生体分子システムを標的とした
天然物由来新規生理活性物質の開発

平成26年度～平成30年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

研 究 成 果 報 告 書

令和元年 5 月

学校法人名　工学院大学
大　学　名　工学院大学
研究組織名　工学院大学総合研究所
生体分子システムセンター
研究代表者　今村　保忠
（工学院大学先進工学部生命化学科）

は じ め に

本プロジェクトでは、微生物・植物・バイオマス等の天然物由来の有用物質の開発を効率よく行う研究拠点の形成を目的としました。有用物質の生理活性を、生体分子システムを標的として分子や細胞レベルで明らかにすることを目指したものです。工学院大学には、化学と生命科学およびその周辺の多様な分野の研究者が八王子キャンパスに集中しています。日頃から、種々の天然物由来の有用物質の探索や、その精密合成法を新規に開発するなどの研究成果を蓄積しております。このプロジェクトでは、これらの研究者と外部のケミカルバイオロジーの研究者からなる研究拠点を形成することにしました。この研究拠点では、有用物質の開発が効率的に行えると期待してものです。ケミカルバイオロジーは、有機化合物を基礎として生命科学研究を行うことから臨床治療薬など有用な化合物開発に直結します。医薬品や機能性素材・食品等のシーズとなる有用物質が開発できれば、その成果を広く産業界に提示して行きます。また、研究の過程で開発される技術・知見は各研究者の専門分野に反映されることになります。

このプロジェクトは、工学院大学総合研究所の研究組織「生体分子システムセンター（BMSC）」により実施されました。工学院大学の化学系の研究者を中心に、学内 12 名、学外 2 名の研究者により構成されています。学外からは理化学研究所及び東京農工大学工学部の研究者が参加しています。これまでに、５回の報告会を実施し、また、７回の外部の著名な研究者を招いて講演会を開催し、情報交換やデータ検討を行いました。メンバー間の連携が大きな課題ですが、これらを契機にいくつかの連携が始まっています。また、このプロジェクトは、大学院生等への研究教育の場となることも重要な使命です。５年間で博士後期課程学生７名を RA として雇用し、研究の機会を提供しました。多くの大学院生が直接、間接にプロジェクトに関わって、学会等の場でその成果を公表してきました。また、社会へのアウトリーチ活動として、工学院大学八王子キャンパスで実施された第 25 回わくわくサイエンス祭科学教室（2018 年 8 月 24、25 日）に出展し、演示テーマ「くすりの「く」」でポスターにてプロジェクトを紹介しました。近隣の小学生や一般の来場者には、「くすり」どのようにできるのかについて、中には具体的な研究に、興味を持ってもらうことができました。

最終報告書をまとめるにあたり申告された成果は、研究者自身や研究室の学生による学会発表で 534 回、論文の数では 217 報になりました。活発な研究活動がなされた証と言えます。特に、重点研究テーマでは、がん治療薬のリード化合物の開発を行うことができたと考えています。また、キチン分解酵素に関係した研究では、Chia とよぶ酵素が消化器系で働く糖質分解酵素であることを証明したことが特筆されます。キチン分解酵素研究は、学術的にも大変価値のある成果といえます。外部評価は、中間報告と最終報告に際して、学外の著名な研究者２名と、本学の近縁の専門家２名に、お願いしました。いずれも高い評価を受けたことは、研究を推進する上で心強いものがありました。

この５年間の活動で、１つの研究基盤が形成できたと考えています。今後は、この基盤の上に、さらなる研究活動が展開されることを期待しています。また、このプロジェクトの成果が、引き続きの研究によって社会へ還元できるように、メンバーの各位には一層の研究の継続をお願いしたいと思います。

このプロジェクトは PostNASIC として始まりました。補助事業に採択されるまでに、総合研究所運営委員会で建設的な意見をいただきましたが、それらを取り入れるたび毎に、

申請書は改良されていきました。採択後は、研究推進課により、終始事務的な支援を受けてきました。また、研究室が火災により大きな損害を出した際には、すみやかな事業の継続に向けて、総合研究所を中心にして大学全体でサポートしていただきました。関係の各位には、この場を借りて心より感謝したいと思います。

2019 年 5 月 16 日
工学院大学先進工学部生命化学科教授
工学院大学総合研究所生体分子システムセンター（BMSC）
センター長　　今村　保忠

平成 26 年度～平成 30 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究プロジェクト名「生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発」
研究成果報告書

目　　次

はじめに　　今村保忠（センター長）

１．平成２６年度～平成３０年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究成果報告書概要 ・・・

2.5　ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による微生物・海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・139
1.2&3.1　培養基質となる細胞外マトリックスの開発とそれを用いた細胞培養系の構築・・・・・143
1.4&3.2　血管管腔モデルおよびIV型コラーゲン会合体を用いた多機能性人工血管の開発 ・・148
1.4&3.3　ＮＦ－κＢ阻害活性を指向したＤＨＭＥＱ類縁体の合成・・・・・・・・・・・・・・・・・152
4.1　接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーブラシの合成とその表面の接着力測定・・・・155
1.7&4.2　生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による振動分光学的検討・・・・・・・・・・・・157

４．別紙２　運営委員会開催記録

５．別紙３　成果報告会ポスター

６．別紙４　成果報告会配布資料

７．別紙５　外部評価結果
中間研究評価シート　（平成 28 年度）
最終研究評価シート　（平成 30 年度）

平成 26 年度～平成 30 年度
「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究成果報告書概要

（様式 2）

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

平成26年度～平成30年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究成果報告書概要

1　学校法人名　工学院大学　　2　大学名　工学院大学

3　研究組織名　生体分子システムセンター

4　プロジェクト所在地　東京都八王子市中野町 2665−1

5　研究プロジェクト名　生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発

6　研究観点　研究拠点を形成する研究

7　研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
今村　保忠	先進工学部	教授

8　プロジェクト参加研究者数　14　名

9　該当審査区分　理工・情報　　生物・医歯　　人文・社会

10　研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
南雲　紳史	先進工学部・教授	多剤耐性を克服するマクロライドの合成および構造活性相関研究 〈テーマ 1.1〉	多剤耐性因子阻害剤の開発
松野　研司	先進工学部・教授	がん免疫寛容解除物質の探索と作用機序解明 〈テーマ 1.8〉	生理活性物質／作用機序の医薬応用
油井　信弘	先進工学部・准教授	気生微細藻類由来生理活性物質の探索，機能解析，および効率的生産 〈テーマ 2.1〉	微生物由来の新規有用物質の探索
山田　昌治	先進工学部・教授	天然物由来デンプンのアミノ酸との複合化による有用化 〈テーマ 2.2〉	新規有用物質の食品への展開
小山　文隆	先進工学部・教授	キチン分解酵素の遺伝子発現解析とキチンオリゴ糖生産への展開　〈テーマ 2.3〉	バイオマス由来の有用物質の探索
坂口　政吉	先進工学部・准教授	細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良 〈テーマ 2.4〉	バイオマス由来の有用物質の開発

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

大野　修	先進工学部・准教授	ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による微生物・海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索　〈テーマ 2.5〉	微生物由来の新規有用物質の探索
今村　保忠	先進工学部・教授	培養基質となる細胞外マトリックスの開発とそれを用いた細胞培養系の構築 〈テーマ 1.2〉〈テーマ 3.1〉	培養細胞を用いた生理活性評価
辛　英哲	先進工学部・准教授	血管管腔モデルおよびⅣ型コラーゲン会合体をいた多機能性人工血管の開発 〈テーマ 1.3〉〈テーマ 3.2〉	生理活性測定法の開発
安井　英子	先進工学部・准教授	NF-kB 阻害活性を指向した DHMEQ 類縁体の合成 〈テーマ 1.4〉〈テーマ 3.3〉	生理活性物質の精密合成法を基盤とした類縁体の合成
南雲　紳史	先進工学部・教授	抗腫瘍活性を有する海産天然物の精密合成および構造活性相関研究 〈テーマ 3.4〉	生理活性物質の精密合成法を基盤とした類縁体の合成
小林　元康	先進工学部・教授	接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーの合成とその表面の接着力測定 〈テーマ 4.1〉	生体分子間相互作用の作用機作解析法の開発
伊藤　雄三	先進工学部・教授	生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による振動分光学的検討 〈テーマ 1.5〉〈テーマ 4.2〉	新規生理活性測定法の開発
（共同研究機関等） 闥闥　孝介	理化学研究所研究員	生理活性化合物の結合分子同定 〈テーマ 1.6〉〈テーマ 4.3〉	分子間相互作用解析法の開発
長澤　和夫	東京農工大・工学部・教授	生理活性天然物をリードとするグアニン四重鎖を標的とした抗がん剤の創製 〈テーマ 1.7〉	がん細胞選択的な薬剤の創製

＜研究者の変更状況（研究代表者を含む）＞

旧

ﾌﾟﾛｼﾞｪｸﾄでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
気生微細藻類由来生理活性物質の探索，機能解析，および効率的生産 〈テーマ 2.1〉	先進工学部・准教授	阿部　克也	微生物由来の新規有用物質の探索

（変更の時期：平成30年　4月　1日）

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

新

変更前の所属・職名	変更（就任）後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
先進工学部・准教授	先進工学部・准教授	油井　信弘	微生物由来の新規有用物質の探索

11　研究の概要（※　項目全体を10枚以内で作成）

（1）研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

本プロジェクトでは，微生物・植物・バイオマス等の天然物由来の有用物質の開発を効率よく行う研究拠点の形成を目的とする。有用物質の生理活性を，生体分子システムを標的として分子や細胞レベルで明らかにする。本学では，化学と生命科学およびその周辺の多様な分野の研究者が八王子キャンパスに集中しており，種々の天然物由来の有用物質の探索や，その精密合成法を新規に開発するなどの研究成果の蓄積がある。これらの研究者と外部のケミカルバイオロジーの研究者からなる研究拠点を形成し，有用物質開発の効率化を図る。ケミカルバイオロジーは，有機化合物を基礎として生命科学研究を行うことから臨床治療薬など有用な化合物開発に直結する。本研究では，医薬品のほか機能性素材・食品等のシーズとなる有用物質が広く産業界に提示される。その過程で開発される技術・知見は各研究者の専門分野に反映される。また，大学院学生が参加することで有効な研究教育の場となると期待できる。

本学に所属する研究者と，学外の研究者2名から構成される。 研究課題は，1つの重点研究テーマと3つの研究テーマからなる。重点研究テーマでは，がん治療薬のリード化合物の開発を行う。さらにケミカルバイオロジーを中心とした手法でそれらが作用する生体分子システムを特定し，化合物の高活性化を狙う。3つの研究テーマでは，これまでの研究成果の蓄積をもとに，医薬品・機能性素材・機能性食品等のシーズを開発する。また，分光学を含め種々の分析法の開発も行う。重点研究テーマをモデルとして，有用物質の開発の効率化を図ることになる。

（2）研究組織

当該プロジェクトを遂行するための研究組織である「生体分子システムセンター（BMSC）」は，化学系を中心に学内 12 名，学外 2 名の研究者により構成されている．学外からは理化学研究所及び東京農工大学工学部の研究者が参加している。研究代表者はプロジェクト全体を統括し，年3回程度の運営委員会，研究会の開催，年度末の成果報告会と報告書の取りまとめ，共通の研究設備備の管理運営等を行っている．各研究者はそれぞれのテーマの研究を推進し，定期的に開催している研究会において情報交換を行い，情報共有，研究材料の提供等によりテーマ間の連携を図っている．

平成 27 年度は研究補助者1名を雇用した。RA については、28 年度 3 名、29 年度 2 名、30 年度 2 名を雇用した。RAの学生は、各テーマの研究推進，研究会での発表、論文作成等の他、報告会の運営に参加した。研究補助者は、細胞培養の実験補助を行なった。

（3）研究施設・設備等

平成26年度には、研究装置として FT-NMR 装置を整備した。化合物の構造解析に必要不可欠の装置である。使用頻度は 27～30 年の 4 年間で 10,626 時間と常時稼働している。また、26年度に研究設備としてマルチプレートリーダー、分取用高速液体クロマトグラフ設備、高速液体クロマトグラフ設備、バイオイメージング設備、ラッピドビスコアナライザー設備を整備した。これらも、27～30 年でそれぞれ 1,300、230、800、3,200、2,290 時間であっ

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

た。また、27 年度に細胞培養関連設備としてタイムラプス蛍光顕微鏡を整備した。以降、1,250 時間程度の使用実績がある。

研究施設は既存のものを利用している。FT-NMR 装置は、既存施設の空きスペースへ設置した。その他の設備については、日常的に利用するために、プロジェクト研究員の研究室に配置し、相互に利用し合う体制とした。

（4）研究成果の概要　※下記、13及び14に対応する成果には下線及び＊を付すこと。

課題1　この重点研究テーマでは，がん治療薬のリード化合物の開発を行うことを目標とした。

テーマ 1.1 では、3.4 と一緒に多剤耐性を獲得したがん細胞に対して細胞毒性を示す天然物、セコスリキシドを含むマクロリド系天然物に焦点を当てた。セコスリキシドの全合成に世界で初めて成功した(*8,9,#42,43,)。また、その改良法である第二世代合成法も完成(*2,#10,24,28,31,40,)した。これにより物質供給とケミカルバイオロジー研究を展開した。<テーマ 1.2>および<テーマ 1.8>との連携により、生物活性にかかわるデータを蓄積し、多剤耐性克服活性の本体の同定活と性発現に必要な構造単位の発見に寄与した。

テーマ 1.2、1.3、および 1.4 は課題3と 1.5 および 1.6 は課題4との共通課題である。テーマ 1.2 から 1.5 については、課題3および4に記載する。

テーマ 1.6 は、生理活性物質の標的分子を同定する新しい手法の開発を行なった。テーマ 4.3 として新規の方法論の開発も見据えたものである。分子標的の同定に向けて、Ortho-nitrobenzoxadiazole (O-NBD) ユニットを用いたアフィニティーラベル化法を開発した。これは結合することで初めて蛍光を発光する Turn-on 型蛍光物質を用いたアフィニティー標識法である(*1,7,22, #1,5,8,10,12,15,16)。試薬の合成に成功し、さらにモデル分子へ適用し、その有効性を実証した。さらに、アルキンタグと表面増強ラマン分光を組み合わせた新しい解析手法を開拓した(*3,10,15,16,18,21, #3,6,7,9)。特に、生細胞中でのアルキン標識化合物の可視化、ならびに、アルキンタグ標識化したペプチドフラグメントの微量構造解析法を確立するに至っている。当初掲げた目的を達成し、今後に応用が大いに期待できる成果となった。

テーマ 1.7 では、テロメア―ゼの阻害に基づく抗がん剤の開発を目的とし、グアニン四重鎖を標的とした抗がん剤の創製を目指した。天然物テロメスタチンの構造活性相関研究に基づいて、より強力な抗腫瘍活性を示す化合物を創製した。テロメスタチンの母核を有する化合物 6OTD とその誘導体を合成(*1,3,5,7,8,10,11,13,17,20,21,27,29,30,44,45, 48,50,5,53,54,55.58,62)し、腫瘍細胞への作用と構造との相関を明らかにした(*61)。また、がんモデルマウスにおいて顕著な活性を示すことを明らかにした。

テーマ 1.8 では、がん免疫寛容解除物質としてキヌレニン産生抑制剤を天然物由来化合物ライブラリーから探索し、ヒット化合物として9種類のケモタイプを同定(#3,4,6-15)した。作用機序の解明検討から、MF-20 は転写因子 STAT1 発現抑制による IDO 発現低下に基づく作用であることを突き止めた(*7)。また KP―148 と KMF―114 は、新規作用機序である可能性が示された(#1)。IDO 阻害活性を有する天然物 brassinin 誘導体の合成により、強力な IDO 阻害活性を有する化合物を見出した。本化合物は経口投与により有意な in vivo 抗腫瘍活性を示したことから、がん治療薬のリード化合物の創製に成功した。

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

課題2　この課題では、さまざまな天然物由来の生理活性物質および有用物質を収集し、また、その合成・構造研究を行なっている。

テーマ 2.1 では陸上に生存するユニークな微生物である気生微細藻類（*Coelastrella* sp）に着目した。独自に単離に成功した KGU-Y002 株は，塩（疑乾燥）ストレス培養において総カロテノイド含有量が増加し，塩の種類により合成されたカロテノイドの組成が変化することを発見した(*4-7,9,10, #1,2,9,17,19,21,23,29,32-34,37,40-42,44-47,49,52-54,56,58,59,61-64,68,70,74)。得られたエステル型カロテノイドの生理活性評価(*2)を行う。また、この株の脂質から新規クロロフィルの抗菌活性物質を単離した(#3,5,8,12,13,21,26,32,40,43,69)。

テーマ 2.2 では、天然物由来のデンプンを材料としている。120℃程度の飽和水蒸気下でアミノ化合物と複合化したデンプンを創製し、糊化特性を変化させることに成功した。糊化温度は、グルタミン酸やアスパラギン酸との複合化において高くなった(*2, 6)。複合化のメカニズムを探るため、X 線回折、およびデンプン粒子断面の顕微鏡観察を行い、粒子断面の観察した結果、微細構造はみられなかったが、同心円状の層状構造がみられ、湿熱処理に伴って層間距離に変化が起こることが分かった(#4)。また、アミノ酸とともに湿熱処理を行うと難消化性が数倍程度上昇することが分かった。とりわけ、プロリンとの複合化は有効であった。糊化温度変化と難消化性は必ずしも関係があるわけではなかった。

テーマ 2.3 および 2.4 は、バイオマスであるキチンの有用化を目指した研究である。2.3 では、哺乳類由来のキチン分解酵素を遺伝子工学およびタンパク質化学的に研究してきた。これまでの研究で，マウスとヒトにおけるキチナーゼ遺伝子発現解析を終了し，キチナーゼが高く発現する組織を明らかにした(*12,14, #12,28,33,34,40,66,69,79,80)。さらに，大腸菌でのマウス AMCase と Chit1 の発現に成功し，組換えほ乳類キチナーゼが収得できた(*3,11,13, #52,54,56-58,62-68,71,72,74,78-79,81-83)。そして，キチンオリゴマーの蛍光標識の改良法の確立を行い，ほ乳類キチナーゼによって生産されたキチン分解産物の中性領域での解析を開始した(*6, #35)。以上の点を踏まえ，発展研究として，AMCase はマウスの消化器系で働く糖質分解酵素であることを証明した(*4,5,7,8,10, #1,8,9,14,16,19,21,24, 25)。さらに，アミノ酸置換を伴う一塩基置換によるヒト酸性ほ乳類キチナーゼの活性の喪失の原因解明と復活にも成功した(*9, #40-83)。キチン分解酵素の機能解析研究を行い、キチンオリゴ糖の産生方法を確立することを目指した。ほ乳類や鳥類におけるキチナーゼの発現レベルの探索(*1,2, #31-37)，組み換え酵素を改変等により機能の詳細を明らかにした。成果は多数の投稿論文に報告され、キチナーゼ研究に大きく貢献した。

2.4 では細菌由来のキチン分解酵素に着目した。得られた新規キチナーゼの酵素化学的性質、キチン分解活性および多糖への結合活性を解析した(*1,3-7, #2,40,46,50,58, 65,73,79,88)。これら酵素は固有の特性を示すことがわかった。今回、見出したキチナーゼ LinChi35 の触媒部位の改変により、糖転移活性を付与されることを発見し、キチンオリゴマーの生産の可能性を示した。また、糖質分解酵素であるトレハラーゼを発見した(*2, #18, 29,68)。逆反応によるトレハロース類似体合成へ向けて酵素の利用を試みる。

テーマ 2.5 では、微生物および海洋生物を対象としている。新規医薬シード探索のための評価系として、①栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索(#4,8,23,31,36,38,41,43,44-48)、②キヌレニン産生阻害物質の探索(*4, #1,6,10,13,16,20,24,27,29,32,37,39)、③LPS が誘導する炎症を阻害する化合物の探索(#9,12,14,18,21,40)、④小胞体ストレス阻害物質の

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

探索(#17,22,35)、⑤新規免疫賦活剤の探索(#42)、⑥がん細胞特有のアミノ酸代謝阻害剤の探索のスクリーニング系を構築した。それぞれの評価系で海洋生物由来サンプルに活性を見出し、活性物質の単離に至った。特に栄養飢餓選択的細胞死誘導物質としてシアノバクテリアから kalkipyrone、panaxcerol B を単離し、それらの化合物がグルコース飢餓条件選択的な細胞死誘導活性を示すことを明らかにした。また、キヌレニン産生阻害物質としてシアノバクテリアから新規ペプチド系化合物を単離し、IDO の発現を阻害する活性を見出した。LPS 機能阻害物質として、biseokeaniamide A を単離し、本化合物が LPS のシグナル伝達を阻害することを見出した。さらに、小胞体ストレス誘導性細胞死阻害物質として methyl-3-hydroxyoctadecatrienoate を単離した。以上のように、活性を見出したそれぞれの化合物に新たな医薬シード化合物としての可能性が期待される成果が得られた。

課題3　生理活性物質のアッセイ法の開発と、活性物質の改変・有効化を図る。

テーマ 3.1 と 3.2 は、新規細胞培養系を開発することに重点をおいている。

テーマ 3.1 では、重点課題テーマ 1.2 としてがん治療薬の開発研究のためのアッセイ系の構築を目指すとともに、アッセイ法として利用可能な細胞外マトリクスを用いた細胞培養法を開発した(*9,12,13, #3,7,8,18,23,25)。がん治療薬の開発に向けた取り組みでは、テーマ 1.1 で合成されたマクロリド系化合物の多剤耐性因子阻害効果を調べるアッセイ系を構築した。その結果、セコスリキシドは P 糖タンパクを阻害すること、IC50 を決定し、環状構造が活性発現に重要なこと見出した。細胞培養系の構築においては、VI 型コラーゲン会合体や fascia（筋膜）を培養基質として新たに開発した(*2,4, #6,15,26,30,35)。

テーマ 3.2 は、重点課題での利用も見据えた小課題として血管新生モデル系の開発を目的とした。血管新生を阻害する薬剤は抗がん剤として有望視されており、有効な細胞培養技術は新規抗がん剤の開発に展開できる。血管内皮細胞と線維芽細胞の共培養による血管新生モデル系を用い、血管形成に影響を及ぼす因子として、ローズヒップ抽出液とヘスピリジンを得た。また、GFP を血管内皮細胞に導入することで、血管形成を動的に観察できる系を構築した。さらに、血管内皮細胞と線維芽細胞のスフェロイドを形成させることで、血管の伸長を観察できる系を構築した(#2,4,7)。この系で作成された構造は生体中の新生血管によく類似していることを明らかにした。

テーマ 3.3 および 3.4 では、生理活性物質の改変・有効化を目指した研究を展開した。3.3 では、DHMEQ 類縁体の構造活性相関を調べた(*4,5, #2,6,)。また、アミノ酸エステルから導いたα－ジアゾエステルを利用した複素環合成をおこなって(#3,10-12,17,19,23)、一定の成果を挙げている。その過程で、7 員環化合物の新規合成法を見出した(#4,22,25,28)。

3.4 では、ミトコンドリアの F_1F_o-ATP 合成酵素の阻害剤であるベンツリシジン X の新しい全合成法(#15,17,27,37)を開発した。マクロリド系天然物の全合成研究(#1,4,7,8,14,19,20,23,33,41)を行なった。

課題 4　活性物質の分子間相互作用の分析法の開発を目指した。

テーマ 4.1 では、分子間相互作用の力学強度を物理化学的手法により測定し、生理活性分子、不活性分子の違いを評価する手法の確立を目指している。具体的には生理活性に関与する官能基、原子団を有するモデル化合物を合成し、このモデル化合物と標的とする生体分子や生体膜と間にはたらく相互作用を走査プローブ顕微鏡により実測することを試

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

みる。これにより細胞組織やコラーゲン繊維などの局所表面の形態や相互作用を分析し、生理活性作用との関係を明らかにすることが研究の目的である。これまでに、分子間相互作用を示すモデル分子および高分子の合成し、走査プローブ顕微鏡を用いたフォースカーブ測定法を確立した(*1,3, #2,22,24,27)。また、これを利用して、フジツボ幼生の吸着機構の一端を解明した(*2, #1,3,10,12,16,19,20,23,25)。

テーマ 4.2 では、生体分子の分子間相互作用を直接測定しうる方法論として、共鳴ラマン散乱による分光学的手法を取り上げた。V 型コラーゲンとヘパリンの相互作用を分光学的解析により測定し、理論計算で定量的に評価した(#1)。本研究課題は、テーマ 3.1 との共同研究であり、共鳴ラマン散乱法についてはテーマ 1.6、テーマ 4.3 と共通するものであった。

本プロジェクトでは、研究基盤を形成するために、研究者間の交流を促進することにも重点を置いた。これまでの期間に、試料や方法の提供、アッセイの受託、共同研究などの交流が行われた。テーマ 1.2 では、1.1 で合成した試薬のアッセイ系を開発する共同研究が行われ、1.4 で合成された試薬のアッセイを実施した。また、1.4 は 3.2 へ試薬を提供する一方、2.5 にアッセイを依頼した。1.8 では、2.5 より新規医薬シード化合物の提供を受けた。3.1 は、4.2 にコラーゲンを提供し、共同研究に進んでいる。3.1 からは 4.1 にも試料が提供された。3.2 は、1.4 および 2.1 から試料の提供を受けている。

＜優れた成果が上がった点＞
・セコスリキシドを含むマクロリド系天然物の全合成による物質供給とケミカルバイオロジー研究を展開した。また、類縁体合成を達成した。
・セコスリキシドが多剤耐性因子阻害能を持つことを明らかにした。環状構造が活性発現に重要なこと見出した。
・分子標的の同定方法として、Ortho-nitrobenzoxadiazole ユニットを用いたアフィニティーラベル化法、および、アルキンタグと表面増強ラマン分光を組み合わせた新しい解析手法を開拓した。
・テロメア―ゼの阻害に基づく抗がん剤開発のリード化合物を創製した。
・がん免疫寛容解除物質としてキヌレニン合成阻害剤を見出した。
・経口投与で有意な in vivo 抗腫瘍活性を示す化合物の創製に成功した。
・気生微細藻類から有用化合物を単離した。
・難消化性デンプンを開発し、血糖値向上抑制などの付加価値を付与した食品素材を創製した。
・ほ乳類，鳥類におけるキチナーゼ遺伝子発現解析した。
・大腸菌での組換えキチナーゼの発現系の確立と天然キチナーゼの精製法を確立した。
・キチンオリゴマーの蛍光標識の改良法の確立し、キチナーゼ分解産物を解析した。
・Chia は消化器系で働く糖質分解酵素であることを証明した。
・アミノ酸置換を伴う一塩基置換によるヒト Chia の活性の喪失と復活を示した。
・Chia は，キトサンからキトオリゴ糖を生成することを示し、キトオリゴ糖産生方法への可能性を示した。。
・細菌由来のキチン分解酵素の同定し、遺伝子改変により、新規活性の付与が可能なことを示した。
・海洋生物等の天然物から、疾患の治療に役立つ新規医薬シード化合物を複数見出した。

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

・アッセイ法として利用可能な細胞外マトリクスを用いた細胞培養法を開発した。
・血管内皮細胞と線維芽細胞の共培養スフェロイド形成を用い、より生体に近い血管新生培養系を開発した。
・生体分子間相互作用の測定方法を新たに開発した。

＜課題となった点＞
当初の計画を概ね実施できたと考えている。実用化、特許化などは、今後の課題と考えている。

＜自己評価の実施結果と対応状況＞
プロジェクト全体を通して多くの研究成果が得られ、外部発表も積極的に行った。RA を雇用し、将来の研究者の育成に力を注いだ。研究室に所属する学生による論文や学会発表など多数あり、十分な業績を得ら得たものと判断している。また、得られたデータについては、日常的議論し、研究会等で定期的に意見交換を行なってきた。研究者間の各々の研究についての理解が深まったことで、研究基盤ができたと考えられる。具体的なテーマ間の連携は今後も進められる。その成果は、論文発表の活発化，技術の実用化として、公開や社会へ還元することになる。

＜外部（第三者）評価の実施結果と対応状況＞
中間報告会において、著名な学外研究者でケミカルバイオロジー領域の専門家2名による外部評価を行なった。また、学内の化学系の研究者で当該分野以外を専門とする研究者2名に、報告書および中間報告会の映像による評価を行なっている。その結果は各研究者にフィードバックされるとともに，運営委員会および幹事会で分析され，研究計画の修正等の検討に用いた。
最終報告会においては、中間報告会と同じ学内外の評価者により、報告書と映像による評価を行った。ほとんどの研究テーマは、高い評価か、中間報告より評価の改善が見られた。

＜研究期間終了後の展望＞
研究者間の交流により、各々の研究課題の理解が進んでおり、研究基盤が形成されたと考えられる。本事業の最大の成果は達成されたと言えるが、研究成果の社会への還元に向けた活動は今後も続けて行う予定である。研究設備等の維持・発展には、一部で大学の支援が得られる予定であるが、本事業をベースに新たな研究プロジェクトを実施することで対応する予定である。その間には、各研究者は学術誌等での成果の公表、研究成果の実用化、特許化など、社会への還元を進めていく。

＜研究成果の副次的効果＞
特許:
環状ペプチド化合物、キヌレニン産生阻害剤及び医薬組成物（特願 2017-174800、2017 年 9 月 12 日出願） 松野研司、大野修（テーマ 1.8 および 2.6）

12 キーワード（当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。）

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（1）ケミカルバイオロジー　（2）生理活性　（3）多剤耐性
（4）抗腫瘍　（5）細胞培養　（6）アッセイ
（7）バイオマス　（8）分子間相互作用

13 研究発表の状況（研究論文等公表状況。印刷中も含む。）
上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには＊を付すこと。
＜雑誌論文＞

	1－1 & 3－4				
1	Cascade Reaction Including a Formal [5 + 2] Cycloaddition by Use of Alkyne-Co2(CO)6 Complex	2019 年	Tetrahedron Letters (60 巻)	Yuki Sakata, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Shinji Nagumo	755-759
*2	Total Synthesis of Sekothrixide Strategically Utilizing Regioselective Coupling of TMS-Protected Epoxy sec-Alcohol with Gilman Reagent	2019 年	J. Org. Chem. (84 巻)	Daisuke Katsumi, Kazuki Nakasone, Naoki Terayama, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	1553-1562
3	Syntheses of Polycyclic Tetrahydrofurans by Cascade Reactions Consisting of Five-membered Ring Selective Prins Cyclization and Friedel-Crafts Cyclization	2018 年	J. Org. Chem. (83 巻)	Yuki Sakata, Eiko Yasui, Kazuhiko Takatori, Yuji Suzuki, Megumi Mizukami, Shinji Nagumo	9103–-9118
4	Unique ring expansion of a 6-3 bicyclic ring system forming a functionalized 7-membered ring accelerated by nitrogen functional groups	2017 年	Tetrahedron Letters (58 巻)	Eiko Yasui, Rio Ootsuki, Kan Takayama, Shinji Nagumo	3092-3095
5	Selective Mono-reduction of Pyrrole-2,5 and 2,4-Dicarboxylates	2016 年	Chem. Pharm. Bull. (64 巻)	Eiko Yasui, Jyunpei Tsuda, Satoshi Ohnuki, Shinji Nagumo	1262-1267
6	Synthetic study of arenicolide C: Stereoselective Synthesis of the C19-C36 Segment	2015 年	Tetrahedron Letters (56 巻)	Sho Sunagawa, Haruki Yamada, Minako Naito, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	6693-6695
7	Synthesis of 1-(4-Aminobutyl)-2-iminoimidazolidin-4-one Aimed at Preparation of a Creatinine-specific Antibody	2014 年	Chem. Pharm. Bull. (62 巻)	Shun-suke Moriya, Naoki Terayama, Kyoko Hiramatsu, Masao Kawakita, Tatsuya Kiryu,	350-353

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				Takato Kawanishi, Eiko Yasui, Shinji Nagumo	
*8	Ring opening of disubstituted epoxides linked to a secondary oxygen group with an organocopper reagent	2014 年	Tetrahedron Letters (55 巻)	Naoki Terayama, Shodai Ushijima, Eiko Yasui, Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	6515-6519
*9	Total Synthesis and Structural Revision of Sekothrixide.	2014 年	Organic Letters (16 巻)	Naoki Terayama, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	2794–2797
	1－6 ＆ 4－3				
*1	Detection of esterase activity by chromogenic and fluorogenic probe based on an O-nitrobenzoxadiazole (O-NBD) unit	2019 年	Bioorg. Med. Chem. (27)	Okada K., Yamaguchi T., Dodo K., Sodeoka M., Obika S.	1444-1448
2	The Translation Inhibitor Rocaglamide Targets a Bimolecular Cavity between EIF4A and Polypurine RNA	2019 年	Mol. Cell (73)	Iwasaki S., Iwasaki W., Takahashi M., Sakamoto A., Watanabe C., Shichino Y., Floor S. N., Fujiwara K., Mito M., Dodo K., Sodeoka M., Imataka H., Honma T., Fukuzawa K., Ito T., Ingolia N. T.	738-748
*3	Visualizing Bioactive Small Molecules by Alkyne Tagging and Slit-Scanning Raman Microscopy	2019 年	Methods Mol. Biol. (1888)	Ando J., Dodo K., Fujita K., Sodeoka M.	99-114
4	Unveiling epidithiodiketopiperazine as a non-histone arginine methyltransferase inhibitor by chemical protein methylome analyses	2018 年	Chem. Commun. (54)	Sohtome Y., Shimazu T., Barjau J., Fujishiro S., Akakabe M., Terayama N., Dodo K., Ito A., Yoshida M., Shinkai Y., Sodeoka M.	9202-9205
5	Indolylmaleimide Derivative IM-17 Shows Cardioprotective Effects in Ischemia-Reperfusion Injury	2018 年	ACS Med. Chem. Lett. (9)	Dodo K., Shimizu T., Sasamori J., Aihara K., Terayama N., Nakao S., Iuchi K., Takahashi M., Sodeoka M.	182-187

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

6	Hyperoxidation of Ether-Linked Phospholipids Accelerates Neutrophil Extracellular Trap Formation	2017 年	Sci. Rep. (7)	Yotsumoto S., Muroi Y., Chiba T., Ohmura R., Yoneyama M., Magarisawa M., Dodo K., Terayama N., Sodeoka M., Aoyagi R., Arita M., Arakawa S., Shimizu S., Tanaka M.	16026
*7	Specific Fluorescence Labeling of Target Protein by Using Ligand–4-Azidophthalimide Conjugate	2017 年	Chem. Commun. (53)	Chiba K., Asanuma M., Ishikawa M., Hashimoto Y., Dodo K., Sodeoka M., Yamaguchi T.	8751-8754
8	Crystal structural characterization reveals novel oligomeric interactions of human voltage-dependent anion channel 1	2017 年	Protein Science (26)	Hosaka T., Okazaki M., Kimura-Someya T., Ishizuka-Katsura Y., Ito K., Yokoyama S., Dodo K., Sodeoka M., Shirouzu M.	1749-1758
9	Phenanthridin-6-one derivatives as the first class of non-steroidal pharmacological chaperones for Niemann-Pick disease type C1 protein	2017 年	Bioorg. Med. Chem. Lett. (27)	Fukuda H., Karaki F., Dodo K., Noguchi-Yachide T., Ishikawa M., Hashimoto Y., Ohgane K.	2781-2787
*10	Alkyne-Tag SERS Screening and Identification of Small-Molecule-Binding Sites in Protein	2016 年	J. Am. Chem. Soc. (138)	Ando J., Asanuma M., Dodo K., Yamakoshi H., Kawata S., Fujita K., Sodeoka M.	13901-13910
11	Structure-activity relationship study of 3-amino-2-indolyllactam derivatives: Development of inhibitors of oxidative stress-induced necrosis	2016 年	Chem. Pharm. Bull. (64)	Dodo K., Hayamizu K., Shimizu T., Sodeoka M.	886-898
12	A Platinum-Catalyzed Friedel-Crafts-Type C–H Coupling–Allylic Amination Cascade to Synthesize 3,4-Fused Tricyclic Indoles	2016 年	Chem. Eur. J. (22)	Suzuki Y., Tanaka Y., Nakano S., Dodo K., Yoda N., Shinohara K., Kita K., Kaneda A., Sodeoka M., Hamada Y., Nemoto T.	4418-4421
13	VDAC3 gating is activated by suppression of disulfide-bond formation between the N-terminal region and the bottom of the pore	2015 年	Biochim. Biophys. Acta (1848)	Okazaki M., Kurabayashi K., Asanuma M., Saito Y., Dodo K., Sodeoka M.	3188-3196
14	Unique features of chiral palladium enolates derived from β-ketoamide: Structure and	2015 年	Tetrahedron (71)	Hayamizu K., Terayama N., Hashizume D., Dodo K., Sodeoka M.	6594-6601

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	catalytic asymmetric Michael and fluorination reactions				
*15	Novel Raman-tagged sphingomyelin that closely mimics original raft-forming behavior	2015 年	Bioorg. Med. Chem. (23)	Cui J., Matsuoka S., Kinoshita M., Matsumori N., Sato F., Murata M., Ando J., Yamakoshi H., Dodo K., Sodeoka M.	2989-2994
*16	Sphingomyelin distribution in lipid rafts of artificial monolayer membranes visualized by Raman microscopy	2015 年	Proc. Nat. Acad. Sci. (112)	Ando J., Kinoshita M., Cui J., Yamakoshi H., Dodo K., Fujita K., Murata M., Sodeoka M.	4558-4563
17	Structure–activity relationships of benzhydrol derivatives based on 10-acetoxychavicol acetate (ACA) and their inhibitory activities on multiple myeloma cell growth via inactivation of the NF-kappaB pathway	2015 年	Bioorg. Med. Chem. (23)	Misawa T., Dodo K., Ishikawa M., Hashimoto Y., Sagawa M., Kizaki M., Aoyama H.	2241-2246
*18	A sensitive and specific Raman probe based on bisarylbutadiyne for live cell imaging of mitochondria	2015 年	Bioorg. Med. Chem. Lett. (25)	Yamakoshi H., Palonpon A., Dodo K., Ando J., Kawata S., Fujita K., Sodeoka M.	664-667
19	Structure-activity relationships of oxysterol-derived pharmacological chaperones for Niemann-Pick type C1 protein	2014 年	Bioorg. Med. Chem. Lett. (24)	Ohgane K., Karaki F., Noguchi-Yachide T., Dodo K., Hashimoto Y.	3480-3485
20	Structure-activity relationship study of non-steroidal NPC1L1 ligands identified through cell-based assay using pharmacological chaperone effect as a readout	2014 年	Bioorg. Med. Chem. (22)	Karaki F., Ohgane, K., Fukuda H., Nakamura M., Dodo K., Hashimoto Y.	3587-3609
*21	A “Catch-and-Release” Protocol for Alkyne-Tagged Molecules Based on a Resin-Bound Cobalt Complex for Peptide Enrichment in Aqueous Media	2014 年	Chem. Eur. J. (20)	Miyazaki A., Asanuma M., Dodo K., Egami H., Sodeoka M.	8116-8128
*22	Turn-ON fluorescent affinity labeling using a small bifunctional O-nitrobenzoxadiazole unit	2014 年	Chem. Sci. (5)	Yamaguchi T., Asanuma M., Nakanishi S., Saito Y., Okazaki M., Dodo K., Sodeoka M.	1021-1029

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	1－7				
*1	Synthesis and Telomeric G-quadruplex-stabilizing Ability of Macrocyclic Hexaoxazoles bearing Three Side Chains	2019 年	Molecules (24 巻)	Yue Ma, Keisuke Iida, Shogo Sasaki, Takatsugu Hirokawa, Heddi Brahim, Anh Tuân Phan, Kazuo Nagasawa	Article number:263
2	Synthesis of All Stereoisomers of RK460 and Evaluation of Activity and Selectivity as Abscisic Acid Receptor Antagonists	2019 年	Chem. Eur. J. , in press	Yu Mikame, Kazuko Yoshida, Daisuke Hashizume, Go Hirai, Kazuo Nagasawa, Hiroyuki Osada, Mikiko Sodeoka	
*3	Binding of a Telomestatin Derivative Changes Mechanical Anisotropy of Human Telomeric G-quadruplex	2019 年	Angew. Chem., Int. Ed. (58 巻)	Sagun Jonchhe, Chiran Ghimire, Yunxi Cui, Soyoung Park, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa, Hiroshi Sugiyama, Hambin Mao	877-881
4	Identificatin of Target Protein for Batzelladines as CD4	2019 年	Heterocycles, in press	Jun Shimokawa, Kazuo Nagasawa	
*5	Molecular architecture of G-quadruplex structures generated on duplex Rif1 binding sequences	2018 年	J. Biol. Chem. (293 巻)	Hisao Masai, Naoko Kakusho, Rino Fukatsu, Yue Ma, Keisuke Iida, Yutaka Kanoh, Kazuo Nagasawa	17033-17049
6	A Force Sensor that Converts Fluorescence Signal into Force Measurement Utilizing Short Looped DNA	2018 年	Biosens. Bioelectron. (121 巻)	Golam Mustafa, Cho-Ying Chuang, William A. Roy, Mohamed M. Farhath, Nilisha Pokhrel, Yue Ma, Kazuo Nagasawa, Edwin Antony, Matthew J. Comstock, Soumitra Basu, Hamza Balci	34-40
*7	Analysis of interaction between telomeric i‐motif DNA and a cyclic tetraoxazole compound	2018 年	ChemBioChem (19 巻)	Shadi Sedghi Masoud, Yudai Yamaoki, Yue Ma, Asrien Marchand, Fernaldo Richtia Winnerdy, Val?rie Gabelica, Anh Tuan Phan, Masato Katahira, Kazuo Nagasawa	2268-2272
*8	Development of G-quadruplex ligand for selective induction of parallel-type topology	2018 年	Org. Biomol. Chem. (16 巻)	Yue Ma, Yamato Tsushima, Mai Sakuma, Shogo Sasaki, Keisuke Iida, Sachiko Okabe, Hiroyuki Seimiya,	7375-7382

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				Takatsugu Hirokawa, Kazuo Nagasawa	
9	Esterification of PQQ enhances blood-brain barrier permeability and inhibitory activity against amyloidogenic protein fibril formation	2018 年	ACS Chem. Neursci. (9 巻)	Kaori Tsukakoshi, Wataru Yoshida, Masaki Kobayashi, Natsuki Kobayashi, Jihoon Kim, Toshisuke Kaku, Toshitsugu Iguchi, Kazuo Nagasawa, Ryutaro Asano, Kazunori Ikebukuro, Koji Sode	2898-2903
*10	Asymmetric Epoxidation of 1,4-Naphthoquinones Catalyzed by Guanidine-Urea Bifunctional Organocatalyst	2018 年	Org. Lett. (20 巻)	Masaki Kawaguchi, Katsuhiro Nakano, Keisuke Hosoya, Tatsuya Orihara, Masahiro Yamanaka , Minami Odagi, Kazuo Nagasawa	2811-2815
*11	Synthesis of a Quaternary N,N'-Aminal-Containing A-E Ring System of Palau'amine via Enamide-type Overman Rearrangement Reaction	2018 年	Eur. J. Org. Chem. (2018)	Takuya Imaoka, Makoto Iwata and Kazuo Nagasawa	2572-2578
12	A synthesis of 2,6,7-trisubstituted prenylated indole	2018 年	J. Org. Chem. (83 巻)	Motoki Shiozawa, Keisuke Iida, Minami Odagi, Masahiro Yamanaka, Kazuo Nagasawa	7276-7280
*13	Identification of G-quadruplex clusters by high-throughput sequencing of whole-genome amplified products with a G-quadruplex ligand	2018 年	Sci. Rep. (8 巻)	Wataru Yoshida, Hiroki Saikyo, Kazuhiko Nakabayashi, Hitomi Yoshioka, Daniyah Habiballah Bay, Keisuke Iida, Tomoko Kawai, Kenichiro Hata, Kazunori Ikebukuro, Kazuo Nagasawa, Isao Karube	Article number:3116
14	Total Synthesis of (+)-Gracilamine Based on Oxidative Phenolic Coupling Reaction and Determination of its Absolute Configuration	2018 年	Angew. Chem., Int. Ed. (57 巻)	Minami Odagi, Yoshiharu Yamamoto, Kazuo Nagasawa	2229-2232

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

15	Targeting STUB1-tissue factor axis normalizes hyperthrombotic uremic phenotype without increasing bleeding risk	2017 年	Sci. Transl. Med. (9 巻)	Moshe Shashar, Mostafa E. Belghasem, Shinobu Matsuura. Faisal Alousi, Keshab Rijal, Vijaya B. Kolachalama, Mercedes Balcells, Minami Odagi, Kazuo Nagasawa, Joel M. Henderson, Amitabh Gautam, Jean Francis, Kumaran Kolandaivelu, David H. Sherr, Katya Ravid, Vipul C. Chitalia	eaam8475
16	FAN1 acts in concert with ubiquitylated PCNA to alleviate replication stress and preserve genome integrity	2017 年	Nature Commun. (8 巻)	Antonio Porro, Matteo Berti, Julia Pizzolato, Anja Saxer, Yue Ma, Kazuo Nagasawa, Alessandro A. Sartori, Josef Jiricny	Article number:1073
*17	Identification of G-quadruplex structures that possess transcriptional regulating functions in the Dele and Cdc6 CpG islands	2017 年	BMC Mol. Biol. (18 巻)	Daniyah H. Bay, Annika Busch, Fred Lisdat, Keisuke Iida, Kazunori Ikebukuro, Kazuo Nagasawa, Isao Karube, Wataru Yoshida	17
18	Guanidinium Hydroiodide/Cumene Hydroperoxide-Mediated Intermolecular Oxidative Coupling Reaction of β-Ketoamides with Oxindoles	2017 年	Adv. Synth. Catal. (359 巻)	Takanari Kato, Koji Yasui, Minami Odagi, Kazuo Nagasawa	2881-2889
19	Structure-dependent binding of hnRNP A1 to telomere RNA	2017 年	J. Am. Chem. Soc. (139 巻)	Xiao Liu, Takumi Ishizuka, Hong-Liang Bao, Kei Wada, Yuuma Takada, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa, Danzhou Yang, and Yan Xu	7533-7539
*20	Adaptive and Specific Recognition of Telomeric G-quadruplexes via Polyvalency Induced Unstacking of Binding Units	2017 年	J. Am. Chem. Soc. (139 巻)	Jibin Abraham Punnoose, Yue Ma, Yuanyuan Li, Mai Sakuma, Shankar Mandal, Kazuo Nagasawa, Hanbin Mao	7476-7484

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

*21	Targeting glioma stem cells in vivo by a G-quadruplex-stabilizing synthetic macrocyclic hexaoxazole	2017 年	Sci. Rep. (7 巻)	Takahiro Nakamura, Sachiko Okabe, Haruka Yoshida, Keisuke Iida, Yue Ma, Shogo Sasaki, Takao Yamori, Kazuo Shin-ya, Ichiro Nakano, Kazuo Nagasawa and Hiroyuki Seimiya	Article number:3605
22	Total Synthesis of Rishirilide B Based on Organocatalytic Oxidative Kinetic Resolution: Revision of Absolute Configuration of (+)-Rishirilide B	2017 年	Angew. Chem., Int. Ed. (56 巻)	Minami Odagi, Kota Furukori, Kan Takayama, Keiichi Noguchi, Kazuo Nagasawa	6609-6612
23	Synthesis and identification of key biosynthetic intermediates for formation of the tricyclic skeleton of saxitoxin	2017 年	Angew. Chem., Int. Ed. (56 巻)	Shigeki Tsuchiya, Yuko Cho, Renpei Yoshioka, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Yasukatsu Oshima, and Mari Yotsu-Yamashita	5327-5331
*24	A G-quadruplex structure at the 5′ end of the H19 coding region regulates H19 transcription	2017 年	Sci. Rep. (7 巻)	Mitsuko Fukuhara, Yue Ma, Kazuo Nagasawa, Fumiko Toyoshima	Article number: 45815
25	Oxidative kinetic resolution of cis-fused tricyclic 1-tetralone derivatives by guanidine-bisurea bifunctional organocatalyst	2017 年	Synlett (28 巻)	Minami Odagi, Keisuke Hosoya, Yoshiharu Yamamoto, Kazuo Nagasawa	1305-1309
26	Vitamin D Metabolite, 25-Hydroxyvitamin D, Regulates Lipid Metabolism by Inducing Degradation of SREBP/SCAP	2017 年	Cell Chem. Biol. (24 巻)	Lisa Asano, Mizuki Watanabe, Yuta Ryoden, Kousuke Usuda, Takuya Yamaguchi, Bilon Khambu, Megumi Takashima, Shin-ichi Sato, Juro Sakai, Kazuo Nagasawa, Motonari Uesugi	207-217
*27	Total Synthesis of Pyrrole-Imidazole Alkaloid (+)-Cylindradine B	2017 年	Org. Lett. (19 巻)	Makoto Iwata, Yuko Kamijoh, Eri Yamamoto, Masahiro Yamanaka, and Kazuo Nagasawa	420-423
28	A-Ring Synthons of 19-Nor Type Vitamin D Derivatives	2017 年	J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. (173 巻)	Yusuke Akagi, Koji Yasui, Kazuo Nagasawa	64-68

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

*29	A Single Molecule Study of a Fluorescently Labeled Telomestatin Derivative and G-Quadruplex Interactions	2016 年	Nucl. Acids Res. (45 巻)	Parastoo Maleki, Yue Ma, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa, Hamza Balci	288-295
*30	Structural regulation by a G-quadruplex ligand increases binding abilities of G-quadruplex-forming aptamers	2016 年	Chem. Commun. (52 巻)	Kaori Tsukakoshi, Yuri Ikuta, Koichi Abe, Wataru Yoshida, Keisuke Iida, Yue Ma, Kazuo Nagasawa, Koji Sode and Kazunori Ikebukuro	12646-12649
31	Regulation mechanism of the vitamin D receptor by vitamin D lactam derivatives	2016 年	FEBS Lett. (590 巻)	Lisa Asano, Tsuyoshi Waku, Rumi Abe, Naoyuki Kuwabara, Ichiaki Ito, Junn Yanagisawa, Kazuo Nagasawa, Toshiyuki Shimizu	3270-3279
32	Total Synthesis of 11-Saxitoxinethanoic Acid and Evaluation of its Inhibitory Activity on Voltage-gated Sodium Channels	2016 年	Angew. Chem., Int. Ed. (55 巻)	Chao Wang, Mana Oki, Toru Nishikawa, Daisuke Harada, Mari Yotsu-Yamashita and Kazuo Nagasawa	11600-11603
33	Synthesis of 1α- and 1β-amino-25-hydroxyvitamin D3	2016 年	Asian. J. Org. Chem. (10 巻)	Yusuke Akagi, Kosuke Usuda, Tomoe Tanami, Koji Yasui, Lisa Asano, Motonari Uesugi, Kazuo Nagasawa	1247-1252
34	Guanidinium Iodide/Urea Hydrogen Peroxide-Catalyzed Azidation of β-Dicarbonyl Compounds with Trimethylsilyl Azide	2016 年	Tetrahedron (72 巻)	Koji Yasui, Kohei Kojima, Takanari Kato, Minami Odagi, Masaru Kato, and Kazuo Nagasawa	5350-5354
35	Detection of DNA methylation of G-quadruplex and i-motif-forming sequences by measuring the initial elongation efficiency of PCR	2016 年	Anal. Chem. (88 巻)	Wataru Yoshida, Hitomi Yoshioka, Daniyah Habiballah Bay, Keisuke Iida, Kazunori Ikebukuro, Kazuo Nagasawa, Isao Karube	7101-7107
36	Synthesis of 24,24-difluoro-1,3-cis-25-dihydroxy-19-norvitamin D3 derivatives and evaluation of their vitamin D receptor-binding affinity	2016 年	Biol. Pharm. bull. (39 巻)	Tanima Biswas, Yusuke Akagi, Kosuke Usuda, Koji Yasui, Isao Shimizu, Mayumi Okamoto, Motonari Uesugi, Seijiro	1387-1391

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				Hosokawa, Kazuo Nagasawa	
37	Synthesis of diasteromers of 1,3-cis-25-dihydroxy-19-norvitamin D3	2016 年	Chem. Pharm. bull. (64 巻)	Kosuke Usuda, Tanima Biswas, Takuya Yamaguchi, Yusuke Akagi, Koji Yasui, Motonari Uesugi, Isao Shimizu, Seijiro Hosokawa, Kazuo Nagasawa	1190-1195
38	Design and synthesis of unsymmetric macrocyclic hexaoxazole compounds with ability to induce distinct G-quadruplex topologies in telomeric DNA	2016 年	Org. Biomol. Chem. (14 巻)	Mai Sakuma, Yue Ma, Yamato Tsushima, Keisuke Iida, Takatsugu Hirokawa, Kazuo Nagasawa	5109-5116
39	Asymmetric α-amination of β-keto esters using guanidine-bisurea bifunctional organocatalyst	2016 年	Beilstein J. Org. Chem. (12 巻)	Minami Odagi, Yoshiharu Yamamoto, Kazuo Nagasawa	198-203
40	Biosynthetic route towards saxitoxin and shunt pathway	2016 年	Sci. Rep. (6 巻)	Shigeki Tsuchiya, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Yasukatsu Oshima, Mari Yotsu-Yamashita	Article number: 20340
41	Synthesis of (+)-trans-dihydrolycoridine using orgacocatalytic enantioselective Friedel-Crafts reaction	2016 年	Asian J. Org. Chem. (5 巻)	Masaru Kato, Koji Yasui, Masahiro Yamanaka, Kazuo Nagasawa	380-388
42	Design, Synthesis and Evaluation of an L-Dopa-Derived Macrocyclic Hexaoxazole (6OTD) as a G-Quadruplex-Selective Ligand	2016 年	Heterocycles (92 巻)	Takahiro Nakamura, Yue Ma, Keisuke Iida, Terumi Ohtake, Hiroyuki Seimiya, Kazuo Nagasawa	305-315
43	Entropy-driven 1,2-Type Friedel-Crafts Reaction of Phenols with N-Boc Aldimines	2015 年	Chem. Eur. J. (21 巻)	Masaru Kato, Shogo Hirao, Katsuhiro Nakano, Makoto Sato, Masahiro Yamanaka, Yoshihiro Sohtome, Kazuo Nagasawa	18606-18612

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

*44	Rif1 binds to G-quadruplex and suppresses replication over a long distance	2015 年	Nat. Struct. Mol. Biol. (22 巻)	Yutaka Kanoh, Seiji Matsumoto, Rino Fukatsu, Naoko Kakusho, Nobuaki Kono, Claire Renard-Guilet, Koji Masuda, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa, Katsuhiko Shirahige, Hisao Masai	889-897
*45	Development of Guanidine-Bisurea Bifunctional Organocatalyst with a Chiral Pyrrolidine Moiety and Application to α-Hydroxylation of Tetralone-Derived β-Keto Esters	2015 年	Molecules (20 巻)	Minami Odagi, Kan Takayama, Makoto Sato, Masahiro Yamanaka, Kazuo Nagasawa	12590-12598
46	Time-resolved crystal structures of the reaction intyermediate of nitrile hydrase reveal a role for the cystein-sulfenic acid ligand as a catalyst nucleophile	2015 年	Angew. Chem., Int. Ed. (54 巻)	Yasuaki Yamanaka, Yuki Kato, Koichi Hashimoto, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa, Hiroshi Nakayama, Naoshi Dohmae, Keiichi Noguchi, Takumi Noguchi, Masafumi Yohda, Masafumi Odaka	10763-10767
47	Synthesis of a tricyclic bisguanidine compound structurally related to saxitoxin and its identification in paralytic shellfish toxins-producing microorganisms	2015 年	Chem. Eur. J. (21 巻)	Shigeki Tsuchiya, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Yasukatsu Oshima, Mari Yotsu-Yamashita	7835-7840
*48	Development of Guanidine-Bisurea Bifunctinaol Organocatalyst Bearing Chirality at the Inner and Outer Sides of Urea Groups, and Application to Enantioselective α-Hydroxylation of Pyranoindolizine Intermediate for Camptothecin Synthesis	2015 年	Symmetry (7 巻)	Minami Odagi, Tatsuya Watanabe, Kazuo Nagasawa	43-52

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

49	Origin of stereocontorol in guanidine-bisurea bifunctional organocatalyst that promotes α-hydroxylation of tetralone-derived β-ketoesters: Asymmetric synthesis of β- or γ-substituted tetralone derivatives via organocatalytic oxidative kinetic resolution	2015 年	J. Am. Chem. Soc. (137 巻)	Minami Odagi, Kota Furukori, Yoshiharu Yamamoto, Makoto Sato, Keisuke Iida, Masahiro Yamanaka, Kazuo Nagasawa	1909-1915
*50	Guanidium Iodine-Catalyzed Oxidative α-Nitroalkylation of β-Ketoamides	2015 年	Chem. Commun. (51 巻)	Koji Yasui, Takanari Kato, Kohei Kojima, Kazuo Nagasawa	2290-2293
*51	Conformational changes and cation ejection upon ligand binding to human telomeric DNA G-quadruplexes	2015 年	J. Am. Chem. Soc. (137 巻)	Adrien Marchand, Anton Granzhan, Keisuke Iida, Yamato Tsushima, Yue Ma, Kazuo Nagasawa, Marie-Paule Teulade-Fichou, Vale'rie Gabelica	750-756
52	2-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-benzothiazole suppresses tumor progression and metastatic potential of breast cancer cells by inducing ubiquitin ligase CHIP	2014 年	Sci. Rep. (4 巻)	Hiromi Hiyoshi, Natsuka Goto, Mai Tsuchiya, Keisuke Iida, Yuka Nakajima, Naoya Hirata, Yasunari Kanda, Kazuo Nagasawa, Junn Yanagisawa	Article number:7095
*53	Direct Quantification of Loop Interaction and π-π Stacking for G-quadruplex Stability at the Sub-molecular Level	2014 年	J. Am. Chem. Soc. (136 巻)	Chiran Ghimire, Soyoung Park, Keisuke Iida, Philip Yangyuoru, Haruka Otomo, Zhongbo Yu, Kazuo Nagasawa, Hiroshi Sugiyama, and Hanbin Mao	15537-15544
*54	Synthesis of an advance model of zetekitoxin AB focusing on N-acylisoxazolidine amide structure corresponding to C13~C17	2014 年	Asian j. Org. Chem. (3 巻)	Toru Nishikawa, Chao Wang, Takafumi Akimoto, Hiroyuki Koshino, Kazuo Nagasawa	1308-1311
*55	Synthesis of Macrocyclic Penta- and Tetraoxazoles as G-Quadruplex Ligands	2014 年	Heterocycles (90 巻)	Shadi Sedghi Masoud, Tsushima Yamato, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa	866-873
56	Synthesis of 19-nor-vitamin D A-ring synthons via ring-closing olefin metathesis (RCM) reaction	2014 年	Asian J. Org. Chem. (3 巻)	Yu Nagai, Tomoe Tanami, Junko Abe, Hazuki Nagai, Toru Hamamizu, Kaichiro Kominato, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa	994-999

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

57	Total synthesis of (+)-Cylindradine A	2014 年	Chem. Commun. (50 巻)	Makoto Iwata, Kyohei Kanoh, Takuya Imaoka, Kazuo Nagasawa	6991-6994
*58	Development of Novel Guanidine-Bisurea Bifunctional Organocatalysts and Their Application to Asynnetric α-Hydroxylation of Tetralone-Derived β-Keto Esters	2014 年	Aust. J. Chem. (67 巻)	Minami Odagi, Kan Takayama, Kota Furukori, Tatsuya Watanabe, Kazuo Nagasawa	1017-1020
59	Synthesis and identification of proposed biosynthetic intermediates of saxitoxin in the cyanobacterium Anabaena circinalis (TA04) and the binoflagellate Alexandrium tamarense (Axat-2)	2014 年	Org. Biomol. Chem. (12 巻)	Shigeki Tsuchiya, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Yasukatsu Oshima, Mari Yotsu-Yamashita	3016-3020
60	Asymmetric Michael Reaction of Nitroolefins with beta-Dicarbonyl Compounds Catalysed by 1,3-Diamine-Tethered Guanidine-Thiourea Bifunctional Organocatalysts	2014 年	Asian J. Org. Chem. (3 巻)	Natsuko Horitsugi, Kohei Kojima, Koji Yasui, Yoshihiro Sohtome, Kazuo Nagasawa	445-448
*61	Identification of a Novel Compound That Suppresses Breast Cancer Invasiveness by Inhibiting Transfoming Growth Factor-beta Signaling via Estrogen Receptor α	2014 年	J. Cancer (5 巻)	Natsuka Goto, Hiromi Hiyoshi, Ichiaki Ito, Keisuke Iida, Yuka Nakajima, Kazuo Nagasawa, Junn Yanagisawa	336-343
*62	Asymmetric α-Hydroxylation of Lactone with Vinylogous Pyridone using Guanidine-Urea Bifunctional Organocatalyst: Catalystic Enantioselective Synthesis of a Key Intermediate for (20S)-Camptothecin Analogues	2014 年	Chem. Eur. J. (20 巻)	Tatusya Watanabe, Minami Odagi, Kota Furukori, Kazuo Nagasawa	591-597
	1－8				
*1	Cyclic analogue of S-benzylisothiourea that suppresses kynurenine production without inhibiting indoleamine 2,3-dioxygenase activity.	2018	Bioorg. Med. Chem. Lett.(28 巻)	Fukuda, M.; Sasaki, T.; Hashimoto, T.; Miyachi, H.; Waki, M.; Asai, A.; Takikawa, O.; Ohno, O.; Matsuno, K.	2846-2849

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

2	Acylative coupling of amine and indole using chloroform as a carbonyl group.	2018	Eur. J. Org. Chem.（29 巻）	Nishida, Y.; Takeda, N.; Matsuno, K.; Miyata, O.; Ueda, M.	3928-3935
3	Crystal structure of LSD1 in complex with 4-[5-(piperidin-4-ylmethoxy)-2-(p-tolyl)pyridin-3-yl]benzonitrile.	2018	Molecules（23 巻）	Niwa, H.; Sato, S.; Hashimoto, T.; Matsuno, K.; Umehara, T.	1538-1546
4	Structural development of cell-penetrating peptides containing cationic proline derivatives.	2018	Chem. Pharm. Bull.（66 巻）	Kobayashi, H.; Misawa, T.; Oba, M.; Hirata, N.; Kanda, Y.; Tanaka, M.; Matsuno, K.; Demizu, Y.	575-580
5	Preorganized cyclic α,α-disubstituted α-amino acids bearing functionalized side chains that act as peptide-helix inducers.	2017	J. Org. Chem.（82 巻）	Kobayashi, H.; Misawa, T.; Matsuno, K.; Demizu, Y.	10722-10726
6	Fluorescent anticancer quinazolines as molecular probes for β-tubulin colchicine site competition assay and visualization of microtubules as intracellular targeting sites.	2017	Dyes Pigm.（145 巻）	Suzuki, Y.; Sawada, J-i.; Hibner, P.; Ishii, H.; Matsuno, K.; Sato, M.; Witulski, B.; Asai, A.	233-238
*7	Inhibition of STAT3 by Anticancer Drug Bendamustine.	2017	PLOS ONE（12 巻）	Iwamoto, K.; Uehara, Y.; Inoue, Y.; Taguchi, K.; Muraoka, D.; Ogo, N.; Matsuno, K.; A. Asai.	e0170709
8	Structure-guided design of novel L-cysteine derivatives as potent KSP inhibitors.	2015	ACS Med. Chem. Lett.（6 巻）	Ogo, N.; Ishikawa, Y.; Sawada, J-i.; Matsuno, K.; Hashimoto, H.; Asai, A.	1004-1009
9	Structural basis of new allosteric inhibition in kinesin spindle protein Eg5.	2015	ACS Chem. Biol.（10 巻）	Yokoyama, H.; Sawada, J-i.; Katoh, S.; Matsuno, K.; Ogo, N.; Ishikawa, Y.; Hashimoto, H.; Fujii, S.; Asai, A.	1128-1136
10	Synthesis and structure-activity relationship study of 1-phenyl-1-(quinazolin-4-yl)ethanols as anticancer agents.	2015	ACS Med. Chem. Lett.（6 巻）	Kuroiwa, K.; Ishii, H.; Matsuno, K.; Asai, A.; Suzuki, Y.	287-291
11	Structural design and synthesis of arylalkynyl amide-type peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ)-selective	2015	Eur. J. Med. Chem.（90 巻）	Ohashi, M.; Gamo, K.; Tanaka, Y.; Waki, M.; Beniyama, Y.; Matsuno, K.; Wada, J.; Tenta, M.; Eguchi, J.; Makishima, M.;	53-67

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	antagonists based on the helix12-folding inhibition hypothesis.			Matsuura, N.; Oyama, T.; Miyachi, H.	
	2－1				
1	Production of bioactive oligopeptide hydrolyzed by protease derived from aerial microalga *Vischeria helvetica*	2019 年	Journal of Biotechnology (294 巻)	Aburai, N., Maruyama, S., Shimizu, K., Abe, K.	67-72
*2	Development of a whole-cell-based screening method for a carotenoid assay using aerial microalgae	2018 年	Journal of Biotechnology (268 巻)	Aburai, N., Kazama, H., Tsuruoka, A., Goto, M., Abe, K.	6-11
3	CO_2 fixation and lipid accumulation in biofilms of the aerial microalga *Coccomyxa* sp. KGU-D001 (Trebouxiophyceae)	2017 年	Journal of Applied Phycology (29 巻)	Ohkubo, K., Aburai, N., Miyauchi, H., Tsuzuki, M., Abe, K.	1745-1753
*4	Salt-stress and plant hormone-like responses for selective reactions of esterified xanthophylls in aerial microalga *Coelastrella* sp. KGU-Y002	2017 年	Journal of Applied Phycology (29 巻)	Saeki, K., Aburai, N., Aratani, S., Miyashita, H., Abe, K.	115-122
*5	Metabolic switching: synergistic induction of carotenogenesis in the aerial microalga, *Vischeria helvetica*, under environmental stress conditions by inhibitors of fatty acid biosynthesis	2015 年	Biotechnology Letters (37 巻)	Aburai, N., Abe, K.,	1073-1080
*6	Effect of light level and salinity on the composition and accumulation of free and ester-type carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae)	2015 年	Algal Research (8 巻)	Aburai, N., Sumida, D., Abe, K.,	30-36
*7	Fatty acid content and profile of the aerial microalga *Coccomyxa* sp. isolated from dry environments	2014 年	Applied Biochemistry and Biotechnology (174 巻)	Abe, K., Ishiwatari, T., Wakamatsu, M., Aburai, N.,	1724-1735
8	Development of a novel enzyme-CdS nanoparticle hybrid system	2014 年	Materials Letters(134 巻)	Abe, K., Horiuchi, T., Nishibayashi, Y., Kobayashi, K., Aburai, N.	20-23

