

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. 23, No. 1 (2019. 08. 01)

目 次

◆ 巻頭言	1
	堀 克敏 (名古屋大学)
◆ 先端研究ウォッチング	3
	田原義朗・後藤雅宏 (九州大学)
◆ 若手研究者からのメッセージ	13
	① 新井亮一 (信州大学)
	② 中澤 光 (東北大学)
	③ 田中祐圭 (東京工業大学)
◆ 海外の研究室から	30
	清水 一憲 (名古屋大学)
	CAAVEIRO Jose (九州大学)
◆ 各種研究会、国際会議から	37
	神谷典穂 (九州大学)
◆ バイオ関連化学シンポジウムのご案内	39
◆ 編集後記	40
	神谷典穂 (九州大学)

◆ 巻頭言 ◆

起業家となって

テクノロジーを標榜する本部会の会員の中には、ベンチャー企業の起業に関与したことがある方も多くであろう。かくいう私も、2017年の6月に自ら起業したので、巻頭言執筆のこの機会に、皆様に紹介しようと思う。今後起業を考えている会員の参考になれば幸いである。

大学教員が起業する場合、最初で最大の難題は、経営者を探すことである。日本には、バイオベンチャーの成功経験者が非常に少なく、適任者を探すのは容易ではない。自ら社長となって起業することも、大学によっては認められる。しかし、コンプライアンスの関係から様々な制約が出てくるため、好ましくはない。私の場合は、NPOから依頼された講演の折にたまたま知り合ったバイオベンチャーの成功者を社長に迎えることができた。実は、面倒くさいなと思ったが、知り合いからの依頼で断れず、気の進まぬ講演であった。ただし、講演そのものには手を抜かなかった。人生や人との出会いとは、本当にわかenらないものである。

次に、起業後に必要な運転資金のため、自ら出資した。出資はそれなりの額だったので、決断の際にはかなりの覚悟を要したが、高級車を購入する楽しみと頭の中で比較しながら、決断に至った。今では、ベンチャーは、高級車というより我が子のような感覚である。起業後は、最高科学責任者として取締役就任し、経営にも参画している。起業前に欠かせない準備が、大学への兼業許可の申請である。私の場合、会社の発起人と取締役の二種類の兼業許可が要求された。社名の決定、定款の作成後、会社設立の登記を行い、起業となった。自分でつけた社名が気に入ったので、商標登録もした。これは案外、重要なことである。

起業時には事業計画を立案する必要がある。これがないと資金調達はできない。もう一つ重要なのは資本政策である。まず、例えば何年後に上場するといった目標を定める。それに向かってどのように株価を上昇させ、すなわち会社の価値を向上させ、そして株主の持ち株比率をどのようにもっていくかを定めるのである。大学発ベンチャーで圧倒的に多い失敗事例は、この資本政策の失敗である。初めから、資金欲しさに、ベンチャーキャピタルから大量のお金を集めれば、自分自身の持ち株比率は低下し、発言権を失ってしまう。そうすると、自分のやりたい研究開発であっても、株主が反対すればできなくなってしまう。資金調達の時期を誤ってはならない。必要以上に資金を集めるのは決して得策ではない。創業者が、株式公開の時点で、拒否権を発動できる34%を維持できるように資本政策を立てるべきである。ちなみに、私のベンチャーは、未だに、起業関係者の自己資金以外には、外部からの一切の資金調達をしていない。時期が来れば調達するが、売上を上げることを優先としている。

起業後は特許に関する考え方も大きく変わった。以前は、特許の成立を最重視し、明細書を作成していた（もちろん、弁理士とやり取りしながら）。JSTによる国際出願の支援においても、最も重視される点である。しかし、ビジネスに役立つ特許とは、できるだけ広い権利範囲を含んだものである。実は、権利範囲を拓げるほど、特許成立は難しくなる。ギリギリ

のところで成立させることが重要なのである。しかし、こういった明細書では JST の支援は得にくい。それでも、その特許がビジネスの根幹になるような重要な場合は、妥協すべきでない。また、特許戦略とは、将来の特許紛争、裁判を見越したものでないとならない。実は、ベンチャー企業でも、特許戦略によっては大企業に打ち勝てるのである。『下町ロケット』の世界は現実離れしているところもあるが、部分的には的を射ている。

ところで、特許の成立要件は新規性と進歩性である。大学の研究者にとって、前者はいつも重視している事であろうが、後者は厄介である。しばしば、自分の過去の発表からの進歩性が問題になる。また、論文では作業仮説を述べて論旨展開をすることが普通であるが、特許では、論理的な作業仮説は、研究当事者なら予想できることであるとして、進歩性否定の根拠とされてしまうことがある。発明が、当事者にも予期せぬものであったことを示す必要がある。また、簡単にできてしまうと思われたら、やはり進歩性が否定されてしまう。そのため、特許明細書には、論文には記載しない失敗例も示すことが重要である。時には、失敗するための実験を組むことすらある。実は、学生の修論発表なんかでも、失敗した苦労話を入れた方が評価は高くなるものである。学生にはそのように指導している。

私の起業のモチベーションは、新しい産学連携、大学の在り方を示したいと思ったことにある。自身のベンチャーとの共同研究により、大学での基礎研究とベンチャーでの応用研究を完全に繋げられる。自前で産学連携体制を作ることができるため、公的研究費の獲得にも大いに役立つ。また、民間との共同研究においても、ベンチャー企業が参画することにより、大企業からの信頼度も高まる。私も、大学・ベンチャー・大企業の三者による共同研究事業の事例を作ることができた。ベンチャーにとっては、受託研究ビジネスへの道が開けた。一方で、グローバル化の中で停滞しつつある日本経済に活力を与えるには、新技術に立脚したベンチャー企業が欠かせない。昨今の日本の大企業の不祥事は目に余る。不正経理、データ改ざん、手抜き工事、ごまかしの安全性評価。こんな状態で、若者が夢を描きながら誇りをもって仕事をできるのであるだろうか？既に、私の研究室で博士後期課程を修了した複数の学生が、大企業を蹴って私のベンチャーに就職した。ベンチャーでは、大企業では入社後 10 年以上経たないと与えられない責任ある仕事を最初から任せられ、しかも研究から営業、経理まで、何でもできるようになる必要がある。自ずと真の実力が養われる。これは、大学教育にもフィードバックできる。さらに、夢を実現する出口を用意することで、博士後期課程への進学モチベーションを与えることもできる。また、私自身、応用研究なら将来ベンチャーで実用化できるような課題か、基礎研究なら教科書を塗り替えられるような課題か、以前より意識するようになった。末梢研究テーマを抹消し、研究にメリハリがついてきた。

皆が感じている通り、最近の大学が置かれた環境は非常に厳しい。本年度は、大学では専攻長を仰せつかっているが、憂鬱な仕事ばかりである。ここに新たな方向性を示すことができれば、大学人としても本望である。

2019 年 7 月 名古屋大学工学研究科教授・(株)フレンドマイクロブ CSO 堀 克敏

◆ 先端研究ウォッチング ◆

イオン液体という第3の液体を用いた創薬研究

同志社大学理工学部 生物化学工学研究室 准教授 田原 義朗
九州大学大学院工学研究院 応用化学部門 主幹教授 後藤 雅宏

はじめに

イオン液体 (ionic liquid, IL) とは有機カチオンとアニオンから構成される室温で液体の塩であり、水、有機溶媒に続く第3の液体として現在注目されている。ILは不揮発性や難燃性などの今までの液体にはない性質をもつことから、触媒、金属抽出、電気化学など様々な分野での応用が期待されている。創薬への応用もILの誕生当初から注目されていたが、特に直近のこの10年において飛躍的に発展した研究領域といえる。本稿ではILを用いた創薬研究について注目すべき研究を紹介し、この領域の現状と将来展望について概説する。

イオン液体とは

現在ではILは常温で液体の塩であると認識されているが、統一的な定義がされはじめたのは1990年代に入ってからである。古くから高温における金属酸化物の熔融塩は存在していたが、現在の有機分子からなるカチオンとアニオンで構成されているILは、1992年のWilkesとZaworokoによる1-ethyl-3-methylimidazolium ([C₂mim]) カチオンと各種アニオンからなる塩が、常温常圧で液体となるという報告からスタートしている^[1]。表1にイミダゾリウムをカチオンとしたILの融点についてまとめた。アニオンを塩化物イオンとしたときは、イミダゾリウムカチオンの炭素数が長くなるほど融点が下がる傾向にあり液体になりやすい。またカチオンをイミダゾリウムに統一した場合も、やはりアニオンが嵩高い分子は融点が低下する傾向にあることがわかる。2000年頃には、このような有機分子の組合せでILが形成可能であることが一般的に認識されたことから、塩であることに由来する性質である不揮発性、導電性、高い溶解性などの特徴を

表1 代表的なILの例と融点^[2]

カチオン	アニオン	融点 [°C]
Na	Cl	803
K	Cl	772
C ₁ mim	Cl	125
C ₂ mim	Cl	87
C ₂ mim	NO ₂	55
C ₂ mim	NO ₃	38
C ₂ mim	AlCl ₄	7
C ₂ mim	BF ₄	6
C ₂ mim	CF ₃ SO ₃	-9
C ₂ mim	CF ₃ CO ₂	-14
C ₄ mim	Cl	65

[C₁mim]: 1-methyl-3-methylimidazolium

[C₂mim]: 1-ethyl-3-methylimidazolium

[C₄mim]: 1-butyl-3-methylimidazolium

生かして、触媒、電気化学、抽出溶媒、木質性バイオマスの溶解などの幅広い分野において利用されるようになった^[3]。

イオン液体を利用した創薬研究のはじまり

IL の創薬分野への応用は初期の段階から発展が期待される研究領域であった^[4]。2007 年に Rogers らは麻酔薬として知られている固体のリドカイン塩酸塩（アニオンは塩化物イオン）のアニオンをドクサートイオンとすることによって、固体であるリドカインを液体化することに成功した（図 1（A））^[5]。これも上述と同じように嵩高いイオンを組合せることによる融点の低下を利用している。このように固体である薬を IL 化する研究は、この分野における代表的な研究である。2008 年に Mizuuchi らは難溶解性薬物である albendazole、danazol に対して、図 1（B）に示すイミダゾリウムカチオン（ $[C_{4-8}mim]$ ）と BF_4 および PF_6 アニオンによって構成される IL による可溶化を試みた^[6]。この研究では炭素数の長いカチオンをもつ IL のほうが、薬物の溶解性が高いということが報告されている。このように水や各種の有機溶媒に不溶な難溶解性薬物に対する新しい可溶化溶媒として IL を利用するという試みも現在では重要な研究領域として発展している。

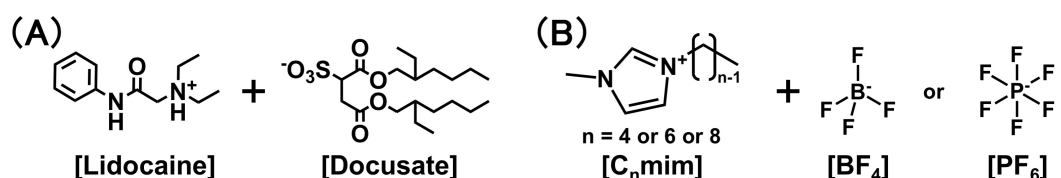


図 1 初期の創薬応用に利用された IL^[5,6]

イオン液体を利用した経皮デリバリーのはじまり

2010 年に我々は IL を用いたドラッグデリバリーシステムについての研究を世界に先駆けて発表した^[7]。ドラッグデリバリーシステムとは薬の体内動態（吸収・分布・代謝・排泄）を制御することによって、薬の効果の最大化や副作用の低減を目指す研究である。難溶解性

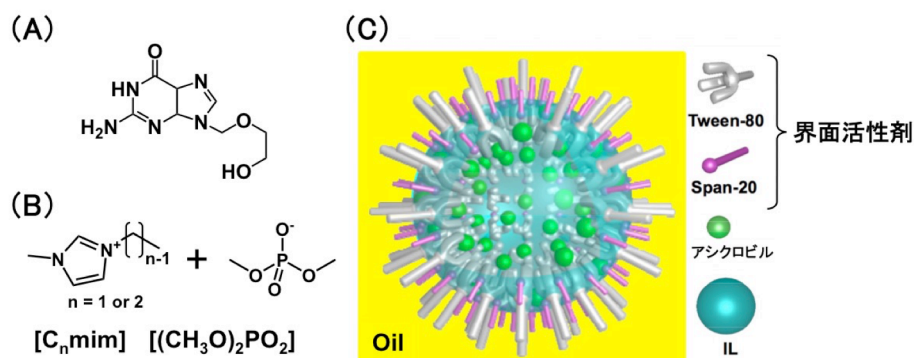


図 2 (A) アシクロビルの構造、(B) 親水性 IL の構造、(C) IL/O マイクロエマルジョン

薬物の代表であるアシクロビル（図2 (A)）は高い薬効を示す抗ウイルス薬であるが、水や多くの有機溶媒に対して溶解性が低いことから、帯状疱疹のようなウイルスが原因の皮膚疾患であっても、錠剤として経口投与（飲み薬）で投与されており、アシクロビルを皮膚から体内に吸収させる経皮デリバリーの創出が望まれている。我々は表2のようにアシクロビルを溶解可能なILの探索を行い、イミダゾリウムカチオンをもち、リン酸やカルボン酸などのアニオンからなる親水性ILにアシクロビルが溶解することを見出した。

表2 アシクロビルのILへの溶解性^[7]

IL	アシクロビルの溶解度 [wt%]
[C ₁ mim][(CH ₃ O) ₂ PO ₂]	> 25
[C ₂ mim][(CH ₃ O) ₂ PO ₂]	> 15
[C ₂ mim][CH ₃ COO]	10-12
[C ₂ mim][BF ₄]	Insoluble
[C ₂ mim][(CF ₃ SO ₂) ₂ N]	Insoluble
[C ₄ mim][PF ₆]	Insoluble
[C ₄ mim][CH ₃ CH(OH)COO]	> 5
Water	0.05
Isopropyl myristate (IPM)	0.004

この中でアシクロビルの溶解性が高かった親水性ILの構造を図2 (B)に示す。最初にこれらのアシクロビル溶解ILを用いて Yucatan micropig 皮膚への浸透性の評価を行なったが、皮膚における最大のバリア能を示す角層は疎水性であり、親水性ILに溶解しただけではアシクロビルを皮膚内へ浸透させるのは困難であった。そこでアシクロビル溶解ILと界面活性剤によって、経皮吸収促進効果をもつOilであるイソプロピルミリスチン酸 (IPM) 中に、ionic liquid-in-oil (IL/O) 型のマイクロエマルジョン（図2 (C)）を形成することを試み、アシクロビルの皮膚への浸透性を大幅に向上させることに成功した。またこのIL/Oマイクロエマルジョンは含まれるILの量が非常に小さいため、人工皮膚を用いた毒性評価では、ILを水に変更したwater-in-oil型マイクロエマルジョンと同程度の毒性であることがわかった^[8]。さらに本手法は、アシクロビルと同じく難溶解性薬物であり抗リウマチ薬として利用されているメトトレキサートに対しても有効であることを報告した^[9]。以上のようにIL/Oマイクロエマルジョンは経皮ドラッグデリバリーに有効であることが示され、この研究を皮切りにILを利用した薬の経皮デリバリーに関する研究が盛んに行われるようになった。以下では、ILを利用した創薬研究について、経皮吸収促進剤としての利用、難溶解性薬物の可溶化、薬のIL化の研究に分類して紹介する。

