

公益社団法人 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.18, No.1 (2014.4.24)

目 次

| | |
|-------------------|----|
| ◆巻頭言 | 1 |
| ◆先端研究ウォッチング | 3 |
| ◆若手研究者からのメッセージ | |
| A) 大城 敬人氏 | 8 |
| B) 後藤 佑樹氏 | 11 |
| C) 堀 雄一郎氏 | 14 |
| ◆海外の研究室から | 17 |
| ◆学会活動報告 | 22 |
| ◆研究会・国際会議から | 24 |
| ◆編集後記 | 26 |

◆ 巻頭言 ◆

公的研究機関のあるべき姿

(独) 産業技術総合研究所ナノシステム研究部門

スマートセンシンググループ

横山 憲二

安倍政権が誕生して1年が経過、東証日経平均株価は16000円を突破し、世の中的には景気回復基調のようであるが、諸先生方のところではどうであろうか。国立大学法人、独立行政法人に勤務の方は、まだ給与の特例減額が続いているので相変わらず不景気感が強いと言ったところであろうか。また、円安は輸出産業にとっては好感できるが、消費者にとってはマイナス面が大きい。さらに円安は海外出張を直撃することになる。2年前100円だったユーロが現在では140円、米ドルも77円から104円となっている。以前の欧米への出張はかなり余裕をもった宿泊ができていたが、現在ではそうはいかない。米国で気軽に食べていたステーキも、今では決意が必要な食べ物となってしまった。

おっと、こんなことを皆様にお伝えする目的で巻頭言を書いているわけではなかった。筆者は経済産業省所轄の独立行政法人産業技術総合研究所(産総研)に所属しているので、公的研究機関の一研究者から見た科学技術政策、特に研究開発法人制度について述べたい。ただし、これから述べることは、筆者個人の意見であり、産総研や研究部門を代表したものではないということを付け加えておく。

2013年11月27日に開催された第115回総合科学技術会議の議事録によると、「成長戦略のための新たな研究開発法人制度について」が議論されている。安倍総理の提唱する「世界で最もイノベーションに適した国」を実現するため、下村文部科学大臣と山本科学技術政策担当大臣の下、有識者懇談会が開催され次の結論が得られた。すなわち、成長戦略に資するゼロベースの行政改革を断行し、投入予算に対して最大の成果を得ることを可能とする、独法制度とは異なる新たな法制度を創設すべきであると。具体的には、以下のような新たな研究開発法人制度のあるべき姿が提唱された。

- ①制度目的 研究開発成果の最大化
- ②ミッション 国家戦略の実施機関として大学企業では実施困難な研究を推進
- ③対象 世界的成果の創出が求められる法人
- ④目標設定 目標は課題解決型
- ⑤評価 将来を見越した評価(過去の達成度に終始せず)
法人の長のマネジメント能力の厳格な評価
- ⑥国家戦略の徹底 主務大臣と法人が一体の運営
- ⑦ガバナンス 選択と集中を図るトップマネジメント
ルーズな経営による無駄発生の排除等、
目標設定や評価等に総合科学技術会議が関与

また、大学、企業出身の総合科学技術会議議員からも、現在の独立行政法人制度とは異なる研究開発法人制度を作る必要があるとの意見が多数を占めていた。独法現場(と言っても理事長レベル)の意見も新制度の組織を望んでいるとのことであった。

しかし、一方で稲田規制改革担当大臣からは、独立行政法人改革等に関する分科会第1ワーキンググループの意見として、新たな特殊法人を作ることになり、納税者の理解は得られないとしている。その

理由として、研究開発法人は、独立行政法人の中でも財政依存度が高く、総額 1.4 兆円の独法向け運営費交付金のうち、0.9 兆円が研究開発法人（研究開発力強化法に掲げられた 37 法人）向けに支出されており、別法化により、運営費交付金の約 3 分の 2 が独立行政法人制度の共通の規律から漏れていくからである。麻生財務大臣からも同様な意見が出ている。

以上のような議論から、総合科学技術会議において、現在の独立行政法人とは異なる研究開発法人制度を作るといふところまでは至っていないようだ。

では、筆者のような研究開発独法現場の研究者から見るとどうであろうか。有識者懇談会の新たな研究開発法人制度のあるべき姿を見ると、実にいいことが書いてあるし、そのようにすべきである。しかし、現場レベルで考えると、現在の独法（の目指しているところ）とそれほど変わらないような気がする。一方で、現行の独法制度は、「主として定型的な業務を、効率的・効果的に実施することを主眼とし、定量的な目標設定とその達成度の評価を行う。主務大臣の関与は極力抑制する。」と記載されているが、実際の現場研究者は、必ずしもそうではないようにも思える。ということで、新制度に移行しても何がどれだけ変わるのか、現場には不明である。今でもある面、トップダウンマネージメントを実施しているが、新制度では、研究開発を国家戦略として実施する機関であることをさらに明確化することであり、主務大臣（というより官僚）が、今よりもっと口を出してくるといふことであろうか。ただ、研究開発独法の現場研究者は、全員が戦略研究を行っているわけではないし、地道な研究が戦略的イノベーションにつながることも多々ある。戦略研究だけでは、研究所の継続的発展は望めないだろう。弾切れになるからである。もちろん、大学や企業にはできない研究開発をしなければならないといふことで、トップダウンマネージメントは重要だとは思ふ。

所詮、現場の研究者がどうこう言っても、独法制度が維持される、変わると言っただけではないが、人任せにはしたくないので、情報を整理して、自分なりに考えて今回の巻頭言に書かせていただいた。大学人の方々にも関心のある平成 26 年度科学技術関連予算についてなどにも言及したいところではあるが、議論が発散してくるのでこの辺にしておくことにしよう。総合科学技術会議で議論される内容は、大学に関連していることも当然ながら多いので、たまには総合科学技術会議ウェブサイトを見ていただき、ボトムアップになるのでしょうか、議論し、意見を出し合おう。

追記

上記してから日数が経過し、情報が古くなってしまったので追記する。2013 年 12 月 24 日、政府は以下の内容について閣議決定した。すなわち、独立行政法人のうち、世界トップレベルの成果を生み出す創造的業務を担う法人を「特定国立研究開発法人（仮称）」として設置する。また、総合科学技術会議・主務大臣の強い関与や業務運営上の特別な措置等を別途定めることとし、具体的な措置は、内閣府・総務省共管の別法によることとする。別法の対象法人については、極力少数に限定することとする。

世界最高水準の新たな研究開発法人制度の創設へと進むことになり、ちまたの噂では、理研をはじめ、2、3 の研究開発法人が候補に挙がっているらしい。産総研は世界最高水準を目指せる研究機関かどうかは、現状でははなはだ疑問ではあるが、積極的に手を挙げ、世界最高を目指すべきなのだろう。それはそれでしんどいけど。

◆ 先端研究ウォッチング ◆

蛍光プローブの精密設計に基づく in vivo 蛍光がんイメージング

東京大学大学院 医学系研究科

神谷 真子、浦野 泰照

1. はじめに

近年、生命現象の解析や病態要因の解明などにおいて、「生きている状態の生物試料」における種々の生理活性物質の動態を、リアルタイムに観測することが極めて重要であることが広く認識されるようになった。このような観測を実現する技法として現在、観測対象分子を高感度に可視化する蛍光プローブを用い、蛍光顕微鏡下で生細胞応答を観測する技法が広く汎用されている。すなわち特定の生理活性分子(▽)の細胞内挙動の観測を考える場合、これらの分子のほとんどは無色であり、通常の光学顕微鏡でただ観察してもその挙動を知ることは出来ないが、蛍光プローブと呼ばれる、元々は無蛍光性であり▽分子と反応・結合することで初めて蛍光を発する分子を用いることで、▽分子の挙動を蛍光の変化として高感度かつリアルタイムに追うことが可能となる(図1a)¹⁻⁴。筆者らはこのような可視化技術を医療分野に応用することで、新たな疾患イメージングが実現できるのではないかと考え研究を行ってきた。その結果、日本人の死因の第一位を占め続けている疾患である「がん」をターゲットとする新たな蛍光イメージングプローブの開発に成功した。以下、詳細を紹介する。

2. スピロ環化平衡に基づく in vivo がん蛍光プローブの開発

臨床的な観点からがんは、発見時の進行度により患者の予後が大きく左右されることが一般的に知られており、実際胃がん、肺がん、結腸がん、乳がんなど主要部位のがんにおいて、がんの早期発見の重要性が示されている。本目的の達成に向けて現在、PET、SPECT、MRI 及び US などの画像化技術が汎用されている。これらの手法は体外からの非侵襲的な診断が可能であり初期スクリーニング目的には最適であるが、早期の微小がんの発見という観点からは満足いくものではない。その理由としては、これらの画像化法で使用するイメージングプローブはいずれも、プローブ1分子が発するシグナル強度は体内のどこにあっても全く同じ(Always-on 型)であるため、がん部位と正常部位とを明確に区別して画像化するには、これらのプローブ分子ががん特異的に集積する必要がある。しかし実際は全プローブ分子ががんのみに集積するわけではなく、代謝・排泄に関わる臓器である肝臓や腎臓への集積や、非特異的に正常部位へと吸着・分布するプローブも多い。その結果として、正常部位に分布したプローブに由来する大きなバックグラウンドシグナルが観測され、mm サイズの微小がん部位を見逃してしまう可能性が高い(図1b左)。

一方で光を検出原理とする技法は、光の組織透過性の問題から、これまでは第一選択のがんイメージング技法としては敬遠されてきた。しかしながら前節までに紹介してきたとおり、蛍光法は極めてドラステックなシグナル ON/OFF の制御が可能な手法であり、がん部位を見分けてその蛍光特性が大きく変化する(Activatable 型)蛍光プローブを設計・開発すれば、mm サイズの微小がんであっても高感度かつ高選択的にイメージングすることが可能となるのではと、筆者らは考えた(図1b右)。もちろん生体組織の光透過性の問題は残るため、体外からの非侵襲的診断は難しいが、近年では内視鏡・腹腔鏡技術が飛躍的に発展し