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	for the oxidation of NADH to NAD^+				
9	A new approach to carotenogenesis up-regulated using inhibitors of fatty acid biosynthesis in aerial microalgae	2014 年	Carotenoid Science (18 巻 1 号)	Aburai, N., Abe, K.	83
10	Composition and accumulation of free- and ester-carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) cultured under stress conditions	2014 年	Carotenoid Science (18 巻 1 号)	Abe, K., Sumida, D., Aburai, N.	82
	2－2				
1	Cultivar Differences in Lipoxygenase activity Affect Volatile Compound Formation in Dough from Wheat Mill Stream Flour	2019	*Jounal of Cereal Science*	Narisawa T., Nakajima H., Umino M., Kojima T., Yamashita H., Kiribuchi-Otobe C., Yamada M., Asakura T.	to be published
*2	粒体技術からみた小麦製粉	2017	食品と開発(52)	山田昌治	4-6
3	Volatile Compounds from Japanese Noodles, “Udon,” and their Formation during Noodle-Making	2017	*Journal of Food Processing & Technology(8)*	Narisawa T., Nakajima H., Umino M., Kojima T., Asakura T. and Yamada M.	1-12
4	Functional Lycopene Cyclase (CruA) in Cyanobacterium, Arthrospira platensis NIES-39, and its Role in Carotenoid Synthesis	2017	*Plant Cell Physiology(58)*	Sugiyama K., Ebisawa M., Yamada M., Nagashima Y., Suzuki H., Maoka T., Takaichi S	831-838
5	フレーバー評価技術の確立による製品の高付加価値化と品質管理への応用（第２報）－埼玉県産小麦粉について－	2016	埼玉県産業技術総合センター研究報告(14)	成澤朋之, 仲島日出男, 樋口誠一, 横堀正敏, 高橋広子, 小島登貴子, 山田昌治	27-31
*6	粉粒体の単位操作と食品との関わり	2016	粉体技術(8)	山田昌治	194-201
7	不思議な小麦粉の世界	2016	FFI ジャーナル (221)	山田昌治	188-195
8	フレーバー評価技術の確立による製品の高付加価値化と品質管理への応用－清酒について－	2015	埼玉県産業技術総合センター研究報告(13)	横堀正敏, 成澤朋之, 小島登貴子, 鈴木康修, 樋口誠一, 仲島日出男, 山田昌治	33-36

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

9	フレーバー評価技術の確立による製品の高付加価値化と品質管理への応用－埼玉県産小麦粉について－	2015	埼玉県産業技術総合センター研究報告(13)	成澤朋之, 小島登貴子, 横堀正敏, 樋口誠一, 鈴木康修, 仲島日出男, 山田昌治	28-32
10	Development of a Quantification Method of the Gluten Matrix in Bread Dough by Fluorescence Microscopy and Image Analysis	2015	*Food and Bioprocess Technology* (8)	Maeda T., Kokawa M., Nango N., Miura M., Araki T., Yamada M., Takeya K. and Sagara Y.	1349–1354
	2－3				
*1	High expression of acidic chitinase and chitin digestibility in the stomach of common marmoset (Callithrix jacchus), an insectivorous nonhuman primate	2019 年	Sci Rep. (9)	Tabata, E., Kashimura, A., Uehara, M., Wakita, S., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Yurimoto, T., Sasaki, E., Matoska, V., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	159
*2	Chitinase mRNA Levels Determined by QPCR in Crab-Eating Monkey (Macaca fascicularis) Tissues: Species-Specific Expression of Acidic Mammalian Chitinase and Chitotriosidase	2018 年	Genes (Basel) (9)	Uehara, M., Tabata, E., Ishii, K., Sawa, A., Ohno, M., Sakaguchi, M., Matoska, V., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	244
*3	Acidic chitinase-chitin complex is dissociated in a competitive manner by acetic acid: purification of natural enzyme for supplementation purpose	2018 年	Int J Mol Sci. (19)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Imamura, Y., Shimizu, H., Matoska, V., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	362
*4	Chitin digestibility is dependent on feeding behaviors, which determine acidic chitinase mRNA levels in mammalian and poultry stomachs	2018 年	Sci Rep. (8)	Tabata, E., Kashimura, A., Kikuchi, A., Masuda, H., Miyahara, R., Hiruma, Y., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Matoska, V., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	1461
*5	Mouse acidic mammalian chitinase exhibits transglycosylation activity at somatic tissue pH	2017 年	FEBS Lett. (591)	Wakita, S., Kobayashi, S., Kimura, M., Kashimura, A., Honda, S., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Kamaya, M., Matoska, V., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	3310-3318

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

*6	Improved fluorescent labeling of chitin oligomers: Chitinolytic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions	2017 年	Carbohydr Polym. (164)	Wakita, S., Kimura, M., Kato, N., Kashimura, A., Kobayashi, S., Kanayama, N., Ohno, M., Honda, S., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	145-153
*7	Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources	2017 年	Sci Rep. (7)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Imamura, Y., Seki, S., Ueda, H., Matoska, V., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	12963
*8	Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry, Sci Rep. 7, 6662.	2017 年	Sci Rep. (7)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Kino, Y., Matoska, V., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	6662
*9	Loss and gain of human acidic mammalian chitinase activity by nonsynonymous SNPs	2016 年	Mol Biol Evol. (33)	Okawa, K., Ohno, M., Kashimura, A., Kimura, M., Kobayashi, Y., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Kamaya, M., Kino, Y., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	3183-3193
*10	Acidic mammalian chitinase is a proteases-resistant glycosidase in mouse digestive system	2016 年	Sci Rep. (6)	Ohno, M., Kimura, M., Miyazaki, H., Okawa, K., Onuki, R., Nemoto, C., Tabata, E., Wakita, S., Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Nukina, N., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	37756
*11	Functional properties of mouse chitotriosidase expressed in the periplasmic space of Escherichia coli	2016 年	PLoS One. (11)	Kimura, M., Wakita, S., Ishikawa, K., Sekine, K., Yoshikawa, S., Sato, A., Okawa, K., Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Yamanaka, D., Ohno, N., Bauer, P. O. & **Oyama, F.**	e0164367

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

*12	Quantitative Real-Time PCR Analysis of YKL-40 and Its Comparison with Mammalian Chitinase mRNAs in Normal Human Tissues Using a Single Standard DNA	2015 年	Int J Mol Sci. (16)	Ohno, M., Bauer, P. O., Kida, Y., Sakaguchi, M., Sugahara, Y. & **Oyama, F.**	9922-9935
*13	Functional properties of the catalytic domain of mouse acidic mammalian chitinase expressed in Escherichia coli	2015 年	Int J Mol Sci. (16)	Kashimura, A., Kimura, M., Okawa, K., Suzuki, H., Ukita, A., Wakita, S., Okazaki, K., Ohno, M., Bauer, P. O., Sakaguchi, M., Sugahara, Y. & **Oyama, F.**	4028-4042.
*14	Establishment of a quantitative PCR system for discriminating chitinase-like proteins: catalytically inactive breast regression protein-39 and Ym1 are constitutive genes in mouse lung	2014 年	BMC Mol Biol. (15)	Ohno, M., Kida, Y., Sakaguchi, M., Sugahara, Y. & **Oyama, F.**	23
	2－4				
*1	The *Listeria innocua* chitinase LinChi78 has a unique region that is necessary for hydrolytic activity	2019 年	Applied Microbiology and Biotechnology (103 巻)	Honda S, Kimura M, Wakita S, Oka Y, Kawakita M, Oyama F, Sakaguchi, M. *	1777-1787
*2	Two trehalose-hydrolyzing enzymes from *Crenarchaeon Sulfolobus acidocaldarius* exhibit distinct activities and affinities toward trehalose	2018 年	Applied Microbiology and Biotechnology (102 巻)	Yuasa, M., Okamura, T., Kimura, M., Honda, S., Shin, Y., Kawakita, M., Oyama, F., Sakaguchi, M. *	4445-4455
*3	Characterization of a *Bacillus thuringiensis* chitinase that binds to cellulose and chitin	2017 年	AMB Express (7 巻)	Honda, S., Kunii, T., Nohara, K., Wakita, S., Sugahara, Y., Kawakita, M., Oyama, F., Sakaguchi, M.*	51
*4	Functional dissection of the N-terminal sequence of *Clostridium* sp. G0005 glucoamylase: identification of components critical for folding the catalytic domain and for constructing the active site structure	2017 年	Applied Microbiology and Biotechnology (101 巻)	Sakaguchi, M.*, Matsushima, Y., Nagamine, Y., Matsuhashi, T., Honda, S., Okuda, S., Ohno, M., Sugahara, Y., Shin, Y., Oyama, F., Kawakita, M.	2415-2425

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

*5	Characterization of two *Listeria innocua* chitinases of different sizes that were expressed in Escherichia coli	2016 年	Applied Microbiology and Biotechnology (100 巻)	Honda, S., Wakita, S., Sugahara, Y., Kawakita, M., Oyama, F., Sakaguchi, M.*	8031-8041
*6	A simple procedure for preparing chitin oligomers through acetone precipitation after hydrolysis in concentrated hydrochloric acid	2015 年	Carbohydrate Polymers (132 巻)	Kazami, N., Sakaguchi, M. (joint first author), Mizutani, D., Masuda, T., Wakita, S., Oyama, F., Kawakita, M., Sugahara, Y.*	304-310
*7	Identification of GH15 family thermophilic archaeal trehalases that function within a narrow acidic-pH range	2015 年	Applied and Environmental Microbiology (81 巻)	Sakaguchi, M.*, Shimodaira, S., Ishida, S., Amemiya, M., Honda, S., Sugahara, Y., Oyama, F., Kawakita, M.	4920-4931
8	Highly conserved salt bridge stabilizes a proteinase K subfamily enzyme, Aqualysin I, from *Thermus aquaticus* YT-1	2014 年	AMB Express (4 巻)	Sakaguchi, M.*, Osaku, K., Maejima, S., Ohno, N., Sugahara, Y., Oyama, F., Kawakita, M.	59
	2－5				
1	PFG acted as an inducer of premature senescence in TIG-1 normal diploid fibroblast and an inhibitor of mitosis in the HeLa cells.	2019 年	*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (83 号)	Ying Huang, Osamu Ohno, Kenji Miyamoto	1-10
2	Minnamide A, a Linear Lipopeptide from the Marine Cyanobacterium *Okeania hirsuta*.	2019 年	*Organic Letters* (21 号)	Shimpei Sumimoto, Masayuki Kobayashi, Rio Sato, Seiichi Shinomiya, Arihiro Iwasaki, Shoichiro Suda, Toshiaki Teruya, Toshiyasu Inuzuka, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga	1187–1190
3	Croissamide, a proline-rich cyclic peptide with an *N*-prenylated tryptophan from a marine cyanobacterium *Symploca* sp.	2018 年	*Tetrahedron Letters* (59 号)	Keitaro Iwasaki, Arihiro Iwasaki, Shimpei Sumimoto, Takuya Sano, Yuki Hitomi, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga	3806-3809
*4	Cyclic analogue of S-benzylisothiourea that suppresses kynurenine production without inhibiting indoleamine 2,3-dioxygenase activity.	2018 年	*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (28 号)	Miwa Fukuda, Tomomi Sasaki, Tomoko Hashimoto, Hiroyuki Miyachi, Minoru Waki, Akira Asai, Osamu	2846-2849

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				Takikawa, Osamu Ohno, Kenji Matsuno	
5	Apoptosis-inducing activity and antiproliferative effect of Paeoniflorigenone from moutan cortex.	2017 年	*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (81 号)	Ying Huang, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga, Kenji Miyamoto	1106-1113
6	Kanamienamide, an Enamide with an Enol Ether from the Marine Cyanobacterium *Moorea bouillonii*.	2016 年	*Organic Letters* (18 号)	Shimpei Sumimoto, Arihiro Iwasaki, Osamu Ohno, Kosuke Sueyoshi, Toshiaki Teruya, Kiyotake Suenaga	4884-4887
7	Janadolide, a Cyclic Polyketide–Peptide Hybrid Possessing a tert-Butyl Group from an *Okeania* sp. Marine Cyanobacterium.	2016 年	*Journal of Natural Products* (79 号)	Hidetoshi Ogawa, Arihiro Iwasaki, Shinpei Sumimoto, Yuki Kanamori, Osamu Ohno, Masato Iwatsuki, Aki Ishiyama, Rei Hokari, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Ōmura, Kiyotake Suenaga	1862–1866
8	A Potent Phytotoxic Substance in *Aglaia odorata* Lour.	2016	*Chemistry & Biodiversity* (13 号)	Hisashi Kato-Noguchi, Masahiko Suzuki, Kazutaka Noguchi, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga, Chamroon Laosinwattana	549-554
9	Anti-obesity activities of the yoshinone A and the related marine γ-pyrone compounds.	2016	*Journal of Antibiotics* (69 号)	Tomoyuki Koyama, Yoshinori Kawazoe, Arihiro Iwasaki, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga, Daisuke Uemura	348-351
10	Isolation and Functional Analysis of Novel Compounds with Selective Cytotoxicity under Glucose-restricted Conditions.	2015	*The 14th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-Special)*	Osamu Ohno, Ami Ito, Shuntaro Obata, Arihiro Iwasaki, Kiyotake Suenaga, Kenji Matsuno	51-52
	2－5				
1	PFG acted as an inducer of premature senescence in TIG-1 normal diploid fibroblast and an	2019 年	*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (83 号)	Ying Huang, Osamu Ohno, Kenji Miyamoto	1-10

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	inhibitor of mitosis in the HeLa cells.				
2	Minnamide A, a Linear Lipopeptide from the Marine Cyanobacterium *Okeania hirsuta*.	2019 年	*Organic Letters* (21 号)	Shimpei Sumimoto, Masayuki Kobayashi, Rio Sato, Seiichi Shinomiya, Arihiro Iwasaki, Shoichiro Suda, Toshiaki Teruya, Toshiyasu Inuzuka, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga	1187–1190
3	Croissamide, a proline-rich cyclic peptide with an *N*-prenylated tryptophan from a marine cyanobacterium *Symploca* sp.	2018 年	*Tetrahedron Letters* (59 号)	Keitaro Iwasaki, Arihiro Iwasaki, Shimpei Sumimoto, Takuya Sano, Yuki Hitomi, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga	3806-3809
4	Cyclic analogue of S-benzylisothiourea that suppresses kynurenine production without inhibiting indoleamine 2,3-dioxygenase activity.	2018 年	*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (28 号)	Miwa Fukuda, Tomomi Sasaki, Tomoko Hashimoto, Hiroyuki Miyachi, Minoru Waki, Akira Asai, Osamu Takikawa, Osamu Ohno, Kenji Matsuno	2846-2849
5	Apoptosis-inducing activity and antiproliferative effect of Paeoniflorigenone from moutan cortex.	2017 年	*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (81 号)	Ying Huang, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga, Kenji Miyamoto	1106-1113
6	Kanamienamide, an Enamide with an Enol Ether from the Marine Cyanobacterium *Moorea bouillonii*.	2016 年	*Organic Letters* (18 号)	Shimpei Sumimoto, Arihiro Iwasaki, Osamu Ohno, Kosuke Sueyoshi, Toshiaki Teruya, Kiyotake Suenaga	4884-4887
7	Janadolide, a Cyclic Polyketide–Peptide Hybrid Possessing a tert-Butyl Group from an *Okeania* sp. Marine Cyanobacterium.	2016 年	*Journal of Natural Products* (79 号)	Hidetoshi Ogawa, Arihiro Iwasaki, Shinpei Sumimoto, Yuki Kanamori, Osamu Ohno, Masato Iwatsuki, Aki Ishiyama, Rei Hokari, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Ōmura, Kiyotake Suenaga	1862–1866
8	PFG acted as an inducer of premature senescence in TIG-2 normal diploid fibroblast and an inhibitor of mitosis in the HeLa cells.	2015 年	*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (84 号)	Ying Huang, Osamu Ohno, Kenji Miyamoto	549-554

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

9	Minnamide A, a Linear Lipopeptide from the Marine Cyanobacterium *Okeania hirsuta*.	2014 年	*Organic Letters* (22 号)	Shimpei Sumimoto, Masayuki Kobayashi, Rio Sato, Seiichi Shinomiya, Arihiro Iwasaki, Shoichiro Suda, Toshiaki Teruya, Toshiyasu Inuzuka, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga	348-351
10	Croissamide, a proline-rich cyclic peptide with an *N*-prenylated tryptophan from a marine cyanobacterium *Symploca* sp.	2014 年	*Tetrahedron Letters* (60 号)	Keitaro Iwasaki, Arihiro Iwasaki, Shimpei Sumimoto, Takuya Sano, Yuki Hitomi, Osamu Ohno, Kiyotake Suenaga	51-52
	1－2 & 3－1				
1	Silibinin’s regulation of proliferation and collagen gene expressions of rat pancreatic β-cells cultured on types I and V collagen involves β-catenin nuclear translocation	2019 年	Connective Tissue Research (in press)	Yang, Jing, Sun, Yue, Liu, Xiaoling, Xu, Fanxing, Liu, Weiwei, Hayashi, Toshihiko, Imamura, Yasutada, Mizuno, Kazunori, Hattori, Shunji, Tanaka, Keisuke, Fujisaki, Hitomi, Tashiro, Shin-ichi, Onodera, Satoshi, Ikejima, Takashi	
*2	Identification of a common epitope in the sequences of COL4A1 and COL6A1 recognised by monoclonal antibody #141	2019 年	The Journal of Biochemistry (165 巻)	Takamichi Sato, Ryo Takano, Naoko Takahara, Kazuhiro Tokunaka, Kan Saiga, Arihiro Tomura, Hidemitsu Sugihara, Toshihiko Hayashi, Yasutada Imamura, Makoto Morita	85-95
3	Proteolytic inactivation of ADAMTS13 by plasmin in human plasma: risk of thrombotic thrombocytopenic purpura	2018 年	The Journal of Biochemistry (163 巻)	Yongchol Shin, Haruki Miyake, Kenshi Togashi, Ryuichi Hiratsuka, Kana Endou-Ohnishi, Yasutada Imamura	381-389
*4	Type VI collagen α1 chain polypeptide in non-triple helical form is an alternative gene product of COL6A1	2018 年	The Journal of Biochemistry (164 巻)	Takamichi Sato, Ryo Takano, Kazuhiro Tokunaka, Kan Saiga, Arihiro Tomura, Hidemitsu Sugihara, Toshihiko	173-181

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				Hayashi, Yasutada Imamura, Makoto Morita	
5	Peptide Nucleic Acid Possessing PreQl as a Cationic Analogue of Guanine	2018 年	Peptide Science	Toru Sugiyama, Misaki Hohara, Keiko Kuwata, Yasutada Imamura, Yosuke Demise, Masaaki Kurihara, Atsushi Kittaka	192-193
6	Acidic Chitinase-Chitin Complex Is Dissociated in a Competitive Manner by Acetic Acid: Purification of Natural Enzyme for Supplementation Purposes	2018 年	International Journal of Molecular Sciences (19 巻)	Eri Tabata, Akinori Kashimura, Satoshi Wakita, Masayoshi Sakaguchi, Yasusato Sugahara , Yasutada Imamura, Hideaki Shimizu, Vaclav Matoska, Peter O. Bauer and Fumitaka Oyama	
7	Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources	2017 年	SCIENTIFIC REPORTS (7 巻)	Eri Tabata, Akinori Kashimura, Satoshi Wakita, Misa Ohno, Masayoshi Sakaguchi, Yasusato Sugahara, Yasutada Imamura, Shiro Seki, Hitoshi Ueda, Vaclav Matoska, Peter O. Bauer & Fumitaka Oyama	
8	PNA monomers fully compatible with standard Fmoc-based solid-phase synthesis of pseudocomplementary PNA	2017 年	Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (27 巻)	Toru Sugiyama, Genki Hasegawa, Chie Niikura, Keiko Kuwata, Yasutada Imamura, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Atsushi Kittaka	3337-3341
*9	Preparation and partial characterization of monoclonal antibodies specific for the nascent non-triple helical form of the type IV collagen alpha 1 chain	2016 年	Biochemistry and Biophysics Reports (9 巻)	Makoto Morita, Hidemitsu Sugihara, Kazuhiro Tokunaka, Arihiro Tomura, Kan Saiga, Takamichi Sato, Yasutada Imamura, Toshihiko Hayashi	128-132

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

10	Ring-Mesh Model of Proteoglycan Glycosaminoglycan Chains in Tendon based on Three-Dimensional Reconstruction by Focused Ion Beam Scanning Electron Microscopy	2016 年	The Journal of Biological Chemistry (291 巻)	Takafumi Watanabe, Kiyokazu Kametani, Yoh-ichi Koyama, Daisuke Suzuki, Yasutada Imamura, Kazushige Takehana, and Kohzy Hiramatsu	23704-23708
11	Peptide Nucleic Acid with a Lysine Side Chain at the β-Position: Synthesis and Application for DNA Cleavage	2016 年	Chem. Pharm. Bull. (64 巻)	Toru Sugiyama, Keiko Kuwata, Yasutada Imamura, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Masashi Takano, and Atsushi Kittaka	817-823
*12	Non-Triple Helical Form of Type IV Collagen α1 Chain	2015 年	Heliyon (1 巻)	Hiroaki Sugiyama, Kazuhiro Tokunaka, Toshihiko Hayashi,Yasutada Imamura, Makoto Morita, Masayuki Yamato	e00051, 1
*13	A peptide nucleic acid to reduce Type I collagen production by fibroblast cells	2015 年	Open Journal of Medicinal Chemistry(5 巻)	Imamura, Y., Tsuboi, S., Sugiyama, T., Kittaka, A., Shin, Y.	1-8
	1－3 & 3－2				
1	Two trehalose-hydrolyzing enzymes from Crenarchaeon Sulfolobus acidocaldarius exhibit distinct activities and affinities toward trehalose	2018 年	Applied Microbiology and Biotechnology(102 巻)	Yuasa, M., Okamura, T., Kimura, K., Honda, S., Shin, Y., Kawakita, M., Oyama, F., Sakaguchi, M.	4445-4455
2	Proteolytic inactivation of ADAMTS13 by plasmin in human plasma: risk of thrombotic thrombocytopenic purpura	2018 年	Journal of Biochemistry(163 巻)	Shin, Y., Miyake, H., Togashi, K., Hiratsuka, R., Endou-Ohnishi, K., and Imamura, Y.	381-389
3	Functional dissection of the N-terminal sequence of Clostridium sp. G0005 glucoamylase: identification of components critical for folding the catalytic domain and for constructing the active site structure	2017 年	Applied Microbiology and Biotechnology(101 巻)	Sakaguchi, M., Matsushima, Y., Nagamine, Y., Matsuhashi, T., Honda, S., Okuda, S., Ohno, M., Sugahara, Y., Shin, Y. Oyama, F., Kawakita, M	2415-2425

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

4	A peptide nucleic acid to reduce Type I collagen production by fibroblast cells	2015 年	Open Journal of Medicinal Chemistry(5 巻)	Imamura, Y., Tsuboi, S., Sugiyama, T., Kittaka, A., Shin, Y.	1-8
	1－4 & 3－3				
1	Cascade Reaction Including a Formal [5 + 2] Cycloaddition by Use of Alkyne-Co2(CO)6 Complex	2019 年	Tetrahedron Letters (60 巻)	Yuki Sakata, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Shinji Nagumo	755-759
2	Total Synthesis of Sekothrixide Strategically Utilizing Regioselective Coupling of TMS-Protected Epoxy sec-Alcohol with Gilman Reagent	2019 年	J. Org. Chem. (84 巻)	Daisuke Katsumi, Kazuki Nakasone, Naoki Terayama, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	1553-1562
3	Syntheses of Polycyclic Tetrahydrofurans by Cascade Reactions Consisting of Five-membered Ring Selective Prins Cyclization and Friedel-Crafts Cyclization	2018 年	J. Org. Chem. (83 巻)	Yuki Sakata, Eiko Yasui, Kazuhiko Takatori, Yuji Suzuki, Megumi Mizukami, Shinji Nagumo	9103–-9118
*4	Unique ring expansion of a 6-3 bicyclic ring system forming a functionalized 7-membered ring accelerated by nitrogen functional groups	2017 年	Tetrahedron Letters (58 巻)	Eiko Yasui, Rio Ootsuki, Kan Takayama, Shinji Nagumo	3092-3095
*5	Selective Mono-reduction of Pyrrole-2,5 and 2,4-Dicarboxylates	2016 年	Chem. Pharm. Bull. (64 巻)	Eiko Yasui, Jyunpei Tsuda, Satoshi Ohnuki, Shinji Nagumo	1262-1267
6	Synthetic study of arenicolide C: Stereoselective Synthesis of the C19-C36 Segment	2015 年	Tetrahedron Letters (56 巻)	Sho Sunagawa, Haruki Yamada, Minako Naito, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	6693-6695
7	Synthesis of 1-(4-Aminobutyl)-2-iminoimidazolidin-4-one Aimed at Preparation of a Creatinine-specific Antibody	2014 年	Chem. Pharm. Bull. (62 巻)	Shun-suke Moriya, Naoki Terayama, Kyoko Hiramatsu, Masao Kawakita, Tatsuya Kiryu, Takato Kawanishi, Eiko Yasui, Shinji Nagumo	350-353
8	Ring opening of disubstituted epoxides linked to a secondary	2014 年	Tetrahedron Letters (55 巻)	Naoki Terayama, Shodai Ushijima, Eiko Yasui,	6515-6519

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	oxygen group with an organocopper reagent			Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	
9	Total Synthesis and Structural Revision of Sekothrixide.	2014 年	Organic Letters (16 巻)	Naoki Terayama, Eiko Yasui, Megumi Mizukami, Masaaki Miyashita, Shinji Nagumo	2794–2797
	4−1				
*1	Intermolecular Interaction of Polymer Brushes Containign Phosphorylcholine and Inverse-Phosphorylcholine	2019	Langmuir, 35	Mihara, S.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M.	1172-1180.
*2	Adhesion force measurement of live cypris tentacles by scanning probe microscopy in seawater	2019	Polym. J., 51	Shiomoto, S.; Yamaguchi, Y.; Yamaguchi, K.; Nogata, Y.; Kobayashi, M.	51-59
*3	Deviant polymerization behavior of 4-acetoxystyrene found through a detailed study on the ATRP of para-substituted styrenes	2019	Polym. J., 51	Yoshioka, H; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M.	in-press
4	Time Evolution of Precursor Thin Film of Water on Polyelectrolyte Brush	2018	Langmuir, 34	Shiomoto, S.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M.	10276-10286.
5	Repeatable adhesion by proton donor-acceptor interaction of polymer brushes	2017	Polymer, 119	Yoshioka, H.; Izumi, C.; Shida, M.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M.	167-175.
6	Direct Surface Modification of Poly(VDF-co-TrFE) Films by Surface-initiated ATRP without Pretreatment	2016 年	RSC Advances(6 巻)	M. Kobayashi, Y. Higaki, T. Kimura, F. Boschet, A. Takahara, B. Ameduri	86373-86384
7	ポリマーブラシによる水中超はつ油性表面の創製	2016 年	表面技術(67 巻 9 号)	小林元康	473-476
8	中性子反射率測定によるポリマーブラシの界面構造解析	2016 年	日本接着学会誌 (52 巻 8 号)	小林元康	249-254

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

9	Swollen Structure and Electrostatic Interactions of Polyelectrolyte Brush in Aqueous Solution	2016 年	Polymer(98 巻)	D. Murakami, M. Kobayashi, Y. Higaki, H. Jinnai, A. Takahara	464-469
10	Tribological Properties of Cross-linked Oleophilic Polymer Brushes on Diamond-Like Carbon Films	2016 年	Polymer(89 巻)	M. Kobayashi, M. Kaido, A. Suzuki, A. Takahara	128-134
12	Anti-fouling Behavior of Polymer Brush Immobilized Surface	2016 年	Polym. J. (48 巻 2 号)	Y. Higaki, M. Kobayashi, D. Murakami, A. Takahara	325-331
13	Development of Sample Environments for the SOFIA Reflectometer for Seconds-Order Time-Slicing Measurements	2015 年	JPS Conf. Proc. (8 巻)	N. L. Yamada, K. Mitamura, H. Sagehashi, N. Torikai, S. Sato, H. Seto, M. Furusaka, T. Oda, M. Hino, T. Fujiwara, M. Kobayashi, A. Takahara	36003
14	Salt Dependence of the Chain Stiffness and Excluded-Volume Strength for the Polymethacrylate-Type Sulfopropylbetaine in Aqueous NaCl Solutions	2015 年	Macromolecules (48 巻 19 号)	M. Kikuchi, Y. Terayama, T. Ishikawa, T. Hoshino, M. Kobayashi, N. Ohta, H. Jinnai, A. Takahara	7194-7204
15	Versatile Inhibitionof Marine Organism Settlement by Zwitterionic Polymer Brushes	2015 年	Polym. J. (47 巻)	Y. Higaki, J. Nishida, A. Takenaka, R. Yoshimatsu, M. Kobayashi, A. Takahara	811-818
16	生物模倣によるトライボロジー技術	2015 年	機能材料(35 巻 7 号)	小林元康	34-38
17	Interferometry Study of Aqueous Lubrication on the Surface of Polyelectrolyte Brushes	2014 年	ACS Applied Materials & Interfaces (6 巻)	M. Kobayashi, H. Tanaka, M. Minn, J. Sugimura, A. Takahara	20365-20371
18	魚の体表に学ぶ防汚性:高分子電解質ブラシによるアプローチの動向	2014 年	PEN (5 巻 8 号)	小林元康	24-28
19	Neutron Reflectivity Study of the Swollen Structure of Zwitterionic Polymer Brushes in Aqueous Solution Compared with Polycation Brush	2014 年	J. Biomat. Sci.: Polym. Ed. (25 巻 14-15 号)	M. Kobayashi, K. Ishihara, A. Takahara	1673-1686

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

20	Structural Analysis of Nano Interface of Functional Soft Matter Using Neutron Reflectometer at BL16 in J-PARC/MLF	2014 年	KENS Report XIX 2012 (19 巻)	M.Kobayashi, N.L.Yamada, N.Torikai, H.Sagehashi, S.Sato, H.Seto, T.Sugita, M.Furusaka, M.Hino, T.Fujiwara, H.Takahashi, H.Arita, H.Jinnai, K.Matsui, H.Ogawa, R.Inoue, T.Kanaya, K.Nishida, M.Inutsuka, K.Ito, H.Yokoyama, D.Kawaguchi, D.Shibata, S.S.Abdul Rahman, Y.Matsushita, A.Horinouchi, K.Hori, T.Hirata, Y.Fujii, K.Tanaka, N.Hariyama, Y.Kamata, A.Takahara	35-45
21	Scaffold for Growing Dense Polymer Brushes from Various Substrates	2014 年	ACS Appl. Mater. Int.(6 巻 5 号)	M. Watanabe, J. Nishida, M. Kobayashi, A. Fujimoto, R. Yamamoto, A. Takahara	3648-3653
22	バイオミメティック表面の分子トライボロジー	2014 年	日本機械学会誌 (117 巻 1143 号)	小林元康, 高原淳	86-89
23	Effect of water swelling on the tribological properties of PMMA spin-cast film and brush in aqueous environment	2014 年	Tribology Lett.(55 巻)	M. Minn, M. Kobayashi, H. Jinnai, H. Watanabe, A. Takahara	121-129
24	イオン性ポリマーブラシを用いた低環境負荷な接着と剥離制御	2014 年	日本接着学会誌 (50 巻 1 号)	小林元康	23-28
	4-2				
1	高圧水素曝露によるゴム材料の高次構造変化の振動分光学的検討	2016 年	日本ゴム協会誌 (89 巻 10 号)	伊藤雄三	313-316

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

＜図書＞

1．2&3．1

1	組織工学ライブラリー3 マイクロロボティクスとバイオの融合 細胞社会学 大和雅之編	2016 年 9 月	コロナ社	今村保忠	2-20

4．1

1	The Handbook of Polymer Tribology	2017 年 3 月	Imperial College Press	Y. Higaki, M. Kobayashi, A. Takahara	
2	表面・界面技術ハンドブック	2016 年 4 月	エヌティーエス	小林元康	390-396
3	トコトンやさしい バイオミメティクスの本	2016 年 3 月	日刊工業新聞社	小林元康	58-59
4	Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials	2015 年 8 月	Springer	M. Kobayashi	870-877
5	高分子トライボロジーの制御と応用	2015 年 5 月	シーエムシー出版	小林元康, 高原淳	148-156
6	Surfactant in Tribology vol.4	2014 年 10 月	CRC Press, Boca Raton	Y. Higaki, M. Kobayashi, A. Takahara	51-61
7	バイオマテリアル研究の最前線	2014 年 10 月	日本金属学会	小林元康	159-160
8	生物模倣技術と新材料・新製品開発への応用	2014 年 7 月	技術情報協会	小林元康、高原淳	510-515
9	高分子ナノテクノロジーハンドブック	2014 年 3 月	エヌティーエス	小林元康	257-261
10	高分子ナノテクノロジーハンドブック	2014 年 3 月	エヌティーエス	高原淳、小林元康	465-473

1.5 & 4.2

1	放熱・耐熱材料	2017 年 1 月	技術情報教会	伊藤雄三	3-11
2	高熱伝導樹脂の設計・開発	2016 年 12 月	シーエムシー出版	伊藤雄三	3-15

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

＜学会発表＞

	1−1＆3−4			
#1	torrubiellutin 誘導体の合成研究	2019 年 3 月	日本薬学会第 139 年会	室川 俊介、安井 英子、南雲紳史
2	チオフェン環の特性を利用した複素環合成法の検討	2019 年 3 月	日本化学会第 99 春季年会	大竹薫、安井英子、南雲紳史
3	ヒドラゾノエステルの酸化による α−ジアゾエステルの合成	2019 年 3 月	日本化学会第 99 春季年会	安井英子、似内蒼太、南雲紳史
#4	アレニコライド A の合成研究	2019 年 3 月	日本化学会第 99 春季年会	川野嘉矩、南雲紳史、安井英子
5	混合炭酸エステルの閉環メタセシスを利用したアレニコラド A の合成研究	2018 年 12 月	第 76 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	上條陽平、岩田大昌、安井英子、南雲紳史
6	カチオン環化反応の研究における幾つかのセレンディピティ	2018 年 10 月	有機合成化学協会関東支部ミニシンポジウム	南雲紳史
#7	ボランによるエポキシジエノエステルの還元的 SN2’反応を用いた torrubiellutin 誘導体の合成研究	2018 年 10 月	第 62 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	室川俊介、安井英子、南雲紳史
#8	マクロライド天然物の全合成研究〜独自の鎖状立体制御法、Z-アルケン構築法を基盤として〜	2018 年 9 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会	南雲紳史
9	新規 7 員環合成法の検討	2018 年 9 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会	二瓶丘、大月理央、安井英子、南雲紳史
#10	Sekothrixide 及びその類縁体の合成研究	2018 年 9 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会	辻本和生、勝見大介、中曽根和樹、安井英子、南雲紳史
11	各種アリールエチルヒドロアゼピン誘導体の Friedel-Crafts 反応〜立体選択性に対するアセチレンコバルト錯体の影響〜	2018 年 5 月	第 75 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	山中奎哉，坂田優希，安井英子，南雲紳史
12	環状アセチレンコバルト錯体の脱コバルトを伴う Friedel-Crafts 反応	2018 年 3 月	日本化学会第 98 春季年会	山中奎哉、坂田優希、安井英子、南雲紳史
13	ベンゾジアゼピン誘導体の合成研究	2018 年 3 月	日本化学会第 98 春季年会	安井 英子、津田隼平、南雲紳史
#14	アレニコライド A の C19-C36 セグメントの合成	2018 年 3 月	日本化学会第 98 春季年会	上條陽平、岩田大昌、安井英子、南雲紳史
#15	venturicidin C の C15-C27 segment の合成	2018 年 3 月	日本化学会第 98 春季年会	小澤暢熙、安井英子、南雲紳史

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

16	1,2-ベンゾジアゼピン誘導体の合成	2017 年 11 月	74 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	津田 隼平、安井 英子、南雲紳史
#17	エポキシ不飽和エステルの還元的 SN2’反応と独自の鎖状立体制御法を利用した Venturicin X の全合成	2017 年 9 月	第 59 回天然有機化合物討論会	鈴木 裕治、木村 直城、室川 俊介、古川 晃規、宮下 正昭 、南雲紳史
18	アセチレンコバルト錯体を利用した新規タンデム環化反応における立体制御機構	2017 年 9 月	第 61 回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	坂田優希、安井英子、南雲紳史
#19	Arenicolide A の中に存在する 26 員環ラクトン構造の合成	2017 年 5 月	第 73 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	岩田大昌、内藤美菜子、砂川晶、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#20	Arenicolide A の中に存在する 26 員環ラクトン構造 の合成	2017 年 3 月	日本薬学会第 137 年会	岩田大昌 、内藤美菜子、砂川晶、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
21	アセチレンコバルト錯体を利用した新規タンデム環化反応における立体化学的考察	2017 年 3 月	日本化学会第97春季年会	坂田優希、安井英子、南雲紳史
22	ピロールジエステルの選択的還元反応	2017 年 3 月	日本化学会第97春季年会	安井英子、南雲紳史
#23	エポキシジエノエステルの還元的SN2’反応を用いた torrubiellutin 誘導体の合成研究	2017 年 3 月	日本化学会第97春季年会	室川俊介、安井英子、南雲紳史
#24	Sekothrixide の第二世代合成	2016 年 9 月	第 58 回天然物有機化合物討論会	勝見大介、中曽根和樹、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
25	1,2－ジブロモ化合物の β－脱離反応～位置選択性に対する水酸基の隣接効果～	2016 年 5 月	第 71 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	田口彩、安井英子、南雲紳史
26	アルキンコバルト錯体を利用した新規含窒素中員環合成	2016 年 3 月	日本薬学会第 136 年会	高岸 帆奈美、水上 徳美、南雲紳史
#27	Synthetic studies of Venturicidins based on the newly developed method of a construction Z-alkene by SN2’ type reduction with borane THF complex	2016 年 3 月	日本化学会第 96 春季年会	鈴木裕司、佐藤大地、水上徳美、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#28	14 員環マクロライド Sekothrixide の改良合成	2016 年 3 月	日本化学会第 96 春季年会	勝見大介、小澤暢熙、中曽根和樹、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
29	Pipestelide B の全合成研究	2016 年 3 月	日本化学会第 96 春季年会	木村直城、安井英子、南雲紳史

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

30	新規 7 員環合成法の開発	2016 年 3 月	日本化学会第 96 春季年会	大月理央、樋口すみ香、高山敢、安井英子、南雲紳史
#31	多剤耐性克服活性を有する Sekothrixide の改良合成	2015 年 11 月	第 70 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	勝見大介、中曽根和樹、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
32	ピロールー2,5－ジカルボン酸エステルからのカリックスピロール合成研究	2015 年 11 月	第 45 回複素環化学討論会実行委員会	安井英子、大貫智史、嶋田佑太、津田隼平、近藤匠、南雲紳史
#33	Arenicolide 類の合成研究	2015 年 9 月	第 58 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	砂川晶、内藤美菜子、勝見大介、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
34	新規7員環合成法の開発	2015 年 9 月	第 58 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	安井英子、大月理央、高山敢、樋口すみ香、南雲紳史
35	Prins/Friedel-Crafts タンデム環化反応を用いた種々の検討	2015 年 5 月	第 69 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	坂田優希、安井英子、高取和彦、南雲紳史
36	Prins/Friedel-Crafts タンデム環化反応(3)	2015 年 3 月	日本薬学会第 135 年会	坂田 優希、安井 英子、高取 和彦、南雲紳史
#37	ボラン・THF 錯体による Z-アルケン構築法を機軸とした Venturicidin 類の全合成研究	2015 年 3 月	日本薬学会第 135 年会	鈴木裕治、古川晃規、中野妙子、島貫陽平、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
38	ピロール 2, 5-ジカルボン酸エステルからのカリックスピロール合成研究	2015 年 3 月	日本化学会第 95 春季年会	安井英子、大貫智史、嶋田佑太、近藤匠、南雲紳史
39	エポキシ不飽和エステルの還元的 SN2'反応	2015 年 3 月	日本薬学会第 135 年会	木村直城、古川晃規、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#40	Sekothrixide の第二世代合成研究	2015 年 3 月	日本薬学会第 135 年会	中曽根和樹、寺山直樹、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#41	Arenicolide 類の合成研究(3)	2015 年 3 月	日本化学会第 95 春季年会	砂川晶、内藤美菜子、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#42	Sekothrixide の全合成	2014 年 10 月	第 56 回天然有機化合物討論会	寺山直樹、中曽根和樹、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#43	ユニークな構造と興味ある生理活性を有するマクロライド系天然物の全合成研究	2014 年 9 月	第 58 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	南雲紳史

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

44	BH3 を用いたエポキシ不飽和エステルの(Z)-アルケン選択的 SN2'反応	2014 年 9 月	第 58 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	古川晃規、中野妙子、鈴木裕治、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
45	5 員環選択的 Prins 反応と Friedel-Crafts 反応からなるタンデム環化反応	2014 年 9 月	第 44 回複素環化学討論会	坂田 優希、丹羽 孝徳、鈴木 裕治、安井 英子、南雲紳史
46	2級アルコールに隣接したエポキシドと有機銅錯体との反応	2014 年 5 月	第 67 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	寺山直樹、牛嶋将大、安井英子、南雲紳史
	1-6 & 4-3			
#1	ニトロベンゾオキサジアゾールを用いる蛍光 turn-ON 型アフィニティーラベル化法の開発	2014 年 5 月	第 12 回次世代を担う有機化学シンポジウム	山口卓男、淺沼三和子、中西修一、斎藤洋平、岡﨑正晃、闐闐孝介、袖岡幹子
2	酸化ストレス誘導性ネクローシスを制御する化合物の開発とその作用機序	2014 年 5 月	第 23 回日本 Cell Death 学会学術集会	闐闐孝介
#3	ラマンタグを用いた低分子化合物の生細胞イメージング	2014 年 11 月	第 37 回日本分子生物学会年会	闐闐孝介
4	Development of Cell Death Control Molecules: Chemical Biology for Cell Death Researh	2015 年 3 月	日本化学会第 95 春季年会アジア国際シンポジウム	Kosuke Dodo
#5	ネクローシス制御機構解明を目指したケミカルバイオロジー研究：蛍光 turn-ON 型アフィニティーラベル化法の開発	2015 年 6 月	第 15 回日本蛋白質科学会年会	闐闐孝介
#6	アルキンタグラマンイメージング：ありのままの薬物を捉える技術を目指して	2017 年 3 月	日本薬学会第 137 年会	闐闐孝介
#7	アルキン標識分子の直接的濃縮精製法の開発	2017 年 3 月	日本薬学会第 137 年会	大金賢司、淺沼三和子、闐闐孝介、袖岡 幹子
#8	Turn-ON 蛍光アフィニティー標識法を用いた生物活性化合物の標的タンパク質解析	2017 年 3 月	日本薬学会第 137 年会	淺沼三和子、闐闐孝介、大金賢司、袖岡 幹子
#9	Alkyne-tag Raman Imaging & Screening	2017 年 7 月	JSPS 日中韓フォーサイト事業「アジア化学プローブ研究拠点」A3 若手ミーティング	Kosuke Dodo
#10	O-NBD: small bifunctional unit for turn-ON fluorescent affinity labeling	2017 年 11 月	The Second A3 Roundtable Meeting on Chemical Probe Research Hub	Kosuke Dodo

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

11	酸化ストレスにより誘導されるネクローシスの抑制剤開発と虚血性疾患への応用	2018 年 3 月	日本薬学会第 138 年会	闐闐孝介
#12	Turn-ON 蛍光アフィニティー標識法を用いた生物活性化合物標的タンパク質の網羅的解析への取り組み	2018 年 3 月	日本薬学会第 138 年会	淺沼三和子、闐闐孝介、田中美帆、大金賢司、江越脩祐、袖岡幹子
13	Development and Therapeutic Application of Indolylmaleimide Derivatives: Unique Inhibitors for Oxidative Stress-Induced Necrosis	2018 年 7 月	The 2nd International Conference on Food Nutrition & Safety and Medicinal Chemistry	Kosuke Dodo
14	ネクローシス抑制化合物の開発と虚血性心疾患モデルへの適用	2018 年 7 月	第 27 回日本 Cell Death 学会学術集会	闐闐孝介
#15	Turn-ON 型蛍光アフィニティーラベル化法の開発と応用	2018 年 9 月	第 91 回日本生化学会大会	闐闐孝介
#16	Turn-ON 蛍光アフィニティーラベル化法により NBD 標識される生物活性化合物標的タンパク質の網羅的解析への取り組み	2018 年 9 月	第 91 回日本生化学会大会	淺沼三和子、どど孝介、田中美帆、大金賢司、江越脩祐、袖岡幹子
17	A novel scenario of bacterial infection in plant: Coronatine induces stomatal opening through two different target proteins in guard cells.	2018 年 9 月	International Chemical Biology Society (ICBS) 7th Annual Conferenc	Syusuke Egoshi, Kosuke Dodo, Hiroyuki Yamakoshi, Yasuhiro Ishimaru, Yousuke Takaoka, Kengo Hayashi, Mikiko Sodeoka, Minoru Ueda
18	インドリルマレイミド誘導体 IM-17 の開発と虚血再灌流障害モデルにおける効果	2018 年 11 月	第 36 回メディシナルケミストリーシンポジウム	中尾周平，寺山直樹，闐闐孝介，清水忠，井内勝哉，高橋昌弘，袖岡幹子
	1-8			
#1	Indoleamine 2,3-dioxygenase 阻害剤の合成および結合様式の解明	2018 年 11 月	第 36 回メディシナルケミストリーシンポジウム（京都）1P-36）	手嶋真武、熊澤美幸、武田翔太、鈴木健二、水本友紀子、橋本知子、浅井章良、滝川修、大野修、松野研司
#2	がん免疫寛容解除を指向した indoleamine 2,3-dioxygenase 阻害剤の合成	2018 年 10 月	第 7 回医薬工三大学包括連携推進シンポジウム（東京）	手嶋真武、熊澤美幸、武田翔太、鈴木健司、水本友紀子、橋本知子、大野修、松野研司

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#3	海洋生物由来新規キヌレニン産生抑制物質の探索	2018 年 7 月	第 65 回トキシンシンポジウム（金沢）	大野修、佐々木智未、浅井章良、滝川修、松野研司
#4	Indoleamine 2,3-dioxygenase 阻害剤の合成および結合様式の解明	2018 年 10 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会（東京）	手嶋真武、熊澤美幸、武田翔太、鈴木健司、水本友紀子、橋本知子、浅井章良、滝川修、大野修、松野研司
5	KID-001, a novel TDO/IDO inhibitor, suppresses the AHR-TIPARP pathway to reduce HBV replication in human hepatocytes.	2018 年 4 月	Japan-Taiwan-Korea HBV Research Symposium 2018, Academia Sinica (Taipei, Taiwan)	Sato, S., Yamada, T., Matsuno K.., Li, K., Watashi, K., Wakita, T., Tanaka, Y., Tanaka, Y., Takaoka, A.
#6	海洋シアノバクテリア由来キヌレニン産生阻害剤 KNP-1 の同定および作用機序の解明	2018 年 3 月	日本薬学会第 138 年会（金沢）	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
#7	Identification of kynurenine-production inhibitor from a marine cyanobacterium	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (Hachi-oji)	Sasaki, T., Ohno, O., Asai, A., Takikawa, O., Matsuno K..
#8	海洋シアノバクテリア由来キヌレニン産生阻害剤 KNP-1 の同定	2017 年 10 月	第 35 回メディシナルケミストリーシンポジウム（名古屋）	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
#9	IDO 阻害剤の合成研究	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会（東京）	熊澤美幸、鈴木健司、水本友紀子、橋本知子、浅井章良、滝川修、大野修、松野研司
#10	海洋生物からのキヌレニン産生抑制剤の探索	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会（東京）	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
#11	Benzimidazole analogues as kynurenine production inhibitor by hopping from indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitior.	2017 年 8 月	EFMC-ASMC'17 7th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (Wien, Österreich)	Fukuda, M., Sasaki, T., Suzuki, K., Miyachi, H., Waki, M., Asai, A., Hashimoto, T., Ohno, O., Takikawa, O., Matsuno K..
#12	海洋生物由来キヌレニン産生抑制物質の探索	2017 年 6 月	新規素材探索研究会第 16 回セミナー（横浜）	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
#13	海洋生物からのキヌレニン産生抑制剤の探索	2017 年 3 月	日本化学会第 97 春季年会（慶応義塾大学 日吉キャンパス）	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#14	Benzimidazole analogues as kynurenine production inhibitor without indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition.	2016 年 8 月	XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (Manchester, UK)	Fukuda M., Suzuki, K., Sasaki, T., Miyachi, H., Waki, M., Asai, A., Hashimoto, T., Ohno, O., Takikawa, O., Matsuno K..
#15	Cyclisation of benzylisothiourea provided kynurenine production inhibitor without indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition.	2015 年 11 月	EFMC-ASMC'15 6th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (Rehovot, Israel)	Fukuda, M., Miyachi, H., Waki, M., Asai, A., Takikawa, O., Matsuno K..
	2-1			
#1	気生微細藻類 *Coccomyxa* sp. KGU-D001 の壁面培養の確立に向けた気相条件の検討	2019 年 3 月	第 7 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	川島成貴、長久保響、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
#2	気相条件における気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 のキサントフィルのエステル化	2019 年 3 月	第 7 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	恩田岳英、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
#3	気生微細藻類が産生する抗菌活性を有する新規クロロフィル類の単離	2018 年 11 月	日本防菌防黴学会第 45 回年次大会	三田一至、福田裕介、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
4	気生微細藻類と窒素固定菌による栄養源の相互供給が可能な共培養系の開発	2018 年 10 月	第 8 回CSJ化学フェスタ 2018	塚越崇之、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
#5	気生微細藻類由来の抗菌活性を有する新規クロロフィル類の単離と構造推定	2018 年 10 月	第 8 回CSJ化学フェスタ 2018	三田一至、福田裕介、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
6	壁面で生活している光合成微生物を用いたバイオ燃料生産－効率的な炭素源供給法の開発－	2018 年 10 月	第 7 回 医薬工 3 大学包括連携推進シンポジウム	油井信弘、川島成貴、宮内啓喜（東京薬科大学）、都筑幹夫（東京薬科大学）、藤原祥子（東京薬科大学）、菅原康里
#7	気相培養による気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 のカロテノイドのエステル化	2018 年 9 月	第 70 回日本生物工学会大会	恩田岳英、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
#8	気生微細藻類由来の抗菌活性を有する新規クロロフィル類の単離とその産生株の探索	2018 年 9 月	第 70 回日本生物工学会大会	三田一至、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
#9	気相培養における気生微細藻類 *Coccomyxa* sp. KGU-D001 の脂質蓄積と細胞内 CN 比	2018 年 9 月	第 70 回日本生物工学会大会	川島成貴、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

10	気生微細藻類と窒素固定菌の共生系を利用した壁面培養法	2018 年 9 月	第 70 回日本生物工学会大会	塚越崇之、油井信弘、菅原康里、今村保忠、阿部克也
11	気生微細藻類と窒素固定菌の共生系における産生粒状多糖の役割	2018 年 5 月	第 20 回マリンバイオテクノロジー学会大会	塚越崇之、油井信弘、阿部克也
#12	気生微細藻類由来の抗菌活性を示す新規クロロフィルの単離	2018 年 5 月	第 20 回マリンバイオテクノロジー学会大会	三田一至、油井信弘、阿部克也
#13	気生微細藻類由来新規クロロフィル類の抗菌活性	2018 年 3 月	第 6 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	三田一至、油井信弘、阿部克也
14	気生微細藻類と窒素固定菌の共生系における光合成活性と窒素固定能の関係	2018 年 3 月	第 6 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	塚越崇之、油井信弘、阿部克也
15	Synthesis and characterization of novel enzyme–CdS nanoparticles for photooxidation of NADH to NAD^+	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology	N. Yasuda, N. Aburai, K. Abe
16	Discovery of new antibacterial chlorophylls in colony of aerial microalgae	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology	K. Mita, N. Aburai, K. Abe
#17	Toward metabolic switching: directly-modulated biosyntheses of polyene metabolites in photosynthetic microorganisms	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology	N. Aburai, H. Kazama, K. Abe
18	光触媒活性に及ぼす酸化還元酵素内包半導体ナノ粒子の分散性の影響	2017 年 9 月	第 69 回日本生物工学会大会	安田信幸、油井信弘、阿部克也
#19	気生微細藻類単離株における低温条件下オレイン酸の高蓄積	2017 年 9 月	第 69 回日本生物工学会大会	西田章弘、油井信弘、藤原祥子（東京薬科大学）、都筑幹夫（東京薬科大学）、阿部克也
20	気生微細藻類を用いた壁面緑化法の開発：窒素固定菌が産生する産生粒状多糖の特徴づけ	2017 年 9 月	第 69 回日本生物工学会大会	塚越崇之、油井信弘、阿部克也
#21	気生微細藻類から単離された抗菌活性を有する新規クロロフィルの構造	2017 年 9 月	第 69 回日本生物工学会大会	三田一至、福田裕介、油井信弘、伊世井湧太（筑波大学）、真弓智仁（筑波大学）、小林正美（筑波大学）、阿部克也
22	光合成微生物におけるカロテノイドの蛍光イメージング：金属イオンによる蛍光増幅	2017 年 9 月	第 69 回日本生物工学会大会	油井信弘、阿部克也

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#23	Lipid production by biofilms of aerial microalgae through photosynthetic CO_2 fixation	2017 年 6 月	The 7th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts	K. Abe, K. Ohkubo, A. Nishida, N. Aburai
#24	Carotenogenesis activators: Development of a whole-cell-based screening method using aerial microalga *Coelastrella* sp. KGU-Y002 and identification of the activators isolated from higher plants	2017 年 6 月	The 7th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts	N. Aburai, H. Kazama, T. Owada, A. Sasaki, M. Goto, A. Tsuruoka, K. Abe
25	気生微細藻類と窒素固定菌の共生系における産生粒状多糖の役割	2017 年 6 月	第 19 回マリンバイオテクノロジー学会大会	塚越崇之、油井信弘、阿部克也
#26	気生微細藻類由来の抗菌活性を示す新規クロロフィルの単離	2017 年 6 月	第 19 回マリンバイオテクノロジー学会大会	三田一至、福田裕介、油井信弘、伊世井湧太（筑波大学）、小林正美（筑波大学）、阿部克也
27	脂質蓄積能が高い気生微細藻類を用いた細胞フィルムの特徴づけ	2017 年 6 月	第 19 回マリンバイオテクノロジー学会大会	西田章弘、油井信弘、藤原祥子（東京薬科大学）、都筑幹夫（東京薬科大学）、阿部克也
28	気生微細藻類の細胞フィルムにおける脂質代謝および CO2 固定	2017 年 6 月	第 19 回マリンバイオテクノロジー学会大会	大久保亨、油井信弘、藤原祥子（東京薬科大学）、都筑幹夫（東京薬科大学）、阿部克也
#29	気生微細藻類 *Coelastrella* sp. のカロテノイド生合成を制御する高等植物由来活性物質の探索・単離・機能評価	2017 年 6 月	第 19 回マリンバイオテクノロジー学会大会	油井信弘、風間洋明、阿部克也
30	酸化還元酵素を内包した半導体ナノ粒子のアフィニティ精製と光触媒活性	2017 年 5 月	ナノ学会第 15 回大会	安田信幸、立道祥平、油井信弘、阿部克也
31	壁面緑化を目指した気生微細藻類と窒素固定菌の共培養条件の検討	2017 年 3 月	第 5 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	塚越崇之、油井信弘、阿部克也
#32	気生微細藻類がもつ抗菌活性物質の単離と特徴づけ	2017 年 3 月	第 5 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	三田一至、福田裕介、油井信弘、阿部克也
#33	Is abscisic acid responsible for selective reactions of esterified xanthophylls in aerial microalga *Coelastrella* sp. KGU-Y002 under stress conditions?	2016 年 10 月	1st International Conference on Bioresource Technology for Bioenergy, Bioproducts & Environmental Sustainability	K. Saeki, N. Aburai, K. Abe

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#34	Lipid accumulation of the immobilized aerial microalga *Coccomyxa* sp. KGU-D001 (Trebouxiophyceae) in biofilms with CO2 gas fixation	2016 年 10 月	1st International Conference on Bioresource Technology for Bioenergy, Bioproducts & Environmental Sustainability	K. Ohkubo, N. Aburai, H. Miyauchi, M. Tsuzuki, K. Abe
35	気生微細藻類 *Vischeria helvetica* の脂質生合成を制御するストレス応答シグナル伝達	2016 年 9 月	第 68 回日本生物工学会大会	油井信弘、阿部克也
36	ジアホラーゼ内包硫化カドミウムナノ粒子の作製と水系/非水系における特性評価	2016 年 9 月	第 68 回日本生物工学会大会	安田信幸、油井信弘、阿部克也
#37	低温・弱光において生育可能な気生微細藻類の探索と特徴づけ	2016 年 9 月	第 68 回日本生物工学会大会	西田章弘、油井信弘、阿部克也
38	気生微細藻類 *Vischeria* helvetica 由来プロテアーゼによって生成した カゼインオリゴペプチドの ACE 阻害活性	2016 年 9 月	第 68 回日本生物工学会大会	井上悠希、油井信弘、阿部克也
39	*Coccomyxa* sp.細胞フィルムの CO2 固定と脂質蓄積	2016 年 5 月	第 18 回マリンバイオテクノロジー学会大会	大久保亨、油井信弘、宮内啓喜（東京薬科大学）、都筑幹夫（東京薬科大学）、阿部克也
#40	気生微細藻類の抗菌活性物質の単離と特徴づけ	2016 年 5 月	第 18 回マリンバイオテクノロジー学会大会	福田裕介、松村千麻、油井信弘、阿部克也
#41	天然物由来生理活性物質の気生微細藻類への導入とカロテノイド生合成の制御	2016 年 5 月	第 18 回マリンバイオテクノロジー学会大会	風間洋明、油井信弘、阿部克也
#42	気生微細藻類 *Coelastrella* sp.KGU-Y002 のストレス応答システム －カロテノイド生合成に及ぼすアブシシン酸の影響－	2016 年 5 月	第 18 回マリンバイオテクノロジー学会大会	佐伯風朗、油井信弘、阿部克也
#43	基物表面で生活している気生微細藻類の脂質成分の抗菌活性	2016 年 3 月	第 4 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	福田裕介、松村千麻、油井信弘、阿部克也
#44	気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 におけるエステル型カロテノイドの選択合成	2016 年 3 月	第 4 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	佐伯風朗、油井信弘、阿部克也
#45	植物サワラ由来生理活性物質による光合成微生物のカロテノイド生合成の活性化	2016 年 3 月	第 4 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	風間洋明、油井信弘、阿部克也
#46	気生微細藻類 *Coccomyxa* sp.の細胞フィルムにおける脂質蓄積能評価	2016 年 3 月	第 4 回日本生物工学会東日本支部コロキウム	大久保亨、油井信弘、宮内啓喜、都筑幹夫、阿部克也

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#47	Production of Fatty Acids by the Aerial Microalga *Coccomyxa* sp. on Filter Membrane	2015 年 11 月	The 14th International Symposium on Advanced Technology	K. Ohkubo, N. Aburai, K. Abe
48	Development of Cocultivation Systems with Cell Clusters Formed by Cells of Aerial Microalga and Nitrogen-fixing Bacterium	2015 年 11 月	The 14th International Symposium on Advanced Technology	S. Sekiguchi, N. Aburai, K. Abe
#49	対数増殖期における気生微細藻類 *Vischeria helvetica* のカロテノイド生合成の活性化への試み	2015 年 10 月	第 67 回日本生物工学会大会	油井信弘、阿部克也
50	明暗所下で培養した気生微細藻類 *Vischeria helvetica* の細胞外プロテアーゼを利用したカゼインオリゴペプチドの生理活性	2015 年 10 月	第 67 回日本生物工学会大会	丸山紗世、油井信弘、阿部克也
51	気生微細藻類と窒素固定菌の共生系を用いた気生培養法の開発：共生系と細胞塊との関係	2015 年 10 月	第 67 回日本生物工学会大会	関口聡太、油井信弘、阿部克也
#52	窒素枯渇における気生微細藻類 *Vischeria helvetica* のカロテノイド生合成の活性化とクロロフィル代謝物との関係	2015 年 9 月	第 29 回カロテノイド研究談話会	油井信弘、小宮山大騎、阿部克也
#53	塩添加培養における気生微細藻類 *Scenedesmus* sp.のエステル型カロテノイド生合成の活性化	2015 年 9 月	第 29 回カロテノイド研究談話会	佐伯風朗、油井信弘、阿部克也
#54	気生微細藻類のカロテノイド生合成を制御する天然由来活性物質のアッセイ系の確立	2015 年 9 月	第 29 回カロテノイド研究談話会	風間洋明、油井信弘、阿部克也
55	気生微細藻類由来生理活性物質の探索、機能解析、および効率的生産	2015 年 7 月	生体分子システム研究センター2015 年度前期報告会	阿部克也、油井信弘
#56	基物表面で生活している光合成微生物の機能開発－有用カロテノイドの選択合成－	2015 年 6 月	第 4 回医薬工3大学包括連携推進シンポジウム	阿部克也、油井信弘
57	Discovery of protease photoinduced from the aerial microalga *Vischeria helvetica* (Eustigmatophyceae) in cuture medium with casein	2015 年 6 月	The 5th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts	S. Maruyama, N. Aburai, K. Abe
#58	Regulation of carotenogenesis in microalgae by metabolic switching compounds	2015 年 6 月	The 5th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts	N. Aburai, D. Komiyama, H. Kazama, K. Abe

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#59	Carotenoid content and profile of aerial microalgae isolated from dry environments: Selective synthesis of free and ester-type carotenoids by stress culture	2015 年 6 月	The 5th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts	K. Abe, K. Saeki, D. Inaba, N. Aburai
60	カゼイン添加培地において気生微細藻類 *Vischeria helvetica* が明暗所下で産生する細胞外プロテアーゼの活性評価	2015 年 5 月	第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会	丸山紗世、油井信弘、阿部克也
#61	乾燥培養による気生微細藻類 *Coccomyxa* sp.を用いたオイル生産の検討	2015 年 5 月	第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会	大久保亨、油井信弘、阿部克也
#62	気生微細藻類のカロテノイド生合成に促す植物由来活性物質の探索	2015 年 5 月	第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会	風間洋明、油井信弘、阿部克也
#63	塩ストレス培養における気生微細藻類 *Scenedesmus* sp.の遊離・エステル型カロテノイド組成	2015 年 5 月	第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会	佐伯風朗、油井信弘、阿部克也
#64	生物活性物質による気生微細藻類 *Vischeria helvetica* の脂質代謝制御およびカロテノイド生産	2015 年 5 月	第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会	油井信弘、小宮山大騎、阿部克也
65	気生微細藻類と窒素固定菌の共生系を用いた気生培養法の開発：前培養条件の検討	2015 年 5 月	第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会	関口聡太、油井信弘、阿部克也
66	Cocultivation of aerial microalgae and nitrogen-fixing bacteria on solid surface	2014 年 11 月	The Joint Symposia of the 1st International Innovation Forum of Advanced Engineering and Education and the 21st International SPACC Symposium	S. Sekiguchi, N. Aburai, K. Abe
67	Characterization of extracellular protease and amino acid oxidase produced by the aerial microalga *Vischeria helvetica* (Eustigmatophyceae) cultured under various light conditions	2014 年 11 月	The Joint Symposia of the 1st International Innovation Forum of Advanced Engineering and Education and the 21st International SPACC Symposium	S. Maruyama, N. Aburai, K. Abe
#68	Study of stress response signaling of carotenogenesis using inhibitors of fatty acids synthesis in aerial microalgae	2014 年 11 月	The Joint Symposia of the 1st International Innovation Forum of Advanced Engineering and Education and the 21st International SPACC Symposium	N. Aburai, K. Abe

