

## 第9回

# 岐阜構造生物学・医学・論理的創薬 シンポジウム

日時: 2020年3月23日(月)

(今年度は誌上開催)

主催: 岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会

<http://www1.gifu-u.ac.jp/~kamatari/gnmr/>

## 第9回 岐阜構造生物学・医学・論理的創薬シンポジウム プログラム

日時: 2020年3月23日(月) (今年度は誌上開催)

主催: 岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会

<http://www1.gifu-u.ac.jp/~kamatari/gnmr/>

### 第1部

鎌足雄司 (岐阜大学・科学研究基盤センター) - 新しい時代の共同利用システムをどうするか

大矢豊 (岐阜大学・共用推進支援センター) - 共用推進支援センターの紹介

#### 招待講演 1

古賀和司 (名古屋大学・全学技術センター) - 機器共用と全学技術センター

### 第2部

横川隆志 (岐阜大学・工学部) - アーケオシンの合成に関わる新奇ラジカル SAM 酵素の同定

松田大佑, 藤澤哲郎 (岐阜大学・工学部) - 負染色電子顕微鏡像によるニトリラーゼ会合体の観察

木村慎太郎 (岐阜大学・応用生物科学部) - イヌ ALS モデル: 変異型イヌ SOD1 タンパク質の凝集機構

招待講演 2 - 志田俊信 (理化学研究所・脳神経科学研究センター) - NMR を用いた異種間プリオン感染障壁の解析

招待講演 3 - 織田昌幸 (京都府立大学・生命環境科学研究科) - 立体構造を認識する抗体の抗原認識機構

### 第3部

遠藤智史 (岐阜薬科大学) - オートファゴソーム膜形成の阻害を作用点とする新規オートファジー阻害剤の創製

#### 招待講演 4

佐藤綾人 (名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所) - 名古屋大学ケミカルライブラリー

#### 招待講演 5

石川岳志 (鹿児島大学・工学部) - 量子化学計算による RNA ウイルス薬剤耐性変異予測の試み

ポスター・企業紹介・機器紹介

連絡先: 鎌足雄司 (岐阜大学・科学研究基盤センター), Tel: 058-293-3900, E-mail: [kamatari@gifu-u.ac.jp](mailto:kamatari@gifu-u.ac.jp)

参加費: 無料、申込方法: 事前登録不要

# 新しい時代の共同利用システムをどうするか

○鎌足雄司<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 岐阜大学・科学研究基盤センター、<sup>2</sup> 岐阜大学・連合創薬医療情報研究科

連絡先: kamatari@gifu-u.ac.jp

岐阜大学・科学研究基盤センターは、個々の教員や講座単位では導入困難な高額機器・大型機器・施設を導入し、共同利用施設として全学のユーザーに提供しており、また、所属教員が研究者の視点で支援業務に携わる、岐阜大学の研究を設備・技術で支える基盤センターである。平成 15 年に、それまで主として関連する部局の研究設備であったゲノム研究、嫌気性菌研究、動物実験、機器分析、および放射線同位体元素(RI)の施設が統合され、全学的な研究支援が可能な研究基盤センターとして設置されている。機器分析分野では、核磁気共鳴分光装置(NMR)や、質量分析装置(MS)、電子顕微鏡をはじめとする 70 種類を越える幅広い研究設備を管理運営している。

限られた研究資金や機器を有効に利用するためには、施設・設備・機器を共用することは重要である。また、若手研究者が独創的・挑戦的な研究を進めるためにも共同利用施設は不可欠である。さらに、岐阜の特色ある研究を育て、さらに新しい研究グループやプロジェクト研究センターが立ち上がる研究基盤を維持するためにも必要である。

しかしながら、科学研究基盤センターの設備の維持には大きな問題を抱えている。近年、更新される機器の数は極端に少なくなっている。古い装置は維持コストも増加する。さらに近い将来、更新が必要な機器が一気に増える可能性が高い。共同研究基盤設備に対する直接配分はほぼ停止しており、今後の研究設備の整備は大学レベルで行う必要があるが、一方で運営費交付金はどんどん減ってきている。もう一つの大きな問題は、超高磁場高感度 NMR や電子顕微鏡をはじめとする大型の研究機器の価値をどう評価し維持していくかということである。

様々な問題を抱えてはいるが、岐阜大学の研究を設備・技術で支える重要な基盤センターであることには変わりない。また、中規模分散型研究拠点として、岐阜大学だけではなく近郊および関連研究分野の研究を支えるという意味でも重要である。企業も含めた外部の方々の力もお借りする必要があるかもしれない。しかしながら、この演題の新しい時代の共同利用システムをどうするかという問題についてはまだ明確な答えは無い。今後、様々な方の知恵をお借りし議論し、新しい時代の共同利用システムを構築して行きたい。一つのヒントは、過去およそ 10 年に及ぶ本研究会のような完全にボトムアップの組織にあるかもしれない。

# 共用推進支援センターの紹介

○大矢豊<sup>1,2</sup>、長縄康範<sup>1</sup>、村井美佳子<sup>1</sup>

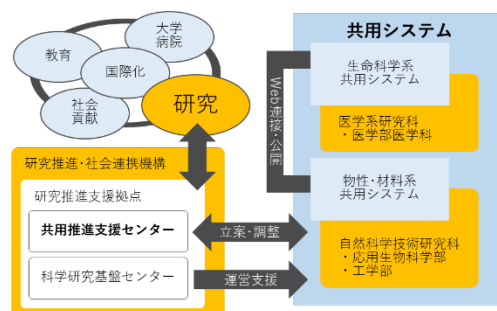
<sup>1</sup> 岐阜大学・共用推進支援センター、<sup>2</sup> 岐阜大学・工学部

連絡先: ohya@gifu-u.ac.jp

岐阜大学・共用推進支援センターは、これまでの全学の研究機器センターに加え、各研究室に設置してある機器を Web システムで統合し、全学共用システムの導入を図ることで、全学の研究力を向上することを目的とした新しい共同利用のセンターです。研究開発への投資効果を最大化し、最先端の研究現場における研究成果を持続的に創出し、複雑化する新たな学問領域などに対応するため、研究設備・機器を共用するシステムを導入、運営することを目的としています。詳細は、岐阜大学・共用推進支援センター(<https://www1.gifu-u.ac.jp/~respc/>)をご覧ください。

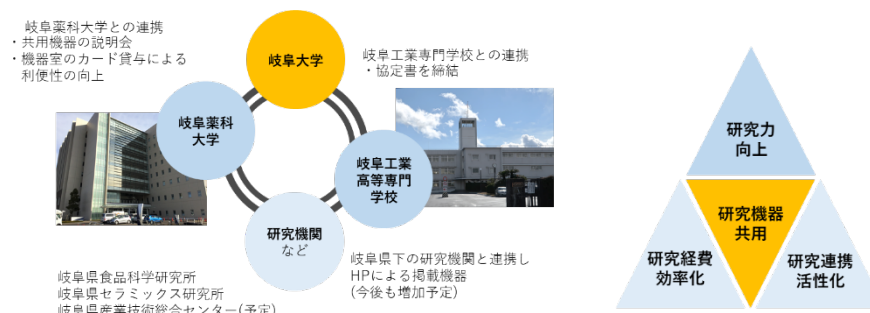
## センターの位置付け

岐阜大学は、高度な専門職業人の養成に主眼を置いた教育、教育の基盤としての質の高い研究、地域に根ざした国際化を展開しております。質の高い研究を着実に進展させるために 研究推進・社会連携機構内に研究推進支援拠点を設置し、学長のリーダーシップのもと全学的な研究支援体制の要として地域の研究機関との連携を強化していきます。これまでの生命科学系と物性・材料系の研究組織内に分散されてきた機器を、一つの Web システムで管理・運用できるシステムを構築し、共用を推進するセンターです。



## 地域研究機関との連携

共用推進支援センターは、同じキャンパス内にある岐阜市立岐阜薬科大学、県内の岐阜工業高等専門学校、岐阜県食品科学研究所等と連携することで、地域における研究基盤を構築し、地域の研究力向上に貢献することを特徴的な取り組みとしております。また、他の研究者と連携して、共用機器の共用を推進することによって、研究経費の効率化のみならず、研究者間の情報交流を図ることで連携を活性化し、地域の研究力向上に繋げる「研究シナジー効果」を創造していきます。



# 全学技術センターに求められる名古屋大学の教育・研究支援 ～全学技術センターの紹介と取組～

○古賀和司（名古屋大学全学技術センター）

第5期科学技術計画<sup>1</sup>から設備・機器の共同利用の促進に関するいくつかの文部科学省の取組があり、中でも私が参加した設備サポート整備事業や先端研究基盤共用促進事業の新たな共用システム導入支援事業（名古屋大学は平成28年～30年度採択）などが主催のシンポジウムでは、共用を促進する殆どの大学で技術スタッフの不足や特任助教等が設備・機器の維持管理業務を行っていること、外部利用が進まないなどの意見が出され、これらの課題が共用促進の弊害となっている現状が浮き彫りとなった。このような背景から、国の重要課題の一つとして議論がされるようになった。特に「研究力向上2019」では研究環境の改革、「総合イノベーション戦略2019（概要）」では研究力強化・若手研究者支援総合パッケージに技術職員の関する事項が位置づけられている。令和2年度の研究大学強化促進事業や先端研究基盤共用促進事業ではコアファシリティ構造支援プログラムでも技術職員がポイントに上げられている。私のような技術職員がこのような学会でこうした議論に参加できることから、技術職員による教育・研究支援がどれだけ必要で重要かが理解できる。

名古屋大学の技術職員組織の沿革は、技官の頃から人員削減や待遇改善などを理由に一部の部局では技術部を設置し、研究室から部局共通の教育・研究支援業務へと少しずつ移り変わってきた。平成16年度の法人化後は、全学技術センターと言う名称で、部局の技術部を運用はそのままにして集約し、一つのバーチャルな組織として運用を開始した。その後は大きな部局と一部の部局あるいは組織をグルーピングし、可能な限りの最適化を進め、

4支援室として運用を開始した。平成29年10月からは教職協働体制を基本に名古屋大学の教育・研究支援の見える化を進め、利用者に理解しやすく認識しやすい組織の構築を目的に、教員や研究者、技術職員から集めたアンケート結果から技術分野でのグルーピングを行い、情報通信技術支援室、環境安全技術支援室、装置開発技術支援室、分析・物質技術支援室、計測・制御技術支援室、生物生体技術支援室の6技術分野の体制を構築した。さらに企画室、設備・機器共用推進室を加え全学技術センターを改編し、現在に至っている（図1）。このことにより部局主導から全学技術センター主導の運用が可能となった。また最近の技術職員の議論は設備・機器の共同利用の観点から出されてきているが、名古屋大学はフィールドにも技術職員は配属されており、教育・研究支援業務を行っている。フィールドの技術職員については研究開発基盤部会でも意見が出されているように、一緒に議論することは困難なため、今後は一つの専門技術にとらわれない議論が必要である。全学技術センターとしては、今後の国の動向も視野に入れながら指定国立大学及び東海国立大学機構への対応を最優先課題として、組織化のメリットを最大限に生かして戦略的に対応したいと考えている。