経皮吸収促進剤としてのILの利用

皮膚からの薬を体内へ送達する経皮デリバリーはILを利用した創薬において最も盛んに研究が行われている分野である。中でも経皮吸収促進剤としてILを利用するという研究が近年、数多く報告されている。2013年のDoblerらの研究では、親水性ILである[C₆mim][Cl]と、疎水性ILである[C₄mim][PF₆]をoil-in-water型のエマルジョンにそれぞれ添加し、モデル薬物の皮膚浸透性について評価した。その結果、疎水性ILの方が高い経皮吸収促進効果を

示すことを報告している^[10]。2015年の我々の報告では、卵白アルブミン (ovalbumin, OVA ; 分子量 4 万 5 千) をモデル抗原タンパク質とした経皮ワクチンの開発に挑戦した。この中で既存のタンパク質の経皮デリバリー技術である solid-in-oil (S/O) 化技術に、添加剤として $[C_{12}mim][Tf_2N]$ (Tf_2N : bis(trifluoromethyl sulfonyl)amide) (図 3 (A)) を加えることを試みた。ここで S/O 化技術は、OVA などの親水性タンパク質を界面活性剤で被覆することでイソプロピルミリスチン酸 (IPM) などの Oil 中にナノ粒子として分散させる技術である。界面活性剤としてショ糖エルカ酸 (三菱化学フーズ商品名 : ER-290)、ショ糖ラウリン酸 (三菱化学フーズ商品名 : L-195) いずれを用いた場合においても、図 3 (B) のように、 $[C_{12}mim][Tf_2N]$ は OVA の皮膚浸透性を向上させることが明らかとなった。さらにこの IL を含む製剤をマウスの耳介の皮膚へ塗布したところ、血中に抗 OVA 抗体の産生がみられ、IL を添加した場合に、顕著に抗体産生量が増大することが確認されている (図 3 (C))^[11]。

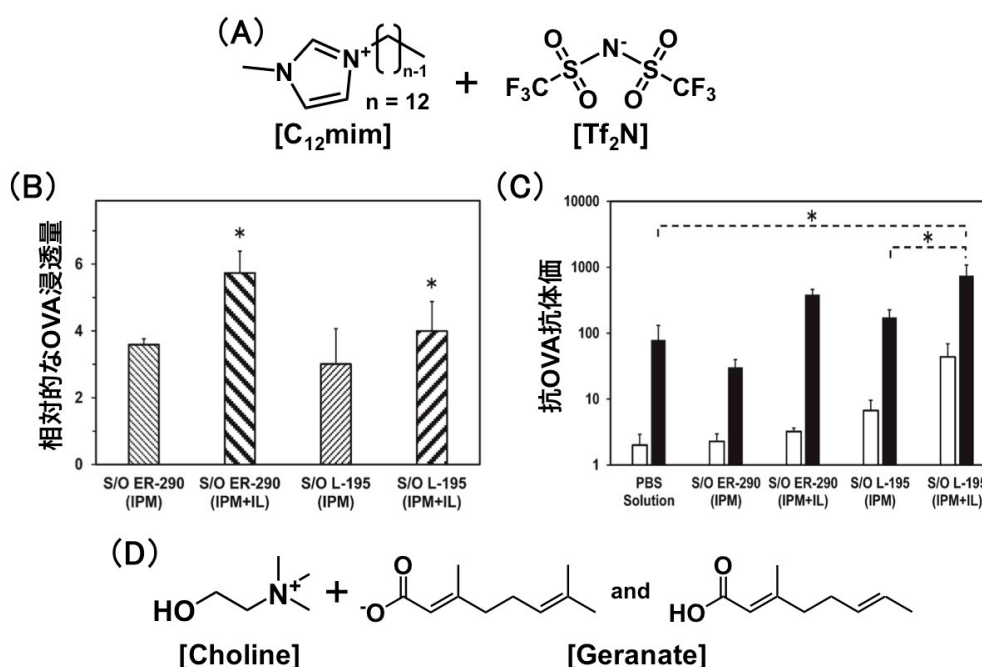


図 3 (A) $[C_{12}mim][Tf_2N]$ の構造、(B) OVA の皮膚浸透量、(C) 血中の抗 OVA 抗体の産生^[11]、(D) コリン-ゲラン酸の構造^[12]

この分野において近年最もインパクトの高い研究を報告しているのが、ハーバード大学の Mitragotri らの研究グループである。彼らは 2014 年の報告で、マンニトールやセフタジジムなどの低分子薬物について、様々な IL (カチオンとしてイミダゾリウム、4 級アンモニウム、コリンなど、アニオンとして Tf_2N 、塩化物イオン、オレイン酸、ゲラン酸など) を用いて皮膚浸透性の向上を検証した。その結果、図 3 (D) に示すようなコリンとゲラン酸からなる IL が高い経皮吸収促進効果を示すことを明らかとしている^[12]。コリンは IL を形成するカチオンの中でも数少ない生体由来の分子であり毒性は低い。またゲラン酸のようなテルペン類も生体由来であり、高い経皮吸収促進効果を示すことが知られている。2016 年にはこの

コリン-ゲラン酸が高い抗菌活性を示すが、皮膚への直接的な毒性は低いということが報告されており^[13]、2017年にはコリン-ゲラン酸を用いてインスリンや牛血清アルブミンなどの高分子量のタンパク質の経皮デリバリーが報告された^[14,15]。さらに2018年には小腸の細胞膜への吸収促進作用があることが報告され、インスリンの経口デリバリーに成功している^[16]。ここでコリン-ゲラン酸は図3(D)に示すようにモル比1:2の混合物の状態で使用されている。この場合、ゲラン酸はイオン化されたアニオン(COO⁻)の状態と、プロトン化され電荷をもたないカルボキシル基(COOH)の2つの状態をとっていることがわかっている。2014年の時点でのMitragotriらの報告では、コリン-ゲラン酸は深共融溶媒(deep eutectic solvent)と呼んでいた^[12]。深共融溶媒はILと類似しているが、主にプロトンに関わるドナー分子とアクセプター分子間の相互作用(主に水素結合)によって融点が低下し液体となったものであり、両者は必ずしもイオンである必要はない。しかしながら2018年の報告ではMitragotriらは各種の検討の結果、コリン-ゲラン酸をILと呼んでおり^[16]、その経緯が「REPLY TO ROGERS AND GURAU: Definitions of ionic liquids and deep eutectic solvents」と題して、RogersとGurauからのコリン-ゲラン酸はILか否かの質問に対する回答の形で紹介されている^[17]。学術誌上でのこのようなやりとりは大変珍しく興味深い。

難溶解性薬物の可溶化

ILを利用した創薬研究は経皮デリバリーを中心に発展してきているが、最終的には生体への投与を目指していることから、非常に高い安全性が求められる。そこでコリンやオレイン酸のような生体由来の成分によって構成されているILは大きな注目を集めている。その中でも2005年に大野らの研究グループによって、カチオンをイミダゾリウム、アニオンをアミノ酸とした、アミノ酸ILが開発され大変注目された^[18]。その後、2013年には生体由来のカチオンであるコリンと組合せることで、コリン-アミノ酸という生体由来成分のみからなるILが開発された^[19]。

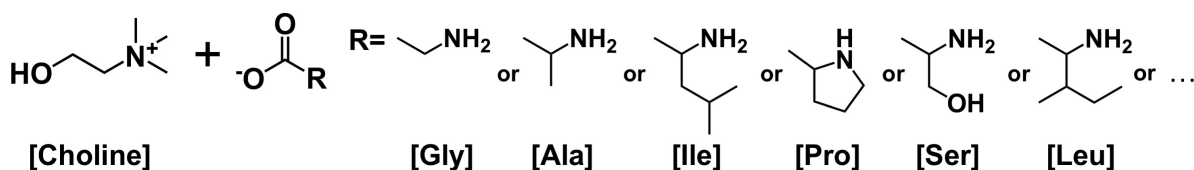


図4 コリン-アミノ酸IL²⁰⁾

2018年に我々は図4に示されるコリン-アミノ酸ILに難水溶性の抗がん剤であるパクリタキセル(PTX)が溶解することを報告した。この中では粘性が最も低いコリン-グリシンのILが最も高いPTXの溶解性を示した。またがん細胞であるHela細胞への毒性を*in vitro*で評価したところ、ILによって可溶化されたPTXは、既存のPTXの溶解方法であるcremophor EL(CrEL)という界面活性剤を利用した方法と同等の毒性を示した(図5(A))。一方で免

疫細胞である THP-1 細胞に対しては CD80 や CD54 などの刺激性分子の発現が低いということがわかり、CrEL の投与で問題になっている、アナフィラキシー性の副作用が低減されることが示唆された^[20]。このような傾向は担がんマウスを用いた *in vivo* の検討でも同様の結果が得られ^[21]、B16F10 メラノーマに対する IL を用いた場合の PTX の抗腫瘍効果は、既存の CrEL を用いた場合と同レベルであるが (図 5 (B))、免疫における補体の活性化に起因する血中の膜侵襲複合体 (SC5B-9) や、肺や血液におけるアレルギー反応の指標となるヒスタミンの濃度が CrEL と比較して、IL を用いた方が低いということが明らかとなった (図 5 (C))。

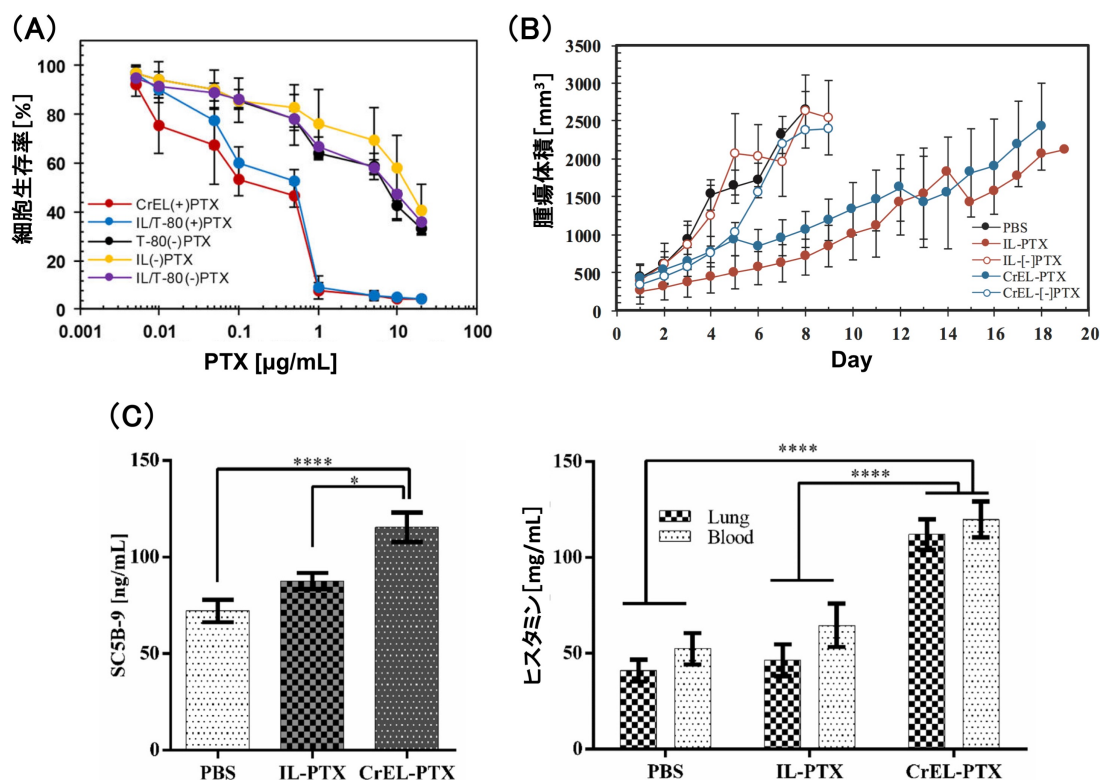


図 5 (A) HeLa 細胞への毒性^[20]、(B) 担がんマウスの腫瘍体積、(C) SC5B-9 (血中) とヒスタミン (血中と肺) の濃度^[21]

また 2019 年の我々の報告によって、コリン-脂肪酸 (オレイン酸、リノレン酸、エルカ酸) からなる IL が界面活性剤としての機能をもっていることが報告され^[22]、この結果に基づいてコリン-オレイン酸からなる IL を界面活性剤として難溶解性薬物であるクルクミンとの複合体を形成し、クルクミンを水中にナノ粒子の状態分散できることを明らかとしている^[23]。10%ジメチルスルホキシド水溶液でもクルクミンは 1~2 mg/mL の水への溶解度であるのに対して、このナノ粒子はクルクミンを最大で 6 mg/mL という高濃度で水中に分散させることが可能であり、HepG2 がん細胞への毒性も示すことなどが明らかとなっている。

薬のイオン液体化

2007年のRogersらによるリドカインとドクサートイオンからなるILの報告^[5]のように、薬効を示す薬をIL化するという試みもこの分野における重要な研究である。2015年にParkらによって、6種類の麻酔薬（ブピバカイン、ジブカイン、リドカイン、プリロカイン、プロカイン、テトラカイン）をカチオンとし、7種類の互いに薬効が競合しない薬（アセスルファミン、アンピシリン、ジクロフェナク、ナプロキセン、イブプロフェン、サッカリン、バルプロ酸）をアニオンとした全42種類の組合せについてスクリーニングを行なった結果、リドカインとイブプロフェンからなるものだけが液体となることが明らかとなった^[24]。その後、2017年のRogersらの報告によって、リドカイン-イブプロフェンは完全に電離してILとなることもあるが、多くの場合、水素結合による共融混合物となることが報告された（図6（A））。そこでリドカイン-ドクサート（IL）、リドカイン-イブプロフェン（共融混合物）、リドカイン塩酸塩（通常の塩）の皮膚浸透性を比較したところ、リドカイン-イブプロフェンが最も高いということがわかり、疎水性の高い皮膚への浸透においては、電荷がなく疎水性も高い共融混合物が適していることが示唆された^[25]。

