

フロンティア理工学研究所 2020 年度シンポジウム

ご挨拶

岡山理科大学フロンティア理工学研究所主催のシンポジウム「バイオインフォマティクスと関連技術の最前線」の開催にあたりご挨拶申し上げます。コロナ禍の影響で、本シンポジウムもほかの多くの学会講演同様、オンラインによる開催を余儀なくされました。しかし講演講師の先生方のご理解と、大学関係者の皆様の多大なるご支援により、こうしてリモート開催が実現しましたことに、厚く御礼を申し上げます。

フロンティア理工学研究所は、1969年に設立された岡山理科大学蒜山研究所を起源とする自然科学研究所と、1986年設立の中央研究センターと1988年設立の環境資源研究センターの統合によって生まれた技術科学研究所とが、共に2019年に結集統合されるかたちで発足した研究所です。長い歴史を通して、常に時代が求める最先端の科学技術研究を続けてきました。その成果は、毎年、シンポジウムを通して一般にも公開してまいりました。フロンティア理工学研究所が主催する会議としては2回目となる今回のシンポジウムでは、近年注目されているバイオインフォマティクスとその関連分野に関する研究を紹介します。ご存知のように、2000年代以降、構造生物学やゲノム解析の分野は目覚しく発展してきました。その影響は医療分野だけでなく理工系分野にも波及し、新しい応用産業も勃興しつつあります。昨今のAI技術や情報関連産業と融合すれば、さらに力強い発展がグローバル規模で加速するものと期待されています。しかし同時に、課題や今後の方向性なども問われています。コロナ禍で世界が未曾有の危機にあるなかで、バイオインフォマティクスに出来ることは何か、冷静に考えていきたいと思えます。

今回のシンポジウムではバイオインフォマティクスに馴染みの少ない学生や一般の聴講者でも理解しやすい内容の講演をお願いしております。特に学生がこの分野に興味を持ち、将来の就職活動や進学などの選択や動機付けに生かしてくれればこれに勝る幸せはありません。新進気鋭の研究者の講演を楽しんで聴講していただければ幸いです。

岡山理科大学
フロンティア理工学研究所
牧 祥

ENJOY SCIENCE!

さあ、キミの未来づくりをはじめよう。



岡山理科大学
OKAYAMA UNIVERSITY OF SCIENCE

フロンティア理工学研究所 2020 年度シンポジウム 「バイオインフォマティクスと関連技術の最前線」

日時：2021 年 2 月 5 日(金)

会場：オンライン開催（岡山理科大学 50 周年記念館など複数の研究室から配信）

後援：岡山理科大学

プログラム

9:30 – 10:00 受付
10:00 – 10:05 開会挨拶（フロンティア理工学研究所所長 赤司治夫）

特別講演

10:05 – 10:45 『磁気浮上を利用したタンパク質結晶化技術と最近の研究』
牧 祥（フロンティア理工学研究所）
10:45 – 10:50 略歴紹介
10:50 – 11:30 『脂溶性リガンドータンパク質複合体の構造解析を目指した研究開発』
杉山 成（高知大学工学部 化学生命理工学科 教授）
11:30 – 11:35 略歴紹介
11:35 – 12:15 『タンパク質工学による酵素の産業応用』
石川 一彦（元 産業技術総合研究所 産学官連携室 連携主幹，
現 松谷化学工業株式会社顧問）

12:15 – 13:15 昼食

基調講演

13:15 – 13:20 略歴紹介
13:20 – 14:10 『タンパク質結晶学の発展』
安岡 則武（姫路工業大学名誉教授，元 日本結晶学会会長）

特別講演

14:10 – 14:15 略歴紹介
14:15 – 14:55 『光技術が拓く有機・バイオマテリアルの秩序構造形成：結晶化から臓器形成まで』
吉川 洋史（埼玉大学大学院 理工学研究科 教授）
14:55 – 15:35 『細胞自己凝集化技術を用いた生体模倣組織構築：バイオインフォマティクスとの融合は可能か』
岩井 良輔（フロンティア理工学研究所）
15:35 – 15:40 閉会挨拶（フロンティア理工学研究所 牧 祥）

磁気浮上を利用したタンパク質結晶化技術と最近の研究

牧 祥*

岡山理科大学 フロンティア理工学研究所

〒700-0005 岡山市北区理大町 1-1

E-mail: makisyou@ifst.ous.ac.jp

1. 強磁場環境下でのタンパク質結晶成長

強磁場環境下でタンパク質結晶を磁場配向させて高品質結晶を実現する研究は安宅や若山らによって主に 90 年代後半から研究されてきた[1-3]。しかし結晶性が磁場によって向上したかどうかについては未だ不明である。近年、回転磁場を利用してタンパク質結晶の磁場配向を三次元的に制御する手法を開発された[4-5]。単結晶化が難しいタンパク質や多結晶であっても構造解析を可能にする画期的な技術として期待されているが、課題や批判も多い。

2. 磁気浮上によるタンパク質結晶化技術

タンパク質結晶は水分子を多く含むために脆弱である。従って無容器条件下で結晶成長させれば、歪みの少ない高品質結晶を実現出来ると期待されている[6,7]。磁気力は磁束密度 B [T]とその磁場勾配 $\text{grad } B$ の積に比例する体積力[8]で、90 年代以降に急速に研究が進展した[9, 10]。牧、安宅は常磁性物質の塩化ガドリニウムを沈殿剤に利用することで比較的弱い磁場でも反磁性のリゾチーム結晶を気液界面に磁気浮上させながら成長させる手法を成功した[11,12]。これは結晶と溶液にそれぞれ作用する磁気力の反作用を結晶の磁気浮上に利用する方法で、磁気アルキメデス効果[13]を初めて結晶成長に応用した成果として注目された。この技術の改良によって、以下に紹介する完全無容器条件下でのタンパク質結晶成長が実現した。