## 全学技術センター組織図

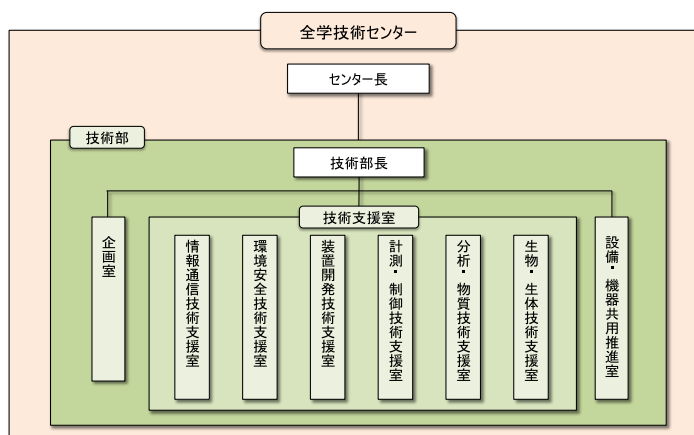


図1. 名古屋大学全学技術センター組織図

<sup>1</sup> 第5期科学技術基本計画 (<http://www8.cao.go.jp/cstp/kihonkeikaku/5honbun.pdf>)

## アーケオシンの合成に関わる新奇ラジカル SAM 酵素の同定

○横川 隆志<sup>1,2,3</sup>、能村 友一郎<sup>1</sup>、安田 旭宏<sup>1</sup>、尾木野 弘実<sup>1</sup>、日浦 恵太<sup>1</sup>、  
仲田 沙織<sup>1</sup>、岡 夏央<sup>1,2</sup>、安藤 香織<sup>1</sup>、河村 卓哉<sup>4</sup>、平田 章<sup>4</sup>、堀 弘幸<sup>4</sup>、大野 敏<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>岐阜大・工、<sup>2</sup>岐阜大・生命の鎖統合研究センター、<sup>3</sup>岐阜大・院連合創薬、<sup>4</sup>愛媛大・工  
連絡先: don@gifu-u.ac.jp

アーケオシンは、塩基部に 7-formamidino-7-deazaguanine を持つアーキア特異的な修飾ヌクレオシドで、主にアーキア tRNA の 15 位に見出される。アーケオシンは tRNA の立体構造のコアに位置し、塩基部に正電荷を持つことから、tRNA の立体構造の安定化に寄与すると考えられている。これまで、アーケオシンは、1) アーケオシン tRNA グアニトランスグリコシラーゼ (ArcTGT) が tRNA の 15 位のグアニン塩基を 7-cyano-7-deazaguanine (preQ<sub>0</sub>) と交換し、2) ArcTGT のパラログであるアーケオシン合成酵素 (ArcS) が preQ<sub>0</sub> のシアノ基にアンモニアを付加する、という二段階の反応で合成されると信じられてきた。しかし、我々は、ユリアーキオタ門の *Methanosarcina acetivorans*、*Thermococcus kodakarensis*、*Thermoplasma acidophilum* 由来の ArcS がいずれも preQ<sub>0</sub> のシアノ基にリシンを付加する活性を持つことを見出した。このことは、アーケオシンの合成には、第三の反応経路が存在することを強く示唆している。そこで、例外的に arcTGT 遺伝子を持たない *Haloquadratum walsbyi* のゲノムと、いくつかのアーキアゲノムを比較することで、第三の反応を触媒する酵素の候補遺伝子を絞り込んだ。絞り込まれた遺伝子の中から、機能が不明のラジカル S-アデノシルメチオニン (SAM) 酵素遺伝子に注目した。*T. kodakarensis* のゲノムからこの遺伝子を欠損させるとアーケオシンが見られなくなったことから、このラジカル SAM 酵素を RaSEA (Radical SAM enzyme for archaeosine formation) と命名した。*M. acetivorans* と *T. kodakarensis* に関して、RaSEA 遺伝子と ArcS 遺伝子を大腸菌内で共発現させると、どちらのアーキア由来のリコンビナントタンパク質も強固な複合体を形成することを見出した。さらに嫌気性条件下で反応を行うと、どちらの複合体を用いても、リシンと SAM を加えることで、preQ<sub>0</sub> を含む tRNA をアーケオシンを含む tRNA に変換できることを確認した。この結果より、ArcS と RaSEA の複合体こそが真のアーケオシン合成酵素であると考えられる。本研究から我々は、ArcS をアーケオシン合成酵素  $\alpha$  サブユニット、RaSEA をアーケオシン合成酵素  $\beta$  サブユニットと呼ぶことを提案したい。

# 負染色電子顕微鏡像によるニトリラーゼ会合体の観察

○松田大佑<sup>1</sup>, 藤澤哲郎<sup>1,2</sup>

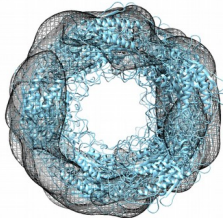
<sup>1</sup>岐阜大学・自然科学研究科、<sup>2</sup>岐阜大学・工学部

連絡先: fujisawa@gifu-u.ac.jp

*Rhodococcus rhodochrous* J1 由来ニトリラーゼ(以下 J1-NTase)は、自己会合によってニトリル化合物加水分解の制御を行っており、温度や濃度の上昇により不活性のプロトマー(dimer)から、活性型のオリゴマーへと転移することが示されている。また、会合体転移に関しては、C末端残基が重要な役割を果たしており、C末端部を切除した J1-NTase の変異体 DC327(以下 DC327)は、高会合状態をとることが 2007 年 Thuku らの負染色法電子顕微鏡像(EMD-1313)で報告されている[1]。

本研究室では、ニトリラーゼ会合体の構造形成機構を調べるために X 線小角散乱(SAXS)実験より DC327 の溶媒条件、温度、圧力の会合挙動についての観察を行ってきた。その結果、DC327 の会合体は、溶媒条件、温度、圧力のいずれのパラメータにも敏感に反応して会合状態が変わることが確認された。しかも、平衡定数が比較的小さいためほとんど全ての条件で複数の成分(会合種)が存在することが示唆された。このような複雑な系においては各成分の構造情報を得るには SAXS からの情報だけでは不十分であり、さらなる構造情報を得るために負染色法電子顕微鏡像を得ることを試みた。

実験は、本学共用推進支援センター所有透過型電子顕微鏡装置 JEM-2100F を用いて DC327 の観察を行った。左図は解析により得られた三次元の初期モデルと Thuku らの電子密度マップを基に作成した原子モデルを比較したものである。大きさ、環状構造、左巻きピッチなど Thuku らの構造と共通の特徴を持つ結果が得られた。



グリッド作成方法等は

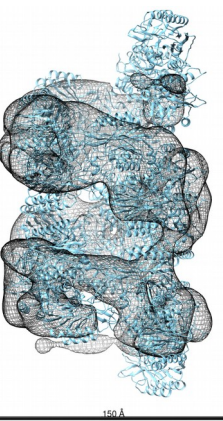
[https://www1.gifu-u.ac.jp/~fujilab/JEM\\_html/index.html](https://www1.gifu-u.ac.jp/~fujilab/JEM_html/index.html)

EMAN2 による画像解析方法[2]は、

[https://www1.gifu-u.ac.jp/~fujilab/EMAN2\\_html/index.html](https://www1.gifu-u.ac.jp/~fujilab/EMAN2_html/index.html)

をご参照ください。参考になれば幸いです。

グリッド作成に関しては本学科学研究基盤センターの鎌足雄司博士にご協力いただきました。



[1]Thuku et al., FEBS.J. (2007) 274 ,2099-2108.

[2]Tang et al., J Struct Biol. (2007) 157, 38-46.

# イヌ ALS モデル：変異型イヌ SOD1 タンパク質の凝集機構の解明

○木村慎太郎<sup>1</sup>, 本田諒<sup>2</sup>, 鎌足雄司<sup>2,3</sup>, 加藤善一郎<sup>4,5,6</sup>, 原英彰<sup>6,7</sup>, 前田貞俊<sup>1</sup>, 神志那弘明<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科、<sup>2</sup>岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科、<sup>3</sup>岐阜大学科学基盤センター一機器分析分野、<sup>4</sup>岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学分野、<sup>5</sup>岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科構造医学講座、<sup>6</sup>岐阜大学生命の鎖統合研究センター、<sup>7</sup>岐阜薬科大学生体機能解析学大講座

## 【目的】

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は高齢で発症する慢性進行性の致死的神経変性疾患であり、変異 SOD1 蛋白が神経細胞内に異常凝集・蓄積することが知られている。現在変異遺伝子導入マウスを用いた研究が進められているが、有効な治療法は確立されていない。そこで我々は変異 SOD1 蛋白の凝集により ALS 様症状を示すイヌの神経変性疾患（変性性脊髄症：DM）に着目した。DM はその病態から ALS 自然発症モデルとして期待されている。しかしながら、DM 発症に関わる分子機構や ALS 発症機序との類似性は明らかにされていない。本研究では DM で認められる変異 SOD1 蛋白（E40K、T18S）の凝集機構を明らかにすることを目的とした。

## 【方法】

野生型（WT）および変異型（E40K、T18S）組換えイヌ SOD1 蛋白を合成し、それぞれ非活性型（apo 型）および活性型（holo 型）を精製した。Thioflavin-T 色素（Th-T）を用いて、凝集体形成を継時的に測定した。凝集性に寄与する因子を調べるために表面電荷を蛋白解析ツール（Protein Calculator）を用いて算出した。また、立体構造の安定性を評価するために加熱下での円二色性スペクトル測定にて得られた変性曲線より変性中点（ $T_m$ ）を算出した。

## 【結果】

Th-T 蛍光強度は apo 型 E40K および apo 型 T18S で有意な上昇が認められた。また、E40K では表面電荷が WT より減少（ $\Delta \text{charge}=2.0$ ）していた。T18S の  $T_m$  (holo 型:  $84.99 \pm 1.39^\circ\text{C}$ 、apo 型:  $53.50 \pm 0.28^\circ\text{C}$ ) は WT の  $T_m$  (holo 型:  $96.82 \pm 5.78^\circ\text{C}$ 、apo 型:  $58.91 \pm 2.42^\circ\text{C}$ ) より低値を示した。

## 【結論】

本研究の結果から、apo 型 E40K および apo 型 T18S は凝集体を形成しやすいことが示された。また、イヌ変異型 SOD1 蛋白の凝集機構に E40K では表面電荷の減少が、T18S では構造安定性の低下が関与していることを明らかにした。同様の凝集機構はヒト変異型 SOD1 蛋白でも報告されており、DM と ALS の発症機序の類似性が示された。今後は変異型 SOD1 蛋白の 3 次構造に着目し、立体構造の変化の有無および凝集性に与える影響を明らかにしたいと考えている。

# NMR を用いた異種間プリオン感染障壁の解析

○志田俊信<sup>1</sup>、鎌足雄司<sup>2,3</sup>、桑田一夫<sup>3</sup>、田中元雅<sup>1</sup>

<sup>1</sup>理化学研究所 脳神経科学研究センター タンパク質構造疾患研究チーム

<sup>2</sup>岐阜大学 科学研究基盤センター、<sup>3</sup>岐阜大学 連合創薬医療情報研究科

連絡先: stoshi@brain.riken.jp

ウシからヒトへのプリオン病の感染事例などに代表されるように、哺乳類においては稀にタンパク質のみを介したプリオン感染が報告されてきた。このような異種間のプリオン感染は、生体内に存在する可溶性プリオンタンパク質が、外来種由来のプリオンタンパク質凝集体と偶発的に反応することで引き起こされていると考えられる。しかしながら、生体内の可溶性プリオンタンパク質の構造の揺らぎが、どのように異種間のプリオン感染効率を制御しているかは不明のままである。

