



# PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.134

2024年10月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<https://peptide-soc.jp/>

## 第 61 回ペプチド討論会の開催にあたって ～ようこそ名古屋へ～

第 61 回ペプチド討論会を、愛知県名古屋市にある名古屋大学東山キャンパスで、10月29日(火)から31日(木)にかけて開催します。名古屋市は、東海道新幹線のすべての列車が停車し、セントレア空港からも近い、アクセスの良い地域です。歴史的には、織田信長、豊臣秀吉、徳川家康の三英傑が活躍した地で、名古屋城(2009年から約150億円、10年をかけて復元した御殿が有名)、万松寺(信長が抹香を信秀公の位牌に投げつけた逸話で知られる)、徳川園(尾張徳川家の庭園や宝物)など、多くの史跡があります。

討論会の会場となる名古屋大学の豊田講堂は、名古屋駅から乗り継ぎ(東山線 - 名城線)を含めて約30分とアクセスが便利な場所にあります。名古屋大学駅を降りると、広がる緑の芝生の向こうに、堂々とした豊田講堂が見えます。この建物は鉄筋コンクリートを基調とした堅牢な構造と、中央が隆起した独特な屋根のデザインが特徴で、日本のモダニズム建築の代表作の一つです。2011年にはその歴史的価値と優れたデザインが認められ、国の登録有形文化財に指定されています。晴れた日には、緑の芝生、モダンな豊田講堂、そして青い空が印象的な風景を作り出します。

口頭発表が行われる会場は1,600席を有し、多くの参加者を収容できます。また、ホールには200件近いポスター発表が可能なスペースがあり、口頭発表会場、ポスター発表会場、企業ブースが近接しているため、スムーズな発表が可能です。さらに、大学生協が近くにあり、昼食の心配もありません。懇親会は、新しい大学生協の建物で、10月30日に開催します。

海外からの招待講演者として、通常より多い6名の先生方をお招きしています: Prof. Junfeng Zhao (広州医科大学, 中国), Prof. Oliver Hantschel (フィリップス大学マールブルク, ドイツ), Prof. Shibo Jiang (復旦大学, 中国), Prof. EE Pui Lai Rachel (シン



村上 裕



林 剛介

ガポール国立大学, シンガポール), Prof. Soonsil Hyun (忠北大学校, 韓国), Prof. Hyun Jin Kim (仁荷大学校, 韓国)。いずれの先生方も非常にアクティブに研究を進めており、学会や懇親会での積極的な交流が期待されます。

また、日本ペプチド学会賞受賞講演では、前学会長の坂口和靖先生(北海道大学)が「ペプチド科学を基盤とした生命現象における多量体化および複合体形成を介した機能制御機構の解明とその応用」について講演されます。さらに、日本ペプチド学会奨励賞受賞講演として、稲葉央先生(鳥取大学)、河野健一先生(京都大学)のご講演も予定されています。招待講演および受賞講演を含め、口頭発表は約50件、ポスター発表は150件以上を予定しています。名古屋というアクセスの良さから、多くのお申し込みをいただき、ありがとうございます。時間の制約により、口頭発表にお申し込みいただいた一部の方にポスター発表をお願いしましたこと、ご理解とご協力に感謝申し上げます。

討論会終了後の11月2日(土)13:30~16:30には、名古屋大学工学部1号館で日本ペプチド学会市民フォーラム2024も開催されます。アカデミックからは、本学会会長の高章先生、名古屋大学の本多裕之先生にご講演をお願いしております。本市民フォーラムにも、ぜひご参加ください。

本討論会の開催にあたり、多くの企業・財団から出展、協賛、ご寄附、要旨集広告やウェブページ・パンナー広告、ランチョンセミナーのお申し込みをいただきましたこと、厚くお礼申し上げます。また、討論会の準備や運営、プログラム編成等にご尽力いただいた実行委員の皆様、特に布施新一郎先生(名古屋大学)、山崎直人先生(名古屋大学)、愛場雄一郎先生(名古屋大学)、清水一憲先生(名古屋大学)、秋山裕和先生(名古屋大学)、大石俊輔先生(名古屋大学)、玉村啓和先生(東京科学大学)に、深く感謝申し上げます。ペプチド学会事務局の宮嶋令子様ならびに森川和憲様には、事務処理や折衝、討論会ホームページおよびオンライン評価登録システムの構築に多大なご支援をいただきました。この場をお借りして、心よりお礼申し上げます。

本討論会を共催いただく日本化学会、日本生化学会、日本蛋白質科学会、日本薬学会、名古屋大学工学部、名古屋大学未来社会創造機構ナノライフシステム研究所、後援いただく日本ケミカルバイオロジー学会、日本農芸化学会、有機合成化学協会様にも、深く感謝申し上げます。

第 61 回ペプチド討論会が、会員の皆様による活発な情報交換や共同研究の推進、さらには国内外の交流の機会となるよう、全力を尽くしてまいります。本討論会が、ペプチド科学の一層の発展に寄与できることを心より願っております。

むらかみ ひろし  
 ( 名古屋大学 大学院工学研究科  
 murah@chembio.nagoya-u.ac.jp )  
 はやし ごうすけ  
 ( 名古屋大学 大学院工学研究科  
 hayashi@chembio.nagoya-u.ac.jp )

## セレノグルタチオンの抗ストレス作用

### 1. はじめに

セレンは生体必須微量栄養素であり、生体内では通常セレノシステイン (Sec) として存在し、様々な酵素の反応中心に含まれている。Sec はシステイン (Cys) の硫黄原子がセレン原子に置換した天然アミノ酸であり、21 番目のタンパク質構成アミノ酸として知られている<sup>1</sup>。一方、グルタチオン (GSH) は  $\gamma$ -Glu-Cys-Gly の分子構造をもつ 3 残基の水溶性ペプチドであり、細胞内に豊富に存在し、フリーラジカルや過酸化物質などの活性酸素種 (ROS) を分解する一方で、糖化ストレスの原因となるメチルグリオキサール (MG) を分解したり、有害な細胞内異物と反応してこれを無毒化したりするなど、生体内のレドックス恒常性の維持とストレス解消に重要な役割を果たしている<sup>2,3</sup>。セレン原子は硫黄原子よりも高い求核性と酸化還元反応性をもつので、GSH を構成する Cys の代わりに Sec をもつセレノグルタチオン (GSeH, **1**) は、GSH よりも高いレドックス活性や抗ストレス作用を示すものと期待される。本稿では、我々が最近明らかにした非天然トリペプチドである **1** のユニークな反応性<sup>4</sup>について紹介する。



岩岡 道夫

### 2. GSeH (1) の発生活法

GSeH (**1**) のセレノール基 (-SeH) は溶存酸素によっても容易に酸化されるため、セレノグルタチオンは通常ジセレニド体 (GSeSeG, **2**) として単離され

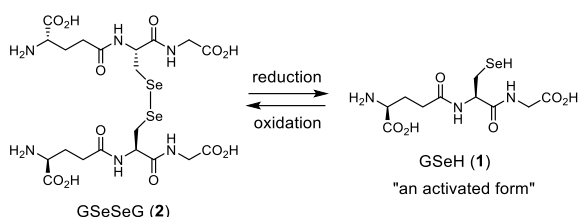
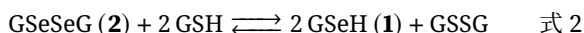
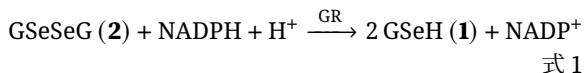


図 1 セレノグルタチオンの構造と酸化還元反応

る。ジセレニド **2** は安定な化合物で、室温で放置してもすぐには分解されない。このことは、逆に **2** を還元して得られる GSeH (**1**) が高い反応性 (還元性) をもつことを示している (図 1)。セレノグルタチオンのユニークな反応性を引き出すには、ジセレニド **2** を何らかの方法で活性化してセレノールの状態へと変換する必要がある。

Hilvert らは以前、ジセレニド **2** はグルタチオンレダクターゼ (GR) の存在下、NADPH で還元されてセレノール **1** を生じることを報告した<sup>5</sup> (式 1)。**2** はグルタチオン酸化体 (GSSG) と構造的にほぼ等価であるので、GR の基質となるのである。**2** の GR に対する基質親和性は GSSG の GR に対するその約 10 分の 1 であると報告されている<sup>5</sup>。実際に、我々がリン酸緩衝生理食塩水中 37°C において **2** (0.5 mM) と NADPH (1.5 mM) と GR (10 units/mL) を 10 分間混合したところ、89% の変換率で **1** が生成していることが、HPLC 分析から明らかになった (図 2)。一方、本稿では省略するが、セレノール **1** はジセレニド **2** と過剰量の GSH との反応によっても生成することが最近明らかになった<sup>4</sup> (式 2)。これらの結果は、細胞内において **2** は酵素反応 (式 1) および非酵素反応 (式 2) のいずれによっても活性化されて、**1** が発生することを示唆している。



### 3. GSeH (1) の抗酸化ストレス作用

グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) は Sec を活性中心にもつ抗酸化酵素で、生体内で発生した過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) やヒドロペルオキシド (ROOH) を GSH を用いて無害な水やアルコールに分解する。