3. 最近の研究

3.1 完全無容器条件下でタンパク質を結晶化させる技術開発

磁気力ブースター[13]のアイデアを参考に、リゾチームを結晶核段階から一度も壁に付着させずに溶液中で浮上させながら成長させる技術を開発した。これは完全無容器条件下でタンパク質を結晶化させた初の成果である。本技術を岡山理科大から特許出願する目処もついたので、本シンポジウムにおいて初めてその成果を公開する。従来から課題であった結晶核の熱ゆらぎを制御するために、磁気力の半径方向成分を積極的に活用しているのが特長である。

3.2 タンパク質結晶の熱物性値計測

上記の技術はタンパク質の結晶核を気液界面という特定の場所に集中させ、その場所で安定な結晶成長を維持することを可能にする。そこで非定常短細線加熱法のプローブを気液界面に予め配置することで、未知のタンパク質結晶の熱物性値（熱伝導率と熱拡散率）を直接的に計測する手法を開発した[14, 15]。現在、タンパク質結晶の熱物性値の異方性の有無について明石高専と共同研究を進めている。共分散分析による解析では異方性の存在を示唆する結果が得られている[16]。

3.3 磁場による対流制御と結晶成長

鉛直上向きの磁気力を印加した環境では重力の効果が相殺され、地上でも安定した擬似無重力環境が創成される。宇宙実験の代替技術として磁気力を活用するためには、鉛直方向に均一な磁気力場での移動現象を検証する必要がある。熱対流の駆動力は温度差による密度差に起因し、磁気力の鉛直方向成分を熱対流の重力項に含めるように無次元化した「磁気レイリー数」の導入によって磁気熱対流の制御は一義的に扱うことが可能になった[17]。この場合、磁気力の半径方向成分は重力と直接的な相互作用をしないため、弱重力環境ほど、この項の影響が顕在化する。そこで牧は半径方向の磁気力成分をむしろ積極的に活用することを提案している。例えば、完全無容器条件下でタンパク質を結晶成長させるためには、半径方向の磁気力成分の活用が不可欠である。磁気力の半径方向成分が最強になる場所は超電導マグネットのコイル中心であるが、その場所は磁束が最大になる特異点であり、磁場配向などの研究に活用されることも多い。その場所でベナール系の円筒容器中の熱対流を三次元数値シミュレーションで再現し、それらの結果から見えてくる特徴を検証している[18-23]。

参考文献

- [1] K. Izumi, S. Sawamura, M. Ataka, J. Cryst. Growth 168, 106-111 (1996).
- [2] M. Ataka, E. Katoh, N. I. Wakayama, J. Cryst. Growth 173, 592-596 (1997).
- [3] N. I. Wakayama, M. Ataka, H. Abe, J. Cryst. Growth 178, 653-656 (1997).
- [4] T. Kimura, T. Tanaka, G. Song, K. Matsumoto, K. Fujita, F. Kimura, Cryst. Growth Des., 13, 1815-1819 (2013).
- [5] C. Tsuboi, K. Aburaya, F. Kimura, M. Maeyama, T. Kimura, CrystEngComm 18, 2404-2407 (2016).
- [6] N. E. Chayen, Protein Eng. 9, 927-929 (1996).
- [7] B. Lorber, R. Giegé, J. Cryst. Growth 168, 204-215 (1996).
- [8] M. Faraday, Philos. Mag., 31(210), 401-421 (1847).
- [9] D. Braithwaite, E. Beaunon, R. Tournier, Nature 354, 134-136 (1991).
- [10] M. V. Berry, A. K. Geim, Eur. J. Phys. 18, 307-313 (1997).
- [11] S. Maki, Y. Oda, M. Ataka, J. Cryst. Growth 261, 557-565 (2004).
- [12] 特許第 4273222 号「無容器結晶成長法」
- [13] Y. Ikezoe, N. Hirota, J. Nakagawa, K. Kitazawa, Nature 393, 749 (1998).
- [14] 特許第 3532888 号「強磁気力場発生装置」
- [15] 牧 祥, 藤原誠之, 前川龍之介, 田中誠一, 萩原政幸, 熱物性 30(3), 131-139 (2016).
- [16] S. Fujiwara, S. Maki, R. Maekawa, et al, Int. J. Thermophys. 38(8), 123 (16 pages), (2017).
- [17] S. Maki, S. Fujiwara, S. Tanaka, et al, Symmetry 12(8), 1279 (13 pages), (2020).
- [18] S. Maki, T. Tagawa, H. Ozoe, J. Heat Transf. ASME 124, 667-673 (2002).
- [19] S. Maki, M. Ataka, J. Appl. Phys. 96, 1696-1703 (2004).
- [20] S. Maki, M. Ataka, Jpn. J. Appl. Phys. 44, 1132-1138 (2005).
- [21] S. Maki, M. Ataka, Phys. Fluids 17, 087107 (7 pages), (2005).
- [22] S. Maki, M. Ataka, T. Tagawa, H. Ozoe, Phys. Fluids 19, 087104 (8 pages), (2007).
- [23] S. Maki, K. Tanaka, S. Morimoto, J. Phys. Soc. Jpn 86, 024402 (10 pages), (2017).
- [24] S. Maki, N. Hirota, M. Hagiwara, Phys. Rev. E 98, 033109 (19 pages) (2018).