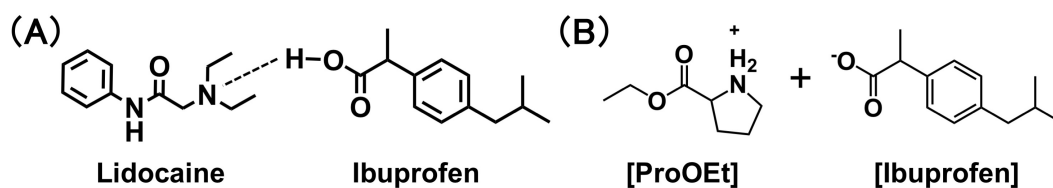


図6 (A) リドカイン-イブプロフェンの構造、(B) ProEt-イブプロフェンの構造

ILを利用した創薬研究では高い安全性が求められることから、これまで紹介したように薬のIL化の検討においても、既に薬として認可されているものを組み合わせるといった方法がとられてきた。しかしながらコリンやアミノ酸のように生体由来の安全な分子であり、特別な薬効を示さないものを組合せてIL化するという方向性も考えられる。2015年の報告では、アミノ酸であるプロリンのエチルエステル（[ProEt]）をカチオンとし、イブプロフェンをアニオンとしたILが報告された（図6（B））。このアミノ酸エステルをカチオンとした研究は、これまでの生体分子由来のILが全てコリンまたはリドカインをカチオンとしたものに限られていたため、新しい生体分子由来のカチオンと考えられるため画期的である^[26]。2018年の我々の報告ではプロリンに加えて、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、メチオニン、ロイシン、フェニルアラニンなどのアミノ酸エステルを合成した。それぞれ

表3 アミノ酸エステル-サリチル酸の構造とLog P_{o/w}^[27]

ILの構造	Log P _{o/w}
	-0.19
	-0.40
	-0.60

[Sal]: Salicylate

の細胞毒性を測定したところアラニン、アスバラギン酸、プロリンの細胞毒性が低いということが明らかとなり、これらをカチオンとし、アニオンは消炎鎮痛薬であるサリチル酸とした IL の合成に成功した。これらの IL についてサリチル酸のオクタノール/水分配係数 (Log P_{OW}) を測定したところ、表 3 のようになり 2 つのエチル基をもつ [AspEt][Sal] が最も高い疎水性を示すことがわかった。この結果は皮膚浸透性とも相関性あり、図 7 のように Log P_{OW} が大きくなるに従って皮膚浸透性も高くなる

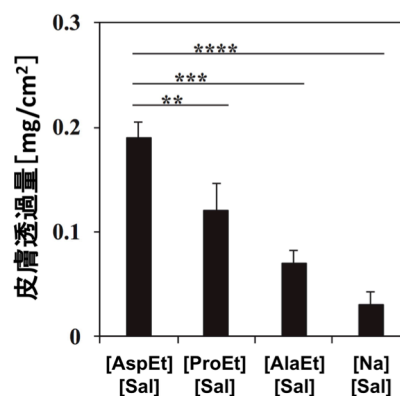


図 7 サリチル酸の皮膚透過性^[27]
 (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$)

ということがわかった^[27]。このように薬の IL 化は固体である薬を液体化するだけでなく、対イオンによって物性をコントロール出来るということも大きな特徴である。2019 年の報告では抗リウマチ薬や抗がん剤としても利用されるメトトレキサートをアニオンとして、同様にアミノ酸エステルをカチオンとした IL を合成した。Hela 細胞への毒性を調べたところ、同じく生体由来分子のカチオンであるコリンと比較して、高い細胞毒性を示すということが明らかとなった^[28]。

おわりに

イオン液体の研究は 1990 年代に始まった比較的新しい研究分野であるが、非常に広範囲の分野において利用されている。最近では国内の学会においても化学以外の研究者による IL のドラッグデリバリーシステムへの利用・評価などが数多く発表され始めており、今後も IL を利用した創薬研究の研究範囲は拡大していくと考えられる。現在のこの分野における最大の課題は IL の生体適合性であり、生体由来の分子から構成される IL は一つの解決策であった。しかしながら本当の意味での安全性は前臨床あるいはその先の臨床試験において明らかとなるものであり、今後の医学・薬学の研究者を含めた生物学的な評価も加わって、この分野がさらに発展することを期待している。

謝辞

本稿における我々の研究は、JSPS 科研費 JP16H06369 (基盤研究 (S)) 及び 19H05518 (開拓研究) の助成をうけて実施した。また九州大学大学院工学研究院応用化学部門 後藤研究室 若林里衣助教にはイオン液体の合成をはじめ、本研究の遂行に関して多くの貢献をいただいた。厚く御礼を申し上げます。

参考文献

- [1] Wilkes J. S. and Zaworotko M. J., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, **0**, 965-967.
- [2] Wasserscheid P. and Keim W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2000, **39**, 3772-3789.
- [3] Plechkova, N. V. and Seddon, K. R., *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 123–150.
- [4] Adawiyah, N., Moniruzzaman, M., Hawatulailaa, S. and Goto, M., *Med. Chem. Commun.*, 2016, **7**, 1881–1897.
- [5] Hough, W. L., Smiglak, M., Rodríguez, H., Swatloski, R. P., Spear, S. K., Daly, D. T., Pernak, J., Grisel, J. E., Carliss, R. D., Soutullo, M. D., Davis, J. H. and Rogers., R. D., *New J. Chem.*, 2007, **31**, 1429-1436.
- [6] Mizuuchi H, Jaitely V., Murdan S. and Florence A. T., *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2008, **33**, 326-331.
- [7] Moniruzzaman, M., Tahara, Y., Tamura, M., Kamiya, N. and Goto, M., *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 1452-1454.
- [8] Moniruzzaman, M., Tamura, M., Tahara, Y., Kamiya, N. and Goto, M., *Int. J. Pharm.*, 2010, **400**, 243–250.
- [9] Yoshiura, H., Tamura, M. Aso, M., Kamiya, N. and Goto, M., *J. Chem. Eng. Jpn.*, 2013, **46**, 794–796.
- [10] Dobler, D., Schmidts, T., Klingenhöfer, I. and Runkel, F., *Int. J. Pharm.*, 2013, **441**, 620-627.
- [11] Araki, S., Wakabayashi, R., Moniruzzaman, M., Kamiya, N. and Goto, M., *MedChemComm*, 2015, **6**, 2124-2128.
- [12] Zakrewsky, M., Lovejoy, K. S., Kern, T. L., Miller, T. E., Le, V., Nagy, A., Goumas, A. M., Iyer, R. S., Del Sesto, R. E., Koppisch, A. T., Fox, D. T. and Mitragotri, S., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**, 13313-13318.
- [13] Zakrewsky, M., Banerjee, A., Apte, S., Kern, T. L., Jones, M. R., Sesto, R. E., Koppisch, A. T., Fox, D. T., Mitragotri, S., *Adv. Healthc. Mater.*, 2016, **5**, 1282-1289.
- [14] Banerjee, A., Ibsen, K., Iwao, Y., Zakrewsky, M., Mitragotri, S., *Adv. Healthc. Mater.*, 2017, **6**, 1601411.
- [15] Tanner, E. E. L., Ibsen, K. N., and Mitragotri, S., *J. Control. Release*, 2018, **28**, 137-144.
- [16] Banerjee, A., Ibsen, K., Brown, T., Chen, R., Agatemor, C. and Mitragotri, S., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**, 7296-7301.
- [17] Banerjee, A., Ibsen, K., Brown, T., Chen, R., Agatemor, C. and Mitragotri, S., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**, E11000-E11001.
- [18] Fukumoto, K., Yoshizawa, M., Ohno, H., *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, **127**, 2398-2399.
- [19] Hou, X. D., Liu, Q. P., Smith, T. J., Li, N. and Zong, M. H., *PLoS One*, 2013, **8**,

e59145.

- [20] Chowdhury, M. R., Moshikur, R. M., Wakabayashi, R., Tahara, Y., Kamiya, N., Moniruzzaman, M. and Goto, M., *Mol. Pharm.*, 2018, **15**, 2484–2488.
- [21] Chowdhury, M. R., Moshikur, R. M., Wakabayashi, R., Tahara, Y., Kamiya, N., Moniruzzaman, M. and Goto, M., *Int. J. Pharm.*, 2019, **565**, 219–226.
- [22] Ali, M. K., Moshikur, R. M., Wakabayashi, R., Tahara, Y., Moniruzzaman, M., Kamiya, N. and Goto, M., *J. Coll. Interf. Sci.*, 2019, **551**, 72–80.
- [23] Chowdhury, M. R., Moshikur, R. M., Wakabayashi, R., Tahara, Y., Kamiya, N., Moniruzzaman, M. and Goto, *Chem. Commun.*, 2019, **55**, 7737–7740.
- [24] Park, H. J. and Prausnitz, M. R., *AIChE J.*, 2015, **61**, 2732–2738.
- [25] Berton, P., Di Bona, K. R., Yancey, D., Rizvi, S. A. A., Gray, M., Gurau, G., Shamshina, J. L., Rasco, J. F., Rogers, R. D., *ACS Med. Chem. Lett.*, 2017, **8**, 498–503.
- [26] Furukawa, S., Hattori, G., Sakai, S. and Kamiya, N., *RSC Adv.*, 2016, **6**, 87753–87755.
- [27] Moshikur, R. M., Chowdhury, M. R., Wakabayashi, R., Tahara, Y., Moniruzzaman, M. and Goto, *Int. J. Pharm.*, 2018, **546**, 31–38.
- [28] Moshikur, R. M., Chowdhury, M. R., Wakabayashi, R., Tahara, Y., Moniruzzaman, M. and Goto, *J. Mol. Liq.*, 2019, **278**, 226–233.

田原 義朗 (たはら よしろう)

同志社大学 理工学部 生物化学工学研究室 准教授

2012年3月 九州大学大学院 工学研究院
博士課程修了 博士(工学)

2012年4月 京都大学大学院 工学研究科 特定研究員

2017年3月 九州大学大学院 工学研究院 特任助教

2019年4月 現職



後藤 雅宏 (ごとう まさひろ)

九州大学大学院 工学研究院 応用化学部門 主幹教授

1989年3月 九州大学大学院 工学研究科
博士課程修了 工学博士

1990年6月 九州大学大学院 工学研究院 助教授

2001年11月 九州大学大学院 工学研究院 教授

2012年4月 現職



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

信州大学 繊維学部・
バイオメディカル研究所
准教授 新井 亮一

はじめに

時の流れは速いもので、既に私も若手研究者とはお世辞にも言えないような歳になってしまいました。しかし、気持ちと立場は未だに若手並みということもあり、せっかくお声掛け頂きましたので、ここ数年の筆者らの研究のご紹介から、最近、米国シアトルへの長期出張中に思うことまでいろいろと書き連ねてみたいと思います。

人工タンパク質ナノブロックによる多様な複合体構造の設計構築

生命活動は、タンパク質や核酸、糖、脂質などのさまざまな自己組織化能力を持つ生体分子によって営まれている。タンパク質は生体分子の中で最も高度な機能を有するものであるが、それらがナノスケールの超分子複合体を形成することで、単量体よりさらに複雑で多彩な機能を発揮することができるようになる。このようなタンパク質複合体を人工的にデザインし、望みの構造や機能を創出することができるようになれば、バイオテクノロジーや合成生物学分野の研究の発展および医薬品やナノテクノロジーの開発等に大きく貢献できると考えられる。しかし、人工タンパク質複合体のデザインは、複合体構造形成に多くの相互作用が関与するために非常に複雑で、現在においても困難な課題である。人工的にタンパク質複合体を設計開発する研究は 2000 年ごろから行われてきたが、近年飛躍的に研究が進展してきており、世界的にも非常にホットな研究領域である^[1,2]。そこで、対称性を利用した自己組織化人工タンパク質であるタンパク質ナノブロックの設計開発及び多様な複合体構造構築などについて、筆者らの研究を中心に紹介させていただきたい。

多面体型複合体構造の辺と頂点をつくるタンパク質ナノブロック

近年、筆者らの研究グループでは、バイナリーパターン法 (Princeton University の Michael Hecht 研究室で開発された親水性と疎水性の 2 種類のアミノ酸残基の繰り返し配列パターンのデザインにより人工タンパク質を設計する方法^[3]) により創出された新規人工タンパク質 (*de novo protein*) WA20 が、分子間フォールディング (ドメインスワップ) 4 本ヘリックス 2 量体構造 (PDB: 3VJF) を形成することを解明し (図 1 A)^[4]、この特徴的構造を活かしたタンパク質ナノブロック (Protein Nanobuilding Block : PN-Block) を設計開発してきた。研究のコンセプトとして、おもちゃのブロック遊びのように、単純かつ少種類の基本ブロックを開発し、それらを組み合わせることで、多様なナノ構造複合体を創出することを基本戦略としている。

まず、人工タンパク質 WA20 を利用したタンパク質ナノブロック (PN-Block) として、WA20 を辺のパーツ、T4 ファージ fibritin の 3 量体形成ドメイン foldon を頂点のパーツとして用いて、両者を遺伝子工学的につなげた融合タンパク質 WA20-foldon を設計開発した (図 1B) [5]。タンパク質ナノブロック WA20-foldon を大腸菌で発現、精製し、Native PAGE 等により分析したところ、自己組織化により主に 4 種類の複合体構造を形成していた。これらを生分離精製し、サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱 (SEC-MALS)、超遠心分析 (AUC)、小角 X 線散乱 (SAXS) 等により分子量を測定して会合数を求めたところ、各複合体は、それぞれ 6 量体、12 量体、18 量体、24 量体であり、WA20-foldon がデザインどおりに、2 量体の辺 (WA20) と 3 量体の頂点 (foldon) が互いに過不足なく幾何学的に組み合わせることで、2 と 3 の公倍数である 6 の倍数量体の複合体を安定的に形成することが示された (図 1B)。また、SAXS によるモデリング解析により、6 量体と 12 量体のナノ構造複合体の概形構造は、それぞれ樽型 (ラグビーボール型) 構造、正四面体型 (テトラポッド型) 構造であることが示唆された。