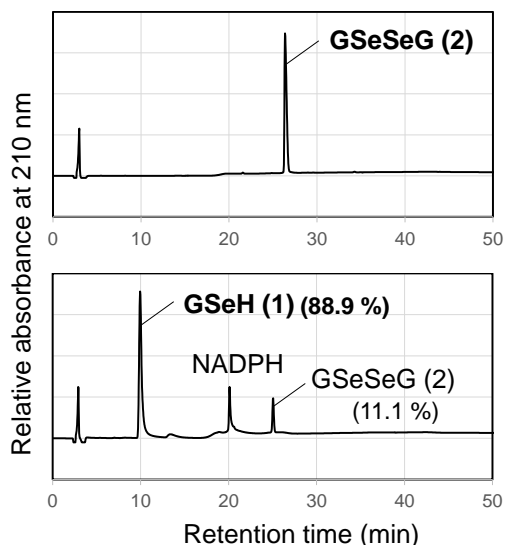
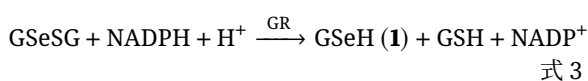


図 2 酵素反応による GSeSeG (**2**) から GSeH (**1**) の生成。上段は反応前、下段は反応後の HPLC チャート。反応条件は本文中に記載。文献 4 を参考に作成。

我々は以前、無細胞系において GSeSeG (2) が高い GPx 様の触媒活性を示すことを報告した<sup>6</sup>。式 1 の反応によって生じた GSeH (1) は H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> と速やかに反応してセレネン酸 GSeOH と H<sub>2</sub>O を生じる。GSeOH は GSH と素早く反応してセレンスルフィド GSeSG となる。GSeSG は安定な中間体であり、NMR で反応を追跡した限りでは、これに過剰の GSH を加えても GSeH (1) に還元されることはなかった。しかし、GSeSG は 2 と同じく GSSG と構造的に等価であり、GR と NADPH の共存下では還元されて 1 を再生するものと考えられる (式 3)。2 が高い GPx 様活性を示したのは、安定な GSeSG 中間体が GR の作用によって還元されるためであろう。我々は、合成した 2 を用いて一連の反応を <sup>77</sup>Se NMR によって追跡し、反応中間体のいくつかを観測することに成功した<sup>7</sup> (図 3)。



#### 4. GSeH (1) の抗糖化ストレス作用

メチルグリオキサール (MG) は終末糖化産物 (AGEs) の前駆物質の一つであり、細胞に糖化ストレスをもたらす要因物質である。グリオキサラーゼ I (GLO1) は GSH を用いて MG を分解する酵素である<sup>8,9</sup> (図 4)。GSH は MG と反応してヘミチオアセタール中間体を生成し、その後 GLO1 の作用によって S-ラクトイルグルタチオンへと異性化する。GR と

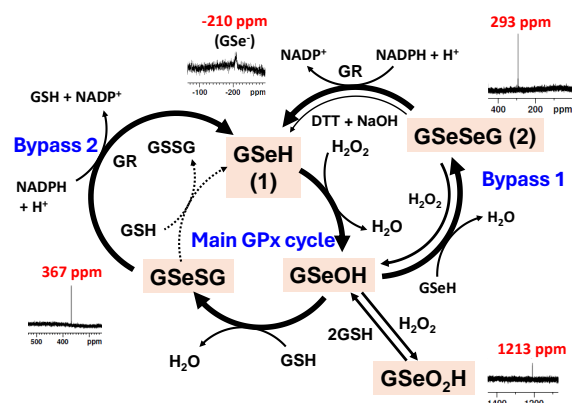


図 3 GSeSeG (2) の GPx 様触媒サイクル。観測された中間体の <sup>77</sup>Se NMR スペクトルを図中に示した。文献 7 を参考に作成。

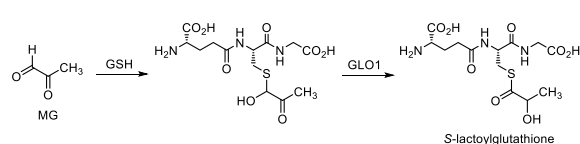


図 4 メチルグリオキサール (MG) と GSH との反応

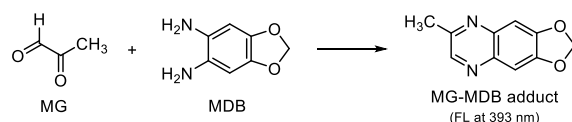


図 5 メチルグリオキサール (MG) と MDB との反応

NADPH を用いて GSeSeG (2) から発生させた GSeH (1) に、当量の MG を加えて反応させ、反応溶液中の未反応の MG の割合を測定した。未反応の MG は 1,2-ジアミノ-4,5-メチレンジオキシベンゼン二塩酸塩 (MDB) と反応させ、生成した MG-MDB 付加物を 393 nm での溶液の蛍光強度によって定量した<sup>10</sup> (図 5)。その結果、MG が 1 の存在下で急速に消費された (30 分で約 50%) のに対し、GSH と MG の間の反応は遅いことが分かった (図 6)。この反応では 1 と MG との間の反応生成物を同定することはできなかったが、GR および NADPH の存在下で GSeSeG (2) が GLO1 様の抗糖化ストレス活性を示すことが確認できた。

以上の検討から、2 が GPx 様および GLO1 様のメカニズムを通じて抗ストレス作用をもつことが明らかになった。したがって、2 は GPx および GLO1 の効果的な酵素ミミックであり、細胞内の酸化ストレスおよび糖化ストレスを抑制するためのプレ触媒として適用できる可能性が示された。

#### 5. GSeSeG (2) の HeLa 細胞に対する抗ストレス作用

GSeSeG (2) の生体内における機能検証については、Hilvert らが以前 2 を *in vivo* でのタンパク質フォールディング試剤として応用した例がある<sup>11</sup>が、それ以外の研究例は報告されていない。そこで、我々は生きた細胞を用いて、2 の抗ストレス活性を評価することにした。まずは、取り扱いやすい HeLa 細胞を用いた実験系を構築した。HeLa 細胞を事前に 2 で処理し、その後 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM) の添加により細胞を酸化ストレスに晒した。2 と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の濃度は、細胞生存率が 50% 前後に保たれるように事前に調整した。前処理の間に、2 は細胞内に取り込まれ、NADPH と GR (式 1)、あるいは高濃度の GSH (式 2) によって

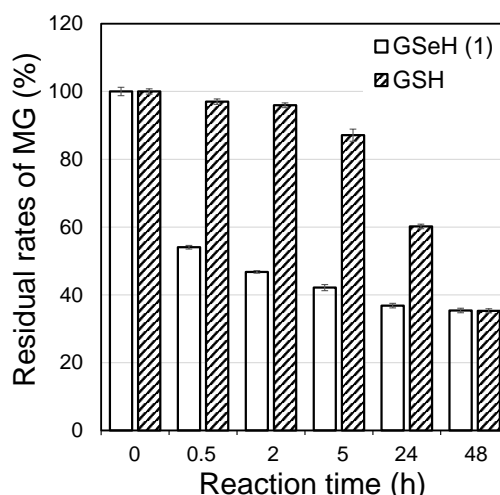


図 6 GSeH (1) (または GSH) による抗糖化ストレス活性。反応条件：リン酸緩衝生理食塩水中、0.5 mM GSeH (1) (または GSH) と 0.5 mM MG を 37°C で 0~48 時間反応。未反応 MG の割合は、反応液の一部を取り出して MDB を加え、393 nm の蛍光強度を用いて定量。文献 4 を参考に作成。

GSeH (1) に還元され、これが図 3 に示した抗酸化サイクルを通じて  $\text{H}_2\text{O}_2$  によって引き起こされる酸化ストレスを軽減すると予想した。観測された HeLa 細胞の生存率を図 7 に示す。

$\text{H}_2\text{O}_2$  を添加しないとき、細胞を 25 または 50  $\mu\text{M}$  の **2** で処理しても細胞生存率は一定 (約 100%) に保たれた。このことは、**2** が少なくとも濃度 50  $\mu\text{M}$  までは無毒であることを示している。**2** のこの特性は、HeLa 細胞に対して強い毒性を示す亜セレン酸 ( $\text{LD}_{50} = 1.2 \mu\text{M}$ ) と比較して顕著な違いがあった<sup>12</sup>。一方、 $\text{H}_2\text{O}_2$  を添加すると、同じ濃度の GSH と GSSG で前処理した細胞は生存率が大幅に減少し (それぞれ 44% と 33%)、コントロールと比較しても細胞生存率の改善は観察されなかった。GSH および GSSG はすでに細胞質内に高濃度で存在しているため、これらの結果は、1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  によって引き起こされる酸化ストレスが強すぎて、通常の濃度レベルの GSH および GSSG では緩和できないことを示している。対照的に、**2** で前処理した細胞は、細胞生存率が 80% 以上に改善した。**2** の抗酸化能力をより定量的に評価するために、1.2 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  による酸化ストレスに対する HeLa 細胞の生存率を **2** の濃度を変化させて測定したところ、0.5  $\mu\text{M}$  という低濃度の **2** によっても細胞の生存率が 21% から 57% に向上することがわかった。細胞膜を介した **2** の細胞内への取り込みのメカニズムは不明だが、細胞生存率アッセイの結果は **2** が細胞内に侵入し抗酸化ストレス活性を発揮したことを明確に示すものである。本稿では省略するが、 $\text{H}_2\text{O}_2$  による酸化ストレスと同様に、MG 添加による糖化ストレスに対しても **2** が抗ストレス活性を示すことが、我々の別の実験から示されている<sup>4</sup>。