脂溶性リガンド-タンパク質複合体の構造解析を目指した研究開発

杉山 成*

高知大学理工学部化学生命理工学科 高知市曙町二丁目5番1号

*E-mail: ssugiyama@kochi-u.ac.jp

脂溶性リガンド（脂質や脂溶性ビタミンなど）とタンパク質との分子間相互作用の本質を理解し、その生理機能を解明するためには、脂溶性リガンドの結合構造を原子レベルで決定することが重要である。しかし、水に溶けにくい化合物は取り扱いが容易ではなく、構造機能研究はタンパク質に比べて遅れている。実際に、結晶構造解析で観察される脂質分子の電子密度は、周辺のタンパク質部分に比べて不鮮明であり、立体構造を原子レベルで決定されている例は少ない。その主な理由は、脂質分子の揺らぎだけではなく、脂溶性に起因する問題の方がむしろ深刻である。また、医薬品開発においても薬物-標的タンパク質複合体の立体構造は必要な情報である。実際に、製薬企業では複合体構造から新薬候補化合物を見つける手段として利用されている。

一般的に、低分子化合物と標的タンパク質との複合体結晶の作製には、化合物の溶けた溶液中に結晶を浸すことによって結晶中に化合物を拡散させて、標的タンパク質分子と結合させる方法（浸漬法）が用いられる。しかし、開発初期の候補化合物の多くは一般的に疎水性が高く、タンパク質溶液中の有機溶媒の濃度を上げないと溶かすことができないため、複合体結晶を得るのが非常に困難となっている。ところが、タンパク質結晶は高濃度有機溶媒中に浸漬させた場合、浸透圧変化による結晶の損傷によって構造解析が困難となる。そのため、化合物との複合体結晶を作製できるのは、水溶性かつ高親和性の化合物に限られていた。

この問題を解決するため、以前から開発を進めてきた凝固ゲル中結晶化技術を適用することにした。本技術は、凝固したゲル中でタンパク質結晶を育成させる結晶化技術である[1-8]。その特徴は、タンパク質結晶の機械的強度を向上させ、その結果として有機溶媒に対する耐性を飛躍的に向上させた点にある

(Fig. 1)。この特徴を生かし、脂溶性リガンドの溶解した高濃度有機溶媒中へ、凝固ゲル中タンパク質結晶を浸漬させることにより、従来法では実現できなかった脂溶性リガンドとの複合体結晶を作製できる新規技術開発を行った。

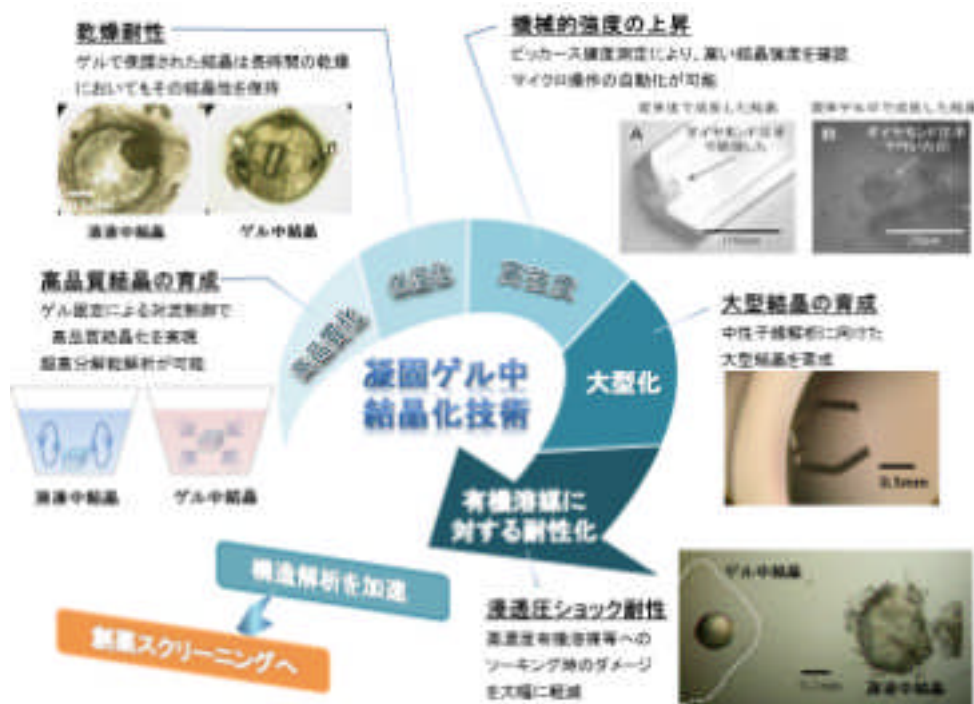


Fig. 1 凝固ゲル中タンパク質結晶の特徴

本研究開発では、3種類のタンパク質（FABP3, Streptavidin, SXR）を用いた。FABP3に結合する脂溶性化合物として抗酸化剤BHTを用いた。BHT化合物は水への溶解度が低い（60 μg/100ml）。まず、従来法により、BHT化合物の5～10% DMSO含有水溶液をFABP3とともに混合した後、FABP3-BHT複合体結晶の作製を試みた。しかし、複合体結晶を得ることができなかった。次に、20mM BHTの溶解した50% DMSO含有水溶液の中へ、凝固ゲル中FABP3結晶を約3時間程度浸漬させた。その結晶を用いてX線結晶構造解析した結果、FABP3の活性部位に結合したBHT由来の電子密度を明確に観察することができた。同様の方法を用いて、他のタンパク質についても脂溶性化合物との複合体結晶の作製に成功した。これらの結果は、脂溶性リガンドの結合構造解明に大きく道を開いた成果であり、膨大な化合物ライブラリーから新薬候補化合物を探し出す全く新しい「創薬スクリーニング」（Fig. 2）への応用へ向けた第一歩になると期待される。