てきており、これらを用いた検査・施術時には、がんが疑われる部位に光を照射して蛍光観測することは十分可能である。よって、がん部位と正常部位の質的な差異を見分けて、がん部位を特異的に可視化する蛍光イメージングプローブの開発は、新規がん医療技術として大きな意味を持つことが期待される。

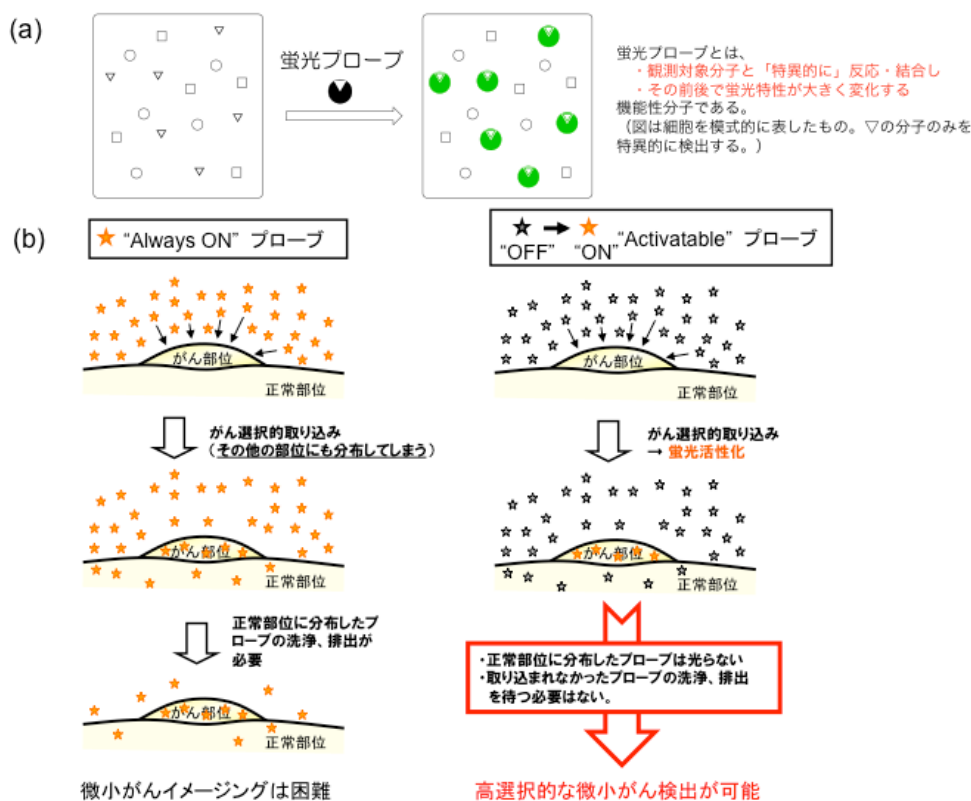


図 1. a) 蛍光プローブの機能、b) プローブ活用によるがんイメージング手法の比較(左: Always on プローブ, 右: Activatable プローブ)

筆者らは上記の発想に基づく新規がん蛍光イメージング手法として、がん細胞特異的に β -ガラクトシダーゼ活性を付与し、これを β -ガラクトシダーゼ活性検出蛍光プローブで可視化する方法⁵、及びがん抗体ががん細胞に取り込まれる過程を可視化する蛍光プローブの開発に基づく方法⁶を、これまでに報告してきた。しかし外科手術への適用を考えた際、プローブの感度や応答時間の長さ、また可視化手順の複雑さなどの面において、改良すべき点はまだ残されていた。

そこで実用的な外科手術サポート術としての新たながん蛍光イメージングの実現を目指し、がん細胞で亢進している酵素活性をターゲットとする新たな戦略に基づく研究を開始した。具体的には、種々のペプチダーゼ活性が、がん細胞の高い増殖活性を支えるために高いとされている点を活用し、これらの酵素活性を特異的に検出可能な蛍光プローブを開発することで、新たな in vivo がん部位イメージング法の確立を目指した。まず、分子内スピロ環化平衡を活用した設計法を確立し⁷、Hydroxymethyl Rhodamine Green (以下、HMRG と略す)を母核とする種々のアミノペプチダーゼ検出プローブを網羅的に開発した(図 2a)。これらのプローブは HMRG の一つのアミノ基が各種アミノ酸によってアミド化された構造をしており、このアミド化状態では中性 pH でスピロ環化構造が優先しほぼ無色・無蛍光であるが、検出対象アミノペプチダーゼによって特異的に加水分解されると中性 pH 水溶液中で開環構造が優先する HMRG へと変換され強い蛍光

を発する。この蛍光増強率は約 400 倍にも達し、実際本プローブにより、生細胞の持つ各種ペプチダーゼ酵素活性をリアルタイムかつ高感度に検出可能であることが明らかとなった。

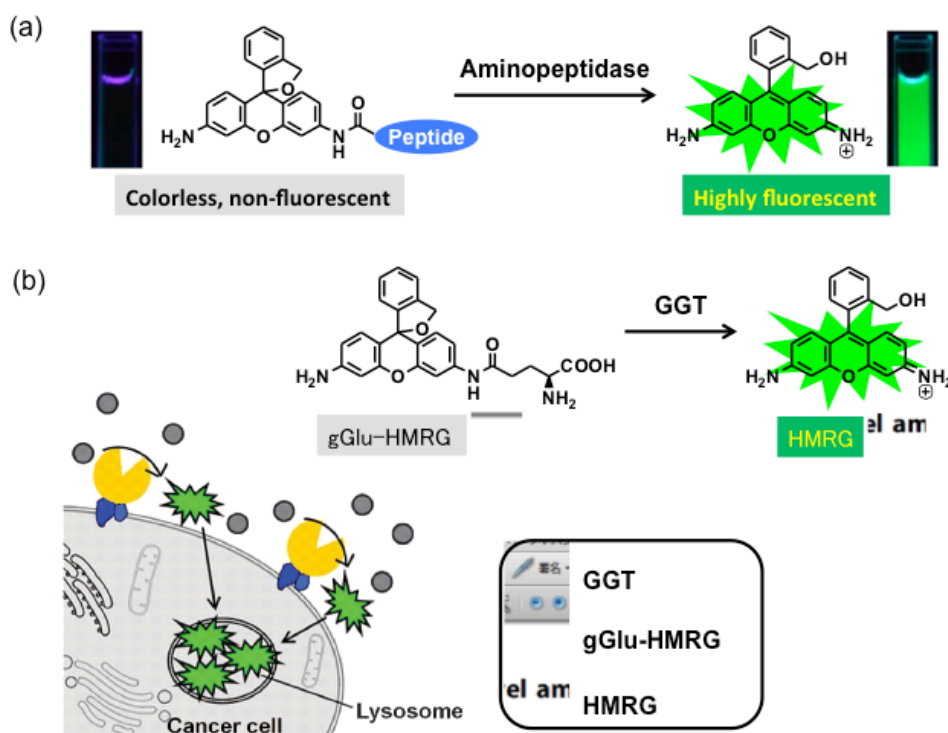


図 2. a) HMRG を基本骨格とする、スピロ環化平衡を原理とするペプチダーゼ蛍光プローブの開発、b) GGT 活性検出蛍光プローブ gGlu-HMRG によるがん細胞イメージング機構

次に開発した各種アミノペプチダーゼプローブを、培養がん細胞 (ヒト卵巣がん細胞; SHIN3) と正常細胞 (正常ヒト臍帯静脈内皮細胞; HUVEC) に適用し、その酵素活性の比較を行った。その結果、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP) など多くのペプチダーゼ酵素活性は、両細胞間で大きな差は見られなかったが、いくつかのペプチダーゼ活性には差が見られ、中でも γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (以下、GGT と略す) 活性は SHIN3 で非常に高く、HUVEC では低いことが、開発した GGT 活性検出蛍光プローブ gGlu-HMRG によるイメージング実験から明らかとなった (図 2b)。さらに、肺、肝臓、胆管がん細胞などへと gGlu-HMRG を適用した結果、様々な部位由来のがん細胞でその GGT 活性が亢進していることが明らかとなった (図 3a)⁸。GGT は細菌から哺乳類まで普遍的に存在するグルタチオン代謝酵素であり、グルタチオンなどの γ -グルタミルペプチドを加水分解し、他のペプチドやアミノ酸に γ -グルタミル基を転移する。図 2b に、gGlu-HMRG によるがんイメージング機構を示す。中性 pH 環境ではほぼ無蛍光である gGlu-HMRG は、細胞環境にスプレーされても、GGT 活性がない状態では蛍光を発しないが、がん細胞表面に高発現している GGT により効率よく加水分解されて高蛍光性の HMRG に変換される。疎水性の高い HMRG は即座に細胞内に取り込まれることで、GGT 活性の高いがん細胞を蛍光可視化するものと考えている。

次にごがんモデルマウスを用いた *in vivo* 蛍光イメージングを行った。各種卵巣がん細胞を腹腔内に播種させたがんモデルマウスを作成し、これに gGlu-HMRG の PBS 溶液を腹腔内投与し、5 分後に開腹して蛍光

イメージングを行った。その結果、プローブ投与 5 分後であっても、がん部位が極めて強い蛍光を発生し、1 mm 以下の微小がんであっても、明確にこれを検出可能であることが明らかとなった(図 3b)。さらに特筆すべき点として、本プローブの散布により、裸眼でも十分に検出できるだけの強い蛍光ががん部位から発せられていることである。この短時間かつ高感度でのがん蛍光イメージングは、次々とプローブを強蛍光性生成物へと変換する酵素のターンオーバーによるものであり、前述した抗体を活用した技術では達成できなかったものである。

