味な研究も長い目で見てサポートできるような余裕がほしいと感じているこの頃である。

末永 智一（まつえ ともかず）  
（東北大学大学院環境科学研究科）

NEWS LETTER Vol.12, No.1 2008年11月30日発行

事務局：〒101-8307 東京都千代田区神田駿河台1-5, 日本化学会バイオテクノロジー部会

Office of Secretary: The Chemical Society of Japan, 1-5, Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8307, Japan