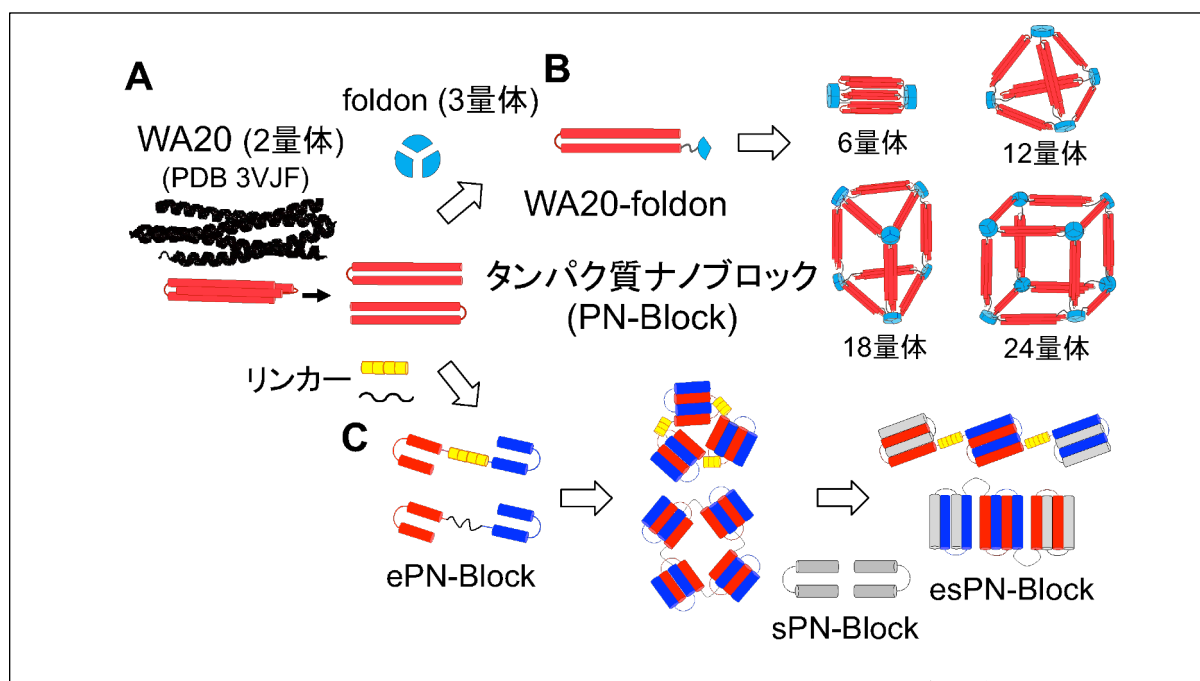


図 1 人工タンパク質 WA20 を用いたタンパク質ナノブロック複合体の設計構築。
 (A) 新規人工タンパク質 WA20 の立体構造。分子間フォールディング 4 本ヘリックス 2 量体構造(PDB: 3VJF)[4]。(B) タンパク質ナノブロック WA20-foldon (2 量体形成人工タンパク質 WA20 とバクテリオファージ T4 fibritin の 3 量体形成 foldon ドメインとの融合タンパク質) の設計開発および多面体型ナノ構造複合体の自己組織化による形成。(C) タンパク質ナノブロック ePN-Block (タンデム WA20) の環鎖状多量体形成、及び sPN-Block (WA20) も組み合わせた変性・再構成による直鎖状異種複合体 esPN-Block の形成。(米国化学会より許諾を得て、文献[5, 6]より図を改変して転載。©2015, 2018 American Chemical Society)

鎖状複合体構造をつくるタンデム型タンパク質ナノブロック

最近、新たなタンパク質ナノブロックとして、2個の新規人工タンパク質 WA20 をペプチドリンカーで直列につないだタンデム WA20 (extender PN-Block: ePN-Block) を開発し、鎖状伸長多量体構造を構築した (図 1 C) [6]。ePN-Block を大腸菌により発現、精製し、SAXS や SEC-MALS、電子顕微鏡観察等、さまざまな実験解析を行ったところ、ePN-Block が自己組織的に高次構造を作り、環鎖状とみられる多量体 (2~5 量体等) を形成していた。次に、WA20 単体 (stopper PN-Block: sPN-Block) と混合して、変性・リフォールディングすることにより、2種類のタンパク質ナノブロック ePN-Block と sPN-Block を組み合わせる再構成を行った。その結果、異種複合体 (esPN-Block) の構築に成功し、環鎖状から直鎖状フォームへと複合体構造が大きく変化することが示唆された (図 1 C)。さらに、この直鎖状複合体 (esPN-Block) に金属イオン (Ni^{2+}) を添加したところ、自己組織的に集合した超分子複合体のナノスケール構造を原子間力顕微鏡で観察することにも成功した [6]。

超安定化人工タンパク質 Super WA20 (SUWA) の設計開発

タンパク質は、一般に、熱や酸・アルカリなどに弱く変性しやすい性質を持つが、将来ナノマテリアルなどとして幅広く応用展開していくためには、タンパク質ナノブロック (PN-Block) を構成する人工タンパク質の安定化が必要であると考えられる。そこで、さらなる構造安定化を目指して、PN-Block を構成する新規人工タンパク質 WA20 の立体構造を基にして、 α ヘリックスや疎水性コアの増強を合理的にデザインした改変人工タンパク質 Super WA20 (SUWA) を開発した (図 2)。CD 測定による熱変性実験より、WA20 の変性温度 T_m は 75°C であったのに対し、改変体 SUWA の T_m は水の沸点をも遥かに超える 122°C にまで向上したことが確かめられ、大幅な安定化を達成した (論文投稿準備中)。いわば、ゆで卵の例のようにタンパク質は茹でれば変性するという一般的な常識を覆すような、超安定化人工タンパク質の開発に成功した。近年、非常に高い安定性の人工設計タンパク質の報告が相次いでおり [7, 8]、理想的に構造設計された人工タンパク質の特徴として高い安定性を有するということが示唆される [9]。私見になるが、タンパク質 (ポリペプチド) という物

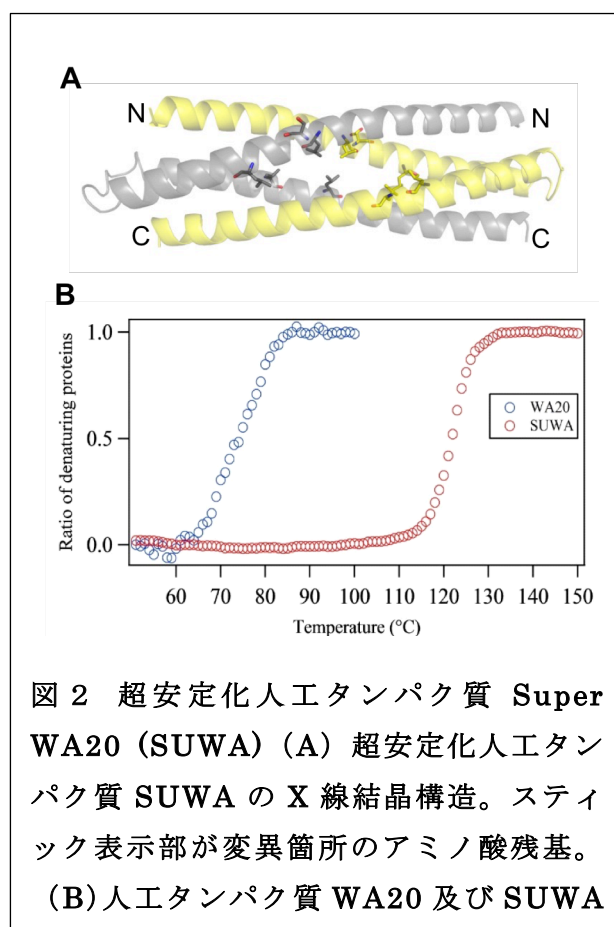


図 2 超安定化人工タンパク質 Super WA20 (SUWA) (A) 超安定化人工タンパク質 SUWA の X 線結晶構造。スティック表示部が変異箇所のアミノ酸残基。(B)人工タンパク質 WA20 及び SUWA

質自体は、人工的に理想的な構造を設計できれば十分に高い安定性を獲得しうる潜在的能力を持つが、天然のタンパク質は、逆に、構造安定性ではなく、高い機能性を求めて進化してきたが故に、一般に安定性が低く、変性しやすいということなのではないかと思う。また、あらゆるタンパク質配列全体、即ち 20 種類のアミノ酸の配列組合せの数（例えば比較的小さな 100 残基のタンパク質でも $20^{100} \sim 1.3 \times 10^{130}$ ）からみれば、天然タンパク質はごくごく一部の配列群に過ぎないということもあり、今後も、天然タンパク質の常識の枠にとらわれずに、新規に人工タンパク質を設計創出する努力を続けることにより、未知のタンパク質の秘める新たな潜在能力を開花できる可能性を示唆していると考えられるのではないだろうか。

さらに、タンパク質ナノブロック (PN-Block) として、この超安定化人工タンパク質 SUWA を導入した SUWA-foldon を作製したところ、自己組織化による超分子複合体の構築にも成功し、熱変性実験により高い安定性も示された。今後、PN-Block によるナノマテリアル開発や応用展開の可能性が広がることが期待される。

サッカーボール型タンパク質複合体ナノ粒子 TIP60 の設計開発

また最近、慶應大学の川上史専任講師らを中心とする共同研究によって、海洋メタゲノム由来の LSm 類似 5 量体タンパク質 (PDB: 3BY7) と、ヒト由来 myosin X の逆平行コイルドコイル 2 量体化ドメイン MyoX-coil (PDB: 2LW9) とを連結した人工融合タンパク質から自己組織化される切頂二十面体型 (サッカーボール型) のタンパク質複合体ナノ粒子 TIP60 (truncated icosahedral protein composed of 60-mer fusion proteins) が設計開発された^[10]。

SAXS や SEC-MALS、電子顕微鏡観察等、様々な実験解析を行い、TIP60 は設計通りに 60 量体で、均一性の高い中空球状タンパク質複合体ナノ粒子を形成していることを明らかにした (図 3)。さらに最近、クライオ電子顕微鏡による原子分解能での単

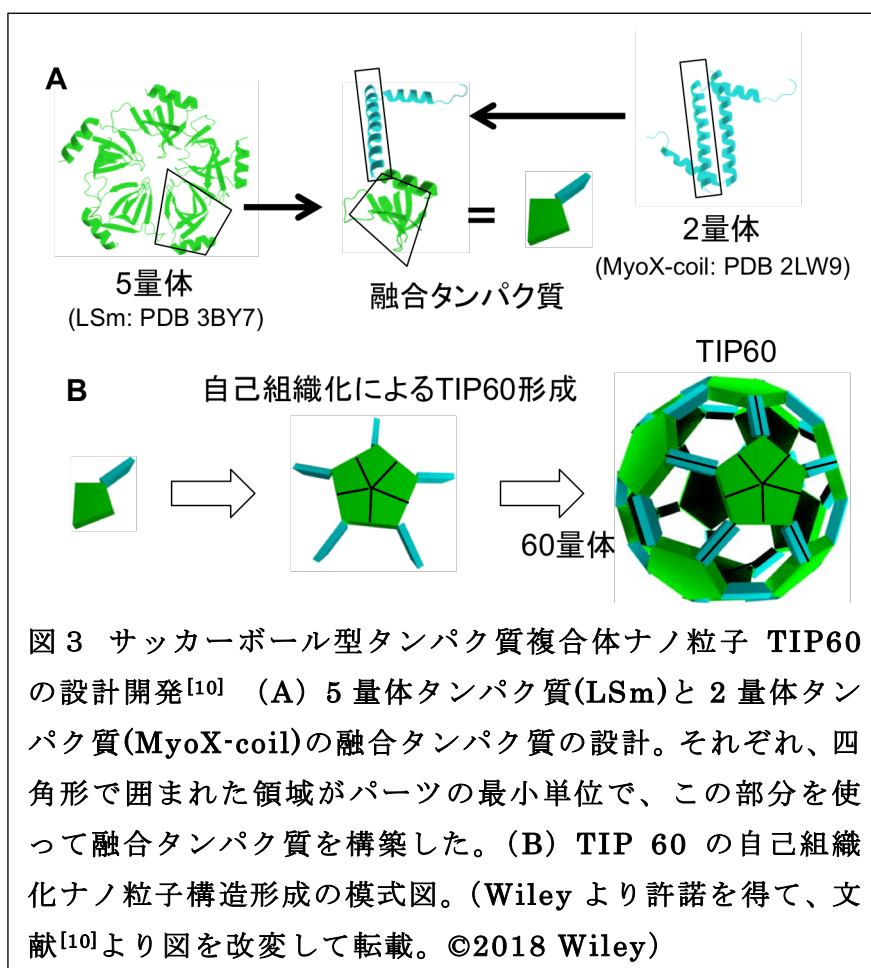


図 3 サッカーボール型タンパク質複合体ナノ粒子 TIP60 の設計開発^[10] (A) 5 量体タンパク質 (LSm) と 2 量体タンパク質 (MyoX-coil) の融合タンパク質の設計。それぞれ、四角形で囲まれた領域がパーツの最小単位で、この部分を使って融合タンパク質を構築した。(B) TIP 60 の自己組織化ナノ粒子構造形成の模式図。(Wiley より許諾を得て、文献^[10]より図を改変して転載。©2018 Wiley)

粒子構造解析にも成功し、実際にデザイン通りのサッカーボール型（切頂二十面体型）の超分子複合体構造であることを解明した（論文準備中）。また、Cys 残基を導入した変異体を利用して、ナノ粒子の内部または外部表面を蛍光色素などの低分子化合物で特異的に修飾することも可能であり、将来的に、新たなナノ分子材料やドラッグデリバリーシステムなど様々な応用開発が期待される。

おわりに

以上、筆者らの研究を中心に紹介してきたが、世界に目を向けると、人工タンパク質の設計開発研究は、近年、計算機を用いたデザインの発展が非常に顕著である^[2, 11]。この分野の世界の最先端を行くのが、University of Washington (UW), Institute for Protein Design (IPD)の David Baker 研究室であろう。ここ 5 年間だけでも Nature や Science に 20 報以上の先端的な論文を驚異的なペースで発表し続けている。そこで、今後の研究展開において、計算機を用いたタンパク質デザイン研究の必要性が増してきていることもあり（またなぜ Baker 研究室ではこのように超トップレベルの論文を量産できるのかを知りたいとも思い）、科研費の国際共同研究加速基金を利用して、実は、2019 年 4 月～9 月まで半年間 Baker 研究室に Visiting Scholar として滞在して研究しているところである。これまで論文を読むだけでは分からなかったことばかりで、日々得られる情報等に大変刺激を受けており、このように半年間海外で研究に集中できる貴重な機会が得られて本当に有難く思う。せっかくなので、Baker 研究室(<https://www.bakerlab.org/>)の様子も少し紹介させて頂きたい。まず、Baker 研は、現在、UW の大学院生 33 人、多様なバックグラウンドを持つポスドク・研究員が約 50 人、様々な専門分野の支援スタッフが 20 人以上、さらに私のような Visitor や Intern が入れ代わり立ち代わり 10 人程度、さらに時期によって学部生やローテーションの学生等も数多く出入りし、優に 100 人を超える規模の非常に大所帯である。IPD 等のために数年前に建設された研究棟の 4 階の広大なスペースをほぼ占有しているが、それでも実験スペースはベンチを二人で共用する等やや手狭になってきている。また、計算環境も抜群で、専用のクラスターコンピューター(約 6000 CPU core)を所有し、Mac か Linux の端末も基本的に 1 人 1 台ずつ割り当てられ、これらを利用してタンパク質デザインや機械学習等のドライ（計算）研究を行うことができる。ただ、近年は応用志向の研究も増えてきて、ドライ研究よりもウェット研究に力を入れているようで、8 割～9 割くらいの研究者は、ウェット中心かドライとウェットの両方を行っている（ちなみに最近私も数年ぶりに自らウェット実験にも取り組んでいるところである。）また、もちろん、ウェットの研究環境も抜群で、様々な実験機器や測定機器等は十分に取り揃えられている。では、この大所帯の研究室をどのような体制で運営しているのだろうか？ いわゆる先生は PI の David Baker 教授だけで、日本のように准教授や助教に相当する先生はいないが、様々な専門的支援スタッフが IPD に 20 人以上そろっており、チームとして適切に役割分担して運営する体制が整っている。事務系スタッフはもちろん、戦略的運営統括チーフ(PhD & MBA)、ラボマネージャー、各種実験支援スタッフ、計算機管理ス