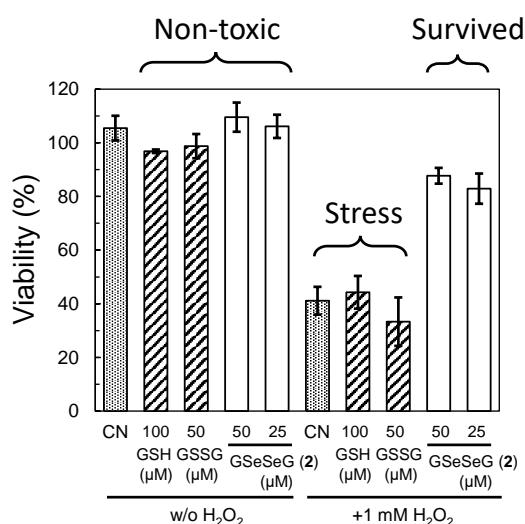


図 7 HeLa 細胞を用いた  $\text{H}_2\text{O}_2$  に対する細胞生存率アッセイの結果。細胞を GSH, GSSG, または GSeSeG (2) で前処理した後に  $\text{H}_2\text{O}_2$  によるストレスを与えた。細胞生存率はキシレノールオレンジ処理することにより求めた。CN: コントロール。文献 4 を参考に作成。

## 6. おわりに

セレノグルタチオンがもつユニークな反応性の応用として、以前にタンパク質の酸化付着のフォールディング試薬としての応用<sup>5,7,13,14</sup>, ラジカルスカベンジャーとしての利用<sup>15,16</sup>, 有機水銀との反応の検討<sup>17</sup>, などが報告されている。これらに加えて、本稿で述べたように、我々は最近セレノグルタチオンが GPx 様および GLO1 様の抗ストレス作用をもつことを明らかにした。細胞を用いた実験でもセレノグルタチオンが同様の作用をもつことを明らかにした点は、重要な成果である。GSeSeG (2) は安定で細胞毒性も低いことから、**2** を抗ストレス剤として臨床応用できる可能性がある。**2** を薬剤として応用するまでには、**2** の細胞内への取り込みメカニズムの解明、細胞内での **2** のリサイクルシステムを含む代謝産物の解析と同定など、様々な課題に引き続き取り組む必要がある。

最後に、本稿で述べた研究は、国内外の多くの研究者との共同研究によって進められました。お世話になった方々にこの場を借りて深く感謝申し上げます。特に、大阪大学蛋白質研究所の北條裕信教授と武居俊樹助教には、研究の当初よりペプチド合成のノウハウを丁寧にご教授頂きました。GSeSeG (2) の効率的な合成法は当研究室の卒業生である下平伸吾博士により確立されました。無細胞系および細胞系での **2** の活性評価は東海大学工学部の金森審子教授との共同研究で進められました。さらに、実験に熱心に取り組んでもらった研究室の学生諸君にも感謝申し上げます。

## 参考文献

- Turanov, A.A.; Xu, X.M.; Carlson, B.A.; Yoo, M.H.; Gladyshev, V.N.; Hatfield, D.L. *Adv Nutr* 2011, 2, 122-128.
- Vašková, J.; Kočan, L.; Vaško, L.; Perjési, P. *Molecules* 2023, 28, 1447.
- Georgiou-Siafis, S.K.; Tsiftoglou, A.S. *Antioxidants* 2023, 12, 1953.
- Kanamori, A.; Egawa, N.; Yamasaki, S.; Ikeda, T.; Rocha, M.J. da; Bortolotto, C.F.; Savagnano, L.; Brüning, C.A.; Iwaoka, M. *Pharmaceuticals* 2024, 17, 1049.
- Beld, J.; Woycechowsky, K.J.; Hilvert, D. *Biochemistry* 2007, 46, 5382-5390.
- Yoshida, S.; Kumakura, F.; Komatsu, I.; Arai, K.; Onuma, Y.; Hojo, H.; Singh, B.G.; Priyadarsini, K.I.; Iwaoka, M. *Angew Chem Int Ed* 2011, 50, 2125-2128.
- Shimodaira, S.; Asano, Y.; Arai, K.; Iwaoka, M. *Biochemistry* 2017, 56, 5644-5653.
- Thornalley, P.J. *Biochem Soc Trans* 2003, 31, 1343-1348.
- Distler, M.G.; Palmer, A.A. *Front Genet* 2012, 3, 250.
- Ogasawara, Y.; Tanaka, R.; Koike, S.; Horiuchi, Y.; Miyashita, M.; Arai, M. *J Chromatogr*



- B 2016, 1029–1030, 102–105.
11. Beld, J.; Woycechowsky, K.J.; Hilvert, D. *ACS Chem Biol* 2010, 5, 177–182.
  12. Richard, M.J.; Guiraud, P.; Didier, C.; Seve, M.; Flores, S.C.; Favier, A. *Arch Biochem Biophys* 2001, 386, 213–220.
  13. Beld, J.; Woycechowsky, K.J.; Hilvert, D. *Biochemistry* 2008, 47, 6985–6987.
  14. Beld, J.; Woycechowsky, K.J.; Hilvert, D. *J Biotechnol* 2010, 150, 481–489.
  15. Steinmann, D.; Nauser, T.; Beld, J.; Tanner, M.; Günther, D.; Bounds, P.L.; Koppenol, W.H. *Biochemistry* 2008, 47, 9602–9607.
  16. Carroll, L.; Gardiner, K.; Ignasiak, M.; Holmehave, J.; Shimodaira, S.; Breitenbach, T.; Iwaoka, M.; Ogilby, P.R.; Pattison, D.I.; Davies, M.J. *Free Radic Biol Med* 2020, 155, 58–68.
  17. Khan, M.A.K.; Asaduzzaman, A.M.; Schreckenbach, G.; Wang, F. *Dalt Trans* 2009, 5766–5772.

いわおか みちお  
東海大学 理学部化学科  
東海大学 先進生命科学研究所  
miwaoka@tokai.ac.jp  
<http://www.sc.u-tokai.ac.jp/IwaokaLab.htm>

## δ-セレノリシンを介したユビキチン化反応

### 1. はじめに

高知大学理工学部の和泉雅之と申します。このたびは、本ペプチドニュースレターに寄稿する機会をいただきありがとうございます。お声かけいただいた大阪大学蛋白質研究所の武居俊樹先生に心より御礼申し上げます。

筆者がタンパク質化学合成に携わることとなったきっかけは、大阪大学大学院理学研究科の梶原康宏教授のもとで ERATO 伊藤グライコトリロジープロジェクトに研究員として参加させていただいたことです。このプロジェクトでは、小胞体内の糖タンパク質品質管理機構において糖タンパク質のフォールディング状態を見分けているフォールディングセンサー酵素 UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase (UGGT) の基質認識に関する研究をおこないました。UGGT はハイマンノース型 M9 糖鎖を有する糖タンパク質のフォールディング状態を識別し、天然型にフォールディングしていない糖タンパク質にだけグルコースを転移します。そして、このグルコースを含む G1M9 糖鎖を認識するシャペロンであるカルネキシン/カルレティキュリンが天然型へのフォールディングを促進



和泉 雅之

します。この機構は、カルネキシンサイクルと呼ばれています。筆者は、UGGT の基質として意図的にミスフォールドされた糖タンパク質プローブの合成を行いました<sup>1</sup>。その後、大阪大学梶原研究室で講師、准教授を務め、カルネキシンサイクルでは天然型にフォールディングできなかったミスフォールド糖タンパク質のユビキチン - プロテアソーム系での分解機構解明のためのプローブとして、ユビキチン化糖タンパク質の化学合成に取り組みました。2017 年に高知大学理工学部化学生命理工学学科教授として着任し、引き続きユビキチン化反応の開発をおこなっています。本稿ではこの研究について紹介いたします。

### 2. ユビキチン化反応

ユビキチン (Ub) は、酵母からヒトまですべての真核生物で高度に保存されているアミノ酸 76 残基からなる小さなタンパク質です。ユビキチン化とは、ユビキチンの C 末端カルボキシ基が別のタンパク質中のリシン側鎖アミノ基とイソペプチド結合を形成する翻訳後修飾です。ユビキチンは 7 つのリシン残基を有しており、N 末端を含む 8 つのアミノ基を介した多様なポリユビキチン鎖を形成することで、タンパク質の分解、シグナル伝達、DNA 修復など多様な生理活性を示します。それぞれのポリユビキチン鎖の機能を調べるためのプローブとして、構造の明確なポリユビキチン鎖が化学合成されています。構造の明確なユビキチン化タンパク質プローブの合成には、大きく分けて、1) 補助基を介した連結反応、2) δ-または γ-メルカプトリシンを介した連結反応、3) isoUb 連結反応の 3 つの戦略が使われています。これらの詳細については総説を参照してください<sup>2</sup>。本稿では、筆者の利用した δ-メルカプトリシンを介した連結反応であるイソペプチドケミカルライゲーションについて説明します。

### 3. δ-メルカプトリシンを介したユビキチン化反応

化学選択的なユビキチン化反応として、Brik らは δ-メルカプトリシンを介したイソペプチドケミカルライゲーション (ICL) 法を開発しました<sup>3</sup>。ICL 法とは、ユビキチン-α-チオエステルと δ-メルカプトリシンがチオール - チオエステル交換反応と引き続く δ-S → ε-N アシル転移反応により、ネイティブケミカルライゲーション (NCL) 法と同様の反応機構でイソペプチド結合を形成する合成法です (図 1, X = S)。彼らは、ICL 法を用いてポリユビキチン化 α-シヌクレイン<sup>4</sup>やユビキチン化グリコシル化 H2B<sup>5</sup>などの精密化学合成を報告しています。

我々は、この ICL 法を利用してユビキチン化糖タンパク質プローブの合成を行いました<sup>6</sup>。糖タンパク質には、合成報告のあるケモカイン CCL1 を選択し<sup>7</sup>、糖鎖には糖タンパク質の小胞体関連分解に関与する M9 糖鎖を選択しました。73 残基の CCL1 にはシステインが 6 残基あり、糖ペプチドを含む 3 つのペプチドセグメント [CCL1(1-25), CCL1(26-29N(M9)-32), CCL1(33-42mercaptoK-73)] に分割し、NCL で連

