

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. 25, No. 2 (2022. 02. 01)

- ◆ 巻頭言 1
小澤 岳昌 (東京大学)
- ◆ 先端研究ウォッチング 3
古川 寛人・松浦 和則 (鳥取大学)
- ◆ 若手研究者からのメッセージ 10
 - ① 福永 圭佑 (沖縄科学技術大学院大学)
 - ② 小和田 俊行 (東北大学)
 - ③ 松尾 和哉 (京都工芸繊維大学)
- ◆ 海外の研究室から 27
東 小百合 (岐阜大学)
- ◆ 学会活動報告 31
稲葉 央 (鳥取大学)
勝田 陽介 (熊本大学)
- ◆ バイオ関連化学シンポジウムのご案内 38
- ◆ 編集後記 39
清中 茂樹 (名古屋大学)

◆ 巻頭言 ◆

アフターコロナを見据えた学生教育

今から二年前の1月29日、二国間交流事業（JSPS）のご支援をいただき、研究室の学生を連れてシンガポールの南洋理工大学にいた。当時はシンガポールにコロナウイルスが蔓延し始めたばかりで、マスクをしている人はごく希に見かける程度であった。学生に研究成果を発表する機会を与え、南洋理工大学の学生と自由闊達な討論の場を設けた。異国の地で異なる文化で育った学生と交流することで、感覚の差はあれ、グローバル社会で生きる力を学生は何かしら会得したことであろう。

それから2年、我々を取り巻く環境は一変し、グローバルに活躍する高度な人材育成に必要とされる学生の海外経験は完全にストップした。コロナ前はコースワークに所属する学部生や大学院学生は、1～3ヶ月の海外短期留学が課せられて、欧米の大学や企業で貴重な経験を積むことができた。短期留学から戻った学生は、研究に対する目の輝きもコミュニケーション能力も飛躍的にステップアップし、マインドがリセットされたかのようであった。一方この二年間は、海外短期留学が国際学会でのオンライン発表などに置き換わり、学生の貴重な機会が失われてしまったことは甚だ残念である。しかしグローバル化の社会の流れは今も加速し続け、世界で活躍できる人材育成は我々教育者のミッションである。この現世代の学生だけが不運なコロナウイルスを理由に取り残されることは許されない。何が我々に今できるだろうか。

学内に国際的な環境をつくりだす、それが第一歩であろう。私が在籍する理学部化学科は、2014年からグローバルサイエンスコース（GSC）を設置して、海外で2年間の学部教育を終えた学生の編入制度を設けている。毎年多くの応募を受け付け5名程度の学生を受け入れてきた。このコロナの影響による応募数の減少は否めないが、幸い5名程度の優秀な学生を選抜して受け入れている。それに伴い、学部教育も完全に英語化し、GSC編入学生と内部学生約45名と一緒に化学の専門知識を英語で学修し実験実習を行っている。大学院には、研究室にもよるが、多くの留学生が在籍し、今も多様な国籍を持った学生が新たに入学している。昨年10月入学した私費留学生は未だ入国できずにいるが、それでも多くの研究室で一定数の留学生がコロナ下でも研究に勤しんでいる。当然、研究室で留学生とのコミュニケーションは英語となり、また大学院講義やセミナーをはじめ、修士・博士の発表会も英語となる。20代前半で会得する彼らの英語によるコミュニケーション能力は、博士取得後のそれとは明らかに違うように思う。

もう一つできることはオンラインの最大活用であろう。この二年間でオンライン講義やオンライン会議を始め、オンラインインターンシップ、オンライン学生交流会、オンライン留学、オンラインFDなど、オンラインと名のつくイベントに置き換わり、そのpros/consが顕在化してきた。またコロナ感染状況に合わせオンラインがハイブリッドに置き換わり、近い将

来はメタバースとなる時代も遠く無いであろう。遠隔授業が可能な講義単位数に制限が課せられているものの、教育効果を上げるための新たな取り組みは重要性を増すことに異論は無い。国境をまたがなくても、グローバル社会で生きる能力を育成することはそれほど難しいことではないかもしれない。ただし、同じ空間でしか肌で感じるができない感性を研ぎ澄ますことは難しく、それはアフターコロナの社会で若者が会得すべき課題である。

二年前に溢れていた外国人の姿が東京から消え、本郷キャンパスの外はさながら鎖国のような街の佇まいとなっている。駒場キャンパスに向かう途中の渋谷駅も、マスクをした学生とサラリーマンが往来するが外国人の姿は希有である。そんな中ふと目にとまったのが「明日の神話」である。JR 渋谷駅から井の頭線に乗り継ぐ連絡通路にある壁面で幅 30 メートルにも及ぶ岡本太郎の大作である。この絵画には、原爆による悲惨で残酷な世界が強烈な色彩で描かれているが、画面の端にはそれを乗り越え朗らかに生を謳歌する人々が映し出されている。今を生きる我々に向けて「コロナウィルスの難局を乗り越えた先に訪れる新たなグローバルリズムを展望せよ」と訴えているようにみえた。歴史を振り返れば、パンデミックに必ず終わりが来ることは明らかである。国境を越えて自らの熱い言葉で意見交換できる未来を展望して、この1年今できることを若者と共に大切な準備の時間としていきたいと思う。

2022 年 1 月 東京大学大学院理学系研究科 小澤 岳昌
(バイオテクノロジー部会 幹事)



NTU Bengang 博士の研究室との
合同セミナー(2020年1月29日)

◆ 先端研究ウォッチング ◆

エンベロープ型ウイルスレプリカの創製と機能性膜タンパク質の搭載

鳥取大学大学院工学研究科

古川 寛人、松浦 和則

はじめに

天然のウイルスは、ゲノム核酸がタンパク質集合体であるキャプシドで被覆された構造(ヌクレオキャプシド)を有し、宿主細胞内で自己複製できるナノサイズの生体超分子である。近年、ウイルスキャプシドやそれらを模倣したタンパク質・ペプチドナノカプセルが一義的なサイズ・会合数、及びユニークな形態を有する魅力的な有機材料として注目されている。例えば、Baker らは、対称性を考慮して分子設計した人工タンパク質の自己集合により多面体タンパク質集合体の構築に成功している^[1]。また、Heddle らは、11 量体リング状タンパク質である TRAP (Trp RNA-binding attenuation protein) に Cys 変異を導入し、Cys 残基と Au 原子との配位により、熱・変性剤・pH に対して安定なタンパク質ケージの構築に成功している^[2]。

一方、当研究室では、トマトブッシュスタントウイルス(TBSV)の正 12 面体内部骨格形成に関与する 24 残基β-Annulus ペプチド(INHVGTTGGAIMAPVAVTRQLVGS)が、水中で自発的に自己集合し、30~50 nm の中空ペプチドナノカプセル(人工ウイルスキャプシド)を形成することを見出している^[3]。また、この人工ウイルスキャプシドは内部が中空であり、ペプチド N 末端側がキャプシド内部に、C 末端側が外部に配向していることが電位の pH 依存性から明らかとなっている。この特性を利用し、人工ウイルスキャプシド内部に DNA・量子ドット・His-tag GFP などの内包や、ペプチドの C 末端修飾によるヒト血清アルブミン(HSA)やリボヌクレアーゼ S (RNase S) などの機能分子の表面被覆にも成功している^[4-7]。本稿では、コロナウイルスやインフルエンザウイルスのようなエンベロープ型ウイルスを模倣した「エンベロープ型ウイ

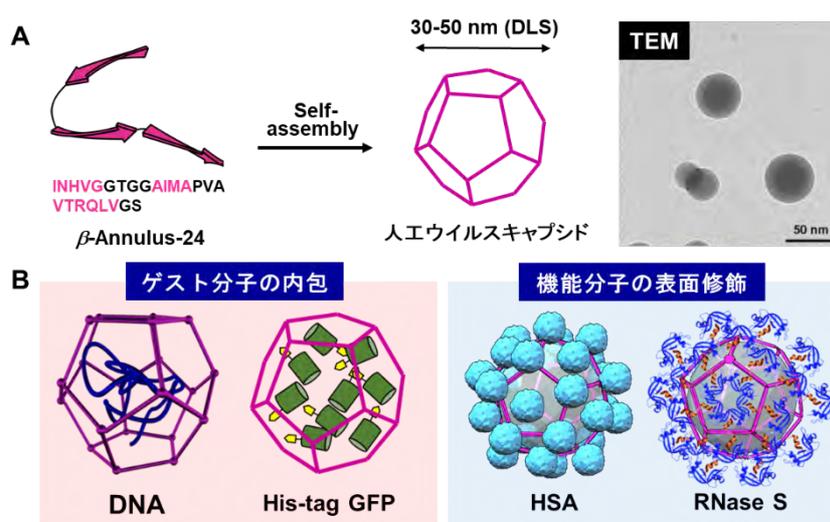


図 1. (A)人工ウイルスキャプシドの構築の模式図及び TEM 像 (B)人工ウイルスキャプシド内部へのゲスト分子の内包及び機能分子の表面修飾の例

ルスレプリカ」の創製についての我々の研究成果を紹介する。

エンベロープ型ウイルス模倣ナノ材料の構築

コロナウイルスやインフルエンザウイルス、HIVなどのエンベロープ型ウイルスは、ヌクレオキャプシドがエンベロープと呼ばれる脂質二分子膜で被覆され、そのエンベロープ表面には宿主細胞への感染や出芽などに関与する機能性膜タンパク質が埋め込まれている(図2A)^[8]。近年、エンベロープ型ウイルスを模倣して、脂質二分子膜を複合化したナノ構造体の構築が報告されている。例えば、Kostarelosらは、エンベロープを持たない球状ウイルスであるアデノウイルス表面に上のスパイクタンパク質に、カチオン性脂質 2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane (DOTAP)を被覆させることに成功し、複合体の細胞透過性が向上することを報告している(図2B)^[9]。また、Shihらは、外部に1本鎖DNAを有する球状DNAナノ構造体と、相補的な1本鎖DNAを有する脂質の二重鎖形成により、ヌクレアーゼ耐性を有する複合体を構築することに成功した(図2C)^[10]。このように天然ウイルスやDNAナノ構造体を脂質膜と複合体形成させることにより、新しい機能の付与や、構造安定化することが示され

ている。しかし、ペプチドの自己集合による人工ウイルスキャプシドを骨格としたエンベロー

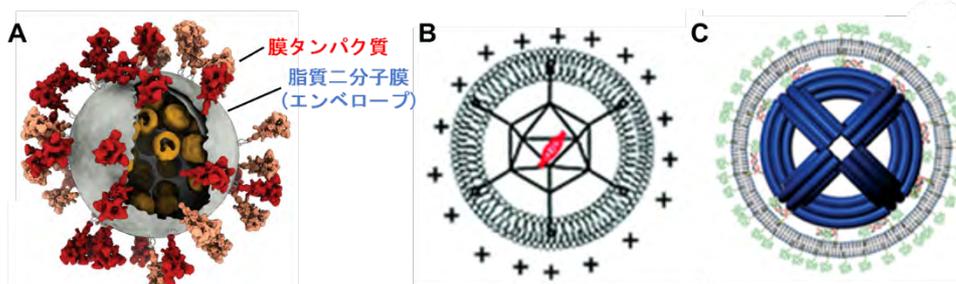


図 2. (A)SARS-CoV-2 ウイルス, (B)脂質修飾アデノウイルス及び(C)脂質修飾 DNA ナノ構造体の模式図

プ型ウイルス模倣ナノ材料の創製は未開拓であった。

そこで本研究では、アニオン性人工ウイルスキャプシドとカチオン性脂質との静電相互作用を介した複合化により、エンベロープ型人工ウイルスキャプシドを創製した^[11]。さらに、無細胞タンパク質発現系により機能性膜タンパク質 Connexin-43(Cx43)を搭載させたエンベロープ型ウイルスレプリカを創製し(図3)、Cx43間のギャップジャンクションを介したCx43発現細胞への分子輸送を行った^[12]。

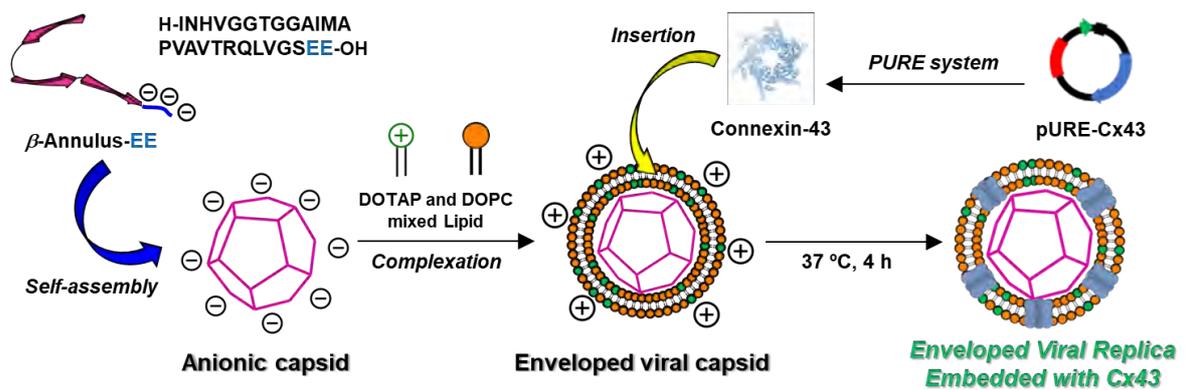


図 3. エンベロープ型ウイルスレプリカの創製の模式図

エンベロープ型人工ウイルスキャプシドの創製^[1]

キャプシドの外側に配向する C 末端側にアニオン性アミノ酸である Glu を 2 残基導入した β -Annulus-EE ペプチド (INHVGTTGGAIMAPVAVTRQLVGS EE) を合成し、その自己集合によりアニオン性人工ウイルスキャプシドを構築した。これに、カチオン性脂質 DOTAP と両性イオン脂質 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC) を静電相互作用により複合化させた。アニオン性人工ウイルスキャプシドと DOTAP/DOPC 混合脂質を電荷比 1 : 1 で複合化したところ、動的光散乱 (DLS) により平均粒径 84 nm の集合体形成が確認され (図 4A)、透過型電子顕微鏡 (TEM) により、脂質二分子膜の厚さに相当する 6~12 nm のフリンジ構造で覆われた 100 nm 程度の球状構造体の形成が観察された (図 4B)。