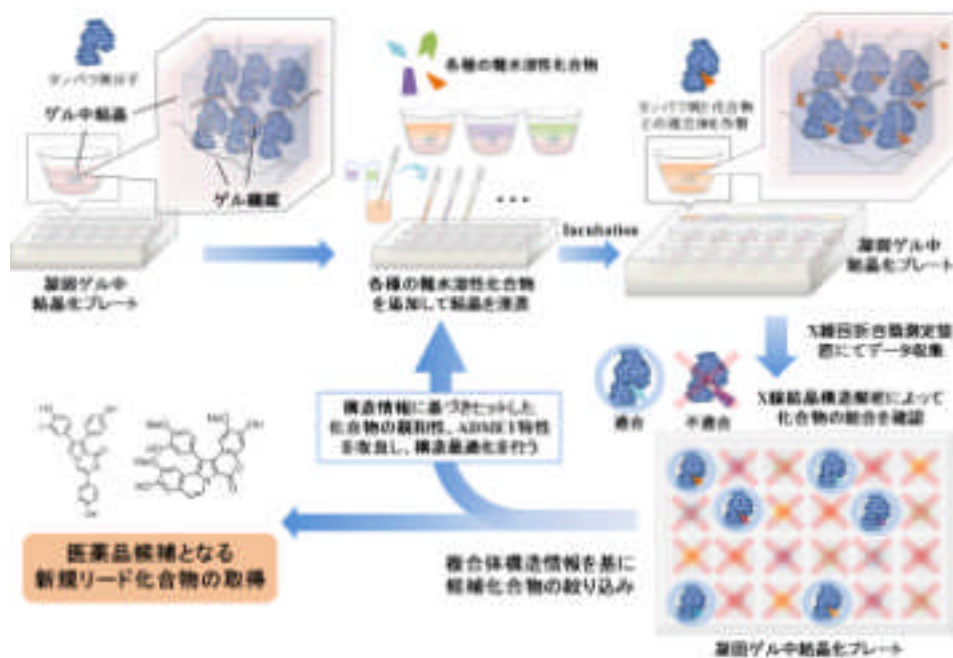


Fig. 2 凝固ゲル中結晶化技術を用いた「創薬スクリーニング」への応用

参考文献

- [1] S. Sugiyama, *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.*, (2021), accepted.
- [2] S. Sugiyama, *et al.*, *Cryst.Eng.Comm.*, 17, 8064-8071 (2015).
- [3] S. Sugiyama, *et al.*, *Cryst. Growth Des.*, 13, 1899-1904 (2013).
- [4] S. Sugiyama, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 134, 5786-5789 (2012).
- [5] S. Sugiyama, *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 50, No.025502 (2011).
- [6] H. Hasenaka & S. Sugiyama, *et al.*, *J. Cryst. Growth*, 312, 73-78 (2010).
- [7] K. Tanabe, *et al.*, *Appl. Phys. Express*, 2, No.125501, (2009).
- [8] S. Sugiyama, *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 48, No. 075502 (2009).

タンパク質工学による酵素の産業応用

石川一彦*

国立研究開発法人産業技術総合研究所・関西センター

〒563-8577 大阪府池田市緑丘1-8-31

松谷化学工業株式会社

〒664-8508 兵庫県伊丹市北伊丹5-3

*E-mail: kazuhiko-ishikawa@matsutani.co.jp

タンパク質工学 (protein engineering) は、1980 年台に米国ジェネックス社の Ulmer KM によって提唱された学問である[1]。タンパク質とは数百個のアミノ酸が繋がり、それらが立体的に折りたたまれることで機能を発揮する。よって、アミノ酸配列が変わればタンパク質の折りたたみ構造も変化しその機能も変化する。すなわち化学的にこれらの構造に変化を加えることでタンパク質機能を変化させることが可能になる。タンパク質工学とはタンパク質について物理的・化学的・生物的な研究から得られた知識を用いて産業に役立つタンパク質を設計・創造する学問である。タンパク質構造を基にして化学的に架橋したり化学修飾によりタンパク質の機能を変換させることもタンパク質工学といえる。ただし、やはりタンパク質工学の今日の隆盛は遺伝子工学技術の進展に負うところが大きい。アミノ酸配列は生物の遺伝子によって厳密に定められている。遺伝子によって決められたアミノ酸配列に従いタンパク質は決まった形 (立体構造) を形成し、決まった機能 (触媒作用等) を持つ。すなわち遺伝子配列を遺伝子操作技術によって変異させ、その遺伝子を生物の中で働かせることで人工的に変異したタンパク質を造りだすことが可能になる。一般的には、遺伝子操作により造られた変異型タンパク質を調べる学門がタンパク質工学であるといえる。

タンパク質において特定の機能を特徴付けるアミノ酸配列は一部分であり、役に立つタンパク質を設計して創り出すためには、多様なアミノ酸配列の組み合わせの中から特定の配列を探し出し変異・設計する必要がある。これには主に次の2通りの方法がある。

(理論的設計)

タンパク質が機能するメカニズムを理解した上で「このようなアミノ酸配列ならばこのような機能を持つはず」ということを合理的に予測し、遺伝子の目的部位に変異を導入することでタンパク質を改変・設計する方法である。例えばタンパク質のアミノ酸配列から立体構造までの情報があり、かつ、実験的・経験的に機能するアミノ酸の情報がある場合、この手法が利用できる。ただし、現時点でタンパク質のフォールディング問題が未解決で、構造と機能情報も完璧ではないため実用化の成功例は多くない。しかし、現在、多くのタンパク質構造情報が蓄積し、また、タンパク質の立体構造機能を予想するソフトウェアも開発されているため、今後、比較的容易にこの手法が用いられるようになると思われる。