本研究では、2つの遠縁種由来の酵母プリオン Sup35 タンパク質<sup>1</sup>を用いて、異種間プリオン感染障壁の解析を試みた。研究を遂行する上では、高分解能 NMR 測定法を中心として、*in vitro* での系統的な遺伝子変異解析、酵母を用いた *in vivo* でのプリオン感染実験及び分子動力学を用いたシミュレーションなどの多様な手法を取り入れ、Sup35 タンパク質における短い天然変性領域を詳細に調べた。その結果、可溶性 Sup35 プリオンタンパク質の短い天然変性領域において、少数のアミノ酸残基を置換することにより、局所的に動きと構造が変化し、*in vitro* および *in vivo* での異種間プリオン感染が生じることを見出した。驚くべきことに、このような短い天然変性領域内においては、メチレン基というアミノ酸側鎖間のわずかな構造の違いでさえ、短い天然変性領域の構造を大きく変化させ、外来種由来のプリオンタンパク質凝集体との凝集反応を制御することを明らかにした。

このような結果から、生体内に存在する可溶性プリオンタンパク質の短い天然変性領域での特定の揺らいだ構造が、異種間プリオン感染効率を高度に制御していることを見出した<sup>2</sup>。本研究成果は、より幅広く、これまでに不明な点が多かった異種間タンパク質間での共凝集反応などの理解に役立つものと期待される。

## 参考文献

1. Ohhashi et al., Molecular basis for diversification of yeast prion strain conformation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 115, 2389–2394 (2018).
2. Shida et al., Short disordered protein segment regulates cross-species transmission of a yeast prion, *Nat. Chem. Biol.*, In Press (2020).

# 立体構造を認識する抗体の抗原認識機構

○織田 昌幸

京都府立大学・生命環境科学研究科

連絡先: oda@kpu.ac.jp

抗体は様々な大きさや形の抗原を特異的に認識し、結合する。イムノグロブリン・フォールドという同様構造を持ちながら、6つのループ(相補性決定領域)のアミノ酸残基を中心に、個々の抗原を特異的に認識する分子機構の解明は、基礎研究としてはもちろん、抗体医薬の創製といった応用面でも興味深い。我々は卵白リゾチーム(HEL)に対するモノクローナル抗体の1つ・HyC1が、HELの立体構造を識別し、その認識される構造の分布率が、結合速度論量に反映されることを論文報告した(1)。抗原となるタンパク質(ここではHEL)は溶液中で揺らいでおり、ジスルフィド結合の欠損など、内部構造の変化でも、その構造分布は変化する。抗体が認識する立体構造の分布率が高ければ、抗原エピトープ濃度に依存する結合速度論量が大きくなることは自明で、これを実験的に証明した。この知見は、タンパク質の分子認識における「population shift」にも繋がりが、溶液中のタンパク質の揺らぎや構造変化を理解する上でも重要となる。そこで我々は、さらに詳細な抗原認識機構の解明を目指し、抗体の低分子化、すなわちHyC1の一本鎖Fv抗体(scFv)を作製し、NMRを用いた構造解析を進めている。初報として最近、HyC1 scFvが、元の抗体と同様に、HELの構造分布を検出できることを、さらにHEL結合に伴い、HyC1 scFvの構造が硬くなることを論文報告した(2)。抗体が抗原認識に伴い、柔らかい構造から硬い構造に変化することは、配列の異なる複数のペプチド抗原を特異的に認識する抗体・G2でも示されており(3,4)、その分子認識機構解明を目指して、G2 scFvを作製した研究も進めている(5)。

## 【参考文献】

- 1, Oda *et al.* Evaluation of the conformational equilibrium of reduced hen egg lysozyme by antibodies to the native form. *Arch. Biochem. Biophys.* 494, 145–150, 2010.
- 2, Yamaoka *et al.* Structural and functional evaluation of single-chain Fv antibody HyC1 recognizing the residual native structure of hen egg lysozyme. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 84, 358–364, 2020.
- 3, Kamatari *et al.* Identification and characterization of a multispecific monoclonal antibody G2 directed against chicken prion protein. *Protein Sci.* 23, 1050–1059, 2014.
- 4, Mahmud *et al.* A multispecific monoclonal antibody G2 recognizes at least three completely different epitope sequences with high affinity. *Protein Sci.* 26, 2162–2169, 2017.
- 5, Usui *et al.* Light-chain residue 95 is critical for antigen binding and multispecificity of monoclonal antibody G2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 490, 1205–1209, 2017.

# オートファゴソーム膜形成の阻害を作用点とする

## 新規オートファジー阻害剤の創製

○遠藤 智史<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 岐阜薬科大学・生化学研究室

連絡先:sendo@gifu-pu.ac.jp

腫瘍におけるオートファジーの誘導は腫瘍悪性化や抗がん剤耐性獲得に関与するため、オートファジー阻害剤は新規抗がん剤として期待されている。しかし、現時点で用いられるオートファジー阻害剤は PI3 キナーゼとリソソームの阻害剤のみであり、特異的オートファジー阻害剤は存在しない。本研究では、オートファジーに特徴的なイベントであるオートファゴソーム膜形成に関わるシステインプロテアーゼ Atg4B の阻害剤を探索し、ヒト前立腺がん細胞を用いて前立腺がん治療における有効性を評価した。

東京大学創薬機構の 21 万種のドラッグブルケミカルズについて長崎大学で開発されたスーパーコンピューター-DEGIMA を用いて Atg4B 結晶構造 (PDB: 2Z0E) に対する *in silico* スクリーニングを行った。創薬展開可能な分子量 600 をしきい値に設定し、ランク上位 960 化合物を創薬機構より入手し、示差走査熱定量法 (DSF) で高い有効性が示唆された 17 化合物について *in vitro* cleavage assay を用いて Atg4B 阻害活性を評価した。17 化合物すべてにおいて有意な Atg4B 阻害活性が確認され、中でも化合物 17 (20  $\mu$ M) はほぼ完全に Atg4B 阻害活性を阻害した。次に、前立腺がん LNCaP と 22Rv1 細胞を用いて化合物 17 のオートファジー阻害活性を評価した。アミノ酸枯渇培地で 3 時間培養することによってオートファジーを誘導し、その 2 時間前に化合物 17 で処理した。オートファジー誘導によって、オートファジー基質 p62 のタンパク質量は低下し、化合物 17 の前処理によって p62 タンパク質量は増加した。また、PI3 キナーゼ阻害を介したオートファジー阻害剤 wortmannin の前処理でも同様に p62 発現量の増大が認められた。また、DAPGreen を用いた蛍光観察によっても化合物 17 のオートファジー阻害活性が示された。最近、前立腺がん細胞において去勢抵抗性前立腺がん (CRPC) 治療薬がアポトーシス性細胞死と同時にオートファジーを誘導することが報告されたため、CRPC 治療薬 abiraterone に対する化合物 17 の効果について検討した。化合物 17 の前処理によって、abiraterone 誘導性オートファジーは抑制され、abiraterone 誘導性アポトーシスはさらに増強された。

以上、本研究では、*in silico* スクリーニングと DSF、*in vitro* cleavage assay を用いて、オートファジー阻害活性を示す新規 Atg4B 阻害剤 17 の開発に成功した。また、CRPC 治療薬 abiraterone との併用で抗がん活性増強効果を示した。これらの知見は今回見出した Atg4B 阻害を作用点とするオートファジー阻害剤が既存の抗がん剤の作用増強を可能にする新規アジュバント薬になることを示唆している。

# 生命現象を制御する分子の探索-ITbM 化合物ライブラリーセンター-

○佐藤 綾人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所

連絡先: ayato-sato@itbm.nagoya-u.ac.jp

トランスフォーマティブ生命分子研究所(WPI-ITbM)では、合成化学、動植物生物学と理論化学を融合した学際領域研究を展開する。その中で、演者が率いる化合物ライブラリーセンターは、分子のデザイン、ライブラリースクリーニングのマネジメント、誘導体およびプローブ分子において、ITbM で展開される化学と生物学の融合研究の起点を作っている。今回、その中のいくつかを紹介したい。

気孔は植物体の表面に存在する小さな「孔(あな)」であり、ガスや水の交換を通じて、植物体の成長を支えている。我々は植物の気孔を制御する化合物を見出すべく網羅的なケミカルスクリーニングを世界で初めて実施し、気孔の開口を阻害する化合物(Stomata closing molecule, SCL)を見出すことに成功した。中でも **SCL1** は内在性植物ホルモンであるアブシジン酸(ABA)と同程度の気孔開口阻害活性を有するが、ABA の有する抑制的な作用(成長阻害、発芽抑制作用)は有していないことが分かった<sup>1)</sup>。さらに、**SCL1** が花卉類へ乾燥耐性を付与することを見出し、社会実装に向けしおれ防止剤としての効果をマーケットで実施しているところである<sup>2)</sup>。また、気孔の数を増やす化合物 **ZA144** も、世界で初めて見出すことに成功した<sup>3)</sup>。

一方、化合物で生物の概日リズムを制御することにも成功している。我々は、ヒト骨肉腫細胞 U2OS 細胞の概日リズムを短縮する化合物を見出し、その中の **DHEA** がマウスの時差ボケを大幅に軽減することを発見した<sup>4)</sup>。さらに概日リズムの中核となる遺伝子の転写-翻訳フィードバックループにおいて中心的な役割を担う時計タンパク質 **CRY1**, **CRY2** のそれぞれに選択的に結合する **KL101** と **TH301** を見出した<sup>5)</sup>。また、我々は植物の体内時計を制御する化合物 **PHA767491**<sup>6)</sup>、**DBA**<sup>7)</sup> を相次いで見出すことに成功した。

近年、抗生物質の切り札と言われるカルバペネム系抗生物質を分解するスーパー耐性菌が世界的な問題となっているが、それらスーパー耐性菌が有する分解酵素カルバペネマーゼ(IMP-1)を強力に阻害し、生育を阻害する化合物 **G09** を見出すことに成功した<sup>8)</sup>。最近では、理論化学、バイオ/ケモインフォマティクス分野と協働し、新たなケミカルスペースの探索、予測に基づいた生体制御分子の開発も行っているところである。

これまでの6年間で、ITbM 内外の120の共同研究者に124万を超える化合物を提供した。開始当初は2万だった化合物も現在は75000を超え、バーチャルライブラリーも1億を超える。しかし、生物学の課題はいまだに山積する。ITbM の化合物ライブラリーからこれまで以上の生命現象を制御する化合物が生まれ、生命現象の理解・制御することを夢見ながら、日々、生物学者、理論化学者との協働を楽しんでいる。

参考文献: 1) *Plant Cell Physiol.* **2018**, *59*, 1568–1580.; 2) 科学技術振興機構 先端的低炭素化技術開発プログラム(JST-ALCA)における成果; 3) *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 9632.; 4) *EMBO Mol. Med.* **2018**, *10*, e8724.; 5) *Nat. Chem. Biol.*, **2020** (accepted); 6) *Proc. Acad. Natl. Sci. USA*, **2019**, *116*, 11528–11536; 7) *Plant Cell Physiol.*, **2019**, *60*, 2360–2368.; 8) *mBio*, **2020** (accepted)..