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#69	気生微細藻類のカロテノイド蓄積を促す脂肪酸生合成阻害剤の作用解析および植物由来生理活性物質の探索	2014 年 9 月	第 28 回カロテノイド研究談話会	油井信弘、鶴岡厚志、後藤瑞紀、阿部克也
#70	気生微細藻類 *Scenedesmus* sp. の遊離型・エステル型カロテノイドの蓄積に及ぼす光・塩ストレス培養の影響	2014 年 9 月	第 66 回日本生物工学会大会	隅田大地、油井信弘、阿部克也
71	脂肪酸生合成阻害剤が及ぼす微細藻類のカロテノイド生合成の促進とストレス応答シグナル伝達の活性化との関係	2014 年 9 月	第 66 回日本生物工学会大会	油井信弘、阿部克也
72	気生微細藻類が着生している基物表面からの窒素固定菌の単離と培養	2014 年 5 月	第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会	関口聡太、油井信弘、阿部克也
73	光培養条件に依存した気生微細藻類 *Vischeria helvetica* KGU-Y001 産生プロテアーゼおよびアミノ酸オキシターゼの活性評価	2014 年 5 月	第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会	丸山沙世、油井信弘、阿部克也
#74	強光下培養における微細藻類のカロテノイド生合成に及ぼす脂肪酸生合成阻害剤の添加効果	2014 年 5 月	第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会	油井信弘、阿部克也
	2−2			
1	うどん製造工程における呈味成分の変化	2018 年 8 月	日本食品科学工学会第 65 回大会	成澤朋之, 仲島日出男, 杉山健二郎, 山田昌治, 朝倉富子
2	Enzyme Activity Affecting Volatile Components of Wheat Flour Mill Streams	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会	成澤 朋之, 海野 まりえ, 仲島 日出男, 小島 登貴子, 乙部 千雅子, 金子 成延, 杉山 健二郎, 朝倉富子, 山田昌治
3	米粉の保管に伴う品質特性の変化	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会	山田昌治, 本間隆広, 藤理沙子, 飯高 和, 杉山健二郎
#4	麺類におけるグルテン組織構造観察技術の開発	2017 年 8 月	日本食品科学工学会第 64 回大会	中村純一, 杉山健二郎, 山田昌治
5	米粉の保管に伴う品質特性の変化	2017 年 5 月	粉体工学会春期研究発表会	本間隆広, 杉山健二郎, 山田昌治
6	コーヒー粉の保管に伴う品質変化挙動について	2017 年 3 月	化学工学会第 81 年会	村重達哉, 杉山健二郎, 山田昌治
7	食品分野のイノベーション	2017 年 2 月	社会技術革新学会	山田昌治

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

8	揮発性成分を指標としたストリーム粉置換による小麦「さとのそら」の風味補強効果	2016 年 8 月	日本食品科学工学会第 63 回大会	成澤朋之, 仲島日出男, 小島登貴子, 杉山健二郎, 朝倉富子, 山田昌治
9	米粉の保管に伴う香気特性の変化	2016 年 5 月	粉体工学会春期研究発表会	本間隆広, 杉山健二郎, 山田昌治
10	Analysis of Changes in the Volatile Compounds on Producing Japanese Noodle Doughs from Domestic Wheat Flour	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度大会	成澤朋之, 仲島日出男, 小島登貴子, 杉山健二郎, 山田昌治
11	コーヒー粉の保管に伴う品質変化挙動について	2016 年 3 月	化学工学会第 80 年会	山田昌治, 村重達也, 杉山健二郎
	2−3			
#1	ブタ酸性キチナーゼは, 消化器系プロテアーゼに耐性で, キチン分解酵素として機能する	2019 年 3 月	日本農芸化学会 2019 年度(H31 年度)大会[東京]	**小山文隆**、樫村昭徳、脇田悟誌、菅原康里、田畑絵理
#2	マウスキチナーゼの相互作用に関する研究	2019 年 3 月	日本農芸化学会 2019 年度(H31 年度)大会[東京]	木村将大, 梅山隆敏, 脇田悟誌, 大川一明, 坂口政吉, **小山文隆**
#3	Evaluations of enzymatic properties for human and mouse chitotriosidase	2018 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Watanabe, T., Kimura, M., Wakita, S., ; Sekine, K., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#4	Quantification of chitinases mRNA levels by qPCR in crab-eating monkey tissues: Comparison with mouse and human.	2018 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#5	Gene expression analysis of mammalian chitinases in common marmoset (*Callithrix jacchus*) tissue	2018 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Tabata, E., Kashimura, A., Uehara, M., Wakita, S., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Yurimoto, T., Sasaki, E., **Oyama, F.**
#6	Chitinase 3-like-1 with amino acid substitutions at the active site remains inactive.	2018 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Kishigami, N., Okawa, K., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#7	Comparison of chitinolytic properties of mouse Chit1 and AMCase with Serratia marcescens chitinase B	2018 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#8	Feeding behaviors determine acidic chitinase mRNA levels in mammalian and poultry stomachs	2018 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Oyama, F., Kashimura, A., Kikuchi, A., Masuda, H., Miyahara, R., Hiruma, Y., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Tabata, E.
#9	Acidic chitinase mRNA levels and their chitinolytic activity are affected by the feeding behavior, which may determine chitin digestibility in animals	2018 年 8 月	14th International Chitin and Chitosan Conference (14th ICCC)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Oyama, F.
#10	Functional differences between human and mouse chitotriosidase	2018 年 8 月	14th International Chitin and Chitosan Conference (14th ICCC)	Watanabe, T., Kimura, M., Sekine, K., Sakaguchi, M., Oyama, F.
#11	Amino acid substitutions at the active site of Chitinase 3-like-1	2018 年 8 月	14th International Chitin and Chitosan Conference (14th ICCC)	Kishigami, N., Okawa, K., Sakaguchi, M., Oyama, F.
#12	Gene expression analysis of chitinases in crab-eating monkey: species-specific expression of acidic mammalian chitinase and chitotriosidase	2018 年 8 月	14th International Chitin and Chitosan Conference (14th ICCC)	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi, M., Oyama, F.
#13	Comparison of chitinolytic activities among mouse mammalian chitinases and *Serratia marcescens* chitinase B	2018 年 8 月	14th International Chitin and Chitosan Conference (14th ICCC)	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi, M., Oyama, F.
#14	Acidic mammalian chitinase is a major chitinase in stomach resistant to pepsin and trypsin/chymotrypsin digestion	2018 年 8 月	14th International Chitin and Chitosan Conference (14th ICCC)	Oyama,F., Kimura,M., Okawa, K., Onuki, R., Nemoto, C., Tabata, E., Wakita, S., Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Ohno, M.
#15	ニワトリ酸性キチナーゼの消化酵素としての機能解析	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会[名古屋]	田畑絵理, 樫村昭徳, 脇田悟誌, 大野美紗, 坂口政吉, 菅原康里, 小山文隆
#16	ヒト酸性ほ乳類キチナーゼの nonsynonymous SNPs による活性の調節	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会[名古屋]	小山文隆, 大野美紗, 樫村昭徳, 木村将大, 坂口政吉, 菅原康里, 大川一明
#17	2 種類のマウスほ乳類キチナーゼのキチナーゼ活性比較	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会[名古屋]	木村将大, 梅山隆敏, 脇田悟誌, 大川一明, 坂口政吉, 小山文隆

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#19	ブタ酸性ほ乳類キチナーゼは，消化器系条件下でプロテアーゼ耐性を示す: キチン含有生物はブタの持続的な飼料資源となり得る	2017 年 12 月	第9回大学コンソーシアム八王子学生発表会	田畑絵理，樫村昭徳，脇田悟誌，大野美紗，坂口政吉，菅原康里，**小山文隆**
#20	Gene expression analysis of chitinases by qPCR in crab-eating monkey tissues	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#21	Enzymatic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Wakita, S., Kimura, M., Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#22	Characterization of Escherichia coli-produced mouse chitotriosidase and human chitotriosidase	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Watanabe, T., Kimura, M., Sekine, K., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#23	Comparative analysis of mouse mammalian chitinases and *Serratia marcescens* chitinase B	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#24	Chicken acidic chitinase can function as digestive enzyme which degrades chitin-containing organisms under its gastrointestinal tract	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#25	Gene expression analysis and enzyme function of pig mammalian chitinase	2017 年 10 月	The 67th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG) (Orlando)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#26	Mechanistic insight of inactivation of mouse chitinase-like protein Ym1	2017 年 10 月	The 67th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG) (Orlando)	**Oyama, F.**, Sakaguchi, M., Sugahara, Y., Okawa, K.
#27	Comparison of chitinolytic activities among mammalian chitinases and bacterial chitinase	2017 年 10 月	The 67th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG) (Orlando)	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#28	Chitinases mRNA levels quantified by qPCR in crab-eating monkey tissues.	2017 年 10 月	The 67th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG) (Orlando)	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#31	ヒト酸性ほ乳類キチナーゼの進化学的解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	**小山文隆**，大野美紗，樫村昭徳，木村将大，坂口

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				政吉, 菅原康里, 大川一明
#32	マウスほ乳類キチナーゼの比較解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	木村将大, 梅山隆敏, 脇田悟誌, 大川一明, 坂口政吉, **小山文隆**
#33	ニワトリ酸性キチナーゼの遺伝子発現解析とその酵素機能	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	田畑絵理, 樫村昭徳, 脇田悟志, 大野美紗, 菅原康里, 坂口政吉, **小山文隆**
#34	カニクイザルにおけるキチナーゼ遺伝子の発現解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	上原麻衣子, 田畑絵里, 大野美紗, 坂口政吉, **小山文隆**
#35	キチンオリゴ糖蛍光標識法を用いた酸性ほ乳類キチナーゼの特性解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	脇田悟誌, 木村将大, 樫村明徳, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#36	ヒト酸性ほ乳類キチナーゼの活性喪失とその活性化	2017 年 6 月	第 6 回 医薬工 3 大学 包括連携推進シンポジウム 特別講演（東京薬科大学）	**小山文隆**
#37	ニワトリ組織におけるキチナーゼ遺伝子発現レベルとその酵素学的機能の解析	2017 年 3 月	日本農芸化学会 2017 年度大会(京都)	田畑絵理, 樫村昭徳, 大野美紗, 坂口政吉, **小山文隆**
#38	Functional analysis of acidic mammalian chitinase under physiological conditions.	2016 年 10 月	The 66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG) (Vancouver)	Wakita, S., Kimura, M., Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#40	Gene expression analysis of mammalian chitinase transcripts in pig tissues.	2016 年 10 月	The 66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG) (Vancouver)	Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi, M., **Oyama, F.**
#41	Inactivation of mouse AMCase by introducing amino acid substitutions encoded by single-nucleotide polymorphisms in human AMCase gene.	2016 年 10 月	The 66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (ASHG) (Vancouver)	**Oyama, F.**, Okawa, K., Ohno, M., Kashimura, A. Kobayashi, Y. Sakaguchi, M., Sugahara, Y.
#43	ヒトとマウスの酸性哺乳類キチナーゼの機能解析と比較	2016 年 8 月	第 30 回 日本キチン・キトサン学会大会[川越市]	大川 一明, 大野 美紗, 樫村 昭徳, 坂口 政吉, 菅原 康里, **小山 文隆**
#44	マウス胃における酸性ほ乳類キチナーゼの発現と生産細胞の同定	2016 年 8 月	第 30 回 日本キチン・キトサン学会大会[川越市]	**小山文隆**, 大野美紗, 木村将大, 大川一明, 田畑絵理, 脇田悟誌, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#45	AMCase による酸性～中性条件キチン分解産物の解析	2016 年 8 月	第 30 回 日本キチン・キトサン学会大会[川越市]	脇田悟誌, 木村将大, 樫村明徳, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#46	ブタ組織におけるキチナーゼ遺伝子発現レベルの解析	2016 年 8 月	第 30 回 日本キチン・キトサン学会大会[川越市]	田畑絵理, 大野美紗, 坂口政吉, **小山文隆**
#48	マウスキトトリオシダーゼは生理的条件下でキチン基質を分解する	2016 年 8 月	第 30 回 日本キチン・キトサン学会大会[川越市]	木村将大, 脇田悟誌, 石川晃太朗, 関根一孝, 吉川聡, 佐藤章, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#49	キメラ体を利用したヒトとマウス AMCase の機能比較	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度(平成 28 年度)大会[札幌]	大川一明, 樫村昭徳, 大野美紗, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#50	マウスの胃における酸性ほ乳類キチナーゼの発現と活性	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度(平成 28 年度)大会[札幌]	大野美紗, 大貫理穂, 根本千雪, 大川一明, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#52	マウスキトトリオシダーゼの大腸菌のペリプラズムでの発現	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度(平成 28 年度)大会[札幌]	木村将大, 脇田悟誌, 石川晃太朗, 関根一孝, 吉川 聡, 佐藤章, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#54	Characterization of Escherichia coli-produced mouse chitotriosidase	2015 年 11 月	The 14th International Symposium on Advanced Technology(ISAT-14)	Kimura, M., Ishikawa, K., Sekine, K., Yoshikawa, S. Wakita, S., Sato, A. Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#55	Gene expression analysis of chitinase-like protein, YKL-40, with mammalian chitinases using qPCR in normal human tissues.	2015 年 10 月	The 65th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	Kimura, M., Ishikawa, K., Sekine, K., Yoshikawa, S. Wakita, S., Sato, A. Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#56	Expression and characterization of catalytic domain of mouse AMCase in *Escherichia coli.*	2015 年 10 月	The 65th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	**Oyama, F.**, Kashimura, A., Kimura, M., Okawa, K., Suzuki, H., Ukita, A., Wakita, S., Okazaki, K., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y.
#57	Biochemical analysis of chimeric human and mouse AMCase	2015 年 10 月	The 65th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	Okawa, K., Ohno, M., Kashimura, A., Kobayashi,

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	proteins expressed in *Escherichia coli.*			Y., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#58	Enzymatic properties of mouse chitotriosidase expressed in *Escherichia coli.*	2015 年 10 月	The 65th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	Kimura, M., Ishikawa, K., Sekine, K., Yoshikawa, S. Wakita, S., Sato, A. Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#59	哺乳類キチナーゼとキチナーゼ様タンパク質の遺伝子発現解析	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	大野美紗, 貴田雄太, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#60	大腸菌で発現したマウス酸性哺乳類キチナーゼの触媒ドメインの性質	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	**小山文隆**, 樫村昭徳, 木村将大, 大川一明, 鈴木博隆, 浮田淳史, 脇田悟誌, 岡崎香奈, 大野美紗, 坂口政吉, 菅原康里
#62	Fluorophore を用いたキチンオリゴ糖蛍光標識法の改良	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	脇田悟誌, 木村将大, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#63	ヒトとマウス酸性哺乳類キチナーゼのキメラ体の作製とその解析	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	大川一明, 樫村昭徳, 大野美紗, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#64	マウスキトトリオシダセーゼの大腸菌での発現とその性質	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	木村将大, 石川晃太朗, 関根一孝, 吉川 聡, 脇田悟誌, 佐藤 章, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#66	ヒトとマウス組織における哺乳類キチナーゼとキチナーゼ様タンパク質の発現レベルの解析	2015 年 6 月	第4回医薬工 3 大学包括連携推進シンポジウム(工学院大学新宿校舎)	大野美紗, 貴田雄太, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#68	マウス酸性哺乳類キチナーゼの触媒ドメインの大腸菌での発現とその性質	2015 年 3 月	日本農芸化学会 2015 年度(平成 27 年度)大会(岡山)	**小山 文隆**, 樫村 明徳, 木村 将大, 大川 一明, 鈴木 博隆, 浮田 敦史, 脇田 悟誌, 岡崎 香奈, 大野 美紗, 坂口 政吉, 菅原 康里
#69	マウス組織におけるキチナーゼ様タンパク質の遺伝子発現解析	2015 年 3 月	日本農芸化学会 2015 年度(平成 27 年度)大会(岡山)	大野 美紗, 貴田 雄太, 坂口 政吉, 菅原 康里, **小山 文隆**
#71	Expression of mouse acidic mammalian chitinase in	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering and Education (IFAEE)	Kashimura, A., Okawa, K., Ishikawa, K., Kida, Y., Iwabuchi, K., Matsushima,

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	periplasmic space of *Escherichia coli*			Y., Sakaguchi, M. Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#72	Characterization of Escherichia coli-produced human acidic mammalian chitinase	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering and Education (IFAEE)	Okawa, K., Kashimura, A., Kobayashi, Y., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#73	Comparison of mRNA levels among Chit1, AMCase and reference genes in mouse tissues	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering and Education (IFAEE)	Ohno, M., Tsuda, K., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#74	Expression of mouse chitotriosidase in *Escherichia coli*	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering and Education (IFAEE)	Kimura, M., Ishikawa, K., Sekine, Yoshikawa, K.,Sato, A., Okawa, K., Kashimura, A., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#76	Biochemical Analysis of Mammalian Chitinases	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering and Education (IFAEE)	**Oyama, F**., Ohno, M., Kashimura, A., Okawa, K., Ishikawa, K., Sakaguchi, M., Sugahara, Y.
#77	Enzymatic properties of the catalytic domain of mouse acidic mamma-lian chitinase expressed in *Escherichia coli.*	2014 年 10 月	The 64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	Kashimura, A., Okawa, K., Kimura, M., Okazaki, K., Sakaguchi, M., Sugahara, Y., **Oyama, F.**
#78	Expression of human acidic mammalian chitinase in Escherichia coli and analysis of its properties.	2014 年 10 月	The 64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	Okawa, K., Kashimura, A., Kobayashi, Y., Ohno, M., Sakaguchi, M., Sugahara, Y. **Oyama, F.**
#79	Cross-species gene expression analysis of chitinase-like proteins with mammalian chitinases using qPCR in mouse and human tissues.	2014 年 10 月	The 64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	**Oyama, F**., Ohno, M., Kida, Y., Sakaguchi, M., Sugahara, Y.
#80	マウス組織でのキチナーゼとキチナーゼ様タンパク質の発現レベルの解析	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	大野美紗, 貴田雄太, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#81	Acidic Mammalian Chitinase の触媒ドメインの大腸菌での発現	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	樫村昭徳, 大川一明, 岡崎香奈, 木村将大, 坂口政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#82	酸性哺乳類キチナーゼの pH 依存的キチン分解産物の検討	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	脇田悟誌, 金山直人, 樫村昭徳, 大川一明, 坂口

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				政吉, 菅原康里, **小山文隆**
#83	哺乳類キチナーゼの遺伝子発現解析と大腸菌での発現	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	**小山文隆**, 大野美紗, 樫村昭徳, 大川一明, 石川晃太朗, 坂口政吉, 菅原康里
	2-4			
1	マウスキチナーゼの相互作用に関する研究	2019 年 3 月	日本農芸化学会 2019 年度(H31 年度)大会[東京]	木村将大, 梅山隆敏, 脇田悟誌, 大川一明, 坂口政吉, 小山文隆
#2	リステリアキチナーゼの機能未知領域の機能	2019 年 3 月	日本農芸化学会 2019 年度(H31 年度)大会[東京]	坂口政吉, 本田翔太郎, 木村将大, 脇田悟誌, 岡侑司, 川喜田正夫
3	Evaluations of enzymatic properties for human and mouse chitotriosidase	2018 年 11 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018, 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Watanabe, T., Kimura, M., Wakita, S., Sekine, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
4	Quantification of chitinases mRNA levels by qPCR in crab-eating monkey tissues: Comparison with mouse and human.	2018 年 11 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018, 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi M., Oyama, F.
5	Gene expression analysis of mammalian chitinases in common marmoset (Callithrix jacchus) tissue	2018 年 11 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018, 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Tabata, E., Kashimura, A., Uehara, M., Wakita, S., Sakaguchi M., Sugahara, Y., Yurimoto, T., Sasaki, E., Oyama, F.
6	Chitinase 3-like-1 with amino acid substitutions at the active site remains inactive.	2018 年 11 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018, 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Kishigami, N., Okawa, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
7	Comparison of chitinolytic properties of mouse Chit1 and AMCase with Serratia marcescens chitinase B	2018 年 11 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018, 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
8	Feeding behaviors determine acidic chitinase mRNA levels in mammalian and poultry stomachs	2018 年 11 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 2018 68th Annual Meeting of ASHG (San Diego)	Oyama, F., Kashimura, A., Kikuchi, A., Masuda, H., Miyahara, R., Hiruma, Y., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi M., Sugahara, Y., Tabata, T.

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

9	Acidic chitinase mRNA levels and their chitinolytic activity are affected by the feeding behavior, which may determine chitin digestibility in animals	2018 年 8 月	第 14 回キチン・キトサン国際学会	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi M., Sugahara, Y., Oyama, F.
10	Functional differences between human and mouse chitotriosidase	2018 年 8 月	第 14 回キチン・キトサン国際学会	Watanabe, T., Kimura, M., Sekine, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
11	Amino acid substitutions at the active site of Chitinase 3-like-1	2018 年 8 月	第 14 回キチン・キトサン国際学会	Kishigami, N., Okawa, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
12	Gene expression analysis of chitinases in crab-eating monkey: species-specific expression of acidic mammalian chitinase and chitotriosidase	2018 年 8 月	第 14 回キチン・キトサン国際学会	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi M., Oyama, F.
13	Comparison of chitinolytic activities among mouse mammalian chitinases and <I>Serratia marcescens</I> chitinase B	2018 年 8 月	第 14 回キチン・キトサン国際学会	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
14	Acidic mammalian chitinase is a major chitinase in stomach resistant to pepsin and trypsin/chymotrypsin digestion	2018 年 8 月	第 14 回キチン・キトサン国際学会	Oyama,F., Kimura,M., Okawa, K., Onuki, R., Nemoto, C., Tabata, E., Wakita, S., Kashimura, A., Sakaguchi M., Sugahara, Y., Ohno, M.
15	ニワトリ酸性キチナーゼの消化酵素としての機能解析	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会[名古屋]	田畑絵理, 樫村昭徳, 脇田悟誌, 大野美紗, 坂口政吉, 菅原康里, 小山文隆
16	ヒト酸性ほ乳類キチナーゼの nonsynonymous SNPs による活性の調節	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会[名古屋]	小山文隆, 大野美紗, 樫村昭徳, 木村将大, 坂口政吉, 菅原康里, 大川一明
17	2 種類のマウスほ乳類キチナーゼのキチナーゼ活性比較	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会[名古屋]	木村将大, 梅山隆敏, 脇田悟誌, 大川一明, 坂口政吉, 小山文隆
#18	古細菌トレハラーゼの N 末端領域の機能	2018 年 3 月	日本農芸化学会 2018 年度大会[名古屋]	坂口政吉, 久米杏奈, 湯浅充洋, 本田翔太郎, 小山文隆, 川喜田正夫
19	Gene expression analysis of chitinases by qPCR in crab-eating monkey tissues	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi M., Oyama, F.

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

20	Enzymatic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Wakita, S., Kimura, M., Kashimura, A., Sakaguchi M., Sugahara, Y., Oyama, F.
21	Characterization of Escherichia coli-produced mouse chitotriosidase and human chitotriosidase	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Watanabe, T., Kimura, M., Sekine, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
22	Comparative analysis of mouse mammalian chitinases and Serratia marcescens chitinase B	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi M., Oyama, F.
23	Chicken acidic chitinase can function as digestive enzyme which degrades chitin-containing organisms under its gastrointestinal tract	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi M., Sugahara, Y., Oyama, F.
24	Gene expression analysis and enzyme function of pig mammalian chitinase	2017 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 67th Annual Meeting (Orlando)	Tabata, E., Kashimura, A., Wakita, S., Ohno, M., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
25	Mechanistic insight of inactivation of mouse chitinase-like protein Ym1	2017 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 67th Annual Meeting (Orlando)	Oyama, F., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Okawa, K.
26	Comparison of chitinolytic activities among mammalian chitinases and bacterial chitinase	2017 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 67th Annual Meeting (Orlando)	Kimura, M., Umeyama, T., Wakita, S., Okawa, K., Sakaguchi M, Oyama, F.
27	Chitinases mRNA levels quantified by qPCR in crab-eating monkey tissues.	2017 年 10 月	The American Society of Human Genetics (ASHG) 67th Annual Meeting (Orlando)	Uehara, M., Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi M, Oyama, F.
#28	新規古細菌トレハラーゼの大腸菌組換えタンパク質の発現及び性質解析	2017 年 9 月	日本応用糖質科学会 平成 29 年度大会(第 66 回)	湯浅充洋, 岡村武司, 本田翔太郎, 川喜田正夫, 小山文隆, 坂口政吉
#29	古細菌トレハラーゼの N 末端領域の役割	2017 年 9 月	日本応用糖質科学会 平成 29 年度大会(第 66 回)	坂口政吉, 久米杏奈, 湯浅充洋, 本田翔太郎, 小山文隆, 川喜田正夫
30	ヒト酸性ほ乳類キチナーゼの進化学的解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	小山文隆, 大野美紗, 樫村昭徳, 木村将大, 坂口政吉, 菅原康里, 大川一明

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

31	マウスほ乳類キチナーゼの比較解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	○木村将大，梅山隆敏，脇田悟誌，大川一明，坂口政吉，小山文隆
32	ニワトリ酸性キチナーゼの遺伝子発現解析とその酵素機能	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	田畑絵理，樫村昭徳，脇田悟志，大野美紗，菅原康里，坂口政吉，小山文隆
33	カニクイザルにおけるキチナーゼ遺伝子の発現解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	上原麻衣子，田畑絵里，大野美紗，坂口政吉，小山文隆
34	キチンオリゴ糖蛍光標識法を用いた酸性ほ乳類キチナーゼの特性解析	2017 年 8 月	第 31 回日本キチン・キトサン学会大会	脇田悟誌，木村将大，樫村明徳，坂口政吉，菅原康里，小山文隆
35	ニワトリ組織におけるキチナーゼ遺伝子発現レベルとその酵素学的機能の解析	2017 年 3 月	日本農芸化学会 2017 年度大会(京都)	田畑絵理，樫村昭徳，大野美紗，坂口政吉，小山文隆
36	Loss and recovery of chitinolytic activity by amino acid substitutions in human acidic mammalian chitinase	2016 年 10 月	the American Society of Human Genetics (ASHG) 66th Annual Meeting (Vancouver)	Okawa, K., Ohno, M., Kashimura, A., Kobayashi, Y., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
37	Functional analysis of acidic mammalian chitinase under physiological conditions	2016 年 10 月	the American Society of Human Genetics (ASHG) 66th Annual Meeting (Vancouver)	Wakita, S., Kimura, M., Kashimura, A., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
38	Gene expression analysis of mammalian chitinase transcripts in pig tissues	2016 年 10 月	the American Society of Human Genetics (ASHG) 66th Annual Meeting (Vancouver)	Tabata, E., Ohno, M., Sakaguchi M, Oyama, F.
39	Protein A-mouse Chit1-V5-His expressed in Escherichia coli possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein	2016 年 10 月	the American Society of Human Genetics (ASHG) 66th Annual Meeting (Vancouver)	Kimura, M., Wakita, S., Ishikawa, K. Sekine, K. Yoshikawa, S., Sato, A. Okawa, K., Kashimura, A., Yamanaka, D., Ohno, N., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
#40	Analysis of chitinases from nonpathogenic bacterium Listeria innocua	2016 年 10 月	the American Society of Human Genetics (ASHG) 66th Annual Meeting (Vancouver)	Honda, S., Wakita, S., Sugahara, Y., Oyama, F., Sakaguchi M.
41	Inactivation of mouse AMCase by introducing amino acid substitutions encoded by single-	2016 年 10 月	the American Society of Human Genetics (ASHG) 66th Annual Meeting (Vancouver)	Oyama, F., Okawa, K., Ohno, M., Kashimura, A. Kobayashi, Y. Sakaguchi M, Sugahara, Y.

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	nucleotide polymorphisms in human AMCase gene			
42	ヒトとマウスの酸性哺乳類キチナーゼの機能解析と比較	2016 年 8 月	第 30 回 キチン・キトサン学会大会	大川 一明, 大野 美紗, 樫村 昭徳, 坂口政吉, 菅原 康里, 小山 文隆
43	マウス胃における酸性ほ乳類キチナーゼの発現と生産細胞の同定	2016 年 8 月	第 30 回 キチン・キトサン学会大会	小山文隆, 大野美紗, 木村将大, 大川一明, 田畑絵理, 脇田悟誌, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里
44	AMCase による酸性～中性条件キチン分解産物の解析	2016 年 8 月	第 30 回 キチン・キトサン学会大会	脇田悟誌, 木村将大, 樫村明徳, 坂口政吉, 菅原康里, 小山文隆
45	ブタ組織におけるキチナーゼ遺伝子発現レベルの解析	2016 年 8 月	第 30 回 キチン・キトサン学会大会	田畑絵理, 大野美紗, 坂口政吉, 小山文隆
#46	C 末端欠損 <I>Listeria innocua</I>キチナーゼの性質	2016 年 8 月	第 30 回 キチン・キトサン学会大会	本田翔太郎, 菅原康里, 小山文隆, 坂口政吉
47	マウスキトトリオシダーゼは生理的条件下でキチン基質を分解する	2016 年 8 月	第 30 回 キチン・キトサン学会大会	○木村将大, 脇田悟誌, 石川晃太朗, 関根一孝, 吉川聡, 佐藤章, 樫村昭徳, 坂口政吉, 菅原康里, 小山文隆
48	キメラ体を利用したヒトとマウス AMCase の機能比較	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度(平成 28 年度)大会[札幌]	大川一明、樫村昭徳、大野美紗、坂口政吉、菅原康里、小山文隆
49	マウスの胃における酸性ほ乳類キチナーゼの発現と活性	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度(平成 28 年度)大会[札幌]	大野美紗、大貫理穂、根本千雪、大川一明、樫村昭徳、坂口政吉、菅原康里、小山文隆
#50	細菌グルコアミラーゼの N 末端配列の役割	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度(平成 28 年度)大会[札幌]	坂口政吉、松嶋裕大、永峯雄介、松橋智希、本田翔太郎、菅原康里、小山文隆、川喜田正夫
51	マウスキトトリオシダーゼの大腸菌のペリプラズムでの発現	2016 年 3 月	日本農芸化学会 2016 年度(平成 28 年度)大会[札幌]	木村将大、脇田悟誌、石川晃太朗、関根一孝、吉川 聡、佐藤章、樫村昭徳、坂口政吉、菅原康里、小山文隆
52	Characterization of <I>Escherichia coli</I>-produced mouse chitotriosidase	2015 年 11 月	The 14th International Symposium on Advanced Technology(ISAT-14)	Kimura, M., Wakita, S., Ishikawa, K., Sekine, K., Yoshikawa, S., Okawa, K., Kashimura, A., Sakaguchi

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				M, Sugahara, Y., Oyama, F.
#53	Comparison of degradation products from various substrates by <I>Listeria</I> chitinases	2015 年 11 月	The 14th International Symposium on Advanced Technology(ISAT-14)	Honda, S., Sugahara, Y., Oyama, F., Sakaguchi M
54	Gene expression analysis of chitinase-like protein, YKL-40, with mammalian chitinases using qPCR in normal human tissues.	2015 年 10 月	American Society of Human Genetics 65th Annual Meeting (Baltimore)	Ohno, M., Kida, Y., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
55	Expression and characterization of catalytic domain of mouse AMCase in <I>Escherichia coli</I>.	2015 年 10 月	American Society of Human Genetics 65th Annual Meeting (Baltimore)	Oyama, F., Kashimura, A., Kimura, M., Okawa, K., Suzuki, H., Ukita, A., Wakita, S., Okazaki, K., Ohno, M., Sakaguchi M, Sugahara, Y.
56	Biochemical analysis of chimeric human and mouse AMCase proteins expressed in <I>Escherichia coli</I>.	2015 年 10 月	American Society of Human Genetics 65th Annual Meeting (Baltimore)	Okawa, K., Ohno, M., kashimura, A., Kobayashi, Y., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Fumitaka, F.
57	Enzymatic properties of mouse chitotriosidase expressed in <I>Escherichia coli</I>.	2015 年 10 月	American Society of Human Genetics 65th Annual Meeting (Baltimore)	Kimura, M., Ishikawa, K., Sekine, K., Yoshikawa, S., Wakita, S. Sato, A., Kashimura, A., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
#58	<I>Listeria</I>属キチナーゼの分解産物比較	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	本田翔太郎、菅原康里、小山文隆、坂口政吉
59	マウスキトトリオシダーゼの大腸菌での発現とその性質	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	木村将大、石川晃太朗、関根一孝、吉川聡、脇田悟誌、佐藤章、 樫村昭徳、坂口政吉、菅原康里、小山文隆
60	ヒトとマウス酸性哺乳類キチナーゼのキメラ体の作製とその解析	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	大川一明、樫村昭徳、大野美紗、坂口政吉、菅原康里、小山文隆
61	Fluorophore を用いたキチンオリゴ糖蛍光標識法の改良	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	脇田悟誌、木村将大、樫村昭徳、<U>坂口政</U>吉、菅原康里、小山文隆
62	二成分モノマーを用いたキトサングラフト体(CS-g-PAM-PAA)の凝集特性	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	水谷大介、坂口政吉、小山文隆、菅原康里

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

63	大腸菌で発現したマウス酸性哺乳類キチナーゼの触媒ドメインの性質	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	小山文隆、樫村昭徳、木村将大、大川一明、鈴木博隆、浮田敦史、 脇田悟誌、岡崎香奈、大野美紗、坂口政吉、菅原康里
64	哺乳類キチナーゼとキチナーゼ様タンパク質の遺伝子発現解析	2015 年 8 月	第 29 回 キチン・キトサン学会大会	大野美紗、貴田雄太、坂口政吉、菅原康里、小山文隆
#65	<I>Listeria</I>由来キチナーゼの機能解析	2015 年 3 月	日本農芸化学会 2015 年度(平成 27 年度)大会［岡山］	本田 翔太郎, 菅原 康里, 小山 文隆, 坂口政吉
66	マウス酸性哺乳類キチナーゼの触媒ドメインの大腸菌での発現とその性質	2015 年 3 月	日本農芸化学会 2015 年度(平成 27 年度)大会［岡山］	小山 文隆, 樫村 明徳, 木村 将大, 大川 一明, 鈴木 博隆, 浮田 敦史, 脇田 悟誌, 岡崎 香奈, 大野 美紗, 坂口政吉, 菅原 康里
67	マウス組織におけるキチナーゼ様タンパク質の遺伝子発現解析	2015 年 3 月	日本農芸化学会 2015 年度(平成 27 年度)大会［岡山］	大野 美紗, 貴田 雄太, 坂口政吉, 菅原 康里, 小山 文隆
#68	古細菌トレハラーゼの発現と諸性質の解析	2015 年 3 月	日本農芸化学会 2015 年度(平成 27 年度)大会［岡山］	坂口政吉, 下平 賢, 石田 慎之介, 雨宮 美虹, 本田 翔太郎, 菅原 康里, 小山 文隆, 川喜田正夫
69	Expression of mouse acidic mammalian chitinase in periplasmic space of <I>Escherichia coli</I>	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education (IFAEE)/The 21st International SPACC symposium (SPACC)	Kashimura, A., Okawa, K., Ishikawa, K., Kida, Y., Iwabuchi, K., Matsushima, Y., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
70	Characterization of <I>Escherichia coli</I>-produced human acidic mammalian chitinase	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education (IFAEE)/The 21st International SPACC symposium (SPACC)	Okawa, K., Kashimura, A., Kobayashi, Y., Ohno, M., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
71	Comparison of mRNA levels among Chit1, AMCase and reference genes in mouse tissues	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education (IFAEE)/The 21st International SPACC symposium (SPACC)	Ohno, M., Tsuda, K., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

72	Expression of mouse chitotoriosidase in <I>Escherichia coli</I>	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education (IFAEE)/The 21st International SPACC symposium (SPACC)	Kimura, M., Ishikawa, K., Sekine, K., Yoshikawa, S., Sato, A., Okawa, K., Kashimura, A., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
#73	Expression of <I>Listeria innocua</I> chitinases in <I>Escherichia coli</I> and comparison of their properties	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education (IFAEE)/The 21st International SPACC symposium (SPACC)	Honda, S., Sugahara, Y., Oyama, F., Sakaguchi M
74	Biochemical analysis of mammalian chitinases	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education (IFAEE)/The 21st International SPACC symposium (SPACC)	Oyama, F., Ohno, M., Kashimura, A., Okawa, K., Ishikawa, K., Sakaguchi M, Sugahara, Y.
75	Enzymatic properties of the catalytic domain of mouse acidic mammalian chitinase expressed in <I>Escherichia coli</I>.	2014 年 10 月	64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (San Diego)	Kashimura, A., Okawa, K., Kimura, M., Okazaki, K., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
76	Expression of human acidic mammalian chitinase in <I>Escherichia coli</I> and analysis of its properties.	2014 年 10 月	64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (San Diego)	Okawa, K., Kashimura, A., Kobayashi, Y., Ohno, M., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
77	Cross-species gene expression analysis of chitinase-like proteins with mammalian chitinases using qPCR in mouse and human tissues.	2014 年 10 月	64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (San Diego)	Oyama, F., Ohno, M., Kida, Y., Sakaguchi M, Sugahara, Y.
78	Analysis of the expression levels of chitinase-like proteins, Ym1, Ym2 and breast regression protein-39, in mouse tissues.	2014 年 10 月	64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (San Diego)	Ohno, M., Kida, Y., Sakaguchi M, Sugahara, Y., Oyama, F.
#79	細菌グルコアミラーゼのドメインの役割	2014 年 9 月	日本応用糖質科学会平成 26 年度大会(第 63 回)	坂口政吉, 松嶋裕大, 本田翔太郎, 菅原康里, 小山文隆, 川喜田正夫
80	キトサンへの二成分モノマーのグラフト重合	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	水谷大介, 坂口政吉, 小山文隆, 菅原康里
81	マウス組織でのキチナーゼとキチナーゼ様タンパク質の発現レベルの解析	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	大野美紗, 貴田雄太, 坂口政吉, 菅原康里, 小山文隆
82	Acidic Mammalian Chitinase の触媒ドメインの大腸菌での発現	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	樫村昭徳, 大川一明, 岡崎香奈, 木村将大, 坂口

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

				政吉, 菅原康里, 小山文隆
83	酸性哺乳類キチナーゼの pH 依存的キチン分解産物の検討	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	脇田悟誌, 金山直人, 樫村昭徳, 大川一明, 坂口政吉, 菅原康里, 小山文隆
84	哺乳類キチナーゼの遺伝子発現解析と大腸菌での発現	2014 年 8 月	第 28 回キチン・キトサンシンポジウム	小山文隆, 大野美紗, 樫村昭徳, 大川一明, 石川晃太朗, 坂口政吉, 菅原康里
85	Listeria属由来キチナーゼの発現と性質の解析	2014 年 3 月	日本農芸化学会 2014 年度(平成 26 年度)大会	本田 翔太郎, 菅原 康里, 小山 文隆, 坂口政吉
86	大腸菌ペリプラズム空間に発現したマウス酸性哺乳類キチナーゼの性質	2014 年 3 月	日本農芸化学会 2014 年度(平成 26 年度)大会	大川 一明, 樫村 明徳, 石川 晃太朗, 貴田 雄太, 岩渕 志, 松嶋 裕大, 坂口政吉, 菅原 康里, 小山 文隆
87	マウスとヒト組織における哺乳類キチナーゼ mRNA レベルの解析	2014 年 3 月	日本農芸化学会 2014 年度(平成 26 年度)大会	大野 美紗, 富樫 勇斗, 津田 京子, 大川 一明, 釜谷 美則, 坂口政吉, 菅原 康里, 小山 文隆
#88	Caulobacter グルコアミラーゼの発現と諸性質の解析	2014 年 3 月	日本農芸化学会 2014 年度(平成 26 年度)大会	坂口政吉, 松嶋 裕大, 南雲 利之, 清野 淳一, 宮川 聡, 本田 翔太郎, 菅原 康里, 小山 文隆, 川喜田 正夫
	2-5			
#1	LSD1 阻害剤の合成研究	2019 年 3 月	日本薬学会第 139 年会	深澤隼介、田房崚、山崎麻衣、橋本知子、丹羽英明、佐藤心、梅原崇史、大野修、松野研司
2	種差の解消を指向した GPR35 アゴニストの合成研究	2019 年 3 月	日本薬学会第 139 年会	永沼美弥子、渡邊智博、橋本知子、小出拓人、手塚一燈、橋本直季、赤木荘太、吉田和幸、山本雄大、長島颯太、常盤広明、田中智之、大野修、松野研司
#3	海洋生物由来小胞体ストレス誘導性アポトーシス阻害剤の探索	2019 年 3 月	日本化学会第 99 春季年会	佐藤慶吾、本間椋、松野研司、大野修

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#4	海洋生物からの栄養飢餓選択的な細胞死誘導物質の探索	2019 年 3 月	日本化学会第 99 春季年会	長屋裕貴、向畑壱成、松野研司、大野修
5	種差の解消を指向した GPR35 アゴニストの合成研究	2018 年 11 月	第 36 回メディシナルケミストリーシンポジウム	小出拓人、渡邊智博、橋本知子、橋本直季、永沼美弥子、手塚一燈、赤木荘太、吉田和幸、山本雄大、長島颯太、常盤広明、田中智之、大野修、松野研司
#6	Indileamine 2,3-dioxygenase 阻害剤の合成および結合様式の解明	2018 年 11 月	第 36 回メディシナルケミストリーシンポジウム	手嶋真武、熊澤美幸、武田翔太、鈴木健二、水本友紀子、橋本知子、浅井章良、滝川修、大野修、松野研司
7	ポリ ADP リボース集積活性を有する抗がん剤候補 MO2455 の同定と構造活性相関	2018 年 11 月	第 36 回メディシナルケミストリーシンポジウム	松野研司、橋本知子、小林寛幸、大野修、イスラムラフィクル、大川原正、高村岳樹、佐々木由香、小野寺貴恵、藤森浩彰、小泉史朗、下山達、澤田武志、秋元茉莉、石川吉伸、入江徹美、井上謙吾、益谷美都子
#8	Isolation and Functional Analysis of Novel Compounds with Selective Cytotoxicity under Glucose-restricted Conditions	2018 年 10 月	ICPAC Langkawi 2018	Osamu Ohno, Yuki Nagaya, Ami Ito, Arihiro Iwasaki, Kiyotake Suenaga, Kenji Matsuno
#9	海洋生物由来細胞応答制御物質の探索と機能解析	2018 年 10 月	第五回天然物化学研究会シンポジウム	大野修
#10	がん免疫寛容解除を指向した indoleamine 2,3-dioxygenase 阻害剤の合成	2018 年 10 月	第 7 回医薬工三大学包括連携推進シンポジウム	手嶋真武、熊澤美幸、武田翔太、鈴木健司、水本友紀子、橋本知子、大野修、松野研司
11	Computational analysis of potential compounds bound to GPR35 by using fragumentmolecular orbital calculations	2018 年 10 月	CBI 学会 2018 年大会	Yuta Yamamoto, Sota Nagashima, Sundaram Arulmozhiraja, Takuto Koide, Miyako Naganuma, Tomohiro Watanabe, Kazuyuki Furuta, Tomoko Hashimoto, Osamu Ohno, Satoshi Tanaka, Kenji Matsuno, Hiroaki Tokiwa

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#12	海洋生物由来の小胞体ストレス誘導性細胞死阻害剤の探索	2018 年 10 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会	佐藤慶吾、本間椋、松野研司、大野修
#13	Indoleamine 2,3-dioxygenase 阻害剤の合成および結合様式の解明	2018 年 10 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会	手嶋真武、熊澤美幸、武田翔太、鈴木健司、水本友紀子、橋本知子、浅井章良、滝川修、大野修、松野研司
#14	海洋生物由来 LPS 誘導性 NO 産生阻害物質の探索	2018 年 10 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会	佐野拓哉、寺崎拓郎、岩崎有紘、末永聖武、松野研司、大野修
15	種差の解消を指向した GPR35 アゴニストの合成研究	2018 年 10 月	第 62 回日本薬学会関東支部大会	小出拓人、渡邊智博、赤木壮太、橋本知子、大野修、吉田和幸、田中智之、松野研司
#16	海洋生物由来新規キヌレニン産生抑制物質の探索	2018 年 7 月	第 65 回トキシンシンポジウム	大野修、佐々木智未、浅井章良、滝川修、松野研司
#17	海洋生物由来小胞体ストレス誘導性細胞死阻害剤の探索	2018 年 6 月	新規素材探索研究会第 17 回セミナー	佐藤慶吾、本間椋、松野研司、大野修
#18	海洋生物由来リポポリサッカライド(LPS)機能調節物質の探索	2018 年 6 月	新規素材探索研究会第 17 回セミナー	人見悠毅、寺崎拓郎、岩崎有紘、末永聖武、松野研司、大野修
19	種差の解消を指向した GPR35 アゴニストの合成研究	2018 年 3 月	日本薬学会第 138 年会	渡邊智博、古田和幸、橋本知子、大野修、田中智之、松野研司
#20	海洋シアノバクテリア由来キヌレニン産生阻害剤 KNP-1 の同定および作用機序の解明	2018 年 3 月	日本薬学会第 138 年会	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
#21	海洋生物由来のリポポリサッカライド(LPS)の機能を阻害する化合物の探索	2018 年 3 月	日本化学会第 98 春季年会	寺崎拓郎、岩崎有紘、末永聖武、松野研司、大野修
#22	海洋生物由来小胞体ストレス誘導性細胞死阻害剤の探索	2018 年 3 月	日本化学会第 98 春季年会	佐藤慶吾、本間椋、松野研司、大野修
#23	海洋生物からの栄養飢餓選択的な細胞死誘導物質の探索	2018 年 3 月	日本化学会第 98 春季年会	長屋裕貴、伊藤明美、向畑壱成、松野研司、大野修
#24	Identification of kynurenine-production inhibitor from a marine cyanobacterium.	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology	Sasaki, T.; Ohno, O.; Asai, A.; Takikawa, O.; Matsuno, K.
25	Synthetic studies on GPR35 agonist without specific difference.	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology	Watanabe, T.; Hashimoto, T.; Ohno, O.; Furuta, K.; Tanaka, S.; Matsuno, K.

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

26	クロモン環を有する GPR35 アゴニストの合成研究	2017 年 10 月	第 47 回複素環化学討論会	渡邊智博、橋本知子、大野修、古田和幸、田中智之、松野研司
#27	海洋シアノバクテリア由来キヌレニン産生阻害剤 KNP-1 の同定	2017 年 10 月	第 35 回メディシナルケミストリーシンポジウム	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
28	種差のない GPR35 アゴニストの合成研究	2017 年 10 月	第 35 回メディシナルケミストリーシンポジウム	渡邊智博、古田和幸、橋本知子、大野修、田中智之、松野研司
#29	Benzimidazole Analogues as Kynurenine Production Inhibitor by hopping from Indoleamine 2,3-Dioxygenase Inhibitior.	2017 年 8 月	EFMC-ASMC'17 9th EFM	Fukuda, M.; Sasaki, T.; Suzuki, K.; Miyachi, H.; Waki, M.; Asai, A.; Hashimoto, T.; Ohno, O.; Takikawa, O.; Matsuno, K.
30	種差のない GPR35 アゴニストの合成研究	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会	渡邊智博、橋本知子、大野修、古田和幸、田中智幸、松野研司
#31	海洋生物からの栄養飢餓選択的な細胞死誘導物質の探索	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会	長屋裕貴、伊藤明美、向畑壱成、岩崎有紘、末永聖武、松野研司、大野修
#32	海洋生物からのキヌレニン産生抑制剤の探索	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
#33	リポポリサッカライド（LPS）による NO 産生を阻害する物質の探索	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会	寺崎拓郎、松野研司、大野修
#34	IDO 阻害剤の合成研究	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会	熊澤美幸、鈴木健司、水本友紀子、橋本知子、浅井章良、滝川修、大野修、松野研司
#35	小胞体ストレス誘導性細胞死を阻害する天然物の探索	2017 年 9 月	第 61 回日本薬学会関東支部大会	佐藤慶吾、本間椋、松野研司、大野修
#36	海洋シアノバクテリア由来栄養飢餓選択的な細胞死誘導物質の単離と機能解析	2017 年 7 月	第 64 回トキシンシンポジウム	大野修、長屋裕貴、伊藤明美、岩崎有紘、末永聖武、松野研司
#37	海洋生物由来キヌレニン産生抑制物質の探索	2017 年 6 月	新規素材探索研究会第 16 回セミナー	佐々木智未、大野修、浅井章良、滝川修、松野研司
#38	海洋生物由来栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索	2017 年 6 月	新規素材探索研究 第 16 回セミナー	長屋裕貴、伊藤明美、向畑壱成、岩崎有紘、末永聖武、松野研司、大野修
#39	海洋生物由来キヌレニン産生抑制物質の探索	2017 年 3 月	日本化学会第 97 春季年会	佐々木智未、大野修、松野研司、浅井章良、滝川修

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#40	海洋生物由来のリポポリサッカライド（LPS）の機能を阻害する化合物の探索	2017 年 3 月	日本化学会第 97 春季年会	寺崎拓郎、松野研司、大野修
#41	kalkipyrone による栄養飢餓選択的な細胞死誘導機構の解明	2017 年 3 月	日本化学会第 97 春季年会	長屋裕貴、伊藤明美、岩崎有鉱、末永聖武、松野研司、大野修
#42	天然由来細胞応答制御物質の探索研究	2016 年 6 月	上村大輔神奈川大学教授を囲む講演会	大野修
#43	海洋生物由来ポリケチド化合物による栄養飢餓選択的な細胞死誘導機構の解析	2016 年 3 月	日本化学会第 96 春季年会	大野修、伊藤明美、岩崎有紘、末永聖武、松野研司
#44	Isolation of tomuruline, a novel thiazole containing polyketide with selective cytotoxicity under glucose-restricted conditions	2015 年 12 月	Pacifichem 2015 conference, Hawaii, USA	Osamu Ohno, Kyouhei Same, Chihiro Kudo, Shinpei Sumimoto, Toshiaki Teruya, Etsu Tashiro, Siro Simizu, Masaya Imoto, Kiyotake Suenaga
#45	Isolation and Functional Analysis of Novel Compounds with Selective Cytotoxicity under Glucose-restricted Conditions	2015 年 11 月	The 14th International Symposium on Advanced Technology, Hachioji	Osamu Ohno, Ami Ito, Shuntaro Obata, Arihiro Iwasaki, Kiyotake Suenaga, Kenji Matsuno,
#46	海洋シアノバクテリア由来新規細胞応答制御物質の単離と機能解析	2015 年 8 月	微生物化学研究所講演会	大野修
#47	新規チアゾール含有ポリケチド tomuruline による栄養飢餓選択的な細胞死誘導機構の解析	2015 年 6 月	第 19 回日本がん分子標的治療学会学術集会	大野修、田代悦、清水史郎、井本正哉、末永聖武
#48	海洋生物からの新物質探索研究―構造解明と機能解明の 2 種類の謎解きへの取り組み―	2015 年 4 月	第一回 工学院大学生命化学科シンポジウム	大野修
	1-2&3-1			
1	Plasmin による血漿および血栓中の von Willebrand factor multimers の切断：止血及び線溶への影響	2018 年 6 月	第 40 回日本血栓止血学会学術集会	富樫兼史、辛　英哲、鈴木賢、今村保忠
2	ELISA を用いた尿中 3-Hydroxyproline 含有ペプチド測定法の開発と大腸癌マーカーとしての有用性の検討 ELISA を用いた尿中 3-Hydroxyproline 含有	2018 年 6 月	第 50 回日本結合組織学会学術大会	鈴木達也、佐藤来未、加藤-茂谷智実、森谷俊介、平松恭子、川喜田正夫、高橋慶一、川村眞智子、辛英哲、今村保忠

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	ペプチド測定法の開発と大腸癌マーカーとしての有用性の検討			
#3	血管内皮細胞と線維芽細胞による共培養系スフェロイドを用いた血管新生系モデルにおける基底膜構築	2017 年 12 月	第90回日本生化学会大会	守矢あかね、辛英哲、遠西祐太、今村保忠
4	Extracellular matrix in planarians	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology	Kazuto Nakano, Yongchol Shin, Yasutada Imamura
5	3 次元再構築による腱のプロテオグリカングリコサミノグリカン鎖のリングメッシュ構造について	2017 年 6 月	第 49 回日本結合組織学会学術大会	渡邉 敬文、亀谷 清和、小山 洋一、鈴木 大輔、今村保忠、竹花 一成、平松 浩二
#6	ウシ角膜由来VI型コラーゲン会合体コート上での細胞培養	2017 年 6 月	第 49 回日本結合組織学会学術大会	鷹野 椋、佐藤 亜美、辛英哲、藤崎 ひとみ、服部俊治、今村保忠
#7	血管内皮細胞と線維芽細胞による共培養スフェロイドを用いた血管新生モデルにおけるIV型コラーゲンの局在	2017 年 6 月	第 49 回日本結合組織学会学術大会	守矢あかね、辛英哲、遠西祐太、今村保忠
#8	3 本らせん構造をもたないIV型コラーゲンポリペプチド鎖(NTHα1(IV))の産生	2017 年 6 月	第 49 回日本結合組織学会学術大会	西條 湧紀、秋山 五郎、飯塚 奏瑛、辛 英哲、今村保忠
9	コラーゲンの歴史:コラーゲン概説	2017 年 2 月	平成28年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会	今村保忠
10	血管内皮細胞と線維芽細胞による共培養スフェロイドを用いた新規血管新生モデル	2016 年 11 月	第 39 回日本分子生物学会	守矢あかね、辛英哲、遠西祐太、今村保忠
11	ヒメハブ粗毒由来 metalloproteinase MP09 による Fibronectin の切断部位の特定と細胞遊走の促進	2016 年 11 月	第 39 回日本分子生物学会	中島昂也、辛英哲、吉江宏崇、今村保忠
12	Fibrin clot に取込まれた von Willebrand factor multimers は Plamin による fibrin の切断を促進する	2016 年 9 月	第 89 回 日本生化学会大会	冨樫兼史，辛 英哲，土門香奈江，松田一沙，三宅晴軌，今村保忠
13	血漿または fibrin clot での plasmin による von Willebrand factor multimer の切断	2016 年 9 月	第 17 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム	冨樫兼史，辛 英哲，土門香奈江，松田一沙，三宅晴軌，今村保忠

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

14	Fibronectin への細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来 P-III metalloproteinase MP09 の機能解析と阻害メカニズムの解明	2016 年 7 月	第 63 回トキシンシンポジウム	辛 英哲, 吉江宏崇, 岡野有里子, 高橋俊宏, 遠山武志, 今村保忠
#15	ウシ角膜由来VI型コラーゲン会合体を用いた細胞培養法	2016 年 6 月	第 48 回日本結合組織学会学術大会	佐藤亜美、鷹野 椋、佐藤誉紘、辛 英哲、今村保忠
16	血漿中または Fibrin clot 中での Pm による VWFM の切断	2016 年 6 月	第 38 回 日本血栓止血学会学術大会	冨樫兼史, 辛英哲, 土門香奈江, 三宅晴軌, 今村保忠
17	血漿中の plasmin による ADAMTS13 の切断とその VWF 切断活性の低下	2015 年 12 月	第 38 回日本分子生物学会年会/第 88 回日本生化学会大会 合同大会	三宅 晴軌, 辛 英哲, 梅津 文進, 平塚 竜一, 遠藤 佳菜, 副島 見事, 今村保忠
#18	フィブロネクチンへの細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来 P-3 Metalloproteinase (MP09) の精製と 阻害メカニズムの解明	2015 年 12 月	第 38 回日本分子生物学会年会/第 88 回日本生化学会大会 合同大会	吉江 宏崇, 辛 英哲, 岡野 有里子, 高橋 俊宏, 遠山 武志, 今村保忠
19	ヒト血漿中での Plasmin による構造変化した VWF マルチマーの切断	2015 年 12 月	第 38 回日本分子生物学会年会/第 88 回日本生化学会大会 合同大会	冨樫 兼史, 辛 英哲,三宅晴軌, 今村保忠
20	Isolation of a venom protein derived from the Ovophis okinavensis (Himehabu) which specifically inhibits cell adhesion to fibronectin and elucidation of the inhibition mechanism	2015 年 8 月	9th International Conference on Proteoglycans and 10th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium	Hirotaka Yoshie, Yongchol Shin, Yuriko Okano, Toshihiro Takahashi, Takeshi Tohyama, Yasutada Imamura
21	Incorporation of a peptide nucleic acid into a normal human fibroblast cell reduced type I collagen production	2015 年 8 月	9th International Conference on Proteoglycans and 10th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium	Yasutada Imamura, Suzuka Tsuboi, Toru Sugiyama, Atsushi Kittaka, Yonchol Shin
22	Plasmin が及ぼすヒト血漿中の ADAMTS13 活性への影響	2015 年 5 月	第 37 回日本血栓止血学会学術集会	三宅晴軌,辛 英哲 ,富樫兼史,梅津文進,平塚竜一,遠藤 佳菜 ,副島見事 , 今村保忠
#23	3重らせん構造をとらない1本鎖IV型コラーゲンの血管基底膜特異的存在	2015 年 5 月	第 47 回日本結合組織学会学術大会	杉山洋章,林利彦,今村保忠,佐藤千尋,森田誠,徳中一寛,大和雅之

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

24	フィブロネクチンへの細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来タンパク質の同定と阻害メカニズムの解明　～ヘビ毒を用いた細胞シート様構造体の作成～	2015 年 5 月	第 47 回日本結合組織学会学術大会	吉江宏崇,辛英哲,岡野有里子,高橋俊宏,遠山武志,今村保忠
#25	3本らせん構造を持たないIV型コラーゲンポリペプチド鎖の産生:培養条件と細胞局在の検討	2015 年 5 月	第 47 回日本結合組織学会学術大会	佐藤千尋,鈴木雄太郎,竹村美希,鈴木修平,辛英哲,今村保忠
#26	ナマココラーゲン線維間相互作用	2015 年 5 月	第 47 回日本結合組織学会学術大会	五十嵐淳,伊藤駿,八島晶,野田和哉,辛英哲,今村保忠
27	デアザグアニン誘導体を持つ PNA モノマーの合成	2015 年 3 月	日本薬学会第135年会	杉山 亨, 桑田 啓子, 今村保忠, 出水 庸介, 栗原 正明, 高野 真史, 橘高 敦史
28	Isolation and characterization of venom protein derived from the Ovophis okinavensis (Himehabu) which specifically inhibit cell adhesion to fibronectin	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education	Hirotaka Yoshie, Yongchol Shin, Tishihiro Takahashi, Masaki Mizumi, Takeshi Touyama, Yasutada Imamura
29	Elucidation of the mechanism of ADAMTS13 cleavage by plasmin in blood plasma	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education	Haruki Miyake, Yongchol Shin, Yoshinobu Umetsu, Ryuichi Hiratsuka, Akifumi Takahashi, Kana Endo, Kenji Soejima, Yasutada Imamura
#30	Factors on the sea cucumber collagen fibrils which affect interactions between fibrils	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education	Jun Igarashi, Shun Ito, Kazuya Noda, Yongchol Shin, Koji Muakami, Chihiro Mochizuki, Mitsunobu Sato, Yasutada Imamura
31	Modified Deazaguanines for the Syntheis of PNA	2014 年 10 月	第 51 回ペプチド討論会	Toru Sugiyama, Keiko Kuwata,Yasutada Imamura, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Masashi Takano, Atsushi Kittaka
32	フィブロネクチンへの細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来タンパク質の単離と解析	2014 年 10 月	第 87 回日本生化学会大会	吉江宏崇,辛英哲,高橋俊宏,三隅柾,遠山武志,今村保忠

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

33	血漿 ADAMTS13 の plasmin による切断の分子機構の解明	2014 年 10 月	第 87 回日本生化学会大会	三宅晴軌,辛英哲,梅津文進,平塚竜一,高橋旺史,遠藤佳菜,副島見事,今村保忠
#34	Ⅳ型コラーゲンの 3 本らせん形成に及ぼす細胞培養条件の影響	2014 年 6 月	第 46 回日本結合組織学会学術大会・第 61 回マトリックス研究会大会	佐藤 千尋、武村 美希、鈴木 修平、辛 英哲、今村保忠
#35	MC3T3-E1 細胞によるアパタイト沈着はナマココラーゲン線維により促進される	2014 年 6 月	第 46 回日本結合組織学会学術大会・第 61 回マトリックス研究会大会	五十嵐淳, 原田悠, 辛英哲, 村上拡治, 望月千尋, 佐藤光史, 今村保忠
36	血漿中での plasmin による ADAMTS13 の切断にクリングルドメインが関与する	2014 年 5 月	第 36 回日本血栓止血学会学術集会	辛 英哲 ,高橋 旺史,平塚 竜一,遠藤 佳菜 ,副島 見事 , 今村保忠
	1−3&3−2			
1	Plasmin による血漿および血栓中の von Willebrand factor multimers の切断：止血及び線溶への影響	2018 年 6 月	第 40 回日本血栓止血学会学術集会	富樫兼史、辛 英哲、鈴木賢、今村保忠
#2	血管内皮細胞と線維芽細胞による共培養スフェロイドを用いた血管新生モデルに置ける基底膜構築	2017 年 12 月	第90回日本生化学会大会	守矢あかね、辛 英哲、遠西祐太、今村保忠
3	Extracellular matrix in planarians	2017 年 11 月	The 16th International Symposium on Advanced Technology	Kazuto Nakano, Yogchol Shin, and Yasutada Imamura
#4	血管内皮細胞と線維芽細胞による共培養スフェロイドを用いた血管新生モデルにおける細胞外マトリックスタンパク質の局在	2017 年 6 月	第 49 回日本結合組織学会学術大会	守矢あかね、辛英哲、遠西祐太、今村保忠
5	3 本らせん構造をもたないⅣ型コラーゲンポリペプチド鎖(NTHα1(Ⅳ))の産生	2017 年 6 月	第 49 回日本結合組織学会学術大会	西條 湧紀、秋山 五郎、飯塚 奏瑛、辛 英哲、今村 保忠
6	ウシ角膜由来Ⅵ型コラーゲン会合体コート上での細胞培養	2017 年 6 月	第 49 回日本結合組織学会学術大会	鷹野椋、佐藤亜美、辛英哲、藤崎ひとみ、服部俊治、今村保忠
#7	血管内皮細胞と線維芽細胞による共培養スフェロイドを用いた新規血管新生モデル	2016 年 11 月	第 39 回日本分子生物学会年会	守矢あかね、辛英哲、遠西祐太、今村保忠
8	ヒメハブ粗毒由来 metalloproteinase MP09 による Fibronectin 切断部位の特定と細胞遊走の促進	2016 年 11 月	第 39 回日本分子生物学会年会	中島昂也、辛英哲、吉江宏崇、今村保忠

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

9	血漿または fibrin clot での plasmin による von Willebrand factor multimer の切断	2016 年 9 月	第 17 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム	冨樫 兼史、辛 英哲、土門 香奈江、松田 一沙、三宅 晴軌、 今村 保忠
10	Fibrin clot に取込まれた von Willebrand factor multimers は Plamin による fibrin の切断を促進する	2016 年 9 月	第 89 回 日本生化学会大会	冨樫兼史、辛英哲、土門香奈江、三宅晴軌、今村保忠
11	Fibronectin への細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来 P-III metalloproteinase MP09 の機能解析と阻害メカニズムの解明	2016 年 7 月	第 63 回トキシンシンポジウム	辛 英哲、吉江宏崇、岡野有里子、高橋俊宏、遠山武志、今村保忠
12	血漿中または Fibrin clot 中での Pm による VWFM の切断	2016 年 6 月	第 38 回 日本血栓止血学会学術大会	富樫兼史、辛英哲、土門香奈江、三宅晴軌、今村保忠
13	ヒト血漿中での plasmin による構造変化した VWF マルチマーの切断	2015 年 12 月	第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会	富樫兼史、辛 英哲、三宅晴軌、今村保忠
14	血漿中の plasmin による ADAMTS13 の切断とその VWF 切断活性の低下	2015 年 12 月	第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会	三宅晴軌、辛 英哲、梅津文進、平塚 竜一、遠藤佳菜、副島見事、今村保忠
15	フィブロネクチンへの細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来 P-3 Metalloproteinase(MP09)の精製と阻害メカニズムの解明	2015 年 12 月	第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会	吉江宏崇、辛 英哲、岡野有里子、高橋俊宏、遠山武志、今村保忠
16	Incorporation of a peptide nucleic acid into a normal human fibroblast cell reduced type I collagen production	2015 年 8 月	10th Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium	Yasutada Imamura, Suzuka Tsuboi, Toru Sugiyama, Atsushi Kittaka, Yongchol Shin
17	Isolation of a venom protein derived from the Ovophis okinavensis (Himehabu) which specifically inhibits cell adhesion to fibronectin and elucidation of the inhibition mechanism.	2015 年 8 月	10th Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium	Hirotaka Yoshie, Yongchol Shin, Yuriko Okano, Toshihiro Takahashi, Takeshi Tohyama, Yasutada Imamura
18	フィブロネクチンへの細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来タンパク質の精製と阻害メカニムの解明	2015 年 5 月	第 47 回 日本結合組織学会学術大会	吉江宏崇、辛英哲、岡野有里子、高橋俊宏、遠山武志、今村保忠