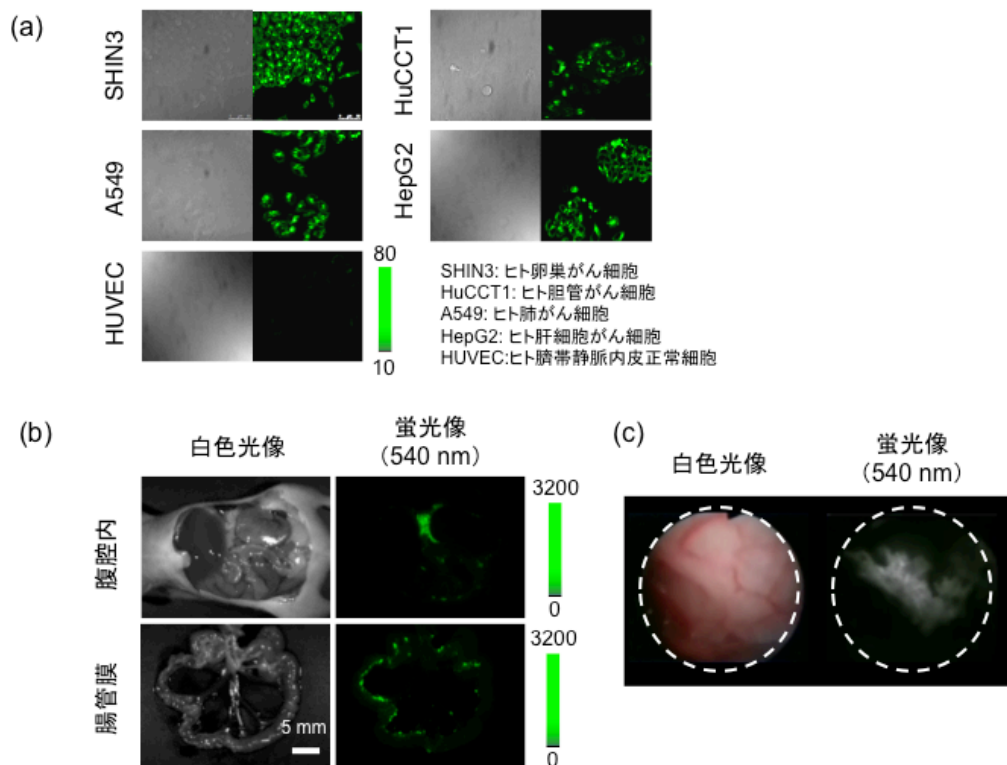


図 3. a) gGlu-HMRG による各種がん細胞・正常細胞の GGT 活性比較、b) gGlu-HMRG の腹腔内投与による腹腔内微小播種がんイメージング(プローブ投与 5 分後)、c) 蛍光内視鏡下での gGlu-HMRG の局所散布による微小がん検出(左:通常の白色光像、右:プローブ散布 5 分後の蛍光像)

さらに内視鏡下でのがん部位検出・施術のモデル実験として、麻酔したがんモデルマウスの腹膜に小さな穴をあけ、ここから蛍光内視鏡(オリンパス(株)と共同開発)を挿入し、鉗子孔からスプレーヤーでプローブを局所的に散布し、微小がん部位検出が可能かどうか検討した。その結果、プローブスプレー直後から徐々にがん部位が光り始め、プローブ散布後わずか数十秒～数分程度で、通常の白色光内視鏡では識別不可能な微小がん部位でも明確に蛍光可視化できることが明らかとなった(図 3c)⁸。このような短時間でのがん部位可視化技術は、実際のがんの外科手術、内視鏡下切除術のタイムフレームに挿入可能な実用性の高い技術であるため、現在多くの臨床外科医と共同して、外科手術で体外に取り出したばかりのヒト摘出がんサンプルを用いたプローブ機能の検証を遂行中である。開発したプローブの活用により、術者が治療すべきがん部位を明確に判断でき、的確な蛍光内視鏡下手術あるいは開腹外科手術時が可能となる日も近いと大いに期待している。

3. おわりに

検出対象分子との反応により、その蛍光特性がドラスティックに変化する機能性分子「蛍光プローブ」を精密設計・開発することで、従来法では達成できなかった様々な細胞生物学実験だけでなく、がん部位でのみ蛍光が回復する蛍光プローブにより「迅速高感度がんイメージング手法」が初めて可能となることについて解説した。このような化学的なアプローチによる新たな医療技術の確立は、疾患克服という大きな目的の中で、治療薬以外のやり方で化学が貢献できる新たな分野であると期待している。

4. 謝辞

本稿で紹介した研究は、筆者らが 2 年前まで在籍していた東京大学大学院薬学系研究科薬品代謝科学教室で主に行われたものであり、長野哲雄教授をはじめ多くの大学院生と共に遂行してきた成果である。また、がんの蛍光イメージング技法の開発に関しては、米国 NIH の小林久隆主任研究員との共同研究であり、紹介したがんイメージング蛍光プローブの開発は、筆者らと共に研究を行ってきた浅沼大祐博士(現、東京大学大学院医学系研究科助教)と坂部雅世博士(現、富士フイルム)の極めて大きな努力と才能によるものである。この場を借りて、以上の皆様に深く感謝いたします。

<文献>

- (1) Fujikawa, Y. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14533.
- (2) Urano, Y. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4888.
- (3) Abo, M. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 10629.
- (4) Gabe, Y. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3357.
- (5) Kamiya, M. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3918.
- (6) Urano, Y. et al. *Nat Med* **2009**, *15*, 104.
- (7) Kenmoku, S. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7313.
- (8) Urano, Y. et al. *Science Translational Medicine* **2011**, *3*, 110ra119.

◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

大阪大学 産業科学研究所
所長特任研究室 特任助教
大城 敬人

はじめに

私は、「ものを見る」という方法論をつくるという「分析化学」の研究室で育ち「単分子レベルでもものを見る」ということに興味を持つようになりました。そこで、研究生活のはじめより今まで、「微量電流計測に基づく単分子計測・識別法開発」に関するテーマを取り組んでまいりました。現在は、その微小電流による単分子計測と微細加工技術を組み合わせることで、次々世代のゲノムシーケンサを目指した「高速単分子シーケンサ」の開発・研究を行っております。ここでは、「単分子シーケンス」開発・技術の周辺分野の現状・動向とそれに向けて行ってきた筆者自身の研究取り組みについて紹介してまいります。

ゲノムシーケンサの現状・動向

ゲノムシーケンサとは、生物のもつ DNA 配列の全体を遺伝情報の読み取りする装置です。その出現は、生命の設計図を元に生命現象を理解することが可能となったことで、生命科学の分野は飛躍的進歩を遂げてきました。そのため、今後のこうしたゲノムシーケンサの性能の伸びは、生命科学の学術的な理解にどまらず、医療・保険などの産業や社会の仕組みへと革命的なインパクトをもたらすことが期待されます。その一つの例が、ゲノム情報の個別化医療への応用です。

この個別化医療を実現するためには、すべての人が個々の遺伝情報をする手段が必要です。究極の個人情報である遺伝情報を基に体質や状態の把握することで、個々の治療計画可能な個別医療が実現できます。こうした遺伝子情報を個人レベルで使うという「パーソナルゲノム」時代の到来のためには、現在のシーケンサが抱える高額な読み取り費用と膨大な時間がかかるという課題を克服した「新しいゲノムシーケンサの出現」が不可欠とされています。例えば、2003 年に完了した世界規模で行ったヒトゲノム計画では、一個人の遺伝子配列を、8 年の月日と 300 億の巨費が投じて決めるに至りました。こうした時間とコストの負担を個人が負うことは現実的ではないのはあきらみかです(図1)。

そこで、世界最大の研究機関であるアメリカ国立衛生研究所 (NIH) は、“1000 ドルゲノム”計画を発表しました。これは個人が 1000 ドル支払うことで、全遺伝子情報を取得し利用できる社会を目指すというもので、「パーソナルゲノム」時代に即した「パーソナルゲノムシーケンサ」の開発を促すものでした¹⁾。その後、世界中のライクテクノロジーのリーディングカンパニーである Roche、illumina、Life Technologies 社等から、様々な原理での最新鋭のシーケンサが次々と発売され、時間とコストの負担の軽減が急激に進んできましたが、それでもなお 2 カ月、数百万円程度かかるとされています。

| 技術 | 速度 | 金額 |
|-----------------------------------|------|---------|
| ゲル電気泳動技術 (ABI 社) | 8 年 | 300 億円 |
| 日立キャピラリー技術 (ABI 社) | 3 ヶ月 | 10 億円 |
| 次世代シーケンサー (Roche 社、illumina 社) | 2 ヶ月 | 1000 万円 |
| ナノポアデバイス (米国 NIH ロードマップ) | 1 日 | 10 万円 |

図1 パーソナルゲノム実現へのシーケンサーの要件である核技術のコストと時間のめやす。

次世代ゲノムシーケンサおよび単分子シーケンサ研究への注目

次世代のシーケンサの研究の中で「ナノポア」や「ナノギャップ」デバイスを用いた「単分子シーケンサ」²⁾が、注目されています。こうした「単分子シーケンサ」の大きな特徴は、従来のシーケンサでは不可欠であった PCR による増幅・複製過程を経ずに、単分子ごと読むところにあります。これにより、ネイティブな核酸塩基鎖がもつ後天的な遺伝子修飾(エピジェネティック)情報をよむことができ、様々な遺伝子発現それにかかわる疾患・特性を読む解くことができることが期待されます。

「ナノポア」によるシーケンサは、直径はわずか 1~2nm 1本鎖 DNA に匹敵する大きさの「ナノポア」に DNA 鎖を通過させ、各核酸塩基の分子体積の違いで生じる「イオン電流」の時間変化を計測し、通過核酸塩基種を順次アサインすることで配列情報を読む原理(ナノポアシーケンサ:図2)です³⁾。もう一つが「ナノギャップ」に DNA/RNA 鎖を通過させ、分子の電気伝導特性の違いを「トンネル電流」の時間変化から配列情報を読む原理(図3)です⁴⁾。筆者は主に後者の開発にかかわっています。これらの方法は、今までシーケンサの原理が増幅等の DNA 伸長反応過程で核酸塩基光プローブを導入して、その光情報を検出器で読む方法から、ネイティブな核酸塩基を直接電気計測するものへと大きく変わります。それにより、従来の読取速度の律速である DNA 伸長反応を経ずにすむため、読み取りの大幅な高速化が期待できます。

新しい単分子ゲノムシーケンサの開発にむけて

既存のものとは全く異なるシーケンサを開発するためには、物理化学的な現象の理解だけでなく、情報科学等の多様な分野の知識や技術の一つ一つを組み合わせていく必要があります。中でも実現のキーとなるのが、デバイスの作製技術です。特に、一本鎖 DNA の直径レベルの「ナノポア」や「ナノギャップ」を安定的に作成する技術という課題は避けては通れないものです。