（経験的設計）

遺伝子操作および薬剤や放射線等により、遺伝子配列にランダム変異を導入することで多様な遺伝子群を作成、ランダム変異させた遺伝子を大腸菌などの宿主に入れて多種多様なタンパク質を作製し、その中から目的タンパク質を選択・スクリーニングする方法である。進化原理（遺伝子へのランダム変異と選択）を用いて有用タンパク質を創り出す「進化学」という手法で、タンパク質の詳細な情報が得られない場合でも、適度なスクリーニング系があれば容易に実施できる。得られた高機能化タンパク質において、再び同様の操作（ランダム変異導入）を行い、更に高機能性のタンパク質を選別する操作を何度も回すことにより、タンパク質を人工的に高速進化させることができる。本手法により、産業用酵素や医療用タンパク質等、様々なタンパク質がこれまでに創り出され実用化されている。

本セミナーでは、理論的方法によるタンパク質工学により、酵素タンパク質を耐熱化改良した事例を紹介する[2-4]。

参考文献

- [1] Ulmer, K. M. *Science* 219, 666-671 (1983.)
- [2] Ishikawa, K., Kataoka, M., Yanamoto, T., Nakabayashi, M., Watanabe, M., Ishihara, S., Yamaguchi, S., *FEBS J* 282, 2540-2552 (2015).
- [3] Watanabe, M. Fukada, H., and Ishikawa, K. *Biochemistry* 55, 4399-4409 (2016.)
- [4] Nakabayashi, M., Kamachi, S., Malle, D., Yanamoto, T., Kishishita, S., Fujii, T., Inoue, H., and Ishikawa, K. *Protein Eng Des Sel* 32, 33-40 (2019).

タンパク質結晶学の発展

安岡 則武*

姫路工業大学名誉教授

663- 8113 西宮市甲子園口 4-6-22

*E-mail: nori-yasuoka@nifty.com

1. 分子生物学の誕生

1962年のノーベル賞は、二つの画期的な研究成果に授与された。医学生理学賞は「核酸の分子構造および生体における情報伝達に対するその意義の発見」というタイトルでクリック、ワトソン、ウィルキンスに与えられた。そして化学賞は「球状タンパク質の構造に関する研究」としてペルッツ、ケンドルーに与えられた。この時代に、生命科学の基本となる二つの物質、核酸とタンパク質の役割とその相互の関係が明らかにされた、と言えよう。生命のありようを分子レベルで解明する分野、分子生物学が誕生したのである。

2. ゲノムプロジェクト

ヒトゲノムプロジェクトは1984年に提案され、本格的には1990年代に入って世界的な規模で取り組まれた。ヒトの遺伝情報は、24本の染色体に存在する31億塩基対のDNAに蓄えられている。21世紀に入ってそのデータの解読が終了した。この遺伝子の発現形態がタンパク質であり、それが生体を形作り、機能を発揮させている。このとき、タンパク質に発現される遺伝子の数は、2万個あまりであると推定された。核酸の数が膨大であるにもかかわらず、その数が少ないことは注目に値する。タンパク質に発現される配列はエクソン（翻訳配列）というが、発現されない遺伝子はイントロン（非翻訳、介在配列）と呼ばれ、人類が細菌やウイルスと戦ってきた証拠として残っていると考えられている。

3. タンパク 3000 プロジェクト

「生命はタンパク質の存在様式である」と言ったのはエンゲルスであるが、彼が核酸とタンパク質の関係をどこまで理解していたかは不明である。しかしこの言葉は真実をついている。ゲノムプロジェクトが一段落したあとの課題は、遺伝子の発現であるタンパク質の構造の解明であった。2000年に入って、遺伝情報の発現である、タンパク質の構造を網羅的に解明するプロジェクトが提唱された。アメリカ、ヨーロッパ、日本の三極が歩調を合わせるというものであった。Structural Genomicsと名付けられた。アメリカでは、Protein Structure Initiativeとして7つの大学を拠点とする共同研究がスタートした。日本ではこれを受けて、いわゆるタンパク 3000 プロジェクトが発足することになった。これは、アメリカの提案が、今後10年の間に10,000個のタンパク質の立体構造を解き明かすものであると、解釈され、日本はその3分の1を担うべきである、との考えに立つものであった。理化学研究所を中心に、全国の大学の研究者たちが、数個のプロジェクトに結集して研究が進められた。潤沢な予算のもとに、各大学はX線回折装置、核磁気共鳴装置、生化学関係の実験装置、コンピュータなどが導入され、急速に研究が展開されることになった。このプロジェクトの推進に大きな役割を果たしたのが放射光施設である。

4. 放射光施設

原子核物理学の分野では、高エネルギーの加速器の建設が取り組まれていた。電子や陽子などの荷電粒子を円形の軌道で加速してターゲットに衝突させ、その破壊される状況から核の構造を調べる手がかりを得ようとする研究である。荷電粒子を円形軌道にのせるためには、軌道上に磁石を置いて、その軌道を曲げる必要がある。その際に軌道の接線方向に電磁波が放出されることが観測される。核物理には厄介な現象であったが、その電磁波が原子の電子的な構造の研究に利用されるようになった。さらに、電磁波発生のための専用の軌道（リング）を建設する機運が高まった。こうしてつくばの高エネルギー物理学研究所（当時の名称）にPhoton Factoryが設置された。加速電圧は2.5GeVであり、1983年に供用が開始され、先駆的な業績が多数報告された。このクラスの施設はアメリカやヨー