スタッフ、広報スタッフ（科学コミュニケーター）など、様々な専門性を持つ多くの優れた人材がチームとして協力分担して運営する体制になっているのが特色であろう。これにより、**Baker** 教授自身は、基本的に研究に集中できる環境となり、多くの時間を学生や研究者とのディスカッションに費やすという理想的な研究体制を構築している。（残念ながら、日本の教授陣は様々な雑用があつて、なかなか研究に集中できないことが多いのではないだろうか…。やはり、良い研究成果を生み出すためには、目先の研究費も大事だが、何よりも研究時間をより多く確保することが大切であり、日本でももっと恒常的な人件費を投入して大学の教職員や支援スタッフを増員充実させることが本来必要ではないだろうか。）さらに、**Baker** 教授の特筆すべき点は、これだけの大所帯の各研究の基本的な方針の決定や指導・指示等をほとんど全て自分自身で行っていることである。物理・化学・生物・計算など全分野のドライからウェット研究まであらゆることに精通し、100 人近くのほとんど全員のプロジェクトを常に把握して、研究室を常に駆け廻りながら、適宜必要な指導・指示やディスカッションを行い、研究室内のチーム編成や外部の有力研究室とのコラボレーションも効率的にアレンジして統括することができるのは、まさに天賦の才であろう。また、非常に有名な先生にも関わらず、比較的出張が少ないことも、出張や講演より日常の研究室内での議論や指導を大切にしているからと思われる。研究テーマとしては、ほとんどが **Nature** や **Science** を狙えるレベルで、世界よりも5年以上先を行っているような取り組みが多く、また実際に博士学位論文でも **Nature** や **Science** に出版した論文が基になるものが多いのも驚異的である。きっと **Baker** 教授は10年以上先の未来の世界を想い描いて研究を展開しているのであろう。最近の **Audacious Project** 採択の際の **TED Talks** で **Protein Design Revolution** について熱く語る **Baker** 教授の貴重な講演動画はその一端を垣間見ることができる、とても夢のある話なので、ぜひ一度ご覧頂きたい(<https://www.ipd.uw.edu/audacious/>)。さらに、ここ数年で、人工タンパク質デザイン技術を応用して、ワクチンデザインやがん治療、ドラッグデリバリーなどのベンチャー企業を5つも次々とスピナウトしていることも特に注目すべき点である⁹⁾。

最後になりましたが、これまで一緒に研究してきた信州大の学生の皆さん、特に、**OB** の小林直也博士、木村尚弥修士、笹原健嗣修士、また、**Princeton University** の **Michael H. Hecht** 教授、信州大学の佐藤高彰准教授、分子科学研究所の古賀信康准教授、法政大学の雲財悟准教授、金沢大学の福間剛士教授、生理学研究所の村田和義准教授、慶應義塾大学の川上了史専任講師、宮本憲二教授らをはじめ、様々な先生方や学生の皆さんなど、多くの方々との共同研究や御協力のもとに行われたものであり、心より御礼申し上げます。放射光 X 線実験は共同利用実験として **KEK Photon Factory** で行われました。本研究は **JSPS** 科研費 (**JP16H00761**, **JP16K05841**, **JP16H06837**, **JP14J10185**, **JP17KK0104**) や分子研協力研究等の助成や御支援を受けたものです。また、**Visiting Scholar** として貴重な半年間の滞在を受け入れて頂いた **University of Washington** の **David Baker** 教授にも心より感謝致します。さらに最後にちょっと長くなってしまい申し訳ありませんでしたが、このような執筆の機会を頂きました九州大学の神谷典穂教授をはじめ、部会の先生方に心より御礼申し上げます。

参考文献

- [1] Kobayashi, N. and Arai, R., *Curr. Opin. Biotech.*, 2017, **46**, 57-65.
- [2] Arai, R., *Biophys. Rev.*, 2018, **10**, 391-410.
- [3] Hecht, M. H., Das, A., Go, A., Bradley, L. H. and Wei, Y., *Protein Sci.*, 2004, **13**, 1711-1723.
- [4] Arai, R., Kobayashi, N., Kimura, A., Sato, T., Matsuo, K., Wang, A. F., Platt, J. M., Bradley, L. H. and Hecht, M. H., *J. Phys. Chem. B*, 2012, **116**, 6789-6797.
- [5] Kobayashi, N., Yanase, K., Sato, T., Unzai, S., Hecht, M. H. and Arai, R., *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, **137**, 11285-11293.
- [6] Kobayashi, N., Inano, K., Sasahara, K., Sato, T., Miyazawa, K., Fukuma, T., Hecht, M. H., Song, C., Murata, K. and Arai, R., *ACS Synth. Biol.*, 2018, **7**, 1381-1394.
- [7] Huang, P. S., Oberdorfer, G., Xu, C., Pei, X. Y., Nannenga, B. L., Rogers, J. M., DiMaio, F., Gonen, T., Luisi, B. and Baker, D., *Science*, 2014, **346**, 481-485.
- [8] Hsia, Y., Bale, J. B., Gonen, S., Shi, D., Sheffler, W., Fong, K. K., Nattermann, U., Xu, C., Huang, P. S., Ravichandran, R., Yi, S., Davis, T. N., Gonen, T., King, N. P. and Baker, D., *Nature*, 2016, **535**, 136-139.
- [9] Baker, D., *Protein Sci.*, 2019, **28**, 678-683.
- [10] Kawakami, N., Kondo, H., Matsuzawa, Y., Hayasaka, K., Nasu, E., Sasahara, K., Arai, R. and Miyamoto, K., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, **57**, 12400-12404.
- [11] Huang, P. S., Boyken, S. E. and Baker, D., *Nature*, 2016, **537**, 320-327.
- [12] https://www.ipd.uw.edu/wp-content/uploads/2019/04/IPD_AudaciousProject_MediaBrief-3.pdf

新井 亮一（あらい りょういち）

信州大学 繊維学部・バイオメディカル研究所 准教授

2001年3月 東京大学大学院 工学系研究科
博士課程修了 博士(工学)

2001年4月 理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター
リサーチアソシエイト・研究員

2006年2月 日本学術振興会 海外特別研究員(Princeton University)

2007年12月 信州大学 ファイバーナノテク国際若手研究者育成拠点 助教

2012年4月 信州大学 繊維学部 助教

2016年6月 現職

2016年10月 信州大学 菌類・微生物ダイナミズム創発研究センター 部門長（兼任）

2019年4月 信州大学 バイオメディカル研究所（専任）

2019年4月～9月 University of Washington, Institute for Protein Design, Visiting Scholar



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

東北大学 大学院工学研究科
梅津研究室
助教 中澤 光

はじめに

筆者は「ものづくり」が大好きだ。たまの休みには家具などを作る。旧仙台電波高専（現仙台高専）在学中はロボット工学を学び、電気自動車や自立制御ロボットを作った。長岡技術科学大学に進学し、「酵素」と呼ばれる微小な生物機械に出会いこれだと思った。博士課程から酵素の進化分子工学による改良をはじめた。機械とは異なり、思った通りにコントロールできない難しさに愕然としたが、今までどこにもなかった性質をもつ酵素が自分の手の中で発生し機能し始めることに感動した。研究は5年の歳月をかけて何とか成功し、博士号を取得した。その後、同大学でポスドクとして雇って頂き、酵素高生産菌の育種を行った。東北大学に異動後、現在も新規タンパク質を作り続けている。振り返れば、わたしの研究の記憶のほとんどは作品の記憶であった。本稿では筆者が興味を抱き、長らく格闘してきた酵素セルラーゼとその改良について紹介する。

セルラーゼ

セルラーゼは自然界に最も豊富に存在する炭素源であるセルロースの β -1,4 グリコシド結合を加水分解する酵素の総称である。セルラーゼは自然界の炭素循環において多糖であるセルロースを単糖であるモノマーへと分解するセルロース糖化の工程を担っており、この工程を効率化することで、食糧問題、化石資源枯渇問題などの解決に近づくことから注目されている。構造上の特徴としては、触媒ドメイン（Catalytic domain: CD）のみのもの、セルロースの表面に結合し実質の CD 濃度を向上させることにより分解を促進するセルロース結合ドメイン（Cellulose binding domain: CBD）を持つもの、多数の触媒ドメインを並べて互いに役割分担させることにより、最も高い比活性を達成するセルロソーム構造^[1]を持つものの3種に分類される（図1）。CD と CBD はアミノ酸配列に基づいてそれぞれ糖質加水分解酵素ファミリーおよび糖質結合モジュールファミリーに分類されており、性質、触媒機構および立体構造が異なる。基質特異性による分類もされており、セルロースの結晶領域、非結晶領域に関わらず末端から主に2糖単位で遊離するエキソ型のセロビオヒドロラーゼ

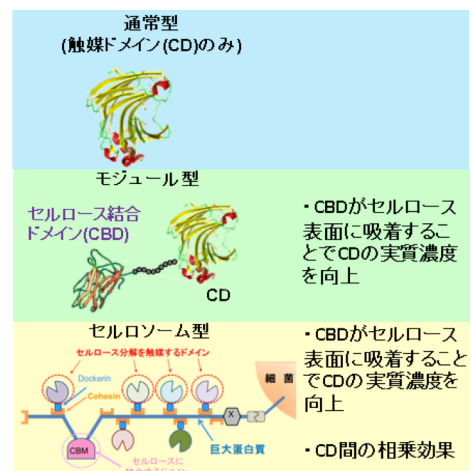


図1 セルラーゼの構造

(CBH) と非結晶領域の内部の β -1,4 グリコシド結合をランダム位置で切断するエンド型のエンドグルカナーゼ (EG) の 2 種がある。CBH はさらに非還元末端から作用するものと還元末端から作用するものがある。真の意味での CBH は見つかっておらずどの CBH もわずかながら EG 活性を示す。CBD の方も様々な基質特異性を持つものがあることがわかってきており、結晶および非結晶に特異的に吸着するものが見つかっている。セルラーゼはこのように異なる性質を持つドメインが協力するあるいは組み合わせることでセルロースという 1 つの基質を役割分担して分解しており、難分解性である結晶セルロースの分解において、それぞれが独立で作用するよりもはるかに大きい活性 (相乗効果) を作り出していると想定されている¹²。このような興味深い性質を持つセルラーゼであるが、生産生物は真核生物から原核生物まで、様々である。中でも糸状菌は分泌能力が優れていることで知られており、最も生産すると報告されているのは *Trichoderma reesei* (トリコデルマ・リーセイ) である。長年かけて世界中の様々な研究機関で高生産変異株が育種されている。多数の文献での記述から 50-60g/L 培養液のタンパク質生産量といわれており、このうちほとんどがセルラーゼおよびヘミセルラーゼ関連タンパク質という。しかし、セルラーゼ高生産変異株におけるタンパク質生産量は成育量と炭素源利用量を照らし合わせると限界に近いと考えられており、大幅な活性向上は見込めないと考えられている。そのため最適比率を調節する研究や、酵素自体の機能向上、すなわち酵素の「質」を向上する研究に変化してきている。

セルラーゼの機能改変

タンパク質の機能を向上させる場合、最もよく使われるのは遺伝子にランダム変異を誘発し、発現タンパク質に機能スクリーニングをかける進化分子工学的改変である。機能スクリーニングの方法を変えることにより未知の性質を付加できる。セルラーゼに関しても進化分子工学的改変による機能向上が行われている。しかしながら、現時点で発現量、pH 安定性、温度安定性および基質特異性改変についておこなわれているが¹³、比活性の向上に成功した報告は少なく、数倍の活性向上に留まる。特に CBH に関しては活性を 2 倍に向上させるものはほとんどない。また、EG や CBH は、基質特異性が担保されている状態で改変できているかも深刻な問題である。実は CBH と EG は構造が似ている。CBH が、EG の基質認識部分をループで覆って基質特異性を制限することでその特異性を獲得しているためである。そのため堅固な結晶セルロースを分解できるのは CBH のみであるが、CBH の進化分子工学的改変を、非晶性を含むセルロースを基質として行うとたちまち EG 活性が向上した酵素になってしまう。また、ほとんどの結晶セルロースは非結晶部分を含むため基質の調製も難しい。海藻などの有する結晶性の高いセルロースから結晶セルロース部分のみを精製し、スクリーニングに使うことが望まれる。これらのことからセルラーゼは非常に精緻な構造を持っており改良の難易度が高い酵素と考えられる。企業や、一部の研究機関では安定性を向上し酵素の寿命や反応温度の向上による分解活性向上を主に行っている。正味のセルラーゼ比活性向上のためには上記のことに注意し、一工夫した機能スクリーニングシステムが望まれる。

ドメイン組み合わせによる触媒機能向上

天然のセルラーゼの中には、一部のルーメンバクテリアが生産する巨大セルラーゼ複合体（セルロソーム）構造を有するものがある^[4]。これらは単独ではそれほど比活性が高くない複数の CD が、CBD と共にスキヤフォールドと呼ばれる土台タンパク質上に集積することで結晶セルロース分解における比活性の飛躍的向上を達成している（*T. reesei*セルラーゼの 20-40 倍）。すなわち、4 次構造のコントロールにより、活性を向上させる戦略である。利点としては、機能を有する最小単位であるドメインの単位で積み木細工的に集積させるため、単独の触媒機能が低下しないことがあげられる。しかしながら、産業的に利用するとなると欠点もある。セルロソームは天然の微生物においてごく微量しか生産されない。以上の背景をまとめると、セルロソームは比活性が高いが発現量が低いという特徴をもつ。前項の、真菌の独立セルラーゼの生産性は非常に高いが、比活性はセルロソームに及ばないという性質と比較すると、利点と欠点が反転している。そうであれば、単純な考えであるが、大量に生産した真菌セルラーゼを、人為的にセルロソーム化し高活性化することで高発現かつ高機能という夢のようなセルラーゼができるのではないかと考える。

そのような可能性のある方法として、土台を自己集合タンパク質あるいは別のナノ分子に置換えた人工セルロソームが報告されている。光澤らは *Sulfolobus shibatae* 由来のシャペロンでホモ 12 量体構造を持つロゼッタソームを土台タンパク質として用いて、セルラーゼをコヘシンとドッケリン相互作用により、自己集合させ、12 量体の人工セルロソームを作製し、糖化活性を 2.5 倍以上向上させている^[4]。別の報告では、森らにより DNA を土台としてアダプター分子を介して酵素的にセルラーゼをクラスター化した人工セルロソームも構築されている。この例では、結晶セルロース分解における糖化活性を 5.7 倍向上している^[5]。そして、我々の研究では、安価な無機ナノ粒子上へセルラーゼモジュールのクラスター化を行っている。大量にセルラーゼを生産するセルラーゼ生産真菌である *Aspergillus niger* 由来の EG である EglA を、モデルとして、大腸菌で組換え酵素として C 末端にビオチン化タグを融合して発現させ、アビジン修飾されたナノ粒子上にビオチン-アビジン相互作用を利用して EglA を提示し、人工セルロソームの構築を行った^[6]。その結果、単独 EglA に比較して 9.6 倍の糖化活性向上に成功した。現在、糸状菌で組換え酵素として大量発現させたセルラーゼを用いて人工セルロソームを構築し、夢の大量かつ高活性なセルロソームの開発を進めている。