「ナノポアシーケンサ」のパイオニアたちは、自然界にあるナノサイズのポア(細孔)として、大腸菌の膜たんぱく質である α ヘモリンチャンネルたんぱく質を用いることで課題克服を試みました³⁾。確かに、生体由来のナノポアは、サイズの選択の自由度はありませんが、自己組織化能により再現性よく作製できます。その一方、半導体分野で発展した加工技術の微細化が進み、無機半導体材料による分子の大きさレベルの「ナノポア」や「ナノギャップ」の安定的な加工がトップダウン技術でも実現可能となってきました⁵⁾。無機材料は、生体材料と比較して、堅牢で耐久性が高く、生理的条件下でなくても微細構造が維持されるため、測定可能条件が広くなり、加工形状・サイズ自由度が高く、大量生産も可能となるという長所が得られます。私が原理検証として用いたナノギャップをもつデバイスは、こうした微細加工技術を用いて作製しました。具体的には電子線描画によって金細線を作製、その後機械的破断法によって作製したもので、ギャップ距離制御やデバイス形状が安定化し、計測結果の再現性向上に大きく寄与しました⁶⁾。こうした微細加工技術を

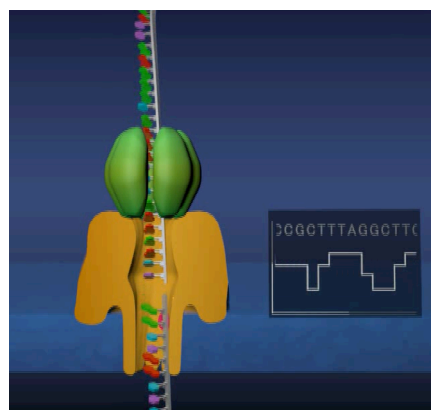


図2 ナノポアによるイオン電流単分子シーケンシング。

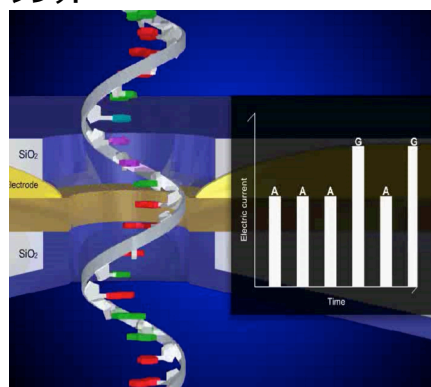


図3 ナノギャップ電極によるイオン電流単分子シーケンシング。

元にしたデバイスを用い、分子を介したトンネル電流読み取りの大きさの違いにより DNA/RNA の全核酸塩基種のモノマー⁴⁾、およびメチルシトシン⁷⁾等の後天的修飾核酸分子について各分子コンダクタンスを決定しました。さらに、このトンネル電流を指標として、DNA/RNA 鎖の配列の一部をよみとり、よみとった配列をつなぎ合わせて再構成することで試料核酸塩基鎖の配列決定をしました⁴⁾。これにより、ナノギャップ電極によるトンネル電流でのシーケンス原理検証に成功しました。

おわりに

私が次世代単分子シーケンサの研究開発に携わる中で感じたのは、研究遂行が多くの人との交流・協力なしにできないということです。計測デバイス作製技術、高速・高感度電気計測、データマイニングなど各分野の専門家とディスカッションを重ね一つの形へとしていきました。こうした経験から、新しい分野を切り開くためには、幅広い分野との連携が上で不可欠であることを実感しました。それには、個々の研鑽はもちろん他分野発展や技術革新にアンテナを張りながら積極的にかかわっていく必要があると思います。私は、今後訪れるであろう様々な重要な技術革新の局面で貢献できるよう、自分の培ってきた研究をさらに推し進め、“ナノ構造体を用いた微量電流計測による単分子分析化学”の学理・基盤技術を確立できるよう研究活動をしてまいりたいと考えております。

参考文献

- 1) Service, R. F. *Science* **311**, 1544-1546 (2006).
- 2) Branton, D. et al. *Nat. Biotech.* **26**, 1146-1153 (2008).
- 3) Deamer, D. W. & Branton, D. *Acc. Chem. Res.* **35**, 817-825 (2002).
- 4) Ohshiro, T., Tsutsui, M., Matsubara, K., Furuhashi, M., Taniguchi, M., Kawai, T.. *Sci.Rep.*, **2**, 501- 507 (2012).
- 5) Dekker, C. *Nat. Nanotechnol.* **2**, 209-215 (2007).
- 6) Tsutsui, M., Ohshiro, T., Matsubara, K., Furuhashi, M., Taniguchi, M., Kawai, T., *J. Appl. Phys.*, **108**, 0643121 (2010)
- 7) Tsutsui, M., Matsubara, K., Ohshiro, T., Furuhashi, M., Taniguchi, M., Kawai, T., *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 9124-9128 (2011).

大城 敬人(おおしろ たかひと)

平成 18 年 1 月 東京大学 博士(理学)取得

平成 18 年 4 月 東京大学 理学系研究科 21 世紀研究拠点形成特任研究員

平成 19 年 4 月 理化学研究所 基礎科学特別研究員

平成 22 年 4 月 大阪大学 産業科学研究所 川合最先端研究プロジェクト特任助教
現職



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

東京大学 大学院理学系研究科 化学専攻
菅研究室 助教
後藤 佑樹

はじめに

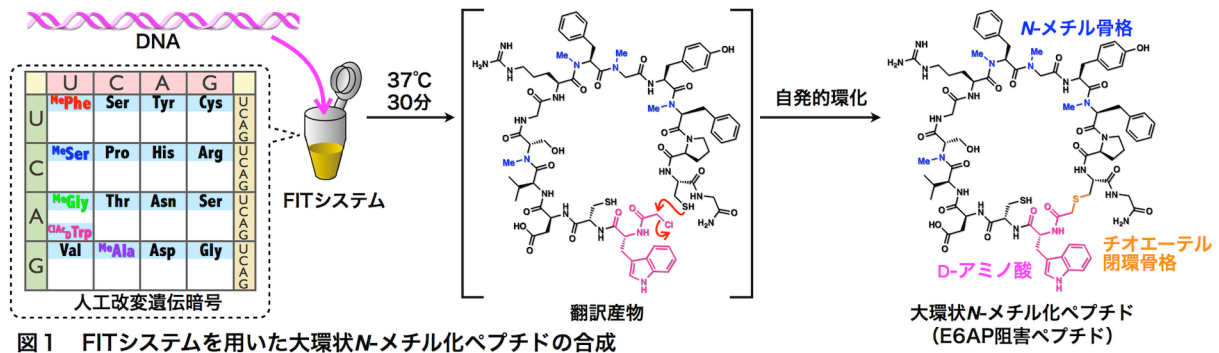
現在の私の研究分野はケミカルバイオロジーですが、元々は有機化学の分野で研究生活がスタートしました。学部生として初めて配属された研究室は、京大工学部の齋藤先生が主催する、有機合成を駆使して核酸の生物有機化学を行う講座です。ここでは当時の中谷助教授のご指導の下、DNA や RNA 中のミスマッチ塩基対やテロメア DNA に結合する人工分子の合成と、それを応用した SNP 検出法の開発などに携わりました。研究室のメンバー達とサイエンスのみならず色んなことで盛り上がりながら、夜遅くまでせっせとナスフラスコの中で化合物を合成する日々はなかなか楽しいものでした。お陰様で、それなりに有機合成の技術を身に付けることができましたし、またなによりオリジナル化合物を自分の手で作り出すことの喜びを教わりました。しかしその一方で、有機合成は一筋縄ではいかない職人芸の側面を持つことも強く実感しました。先輩が簡単にやっていた反応を自分がやるとなぜかうまくいかなかったり、数時間かけてカラムをかけたのに化合物がまったく精製できていかなかったり、意気消沈したことは数えきれません。合成をやっていると目的の化合物がとれないことには全く研究が進まないのも、こういった失敗が続いてしまうと、しょんぼり感は半端ありません。

こんな修士課程における哀楽双方の経験から、『オリジナルの有用化合物を、簡単に、自在に、合成する技術を確認したい』ということが、それ以降の私の研究における一貫したモチベーションになっています。具体的には、天然の生合成系を人工的に改変し活用するという、バイオテクノロジー研究を展開しているのですが、本稿ではその中から、二つのトピックについて簡単に紹介させていただきます。

新奇な生理活性を持つ大環状ペプチドの合成及び探索

我々の研究では、普遍的なタンパク質の生合成系である、「翻訳反応」に注目しています。翻訳反応では、① 20 種類以上ものビルディングブロック(アミノ酸)を、② 順序を制御してつなぎ合わせ、③ 非常に高分子量の生成物を、④ 不純物無しに合成することができます。この様な特長を併せ持った化合物合成は、人工の化学的手法では到底達成できません。そこで我々は、翻訳反応をタンパク質の生産だけでなく、より短鎖のペプチド合成にも積極的に利用し、翻訳反応のメリットを活用しようとしてきました。しかしながら、天然の翻訳反応には、大きな制限も存在します。基本的に 20 種類のタンパク質性アミノ酸しか利用できませんし、直鎖状のポリペプチドしか合成できません。

我々はこの制約をなくすべく、翻訳反応におけるコドンとアミノ酸の対応関係-いわゆる遺伝暗号-を人工的に書き換える手法、Flexible In vitro Translation (FIT) システムを開発してきました。図1に示した例では、開始コドンである AUG コドンに *N*-クロロアセチル-*d*-トリプトファン(^{ClAc}_DTrp)を、伸長コドンのうち 4 種類に *N*-メチル化アミノ酸(^{Me}Phe・^{Me}Ser・^{Me}Gly・^{Me}Ala)を人工的に割り当てています。これにより、翻訳産物のペプチドの *N* 末端には ^{ClAc}_DTrp が、鎖中には複数の *N*-メチル化アミノ酸が導入されることとなります。特筆すべきは、*N* 末端のクロロアセチル基が下流のシステイン上のチオール部位と自発的に反応し、チオエーテル結合で閉環した大環状骨格を形成することです。つまり、適切に配列をデザインした DNA 二本鎖を加え、