また、脂質を NBD、 β -Annulus-EE ペプチドを TMR で蛍光ラベルしたエンベロープ型人工ウイルスキャプシドの蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 測定の結果、TMR- β -Annulus-EE ペプチドの濃度増加に伴い、NBD 由来の蛍光強度の減少が確認された (図 4C)。NBD 由来の蛍光強度比から、TMR-NBD 間の平均距離は約 5 nm と算出され、ペプチドと脂質二分子膜が近接した複合体であることが確認された。さらに、イメージングフローサイトメトリー解

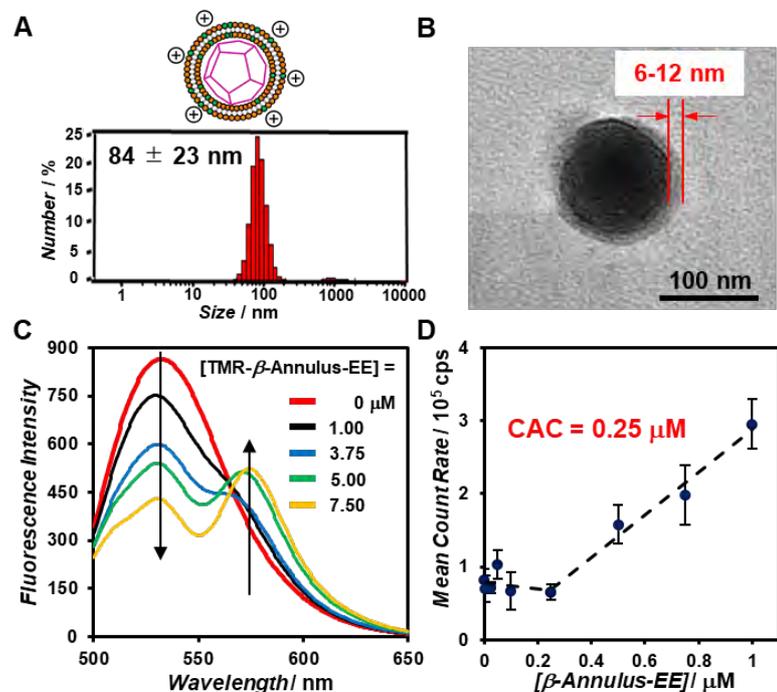


図 4. エンベロープ型人工ウイルスキャプシドの (A) DLS 粒径分布、(B) TEM 像、(C) FRET による蛍光スペクトル変化、(D) 臨界会合濃度

析の結果、TMR と NBD の両方を有する粒子群が確認されたことから、複合化に成功していることが示唆された。DLS より算出したエンベロープ型人工ウイルスキャプシドの臨界会合濃度(CAC)は $0.25 \mu\text{M}$ であり、未修飾の人工ウイルスキャプシド(CAC = $25 \mu\text{M}$)よりも 100 倍低濃度であった(図 4D)。この結果は、キャプシド構造が脂質で被覆されることで大幅に安定化したことを示している。

機能性膜タンパク質を搭載したエンベロープ型ウイルスレプリカの創製^[12]

次に、無細胞タンパク質発現系である PURE system を利用して、エンベロープ上への機能性膜タンパク質の搭載を検討した。細胞間でギャップジャンクション構造を形成し物質輸送の役割を担っている Cx43 をエンベロープ型人工ウイルスキャプシドに搭載し、ギャップジャンクション形成により Cx43 発現細胞内へ蛍光分子を輸送できるかを検討した。

まず、ウエスタンブロットによりエンベロープ型キャプシド存在下で Cx43 が発現していることを確認した。また、Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカに Alexa Fluor 488 標識抗 Cx43 抗体を添加して蛍光相関分光(FCS)測定を行ったところ、抗体のみの場合や、遊離の Cx43 に抗体を加えた場合よりも拡散時間の増大が確認された(図 5)。2成分フィッティングにより存在割合及び見かけの粒径を算出した結果、83%の存在割合で 10 nm 程度の抗体単体の成分が、17%の存在割合で 120 nm 程度の Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカと思われる成分が確認された。

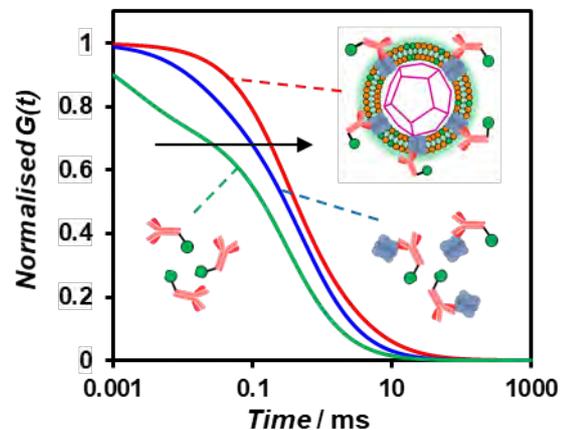


図 5. Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカへの蛍光標識抗体の結合の FCS 測定

次に、Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカに抗 Cx43 抗体と金ナノ粒子標識二次抗体を添加し、TEM 観察を行った。Cx43 を搭載していないエンベロープ型キャプシドの球状集合体表面に金ナノ粒子標識抗体と思われるドット状構造は観察されなかった(図 6A)。また、Cx43 発現リポソームでも金ナノ粒子ドット状構造はほとんど観察されなかった(図 6B)。一方、Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカでは、球状集合体表面に多数の金ナノ粒子ドット状構造が観察された(図 6C)。さらに興味深いことに、Cx43 の発現量を増やした場合、Cx43 間でギャップジャンクション構造を形成したと思われる二粒子間の接合構造が観察された(図 6D)。以上の結果から、エンベロープ型ウイルスレプリカ上に多数の Cx43 が搭載され、活性が維持されていることが示唆された。

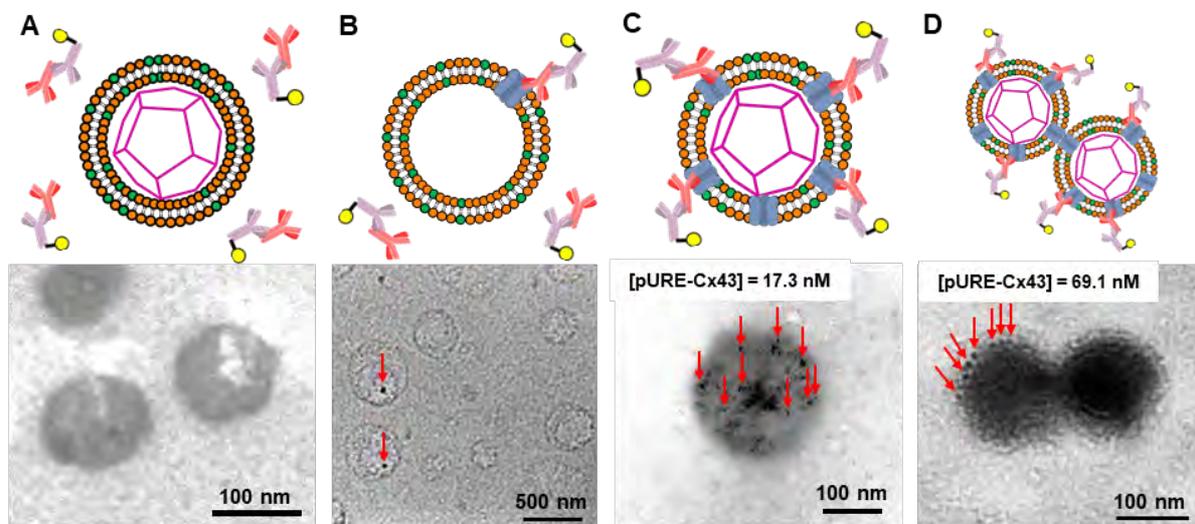


図 6. (A) Cx43 未搭載エンベロープ型キャプシド、(B) Cx43 発現リボソーム、(C, D) Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカに抗 Cx43 抗体および金ナノ粒子標識二次抗体を添加した際の TEM 像

ここまでの結果から、Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカの構築に成功したことが示唆されたが、実際に Cx43 間で形成するギャップジャンクションを介して分子を輸送できるかを評価した。Cx43 が発現していることが知られている HepG2 細胞に、蛍光分子 5-TMR を内包した Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカを添加し、共焦点走査型レーザー顕微鏡(CLSM)観察を行った。その結果、Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカを添加した場合は、細胞内部で 5-TMR 由来の蛍光が観察されたのに対し、Cx43 を搭載していないエンベロープ型ウイルスレプリカを添加した場合は殆ど蛍光が観察されなかった(図 7A)。細胞

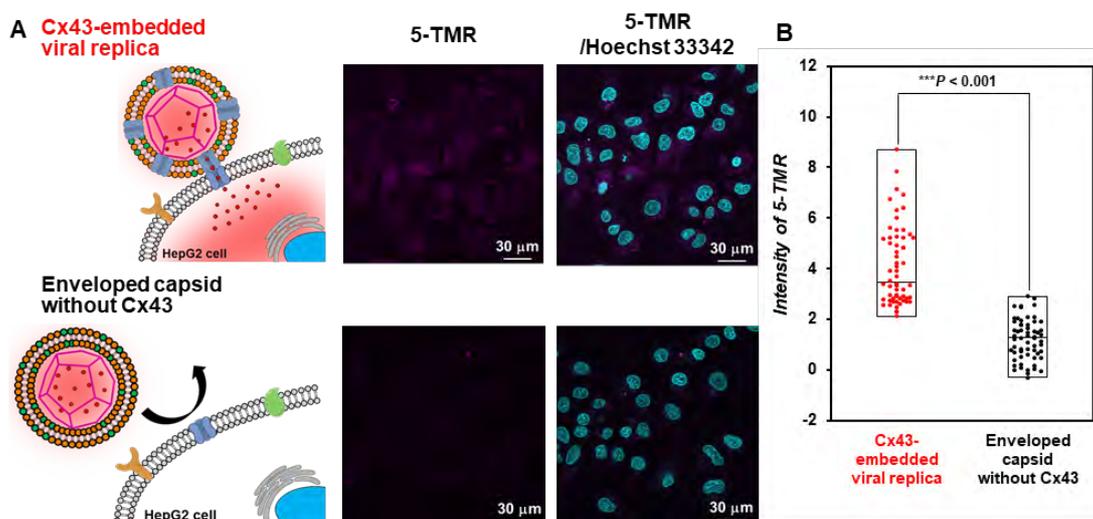


図 7. (A) 5-TMR 内包 Cx43 搭載/未搭載エンベロープ型ウイルスレプリカの細胞内導入、(B) HepG2 細胞内部の 5-TMR 蛍光強度分布の Box plot

内部の蛍光強度分布は、Cx43 搭載/未搭載エンベロープ型ウイルスレプリカで有意な差が見られた(図 7B)。よって、Cx43 が機能を保持した状態でエンベロープ上に搭載され、ギャップジャンクション構造を介して蛍光小分子が細胞内へ輸送されていることが示唆された。

おわりに

本研究により、天然のエンベロープ型ウイルスが有する複合構造を人工合成したウイルス由来ペプチドで模倣することができ、機能性膜タンパク質を搭載することで任意の機能を付与できることを示した。今後、がん細胞選択的に結合する膜タンパク質を搭載したエンベロープ型ウイルスレプリカを構築し、内部に薬剤を内包させることで、がん細胞を標的とした DDS 材料への応用が期待できる。また、抗原ペプチドや免疫賦活剤であるアジュバントをエンベロープ上に搭載させることで、人工ウイルスワクチンとしての応用も可能であろう。ウイルスと言われると悪いイメージを持たれやすいが、ウイルス構造に学ぶことで、新しい材料創製に繋がることも多い。ウイルスから得られた知見は人類の新たな武器になり得るという期待を持ちながら今後も研究を行っていききたい。

参考文献

- [1] Baker, D. et al., *Science*, 2016, **353**, 389–394.
- [2] Heddle, J. G. et al., *Nature*, 2019, **569**, 438–442.
- [3] Matsuura, K., Watanabe, K., Matsuzaki, T., Sakurai, K., Kimizuka, N., *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 9662–9665.
- [4] Matsuura, K., *Chem. Commun.*, 2018, **54**, 8944–8959.
- [5] Matsuura, K., Honjo, T., *Bioconjugate Chem.*, 2019, **30**, 1636–1641.
- [6] Matsuura, K., Ota, J., Fujita, S., Shiomi, Y., Inaba, H., *J. Org. Chem.*, 2020, **85**, 1668–1673.
- [7] Kobayashi, R., Inaba, H., Matsuura, K., *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, **22**, 4754.
- [8] Li, S. et al., *Cell*, 2020, **3**, 730–738.
- [9] Singh, R., Al-Jamal, K. T., Lacerda, L., Kostarelos, K., *ACS Nano*, 2008, **2**, 1040–1050.
- [10] Perrault, S. D., Shih, W. M., *ACS Nano*, 2014, **8**, 5132–5140.
- [11] Furukawa, H., Inaba, H., Inoue, F., Sasaki, Y., Akiyoshi, K., Matsuura, K., *Chem. Commun.*, 2020, **56**, 7092–7095.
- [12] Furukawa, H., Inaba, H., Sasaki, Y., Akiyoshi, K., Matsuura, K., *RSC Chem. Biol.*, 2022, DOI: 10.1039/D1CB00166C.