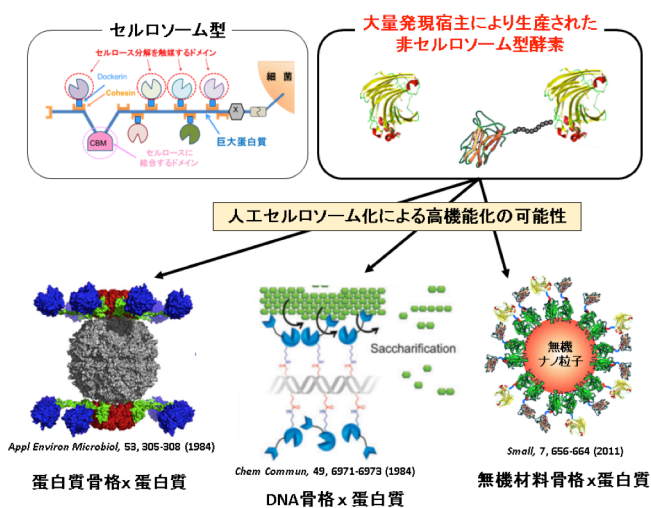


図 2 セルラーゼの人工セルロソーム化による高機能化設計

おわりに

本稿ではセルラーゼの紹介とその改良について概説した。人類にとって未利用炭素の有効利用は、避けては通れない問題であるため、研究の流行り廃りの波はあれども、地球上で最も多い炭素源であるセルロースのモノマーへの分解は重要なテーマとして今後も存在し続けるであろう。

最後に、本研究を推進するにあたり、ご指導ご助言を頂き、大好きなものづくり研究を与えていただきました長岡技術科学大学の森川康教授および東北大学の梅津光央教授それぞれの研究室の皆様、および共同研究者の方々に厚く御礼申し上げます。

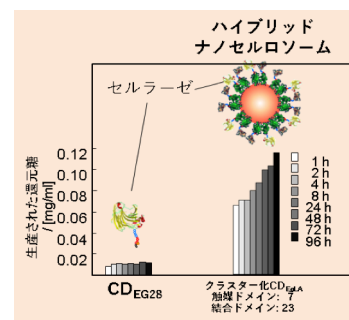


図3 真菌セルラーゼの人工セルロソーム化

参考文献

- [1] Mackenzie, C. R., Patel, G. B. and Bilous, D., *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987, **53**, 304–308.
- [2] Boisset, C., Pétrequin, C., Chanzy, H., Henrissat, B., and Schülein, M., *Biotechnol. Bioeng.*, 2001, **72**, 339–345.
- [3] Nakazawa, H., Okada, K., Onodera, T., Ogasawara, W., Okada, H., and Morikawa, Y., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2009, **83**, 649–657.
- [4] Heyman, A., Barak, Y., Caspi, J., Wilson, D. B., Altman, A., Bayer, E.A. and Shoseyov, J., *Biotechnol.*, 2007, **131**, 433–439.
- [5] Mori, Y., Ozasa, S., Kitaoka, M., Noda, S., Tanaka, T., Ichinose, H., and Kamiya, N., *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 6971–6973.
- [6] Kim, D.M., Umetsu, M., Takai, K., Matsuyama, T., Ishida, N., Takahashi, H., Asano, R., Kumagai, I., *Small*, 2011, **7**, 656–664.

中澤 光 (なかざわ ひかる)

東北大学 大学院工学研究科 梅津研究室 助教

2009年3月 長岡技術科学大学 大学院 情報・制御工学専攻
博士課程修了 博士(工学)

2009年4月 長岡技術科学大学 大学院 産官学連携研究員

2011年4月 東北大学 大学院工学研究科 研究支援者

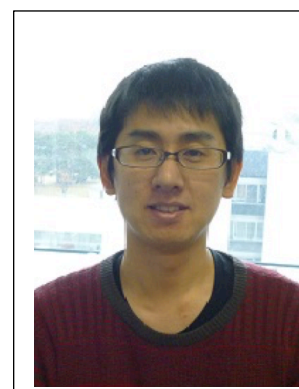
2011年12月 東北大学 大学院工学研究科 産官学連携研究員

2014年2月 東北大学 大学院工学研究科 研究支援者

2014年4月 東北大学 大学院工学研究科 産官学連携研究員

2014年10月 東北大学 大学院工学研究科 特任助教

2015年10月 現職



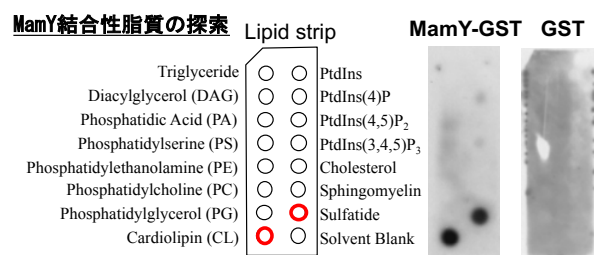
はじめに

アミノ酸が連結した生体分子であるペプチドは、タンパク質を形成する 20 種類の L 型天然アミノ酸の組み合わせに限っても非常に多くの配列多様性をもつ。各アミノ酸はそれぞれに異なる物性をもつことから、それが連結した各ペプチドが示す分子物性も同様に膨大な多様性をもつ。この多様な分子物性が、生体内で見られるような選択性や親和性が異なる多種多様な分子間相互作用を生み出している。ペプチドによる相互作用の対象は、タンパク質、脂質や核酸などの有機分子とは限らず、金属イオンや無機分子などにも特定の選択性や親和性をもって相互作用する。こういったペプチドがもつ分子多様性による様々な相互作用の理解の進展が多種多様な着想を与え、新たな研究開発が展開されている。

著者は磁性細菌と呼ばれる微生物がもつユニークなバイオプロセスである、ナノ磁性微粒子のバイオミネラリゼーションに関する研究を端緒に、ペプチドによる無機材料合成やバイオセンサに関する研究開発を進めている。本稿では、著者が実施してきたペプチドなどの生体分子と様々な対象に対する相互作用解析や応用について、いくつかの研究を紹介する。

微生物の細胞内小胞形成制御タンパク質の機能解析

生物にとって、細胞分裂や細胞内小胞形成などの曲面生体膜の構造制御は、複雑な細胞機能やがんなどの疾病に関与する重要なバイオプロセスであり、様々な生体分子により緻密に制御されている。近年では、エクソソームなどの真核生物における生体膜小胞の形成が広く注目されている。一方で、原核生物における生体膜小胞形成プロセスの分子機構には不明な点が多い。我々の身近な環境水圏には、均一な形状の酸化鉄からなるナノ磁性微粒子を生合成する磁性細菌と呼ばれる微生物の一群が生息する。この磁性細菌は、マグネトソームと呼ばれる細胞内小器官を細胞膜からの陥入により形成し、その内部にナノ磁性微粒子が合成される。そこで原核生物における小胞形成の分子機構解明に向け、成熟過程及び成熟後のマグネトソームから抽出さ



小胞形成制御タンパク質MamYによる脂質チューブ形成

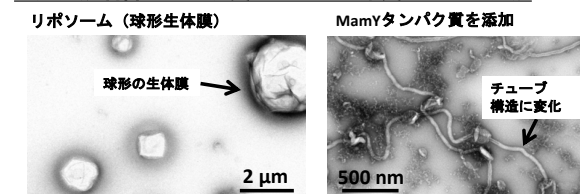


図 1 磁性細菌から単離された MamY 結合性脂質の探索と MamY タンパク質による脂質チューブ合成

れたタンパク質の比較プロテオーム解析を実施し、成熟過程のマグネトソームに特徴的に存在するタンパク質 MamY が同定された¹。このタンパク質は、真核生物の細胞内小胞形成に重要なタンパク質ドメイン Bin-Amphiphysin-Rvs (BAR)と相同性を示し、*mamY* 遺伝子を欠損した磁性細菌は、野生株に比べてマグネトソーム小胞のサイズが大きくなることが示されている。さらにこの MamY タンパク質は、カルジオリピンという陰イオン性脂質と相互作用することが示され、カルジオリピンを含んだ人工生体膜（リポソーム）を作製し MamY と混合すると、直径数 μm の球形リポソームが、直径 50 nm、長さ数百 nm のチューブ構造に変化することが観察された（図 1）²。以上より、この MamY タンパク質はマグネトソーム小胞形成の駆動力または構造安定化に寄与していることが示唆された。このような生体膜構造の制御タンパク質を利用した脂質ナノチューブは新たな生体適合性材料として工学的な応用展開が期待されており³、この MamY タンパク質による応用も期待される。

ペプチドによるバイオナノミネラリゼーション制御

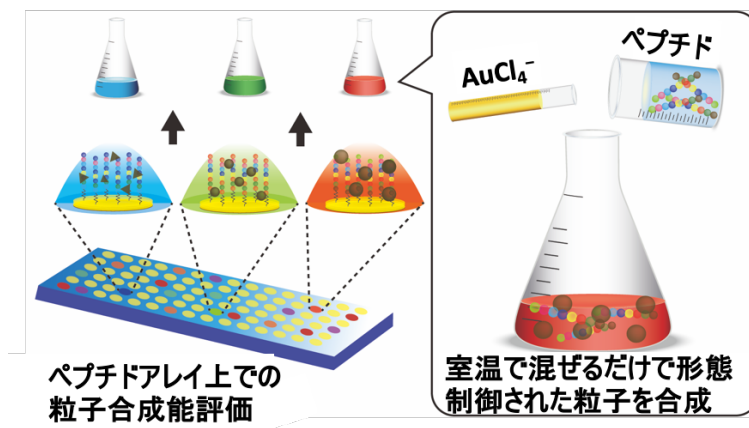


図 2 ペプチドアレイを利用したミネラリゼーションペプチドのスクリーニング概念図

多様なペプチドの中には、金属イオンと混ぜるだけでナノ粒子合成を誘導する機能をもつ配列が存在する。本研究ではセルロース膜上に異なるペプチド配列を円形スポット状に合成できるペプチドアレイ技術を利用することで、各配列により合成される粒子が示す色調情報を画像解析により取得できると考えた（図 2）。本研究では金ナノ粒子（AuNP）をモデルとして利用し、ペプチドアレイを用いた 2 つのステップからなる手法でミネラリゼーションペプチドを探索した。

- ① AuNP 結合性ペプチドの探索
- ② 高結合性ペプチドによるミネラリゼーションペプチドの探索

具体的には、すでに報告のある AuNP 結合ペプチド 9 配列をもとにペプチドアレイを作成し、これに対して化学合成した AuNP（直径約 5 nm）との結合試験を行った。金ナノ粒子の赤色が各ペプチドスポット上に目視で確認することができ、その強度を画像解析することで、AuNP 結合性ペプチド配列を取得した。次に、特に高結合性を示したペプチド配列内にある

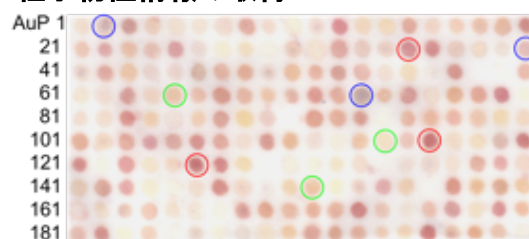
アミノ酸の出現頻度を解析し、これを考慮に入れたペプチド配列からなるペプチドアレイを再度合成し、AuNP との結合試験を行った。この操作を繰り返すことで AuNP 高結合性ペプチドの探索を実施し、AuNP 結合性ペプチドを 500 配列程度取得できた⁴。

得られた AuNP 結合性ペプチド配列からミネラルゼーションペプチドを探索するため、特に高い結合性を示す 200 配列を選抜し、再度ペプチドアレイを合成した。これを金イオン溶液(0.5 mM HAuCl₄, Tris buffered saline, pH 7.4)に浸漬し、各ペプチドの AuNP 合成能を評価した。ここで用いているペプチドは全て AuNP 結合性をもつため、各ペプチドにより AuNP が合成された場合、そのペプチドスポット上に粒子が沈着することが考えられる。本実験の結果、100 配列以上のバイオミネラルゼーションペプチドライブラリーを取得した(図3)。さらにこのペプチドアレイの画像解析から特徴的な色調を示す AuNP を合成するペプチド配列を選抜した。各ペプチド配列を溶液中で AuNP を合成したところ、ペプチドアレイで見られた色調と同様の色調を示す AuNP を合成できることが示された⁵。なかには正 10 面体や三角ナノプレートなどの特徴的な粒子を合成するペプチド配列の存在も確認され、これらの粒子表面を走査型電子顕微鏡により観察したところ、粒子表面に薄膜の存在が確認されたことから、ペプチドが粒子表面で自己集合している可能性が示唆された。三角ナノプレートは、生体サンプルを透過しやすい近赤外に吸収波長をもつことから、バイオイメージング技術の開発などへの応用が期待される。本手法は、半導体や磁性体などの有価ナノ粒子合成を誘導するペプチドを探索できる技術としての展開が期待される。

毒性の高い微小粒子物質 (PM) 結合性ペプチドの探索

越境大気汚染物質として PM (微小粒子状物質) の注目度が増している。一方で、現在は各 PM がもつ物理的性質や化学的性質の多様さには目をつぶり、重量濃度のみから環境基準が設定されている。将来的には PM の構成成分に基づく新たな基準が設けられると想定されることから、本研究では構成成分 (特に PM 表面に表出している) に基づく簡便なセンサデバイス開発の前段階として、含有する重金属量の多い PM に高い結合能をもつペプチドを探索し

ミネラルゼーションペプチドの選抜と粒子物性情報の取得



選抜された各ペプチドによるAuNPのOne-potグリーン合成

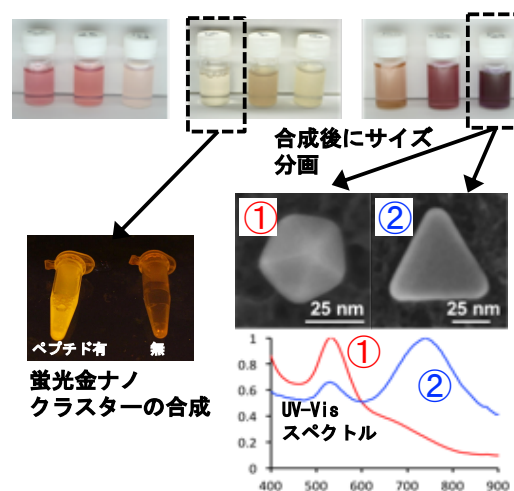


図3 特定の色調を示す AuNP を One-pot 合成できるミネラルゼーションペプチドの探索

た。ファージディスプレイライブラリーを利用することで、PMの毒性と高い相関性が示されているニッケルや銅を多く含むPMに高い結合能をもつペプチドが同定された(図4)⁶。今後このようなペプチドを利用したフィルターやセンサデバイスの開発が期待される。