結して合成することとしました。ICL 法では、イソペプチド結合形成後に  $\delta$  位のメルカプト基を脱硫化により水素に変換する必要があります。そのため、CCL1 中のシステイン側鎖はアセトアミドメチル (Acm) 基で保護しました。まず、NCL により CCL1(26-29N(M9)-32) と CCL1(33-42mercaptoK-73) を連結して CCL1(26-73) を合成し、次にユビキチン- $\alpha$ -チオエステルを ICL 法により連結しました。その後、脱硫化と Acm 基の脱保護をおこない、最後に NCL により CCL1(1-25) を連結して目的とするユビキチン化 M9 糖鎖含有 CCL1 を得ました (図 2)。このように、ICL 法を用いて糖鎖とユビキチンという二つの翻訳後修飾を受けた複雑なプローブの合成に成功しましたが、 $\delta$ -メルカプトリシンを介した ICL 法では脱硫化が必要であるため、ジスルフィド結合を有する糖タンパク質などのユビキチン化プローブを合成するためにはそれぞれの糖タンパク質に適した合成戦略を考える必要があり、一般的なユビキチン化糖タンパク質の合成法とするには効率的ではないと考えました。

#### 4. $\delta$ -セレンリシンを介したイソペプチド結合形成反応

上述のように、糖タンパク質などシステイン残基を有するタンパク質のユビキチン化プローブの合成に ICL 法を用いると、合成ルートが多段階で複雑になってしまいます。NCL-脱硫化を用いたタンパク質化学合成において、連結部位にシステインの代わりにセレンシステインを用いることで、もともと含まれているシステイン残基の側鎖を遊離のままに化学選択的に脱セレン化できることが報告されています<sup>8</sup>。そこで、我々は ICL 法に  $\delta$ -セレンリシンを利用すれば、システイン側鎖を保護することなくイソペプチド結合形成-脱セレン化が可能であると考えました<sup>9</sup> (図 1, X = Se)。

まず、 $\delta$ -セレンリシンの新規合成法を確立しました。Metanis らは  $\gamma$ -セレンリシンを介したイソペプチド形成反応を報告していますが、その中で L-グルタミン酸を出発原料とする  $\delta$ -セレンリシンの合成は成功しなかったと報告しています<sup>10</sup>。我々は、ラセミ体である市販の  $\delta$ -ヒドロキシ-DL-リシンを出発原料とし、求核置換反応により  $\delta$  位にセレンを導入したのち、側鎖の  $\delta$  位のセレンと  $\epsilon$  位のアミノ基をセテナゾリジンとして保護しました。そして、L-アミノアシラーゼにより L 体だけの  $\alpha$  位の脱アセチル化をおこなうことで光学分割し、 $\alpha$  位を Fmoc 基で保護した  $\delta$ -セレン-L-リシン誘導体を得ました (図 3)。

次に、 $\delta$ -セレンリシンを介したイソペプチド結合形成反応 (セレンイソペプチドケミカルライゲーション: SeICL) を確立するため、K48 連結型ジユビキチンの合成を検討しました (図 4)。まず、Fmoc- $\delta$ -セレン-L-リシン誘導体を用いて、Fmoc 固相合成により 48 位に  $\delta$ -セレンリシンを有する Ub(45C-48selenoK-76)-ヒドラジドと Ub(45C-76)-チオエステルを合成しました。そして、Ub(45C-48selenoK-76)-ヒドラジドの側鎖セテナゾリジンを脱保護した後、還元剤であるトリリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン (TCEP) 存在下で pH 6.5 の 6 M グアニジン塩酸塩-リン酸緩衝液中で Ub(C45-76)-チオエステルとの SeICL をおこない、引き続き過剰量の TCEP を加えて脱セレン化をおこなったところ、目的とする生成物は得られたものの、酸化により  $\delta$ -ヒドロキシリシンに変換された副生成物、セテナゾリジンの脱保護で遊離したホルムアルデヒドと TCEP がヒドラジドに付加したと考えられる副生成物など、複雑な混合物を与えました (図 4A)。副反応を考慮して種々条件検討をおこない、ホルムアルデヒドのスカベンジャーとしてメトキシアミンを添加し、反応液を十分脱気することで、目的物であるイソペプチド結合したジユビキチン (45-76) ペプチドを

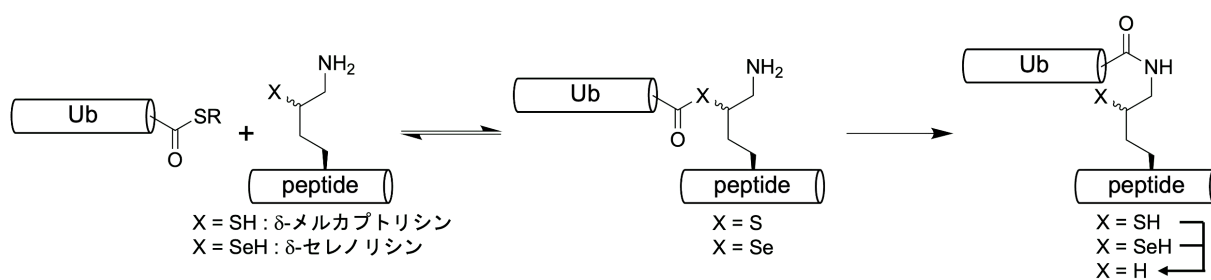


図 1  $\delta$ -メルカプトリシン (X = S) および  $\delta$ -セレンリシン (X = Se) を介したユビキチン化反応

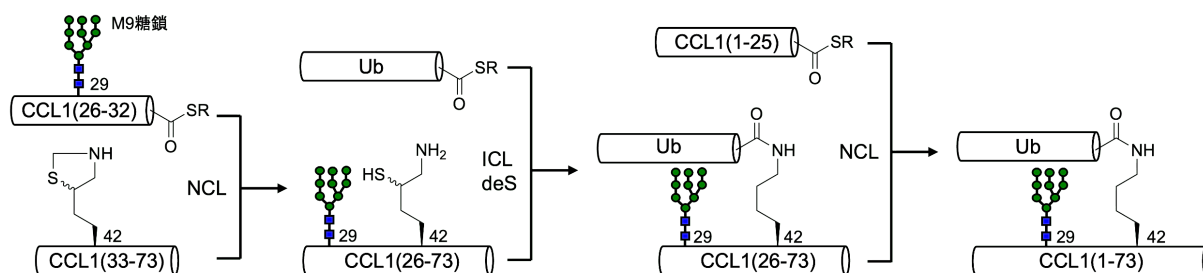


図 2 ユビキチン化 M9 糖鎖含有 CCL1 の合成ルート

3 工程ワンポットで純度よく得ることに成功しました (図 4B)。

## 5. おわりに

以上、我々はユビキチン化タンパク質プローブの合成に有用な  $\delta$ -セレンリシンを介したイソペプチド結合形成反応を開発しました。まず、酵素による光学分割を利用した Fmoc- $\delta$ -セレン-L-リシン誘導体の合成法を確立しました。続いて、 $\delta$ -セレンリシンを介したイソペプチド結合形成反応の反応条件を最適化しました。この反応では、 $\delta$ -メルカプトリシンを介した連結反応と比べて、ワンポットでの脱セレン化により一段階で天然型のイソペプチド結合が合成できる利点があります。一方、セレンを介した連結反応は、容易にジセレンドを形成する、脱セレン化の際の酸化、など硫黄を介した連結反応では見られないさまざまな副反応があり、これらを予測した反応条件の最適化が重要になります。

最後になりましたが、本研究を始める機会をいただきました大阪大学大学院梶原康宏教授、一緒に実験を進めてくれた大阪大学大学院荒木浩行氏、田中勇祐氏、高知大学大学院秋山龍成氏に深く感謝いたしま

す。また、本研究は内藤記念科学振興財団研究助成、科研費 JP17H02211, JP21K05311, JP21H05028 の支援を受けて実施されました。この場を借りて感謝申し上げます。

## 参考文献

1. Izumi, M.; Makimura, Y.; Dedola, S.; Seko, A.; Kanamori, A.; Sakono, M.; Ito, Y.; Kajihara, Y., *J Am Chem Soc* 2012, 134, 7238–7241.
2. Huppelschoten, Y.; van der Heden van Noort, G.J., *Semin Cell Dev Biol* 2022, 132, 74–85.
3. Kumar, K.S.A.; Haj-Yahya, M.; Olschewski, D.; Lashuel, H.A.; Brik, A., *Angew Chem Int Ed* 2009, 48, 8090–8094.
4. Haj-Yahya, M.; Fauvet, B.; Herman-Bachinsky, Y.; Hejjaoui, M.; Bavikar, S.N.; Karthikeyan, S.V.; Ciechanover, A.; Lashuel, H.A.; Brik, A., *Proc Nat Acad Sci USA* 2013, 110, 17726–17731.
5. Seenaiyah, M.; Jbara, M.; Mali, S.M.; Brik, A., *Angew Chem Int Ed* 2015, 54, 12374–12378.
6. Izumi, M.; Araki, H.; Tominaga, M.;