古川 寛人 (ふるかわ ひろと)

鳥取大学大学院工学研究科 博士後期課程 1 年・日本学術振興会
特別研究員(DC1)

2019 年 3 月 鳥取大学工学部化学バイオ系学科卒業

2021 年 3 月 鳥取大学大学院持続性社会創生科学研究科 博士
前期課程修了

2021 年 4 月 同大学院 工学研究科 博士後期課程入学

2021 年 4 月 日本学術振興会 特別研究員(DC1)



松浦 和則 (まつうら かずのり)

鳥取大学学術研究院工学系部門 (大学院工学研究科) 教授

1996 年 3 月 東京工業大学 大学院生命理工学研究科 博士課程修
了 博士 (工学)

1996 年 4 月 名古屋大学 大学院工学研究科 助手

2001 年 4 月 九州大学 工学研究院 助教授 (2007 年より准教授に
名称変更)

2006 年 10 月～2010 年 3 月 JST さきがけ研究者 (兼任)

2012 年 4 月 現職



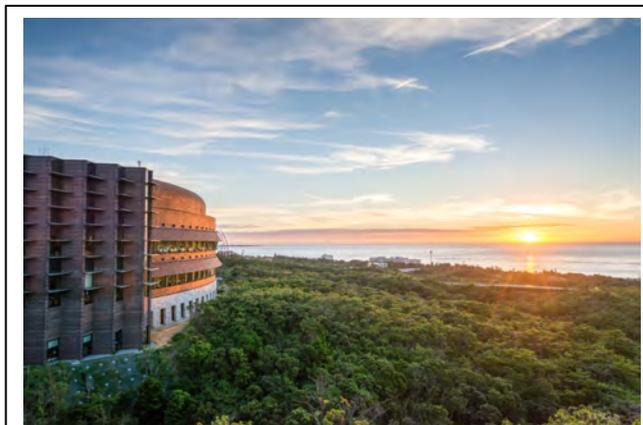
◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

沖縄科学技術大学院大学 核酸化学・工学ユニット

ポストドクトラルスカラー 福永 圭佑

はじめに

筆者は現在、沖縄県恩納村にある沖縄科学技術大学院大学（OIST）で横林洋平教授が主宰する核酸化学・工学ユニットでポストドクとして研究を行っている。同ユニットは核酸を主な材料として扱う合成生物学・ケミカルバイオロジー系の研究室である。同僚は外国から来訪している者が大多数であり、その研究バックグラウンドはというと核酸化学・有機合成化学、幹細胞工学、神経科学、微生物学などバラエティーに富んでいる。自分が知ら



OIST からの日没， OIST 提供

ない話題が話に上がることも多く、刺激を受けている。筆者はと言うと学部時代に生化学から研究をはじめ、その後生体機能関連化学に軸足を移した。研究の対象はペプチド→タンパク質→核酸と移り変わっているものの、生体分子のエンジニアリングに一貫して興味を持っている。現在は、主に進化分子工学の手法を基盤とした RNA のエンジニアリングを行っている。今回大変有り難いことに、名古屋大学の清中茂樹先生から執筆依頼を頂いた。本稿では、これまで行ってきた研究生生活のおよそ半分を占める進化分子工学関連の研究について簡単に書かせて頂くことにした。

ファージディスプレイ法との出会い

筆者が初めてファージディスプレイ（PD）法^[1]にふれたのは学部4年生のときであった。卒業研究の一部として市販の M13 PD ペプチドライブラリー（Ph.D.-12 Phage Display Peptide Library Kit, 12 残基のランダム化ペプチドライブラリー）を用いて、あるタンパク質の機能ドメイン部分に対してセレクションを行い、相互作用する配列（モチーフ）を見つけ出すという仕事であった。研究グループは以前にも別のタンパク質に PD 法を適用してタンパク質間相互作用に必要なモチーフ配列を見つけていたため^[2]、*in vitro* セレクションを行えば自分も何かしらポジティブな結果が得られるのだろうと安直に考えていた。DNA クローニングを行った後サンガーシーケンシングで配列解析を行ったものの、疎水性アミノ酸リッチな配列が多く出現し、モチーフと呼べるようなものは同定することができなかった。今になって思い返せば、非特異的に吸着したファージを釣ってきていたのだろうと回顧される。このテーマに関しては、また機を見てリベンジしたいと考えている。

PD ライブラリーの化学修飾とペプチドの進化分子工学

2009 年、Christian Heinis (MRC Laboratory of Molecular Biology) らが報告したファージ提示ペプチド

の化学修飾による二環状ペプチドライブラリーの作製が話題となった^[3]。彼らはまず、Cys が 3 つ必ず含まれる M13 PD ペプチドライブラリーをデザインし、還元剤 TCEP の存在下で 1,3,5-Tris(bromomethyl)benzene (TBMB) を Cys 残基と反応させペプチドの環化反応を行った。ターゲットのプロテアーゼ（血漿カリクレイン）に対するアフィニティーセレクションを行い、阻害活性のある二環状ペプチドの取得に成功している。一方で、TBMB が Cys 側鎖のみならず Lys 側鎖とも反応することが報告されており、また、ペプチドは大腸菌への感染に関与する pIII タンパク質に融合されてファージ上に提示される^[1]ため、提示ペプチドへの化学修飾が大腸菌への感染能へ少なからず影響を及ぼす^[3]ようである。

筆者らは M13 系の代わりに T7 系を化学修飾ペプチドライブラリー作製のために用いた。T7 系は外殻タンパク質 Gp10 の C 末端に融合する形でペプチド/タンパク質の提示を行う^[1]。この Gp10 は大腸菌への感染に関わるタンパク質ではないため、感染能を損なうことなく化学修飾 PD ライブラリーが作製可能であると期待された。鹿児島大学の伊東祐二先生らが構築された T7 PD ペプチドライブラリー (-X₃-C-X₅-7-C-X₃-COOH, X はランダム化部位を示す) を使わせて頂き、TCEP の存在下でチオール反応性のハロアセトアミド誘導体で化学修飾を行った (図 1, 左側)。反応条件を最適化することにより、感染能に影響を与えることなく提示ペプチド Cys 側鎖を部位特異的修飾できることが分かった^[4]。筆者らは蛍光色素 (図 1, Library 1)、薬剤 (図 1, Library 2) などを付加したペプチドライブラリーを作製し、アフィニティーセレクションにより GST や Streptavidin などのモデルタンパク質に結合する分子の取得も行った^[4,5]。また、オリゴエチレングリコールで Cys 側鎖を架橋したクラウンエーテル様のライブラリー (図 1, Library 3) を作製し、がん治療における標的分子となっている Hsp90 に対するセレクションも行った^[6]。この時に取得した大環状分子の解離定数は 1.6 μM であったが、その後大学院生の望月和人氏 (現・都産総研 研究員) がクリプタンド様のライブラリー (図 1, Library 4) を使ってより強く Hsp90 に結合する二環状分子 (K_D = 62 nM) の取得に成功している^[7]。

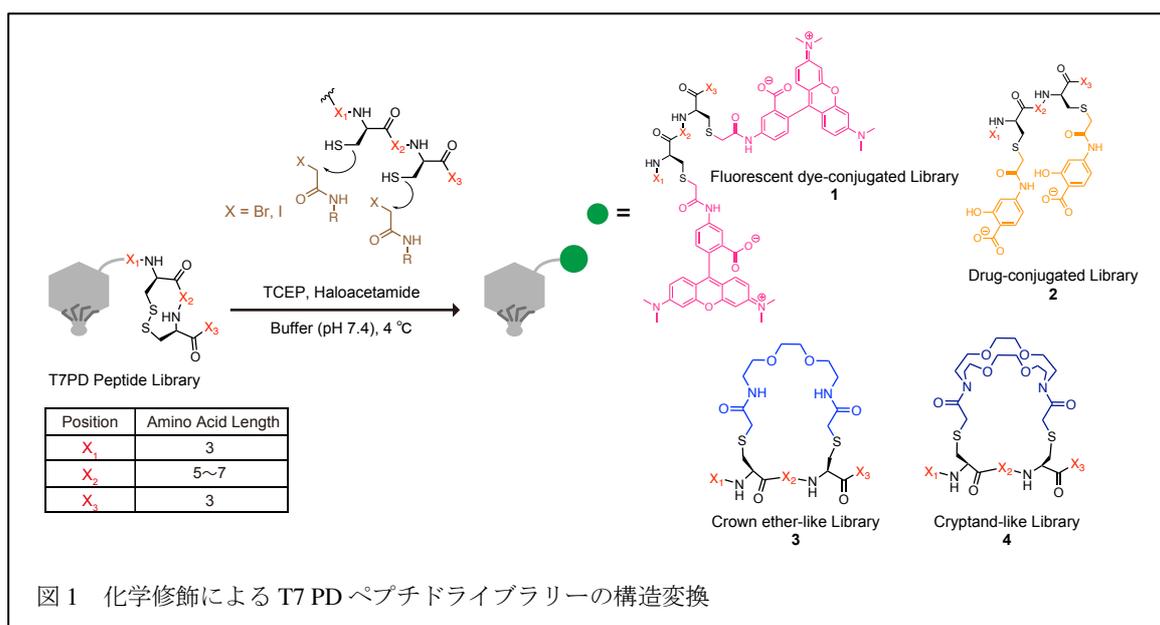


図 1 化学修飾による T7 PD ペプチドライブラリーの構造変換

RNA の進化分子工学

合成リボスイッチはタンパク質翻訳を制御するための発現制御プラットフォームであり、mRNA の 5' UTR 又は 3' UTR 領域に組み込まれて使用される。合成リボスイッチは低分子などのリガンドを認識するアプタマー領域を含み、リガンドで RNA の構造変化を惹起することで翻訳反応の ON/OFF 制御を行う^[8]。筆者らは Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX) 法を用いて、医薬品候補化合物に結合する新規アプタマーの複数取得に成功しており、これらをリボスイッチ化することを試みている^[9]。

共進化分子工学

古細菌由来のリボソームタンパク質 L7Ae とそれに結合するキンクターンモチーフ RNA の RNA-RBP ペア^[10]は翻訳制御スイッチなど合成生物学・ケミカルバイオロジーツールを作るための分子パーツとして需要がある。筆者らは既知の L7Ae-キンクターン RNA ペアの結合選択性を改変することで新たに RNA-RBP ペアを創製することを試みた^[11]。

まず RBP、RNA の何れかに変異導入を行い、元のパートナー分子に対する結合活性が減弱した RBP 変異体または RNA 変異体を作製する。これに対してライブラリーのセレクションを行うことで新たな RNA-RBP ペアを取得するという戦略が一般的である。共結晶構造が解かれていれば変異導入は比較的容易であるが、導入した変異が機能発現（複合体形成）に最適な構造であるかどうか保証はない。我々は前述の従来手法ではなく、“ライブラリー対ライブラリー”のセレクションで RNA-RBP ペアの結合選択性の改変を行うことにした。具体的には、RNA ライブラリーと PD L7Ae 変異体ライブラリーを作り、二段階のアフィニティーセレクションを行うことで複合体形成能を持つ RNA-RBP ペアを試験管内で共進化させた。この PD-SELEX 法（筆者らが名付けた）に関しては生体機能関連化学部会のニューズレター^[12]に書かせて頂いたので、機会があれば是非ご覧頂きたい。本稿ではそのサイドストーリーについて記述したい。

共進化させるというアイデアは横林先生（OIST）とのディスカッションで出てきた話ではあるが、思い返せば、これよりも 4-5 年前に瀧先生（電気通信大学）と昼食をとっている時に PD を使って共進化実験ができないだろうかという雑談をしていた記憶がある。当時は具体的なターゲット分子やモチベーションも無かったので、研究テーマとして進むことは無かった。ペプチド・タンパク質の研究室から核酸の研究室に移った筆者が PD 法と SELEX 法を組み合わせることで RNA-RBP ペアを共進化させることになったのは当然の帰結であるようにも思える。兎も角、PD-SELEX 法を用いることで高親和性 ($K_D = 7 \text{ pM}$) の直交性 RNA-RBP ペアを 2 つ取得することに成功し、これらの結合選択性は 4000 倍以上もあった^[11]。この研究プロジェクトの最中に、野生型の L7Ae を大腸菌で発現・精製すると核酸成分が共精製されることに気づいた。アフィニティー精製したタンパク質溶液を UV-VIS 測定した際に 260 nm 付近に明らかな吸収があったからである。大腸菌の内在性 RNA に結合活性があるのだと推測され、そのような記述がある論文も発見した^[13]。リコンビナント L7Ae の精製度が解離定数の算出に影響を与

えることは別の論文で指摘されており^[14]、Bradford 法などだけでタンパク質定量を行っていたらこれに気づかず SPR 測定に進んでいたかもしれない…と思ひヒヤッとする。結局のところ、大腸菌の粗抽出液をヌクレアーゼ処理し、2 回アフィニティー精製することで L7Ae やその変異体を高純度精製できることが分かった^[11]。L7Ae とキックターンモチーフ RNA (Box C/D Kt) の k_{off} は約 $2.77 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ と極めて遅いため^[11]、細胞内で L7Ae と複合体を形成した RNA が解離することなく共精製されてきた現象にも合点がいく。

PD 法や SELEX 法を用いて単一のターゲットに対する *in vitro* セレクション (従来の進化分子工学実験) をこれまで色々行ってきたが^[4,6,9]、ターゲット分子によってバインダーが取れなかったり、あるいは取れるのだけれども結合力は中程度のものばかりという事を経験してきた。つまり、相手となるターゲットの形も重要であるということなのだろう。強く相互作用するためには、相互作用面の形がピタッと合っている必要がある。PD-SELEX 法のような“ライブラリー対ライブラリー”の *in vitro* セレクションでは大きな組み合わせ (筆者らの場合、およそ 10^{20}) の中から指向性進化を行うため、強い結合を作るペアが見つかる可能性が高いのかもしれない。

おわりに

本稿では、筆者がこれまでに行ってきたペプチド・核酸の進化分子工学、また RNA-タンパク質の共進化分子工学について簡単に紹介させて頂いた。ライブラリー (未開拓の配列空間) の中から天然には存在しない高機能性の人工分子を釣り上げるのが進化分子工学の醍醐味である。今後も新たな方法論を考えつつ、進化分子工学を基盤とした生体分子のエンジニアリングを楽しんでいきたいと思っている。もし OIST に興味を持った学生諸氏がいたら、筆者が所属する核酸化学・工学ユニットの向かいのタンパク質工学・進化ユニットの学生、落合氏が書かれたコラム^[15]があるので参考にされると良いかもしれない。本稿に記載の研究は南道子教授・南康文教授、瀧真清教授、横林洋平教授の研究室で行われたものです。この場を借りて厚くお礼申し上げます。また、共同研究者の皆様に深く感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Fukunaga, K., Taki, M. *J. Nucleic Acids*, 2012, **2012**, Article ID 295719.
- [2] Terasawa, K., Yoshimatsu, K., Iemura, S., Natsume, T., Tanaka, K., Minami, Y. *Mol. Cell. Biol.*, 2006, **26**, 3378-3389.
- [3] Heinis, C., Rutherford, T., Freund, S., Winter, G. *Nat. Chem. Biol.*, 2009, **5**, 502-507.
- [4] Fukunaga, K., Hatanaka, T., Ito, Y., Taki, M. *Mol. BioSyst.*, 2013, **9**, 2988-2991.
- [5] Tokunaga, Y., Azetsu, Y., Fukunaga, K., Hatanaka, T., Ito, Y., Taki, M. *Molecules*, 2014, **19**, 2481-2496.
- [6] Fukunaga, K., Hatanaka, T., Ito, Y., Minami, M., Taki, M. *Chem. Commun.*, 2014, **50**, 3921-3923.
- [7] Mochizuki, K., Matsukura, L., Ito, Y., Miyashita N., Taki, M. *Org. Biomol. Chem.*, 2021, **19**, 146-150.
- [8] Mustafina, K., Fukunaga, K., Yokobayashi, Y. *ACS Synth. Biol.*, 2020, **9**, 19-25.