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

19	ナマココラーゲン線維間相互作用	2015 年 5 月	第 47 回 日本結合組織学会学術大会	五十嵐淳、伊藤駿、八島晶、野田和哉、辛英哲、今村保忠
20	3 本らせん構造をもたない IV 型コラーゲンポリペプチド鎖の産生条件と細胞局在の検討	2015 年 5 月	第 47 回 日本結合組織学会学術大会	佐藤千尋、鈴木雄太郎、武村美希、鈴木修平、辛英哲、今村保忠
21	Plasmin が及ぼすヒト血漿中の ADAMTS13 活性への影響	2015 年 5 月	第 37 回 日本血栓止血学会学術大会	三宅晴軌、辛英哲、富樫兼史、梅津文進、平塚竜一、遠藤佳菜、副島見事、今村保忠
22	Factors on the sea cucumber collagen fibrils which affect interactions between fibrils	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education	Jun Igarashi, Syun Ito, Kazuya Noda, Yu Harada, Yongchol Shin, Kouji Murakami, Chihiro Mochizuki, Mitsunobu Sato, Yasutada Imamura
23	Elucidation of the mechanism of ADAMTS13 cleavage by plasmin in blood plasma	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education	Haruki Miyake, Yongchol Shin, Yoshinobu Umetsu, Ryuichi Hiratsuka, Akifumi Takahashi, Kana Endo, Kenji Soejima, Yasutada Imamura
24	Isolation and characterization of venom protein derived from the Ovophis okinavensis (Himehabu) which specifically inhibit cell adhesion to fibronectin	2014 年 11 月	The 1st Innovation Forum of Advanced Engineering Education	Hirotaka Yoshie, Yongchol Shin, Toshihiro Takahashi, Misumi Masaki, Takeshi Tohyama, Yasutada Imamura
25	血漿 ADAMTS13 の plasmin による切断の分子機構の解明	2014 年 10 月	第 87 回日本生化学会大会	三宅晴軌、辛 英哲、梅津文進、平塚 竜一、高橋旺史、遠藤 佳菜、副島見事、今村保忠.
26	フィブロネクチンへの細胞接着を特異的に阻害するヒメハブ粗毒由来タンパク質の単離と解析	2014 年 10 月	第 87 回日本生化学会大会	吉江宏崇、辛 英哲、高橋俊宏、三隅 柾、遠山武志、今村保忠
27	IV 型コラーゲンの 3 本らせん形成に及ぼす細胞培養条件の影響	2014 年 6 月	第 46 回日本結合組織学会学術大会 第 61 回マトリックス研究会大会合同学術集会	佐藤千尋、武村美希、鈴木修平、辛 英哲、今村保忠
28	MC3T3-E1 細胞によるアパタイト沈着はナマココラーゲン線維により促進される	2014 年 6 月	第 46 回日本結合組織学会学術大会 第 61 回マトリックス研究会大会合同学術集会	五十嵐淳、原田 悠、辛 英哲、村上拡治、望月千尋、佐藤光史、今村保忠

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

29	血漿中での plasmin による ADAMTS13 の切断にクリングルドメインが関与する	2014 年 5 月	第 36 回日本血栓止血学会学術集会	辛 英哲、高橋旺史、平塚竜一、遠藤 佳菜、副島見事、今村保忠
	1−4&3−3			
1	ArenicolideA の合成研究	2019 年 3 月	日本化学会第99春季年会	○川野嘉矩、南雲紳史、安井英子
#2	チオフェン環の特性を利用した複素環合成法の検討	2019 年 3 月	日本化学会第99春季年会	○大竹薫、安井英子、南雲紳史
#3	ヒドラゾノエステルの酸化による α−ジアゾエステルの合成	2019 年 3 月	日本化学会第99春季年会	○安井英子、似内蒼太、南雲紳史
#4	新規 7 員環合成法の検討	2018 年 9 月	第62回日本薬学会関東支部大会	○二瓶丘、大月理央、安井英子、南雲紳史
5	Sekothrixide 及びその類縁体の合成研究	2018 年 9 月	第62回日本薬学会関東支部大会	○辻本和生、勝見大介、中曽根和樹、安井英子、南雲紳史
#6	DHMEQ 類縁体の合成とその活性評価	2018 年 3 月	日本薬学会第138年会	○安井英子、大月理央、今西善政、寺崎拓郎、大野修、松野研司、南雲紳史
7	環状アセチレンコバルト錯体の脱コバルトを伴う Friedel-Crafts 反応	2018 年 3 月	日本化学会第98春季年会	○山中奎哉、坂田優希、安井英子、南雲紳史
8	venturicidinC の C15-27segment の合成	2018 年 3 月	日本化学会第98春季年会	○小澤暢熙、安井英子、南雲紳史
9	アレニコライド A の C19-C36 セグメントの合成	2018 年 3 月	日本化学会第98春季年会	○上條陽平、岩田大昌、安井英子、南雲紳史
#10	ベンゾジアゼピン誘導体の合成研究	2018 年 3 月	日本化学会第98春季年会	○安井英子、津田隼平、南雲紳史
#11	1,2ーベンゾジアゼピン誘導体の合成	2017 年 11 月	第74回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	○津田隼平、安井英子、南雲紳史
#12	1,2ーベンゾジアセピン誘導体の合成研究	2017 年 10 月	第35回メディシナルケミストリーシンポジウム	○安井英子、津田隼平、南雲紳史
13	アセチレンコバルト錯体を利用した新規タンデム環化反応における立体制御機構	2017 年 9 月	第61回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	○坂田優希、安井英子、南雲紳史
14	ArenicolideA の中に存在する 26 員環ラクトン構造の合成	2017 年 5 月	第73回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	○岩田大昌、内藤美菜子、砂川晶、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
15	ArenicolideA の中に存在する 26 員環ラクトン構造の合成	2017 年 3 月	日本薬学会第137年会	○岩田大昌、内藤美菜子、砂川晶、安井英子、宮下正昭、南雲紳史

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

16	アセチレンコバルト錯体を利用した新規タンデム環化反応における立体化学的考察	2017 年 3 月	日本化学会第97春季年会	○坂田優希、安井英子、南雲紳史
#17	ピロールジエステルの選択的還元反応	2017 年 3 月	日本化学会第97春季年会	○津田隼平、大貫智史、安井英子、南雲紳史
18	エポキシジエノエステルの還元的SN2’反応を用いた torrubiellutin 誘導体の合成研究	2017 年 3 月	日本化学会第97春季年会	○室川俊介、安井英子、南雲紳史
#19	ジアゾエステルの新規付加反応を利用した種々の複素環合成	2016 年 11 月	第 42 回反応と合成の進歩シンポジウム	○安井英子、津田隼平、南雲紳史、高取和彦
20	14 員環マクロライド Sekithrixide の改良合成	2016 年 3 月	日本化学会　第 96 春季年会	○木村直城、安井英子、南雲紳史
21	Pipestelide B の全合成研究	2016 年 3 月	日本化学会　第 96 春季年会	○勝見大介、小澤暢熙、中曽根和樹、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#22	新規 7 員環合成法の開発	2016 年 3 月	日本化学会　第 96 春季年会	○大月理央、樋口すみ香、高山敢、安井英子、南雲紳史
#23	ピロール－2,5－ジカルボン酸エステルからのカリックスピロール合成研究	2015 年 11 月	複素環化学討論会	○安井英子、大貫智史、嶋田佑太、津田隼平、近藤匠、南雲紳史
24	Arenicolide 類の合成研究	2015 年 9 月	第 59 回　香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	○砂川晶、内藤美菜子、勝見大介、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#25	新規 7 員環合成法の開発	2015 年 9 月	第 59 回　香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会	○安井英子、大月理央、高山敢、樋口すみ香、南雲紳史
26	Prins/Friedel-Crafts タンデム環化反応(3)	2015 年 3 月	日本薬学会第135年会	○坂田 優希、安井英子、高取和彦、南雲紳史
27	エポキシ不飽和エステルの還元的 SN2’反応	2015 年 3 月	日本薬学会第135年会	○木村 直城、古川晃規、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
#28	ピロール 2,5－ジカルボン酸エステルからのカリックスピロール合成研究	2015 年 3 月	日本化学会第95春季年会	○安井英子、大貫智史、嶋田佑太、近藤匠、南雲紳史
29	Arenicolide 類の合成研究(3)	2015 年 3 月	日本化学会第95春季年会	○砂川晶、内藤美菜子、安井英子、宮下正昭、南雲紳史
30	Sekothrixide の第二世代合成研究	2015 年 3 月	日本薬学会第135年会	○中曽根和樹、 寺山直樹、安井英子、宮下 正昭、南雲紳史

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

31	5 員環選択的 Prins 反応と Friedel-Crafts 反応からなるタンデム環化反応	2014 年 9 月	第44回複素環化学討論会	○坂田 優希、丹羽孝徳、鈴木裕治、安井英子、南雲紳史
	4-1			
#1	走査プローブ顕微鏡を用いたキプリス幼生の一時的付着行動における凝着力測定	2019 年 3 月	2019 年度日本付着生物学会研究集会	山口由佳, 塩本昌平, 小林元康, 野方靖行
#2	Evaluation of Adhesive Interaction of Polymer Brushes Containing Phosphorylchorine and Choline Phosphate Groups	2018 年 12 月	International Polymer Conference 2018	Motoyasu Kobayashi, Saori Mihara, Kazuo Yamaguchi
#3	Adhesion Force Measurement of Tentacles of Live Cypris by Scanning Force Microscopy	2018 年 12 月	International Polymer Conference 2018	Y. Yamaguchi, S. Shiomoto, K. Yamaguchi, Y. Nogata, M. Kobayashi
4	Dynamics of Water Spreading on Micro-Patterned Polyelectrolyte Brushes Surface	2018 年 12 月	International Polymer Conference 2018	Shohei Shiomoto, Kazuo Yamaguchi, Motoyasu Kobayashi
5	インバースホスホリルコリン型双性イオンポリマーの合成と分子間相互作用	2018 年 10 月	CSJ 化学フェスタ	駒田拓哉, 山口和男, 小林元康
6	Adhesion Behavior of Polymer Brushes by Proton Donor-Acceptor Interaction	2018 年 9 月	EURADH2018	Hayato Yoshioka, Motoyasu Kobayashi
7	Interaction Between Polymer Brushes Bearing Phosphorylcholine and Inverse-Phosphorylcholine Groups	2018 年 8 月	5th International Conference and Exhibition on Polymer Chemistry	Motoyasu Kobayashi
8	インバースホスホリルコリン型双性イオン高分子電解質の合成と表面特性解析	2018 年 5 月	第 67 回高分子学会年次大会(名古屋)	小林元康, 三原沙織, 山口和男
9	電子供与性基を有するスチレン誘導体の制御ラジカル重合におけるプロトン性溶媒の添加効果	2018 年 5 月	第 67 回高分子学会年次大会(名古屋)	義岡勇人, 山口和男, 小林元康
#10	走査フォース顕微鏡による生体キプリス幼生触角の海水中凝着力測定	2018 年 5 月	第 67 回高分子学会年次大会(名古屋)	山口由佳, 塩本昌平, 山口和男, 野方靖行, 小林元康
11	ラインパターン化高分子電解質ブラシ表面における先行薄膜発展の液滴体積依存性	2018 年 5 月	第 67 回高分子学会年次大会(名古屋)	塩本昌平, 山口和男, 小林元康

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#12	ポリマーブラシ表面における生体キプリス幼生付着器官の凝着力評価	2018 年 3 月	2018 年度日本付着生物学会研究集会	山口由佳, 塩本昌平, 小林元康, 野方靖行
13	Intermolecular interaction of polymer brushes containing phosphorylcholine (PC) and inverse-PC」	2018 年 3 月	255th ACS National Meeting	Saori Mihara, Motoyasu Kobayashi
14	Effect of fluoroalcohol on atom transfer radical polymerization of styrene bearing electron-donating group	2018 年 3 月	255th ACS National Meeting	Hayato Yoshioka, Motoyasu Kobayashi
15	Watrer Transportation on Polyelectrolyte Brush Surface Inspired by a Wharf Roach	2017 年 10 月	6th Nagoya Biomimetics International Symposium (NaBIS)	Shohei Shiomoto, Motoyasu Kobayashi
#16	走査フォース顕微鏡を用いたキプリス幼生付着器官の水中凝着力測定	2017 年 10 月	2017 年度日本付着生物学会シンポジウム	Motoyasu Kobayashi
17	Adhesive Interaction of Polyzwitterion Brushes Containing Sulfo- and Phospho-betaine Groups in Water	2017 年 10 月	3rd International Conference on Bioinspired and Zwitterionic Materials	Motoyasu Kobayashi
18	高分子電解質表面における水の先行薄膜の可視化と伸長速度の時間依存性	2017 年 10 月	第 66 回レオロジー討論会	小林元康, 塩本昌平
#19	親水性ポリマーグラフト表面と生体キプリス幼生触角との相互作用	2017 年 9 月	第 66 回高分子討論会	小林元康, 利光祐太, 塩本昌平, 野方靖行
#20	Adhesive Interaction between Cypris Larva and Marine Biofouling Brush Surface	2017 年 6 月	10th International Symposium on Nature-Inspired Technology (ISNIT2017)(Cebu, Philippine)	Motoyasu Kobayashi, Yasuyuki Nogata
21	スルホベタイン型ポリマーブラシの水中における凝着力の温度依存性	2017 年 6 月	第 55 回日本接着学会年次大会(関西大学)	小林元康, 山崎絢乃, 利光祐太
#22	走査フォース顕微鏡による双性イオン型高分子電解質表面の凝着力の比較	2017 年 6 月	平成 29 年度繊維学会年次大会(船堀)	小林元康, 三原沙織, 山崎絢乃, 山口和男
#23	生体キプリス幼生触角とスルホベタイン高分子表面との水中接着力測定	2017 年 5 月	第 66 回高分子学会年次大会(幕張)	小林元康, 利光祐太, 野方靖行

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

#24	インバースホスホリルコリン型ポリマーブラシの水中フォースカーブ測定	2017 年 5 月	第 66 回高分子学会年次大会(幕張)	三原沙織, 山口和男, 小林元康
#25	キプリス幼生固定化カンチレバーを用いた触角の水中凝着力評価	2017 年 3 月	日本付着生物学会研究集会	小林元康, 利光祐太, 野方靖行
26	Adhesion of Poly(vinyl pyridine) Brushes by Means of Hydrogen Bonding Interaction	2016 年 12 月	The 11th SPSJ International Polymer Conference (IPC 2016)(Fukuoka, Japan)	Hayato Yoshioka, Chiharu Izumi, Motoyasu Kobayashi
#27	Force Curve Measurement of Polyzwitterion Brushes Containing Inverse Phosphorylcholine Group in Water	2016 年 12 月	The 11th SPSJ International Polymer Conference (IPC 2016)(Fukuoka, Japan)	Motoyasu Kobayashi, Saori Mihara, Ayano Yamazaki, Yusuke Imamura
28	Adhesive Interaction of Polyzwitterion Brushes Containing Inverse Phosphorylcholine Group	2016 年 11 月	Material Research Society 2016 Fall meeting (Boston, USA)	Motoyasu Kobayashi
29	Molecular Interaction Forces of Poly(sulfobetaine) Brushes with Various Methylene Chain Length in Betaine Unit	2016 年 11 月	International Symposium on Biomedical Engineering (Tokyo Med. Den. Univ., Japan)	Ayano Yamazaki, Motoyasu Kobayashi
30	Repeatable Adhesion Using a Hydrogen-bonding Interaction ofPoly(2-vinylpyridine) Brushes	2016 年 6 月	The 6th Asian Conference on Adhesion (ACA2016) (Tokyo Tech. Japan)	Chiharu IZUMI, Hayato YOSHIOKA, Motoyasu Kobayashi
31	メチレン鎖数が異なるスルホベタイン型ポリマーブラシの水中凝着力測定	2016 年 6 月	平成 28 年度繊維学会年次大会@タワーホール船堀	山崎絢乃, 山口和男, 小林元康
32	インバースホスホリルコリン基を有するポリマーブラシの表面特性解析	2016 年 6 月	平成 28 年度繊維学会年次大会@タワーホール船堀	小林元康, 今村祐介, 山口和男
33	ラインパターン化高分子電解質ブラシ表面の異方性濡れ	2016 年 5 月	第 65 回高分子学会年次大会@神戸国際会議場	塩本昌平, 山口和男, 小林元康
34	Repeatable Adhesion System Using Proton-acceptable and Donative Polymer Brushes	2015 年 12 月	2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Honolulu, USA)	Hayato Yoshioka, Miki Shida, Kazuo Yamaguchi, Motoyasu Kobayashi
35	スルホベタイン型ポリメタクリレートブラシ表面の相互作用の評価	2015 年 11 月	日本バイオマテリアル学会	山崎絢乃, 山口和男, 小林元康

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

36	ポリマーブラシ間の水素結合性相互作用を利用した繰り返し接着	2015 年 6 月	第 53 回日本接着学会年次大会	小林元康, 渡邊駿, 志田光紀, 山口和男
37	セリン含有ポリカルボキシベタインブラシの表面濡れ性における pH 依存性	2015 年 5 月	第 64 回高分子学会年次大会	池田誠, 山口和男, 小林元康
38	側鎖にセリンを結合した双性イオン高分子ブラシの合成と その表面特性解析	2015 年 5 月	第 69 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム	池田誠, 山口和男, 小林元康
	1−5＆4−2			
#1	Spectroscopic Study of Intermolecular Interactions between Collagen and Heparin	2017 年 11 月	MRS Fall Meeting	T. Kawai, S. Hamamura, Y. Imamura, Y. Itoh
2	液晶性高熱伝導高分子の高熱伝導メカニズム	2016 年 11 月	武蔵野地区高分子懇話会	伊藤雄三
3	Analysis of high thermal conductivity mechanism of side chain type liquid crystalline methacryl polymers with odd number of spacer carbons	2016 年 11 月	Material Research Society, Fall Meeting	Yuzo Itoh,Kengo Ando, and Tadatomo Kawai
4	Synthesis of methacrylate polymers that have spacer carbon number 2 or 6 and alkyl chain length 6 of mesogen, phenyl benzoate end group and analysis of their high thermal conductivity mechanism	2016 年 11 月	Material Research Society, Fall Meeting	Yuzo Itoh, Norihisa Abe, and Tadatomo Kawai
5	HPLC による RAFT コポリマーの組成不均一性の解析	2016 年 10 月	第 21 回　高分子分析討論会	川井忠智, 駒崎早妃子, 佐々木貴広, 伊藤雄三
6	フェニルベンゾエート型メソゲンの先端アルキル鎖長6を持ちスペーサー長2、6のメタクリルポリマーの合成及び熱伝導メカニズムの解析	2016 年 9 月	第65回高分子討論会	阿部哲久、川井忠智、伊藤雄三
7	側鎖にフェニルベンゾエート型メソゲンを有しスペーサーとしてアルキル鎖長が 奇数のメタクリルポリマーの熱伝導メカニズムの解析	2016 年 9 月	第65回高分子討論会	安藤健吾、川井忠智、伊藤雄三

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

8	スチレン-アクリレート系 RAFT 共重合体の HPLC による組 成不均一性の解析	2016 年 9 月	第65回高分子討論会	川井忠智，駒崎早妃子，佐々木貴広，伊藤雄三
9	熱伝導の基礎と高分子の高熱伝導性メカニズム	2016 年 1 月	高熱伝導性樹脂の開発と高熱伝導性メカニズム講演会	
10	Study on the effect of high pressure hydrogen on the higher order structures of NBR rubber materials cross-linked by sulfur and peroxide by using FT-IR spectroscopy	2015 年 12 月	The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacific Chem 2015)	Yuzo Itoh, Kazuki Okano,Tadatomo Kawai, Hirotada Fujiwara,and Shin Nishimura
11	Study on higher order structure change of NBR rubber with different acrylonitrile contents at high-pressure hydrogen exposure by FTIR spectroscopy	2015 年 12 月	The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacific Chem 2015)	Yuzo Itoh, Ryosuke Naganuma,Sayuki Niimura, Tadatomo Kawai, Hirotada Fujiwara,and Shin Nishimura
12	Study on high thermal conductivity mechanism of Biphenyl benzoate twin-mesogen epoxy polymer	2015 年 12 月	The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacific Chem 2015)	Yuzo Itoh, Takuto Suzuki, Tadatomo Kawai
13	Structural chemical study on high thermal conductivity mechanism of the phenylbenzoate twin-mesogen epoxy polymer	2015 年 12 月	The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacific Chem 2015)	Yuzo Itoh, Naoto Nishimura, Tadatomo Kawai
14	Chracterization of the chemical composition heterogeneity in poly(styrene-co-butyl acrylate)by RAFT copolymerization	2015 年 12 月	The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacific Chem 2015)	Tadatomo Kawai, Yuzo Itoh, Kouki Sudo, Ryou Sato
15	硫黄架橋及び過酸化物架橋ゴム材料に対する 高圧水素曝露後の高次構造変化の FT-IR による解析	2015 年 12 月	第 27 回エラストマー討論会	伊藤雄三・○長沼瞭介・川井忠智、藤原広匡・西村伸
16	ビフェニルベンゾエートツインメソゲン型エポキシポリマーの高熱伝導メカニズムの構造化学的研究	2015 年 9 月	第 64 回高分子討論会	伊藤雄三，鈴木拓斗，川井忠智
17	液晶性高熱伝導高分子の高熱伝導メカニズム	2015 年 3 月	高分子基礎物性研究会	

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

18	高圧水素曝露によるゴム材料及び添加剤の高次構造変化のFT-IRを用いた振動分光学的検討	2014年12月	第26回エラストマー討論会	伊藤雄三・○長沼瞭介・新村彩幸・川井忠智、藤原広匡・西村伸
19	Study on the chemical composition heterogeneity in copolymers prepared by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer polymerization (RAFT) by using Adsorption High-Performance Liquid Chromatography	2014年11月	The 1st Innovation Forum of Advanced Education (IFAEE)	Yohei Koyama, Tadatomo Kawai*, and Yuzo Itoh
20	Study on high thermal conductivity mechanism of 2,7-Naphthalene benzoate twin-mesogen epoxy polymer	2014年11月	The 1st Innovation Forum of Advanced Education (IFAEE)	Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh* Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh* Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh*
21	液晶性ポリメタクリレートの熱伝導性	2014年10月	第19回高分子分析討論会	友野文彰、川井忠智、伊藤雄三
22	ツインメソゲン型エポキシポリマーの熱伝導性とメソゲン間のスペーサー長の関係	2014年10月	第19回高分子分析討論会	長谷川祐大、川井忠智、伊藤雄三
23	Development of Novel Nano-structure high Thermal Conductivity Polymers and Study on Their Thermal Conductivity Mechanism	2014年9月	Polysolvat 10	Yuzo Itoh, Chikako Nakajima, Shuji Kawamot and Tadatomo Kawai
24	Study on high thermal conductivity mechanism of 2,7-Naphthalene benzoate twin-mesogen epoxy polymer	2014年9月	Polysolvat 10	Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh* Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh* Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh*
25	Study on the chemical composition heterogeneity in copolymers prepared by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer polymerization (RAFT) by using	2014年9月	Polysolvat 10	Yohei Koyama, Tadatomo Kawai*, and Yuzo Itoh Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh* Meguru Furukawa , Tadatomo Kawai and Yuzo Itoh*

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

	Adsorption High-Performance Liquid Chromatography			
26	HPLC による RAFT 共重合体の組成不均一性の解析	2014 年 9 月	第 63 回高分子討論会	川井忠智、伊藤雄三
27	スチレン-アクリレート系 RAFT 共重合体の組成不均一性の解析	2014 年 9 月	第 63 回高分子討論会	小山陽平、川井忠智、伊藤雄三
28	ビフェニルベンゾエートエポキシポリマーの熱伝導率と秩序構造	2014 年 5 月	第 63 回高分子学会年会	川本秀士、名取洸、川井忠智、伊藤雄三、藤原広匡、西村伸
29	HPLC による RAFT 共重合体の組成不均一性の解析	2014 年 5 月	第 63 回高分子学会年会	川井忠智、伊藤雄三
30	スチレン-アクリレート系 RAFT 共重合体の組成不均一性の解析	2014 年 5 月	第 63 回高分子学会年会	小山陽平、川井忠智、伊藤雄三

＜研究成果の公開状況＞（上記以外）

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等
＜既に実施しているもの＞
・生体分子システムセンター報告会開催
BMSC 最終報告会　工学院大学八王子キャンパス 1N-338 教室　2019 年 4 月 20 日
BMSC 中間報告会　工学院大学八王子キャンパス 04-201 講義室　2018 年 3 月 15 日
BMSC 中間報告会　工学院大学新宿キャンパス A0815 教室　2017 年 3 月 15 日
http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1062/recruit.html
2015 年度後期報告会　工学院大学新宿キャンパス A0815 教室　2016 年 3 月 8 日
http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1062/contact.html
2015 年度前期報告会　工学院大学八王子キャンパス 15 号館 208 室　2015 年 7 月 18 日
http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1062/contact.html

・生体分子システム（研究会）講演会開催状況

第8回　北海道大学名誉教授　小林淳一先生講演会
講演タイトル:「生物活性天然分子のケミカルバイオロジー」
2017 年 1 月11日
第7回　ハワイ大学　M. A. Tius 教授講演会
講演タイトル:「Catalyzed Nazarov and Nazarov-type Cyclization」
2016 年 10 月 29 日
第6回　University of Gothenburg　山崎泰男博士講演会
講演タイトル:「エントソーム―リサイクリング経路を制御する膜型ユビキチンリガーゼに関する研究
2015 年 5 月 20 日
第5回　工学院大学准教授　菅原康里准教授講演会

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

講演タイトル:「グルカンの化学」
2015 年 3 月 5 日
第4回 関西学院大学名誉教授 勝村成雄先生講演会
講演タイトル:「天然物合成の醍醐味－海洋光合成を担う多官能性カロテノイドの合成と機能解明の物語」
2014 年 12 月 5 日
第3回 東京農工大学大学院生命工学科 長澤和夫教授講演会
講演タイトル:「DNA グアニン4重鎖構造をガン分子標的とする創薬研究と生命科学への展開」
2013 年 11 月 1 日
第2回 大阪市立大学大学院理学研究科 品田哲郎教授講演会
講演タイトル:「カイトセファリンのケミカルバイオロジー研究」
2013 年 10 月 4 日
第1回 理化学研究所, ERATO-JST 闐闐孝介先生講演会
講演タイトル:「細胞死制御分子の開発とケミカルバイオロジー研究への展開」
2013 年 8 月 9 日

・シンポジウム
有機合成化学協会関東支部「ミニシンポジウム八王子」共催 2016 年 10 月 29 日
http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1062/recruit.html

＜これから実施する予定のもの＞
・創薬人育成サマースクール 2019(関東地区) ～くすりを創る研究の醍醐味を知る！～
日時 2019 年 6 月 29 日(土)会場 工学院大学 新宿キャンパス アーバンテックホール
協賛 工学院大学総合研究所 生体分子システム研究センター
開催担当者 松野 研司(工学院大・先進工)
http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwa1068/松野研写真/創薬人 2019.pdf

＜インターネットでの公開状況＞
1) 生体分子システムセンター(BMSC)http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1062/
2) 生体機能化学研究室 http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1040/
（テーマ 3, 1 今村, 辛）
3) 生物医化学研究室 http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwa1074/
（テーマ 2 小山, 坂口）
4) 医薬化学研究室 http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwa1068/
（テーマ 2 松野, 大野）
5) 有機合成化学研究室 http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1016/
（テーマ 1, 3 南雲, 安井）
6) 生物資源化学研究室 http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1039/
（テーマ 2 阿部）
7) 有機高分子化学研究室 http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwa1069/
（テーマ 4 小林）
8) 機能性高分子研究室 http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwb1032/
（テーマ 4, 1 伊藤）

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

14 その他の研究成果等

<市民・子供への演示>
第 25 回わくわくサイエンス祭科学教室 2018 年 8 月 24,25 日
工学院大学八王子キャンパス
演示テーマ「くすりの「く」」でポスターにてプロジェクトの紹介
（別紙参照）

＜報道＞
テレビ
1）山田, NHK 総合,「あさイチ」「スゴ技 Q」
2017 年 4 月 21 日
2）山田, 日本テレビ,「所さんの目がテン」「打ちたてそばはなぜ美味い？香りを計測！」
2017 年 4 月 16 日
3）山田, 日本テレビ,「所さんの目がテン！」「毎朝の食卓に欠かせない色パン！実は近年食感やトースターなど驚きの進化を遂げていた！」
2017 年 4 月 2 日
4）山田, NHK E テレ,「すイエんサー」「極上メロンパンをたった 30 分で作りた～い！」
2017 年 3 月 21 日
5）小林, NHK 総合,「超絶・凄ワザ！」「汚れがすぐ落ちる！究極のまな板編」
2017 年 1 月 14 日
ラジオ
6）山田, NHK FM,「トーキング ウィズ 松尾堂」「美味しい粉の秘密を探る」
2017 年 4 月 16 日
7）山田, テレビ朝日,「林修の今デショ！講座」, 赤パプリカ, トマトの切れ味, 2017 年 5 月 16 日
8）山田, NHK 総合,「あさイチ」, 即席麺, 2017 年 4 月 25 日
9）山田, NHK 総合,「あさイチ」, ごま油, 2017 年 5 月 23 日
10）山田, 日本テレビ,「所さんの目がテン！」麺類, 2017 年 9 月 17 日
11）山田, NHK-E テレ,「すイエんサー」, 佐野ラーメン, 2017 年 10 月 10 日
12）山田, テレビ朝日,「林修の今デショ！講座」, オリーブ油,ゴマ油,アマニ油, 2017 年 11 月 21 日
13）山田, NHK 総合, 「ガッテン！」, ジャムトースト, バタートースト, 2017 年 11 月 29 日
14）山田, NHK 総合, 「ごごナマ」, 即席麺, 2017 年 12 月 25 日
15）山田, NHK 総合, 「あさイチ」, うどん, 2018 年 1 月 15 日
16）山田, NHK-E テレ,「すイエんサー」, カレーパン, 2018 年 2 月 1 日
17）山田, NHK 総合, 「ごごナマ」, コロッケ, 2018 年 2 月 28 日
18）山田, 日本テレビ,「所さんの目がテン！」, とんかつ, 2018 年 3 月 25 日
19）山田, テレビ東京,「ソレダメ」, うどん, 2018 年 5 月 16 日
20）山田, NHK 総合, 「あさイチ」, 餃子, 2018 年 6 月 5 日
21）山田, テレビ東京,「ソレダメ」, パン, 2018 年 6 月 9 日

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

22）山田，日本テレビ，「所さんの目がテン！」，素麺，2018 年 6 月 24 日
23）山田，NHK 総合，　「ごごナマ」，素麺，2018 年 8 月 2 日
24）山田，テレビ東京，「ソレダメ」，パン酵母，2018 年 8 月 8 日
25）山田，テレビ東京，「ソレダメ」，麺，2018 年 9 月 26 日
26）山田，NHK 総合，「あさイチ」，日本蕎麦，2018 年 10 月 9 日
27）山田，NHK 総合，「あさイチ」，食パン，2018 年 12 月 25 日
28）山田，MBS/TBS，「教えてもらう前と後」，食パン，2019 年 2 月 5 日
29）山田，NHK-E テレ，「すイエんサー」，中華饅頭，2019 年 2 月 19 日
30）山田，テレビ東京，「ソレダメ」，上白糖，2019 年 2 月 27 日

＜産学連携事業＞
・シロカ株式会社と「ハイブリッドオーブントースター」を開発
・国際粉体工業展依頼講演「粉体産業説明会」，2016.11，日本粉体工業技術協会，山田昌治
・国際粉体工業展依頼講演「粉体産業説明会」，2017.11，日本粉体工業技術協会，山田昌治
・国際粉体工業展依頼講演「粉体産業説明会」，2018.11，日本粉体工業技術協会，山田昌治
・依頼講演「これからの食と健康」，2016.10，浜松食品工業会，山田昌治
・依頼講演「食品業界の常識を覆す食品加工法」，2018.5，食品ニューテクノロジー研究会，山田昌治
・依頼講演「ESR を用いた食品品質の変化挙動解析」，2018.11，日本電子ユーザーズミーティング，山田昌治

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

＜「選定時」に付された留意事項＞

該当なし。

＜「選定時」に付された留意事項への対応＞

＜「中間評価時」に付された留意事項＞

該当なし。

＜「中間評価時」に付された留意事項への対応＞

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

16 施設・装置・設備・研究費の支出状況（実績概要） （千円）

年度・区分		支出額	内訳						
			法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他（　　）	備考
平成26年度	施設	0							
	装置	53,001	26,501	26,500					
	設備	33,187	13,333	19,854					
	研究費	7,600	4,724	2,876					
平成27年度	施設	0							
	装置	0							
	設備	5,195	1,732	3,463					
	研究費	15,605	8,411	7,194					
平成28年度	施設	0							
	装置	0							
	設備	0							
	研究費	15,604	9,209	6,395					
平成29年度	施設	0							
	装置	0							
	設備	0							
	研究費	15,603	8,731	6,872					
平成30年度	施設	0							
	装置	0							
	設備	0							
	研究費	15,603	8,576	7,027					
総額	施設	0	0	0	0	0	0	0	
	装置	53,001	26,501	26,500	0	0	0	0	
	設備	38,382	15,065	23,317	0	0	0	0	
	研究費	70,015	39,651	30,364	0	0	0	0	
総計		161,398	81,217	80,181	0	0	0	0	

17 施設・装置・設備の整備状況 （私学助成を受けたものはすべて記載してください。）

《施　設》（私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。） （千円）

施設の名称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
＜八王子校舎＞ 工房・化学研究棟 17号館 2階および3階		1875 ㎡	6	181			
＜八王子校舎＞ 5号館 2階		518 ㎡	2				

※ 私学助成による補助事業として行った新増築により、整備前と比較して増加した面積

＿＿＿＿＿＿＿＿ ㎡

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

《装置・設備》（私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。）　（千円）

装置・設備の名称	整備年度	型　番	台　数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
（研究装置）							
FT-NMR装置	26	JNM-ECZ-400S	1	10,626 h	53,001	26,500	私学助成
（研究設備）							
マルチプレートリーダー	26	SynergyH1	1	1300 h	6,900	4,257	私学助成
分取用高速液体クロマトグラフ設備	26	Prominence	1	230 h	6,634	4,092	私学助成
高速液体クロマトグラフ設備	26	Chromaster	1	800 h	5,070	3,128	私学助成
バイオイメージング設備	26	FSX100,MPK5000	1	3200 h	7,136	3,816	私学助成
ラッピドピスコアナライザー設備	26	RVAsuper4	1	2290 h	7,394	4,561	私学助成
細胞培養関連設備	27	倒立型リサーチ顕微鏡システム	1	800 h	5,194	3,463	私学助成
細胞培養関連設備	29	倒立型リサーチ顕微鏡一式	1	450 h	5,324		

18 研究費の支出状況　（千円）

年　度	平成　26　年度　テーマ1			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	687	研究・実験用	687	水素ナトリウム・真空シールセット・酢酸エチル
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料	10	修理費	10	圧力調整器修理
（　　）				
計	697			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　書				
計	0			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　　度	平成　　26　　年度　　テーマ２			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	2,948	研究・実験用	2,948	フルオレセイン・PDMidiTrap・酵母エキス
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料	90	修理費	90	高速液体クロマトグラフィ修理
（　　）				
計	3,038			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

（千円）

年　　度	平成　　26　　年度　　テーマ３			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	2,215	研究・実験用	2,215	セルバンカー・20%塩酸・遠心チューブ
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料	9	修理費	9	クロマト管他修理
（　　）				
計	2,224			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　　度	平成　　26　　年度　　テーマ４			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	1,641	研究・実験用	1,641	重合用アンプル・アセトニトリル・TSK－GUARD
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料				
（　　）				
計	1,641			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

（千円）

年　　度	平成　　27　　年度　　テーマ１			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	1,800	研究・実験用	1,800	アセトニトリル・イミダゾール・ヘキサン
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料				
（　　）				
計	1,800			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　度	平成　27　年度　テーマ2			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	4,110	研究・実験用	4,110	スタンダードオリゴ・アジレント・スタンダードチップ
光熱水費				
通信運搬費	6	送料	6	採集サンプル発送
印刷製本費				
旅費交通費	219	学会参加	219	ホノルル学会出張旅費
報酬・委託料	163	修理費	163	温度可変装置修理・恒温装置漏水修理
その他	244		244	学会参加費
計	4,742			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品	59	研究・実験用		クールインキュベーターFCI280
図書				
計	59			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

（千円）

年　度	平成　27　年度　テーマ3			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	2,710	研究・実験用	2,710	セルカウンティングキット・ドライアイス
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	89	学会参加	89	ソウル学会出張旅費
報酬・委託料	998	保守費	998	ECZ400S／LIのヘリウム充填及保守
その他	960		960	学会参加・研究補助者謝金
計	4,757			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品	2,112	研究・実験用	2,112	バイオクリーンベンチー式・CO2インキュベーター一式
図書				
計	2,112			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　度	平成　27　年度　テーマ4			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	2,130	研究・実験用	2,130	SECカラム・チップレスカンチレバー・クロロホルム
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費	5	資料印刷	5	文献複写
旅費交通費				
報酬・委託料				
その他				
計	2,135			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図書				
計	0			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

（千円）

年　度	平成　28　年度　テーマ1			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	779	研究・実験用	779	ベンゼンーd6・Antiーindol・メタノール
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	407	学会参加	407	マンチェスター学会出張旅費・仙台学会出張旅費
報酬・委託料	3,211	保守費	3,211	JNMーECZ400S／L1型保守契約（NMR）
その他	156		156	学会参加費
計	4,553			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図書				
計	0			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　　度	平成　　28　　年度　　テーマ2			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	3,963	研究・実験用	3,963	スタンダードチップ・コスモバイオハイブリパック
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料	438	修理費	438	マイクロピペッタ修理・オートクレーブ修理KS－215
その他				
計	4,401			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント	1,804	研究・実験	1,804	学内3名
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	1,804			

（千円）

年　　度	平成　　28　　年度　　テーマ3			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	2,866	研究・実験用	2,866	BOC－D－TRP・DMEM・30%アクリルアミド
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料				
その他				
計	2,866			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　度	平成　28　年度　テーマ4			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	1,907	研究・実験用	1,907	薬品・シャーレ・ロート・ジブロモヘプタン
光熱水費				
通信運搬費	3	送料	3	アルミ製サンプルプレス送料
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料	70	委託費	70	論文校閲
その他				
計	1,980			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図書				
計	0			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

（千円）

年　度	平成　29　年度　テーマ1			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	1,102	研究・実験用	1,102	薬品・ドライアイス
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	395	学会参加	395	ウィーン学会出張旅費
報酬・委託料	3,153	保守費	3,153	JNM－ECZ400S／L1型保守契約（NMR）
その他	159		159	学会参加・講演謝金
計	4,809			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図書				
計	0			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　　度	平成　　29　　年度　　テーマ２			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	4,033	研究・実験用	4,033	薬品・滅菌シャーレ
光 熱 水 費				
通信運搬費	10	送料	10	実験材料宅配代
印刷製本費				
旅費交通費	79	フィールドワーク	79	沖縄出張旅費
報酬・委託料	110	修理費	110	クラリオスタット・クリーンベンチ修理
その他	368	フィールドワーク	368	沖縄出張旅費
計	4,600			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント	1,203	研究・実験	1,203	学内2名
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	1,203			

（千円）

年　　度	平成　　29　　年度　　テーマ３			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	2,821	研究・実験用	2,821	薬品・放電灯水銀ランプ
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	67	学会参加	67	三重出張旅費
報酬・委託料				
その他	23		23	学会参加
計	2,911			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　度	平成　29　年度　テーマ4			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	2,071	研究・実験用	2,071	薬品・器具類
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料				
その他	9		9	文献複写
計	2,080			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図書				
計	0			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

（千円）

年　度	平成　30　年度　テーマ1			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	1,183	研究・実験用	1,183	薬品・ガラスプレート
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	338	学会参加	338	リュブリヤーナ出張旅費
報酬・委託料	3,152	保守費	3,152	JNM－ECZ400S／L1型保守契約（NMR）
その他	99		99	学会参加登録費
計	4,772			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図書				
計	0			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

年　度	平成　30　年度　テーマ2			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	2,600	研究・実験用	2,600	薬品・器具類
光熱水費				
通信運搬費	12	送料	12	植物サンプル宅配代
印刷製本費				
旅費交通費	261	フィールドワーク	261	沖縄出張旅費
報酬・委託料	155	修理費	155	ピペット・クリーンベンチ修理
その他	354		354	学会・シンポジウム参加費
計	3,382			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品	1,086	研究・実験用	1,086	中型恒温振とう培養機
図書				
計	1,086			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント	1,203	研究・実験	1,203	学内2名
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	1,203			

（千円）

年　度	平成　30　年度　テーマ3			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	2,686	研究・実験用	2,686	薬品・器具類
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	62	勉強会参加	62	札幌出張旅費
報酬・委託料				
その他				
計	2,748			
アルバイト関係支出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品	404	研究・実験用	404	電動長作動距離コンデンサー
図書				
計	404			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131017
プロジェクト番号	S1411005

（千円）

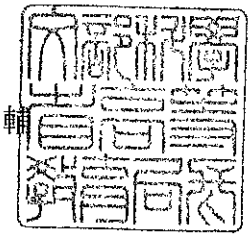
年　　度	平成　　30　　年度　　テーマ4			
小 科 目	支 出 額	積　算　内　訳		
		主 な 使 途	金　額	主　な　内　容
教　育　研　究　経　費　支　出				
消 耗 品 費	2,008	研究・実験用	2,008	薬品・器具類
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料				
その他				
計	2,008			
ア　ル　バ　イ　ト　関　係　支　出				
人件費支出（兼務職員）				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出（1個又は1組の価格が500万円未満のもの）				
教育研究用機器備品				
図　　書				
計	0			
研　究　ス　タ　ッ　フ　関　係　支　出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

文部科学省からの通知

２６文科高第２７２号
平成２６年６月２６日



学校法人工学院大学理事長　　殿



文部科学省高等教育局長
吉　田　　大　輔

平成２６年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」の
採択について（通知）

標記の件について、貴法人より提出された構想調書を学識経験者による「私立大学戦略的研究基盤形成支援検討会」において審査した結果を、別紙のとおり通知いたします。

採択された事業については、付された留意事項を踏まえ研究を推進するとともに、研究の計画、内容及び成果の積極的な公開に御留意願います。

なお、事業開始から３年目に実施される中間評価において、研究計画に対して特に研究の進展が見られず、また改善の見込みがないと判断された事業については、補助を打ち切る可能性があることを申し添えます。

※　研究費（日本私立学校振興・共済事業団を通じて交付する私立大学等経常費補助金）については構想調書に記載した金額を上限とし、研究費の申請状況によっては交付額を調整する場合があります。同様に、研究施設費、研究装置・研究設備費についても、申請状況によって交付額を調整する場合がありますので、あらかじめ、御理解願います。

【本件連絡先】
〒100-8959 東京都千代田区霞が関 3-2-2
文部科学省高等教育局私学部私学助成課助成第二係
（担当：小林、平井、櫻庭）
ＴＥＬ：03-5253-4111(内線 2774)
ＦＡＸ：03-6734-3396
E-mail：josei2@mext.go.jp

平成26年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」採択結果一覧

事業番号	大学名	研究観点	研究費のみ	研究プロジェクト名	審査区分	採否	審査時に付された意見又は留意事項
S1411005	工学院大学	研究拠点を形成する研究		生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発	理工・情報系	採択	

別紙１
研究成果報告

1.1 & 3.4

多剤耐性を克服するマクロライドの合成および構造活性相関研究

Synthesis and structural modification of a new macrolide conquering a multidrug resistance

南雲　紳史
工学院大学先進工学部生命化学科

Shinji Nagumo
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

Recent progress in cancer chemotherapy is very remarkable due to development of various effective *anti*-cancer drugs. However, several problems that interfere in the chemotherapy became obvious. Among them, multidrug resistance (MDR) is the most serious. Seto *et al.* reported that sekothrixide, which was isolated from Saccharothrixide sp. CF24, exhibited cytocidal activity against colchicine-resistant KB cells (KB-C2) with an IC50 of 6.5 μg/mL in EAGLE's minimum essential medium. More notably, it affected KB-C2 with an IC50 of 1.0 μg/mL cooperatively with colchicines. We aimed at a efficient total synthesis and further structural modification.
Keywords: multidrug resistance, sekothrixide, colchicines-resistant KB cells, total synthesis,

1. はじめに

近年、新しい抗癌剤が次々に見出されたことによって、癌の化学療法は目覚ましい進歩を遂げた。その一方で、化学療法が直面する困難な問題が顕在化してきた。多剤耐性はその最たる例である。当初は臨床効果が得られた抗癌剤が、連続して投与するうちに耐性獲得により効果を失う。さらに深刻な問題は、こうして耐性を獲得した腫瘍細胞がその他の抗癌剤に対しても効かなくなることである。このような問題に対し効果的な対応策が強く求められており、様々な角度からの研究が展開されている。

ところで、東京大学の瀬戸教授らは埼玉県の土壌から採取した*Saccharothrixide* sp. CF24の大規模発酵液からセコスリキシドを単離構造決定している[1,2]。本化合物はコルヒチン耐性を獲得したKB-C2細胞に対して、コルヒチンの共存下で殺細胞活性（IC_{50} 1.0 μg/mL）を示す。興味あることに、セコスリキシド単独でも活性を示すが、IC_{50} 6.0 μg/mL程度と弱い。その基本骨格はエリスロマイシンの類縁体であるパクロライドと同じ14員環ケトライドであり、そのメチル基置換様式もこれらのマクロライドとほぼ類似している。しかし、通常の14員環マクロライドには見られない、高度に酸素官能基化された長い炭素鎖が13位を起点として伸長している。一方で、ラクトン環部の酸化状態は通常の14員環マクロライドに比べて非常に低い。このように分子全体で親水性領域と疎水性領域がはっきりと分かれているのは大変興味深く、セコスリキシドにおける側鎖部分はエリスロマイシンなどの糖部分と類似した役割を担っているのかもしれない。このようにユニークな構造的特徴と顕著な多剤耐性克服活性から、セコスリキシドは新たなリード化合物として興味深い。我々は本化合物の効率的な合成経路を確立し、そこからさらに、活性向上やバイオプローブへの展開を狙った構造修飾を行うことにした。

2. 研究計画

平成２６年度　セコスリキシドの最初の全合成
平成２７年度　セコスリキシドの第二世代合成の着手：連続不斉中心の構築
平成２８年度　セコスリキシドの第二世代合成の完成
平成２９年度　セコスリキシドの各種ジアステレオマーの合成
平成３０年度　セコスリキシドから対応する16、18、20員環ラクトンへの変換

３．成果

本プロジェクトの一年目に、それまで手掛けてきたセコスリキシドの最初の全合成を達成した。当初、瀬戸教授らがセコスリキシドとして推定していた構造(**1**)を合成したが、天然物の NMR と一致しなかった。合成品と天然物の NMR を比較し、ケミカルシフト等で違いの大き

いピークを見ていくと、14 員環ラクトン上に存在する三つのメチル基の立体配置が誤っているものと推定できた。そこで、それらに由来するジアステレオマーを順次合成することにした。その結果、セコスリキシドの実際の立体配置は、三つのメチル基がすべて逆配置であることが明らかになった[3]。ここに初の全合成を達成したが、その経路は 40 工程近くを要し、総収率も極めて低かった。結果として、セコスリキシドは僅か 3mg 程度しか得られなかった。より強い活性をもった誘導体の探索や化学生物学的な研究展開を行うためには、合成経路の大幅な改善が必要と考え、2015 年度に第二世代合成を開始した[4]。

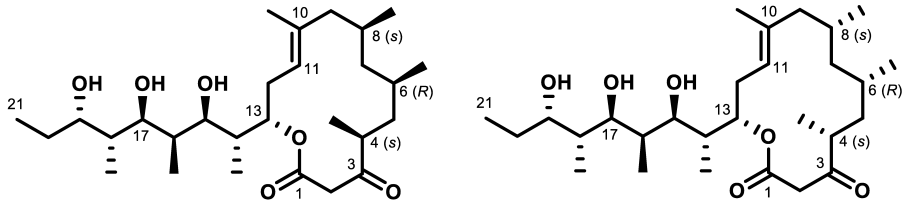
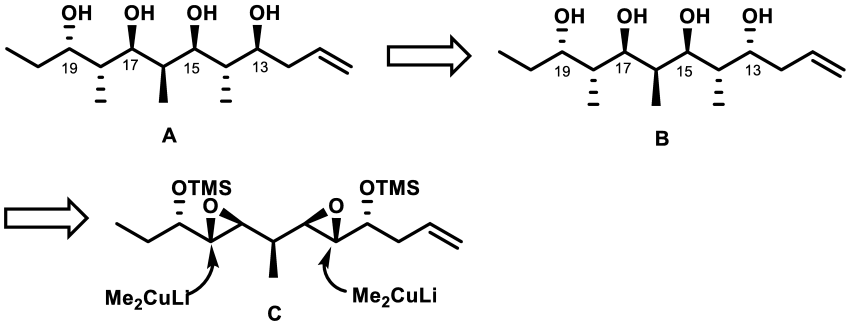
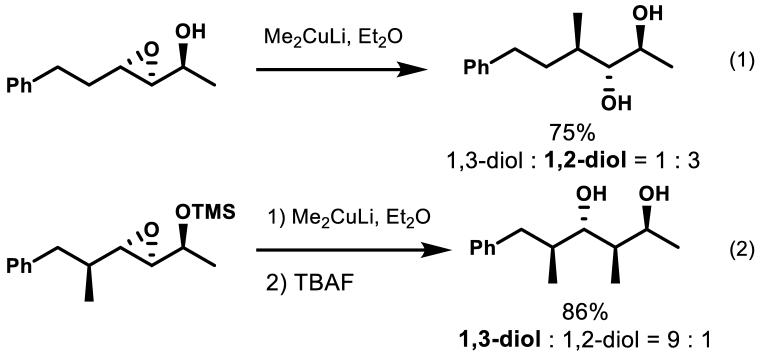


Figure 1　Sekothrixide の構造および単離当初に提唱されていた構造

合成をする上で一番困難な課題は、側鎖に存在する 7 連続不斉中心の構築である。アルケンとエステル部分で逆合成切断をすると、この部分を含んだ合成前駆体として **A** が考えられた。この 13 位の不斉中心を逆にしてみると、立体化学的に対称性の高い **B** になる(Scheme 1)。ところで我々は、アンチ型の 2 級エポキシアルコールを、TMS 基で保護した後に有機銅試薬で反応させると、位置選択的に 1,3 - ジオールが生成することを見出していた(Scheme 2 (2))[5]。一見当たり前のように見える反応だが、アルコール部分を無保護で行なうと 1,2 - ジオールの生成が優先することが分かっており(Scheme 2 (1))、TMS 基で保護することの有効性ははっきりしていた。我々はこの反応をうまく利用すれば、セコスリキシドの短工程合成が実現できるものと考えた。すなわち、Scheme 1 の **4** に示したように、シリルオキシ基と隣接したエポキシドを繰り返し構築し、その都度有機銅試薬によるメチル基導入を行うというものである。

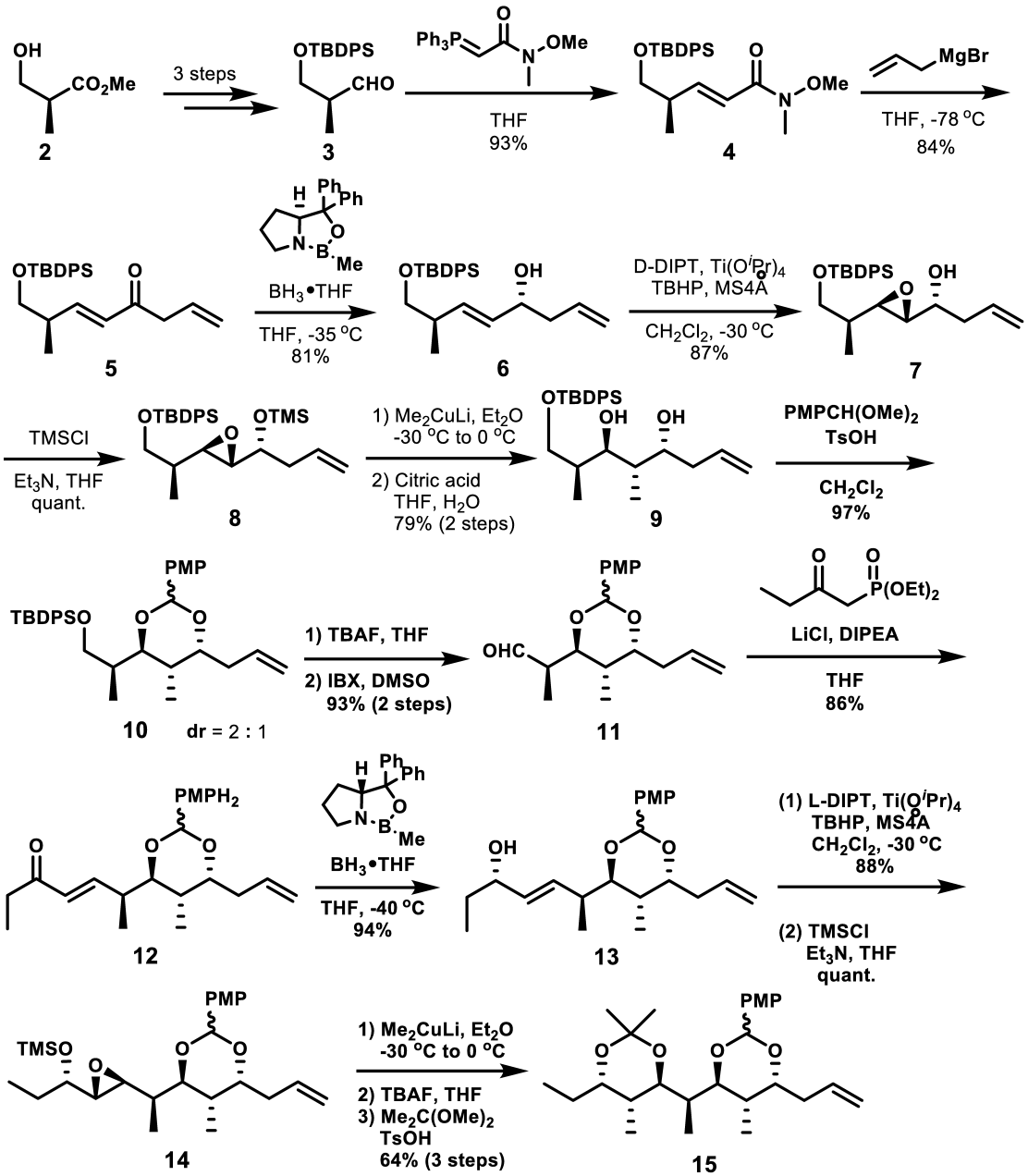


Scheme 1　　7 連続不斉中心を有する側鎖部の合成計画



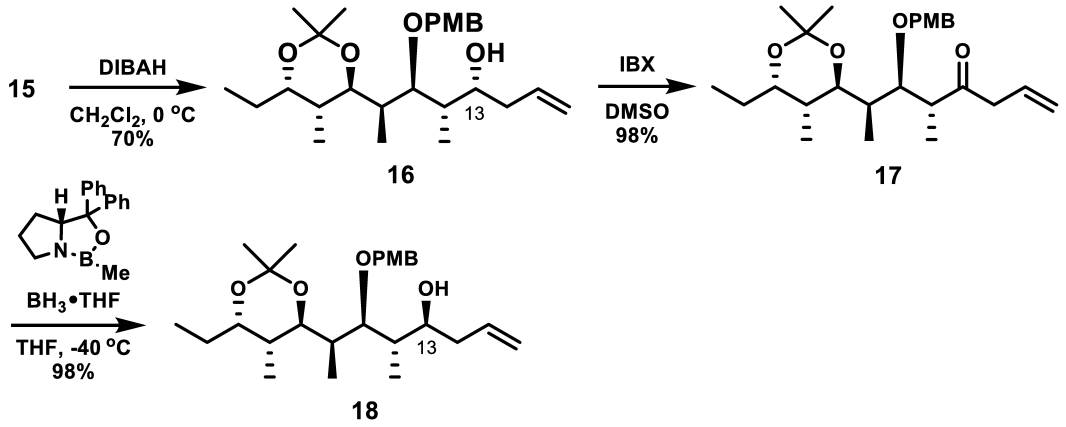
Scheme 2　　TMS 保護によるエポキシ 2 級アルコールの銅試薬による反応

このような戦略に基づき、実際に以下のような合成を行った。光学活性な既知化合物 **3** に対し Wittig 反応を行って共役アミド **4** を合成した。これにアリルグリニヤル試薬を反応させ、得られたケトン **5** に CBS 還元、香月-Sharpless エポキシ化、シリル化を順次行うことで **8** へ導いた。これに対し、Me_2CuLi とのカップリングを行ったところ、高収率かつ位置選択的に **9** が得られた。アセタール化、脱シリル化、IBX 酸化を順次行うことでアルデヒド **11** へ導き、Horner-Wadsworth-Emmons 反応によりエノン **12** を合成した。再度 CBS 還元、香月-Sharpless エポキシ化、シリル化を行い **14** としたところで、Me_2CuLi とのカップリング反応を行った。この場合も高い位置選択性で所望の 1,3–ジオールができた。しかし、このものはアセタール交換が起きやすいことがわかった。反応終了後速やかにアセトナイド保護を行った。その結果、**14** から３工程収率 64%で **15** を得た。



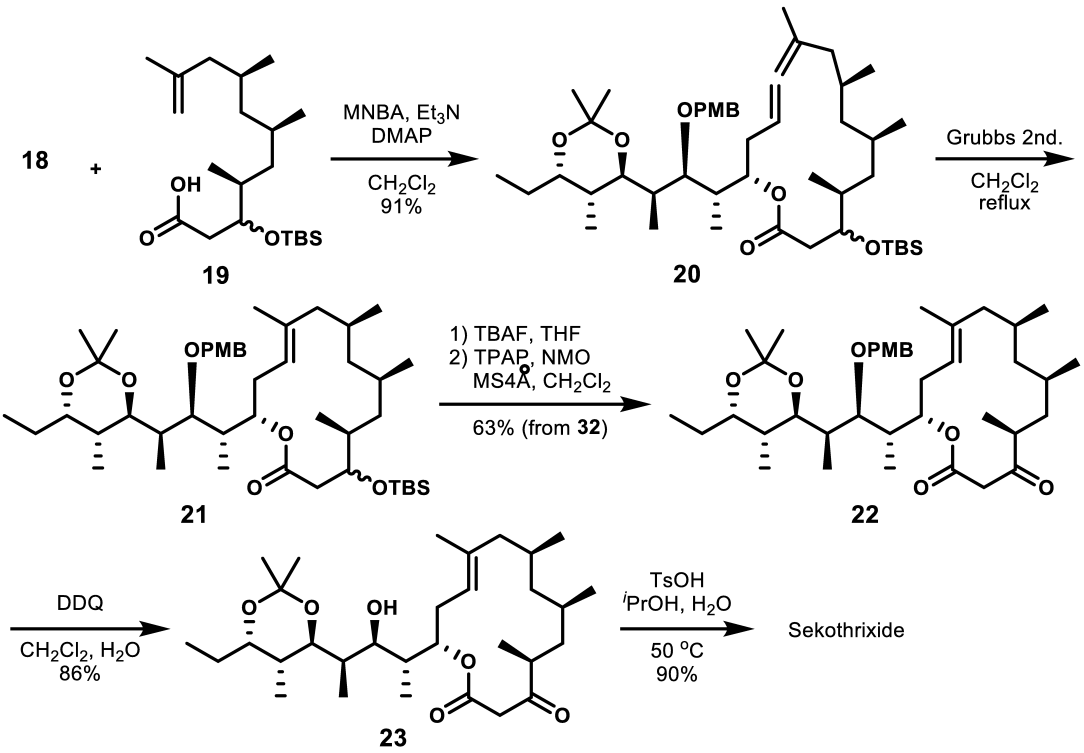
Scheme 3　対称的７連続不斉中心を有する化合物 **15** の合成

次に、13 位の配置の反転を試みた。化合物 **15** は二つのアセタール保護基を持っているが、DIBAH による処理を行ったところ、ベンジリデンアセタールだけが還元的に開環た。しかも所望の位置で結合切断が起こり、アルコール **16** を得ることができた。当初、光延反応でこの水酸基を直接反転させようとしたが、ホモアリルアルコールのため脱離が起こってしまった。そこで **16** を IBX 酸化によりケトン **17** に変換後、CBS 還元を行うことで **18** を合成した。



Scheme 4　側鎖部 7 連続不斉中心の完全構築

C1-C10 セグメントに相当するカルボン酸 **19** は第一世代で確立した方法で合成し、続いて **18** とのエステル化を椎名法で行った。得られた **20** に対して、第二世代 Grubbs 触媒による閉環メタセシスを行ったところ、完全にＥ選択性で 14 員環ラクトン **20** が生成した。TBS 除去後、TPAP 酸化に付すことでケトライド **20** に導き、最後に PMB 基およびアセトナイドの脱保護を順次行うことでセコスリキシドの第二世代合成を完成した。



Scheme 5　Sekothrixide の第二世代合成

第二世代合成では、市販の原料から 29 工程でセコスリキシドを合成できるようになり、総収率も 4.9%と大幅に改善した。その結果、一度に数 10mg から数 100mg 単位でセコスリキシド

を合成することに目途がたった。そこで、ラクトン環上のトリメチル基に関するジアステレオマー８種を合成し、コルヒチン耐性を獲得したKB-C2細胞に対する阻害活性を比較しようと考えた。しかしながら、KB-C2細胞の入手が困難だったため、松野教授、大野准教授の協力のもとHL60細胞に対する阻害活性を確認することにした。現在までに、6種のジアステレオマー**24**－**29**を合成し、そのうち**27**以外の活性を評価した。また、2,2－ジメチルセコスリキシド**30**および13-*epi*-セコスリキシド**31**（**16**から変換）を合成し、HL60細胞に対する阻害活性評価を行った。それらの結果をTbale 1に示す。これら誘導体のラクトン上の配置が変わることで、コンフォメーションは顕著に変化することが^{1}H NMRスペクトルから示唆された。セコスリキシドは、それ単独でも中程度の殺細胞活性があることがわかったが、誘導体の多くは活性を失った。ただ、**28**および13-*epi*体**31**はわずかに活性を保っていた。

また、セコスリキシドの最も重要な活性であるコルヒチン耐性を獲得したKB-C2細胞に対するコルヒチンとの協働的な阻害活性、P糖タンパクなどトランスポーター阻害によるものと考えている。本プロジェクトの共同研究者である今村教授は、P糖たんぱく質の排泄阻害活性を簡便に評価できる方法を検討しており、既にセコスリキシドとHL60殺細胞活性が一番低かった**26**をその評価に付した。詳細は今村教授によって報告されるが、セコスリキシドよりも**26**の方が、排泄阻害活性が低かった

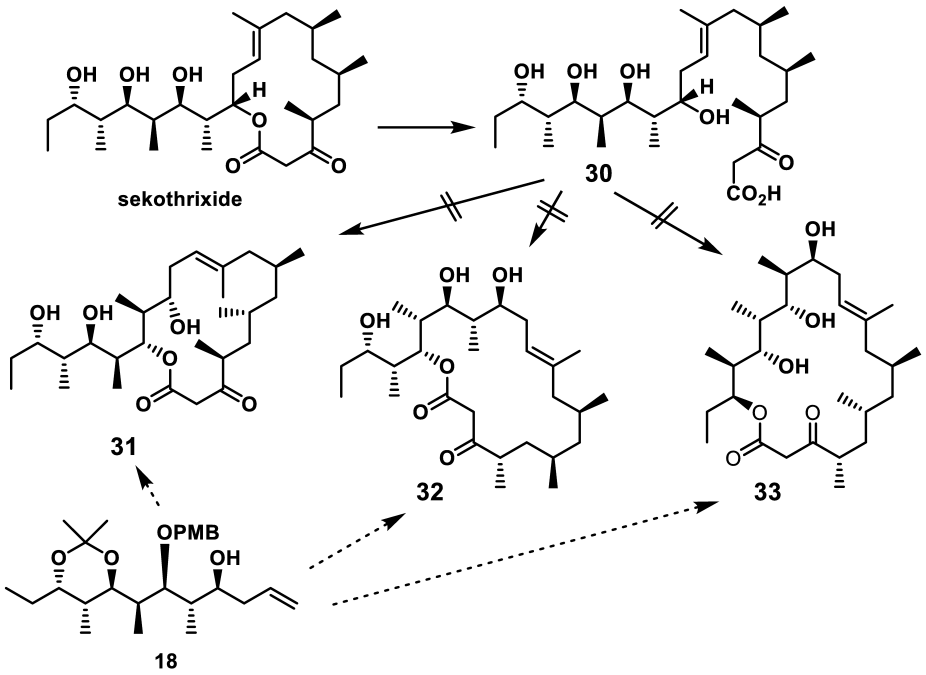
Table 1　セコスリキシド誘導体のHL60に対する殺細胞活性

Compounds	IC50 (μM)
sekothrixide (4*S*,6*R*,8*S*,13*S*)	3.0
24　(4*S*,6*R*,8*R*,13*S*)	23.3
25　(4*S*,6*S*,8*S*,13*S*)	19.8
26　(4*S*,6*S*,8*R*,13*S*)	28.1
27　(4*R*,6*R*,8*S*,13*S*)	ND
28　(4*R*,6*R*,8*R*,13*S*)	8.7
29　(4*R*,6*S*,8*R*,13*S*)	17.2
30　2,2-dimethylsekothrixide	14.3
31　(4*S*,6*R*,8*S*,13*R*)	7.2

セコスリキシドは疎水性の14員環ラクトン部とともに三つの水酸基が存在する長い側鎖があるが、このことを活かした構造改変を行いたいと考えた。具体的には、一度ラクトンを開環して**30**としたのちに、再閉環をすることを考えた。この反応によりセコスキシドと非天然型の16、18、20員環マクロライド**31**－**33**が混合物として取れるであろうが、分取後に活性評価、あるいは混合物のまま活性評価に付すなど、いろいろな方法がとれるであろうと考えた。しかし、残念ながら、マクロラクトン化は進行しなかった。おそらく、*E*－アルケンが組み込まれているためと思われる。そこで、現在は**18**からの合成を検討している。

４．まとめと今後の展望

以上の結果をまとめると、第二世代合成では市販の原料から29工程でセコスリキシドを合成できるようになり、総収率も4.9%と大幅に改善し、一度に数10mgから数100mg単位の合成が可能となった。また、C1-C10位の立体化学が異なるジアステレオマーの合成も検討しており、現時点で５種の立体異性体**24**－**27**, **29**を合成している。コルヒチン耐性を獲得した腫瘍細胞KB-C2の作製が難しいため、松野教授、大野准教授の協力により、HL60細胞に対する抗腫瘍活性を調べた。現在のところ、セコスリキシド自体の活性が一番高く、IC50は0.6 μM程度であった。また、今村教授がセコスリキシドおよび**26**を用いてP糖タンパクの排泄阻害活性を評価した。これに関しては、今村教授の報告を参考にされたい。今後は、糖を結合させるなどの側鎖部の構造修飾を検討するする。また、β―ケトエステル構造であることを利用して2,2－ジメチル体**28**を合成しているが、その位置にさらに長いアルキル側鎖を結合させることによりバイオプローブ化の手掛かりを得る予定である。さらに、様々な腫瘍細胞に対する活性を調べ、その傾向から標的分子を明らかにしようと考えている。



Scheme 6　リングサイズが異なる異性体の合成検討

文献

1. Kim, Y. J.; Furihata, K.; Shimazu, A.; Furihata, K.; Seto, H. *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 1280-1282.
2. *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu* **1996**, 38th, 379-384.
3. Terayama, N.; Yasui, E.; Mizukami, M.; Miyashita, M.; Nagumo, S. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 2794-2797.
4. Terayama, N.; Ushijima, S.; Yasui, E.; Miyashita, M.; Nagumo, S. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 6515-6519.
5. Katsumi, D.; Nakasone, K.; Terayama, N.; Yasui, E.; Mizukami, M.; Miyashita, M.; Nagumo, S. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 1553-1562.