# 量子化学計算による RNA ウイルス薬剤耐性変異予測の試み

○石川 岳志<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 鹿児島大学学術研究院理工学域工学系化学生命・化学工学専攻

連絡先: ish@cb.kagoshima-u.ac.jp

抗ウイルス薬の開発には多額の費用と時間がかかる一方で、インフルエンザなどの RNA ウイルスはアミノ酸変異の頻度が高く、すぐに薬剤耐性株が出現してしまう。したがって、耐性株が出現しにくい薬剤設計が望まれるが、それぞれの薬剤に対して耐性変異を効率的に予測する方法は未だ確立されていない。そこで我々は、量子化学計算の一つであるフラグメント分子軌道 (FMO) 法と分子動力学 (MD) 計算から、薬剤耐性アミノ酸変異を予測する方法を提案した。

我々の耐性変異予測法では、抗ウイルス薬の標的タンパク質において「薬剤との結合に重要なアミノ酸」かつ「タンパク質の機能に重要ではないアミノ酸」が耐性変異を引き起こすと仮定し、これら 2 つの条件を満たすアミノ酸を FMO 計算から特定する。検証として、ノイラミダーゼとその阻害薬である Oseltamivir の複合体に対する FMO 計算を行ったところ、実際に耐性変異が報告されている GLU119 が上の条件を満たす「変異予測グループ」に分類された。一方、同様に耐性変異が報告されている HIS274 と ARG292 は「変異予測グループ」には分類されなかったが、MD 計算による解析から、HIS274 の変異が Oseltamivir の結合親和性を低下させることが示された。つまり、標的タンパク質と薬剤および基質との結合構造情報があれば、FMO 法と MD 法を利用して薬剤耐性アミノ酸変異の予測が可能であることが示唆された。

次に、インフルエンザ RNA ポリメラーゼの PA タンパク質とその阻害剤である Baloxavir (商品名ゾルファーザ) について耐性変異予測を行なった。FMO 計算から、TYR024・LYS034・LYS134 が「変異予測グループ」に分類されたが、既に耐性変異が報告されている ILE038 については、タンパク質の機能にも重要であると予測されたため「変異予測グループ」には分類されなかった。しかし、I38T の変異体は増殖能が低いことが報告されており、この点においては計算結果と一致していると言える。TYR024・LYS034・LYS134 については薬剤耐性株として臨床疫学的報告はまだないが、本年より上市された Baloxavir を継続的に使用していれば、耐性株として分離される可能性がある。現在、岐阜大学との共同研究で、インフルエンザ RNA ポリメラーゼに関する変異予測を検証するための実験系を構築しており、実験による検証を計算にフィードバックすることで、より精度の高い薬剤耐性変異予測法の開発に繋げたいと考えている。

本研究は、平成 29 年度日本医療研究開発機構 (AMED) 感染症研究革新イニシアティブ (J-PRIDE) の採択課題「薬剤耐性 RNA ウイルス出現予測法の確立と迅速制御のためのインシリコ創薬」において行われた。

ポスター・企業紹介・機器紹介

# イヌの変性性脊髄症関連変異タンパク T18S の生化学的特性解析

○桑原由季菜<sup>1</sup>, 小島結<sup>1</sup>, 木村慎太郎<sup>1</sup>, 鎌足雄司<sup>2</sup>, 神志那弘明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科、<sup>2</sup>岐阜大学・科学研究基盤センター

連絡先: kamicna@gifu-u.ac.jp

## 【研究の背景、目的】

イヌの変性性脊髄症 (DM) は高齢で発症する慢性進行性の致死的神経変性疾患である。DM 症例はスーパーオキシドジスムターゼ 1 (SOD1) 遺伝子の変異型ホモ接合体を有している。DM において過去に報告されている変異型 SOD1 タンパクは E40K と T18S の 2 種類である。病理組織学的な解析において、E40K 保有 DM 症例および T18S 保有 DM 症例の両方で神経細胞内への SOD1 タンパクの蓄積が認められている。一般的に T18S 保有 DM 症例は E40K 保有 DM 症例と比較して発症が早期であり、症状の進行が速いことが知られている。しかし、これまで変異タンパクの生化学的解析は、症例数が多い E40K に重きをおいて行われていたため、T18S については不明な点が多い。そこで本研究ではイヌの変異型 SOD1 タンパク T18S の生化学的な特性を解析した。

## 【材料と方法】

マウス神経芽細胞にイヌの野生型および変異型 SOD1 遺伝子を導入した。細胞内の変性 SOD1 タンパクの量を評価するために、抽出タンパクを可溶画分と不溶画分に分離後、ウエスタンブロットティング (WB) により SOD1 タンパクの発現を定量し、不溶性 SOD1 タンパクの割合を算出した。また、ユビキチンプロテアソームシステム (UPS) による変異 SOD1 タンパクの分解機構を評価するために、UPS 阻害剤を処置し、上記と同様に不溶性 SOD1 タンパクの割合を算出した。また、ユビキチン化 SOD1 タンパクを WB により定量した。さらに、オートファジーによる変異 SOD1 タンパクの分解機構を評価するために、オートファジー阻害剤を処置し、WB にてオートファゴソームの発現を定量した。

## 【結果と考察】

T18S は野生型 SOD1 タンパクおよび E40K よりも不溶性が増加していた。また、UPS 阻害により不溶性 E40K が有意に増加し、ポリユビキチン化された E40K が検出された。一方、不溶性 T18S の量は UPS を阻害しても変化せず、ポリユビキチン化された T18S は検出されなかった。さらに、オートファゴソーム形成の増強は E40K 発現細胞のみでみられ、T18S 発現はオートファゴソーム形成に影響しなかった。以上の結果から、T18S 発現細胞では不溶性 T18S が細胞内に多く蓄積していることが示唆されたが、その原因として T18S は UPS とオートファジーによる分解を受けにくいことが考えられた。これらの特性が T18S の細胞傷害性を強め、T18S 保有 DM 症例の臨床的特徴に影響を及ぼしている可能性がある。

# 細菌由来糖脂質 CPG およびその類縁体の化学合成

○高登 公一<sup>1</sup>、今村 彰宏<sup>1</sup>、石田 秀治<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岐阜大学・応用生物科学部、<sup>2</sup>岐阜大学・G-CHAIN

連絡先: aimamura@gifu-u.ac.jp

細菌・ウイルス感染症は、近年、抗生物質やワクチンの開発および予防接種の強化、あるいは公衆衛生環境の向上により、致死率が目覚ましく改善されてきた。しかし、公衆衛生環境が劣悪かつ治療設備に乏しい低所得国での罹患や、新型の病原性細菌・ウイルスの出現などもあり、感染症は、未だ世界の死亡原因の主要な位置を占めている。そのため我々は、細菌感染症に対する新たな治療法の開発を目指し、細菌がもつ特殊な糖鎖に着目した。本研究では、*Helicobacter pylori*感染症に焦点を当てることとした。

*H. pylori*は、乳児や高齢者に感染した際、胃癌や胃潰瘍といった重篤な症状を引き起こす。近年、発症原因化合物として、*H. pylori* が生合成するCholesteryl 6'-*O*-phosphatidyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (CPG)という糖脂質が注目されている。これは、ある種のCPGが、*H. pylori* 感染者から高頻度で検出される事実に基づいている。しかし、病原性の発現に重要なCPGのファーマコフォアは明らかとなっていない。そこで本研究では、CPGのファーマコフォア解明に向け、CPGのリン酸エステル結合をアミド結合に変えた類縁体、およびリン酸基に結合しているグリセロールユニットの構造を改変した四種の誘導体の化学合成を行うこととした。

CPGの合成において鍵となるのは、各目的化合物中に存在する $\alpha$ グルコシド結合の立体選択的な構築である。そのため、まずコレステリル $\alpha$ -グルコシド結合の構築を検討した。本研究では、 $\alpha$ 選択的グルコシル化反応として、*in situ* anomerization法と糖環固定化供与体を利用する方法の二種を比較検討することとした。結果として、コレステロールのグリコシル化には*in situ* anomerization法が適していることが判明した。次に、グリセロールユニットの合成を行った。本研究で合成するCPG誘導体は、グリセロール上に様々な脂肪酸鎖を有している。中でも、 $Z$ オレフィンをもつもの、シクロプロパン構造をもつものなどは市販されておらず、入手可能な化合物から誘導する必要があった。そして、それらの脂肪酸を合成した後、天然型CPGはリン酸エステル結合の構築、アミド類縁体ではアミド結合の構築を行った。最後に、保護基を除去することで各目的化合物の合成を達成した。

## 先回り創薬のための薬剤耐性変異予測と in vitro 評価系の構築

○鎌足 雄司<sup>1,2</sup>, 小林美穂<sup>1</sup>, 石川岳志<sup>3</sup>, 大滝大樹<sup>4</sup>, J. N. Makau<sup>4</sup>, 渡邊健<sup>5</sup>,  
西田教行<sup>4</sup>

<sup>1</sup>岐阜大学・科学研究基盤センター、<sup>2</sup>岐阜大学・連合創薬医療情報研究科、<sup>3</sup>鹿児島大学学術研究院・理工学域、<sup>4</sup>長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科、<sup>5</sup>安田女子大学・家政学部

連絡先: kamatari@gifu-u.ac.jp

薬剤耐性ウイルスや細菌の出現は大きな社会問題となっている。そこで我々は、数年前から計算化学に基づく薬剤耐性変異予測法の確立とそれを検証する in vitro 評価系の構築を進めている。発表では、インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ阻害剤をモデルとして行った例を報告する。まず、フラグメント分子軌道(FMO)法を用い残基レベルでの阻害剤との結合エネルギーを見積もり、「阻害剤との結合に重要なアミノ酸」かつ「タンパク質の機能に重要ではないアミノ酸」を耐性変異として予測する。そして、実際にポリメラーゼ阻害剤結合部位を作製し、阻害剤との結合を実験的に評価する。本システム利用のメリットは、同じ戦略がどのような系へも応用可能、リスクの高い系に対しても安全に使用可能、まだ出現していない薬剤耐性株に対する創薬(先回り創薬)が可能である点が挙げられる。

# アーケオシン合成酵素を活用した RNA の蛍光標識

○大澤 美紀<sup>1</sup>、尾木野 弘実<sup>1</sup>、大野 敏<sup>1</sup>、横川 隆志<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> 岐阜大・工、<sup>2</sup> 岐阜大・生命の鎖統合研究センター、<sup>3</sup> 岐阜大・院連合創薬

連絡先: don@gifu-u.ac.jp

細胞中の RNA の局在や RNA と他の分子の相互作用を解析するためには、RNA を標識して調べる方法が有効である。tRNA の修飾酵素を RNA の標識に利用したという先行研究もあるが、tRNA の修飾酵素を RNA 標識に利用するためには、その修飾酵素が多くの RNA に共通する部位や配列を認識すること、そして修飾酵素の反応によって得られるヌクレオシドに特異的な化学修飾法が存在すること、の 2 つの条件を満たす必要がある。