- [9] Fukunaga, K., Dhamodharan, V., ..., Yokobayashi, Y. *unpublished*
- [10] Saito, H., Kobayashi, T., Hara, T., Fujita, Y., Hayashi, K., Furushima, R., Inoue, T. *Nat. Chem. Biol.*, 2010, **6**, 71-78.
- [11] Fukunaga, K., Yokobayashi, Y. *Nucleic Acids Res.*, doi: 10.1093/nar/gkab527
- [12] 福永圭佑. 日本化学会 生体機能関連化学部会 ニュースレター, 2021, **36**(2), 10-14.
- [13] Daume, M., Uhl, M., Backofen, R., Randau, L. *mBio*, 2017, **8**, e00730-17.
- [14] Turner, B., Lilley, D.M.J. *J. Mol. Biol.*, 2008, **381**, 431-442.
- [15] 落合佳樹, 実験医学オンライン, 2021, <https://www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/opinion/vol39n3.html>

福永 圭佑 (ふくなが けいすけ)

沖縄科学技術大学院大学 (OIST)

核酸化学・工学ユニット ポストドクトラルスカラー

2009年3月 東京学芸大学 教育学部 卒業

2011年3月 新潟大学 大学院医歯学総合研究科 修了

2012年3月 東京大学 大学院新領域創成科学研究科 中途退学

2012年4月 電気通信大学 大学院情報理工学研究科 産学官連携研究員

2014年3月 博士(工学)(電気通信大学) 取得

2014年4月 北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス系 博士研究員

2018年5月 現職



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

東北大学多元物質科学研究所
細胞機能分子化学研究分野
助教 小和田 俊行

はじめに

2021年12月28日、来るべき新年が明るく希望に満ち溢れた年になることを祈りながら筆を執っている。約3か月前に名大の清中茂樹先生から本稿の執筆依頼を頂戴したものの、自分に何か伝えられるメッセージはあるか考えあぐねている間に年末を迎えてしまった。しかし、宿題を残したまま年を越すわけにはいかない。本稿では、バイオテクノロジー一部会に所属していない筆者の自己紹介として、我々の最近の研究成果の概要を紹介させて頂きたい。ただその前に、筆者よりも若手の研究者の方々へのメッセージとして、恥ずかしながら筆者の学生時代から現在に至るまでの経緯を少しお話しておきたい。決して優等生的な話ではないので、あくまでも、「こんな学生たまにいるよね」という気楽な気持ちで読んで頂ければ幸いである。伝えたいことは、「物事（測定データ）の上辺だけを見ていると本質を見失うことがある。根底にある原理を理解してフラスコ・顕微鏡を覗き込めば、分子のふるまいが浮かび上がり、手にしたもの（実験結果）の真の意味が理解できる」という科学者として身につけておくべきことを筆者は最近になってようやく強く意識した、という話である。

生化学 I：不合格

筆者は大学生の頃、生化学や生物工学の授業があまり好きではなかった。むしろ嫌いであった。今思えばただの食わず嫌いだったのだろう。微かな記憶の片隅に残るのは、100人以上が入る大教室の一番後ろに座り、念仏のように微かに聞こえる教授の声と大勢の学生の熱気の中で薄れゆく意識。見えもしない黒板を眺めてただただ時間が経つのを待っていた。有機化学では分子構造が描かれるが、生化学・生物工学の授業ではアミノ酸・核酸・蛋白質・大腸菌は記号や模式図で書かれることが多く、自分の頭の中で役者の実体とスケール感をイメージすることが難しかったのだろう。ただの暗記科目と捉えていたのかもしれない。試験勉強も手につかず受験を放棄した。自ずと有機化学系の研究室に進み、水溶性とは縁の遠い構造有機化学の研究で学位を取得した。 π 共役系化合物の中には蛍光性の物質も多く、有機 EL 研究に興味を持ち、城戸淳二先生（山形大）の本を買って読んだりしていた。博士課程の雑誌会で、GFP がイントロダクションに出てくる論文を紹介し、その直後に下村先生がノーベル賞を受賞されたが、それでもいまいちイメージが掴めず GFP の本当の凄さは理解していなかった。その後自分が GFP を散々使うことになることなど全く想像などしていなかった。

意志あるところに道は開ける

学位取得後は蛍光物質を使った研究がしたい、という単純な思いから、大阪大学の菊地和也先生に学振 PD の申請をしたいと連絡した。全く面識もなく、指導教員も特に知り合いではない状況で、我ながら大胆だったと思う。若さと無知のおかげで怖いものなどなかったのだろう。残念ながら学振 PD は不採択になったが、このことが縁となり博士研究員として雇って頂き、筆者はケミカルバイオロジー（蛍光プローブ開発）の道に進むこととなった。幸運にも研究はうまく進み、細胞や顕微鏡どころか水溶性化合物の合成経験も無かったが、「生体内破骨細胞の骨吸収を可視化する蛍光プローブ開発」の研究を 1 年半で論文化することができた^[1]。ある意味敷かれたレールの上を走っていただけに過ぎないのだが、とても嬉しかったし、やっていけそうな気がした。ただ、世の中はそんなに甘くないもので、基礎を疎かにしてきた者にそう何度も女神は微笑まない。自分では勉強していた「つもり」であったし、過去に抱いていた生化学・生物学に対する苦手意識もある程度払拭できており、その後なんとか続報^[2]を出すこともできたが、やはり未熟であったことは否めない。アイデアを生み出し、実験系を確立するためには、しっかりとした知識の地盤を築く必要があった。

杜の都で本の虫と化す

2016 年秋、現在の所属先である東北大学多元物質科学研究所の水上進教授の研究室に助教として着任した。ここで出会った共同研究者の方々から多くの影響を受けて、自分の研究者としての能力を日々高めることができていると実感している。あらかじめ断っておくが、筆者がこの 5 年間で学んだことの多くは読者の方々にとってみれば当たり前のことかもしれない。しかし、着任当初の筆者はそれだけ未熟だったということである。

1 人目の影響者はもちろん水上先生である。装置や実験手法の原理の理解なしに研究は進められない。原理を理解することで、普段何気なく扱っている吸光光度計や蛍光光度計でさえ、箱の中身が透けて見えるようになる。すると、同じ実験データからでも抽出される情報が格段に増え、問題点が浮き彫りになり次に進むべき道が見えてくる。蛍光顕微鏡の光学系は？培地の組成は？日々繰り返される質問に答えるためには知識を蓄えるしかなかった。自然と本棚には「〇〇実験入門」や「〇〇実験 Q&A」といった類の本が増えていった。洋書・和書を問わず、蛍光・細胞培養・顕微鏡・画像解析関連の書籍をひたすら研究室の行き帰りの電車の中で読み漁った。学生の時に読んだ本も読み直して基礎から叩き直した。学生を教育する立場ではあるが、自身も知識の幅と深さを広げる日々を過ごしている。次第に生体分子や細胞を抽象的に捉えることもなくなってきた。やはり学生時代の生化学に対する苦手意識は知識の無さに因るものだったのだろう。

2 人目は同研究室の松井敏高准教授である。蛋白質科学を専門とし、速度論解析を得意とする松井先生の前では、中途半端な生化学実験や分光測定はできない。酸-塩基の中和滴定曲線のフィッティング式の導出法から学びなおした。マイクロピペットの取り扱いから蛋白質（酵素）溶液の取り扱いまで基礎を徹底的に叩き込んで頂いた。筆者の信条は「聞くは一

時の恥、聞かぬは一生の恥」である。少しでもわからないことがあれば自分より詳しい人に聞けばいい。気軽に相談できる人が身近にいることは幸せである。

故きを温ね新しきを知る

2017年夏、同研究所（東北大多元研）内で細胞内蛋白質の品質管理機構の研究を専門とする稲葉謙次教授とディスカッションする機会があった。我々が現在精力的に進めている「細胞内遊離 Zn^{2+} の濃度定量と動態観察」の研究が始まった瞬間である。稲葉先生達が機能解明に取り組んでいる小胞体蛋白質 ERp44 は未成熟な分泌蛋白質をゴルジ体内で捕獲し小胞体へと逆輸送する役割を担っている。この機能発現のためには、ERp44 はゴルジ体内で Zn^{2+} と結合して構造変化する必要があり、 Zn^{2+} に対する解離定数 (K_d) は 135 nM であることが稲葉先生達の研究により明らかにされている^[3]。しかし、蛍光蛋白質型の亜鉛プローブを用いた過去の研究では、ゴルジ体内の遊離 Zn^{2+} 濃度は 0.9 pM と報告されており^[4]、これでは ERp44 がゴルジ体内で Zn^{2+} と結合するには低すぎる。どの位の数の Zn^{2+} が存在しているのか気になった筆者は、哺乳類細胞のゴルジ体の体積（細胞全体を 3,000 μm^3 、ゴルジ体をその中の 6% とする）から概算してみた。計算が間違っていなければ、およそ 162×10^{-27} mol (0.01 個!) の遊離 Zn^{2+} が存在している（むしろ遊離 Zn^{2+} は存在しない）ことになる。ゴルジ体内ではほぼ全ての Zn^{2+} が蛋白質などの生体分子と結合していることを意味することになるが、筆者にはにわかには信じられなかった。

この時まで筆者は細胞内 Zn^{2+} に関する研究の経験も知識もなく、全ては手探りの状態から始まった。ご存じの方も多くいらっしゃるかもしれないが、 Zn^{2+} 検出用蛍光プローブの開発研究は 1990 年代から 2010 年初頭までに国内外で活発に行われており、これまでに数多くの小分子型ならびに蛋白質型プローブが開発されている。まずはその中でも遊離 Zn^{2+} 濃度の定量解析をしている論文を可能な限りかき集め、用いているプローブの種類・標的の細胞小器官・細胞種・濃度の報告値、を精査した。すると次の 3 点がわかった。(1) 同じプローブを用いても細胞種により濃度は 10~100 倍異なる。(2) 同じ細胞種でもプローブが異なると細胞小器官によっては 1,000 倍程度濃度が異なる。(3) 蛋白質型プローブの多くは、 Zn^{2+} に対する K_d が pH 依存的 (50~250 倍/pH) である。(3) の理由については明確な報告は見つけられていないが、蛋白質内の Zn^{2+} 結合サイトに Cys や His が存在していることを考えると妥当だと思えた。 K_d が pH 依存的であることは、蛍光顕微鏡観察下において、蛍光シグナルの変化が Zn^{2+} 濃度変化によるものなのか、はたまた pH 変化によるものなのか区別できないことを意味している。細胞内ではリソソームやエンドソームが酸性であることは有名であるが、ゴルジ体もまた酸性 (pH 6.0–6.7) の細胞小器官である。また、Cys の存在によってある種の蛋白質型プローブは小胞体内でオリゴマーを形成してしまうことが報告されており^[5]、このことは蛍光プローブの物性が細胞内で変化してしまうことを示唆している。以上の結果を踏まえ、我々は「細胞内環境変化（特に pH）の影響を受けにくいプローブを開発する」というプローブ設計指針を導き出した。

良いとこ取りのハイブリッド型プローブ

様々な細胞小器官内の遊離 Zn^{2+} を可視化するためには蛍光プローブの膜透過性が重要となる。一般的に負電荷を有するプローブに膜透過性を付与するためにはアセトキシメチル (AM) 基が利用されるが、細胞質内のエステラーゼによる加水分解が進行すると、プローブは細胞小器官の膜を通過することができなくなる。そこで我々は中性の 7-アミノクマリンを基本骨格として Zn^{2+} 検出用緑色蛍光プローブ ZnDA (Zn^{2+} -detectable aminocoumarin-based fluorescent probe、仙台銘菓ずんだ餅に由来して“ずんだ”と呼ぶ) を開発した (図 1)。蛋白質型プローブの大きな利点の一つは、局在化シグナルを融合発現させることで、任意の細胞小器官にプローブを局在化させることができることである。そこで我々は、蛋白質の細胞内局在性という利点を生かすために、小分子プローブである ZnDA に共有結合性のタグ蛋白質である HaloTag のリガンド構造 (クロロアルキル基) を導入することで、小分子-蛋白質のハイブリッドプローブとする手法を採用した (図 2)。詳細は割愛するが、ZnDA-1H の蛍光特性や Zn^{2+} 親和性は pH 変化の影響をほとんど受けない。この ZnDA-1H を用いて我々は、HeLa 細胞内のゴルジ体に 25 nM という高濃度の遊離 Zn^{2+} が存在することを明らかにした^[6]。これにより、ERp44 の Zn^{2+} 結合によるシャペロンとしての機能が合理的に説明可能となった。

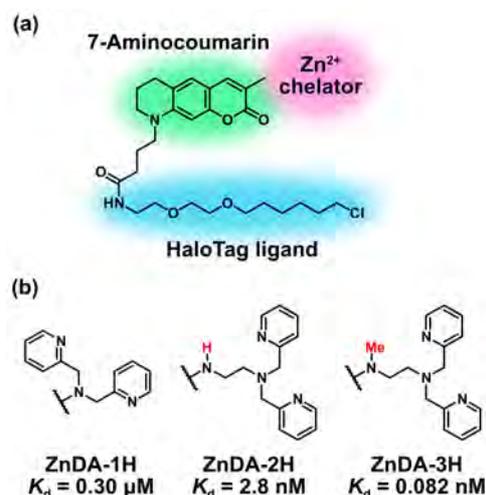


図 1. Zn^{2+} 検出用蛍光プローブ ZnDA の構造 (a) と亜鉛配位子の構造と K_d (pH 7.4) (b).