1.6 & 4.3

生理活性化合物の結合分子同定

Identification of Binding Molecules of Bioactive Compounds

闐闐　孝介
理化学研究所 袖岡有機合成化学研究室

Kosuke Dodo
Synthetic Organic Chemistry Laboratory, RIKEN

To Identify the target molecules of bioactive compounds is very important in chemical biology research. Although there are many methods to identify the binding molecules of bioactive compounds, there are many problems to identify the “real” target molecules. In this study, we are planning to develop novel methodologies for target identification. In particular, we focus on the development of novel methods for affinity labeling and affinity purification to identify binding proteins. By using affinity labeling, we can label and identify the binding proteins in live cells. After labeling, we intend to purify the binding proteins by using affinity purification. The combination of affinity labeling with affinity purification could open a new avenue for target identification.

Keywords: Target Protein, Affinity Labeling, Affinity Purification, Raman Spectroscopy

1. はじめに

ケミカルバイオロジー研究において、生物活性化合物の標的分子を同定することはその作用機序解明において非常に重要である。しかしながら、そのための手法はいまだ発展途上であり、様々な手法を検討しながら研究を進めるのが一般的である。

本研究課題では、プロジェクト内で見出される生物活性化合物の標的分子をより効率的に同定するために、新しい標的分子同定法の開発を進めることで、プロジェクトの目指すケミカルバイオロジー研究を加速させることを狙う。特に、標的分子を標識するアフィニティーラベリング法と標的分子を精製するアフィニティー精製法を中心に研究を展開する。

2. 研究計画

平成２６年度

生物活性化合物の標的蛋白質同定を目指し、新しい Turn-ON 型蛍光標識化法の開発と応用を進める。特に、リシン残基と選択的に反応する O-NBD を生物活性化合物に導入し、その反応性を利用して標的蛋白質を蛍光標識することを目指す。まずは様々な生物活性化合物に関して O-NBD を導入する手法の開拓を中心に研究を展開する。

アフィニティー精製法に関しては、アルキンと選択的に錯体を形成できるコバルト錯体をビーズに固定化し、アルキン標識生体分子の濃縮・精製を検討する。

平成２７年度

前年度に検討した O-NBD の導入手法に関して、引き続き様々な合成方法を検討しながら、得られた O-NBD プローブに関しては標識実験などを開始する。その上で、プローブ設計に重要な知見などを得て、標的蛋白質同定を加速させる。

アルキン標識分子の精製法に関しては、コバルト固定化ビーズを用いた検討を進めながら、新しい担体や、精製タグの開発も検討する。また、アルキンをラマン顕微鏡で検出するシステムを利用して、HPLC で分画されたフラクションからアルキン標識分子を同定する手法も検討する。

平成２８年度

O-NBD プローブを用いて蛍光標識された蛋白質に関して、その同定および解析を進める。アルキン標識分子の精製法に関しては、より実践的なモデル分子を対象として検討を進め、実際の生物活性化合物の結合分子同定を目指す。

アルキン標識分子に関してはその精製法の改良とともに、HPLC 分画後のラマン検出システムの構築を進める。

平成２９年度

アルキン標識分子に対するアフィニティー精製法およびラマン検出システムをアフィニティーラベル化法に組み合わせて標的蛋白質の同定および解析を加速することを目指し、双方の研究で見出された知見をもとに、組み合わせる手法を模索する。

平成３０年度

アフィニティーラベル化法およびアルキン標識分子の精製法・検出法の双方を組み合わせることでターゲット未知の生物活性化合物に関して、その標的蛋白質の同定を目指す。

３．成果

アフィニティーラベル化法に関しては、これまでに数種類の O-NBD プローブを開発することに成功し、その既知の標的蛋白質の同定と未知の標的蛋白質候補の蛍光標識化に成功した。既知標的蛋白質に関しては、さらなる解析を進め、その標識部位の同定にも成功している。さらに標的未知の化合物に関しても、O-NBD 法を適用し、いくつかの候補蛋白質の同定にも成功している。また、プロテアーゼの共有結合性阻害剤に関してアルキンタグを導入し、アルキンをラマン検出することで、その結合部位を同定することを検討した。その際には、ラマンシグナルを金属ナノ粒子表面上で増幅させる Surface-enhanced Raman Scattering (SERS) の利用を検討した。その結果銀ナノ粒子によりラマンシグナルを 100 万倍以上増強することに成功した。最終的に SERS を利用したスクリーニングにより、プロテアーゼ阻害剤の結合部位を同定することに成功した。

アフィニティー精製法に関しては、コバルト固定化ビーズを利用することでアルキン標識ペプチドの精製に成功した。さらに、種々検討する中でより高い効率でアルキン標識分子を精製できる金属ビーズを見出した。

４．まとめと今後の予定

O-NBD プローブは、既知の標的分子に関しては、その蛍光標識化および標識部位の同定に成功しており、そのポテンシャルの高さを示すことができた。さらに未知の標的蛋白質候補の同定にも研究を展開し、いくつかの標的分子の同定にも成功しており、今後同定された分子が標的とする生理活性と関連するかどうかを昭ことで、本手法の有用性を明らかにできると考えられる。

アルキン標識分子をラマン検出する手法に関しては、すでに蛋白質を用いた検討で実際に化合物が標識する部位の同定にも成功しており、今後より広範なターゲットに適用されることが期待される。アルキン標識分子のアフィニティー精製法に関しても、モデル分子を用いた精製においては、十二分にポテンシャルの高さを示せたことから、今後はより挑戦的なターゲットへと研究を展開したい。その上で、アフィニティーラベル化法、ラマンによる検出法、およびアフィニティー精製法を組み合わせることで、未知標的蛋白質の同定を目指したい。

文献

1. Turn-ON fluorescent affinity labeling using a small bifunctional O-nitrobenzoxadiazole unit, 2014, Chem. Sci., T. Yamaguchi, M. Asanuma, S. Nakanishi, Y. Saito, M. Okazaki, K. Dodo and M. Sodeoka, 5, 1021.
2. A “Catch-and-Release” Protocol for Alkyne-Tagged Molecules Based on a Resin-Bound Cobalt Complex for Peptide Enrichment in Aqueous Media, 2014, Chem. Eur. J., A. Miyazaki, M. Asanuma, K. Dodo, H. Egami, M. Sodeoka, 20, 8116.
3. Alkyne-Tag SERS Screening and Identification of Small-Molecule-Binding Sites in Protein, J. Ando, M. Asanuma, K. Dodo, H. Yamakoshi, S. Kawata, K. Fujita, M. Sodeoka, J. Am. Chem. Soc., 2016, 138, 13901.

1.7　生理活性天然物をリードとするグアニン四重鎖を標的とした抗がん剤の創製

Development Antitumor Agents with Natural Products Targeting G-quadruplex DNA

長澤　和夫
東京農工大学大学院工学研究院

Kazuo Nagasawa
Graduate School of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology

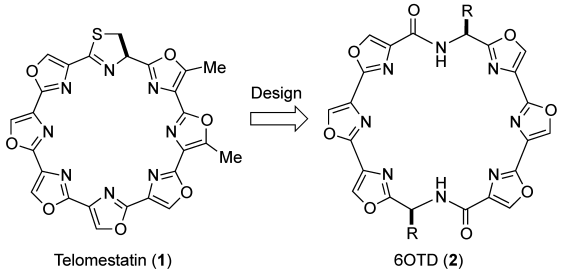
G-Quadruplex (G4) structures in guanine-rich oligonucleotides are involved in replication, transcription and translation processes in cells, and G4 dysfunction is associated with various diseases. Since G4 stabilization is believed to induce growth inhibition, senescence or apoptosis of cancer cells, various G4-stabilizing agents (G4 ligands) have been synthesized, including our recently developed series of macrocyclic polyoxazoles (OTDs). Among OTD derivatives, those bearing side-chain functional groups that interact with phosphate of the DNA backbone show potent G4-stabilizing ability. In this research, we investigated a synthesis of macrocyclic hexaoxazole bearing two phenol side chains, i.e., Y2H2–6M(4)OTD, based upon our previously reported procedure. Y2H2–6M(4)OTD showed moderate and selective stabilizing ability towards G4-forming oligonucleotides without altering their topology. It also shows growth-inhibitory activity against several cancer cells i*n vitro* and *in vivo*.
Keywords: G-quadruplex, Telomestatin, Macrocyclic Oxazole, Anticancer Agents

1. はじめに

染色体の末端に存在するテロメアは、細胞分裂の度に短くなり、限界に達すると細胞分裂を停止し老化によりアポトーシスが誘導される。一方がん細胞ではテロメアを伸長する酵素テロメラーゼが高発現しており、テロメアが伸長される。これによりがん細胞は老化を回避し不死化している。従ってテロメラーゼの阻害はがん細胞の老化を導くことから副作用の少ないがん分子標的である[1]。ところでテロメアはグアニンの豊富な(TTAGGG)の繰り返し配列からなり、一価のカチオン存在下でグアニン四重鎖（以下 G4）を形成する。ヒトテロメアにおいて G4 が形成されると、テロメラーゼの接近の阻害によりテロメア伸長反応が阻害される[2]。従って、低分子化合物を用いた G4 構造の安定化は、テロメラーゼ活性の阻害に基づく抗がん剤の開発につながる。天然物 Telomestatin (**1**)は G4 構造を強力に安定化することが報告されている[3]。そこで我々は **1** の構造をもとに合成化学を基盤とし、強力な抗腫瘍活性を示す化合物の創製に取り組むこととした。

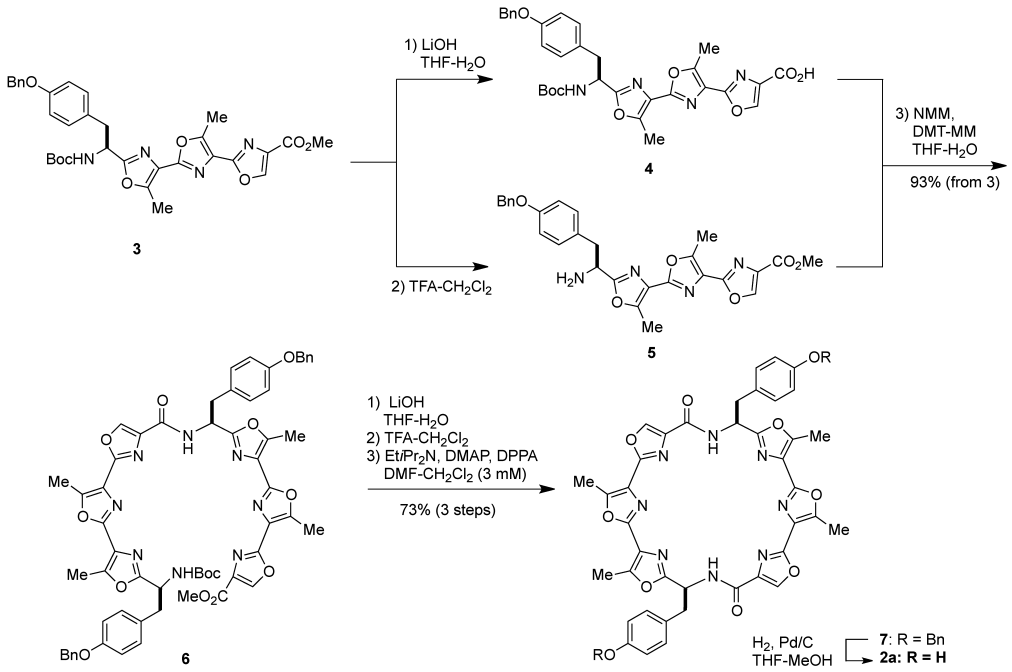
2. 成果

Telomestatin (**1**)の構造を基に構造展開を行うためのリード骨格として、**1** の母核中の大環状骨格とオキサゾール構造に着目し、大環状骨格中に６つのオキサゾールを有する 6OTD（**2**）を設計した。6OTD は、分子内に R 基（側鎖）を有する。この部位の構造展開により、目的とする抗腫瘍活性を有する化合物が創製できると考えた。



実際に、天然のアミノ酸を出発原料として、R に様々な官能基を有する 6OTD 誘導体を合成した。Scheme 1 に、側鎖にフェノールを有する Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)の合成を示した。L-チロシンを原料に、トリオキサゾール **3** を得、水酸化リチウム、TFA と反応させそれぞれカルボン酸 **4**、アミン **5** とした。ついで **4** と **5** を縮合剤を用いてカップリングすることでビストリオキサゾール **6** を得た。**6** のメチルエステルを水酸化リチウムを用いて加水分解し、TFA による Boc 基の脱保護を行い、精製することなく iPr$_2$EtN、DMAP、DPPA 存在下、高希釈条件下 (3 mM) で大環状化反応を行うことで **7** を 73%の収率で得た（3 工程）。さらに **7** に対し Pd/C 存在下、水素添加反応を

行うことで Bn 基を脱保護し Y2H2-6M(4)OTD (**2a**) を得ることができた (Scheme 1)。



Scheme 1　　Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)の合成

得られた Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)について、テロメア G4 に対する安定化能の評価および細胞増殖抑制活性をそれぞれ評価した。以下に結果をまとめる。

テロメア G4 に対する安定可能および選択性について、5’-FAM-d[GGG(TTAGGG)3]- TAMRA-3’の塩基配列である telo21 を用い、FRET 融解実験により評価を行った。その結果、**2a** の telo21 に対する Δ*T*m 値は 16.6 °C であった。一方 G4 を形成しないモデル 2 本鎖配列の Δ*T*m 値はほぼ 0 であった。このことから、**2a** はテロメア G4 と選択的に相互作用し安定化することがわかった。

ついでテロメスタチン誘導体 **2a** について、細胞増殖抑制活性を細胞毒性試験にて評価した。その結果、調べた全ての細胞株、A549 (肺がん細胞株)、DU145 (前立腺がん細胞株)、Hela (子宮頸がん細胞株) 、U251（脳腫瘍細胞株）および MCF7 (乳がん細胞株)について顕著な細胞増殖抑制活性を示すことがわかった (IC50 値: 0.068–0.82 μM) 。得られた結果をもとに、化合物 **2a** の U251 担がんモデルマウスにおける抗腫瘍効果を検証した。その結果、**2a** は腫瘍の増大を優位に抑制した。なおこの際 **2a** 投与によるマウスの体重減少は認められなかった[4]。

３．まとめと今後の展望

本研究では、強力な抗腫瘍活性をしめす Telomestatin (**1**)の母骨格を元に構造展開をして見出した Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)について物性と高腫瘍活性を評価した。その結果 **2a** は、テロメア G4 を標的とし、種々のがん細胞の増殖を抑制することがわかった。さらに **2a** は、脳腫瘍細胞株 U251 の担がんモデルマウスにおいて顕著な腫瘍増殖抑制活性を発揮することがわかった。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、生物活性評価を行っていただいた、がん研究会がん化学療法センター分子生物治療研究部部長 清宮啓之博士、および同研究所 岡部幸子氏に深謝いたします。

文献

1. Blackburn, E. H. Switching and Signaling at the Telomere. *Cell* **106**, 661–673 (2001).
2. Rizzo, A. et al. Stabilization of quadruplex DNA perturbs telomere replication leading to the activation of an ATR-dependent ATM signaling pathway. *Nucleic Acids Res.* **37**, 5353–5364 (2009).
3. Shin-ya, K. et al. Telomestatin, a Novel Telomerase Inhibitor from Streptomyces anulatus. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 1262–1263 (2001).
4. Nakamura, T. et al. Targeting glioma stem cells in vivo by a G-quadruplex-stabilizing synthetic

macrocyclic hexaoxazole. *Sci. Rep*. **7**, Article number:3605 (2017).

1.8　がん免疫寛容解除物質の探索と作用機序解明

Identification of New Chemical Entities with Cancelling Cancer Immunological Tolerance and Elucidation of the Mechanism of Action

松野　研司
工学院大学　先進工学部　生命化学科

Kenji Matsuno
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

Kynurenine and the metabolites are responsible for immunological tolerance. It has been reported that kynurenine modulates T cells by suppressing their proliferation and inducing apoptosis, and activate regulatory T (Treg) cells. Namely, cancer cell-derived kynurenine promotes tumor-cell survival and motility, and suppresses the antitumor immune response through aryl hydrocarbon receptor (AhR) in an autocrine/paracrine fashion. Therefore, the abrogation of kynurenine production in cancer cells is thought to be a promising approach to anticancer immunotherapy. Based on the importance of kunurenine pathway in cancer drug discovery, identification of modulator for kynurenine pathway is being investigated. As the results of cell-based screening on our original chemical library including natural product derivatives, we have identified several chemotypes as kynurenine production inhibitor without obvious cytotoxicity. The elucidation of the mechanism of action is now ongoing.

Keywords: anticancer agent, immunological tolerance, kynurenine, indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), inhibitor.

1. はじめに

近年、分子標的薬と呼ばれる抗がん剤が続々と開発されているものの、本質的には細胞増殖阻害剤が多いため重篤な副作用発現は避けられない。したがって、患者さんの生活の質（quality of life; QOL）を向上させるには、身体的負担が少ない抗がん剤開発が必要不可欠である。

そもそも『がん』細胞は、ヒトにとって本来は異物であるにもかかわらず、免疫機能をくぐり抜け排除されない存在（免疫寛容）となっている。近年、この免疫寛容には、がん細胞が産出するキヌレニンという物質の関与が指摘されている。したがってキヌレニン産生阻害剤は、がん細胞の免疫寛容機構を破綻させる抗がん剤となりうると考えられる。すなわちキヌレニン産生阻害剤は、既存抗がん剤のような直接的な細胞増殖阻害剤ではなく、いわゆる『免疫療法剤』となることから、重篤な副作用が大幅に軽減された革新的抗がん剤になることが期待される[1]。

がん治療のコンセプトとしての免疫療法は、今に始まった話ではなく、古くは（いわゆる）丸山ワクチンが注目を浴びた 60 年近く前にさかのぼる。しかしながら、科学的なエビデンスに基づいて承認された医薬品は、つい数年前に登場した抗体医薬ニボルマブ（オプジーボ）までは皆無であった。昨今の新聞報道等によりセンセーショナルに取り上げられている本薬剤は、既存の抗がん剤とは一線を画す新たな光明を（エビデンスを伴って）患者に届けていることは間違いない。一方で、その高額な薬価が問題視され、本邦の国民皆保険制度の破綻への危惧が現実味を帯びていることから、その代替となる薬剤経済学的に優れたがん免疫療法剤の開発は焦眉の急となっている。この社会的要請に応えるべく、低分子化合物によるがん免疫療法剤の開発を目的とした本研究を開始した。また後述するように、本研究では細胞系でのフェノタイプアッセイを基軸とすることから、いわゆるケミカルバイオロジー的観点よりヒット化合物の作用機序を解明することで、新たな抗がん剤の標的分子も提示できる。

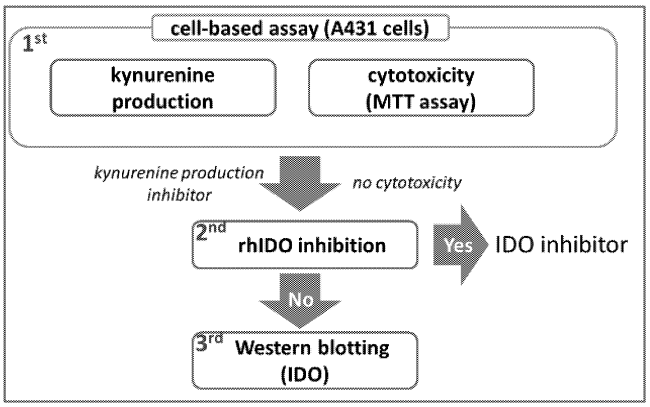
2. 研究計画

（平成２６年度）

本 PJ 参画前のため、研究計画＆実績はない。

（平成２７年度）

当年度より本 PJ に参画。まずはスクリーニング系構築と化合物ライブラリーを構築し、順次スクリーニングを実施する。見出されたヒット化合物は、作用機序を解明する。スクリーニング戦略は、下記図の通りである。



すなわち、キヌレニンを大量に産生するA431 細胞を用い、独自に構築した化合物ライブラリーをスクリーニングすることでキヌレニン産生抑制剤を同定する。その際に、false positive を排除する目的で、細胞増殖阻害活性を示さないことを MTT 法で確認する。

ヒット化合物に関しては、がん細胞中でトリプトファンからキヌレニンへ変換する indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)に対する阻害活性を評価する。IDO 阻害活性を示した化合物は IDO 阻害剤として誘導体の合成を展開する（次年度以降）。IDO 阻害活性を示さなかった化合物は、Western bblotting により IDO 発現量を評価し、その作用機序解明へとつなげるとともに、誘導体の合成を展開する（次年度以降）。また有機合成化学的アプローチとして、IDO 阻害活性を有する天然物 brassinin 誘導体を合成し、強活性化を図る（～平成３０年度）。

（平成２８年度）

前年度よりスクリーニングおよび作用機序解析を継続するとともに、化合物ライブラリーの充実を図りスクリーニング対象を拡充する（～平成３０年度）。特に、本研究室の大野修准教授と連携して、本スクリーニング系を海洋生物抽出物に適用し、活性成分を単離同定する。同時に、前年度のヒット化合物の合成展開を開始する（～平成３０年度）。

（平成２９年度）

平成２８年度の研究計画と同様の内容を実施する。ヒット化合物の作用機序解明においては、必要に応じて新規評価系の構築・評価する。さらに、当年度までに得られた研究成果をもとに特許を出願する。出願後に各種学術発表を実施する。

（平成３０年度）

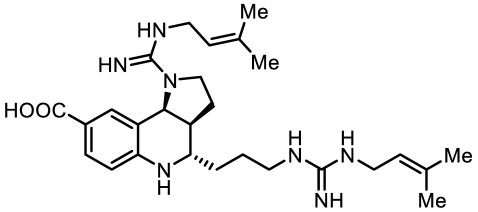
平成２８年度の研究計画と同様の内容を実施する。また前年度に出願した特許の優先権主張に対応する。各種学術発表を実施する。

３．成果

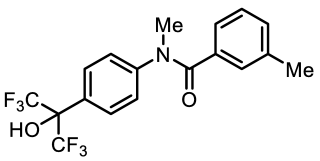
独自の化合物ライブラリー（>1000 化合物）を構築し、このうち 693 化合物をスクリーニングした。その結果、>50%阻害@20 μM（キヌレニン産生抑制活性）および細胞毒性を示さなかった 49 化合物をヒット化合物として同定した（ヒット率 7.1 %）。

ヒット化合物の構造的な特徴を精査したところ、9 種類のケモタイプに大別可能であった。具体的には、熱帯植物 martinella iquitosensis 根茎より単離同定された martinellic acid 誘導体（KP-148 等）、チアジアジン誘導体（KQI-1323 等）、ピリミジン誘導体（KMF-171）、ヘキサフルオロイソプロパノール誘導体（KMF-114 等）、ベンゾチアジン誘導体（KKT-18004 等）、イソキサゾール誘導体（KP-20 等）などであり、周辺化合物の評価結果から一定の構造活性相関を把握できた。

Cpd. No.	IC_{50} (μM)
KQI-1323	**0.19**
KMF-171	**0.38**
KMF-114	1.3
KP-148	2.3
KMF-84	4.1
KP-40	5.2
KMF-116	5.3
KP-41	5.5
KP-130	6.6
KP-66	7.2
TT-50	8.4
KP-150	8.5
KP-20	8.6
KMF-110	8.8
KP-26	9.7



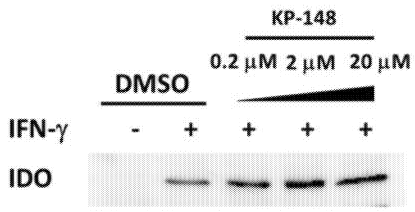
martinellic acid



KMF-114

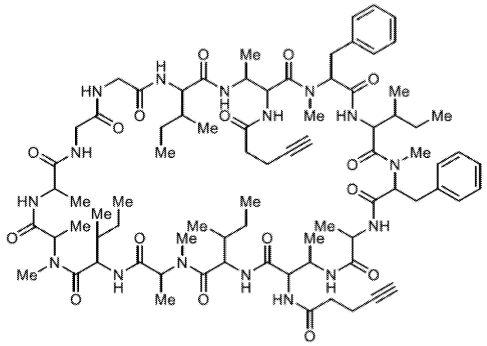
上述のヒットした９種類のケモタイプの作用機序解析を実施した。

- KP-148（martinellic acid 誘導体）は、強いキヌレニン産生抑制活性（IC_{50} = 2.3 μM）を示した。作用機序解析の結果、IDO に対する阻害活性は認められず（@200μM）、また IDO の発現量にも影響しなかった（Western blotting）。これらの結果から、本化合物はがん細胞中でのキヌレニン産生に関与するもう一つの酵素である tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO)への作用が示唆された。

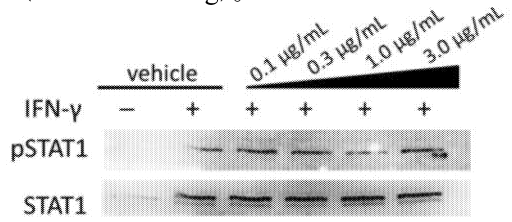


- KMF-114（ヘキサフルオロイソプロパノール誘導体）は、強いキヌレニン産生抑制活性（IC_{50} = 1.3 μM）を示した。本化合物の作用機序解明は今後の検討項目であるが、一方で本化合物は、各種核内受容体（LXR や ROR など）のモデュレーター活性[2]を有することが知られている。キヌレニン産生に核内受容体が関与しているかどうかは不明であるが、少なくともこれらの間の関係性は全く知られていないことから、核内受容体がキヌレニン産生を制御していることが判明した場合は、分子生物学的に大きなインパクトを伴う研究成果になる。

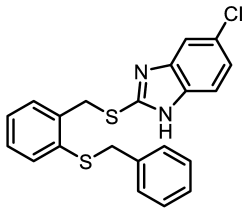
また海洋天然物からの探索に関しては、沖縄県産のシアノバクテリア okeania sp.から、キヌレニン産生抑制活性を示す化合物 KNP-1 の単離に成功した（IC_{50} = 0.5 μg/mL）。各種スペクトル解析より、プロパルギル構造を有する新規環状ペプチド様化合物であることが判明したため、物質特許を出願した。[4]



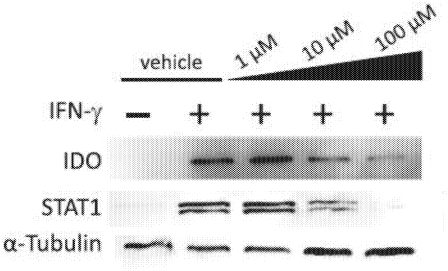
本化合物の作用機序解析の結果、KNP-1 は、IDO に対する阻害活性は認められず（@200μM）、転写因子 STAT1 発現阻害により IDO の発現量を抑制していることが示唆された（Western blotting）。



さらに、IDO 阻害活性を有する天然物 brassinin 誘導体の合成においては、強力な IDO 阻害活性およびキヌレニン産生阻害活性を有する化合物の創製に成功した。共同研究機関において担がんマウス *in vivo* 抗腫瘍活性が評価されたところ、経口投与により有意な腫瘍細胞増殖阻害活性が認められた。本腫瘍細胞に対して *in vivo* で薬効を示す化合物の報告例は極めて少ないことから、極めて promissing な抗がん剤リード化合物の創製に成功したといえる。また、アミジン構造を環内に包含させたベンゾイミダゾール誘導体は、IDO 阻害活性が減弱したものの、興味深いことに強力なキヌレニン産生抑制活性が認められた。そこで、その作用機序解明を検討した。その結果、MF-20 は、IDO に対する阻害活性は認められず（@100 μM）、転写因子 STAT1 の発現阻害により IDO の発現量を抑制していることが示唆された（Western blotting）。[3]



MF-20



４．まとめと今後の予定

- 薬剤経済学的に優れた新規がん免疫療法剤の開発を目指し、キヌレニン産生を抑制する化合物を探索した。独自の化合物ライ

ブラリー（>1000 化合物）を構築し、このうち 693 化合物をスクリーニングした。その結果、49 化合物をヒット化合物として同定した（ヒット率 7.1%）。

- ヒット化合物の作用機序解明に取り組み、２種類のケモタイプの作用機序に関して一定の成果を上げることができた。今後は、標的分子の可能性が考えられる TDO に対する影響を検討する。また KMF-114 誘導体を含め、残りのケモタイプの作用機序解明に取り組む。
- IDO 阻害活性を有する天然物 brassinin 誘導体の合成により、経口投与で有意な *in vivo* 抗腫瘍活性を示す化合物の創製に成功した。また一連の誘導体合成において見出した MF-20 は、IDO 阻害活性が減弱したにもかかわらず強力なキヌレニン産生抑制活性が認められた。そこでその作用機序解明を検討した結果、IDO に対する阻害活性は認められず（@100 μM）、転写因子 STAT1 の発現阻害により IDO の発現量を抑制していることが示唆された。
- >1,000 化合物の未評価オリジナル化合物（非市販）を保有していることから、そのライブラリー化を実施し、スクリーニングと作用機序解明を継続する。
- ヒット化合物の誘導体合成を展開し、活性増強を図る。
- KP-148 は物質特許性があることから、特許出願する。また、誘導体合成によりクレームを拡張する。
- 特許出願後に、各種学術発表を積極的に行う。また現在、複数の論文作成中である。

修

文献

1. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature* **2011**, *478*, 197–203. C. A. Opitz, M. Platten, *et al.*
2. Preparation of bis(trifluoromethyl) hydroxymethylbenzenesulfonamides, -ureas, and -carbamates as liver X receptor modulators. PCT Int. Appl. WO 2000054759, L. Li, K. Lustig, *et al*.
3. Cyclic analogue of S-benzylisothiourea that suppresses kynurenine production without inhibiting indoleamine 2,3-dioxygenase activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 2846–2849. Fukuda, M.; Matsuno, K. *et al.*
4. 環状ペプチド化合物、キヌレニン産生阻害剤及び医薬組成物（特願 2017-174800、2017 年 9 月 12 日出願）松野研司、大野

2.1 気生微細藻類由来生理活性物質の探索，
機能解析，および効率的生産

Characterizations of bioactive compounds from aerial microalgae and their efficient production

油井　信弘
工学院大学先進工学部生命化学科

Nobuhiro Aburai
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

Microalgae inhabit aquatic and/or terrestrial environments with sufficient solar energy and convert atmospheric carbon dioxide into organic compounds such as proteins, carbohydrates and membrane lipids through photosynthesis. These by-products have been widely utilized as high-value feed ingredients for animals or as healthy food components for humans. Aerial microalgae (aeroterrestrial microalgae) growing on the surfaces of various substances such as rock and soil are able to survive in severe terrestrial environments. The aim of the present study was (1) to develop a simple and rapid assay utilizing aerial microalgae which helps to identify stress conditions that can efficiently enhance the carotenogenesis in photosynthetic organisms, (2) to investigate the effects of aerial condition on esterified xanthophyll accumulation in algal cells, and (3) to isolate bioactive compounds isolated from colonies of the photosynthetic microorganisms and evaluate the antibacterial activities.
Keywords: Aerial microalgae, Bioactive compounds, Carotenoids, Chlorophylls

1. はじめに

生物が作り出す様々な生理活性物質は、古来より人類の生活を豊かにしてきた。様々な生物の遺伝子解析により、数多くの生合成遺伝子が通常の生育では発現しない、いわば休眠状態にあることが示され、これら休眠遺伝子の制御により新規物質の発見と大量生産を目指す研究が天然物化学の主流の一つになっている。ほとんどの生理活性物質は自然界から微量しか得られず、大量生産の研究が社会的に求められている。一般に海や湖などに存在する微細藻類、大型藻類、藍藻などの光合成生物は、二酸化炭素を固定すると同時に色素、アミノ酸、脂質、多糖、抗生物質など様々な生理活性物質を産生することが知られている。

気生微細藻類は、陸上の厳しい環境（直射日光、寒暖差、乾燥、栄養分の欠乏など）において、岩場などの基物表面上で赤橙色のコロニーを形成しながら生活しており、これまでに我々は、東京都檜原村の山道にあるコンクリート擁壁の表面から新たに気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 を単離した。この藻体は、窒素源の欠乏がトリガーになり、アスタキサンチンおよびアドニキサンチンとその脂肪酸エステル体を含む様々なカロテノイドを大量に蓄積することができる。環境ストレスに応じて機能性色素の蓄積量を大きく変化できることから、色の変化を指標にできる気生微細藻類は、生理活性物質の生合成制御研究において極めて重要である。本研究では，気生微細藻類の脂質成分に含まれる生理活性物質（抗酸化物質や抗菌活性物質）の探索とそれらの機能解析および効率的生産に関する研究成果を報告する。

２．研究計画

平成２６年度

岩場やコンクリート塀などの基物表面から気生微細藻類を採集し，種々の藻株を単離した。順次得られた藻株の液体培養を試みて，生育速度（比増殖速度）や培地栄養源（無機窒素源）の取り込み速度などについて評価した。また，カロテノイド産生株の選定と 18S rDNA による種の同定を行った。その結果，栃木県日光市湯西川から有望株として緑藻 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 を得た。

平成２７年度

各種培養条件における気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 のカロテノイド蓄積能の検討と，

LC-MS，GC-MS などによる蓄積したカロテノイドの分離と構造解析を行った。また，奥多摩地区における幹線道路沿いの基物表面から気生微細藻類のコロニーを採集し，脂質成分における抗菌活性物質の 1 次スクリーニングを放線菌を用いて行った。

平成２８年度
塩ストレス培養による気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 のエステル型カロテノイドの選択合成とその機構の解明を行った。また，採集した気生微細藻類のコロニーから抗菌活性を示す物質を単離し，NMR，LC-MS などにより構造推定した。

平成２９年度
塩添加培養において，気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 のエステル型カロテノイドの生合成系に関わるアシルトランスフェラーゼの発現量と気生微細藻類のストレス応答システムについて詳細に検討する。また，気生微細藻類のコロニーから抗菌活性を示す新規物質の構造を決定する。その化合物を産生する気生微細藻類を突き止め，単離して培養を試みる。

平成３０年度
気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 由来エステル型カロテノイドの生理活性評価を行う。例えば，慢性骨髄性白血病細胞 K562 に対する種々の脂肪酸がエステル結合したカロテノイドの抗腫瘍活性を調べる。気生微細藻類由来抗菌活性物質に関しては，グラム陽性菌，グラム陰性菌，酵母菌，放線菌に対する抗菌活性評価および最小発育阻止濃度の検討を行う。

3. 成果

3.1 生理活性物質によるカロテノイド生合成制御の評価系

光合成生物、菌類、動物など広範囲に存在するテルペノイドは、60,000 を超える化合物が知られ、その中には、医薬、農薬、香料、色素、高分子材料や潤滑油など、さまざまな産業価値をもつ化合物が含まれる。このような背景から、テルペノイドを効率的に生合成できる研究が進められている。なかでも、テトラテルペン（C40）のカロテノイドは有用な機能性色素であり、細胞内の油滴に蓄積することから、その色彩変化がテルペノイド生合成の活性・制御の指標になると考えた。そこで、様々な培養条件でのテルペノイド生合成の制御活性を評価するため、気生微細藻類のカロテノイド高蓄積株を用い、多検体検出が容易な細胞内カロテノイド蓄積定量分析法を開発した。分光学的に分析することにより、*Coelastrella* sp.に蓄積したカロテノイド量をほぼ正確に算出することができた。続いて、本評価系を用い 75 検体の植物粗抽出物からカロテノイド生合成を活性化させる物質を探索した結果、針葉樹サワラの樹皮成分に含まれていることが分かった。その脂溶性成分から単離した物質は強い活性を示し、分子量 286 で芳香環を有する totarane 型ジテルペノイドであると推定された。

3.2 気生微細藻類における抗酸化物質（エステル型カロテノイド）の選択合成

カロテノイドは代表的な抗酸化物質の一つであるが、その抗酸化能に起因しない生理活性をもつことが分かってきた。アスタキサンチンやアドニキサンチンなどのキサントフィル類は水酸基をもつために脂肪酸エステル体を形成するが、それらの生理活性は詳しくわかっていない。*Coelastrella* sp.によるエステル型カロテノイドの選択合成が可能になれば、エステル型アドニキサンチンをはじめとする様々なエステル型カロテノイドの生理活性を評価することができる。そこで本研究では，気生微細藻類のエステル型カロテノイドの選択合成とその機構を解明するため、気相条件と塩ストレスの影響を検討した。

7 日間で明所下の気相条件において、0 日目と比べて *Coelastrella* sp.のカロテノイドと脂肪酸含有量は約 1.5 と 3 倍にそれぞれ増加した。エステル型カロテノイドの含有量は、光強度 100 μmol photons m^{-2} s^{-1} までは光強度に依存して増加し、それ以上の光強度では減少した。気生微細藻類は、大気中から CO_2 を取り込んでカロテノイドと脂肪酸を合成でき、光がエステル化反応に影響することがわかった。

3.3 気生微細藻類の抗菌活性物質の単離同定

陸上の擁壁の表面上でコロニーを形成して生活する気生微細藻類はオレンジ色をしており、不思議なことに菌やカビが目立って生えている様子が見られない。おそらく、気生微細藻類は抗菌活性物質を産生し、菌の増殖を抑えて優位に存在できる仕組みを有していると思われる。本研究では、壁面に着生している気生微細藻類から抗菌活性物質を探索し、その単離同定と特徴づけすることを目的とした。

東京都檜原村数馬の壁面から気生微細藻類のコロニー採取し、そこから種々のクロマトグラフィー法により抗菌活性画分を分離した。その画分の吸収スペクトルは、特徴的な Soret 帯と Q 帯に極大吸収を有していたため、クロロフィル類が含まれていると考えられるが、主要クロロフィル a~f とは一致しなかった。また、LC-MS 法により質量分析したところ$[M+H]^+$=609.2714、組成式 $C_{35}H_{37}N_4O_6$ のポルフィリン化合物が予測された（図 1）。抗菌活性物質の構造式は、クロロフィル *d* と類似しており、3 位がケトン基であり、長鎖側鎖であるフィトール鎖を有していないことが分かった。

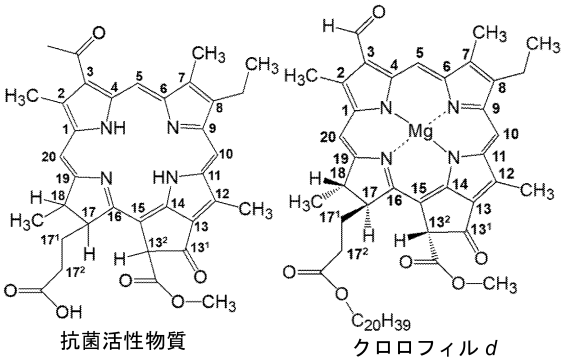


図 1 気生微細藻類コロニー由来抗菌活性物質の推定構造とクロロフィル *d*

文献

1. Ohkubo K, Aburai N, Miyauchi H, Tsuzuki M, Abe K (2017) CO_2 fixation and lipid accumulation in biofilms of the aerial microalga *Coccomyxa* sp. KGU-D001 (Trebouxiophyceae). *J. Appl. Phycol.*, **29**, 1745-1753.
2. Saeki K, Aburai N, Aratani S, Miyashita H, Abe K (2017) Salt-stress and plant hormone-like responses for selective reactions of esterified xanthophylls in the aerial microalga *Coelastrella* sp. KGU-Y002. *J. Appl. Phycol.,* **29**, 115-122.
3. Aburai N, Kazama H, Tsuruoka A, Goto M, Abe K (2018) Development of a whole-cell-based screening method for a carotenoid assay using aerial microalgae. *J. Biotechnol.*, **268**, 6-11.
4. Aburai N, Maruyama S, Shimizu K, Abe K (2019) Production of bioactive oligopeptide hydrolyzed by protease derived from aerial microalga *Vischeria helvetica*. *J. Biotechnol.*, **294**, 67-72.

2.2　アミノ化合物との複合化による特徴あるデンプンの創製と食品への応用
－レジスタントスターチの創製と食品への応用－

Development of Resistant Starch and Application to Food Products

山田　昌治
工学院大学先進工学部応用化学科

Masaharu Yamada
Department of Applied Chemistry, Kogakuin University

Conjugation of 20 types of amino acids and wheat starch by heat-moisture treatment was carried out. The gelatinization temperature increased remarkably, and it showed that the degree is closely related to the charge characteristics of amino acids. In particular, it showed high gelatinization temperatures in conjugation with glutamic acid or aspartic acid which are acidic amino acids.

Furthermore, we found that the conjugate has a significantly improved resistance to digestion over native starch. In the future, we will focus on indigestible properties, aim for further improvement of indigestibility, and try to apply to breads.

Keywords: Resistant Starch, Amino Acid, Heat Moisture Treatment,

1. はじめに　天然物由来のデンプンは糊化特性を利用した食品素材として用いられているが、食品工業の発達とともに天然デンプン以上の特性を持ったデンプンの創製が求められている。一つは酢酸やエーテルといった化学物質を修飾することで糊化温度を上昇させ、冷凍食品（冷凍耐性付与）やチルド食品（老化耐性）へ応用されている[1,2]。しかしながら化学物質で修飾したデンプンは食品衛生法では添加剤とみなされるため、消費者の嗜好に沿うソリューションとはいえない。これに対して Sair らは、120℃程度の飽和水蒸気下でデンプンを処理すると有意に糊化温度が上昇することを見いだしており、これを湿熱処理と名付けた[3]。湿熱処理に伴って糊化温度が上昇するメカニズムはすでに Arns らによって明らかにされている[4]。この技術に基づいて、Takahashi らのグループは、タピオカデンプンやジャガイモデンプンとグルタミン酸ナトリウムを湿熱処理するとデンプン単体で処理するよりも顕著に糊化温度が上昇することを見いだした[5,6]。本研究では、パンや麺に添加することを想定し、コムギデンプンと 20 種類のアミノ酸を湿熱処理することで、アミノ酸ごとに糊化特性がどのように変化するかを明らかにし、難消化性という新しい切り口での展開を図る。

2. 研究計画

平成２６年度
（１）各種デンプン素材（コムギ、タピオカ、ポテト、コーン（同一植物由来でもアミロース/アミロペクチン比の異なった素材を用意））糊化特性評価
（２）各種デンプン素材の単体での湿熱処理特性の評価
（３）各種デンプン素材および湿熱処理デンプンの懸濁液の温度/粘度特性の評価と食品適用可能性の検索（どのような用途に適しているか）
（４）湿熱処理効果の高いデンプン素材の絞り込み

平成２７年度
（１）絞り込んだデンプン素材（３種類程度を想定）について２０種類のアミノ酸との湿熱処理
（２）デンプンのミクロトームによる切片作製と断面構造観察技術（電子顕微鏡、蛍光染色）の構築
（３）複合化デンプンの糊化特性測定および懸濁液の温度/粘度特性評価

平成２８年度
（１）断面観察による湿熱処理および複合化メカニズムの検討
（２）そのためのキャラクタリゼーション技術の開発（ＸＲＤ，ＩＲ，蛍光染色）

平成２９年度
（１）複合化デンプンの物性評価に基づくモデル食品実験系の構築
（２）モデル実験系によるデンプンの性能評価
平成３０年度
（１）実際の食品系への適用と評価（このステージはメーカーとの共同研究も視野に入れる）
（２）新規複合化デンプンの権利化

３．成果

（１）20 種類のアミノ酸とコムギデンプンの湿熱処理による複合化を行った。糊化温度は顕著に上昇し、その程度はアミノ酸の荷電特性と密接に関係していること示した。特に酸性アミノ酸であるグルタミン酸やアスパラギン酸との複合化において高い糊化温度を示した。
（２）未処理デンプン、湿熱処理デンプン、20 種類の複合化デンプンについて、迅速粘度測定装置（RVA）を用いて、糊化・老化特性を測定した。酸性アミノ酸との複合化デンプンは、他の系に比べて、明確に糊化粘度が低く、老化しにくいことが分かった。この知見は、湿熱処理によるアミノ酸複合化デンプンを食品に適用する際の重要な情報となる。
（３）複合化のメカニズムを探るため、X 線回折、およびデンプン粒子断面の顕微鏡観察を行った。湿熱処理に伴って結晶構造には変化がみられなかった。一方、粒子断面の観察を行ったところ、微細構造はみられなかったが、αアミラーゼ液を滴化したところ、同心円状の層状構造がみられ、湿熱処理に伴って層間距離に変化が起こることが分かった。
（４）デンプンに湿熱処理を行うと、難消化性が少し上昇するが、アミノ酸とともに湿熱処理を行い、デンプン／アミノ酸複合体を作製すると難消化性が数倍程度上昇することが分かった。とりわけ、プロリンとの複合化は未処理に比べて、１５倍程度難消化性が向上した。糊化温度変化と難消化性は必ずしも関係があるわけではなかった。

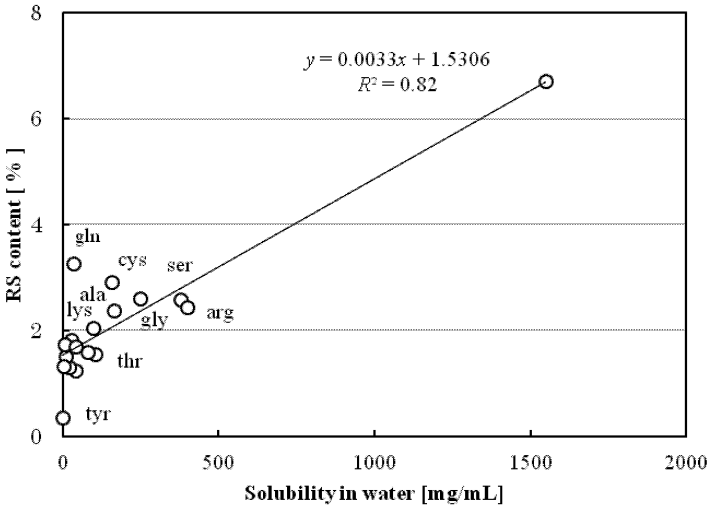


図　アミノ酸の溶解度と難消化性画分含有率の関係

（５）プロリンとの複合化デンプンの難消化性が高い理由を探るため、得られた難消化性のデータといくつかの物性（溶解度、アミノ酸の分子的性質）の関係を調べたところ、右図に示すように、水に対するアミノ酸の溶解度と難消化画分含有率との間に高い相関があることが分かった。このことから複合化のメカニズムとして、アミノ酸とデンプンのヒドロキシ基との間のエステル化反応が挙げられた。
（６）湿熱処理デンプンをパンに添加したときに、製パン品質（比容積、香気成分、クラムの軟らかさ）が低下するという懸念がある。そこで、湿熱処理コムギデンプンを添加したパンを作製したところ、最終発酵時間を延長するだけで、比容積およびクラムの軟らかさ、いずれも無添加のパンと同レベルの品質が得られることを確認した。

４．まとめと今後の予定

湿熱処理によるプロリン–コムギデンプン複合体が比較的高い難消化性画分含有率をもつことがわかった。今後は実際にパンに添加して血糖値上昇抑制効果を調査する予定である。

文献

1) Singh J., Kaur L., McCarthy O.J., Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications, *Food Hydrocolloids*,

21, 1-22 (2007)
2) Fang J.M., Fowler P.A., Tomkinson J., Shill C.A., The preparation and characterization of a series of chemically modified potato starches, *Carbohydrate Polymers*, **47**, 245-252 (2002)
3) Sair. L., Fetzer W.R., Water sorption by starches, water sorption by corn starch and commercial modification of starches, *J. Ind. Eng. Chem.*, **36**, 205-319 (1944)
4) Arns B., Bartz J., Radunz M., Evangelho J.A.D., Pint V.Z., Zavareze E.D.R., Dias A.R.G., Impact of heat-moisture treatment on rice starch, appilied directly in grain paddy rice or in isolated starch, *LWT-Food Science and Technology.*, **60**, 708-713 (2015)
5) Yagishita T., Ito K., Yokomizo E., Endo S., Takahashi K., Physicochemical Properties of Monosodium Glutamate-Compounded Tapioca Starch Exceeds Those of Simple Heat-Moisture Treated Starch, *J. Food Sci*, **76**, 980-984 (2011)
6) Sakauchi S., Hattori M., Yoshida T., Yagishita T., Ito K., Akemitsu S., Takahashi K., Thermal Behavior of Potato Starch and Water-Vaporization Behavior of Its Paste Controlled with Amino Acid and Peptide-Rich Food Materials, *J. food Sci.*, **75**, 177-183 (2010)

２－３

キチン分解酵素の遺伝子発現解析と キチンオリゴ糖生産への展開

Gene Expression Analysis of Chitinase and Application of Chitinase in Chitin Oligosaccharide Production

小山　文隆
工学院大学先進工学部生命化学科

Fumitaka Oyama
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

At the begging, we established a quantitative real-time PCR (qPCR) system using a single standard DNA molecule and reported comprehensive analysis of the relative expression levels of mammalian chitinases in normal animal tissues. Next, we successfully expressed animal Chia and Chit1 proteins as recombinant protein fused with Protein A in *E. coli.* In addition, we established a purification method for natural Chia from animals. These recombinant and natural proteins can be used to elucidate detailed biomedical functions of the chitinases. We further established an improved method for a specific detection of chitin oligosaccharides. Using this procedure, we found that Chia generates $(GlcNAc)_2$ at broad pH range of 2.0~8.0. Chia can function as a protease-resistant major glycosidase under the conditions of stomach and intestine and degrade chitin substrates to produce $(GlcNAc)_2$, a source of carbon, nitrogen and energy. We also showed that human Chia has lost its chitinolytic activity by integration of nsSNPs during evolution and that the enzyme can be reactivated by introducing amino acids conserved in the mouse counterpart. Finally, we showed that Chia effectively produces different chitooligosaccharides from chitosan substrates under physiological conditions.

Keywords: Acidic Chitinase, Chitinolytic Activity, Chitooligosaccharides, Chitotriosidase, Digestive enzyme, Gene Expression Analysis, Natural and Recombinant Proteins.

1. はじめに

キチナーゼは，甲殻類，昆虫，真菌類の主な構成要素であるキチンの β-1,4 グリコシド結合を加水分解する。ほ乳類はキチンとその合成酵素を生産しないが，活性のある二種類のキチナーゼ，キトトリオシダーゼ（chitotriosidase, Chit1）と酸性キチナーゼ（acidic chitinase, Chia; 別名称，acidic mammalian chitinase, AMCase）を発現している。本研究で，ほ乳類，鳥類のキチナーゼの発現レベルを調べ，キチナーゼ生産組織を明らかにする。そして，それらのタンパク質を大腸菌で発現あるいは動物組織より精製し，キチンオリゴマーを生産する

かについて各種キチンを基質に検証した。

2. 成果

2-1. ほ乳類，鳥類におけるキチナーゼ遺伝子発現解析

ほ乳類，鳥類において，標準 DNA を使って，同じスケールで mRNA レベルを評価するための qPCR システムを確立した [1-4]。この手法を用い，Chia が，雑食動物の胃で多量に発現してていることを明らかにした [5-9]。しかし，ヒト [2, 8]，イヌ（肉食動物）[10]，ウシ（草食動物）[10] の胃での Chia の過剰な発現は認められないことも示した。

2-2. 大腸菌での組換えキチナーゼの発現系の確立と天然キチナーゼの精製法の確立

活性のある Chia と Chit1 を大腸菌で発現する系を確立した [11-13]。そして，組換えマウス Chia と Chit1 の機能的特性を直接比較した (Kimura et al., 論文投稿中)。さらに，キチン結合性を利用し，動物組織からキチンビーズと酢酸あるいは尿素を用いた精製証を確立した [14]。

2-3. キチンオリゴマーの蛍光標識の改良法の確立とキチナーゼ分解産物の解析

キチンオリゴ糖分析のために fluorophore による標識の改良法を確立した [15]。そして，マウス Chia が強酸性から中性で $(GlcNAc)_2$ を生成し，中性条件下で糖転移活性を有することを示した [16]。

2-4. Chia は消化器系で働く糖質分解酵素である

雑食動物の Chia が，胃と腸の条件下で常にキチンを分解し，$(GlcNAc)_2$ を生成する主要な消化酵素として機能し，キチンを分解し，炭素，窒素，エネルギー源となりうる $(GlcNAc)_2$ を生成することを証明した [5-7, 9]。

2-5. アミノ酸置換を伴う一塩基置換によるヒト Chia の活性の喪失と復活

ヒト Chia が，1 アミノ酸変異で活性を喪失し，進化の過程で保存されているアミノ酸に置換することで活性化することを示した [17]。

2-6. Chia は，キトサンからキトオリゴ糖を生成する

マウス，あるいはブタの Chia が，キチンからは主として $(GlcNAc)_2$ を生成し，キチンの脱アセチル化体からキトオリゴ糖を生成することを明らかにした (Wakita et al., 論文準備中; Tabata et al., 論文投稿中)。

今後は，ほ乳類キチナーゼによるキチンオリゴ糖の生産への展開を図りたい。

3. 文献

1. Ohno et al. (2012) Chitinase mRNA levels by quantitative PCR using the single standard DNA: acidic mammalian chitinase is a major transcript in the mouse stomach, ***PLoS ONE.*** **7**, e50381.
2. Ohno et al. (2013) Quantification of chitinase mRNA levels in human and mouse tissues by real-time PCR: species-specific expression of acidic mammalian chitinase in stomach tissues, ***PLoS ONE.*** **8**, e67399.
3. Ohno et al. (2014) Establishment of a quantitative PCR system for discriminating chitinase-like proteins: catalytically inactive breast regression protein-39 and Ym1 are constitutive genes in mouse lung, ***BMC Mol Biol.*** **15**, 23.
4. Ohno et al. (2015) Quantitative Real-Time PCR Analysis of YKL-40 and Its Comparison with Mammalian Chitinase mRNAs in Normal Human Tissues Using a Single Standard DNA, ***Int J Mol Sci.*** **16**, 9922-35.
5. Ohno et al. (2016) Acidic mammalian chitinase is a proteases-resistant glycosidase in mouse digestive system, ***Sci Rep.*** **6**, 37756.
6. Tabata et al. (2017) Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry, ***Sci Rep.*** **7**, 6662.
7. Tabata et al. (2017) Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources, ***Sci Rep.*** **7**, 12963.
8. Uehara et al. (2018) Chitinase mRNA Levels Determined by QPCR in Crab-Eating Monkey (*Macaca fascicularis*) Tissues: Species-Specific Expression of Acidic Mammalian Chitinase and Chitotriosidase, ***Genes*** *(Basel).* **9**. 244.
9. Tabata et al. (2019) High expression of acidic chitinase and chitin digestibility in the stomach of common marmoset (*Callithrix jacchus*), an insectivorous nonhuman primate, ***Sci Rep.*** **9**, 159.
10. Tabata et al. (2018) Chitin digestibility is dependent on feeding behaviors, which determine acidic chitinase mRNA levels in mammalian and poultry stomachs, ***Sci Rep.*** **8**, 1461.
11. Kashimura et al. (2013) Protein A-mouse acidic mammalian chitinase-V5-His expressed in periplasmic space of *Escherichia coli* possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein, ***PLoS ONE.*** **8**, e78669.s
12. Kashimura et al. (2015) Functional properties of the catalytic domain of mouse acidic mammalian chitinase expressed in *Escherichia coli*, ***Int J Mol Sci.*** **16**, 4028-42.
13. Kimura et al. (2016) Functional properties of mouse chitotriosidase expressed in the periplasmic space of *Escherichia coli*, ***PLoS ONE.*** **11**, e0164367.
14. Tabata et al. (2018) Acidic chitinase-chitin complex is dissociated in a competitive manner by acetic acid: purification of natural enzyme for supplementation purposes, ***Int J Mol Sci.*** **19**, 362.

15. Wakita et al. (2017) Improved fluorescent labeling of chitin oligomers: Chitinolytic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions, ***Carbohydr Polym.*** **164**, 145-153.
16. Wakita et al. (2017) Mouse acidic mammalian chitinase exhibits transglycosylation activity at somatic tissue pH, ***FEBS Lett.*** **591**, 3310-3318.
17. Okawa et al. (2016) Loss and gain of human acidic mammalian chitinase activity by nonsynonymous SNPs, ***Mol Biol Evol.*** **33**, 3183-3193.

2.4

細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良

Characterization and Application of Bacterial Chitinases for Chitin Oligosaccharides Production

坂口　政吉
工学院大学先進工学部生命化学科

Masayoshi Sakaguchi
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

Two putative chitinase genes, *lin0153* and *lin1996*, from *Listeria innocua* were expressed in *Escherichia coli*, and the gene products were identified as chitinases. LinChi78 (*lin0153* product) presumably has three domains, a catalytic domain (CatD), a fibronectin type III-like (FnIII) domain, and a chitin-binding domain (ChBD), and LinChi35 (*lin1996* product) has only a CatD. LinChi78 and LinChi35 exhibited different actions on polymeric, oligomeric, or artificial substrates, with processive exo- and nonprocessive endo-manner, respectively. LinChi78 possesses larger predicted CatD than LinChi35 as well as other reported chitinases because an unknown function region (UFR) is inserted. C-terminally truncated or internally deleted LinChi78 mutant studies demonstrated that the UFR contributes to eliciting LinChi78 hydrolyzing activity and both Gln569 and Ile571 in UFR play central roles in the function. To produce long-chained chitin oligosaccharides (COS) such as $(GlcNAc)_6$ using chitinases, we tried to confer the transglycosylation activity on LinChi35 by introducing amino acid substitutions within its active site. Some single mutants produced more $(GlcNAc)_6$ from β-chitin than wild-type LinChi35 and the small amount of $(GlcNAc)_6$ from $(GlcNAc)_4$, suggesting that LinChi35 mutants may catalyze the transglycosylation reaction to produce longer COS. Although further studies are needed, these insights will help in making chitinases useful in biotechnological applications.
Keywords: characterization, chitinase, chitin, transglycosylation, *Listeria* sp. chitin oligosaccharide

1. はじめに

カニなどの甲殻類や昆虫の外殻の構成成分であるキチンは、*N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) の直鎖状多糖で、キチンを脱アセチル化して調製されるキトサンは唯一プラスに荷電した多糖である。キチン、キトサンは、セルロースに次いで豊富に存在する多糖で、生体適合性、生分解性を示し、そして創傷治癒促進効果などの生理活性を有することから、医療用生体材料としての研究・開発が進められている。キチン、キトサンから調製されたキチン/キトサンオリゴ糖にも類似の生理活性が報告され、健康食品や化粧品産業において、その需要が高まってきている[1, 2]。しかし、難溶性キチンからのキチンオリゴ糖調製とその生理活性の検証は、比較的調製が容易なキトサンオリゴ糖に比べて遅れている。そこで、未利用バイオマスの有効活用という観点から、キチン分解酵素 (キチナーゼ)やそのアミノ酸変換体を用いて、六量体以上のキチンオリゴ糖の生産を目標とした。

キチナーゼは、キチンを加水分解する酵素の総称で、その構造は触媒ドメインとその他複数のドメインからなる。本研究では、細菌の新規キチナーゼを同定し、その酵素化学的性質を調べた。また、アミノ酸配列比較から、触媒ドメインに含まれ、既知酵素に見られない配列が酵素活性発現に貢献していることや、その中心となるアミノ酸を同定した。さらに、加水分解活性に寄与しているアミノ酸を置換し、糖転移活性を付与することで、六量体以上のキチンオリゴ糖生産を試みた。

2. 研究計画

平成２６年度：大腸菌による組換え酵素の発現、および精製酵素の取得を試みる。組換え酵素の酵素化学的性質の解析を行う。
平成２７年度：キチンオリゴ等や塩酸処理したコロイダルキチン，結晶性キチンに対する酵素作

用の検証を行う。また，変異導入組換え酵素を作製し，活性を解析する。それらを用いたキチンオリゴ糖生産および生産物の鎖長，配列の解析を行う。
平成２８年度：変異導入組換え酵素を作製する。それらの精製酵素を用いてキチンオリゴ糖を生産し，生産物の同定を行う。また，組換え酵素の酵素化学的性質の解析を行う。
平成２９年度：組換え酵素および変異導酵素によるキチンオリゴ糖生産の生産条件検討を行う。
平成３０年度：酵素によるキチンオリゴ糖生産系の構築および高機能酵素作製を試みる。

3. 成果

3.1 新規キチナーゼの性質解析

リステリア菌の染色体 DNA からキチナーゼ様配列を持つ遺伝子二種 (*lin0153* 遺伝子と *lin1996* 遺伝子)を取得し、大腸菌を宿主として発現させた。二種の遺伝子産物、LinChi78 (*lin0153* 遺伝子産物) および LinChi35 (*lin1996* 遺伝子産物)、を精製し、キチン多糖やキチンオリゴ糖、そして人工基質 [4NP-$(GlcNAc)_2$] に対する反応性を調べ、キチナーゼとして同定した。これら酵素の酵素化学的性質は人工基質を用いて解析した。多糖基質であるコロイダルキチンや結晶性キチンを用いると主に二量体が生産され、LinChi35 による反応産物には、微量に三量体と四量体が検出された。また、鎖長の異なるキチンオリゴ糖への反応性が異なっており、これらの分析結果から、LinChi78 はエキソ型プロセッシブ酵素、LinChi35 はエンド型非プロセッシブ酵素であると結論づけた。さらに、これら酵素の多糖への結合性も解析した [3]。また、枯草菌からも新規キチナーゼを同定し、同様に酵素化学的性質や多糖への結合活性を上記酵素と比較解析した[4]。

3.2 LinChi78 の触媒ドメイン解析

LinChi78 は LinChi35 よりも大きいタンパク質で、推定上、触媒ドメイン(CatD)、フィブロネクチン III 様ドメイン(FnIII)、キチン結合ドメイン(CBD)から成り、LinChi35 は CatD 単独の酵素である。 LinChi35 や既知酵素と比較すると、Linchi78 の触媒ドメインに機能未知の領域(UFR)の付加が見出された。そこで、推定上のドメインをそれぞれ C 末端側から順次削除した欠損体、もしくは内部削除した欠損体を作製し、各種基質を用いて評価した。 CBD や FnIII は既報の結果とほぼ一致した役割を示したが、UFR を削除した欠損体の分解活性が著しく減少した。これらの結果から、UFR は酵素の活性上昇に寄与していると示唆された。さらに細分化した欠損体およびアミノ酸置換体評価により、グルタミンとイソロイシン(Gln569 と Ile571)が UFR の中心的な役割を担っていることがわかった[5]。

3.3 LinChi35 への糖転移活性付与の試み

キチナーゼには、加水分解反応だけでなく糖転移反応を示すものがあり、この糖転移反応を利用、増強、もしくは付与した酵素によるキチンオリゴ糖などの生産が試みられている。しかし、LinChi35 のようなエンド型非プロセッシブ酵素では試みられていないため、この酵素の活性部位中のアミノ酸を置換し、糖転移活性の付与を試みた。糖転移反応向上に寄与すると報告があるアミノ酸を LinChi35 に導入した変換体を作製した[6-8]。ほとんどの単独変換体の人工基質に対する加水分解性が著しく低下した。結晶性 α-キチンに長時間作用させた場合、野生型 LinChi35 と同様に主に二量体が検出されたが、β キチンでは六量体が生産された。また、四量体に作用させたところ、二量体や三量体と共に、六量体が検出された。これらの結果は、単独変換体において糖転移反応が付与されたことを示している。今後、各種反応条件、多重変換体や LinChi78 変換体との比較など、さらなる追求が必要となるが、結晶性キチンから六量体以上のオリゴ糖が生産できる可能性が示唆された。生産されたオリゴ糖は、アセトン添加による精製につなげられる [9]。

3.4 関連糖質分解酵素の機能解析

グルコアミラーゼは、デンプンやマルトオリゴ糖を加水分解する酵素で、細菌酵素は N 末端側に N ドメイン、C 末端側に触媒ドメインを持つ。細菌グルコアミラーゼの N 末端領域の配列が、タンパク質のフォールディングを制御し、活性部位形成に関与していることを証明した[10]。また、グルコアミラーゼのアミノ酸配列に類似した 4 種の古細菌タンパク質がトレハロース分解活性を持つことを見いだした。これら古細菌トレハラーゼは好熱性で、狭い酸性領域で活性を持つ。そ

のうちの 3 種は、既知酵素に比べて、トレハロースに対する親和性が低く、1 種は分解活性が低い酵素であった[11, 12]。トレハロースは、保水性やタンパク質凝集抑制などの生理活性を持ち、食品、化粧品、医療の分野で注目されている [13-15]。これら酵素を用いたトレハロース類似体合成へ向けて酵素利用を試みる。

文献

1. Younes I., Rinaudo M. (2015) Chitin and chitosan preparation from marine sources. structure, properties and applications. Marine Drugs 13:1133-1174.
2. Aam B.B., Heggset E.B., Norberg A.L., Sørlie M., Vårum K.M., Eijsink V.G. (2010) Production of chitooligosaccharides and their potential applications in medicine. Marine Drugs 8:1482-1517.
3. Honda S., Wakita S., Sugahara Y., Kawakita M., Oyama F., Sakaguchi M. (2016) Characterization of two *Listeria innocua* chitinases of different sizes that were expressed in *Escherichia coli.* Applied Microbiology and Biotechnology 100: 8031-8041
4. Honda S., Kunii T., Nohara K., Wakita S., Sugahara Y., Kawakita M., Oyama F., Sakaguchi M. (2017) Characterization of a *Bacillus thuringiensis* chitinase that binds to cellulose and chitin. AMB Express 7:51
5. Honda S., Kimura M., Wakita S., Oka Y., Kawakita M., Oyama F., Sakaguchi M. (2019) The *Listeria innocua* chitinase LinChi78 has a unique region that is necessary for hydrolytic activity. Applied Microbiology and Biotechnology 103:1777-1787.
6. Umemoto N., Ohnuma T., Mizuhara M., Sato H., Skriver K., Fukamizo T. (2013) Introduction of a tryptophan side chain into subsite +1 enhances transglycosylation activity of a GH-18 chitinase from *Arabidopsis thaliana*, AtChiC. Glycobiology 23:81-90
7. Sirimontree P., Suginta W., Sritho N., Kanda Y., Shinya S., Ohnuma T., Fukamizo T. (2014) Mutation strategies for obtaining chitooligosaccharides with longer chains by transglycosylation reaction of family GH18 chitinase. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 78:2014-2021
8. Madhuprakash J., Tanneeru K., Purushotham P., Guruprasad L., Podile A.R. (2012) Transglycosylation by chitinase D from *Serratia proteamaculans* improved through altered substrate interactions. Journal of Biological Chemistry 287:44619-44627
9. Kazami N., Sakaguchi M., Mizutani D., Masuda T., Wakita S., Oyama F., Kawakita M., Sugahara Y (2015) A simple procedure for preparing chitin oligomers through acetone precipitation after hydrolysis in concentrated hydrochloric acid. Carbohydrate Polymers 132:304-310
10. Sakaguchi M., Matsushima Y., Nagamine Y., Matsuhashi T., Honda S., Okuda S., Ohno M., Sugahara Y., Shin Y., Oyama F., Kawakita M. (2017) Functional dissection of the N-terminal sequence of *Clostridium* sp. G0005 glucoamylase: identification of components critical for folding the catalytic domain and for constructing the active site structure. Applied Microbiology and Biotechnology 101:2415-2425
11. Sakaguchi M., Shimodaira S., Ishida S., Amemiya M., Honda S., Sugahara Y., Oyama F., Kawakita M. (2015) Identification of GH15 family thermophilic archaeal trehalases that function within a narrow acidic-pH range. Applied and Environmental Microbiology 81:4920-4931
12. Yuasa M., Okamura T., Kimura M., Honda S., Shin Y., Kawakita M., Oyama F., Sakaguchi M. (2018) Two trehalose-hydrolyzing enzymes from *Crenarchaeon Sulfolobus acidocaldarius* exhibit distinct activities and affinities toward trehalose. Applied Microbiology and Biotechnology 102:4445-4455
13. Elbein A.D., Pan Y.T., Pastuszak I., Carroll D. (2003) New insights on trehalose: a multifunctional molecule. Glycobiology 13:17R-27R
14. Sarkar S., Davies J.E., Huang Z., Tunnacliffe A., Rubinsztein D.C. (2007) Trehalose, a novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and alpha-synuclein. Journal of Biological Chemistry 282:5641-5652
15. DeBosch B.J., Heitmeier M.R., Mayer A.L., Higgins C.B., Crowley J.R., Kraft T.E., Chi M., Newberry E.P., Chen Z., Finck B.N., Davidson N.O., Yarasheski K.E., Hruz P.W., Moley K.H. (2016) Trehalose inhibits solute carrier 2A (SLC2A) proteins to induce autophagy and prevent hepatic steatosis. Science Signaling, 9(416):ra21.