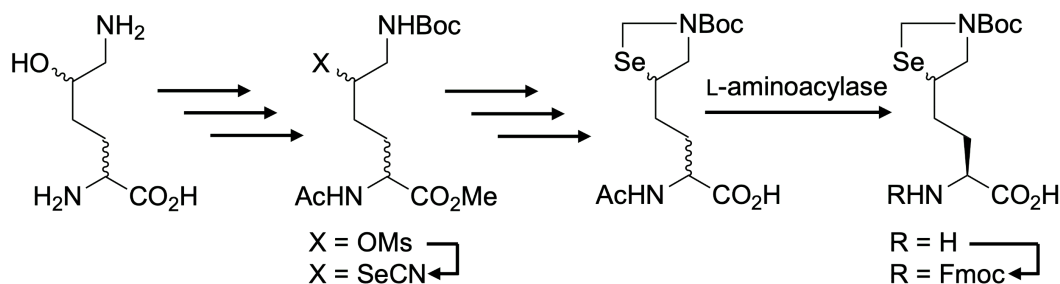


図 3 Fmoc- $\delta$ -セレン-L-リシン誘導体の合成ルート

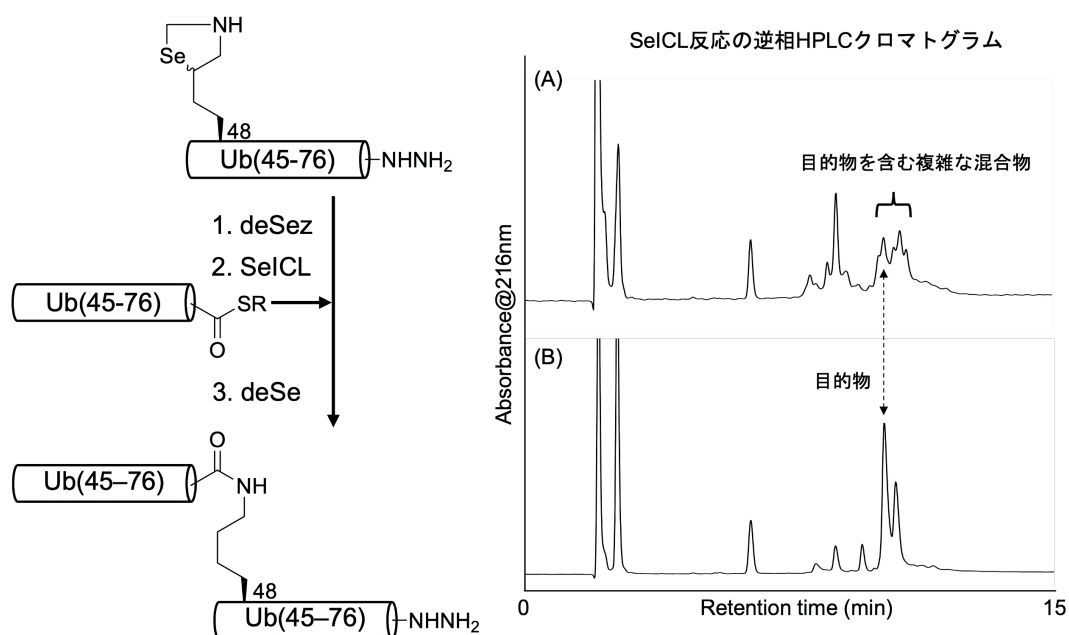


図 4 3 工程ワンポットの  $\delta$ -セレンリシンを介したイソペプチド結合形成反応。(A) 最適化前、および、(B) 最適化後の反応終了時の分析 HPLC クロマトグラム



- Okamoto, R.; Kajihara, Y., *J Org Chem* 2020, 85, 16024–16034.
7. Okamoto, R.; Mandal, K.; Ling, M.; Luster, A.D.; Kajihara, Y.; Kent, S.B.H., *Angew Chem Int Ed* 2014, 53, 5188–5193.
8. Metanis, N.; Keinan, E.; Dawson, P.E., *Angew Chem Int Ed* 2010, 49, 7049–7053.
9. Akiyama, T.; Tanaka, Y.; Okamoto, R.; Kajihara, Y.; Izumi, M., *Front Chem* 2023, 11, 1307254.
10. Dardashti, R.N.; Kumar, S.; Sternisha, S.M.; Reddy, P.S.; Miller, B.G.; Metanis, N., *Chem Eur J* 2020, 26, 4952–4957.

いずみ まさゆき  
高知大学 理工学部  
izumi@kochi-u.ac.jp

## カイコ由来セリンプロテアーゼ“コクナーゼ”の活性化機構の解明にむけて

### 1. セリンプロテアーゼの立体構造形成機構

セリンプロテアーゼは、消化、血液凝固、受精、免疫機構の活性化、ペプチドホルモンの活性化などの重要な生理現象に関わっており、最もよく研究されている酵素群の一つである。セリンプロテアーゼは、その活性中心に Ser 残基を有するタンパク質分解酵素であり、その触媒活性に関しては非常に多くの生化学的あるいは構造科学的な知見が蓄積されている<sup>1</sup>。また、セリンプロテアーゼは、不活性型の前駆体（チモーゲン）として産生され、前駆体に含まれるプロ領域が切断されることで活性化になり、タンパク質を加水分解できるようになる。このプロ領域は、産生されたばかりの酵素が無暗に周りのタンパク質を分解することを防ぐストッパーとして働いていることがわかっている。

セリンプロテアーゼの機能は、実験的にも工業的にも様々な利用価値がある。そのため、酵素を効率よく大量生産することが求められているが、実際には、大腸菌などで産生させて精製する過程で、そのほとんどが凝集や分解で損なわれてしまい、機能を持った活性化型酵素を効率よく得ることは非常に困難である。正しく機能するタンパク質を得るために、そのタンパク質が産生された最初のひも状の状態（変性状態）から正常な構造（天然構造）に至るまでの立体構造形成機構の情報が有用である。しかし、現在に至るまでにトリ



阪田 菜奈



島本 茂

プシンを代表とするセリンプロテアーゼについて、その立体構造形成機構に関する情報はほとんど得られていない<sup>2</sup>。これらの要因として、**1**) トリプシンを代表とするセリンプロテアーゼの活性が非常に強く、その立体構造形成とそれに伴う活性化の過程で非特異的分解が顕著に起こること<sup>3,4</sup>、**2**) セリンプロテアーゼの分子量が中程度（30 kDa 付近）以上の大きさであり、その立体構造形成機構を調べるための有用な手法がないことが挙げられる<sup>5</sup>。そこで、我々の研究室では、カイコ由来セリンプロテアーゼ（コクナーゼ）に着目することで、上記の課題解決に取り組んでいる。

### 2. カイコが持つ消化酵素“コクナーゼ”

コクナーゼはカイコ（*Bombyx mori*）が産生するタンパク質分解酵素である。カイコは、蛹の時に自身が紡いで作った繭の中で外敵から身を守りながら育ち、成虫になって羽化の際に繭に向かってコクナーゼを吐き出すことで羽化を容易にすることができる。カイコ繭は、フィブロインという繊維状タンパク質をセリシンというタンパク質で接着することで形成されている。カイコは、羽化の際にコクナーゼを繭に吐き出すことで、接着成分であるセリシンのみを特異的に分解し、外界へ出ることができる。

近年、コクナーゼの遺伝子配列が報告され<sup>6</sup>、それにより推測されたコクナーゼのアミノ酸配列は、12 残基のプロ領域と 226 残基の成熟体領域からなり、トリプシンと比較的高い相同性を示すことが明らかとなった<sup>7,8</sup>（図 1）。

そこで、我々は、より詳細なコクナーゼの機能解析と活性化機構の解明のため、大腸菌系を用いた組換え体の産生と精製方法を確立した<sup>9</sup>。その過程で、コクナーゼはトリプシンほどタンパク質分解活性が強過ぎず、精製段階で継時的自己分解は起きるものの、トリプシンのように分解物が分離できないほどの非特異的切断が起きないということに着目した<sup>9</sup>。そこから、コクナーゼの分解物を単離し、質量分析を行うことで、コクナーゼの自己切断部位を特定し、自己分解抑制型コクナーゼを作製することに成功した<sup>10</sup>。これにより、立体構造形成時に自己分解を起こすというセリンプロテアーゼ特有の問題点を解決することができ、後述のようなコクナーゼの活性化機構や立体構造形成の解析が可能になった。

### 3. プロ領域によるコクナーゼ活性化の制御

コクナーゼは、他のセリンプロテアーゼ同様、前駆体タンパク質である不活性型のプロコクナーゼとして分泌され、プロ領域が切断（プロセッシング）されることで活性化型のコクナーゼになる。我々は、プロ領域がコクナーゼの活性化に与える影響を調べるために、プロコクナーゼ（proCCN）と、プロ領域を除いた成熟体領域のみのコクナーゼ（CCN）の遺伝子組換え体を作製した<sup>9</sup>。両者を用いた立体構造形成実験と CD を用いた構造解析および活性測定から、以下の興味深い結果を得た。

まず、プロコクナーゼ（proCCN）を *in vitro* で立



体構造形成と同時にプロ領域の切断反応を進行させて得られたコクナーゼ (CCN\*と表記する) はカイコから抽出した天然コクナーゼと同程度の活性を示した<sup>9</sup>。しかし一方で、成熟体領域のみの配列を立体構造形成させたコクナーゼ (CCN) の場合、非常に活性が弱いあるいは活性を示さなかった<sup>9</sup>。さらに、興味深いことに CCN\*と CCN では、CD スペクトルがほぼ同じであり、両者の二次構造含有率に大きな違いがないことがわかった。即ち、コクナーゼの成熟体領域のみだと立体構造形成時に (不活性型の) モルテングロビュール状態に落ち着いてしまうが、プロ領域が存在する場合は活性型の立体構造までの反応が促進される