本研究では、アーケオシンに着目した。アーケオシンは、ほとんどのアーキア tRNA の 15 位に存在し、その生合成には、ArcTGT およびアーケオシン合成酵素(ArcS と RaSEA の複合体)が関与する。ArcTGT は tRNA<sub>15</sub> 位の guanine を preQ<sub>0</sub>-base に交換し、アーケオシン合成酵素中の ArcS は、preQ<sub>0</sub>-base へ lysine を付加する。lysine はアミノ基を有しており、第一級アミン特異的に標識することができる。ほとんどの tRNA は 15 位に guanine を持つことから、15 位に付加された lysine を標的にすることで、tRNA を汎用的に標識できるのではないかと考えた。

ArcTGT を用いて preQ<sub>0</sub>-base を含む *Methanosarcina acetivorans* の tRNA<sup>Met</sup> および tRNA<sup>Phe</sup> 転写物を作製し、ArcS を用いた反応で lysine を取り込ませた。これをアミノ基特異的な蛍光標識試薬と反応させたところ、両者とも蛍光標識することができたが、蛍光標識された tRNA のアミノ酸受容活性は大幅に低下してしまうことがわかった。今後、活性低下の原因を究明し、解決できるか検討する必要がある。

次に、この方法を tRNA 以外の RNA の標識に応用するため、*M. acetivorans* tRNA<sup>Met</sup> を 5' 末端から 21 位までの部分配列(1/4RNA, 21 nt)と、22 位から 3' 末端までの部分配列(3/4RNA, 56 nt) の 2 つの断片に分割することを考えた。もし分割した 1/4RNA の 15 位に lysine が取り込まれるなら、1/4RNA を標識用タグとし、1/4RNA の 3' 末端に標識したい RNA を付加することで、任意の配列の RNA に lysine を取り込ませて、蛍光標識することが可能である。

<sup>14</sup>C で標識された lysine を用いて 1/4RNA への lysine の取り込みを測定したところ、1/4RNA と 3/4RNA を混合すると、lysine が取り込まれるようになることがわかった。これは、両者が複合体を形成し、tRNA 様の構造を形成したためだと考えられる。そこで、1/4RNA をタグとして、3' 末端に Cricket paralysis virus internal ribosome entry site 相当の RNA (216 nt) を付加したもの (CrPV\_1/4RNA) で同様の反応を行ったところ、こちらも 3/4RNA を加えれば、lysine の取り込みを検出することができた。また、lysine を取り込んだ 1/4RNA および CrPV\_1/4RNA を蛍光標識することができた。

## NMR を用いたタイトジャンクション制御化合物の探索

天野剛志<sup>1</sup>、久田美咲<sup>1</sup>、野田翔太<sup>1</sup>、中倉由香子<sup>1</sup>、中島美緒<sup>2</sup>、平沼南美<sup>1</sup>、合田名都子<sup>1</sup>、廣明秀一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名大・院・創薬科学、<sup>2</sup>名大・理・生命理学

上皮細胞の頂端部に形成されるタイトジャンクション (TJ) は、物質透過を制限するバリア機能を担っている。主な構成タンパク質である膜タンパク質クローディン (CLD) の細胞内 C 末端が、細胞内足場タンパク質 ZO の N 末端にある PDZ1 ドメインに相互作用すると、TJ の形成が促進される。一方で、ZO タンパク質を発現させないように処理した細胞では、TJ は適切に形成されない。したがって、PDZ1 ドメインとクローディン C 末端との相互作用を低分子化合物等で阻害すれば、TJ 形成が減弱すると仮定できる。そこで、溶液 NMR を使って、PDZ1 ドメインに結合する化合物の探索を行い、培養細胞を用いて TJ への効果を調べた。

調べる化合物は、他の PDZ ドメインに対する *in silico* ドッキングスクリーニングで見出したものであったり、他の PDZ ドメインへの結合が報告されていたりする化合物とそれらの類似体とした。これまでの研究により、PDZ ドメイン上の結合部位において、クローディン C 末端のカルボキシ基と PDZ ドメインのアミノ酸主鎖間の水素結合、および側鎖による各種相互作用が PDZ ドメインへの結合に重要であることが報告されている。化合物を PDZ ドメインと混合し、結合部位を構成しているアミノ酸のアミド基由来のシグナル変化を指標に、ZO-1 PDZ1 ドメインに結合しうる化合物を探索したところ、相互作用が弱いものも含めると 48 個の結合化合物を発見した。結合した化合物の多くはカルボキシ基を置換基としてもっていたが、一部もっていない化合物もあり、異なる相互作用機序で結合している可能性がある。

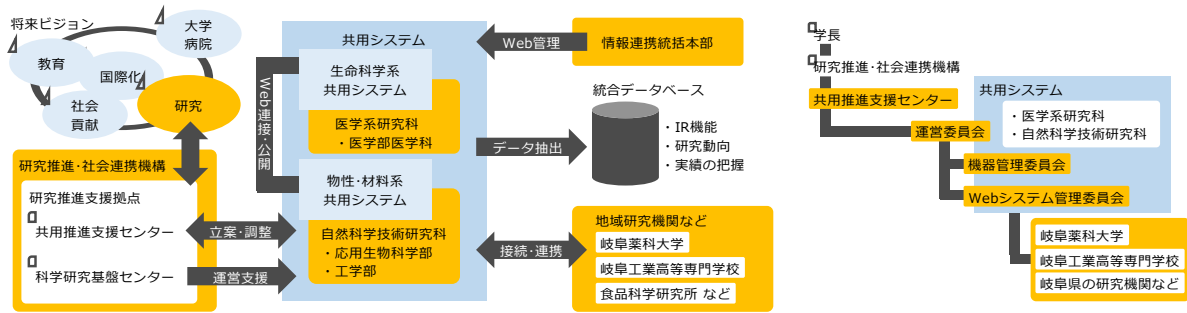
TJ 構成タンパク質の局在変化や量の変動を MDCK II 細胞を使って調べると、現在までに 8 個の化合物において細胞境界の CLD2 量の減少が観察された。また、Caco-2 細胞をこれらの化合物に曝露し、分子量約 6000 の FITC-insulin をトレーサーとしてその透過量を観察したところ、24 時間で最大 1.5 倍の透過量を示す化合物があった。これらの結果から、ZO-1 PDZ1 ドメインへの結合を示す化合物の中には、TJ のバリア機能を緩和し、透過促進効果をもたらす化合物を含むことが示唆された。



# 岐阜大学 共用推進支援センター



## 大学の経営戦略等における共用システムの位置づけ



### ● 本学の将来ビジョン

- ・ 高度な専門職業人の養成に主眼を置いた教育
- ・ 教育の基盤としての質の高い研究
- ・ 地域に根ざした国際化の展開

研究を進展させるための環境整備

### ● 研究組織内に分散している機器の共用化

- ・ 研究推進・社会連携機構内に研究推進支援拠点の設置
- ・ Webシステムで管理・運用できる共用システムの構築
- ・ 地域の研究機関との連携強化

## 共用設備・機器の整備・利用実績

### ● 共用設備・機器 学内および学外利用可 ※一部を除く



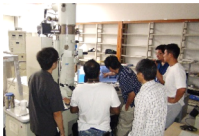
登録共用設備・機器数(平成31.4)

- 生命科学系共用システム **12台**
  - ・ 電界放射型透過電子顕微鏡
  - ・ 800MHz 核磁気共鳴装置など
- 物性・材料系共用システム **30台**
  - ・ 次世代シークエンサー (Miseq)
  - ・ X線回折装置 (SmartLab) など

### ● 利用実績

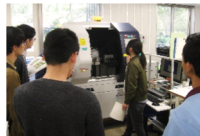
平均稼働率  
17%  
(平成30年度)  
↓  
**22%**  
(令和元年度見込)

### ● 共用設備・機器の整備・利用講習会の実施



電界放射型透過電子顕微鏡整備および講習会を実施

利用研究室数 **UP**

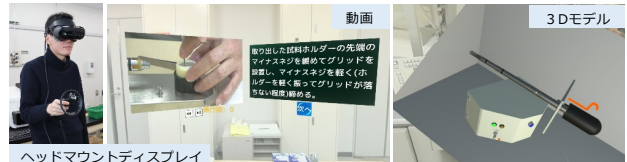


SmartLab講習会を実施

稼働率 54% → **67%**

共用率 12% → **39%**

### ● 安心・安全利用への取り組み



仮想現実を利用した事前学習シミュレーション

共用機器がある空間を再現  
機器操作を疑似体験

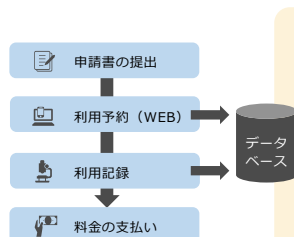
機器の確認  
操作ミスの防止

## 共用システムの概要

### ● WEB予約システム



- ・ PCやスマホなどWebから設備・機器検索/予約可能
- ・ シンプルな作りで他研究機関への容易な展開が可能



- 利用者**
  - ・ 研究目的に合った設備・機器の迅速な検索
  - ・ 設備・機器の用途、利用法への容易なアクセス
  - ・ 利用研究者とのコミュニケーションの活性化
- 設備・機器保有者**
  - ・ 設備・機器の効率的な運用
  - ・ 他研究者とのコミュニケーション/コラボレーション活性化
- システム管理者**
  - ・ 設備・機器情報のオープン化/稼働効率分析/稼働率向上
  - ・ 研究力向上に向けた分析
  - ・ 運用規程やルールの制定・周知

### ● 地域研究機関との連携

#### 岐阜薬科大学との連携

- ・ 共用機器の説明会
- ・ 機器室のカード貸与による利便性の向上
- ・ 共用機器の新規登録



4台登録

#### 岐阜工業専門学校との連携

- ・ 協定書を締結
- ・ 共用機器の新規登録



7台登録

17台掲載

#### 岐阜県下の研究機関との連携

- ・ WEBで機器の紹介
- 掲載機器数 **計70台**  
(今後も増加予定)



# 最先端のNMR技術を搭載

ルーチン分析から難易度の高い構造解析にも



## AVANCE NEO専用高感度プローブ iProbeシリーズ

- ・幅広い核種に対して、フルオートで最大の感度を得ることができる汎用性
- ・溶液用（BBFO型、TBO型）、半固体用（HRMAS）、固体用（CPMAS）をラインナップ
- ・オートチューニング・マッチングが可能で、さらにオートサンプルチェンジャーにも対応
- ・半固体および固体用では、マジックアングルも自動調整可能

## 最新のエレクトロニクスが組み込まれた分光計 AVANCE NEO

- ・複数のスペクトルの同時取得が可能なマルチレーバ構成により、短時間で多くの情報を取得
- ・ノイズを低減する設計により、高感度化とダイナミックレンジの拡張を実現
- ・溶液・固体測定のどちらにも使用可能な多用途性