2.5

ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による微生物・海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索

Screening for new drug candidates from microorganisms and marine organisms based on the analyses using cultured human cell lines

大野　修
工学院大学先進工学部生命化学科

Osamu Ohno
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

Natural products and their synthetic analogs are widely used as drugs. Recently, much attention has been given to the metabolites of marine organisms due to their various biological activities. In this study, new drug candidates were screened from marine organisms based on the various analyses using cultured human cell lines. Following results were obtained.

Nutrient starvation in solid tumor is expected as a potential drug target. We explored molecules that induce cell death on HeLa cells under nutrient starvation conditions from marine organisms. The MeOH extract of unidentified cyanobacterium showed the activity, and panaxcerol B was isolated the active compoound. It showed selective cytotoxicity on HeLa cells treated with glycolysis inhibitor, 2-deoxy-D-glucose (2DG).

Inhibitors of kynurenine-production in interferon γ-stimulated A431 cells were screened from marine organisms. The MeOH extract of marine cyanobacterium, *Okeania* sp., showed selective inhibitory activity, and the active compound was isolated using column chromatography. A new peptide was isolated and it inhibited the expression of IDO in A431 cells.

Lipopolysaccharide (LPS) is one of the substances responsible for sepsis. We searched for LPS inhibitors from marine organisms, and found biseokeaniamide A isolated from the MeOH extract of the marine cyanobacterium, *Okeania* sp., showed selective inhibitory activity against LPS. It inhibited the production of nitric oxide (NO) and reduced protein levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the LPS-stimulated RAW264.7 cells.

ER stress-mediated apoptosis leads to the development of neurodegenerative diseases and ischemic disease. Inhibitors of ER stress-induced apoptosis in HeLa cells were screened and the MeOH extract of the green alga was found to show the inhibitory activity. Purification using column chromatographies succeeded in the isolation of methyl (3*R*,4*E*,6*Z*,15*E*)-3-hydroxyoctadecenoenoate (MHO) as the active compound. MHO inhibited thapsigargin-induced cell death in HeLa cells.

Keywords：Cancer, Cyanobacterium, Kynurenine, Lipopolysaccharide, ER stress

1. はじめに

海洋生物由来の生物活性物質には特異な構造に基づく有用な機能を持つものが多い。例えば、ホヤから単離されたエクテナサイジン 743 は卵巣がんの治療薬として、クロイソカイメンから単離されたハリコンドリン B を基に開発されたエリブリンは乳がんの治療薬としてそれぞれ有効活用されている。微生物由来の生物活性物質については研究の歴史が長く、ペニシリンをはじめ、カナマイシン、ストレプトマイシン、マイトマイシン C、イベルメクチンなど数多くの医薬品が見出されてきた。このように海洋生物は医薬品としての応用が期待される化合物を供給する。一方、それらには機能が未知である化合物も多く、その解析は応用面における重要な課題となる。

筆者は微生物や海洋生物から有用性が期待される新規化合物の獲得に取り組み、応用に繋がる研究を進めてきた。これまでに細菌由来のヘプタデプシン、海洋渦鞭毛藻由来のシンビオスピロール類やシンビオポリオール、クロイソカイメン由来のハリコニン類、海洋シアノバクテリア由来のビセリングビオライド類、クラハイン、ジャハナイン等の新規物質をそれぞれ単離・構造決定し、それぞれの化合物に有用性が期待される機能を見出した。

本課題では、治療法の少ない重大な疾患の治療に役立つ新規医薬シード化合物の獲得を目指し、微生物や海洋生物等の天然由来の新規医薬シード化合物の探索に取り組んだ。具体的には、固形癌に特有にみられる栄養飢餓状態、一部のがんに見られる免疫寛容、神経変性疾患の発症に関与

する小胞体ストレス、敗血症の発症に関与する過剰な自然免疫の応答機構等をターゲットとして選択的に抑制効果を示す薬剤を、ヒト培養細胞を用いたスクリーニング系を駆使して天然より探索した。探索源としてはフィールドワークを通じた採集や培養で供給される海洋生物、微生物を用いた。

2. 研究計画

平成２６年度

本プロジェクト参画前のため、研究計画、実績はない。

平成２７年度

神奈川県、千葉県、沖縄県の海岸においてフィールドワークを実施し、新規医薬シード化合物の探索源となる海洋生物サンプルの採集を試みた。微生物サンプルについては財団法人微生物化学研究所との共同研究契約を結び、スクリーニングサンプルの供与を取り付けた。新規医薬シード探索のための評価系として、「①栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索」、「②キヌレニン産生阻害物質の探索」、「③LPS が誘導する炎症を阻害する化合物の探索」、「④小胞体ストレス誘導性細胞死阻害物質の探索」の 4 種のスクリーニング系の構築に取り組んだ。実際にスクリーニングを実施し、いずれの系においても活性サンプルを見出した。

平成２８年度

引き続き、新規医薬シード探索のための評価系を立ち上げ、新たに「⑤新規免疫賦活剤の探索」「⑥がん細胞特有のグルタミン代謝阻害剤の探索」の 2 種のスクリーニング系を構築した。前年度に単離に至った活性物質について NMR 等を用いて構造解析に取り組んだ。得られた活性物質について機能発現機構の解析にも取り組んだ。

平成２９年度

前年の研究計画と同様の内容を実施した。活性サンプルからは順次活性物質の精製を試み、必要に応じてサンプルの採集を行った。また、単離・構造決定に至った化合物については、作用機序の解明を試みた。さらに、当年度までに得られた研究成果をもとに特許を出願した。出願後に各種学術発表を実施した。

平成３０年度

前年の研究計画と同様の内容を実施した。得られた成果について各種学術発表を実施した。

３．成果

新規医薬シード探索のために構築したスクリーニング系のうち、初年度に構築した「①栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索」、「②キヌレニン産生阻害物質の探索」、「③LPS が誘導する炎症を阻害する化合物の探索」、「④小胞体ストレス誘導性細胞死阻害物質の探索」において、活性成分の精製・単離、構造解析、機能解析を進め、それぞれ下記に示す成果が得られた。

① 栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索

固形がんは通常組織とは異なり、栄養飢餓状態に陥りやすい。そのため、固形がんに見られる栄養飢餓状態は新たな創薬標的として注目されている。本研究では、栄養飢餓状態を模した高細胞密度培養条件のヒト子宮頸がん HeLa 細胞に対し、選択的な細胞死誘導活性を示す化合物を海洋生物より探索した。合計 214 種の海洋生物由来サンプルの MeOH 抽出物を MTT 法により評価し、HeLa 細胞に対し高細胞密度選択的な増殖阻害誘導物質を探索した。

スクリーニングの結果、沖縄県国頭群で採集した海洋シアノバクテリア *Lyngbya* sp.が形成するバイオマットに活性を見出し、kalkipyrone（図 1）[1]を単離した。本化合物が示した栄養飢餓選択的な細胞死誘導活性についてその作用メカニズムの解析に取り組んだところ、高密度培養条件の HeLa 細胞に対し選択的な細胞死誘導活性を示し、この細胞死がアポトーシスであることを明らかにした。さらに、kalkipyrone はがん細胞に対し、解糖系阻害剤 2-deoxy-D-glucose (2DG)併用時に選択的な細胞死誘導活性を示した。また、ウシ心臓由来ミトコンドリアの呼吸鎖複合体 I の阻害活性を示した。これらの結果から、kalkipyrone はミトコンドリア呼吸鎖の選択的な阻害による、栄養飢餓

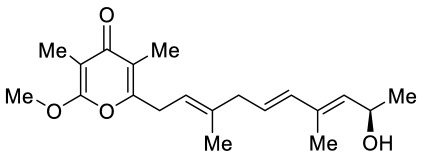


図 1 Kalkipyrone

選択的なアポトーシス誘導活性を示す薬剤であることを見出した。

同様に、千葉県勝浦市で採集した種未同定シアノバクテリアの MeOH 抽出物に活性が認められた。本 MeOH 抽出物を分液操作および ODS カラムクロマトグラフィー、HPLC により精製し、活性成分を単離した。活性物質の構造を各種スペクトル解析した結果、活性成分は脂肪酸グリセリドの配糖体 panaxcerol B であると判明した（図 2）。続いて、panaxcerol B の生物活性を解析したところ、panaxcerol B は解糖系阻害条件およびグルコース飢餓条件のがん細胞に対して選択的に細胞死を誘導した。さらに、panaxcerol B は高細胞密度条件のがん細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導した。これらの結果より、panaxcerol B は解糖系阻害条件のがん細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する化合物であることが示唆された。

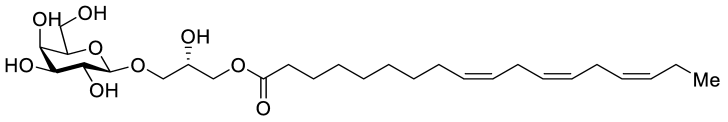


図 2Panaxcerol B

② キヌレニン産生阻害物質の探索

がん細胞は indoleamine 2,3-dioxygenase（IDO）等によるトリプトファン代謝からキヌレニンを産生し、免疫細胞を不活性化することで宿主の免疫反応を回避している（免疫寛容）。[2]したがってキヌレニン産生を阻害する化合物は、免疫寛容の解除に基づく新規がん免疫療法剤として期待される。そこで我々は、多彩な生物活性物質を包含する海洋生物の MeOH 抽出物からキヌレニン産生阻害物質を探索した。また、見出した活性化合物の化学構造および作用機序を解析した。IFN-γで惹起したヒト扁平上皮がん A431 細胞のキヌレニン産生量および生細胞数（MTT assay）を評価し、215 種類の海洋生物の MeOH 抽出物から細胞毒性を伴わないキヌレニン産生阻害物質を探索した。その結果、海洋シアノバクテリア *Okeania* sp.（沖縄県石垣島産）の MeOH 抽出物にキヌレニン産生阻害物質を見出した。同 MeOH 抽出物を ODS カラムクロマトグラフィーおよび HPLC により精製し、活性物質 KNP-1 を単離した。得られた活性物質の KYN 産生に対する IC_{50} 値は 0.5 μg/mL であった（図 3）。各種スペクトルの解析より、KNP-1 は新規環状ペプチド化合物であることが示唆された。また、作用機序の検討より、KNP-1 が示すキヌレニン産生阻害活性は、IDO 活性阻害ではなく、その発現阻害に関与しており（図 4）、かつ JAK-STAT シグナル伝達経路に存在する STAT1 の発現阻害に起因していることが示唆された。

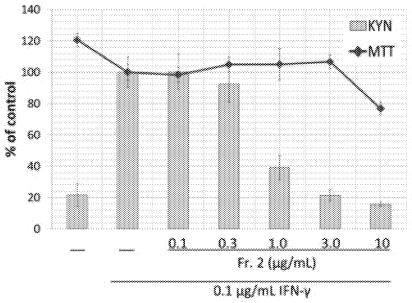


図 3 活性物質による A431 細胞におけるキヌレニン産生の阻害

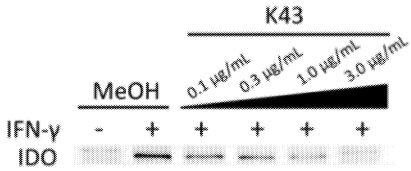


図 4 A431 細胞における IDO の発現の阻害

③ LPS が誘導する炎症を阻害する化合物の探索

リポポリサッカライド（LPS）は、グラム陰性菌の外膜を構成する成分であり、敗血症等の疾患の原因物質である。[3]本研究では、それら疾患の治療薬としての応用を目指し、LPS 誘導性 NO 産生阻害剤を海洋生物より探索した。評価方法として Griess 法を用い、マウスマクロファージ RAW264.7 細胞を LPS で刺激することで誘導される NO の産生量を定量した。[4]海洋生物及び微生物サンプル 348 種をスクリーニングした結果、沖縄県備瀬にて採集した海洋シアノバクテリア *Okeania* sp.のメタノール抽出物に LPS 誘導性 NO 産生阻害活性を見出した。分液操作、ODS カラムクロマトグラフィー、HPLC による精製を経て、活性物質として既知ペプチド化合物 biseokeaniamide A[5]を単離した（図 5）。続いて、

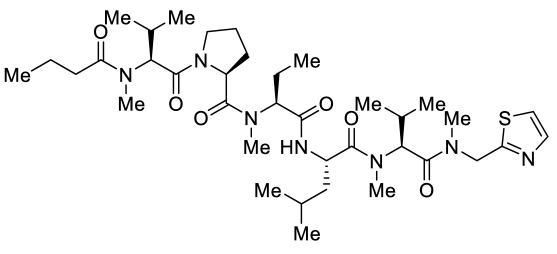


図 5 Biseokeaniamide A

Western blot 法を用いた解析により、LPS 刺激によって誘導される iNOS の発現を biseokeaniamide A が阻害することが分かった。

④ 小胞体ストレス誘導性細胞死阻害物質の探索

神経変性疾患や虚血性疾患の発症には、脳細胞や心筋細胞のアポトーシスが関与することが報告されている。[6]本研究では、それらの細胞のアポトーシスに関与する小胞体ストレス[4]に着目し、海洋生物由来のスクリーニングサンプルより、HeLa 細胞に小胞体ストレス誘導剤 thapsigargin（TG）で惹起したアポトーシスを阻害する化合物の探索を試みた。活性評価には、MTT 法およびトリパンブルー細胞外排出試験を用いた。合計 189 種のサンプルをスクリーニングした結果、沖縄県石垣市で採集した緑藻 *Collinsiella cava* の MeOH 抽出物に TG 誘導性細胞死阻害活性を見出した。ODS カラムクロマトグラフィーや HPLC を用いた精製により、活性成分を単離した。各種 NMR スペクトルの解析により、単離した化合物は methyl-3-hydroxyoctadecatrienoate（MHO）であることが判明した（図 6）。MHO は、1 μM で TG が誘導するアポトーシスに対して有意に阻害活性を示した。

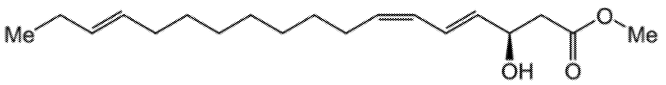


図 6 Methyl-3-hydroxyoctadecatrienoate

４．まとめと今後の予定

新規医薬シード探索のために複数のスクリーニング系を構築し、それぞれの評価系で海洋生物由来サンプルに活性を見出し、活性物質の単離に至った。特に栄養飢餓選択的細胞死誘導物質としてシアノバクテリアから kalkipyrone、panaxcerol B を単離し、それらの化合物がグルコース飢餓条件選択的な細胞死誘導活性を示すことを明らかにした。また、キヌレニン産生阻害物質としてシアノバクテリアから新規ペプチド系化合物を単離し、IDO の発現を阻害する活性を見出した。LPS 機能阻害物質として、biseokeaniamide A を単離し、本化合物が LPS のシグナル伝達を阻害することを見出した。さらに、小胞体ストレス誘導性細胞死阻害物質として MHO を単離した。今後は、それぞれのスクリーニング系で得られた上記以外の活性物質について各種スペクトル解析を行い、それぞれの構造を明らかにする。また、単離した化合物の作用発現機構を解析することで医薬シード化合物としての可能性を追求する。

文献

1) Graber, M. A., Gerwick, W. H. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 677-680.
2) Platten, M., Wick, W., Van den Eynde, B. J. *Cancer Res*. **2012**, *72*, 5435-5440
3) Raetz, C. R., Whitfield, C. *Annu. Rev. Biochem*. **2002**, *71*, 635-700.
4) Iwasaki, K., Iwasaki, A., Sumimoto, S., Sano, T., Hitomi, Y., Ohno, O., Suenaga, K. *Tetrahedron Lett*., **2018**, *59*, 3806-3809.
5) Iwasaki, A., Tadenuma, T., Sumimoto, S., Ohshiro, T., Ozaki, K., Kobayashi, K., Teruya, T., Tomoda, H., Suenaga, K. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 1161−1166.
6) Gorman, A. M. *J. Cell. Mol. Med.* **2008**, *12,* 2263–2280.

1.2 & 3.1

培養基質となる細胞外マトリックスの開発と それを用いた細胞培養系の構築

Development and Application of Extracellular Matrix for New Cell Culture Substrates

今村　保忠
工学院大学先進工学部生命化学科

Yasutada Imamura
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

The development for new assay methods available for chemical biology studies will be aimed. This research is related to two major subjects as below:

Subject 1.　The priority subject study: Development of drugs for cancer treatment

Subject 3.　Development of assay methods for physiologically active, and their improvement and validation

In related to Subject 1, an assay method testing inhibitory activity of sekothrixide against drug resistance in cancer cells was developed using fluorescent reagents and cultured cells. The fluorescent reagents as mimics of anti-cancer drugs were transported by ABC transporters which exclude anti-cancer drugs from cells and reduce their biological effect. In this study, new methods were developed and demonstrated that sekothrixide is an effective inhibitor against P-glycoprotein. Specificity of sekothrixide to P-glycoprotein seems to be in a ring part. Sekothrixide is expected to be a seed for developing new therapeutic drugs.

As for Subject 3, new cell culture method will be explored using type VI collagen aggregates as a cell culture substrate. Improvement of the preparation will be carried out and validation for cell culture substrate will be tested. The molecular processes by which type VI collagen affects on proliferation of cancer cells is a possible target for new cancer treatment.

Another culture substrate was developed using loose connective tissues called fascia. A new method was developed to collect and analyze fascia. Extracellular fibrillar components consisting of collagen fibrils and elastin fibers were partially purified and used for cell culture substrates.

Keywords: Extracellular Matrix, Collagen

1. はじめに

ケミカルバイオロジーのアッセイ法として利用可能な細胞培養系の開発を行う。本研究は以下の２つの大課題に関係する：

課題1.　重点課題:がん治療薬の開発研究

課題3.　生理活性物質のアッセイ系の開発と改変･有効化

課題1に関しては、薬剤耐性阻害剤と考えられているセコスリキシドのアッセイ法を開発する。それによって、がん治療薬のシーズとなることを実証する。また、この物質の標的を明らかにすることで、治療薬開発へ道筋をつける。

課題3については、VI 型コラーゲン会合体を用いた新しい細胞培養法を開発する。試料の調製方法の改良を進め、細胞への作用を調べる。腫瘍細胞の増殖とVI 型コラーゲンの関わりを明らかにできれば、新規がん治療の標的となると考えている。

2. 研究計画

課題1.　重点課題:がん治療薬の開発研究

平成２６年度

培養細胞を用いて多剤耐性のアッセイ系を開発する。HeLa 細胞をコルヒチン存在下で培養し, コルヒチン耐性株を得る。既報の論文では, 耐性細胞は P 糖タンパク質を高発現し, コルヒチン排泄能が亢進しているとされている。P 糖タンパク質の阻害剤は, コルヒチン排出能を阻害し, 細胞はコルヒチン感受性に戻すため細胞増殖が抑制される。セコスリキシドを用いて阻害活性を検討する[1-3]。

平成２７年度

コルヒチン耐性 HeLa 細胞を用いて, 多剤耐性能の評価系を確立する。セコスリキシドおよびその配糖体を用いて阻害活性を検討する。

平成２８年度

１−１で合成されるビオチン化セコスリキシドを用いて，相互作用するタンパク質の同定を行う。また，セコスリキシドの部分構造を有する化合物を固定化し，生理活性発現に重要なタンパク質（標的タンパク質）を同定する。

平成２９年度

同定された標的タンパク質の遺伝子を導入し，強発現系を作製する。これによって化合物の活性測定に有効なアッセイ系を構築する。

平成３０年度

これまでの成果を取り入れ，化合物と標的タンパク質との相互作用の検出系の改良を行い，薬剤の開発研究の効率化を図る。

課題3．　生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化

平成２６年度

培養基質とするＶＩ型コラーゲン会合体の調製とキャラクタリゼーションに注力し，種々の細胞を用いて培養条件の検討を行う。調製されたＶＩ型コラーゲン会合体は電子顕微鏡及びAFM により形態観察をする。また，ＶＩ型コラーゲン会合体上での線維芽細胞及び血管内皮細胞の培養条件を検討する。

平成２７年度

ＶＩ型コラーゲン会合体は細胞の増殖には影響せず，ミトコンドリア活性を抑制するという結果が得られている。一種のワールブルグ効果（酸化的リン酸化より解糖系で ATP 産生をすること）[4]を示す可能性があり，その分子機構を明らかにするため，ＶＩ型コラーゲン会合体と相互作用する細胞膜因子を検索・同定する。また，ミトコンドリアへの作用を膜電位の間接的測定等で評価する。アポトーシスに関連する因子群の動態を調べる。

平成２８年度

ＶＩ型コラーゲン会合体の作用の分子機構を解析する。本年度は，がん細胞の培養へ展開する。特に，がん抑制遺伝子 p53 による細胞内の ATP 産生制御系との交差を検討する。 酸素消費と ATP 産生を直接測定し、解糖系と電子伝達・酸化的リン酸化の切り分けが行われているかを明らかにする。

平成２９年度

VI 型コラーゲン会合体の他に，Ⅰ型コラーゲン，IV 型コラーゲン，ナマコ由来コラーゲン線維など，これまでに開発してきた培養基質を用いた細胞系と組み合わせ，細胞機能の制御について知見を集積する。同時に，他の研究テーマで開発された有用物質の生理機能のアッセイに利用する。

平成３０年度

新規化合物の影響を検証する。生体分子システムの特定のタンパク質との相互作用が明らかになった場合には，レポーター遺伝子の利用など，アッセイ系の最適化に務める。

３．成果

課題１

平成 26, 27 年度に HeLa 細胞からコルヒチン耐性の細胞株を得ることを試みたが、得られた細胞株は増殖性が不良で、また安定した細胞株を得られなかった。そこで平成 28 年度には、細胞による蛍光色素 Syto16 の排出の測定系の開発を行った。図１は、排出された Syto16 を継時的に測定したものである。TIG-1 細胞（ヒト胎児肺由来線維芽細胞）を培養し、Syto16 を培地に加えて、細胞を染色した。培養液の除去及び細胞の洗浄後、新たな培地を加えた。一定時間後に培地を回収し、排出された Syto16 量を蛍光強度から算出した。図に示されたように継時的な排出が認められた。この排出は温度依存的で酵素反応と推定された。細胞による Syto16 の排出は、薬剤耐性機構によるとの報告があることから、薬剤排出のアッセイ系になりうると考えられる。セコスリキシド（0.15μg/ml 添加）は部分的に排出を抑制した。

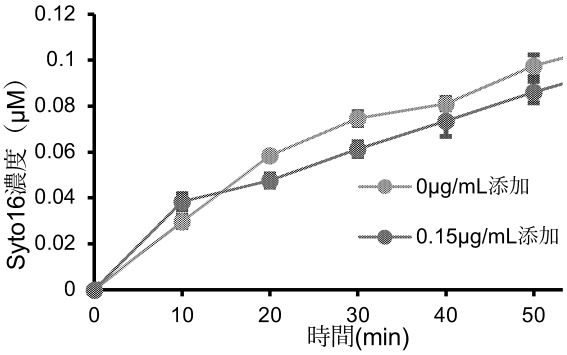


図１　TIG-1 細胞による蛍光色素（Syto16）の排出

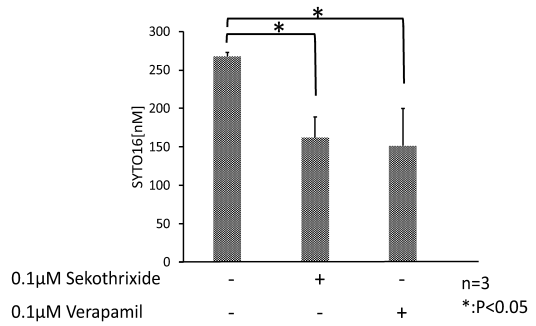


図２　SYTO16 排出活性に対するセコスリキシドの作用
MDR1 阻害剤ベラパミルと同様に阻害した。

平成 28 年度から、細胞による蛍光色素の排出の測定系の開発を行ってきた。蛍光色素 Syto16 と TIG-1 細胞（ヒト胎児肺由来線維芽細胞）を用いたアッセイ系を開発した。その結果、セコスリキシドには正常細胞、腫瘍細胞の両方に細胞毒性があった。主要な薬剤耐性因子である MDR1（ABCB1）と MRP1（ABCC1）に対しては、特異的な阻害剤を用いた研究から、両方因子を阻害する可能性が示された（図２）。しかしながら、この方法は、SN 比は良いものの定量性に難があった。このため、数種の蛍光色素と細胞の種類の組み合わせを検討した。この中で、Calcein-AM と MDCK 細胞(イヌ腎臓尿細管上皮細胞)を用いた方法の開発が有力と考えられた。Calcein-AM は、脂溶性で細胞質に到達するとエステラーゼにより AM 部分が除去され親水性が増強し細胞外への拡散が抑制され、結果的に蛍光団の Calcein が細胞質に蓄積すると考えられている。細胞外から一旦細胞膜に溶け込んだ Calcein-AM は薬剤耐性機構により排出される。もし、薬剤耐性機構を阻害すれば、排出が抑制され、細胞質の蛍光が増強することになる。細胞を可溶化後、蛍光量を計測することで、阻害を定量化する。MDCK 細胞の養条件を検討し、定量的な阻害活性の測定条件を発見した。その結果、セコスリキシドの IC50 は 0.61μM(ベラパミル　0.35μM ，シクロスポリン A 0.37μM)であった。用いた既存の薬剤は P 糖タンパクに特異性があることから,セコスリキシドも同様にこの輸送体を阻害することが示された。セコスリキシドの環状部分構造の epi 体では IC50 が４倍大きくなることから，特異性の一部はこの部分にあることが示唆された。今後の、薬剤開発の指針が得られた。

課題３

平成 26、27 年度は、VI 型コラーゲン会合体の調製法と会合体の特徴付を中心に検討した。会合体は、中性条件の穏和な操作で抽出し、会合体構造が保持されるように配慮した。抽出液を減容／透析を行い、その過程で生成する線維形成コラーゲンを主とする沈殿を除去した。さらにゲル濾過法により VI 型コラーゲン会合体を排除限界画分に回収した。得られた試料は、ほぼ VI 型コラーゲンのみを含んでいた。SDS アガロース電気泳動法により分析したところ、von Willebrand factor 多量体に匹敵する高分子量を示した。8,000kDa 以上のものが存在していたことから、基本単位である分子の四量体（約 2,000kDa）がさらに会合していることが示唆された。試料中には VI 型コラーゲンの他に多糖あるいは糖タンパク質が混入する場合があり、抽出条件に依存するものと推察している。おそらく、VI 型コラーゲンと弱い相互作用で結合する成分があり、組織量に対して用いる抽出液の量を最適化することや、減容の程度を制御することで、精製度を上げられると考えている。精製した試料は、線維芽細胞及び血管内皮細胞の培養基質となることを確認した。AFM 等で会合体構造の可視化を試みたが、現時点では成功していない。

平成 27、28 年度には、培養基質としての可能性を検討した。VI 型コラーゲン会合体上で線維芽細胞を培養では、ワールブルグ効果様の現象が認められる場合とそうでない場合があった。再現性について試料ロットを変えるなどして検討したが、解決していない。蛍光色素 JT-1 を用いてミトコンドリアの活性を測定したり、細胞内の ATP レベルの測定を行なったりしたが、VI 型コラーゲン会合体に特異的な結果は得られなかった。そこで、VI 型コラーゲン会合体と細胞との直接の相互作用を観察することにした。表皮角化細胞株(FEPE1L-8)は、無血清条件でも細胞接着する事ができるため、血清由来の細胞接着因子の影響を極力排除することができる。また、接着により細胞形態が大きく変化するため、細胞接着実験にはよく利用される。FEPE1L-8 に対しては、VI 型コラーゲン会合体は細胞接着を促進したが、その程度は他の細胞外マトリックス成分よりも小さかった（図３）。また、細胞骨格の面積で見た細胞１個あたりの大きさは、フィブロネクチンと同程度で最小であった。コートされた VI 型コラーゲン会合体上に接着部位が少ないために、細胞伸展が十分でないためであると考えられる。また、線維芽細胞を用いても同様の結果であったことから、この様な特性は培養基質の VI 型コラーゲン会合体によるものと考えられる。

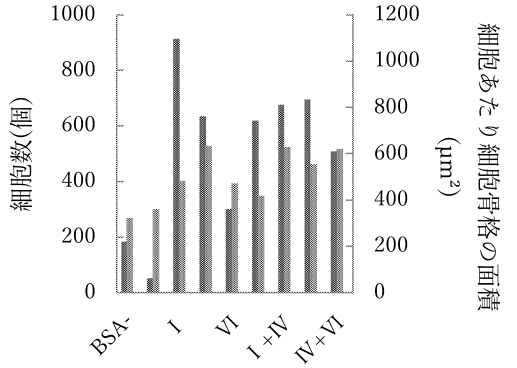


図３　表皮角化細胞株 (FEPE1L-8) の増殖と細胞形態に及ぼす VI 型コラーゲン会合体の作用

さらに VI 型コラーゲン会合体の蛍光色素 FITC 標識試料を作製した。この基質上での線維芽細胞の培養を行い、経時的に観察した。その結果、細胞がコートされた VI 型コラーゲン会合体を自身の周囲に集め、細胞直下と突起の周囲に VI 型コラーゲンが層状に濃縮されている像が得られた。細胞はより細い形態をとり、細胞同士が線維状に連結していた。ヒアルロン酸を添加すると、形態変化がより促進されていた。現象として、VI 型コラーゲン会合体が細胞形態に影響することが示された。

これまで、VI 型コラーゲン会合体の調製法と会合体の特徴付を中心に検討し、種々の細胞培養へ応用してきた。平成３０年度からは、学外の研究グループへ、精製標品を供給し、共同研究を開始した。膵臓ランゲルハンス島β細胞など培養への利用を試みている。

平成２９、３０年度には、fascia を培養基質として利用できないか検討を開始した。Fascia は筋膜と訳されることが多いが、疎性結合組織とよばれることもあり、定義が一定しない。高倍率の内視鏡により観察される、皮下組織や臓器間にある線維性の構造であるとされる。コラーゲンやエラスチンなどの ECM で構成され、脂肪組織が存在し、血管や神経などがその内部を走行している。ECM の線維は全身をくまなく繋がっており、その内部は組織液の通路ともなり得る。臓器をまとめたり、臓器間の摩擦を低減したりすると想像されるが、機能の実相については分かっていない。

我々は、ナマココラーゲンや VI 型コラーゲンの調製を行ってきた。非酵素的な手法を用いることが特徴で、生体に存在する状態に極力近いものを抽出することを目指してきた。Fascia に対しても、同様の方法論を適用することで、新しい分析法を開発してきた。その結果、トリやイヌの fascia 中のコラーゲン線維やエラスチン線維の分析が可能になった（図４）。イヌ fascia からは、脂肪細胞を包んでいる基底膜様構造が観察された。脱細胞化した培養基質としての利用を検討する。

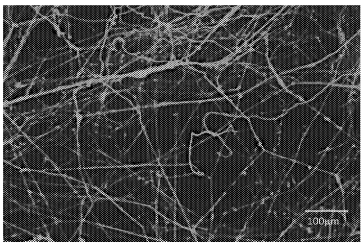


図４　トリ fascia 中のコラーゲン線維の可視化

４．まとめ

課題１

Syto16 を用いた薬剤排出の測定系を作成した。当初の計画では、薬剤排出活性は細胞毒性を指標に検出することを考えた。安定な細胞株を入手できず、計画を変更し、結果的に短時間で測定可能な実験系を開発する事が出来た。しかしながら、定量性が不十分でさらなる改良が必要である。Calcein-AM と MDCK 細胞(イヌ腎臓尿細管上皮細胞)を用いた方法により、セコスリキシドは、P 糖タンパクによる輸送を阻害することが示された。セコスリキシドの環状部分構造の epi 体では IC50 が４倍大きくなることから,特異性の一部はこの部分にあることが示唆された。今後の薬剤開発の指針が得られた。

課題３

新規培養基質として、VI 型コラーゲン会合体を開発できた。さらに形態や細胞接着に特異的な影響を及ぼすことを示した。今後は、このような作用に関係する細胞接着タンパク質や Rho タンパク質など細胞内情報伝達系の解析を行う。また、ワールブルグ効果は癌細胞で認められる現象である。近年 VI 型コラーゲンは癌細胞の増殖を促進することが多数報告されるようになってきた[5]。再現性は悪いながら VI 型コラーゲン会合体にはワールブルグ効果様の作用があることを複数回見出している。そこで VI 型コラーゲン会合体は腫瘍細胞の増殖をワールブルグ効により促進するとの作業仮説の検証を検討する。VI 型コラーゲンとワー

ルブルグ効果の接点は抗腫瘍作用の新しい標的となると考えている。

また、新規の培養基質として fascia の利用方法を開発した。

文献

1. Steinfels E, et al. Characterization of YvcC (BmrA), a multidrug ABC transporter constitutively expressed in Bacillus subtilis. Biochemistry. American Chemical Society; 2004 Jun 15;43(23):7491–502.
2. Kim YJ, et al. Isolation and structural elucidation of sekothrixide, a new macrolide effective to overcome drug-resistance of cancer cell. J Antibiot. 1991 Nov;44(11):1280–2.
3. Terayama N, et al. Org Lett. American Chemical Society; 2014 Jun 6;16(11):2794–7.
4. Galluzzi L, et al. Metabolic targets for cancer therapy. Nat Rev Drug Discov. 2013 Nov;12(11):829–46.
5. Chen P, et al. Collagen VI in cancer and its biological mechanisms. Trends Mol Med. 2013 Jul;19(7):410–7.
6. Sato T, Takano R, Takahara N, et al. Identification of a common epitope in the sequences of COL4A1 and COL6A1 recognized by monoclonal antibody #141. *J Biochem*. 2019;165(1). doi:10.1093/jb/mvy086
7 Sato T, Takano R, Tokunaka K, et al. Type VI collagen α1 chain polypeptide in non-triple helical form is an alternative gene product of COL6A1. *J Biochem*. 2018;164(2):173-181. doi:10.1093/jb/mvy040
8. Shin Y, Miyake H, Togashi K, Hiratsuka R, Endou-Ohnishi K, Imamura Y. Proteolytic inactivation of ADAMTS13 by plasmin in human plasma: risk of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biochem*. 2018;163(5):381-389. doi:10.1093/jb/mvx084
9. Morita M, Sugihara H, Tokunaka K, et al. Preparation and partial characterization of monoclonal antibodies specific for the nascent non-triple helical form of the type IV collagen alpha 1 chain. *Biochem Biophys Reports*. 2017;9(October 2016):128-132. doi:10.1016/j.bbrep.2016.11.013

1-4&3-2

血管管腔モデルおよびIV型コラーゲン会合体を用いた多機能性人工血管の開発

Development of Multifunctional Artificial Blood Vessel using the Model of Blood Vessel Lumen and Type IV Collagen aggregates

辛　英哲
工学院大学先進工学部生命化学科

Yongchol Shin
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

Construction of a model of blood vessel formation *in vitro* is important for not only elucidating the mechanism of angiogenesis but also exploring physiologically active substances, derived from natural substances contained in plants, which can control angiogenesis. These physiologically active substances are considered to be effective for enhancing the bypass mechanism of occluded blood vessels and treating cancer. In this study, we improved the culture method of vascular endothelial cells to develop the model of blood vessel formation, and investigate physiologically active substances affecting t blood vessel formation.

As a result, 1) investigation of the molecules that can control the existing model of blood vessel formation (co-culture of endothelial cells and fibroblasts) showed that the extracts from rose-hip or modified hesperidin, purified from the peel of citrus, negatively regulate blood vessel formation; 2) real-time observation of the model of blood vessel formation can be achieved with introducing the green fluorescent protein into endothelial cells; and 3) in the model using the spheroid co-culture with endothelial cells and fibroblasts, endothelial cells formed tubular networks elongated from the spheroid with a lumen structure and were connected with tight junctions. A basement membrane (BM)-like structure was observed around the tubular network. These results suggested the elongation of blood vessel could be reconstituted in our model.

Keywords: blood vessel, co-culture, spheroid

1. はじめに

生体内での血管形成を再現可能とする、試験管内での血管管腔形成モデルの研究を行った。このようなモデル系の構築は、血管形成機構の解明において重要なだけでなく、このモデル系を活用し、血管形成を制御可能とする、植物などに含まれる天然物由来の生理活性物質を探索、同定、活用することができる。これら生理活性物質は、閉塞血管のバイパス機構の増強や癌の治療にも有効と考えられている。癌治療を改善するための戦略として、腫瘍への血液供給を遮断する、抗血管新生薬の利用が考えられていたが、現在では、抗血管新生療法が腫瘍内の異常な脈管構造を正常化することによって腫瘍への薬物の供給を改善し、治療効果を促進することが明らかになっている(文献1，2)。本研究では、血管内皮細胞の培養法を改良し、血管形成に影響を及ぼす生理活性物質の効率的なアッセイに運用可能な血管管腔モデルの開発を行う。

2. 研究計画

（細胞培養と細胞の観察には、本プロジェクトで購入した細胞培養関連設備、およびバイオイメージング装置を使用する。）

平成26年度

マトリゲルあるいはIV型コラーゲンゲルに、線維芽細胞を播種し、血管内皮細胞を播種することで3次元での血管形成モデルを構築する。適切な血管新生モデルの構築のため、線維芽細胞、血管内皮細胞を播種する際の数や比を検討する。血管内皮細胞特異的抗体を用いた蛍光標識による形態観察を行い、評価する。

平成27年度

既知の血管新生増強因子、阻止因子を加

え、3次元血管新生モデル系への影響を検討する。これら因子の作用メカニズムを解明する。

平成28年度

研究テーマ 1（重点課題）とい課題3から見出された化合物を用い、血管形成に与える影響を調べる。それぞれの物質が血管形成に影響を与えるメカニズムについて検討する。

平成29年度

新規化合物の血管形成への作用メカニズムについての知見を深め、化合物を改良に資する。また、各種細胞外マトリックスが 3 次元モデルシステムにどのように関与しているか、検討する。

平成30年度

最終年度では本格的に化合物の影響を検証する。生体分子システムの特定のタンパク質との相互作用が明らかになった場合には、レポーター遺伝子の利用など、アッセイ系の最適化に務める。

3. 成果

1）血管形成に影響を及ぼす因子を探索するため、既存の血管形成モデル系である血管内皮細胞と線維芽細胞を培養皿に同時に播種する系（文献 3）を用いた。血管内皮細胞と線維芽細胞を共培養することによって、血管様ネットワークを観察できる。探索に用いる試料として、重点課題1の安井英子より DHMEQ 誘導体 6 種（文献 4）、課題2−2の阿部克也より植物抽出液 80 種、帝京大学の大蔵直樹准教授より植物由来成分 15 種が提供された。実験の結果、ローズヒップ抽出液（図 1）あるいは柑橘類の皮に含まれるヘスピリジンの誘導体、メチルヘスペリジン（図2）が、それぞれ血管形成を抑制することを見出した。

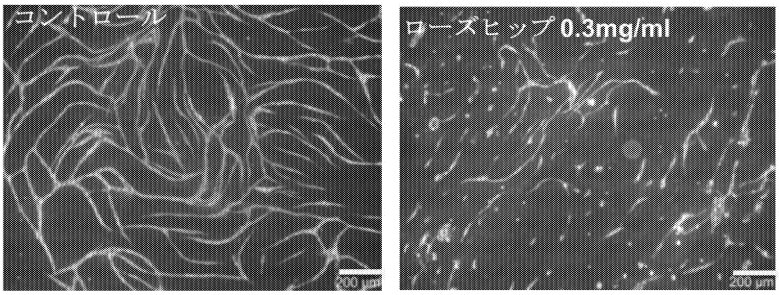


図1. ローズヒップ抽出液による血管形成阻害

血管内皮細胞と線維芽細胞を共培養し、血管内皮細胞のマーカー、CD31（赤）及び VWF（緑）にて免疫蛍光染色を行なった。

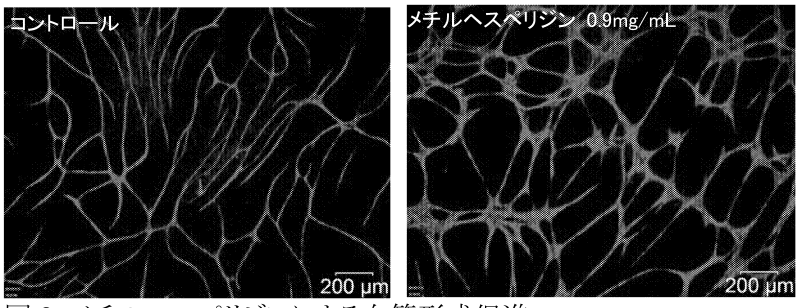


図 2. メチルヘスペリジンによる血管形成促進

血管内皮細胞と線維芽細胞を共培養し、血管内皮細胞のマーカー、CD31（赤）にて免疫蛍光染色を行なった。

作用機序を明らかにするため、血管内皮細胞あるいは線維芽細胞を単独で培養する系にそれぞれの物質を添加した。ローズヒップ抽出液は細胞の増殖や形態に影響を与えなかったことから、細胞間の相互作用に影響を与えていると考えられた。メチルヘスペリジンを添加し血管内皮細胞に単独培養を行ったところ、細胞間の間隙が減少し、密着している様子が確認された。細胞間結合構造の増強がなされている可能性が示唆された。

2）緑色蛍光タンパク質（GFP）遺伝子を血管内皮細胞に導入することで、血管形成を動的に観察できる系を構築できた。

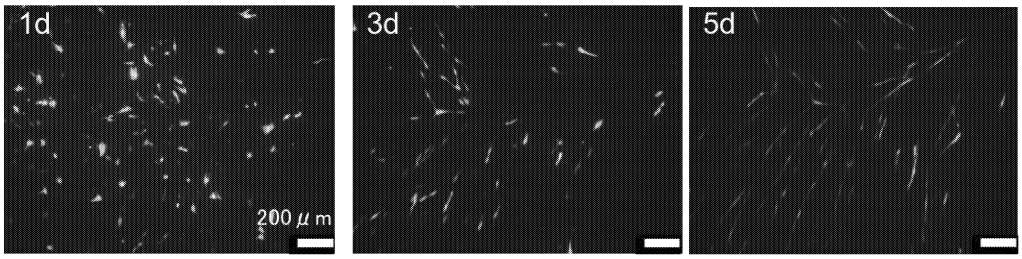


図 3. GFP 導入血管内皮細胞を用いた血管形成の動的観察（d は日数を示す）
血管内皮細胞と線維芽細胞を共培養し、血管内皮細胞のマーカー、CD31（赤）にて免疫蛍光染色を行なった。

GFP 導入血管内皮細胞は播種後 3 日までの間にネトワークの原型を創り出していることが観察された。さらに7日まで培養することで、ネットワークの長さが伸長していることが確認できた。

3）マトリゲルやコラーゲンゲル上での血管内皮細胞の培養を行い、血管様ネットワークが形成されるか、検討した。これら細胞支持体上にて血管様ネットワークは一旦構築されるが、3～4日後にはネットワークは見られなくなった。そこで、血管内皮細胞と線維芽細胞の球状細胞塊（スフェロイド）を形成させた後、培養皿に播種し、血管様ネットワークの形成を検討した。その結果、14 日までの培養期間に血管様ネットワークがスフェロイドから伸長しかつ分岐していく様子が確認された（図 4、文献 5）。

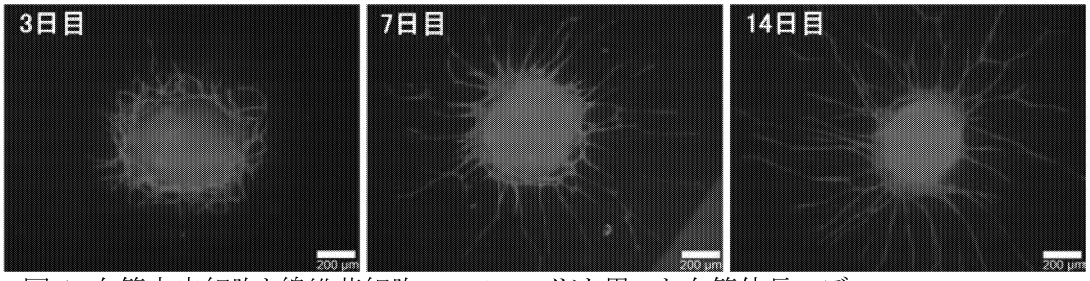


図 4. 血管内皮細胞と線維芽細胞のスフェロイドを用いた血管伸長モデル
血管内皮細胞と線維芽細胞を混合しスフェロイドを形成させた後、培養皿に播種し、3、4、7日間培養した。血管内皮細胞のマーカー、CD31（赤）にて免疫蛍光染色を行なった。

血管様ネットワークが実際に血管としての構造を有しているか、電子顕微鏡を用いて観察した（図5、文献 5）。その結果、ネットワークを形成する血管内皮細胞間にはタイトジャンクションと呼ばれる細胞接着構造が確認でき、複数の血管内皮細胞によって形成される管腔構造も確認された。スフェロイドから伸長する血管様ネットワークが生体内の血管同様の構造体を有していることから、生体内での血管形成を再現可能とする、試験管内での血管管腔形成モデルとして利用できることが示唆された。

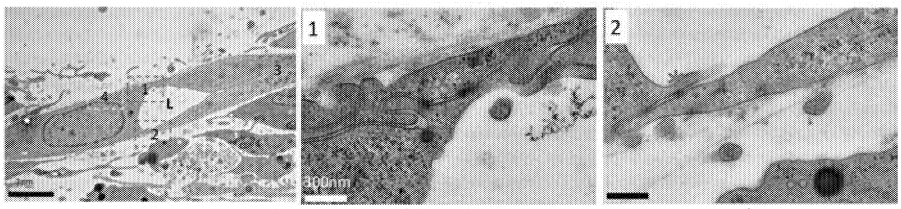


図 5. スフェロイドから伸長した血管様ネットワークの電子顕微鏡像
L：管腔、*：タイトジャンクション

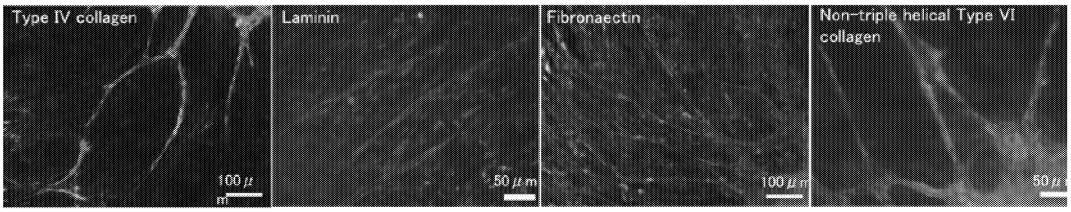


図6. 血管様ネットワーク周辺に局在する細胞外マトリックスタンパク質

血管内皮細胞と線維芽細胞を混合しスフェロイドを形成させた後、培養皿に播種し、7日間培養した。血管内皮細胞のマーカー、CD31（赤）および各種細胞外マトリックスタンパク質（緑）に対して免疫蛍光染色を行なった。

さらに、生体内の血管直下に観察される基底膜について検討した（文献 5）。基底膜の形成は、血管様ネットワークに沿って、細胞外マトリックスタンパク質が沈着していることで判断した。その結果、本モデル系での血管様ネットワークの基底膜には IV 型コラーゲン、ラミニン、ファイブロネクチンが含まれていた。I 型や VI 型コラーゲンと異なり、これらは特異的な沈着を示しており、ネットワークを形成していく際に重要であると考えられる。

本モデルでは、アスコルビン酸存在下、血管様ネットワーク周囲に非らせん IV 型コラゲーンが存在していた。血管内皮細胞の単独培養では、非らせん IV 型コラーゲンはアスコルビン酸が存在しない状態でのみ発現していることから、細胞間相互作用によって、非らせん IV 型コラゲーンが発現するメカニズムが存在すると考えられた。また、ウサギ網膜での血管新生でも新規血管周囲に、非らせん IV 型コラゲーンの存在が確認されたことから、血管新生に何らかの役割を有する可能性が示唆された。

4. まとめと今後の予定

まとめ

血管形成に影響を及ぼす因子として、ローズヒップ抽出液とヘスピリジンを得た。また、GFP を血管内皮細胞に導入することで、血管形成を動的に観察できる系を構築した。さらに、血管内皮細胞と線維芽細胞のスフェロイドを形成させることで、生体に近い形で血管の伸長を観察できる系を構築した。本モデル系を用いて、血管様ネットワーク周囲に非らせん IV 型コラーゲンが存在することを確認した。

今後の予定

1）メチルヘスピリジン、ローズヒップ抽出液が血管新生に影響を及ぼすメカニズムを、本研究で新たに構築した、血管内皮細胞と線維芽細胞のスフェロイドを用いた血管形成モデルを用いて、共培養スフェロイドを用いて、明らかにする。また、これら因子の影響を動的に観察することで、新たな知見を得ることが期待できる。

2）新たな血管新生モデルになりうる実験系を用いて、血管新生のメカニズム、特に細胞の動き、血管伸長、基底膜成分の形成について解明する。特に非らせん IV 型コラゲーンの発現メカニズム、血管新生での役割を解明する。

文献

1. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: A new paradigm for combination therapy, 2001, Nat. Med., Jain *et al*., 7. 987-989

2. Direct evidence that the VEGF specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer, 2004, Nat. Med., Willett *et al*., 10. 145-147

3. A novel nucleic acid analogue shows strong angiogenic activity, 2010, Biochem. Biophys. Res. Com., Tsukamoto, *et al*., 399, 699-704

4. A new NF-κB inhibitor based on the amino-epoxyquinol core of DHMEQ, 2010, Bioorg. Med. Chem. Lett., Saitoh, *et al*., 20, 5638-5642

5. Basement membrane-like structures conteining NTHa1(IV) are formed around the endothelial cell network in a novel in vitro angiogenesis model, 2019, Am. J. Physiol., Shin *et al*., *revised.*

6. Non-trilple helical form of type IV collagen α1 chain, 2015, Heliyon, Sugiyama *et al.*, 1, e00051

1.4 & 3.3　　NF−κB 阻害活性を指向した DHMEQ 類縁体の合成

Synthesis and Evaluation of DHMEQ Derivatives as NF-κB Inhibitor

安井　英子
工学院大学先進工学部生命化学科

Eiko Yasui
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

Dehydroxymethylepoxyquinomycin (DHMEQ) is well known to inhibit nuclear factor-kappa B (NF-κB), which is closely associated with immune, inflammatory, and apoptotic processes as an inducible transcription factor. The inhibitory effect seems to be the result of the ring opening of an epoxide of DHMEQ with Cys38 of p65. We have synthesized an analog containing a cyclopropanated quinol skeleton and examined its ability to inhibit NF-κB. Unfortunately, it showed no remarkable NF-κB inhibitory activity, but showed unique ring expansion reaction that gives functionalized 7-membered ring easily and in high yield. Finally, introduction of alkyl group to DHMEQ gave good results to improve its solubility to organic solvents while NF-κB inhibitory activity is maintained.
Keywords: **DHMEQ, NF-κB**

1. はじめに

近年、がん化学療法の標的分子として注目されているものの１つに転写因子 NF−κB がある。がん細胞内での NF−κB の活性化が、がん細胞のアポトーシスの抑制並びに抗がん剤に対する抵抗性発現の原因になるといわれ、NF−κB 活性化阻害剤は、新しいタイプの優れた抗がん剤になると考えられる。2000 年に当時慶應大学の梅澤らによって、天然物エポキシシキノマイシンをリード化合物として設計・合成された化合物 DHMEQ（**1**）は、NF−κB の活性化を抑制する作用を有している事が知られている（Fig. 1）。しかし **1** は体内に普遍的に存在するチオール基を有する化合物との反応性が高すぎること、種々の溶媒に対する溶解性が悪いことが問題となっている。そこで、**1** の類縁体を合成し、それら問題点を克服することを目指した。

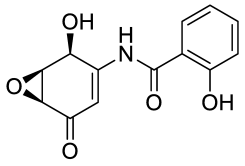


Fig. 1) DHMEQ **1**

2. 研究計画

平成２６年度　チイラン環の効率的な合成法を探る。
平成２７年度　DHMEQのエポキシドをチイラン環に変換した化合物の合成を目指す。
平成２８年度　合成した化合物を評価するアッセイ系を確立する。
平成２９年度　標的タンパク質の同定を行う。
平成３０年度　前年度までの知見をもとに、より効果のある化合物を設計・合成する。

3. 成果

DHMEQ の類縁体合成の方針を Fig. 2 のように考えた。構造を変換する部位として、官能基化された６員環部位（A）、６員環とベンゼン環をつなぐアミド部位（B）、ベンゼン環部位（C）の三箇所がある。このうち、C 部位の変換は DHMEQ の開発者である梅澤らによって既に検討されており、ベンゼン環２位に酸素官能基が必要であることが分かっている。そこで、新たに A 部位の構造を変換することで構造活性相関を調べることとした。具体的には、A 部位のエポキシドをシクロプロパン環に変換した化合物 **2** および、**2** の 2 級水酸基を 3 級水酸基に変換した化合物 **3** を合成した。さらに、**1** の 2 級水酸基を 3 級水酸基に変換した化合物 **4**〜**7** を合成した。これら **2**〜**7** の化合物は、その産出量が NF-κB と相関している NO 産出量を指標と

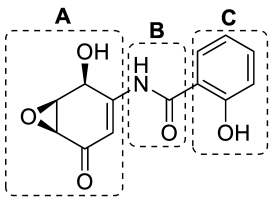


Fig. 2) Synthetic Approach for DHMEQ Derivatives

して評価した。その結果、化合物**2**および**3**はNO産出を阻害しなかったが、化合物**4**～**7**はDHMEQとほぼ同じ、またはDHMEQより優れたNO産出阻害活性を示した（Fig. 4）。また、水酸基を3級とすることで、化合物の有機溶媒に対する溶解性が向上した。DHMEQは水だけでなく、各種有機溶媒にも難溶性であるため扱いにくい化合物であるが、化合物**3**および**4**～**7**は有機溶媒に溶解しやすくなった。

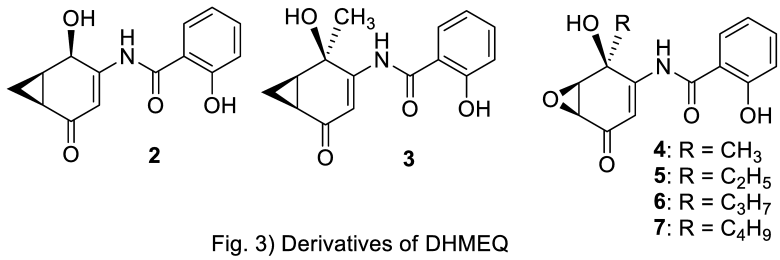


Fig. 3) Derivatives of DHMEQ

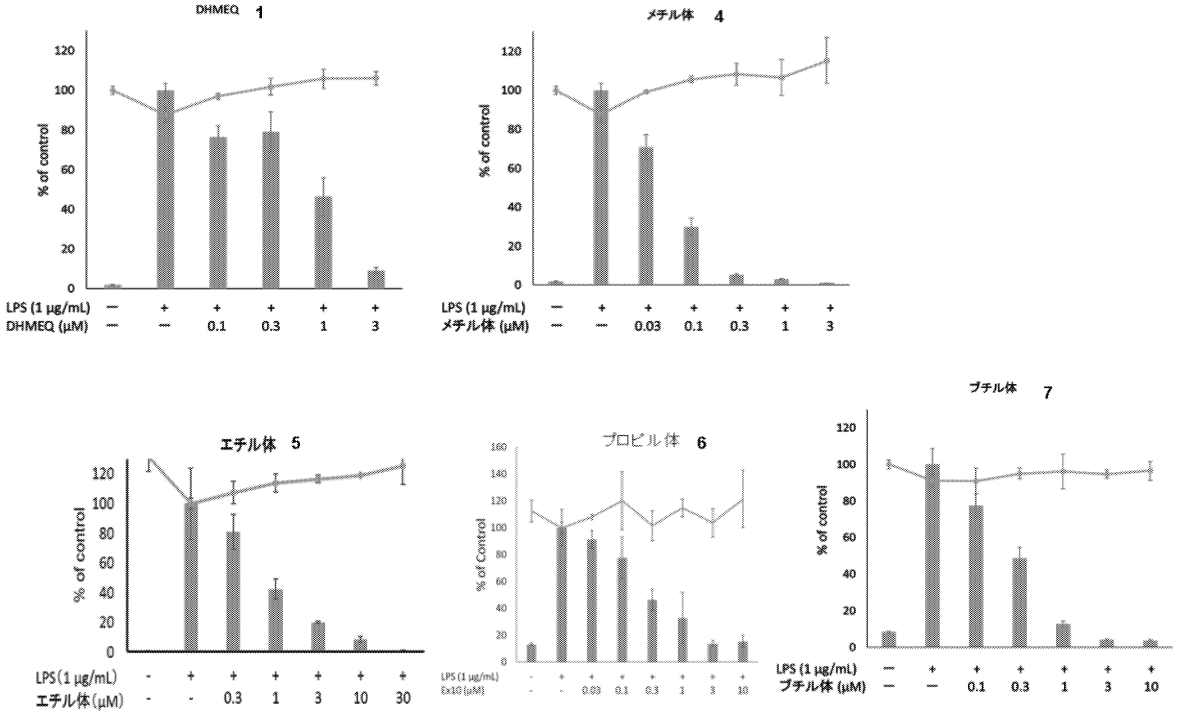
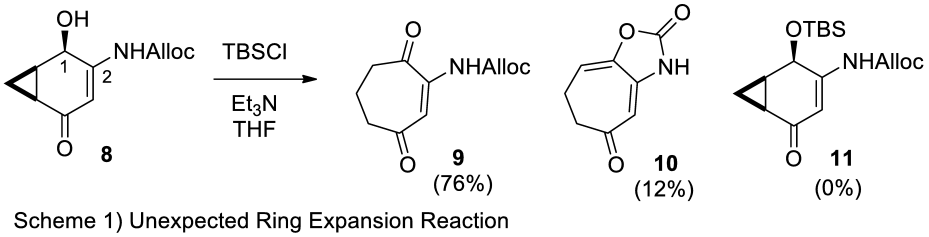


Fig. 4 Inhibition of NO production by DHMEQ and its derivatives

ところで、化合物**2**はNO産出阻害活性を示さなかったものの、その合成過程において、興味深い知見が得られた。すなわち、化合物**8**の2級水酸基をシリル化したところ、目的のシリル体**11**は全く得られず、シクロプロパン環が開裂した化合物**9**および**10**が得られた（Scheme 1）。この反応は穏やかな条件で速やかに、かつ高収率で官能基化された7員環化合物を与えるため、有用な反応であると考えられた。そこで、反応条件および環拡大反応が進行する基質構造の検討を行った。その結果、反応条件に関しては、テトラヒドロフラン（THF）溶媒中、5等量のトリメチルシリルクロリド（TMSCl）を反応させることが最適であることが分かった。また基質構造には、2級水酸基が置換した炭素を1位とすると、2位の炭素上に窒素原子が必要であり、さらにその窒素原子上にはカルボニル基が置換していなければいけないことが分かった。これらの知見より、本環拡大反応の反応機構を推察し、学術誌に投稿した。[2)]



Scheme 1) Unexpected Ring Expansion Reaction

以上、当初計画した構造とは異なるものの、DHMEQ をリード化合物として、同等の NO 産出阻害活性を有し、さらに有機溶媒に対する溶解性が改善した化合物を得ることができた。また、その合成の過程において、新規 7 員環合成法を見出すことができた。

文献

1) Synthesis and Evaluation of a Cyclopropane Derivative of DHMEQ.
Eiko Yasui, Kan Takayama, Takahiro Nakago, Nobuyuki Takeda, Yasutada Imamura, Shinji Nagumo, *Chem. Phar. Bull*. **2014**, *62*, 304-307.

2) Unique ring expansion of a 6-3 bicyclic ring system forming a functionalized 7-membered ring accelerated by nitrogen functional groups.
Eiko Yasui, Rio Ootsuki, Kan Takayama, Shinji Nagumo; *Tetrahedron Lett*. **2017**, *58* (32), 3092-3095.

4.1

接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーブラシの合成とその表面の接着力測定

Synthesis of Polymer Brushes Bearing Adhesive Protein-Mimetic Amino Acid Groups and Adhesion Force Measurement of their Surfaces

小林　元康
工学院大学先進工学部応用化学科

Motoyasu Kobayashi
Department of Applied Chemistry, Kogakuin University

Zwitterionic phosphorylcholine (PC) is a phosphobetaine consisting of anionic phosphate and cationic quaternary amine groups that can be found in the polar headgroup at the outer surface of lipid bilayer cell membranes. We synthesized choline phosphate (CP) derivatives, which have an amine connected with phosphate in the reverse orientation in contrast to PC. Force distance curve measurements of polymer brushes having a CP group was conducted in water by scanning probe microscopy (SPM) using a spherical probe covered with PC or CP groups. Large adhesion force was observed between the CP-polymer brushes and PC-functionalized probe, whereas PC-polymer brushes revealed extremely low adhesion force with PC- and propylsilane-modified sphere probe. The specific adhesive molecular interaction between CP and PC groups was quantitatively evaluated.