ことを示唆している (図 2)。つまり、コクナーゼにおいて、プロ領域は、単に活性を止めるためのストッパーとしての役割だけではなく、活性型の構造を形成するために働く分子内シャペロンとして機能していると考えられる。

以上の結果から、我々は、コクナーゼの活性化の謎を解く鍵がプロ領域とそれが働く立体構造形成過程の中にあると考えた。そこで、立体構造形成中のコクナーゼ中間体構造に対してプロ領域がどのように作用してその活性化をコントロールしているのか、それを観察するための方法を模索することにした。

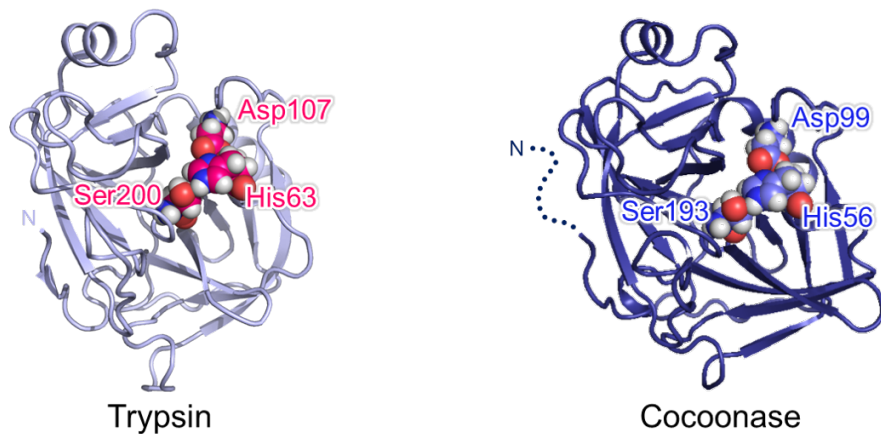


図1 ウシトリプシンの立体構造 (PDB ID: 5T3H) とコクナーゼの予測構造。トリプシン (左) に関しては、X線結晶構造解析で立体構造が決定されている。コクナーゼのアミノ酸配列は、ウシトリプシンと比べて40%ほどの配列相同性を持つ。AlphaFold2で算出したコクナーゼ予測構造 (右) を見ても分かるように、活性中心の Ser, His, Asp 残基の立体配置も含め、トリプシンと非常によく似た構造を取ると考えられる。しかし、N 末端側のプロ領域に関しては、どのように構造に関わっているか予想できない。

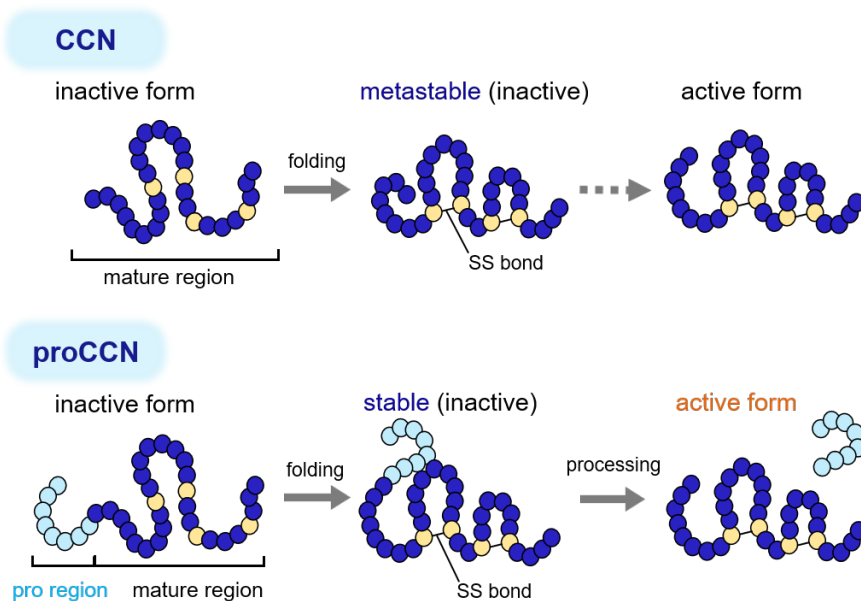


図2 コクナーゼの酵素活性化機構。成熟体領域のみのコクナーゼ (CCN) を *in vitro* で立体構造形成させると準安定構造であるモルテングロビュール状態に留まってしまい、完全な活性型を持つ構造を取ることが困難である。一方で、プロ領域を含んだコクナーゼ前駆体 (proCCN) では、プロ領域が活性型の立体構造形成を促進し、プロ領域を切断することで活性型コクナーゼ (CCN\*) になる。

#### 4. コクナーゼの立体構造形成を観察するために

##### —高分子タンパク質のフォールディング追跡用試薬の開発—

タンパク質の立体構造形成機構に関する研究には、ジスルフィド結合 (SS 結合) 含有タンパク質が多く用いられている<sup>11</sup>。これは、立体構造形成過程で生じるフォールディング中間体の SS 結合の架橋様式が、過渡的な構造的特徴を明らかにするための指標になるためである<sup>12,13</sup>。しかし、フォールディング研究における現在の技術では、現実的に分子量 1 万程度までのタンパク質が限界であり、中程度以上の分子量 (25 kDa 以上) をもつタンパク質を用いた立体構造形成機構の研究には様々な問題がある<sup>5</sup>。主な問題点として、**1)** 立体構造形成の反応時間が極端に早いこと、**2)** 中間体に含まれる Cys の SH 基を修飾したラベル化タンパク質中間体の分離が困難であること、**3)** ラベル化反応の際に SS 交換反応 (副反応) が起き正しい SS 結合を保った中間体を獲得できない可能性があること、**4)** 疎水性であるフォールディング中間体が沈殿しやすいことなどが挙げられる。本研究対象であるプロコクナーゼ (proCCN) においても、逆相高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC) や SDS-PAGE によるフォールディング中間体の分離が困難であり、立体構造形成機構の研究への大きな障害となっていた。

立体構造形成反応機構の解析には、N-エチルマレイミドやモノヨード酢酸などが使用されており、これらは低分子量のタンパク質の立体構造形成機構の解析



図3 maleimidohexanoyl-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> の構造

には利用できるが、比較的分子量の大きなタンパク質には適応できない。そこで、我々は、上記の問題を解決すべく、立体構造形成反応の中間体の捕獲試薬として新規ラベル化試薬 maleimidohexanoyl-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> (Male-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub>) のデザイン・開発を行った (図3)。この試薬にある maleimidohexanoyl 基は、反応中間体に含まれる Cys を修飾する際に (マレイミド基への SH 付加反応)、中性条件下で反応を行うことが可能であり、問題となる非特異的な SS 交換反応を極力抑えられる。更に、凝集抑制効果を持つ Arg を試薬に導入することで疎水性の高い中間体の凝集体形成を抑えることにした<sup>14</sup>。なお、導入する Arg の個数 (5 残基) は試薬分子量が約 1 kDa になるようにし、SDS-PAGE における各ラベル化中間体の効率よい分離を目的としてデザインしている。さらに、Tyr 残基を加えることで、親水性ペプチドを逆相 HPLC で簡便に精製することを可能にした。また、これにより、HPLC での検出感度も上昇し、のちの蛍光ラベル化にも応用できるようにした。

モデルタンパク質として、既に立体構造形成機構の詳細が明らかにされているウシ膵臓トリプシンインヒビター (BPTI) を利用することで、図4に示した手順に従い、新規ラベル化試薬の能力を評価した。BPTI を用い、その反応中間体との反応性を評価したところ、危惧される非特異的な SS 交換反応を起こすことなく、効率的に反応中間体を捕捉ラベル化できることが分かった<sup>15</sup>。

続いて、本ラベル化試薬を用い、標的となるプロコクナーゼ (proCCN) のフォールディング中間体を調べることにした。期待通り、proCCN のフォールディング中間体の分離が大幅に改善されることがわかった (図5)。また、本実験で得られた proCCN のフォールディング中間体の数は計算上の数よりも圧倒的に少

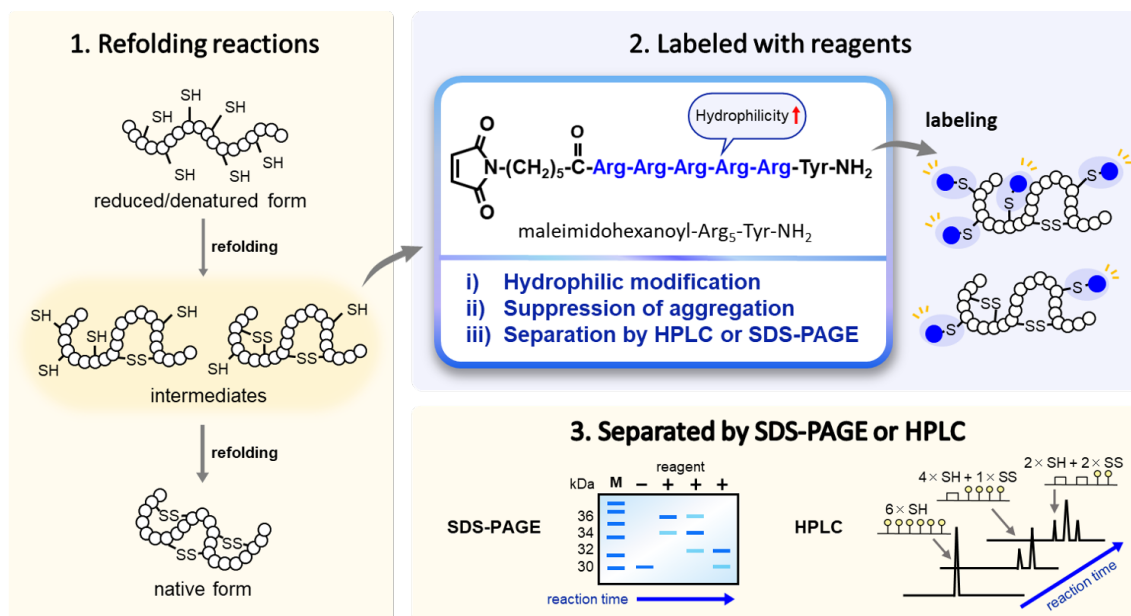


図4 SS 含有タンパク質のフォールディング中間体検出の流れ。**1)** タンパク質を還元変性状態から立体構造形成反応させ、**2)** 反応過程で生じる中間体をラベル化試薬でラベルする。このとき、反応中間体にあるチオール基の数によって反応試薬の付加数が異なる。**3)** ラベル化反応後の溶液を SDS-PAGE または HPLC に供することで、ラベル化された反応中間体が分離されるかを観察する。