細は割愛するが、ZnDA-1H の蛍光特性や Zn^{2+} 親和性は pH 変化の影響をほとんど受けない。この ZnDA-1H を用いて我々は、HeLa 細胞内のゴルジ体に 25 nM という高濃度の遊離 Zn^{2+} が存在することを明らかにした^[6]。これにより、ERp44 の Zn^{2+} 結合によるシャペロンとしての機能が合理的に説明可能となった。

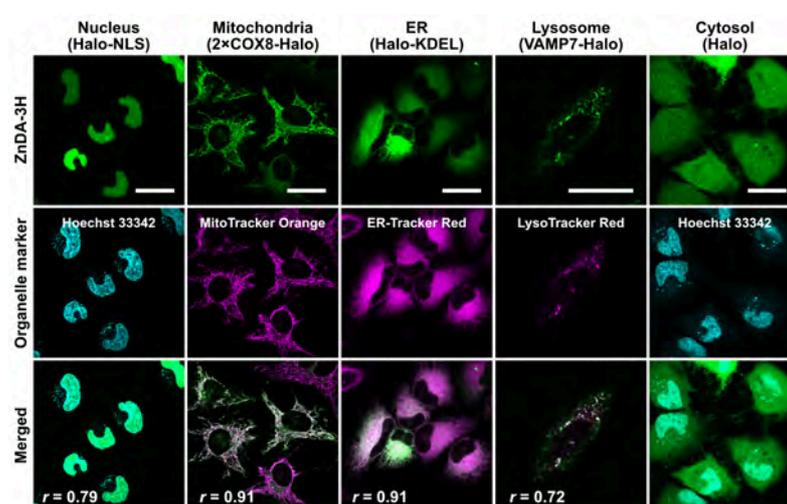


図 2. HaloTag を介した ZnDA-3H の細胞小器官への局在化。

ZnDA プローブの亜鉛配位子構造を変えることで、pH 変化に対する耐性を維持したまま容易にプローブの Zn^{2+} 親和性を調整することが可能である (図 1)。ごく最近我々は ZnDA-3H を用いて、HeLa 細胞の細胞質・核・ミトコンドリア・小胞体の濃度定量に成功している^[7]。さらに現在、酸性かつ加水分解酵素が存在するために蛋白質型プローブではイメージングが困難であったリソソーム内の遊離 Zn^{2+} 濃度の定量解析にも取り組んでいる (論文投稿準備中)。手探り状態で始まった研究ではあるが、様々な困難にも挫けずに日夜取り組んでくれて

いる学生の努力の甲斐あってここまで進めることができた。また光栄なことに、本研究成果の功績が認められ、2021年の第15回バイオ関連化学シンポジウムで講演賞を頂くことができた。図らずして、2001年に菊地和也先生が「新規亜鉛イオン蛍光センサー分子のデザイン・合成と生細胞可視化解析」という演題で第16回生体機能関連化学シンポジウムの講演賞を受賞されている。菊地先生とは誕生日も同じであり、筆者としては不思議な縁を感じざるを得ない。

おわりに

我々の研究の詳細については、参考文献に挙げた各論文ならびにプレスリリース等をご参照頂きたい。本稿では現在我々が取り組んでいる研究を始めるまでの経緯や、筆者が考えていることについて述べさせて頂いた。反面教師でも構わないので少しでも誰かに届いていれば幸いである。学生の皆さんの将来にはまだまだ無限の可能性があるので、今興味があることに没頭するのもよし、新たな道に進んでみるのもよし、何にでも挑戦してみしてほしい。上手くいかないこともあるだろうけど、ダメだと思ったらまた新たな道を探せば良い。たどり着いた場所で輝けるよう努力をしていれば、いつか花咲く時がくるはず。学生時代に生化学に全く興味がなかった筆者ではあるが、今は自信を持って生命科学研究が楽しいと言える。まだまだ未熟者ではあるが、奥が深くて非常に興味深い生命科学研究の魅力にとりつかれている。いつまで経っても分からないことだらけで、勉強は死ぬまで続くと思っている。筆者の現在の姿を見たら、学生時代の自分はどう思うのだろうか。10年後先に今では思いもよらない研究を展開している自分を想像しながら筆を置かせて頂き、これで仕事納めとしたい。

最後になりましたが、このような執筆の機会を与えて頂き、清中先生ならびにバイオテクノロジー部会の諸先生方に感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Kowada, T., Kikuta, J., Kubo, A., Ishii, M., Maeda, H., Mizukami, S. and Kazuya Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 17772–17776.
- [2] Maeda, H., Kowada, T., Kikuta, J., Furuya, M., Shirazaki, M., Mizukami, S., Ishii, M. and Kikuchi, K., *Nat. Chem. Biol.*, 2016, **12**, 579–585.
- [3] Watanabe, S., Amagai, Y., Sannino, S., Tempio, T., Anelli, T., Harayama, M., Masui, S., Sorrentino, I., Yamada, M., Sitia, R. and Inaba, K., *Nat. Commun.*, 2019, **10**, 603.
- [4] Qin, Y., Dittmer, P. J., Park, J. G., Jansen, K. B. and Palmer, A. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2011, **108**, 7351–7356.
- [5] Carter, K. P., Carpenter, M. C., Fiedler, B., Jimenez, R. and Palmer, A. E., *Anal. Chem.*, 2017, **89**, 9601–9608.
- [6] Kowada, T., Watanabe, T., Amagai, Y., Liu, R., Yamada, M., Takahashi, H., Matsui,

T., Inaba, K. and Mizukami, S., *Cell Chem. Biol.*, 2020, **27**, 1521–1531.

[7] Liu, R., Kowada, T., Du, Y., Amagai, Y., Matsui, T., Inaba, K. and Mizukami, S., *in revision*.

小和田 俊行 (こわだ としゆき)

東北大学 多元物質科学研究所 細胞機能分子化学研究分野 助教

2010年3月 京都大学 大学院工学研究科

博士後期課程修了 博士(工学)

2010年4月 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター

特任研究員

2011年4月 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター

特任助教

2014年10月 米国スタンフォード大学 博士研究員

2016年11月 現職



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

京都工芸繊維大学分子化学系
生体高分子情報研究室
助教（テニュアトラック） 松尾 和哉

はじめに

ありがたいことに、私が博士後期課程の学生だった時分（京都大学大学院 工学研究科 浜地 格 先生の研究室）から大変お世話になっている名古屋大学大学院 工学研究科の清中 茂樹 教授（当時、浜地研の准教授）から、本稿の執筆依頼メールを頂いた。せっかくの機会なので、私事で恐縮だが、現所属に関して少し紹介させていただきたい。

私は、2021年9月まで北海道大学 電子科学研究所という附置研究所の助教であったが、「より独立した環境で研究を進めたい」という思いもあり、文部科学省の令和3年度科学技術人材育成費補助事業「卓越研究員事業」を利用して、2021年10月に京都市松ヶ崎に位置する京都工芸繊維大学の分子化学系 助教（テニュアトラック）に着任した。関西圏以外の人にとっては、京都工芸繊維大学はあまり馴染みがないかもしれないが、工芸科学部・大学院 工芸科学研究科の一学部・一研究科で構成される工科系国立大学であり、京都という伝統的な土地柄を活かしたものづくりを基盤に、科学と芸術の融合をモットーとした独自性を打ち出している。本学に着任してから約3ヶ月の間、メンターを務めてくださる小堀 哲生 教授の研究室のメンバー（図1）に協力してもらいながら、研究環境を立ち上げてきた。と言っても、小堀研究室が2021年度末に学内で引っ越すこともあり、まだ完全には立ち上げできていない状況であるが、日々奮闘している。



図1 小堀研究室のメンバーとの集合写真

京都工芸繊維大学では、以下に詳細を記す「細胞分裂の光操作法」を拡張し、「光と薬剤で細胞を治療する方法論」の開拓を行おうと考えている。今年度の日本化学会 春季年会もオンライン開催になってしまい、COVID-19が収束する目処は未だ立たないが、京都工芸繊維大学で得た新たな成果を、今ではもう懐かしくなりつつある現地開催の学会で、（夜、酒を酌み交わしながら）face-to-faceで議論できることを楽しみにしている。

「若手研究者からのメッセージ」と題された本稿において、あまり大したことは言えないが、バイオテクノロジー部会の先生方、学生の皆さんに、少しでも興味を持ってもらえるよう、これまでに私が開発してきた細胞分裂の光操作技術を紹介させていただきたいと思う。

細胞分裂を操作する技術とは？

細胞分裂（ここでは、細胞核分裂において重要な染色体を取り扱う）を操作する技術は、身の回りの生活にもありふれたバイオテクノロジーの1つである。例えば、水産養殖^[1]では、魚の細胞分裂を操作し、本来の二倍体（染色体を2セット有する状態）から、多倍体化させ、三倍体（染色体を3セット有する状態）を作成する方法が知られる。作成された三倍体の魚は、生殖機能が発達せず、成熟にエネルギーを割かないことから、巨大化し、良好な肉質となる。学術的にも、遺伝子工学の技術を駆使し、染色体を組換え・欠失・挿入する手法などが確立されており、人工染色体の作成や再生医療への応用が盛んに検討されている^[2]。これらの手法に対し、私は、「化学」をベースとしたアプローチで、遺伝子操作することなく、細胞における染色体の配置や動きを時空間的に操作する方法論を開発してきた。

真核生物の細胞分裂では、遺伝情報を次世代へと正確に系譜するため、染色体を複製し、倍加した染色体を一度赤道面に並べた後、等分配することで、2つの等価な娘細胞が生成する。特に、細胞分裂期の前中期において、染色体の動きを制御しているのが、モータータンパク質 CENP-E^[3]（Centromere-associated protein E）である。CENP-Eは、ATPを加水分解することで得られる化学エネルギーを、メカニカルな「動き」に変換することで染色体を輸送し、赤道面上に整列させる。しかし、CENP-Eが機能異常を起こすと、赤道面上にうまく整列できず、異常に分化する。この特性を逆に利用し、CENP-Eの活性を意のままに制御できれば、染色体の移動や配置を自在に操作できる新たな技術となるのではないかと考え、研究に着手した。

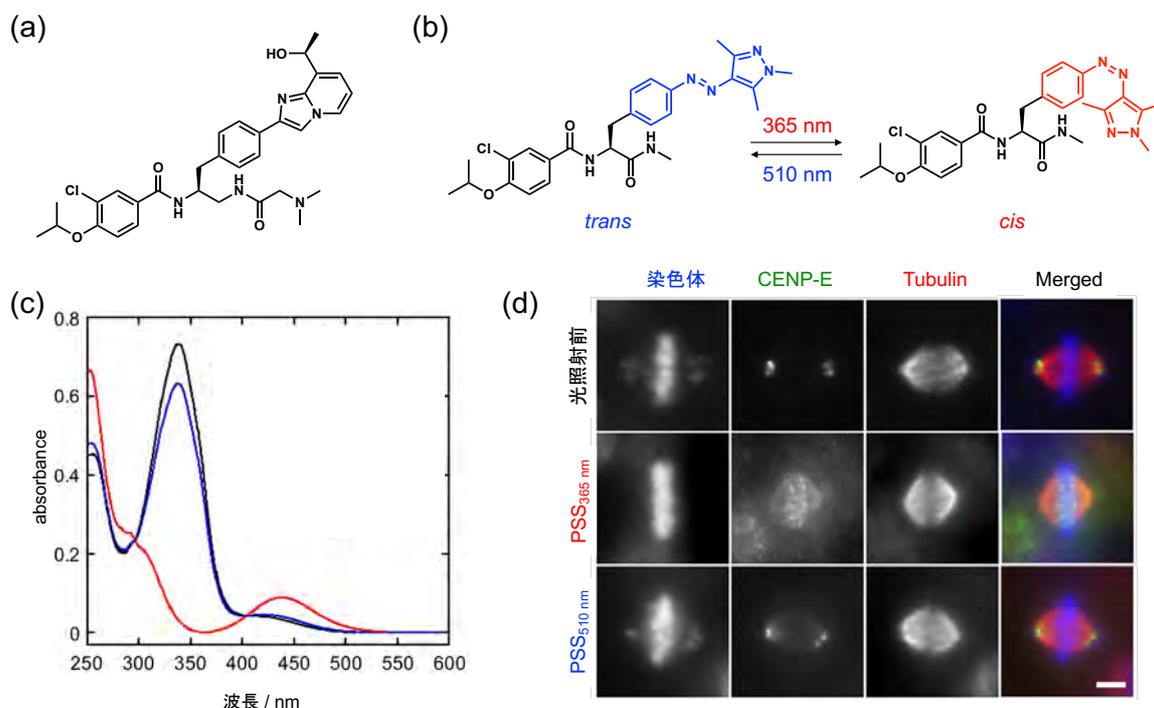


図2 光制御型 CENP-E 阻害剤. (a) 標準的な CENP-E 阻害剤 GSK923295, (b) 光制御型 CENP-E 阻害剤 1, (c) 光照射に応じた 1 の吸光スペクトル変化, (d) 免疫染色法による細胞内染色体および CENP-E、チューブリン（紡錘体）の局在変化、Scale bar 5 μm .