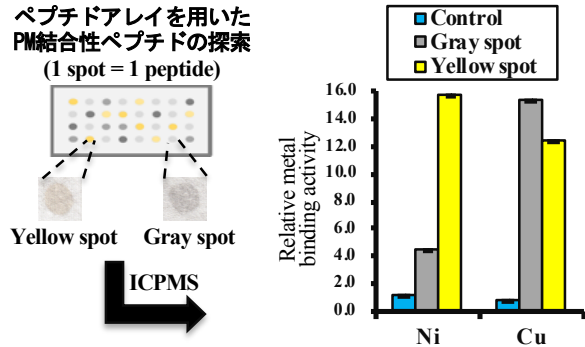


図4 ペプチドアレイを利用した重金属含有量の多いPMに結合するペプチドの探索

ペプチドプローブを利用した病原性微生物及びウイルスセンサの開発

大阪大学産業科学研究所谷口・筒井研究室との共同研究により、標的に対するペプチドの相互作用を利用し、ウイルス、微生物の極微量検出を目指したポアセンサの開発を実施している。ペプチドアレイを利用した標的との結合試験を実施することで、センサに利用できるプローブを選択した。このペプチドによりポアセンサ表面を機能化することで、病原性の発現に重要な微生物の鞭毛の有無に関する1細胞レベルでの判別⁷、インフルエンザの亜型を1ウイルス粒子レベルでの判別が可能となっている⁸(図5)。本研究において、抗体のような標的親和性の高い分子をプローブとして利用した際には、ポアが詰まってしまうことがある。そのため最適な親和性をもつペプチドプローブスクリーニングの実施が、本センサデバイス開発における一つのブレイクスルーであった。

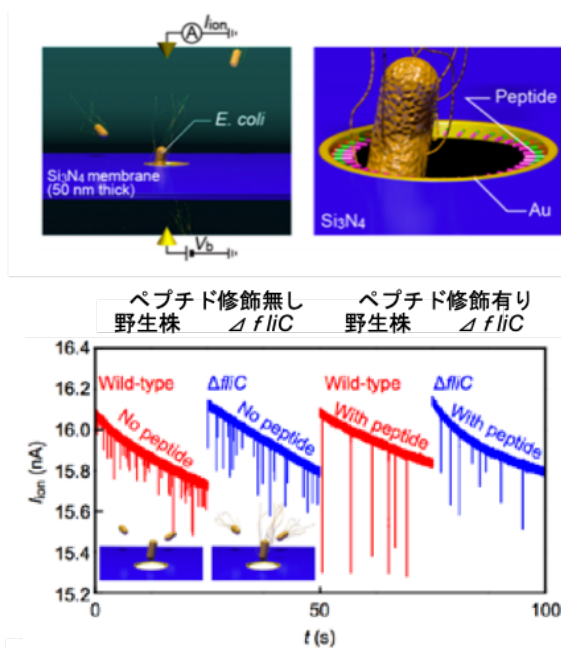


図5 ペプチド修飾ナノポアセンサデバイスによる病原性微生物の1細胞検出

小分子センシングに向けたペプチドプローブの探索

爆発物のオンサイトでの高感度検出を可能とする、新たなセンシングデバイスの開発が求められている。これまでに表面プラズモン共鳴(SPR)、電界効果トランジスタ(FET)などが提案されてきたが、高感度オンサイトセンサの開発には、標的分子に対する高い結合力と選択性を併せもつ分子認識プローブの作製が不可欠である。そこで九州大学都甲・小野寺研究室との共同研究により、2,4,6-Trinitrotoluene(TNT)を対象とし、TNTに対して高い結合力を示すペプチドを抗TNT抗体の相補性決定領域から探索した。抗TNT抗体がもつ6つの相補性決

定領域配列をそれぞれペプチドアレイとして合成した。作製したアレイを利用して TNT 類似物質の結合試験により TNT 結合配列を探索し、候補ペプチドについて、SPR により TNT との解離定数を測定した。その結果、重鎖 CDR3 由来の ARGYSFIYWFDFC が TNT との結合能を示し、その K_D は 1.31 μM であることが示された⁹。現在、このペプチドプローブを利用した TNT 検出 SPR センサに加え、より簡便な TNT 蛍光検出技術の開発を実施している。

おわりに

本稿では、生体分子による様々な対象分子への相互作用を利用した研究開発について紹介した。タンパク質と脂質との相互作用により生体膜構造の変化が誘導された。バイオミネラリゼーションペプチドにおいては、結晶表面においてペプチドが自己集合して薄膜のような構造を形成している様子が観察されており、各ペプチドは金属イオン、金属結晶、並びに同一のペプチドとの相互作用が組み合わさることで、三角ナノプレートなどの特殊な構造の金ナノ粒子が合成されていることが示唆されている。またバイオセンサに利用されるセンシングプローブには、対象に対する結合親和性の高い分子が一般に求められるが、ポアセンサデバイスに最適なペプチドは、比較的標的親和性を抑えたプローブが最適であった。さらに、PM のように非常に複雑な内容物をもつ構造物や TNT などの小分子に対しても、選択性をもったプローブを探索できることが示された。このように、生体分子の相互作用を理解し、応用することは、少なくとも著者がこれまで思ってきた以上に複雑であるとともに、多くの可能性があることが明らかになってきた。より詳細に、分子、原子レベルで様々な相互作用の詳細な理解が進むことで新たな応用へとつながる可能性が広がることを実感する現状に、読者の皆様も少なからず共感をもっていただけたら幸いです。

最後に、本研究を推進するにあたり、ご指導、ご助言をいただきました東京農工大学松永是教授、リーズ大学 Stephen Evans 教授、東京工業大学大河内美奈教授、共同研究者の皆様、それぞれの研究室の皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- [1] Tanaka, M., Arakaki, A., Matsunaga, T. *Mol Microbiol.* 2010, **76**(2), 480–488.
- [2] Tanaka, M., Suwatthanarak, T., Arakaki, A., et al. *Biotechnol J.* 2018, **13**(12), 1–9.
- [3] Tanaka, M., Critchley, K., Matsunaga, T., Evans, SD., Staniland, SS. *Small.* 2012, **8**(10), 1590–1595.
- [4] Tanaka, M., Hikiba, S., Yamashita, K., Muto, M., Okochi, M. *Acta Biomater.* 2017, **1**(267), 13–26.
- [5] Tanaka, M., Takahashi, Y., Roach, L., Critchley, K., Evans, SD., Okochi, M. *Nanoscale Adv.* 2019, **1**(1), 71–75.
- [6] Tanaka, M., Alvin, AWL., Okochi, M. *RSC Adv.* 2018, **8**(11), 5953–5959.
- [7] Tsutsui, M., Tanaka, M., Marui, T., et al. *Anal Chem.* 2018, **90**(3), 1511–1515.

- [8] Arima, A., Harlisa, IH., Yoshida, T., et al. *J Am Chem Soc.* 2018, **140**(48), 16834–16841.
- [9] Okochi, M., Muto, M., Yanai, K., et al. *ACS Comb Sci.* 2017, **19**(10), 625–632.

田中 祐圭 (たなか まさよし)

東京工業大学 物質理工学院応用化学系 大河内美奈研究室 助教

2008年3月 東京農工大学大学院 工学府 生命工学専攻
博士課程修了 博士(工学)

2008年4月 東京農工大学 工学府・工学部 特任助教

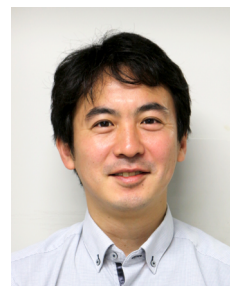
2009年9月 リーズ大学 物理天文学部

Newton international research fellow

2012年10月 東京農工大学大学院 工学研究院
生命機能科学部門 助教

2014年4月 東京工業大学 理工学研究科 助教

2016年4月 現職 (組織改編)



◆ 海外の研究室から ◆

名古屋大学工学研究科
生命分子工学専攻
准教授 清水 一憲

ボストン大学（以下、BU）は、アメリカの東海岸のマサチューセッツ州ボストンの中心部にあります。1839年に設立され、学部生約17,000人、大学院生約15,000人を抱える非常に大きな私立大学です。キャンパスはチャールズリバーキャンパス（医学部以外）とメディカルキャンパスの2つに分かれています。私が滞在したチャールズリバーキャンパスはその名の通り、ボストン中心部を東西に流れるチャールズリバーの南岸（対岸はMIT）にあります。大学のキャンパスとして壁や柵で区切られていないので、街と一体化しています。キャンパス内にはアメリカ最古の路面電車風地下鉄の駅が3つ（Boston University West, Central, East）もある他、多数の路線バスやキャンパス間シャトルバスも頻繁に走っており、非常に便利です。また、チャールズリバーキャンパス周辺は治安もよく大変過ごしやすい環境です。

私は、科研費の国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）に採択され、共同研究遂行のため約一年間（2018年3月から2019年2月まで）、Department of Biomedical EngineeringのChristopher Chen先生の研究室に滞在しました（<https://sites.bu.edu/chenlab/>）。Chen先生は、Tissue engineeringやMechanobiologyの専門家で、血管新生や幹細胞生物学において、細胞接着や機械的刺激、生化学的刺激がどのように協働しているのかを研究しておられます。特に、細胞・組織の接着や周囲物理環境を制御・測定するための独自のナノ・マイクロツールを開発し、斬新な

アプローチで研究を進められています。私は学生時代からChen先生と交流があり、今回の滞在に至りました。Chen先生の論文を興味深く拝見していたこと、また学生時代に共同研究でお世話になった名大医学部の先生がChen先生と



リトリートで撮影したChenラボの集合写真：手前中央がChen先生、右奥が筆者

お知り合いだったことがきっかけです。Chen ラボのメンバーは、ポスドクが約 10 名、博士課程学生が約 10 名の総勢 20 名ほどでした。もちろん多国籍で、中国人、インド人、韓国人、ギリシャ人などで構成されており、日本人は私一人でした。特に感じたのは、様々な研究・教育バックグラウンドをもった人が集まっているということでした。異なる強みをもった経験のあるメンバーが他のメンバーと協力し、自分の強みを生かしながら新しい分野で斬新な技術を生み出していました。私が現在所属している名大の研究室メンバーの多くが、学部からそのまま進学した修士課程学生です。同じような教育バックグラウンドをもった経験のない若いメンバーが集まる環境で、どのように継続的に新しい技術を生み出していくのか？まだ解はありません。Chen ラボでの様子を目の当たりにできたことで、何か工夫が必要であると強く思うきっかけになりました。

私は、工学的な視点や技術開発で、新しい生命現象・生物機能を発見・理解し、医療・産業へ応用することを目指して研究を行っています (<http://www.nubio.nagoya-u.ac.jp/proc/index.html>)。その中で、Tissue engineering と微細加工技術を利用した生体細胞組織培養・評価技術の開発を行っています。特に、骨格筋に関する技術開発を進めており、それに関係する新しい技術開発を Chen ラボに滞在して進めました。滞在中、実際に実験しながら研究を進めることで、様々なノウハウを教えていただくことができたのはもちろん、研究への取り組み方や研究室運営の方法を学ぶことができました。滞在中、特に印象深かったのは、Chen ラボのリトリート(retreat)です。リトリートとは、避難・静養・避暑といった意味があり、普段と違った環境に身を移してリフレッシュし、皆で研究へのモチベーションを高める機会です。海外の研究室では、リゾート地などに数泊し、お互いの研究を紹介すると共に親睦を深める行事としてポピュラーなものです¹⁾。Chen ラボでは、二泊三日で温水プール付きの一軒家を貸し切ってリトリートがありました。昼間は、それぞれのメンバーが自分の研究の方向性を発表し、サブグループごとに目指すべきゴールを考え、メンバー全員でそれについて議論します。夜は、ビールを片手にプールやジャグジーに入ったり、ビリヤードやゲームをしたりと羽目を外します。リトリートに向けて、たくさんの論文を読んだり、チームで議論をして発表準備をしたりと、準備にかかる時間は想像以上でしたが、一年に一度、一歩下がって、自分の研究や関連する研究分野を俯瞰的に眺め、全員で議論しながら、自分たちの研究がサイエンスとしてのインパクトを最大限に発揮できる方向性を探るという機会は、非常に重要だと思いました。場所も大切だと思いました。会議室ではなく、海辺の一軒家の広いリビング。日常から身も心も離れて、研究について時間をかけて真剣に議論をする。これまでに経験したことがない、とても貴重な機会でした。

最後に、ボストンでの生活について簡単にご紹介します。ボストンは、安全・便利でとても過ごしやすい街でした。家賃がすごく高く、冬はとても寒いので、その点は覚悟が必要です。歴史ある街なので観光スポットもたくさんありますが、あえてひとつお勧めを挙げると

すると、Boston Public Library です。Boston Public Library は 1848 年創設のアメリカ最古の公立図書館です。ボストンの中心部にありアクセスも便利で、かつ図書館ですので、入館が無料です。新館と旧館があり、中で繋がっています。観光スポットとしてのお勧めはもちろん旧館です。特に気に入ったのが、二階の閲覧室です。歴史を感じる広い部屋に鮮やかなエメラルドグリーンランプが乗った長机が整然と並んでいます。そこに座って本を広げるだけで気分が高まります。スポーツ観戦もボストンでの楽しみの一つです。MLB のレッドソックス、NBA のセルティックス、NHL のブルーインズ、NFL のペイトリオッツなどがボストンを本拠地にしています。レッドソックスの本拠地フェンウェイパークは研究室から徒歩 5 分、セルティックスとブルーインズの本拠地 TD ガーデンは地下鉄を使って 15 分でしたので、一年を通してスポーツ観戦を楽しむことができました。私が滞在した 2018 年シーズンは、レッドソックスとペイトリオッツが優勝しました。何万人ものファンが集結した優勝パレードを 2 回も体験でき、非常に幸運でした。

私はボストンで 39 歳になりました。この歳で初めての海外長期滞在でしたが、研究と生活の両面で、多くの貴重な経験をすることができました。一方で、もっと若い時期 (20 歳代) に長期滞在していると、40 歳手前では経験できない、もっと別の経験がたくさんきたのだろうとも思います。拙稿を読んでくださっている 20 歳代の方の中には海外に行こうか迷っている方もいると思います。将来のことを考えると不安に感じ、一步を踏み出せない人も多いかもしれませんが、思い切って一步踏み出してみてください。“いま”しかできない新しい経験ができます。きっと新しい価値観を見出すことができ、これまで見えなかった景色が眼前に広がることでしょう。

謝辞

本稿を執筆する機会を与えてくださった九州大学 神谷典穂先生、長期海外滞在をご快諾下さった名古屋大学 本多裕之先生に感謝申し上げます。また Chen 先生と Chen ラボのメンバーにもこの場を借りて御礼申し上げます。

[1] <http://www.biomol.med.saga-u.ac.jp/retreat/retreat.html>

清水 一憲 (しみず かずのり)

名古屋大学 工学研究科 生命分子工学専攻 准教授

2007年3月 名古屋大学大学院 工学研究科
博士課程修了 博士(工学)

2007年4月 日本学術振興会特別研究員 PD(DC2 から変更)

2007年5月 株式会社豊田中央研究所 客員研究員(ポスドク)

2009年4月 京都大学大学院 薬学研究科 特定助教
兼) 立命館大学 R-GIRO 客員研究員

2013年4月 大阪大学大学院 基礎工学研究科 助教

2014年6月 現職



◆ 海外の研究室から ◆

The National Center for Advancing Translational Sciences

CAAVEIRO Jose

はじめに

Drug discovery is one of the greatest challenges in modern science with implications for human well-being. It is estimated that developing a new drug cost around 2 billion dollars (roughly 220 billion yen). Chemistry, being one of the core sciences, plays a critical role in each successful drug discovery campaign. In the School of Pharmaceutical Sciences at Kyushu University we aim to improve human well-being by discovery new drugs or re-directing old drug against novel targets (drug repurposing). In this regard, we have been fortunate to share our experience with one of the leading research organizations in the field of academic drug discovery in the Unites States: The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). In this short report I describe my interactions with the leadership of NCATS during a trip to their facilities in Rockville (MD).