## 日本語ウェビナー好評配信中

基礎的な内容から、知っておくと役立つNMRの技術情報、最新トピックのご紹介など

ウェビナーの一覧、視聴、資料ダウンロードは以下のQRコードまたは、「ブルカーウェビナー」でウェブ検索。



ブルカージャパン株式会社

バイオスピン事業部  
info.bbjo.jp@bruker.com  
www.bruker.com

本社（横浜営業所）

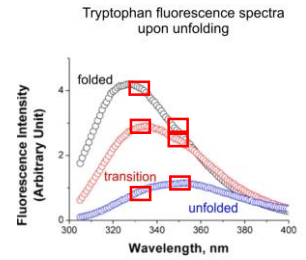
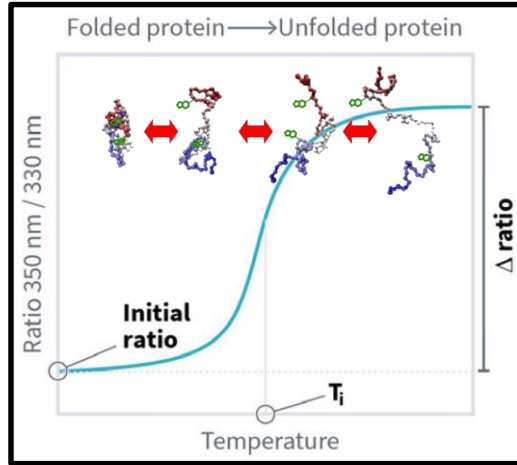
〒221-0022 神奈川県横浜市神奈川区守屋町3-9  
TEL：045-444-1390

大阪営業所

〒532-0004 大阪府大阪市淀川区西宮原1-8-29 テラサキ第2ビル2F  
TEL：06-6394-8989

# Tycho™ NT.6

～タンパク質試料の品質が**3分間**で明らかに～



nanoDSFテクノロジーにより、ノンラベルのタンパク質試料の熱によるアンフォールディングプロファイルを3分間で測定します

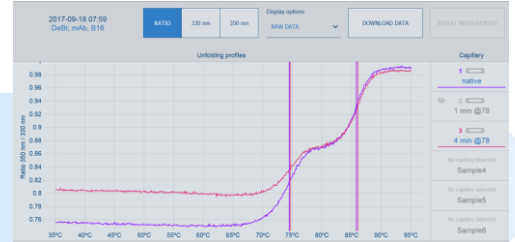
## 使用方法



キャピラリーへサンプル吸引



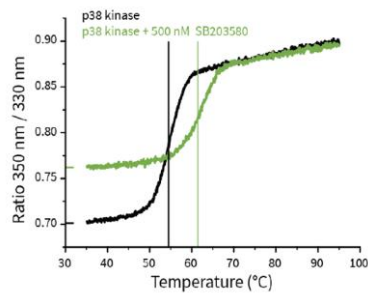
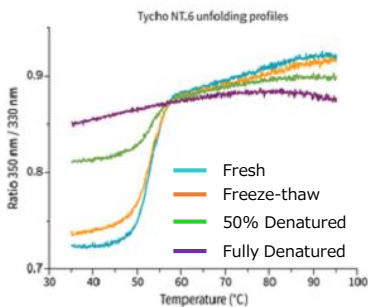
6サンプルまでセット可能



3分後に測定・解析完了

## 使用例

↓保存試料中の変性タンパク質量の評価



↑リガンド結合による構造安定性の評価

## 多様なサンプルを測定可能

- 抗体
- キナーゼ
- 多量体・複合タンパク質
- 転写因子
- 界面活性剤やナノディスク内の可溶化された膜タンパク質
- タグ付きタンパク質
- 変異体タンパク質 (点突然変異)
- 酵素
- VLP、カプシド
- 機能性タンパク質 (ADCなど)





ご利用中の **3DCGビューア**  
**可視化アプリケーション**  
でも、**立体視が実現出来ます。**

◎ **即納可能です** ◎

長時間の利用でも目が疲れにくい  
業務用高精細VRディスプレイ

## zSpace 200

### 製品特徴

1. 軽量、かつ、**眼が疲れにくい**専用の偏光メガネ
2. 時分割・パッシブ方式により画面が**暗くならない**
3. スタイラスペンでオブジェクトを**自在につかめる**
4. 内蔵トラッキングセンサーで**自然な視野を再現**

表示領域	偏光方式	トラッキング
24インチ	円偏光	赤外線
解像度	リフレッシュレート	
1920x1080	120Hz	

※PCは別売です。仕様等はお問合せください

**キャンペーン価格**

**499,950円(税込)**

オンサイト設定作業・操作説明  
オプション **99,000円(税込)**より

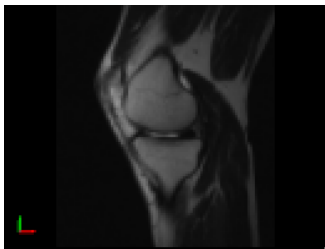
### zSpaceでの立体視利用方法

- Unityまたは、C / C++のSDKによる対応コンテンツを開発
- 別売キャプチャーソフトにより、**zSpace非対応のアプリでも、OpenGL描画を立体視表示可能**
  - 分子系 PyMol, VMD, MOE, DS Visualizer, 等々
  - 工学系 ParaView, FieldView, AVS, 等々
  - CAD CATIA, SolidWorks, iCAD, 等々

## PDF3D ReportGen

PowerPointやWord等で作成したPDF  
ファイルに、3Dモデルやアニメーションを  
埋め込み・変換できます。

PDFを閲覧する方は、**専用ソフト不要**で、無償のAcrobat Reader  
があれば、PDF上で分子構造、CT画像のアニメーションなどを  
ご覧いただけます。

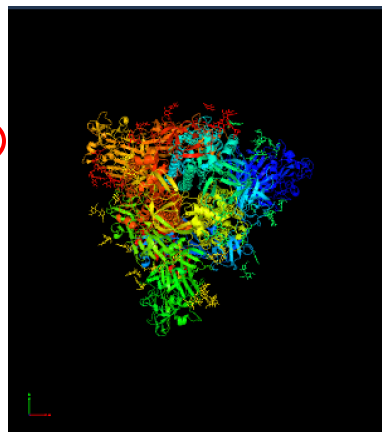


MIR画像アニメーション

**アカデミック価格 71,500円(税込)**



1HXW



6NB4 (表示に10秒ほどかかります)

ⓘ 3Dコンテンツは無効になっています。この文書を信  
頼できる場合は、この機能を有効にしてください。

オプション

本PDFウィンドウ上部に表示されている黄色い帯の(オプ  
ション)から、「今回のみこの文書を信頼する」を選択す  
ると、この広告内の画像を  
**クリックして動かすことができます。是非、お試し下さい。**

**ATTRIBUTE**

アトリビュート株式会社

〒108-0072 東京都港区白金3丁目17番-10-106号

TEL:03-4405-8920 HP:http://www.attribute-jp.com

E-Mail:st-saito@attribute-jp.com

蜂産品  
健康補助食品・医薬品の  
総合メーカー



世紀を越えて

自然の恵みをあなたのチカラに

原点は、ミツバチでした。

1907年の創業以来我々は、ミツバチを通じて

自然と人間社会の調和について真摯に考え、

実に多くのことを学んできました。

その叡智のすべてを

人々の健康と真の豊かさの実現のために

そそいでまいりました。

健康補助食品のトップメーカーとしての

大きな華を咲かせようとしています。

食品・医薬品・化粧品総合メーカーとして、

より大きな夢に向かって

チャレンジしてまいります。

# API株式会社

代表取締役社長 野々垣 孝彦

本社/〒500-8558 岐阜市加納桜田町1-1  
 本社第二ビル/〒500-8463 岐阜市加納新本町4-23  
 東京支店/〒103-0011 東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモトビル3階  
 長良川リサーチセンター/〒502-0071 岐阜市長良692-3  
 アピ クオリティ&ロジスティクス センター/〒501-0474 本巣市国領200  
 ミズホ先端技術センター/〒501-0221 瑞穂市只越1068-5

TEL.058-271-3838  
 TEL.058-271-3838  
 TEL.03-3662-3878  
 TEL.058-232-0838  
 TEL.058-320-2308  
 TEL.058-325-1038

〔工場〕

本巣工場/〒501-0474 岐阜県本巣市国領98-1  
 池田工場/〒503-2404 岐阜県揖斐郡池田町小牛743-1  
 揖斐川工場/〒501-0627 岐阜県揖斐郡揖斐川町市場1547-3  
 ネクストステージ工場/〒501-0627 岐阜県揖斐郡揖斐川町市場1547-3  
 池田医薬品工場/〒503-2408 岐阜県揖斐郡池田町段234-1  
 池田バイオ医薬品工場/〒503-2406 岐阜県揖斐郡池田町宮地11  
 本荘工場/〒500-8364 岐阜市本荘中ノ町8-37

TEL.058-323-0833  
 TEL.0585-45-0588  
 TEL.0585-23-0883  
 TEL.0585-21-0038  
 TEL.0585-44-0538  
 TEL.0585-44-0038  
 TEL.058-268-6560

# 研究開発支援企業として、 「産・学・官・医」を支えています。

株式会社カークは、「創造と努力」「誠実と感謝」の企業理念のもと、  
試薬、分析機器、検査薬、工業薬品などの販売を通して社会に貢献しています。  
研究開発支援企業としてあらゆるニーズにお応えいたします。



**株式会社 カーク**

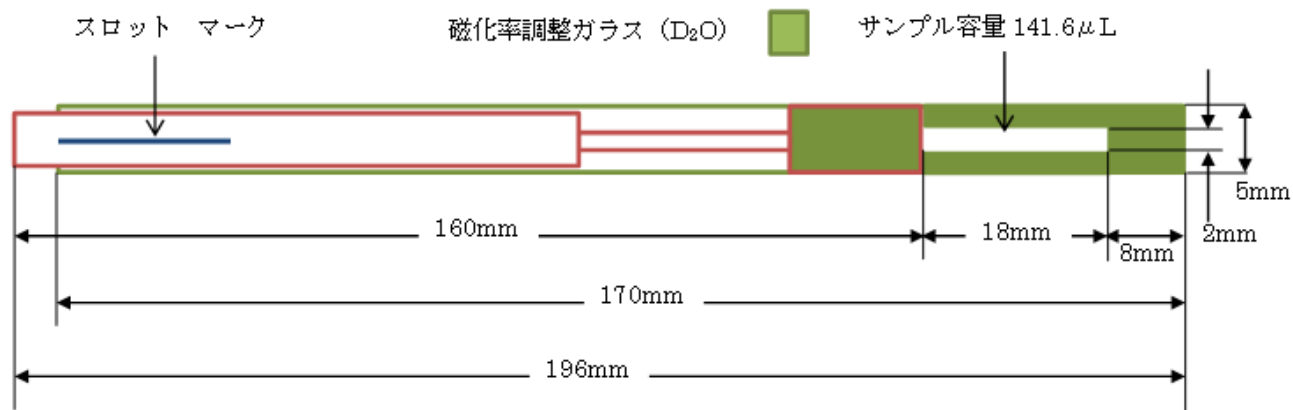
〒460-0002 名古屋市中区丸の内 3-8-5 TEL.052-971-6533(代)

営業一部	TEL.052-971-6771	営業二部	TEL.052-971-6551
営業三部	TEL.052-971-6772	愛知東営業所	TEL.0564-66-1580
愛知南営業所	TEL.052-624-5819	浜松営業所	TEL.053-431-6801
岐阜営業所	TEL.058-268-8151	三重営業所	TEL.059-236-2531
東京営業所	TEL.03-3868-3951	神奈川営業所	TEL.045-326-6651
四日市営業所	TEL.059-337-9700	大阪営業所	TEL.06-6389-2411
静岡営業所	TEL.054-267-3361		