ヨーロッパでも多数建設され、利用されていたが、さらに高エネルギーの施設が求められるようになる。電磁波の波長をより短波長に、そして強度（輝度）をより高くという要求に応えるためである。ヨーロッパでは、11カ国が応分の資金を出し合って、フランスのグルノーブルに 6GeV の欧州シンクロトロン施設、ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) が建設され 1993 年から利用された。続いてアメリカではシカゴ近郊に 7GeV の APS (Advanced Photon Source) が建設された。

これら各国の動きに遅れまいと、日本では播磨科学公園都市に 8GeV の大型放射光施設の建設が 1990 年から始まり、1997 年に供用が開始された。先に述べたタンパク 3000 プロジェクトがこの施設を活用して飛躍的に発展したのはいうまでもない。エネルギーが 8GeV であることにちなんにちなんで愛称は SPring8 とされている。

5. タンパク質データバンク

こうして、タンパク質結晶構造解析は格段の進歩を遂げることとなった。得られた構造をあらゆる原子座標のデータはタンパク質データバンク (Protein Data Bank) に預け入れられ、誰でも利用できる。アメリカ、ヨーロッパ、日本の 3 か所に同じデータが保有されている。X 線回折法による結果が多数であるが、核磁気共鳴吸収法が含まれ、さらに電子線回折法による構造の蓄積が近年急増している。2020 年末におけるデータ数は 17 万件に達している。タンパク質のデータがそのうち 15 万件を占めており、他は核酸や複合体などである。特筆すべきは、膜タンパク質やその複合体などであり、結晶化が困難な物質について、電子顕微鏡による単粒子回折によって、かなりの分解能の構造が提示されている。

タンパク質、酵素が生体内でどのような機序で作用するか、それが研究の目的の重要なポイントである。酵素のばあい、基質との相互作用が課題であるが、基質との複合体を低温で調製して反応が進まないような状態で構造決定を行う、いわば凍結 (quenching) である。いろいろの工夫が行われている。基質類似体、阻害剤などとの複合体が扱われる。このように、タンパク質とこれに作用する物質、いわゆるリガンドとの複合体の構造はとくに注目され、広く研究され、データが蓄積されている。

6. 最近の発展—創薬を例にとって

生体の作用を強める薬剤を、アゴニスト（作動薬）と呼び、生体の作用を阻害したり、弱めたりする薬剤はアンタゴニスト（拮抗薬）という。いずれにしても生体内で働くタンパク質などに作用して機能を発揮する。薬剤の化学構造、立体構造がその活性と関係するのであり、こうした研究分野は構造活性相関と呼ばれる。その実態はまさに複合体の立体構造の研究であり、創薬 (Drug Discovery) の研究にはタンパク質の立体構造の知見が不可欠である。立体構造に基づく薬剤デザインは Structure-based Drug Design, SBDD と呼ばれる。

ターゲットとなる酵素などが突き止められた場合でも、これを阻害する薬を開発するのは容易ではない。はじめにコンピュータを用いた探索が行われる。比較的低分子の多くの化合物の立体構造をターゲットに対してドッキングを試み、いくつかの候補を見出し、それらの結合した分子が最終的に試される。このような手法が FBDD (Fragment-based Drug Design) と呼ばれる。

エイズのようなウイルスによる感染症の治療には、ウイルスの生活史を解明し、その各段階で働く酵素と突き止め、それに対する阻害剤を開発することによって、治療薬とすることができる。エイズは 1980 年代に感染が広がったが、その後の努力によって、不治の病ではなくなった。昨今世界的に流行している新型コロナウイルスは、エイズウイルスと同じレトロウイルス (RNA ウイルス) であり、ある程度の年月ののちには克服されるであろう。

7. 展望

タンパク質結晶学の成果について、よく語られるものとして創薬への貢献について紹介した。しかし応用の場面は産業利用にも拡張されている。物質の合成には、化学的な変換が用いられるが、立体特異的な反応は難しい。酵素を利用する変換では、一方の光学異性体を優先的に調製するような技術を用いることができる。このような産業利用の方が、むしろ主流である。こうして多くの産業において活用されていくものと考えられる。

光技術が拓く有機・バイオマテリアルの秩序構造形成 ：結晶化から臓器形成まで

吉川洋史*

埼玉大学大学院理工学研究科 さいたま市桜区下大久保 2 5 5

*E-mail: hiroschi@mail.saitama-u.ac.jp

1. はじめに

構成要素である粒子が自発的に凝集・配列して秩序構造をつくる現象を自己組織化という。多数の分子が秩序的に配列する結晶化や、多数の細胞からなる臓器の形成は自己組織化の代表例であり、その自在制御法の開発は物質科学・生命科学における大きな命題である。しかし、多くの有機物質や生体物質は、ファンデルワールス力や水素結合など、「弱い」引力を自己組織化の駆動力としている。その結果、網羅的な条件探索（例：濃度、温度など）やその厳密制御を行ったとしても、所望のサイズ・形状・構造を有する集合体を得ることが困難であるケースが多い。このような背景の下、筆者らは、独自のレーザー計測・制御技術を基盤とし、粒子の性質に頼った従来の受動的な手法ではなく、外部刺激を用いて粒子間相互作用を能動的に制御する、自己組織化制御の新しいアプローチの開発に取り組んできた。本発表ではその中でも結晶化と細胞組織形成の制御の例を取り上げ、概要について紹介する。