NCATS の歴史

NCATS is one of the 27 institutes belonging to the National Institutes of Health (NIH). NCATS was formally created in 2011 with the goal of accelerating the translation of basic research into “more treatments for more patients and more quickly”. It comprises a division of pre-clinical innovation and a division of clinical innovation.



Drug screening facility: NCATS processes ~2 million samples a day using a sophisticated infrastructure.

NCATS is located at two main campuses, a larger one in Rockville MD and second smaller but closer to the headquarters of NIH in Bethesda MD. Despite being a small organization, NCATS manages a budget of approximately 600 million dollars (~66 billion yen) necessary to build their world-class laboratories. The larger campus hosts the division of pre-clinical innovation, where I spent most of my time. Despite the high-level of technological development and instrumental sophistication of the facilities there, I was

even more impressed by the scientific and human quality of their personnel.

創薬研究

NCATS is looking for strategic partners in Japan, and my visit there was driven as much to explain our novel approach to drug discovery in Kyushu University (Green-pharma research) as to look for common interests leading to collaborative research. The first two days I participated in a two-day workshop discussing critical aspects of high-throughput screening and lead discovery. This workshop is based the popular Assay Guidance Manual, a free online resource (<https://ncats.nih.gov/expertise/preclinical/agm>) that assist researchers to prepare early-stage drug discovery assays.



Presentation during the Workshop “Assay guidance workshop high-throughput screening and lead discovery” celebrated at NCATS.

After the workshop I had the opportunity to visit to the quarters of the division of pre-clinical research for a few days, which made a deep impact. I could meet numerous researchers, including the scientific director (Dr. Simeonov), one of the senior advisors (Dr. Sittampalam), and the heads of key departments such as Chemistry (Dr. Marugan), Biology (Dr. Hall), and Biomolecular screening (Dr. Ferrer). They showed great interest to establish collaborations with Japanese researchers to understand their approach to drug discovery, and to expand their therapeutic repertoire. I also had an opportunity to visit the laboratories for phenotypic screening, synthetic chemistry, the chemical library (composed of >500,000 compounds), the protein laboratory, and the screening facilities.

All of the laboratories are world-class, something increasingly harder to find in the academic world. These facilities include robots, high-throughput instruments, supercomputers to store and analyze the large datasets, and I heard an idea to use drones to transport samples across the center. Importantly, NCATS offers these facilities to academic researchers at no cost through collaborative research (including researchers not based in USA) as long as the project is declared of sufficient interest by the leadership team.

One of the anecdotes happened while visiting the protein laboratory, of personal interest since my background is in protein research. I could witness, with great envy, the superb line-up of instrument available to characterize the target proteins from multiples points of view, and how drug candidates may interact with these targets. However, to my surprise, I could not see the instruments necessary to produce and purify these proteins. I asked: “This is great, but how do you obtain the protein samples?” And they answered “Ah, the protein? Well, we make a phone call to the appropriate company, send them the amino acid sequence by E-mail, and the protein arrives a few weeks later”. I returned to my hotel wishing I had such a system at hand for in my own research. What a dream it could be!

おわりに

NCATS is the leading governmental organization to accelerate translational research in USA. Their goals are to accelerate drug discovery and to advance biotechnological solutions to combat human disease. NCATS’ powerful muscle, and their interest to collaborate with academic and corporate organizations from inside and outside of the USA is an attractive opportunity that we should carefully consider.^[1]

カアペイロ ホセ

九州大学 薬学研究院 グローバルヘルスケア分野 准教授

2000年1月 バスク自治州大学理学部 生化学&分子生物学専攻
博士課程修了 博士(科学)

2000年6月 マサチューセツ工科大学理学部化学専攻 博士研究員

2002年6月 ブランデイズ大学 理学部 化学専攻 博士研究員

2008年4月 東京大学 大学院新領域創成科学研究科 博士研究員

2013年4月 東京大学 大学院工学系 主幹研究員

2017年2月 現職



[1] This visit was supported by the Platform Project for Supporting Drug Discovery and Life Science Research [Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS)] from AMED (JP18am0101091)

◆ 研究会・国際会議から ◆

The 24th Symposium of Young Asian Biological Engineers' Community (YABEC 2018)

九州大学未来化学創造センター

教授 神谷 典穂

YABEC2018 は、National Taiwan University of Science & Technology (台北) にて、2018 年 11 月 15～17 日の 3 日間に渡り開催された。本国際会議はアジア地域 (日本、韓国、中国、台湾の 4 地域) のバイオテクノロジー、バイオプロセスエンジニアリング分野の若手研究者が比較的小規模で集い、2～3 日間に渡る合宿形式のシンポジウム形式で行われ、研究発表会、懇親会を通じた相互啓発や情報交換、密度の濃い個人ベースの国際交流を図ることを目的としている。学会の全体スケジュールは、初日夕方にウェルカムレセプション、2 日目は 4 件の Plenary Lecture、4 件の Keynote Speech の後、口頭発表とポスター発表が終日続き、夕方にバンケット、翌最終日は貸切バスでの Excursion であった。学会全体として、口頭発表 44 件、ポスター発表 135 件が実施された。参加者総数は 246 名、内訳は、日本 37 名、韓国 39 名、中国 21 名、台湾 148 名、インド 1 名であった。

Wilfred Chen 教授 (University of Delaware, USA) による 'Engineering Nanoscale Protein Scaffolds with Modular Functionalities' と題した Plenary Lecture では、様々な人工タンパク質複合体の設計とその応用について最新成果が発表された。特に、Outer Membrane Vesicle や Virus-like Particle など、両親媒性タンパク質ユニットからなる集合体を巧みに活用する点に特徴があり、米国の新進気鋭の研究者のユニークな視点と研究推進力が披露された。山口大学の山本修一教授による基調講演では、抗体医薬をターゲットにしたバイオセパレーションにおいて、自身が確立された Yamamoto Model の実用例がユーモアたっぷりに解説された。続く 2 件の基調講演は、Sunghoon Park 教授 (Ulsan National Institute of Science and Technology) による 'Biological production of 1,3-propanediol from glucose by coenzyme B₁₂-synthesizing *Klebsiella pneumoniae*'、Zuzana Gazova 博士 (Institute of Experimental Physics, Slovakia) による 'Amyloid aggregation of polypeptides' であり、それぞれ生物工学・合成生物学と生物物理に関する最新成果が丁寧に解説され、当該分野のトピックスに対する聴衆の理解を深めるものであった。

4 件の Keynote Speech は、上記 4 地域からそれぞれ 1 名の推薦によるものである。日本からは名古屋大学の加藤竜司博士の 'Morphology-based non-invasive quality prediction for high-quality undifferentiated iPS cells'、韓国からは Hyung Joon Cha 教授 (POSTECH) による 'Pre-clinical medical applications for mussel protein bioadhesives'、中国からは Huimin Yu 教授 (Tsinghua University) による 'Combinatorial regulation of promoter, precursor and process for enhanced surfactin synthesis with *Bacillus subtilis*'、台湾から

は Hsien-Yeh Chen 教授 (National Taiwan University) による ‘Vapor-deposited nanoscaled polymer coatings for biointerface engineering’ と、それぞれ第一線で活躍する気鋭の若手研究者による魅力的なプレゼンテーションを一度に拝聴することができた。

そのほか、口頭セッションならびにポスターセッションは、A: Medical Biotechnology & Biochip/Biosensor, B: Bioenergy, Biorefinery & Environmental Biotechnology, C: Applied Microbiology, Synthetic Biology and Bioinformatics, D: Enzyme, Food Biotechnology, Bioprocess Engineering, Biophysics & Others に分類され、実施された。YABEC の特徴的なプログラムである Biofun セッションは、各地域の代表者が「バイオに関連する様々なトピックを独自の視点で 15 分間自由に話す」という主旨に沿って、参加者全員で楽しめる 1 時間となっている。バンケットではポスター発表の優秀者の表彰の後、最後は恒例の地域対抗カラオケ大会で幕を閉じた。

本会議は、上述の 4 地域の生物工学・生物化学工学関連研究者の連携と相互理解に寄与している一方で、昨今、Asian Federation of Biotechnology (AFOB) の下部組織としての活動の在り方についても意見交換がなされるようになっている。今回も、東南アジア・インドからの視察を兼ねた参加もあったが、基本的には今後も地の利を優先した 4 地域持ち回りの運営が続くと思われる。次回は今年 11 月に韓国での開催、次年度は日本での開催が予定されている。近隣アジア圏のアクティブなバイオテクノロジー関連若手研究者とのネットワーク構築の機会として、本会議を是非ご活用頂きますと幸いです。

◆第 13 回バイオ関連化学シンポジウム会告◆

-第 34 回生体機能関連化学シンポジウム・第 22 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
共 催 日本化学会・東北大学大学院工学研究科・東北大学多元物質科学研究所・ネットワーク型
物質デバイス領域共同研究拠点・ダイナミックアライアンス・高分子学会他(予定)
会 期 2019 年 9 月 4 日(水)～6 日(金)

会 場 東北大学青葉山東キャンパス工学部中央棟・サイエンスキャンパスホール他
(<https://www.eng.tohoku.ac.jp/map/access.html>) [交通] 仙台駅から地下鉄
東西線「八木山動物公園」ゆき乗車, 「青葉山」 駅下車, 徒歩 8 分

発表申定期間 5 月 13 日(月)～6 月 25 日(火)17 時

予稿原稿期間 7 月 1 日(月)～7 月 26 日(金)

参加登録予約申込期間 5 月 15 日(水)～7 月 26 日(金)

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

申込分類 1) 分子認識・超分子・モデル系, 2) ペプチド・蛋白質・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, *) フォーカストセッション (依頼
講演と一般講演): 1. ゲノム編集最前線, 2. 先端分光・分析技術を活用した
バイオ関連化学最前線, 3. 量子アニーリング・AI を駆使したバイオ関連化学
の将来, 4. 最先端合成化学を駆使したバイオ関連化学最前線 (予定)

ポスター発表: 第 13 回は 1 日目から 3 日目間で全日実施予定

口頭発表: 全日 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. ただし申込は 2 件までは可

発表申込方法 シンポジウム HP (<http://www.knt.co.jp/ec/2019/biojointsympo/>) から

参加登録費 [事前] 部会員: 一般 5,000 円, 学生 3,000 円, 非部会員: 一般 7,000 円,
学生 4,000 円 [7 月 27 日以降～当日] 部会員: 一般 7,000 円, 学生 5,000
円, 非部会員: 一般 9,000 円, 学生 6,000 円

懇親会 9 月 5 日工学部中央棟 1 階あおば食堂カフェテリア. 会費:[事前申込]一般
4,000 円, 学生 3,000 円[7 月 27 日～当日申込]一般 6,000 円, 学生 5,000 円

参加登録予約申込方法

シンポジウム HP(<http://www.knt.co.jp/ec/2019/biojointsympo/>)から

問合先： 980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1
和田研内 第13回バイオ関連化学シンポジウム事務局
電話(022)217-5608 FAX(022)217-5610
E-mail: hiko@tohoku.ac.jp

シンポジウム HP <http://www.knt.co.jp/ec/2019/biojointsympo/>

*特別講演（市民公開講座）：

生活そして人生を豊かにし、社会に貢献するバイオ関連化学最前線
菅 裕明教授（東大院理・ペプチドリーム創業者）
石原一彦教授（東大院工・MPC ポリマーパイオニア）
末永智一教授（東北大 COI 東北拠点・日常人間ドック開発）

◆編集後記◆

前号に引き続き、九州大学の神谷がニューズレターの編集を担当しました。

「巻頭言」では名古屋大学の堀 克敏先生より、現在進行形のご自身の経験に基づき、起業という選択肢に如何に向き合うべきか、大学人としての想いの込められたご寄稿を頂きました。これから起業を考えている皆様に向けたエールと、成功の鍵を握るヒントに溢れています。

「先端研究ウォッチング」には、九州大学の田原義朗博士（現同志社大学）、後藤雅宏先生に、イオン液体を用いた創薬研究の最前線について解説を頂きました。当該分野の歴史的経緯から最新成果までを俯瞰できる、非常にコンサイスに纏まった総説をご寄稿頂きました。「若手研究者からのメッセージ」には、信州大学の新井亮一先生、東北大学の中澤 光先生、東京工業大学の田中祐圭先生より、オリジナリティに富んだ最新研究成果を、それぞれの視点から丁寧に紹介頂いております。また、新井先生は現在 David Baker 研究室（University of Washington）にご滞在中とのことで、世界トップの研究室内情を垣間見ることができる現地レポートも付記して下さっています。ホットでライブ感に満ちたご寄稿をお楽しみ下さい。

「海外の研究室から」では、名古屋大学の清水一憲先生より、JSPS 国際共同研究強化枠を活用して滞在されたボストン大学での貴重なご経験を共有頂いております。ラボのリトリートに関する情報は、研究室の円滑な運営のヒントになりそうです。また、九州大学の CAAVEIRO 先生には、米国 The National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS) の短期滞在期をご寄稿頂きました。NCATS の設立の狙いや運営方針等、貴重な情報を紹介頂いております。私個人的には、今やタンパク質もカスタム・受託合成されている現状に対して、認識を新たにしました次第です。最後に、「研究会・国際会議から」には YABEC2018 の報告をさせて頂きました。

本号も多様で up-to-date な話題満載のニューズレターを部会員の皆様にお届けすることができました。小職は6月より日本生物工学会英文誌の編集委員長を仰せつかり、投稿論文数では隣国に圧倒される現実を目の当たりにして悶々としておりましたが、先生方から届く原稿に多くの示唆と活力を頂きました。お忙しいなか力作をご寄稿頂きました執筆者の皆様へ、改めて心より御礼申し上げます。

NEWS LETTER Vol. 22, No.2 (2019年 8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