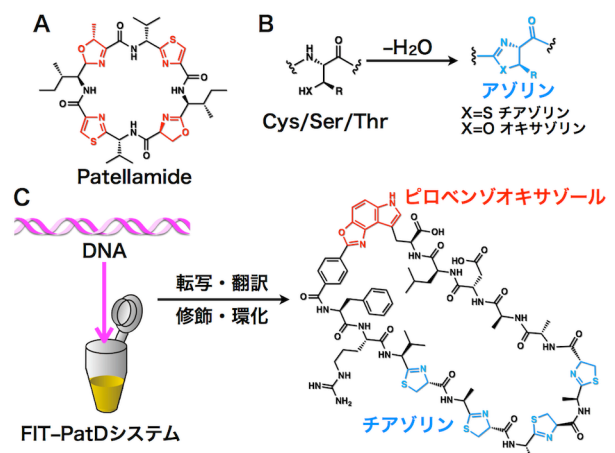
37°Cで30分インキュベーションするだけで、大環状 N-メチル化ペプチドが純度良く合成されます。同じペプチドを化学合成するとなると、精製操作も併せて熟練者でも数日はかかることを考えると、混ぜるだけ・短時間で純度の高い化合物が得られる本手法の強みが実感できるかと思います。

この手法の最大のメリットは、mRNA display と呼ばれる試験管内分子進化の方法と組み合わせることで、大規模な大環状ペプチドライブラリーを作成し、その中から望みの生理活性を有するペプチドを迅速に探索できることです。Random Peptide Integrated Discovery (RaPID) システムと名付けたこの技術では、1兆種類以上の異なる配列の大環状ペプチドの集団を、それぞれの鋳型 mRNA でラベル化しながら構築することができます。このライブラリーの中から特定の標的タンパク質に結合するペプチドを「選択」し、その活性種に付加した遺伝子のみをPCRで「増幅」させます。この選択-増幅のサイクルを繰り返すことで、目的の活性を示す大環状ペプチドを同定することができるわけです。図1で例示した大環状 N-メチル化ペプチドは、子宮頸がんの発症に関わるユビキチンリガーゼ E6AP を標的とした RaPID システムによって開発されたペプチドです。このペプチドは E6AP に対して $K_D = 600 \text{ pM}$ という非常に強い親和性を示し、E6AP の酵素活性を阻害することが分かっています。

主鎖にアズリン骨格を有する擬天然物の合成

FIT システムは、様々な大環状ペプチドの翻訳合成を可能にしたものの、合成に利用できるビルディングブロックは、依然アミノ酸に制約されていました。一方、天然物として知られる生理活性ペプチドには、その主鎖にアズリンなどのヘテロ環骨格を含むものが多く存在します(図2A)。生理活性分子としてより高いポテンシャルを有するこういった化合物群を自在に合成できるようになれば、天然物ライクな人工生理活性分子(『擬天然物』と我々は呼んでいます)の創成に道が拓けます。

そこで現在は、アズリン骨格を主鎖に含んだペプチドを簡便に合成するシステムの確立を目指し、FIT システムの更なる進化版の開発に力を注いでいます。具体的には、Cys/Ser/Thr 残基部分のアミド結合を脱水ヘテロ環化し、アズリン環骨格へと変換するペプチド修飾酵素に注目しています(図2B)。翻訳後ヘテロ環化酵素の一種である PatD を組み込んだ無細胞翻訳系(FIT-PatD システム)では、基質



の DNA 鎖を加えてインキュベーションするだけで、転写・翻訳・アズリン環修飾の三ステップの反応が一つのチューブ内で進行し、主鎖にアズリン骨格を有するペプチドが生成物として得られます。FIT-PatD システムでは、FIT システムによる翻訳構成アミノ酸の多様化や翻訳産物の大環状化手法をそのまま活用できます。これにより、図2C に例示したような大環状アズリンペプチドの合成をこれまでに達成しています。FIT-PatD システムを活用することで、今後社会に役立つ擬天然物を自由自在に生み出していけると信じ、日々研究に励んでいます。

おわりに

以上、誰がやっても合成失敗の「がっかり感」を経験することなく、目的の化合物を得られる、強力な化合物合成ツールの確立を目指した研究を紹介いたしました。今後も自分の研究モチベーションに素直に従い、化学・バイオテクノロジーの観点から技術革新を進めていく所存です。将来的には、分子生物学者の方々にも気軽に使ってもらえる様な合成システムを作り、誰もが自分オリジナルの化合物を使って研究を進める、ケミカルバイオロジーの新しい時代を創っていかれたらと考えています。

後藤 佑樹(ごとう ゆうき)

2005年 3月 京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻
修士課程修了

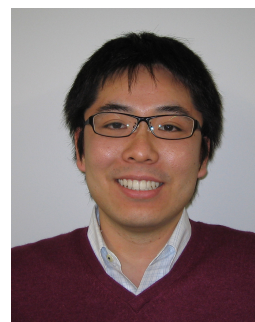
2008年 3月 東京大学大学院工学系研究科 先端学際工学専攻
博士課程修了 博士(工学)取得

2008年 4月 イリノイ大学化学科 博士研究員

2009年 10月 東京大学 先端科学技術研究センター 助教

2010年 4月 東京大学大学院理学系研究科 化学専攻 助教

2011年 12月 科学技術振興機構 さきがけ「細胞機能の構成的な理解と制御」
研究者 兼任



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻
菊地研究室 助教
堀 雄一郎

はじめに

合成蛍光プローブにより酵素活性を可視化することは、古くから化学者にとって魅力的な研究テーマであり、生物学者にとっては欠かすことのできない研究手法の一つであった。これまでに、様々な酵素の活性を検出する多くの合成蛍光プローブが開発されてきた。一方、酵素の発見から長い間、プローブ開発が進展していなかったものがある。それは、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)である。ヒトの HDAC でアミノ酸配列が最初に同定されたのは 1996 年であり、HDAC は遺伝子発現や代謝、細胞骨格形成など多様な生命現象に重要な役割を果たすことが示されてきた。また、HDAC に作用する化合物は、抗癌剤として臨床応用されているばかりか、生活習慣病や神経変性疾患などの治療薬としても期待されている。このように生命科学や医学・創薬において重要なものであるにも関わらず、HDAC と反応しそのまま蛍光強度が変化するようなプローブの開発はなされていなかったのである。その理由は、開発そのものが困難なのであろうと容易に想像できたわけだが、筆者は、意を決して HDAC プローブの開発に挑戦した。本稿では、HDAC プローブの開発とその経緯について記したい。

HDAC と活性検出技術

蛋白質に含まれるリジンのε-アミノ基のアセチル化は、蛋白質の機能を制御する重要な翻訳後修飾である。HDAC は、アセチルリジンを脱アセチル化する反応を触媒し、その蛋白質の機能制御に関わっている。ヒトの HDAC は 18 種類知られており、その標的となる基質として、ヒストンだけではなく転写因子を初めとした多くのタンパク質が報告されている。HDAC に作用する化合物は有用な薬理効果を示すものが知られているため、HDAC の活性評価は極めて重要となるわけである。しかしながら、その活性を簡便・迅速に測定する手法は限られているのが現状である。現在知られている HDAC 活性検出法としては、抗体や放射性同位体を用いる方法があげられる^{1,2)}。抗体を用いる免疫学的手法は検出に多段階の操作を要するという問題があり、放射性同位体による手法は多段階の操作が必要なことに加え放射性分子の取り扱いに制限がある。また、ペプチドに蛍光色素をつないだ蛍光プローブが開発されており、HDAC 活性を蛍光強度の上昇で検出できるようになっている³⁾。しかしながら、このプローブの問題は、HDAC との反応のみでは活性を検出できず、酵素反応後プローブのプロテアーゼ処理を蛍光検出に必要とすることである。このため、HDAC 活性を直接検出することができない。筆者らは、これらの問題を解決するために、一段階の操作で簡便に HDAC の活性を蛍光検出することのできる合成プローブの開発を行った。

HDAC プローブの設計

HDAC プローブの設計で困難な点は、HDAC が脂肪族アセタミドのアセチルリジンを基質とすることである。通常、酵素の蛍光プローブは、酵素反応後、蛍光色素のp電子共役系に何らかの変化を与えるものでなければいけない。しかしながら、アセチルリジンは、酵素反応部位にメチレン鎖が結合しているため、酵素反応後、電子状態に影響を与えるように蛍光色素をアセチルリジンにつなぐことはできない。このため、酵素

反応による脱アセチル化を蛍光アウトプットに変換する何らかのトリックが必要となる。

まず、分子設計を行ううえで、基質であるアセタミドと反応産物であるアミンの求核性の違いに着目した。基本的かつ重要な点は、アセタミドは求核性がほとんどないのに対し、酵素反応により生成するアミンは求核性が高いということである。このことから、分子内に求電子性の官能基が存在すると酵素反応後にのみ、アミンによる分子内求核反応が引き起こされ

ると考えた。このとき、蛍光色素に求電子性官能基を組み込み、アミンと反応することで蛍光特性が変化するように分子設計しておけば、HDAC 活性を検出できると期待したわけである。

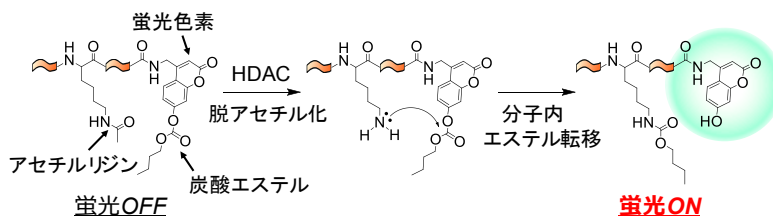


図 1. 合成蛍光プローブの HDAC 活性検出原理。

具体的には、アセチルリジンからなる基質

構造を HDAC の基質部位として、7-ヒドロキシクマリンを蛍光色素部位として組み込んだ分子を設計した(図 1, 2)。さらに、酵素反応後に生成するアミンと反応するように、7-ヒドロキシクマリンの 7 位のヒドロキシ基を求電子性反応基である炭酸エステルに変換した。ここで重要なことは、7 位を炭酸エステル化したクマリンは非蛍光性となることである。また、予測どおり酵素反応が起こり生成したアミンが色素の炭酸エステル部位を求核攻撃した場合、分子内エステル転移反応が起こると共に 7-ヒドロキシクマリンが生成し蛍光性となると考えられる(図 1)。我々は、この蛍光プローブ (KAc-CCB) を化学合成した。