光制御型 CENP-E 阻害剤の開発

CENP-E の活性を自在に制御するため、光薬理的な戦略を採用した。光薬理学とは、光スイッチを組み込んだ薬剤を利用し、非侵襲的かつ操作性に優れた外部刺激である「光」によって生体分子を操作する方法である。光スイッチとしては、特にアゾベンゼンが汎用される。アゾベンゼンは 2 つの芳香環が窒素窒素二重結合 (-N=N-) で連結されたシンプルなフォトクロミック分子である。光照射前には *trans* 体として存在し、平面性が高く、剛直な構造を有するが、紫外光の照射によって、ねじれた構造の *cis* 体を形成する。この *cis* 体に可視光を照射することで、再度 *trans* 体を形成する。この可逆的な光異性化反応は、立体構造・極性・双極子モーメント変化を伴うため、アゾベンゼン骨格を薬剤に巧妙に導入すれば、一方の幾何異性体でのみ標的分子を阻害する光制御型阻害剤が開発できる。

この光薬理学的方法論を CENP-E 阻害剤へと展開し、光制御型 CENP-E 阻害剤を開発した。具体的には、CENP-E 阻害剤として汎用される **GSK923295**^[4] (図 2a) の基本骨格に、定量的な *cis-trans* 光異性化反応を呈することで知られる arylazopyrazole 誘導体^[5]を導入した化合物 **1** を設計・合成した (図 2b)。光照射する前には、化合物 **1** は、buffer 中において、arylazopyrazole 誘導体の *trans* 体に特徴的な非常によく分離した $\pi-\pi^*$ 遷移と $n-\pi^*$ 遷移を示した。これに、365 nm の紫外光を照射し、光定常状態 (PSS_{365nm}) とすると、*cis* 体が 93% 生成し、510 nm の可視光照射で光定常状態 (PSS_{510nm}) とすると、88% の *trans* 体が生成した (図 2c)。この一連の光異性化反応のスイッチングは、何度も可逆的に行うことができた。また、ATPase assay により、**1** の CENP-E の阻害能を検討すると、光照射前 (100% *trans* 体) で IC₅₀ = 5.9 μ M、PSS_{365nm} で IC₅₀ = 120 μ M であり、約 20 倍の阻害能の差を示した。

次に、細胞内での CENP-E 阻害能を検討した。CENP-E が阻害されると、CENP-E の動きが停止するため、染色体および CENP-E は赤道面に整列できず、紡錘体極付近に局在する。これに対し、CENP-E が active な状態であると、染色体は CENP-E によって運搬され、赤道面上に共局在する。免疫染色法によって、染色体と CENP-E の局在を解析し、**1** が細胞内の CENP-E を阻害しているか確認した結果 (図 2d)、光照射前および PSS_{510nm} では、CENP-E 阻害に特徴的なフェノタイプ (ミス配置の染色体および CENP-E が紡錘体極周辺に局在する) が観測され、CENP-E は阻害状態であった。一方、PSS_{365nm} では、染色体および CENP-E のいずれもが赤道面に整列しており、CENP-E は active な状態であることが確認された。

光制御型 CENP-E 阻害剤 **1** による染色体の動きの光操作

化合物 **1** が光制御型 CENP-E 阻害剤として機能することが明らかとなったため、次に、分裂期細胞において染色体の動きを動的に光操作した。HeLa 細胞の染色体 (DNA) を近赤外蛍光を発する DNA 結合試薬 (**1** の光異性化反応に影響しない波長で励起できる) で染色し、**1** を添加した。光照射前には CENP-E は阻害状態であり、染色体は紡錘体極付近にミス配置していたが、365 nm の紫外光を照射すると、ミス配置した染色体が赤道面方向に向かって移

動し始めた。さらに、移動途中で、510 nm の可視光を照射すると、その動きは停止した。この染色体の動きのスウィッチングは少なくとも 3 回繰り返すことができ、最終的に全ての染色体が赤道面へと収束した (図 3a)。以上から、光制御型 CENP-E 阻害剤 1 を駆使することで、染色体の動きを光操作できるシステムの構築に成功した。

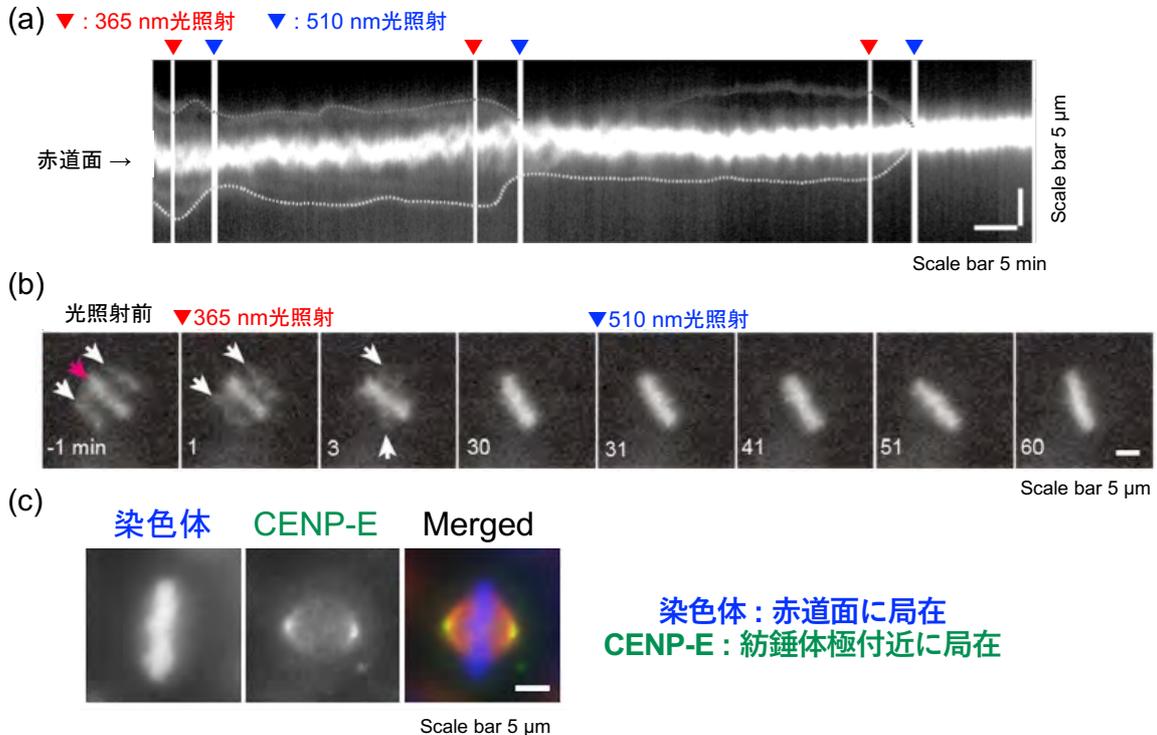


図 3 染色体の動きの光操作. (a) 染色体の動きを示したカイモグラフ (トラッキングした染色体は点線で示されている), (b) 光制御型 CENP-E 阻害剤 1 による染色体の光操作 (ミス配置した染色体は白矢印で、赤道面は赤矢印で示した), (c) 染色体を完全に赤道面に整列させた後、CENP-E を阻害した際の染色体および CENP-E の局在

CENP-E の機能の解明

構築したシステムを利用し、CENP-E の機能のうち、controversial な議論⁶⁾となっていた問題「CENP-E が染色体を赤道面に並べた後、染色体の整列のサポートに寄与するのか否か」を検証した。具体的には、光照射前の CENP-E が阻害された状態から、365 nm の紫外光を照射し、CENP-E を active な状態にする。その CENP-E active な状態を 30 分間持続した後、510 nm の可視光照射によって、再び CENP-E を阻害した際の染色体および CENP-E の局在を確認した (図 3b, c)。その結果、染色体は赤道面に配置されるが、CENP-E の局在は紡錘体極付近となったことから、「CENP-E は染色体を赤道面に運搬した後、その整列をサポートしていない」ことを実験的に証明できた。

おわりに

本研究では、細胞分裂に関与するモータータンパク質 CENP-E に着目し、その活性を光で

制御できる光制御型 CENP-E 阻害剤 **1** を開発した。また、**1** をケミカルツールとして利用することで、CENP-E の機能を明らかにすることにも成功した^[7,8]。なお、**1** は、**PCEI-HU** として市販されている ((株) フナコシ FDV-0037) ので、是非活用していただきたい。

詳細は割愛させていただくが、最近では、光制御型 CENP-E 阻害剤 **1** をさらに改良し、一波長の可視光だけで染色体の動きを操作し、染色体を非対称に配置させた状態のまま、細胞分裂させ、非対称な娘細胞を獲得することにも成功している。また、標的を CENP-E 以外の細胞分裂関連酵素に拡張し、染色体が機能する細胞核分裂だけでなく、細胞質分裂などを制御することにも取り組んでいる^[9]。

今後は、確立してきた細胞分裂の光操作技術を駆使し、光と薬剤だけで、異常な細胞を治療したり、新たな性質の細胞を獲得するための、遺伝子操作を必要としない方法論へと展開することを計画している。

最後になるが、本研究は多くの共同研究者とともに推進してきたものであり、北海道大学生命科学院 上原 亮太 先生の他、ご指導・ご助力をいただいた多くの先生方、学生の皆さんにはこの場を借りて厚く感謝申し上げたい。また、私を温かく迎えてくださった京都工芸繊維大学 生体高分子情報研究室の小堀 哲生 先生、和久 友則 先生および学生の皆さんにも深く感謝の意を表し、本稿を締め括りたい。

参考文献

- [1] Arai, K., *Aquaculture*, 2001, **197**, 205–228.
- [2] Akutsu S. N., Fujita, K., Tomioka, K., Miyamoto, T. and Matsuura, S. *Cells*, 2020, **9**, 239.
- [3] Wood, K. W., Sakowicz, R., Goldstein, L. S. and Cleveland, D. W. *Cell*, 1997, **91**, 357–366.
- [4] Wood, K. W., Lad, L., Luo, L., Qian, X., Knight, S. D., Nevins, N., Brejc, K., Sutton, D., Gilmartin, A. G., Chua, P. R., Desai, R., Schauer, S. P., McNulty, D. E., Annan, R. S., Belmont, L. D., Garcia, C., Lee, Y., Diamond, M. A., Faucette, L. F., Giardinere, M., Zhang, S. Y., Sun, C.-M., Vidal, J. D., Lichtsteiner, S., Cornwell, W. D., Greshock, J. D., Wooster, R. F., Finer, J. T., Copeland, R. A., Huang, P. S., Morgans, D. J., Jr., Dhanak, D., Bergnes, G., Sakowicz, R. and Jackson, J. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2010, **107**, 5839–5844.
- [5] Weston, C. E., Richardson, R. D., Haycock, P. R., White, A. J. P. and Fuchter, M. J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, **136**, 11878–11881.
- [6] Maiato, H., Gomes, A. M., Sousa, F. and Barisic, M. *Biology*, 2017, **6**, 13.
- [7] Mafy, N. N., Matsuo, K., Hiruma, S., Uehara, R. and Tamaoki, N. *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, **142**, 1763–1767.
- [8] Matsuo, K. and Tamaoki, N. *Org. Biomol. Chem.*, 2021, **19**, 6979–6984.

- [9] Matsuo, K., Thayyil, S., Kawaguchi, M., Nakagawa, H. and Tamaoki, N. *Chem. Commun.*, 2021, **57**, 12500–12503.

松尾 和哉 (まつお かずや)

京都工芸繊維大学 分子化学系 生体高分子情報研究室 助教 (テニュアトラック)

2010年3月 名古屋市立大学大学院 薬学研究科
博士前期課程修了

2014年3月 京都大学大学院 工学研究科
博士課程修了 博士(工学)

2014年4月 京都大学大学院工学研究科 博士研究員

2014年6月 JSPS 海外特別研究員
米国スクリプス研究所 Research Associate

2015年6月 北海道大学 電子科学研究所 助教

2021年10月 現職



◆ 海外の研究室から ◆

岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科

池田研究室

特別協力研究員 東 小百合

はじめに

岐阜大学 池田研究室 特別研究協力員の東小百合と申します。私は今年2021年3月に池田将教授のご指導のもと博士号を取得し、6月よりドイツのミュンスター大学にて博士研究員として勤務しております。現在は合成生物学、特に光センサータンパク質を用いた人工細胞創製に取り組んでいます。留学して半年が経過した現在までの波乱万丈ながらも充実した日々について綴らせて頂きます。本稿を通じて、留学の面白さや所属研究室の魅力が一人でも多くの方に伝われば幸いです。

私の留学先: Wegner 研 (ドイツ、ミュンスター大学) について

ミュンスター大学 (正式名称: ヴェストファーレン・ヴィルヘルム大学 (ドイツ語: Westfälische Wilhelms-Universität, WWU) は、ミュンスター・オスナブリュック空港 (FMO) からバスまたはタクシーで約20分ほどの場所に位置しています。ミュンスター大学は、ドイツ皇帝のヴィルヘルム2世がかつて生活していた城の跡地であり、大変立派な建物です。また、ミュンスター大学には15の学科があり、市内に関連する研究棟が点在しています。私が所属するWegner研は、Institute of Physiological Chemistry and Pathobiochemistryという研究棟内にあり、残念ながら研究所はお城から徒歩10分のところに位置する古めの建物です。

Wegner研には現在、博士研究員4名、博士課程の学生10名、技術補佐員2名が在籍しており、研究所では最大規模です。Wegner研にはトルコ出身のWegner先生を含め17人が所属しており、ラボメンバーの出身国籍はアメリカ、イタリア、イラン、インド、エクアドル、ガーナ、韓国、中国、ドイツ、フィンランド、そして日本と実に多様です。私はラボで初の日本人であり、もしかすると研究所



Wegner 研のシティツアー！: BBQ の前に市街地を散策しました。後ろに聳え立つ教会がこのシンボルです。

にとっても初めてなのかもしれません (30年も研究所で働く技術者の方が教えてくれました)。Wegner先生は、博士課程からシカゴ大学 (米国) で研究に従事し、その際の研究指導者でありRNA修飾研究の第一人者でもあるProf. Chuan Heの勧めで北京大学に1年の研究留学経験もあります。その後、ドイツのマックスプランクインテリジェントシステム研究所で3年間の博士研究員 (その際は現在のマックスプランク医学研究所のディレクターでもあるProf. Joachim P. Spatzのラボに在籍) を経たのちに同研究所で独立研究室を持った経歴があります。2019年よりミュンスター大学で教授として活躍されています。

さて、私がここに留学した理由は、Wegner研から発表された論文との出会いがきっかけです。その論文は、*Thermus thermophilus*由来の光受容転写因子: CarHの四量体 (暗所下、アデノシルコバラミン (AdoB₁₂) との結合に由来) が光照射により単量体へ解離する現象を細胞-基質間相互作用の制御に応用したというものでした^[1]。細胞内で機能する分子 (CarH) を細胞外の現象 (細胞-細胞間または基質間相互作用など) に応用するという発想が私にとっては非常に印象的かつ、今後の展開を想像するのがとてもワクワクする研究に感じました。また、Wegner先生が私と同じ女性であり、ラボは発足から間もないということも魅力に感じました。さらにWegner先生は、教授になって間もない上に幼い2児の母でもあり、研究室運営だけでなく女性ならではのライフワークバランスについて実際に見たり考えを聞いたりできそうとも考えました。実際に、最近Wegner先生とじっくりお話した際、先生ご自身がポスドクの時に出会い大きく影響を受けた女性の上司のお話や、産休や育児休暇に対する考えなどを聞くことができました。さて、以上の理由で留学の意思を固めた私は早速Wegner先生へメールアポイント (CVとカバーレターを添付) を取り、翌日には返信をいただき、その翌日にはWegner先生との1対1でのweb面接を終えて留学の承諾を得ることができました。私は幸運にも博士課程の最終年に日本学術振興会 特別研究員 (DC2) に採用していただいていたことから、Wegner先生はすんなりと留学を承諾してくださったようです。助成なしにアプライする場合には、ラボメンバー全員とも面接することが必須です。