なかったことから、proCCN の SS 結合形成は、立体構造形成過程において、特定の中間体の形成を介して段階的に起こっていることが推測された<sup>15</sup>。今後、フォールディング反応の条件を精査し、さらに中間体の構造解析を行うことで、コクナーゼのプロ領域が立体構造形成にどう影響するかを詳細に調べていく予定である。

## まとめと謝辞

トリプシンを代表とするセリンプロテアーゼでは、これまでにその触媒活性機構に関しては数多くの知見が蓄積されている一方で、効率よく活性型のプロテアーゼを取得するための立体構造形成機構に関する情報は殆ど得られていない。我々は、今回、カイコ由来のセリンプロテアーゼであるコクナーゼに着目することで、コクナーゼ前駆体タンパク質が持つプロ領域が立体構造形成中に成熟体領域と相互作用することで活性化を制御していることを明らかにした。さらに、コクナーゼの立体構造形成機構をより詳細に調べるために、新たな中間体の捕獲試薬 Male-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> を開発し、中程度の分子量をもつタンパク質のフォールディング中間体の検出に有用であることを示した。今後、本試薬により、コクナーゼだけではなく、これまで困難であった中程度以上の分子量をもつタンパク質の立体構造形成機構の解明が期待される。

以上の研究は、近畿大学理工学部生命科学科の日高

雄二教授をはじめ、研究室所属の学生の協力のもとで行われました。ここに深く感謝いたします。また、本研究の遂行に際し多大なご協力をいただきました(株)ブリバンテックの宮澤光博先生に心より感謝申し上げます。

## 参考文献

1. Prasad, S.; Cantwell, A. M.; Bush, L. A.; Shih, P.; Xu, H.; Di Cera, E. *J Biol Chem* 2004, 279, 10103-10108.
2. Tamada, T.; Kinoshita, T.; Kurihara, K.; Adachi, M.; Ohhara, T.; Imai, K.; Kuroki, R.; Tada, T. *J Am Chem Soc* 2009, 131, 11033-11040.
3. Ahsan, N.; Aoki, H.; Watabe, S. *Mol Biotechnol* 2005, 30, 193-205.
4. Ohshima, Y.; Suzuki, Y.; Nakatani, A.; Nohara, D. *J Biosci Bioeng* 2008, 106, 345-349.
5. Onda, M.; Tatsumi, E.; Takahashi, N.; Hirose, M. *J Biol Chem* 1997, 272, 3973-3979.
6. Rodbumrer, P.; Arthan, D.; Uyen, U.; Yuvaniyama, J.; Svasti, J.; Wongsangchantra, P. *Y. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2012, 44, 974-983.
7. Berger, E.; Kafatos, F. C.; Felsted, R. L.; Law,

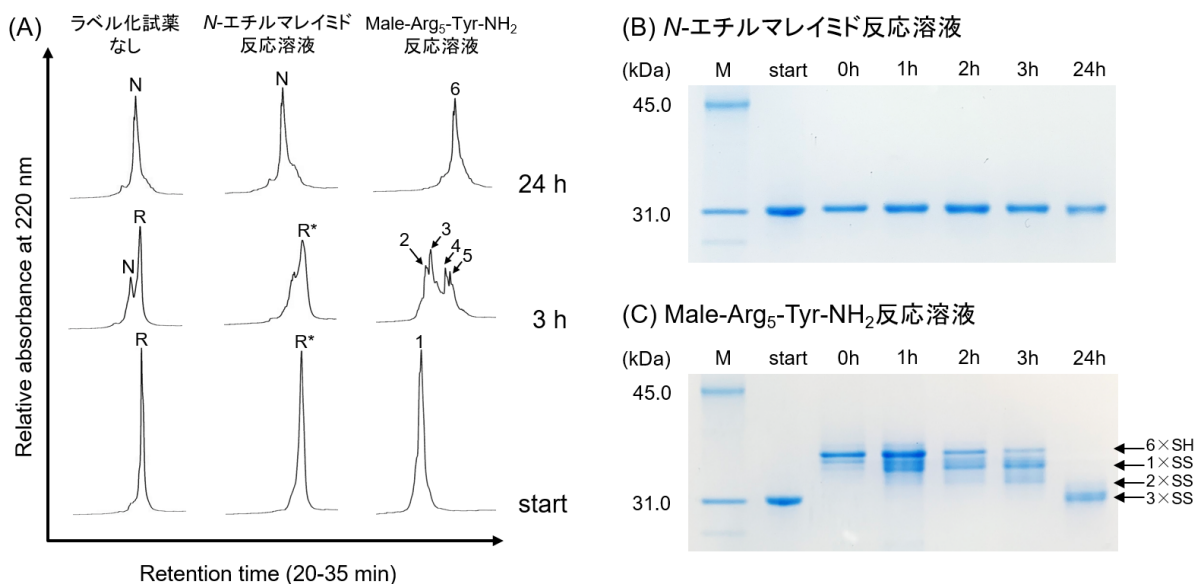


図 5 自己分解抑制型 proCCN の立体構造形成反応追跡の RP-HPLC と SDS-PAGE。(A) 左：proCCN のみ (ラベル化試薬なし)、中央：N-エチルマレイミド反応溶液、右：Male-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> 反応溶液を RP-HPLC に供して得られたクロマトグラム。R：還元変性型、R\*：還元変性型に N-エチルマレイミドが反応したもの、N：天然型。ラベル化処理をしていない proCCN 及び N-エチルマレイミドを反応させた proCCN の場合 (左, 中央)、非ラベル化フォールディング中間体と N-エチルマレイミドによるラベル化フォールディング中間体は、いずれの場合も RP-HPLC で全く分離することはできなかった。対照的に、Male-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> を用いてラベル化した場合 (右)、RP-HPLC における proCCN のフォールディング中間体の分離は大幅に改善された。また、得られた顕著なピーク (1~6) を分取し、質量分析することで、ピーク 1 が 6×SH (ラベル化試薬が 6 つ反応)、ピーク 2, 3 が 1×SS (ラベル化試薬が 4 つ反応)、ピーク 4, 5 が 2×SS (ラベル化試薬が 2 つ反応)、ピーク 6 が 3×SS (SS 異性体を含む) のフォールディング中間体に相当することが示された。注目すべき点として、proCCN のフォールディング中間体は、ラベル化試薬 Male-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> による立体構造形成反応時及びラベル化反応時に十分に回収されており、ラベル化試薬によって疎水性物質であるフォールディング中間体が可溶性として保持できることを示している。さらに、SDS-PAGE において、N-エチルマレイミド (B) と Male-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> (C) を比較した。N-エチルマレイミドでは反応初期から最後までほぼバンド位置に変化がなく中間体は観察できないが、Male-Arg<sub>5</sub>-Tyr-NH<sub>2</sub> ではチオール基の数依存的にバンドの移動度が変わるため、反応中間体が観察できていることが分かる。



- J. H. J Biol Chem 1971, 246, 4131–4137.
8. Felsted, R. L.; Kramer, K. J.; Law, J. H.; Berger, E.; Kafatos, F. C. J Biol Chem 1973, 248, 3012–3020.
  9. Sakata, N.; Ogata, A.; Takegawa, M.; Tajima, N.; Nishimura, M.; Hagiwara, T.; Miyazawa, M.; Shimamoto, S.; Hidaka, Y. Biochem Biophys Res Commun 2022, 624, 35–39.
  10. Sakata, N.; Ogata, A.; Takegawa, M.; Murakami, Y.; Nishimura, M.; Miyazawa, M.; Hagiwara, T.; Shimamoto, S.; Hidaka, Y. Molecules 2022, 27, 8063.
  11. Hidaka, Y.; Shimamoto, S. Biomol Concepts 2013, 4, 597–604.
  12. Weissman, J. S.; Kim, P. S. Science 1991, 253, 1386–1393.
  13. Creighton, T. E. Science 1992, 256, 111–114.
  14. Okumura, M.; Saiki, M.; Yamaguchi, H.; Hidaka, Y. FEBS J 2011, 278, 1137–1144.
  15. Sakata, N.; Murakami, Y.; Miyazawa, M.; Shimamoto, S.; Hidaka, Y. Molecules 2023, 28, 3494.