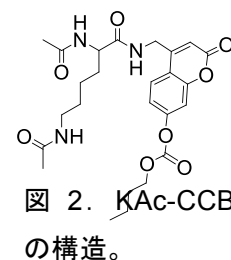


図 2. KAc-CCB の構造。

HDAC プローブの評価と再設計

実際に、KAc-CCB が酵素と反応し、実際に分子内転移反応を引き起こすかを解析した。HPLC の結果から酵素反応は進行するもののその反応速度は遅く、8 時間を経過しても、反応が完了しないことが分かった。また、分子内転移反応速度も遅く、蛍光強度は 8 時間後もゆるやかに上昇し続けることが分かった。プロジェクトを始める時に開発の困難さを懸念していたとおり、問題に直面したというわけである。ただ、ここで諦めることはせず、プローブの再設計を行った(図 3)。

まず、酵素に対する反応性の問題を解決するにあたり、アセチルリジンのすぐ隣につないだ蛍光色素が立体障害を引き起こしていることが考えられた。このことは、蛍光色素とアセチルリジンの間にペプチドリンカー配列を導入することで解決すると期待された。一方、蛍光色素とアセチルリジンが空間的に遠くなればなるほど、分子内転移反応は起こりにくくなる可能性があった。しかしながら、幸運なことに、この時、

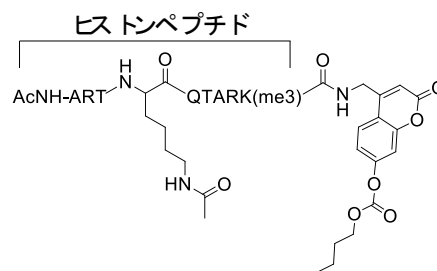


図 3. K4(Ac)-CCB の構造。

別のプロジェクトでリジンと蛍光色素が数アミノ酸離れた位置にあっても分子内転移反応は、進行することを筆者らは見出していた。このことから、図 3 に示したプローブ K4(Ac)-CCB を設計した。このプローブでは、基質部位にヒストン H3 の N 末端テールペプチドを導入しており、N 末端から 4 番目のアセチルリジンと蛍光色素の間には 5 アミノ酸のペプチドリンカー配列が存在する。HDAC の一種である Sirt1 と K4(Ac)-CCB を用いて、HPLC、MS/MS 及び蛍光分光法により酵素反応とそれに続く分子内転移反応を解析した。その結果、酵素反応は 15 分以内に完了し、分子内転移反応も 90 分程度ではほぼ完了した。Sirt1 と 30 分間反応させたプローブの蛍光強度は、酵素が存在しないときに比べ、約 7 倍上昇することが示された。これらの

実験結果から、HDAC と混ぜるという一段階の操作で、蛍光強度が上昇するプローブの開発に成功したといえる。また、この反応溶液に、Sirt1 の阻害剤を添加したところ、蛍光強度の上昇が抑制されたことから、HDAC 阻害剤のスクリーニングへの応用が可能であることが示された⁴⁾。

おわりに

上記のプローブ以外にも、筆者らは、凝集誘起発光を利用してHDAC活性を一段階の操作で捉えることにも成功している⁵⁾。今後は、更なるプローブの改良、特に分子内転移反応速度の向上や異なるサブタイプのHDACの活性を検出できるプローブ開発を目指していきたい。

本研究は、大阪大学大学院工学研究科の菊地和也先生の研究室においてなされたものであります。菊地先生には格別のご支援とご指導を頂いており、厚くお礼申し上げます。また、本研究は、菊地先生のご指導のもと、学生の馬場玲輔君、ポスドクのKoushik Dhara博士と共に行ったものであります。紙面の都合上、研究の苦労話をすべて記載することはできなかったのですが、彼らは多くの泥臭い実験をこなしており、その実験過程と日々のディスカッションの中で上述した効率的な分子内転移反応が見つかり、今回のプローブ開発につながったことから、彼らに特に感謝しております。アカデミアの研究組織で研究を進めるうえで、最近特に感じることは、「人」の大切さです。研究は自分一人では決してできないものであり、協同して個々の役割を果たしてこそ、良い研究が生まれると信じております。今後もこの点を心にとめて、研究に邁進していきたいと思っております。

参考文献

- 1) B. R. Stockwell, S. J. Haggarty, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.*, **6**, 71-83 (1999)
- 2) J. M. Sun, V. A. Spencer, H. Y. Chen, L. Li, J. R. Davie, *Methods*, **31**, 12-23 (2003)
- 3) D. Wegener, F. Wirsching, D. Riester, A. Schwienhorst, *Chem. Biol.*, **10**, 61-68 (2003)
- 4) R. Baba, Y. Hori, S. Mizukami, K. Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 14310-14313 (2012)
- 5) D. Koushik, Y. Hori, R. Baba, K. Kikuchi, *Chem. Commun.*, **48**, 11534-11536 (2012)

堀 雄一郎(ほり ゆういちろう)

大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 助教

平成 16 年 京都大学大学院薬学研究科博士課程修了

平成 16 年 ロックフェラー大学 Postdoctoral fellow

平成 18 年～ 大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 助教

平成 24 年～ JST さきがけ研究者(兼任)



◆ 海外の研究室から ◆

Mayo Clinic, Department of Oncology, Division of Oncology Research

Assistant Professor

一杉 太郎

2013年の5月から研究室を立ち上げ、約半年が経ちました。私の研究室のあるメイヨークリニックはアメリカミネソタ州ロチェスター市にあるアメリカ有数の臨床及び医学研究機関であり、医学部に所属している方にはかなり名の通っている研究機関です。この雑誌の主な読者であるバイオテクノロジー部会の皆さんもご存知の方はいるかもしれません。私は元々、東京大学理学系研究科化学専攻分析化学研究室(指導教員:梅澤喜夫教授)で博士をとりました縁から、今回この日本化学会のニューズレターに寄稿させていただくことになりました。私は今現在、癌の代謝メカニズムについて主に研究しています。化学博士である私が医学系研究機関で癌の研究を主にやっているのは珍しく見えるかもしれませんが、化学の知識や経験は私の研究に大きな独自性をもたらし、私自身の強みにもなっているのでそのことを少し紹介したいと思います。また、研究のみならず7年間の海外生活から得た経験も紹介したいと思います。

1: 大学院卒業からポスドクへ

私は元々十代の頃から副作用の少ない抗癌剤を開発したいと考えていまして、そのためにはまずは化学のことを知らなければ薬を作りようがないと思って化学科に進学しました。大学院時代は前出の分析化学研究室で蛍光タンパク質を使ったバイオセンサーの開発に携わり、そのバイオセンサーを用いて癌に関わるチロシンキナーゼの一つである Src の細胞内活性を測定していました(1,2)。大学院を卒業しポスドク先を探すにあたり、もっと癌のことを研究したいと思い、最も癌研究の進んでいるアメリカに留学したいと考えました。とは言っても実際のところ特に知り合いの先生がアメリカにいるわけでもなく、まさにゼロからのスタートでした。そこで、何を隠そう留学先は Google で検索して見つけてきたのです。始めの一週間はただ単に Cancer, post-doc, USA 等とタイプしていたわけですが、毎回10万件はざらにヒットが出てくるわけです。さすがは Google。その後、数あるヒット結果からポスドクジョブドットコム (<http://www.postdocjobs.com/jobseekers/>)というサイトがあることに気がつきました。そのサイトはキーワードを自分で入れることができるので私の場合、cancer, tyrosine kinase, signal transduction 等と入れてみて、そこから出た5-6件のヒット先に自分の履歴書を送り、1件だけ返事があったのがその後5年半ポスドクをすることになったジョージア州アトランタにあるエモリー大学医学部の Chen 研究室でした。この時期がまさしく自分の研究分野を化学から医学の方へと転換していった時期でしたので、一つのターニングポイントだったと言えるかもしれません。研究だけでなく生活の面でも、妻と当時2歳になる娘と、初めての海外生活だったので、留学するのはかなり大きな変化でした。

2: ポスドク時代

私が留学した当時、ボスであった Dr. Jing Chen はエモリー大学で PhD をとり、ハーバードでポスドクを2年やり、また自分の出身大学に戻ってきてラボを立ち上げたばかりの若い Assistant Professor でした。当時はよく分かっていなかったのですが、今のアメリカでポスドクを2年だけやって自分のラボを持つというのはかなりのハイペースです。なぜ彼がそのハイペースでラボを持てたのかは私が彼の研究室に入ってからよ

く分かりましたが、詳しく書くのはまた次の機会にしたいと思います。さて、私のボスは私が化学科出身であることを考慮して、癌の代謝経路の研究をするように suggestion (というよりは order に近いですが) してきました。始めは大学生の時に習った、解糖系やクエン酸回路なんてとつづくに忘れていましたし、代謝経路について特に興味もありませんでした。酸化的リン酸化とか聞いたことあったなあというレベルです。ところが始めてみると代謝物質は当然全て化学物質ですし、代謝物質や代謝酵素のアッセイ系の立ち上げには化学の知識がないとどうにもならないものばかりでした。これはタンパク質だけやっているよりよっぽどおもしろいなというのと、この分野ならボスよりも自分の方が細かい所までよく分かるので自分を活かせるなというのと、そして何より代謝物質の派生物は代謝酵素の阻害剤として働き、ゆくゆくは抗癌剤として利用できるかもしれないと思い、癌細胞内で重要な働きをする代謝酵素について研究してきました(3-6)。その中でも、解糖系の酵素であるホスホグリセリン酸ムターゼの研究では、代謝経路の制御機構の解明から始まり、小さいながらも Drug Screening を行い、ホスホグリセリン酸ムターゼの阻害剤を開発し動物実験で実際に癌が縮小するところまで示しました(5)。この研究のいずれのステップも化学の知識なしではとてもできないものです。以前大学院の有機化学の授業で、数ある科学の分野の中でも物を創造できるのは化学だけだと教わりましたが、この研究から本当にその通りだなとつくづく思いました。今後はこうした経験を生かして自らの研究から実際の臨床治験まで発展させられるようにしていきたいと思っています。このように、7年ほど前に化学の分野から医学の分野に飛び出してみました。今では化学と医学の領域部分の研究をしているという感じでしょうか。現に私の立ち上げた研究室ではガスクロを使って癌細胞内の代謝物質の増減を測定したりしています(写真)。