Wegner研では、合成生物学と光遺伝学の組み合わせにより、細胞-細胞間相互作用の制御、多細胞構造の構築、新たなバイオ材料の開発、そして人工細胞の創出に向けた研究プロジェクトが30前後進められています。博士課程の学生は平均3つ程プロジェクトを並行して取り組んでいます。毎週月曜日には関連テーマごとに4-5人のグループに分かれ (私は、人工細胞創出グループ)、Wegner先生に実験の進捗を報告します。この時、前のグループが長引くと次のグループメンバーがWegner先生に「実験の予定が変わるので時間を再調整してほしい」と直接交渉し、Wegner先生が改善策を提案する様子を見ることがあります。こういう場面に出会うと、海外らしいなと私は感じると同時に、ラボのルールや歴史はこうして築かれていくのだなという学びにもなっています。この点に関しては、ラボに必要な機器や誰かの誕生日プレゼントについてメンバー全員で話し合うこともよくあり、皆かなり積極的に自分の考えを聞かせてくれるので私はこの時間が結構好きです (私はまだ大人しくしています)。また、月に一度はラボ全体で進捗報告会があり、ラボの半数が15分間の進捗発表 (Research update)、他2名が文献紹介 (Literature talk)、さらに1名が20分間の研究紹介 (Project talk、学会発表を想定) を行います。この報告会準備は毎回心が折られかけますが、報告会を終えた後のドイツビー

ルは格別ということ覚えてしまいました。

Wegner研の行事についても紹介させてください。Wegner研では、夏のBBQと冬のクリスマス会が恒例行事です。BBQでは一品ずつ手料理を持参するポトラックパーティーでもあり、グローバルラボなのであらゆる国の料理が楽しめます。私は焼きおにぎりを持参し、実に賛否両論でした。なお、別の機会にはみたらし団子を作りましたが、こちらは好評でした。さて、クリスマス会ではシークレットサンタが目玉企画です。この企画は、2週間前に名前の書かれたくじを引くところから始まります。その後、当日までにくじに書かれていた人へのギフトを10€ (1300円程) を上限に準備します。くじを引いた時、誰のくじを引いたかはもちろんシークレットにする必要があると思っていたのですが、Wegner先生は普通に「おー、〇〇か!」と名前を口にしていたのが印象的です。当日はサンタに扮したラボメンバーが皆から集めたシークレット・ギフトを一人一人に渡



Wegner 研のクリスマス会: シークレットサンタからのギフトを片手に。

してくれました。私は後に登場するインド人学生から可愛いクリスマスオーナメント等を貰いました。クリスマス会ではドイツ人学生がGlühwein (グリューワイン) というドイツ発祥のホットワインを用意してくれました。Glühweinは、通常赤ワインにシナモン等のスパイスやオレンジ等フルーツを加え、じっくり温めたワインです。スパイスやフルーツのおかげで甘くなっており、気付けば3杯も飲んでいました (ラボで最多)。Glühweinを飲む前には皆で円を囲み、1人ずつ今年の総括と来年の抱負を述べ、その都度乾杯します。ラボ歴が長い人から語っていくために私は最後から2番目で、その頃には2杯半を飲み終えており、何を話したのか、もはや話せていたのかすら記憶が曖昧です。なお、Glühweinはクリスマスマーケットに行くと各出店がオリジナルのマグカップに入れて提供してくれます。そのマグカップ代も最初に請求されるため (deposit)、そのマグカップを気に入ればそのまま持ち帰ることができます。これはクリスマスシーズンの良いヨーロッパ土産になります。

研究について

現在、私は2つの研究プロジェクトを進めています。1つは、博士課程3年のインド人女学生が進めるプロジェクトに参画させてもらい、もう1つは自分主導のものです。前者では、光センサータンパク質は扱っていないのですが、人工細胞モデル GUV 内に酵素を内包し新たな細胞モデルの開発に挑んでいます。このプロジェクトを通して、インド人学生には GUV 作製や取り扱いのいろはを丁寧に教えてもらいました。彼女は、Wegner 研のエースであり、かなり優秀かつハードワーカーです。最近では彼女が考案したプロジェクトを進める学生も

いるくらいです。彼女と一緒に実験することで、新しい知識や実験技術を学べるだけでなく指導方法も参考になります。実験に関しては、1 度目は彼女の実験操作を見て学ぶ、2 度目は私が行い彼女は助言をくれる、3 度目は再び彼女の実験操作を見て私は見逃していた部分を補強+ α でコツを学ぶ、といった順序で進めてくれます。これは彼女の中で確立された指導方法で、誰に対してもじっくり丁寧に指導してくれます。また、解析後には一緒にデータを見てディスカッションを必ずしてくれます。この手厚い指導のおかげもあり、詳細はまだ書けませんが、かなり面白いデータがこの短期間で多く得られています。今は、この成果を早く発表できるようにと論文執筆に励む日々です。2 人で一喜一憂しながら進めた顕微鏡観察は大切な思い出です。そんな彼女のプロジェクトに参画できたことに非常に感謝しています。また、研究に対するチームワークの重要性を再認識することもできました。後者では、青色光の照射で構造変化が誘起される光センサータンパク質を用いています。光センサータンパク質は培養時から遮光を徹底する必要があり、大きい培養フラスコを持つての実験室移動などでは注意すべき点が多いです。なお、暗所下では赤色光を灯して操作を行います。赤色光に応答する光センサータンパク質には青色光を用いるため、複数人が同時に異なる光センサータンパク質を扱う際の実験室はなかなか映えています。さらに最近では、クローニングやタンパク質の扱いにも慣れてきたため、ラボメンバーの実験を手伝う日も増えました。そして、このラボではメンバー間で新規プロジェクトを考えて Wegner 先生に提案し、アドバイスをもらった上で始動することも少なくありません。そのため、今年はラボメンバーと共同で何かプロジェクトを始めたいと考えています。

おわりに

最後になりましたが、このような貴重な機会を与えてくださった名古屋大学の清中 茂樹先生、本ニュースレターを運営されている先生方に心より感謝いたします。また、研究の基礎を教えてくださいるとともに留学という新たな挑戦を勧め時折近況を尋ねて下さる池田先生、そして私を快く受け入れてくださったWegner先生に深く感謝しております。ここでの研究成果を近い将来日本の皆様に発表できるよう、明日からも研究生活を楽しんでまいります。

東 小百合 (ひがし さゆり)

岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科 池田研究室 特別協力研究員

2021 年 3 月 岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科

博士課程修了 博士(工学)

2021 年 4 月 現職 (日本学術振興会 特別研究員)

2021 年 6 月 ミュンスター大学 (ドイツ) 留学開始



参考文献

[1] D. Xu, J. Ricken, and S. V. Wegner, *Chem. Eur. J.* 2020, 26, 9859 – 9863.

◆ 学会活動報告 ◆

第 15 回バイオ関連化学シンポジウム

第 15 回バイオ関連化学シンポジウム実行委員 稲葉央
(鳥取大学 学術研究院工学系部門)

【はじめに】

本年度 9 月 8 日~10 日に行われた第 15 回バイオ関連化学シンポジウムは、新型コロナウイルスの影響のため、昨年度に引き続きオンライン開催となりました。本年度は、松浦和則先生(鳥取大学)が委員長、神谷典穂先生(九州大学)が副委員長を務められ、鳥取大学および広島大学の先生方で実行委員会を組織し運営させていただきました。当初はオンサイトで鳥取での開催を目指しておりましたが、新型コロナウイルスの影響が収まらず、やむを得ずオンラインでの開催となりました。昨年度に比べオンラインシステムが広く利用されていることもあり、後述のようにトラブルもありましたが、無事終了することができました。ひとえに参加者の皆様方がオンライン学会を熟知し、円滑な運営にご協力いただいたお陰と感謝しております。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

最終的に本年のシンポジウムでは、参加登録者数 466 名、口頭発表 71 件、ポスター発表 188 件となり、いずれも昨年度のシンポジウムを上回る形となりました。また、昨年度は行えなかった特別講演を浅沼浩之先生(名古屋大学)および城宜嗣先生(兵庫県立大学)にお願いすることができました。昨年度に比べオンラインでの会議、学会が定常化したこともあり、多くの方にご参加いただき活発な議論を行っていただけたものと思っております。以下に、本シンポジウムの運営について寄稿させていただきます。

【オンラインシステムの運営体制について】

前述のように、当初は鳥取での開催準備を進めておりました。しかし、新型コロナウイルスの影響が収まらず、4 月末にオンラインで開催することに決定し、オンラインシステムとして(株)アトラスの Confit を用いることになりました。参加登録・演題登録・プログラム編集は Confit のシステムを用い、オンライン開催・要旨集に関しては創文印刷工業(株)にご対応いただきました。Confit は昨年度の日本化学会春季年会でも使用されたため、馴染みのある方も多かったものと思います。Confit を用いた参加登録やプログラム編集はわかりやすく、実行委員が随時更新および情報共有をすることができました。今後も Confit を使用する可能性があるため、情報共有のため下記に必要と思われる改善点を示します。

・「参加登録費は全て不課税」と HP には記載していたが、Confit のシステムで自動発行される領収書フォーマットにおいて、デフォルト設定で「消費税 10%含む」となっており、混乱を招いた。

・ **Confit** のシステムでプログラムを自動作成すると、日時順に作成されずに、分野毎に作成され、時系列がよくわからないプログラムになった。結果として、手作業でプログラム作成した方が速かった。

・ 発表登録の際に発表者の名前のみを登録し、共同研究者の名前を登録していないケースが主に学生で見られ、問い合わせ後修正する必要があった。共同研究者の名前を入力するようにわかりやすく記載すべきであった。

【HP・プログラム作成について】

(株) アトラスより提供されたフォーマットを基に、運営委員が **HP** を作成いたしました。フォーマットはシンプルで難しい操作も必要ないことから、更新作業も迅速に行うことができました。また、プログラム作成も **Confit** のシステムから行いましたが、わかりやすいシステムで特に問題なく行うことができました。

【口頭発表について】

口頭発表は **Zoom** の画面共有を用いて行われました。質疑応答はチャット欄に質問がある旨を入力していただき、座長が指名して口頭でやり取りする形で行われました。この方法は他学会でもよく見られる方法であり、大きな問題はなく活発な議論が行われました。また、昨年度の課題として挙げられていたタイムキーパーに関して、会場系の **PC** にタイマーを表示し、**Zoom** でピン留めすることで残り時間が参加者から見えるようにいたしました。ベルは聞こえにくいことと発表の妨げになる可能性があることから、昨年度と同様使用いたしませんでした。

本シンポジウムでは創文印刷工業(株)の手配により3つの **Zoom** アカウントを用意し、口頭発表の A~C 会場用に割り当てました。実行委員が各会場にホストとして参加し、運営を行っておりましたが、初日(9月8日)の C 会場で、講演中に **Zoom** が突然ダウンする事態が生じました。世界中で **Zoom** の使用が集中し負荷がかかったためと思われます。当該の講演は再度 C 会場を開き途中から再開していただきましたが、翌日の B 会場で再度講演していただくことになりました。関係者の皆様にはご迷惑をおかけし、誠に申し訳ありませんでした。また、臨機応変にご対応いただき御礼申し上げます。

【ポスター発表について】

学会運営で最も難しいものの一つがポスター発表の形式かと思います。実行委員の準備会議でも様々な案が出されましたが、本シンポジウムではポスター資料の事前アップロードと **Zoom** のブレイクアウトルームでの発表を組み合わせることといたしました。まず、**Confit** のシステムを用いてあらかじめポスター形式の発表資料(1ページ)をアップロードいただき、シンポジウムの一週間ほど前から参加者に閲覧していただけるようにいたしました。シンポジウム当日の **Zoom** のブレイクアウトルームでの発表では、ポスター資料を拡大縮小して発

表するか、ポスター資料を分割して口頭発表のように発表するかは発表者に一任することといたしました。これは、あくまで「ポスター発表」であることから口頭発表と同様の形式にならないようにポスターは作成すべきであるが、シンポジウム当日は発表者が発表しやすい形式を選択できるようにするという実行委員の判断でした。ポスター発表は様々な形式が考えられ運営が難しいかと思いますが、一つの方法として今回のような形式が考えられるかと思えます。

Zoom のブレイクアウトルームでの発表では、前述の 3 つの Zoom アカウントのうち 2 つを使用し、前半 (001~048) と後半 (049~094) の番号に分けて行いました。前述のように初日 (9 月 8 日) の C 会場での講演が遅延したため、それに伴い後半番号のポスター発表を全体的に遅らせざるを得ないという事態が生じました。これは口頭発表とポスター発表で同じ Zoom アカウントを使用していたことが理由であり、追加料金を払ってもポスター発表用の Zoom アカウントを別に契約すべきだったかと思えます。さらに、初日の発表途中から Zoom のブレイクアウトルームに入れられないという問題が生じました。奇数番号は前半 1 時間、偶数番号は後半 1 時間と分けて行いましたが、特に奇数番号と偶数番号の発表に切り替わる際にそのような事態が生じました。この時間は奇数番号と偶数番号の両方で発表が行われ、Zoom の負荷が大きかったためだと考えられます。事前にこの程度のブレイクアウトルーム数であれば問題ないだろうと創文印刷工業 (株) から聞いておりましたが、Zoom アカウントを増やしブレイクアウトルームを分散させるなどの対応をすべきだったと反省しております。初日は一度ミーティングを閉じ再度開くことで対応し、二日目 (9 月 9 日) は「2P-001/002」のように奇数番号と偶数番号の発表を 2 人 1 ルームとしてブレイクアウトルームの数を半分にすることで対応いたしました。混乱をきたし、関係者の皆様には大変申し訳ありませんでした。柔軟にご対応いただき、この場を借りて御礼申し上げます。Zoom のブレイクアウトルームは出入りが自由であり、現実と近い形でポスター発表を行えるというメリットがありますが、負荷が大きいとトラブルが生じる可能性があるという点は留意する必要があるかと思えます。

【オンライン懇親会について】

参加者の方々に交流していただく場として、SpatialChat を用いたオンライン懇親会を二日目 (9 月 9 日) に開催いたしました。鳥取の雰囲気味わっていただくために、鳥取砂丘や鳥取大学などを背景とした会場を準備いたしました。また、準備に時間がかかってしまいましたが、懇親会のお供に地酒などの鳥取の特産品を HP でご紹介いたしました。オンサイトでの懇親会のように、講演賞およびポスター賞受賞者を発表・表彰し、受賞者から一言いただくことができたのは良かったかと思えます。参加費無料ということもあり、163 名もの方々に登録いただき、中締め後も歓談している様子が見られました。少しでも現実に近い懇親会を目指して準備を進めましたので、参加者の交流の一助となれましたら嬉しく思います。