Keywords: Force curve measurement, Phosphorylcholine, Polymer Brushes, Molecular interaction

1. はじめに

生理活性物質はターゲットとなる細胞やタンパク分子など生体分子と強い相互作用をもち、種々の機能を発現している。本研究では主な分子間相互作用の力学強度を物理化学的手法により測定し、生理活性分子、不活性分子の違いを評価する手法の確立を目指している。生体細胞表面に存在する双性イオン型官能基を有するモデル化合物、およびこれと相互作用を示す接着タンパクを模倣した分子を合成し、両者にはたらく相互作用を走査プローブ顕微鏡により実測することを試みる。これにより細胞組織やコラーゲン繊維などの局所表面の形態や相互作用を分析し、生理活性作用との関係を明らかにすることが研究の目的である。これらを達成するため、分子間相互作用を示すモデル分子および高分子ブラシの設計、および走査プローブ顕微鏡(SPM)を用いたフォースカーブ測定による分子間接着力の評価とその応用を目指した。

2. 研究計画

平成２６年度

生体モデル分子としてホスホリルコリン(PC)基を代表される双性イオン型官能基を有する高分子の設計を試みる。同様にカルボキシベタイン、スルホベタイン(SB)、コリンホスフェート(CP)型高分子電解質、そして接着タンパクを模倣したカテコールアミン系高分子の合成を行う。これらを基板表面にグラフトしたポリマーブラシ薄膜を調製し、生体組織を指向したモデル表面の構築を検討する。

平成２７年度

前年度に調製したモデル分子および表面を用いて、SPM によるフォースカーブ測定を行う。特に、化学修飾プローブによる化学的相互作用の評価により、分子間相互作用の定量化技術の確立を目指す。

平成２８年度

生体分子モデル表面の特定の箇所に蛍光分子を導入し、共鳴ラマン分光を用いた界面構造解析を試みる。

平成２９年度

SB 基同士や PC-PC 基間に働く相互作用をフォースカーブ測定から定量し、水溶液の塩濃度や温度依存性を詳細に検討する。

平成３０年度

蓄積した SPM 分析技術を利用し、海洋付着性生物であるキプリス幼生の接着タンパクと生体分子モデル表面との接着力を実測する。

３．成果

生体膜を構成するリン脂質二分子膜の表面は PC 基で覆われている。この PC 基を結合したポリマーは特異な水和構造を有し、種々のタンパク分子との相互作用が弱く優れた生体適合性を示すことが知られている。一方、最近 PC

基のリン酸エステルとアンモニウム基の結合位置を逆にしたCP基を有する化合物が、細胞膜に吸着しPC基と大きく異なる性質を示すことが報告されるようになってきた[1]。そこで本研究ではPC基、CP基をモデル分子として取り上げ(Figure 1)、これらを側鎖に結合したポリマーを合成した[2]。MCPおよびMPCそれぞれを表面開始重合することでポリマーブラシを調製した[3-5]。静的対水接触角はpoly(MCP)グラフト表面が高く、poly(MPC)よりも疎水的であったが、両者とも表面ゼータ電位は一般的な高分子電解質よりも小さな値であった。

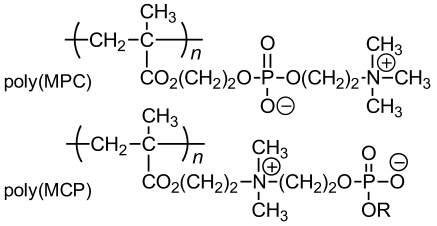


Figure 1. Chemical structure of poly(MPC) and poly(MCP)

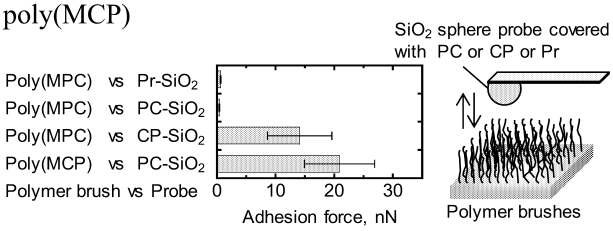


Figure 2. Adhesion forces between polymer brushes and sphere probe bearing PC or CP functional groups by force curve measurement in water at 25 °C

表面をCP基またはPC基で修飾したシリカ微粒子(d=25 μm)をカンチレバーに固定し、これをプローブとしてSPM (JPK製NanoWizard 3)を用いた水中フォースカーブ測定を行った。Figure 2に示すようにpoly(MPC)ブラシ表面はCP修飾プローブと特異的に大きな凝着力を示した。これはCP基とPC基は強く相互作用することを示しており、同種双性イオンでありながらアンモニウム基とリン酸基の結合位置の違いが表面物性に大きな影響を与えることが明らかとなった[2]。

フジツボは代表的な海洋付着性生物であり、様々な物質に固着する。その接着プロセスは幼生のキプリスが触角から分泌する接着タンパクに由来する。本研究では、生きたままのキプリス幼生をカンチレバーに固定化し、その触角とポリマーブラシとの凝着力を直接測定した。変態後、約5日令のキプリス幼生の第一触角と疎水性ガラス表面間に働く凝着力は2.6 μNであったが、21日後には最大40 μN以上の凝着力が観測され、幼生の加齢とともに凝着力が増大することが明らかとなった(Figure 3a-b)。一方、poly(MAPS)ブラシ表面と触角の間には加齢後も凝着力がほとんど検出されず、ブラシ表面の生物付着抑制効果に関する情報が得られた[6]。

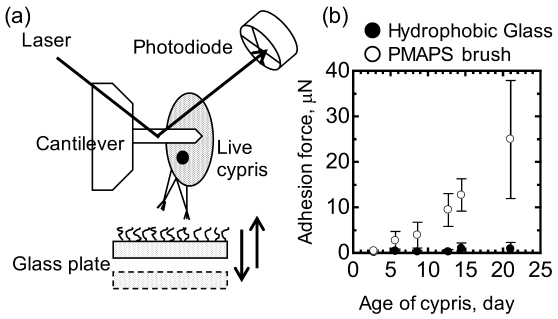


Figure 3. (a) Schematic images of adhesion measurement of live cypris immobilized cantilever for SPM, and (b) averaged adhesion force between tentacles of cypris and glass or poly(MAPS) brush surface in sea water at 25 °C.

４．まとめと今後の予定

生体分子の機能と関わりの深い双性イオン間の相互作用を定量化するためにSPMによる水中フォースカーブ測定の技術を確立した。また、これを活かして海洋付着生成物が分泌する接着タンパクと材料表面との相互作用を評価する手法も開発した。今後、分析対象をコラーゲン線維などの生体組織の局所表面へと展開し、生理活性作用との関係を明らかにする研究を実施する予定である。

文献

[1] Hu, G.; Emrick, T. *JACS* **2016**, 138, 1828.
[2] Mihara, S.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M. *Langmuir* **2019**, *35*, 1172-1180.
[3] Yoshioka, H.; Izumi, C.; Shida, M.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M. *Polymer* **2017**, *119*, 167-175.
[4] Shiomoto, S.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M., *Langmuir* **2018**, *34*, 10276-10286.
[5] Yoshioka, H; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M. *Polym. J.* **2019**, *51*, in-press.
[6] Shiomoto, S.; Yamaguchi, Y.; Yamaguchi, K.; Nogata, Y.; Kobayashi, M., *Polym. J.* **2019**, *51*, 51-59.

1.7 & 4.2　　生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による
振動分光学的検討

Vibrational spectroscopic studies on intermolecular interactions of biological molecules by resonance Raman scattering method.

伊藤　雄三
工学院大学先進工学部応用化学科

Yuzo Itoh
Department of Applied Chemistry, Kogakuin University

The vibrational spectroscopic studies on intermolecular interactions of biological molecules have been done. The target intermolecular interactions were those between collagen(V) and heparin. The IR spectra of collagen(V), heparin and the mixture of collagen(V) and heparin were measured. The surface enhanced Raman spectra (SERS) of collagen, heparin and the mixture of collagen and heparin were also measured. In particular, the spectra of the mixture of collagen(V) and heparin, of which the interactions between them are very strong, were compared with those of the mixture of collagen(I) and heparin, of which the interactions between them are not very strong, and discussed the difference of the interactions.

The intermolecular interactions between collagen and heparin were analyzed by using ab initio molecular orbital calculations and these results were compared with those obtained from the spectral measurements above and discussed them.

Keywords: Intermolecular Interaction, Resonance Raman Scattering, Surface Enhanced Raman Scattering, collagen(V) , heparin

1. はじめに

生理活性が認められた物質，基質、オリゴマー等と生体分子の相互作用の振動分光学的に解析し、その生理活性の作用機作を明らかにするための分析法を開発することを目的とする。振動分光学の手法としては、特に、共鳴ラマン散乱、表面増強ラマン散乱（SERS）などの感度増強ラマン散乱法を用いる。ラマン散乱法は、振動分光学の手法として一般的に用いられる赤外吸収法（IR）と異なり、水分を含む系でも適用できることから、生体系の解析に優れているが、その感度が弱いことが欠点である。SERS 法では、金、銀、銅などの金属コロイドを用いることで、ラマンスペクトルを 10^3～10^6 倍に増強することができるため、単分子層程度で金属表面に吸着した分子の振動スペクトルを検出でき、その生理活性の解析には非常に有効である。また、分子間相互作用の解析には、ab initio 分子軌道法などの理論計算も用い、実験と理論計算の両輪からの解析を行う。平成 26 年度には基礎検討を行い、平成 27 年度には、典型的な生体分子である β-carotene に対し、共鳴ラマン散乱による実測及び共鳴効果の実証、理論計算による検討を行い、平成 28 年度には、生体分子間の典型的な分子間相互作用を示すコラーゲン（V）とヘパリンに対して、IR スペクトルの実測及び理論計算による解析を行った。平成 29 年度には、コラーゲン（V）とヘパリン及び両者の混合物に対して SERS の測定を行い、理論計算による解析も行った。平成 30 年度には、コラーゲン（I）とヘパリン及び両者の混合物に対して SERS の測定を行い、相互作用の大きさに関し、コラーゲン（V）との比較を行った。

2. 研究計画

平成２６年度

生理活性が認められた物質，基質、オリゴマー等と生体分子の相互作用の振動分光学的基礎検討、特に、IR、ラマン測定、基準振動解析等を行う。

平成２７年度

典型的な生体分子に関して共鳴ラマン散乱による実測及び共鳴効果の実証を行い、ab initio 分子軌道法などの理論計算による基礎的検討を行う。

平成２８年度

生体分子の相互作用に関して共鳴ラマン散乱による実測及び ab initio 分子軌道法などの理論計算による解析を行い、生体分子間の相互作用を定量的に明らかにする。

平成２９年度

共鳴ラマン散乱により得られた生体分子の相互作用と生理活性の関係に関して明らかにする。

平成３０年度

前年度までに得られた分子間相互作用の観点から見た生理活性のメカニズムと他の解析結果を総合的に検討し、生理活性の作用機作を明らかにする。

３．成果

3.1　β―カロテンの共鳴ラマン散乱及び理論計算による基礎的検討

図 1 にβーカロテンの共鳴ラマンスペクトルを示した。(a)は 514.5、(b)は 488.0 nm 励起である。ピークは、1. 1520 cm^{-1} C=C 伸縮振動、2.　1150 cm^{-1} C=C-H 面内変角振動、3. 1003 cm^{-1} CH_3 横揺れ振動である。(b)の 488.0 nm 励起のほうがピークの共鳴効果による増強効果は強いが、同時に蛍光も強い。従って、514.5 nm 励起が共鳴ラマン散乱測定には最適である。表 1 にβーカロテンのラマン及び IR の実測ピーク波数と以下に詳述する分子軌道法による計算値とその帰属を示した。分子軌道法による計算値が実測値をほぼ精度良く再現していることが分かる。

βーカロテンの ab initio 分子軌道法による理論計算は、まず、エネルギーミニマムを示す構造最適化計算を行い、その最適構造をもとに基準振動計算による分子振動の計算及び IR、ラマンのピーク強度の計算を行った。基底関数には 6-31G(d)を用い、電子相関を取り入れた密度汎関数計算(B3LYP)を行った。得られた最適化構造は X 線構造解析の結果とよく一致している[1]。

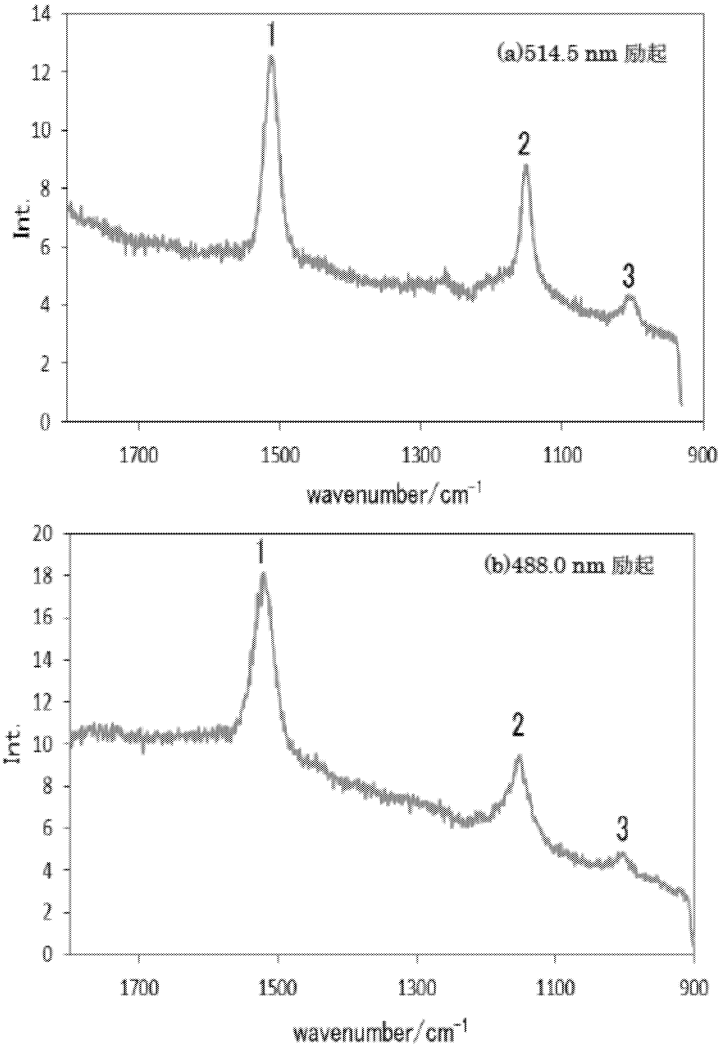


図１　βーカロテンの共鳴ラマンスペクトル

3.2　コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用

3.2.1　顕微 IR-ATR 法による IR ピークシフトの実測および ab initio 分子軌道法による解析

V 型コラーゲンとヘパリンが強い親和性を示すことは、よく知られており、コラーゲン(V)のリシン残基の側鎖の NH_3^+ とヘパリンの SO_3^- が強い相互作用をしていると考えられている。今回この相互作用を振動分光学的に測定、解析するため、まず、顕微 IR-ATR 法により IR スペクトルの測定を行った。IR 測定は試料が水分を含むと測定できない欠点がある。そこでサンプルをガラス基板上にキャストし、真空乾燥器で水分を飛ばすことにより、コラーゲン(V)単独、ヘパリン単独、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムを作製し、顕微 IR-ATR 法により IR スペクトルの測定を行い、コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用を測定、解析することを試みた。図 2、図 3、図 4 にコラーゲン(V)単独、ヘパリン単独、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムの IR スペクトルを、表 2、表 3、表 4 にピークの帰属を、それぞれ示した。相互作用しているコラーゲン(V)の NH_3^+ 基によるピークを青色で、ヘパリンの SO_3^- 基によるピークを赤色で示した。

表１　βーカロテンのラマン、IR の実測及び計算ピーク波数と帰属

Raman (exp.)/cm^{-1}	IR (exp.) /cm^{-1}	Raman (calc.) /cm^{-1}	IR (calc.) /cm^{-1}	Assignment
	1561		1578	C_9=C_{10}, C_{13}=C_{14} stretching
1510		1524		C_{13}=C_{14}, C_{11}=C_{12} stretching
	1446		1458	CH_3 deformation
	1360		1366	CH_2 wagging
1150		1151		C_{14}-C_{15} stretching, C_{15}-H in-plane bending
1004		1004		C_{13}-Me rocking
965			986	C-H out of plane bending

コラーゲン(V)のNH_3^+基によるピーク(図２、表２青色)やヘパリンのSO_3^-基によるピーク(図３、表３赤色) がコラーゲン(V)とヘパリンの混合物の IR スペクトル (図４、表４) ではシフトしている。コラーゲン(V)とヘパリンのこれらの基の強い相互作用によりピークシフトしたものと考えられる。

これらの相互作用によるピークシフトを定量的に解析するため分子軌道法による理論計算を行った。コラーゲンのモデル化合物としてはリシンをヘパリンのモデル化合物としてはカルボキシル基と硫酸基を含む単糖を用いてリシン側鎖の NH_3^+ 基とヘパリンのモデル化合物の SO_3^-基が相互作用するとして２分子のエネルギーミニマムを示す構造最適化計算を行い、その最適構造をもとに基準振動計算による分子振動の計算を行った。各 IR ピークのピークシフトの結果を表５に実測値に関して、表6に計算値に関して示した。分子間の強い相互作用により実測ではコラーゲンの NH_3^+対称伸縮振動が-12 cm^{-1}、NH_3^+対称変角振動が 7 cm^{-1}、NH_3^+変角振動が -34 cm^{-1}、ヘパリンの SO_3^-伸縮振動が 4 cm^{-1} シフトしている(表5)。計算では、それぞれが、-8 cm^{-1}、

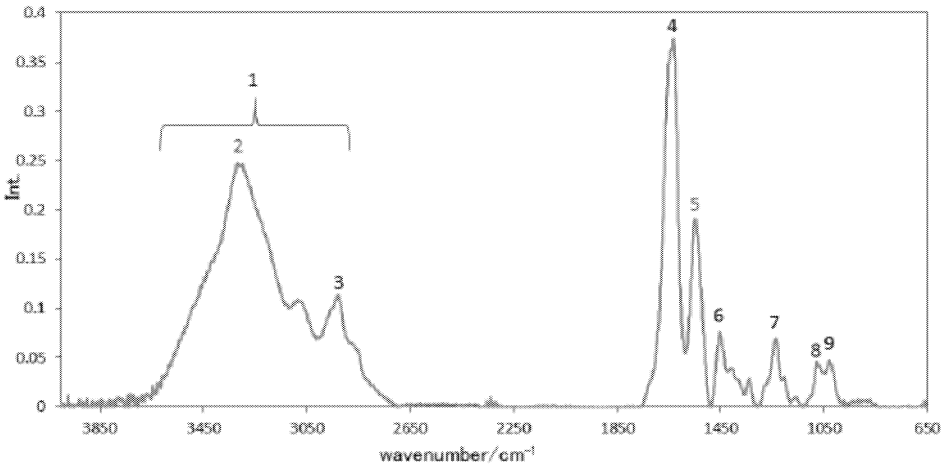


図2　コラーゲン(V)のIRスペクトル

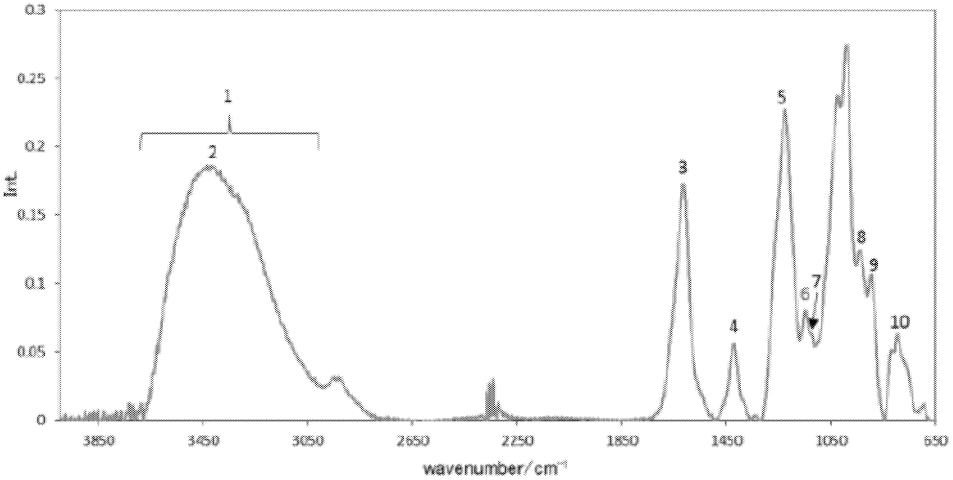


図3　ヘパリンのIRスペクトル

37 cm^{-1}、-21 cm^{-1}、12 cm^{-1} シフトしている。実測と計算で絶対値は一致していないが、ピークシフトの向きは一致しており、計算分子のモデル化がかなり荒い近似であったことを考慮するとこれらのピークシフトは分子間相互作用を示していると考えられる。

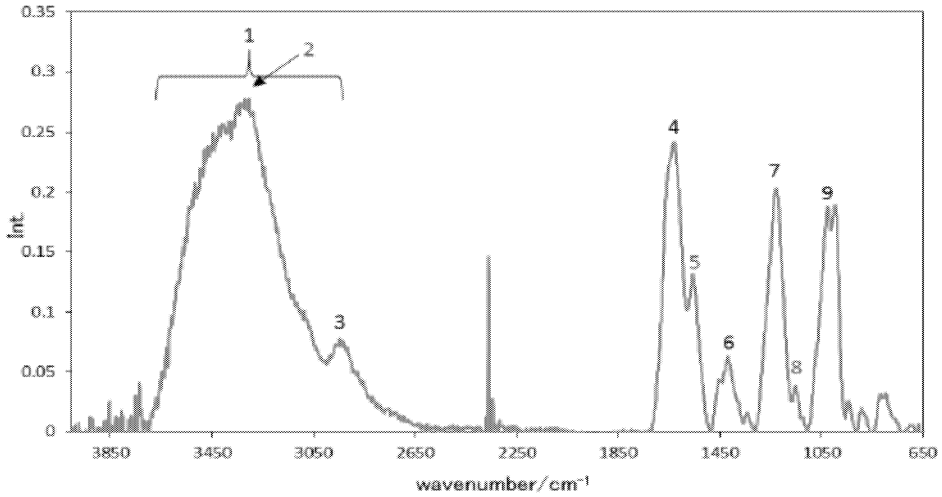


図4　ヘパリン単独、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物のIR[スペクトル

表2　コラーゲン(V)のIRピークの帰属

No.	/cm^{-1}	帰属	No.	/cm^{-1}	帰属
1	2700～3600	OH伸縮振動	6	1454	CH_2変角振動
2	3316	NH対称伸縮振動			NH変角振動
3	2929	CH_2逆対称伸縮振動	7	1237	CN伸縮振動(アミドⅢ)
4	1633	C=O伸縮振動(アミドⅠ)			NH変角振動
5	1549	CN伸縮振動	8	1078	CN伸縮振動, NH変角
		NH変角振動	9	1031	CN伸縮振動, NH変角

表3　ヘパリンのIRピークの帰属

No.	/cm^{-1}	帰属	No.	/cm^{-1}	帰属
1	2700～3600	OH伸縮振動	6	1147	SO_3^-伸縮振動
2	3435	NH伸縮振動	7	1121	COC逆対称伸縮振動
3	1614	C=O伸縮振動	8	937	OH面外変角振動
4	1418	OH変角振動	9	896	CH変角振動
5	1225	CO伸縮振動	10	796	SO対称伸縮振動

表4　ヘパリン単独、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物のIRピークの帰属

No.	/cm^{-1}	帰属	No.	/cm^{-1}	帰属
1	2700～3600	OH伸縮振動	6	1418	OH変角振動
2	3304	NH対称伸縮振動	7	1227	CO伸縮振動
3	2934	CH_2逆対称伸縮振動	8	1151	SO_3^-伸縮振動
4	1630	C=O伸縮振動(アミドⅠ)	9	1026	CN伸縮振動, NH変角
5	1556	CN伸縮振動	10	997	CN伸縮振動, NH変角
		NH変角振動			

表５　コラーゲン（Ⅴ）とヘパリンの相互作用による IR ピークシフト（実測）

No	混合物 /cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	Δ ν /cm^{-1}	帰属
1	3304	3316		−12	NH_3^+対称伸縮振動
2	1556	1549		7	NH_3^+対称変角振動
3	1151	1031	1147	4	SO_3^-対称伸縮振動
4	997			−34	NH_3^+変角振動

表６　コラーゲン（Ⅴ）とヘパリンの相互作用による IR ピークシフト（計算）

No	混合物 /cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	Δ ν /cm^{-1}	帰属
1	3315	3328		−8	NH_3^+対称伸縮振動
2	1657	1620		37	NH_3^+対称変角振動
3	1097		1085	12	SO_3^-対称伸縮振動
4	975	996		−21	NH_3^+変角振動

3.2.2　表面増強ラマン散乱法(SERS)によるラマンピークシフトの実測および ab initio 分子軌道法による解析

次いで、水分を含む系でも適用できる、より生体系の解析に適したラマン散乱による解析を試みた。ラマン散乱法の欠点は、その感度が弱いことであるが、表面増強ラマン散乱（SERS）法では、金、銀、銅などの金属コロイドの表面プラズモン効果を用いることで、ラマンスペクトルを 10^3～10^6 倍に増強することができるため、単分子層程度で金属表面に吸着した分子の振動スペクトルを検出でき、その生理活性の解析には非常に有効である。

まず、銀コロイドを以下の手順で作製した。

1. 硝酸銀 9.0 mg を純水 50.0 mL に加え還流にて溶解
2. 溶解確認後、煮沸状態にて 1%クエン酸ナトリウム 1.0mL を加え、さらに１時間還流
3. 室温まで冷却後、遠心分離（8,000 G、40 min）にて上澄を分取
4. ロータリーエバポレーターにて、液量約 5 mL まで濃縮。溶液は淡緑黄色

サンプルをガラス基板上にキャストし、得られた銀コロイドを加えた後、真空乾燥器で

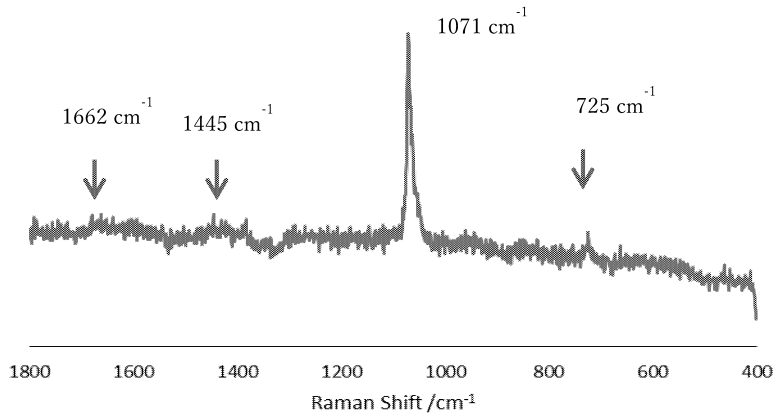
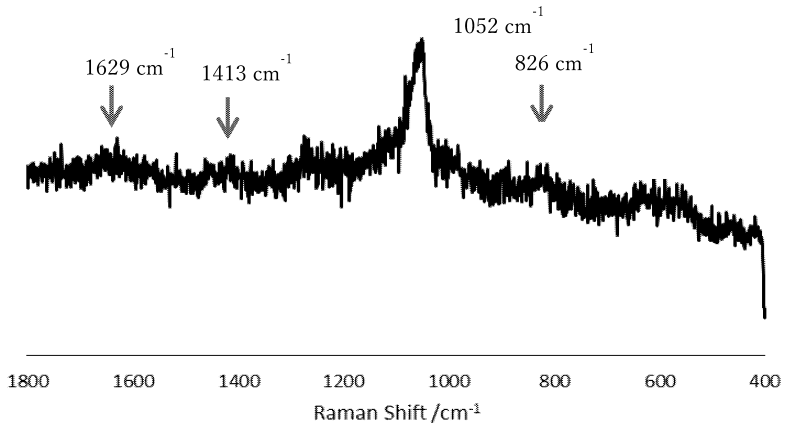


図５　コラーゲン(V)の表面増強ラマンスペクトル



スペクトル

水分を飛ばすことにより、コラーゲン(V)単独、ヘパリン単独、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムを作製し、表面増強ラマン散乱の測定を行った。図５にコラーゲン(V)の薄膜フィルムの表面増強ラマン散乱スペクトルを、図６にコラーゲン(V)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムの表面増強ラマン散乱スペクトルを、それぞれ示した。また、表７にコラーゲン(V)とヘパリンの相互作用によるラマンピークシフトを示した。

これらの相互作用によるピークシフトを定量的に解析するため、IRと同様に、分子軌道法による理論計算を行った。コラーゲンのモデル化合物としてはリシンをヘパリンのモデル化合物としてはカルボキシル基と硫酸基を含む単糖を用いてリシン側鎖のNH_3^+基とヘパリンのモデル化合物のSO_3^-基が相互作用するとして２分子のエネルギーミニマムを示す構造最適化計算を行い、その最適構造をもとに基準振動計算による分子振動の計算を行った。図 7 及び図８に、コラーゲン単独及びコラーゲンとヘパリン２分子の計算ラマンスペクトルを、それぞれ示した。
また、各ラマンピークのピークシフトの計算結果を表8に示した。

表7と表8を比べると、実測と計算で絶対値は一致していないが、ピークシフトの向きは一致しており、計算分子のモデル化がかなり荒い近似であったことを考慮すると、これらのピークシフトは分子間相互作用を示していると考えられる。

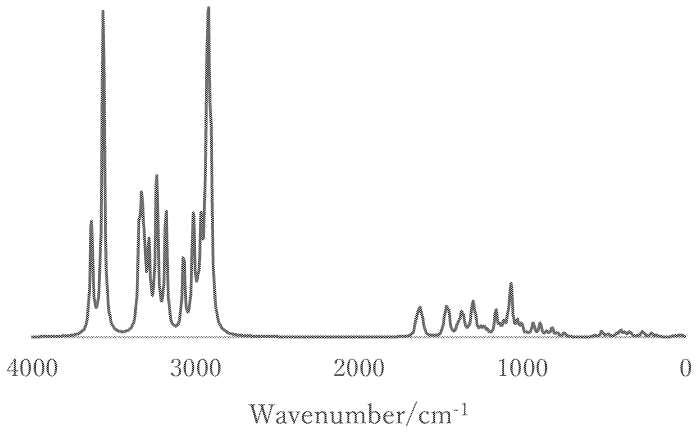


図７コラーゲンの計算 Raman スペクトル

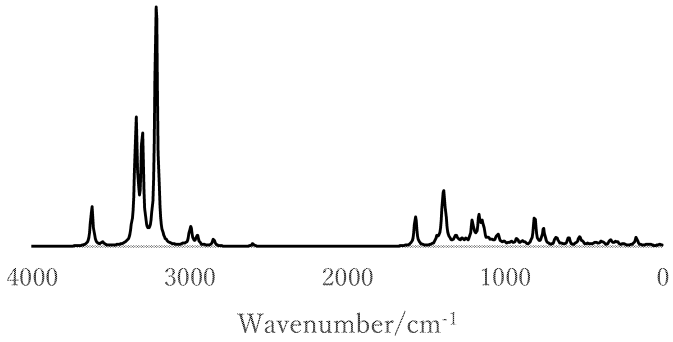


図８コラーゲンとヘパリン２分子の計算 Raman スペクトル

表７　コラーゲン（Ｖ）とヘパリンの相互作用によるラマンピークシフト（実測）

No	混合物 /cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	Δν /cm^{-1}	帰属
1	1413	1445		-32	NH_3^+対称伸縮振動
2	1052	1071		-19	NH_3^+変角振動

表８　コラーゲンとヘパリンの相互作用によるラマンピークシフト（計算）

No	混合物 /cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	Δν /cm^{-1}	帰属
1	1352	1386		-34	NH_3^+対称伸縮振動
2	1033	1043		-10	NH_3^+変角振動

3.2.3　コラーゲン(I)及びコラーゲン(I)とヘパリン混合物の表面増強ラマンスペクトル

コラーゲン(I)とヘパリンの相互作用は、コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用より弱いとされており[3),4)]、コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用と比較するため、コラーゲン(V)と同様にして作製した、銀コロイド入りコラーゲン(I)単独、ヘパリン単独、コラーゲン(I)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムを作製し、表面増強ラマン散乱の測定を行った。図９にコラーゲン(I)の薄膜フィルムの表面増強ラマン散乱スペクトルを、図１０にコラーゲン(I)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムの表面増強ラマン散乱スペクトルを、それぞれ示した。また、表９にコラーゲン(I)とヘパリンの相互作用によるラマンピークシフトを示した。

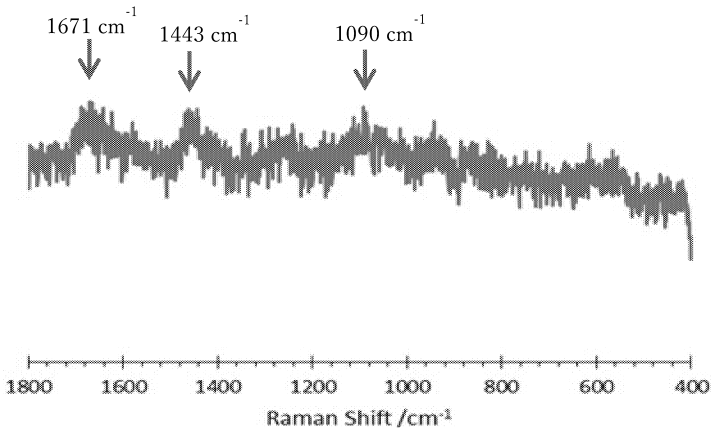


図９　コラーゲン(V)の表面増強ラマンスペクトル

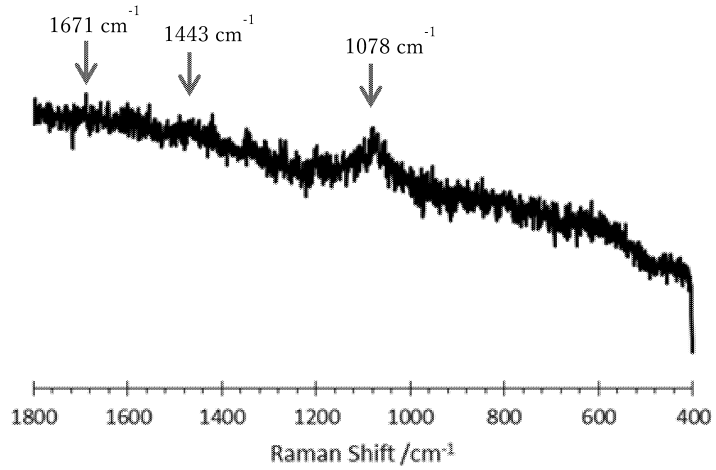


図 10　コラーゲン(V) とヘパリンの混合物の表面増強ラマンスペクトル

表７と表９を比べると、表７のコラーゲン(V)とヘパリンの相互作用によるラマンピークシフトが、コラーゲン(I)とヘパリンの相互作用によるラマンピークシフトより大きいことが分かる。これは、コラーゲン(I)とヘパリンの相互作用が弱く、また、相互作用しているコラーゲン(I)のアミノ酸残基が少ないことを表していると考えられ、前記の知見[3),4)]と整合性が取れていると思われる。

表９　コラーゲン(I)とヘパリンの相互作用によるラマンピークシフト（実測）

No	混合物 /cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	Δν /cm^{-1}	帰属
1	1420	1443		-23	NH_3^+対称伸縮振動
2	1078	1090		-12	NH_3^+変角振動

４．まとめ

β-Carotene の Raman 散乱測定を行い、共鳴効果による Raman ピークのシグナル増強効果を確認した。 ab initio 分子軌道計算と基準振動計算を併用し、分子振動の計算を行い、帰属を行った。また、安定構造の計算を行い、X 線による実測値との比較を行った。

コラーゲン(V)、ヘパリン、その混合物の顕微 IR ATR 測定を行い、コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用によるピークシフトを実測した。

コラーゲン(V)、ヘパリン、その混合物の表面増強ラマンスペクトルの測定を行い、コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用によるピークシフトを実測した。

コラーゲン(V)とヘパリンとの相互作用と比較するため、そのヘパリンとの相互作用がコラーゲン(V)より弱いとされるコラーゲン(I)単独、コラーゲン(I)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムを作製し、表面増強ラマン散乱の測定を行い、ラマンピークのシフトがコラーゲン(V)より小さく、その相互作用が弱いことを確認した。

コラーゲン(V)、ヘパリン、コラーゲン(V)とヘパリンが相互作用している３種のモデル化合物の ab initio 分子軌道計算と基準振動計算を行い、ピークシフトの傾向が実測と一致することを見出した。

なお、3.2 に関しては、今村保忠教授との連携研究である。

文献

1) M.O.Senge et al., Naturforsch C47,474 (1992)
2) S. Ricard-Blum et al., J. Biol. Chem. **281**, 25195 (2006)
3) H. Munakata et al., Glycobiology, **9**, 1023(1999)
4) J. San Antonio et al., J. Biochem. **32**, 4746(1993)

業績

1) T. Kawai, S. Hamamura, Y. Imamura, Y. Itoh, MRS Fall Meeting, Boston (2017)

別紙２
運営委員会および幹事会
開催記録

生体分子システムセンター運営委員会および幹事会開催記録

第１回運営委員会　開催日時：平成２６年９月２６日　午後 6:30～7:30
場所：　新宿キャンパス　２０階　第六会議室
出席者：　南雲　阿部　山田　小山　坂口　今村　辛　安井　小林

第２回運営委員会　開催日時：平成 27 年7月18日　土曜日　午後 3:00～3:15
場所：八王子キャンパス　15号館　208号室
出席者：　南雲　阿部　山田　小山　坂口　今村　辛　安井　小林　伊藤

第３回運営委員会　開催日時：平成 28 年3月8日　火曜日　午後 2:00～2:10
場所:新宿キャンパス　A0815教室
出席者：　南雲　阿部　山田　小山　坂口　今村　辛　安井　小林　伊藤　闥闥

第４回運営委員会　開催日時：平成 29 年３月１５日　午後 1:00～1:10
場所：新宿キャンパス　Ａ０８１５教室
出席者：　南雲　阿部　山田　小山　坂口　今村　辛　安井　小林　伊藤　闥闥　長澤

第１回幹事会（メール審議）　開催日時：平成 29 年３月 30 日
参加者：南雲　小林　阿部　今村

第２回幹事会（メール審議）　開催日時：平成 29 年５月 19 日
参加者：南雲　阿部　小林　今村

第３回幹事会（メール審議）　開催日時：平成 29 年 12 月 27 日
参加者：南雲　阿部　小林　今村

第４回幹事会（メール審議）　開催日時：平成 30 年２月 20 日
参加者：南雲　阿部　小林　小山　今村

第５回運営委員会　開催日時：平成 30 年３月 15 日　水曜日　午後 1:30～1:50
場所:八王子キャンパス　4号館201教室
出席者：　南雲　阿部　山田　小山　坂口　今村　辛　安井　小林　伊藤

第５回幹事会（メール審議）　開催日時：平成 30 年６月 15 日

参加者：南雲　小林　小山　今村
第 6 回幹事会（メール審議）　開催日時：平成 30 年 12 月 3 日
参加者：南雲　小林　小山　今村　辛

第 5 回運営委員会　開催日時：平成 31 年 4 月２０日　午後 1:30～1:50
場所：工学院大学八王子キャンパス　1 号館（1Ｎ－388 教室）
出席者：　南雲　阿部　山田　小山　坂口　今村　辛　安井　小林　伊藤　圜圜　長澤

別紙３
成果報告会ポスター

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成26年度～平成30年度）

工学院大学総合研究所
生体分子システム研究センター（BMSC）

2015年度

前期報告会

日　時
2015年7月18日（土）
15：00▶17：00

会　場
工学院大学 八王子校舎
15号館 208号室

参加費無料／申込不要
直接会場にお越し下さい

生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発

課題 1　重点課題：がん治療薬の開発研究

課題 2　天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究

課題 3　生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化

課題 4　生理活性の作用機作解析のための分析法の開発

プログラムについては裏面をご覧ください。

工学院大学
KOGAKUIN UNIVERSITY

工学院大学総合研究所 事務局
〒163-8677 東京都新宿区西新宿 1-24-2
TEL:03-3340-3440（直） FAX:03-3342-5304

http://www.kogakuin.ac.jp/
ホームページに八王子校舎アクセスマップ掲載

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成26年度～平成30年度）

工学院大学総合研究所
生体分子システム研究センター（BMSC）

2015年度前期報告会

◆日　時：2015年7月18日(土)15：00～17：00

◆会　場：八王子校舎 15号館 208号室

時　間	テーマ	講演者
1　本プロジェクトについて		
15:00 ～ 15:15	計画と活動報告	**今村保忠 教授** センター長（生命化学科）
2　研究の現状報告		
課題１　重点課題：がん治療薬の開発研究		
15:15 ～ 15:35	多剤耐性を抑制するマクロライドの 合成および構造活性相関研究	**南雲紳史 教授** （生命化学科）
課題２　天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究		
15:35 ～ 16:15	気生微細藻類由来生理活性物質の 探索、機能解析、および効率的生産	**阿部克也 准教授** （生命化学科）
	細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、 およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良	**坂口政吉 講師** （生命化学科）
課題３　生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化		
16:15 ～ 16:35	血管管腔モデルおよびⅣ型コラーゲン 会合体を用いた多機能性人工血管の開発	**辛英哲 准教授** （生命化学科）
課題４　生理活性の作用機作解析のための分析法の開発		
16:35 ～ 16:55	接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーの 合成とその表面の接着力測定	**小林元康 教授** （応用化学科）
3　質疑		

平成２６年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発」

生体分子システム研究センター

中間 報告会

日時 3月15日 水曜日 午後1:00～5:00

場所 新宿キャンパス A0815教室 【入場・参加 無料】

BMSC

Bio-Molecular System Center

生体分子システム研究センター中間報告

課題１． 重点課題：がん治療薬の開発研究
課題２． 天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究
課題３． 生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化
課題４． 生理活性の作用機作解析のための分析法の開発

工学院大学
KOGAKUIN UNIVERSITY

生体分子システム研究センター中間報告会プログラム

1 プロジェクト状況と今後について

13:00 ～ 13:10 ／今村保忠教授 センター長（生命化学科）
計画と活動報告

2 研究の現状報告

順番	課題	研究者	発表時間	発表
	課題１．重点課題：がん治療薬の開発研究			
1	多剤耐性を克服するマクロライドの合成および構造活性相関研究	南雲 紳史	30分	
	培養基質となる細胞外マトリックスの開発とそれを用いた細胞培養系の構築	今村 保忠		課題3で発表
	血管管腔モデルおよびⅣ型コラーゲン会合体を用いた多機能性人工血管の開発	辛 英哲		課題3で発表
	NF- kB 阻害活性を指向した DHMEQ 類縁体の合成	安井 英子		課題3で発表
	生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による振動分光学的検討	伊藤 雄三		課題4で発表
2	生理活性化合物の結合分子同定	闡闡 孝介 （理化学研究所）	15分	
3	生理活性天然物をリードとするグアニン四重鎖を標的とした抗がん剤の創製	長澤 和夫 （東京農工大）	15分	
4	がん免疫寛容解除物質の探索と作用機序解明	松野 研司	15分	
	休　憩		5分	
	課題２．天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究			
5	気生微細藻類由来生理活性物質の探索，機能解析，および効率的生産	阿部 克也	15分	
6	天然物由来デンプンのアミノ酸との複合化による有用化	山田 昌治	15分	
7	キチン分解酵素の遺伝子発現解析とキチンオリゴ糖生産への展開	小山 文隆 大川 一明 脇田 悟誌	20分	
8	細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、 およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良	坂口 政吉 本田 翔太郎	18分	
9	ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による 微生物・海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索	大野 修	15分	
	休　憩		5分	
	課題３．生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化			
10	培養基質となる細胞外マトリックスの開発とそれを用いた細胞培養系の構築	今村 保忠	15分	
11	血管管腔モデルおよびⅣ型コラーゲン会合体を用いた多機能性人工血管の開発	辛 英哲	15分	
12	NF- kB 阻害活性を指向した DHMEQ 類縁体の合成	安井 英子	15分	
	抗腫瘍活性を有する海産天然物の精密合成および構造活性相関研究	南雲 紳史		課題1で発表
	課題４．生理活性の作用機作解析のための分析法の開発			
13	接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーの合成とその表面の接着力測定	小林 元康	15分	
14	生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による振動分光学的検討	伊藤 雄三	15分	
	生理活性化合物の結合分子同定	闡闡 孝介 （理化学研究所）		課題1で発表

3 質疑

平成26年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
「生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発」

生体分子システム研究センター
2017年度報告会

日時 2018年3月15日(木) 13:30～17:00

場所 八王子キャンパス 4号館201教室

入場・参加 無料

研究の現状報告

課題1. 重点課題：がん治療薬の開発研究
課題2. 天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究
課題3. 生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化
課題4. 生理活性の作用機作解析のための分析法の開発

工学院大学
KOGAKUIN UNIVERSITY

生体分子システム研究センター2017年度報告会プログラム

1 プロジェクト状況と今後について

13:30～13:50／今村保忠教授センター長（生命化学科）

計画と活動報告

順番	課題	研究者	発表時間	発表

2 研究の現状報告

課題1. 重点課題:がん治療薬の開発研究

1 多剤耐性を克服するマクロライドの合成および構造活性相関研究	南雲紳史	20分
2 がん免疫寛容解除物質の探索と作用機序解明	松野研司	15分

休憩5分

課題2. 天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成･構造研究

3 天然物由来デンプンのアミノ酸との複合化による有用化	山田昌治 小山文隆	15分
4 キチン分解酵素の遺伝子発現解析とキチンオリゴ糖生産への展開	脇田悟誌 木村将大	20分
5 細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良	坂口政吉	15分
6 ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による微生物･海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索	大野　修	15分

休憩5分

課題3. 生理活性物質のアッセイ系の開発と改変･有効化

7 培養基質となる細胞外マトリックスの開発とそれを用いた細胞培養系の構築	今村保忠	15分
8 血管管腔モデルおよびIV 型コラーゲン会合体を用いた多機能性人工血管の開発	辛　英哲	15分
9 NF-kB 阻害活性を指向したDHMEQ 類縁体の合成	安井英子	15分

課題4. 生理活性の作用機作解析のための分析法の開発

10 接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーの合成とその表面の接着力測定	小林元康	15分
11 生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による振動分光学的検討	伊藤雄三	15分

3 質疑

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成26年度～平成30年度）
「生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発」

生体分子システム研究センター
最終報告会

日時 2019年4月20日（土） 13:30～18:30

場所 工学院大学八王子キャンパス 1号館（1N-388教室）

入場・参加 無料

研究の最終報告

課題1. 重点課題：がん治療薬の開発研究

課題2. 天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究

課題3. 生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化

課題4. 生理活性の作用機作解析のための分析法の開発

工学院大学
KOGAKUIN UNIVERSITY

工学院大学総合研究所 生体分子システム研究センター

最終報告会　次第

1　開会の挨拶

鷹野　一朗　工学院大学総合研究所　所長

2　プロジェクトの総括

今村　保忠　センター長（生命化学科）

3　研究課題の最終報告と質疑

順番	課題	研究者	時間
課題 1.　重点課題:がん治療薬の開発研究			
1	多剤耐性を克服するマクロライドの合成および構造活性相関研究	南雲　紳史	20分
2	生理活性化合物の結合分子同定	闐闐　孝介	20分
3	生理活性天然物をリードとするグアニン四重鎖を標的とした抗がん剤の創製	長澤　和夫	20分
4	がん免疫寛容解除物質の探索と作用機序解明	松野　研司	20分
休憩			10分
課題 2.　天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成･構造研究			
5	気生微細藻類由来生理活性物質の探索,機能解析,および効率的生産	油井　信弘	20分
6	天然物由来デンプンのアミノ酸との複合化による有用化	山田　昌治	20分
7	キチン分解酵素の遺伝子発現解析とキチンオリゴ糖生産への展開	小山　文隆	20分
8	細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良	坂口　政吉	20分
9	ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による微生物･海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索	大野　　修	20分
休憩			10分
課題 3.　生理活性物質のアッセイ系の開発と改変･有効化			
10	培養基質となる細胞外マトリックスの開発とそれを用いた細胞培養系の構築	今村　保忠	20分
11	血管管腔モデルおよびIV型コラーゲン会合体を用いた多機能性人工血管の開発	辛　　英哲	20分
12	NF-kB阻害活性を指向したDHMEQ類縁体の合成	安井　英子	20分
課題 4.　生理活性の作用機作解析のための分析法の開発			
13	接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーの合成とその表面の接着力測定	小林　元康	20分
14	生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による振動分光学的検討	伊藤　雄三	20分

4　閉会の挨拶

今村　保忠

別紙４
成果報告会発表資料

平成 26 年度 - 平成 30 年度
文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

研究プロジェクト名
生体分子システムを標的とした天然物由来新規生理活性物質の開発

最終報告

研究組織名
生体分子システムセンター
Bio-Molecular System Center

工学院大学　総合研究所
2019 年 4 月 20 日

目次

【研究成果概要】

＜テーマ 1.1 &3.4＞ 多剤耐性克服活性などを有する
マクロライド天然物の全合成研究（南雲紳史） ・・・・ 1
＜テーマ 1.6&4.3＞ 生理活性化合物の結合分子同定 （闐闐孝介） ・・・・ 3
＜テーマ 1.7＞ 生理活性天然物をリードとするグアニン四重鎖を標的とした
抗がん剤の創製（長澤和夫） ・・・・ 5
＜テーマ 1.8＞ がん免疫寛容解除物質の探索と作用機序解明（松野研司） ・・・・ 7
＜テーマ 2-1＞ 気生微細藻類由来生理活性物質の探索，
機能解析，および効率的生産（油井信弘） ・・・・ 9
＜テーマ 2.2＞ 天然物由来デンプンのアミノ酸との複合化による有用化
（山田昌治） ・・・・ 11
＜テーマ 2.3＞ キチン分解酵素の遺伝子発現解析と
キチンオリゴ糖生産への展開（小山文隆） ・・・・ 13
＜テーマ 2.4＞ 細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、
およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良（坂口政吉） ・・・・ 15
＜テーマ 2.5＞ ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による
微生物・海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索（大野修） ・・・・ 17
＜テーマ 1.2 & 3.1＞ 培養基質となる細胞外マトリックスの開発と
それを用いた細胞培養系の構築（今村保忠） ・・・・ 19
＜テーマ 1.3 & 3.2＞ 血管管腔モデルおよび IV 型コラーゲン会合体を用いた
多機能性人工血管の開発（辛英哲） ・・・・ 21
＜テーマ 1.4 & 3.3＞ NF-κB 阻害活性を指向した DHMEQ 類縁体の合成
（安井英子） ・・・・ 23
＜テーマ 4.1＞ 接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーブラシの合成と
その表面の接着力測定（小林元康） ・・・・ 25
＜テーマ 1.5 & 4.2＞ 生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による
振動分光学的検討（伊藤雄三） ・・・・ 27

1.1 & 3.4

多剤耐性克服活性などを有する
マクロライド天然物の全合成研究

Synthetic Studies of Macrolide Natural Products Exhibiting Inhibition of Multidrug Resistance and so on

南雲　紳史
工学院大学先進工学部生命化学科

Shinji Nagumo
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

A new efficient synthesis of sekothrixide was established on the basis of our developed regioselective coupling of epoxy *sec*-alcohol with Gilman reagent guided by a TMS group. The new synthetic route allowed overall yield of 6.3% (26 steps) from optically active 3-silyloxy-2-methylaldehyde.

Keywords: Sekothrixide, multidrug resistance, epoxy *sec*-alcohol, Gilman reagent, TMS group, regioselective

1. はじめに　近年、新しい抗癌剤が次々に見出され癌の化学療法は目覚ましい進歩を遂げた。その一方で、多剤耐性という困難な問題が現れた。多剤耐性には幾つかの機構が知られている。その一つとして、Ｐ糖タンパクなどトランスポーターの過剰発現が挙げられる。痛風の治療に利用されるコルヒチンはＰ糖タンパクの代表的なターゲットであるが、エリスロマイシンやクラリスロマイシンなどと併用した場合、極めて重篤な副作用を生じることがある。これはエリスロマイシンなどがＰ糖タンパクを阻害し、原形質にコルヒチンが蓄積したためである。

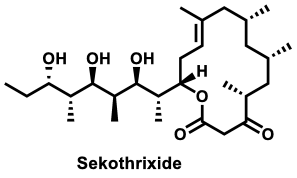


図 1

瀬戸教授らは埼玉県の土壌から採取した *Saccharothrixide* sp. CF24 の大規模発酵液からセコスリキシドを単離構造決定した [1]。本化合物はコルヒチン耐性を獲得した KB-C2 細胞に対して、コルヒチンの共存下で殺細胞活性（IC_{50} 1.0 μg/mL）を示す。以前我々は、この初の全合成に成功し、その立体配置を完全に決定した [2]。しかし、30 工程以上を要したため、得られた量はわずか数ミリグラムであった。本研究では、薬剤耐性克服活性の分子機構解明に寄与することを目的とし、十分なセコスリキシドやその誘導体の獲得を可能とする新たな合成経路の確立を目指した。

2. 成果　図２に簡単な合成計画を示す。セコスリキシドのラクトン部は閉環メタセシス反応で構築すると考えると、その前駆体としてセグメント **A** とセグメント **B** が必要になる。このうち、セグメント **B** に見られる 7 連続不斉中心の構築が最重要課題であるが、13 位の配置を逆にして **C** とすると、16 位を中心に左右の立体構造は対称的になる。我々は、エポキシ二級アルコールと Gilman 試薬の反応が 1,2－ジオールを選択的に生成するのに対し、水酸基を TMS 基で保護すると 1,3－ジオールの生成が優先することを見出している [3]。そこで 13－15 位および 17－19 位の立体構造を構築するのに、この方法を繰り返し用いることにした（**D**→**E**）。

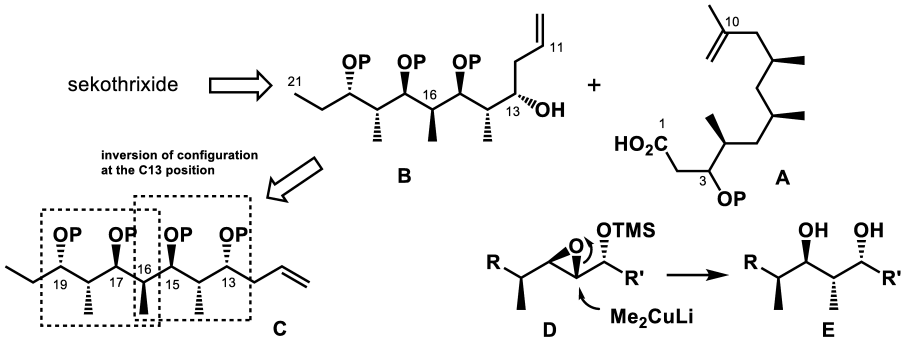


図 2

市販のヒドロキシエステル **1** から５工程で **2** を合成した。次に、アリル化、CBS 還元、香月－Sharpless エポキシ化、２級水酸基の TMS 保護を順次行うことで **3** に導いた。鍵工程となる **3** と Me_2CuLi の反応は位置選択的に進行し、79%の収率で 1,3－ジオール **4** を得た。

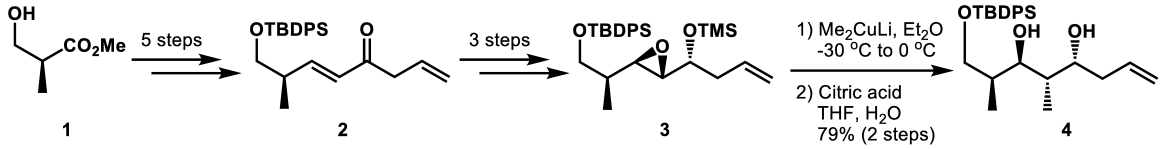


図３

ジオール **4** から４工程でエノン **5** に変換後、再度 CBS 還元、香月-Sharpless エポキシ化、TMS 保護を行うことで、エポキシアルコール **6** を立体選択的に合成した。二度目の鍵工程となる **6** の Me_2CuLi による開環反応を行うと、やはり 1,3-ジオールが主生成物として得られた。ジオールは直ちにアセトナイドで保護し **7** を得た。次に、ベンジリデンアセタールを位置選択的開裂した後、生じた 13 位水酸基の配置を反転することで **8** を得た。最終段階となる 14 員環ラクトンの構築は、閉環メタセシス反応を利用することにした。既に合成しているカルボン酸 **9** と今回合成したアルコール **8** を椎名法でエステル化した後、第二世代 Grubbs 触媒を用いて閉環メタセシス反応を行なった。その結果、*E*－アルケン選択的にメタセシスが進行し目的の 14 員環ラクトン **10** が生成した。ラクトン **10** は、TBS 基の除去、酸化、脱保護を順次行い、Sekothrixide を合成した。その各種スペクトルデータは天然品および以前の合成品のものとよく一致した。総工程数 29 工程、総収率は 4.9%であった。

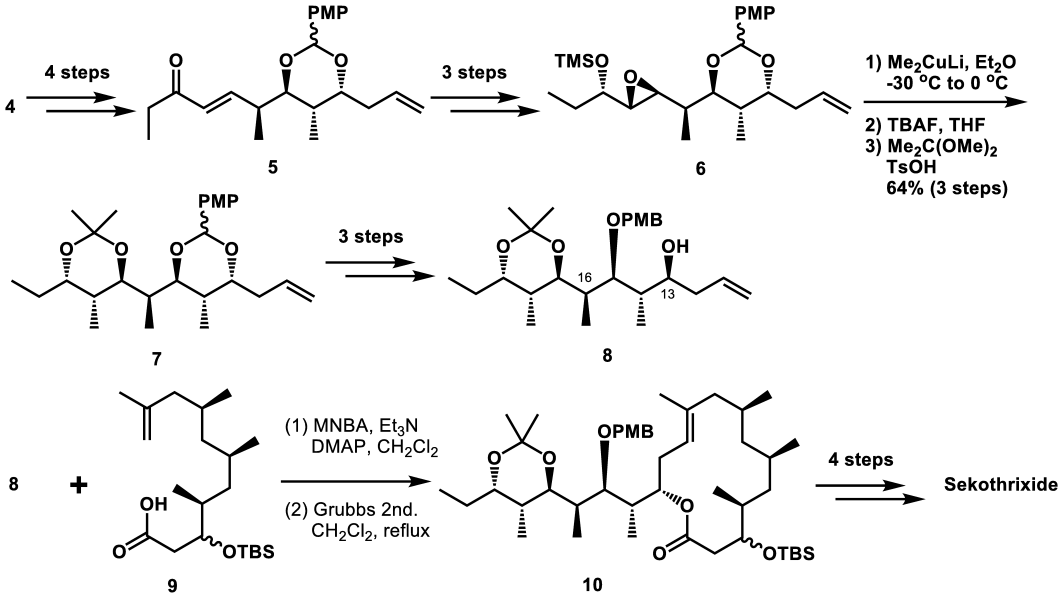


図４

セコスリキシドの排泄抑制活性に関して、現在今村グループが検討している。また、4 位、6 位、8 位に関する立体異性体の合成も行っており、それらの抗腫瘍活性評価は松野、大野グループが行っている。

文献

1) Y. J. Kim, K. Furihata, A. Shimazu, H. Seto, J. Antibiotics.,**1991**, *44*, 1280.
2) N. Terayama, E. Yasui, M. Mizukami, M. Miyashita, S. Nagumo, *Org. Lett*. **2014**, *16*, 2794.
3) N. Terayama, S. Ushijima, E. Yasui, M. Mizukami, M. Miyashita, S. Nagumo, *Tetrahedron Lett*. **2014**, *55*, 6515.
4) D. Katsumi, K. Nakasone, N. Terayama, E. Yasui, M. Mizukami, M. Miyashita, S. Nagumo, J. Org. Chem. **2019**, *84*, 1553.

1.6 & 4.3

生理活性化合物の結合分子同定

Identification of Binding Molecules of Bioactive Compounds

闐闐　孝介
理化学研究所 開拓研究本部 袖岡有機合成化学研究室

Kosuke Dodo
Synthetic Organic Chemistry Laboratory, RIKEN Cluster for Pioneering Research

To Identify the target molecules (proteins) of bioactive compounds is very important for chemical biology research. Although there are many methods to identify the binding molecules of bioactive compounds, there are many problems to identify the “real” target molecules. In this study, we are planning to develop novel methodologies for target identification. We focus on the development of novel methods to improve affinity labeling and identification of binding proteins. By using affinity labeling, we “label” the binding proteins in live cells, and then we “detect” and identify” the labeled proteins. To improve each step, we developed methods for labeling and detection of binding molecules. For labeling, we developed turn-ON fluorescent affinity labeling method using bifunctional *O*-nitrobenzoxadiazole (*O*-NBD) unit. The *O*-NBD itself is non-fluorescence, but it can react with amine (lysine) and turn into *N*-NBD, which exhibits a strong fluorescence. Therefore, *O*-NBD unit can label binding proteins with “turn-ON” fluorescence. For detection, we developed Alkyne-tag Raman Screening (ATRaS) method, in which alkyne-tagged peptides can be detected by using Raman spectroscopy.

Keywords: Target Protein, Affinity Labeling, Affinity Purification, Alkyne Tag, Raman Spectroscopy

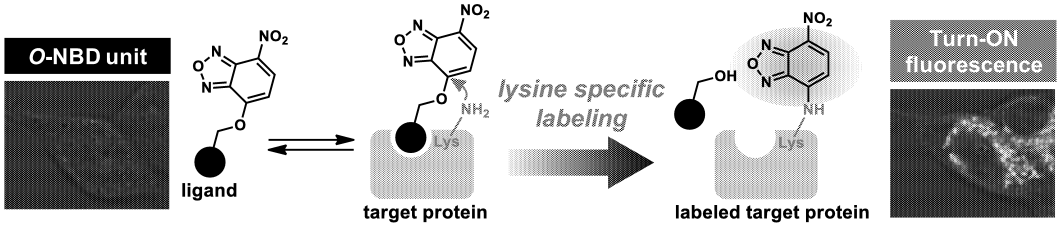
1. はじめに

ケミカルバイオロジー研究において、生物活性化合物の標的蛋白質を同定することはその作用機序解明において非常に重要である。しかしながら、生物活性化合物は生体内では複数の蛋白質に結合すると考えられ、原理的にはそれら結合蛋白質を余すことなく同定できなければ、生物活性に関係する「真の」標的蛋白質を同定することは困難である。しかしながらそのための手法はいまだ発展途上であり、様々な手法を検討しながら研究を進めるのが一般的である。

本研究課題では生物活性化合物の標的蛋白質をより効率的に同定するために、複数の結合蛋白質を同定できる手法の開発を進め、ケミカルバイオロジー研究を加速させることを狙う。特に生物活性化合物と結合蛋白質の間に共有結合を形成できるアフィニティーラベリングに着目し、生細胞中で結合蛋白質を標識することで、生理的条件で結合する蛋白質を同定することを目指す。

2. 成果

（１）Turn-ON 型蛍光アフィニティーラベル化法

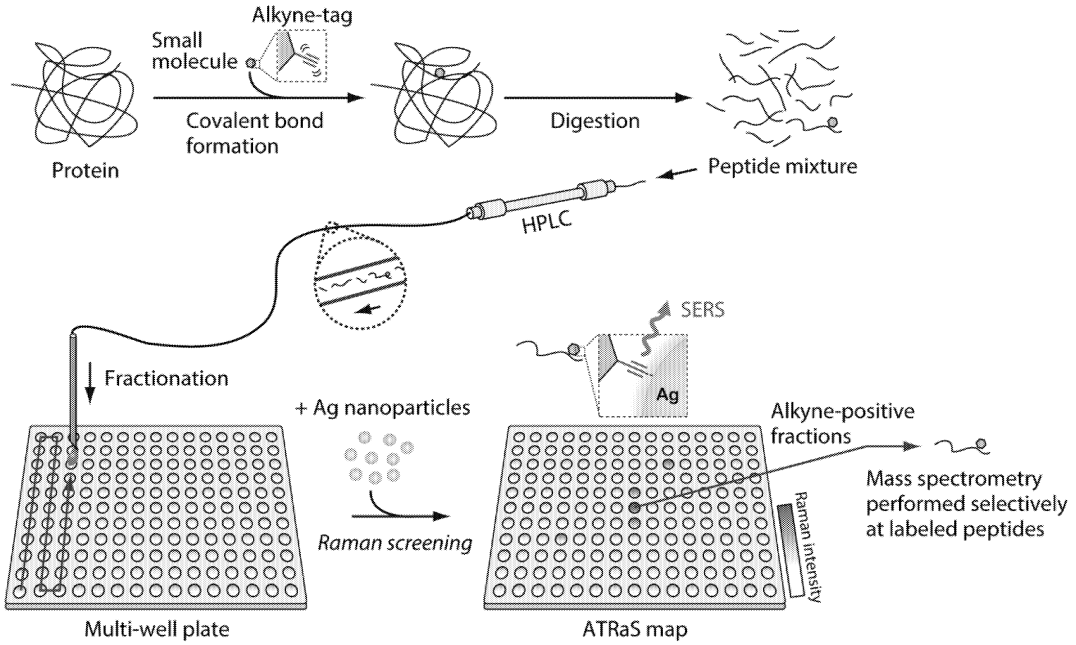


生物活性化合物の結合分子を蛍光で標識する手法として、*O*-nitrobenzoxadiazole (*O*-NBD) ユニットを用いたアフィニティーラベル化法の開発を行った。*O*-NBD はそれ自身では蛍光を持たないが､アミノ基と反応して *N*-NBD へと変換されると蛍光を発するという Turn-ON 型の蛍光を持つ。そこで我々は本ユニットを生物活性化合物に導入すれば、結合部位近傍に存在するリジン残基のアミノ基と選択的に反応し､標的蛋白質を蛍光標識することができると考えた。さらに *O*-NBD はコンパクトな官能基であるため（分子量：180）、元の化合物の生物活性を損ないにくく、プローブ設計の柔軟性も高いと考えられた。そこで本手法が実際に蛋白質の蛍光標識化に使えるかどうかを検証するために、アビジン－ビオチンをモデル系として選び、*O*-NBD を導入したビオチンを

用いて実際にアビジンの蛍光標識化が可能かどうかを検討した。その結果狙い通り、アビジンを蛍光標識化することができ、本手法の有用性を実証できた。また、蛍光標識されるリジン残基に関しては、蛍光 HPLC を用いることで定量的に標識ペプチドを検出することに成功し、ビオチンの結合部位近傍のリジン残基が選択的に標識されていることも確認できた。さらに本手法を用いて生細胞中で生物活性化合物の結合蛋白質を蛍光標識化し、標的蛋白質の同定や蛍光イメージングにも成功した。

（２）アルキンタグを用いた結合部位・結合蛋白質の同定法

生物活性化合物の結合蛋白質・結合部位を同定する手法として、蛍光標識基よりも小さなアルキンタグを用いた同定法 Alkyne-tag Raman Screening (ATRaS)の開発を行った。アルキンは非常にコンパクトな官能基でありながら（分子量 : 25)、生体成分がラマンシグナルを示さない領域に強いラマンピークを持つことが知られており、これを用いることで我々は生細胞中でアルキン標識化合物を可視化することに成功している（Alkyne-tag Raman Imaging: ATRI)。そこでさらに、ラマン顕微鏡によるアルキンタグの検出技術を、生物活性化合物により標識されたペプチド断片を検出する手法へと展開することを検討した。すなわち、標識官能基とアルキンタグを導入したプローブ分子を用いて結合蛋白質を標識し、ペプチド断片へと酵素消化後、アルキンのラマンシグナルを元に化合物が標識したペプチド断片を同定する手法を開発することにした。この際にはアルキンタグのラマン検出感度の低さが問題であった。そこで、表面増強ラマン散乱現象（Surface-Enhanced Raman Scattering: SERS）を利用して種々検討したところ、銀ナノ粒子上でアルキンタグのラマンシグナルを 100 万倍以上増幅させることに成功し、アルキン修飾ペプチドを高感度で検出することに成功した。さらに、システインプロテアーゼの一つカテプシン B に関して、その阻害剤にアルキンを導入し、その結合部位を本手法で同定することにも成功した。



文献

1. Turn-ON fluorescent affinity labeling using a small bifunctional *O*-nitrobenzoxadiazole unit, T. Yamaguchi, M. Asanuma, S. Nakanishi, Y. Saito, M. Okazaki, K. Dodo and M. Sodeoka, *Chem. Sci.*, **2014**, *5*, 1021.
2. A “Catch-and-Release” Protocol for Alkyne-Tagged Molecules Based on a Resin-Bound Cobalt Complex for Peptide Enrichment in Aqueous Media, A. Miyazaki, M. Asanuma, K. Dodo, H. Egami, M. Sodeoka, *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, 8116.
3. Alkyne-Tag SERS Screening and Identification of Small-Molecule-Binding Sites in Protein, J. Ando, M. Asanuma, K. Dodo, H. Yamakoshi, S. Kawata, K. Fujita, M. Sodeoka, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 13901.