3: 私もまだ若い Assistant Professor ですが、もっと若い人たちへ

アメリカに来て7年ほど経ちましたが、最近感じるのはアメリカにポスドクとしてやってきてバリバリと研究してという日本人が減ってきている気がします。反対に中国や韓国からのポスドクの人は確実に増えてきています。確かに日本にいる方がその後アカデミックのポストにつきやすいのかもしれませんが、しかしながら、何より人生経験として若いうちに海外に出て研究してみるというのは、自分の視野を広げるという意味でも一度経験しておいて損はないように思います。また、常に結果を求められるという点はアメリカであれ日本であれ、そうは変わらないように思えます。ただしアメリカの場合 Assistant Professor 自らが主体となって予算をとり、研究室を運営しなくてはなりません。また、大抵の場合 Assistant Professor は5年契約で、その間にそれなりの数の論文を出し、かつ外部予算を獲得できなければ、クビになります。そのせいもあって若い Assistant Professor は結果をより求められるわけです。今の私もちょうどその部類に入ります。ただし日本と違ってアメリカでは若い Assistant Professor でも自分のラボを持ち、自分のやりたいテーマを研究することができるという非常に良い点があります。またアメリカでは共同研究をする文化が日本よりも広く浸透しており風通しが非常に良いと思います。アメリカの Assistant Professorの方が自由度は高いが、リスクもあるという感じです。私はポスドク後アメリカで研究を続けていく道を選びましたが、これは先ほど書いた Assistant Professor でのいるリスクをとってでも自由にやってみたいと思うかどうかではないでしょうか。私の通ってきた道程は化学、医学どちらの分野においても“王道”と呼ばれる道程ではなかったかもしれませんが、若い人たちが今後こういう道程もあるのだなと少しでも参考にさせていただけたら幸いです。

4: 番外編

さて、ここまで研究の話しを主にしてきましたので少し海外生活のことも書いておこうと思います。日本とアメリカでは文化もやはり違うし、社会システムそのものが結構違うので妻子とともに時に泣き、大抵の場合笑い飛ばしながらやってきた7年でした。今私は子供が上から小学3年、幼稚園、一歳の赤ん坊と3人いて、妻は私の研究室でテクニシャンとして働いています。私のポスドク時代も妻は違う研究室でテクニシャンとして働いていました。博士の大学院生時代に上の子が生まれてから、私の一年の目標は常に“研究と育児の両立”でしたので、アメリカでの生活は妻と二人ずっと目も回る忙しさでした(今もそれは変わりません)。特にアメリカは、日本のように便利なお惣菜やお刺身といった簡単メニューが手に入らないので、基本的に完全自炊しますので大変です。当然コンビニもありませんし。ただ コンビニやデパ地下があったとしても、日本では共働きで子供3人は育てられなかったと思います。やはり日本は必要以上に労働時間が長いし、長くいるのが美德という空気が流れているように思えます。実験をする以上ある程度の拘束時間は考慮しなくてはなりませんが、夜遅くまで居残って論文を読んだり、先輩が帰るまで待ったりしてはなかなか子育てをできないように思います。これは私自身の経験から分かったのですが、何か書き物や読み物をする時は朝にやった方が断然効率的です。私も子供が生まれる前は終電で帰ったりする方が“より仕事をした感じ”がしていましたが、実際のところはそうでもありませんでした。若い人で子育てをしながら研究を続けていきたい人は是非一度実践してみてください。アメリカの研究者も多くの人が“朝型”です。

それからアメリカで日常生活していく上での心得として、日本にいる時よりタフでないとやっていけないという点があります。外国人として生活するから当然のことかもしれませんが、生活そのものが日本よりルーズで不便にできています。断水停電はよくあるし、なったとしても誰も特に驚きません。日本だったら大騒ぎですよ。アメリカの家やアパートメントも日本の物と比べるとかなり適当に作ってあるので、多少古い家だったりすると水漏れもしょっちゅうあります。我が家もつい2日前の夜(ちなみに外の気温は-25℃)、洗い物をしているとキッチンの床下からシューッという音がして、下の階で子供を寝かしつけていた妻のところに行くと「天井に小川が流れている音がする」と言われ、その直後に天井から水が落ちてきました。どこから水がでてきているのか家の外(しつこいですが-25℃です)と内をくまなく調べるも分からず、結局その日は水の元栓をして水漏れを防ぎ、次の日業者を呼んでさんざん調べた結果、配管の一つが壊れたらしいということが判明しました。業者も「まあこの辺の水道管が銅管だからたまに壊れるよ。もう大丈夫。」と言って去って行きました。そんなことよくあることなのか！？というか配管を調べるため天井に大きい穴を開けていったけど、これ自分で直すの！？と、タフでないとやっていられないことがよく起こります。

以上ご紹介したように大変ながらも楽しくアメリカで研究生活をしている私ですが、最後にアメリカでの私の研究を支え、ともに子育てを頑張り続けてくれている私の妻定恵にこの場を借りて一言、どうもありがとう！

追記:今回この手記の掲載を提案して下さった、現東京大学理学系研究科化学専攻分析化学研究室教授の小澤岳昌教授に感謝の意を表したいと思います。

引用文献

1. Hitosugi, T., Sasaki, K., Sato, M., Suzuki, Y., and Umezawa, Y. (2007) Epidermal growth factor directs sex-specific steroid signaling through Src activation. *The Journal of biological chemistry* **282**, 10697-10706
2. Hitosugi, T., Sato, M., Sasaki, K., and Umezawa, Y. (2007) Lipid raft specific knockdown of SRC family kinase activity inhibits cell adhesion and cell cycle progression of breast cancer cells. *Cancer research* **67**, 8139-8148
3. Hitosugi, T., Fan, J., Chung, T. W., Lythgoe, K., Wang, X., Xie, J., Ge, Q., Gu, T. L., Polakiewicz, R. D., Roesel, J. L., Chen, G. Z., Boggon, T. J., Lonial, S., Fu, H., Khuri, F. R., Kang, S., and Chen, J. (2011) Tyrosine phosphorylation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase kinase 1 is important for cancer metabolism. *Molecular cell* **44**, 864-877
4. Hitosugi, T., Kang, S., Vander Heiden, M. G., Chung, T. W., Elf, S., Lythgoe, K., Dong, S., Lonial, S., Wang, X., Chen, G. Z., Xie, J., Gu, T. L., Polakiewicz, R. D., Roesel, J. L., Boggon, T. J., Khuri, F. R., Gilliland, D. G., Cantley, L. C., Kaufman, J., and Chen, J. (2009) Tyrosine phosphorylation inhibits PKM2 to promote the Warburg effect and tumor growth. *Science signaling* **2**, ra73
5. Hitosugi, T., Zhou, L., Elf, S., Fan, J., Kang, H. B., Seo, J. H., Shan, C., Dai, Q., Zhang, L., Xie, J., Gu, T. L., Jin, P., Aleckovic, M., LeRoy, G., Kang, Y., Sudderth, J. A., DeBerardinis, R. J., Luan, C. H., Chen, G. Z., Muller, S., Shin, D. M., Owonikoko, T. K., Lonial, S., Arellano, M. L., Khoury, H. J., Khuri, F. R., Lee, B. H., Ye, K., Boggon, T. J., Kang, S., He, C., and Chen, J. (2012) Phosphoglycerate mutase 1 coordinates glycolysis and biosynthesis to promote tumor growth. *Cancer cell* **22**, 585-600
6. Hitosugi, T., Zhou, L., Fan, J., Elf, S., Zhang, L., Xie, J., Wang, Y., Gu, T. L., Aleckovic, M., Leroy, G., Kang, Y., Kang, H. B., Seo, J. H., Shan, C., Jin, P., Gong, W., Lonial, S., Arellano, M. L., Khoury, H. J., Chen, G. Z., Shin, D. M., Khuri, F. R., Boggon, T. J., Kang, S., He, C., and Chen, J. (2013) Tyr26 phosphorylation of PGAM1 provides a metabolic advantage to tumours by stabilizing the active conformation. *Nature communications* **4**, 1790

一杉 太郎

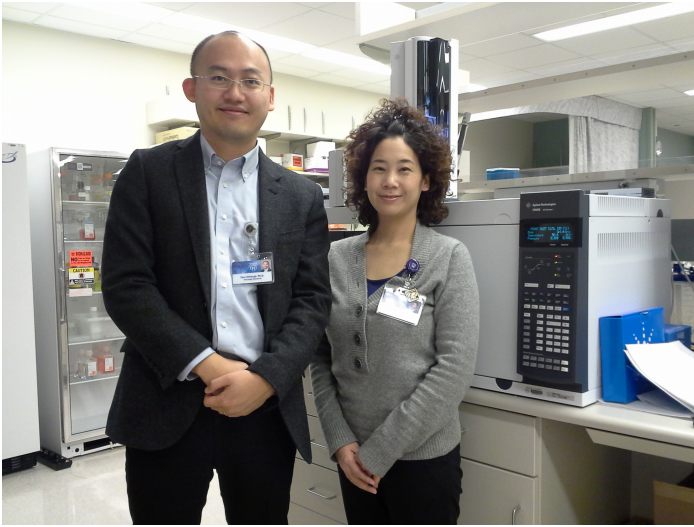
2007年3月 東京大学大学院理学系研究科化学専攻 博士課程修了

2007年4月-7月 東京大学大学院総合文化研究科 博士研究員

2007年7月-2013年2月 Emory University School of Medicine, Winship Cancer Institute, Post-doctoral fellow

2013年5月-現在 Mayo Clinic, Department of Oncology, Division of Oncology Research, Assistant Professor

私の研究対象である Cancer metabolism の分野に興味のあり留学を考えている方は是非 hitosugi.taro@mayo.edu までご連絡下さい。