# スロットチューブ

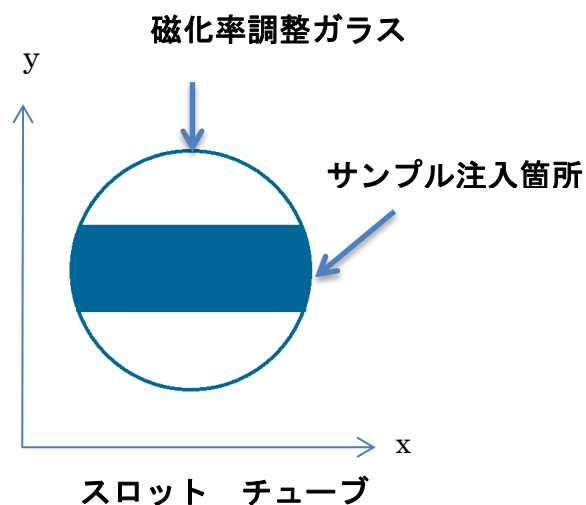
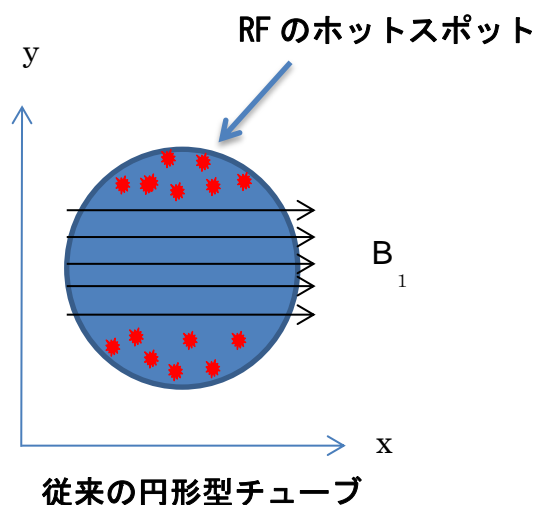
## 高濃度電解質対策用 サンプルチューブ

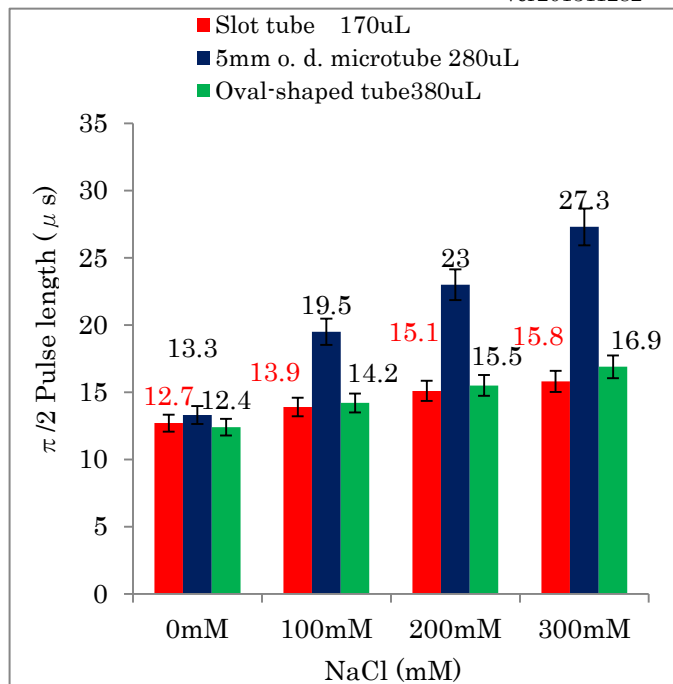
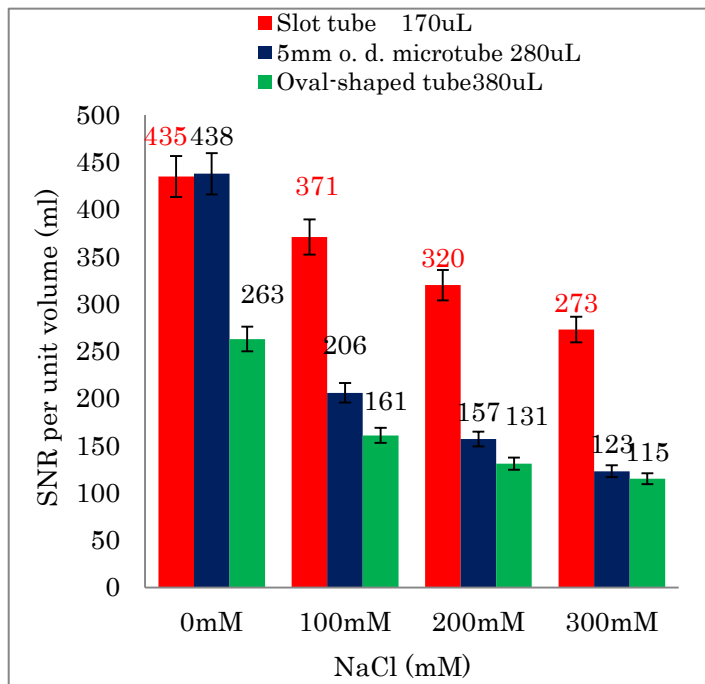
シゲミのスロットチューブは高塩濃度を含むサンプルに対し、他のサンプルチューブと比べ最も短い90°パルス幅、最も高い感度を実現できます。



### 特徴

- \* RFのホットスポットを回避する場所にサンプルを注入できる。
- \* 従来の円形型サンプルチューブに比べ感度の減少は非常に少ない。
- \* 従来の円形型サンプルチューブに比べ90°パルス幅の増加は非常に少ない。
- \* CryoTM probe (Bruker) 600, 950MHz and Cold Probe (Varian/Agilent) 600MHzで性能確認済み。





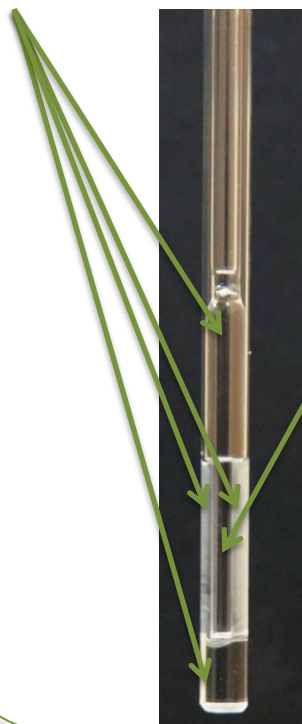
単位体積当たりの相対感度  
塩濃度とサンプルチューブを比較

塩濃度の濃さの変化させた時の 90° パルス幅の比較

Data acquired at 14.1T (600 MHz Cryo™Probe) for the ubiquitin samples of 0.3mM of [U-<sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N] containing 10mM sodium phosphate

### スロット チューブ

磁化率調整ガラス



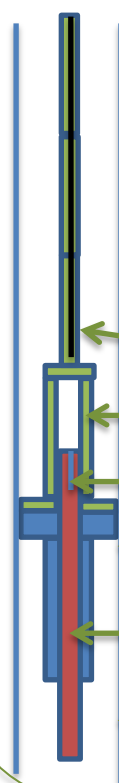
サンプル充填  
スロット  
高さ 18mm  
幅 2mm  
144.6 μL

1 セット ¥25,000

### ポジショニング ツール

NMR メーカー純正のサンプル位置を固定できるスピナータービンをお持ちでないお客様へ位置決め治具を開発いたしました。

**ご注意ください。圧縮空気によるインサート・イジェクトは使うことができません。**



スロット位置確認マーク  
位置決め治具  
スロット位置確認マーク  
スピナータービン  
スロット チューブ  
アッパバレル

1 セット ¥150,000

☎ 042-624-2207 (9時~16時)  
FAX 042-622-0937



株式会社

シゲミ

<http://www.shigemi.co.jp>

遺伝子変異解析セット (がんゲノムプロファイリング検査用)

# OncoGuide™ NCC オンコパネル システム

医療機器製造販売承認番号：23000BZX00398000



## がんゲノムプロファイリング検査の臨床実装へ

シスメックスのOncoGuide™ NCCオンコパネル システムは、

- 国立研究開発法人 国立がん研究センターと共同開発した、がんゲノムプロファイリング用の検査システムです。
- がん種を特定せず、固形がんを解析対象としています。
- がん関連の114遺伝子に関するプロファイルを取得し、データベースと照合して遺伝子異常(変異:SNV, InDel, 増幅:CNA, 融合:Fusion)を検出し、その臨床情報と合わせて提供します。
- 腫瘍組織の対照として同一患者の非腫瘍細胞(全血)を用いるため、遺伝子多型を除外することが可能です。

OncoGuide™ NCCオンコパネル システムのお問合せは  
シスメックス株式会社  
OncoGuide™ NCCオンコパネル システム 専用窓口

**0120-035-802**

受付時間:  
月曜日～金曜日 9:30～17:00(祝日・お盆・年末年始・その他休日は除く)

製造販売元

シスメックス株式会社

本社 神戸市中央区脇浜海岸通 1-5-1 〒651-0073  
LS市場開発部 神戸市西区高塚台4-4-4 〒651-2271

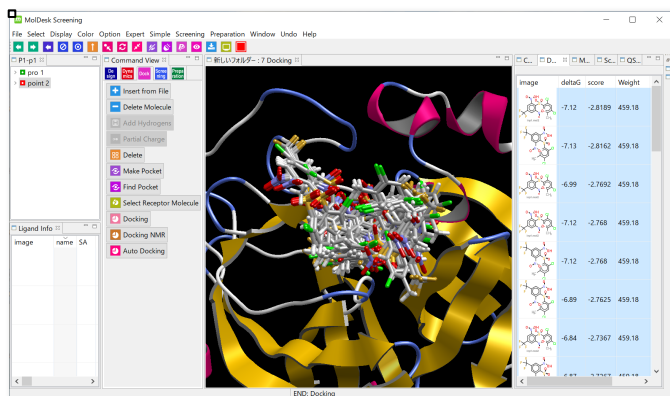
2020年3月作成



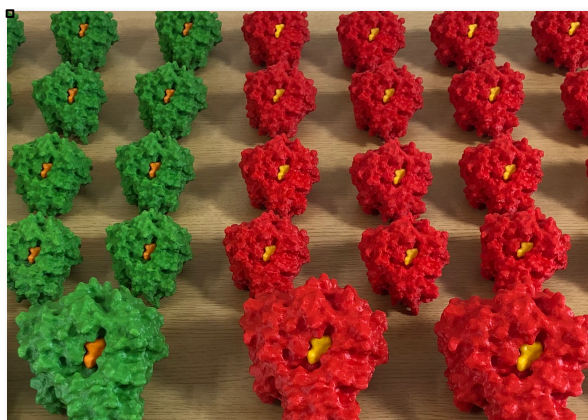
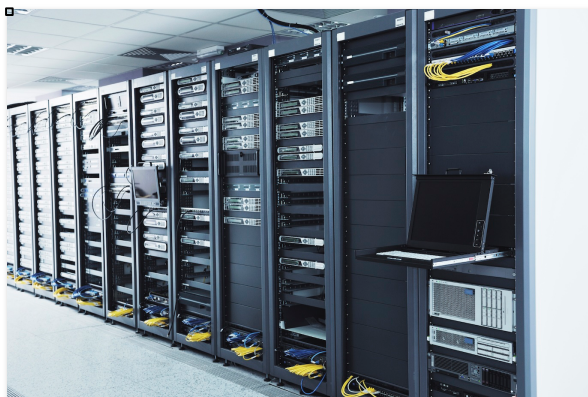
注：活動及びサイトの適用範囲は規格により異なります。  
詳細は [www.tuv.com](http://www.tuv.com) の ID 0910389004 を参照。  
Note: Scopes of sites and activities vary depending on the standard.  
For details, refer to the ID 0910389004 at [www.tuv.com](http://www.tuv.com)