2. レーザーによる結晶化の時空間制御

結晶化は、X線構造解析による分子構造の決定、結晶を素子としたデバイス、医薬品など様々な分野で用いられる重要な実験プロセスである。しかし、分子間の引力が弱い結晶（分子結晶）は、網羅的な条件探索を経たとしても所望の結晶を得ることが難しいことが多い。そこで、筆者らは新しい切り口からの結晶化制御法として、短パルスレーザーによる物質破壊現象（レーザーアブレーション、以後はレーザー破壊と呼ぶ）を外部刺激とした、独創的な結晶化制御法を開発してきた[1-5]。本手法では、レーザー破壊によって発生する気泡・転位・噴出物などを基点として、結晶化の2大プロセスである核発生と成長を能動的に制御することが可能である。これまでに、レーザー破壊によって発生する気泡などが溶質を局所的かつ過渡的に濃縮することにより、結晶高品質化に重要である低過飽和条件での結晶核発生や、結晶の多形制御が実現できることを示した [1-3]。また、レーザー破壊により、自由エネルギー的に有利な成長様式（渦巻き成長）を強制的に発生できることを見出し、これを利用して特異な形状・サイズの結晶を得ることが可能であることを示した[4-6]。現在はこれらの手法を用いて、自発的な手法では得ることが難しい高性能な電気光学結晶や医薬品結晶などの作製にも取り組んでいる。

3. 細胞接着強度のレーザー計測法の開発とミニ臓器作製技術への応用

細胞は、外部環境との接着・脱離を巧みに制御しつつ、多細胞による複雑な組織構造を形成する。このような細胞の巧みな接着機構を解明するために、様々なリガンド-レセプター結合が同定され、その分子レベルでの力計測も行われてきた。しかし、生体内の細胞は、特異的な分子間結合だけでなく、様々な物理的な引力・斥力に晒されているが、その総和である細胞レベルの接着強度の定量的な知見が欠けていた。そこで筆者らは、生命現象に規律を与える細胞接着強度を解明することを目的に、

細胞と外部環境との接着強度を定量評価できるレーザー計測技術群を開発してきた[7,8]。本技術では、レーザー誘起圧力波や、レーザー干渉を用いることで、細胞と様々なバイオマテリアルとの間の接着力や接着面積を蛍光染色無しで定量計測することが可能である。実際に、骨細胞[9]、筋肉細胞[10]、血液系細胞[11]、がん細胞[12, 13]など様々な細胞の接着強度を定量評価できることを実証した。さらにこれらの計測結果に基づき、ミニ臓器（器官原基）が形成するための最適な接着環境を定量的に見出すことに成功した[14]。

（謝辞）本研究成果は、大阪大学 増原宏教授（現国立交通大学、台湾）の研究室で培った技術と知識をベースとし、学位取得後に、大阪大学の森勇介教授、ハイデルベルグ大学の田中求教授、東京医科歯科大学の武部貴則教授、埼玉大学の中林誠一郎教授などの様々な先生方のご支援・ご協力を頂きながら、多くの共同研究者と学生と共に取り組んだことで得られたものです。この場を借りて、本研究に関する全ての皆様に深く御礼申し上げます。

参考文献

- [1] H. Y. Yoshikawa, R. Murai, H. Adachi, S. Sugiyama, M. Maruyama, Y. Takahashi, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, H. Masuhara, Y. Mori, *Chem. Soc. Rev.* 43, 2147-2158 (2014).
- [2] H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, H. Masuhara, *Jpn. J. Appl. Phys.* 45, L23-L26 (2006).
- [3] K. Ikeda, M. Maruyama, Y. Takahashi, Y. Mori, H. Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Yoshimura, Y. Mori, *Appl. Phys. Exp.* 8, 045501 (4 pages) (2015).
- [4] Y. Tominaga, M. Maruyama, M. Yoshimura, H. Koizumi, M. Tachibana, S. Sugiyama, H. Adachi, K. Tsukamoto, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, H. Y. Yoshikawa, Y. Mori, *Nat. Photon.* 10, 723-726 (2016).
- [5] D. Suzuki, S. Nakabayashi, H. Y. Yoshikawa, *Cryst. Growth Des.* 18, 4829-4833 (2018).
- [6] C-S. Wu, J. Ikeyama, S. Nakabayashi, T. Sugiyama, H. Y. Yoshikawa, *J. Phys. Chem. C*, 123, 24919-24926 (2019).
- [7] H. Y. Yoshikawa, F. F. Rossetti, S. Kaufmann, T. Kaindl, J. Madsen, U. Engel, A. L. Lewis, S. P. Armes, M. Tanaka, *J. Am. Chem. Soc.* 133, 1367-1374 (2011).
- [8] T. Matsuzaki, G. Sazaki, M. Suganuma, T. Watanabe, T. Yamazaki, M. Tanaka, S. Nakabayashi, H. Y. Yoshikawa, *J. Phys. Chem. Lett.* 5, 253-257 (2014).
- [9] H. Y. Yoshikawa, J. Cui, K. Kratz, T. Matsuzaki, S. Nakabayashi, A. Marx, U. Engel, A. Lendlein, M. Tanaka, *J. Phys. Chem. B* 116, 8024-8030 (2012).
- [10] H. Y. Yoshikawa, T. Kawano, T. Matsuda, S. Kidoaki, M. Tanaka, *J. Phys. Chem. B* 117, 4081-4088 (2013).
- [11] H. Rieger, H. Y. Yoshikawa, K. Quadt, C. P. Sanchez, M. Tanaka, and M. Lanzer, *Blood* 125, 383-391 (2015).
- [12] T. Matsuzaki, K. Ito, K. Masuda, E. Kakinuma, R. Sakamoto, K. Iketaki, H. Yamamoto, M. Suganuma, N. Kobayashi, S. Nakabayashi, T. Tanii, H. Y. Yoshikawa, *J. Phys. Chem. B* 120, 1221-1227 (2016).
- [13] S. Togo, K. Sato, R. Kawamura, N. Kobayashi, M. Noiri, S. Nakabayashi, Y. Teramura, H. Y. Yoshikawa, *APL Bioeng.* 4, 016103 (8 pages) (2020).
- [14] T. Takebe, M. Enomura, E. Yoshizawa, M. Kimura, H. Koike, Y. Ueno, T. Matsuzaki, T. Yamazaki, T. Toyohara, K. Osafune, H. Nakauchi, H. Y. Yoshikawa, H. Taniguchi, *Cell Stem Cell* 16, 556-565 (2015).