筆者(左)とテクニシャンの妻定恵。後ろに映っているのが研究室で最も高価な備品であるガスクロです。

◆ 学会活動報告 ◆

第 7 回バイオ関連化学シンポジウム開催報告
(第 28 回生体機能関連化学シンポジウム)

名古屋大学大学院工学研究科
浅沼浩之

生物化学に関連する日本化学会の 4 つのコミュニティー(生体機能関連化学部会、バイオテクノロジー部会、生体機能関連化学・バイオテクノロジーディビジョン、フロンティア生命化学研究会)およびホスト・ゲスト・超分子研究会が主催する第 7 回バイオ関連化学シンポジウム(第 28 回生体機能関連化学シンポジウム)が、平成 25 年(2013 年)9 月 27 日(金)から 29 日(日)にかけて、名古屋大学豊田講堂・野依記念学术交流館で開催された。例年通り、ペプチド・タンパク・酵素、分子認識・超分子・モデル系、遺伝子関連などが関連する幅広いバイオ関連化学をシンポジウムのテーマとして掲げ、123 件の口頭発表と 240 件のポスター発表が行われた。今年度は第 11 回ホスト・ゲスト化学シンポジウムも兼ねたこともあり、大変嬉しいことに 3 日間で 500 名を超えるほどの参加者が集い、口頭発表とポスター発表いずれも大いに議論が盛り上がった。

今年度は特別企画として「講演賞受賞者の“現在過去未来”」と銘打ち、現在バイオ関連の各分野をリードする第一線の研究者としてご活躍されている、初期のバイオ関連化学シンポジウム講演賞の受賞者の中から 4 名(以下参照)にご講演をお願いした。その際、招待講演者に対して大変僭越とは思ったが、1)受賞当時に行っていた研究内容、2)その内容が現在の研究にどのように発展あるいは展開したのか、といった内容をご講演のどこかに盛り込むよう注文を付け、受賞当時の研究内容と現在の研究を対比させながら今後の研究を熱く語っていただくようお願いした。

津本浩平 教授(東大院工):平成 12 年(2000 年)受賞

菊地和也 教授(阪大院工):平成 13 年(2001 年)受賞

田中健太郎 教授(名大院理):平成 14 年(2002 年)受賞

一二三恵美 教授(大分大学全学研究推進機構):平成 15 年(2003 年)受賞

各先生方は私の無粋なリクエストに対して期待以上に応えていただき、10 年以上前の受賞当時の研究をどのように発展させて現在に至ったのか、そして今後何を目指すのか、まさに「過去⇒現在⇒未来」を語っていただいた。またご講演者と同じ年に受賞された先生に座長をお願いし、受賞当時の世相を振り返りながら司会していただいた。当時はまだ駆け出しだった(失礼!)先生方の御研究が大きく展開されていく過程は圧巻であり、会場で聴講された多くの方々には魅了されると同時に圧倒されたことと思う。また講演賞を狙っている若い研究者にとっては応募するモチベーションが更に高まったのではないかと思う。

ここでバイオ関連化学シンポジウム講演賞(生体機能関連化学部会講演賞)の歴史を簡単に振り返らせていただく。平成 12 年(2000 年)の第 15 回生体機能関連化学シンポジウムから講演賞が設けられ、生体機能関連化学に関する若手研究者の育成を目的として 40 歳以下(受賞時に部会員になって 1 年以上経過し

た者)の研究者を対象に、選考希望者の中から毎年4名(平成15年度より生体機能関連化学部会とバイオテクノロジー部会との合同開催が開始、そのため平成15年のみ6名)が選ばれている。13回目となる平成24年(2012年)までに54名が受賞しており、そのほとんどがそれぞれの分野をリードする研究者へと成長している。レベルの高い4名の若手研究者が途切れることなく毎年輩出されているという事実は、バイオ関連分野の activity の高さを物語っていると思う。なお平成25年度(2013年)は、以下の4名が講演賞を受賞した

後藤佑樹氏(東大院理)

PatD-FIT システム:アゾリン含有ペプチドの汎用合成系

遠藤玉樹氏(甲南大 FIBER)

新生 RNA の転写共役フォールディングを利用した RNA 構造スイッチの設計

堀雄一郎氏(阪大院工)

環境応答性発蛍光プローブと PYP タグを利用した細胞内蛋白質高速イメージング技術の開発と生物応用

山口拓実氏(分子研)

ランタニドイオンを活用した常磁性 NMR 法による糖鎖の動的構造解析



(左から)浜地先生、深瀬先生、後藤氏、堀氏、遠藤氏、山口氏、鍋島先生、民谷先生

ところで今回過去の受賞者を調べていて分かったことだが、女性の受賞者は何と今回ご講演いただいた一二三先生だけであった。来年度以降、女性研究者も多数応募していただき、バイオ関連化学分野は女性もレベルが非常に高いことを是非示して頂きたいと、切に願っている。

最後に、本シンポジウムの開催に当たり、実行委員会を代表して参加者の皆様に厚く御礼申し上げます。また、運営でご協力頂きました名古屋大学大学院工学研究科および理学研究科の実行委員の先生方および研究室の皆様、部会の事務局の坂下修一様に御礼申し上げます。

第16回生命化学研究会・開催報告

東京大学大学院総合文化研究科

村上裕

フロンティア生命化学研究会では、年1回の頻度で、生命化学研究会シンポジウムと生命化学研究会をそれぞれ開催しております。2013年度の第16回生命化学研究会シンポジウムは、名古屋において第28回生体機能関連化学シンポジウム、第16回バイオテクノロジー部会シンポジウム、第11回ホスト-ゲスト超分子化学シンポジウムと共同開催されました。本稿では、2014年の1月9日～10日に熱海において開催いたしました、第16回生命化学研究会についてご報告いたします。

本研究会は参加人数が47名と小さいものでしたが、そのほとんどが教員であり、泊まりがけで、非常に内容の濃い本音の議論が行われました。研究会では、7件の依頼講演と20件のポスター発表がありました。特に依頼講演は、積極的に非会員の先生方をお呼びして（7件中6件）、幅広い分野の最先端の研究についてご講演をいただきました。

一日目：田端和仁先生（東大工）のご講演では、「大腸菌をマイクロデバイスと融合する」というタイトルで、大腸菌の細胞質を内容物として持ち脂質二重膜で蓋をしたマイクロチャンバーの作成について解説していただきました。実際にチャンバー内では蛋白質合成が成されており、さらに一部のチャンバーでは内容物がチューブ状の膜として出ており、あたかも生物のような動きをしていました。生物とは何かを考えさせられる興味深いご講演でした。次に浜窪隆雄先生（東大先端研）から、「バキュロウイルスと抗体テクノロジー」についてご講演をいただきました。浜窪先生は、バキュロウイルスを用いて活性な膜タンパク質を作成し、精力的に膜タンパク質の機能解析を進められています。さらに、これを抗体作製の際の抗原として利用して高親和性／高選択性を持つ抗体を作成し、抗体治療へと展開されています。化学の分野からではなく、医学、生物学の分野からの最先端の創薬について勉強になるご講演でした。小路弘行先生（株式会社PRISM Pharma）からは、「Unstructured/Structured Interactionを標的にした創薬」についてご講演をいただきました。ヘリックス模倣骨格として複数の化合物を用いることで、微妙に官能基の位置が変わり、これにより同じ官能基を用いても全く異なる活性応答となる複数の例をお見せいただきました。化合物とタンパク質との相互作用について色々考えさせられることの多い素晴らしいご講演でした。また、Unstructured/Structured Interactionをもつターゲットの選定から、スクリーニング系、モデル生物を用いた評価系迄、きっちりと研究が進められており勉強になりました。齊藤博英先生（京大CiRA）からは、「RNAスイッチ：ナノ構造と人工回路設計の共通原理」についてご講演をいただきました。個人的なことですが齊藤先生とは、アメリカでいた際にルームメイトとして1年間過ごしました。当時から自由な雰囲気先生でしたが、研究も自身の興味にまっすぐに沿って行われており、合成生物学の分野でなにか新しいものができそうだという期待をもたせる興味深いご講演でし

た。講演の後にポスターセッションを行い、さらに温泉につかり夕食や懇親会を通して親睦を深めました。部屋も基本的に3人～4人の相部屋で、若手もベテランも関係なく合宿のような雰囲気でした。こういう雰囲気が、本音で議論をするための原動力になるのだと思います。

二日目：まず、濡木理先生（東大理）から、「結晶構造に基づく低分子化合物およびペプチドによる創薬研究」についてご講演をいただきました。特に、創薬に関わる膜タンパク質について、タンパク質の発現系の構築、基質との結合とそれに伴う構造変化、阻害剤の結合した構造などについて、生化学実験と構造を比較しながらご解説いただきました。分子の構造を見るということの大切さを実感するご講演でした。次に、鈴木勉先生（東大工）から、「RNAエピジェネティクスと生命現象」についてご講演をいただきました。鈴木先生はRNA修飾を精力的に研究されていて、精度の高い新しい技術を開発し、RNA修飾研究の最先端を切り開いておられます。生物がもつ様々なRNA修飾とその機能を見て、生物の奥深さを考えさせられました。最後に、本研究会の会員でもある大栗博毅先生（北大理）から「天然物の骨格多様化合成プロセス開発」についてご講演をいただきました。共通の中間体から、環化条件を変えることで、複数の異なる骨格を合成する手法の開発は興味深いものでした。化合物の三次元構造にこだわった筋の通ったご講演で勉強になりました。

以上、時系列で研究会の紹介をしましたが、研究会の雰囲気を十分伝えているとは言いがたい所があります。是非、次回の第17回生命化学研究会にご参加いただき、議論に加わっていただければ幸いです（来年は高知で開かれる予定です）。



◆ 編集後記 ◆

日本化学会春季年会の直前の発行となりました。ニュースターにご寄稿いただきました皆様に深く感謝申し上げます。若手研究者が独自の視点に立ち研究を進め、また海外などで経験を豊かに研鑽される勇ましい姿勢を、本号から読み取ることができると思います。若い研究者が共感し、刺激を受け、そして啓蒙されることがあれば幸いです。

NEWS LETTER Vol.18, No.1 2014年4月24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