【おわりに】

上記のように、トラブルもありましたが、参加者の皆様のご協力のお陰で無事シンポジウムを終えることができました。オンライン会議のシステムおよびその社会への浸透度は成熟し、今やオンラインの方が便利な状況も多いかと思えます。しかしながら、休憩時間に発表者と詳細なディスカッションをする、知り合いと雑談する、新しい知り合いを作る、といったプログラムにない時間をオンラインで再現することは未だに難しく、学会の醍醐味ともいえる機会が近年 2 回のシンポジウムで失われているのは非常に残念に思います。近い将来にオンサイトで交流を深められる日が来ることを心より祈っております。

最後になりましたが、本シンポジウムの開催に関しまして、ご協賛いただきましたアステック (株) 様、(株) オンチップ・バイオテクノロジー様、神戸天然物化学 (株) 様、CEM Japan (株) 様、重松貿易 (株) 様、(株) 新興精機様、タイテック (株) 様、(株) テクノシグマ様、鳥取科学器械 (株) 様、(公財) とっとりコンベンションビューロー様、鳥取サイエンス (株) 様、富士シリシア化学 (株) 様、フナコシ (株) 様、ブルカー・ジャパン (株) 様、プレジジョン・システム・サイエンス (株) 様、(株) マリンナノファイバー様、ライフサイエンスソリューションズ (株) 様、Royal Society of Chemistry 様に心より御礼申し上げます。また、運営支援をいただいた (株) アトラス、創文印刷工業 (株) の皆様に改めて御礼申し上げます。ご協力いただきました実行委員の先生方、座長をお引き受けいただいた先生方、ならびに日本化学会保倉光邦様に厚く御礼申し上げます。

第 15 回バイオ関連化学シンポジウム実行委員会

実行委員長：松浦 和則 (鳥取大学 学術研究院工学系部門)

副実行委員長：神谷 典穂 (九州大学 大学院工学研究院)

実行委員：永野 真吾 (鳥取大学 学術研究院工学系部門)

野上 敏材 (鳥取大学 学術研究院工学系部門)

日野 智也 (鳥取大学 学術研究院工学系部門)

佐藤 裕介 (鳥取大学 学術研究院工学系部門)

櫻井 敏彦 (鳥取大学 学術研究院工学系部門)

稲葉 央 (鳥取大学 学術研究院工学系部門)

舟橋 久景 (広島大学 大学院統合生命科学研究科)

黒田 章夫 (広島大学 大学院統合生命科学研究科)

◆ 学会活動報告 ◆

第 15 回バイオ関連化学シンポジウム
学生ポスター賞オンライン審査

日本化学会生体機能関連化学部会
若手代表幹事 稲葉 央
(鳥取大学 学術研究院工学系部門)

本年度 9 月 8 日~10 日に行われた第 15 回バイオ関連化学シンポジウムは、新型コロナウイルスの影響のため、昨年度に引き続きオンライン開催となりました。本ニュースレターでは、若手会が主宰した学生ポスター賞のオンライン審査についてご報告させていただきます。

生体機能関連化学部会の若手代表幹事である稲葉が中心となり、ポスター賞審査を進めました。例年通り「シンポジウムポスター賞」および Royal Society of Chemistry 様ご協力のもと「RSC ポスター賞」を設けることは早い段階で決定していましたが、昨年度のオンラインでのポスター賞審査での反省を踏まえ、2021 年 6 月に、生体機能関連化学部会若手幹事内で審査形式について議論がなされました。審査員の先生方のご負担を抑え、かつ公平に審査を行うために様々な意見が出されましたが、最終的に主に以下の点を昨年度から変更いたしました。

- ・一次審査（要旨とポスター発表資料による審査）を廃止し、Zoom のブレイクアウトルームを用いた審査のみとしました。Zoom による審査は、昨年度はシンポジウム前日に行いましたが、今回はシンポジウム当日のポスター発表時に行いました。後述のように審査員あたりの審査数はそれほど多くなく、シンポジウム当日のみで十分審査可能であると判断いたしました。

- ・発表者には事前にポスターをアップロードしていただき、審査員の先生方はあらかじめ要旨およびポスターを確認することで理解を深めていただけるようにしました。

- ・通常のポスター発表時間のみでは審査時間が足りなくなる可能性を考慮し、ポスター発表時間の前後 10 分間を審査員専用の発表時間として確保し、その時間にも審査を行えるようにしました。

審査員の先生方、発表者ともにオンラインでの発表が浸透しており、比較的スムーズに審査が行えたものと思います。しかし、別途シンポジウムでの報告に記載するように、Zoom のシステムにトラブルが生じ、ポスター発表開始時間が遅くなる、およびブレイクアウトルームに入れなくなるという問題が生じました。ポスター発表時間を延長して十分な審査時間を確保できるようにいたしました。関係者の皆様にはご迷惑をおかけして誠に申し訳ありませんでした。臨機応変にご対応いただいたお陰で、全ての審査を行うことができました。

本年度はポスター賞に 63 名の応募があり、審査には 63 名の若手の先生方にご協力いた

きました。1人の発表者に対して3名の審査員による審査が行われ、ポスター・発表のわかりやすさ、研究背景・目的の明確さ、結果の考察・議論、質疑応答などについて評価されました。審査員あたりの審査数は3件であり、審査のための十分な時間を確保できたとのことご意見もいただいております。一方で、ポスター賞受賞者と次点の発表者は極めて僅差であり、審査の平等性のためにはもう少し発表者あたりの審査人数を増やしてはどうかのご意見もいただきました。いただいたご意見は来年度以降のポスター賞審査に活かしていきたいと考えております。6名のポスター賞受賞者はオンライン懇親会（SpatialChat）で表彰し、一言いただきました。オンラインではありますが受賞者をお祝いできたのは良かったかと思いません。

本年度の学生ポスター賞審査は昨年度に引き続きオンラインでの審査となりましたが、トラブルはあったものの審査員の先生方、発表者のご尽力により無事終了いたしました。この場を借りて、審査運営に携わられた先生方、および審査員をお引き受けいただいた先生方に厚く御礼申し上げます。来年度はオンサイトでの熱いディスカッションに基づくポスター賞審査が行えることを祈念しておりますが、予断を許さない状況が続いております。いずれの場合でも、学生および審査員の先生方が納得する形でポスター賞審査を行えるよう、改善を続けていく所存です。引き続き皆様のご支援ご協力を賜れますよう、どうぞ宜しくお願いいたします。

◆ 学会活動報告 ◆

第 8 回 バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム

日本化学会生体機能関連化学部会
若手会幹事 勝田陽介
(熊本大学大学院先端科学研究部)

令和 3 年 9 月 3 日 (金)、第 8 回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム (以下、本フォーラム) がオンライン形式で開催されました。

例年通りであれば、本フォーラムは若手が中心となって第 14 回バイオ関連化学シンポジウム (以下、本会) の開催地である鳥取大学もしくはその周辺にて開催する予定でした。しかし新型コロナウイルス拡大防止の観点から通常の形式での開催を諦め、オンライン形式での開催へと切り換えることになりました。

昨年度の本フォーラムは中止となっていましたので、今回は過去に例のないオンライン開催となり、鳥取大学松浦研究室の稲葉先生、九州大学後藤・神谷研究室の若林先生および私の 3 名が実行委員として手探り状態で準備を進めていきました。実行委員としては戸惑いもありましたが、オンライン開催であるメリットを最大限活かすようなフォーラムの開催を目指しました。

オンライン開催のメリットを活かした具体例は日程です。例年通りであれば本フォーラムは、移動や宿泊に伴う費用負担軽減の観点から本会の前日に開催されます。一方で、オンライン開催では費用の問題がないことから、本会の一週間程度前に本フォーラムを開催しました。この理由は本フォーラムでのポスター発表を本会の練習の場にできると考えたからです。本会のポスター発表では学生および教員が時に激論を交わすことがあり、「あの時、もっとこう言えば良かった」「こんな質問に対して自分なりの意見を言うことができなかった」など様々な気持ちが生まれることがあると思います。一週間以上前に、その時点での「本気の発表」を行い、しっかりと頭を整理した上で本会のポスター発表に挑むことができれば、本会のポスター発表もより充実したものになるだろうと思いました。

本フォーラムは運営サポート会社などを利用しなかったことから、参加費無料で開催しました。上記の通り日程的にゆとりを持たせたことも併せて功を奏したのか、参加者数は当日参加者を含め計 144 人となり、例年の若手フォーラムと同様以上の活気にあふれた会となりました。角五彰先生 (北海道大学大学院理学研究院化学部門)、亀井謙一郎先生 (京都大学物質-細胞統合システム拠点)、築地真也先生 (名古屋工業大学大学院工学研究科)、村上裕先生 (名古屋大学大学院工学研究科)、山吉麻子先生 (長崎大学大学院医歯薬総合研究科) という 5 名の著名な先生方にご講演を頂き、ポスター発表の件数は 51 件となりました。また、オンライン開催にもかかわらず、日本化学会生体機能関連化学部会および日本化学会バイオテクノロジー部会をはじめ様々な部会にご協力を賜りました。運営を担当していただいた実行委員の先生方、ならびに日本化学会の保倉光邦様には様々な面でサポートをいただきました。この場を借りて感謝申し上げます。

◆ 第16回バイオ関連化学シンポジウム ◆

(第 37 回生体機能関連化学シンポジウム・第 25 回バイオテクノロジー部会シンポジウム)

主催: 日本化学会生体機能関連化学部会・日本化学会バイオテクノロジー部会

会期: 令和4年9月9日(金)～9月11日(日)

会場: 名古屋大学東山キャンパス (名古屋市千種区不老町) 野依記念学術交流館、坂田・平田ホール、ES 総合館 (状況によってはオンライン開催の可能性あります)

討論主題: ペプチド・タンパク質・酵素・核酸・分子認識・超分子・生体モデル系・遺伝子・DDS・糖・脂質等が関連する幅広いバイオ関連化学

発表形式: 口頭発表・ポスター発表

発表、参加予約申し込み、参加費等: 確定後にシンポジウム HP にて公表予定

申し込み分類: (1) 分子認識・超分子・モデル系、(2) ペプチド・タンパク質・酵素、(3) 核酸関連、(4) 糖・脂質、(5) メディカルバイオ、(6) 環境バイオ、(7) 分析・計測・センサーデバイス

ポスター発表: 1日目および2日目

口頭発表: 全日で 15 分間発表、5 分間質疑応答

(口頭発表は原則として1研究室1件まで、ただし申し込みは2件まで可)

懇親会: 9月10日(土) 会場、参加費等の詳細は確定後にシンポジウム HP にて公表予定

問い合わせ先: 〒464-8603 名古屋市千種区不老町

名古屋大学大学院工学研究科 堀克敏研究室内

第16回バイオ関連化学シンポジウム事務局

E-Mail: dai3hisho@chembio.nagoya-u.ac.jp

実行委員会: 委員長: 堀 克敏 (名古屋大学工学部、バイオテクノロジー部会 役員)

副委員長: 村上 裕 (名古屋大学工学部、生体機能関連化学部会 役員)、
莊 司 長三 (名古屋大学工学部、生体機能関連化学部会 役員)、
清中 茂樹 (名古屋大学工学部、バイオテクノロジー部会 役員)

委員: 愛場 雄一郎 (名古屋大学理学部)、林 剛介 (名古屋大学工学部)、
鈴木 淳巨 (名古屋大学工学部)、中谷 肇 (名古屋大学工学部)、
有安 真也 (名古屋大学理学部)、石川 聖人 (名古屋大学工学部)、
金岡 英徳 (名古屋大学工学部)、堂浦 智裕 (名古屋大学工学部)、
藤野 公茂 (名古屋大学工学部)

◆編集後記◆

本号より2号分、名古屋大学 清中がニュースレターの編集を担当させていただきます。どうぞ宜しくお願い致します。いまだ収束を迎えないコロナ禍の状況かつ年末年始・年度末のご多忙にも関わらず、原稿依頼をご快諾・ご寄稿頂きました執筆者の先生方に、心より御礼申し上げます。

「巻頭言」には、東京大学 小澤 岳昌 先生からアフターコロナも見据えたグローバル教育に関する貴重なご寄稿を頂きました。「先端研究ウォッチング」には、鳥取大学 松浦 和則 先生にご寄稿頂き、ご自身が開発された人工ウイルスキャプシドを用いた最新の研究成果および新たなバイオテクノロジー技術としての可能性をご紹介いただきました。「若手研究者からのメッセージ」には、第15回バイオ関連化学シンポジウムで講演賞を受賞された沖縄科学技術大学院大学 福永 圭佑 先生、東北大学 小和田 俊行 先生、京都工芸繊維大学 松尾 和哉 先生より、最新の研究成果を解説いただきました。受賞された先生方の学生時代の研究や大学院生に向けたメッセージも含まれており、若手研究者にとっても興味深い内容でした。「海外の研究室から」には、ドイツ ミュンスター大学に留学中の岐阜大学 池田 将 研究室 特別研究協力員の東 小百合 博士にご寄稿頂きました。コロナ禍という状況にも関わらず海外でアクティブに研究されている女性研究者のご活躍を垣間見ることができました。「学会活動報告」には、昨年度に引き続きオンラインとなった第15回バイオ関連シンポジウムの実行委員の鳥取大学 稲葉 央 先生から、オンラインシンポの運営およびポスター賞審査のご報告をいただき、数百人規模で3日間にわたり開催したオンラインシンポでの想定外のトラブルなど、今後のオンラインシンポに向けての貴重なご報告をいただきました。第8回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラムに関しましては、熊本大学 勝田 陽介 にご報告いただきました。こちらオンラインシンポとなりましたが、開催日程も含めてオンラインの特性を生かした開催形式など、コロナ後の学会運営の効率化にとっても役立つと思います。力作の原稿を頂きました執筆者の皆様に改めてお礼を申し上げます。1月はじめからオミクロン株が猛威を奮っている状況ではありますが、コロナ禍から脱却して皆様と対面でお会いできる日が待ち遠しいです。

次号 Vol.26, No.1 は8月1日の発行を予定しております。

NEWS LETTER Vol. 25, No.2 (2022年2月1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