細胞自己凝集化技術を用いた生体模倣組織構築 ーバイオインフォマティクスとの融合は可能かー

岩井 良輔

岡山理科大学 フロンティア理工学研究所 岡山市北区理大町 1-1

*E-mail: iwai@ifst.ous.ac.jp

研究概要

我々は、細胞の自己凝集化誘導技術（Cell self-Aggregation induction Technology: CAT）を開発した。CAT 用のポリマー溶液を塗布した培養表面に高密度に播種した細胞は接着し隙間のない細胞単層を形成した後、1日足らずの培養の間にポリマーから自発的に剥離すると同時に一体凝集化を生じて単一の細胞凝集塊を形作る[1-3]。CAT 用のポリマーの塗布形状や数を設計することで、その二次元の形状に沿って 3 次元化した細胞凝集塊が飛び出す絵本のようにして培養皿上で自発的に形成する（図 1A）。

これまでに、ポリマー溶液をインクジェット装置により高精細にドット印刷塗布することで、任意のサイズの均一な球状の細胞凝集体を従来の市販品を用いた 300 倍以上の生産密度で超高効率に作製することに成功した。また、凝集による形状変化をシリコン製の培養鋳型を用いて制御することで、リング状の気管軟骨模倣体やファイバー状の筋線維模倣体など器官固有の形状を再現した組織体を作製することにも成功してきた（図 1B）。

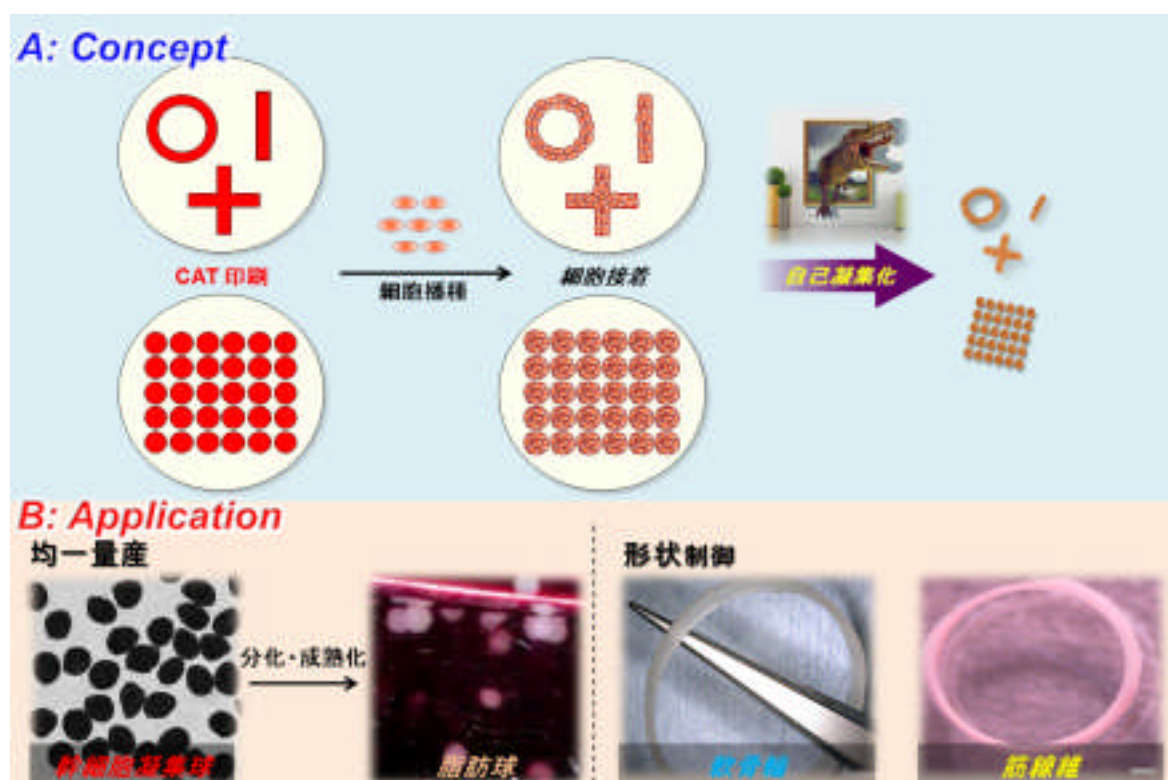


図 1 細胞の自己凝集化誘導技術（CAT）を用いた組織作製の概念（A）と応用例（B）

本講演では、CAT を用いた新規の 3 次元組織体の作製法の概念と再生医療や創薬試験への応用展開例について紹介するとともに、そのバイオインフォマティクスとの融合による形状、構造と機能を併せ持つ真に生体組織を代替し得るような生体模倣組織体の創出への可能性についても議論したい。

参考文献

- [1] Iwai R, Nemoto Y and Nakayama Y., *Biomaterials.*, 34(36),9096-102(2013).
- [2] Iwai R, Nemoto Y and Nakayama Y., *J Biomed Mater Res A.*,104(1),305-12(2016).
- [3] Iwai R, Haruki R, Nemoto Y and Nakayama Y., *J Biomed Mater Res BAppl Biomater.*, 105(5), 1009-15(2017).