[www.sysmex.co.jp](http://www.sysmex.co.jp)

分子シミュレーション等のIT技術を駆使した  
手法の利活用を支援する会社です



MolDockの操作画面



## 主な業務内容

創薬計算支援ソフトmyPrestoの活用支援

創薬計算実習会開催

myPresto実行用GUIソフトウェアMolDockの販売

計算受託

ソフトウェア開発・保守

IT関連の技術調査

分子模型製造・販売

myPrestoは、次世代天然物化学技術組合が開発している医薬品開発支援の分子シミュレーションシステムで、経済産業省、NEDO及びAMEDからの委託プロジェクトの中で開発されたものです。

myPrestoは、無料で利用可能です。

MolDockは株式会社情報数理バイオの製品です。弊社は、MolDockの正規販売代理店です。

お問い合わせ

株式会社バイオモデリングリサーチ

〒468-0058 名古屋市天白区植田西1-704-2

TEL: 052-720-7704 E-mail: info@biomodeling.co.jp

FAX: 052-740-6616 URL: <http://www.biomodeling.co.jp>

# マイクロカロリメータ ITC・DSCを用いた 医薬品原薬・製剤の物性評価

- ・ターゲット分子への結合評価
- ・結合メカニズムの理解
- ・ターゲットタンパク質の結合活性評価

分子間相互作用解析装置

## MicroCal PEAQ-ITC



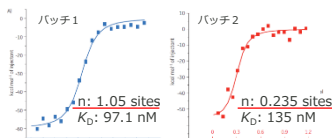
【得られるパラメータ】

- ・解離定数 ( $K_D$ )
- ・熱力学的パラメータ ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ )
- ・結合比 ( $n$ )

【特長】

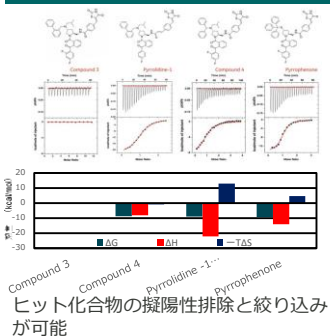
- ・溶液中の分子間相互作用をダイレクトに測定
- ・ラベル化、固定化不要
- ・分子量の制限なし

目的タンパク質の結合活性評価



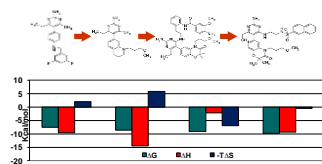
アフィニティはほぼ同等であるが、結合比がバッチ2で0.235（理論的には1）となっていることから、目的タンパク質が約24%しか結合活性が保持されていないことを示唆している

スクリーニングで絞り込まれた候補物質のヒットバリデーション



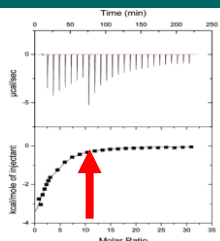
ヒット化合物の擬陽性排除と絞り込みが可能

ヒット化合物のリード最適マイゼーション



グラフの向きが下向きになればなるほど結合が有利になる

目的タンパク質に対する賦形剤飽和濃度の評価



モル比で10倍の賦形剤を添加することでタンパク質の周りを飽和できる

- ・熱安定性を指標としたコンストラクト選定
- ・処方条件検討
- ・サンプル間の同等性評価（バイオシミラーなど）

熱安定性解析装置

## MicroCal PEAQ-DSC



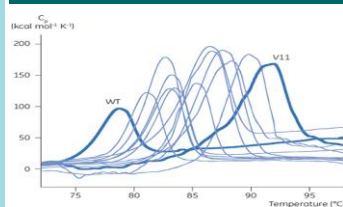
【得られるパラメータ】

- ・変性中点温度 ( $T_m$ )
- ・熱力学的パラメータ ( $\Delta H$ ,  $\Delta C_p$ )

【システム特長】

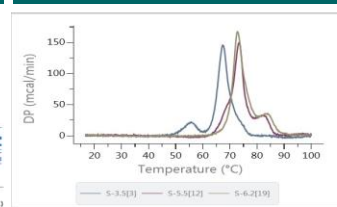
- ・溶液中の熱変性に伴うサンプルの熱量変化をダイレクトに測定
- ・ラベル化不要
- ・希薄濃度（数十 $\mu\text{g/mL}$ ）で測定可能

FabIに変異を導入した抗体11種類の熱安定性比較



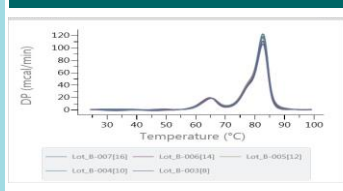
抗体の変異領域のわずかな配列の違いが熱安定性にどのように影響するかを比較し、より安定なコンストラクトを候補として絞りこむことが可能

抗体の製剤条件検討（pH）



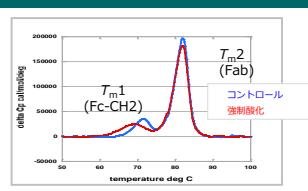
製剤の処方条件（緩衝液の種類、pH、添加剤など）を、各種溶液中の抗体の熱安定性、変性の開始点を比較し、条件を絞りこむことが可能

抗体のロット間の同等性評価



製剤化後のロット間、拠点間の同等性をDSCデータの形状をフィンガープリントとして評価が可能。バイオシミラーではイノベーターとの比較も可能

抗体に対する保存や輸送等時に生じる酸化の影響評価



製剤化後の保存や輸送等時に生じる酸化などのアーティファクトな影響を、熱安定性を指標として比較、検討することが可能



**Malvern Panalytical**  
a spectris company

スペクトリス株式会社

マルバーン・パナリティカル事業部

30  
フリーダイヤル

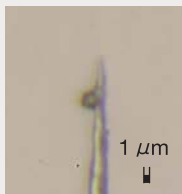
0120-57-1714

もう小さなことでは悩まない

# これが、最先端X線回折装置の新常識 『Sub-three結晶構造解析』という新概念

## 未知化合物の Sub-three結晶構造解析

市販解熱剤のカプセルから取り出したSub-three結晶(3×2×1 μm<sup>3</sup>)のWhat is this? モードによる未知構造決定自動測定・解析の結果、約30分でアセトアミノフェンであると判明しました。



3 x 2 x 1 μm<sup>3</sup>  
Vol: 6 μm<sup>3</sup>

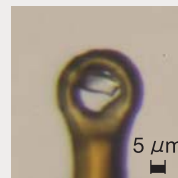


Space group	P2 <sub>1</sub> /n
Chemical formula	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>
Formula weight / ASU	602.42
Total time	34 m 25 s
Dose time	34 m 20 s
R <sub>1</sub> (%)	7.36
wR <sub>2</sub> (%)	19.09
Goodness of fit	1.04

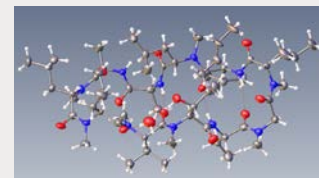
## 高分子量環状ペプチドの 微小結晶

微小な高分子量環状ペプチド結晶は、X線によるダメージが大きく、長時間露光ができません。

約2時間で構造解析だけでなく、絶対構造の判定が可能でした。



25 x 10 x 6 μm<sup>3</sup>  
Vol: 1,500 μm<sup>3</sup>



Cyclosporine A: C<sub>62</sub>H<sub>111</sub>N<sub>11</sub>O<sub>12</sub>  
Molecular Weight: 1202.61  
R<sub>1</sub>=7.21%, Flack=-0.0 (2)



XtaLAB SynergyCustom

最近のX線装置の進化と共に、以前は夢の解析だと思われていた事例が既に現実になっています。ぜひご覧ください。

<https://www.rigaku.co.jp/NEXT/>



国内一貫生産  
低価格化・安定供給



## 組換えヒトアクチビンA溶液（試験研究用） Recombinant Human Activin A



アクチビンAは幹細胞(iPS・ES細胞)を中胚葉，内胚葉へ分化誘導させる機能等を担う116アミノ酸残基から成る $\beta$ A鎖が2本結合したホモダイマーで、分子量約26,000の(TGF- $\beta$ )ファミリーに属するサイトカインです。

➤ <b>昆虫細胞での製造 (非BEVS)</b>	遺伝子の導入には化学的手法を用いており、ウイルスは使用しておりません
➤ <b>安定品質</b>	安定発現株として細胞構築し、高品質の発現タンパクを安定的に製造

### ■ 製品仕様

- ・ 1バイアル中に組換えヒトアクチビンAを 10  $\mu$ g / 50  $\mu$ g / 0.5 mg 含む溶液凍結品（組成； 150  $\mu$ g/ml アクチビンA/クエン酸・リン酸緩衝液）
- ・ 宿主： *Drosophila melanogaster*由来S2細胞

### ■ 製品規格

試験項目名	試験方法名	規格値/適否の判定基準
アクチビンA含量	ビシンコニン酸法	$\geq 50 \mu\text{g}/\text{tube}$
アクチビンA濃度	液体クロマトグラフ法	150 $\mu\text{g}/\text{mL}$
確認試験	SDS-PAGE法 ウェスタンブロット法	非還元：20 ~ 25 kDaにバンドを認める 還元：10 ~ 15 kDaにバンドを認める
純度試験	液体クロマトグラフ法	$\geq 90\%$
エンドトキシン試験	エンドトキシン試験法	$< 50 \text{ EU}/\text{mg}$
力価	生物学的活性測定法	$\geq 0.5 \times 10^3 \text{ IU}/\text{mg}$

### ■ 価格

コードNo	品名	容量	希望納入価格
GF-001-010L	組換えヒトアクチビンA溶液	10 $\mu$ g	¥13,200-
GF-001-050L		50 $\mu$ g	¥36,000-
GF-001-500L		0.5 mg (50 $\mu$ g $\times$ 10本)	お見積もり

### ■ 総販売元

**I-S-E-K-Y-U**  
伊勢久株式会社

〒460-8558

愛知県名古屋市中区丸の内三丁目4番15号

伊勢久株式会社 再生医療部

TEL: (052)961-8318 FAX: (052)963-6075<sub>32</sub>

担当：菊澤 悠 email: yu\_kikuzawa@isekyu.co.jp

### ■ 製造元

アピ株式会社

 **アピ株式会社**



Reaching out to meet your needs

桂化学は信頼できるCMO, CDMOとして  
桂化学 Quality に対応します

- ・ 反応解析から工業化検討の協力 (mg からトナまで)
- ・ 前臨床段階から実生産段階の原薬製造に対応

品質と技術と信頼性



ケミカルハザード クリーンルーム

<https://www.katsura-chemical.co.jp> 🔍



桂化学株式会社

神奈川県座間市ひばりが丘 4-15-19 TEL 046-252-0948