さかた なな  
 近畿大学 理工学部 生命科学科  
 nsakata@life.kindai.ac.jp  
 しまもと しげる  
 近畿大学 理工学部 生命科学科  
 sshimamoto@life.kindai.ac.jp

## 第 56 回若手ペプチド夏の勉強会開催報告

本年度の若手ペプチド夏の勉強会は、2024 年 8 月 7 日から 9 日の 3 日間にわたり、鳥取県の皆生温泉 三井別館・米子市観光センターで開催されました。本勉強会は、稲葉央（鳥取大学学術研究院工学系部門）、岩崎崇（鳥取大学農学部）が世話人となり、鳥取大学の松浦研究室・岩崎研究室の 12 名の学生スタッフと企画・運営させていただきました。本勉強会は、コロナ禍の影響で過去 3 回にわたり開催中止もしくはオンライン開催となりましたが、昨年度に対面形式（非合宿形式）での開催に至りました。本年度は、コロナ禍前に行われていた合宿形式を 5 年ぶりに復活し、旅館を貸し切る形で開催いたしました。合宿形式を復活させることで、参加者同士の直接的な交流、深い議論、知識向上や情報収集に寄与できたようであれば世話人一同嬉しく思います。

本勉強会は第 51 回（北海道）以来 5 年ぶりの合宿形式でしたが、そのときと同程度の計 42 団体、142 名の学生・教員・研究者・企業人の方々にご参加いただき、盛況のうちに終わることができました（写真 1）。本会を開催するにあたり、日本ペプチド学会から運営費の一部をご支援いただきました。さらに、日本化学会中国四国支部、高分子学会中国四国支部、科研費学術変革領域研究（A）「メゾヒエラルキーの物質科学」にご共催いただき、中辻創智社、加藤記念バイオサイエンス振興財団、水谷糖質科学振興財団、サントリー生命科学財団から学会開催助成金を援助いただいた他、合計 12 社の企業よりご協賛いただきました。この場を借りて、関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。



稲葉 央



岩崎 崇



写真 1 全体の集合写真



ます。

本勉強会では、様々な研究分野で活躍する研究者10名を講師としてお招きし、特別講演4件、依頼講演5件、留学体験記1件をお願いしました。特に、参加者への刺激を意図し、通常あまり日本ペプチド学会のイベントにご参加されない先生方もお招きしました。特別講演を行なっていたいただいた小出隆規先生（早稲田大学）「ええ研究↔やばい研究↔あかん研究」、後藤佑樹先生（京都大学）「人工翻訳+骨格変換反応で擬天然ペプチドをつくる」、澤田敏樹先生（東京工業大学）「機械学習を利用した合目的なペプチドの材料機能創出」、松浦和則先生（鳥取大学）「自己集合ペプチドと脂質の複合化で創るウイルスレプリカ」、依頼講演を行なっていたいただいた愛場雄一郎先生（名古屋大学）「ペプチド核酸（PNA）を用いた DNA とペプチドの認識・制御」、大上雅史先生（東京工業大学）「AI によるペプチドデザイン」、佐藤浩平先生（関西学院大学）「単純な繰り返し構造からなるペプチドの合成と機能」、傳田将也先生（徳島大学）「S-保護 Cys スルホキッドを利用した Cys-Trp 間選択的バイオコンジュゲーション法の開発」、矢崎亮先生（九州大学）「触媒反応開発を基盤としたペプチド創薬研究」、留学体験記のご講演を行なっていたいただいた新津藍先生（理化学研究所）「膜ペプチド会合体を自在につくる」に深く御礼申し上げます。いずれのご講演でも、最先端の研究に加え若手研究者への熱いメッセージ（研究人生で忘れられない実験など）を盛り込んでいただき、通常の学会では得られない貴重なお話を伺うことができました。休憩時間にも招待講演者への質問や相談に並ぶ学生が多く見られ、関心の高さがうかがえました。

招待講演に加え、学生を中心とした一般講演15件、



写真2 参加者のお子様

ポスター発表 61 件が行われ、いずれも白熱した議論が見られました。本勉強会では8/7と8/8の2日間にかけてポスター発表を実施しましたが、特に学生同士での議論や研究の相談などが多く見られ、交流が深まっていく様子が確認されました。さらに、企業紹介4件および研究室紹介23件が実施され、大いに盛り上がりました。

本勉強会では、学生参加者の意欲向上の一環として、優秀な一般講演・ポスター発表を讃えて贈られる「一般講演優秀賞」「ポスター発表優秀賞」、優れたアイデアに挑戦した一般講演・ポスター発表を讃えて贈られる「一般講演チャレンジ賞」「ポスター発表チャレンジ賞」（旧ベストフェイルドアワード）、優れた質疑・討論を行なったオーディエンスに贈られる「ベストディスカッション賞」、ユーモアのある研究室紹介を行なったグループに贈られる「研究室紹介優秀賞」の計38件の賞を進呈しました。受賞者数が多いため、各賞の受賞者は本勉強会ホームページ (<https://sites.google.com/view/wakatepeptide56>) をご確認ください。学生参加者の皆様は、これらの賞を励みとしてより研究に邁進していただければ幸いです。

本勉強会の新しい試みとして、「お子様を含むご家族での参加可」としました。講演会場にキッズスペースを準備し、お子様から目を離さずに講演を聴けるようにしました（写真2）。乳幼児の参加者が少なかったことやお子様を見ていただくご家族の方のご協力もあり、講演には大きな影響を与えませんでした。お子様にご参加いただいた方々にはご好評いただきましたが、他の参加者のご意見や今後の課題などは参加者アンケートを実施して評価し、次回以降の勉強会に繋げていければと考えております。

久しぶりの合宿形式での開催にあたり、どこまで以前のように参加者同士の交流が行われるか心配していましたが、杞憂に終わりました。研究の話、人生相談、たわいもない話などが盛り上がり、これぞ夏の勉強会という場面を多く見ることができました。本勉強会が若手研究者の交流を深める一助となり、この勉強会で得たつながりを今後の研究活動に活かしていただければ、世話人としてこれほど嬉しいことはありません。本勉強会は、ご参加いただいた各研究室や団体のご協力があってはじめて開催することができました。本勉強会にご参加いただき、盛り上げていただいた全ての参加者の皆様に心より感謝申し上げます。また、開催を支えていただいた鳥取大学の松浦研究室・岩崎研究室の学生スタッフの皆様にも改めて御礼申し上げます。

来年度の第57回若手ペプチド夏の勉強会は、徳島大学の傳田将也先生と猪熊翼先生が世話人となり、2025年8月3日から5日の3日間にわたり、「三木ホースランドパーク エオの森」で開催される予定です。今後も本勉強会が若手ペプチド研究者の交流の場として活用され、皆様のご研究のさらなる発展に貢献できれば幸いです。最後になりましたが、次回以降も本勉強会への変わらぬご支援とご協力のほど、何卒宜しくお願い申し上げます。

いなば ひろし  
鳥取大学 学術研究院 工学系部門  
hinaba@tottori-u.ac.jp  
<https://hiroshi-inaba.labby.jp/>

いwasaki たかし  
鳥取大学 農学部 生命環境農学科  
itaka@tottori-u.ac.jp  
<https://muses.muses.tottori-u.ac.jp/faculty/itaka/>

## 編集後記

ペプチドニュースレター 134 号をお届け致します。お忙しい中、ご執筆くださった先生方に感謝申し上げます。今回のニュースレターでは、カルコゲン元素である硫黄及びセレンの化学について研究を進めておられる3名の先生方にご寄稿頂きました。私自身もセレノシステインを含むペプチド・タンパク質の合成研究を行っておりますが、その特徴的な物性に魅了されている1人です。皆様にも興味を持って頂けたら幸いです。

また、今回開催報告をご執筆頂きましたように、稲葉先生、岩崎先生のお世話で第56回若手ペプチド夏の勉強会が実施されました。両先生のご尽力により、本年度から合宿形式での開催が再開されました。夏の勉強会をよく知る先生方にとっては懐かしく、コロナ禍での大学生活を経験した学生の皆さんにとっては、新鮮かつ非常に充実した濃密な時間となったのではないかと考えております。改めて、幹事の先生方に感謝申し上げます。

さて、本年の第61回ペプチド討論会は村上先生と林先生のお世話のもと、名古屋大学で開催されます。皆様と現地でお会いできることを楽しみにしております。

134号アンケートフォーム URL :

<https://forms.gle/FjYKWBu29WjeRGSZ6>

(編集委員：武居 俊樹)

## 日本ペプチド学会からのお知らせ

### 《2024年度行事予定》

2024年10月28日(月)  
第117回理事会・第43回評議員会合同会議

2024年10月29日(火)～31日(木)  
第61回ペプチド討論会  
場 所：名古屋大学 豊田講堂  
世話人：村上 裕，林 剛介（名古屋大）

2024年10月30日(水)  
2024年度日本ペプチド学会通常総会

2024年11月2日(土)  
市民フォーラム 2024  
場 所：名古屋大学 工学部1号館

2025年1月  
第118回理事会

2025年1月  
Peptide Newsletter Japan No. 135 発行

### PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会  
〒562-0015 箕面市稲 4-1-2  
一般財団法人蛋白質研究奨励会内  
発行日：2024年10月7日

#### 編集委員

北條 裕信（担当理事）（大阪大学 蛋白質研究所）  
TEL 06-6879-8601

E-mail：hojo@protein.osaka-u.ac.jp

中川 夏美（北海道大学 大学院理学研究院）

TEL 011-706-2712

E-mail：n-nakagawa@sci.hokudai.ac.jp

後藤 佑樹（京都大学 大学院理学研究科）

TEL 075-753-4002

E-mail：goto.yuki.4x@kyoto-u.ac.jp

武居 俊樹（大阪大学 蛋白質研究所）

TEL 06-6879-8602

E-mail：toshiki.takei@protein.osaka-u.ac.jp

大橋 南美（昭和薬科大学 医薬分子化学研究室）

TEL 042-721-1581

E-mail：ohashi@ac.shoyaku.ac.jp

(本号編集担当：武居 俊樹)