1.7　生理活性天然物をリードとするグアニン四重鎖を標的とした抗がん剤の創製

Development Antitumor Agents with Natural Products Targeting G-quadruplex DNA

長澤　和夫
東京農工大学大学院工学研究院

Kazuo Nagasawa
Graduate School of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology

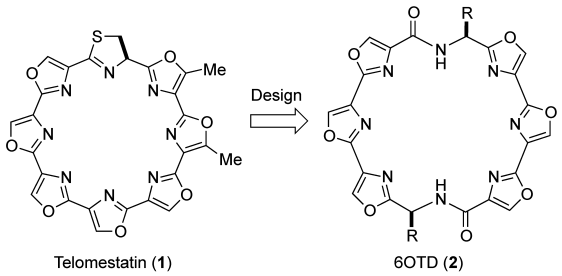
G-Quadruplex (G4) structures in guanine-rich oligonucleotides are involved in replication, transcription and translation processes in cells, and G4 dysfunction is associated with various diseases. Since G4 stabilization is believed to induce growth inhibition, senescence or apoptosis of cancer cells, various G4-stabilizing agents (G4 ligands) have been synthesized, including our recently developed series of macrocyclic polyoxazoles (OTDs). Among OTD derivatives, those bearing side-chain functional groups that interact with phosphate of the DNA backbone show potent G4-stabilizing ability. In this research, we investigated a synthesis of macrocyclic hexaoxazole bearing two phenol side chains, i.e., Y2H2–6M(4)OTD, based upon our previously reported procedure. Y2H2–6M(4)OTD showed moderate and selective stabilizing ability towards G4-forming oligonucleotides without altering their topology. It also shows growth-inhibitory activity against several cancer cells i*n vitro* and *in vivo*.
Keywords: G-quadruplex, Telomestatin, Macrocyclic Oxazole, Anticancer Agents

1. はじめに

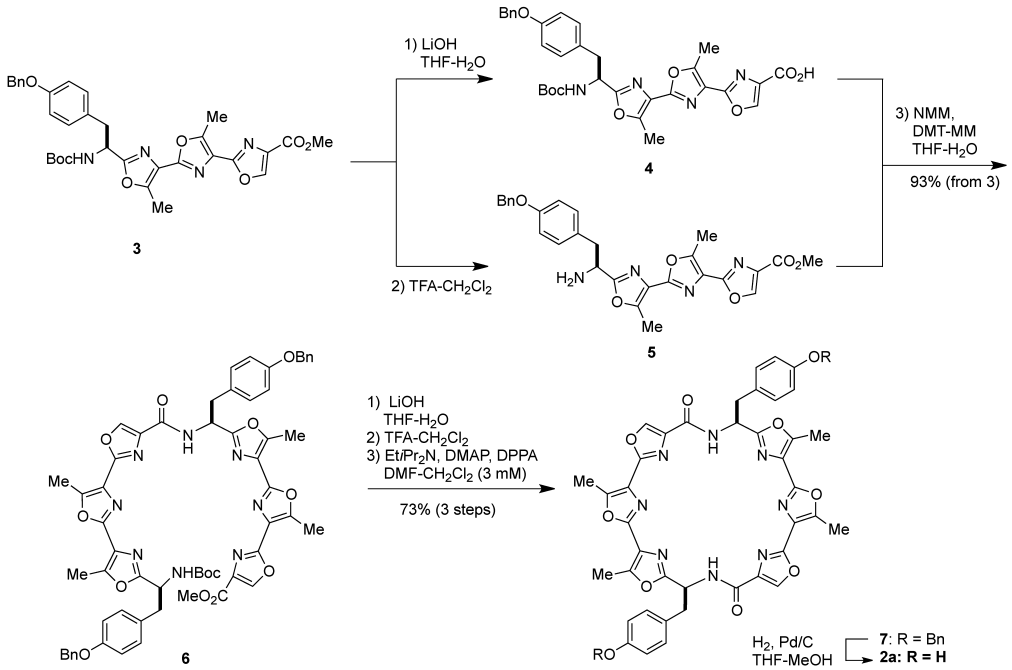
染色体の末端に存在するテロメアは、細胞分裂の度に短くなり、限界に達すると細胞分裂を停止し老化によりアポトーシスが誘導される。一方がん細胞ではテロメアを伸長する酵素テロメラーゼが高発現しており、テロメアが伸長される。これによりがん細胞は老化を回避し不死化している。従ってテロメラーゼの阻害はがん細胞の老化を導くことから副作用の少ないがん分子標的である[1]。ところでテロメアはグアニンの豊富な(TTAGGG)の繰り返し配列からなり、一価のカチオン存在下でグアニン四重鎖（以下 G4）を形成する。ヒトテロメアにおいて G4 が形成されると、テロメラーゼの接近の阻害によりテロメア伸長反応が阻害される[2]。従って、低分子化合物を用いた G4 構造の安定化は、テロメラーゼ活性の阻害に基づく抗がん剤の開発につながる。天然物 Telomestatin (**1**)は G4 構造を強力に安定化することが報告されている[3]。そこで我々は **1** の構造をもとに合成化学を基盤とし、強力な抗腫瘍活性を示す化合物の創製に取り組むこととした。

2. 成果

Telomestatin (**1**)の構造を基に構造展開を行うためのリード骨格として、**1** の母核中の大環状骨格とオキサゾール構造に着目し、大環状骨格中に６つのオキサゾールを有する 6OTD（**2**）を設計した。6OTD は、分子内に R 基（側鎖）を有する。この部位の構造展開により、目的とする抗腫瘍活性を有する化合物が創製できると考えた。



実際に、天然のアミノ酸を出発原料として、R に様々な官能基を有する 6OTD 誘導体を合成した。Scheme 1 に、側鎖にフェノールを有する Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)の合成を示した。L-チロシンを原料に、トリオキサゾール **3** を得、水酸化リチウム、TFA と反応させそれぞれカルボン酸 **4**、アミン **5** とした。ついで **4** と **5** を縮合剤を用いてカップリングすることでビストリオキサゾール **6** を得た。**6** のメチルエステルを水酸化リチウムを用いて加水分解し、TFA による Boc 基の脱保護を行い、精製することなく *i*Pr$_2$EtN、DMAP、DPPA 存在下、高希釈条件下 (3 mM) で大環状化反応を行うことで **7** を 73%の収率で得た（3 工程）。さらに **7** に対し Pd/C 存在下、水素添加反応を行うことで Bn 基を脱保護し Y2H2-6M(4)OTD (**2a**) を得ることができた (Scheme 1)。



Scheme 1　　Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)の合成

得られた Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)について、テロメア G4 に対する安定化能の評価および細胞増殖抑制活性をそれぞれ評価した。以下に結果をまとめる。

テロメア G4 に対する安定可能および選択性について、5’-FAM-d[GGG(TTAGGG)3]- TAMRA-3’の塩基配列である telo21 を用い、FRET 融解実験により評価を行った。その結果、**2a** の telo21 に対する Δ*T*m 値は 16.6 °C であった。一方 G4 を形成しないモデル 2 本鎖配列の Δ*T*m 値はほぼ 0 であった。このことから、**2a** はテロメア G4 と選択的に相互作用し安定化することがわかった。

ついでテロメスタチン誘導体 **2a** について、細胞増殖抑制活性を細胞毒性試験にて評価した。その結果、調べた全ての細胞株、A549 (肺がん細胞株)、DU145 (前立腺がん細胞株)、Hela (子宮頸がん細胞株) 、U251（脳腫瘍細胞株）および MCF7 (乳がん細胞株)について顕著な細胞増殖抑制活性を示すことがわかった (IC50 値: 0.068-0.82 μM) 。得られた結果をもとに、化合物 **2a** の U251 担がんモデルマウスにおける抗腫瘍効果を検証した。その結果、**2a** は腫瘍の増大を優位に抑制した。なおこの際 **2a** 投与によるマウスの体重減少は認められなかった[4]。

３．まとめと今後の展望

本研究では、強力な抗腫瘍活性をしめす Telomestatin (**1**)の母骨格を元に構造展開をして見出した Y2H2-6M(4)OTD (**2a**)について物性と高腫瘍活性を評価した。その結果 **2a** は、テロメア G4 を標的とし、種々のがん細胞の増殖を抑制することがわかった。さらに **2a** は、脳腫瘍細胞株 U251 の担がんモデルマウスにおいて顕著な腫瘍増殖抑制活性を発揮することがわかった。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、生物活性評価を行っていただいた、がん研究会がん化学療法センター分子生物治療研究部部長 清宮啓之博士、および同研究所 岡部幸子氏に深謝いたします。

文献

1. Blackburn, E. H. Switching and Signaling at the Telomere. *Cell* **106**, 661–673 (2001).
2. Rizzo, A. et al. Stabilization of quadruplex DNA perturbs telomere replication leading to the activation of an ATR-dependent ATM signaling pathway. *Nucleic Acids Res.* **37**, 5353–5364 (2009).
3. Shin-ya, K. et al. Telomestatin, a Novel Telomerase Inhibitor from Streptomyces anulatus. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 1262–1263 (2001).
4. Nakamura, T. et al. Targeting glioma stem cells in vivo by a G-quadruplex-stabilizing synthetic macrocyclic hexaoxazole. *Sci. Rep*. **7**, Article number:3605 (2017).

1.8　がん免疫寛容解除物質の探索と作用機序解明

Identification of New Chemical Entities with Abrogating Cancer Immunological Tolerance and Elucidation of the Mechanism of Action

松野　研司
工学院大学　先進工学部　生命化学科

Kenji Matsuno
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

Kynurenine and the metabolites are responsible for immunological tolerance. It has been reported that kynurenine modulates T cells by suppressing their proliferation and inducing apoptosis, and it also activates regulatory T (Treg) cells. Namely, cancer cell-derived kynurenine promotes tumor-cell survival and motility, and suppresses the antitumor immune response through aryl hydrocarbon receptor (AhR) in an autocrine/paracrine manner. Therefore, the abrogation of kynurenine production in cancer cells is thought to be a promising approach to anticancer immunotherapy. Based on the importance of kunurenine pathway in cancer drug discovery, identification of modulator for kynurenine pathway is being investigated. As the results of cell-based screening on our original chemical library including natural product derivatives, we have identified several chemotypes as kynurenine production inhibitor without obvious cytotoxicity. In this presentation, we report results of the screening and the elucidation of the mechanism of action.
Keywords: anticancer agent, immunological tolerance, kynurenine, indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), inhibitor, mechanism of action (MoA).

1. はじめに

近年、分子標的薬と呼ばれる抗がん剤が続々と開発されているものの、本質的には細胞増殖阻害剤が多いため重篤な副作用発現は避けられない。したがって、患者さんの生活の質（quality of life; QOL）向上のためには、身体的負担が少ない抗がん剤開発が必要不可欠である。

そもそも『がん』細胞は、ヒトにとって本来は異物であるにもかかわらず、免疫機能をくぐり抜け排除されない存在（免疫寛容）となっている。近年、この免疫寛容には、がん細胞が産出するキヌレニンという物質の関与が指摘されている。したがってキヌレニン産生阻害剤は、がん細胞の免疫寛容機構を破綻させる抗がん剤となりうると考えられる。すなわちキヌレニン産生阻害剤は、既存抗がん剤のような直接的な細胞増殖阻害剤ではなく、いわゆる『免疫療法剤』となることから、重篤な副作用が大幅に軽減された革新的抗がん剤になることが期待される[1]。

がん治療のコンセプトとしての免疫療法は、今に始まった話ではなく、古くは（いわゆる）丸山ワクチンが注目を浴びた 60 年近く前にさかのぼる。しかしながら、科学的なエビデンスに基づいて承認された医薬品は、つい数年前に登場した抗体医薬ニボルマブ（オプジーボ）までは皆無であった。本庶佑先生のノーベル章受賞で沸き立った昨今の新聞報道等により、本薬剤はセンセーショナルに取り上げられているが、既存の抗がん剤とは一線を画す新たな光明を（エビデンスを伴って）患者に届けていることは間違いない。一方で、その高額な薬価が問題視され、本邦の国民皆保険制度の破綻への危惧が現実味を帯びていることから、その代替となる薬剤経済学的に優れたがん免疫療法剤の開発は焦眉の急となっている。この社会的要請に応えるべく、低分子化合物によるがん免疫療法剤の開発を目的とした本研究を開始した。また後述するように、本研究では細胞系でのフェノタイプアッセイを基軸とすることから、いわゆるケミカルバイオロジー的観点よりヒット化合物の作用機序を解明することで、新たな抗がん剤の標的分子も提示できる。

2. 成果

（１）スクリーニング系構築、化合物ライブラリー構築、およびスクリーニング

キヌレニンを大量に産生する A431 細胞を用い、独自に構築した化合物ライブラリーをスクリーニングすることでキヌレニン産生抑制剤を同定した。その際に、false positive を排除する目的で、細胞増殖阻害活性を示さないことを MTT 法で確認した。また、当研究室の大野修准教授と連携して、スクリーニング対象を海洋生物抽出物に拡大し、本プロジェクトにおけるシナジー誘発を図った。

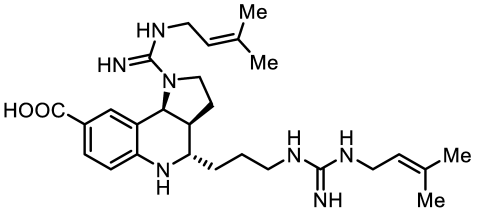
（２）スクリーニング結果

独自の化合物ライブラリー（>1000 化合物）を構築し、このうち 693 化合物をスクリーニングした。その結果、>50%阻害@20 μM（キヌレニン産生抑制活性）および細胞毒性を示さなかった 49 化合物をヒット化合物として同定した（ヒット率 7.1 %）。

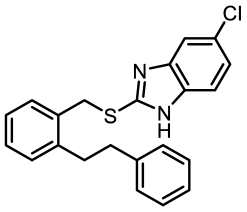
Cpd. No.	IC_{50} (μM)
KQI-1323	0.19
MF-20	0.45
KMF-114	1.3
KKT-18004	<2
KP-148	2.3
KP-20	8.6

ヒット化合物の構造的な特徴を精査したところ、９種類のケモタイプに大別可能であった。具体的には、熱帯植物 *martinella iquitosensis* 根茎より単離同定された martinellic acid 誘導体（KP-148 等）、チアジアジン誘導体（KQI-1323 等）、ベンズイミダゾール誘導体（MF-20）、ヘキサフルオロイソプロパノール誘導体（KMF-114 等）、ベンゾチアジン誘導体（KKT-18004 等）、イソキサゾール誘導体（KP-20 等）などであり、周辺化合物の評価結果から一定の構造活性相関を把握できた。

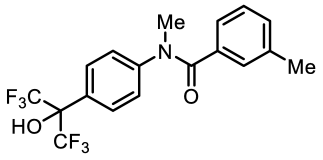
また海洋天然物からの探索に関しては、沖縄県産のシアノバクテリア *okeania sp.*から、キヌレニン産生抑制活性を示す化合物 KNP-1 の単離に成功した（IC_{50} = 0.5 μg/mL）。各種スペクトル解析より、プロパルギル構造を有する新規環状ペプチド様化合物であることが判明したため、物質特許を出願した。



martinellic acid



MF-20



KMF-114

（３）作用機序解明

上述のヒットした９種類のケモタイプにおける作用機序解析を実施した。

- KP-148 は、IDO に対する阻害活性は認められず（@200μM）、また IDO の発現量にも影響しなかった（Western blotting）。これらの結果から、本化合物はがん細胞中でのキヌレニン産生に関与するもう一つの酵素である tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO)への作用が示唆された。
- MF-20 は、IDO に対する阻害活性は認められず（@100μM）、STAT1 発現阻害により IDO の発現量を抑制していることが示唆された（Western blotting）。[3]
- KMF-114 の作用機序解明は今後の検討項目であるが、本化合物は各種核内受容体（LXR や ROR など）のモデュレーター活性 [2] を有することが知られている。キヌレニン産生に核内受容体が関与しているかどうかは不明であるが、少なくともこれらの間の関係性は全く知られていないことから、核内受容体がキヌレニン産生を制御していることが判明した場合は、分子生物学的に大きなインパクトを伴う研究成果になる。
- KNP-1 は、IDO に対する阻害活性は認められず（@200μM）、STAT1 発現阻害により IDO の発現量を抑制していることが示唆された（Western blotting）。

（４）研究成果

原著論文 1 件、特許出願 1 件、学会発表 15 件

参考文献

1. C. A. Opitz, M. Platten, *et al.* An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature* **2011**, *478*, 197–203.
2. L. Li, K. Lustig, *et al*.Preparation of bis(trifluoromethyl)hydroxymethylbenzenesulfonamides, - ureas, and -carbamates as liver X receptor modulators. PCT Int. Appl. WO 2000054759
3. Fukuda, M.; Matsuno, K. *et al.* Cyclic analogue of *S*-benzylisothiourea that suppresses kynurenine production without inhibiting indoleamine 2,3-dioxygenase activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 2846‑2849.

2.1

気生微細藻類由来生理活性物質の探索，機能解析，および効率的生産

Characterizations of bioactive compounds from aerial microalgae and their efficient production

油井　信弘
工学院大学先進工学部生命化学科

Nobuhiro Aburai
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

Microalgae inhabit aquatic and/or terrestrial environments with sufficient solar energy and convert atmospheric carbon dioxide into organic compounds such as proteins, carbohydrates and membrane lipids through photosynthesis. These by-products have been widely utilized as high-value feed ingredients for animals or as healthy food components for humans. Aerial microalgae (aeroterrestrial microalgae) growing on the surfaces of various substances such as rock and soil are able to survive in severe terrestrial environments. The aim of the present study was (1) to develop a simple and rapid assay utilizing aerial microalgae which helps to identify stress conditions that can efficiently enhance the carotenogenesis in photosynthetic organisms, (2) to investigate the effects of aerial condition on esterified xanthophyll accumulation in algal cells, and (3) to isolate bioactive compounds isolated from colonies of the photosynthetic microorganisms and evaluate the antibacterial activities.
Keywords: Aerial microalgae, Bioactive compounds, Carotenoids, Chlorophylls

1. はじめに

生物が作り出す様々な生理活性物質は、古来より人類の生活を豊かにしてきた。様々な生物の遺伝子解析により、数多くの生合成遺伝子が通常の生育では発現しない、いわば休眠状態にあることが示され、これら休眠遺伝子の制御により新規物質の発見と大量生産を目指す研究が天然物化学の主流の一つになっている。ほとんどの生理活性物質は自然界から微量しか得られず、大量生産の研究が社会的に求められている。一般に海や湖などに存在する微細藻類、大型藻類、藍藻などの光合成生物は、二酸化炭素を固定すると同時に色素、アミノ酸、脂質、多糖、抗生物質など様々な生理活性物質を産生することが知られている。

気生微細藻類は、陸上の厳しい環境（直射日光、寒暖差、乾燥、栄養分の欠乏など）において、岩場などの基物表面上で赤橙色のコロニーを形成しながら生活しており、これまでに我々は、東京都檜原村の山道にあるコンクリート擁壁の表面から新たに気生微細藻類 *Coelastrella* sp. KGU-Y002 を単離した。この藻体は、窒素源の欠乏がトリガーになり、アスタキサンチンおよびアドニキサンチンとその脂肪酸エステル体を含む様々なカロテノイドを大量に蓄積することができる。環境ストレスに応じて機能性色素の蓄積量を大きく変化できることから、色の変化を指標にできる気生微細藻類は、生理活性物質の生合成制御研究において極めて重要である。本研究では，気生微細藻類の脂質成分に含まれる生理活性物質（抗酸化物質や抗菌活性物質）の探索とそれらの機能解析および効率的生産に関する研究成果を報告する。

2. 成果

2.1 生理活性物質によるカロテノイド生合成制御の評価系

光合成生物、菌類、動物など広範囲に存在するテルペノイドは、60,000 を超える化合物が知られ、その中には、医薬、農薬、香料、色素、高分子材料や潤滑油など、さまざまな産業価値をもつ化合物が含まれる。このような背景から、テルペノイドを効率的に生合成できる研究が進められている。なかでも、テトラテルペン（C40）のカロテノイドは有用な機能性色素であり、細胞内の油滴に蓄積することから、その色彩変化がテルペノイド生合成の活性・制御の指標になると考えた。そこで、様々な培養条件でのテルペノイド生合成の制御活性を評価するため、気生微細藻類のカロテノイド高蓄積株を用い、多検体検出が容易な細胞内カロテノイド蓄積定量分析法を開発した。分光学的に分析することにより、*Coelastrella* sp.に蓄積したカロテノイド量をほぼ正確に

算出することができた。続いて、本評価系を用い 75 検体の植物粗抽出物からカロテノイド生合成を活性化させる物質を探索した結果、針葉樹サワラの樹皮成分に含まれていることが分かった。その脂溶性成分から単離した物質は強い活性を示し、分子量 286 で芳香環を有する totarane 型ジテルペノイドであると推定された。

2.2 気生微細藻類における抗酸化物質（エステル型カロテノイド）の選択合成

カロテノイドは代表的な抗酸化物質の一つであるが、その抗酸化能に起因しない生理活性をもつことが分かってきた。アスタキサンチンやアドニキサンチンなどのキサントフィル類は水酸基をもつために脂肪酸エステル体を形成するが、それらの生理活性は詳しくわかっていない。*Coelastrella* sp.によるエステル型カロテノイドの選択合成が可能になれば、エステル型アドニキサンチンをはじめとする様々なエステル型カロテノイドの生理活性を評価することができる。そこで本研究では，気生微細藻類のエステル型カロテノイドの選択合成とその機構を解明するため、気相条件と塩ストレスの影響を検討した。

7 日間で明所下の気相条件において、0 日目と比べて *Coelastrella* sp.のカロテノイドと脂肪酸含有量は約 1.5 と 3 倍にそれぞれ増加した。エステル型カロテノイドの含有量は、光強度 100 μmol photons m^{-2} s^{-1} までは光強度に依存して増加し、それ以上の光強度では減少した。気生微細藻類は、大気中から CO_2 を取り込んでカロテノイドと脂肪酸を合成でき、光がエステル化反応に影響することがわかった。

2. 3 気生微細藻類の抗菌活性物質の単離同定

陸上の擁壁の表面上でコロニーを形成して生活する気生微細藻類はオレンジ色をしており、不思議なことに菌やカビが目立って生えている様子が見られない。おそらく、気生微細藻類は抗菌活性物質を産生し、菌の増殖を抑えて優位に存在できる仕組みを有していると思われる。本研究では、壁面に着生している気生微細藻類から抗菌活性物質を探索し、その単離同定と特徴づけすることを目的とした。

東京都檜原村数馬の壁面から気生微細藻類のコロニー採取し、そこから種々のクロマトグラフィー法により抗菌活性画分を分離した。その画分の吸収スペクトルは、特徴的な Soret 帯と Q 帯に極大吸収を有していたため、クロロフィル類が含まれていると考えられるが、主要クロロフィル a~f とは一致しなかった。また、LC-MS 法により質量分析したところ$[M+H]^+$=609.2714、組成式 $C_{35}H_{37}N_4O_6$ のポルフィリン化合物が予測された（図 1）。抗菌活性物質の構造式は、クロロフィル *d* と類似しており、3 位がケトン基であり、長鎖側鎖であるフィトール鎖を有していないことが分かった。

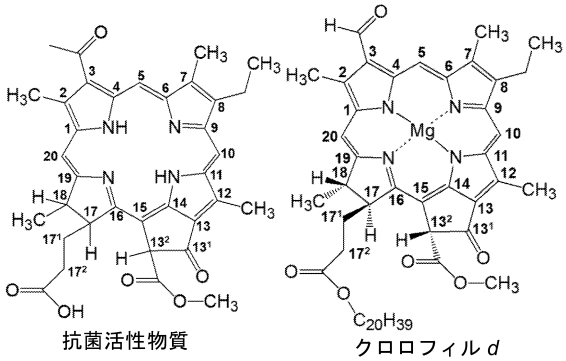


図 1 気生微細藻類コロニー由来抗菌活性物質の推定構造とクロロフィル *d*

文献

1. Ohkubo K, Aburai1 N, Miyauchi H, Tsuzuki M, Abe K (2017) CO_2 fixation and lipid accumulation in biofilms of the aerial microalga *Coccomyxa* sp. KGU-D001 (Trebouxiophyceae). *J. Appl. Phycol.*, **29**, 1745-1753.
2. Saeki K, Aburai1 N, Aratani S, Miyashita H, Abe K (2017) Salt-stress and plant hormone-like responses for selective reactions of esterified xanthophylls in the aerial microalga *Coelastrella* sp. KGU-Y002. *J. Appl. Phycol.,* **29**, 115-122.
3. Aburai1 N, Kazama H, Tsuruoka A, Goto M, Abe K (2018) Development of a whole-cell-based screening method for a carotenoid assay using aerial microalgae. *J. Biotechnol.*, **268**, 6-11.
4. Aburai1 N, Maruyama S, Shimizu K, Abe K (2019) Production of bioactive oligopeptide hydrolyzed by protease derived from aerial microalga *Vischeria helvetica*. *J. Biotechnol.*, **294**, 67-72.

2.2 天然物由来デンプンのアミノ酸との複合化による有用化

Development of Native Starch / Amino Acid Conjugate And Its Application To Food Products

山田　昌治
工学院大学先進工学部応用化学科

Masaharu Yamada
Department of Applied Chemistry, Kogakuin University

Conjugation of 20 types of amino acids and wheat starch by heat-moisture treatment was carried out. The gelatinization temperature increased remarkably, and it showed that the degree is closely related to the charge characteristics of amino acids. In particular, it showed high gelatinization temperatures in conjugation with glutamic acid or aspartic acid which are acidic amino acids.

Furthermore, we found that the conjugate has a significantly improved resistance to digestion over native starch. In the future, we will focus on indigestible properties, aim for further improvement of indigestibility, and try to apply to breads.

Keywords: Resistant Starch, Amino Acid, Heat Moisture Treatment,

1. はじめに　天然物由来のデンプンは糊化特性を利用した食品素材として用いられているが、食品工業の発達とともに天然デンプン以上の特性を持ったデンプンの創製が求められている。一つは酢酸やエーテルといった化学物質を修飾することで糊化温度を上昇させ、冷凍食品（冷凍耐性付与）やチルド食品（老化耐性）へ応用されている[1,2]。しかしながら化学物質で修飾したデンプンは食品衛生法では添加剤とみなされるため、消費者の嗜好に沿うソリューションとはいえない。これに対して Sair らは、120℃程度の飽和水蒸気下でデンプンを処理すると有意に糊化温度が上昇することを見いだしており、これを湿熱処理と名付けた[3]。湿熱処理に伴って糊化温度が上昇するメカニズムはすでに Arns らによって明らかにされている[4]。この技術に基づいて、Takahashi らのグループは、タピオカデンプンやジャガイモデンプンとグルタミン酸ナトリウムを湿熱処理するとデンプン単体で処理するよりも顕著に糊化温度が上昇することを見いだした[5,6]。本研究では、パンや麺に添加することを想定し、コムギデンプンと 20 種類のアミノ酸を湿熱処理することで、アミノ酸ごとに糊化特性がどのように変化するかを明らかにし、難消化性という新しい切り口での展開を図る。

2. 成果

（１）20 種類のアミノ酸とコムギデンプンの湿熱処理による複合化を行った。糊化温度は顕著に上昇し、その程度はアミノ酸の荷電特性と密接に関係していること示した。特に酸性アミノ酸であるグルタミン酸やアスパラギン酸との複合化において高い糊化温度を示した。

（２）未処理デンプン、湿熱処理デンプン、20 種類の複合化デンプンについて、迅速粘度測定装置（RVA）を用いて、糊化・老化特性を測定した。酸性アミノ酸との複合化デンプンは、他の系に比べて、明確に糊化粘度が低く、老化しにくいことが分かった。この知見は、湿熱処理によるアミノ酸複合化デンプンを食品に適用する際の重要な情報となる。

（３）複合化のメカニズムを探るため、X 線回折、およびデンプン粒子断面の顕微鏡観察を行った。湿熱処理に伴って結晶構造には変化がみられなかった。一方、粒子断面の観察を行ったところ、微細構造はみられなかったが、αアミラーゼ液を滴化したところ、同心円状の層状構造がみられ、湿熱処理に伴って層間距離に変化が起こることが分かった。

（４）デンプンに湿熱処理を行うと、難消化性が少し上昇するが、アミノ酸とともに湿熱処理を行い、デンプン／アミノ酸複合体を作製すると難消化性が数倍程度上昇することが分かった。とりわけ、プロリンとの複合化は未処理に比べて、１５倍程度難消化性が向上した。糊化温度変化と難消化性は必ずしも関係があるわけではなかった。

（５）プロリンとの複合化デンプンの難消化性が高い理由を探るため、得られた難消化性のデー

タといくつかの物性（溶解度、アミノ酸の分子的性質）の関係を調べたところ、水に対するアミノ酸の溶解度と難消化画分含有率との間に高い相関があることが分かった（図１）。このことから複合化のメカニズムとして、アミノ酸とデンプンのヒドロキシ基との間のエステル化反応が挙げられた。

（６）湿熱処理デンプンをパンに添加したときに、製パン品質（比容積、香気成分、クラムの軟らかさ）が低下するという懸念がある。そこで、湿熱処理コムギデンプンを添加したパンを作製したところ、最終発酵時間を延長するだけで、比容積、香気成分、およびクラムの軟らかさ、いずれも無添加のパンと同レベルの品質が得られることを確認した。

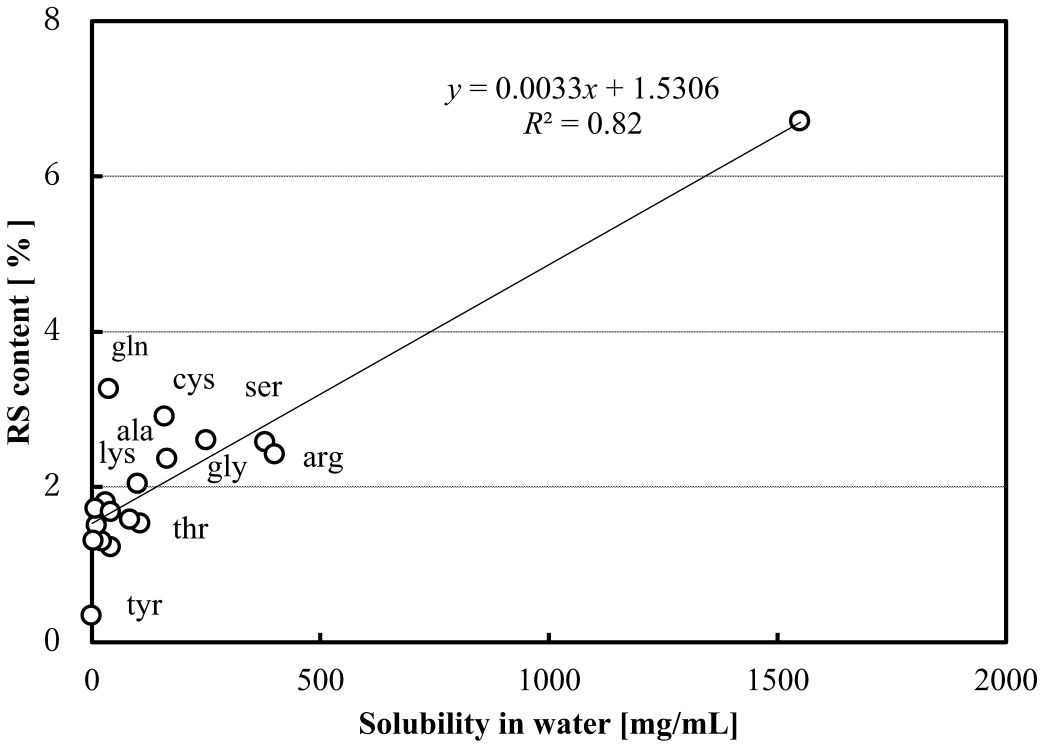


図１　難消化性デンプン含有率と水に対するアミノ酸の溶解度との関係

引用文献

1) Singh J., Kaur L., McCarthy O.J., Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications, *Food Hydrocolloids*, **21**, 1-22 (2007)

2) Fang J.M., Fowler P.A., Tomkinson J., Shill C.A., The preparation and characterization of a series of chemically modified potato starches, *Carbohydrate Polymers*, **47**, 245-252 (2002)

3) Sair. L., Fetzer W.R., Water sorption by starches, water sorption by corn starch and commercial modification of starches, *J. Ind. Eng. Chem.*, **36**, 205-319 (1944)

4) Arns B., Bartz J., Radunz M., Evangelho J.A.D., Pint V.Z., Zavareze E.D.R., Dias A.R.G., Impact of heat-moisture treatment on rice starch, appilied directly in grain paddy rice or in isolated starch, *LWT-Food Science and Technology.*, **60**, 708-713 (2015)

5) Yagishita T., Ito K., Yokomizo E., Endo S., Takahashi K., Physicochemical Properties of Monosodium Glutamate-Compounded Tapioca Starch Exceeds Those of Simple Heat-Moisture Treated Starch, *J. Food Sci*, **76**, 980-984 (2011)

6) Sakauchi S., Hattori M., Yoshida T., Yagishita T., Ito K., Akemitsu S., Takahashi K., Thermal Behavior of Potato Starch and Water-Vaporization Behavior of Its Paste Controlled with Amino Acid and Peptide-Rich Food Materials, *J. food Sci.*, **75**, 177-183 (2010)

２－３

キチン分解酵素の遺伝子発現解析と キチンオリゴ糖生産への展開

Gene Expression Analysis of Chitinase and Application of Chitinase in Chitin Oligosaccharide Production

小山　文隆
工学院大学先進工学部生命化学科

Fumitaka Oyama
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

At the begging, we established a quantitative real-time PCR (qPCR) system using a single standard DNA molecule and reported comprehensive analysis of the relative expression levels of mammalian chitinases in normal animal tissues. Next, we successfully expressed animal Chia and Chit1 proteins as recombinant protein fused with Protein A in *E. coli.* In addition, we established a purification method for natural Chia from animals. These recombinant and natural proteins can be used to elucidate detailed biomedical functions of the chitinases. We further established an improved method for a specific detection of chitin oligosaccharides. Using this procedure, we found that Chia generates $(GlcNAc)_2$ at broad pH range of 2.0~8.0. Chia can function as a protease-resistant major glycosidase under the conditions of stomach and intestine and degrade chitin substrates to produce $(GlcNAc)_2$, a source of carbon, nitrogen and energy. We also showed that human AMCase has lost its chitinolytic activity by integration of nsSNPs during evolution and that the enzyme can be reactivated by introducing amino acids conserved in the mouse counterpart. Finally, we showed that Chia effectively produces different chitooligosaccharides from chitosan substrates under physiological conditions.

Keywords: Acidic Chitinase, Chitinolytic Activity, Chiooligosaccharides, Chitotriosidase, Digestive enzyme, Gene Expression Analysis, Natural and Recombinant Proteins.

1. はじめに

キチナーゼは，甲殻類，昆虫，真菌類の主な構成要素であるキチンの β-1,4 グリコシド結合を加水分解する。ほ乳類はキチンとその合成酵素を生産しないが，活性のある二種類のキチナーゼ，キトトリオシダーゼ（chitotriosidase, Chit1）と酸性キチナーゼ（acidic chitinase, Chia）を発現している。本研究で，ほ乳類，鳥類のキチナーゼの発現レベルを調べ，キチナーゼ生産組織を明らかにする。そして，それらのタンパク質を大腸菌で発現あるいは動物組織より精製し，キチンオリゴマーを生産するかどうかについて各種キチンを基質に検証した。

2. 成果

2-1. ほ乳類，鳥類におけるキチナーゼ遺伝子発現解析

ほ乳類，鳥類において，標準 DNA を使って，同じスケールで mRNA レベルを評価するための qPCR システムを確立した[1-4]。この手法を用い，Chia が，雑食動物の胃で多量に発現してていることを明らかにした[5-9]。しかし，ヒトやイヌ（肉食動物），ウシ（草食動物）の胃での Chia の過剰な発現は認められないことも示した[10]。

2-2. 大腸菌での組換えキチナーゼの発現系の確立と天然キチナーゼの精製法の確立

活性のある Chia と Chit1 を大腸菌で発現する系を確立した[11-13]。さらに，キチン

結合性を利用し，動物組織からキチンビーズと酢酸あるいは尿素を用いた精製証を確立した[14]。

2-3. キチンオリゴマーの蛍光標識の改良法の確立とキチナーゼ分解産物の解析

キチンオリゴ糖分析のために fluorophore による標識の改良法を確立した[15]。そして，Chia が強酸性から中性で $(GlcNAc)_2$ を生成し，中性条件下で糖転移活性を有することを示した[16]。

2-4. Chia は消化器系で働く糖質分解酵素である

雑食動物の Chia が，胃と腸の条件下で常にキチンを分解し，$(GlcNAc)_2$ を生成する主要な消化酵素として機能し，キチンを分解し，炭素，窒素，エネルギー源となりうる $(GlcNAc)_2$ を生成することを証明した[5-7, 9]。

2-5. アミノ酸置換を伴う一塩基置換によるヒト Chia の活性の喪失と復活

ヒト Chia が，1 アミノ酸変異で活性を喪失し，進化の過程で保存されているアミノ酸に置換することで活性化することを示した[17]。

2-6. Chia は，キトサンからキトオリゴ糖を生成する

マウス，あるいはブタの Chia が，キチンからは主として $(GlcNAc)_2$ を生成し，キチンの脱アセチル化体からキトオリゴ糖を生成することを明らかにした（Wakita et al.，論文準備中；Tabata et al.，論文準備中）。

3. 文献

1. Ohno et al. (2012) Chitinase mRNA levels by quantitative PCR using the single standard DNA: acidic mammalian chitinase is a major transcript in the mouse stomach, ***PLoS ONE.*** **7**, e50381.
2. Ohno et al. (2013) Quantification of chitinase mRNA levels in human and mouse tissues by real-time PCR: species-specific expression of acidic mammalian chitinase in stomach tissues, ***PLoS ONE.*** **8**, e67399.
3. Ohno et al. (2014) Establishment of a quantitative PCR system for discriminating chitinase-like proteins: catalytically inactive breast regression protein-39 and Ym1 are constitutive genes in mouse lung, ***BMC Mol Biol.*** **15**, 23.
4. Ohno et al. (2015) Quantitative Real-Time PCR Analysis of YKL-40 and Its Comparison with Mammalian Chitinase mRNAs in Normal Human Tissues Using a Single Standard DNA, ***Int J Mol Sci.*** **16**, 9922-35.
5. Ohno et al. (2016) Acidic mammalian chitinase is a proteases-resistant glycosidase in mouse digestive system, ***Sci Rep.*** **6**, 37756.
6. Tabata et al. (2017) Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry, ***Sci Rep.*** **7**, 6662.
7. Tabata et al. (2017) Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources, ***Sci Rep.*** **7**, 12963.
8. Uehara et al. (2018) Chitinase mRNA Levels Determined by QPCR in Crab-Eating Monkey (*Macaca fascicularis*) Tissues: Species-Specific Expression of Acidic Mammalian Chitinase and Chitotriosidase, ***Genes*** *(Basel).* **9**. 244.
9. Tabata et al. (2019) High expression of acidic chitinase and chitin digestibility in the stomach of common marmoset (*Callithrix jacchus*), an insectivorous nonhuman primate, ***Sci Rep.*** **9**, 159.
10. Tabata et al. (2018) Chitin digestibility is dependent on feeding behaviors, which determine acidic chitinase mRNA levels in mammalian and poultry stomachs, ***Sci Rep.*** **8**, 1461.
11. Kashimura et al. (2013) Protein A-mouse acidic mammalian chitinase-V5-His expressed in periplasmic space of *Escherichia coli* possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein, ***PLoS ONE.*** **8**, e78669.s
12. Kashimura et al. (2015) Functional properties of the catalytic domain of mouse acidic mammalian chitinase expressed in *Escherichia coli*, ***Int J Mol Sci.*** **16**, 4028-42.
13. Kimura et al. (2016) Functional properties of mouse chitotriosidase expressed in the periplasmic space of *Escherichia coli*, ***PLoS ONE.*** **11**, e0164367.
14. Tabata et al. (2018) Acidic chitinase-chitin complex is dissociated in a competitive manner by acetic acid: purification of natural enzyme for supplementation purposes, ***Int J Mol Sci.*** **19**, 362.
15. Wakita et al. (2017) Improved fluorescent labeling of chitin oligomers: Chitinolytic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions, ***Carbohydr Polym.*** **164**, 145-153.
16. Wakita et al. (2017) Mouse acidic mammalian chitinase exhibits transglycosylation activity at somatic tissue pH, ***FEBS Lett.*** **591**, 3310-3318.
17. Okawa et al. (2016) Loss and gain of human acidic mammalian chitinase activity by nonsynonymous SNPs, ***Mol Biol Evol.*** **33**, 3183-3193.

2.4

細菌キチン分解酵素の取得と性質解析、およびキチンオリゴ糖の生産への酵素改良

Characterization and Application of Bacterial Chitinases for Chitin Oligosaccharides Production

坂口　政吉
工学院大学先進工学部生命化学科

Masayoshi Sakaguchi
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

Two putative chitinase genes, *lin0153* and *lin1996*, from *Listeria innocua* were expressed in *Escherichia coli*, and the gene products were identified as chitinases. LinChi78 (*lin0153* product) presumably has three domains, a catalytic domain (CatD), a fibronectin type III-like (FnIII) domain, and a chitin-binding domain (ChBD), and LinChi35 (*lin1996* product) has only a CatD. LinChi78 and LinChi35 exhibited different actions on polymeric, oligomeric, or artificial substrates, with processive exo- and a nonprocessive endo-manner, respectively. LinChi78 possesses larger predicted CatD than LinChi35 as well as other reported chitinases because an unknown function region (UFR) is inserted. C-terminally truncated or internally deleted LinChi78 mutant studies demonstrated that the UFR contributes to eliciting LinChi78 hydrolyzing activity and both Gln569 and Ile571 in UFR play central roles in the function. To produce long-chained chitin oligosaccharides (COS) such as $(GlcNAc)_6$ using chitinases, we tried to confer the transglycosylation activity on LinChi35 by introducing amino acid substitutions within its active site. Some single mutants produced more $(GlcNAc)_6$ from β-chitin than wild-type LinChi35 and the small amount of $(GlcNAc)_6$ from $(GlcNAc)_4$, suggesting that LinChi35 mutants may catalyze the transglycosylation reaction to produce longer COS. Although further studies are needed, these insights will help in making chitinases useful in biotechnological applications.
Keywords: characterization, chitinase, chitin, transglycosylation, *Listeria* sp. chitin oligosaccharide

1. はじめに

甲殻類や昆虫の外殻の構成成分であるキチンは、*N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) の直鎖状多糖である。キチンと、キチンを脱アセチル化したキトサンは、セルロースに次いで豊富に存在する多糖で、生体適合性、生分解性を示し、そして創傷治癒促進効果などの生理活性を有することから、医療用生体材料としての研究・開発が進められている。キチン、キトサンから調製されたキチン/キトサンオリゴ糖にも類似の生理活性が報告され、健康食品や化粧品産業において、その需要が高まってきている [1]。しかし、難溶性キチンからのキチンオリゴ糖調製とその生理活性の検証は、比較的調製が容易なキトサンオリゴ糖に比べて遅れている。そこで、未利用バイオマスの有効活用という観点から、キチン分解酵素 (キチナーゼ)やそのアミノ酸変換体を用いて、六量体以上のキチンオリゴ糖の生産を目標とした。

キチナーゼは、キチンを加水分解する酵素の総称で、その構造は触媒ドメインとその他複数のドメインからなる。本研究では、細菌の新規キチナーゼを同定し、その酵素化学的性質を調べた。また、アミノ酸配列比較から、既知酵素に見られない配列が酵素活性上昇に貢献しており、その中心となるアミノ酸を同定した。さらに、加水分解活性に寄与しているアミノ酸を置換し、糖転移活性を付与することで、キチンオリゴ糖生産を試みた。

2. 成果

2.1 新規キチナーゼの性質解析

リステリア菌の染色体 DNA からキチナーゼ様配列を持つ遺伝子二種 (*lin0153* 遺伝子と *lin1996* 遺伝子)を取得し、大腸菌を宿主として発現させた。二種の遺伝子産物、LinChi78 (*lin0153* 遺伝子産物) および LinChi35 (*lin1996* 遺伝子産物)、を精製し、キチン多糖やキチンオリゴ糖、そして人工基質 [4NP-$(GlcNAc)_2$] に対する反応性を調べ、キチナーゼとして同定した。これら酵素の酵素化学的性質は人工基質を用いて解析した。多糖基質であるコロイダルキチンや結晶性キチンを用

いると主に二量体が生産され、LinChi35 による反応産物には、微量に三量体と四量体が検出された。また、鎖長の異なるキチンオリゴ糖への反応性が異なっており、これらの分析結果から、LinChi78 はエキソ型プロセッシブ酵素、LinChi35 はエンド型非プロセッシブ酵素であると結論づけた。さらに、これら酵素の多糖への結合性も解析した [2]。また、枯草菌からも新規キチナーゼを同定し、同様に酵素化学的性質や多糖への結合活性を上記酵素と比較解析した [3]。

2.2 LinChi78 の触媒ドメイン解析

LinChi78 は LinChi35 よりも大きいタンパク質で、推定上、触媒ドメイン(CatD)、フィブロネクチン III 様ドメイン(FnIII)、キチン結合ドメイン(CBD)から成り、LinChi35 は CatD 単独の酵素である。 LinChi35 や既知酵素と比較すると、Linchi78 の触媒ドメインには機能未知の領域(UFR)の付加が見出された。そこで、推定上のドメインをそれぞれ C 末端側から順次削除した欠損体、もしくは内部削除した欠損体を、各種基質を用いて評価した。 CBD や FnIII は既報の結果とほぼ一致した役割を示したが、UFR を削除した欠損体の分解活性が著しく減少した。これらの結果から、UFR は酵素の活性上昇に寄与していると示唆された。さらに細分化した欠損体およびアミノ酸置換体評価により、Gln569 と Ile571 が UFR の中心的な役割を担っていることがわかった [4]。

2.3 LinChi35 への糖転移活性付与の試み

キチナーゼには、加水分解反応だけでなく糖転移反応を示すものがあり、この糖転移反応を利用、増強、もしくは付与した酵素によるキチンオリゴ糖などの生産が試みられている。しかし、LinChi35 のようなエンド型非プロセッシブ酵素では試みられていないため、この酵素の活性部位中のアミノ酸を置換し、糖転移活性の付与を試みた。糖転移反応向上に寄与するアミノ酸 [5-7] を LinChi35 に導入した単独変換体では、人工基質に対する加水分解性が著しく低下した。結晶性 α-キチンに長時間作用させた場合、野生型 LinChi35 同様、主に二量体が検出されたが、β キチンでは六量体が生産された。また、四量体に作用させたところ、二量体や三量体と共に、六量体が検出された。これらの結果は、単独変換体において糖転移反応が付与されたことを示している。今後、各種反応条件、多重変換体や LinChi78 変換体との比較など、さらなる解析が必要となるが、結晶性キチンから六量体以上のオリゴ糖が生産できる可能性が示唆された。

2.4 関連糖質分解酵素の機能解析

グルコアミラーゼは、デンプンやマルトオリゴ糖を加水分解する酵素で、細菌酵素は N 末端側に N ドメイン、C 末端側に触媒ドメインを持つ。細菌グルコアミラーゼの N 末端領域の配列が、タンパク質のフォールディングを制御し、活性部位形成に関与していることを証明した [8]。また、グルコアミラーゼのアミノ酸配列に類似した 4 種の古細菌タンパク質がトレハロース分解活性を持つことを見いだした。これら古細菌トレハラーゼは好熱性で、狭い酸性領域で活性を持つ。そのうちの 3 種は、既知酵素に比べて、トレハロースに対する親和性が低く、1 種は分解活性が低い酵素であった[9, 10]。トレハロースは、保水性やタンパク質凝集抑制などの生理活性を持ち、食品、化粧品、医療の分野で注目されている [11-13]。これら酵素を用いたトレハロース類似体合成へ向けて酵素利用を試みる。

文献

1. Aam B.B., et al (2010) Mar. Drugs 8:1482-1517.
2. Honda S., Sakaguchi M. et al (2016) Appl. Microbiol. Biotechnol. 100: 8031-8041
3. Honda S., Sakaguchi M. et al (2017) AMB Express 7:51
4. Honda S., Sakaguchi M. et al (2019) Appl. Microbiol. Biotechnol. 103: 1777-1787
5. Umemoto N. et al (2013) Glycobiology 23:81-90
6. Sirimontree P. et al (2014) Biosci. Biotechnol. Biochem. 78:2014-2021
7. Madhuprakash J. et al (2012) J. Biol. Chem. 287:44619-44627
8. Sakaguchi M. et al (2017) Appl. Microbiol. Biotechnol. 101:2415-2425
9. Sakaguchi M. et al (2015) Appl. Environ. Microbiol. 81:4920-4931
10. Yuasa M., Sakaguchi, M. et al (2018) Appl. Microbiol. Biotechnol. 102:4445-4455
11. Elbein A.D. et al (2003) Glycobiology 13:17R-27R
12. Sarkar S. et al (2007) J. Biol. Chem. 282:5641-5652
13. DeBosch B.J. et al (2016) Science Signaling 9(416):ra21.

2.5

ヒト培養細胞を活用した病態スクリーニングの実施による微生物・海洋生物からの新規医薬シード化合物の探索

Screening for new drug candidates from microorganisms and marine organisms based on the analyses using cultured human cell lines

大野　修
工学院大学先進工学部生命化学科

Osamu Ohno
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

Natural products and their synthetic analogs are widely used as drugs. Recently, much attention has been given to the metabolites of marine organisms due to their various biological activities. In this study, new drug candidates were screened from marine organisms based on the various analyses using cultured human cell lines. Following results were obtained.

Nutrient starvation in solid tumor is expected as a potential drug target. We explored molecules that induce cell death on HeLa cells under nutrient starvation conditions from marine organisms. MeOH extract of unidentified cyanobacterium showed the activity, and the active component was isolated. It showed selective cytotoxicity on HeLa cells treated with glycolysis inhibitor, 2-deoxy-D-glucose（2DG）.

Inhibitors of kynurenine-production in interferon γ-stimulated A431 cells were screened from marine organisms. The extract of marine cyanobacterium collected on Ishigaki Island, Okinawa, Japan, showed selective inhibitory activity, and the active compound was isolated using column chromatography. A new peptide was isolated and it inhibited the expression of IDO in A431 cells.

Lipopolysaccharide (LPS) is one of the substances responsible for sepsis. We searched for LPS inhibitors from marine organisms, and found biseokeaniamide A isolated from the extract of the marine cyanobacterium, *Okeania* sp., showed selective inhibitory activity against LPS. It inhibited the production of nitric oxide (NO) and reduced protein levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the LPS-stimulated RAW264.7 cells.

Keywords：Cancer, Cyanobacterium, Kynurenine, Lipopolysaccharide, Biseokeaniamide A

1. はじめに

海洋生物由来の生物活性物質には特異な構造に基づく有用な機能を持つものが多い。例えば、ホヤから単離されたエクテナサイジン 743 は卵巣がんの治療薬として、クロイソカイメンから単離されたハリコンドリン B を基に開発されたエリブリンは乳がんの治療薬としてそれぞれ有効活用されている。このように海洋生物は医薬品としての応用が期待される化合物を供給する。一方、それらには機能が未知である化合物も多く、その解析は応用面における重要な課題となる。

本課題では、治療法の少ない重大な疾患の治療に役立つ新規医薬シード化合物の獲得を目指し、海洋生物等の天然由来の新規医薬シード化合物の探索に取り組んだ。具体的には、固形癌に特有にみられる栄養飢餓状態、一部のがんに見られる免疫寛容、敗血症の発症に関与する過剰な自然免疫の応答機構等をターゲットとして選択的に抑制効果を示す薬剤を、ヒト培養細胞を用いたスクリーニング系を駆使して天然より探索した。探索源としてはフィールドワークを通じた採集で供給される海洋生物、微生物を用いた。

2. 成果

新規医薬シード探索のために構築したスクリーニング系のうち、初年度に構築した「①栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索」、「②キヌレニン産生阻害物質の探索」、「③LPS が誘導する炎症を阻害する化合物の探索」において、活性成分の精製・単離、構造解析、機能解析を進め、それぞれ下記に示す成果が得られた。

① 栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索

固形がんは通常組織とは異なり、栄養飢餓状態に陥りやすい。そのため、固形がんに見られる栄養飢餓状態は新たな創薬標的として注目されている。本研究では、栄養飢餓状態を模した高細

胞密度培養条件のヒト子宮頸がん HeLa 細胞に対し、選択的な細胞死誘導活性を示す化合物を海洋生物より探索した。合計 214 種の天然由来サンプルの MeOH 抽出物をスクリーニングした結果、千葉県勝浦市で採集した種未同定シアノバクテリアの MeOH 抽出物に活性が認められた。本 MeOH 抽出物を分液操作および ODS カラムクロマトグラフィー、HPLC により精製し、活性成分を単離した。活性物質の構造を各種スペクトル解析した結果、活性成分は脂肪酸グリセリドの配糖体 1-*O*-octadecatrienoyl-3-*O*-β-D-galactopyranosylglycerol（OGG）であると判明した（図 1）。続いて、OGG の生物活性を解析したところ、OGG は解糖系阻害条件およびグルコース飢餓条件のがん細胞に対して選択的に細胞死を誘導した。さらに、OGG は高細胞密度条件のがん細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導した。これらの結果より、OGG は解糖系阻害条件のがん細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する化合物であることが示唆された。

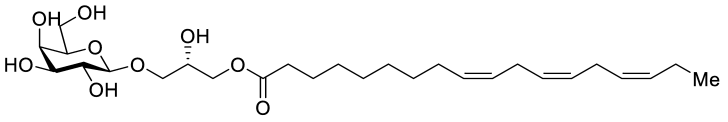


図 1 1-*O*-Octadecatrienoyl-3-*O*-β-D-galactopyranosylglycerol

② キヌレニン産生阻害物質の探索

がん細胞は indoleamine 2,3-dioxygenase（IDO）等によるトリプトファン代謝からキヌレニンを産生し、免疫細胞を不活性化することで宿主の免疫反応を回避している（免疫寛容）。したがって Kyn 産生を阻害する化合物は、免疫寛容の解除に基づく新規がん免疫療法剤として期待される。そこで我々は、多彩な生物活性物質を包含する海洋生物の MeOH 抽出物からキヌレニン産生阻害物質を探索した。また、見出した活性化合物の化学構造および作用機序を解析した。IFN-γで惹起したヒト扁平上皮がん A431 細胞のキヌレニン産生量および生細胞数（MTT assay）を評価し、215 種類の海洋生物の MeOH 抽出物から細胞毒性を伴わないキヌレニン産生阻害物質を探索した。その結果、海洋シアノバクテリア *Okeania* sp.（沖縄県石垣島産）の MeOH 抽出物に Kyn 産生阻害物質を見出した。同 MeOH 抽出物を ODS カラムクロマトグラフィーおよび HPLC により精製し、活性物質 KNP-1 を単離した。各種スペクトルの解析より、KNP-1 は新規環状ペプチド化合物であることが示唆された。また、作用機序の検討より、KNP-1 が示すキヌレニン産生阻害活性は、IDO 活性阻害ではなく、その発現阻害に関与しており、かつ JAK-STAT シグナル伝達経路に存在する STAT1 および p-STAT1 の発現阻害に起因していることが示唆された。

③ LPS が誘導する炎症を阻害する化合物の探索

リポポリサッカライド（LPS）は、グラム陰性菌の外膜を構成する成分であり、敗血症等の疾患の原因物質である。本研究では、それら疾患の治療薬としての応用を目指し、LPS 誘導性 NO 産生阻害剤を海洋生物より探索した。評価方法として Griess 法を用い、マウスマクロファージ RAW264.7 細胞を LPS で刺激することで誘導される NO の産生量を定量した。海洋生物及び微生物サンプル 348 種をスクリーニングした結果、沖縄県備瀬にて採集した海洋シアノバクテリア Okeania sp.のメタノール抽出物に LPS 誘導性 NO 産生阻害活性を見出した。分液操作、ODS カラムクロマトグラフィー、HPLC による精製を経て、活性物質として既知ペプチド化合物 biseokeaniamide A を単離した（図 2）。続いて、Western blot 法を用いた解析により、LPS 刺激によって誘導される iNOS の発現を biseokeaniamide A が阻害することが分かった。

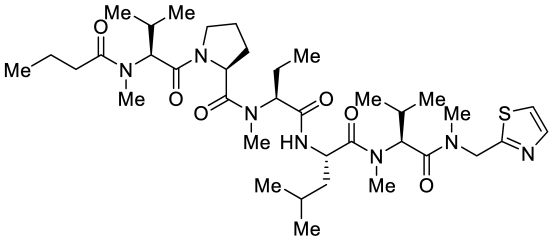


図 2 Biseokeaniamide A

文献

1) Murakami, A., Nakamura, Y., Koshimizu, K., Ohigashi, H. *J. Agric. Food Chem*. **1995**, *43*, 2779-2783.
2) Iwasaki, A., Tadenuma, T., Sumimoto, S., Ohshiro, T., Ozaki, K., Kobayashi, K., Teruya, T., Tomoda, H., Suenaga., K., *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 1161−1166.
3) Iwasaki, K., Iwasaki, A., Sumimoto, S., Sano, T., Hitomi, Y., Ohno, O., Suenaga, K. *Tetrahedron Lett*., **2018**, *59*, 3806-3809.

1.2 & 3.1

培養基質となる細胞外マトリックスの開発と それを用いた細胞培養系の構築

Development and Application of Extracellular Matrix for New Cell Culture Substrates

今村　保忠
工学院大学先進工学部生命化学科

Yasutada Imamura
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

The development for new assay methods available for chemical biology studies will be aimed. This research is related to two major subjects as below:

Subject 1.　The priority subject study: Development of drugs for cancer treatment

Subject 3.　Development of assay methods for physiologically active, and their improvement and validation

In related to Subject 1, an assay method testing inhibitory activity of sekothrixide against drug resistance in cancer cells will be developed. Our method adopted fluorescent reagents, SYTO1 and Calcein-AM as anti-cancer drug model. So far, we found that sekothrixide inhibit efflux of fluorescent reagents from cells. Since the hydrophobic nature of these reagents is similar to anti-cancer drugs, sekothrixide is expected to lead to the development of therapeutic drugs.

As for Subject 3, new cell culture method was developed using type VI collagen aggregates as a cell culture substrate. In addition to type VI collagen, we explored that fascia as new extracellular matrix suitable for new cell culture substrate. Collagens and elastin fibers were visualized combining fluorescent staining method and biochemical treatments. Basement membrane surrounding fat cells were collected and would be used for cell culture substrate especially for fat cells.

Keywords: Extracellular Matrix, Collagen,

1. はじめに

ケミカルバイオロジーのアッセイ法として利用可能な細胞培養系の開発を行う。

本研究は以下の２つの大課題に関係する：

課題1.　重点課題:がん治療薬の開発研究

課題3.　生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化

課題1に関しては、薬剤耐性阻害剤と考えられているセコスリキシドのアッセイ法を開発する。それによって、がん治療薬のシーズとなることを実証する。また、この物質の標的を明らかにすることで、治療薬開発へ道筋をつける。

課題3については、VI 型コラーゲン会合体を用いた新しい細胞培養法を開発する。試料の調製方法の改良を進め、細胞への作用を調べる。腫瘍細胞の増殖と VI 型コラーゲンの関わりを明らかにできれば、新規がん治療の標的となると考えている。

2. 成果

課題 1

平成 28 年度から、細胞による蛍光色素の排出の測定系の開発を行ってきた。蛍光色素 Syto16 と TIG-1 細胞（ヒト胎児肺由来線維芽細胞）を用いたアッセイ系を開発した。その結果、セコスリキシドには正常細胞、腫瘍細胞の両方に細胞毒性があった。主要な薬剤

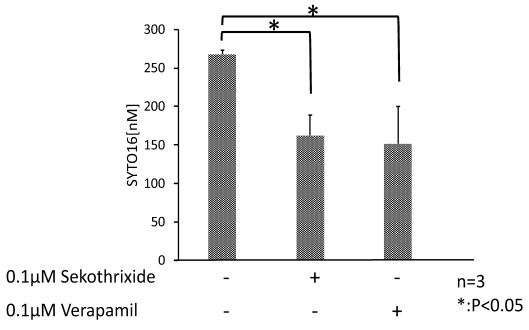


図 1 SYTO16 排出活性に対するセコスリキシドの作用

MDR1 阻害剤ベラパミルと同様に阻害した。

耐性因子である MDR1（ABCB1）と MRP1（ABCC1）に対しては、特異的な阻害剤を用いた研究から、両方因子を阻害する可能性が示された（図１）。しかしながら、この方法は、SN 比は良いものの定量性に難があった。このため、数種の蛍光色素と細胞の種類の組み合わせを検討した。この中で、Calcein-AM と MDCK 細胞(イヌ腎臓尿細管上皮細胞)を用いた方法の開発が有力と考えられた。Calcein-AM は、脂溶性で細胞質に到達するとエステラーゼにより AM 部分が除去され親水性が増強し細胞外への拡散が抑制され、結果的に蛍光団の Calcein が細胞質に蓄積すると考えられている。細胞外から一旦細胞膜に溶け込んだ Calcein-AM は薬剤耐性機構により排出される。もし、薬剤耐性機構を阻害すれば、排出が抑制され、細胞質の蛍光が増強することになる。細胞を可溶化後、蛍光量を計測することで、阻害を定量化する。MDCK 細胞の養条件を検討し、定量的な阻害活性の測定条件を発見した。その結果、セコスリキシドの IC50 は 1.47μM(ベラパミル 0.30μM ,シクロスポリン A 0.37μM)であった。また、セコスリキシドの部分構造を持つ化合物が利用できるようになったことで、構造と活性の相関を検討できる状況になった。

課題３

これまで、VI 型コラーゲン会合体の調製法と会合体の特徴付を中心に検討し、種々の細胞培養へ応用してきた。平成３０年度からは、学外の研究グループへ、精製標品を供給し、共同研究を開始した。膵臓ランゲルハンス島β細胞など培養への利用を試みている。

平成２９、３０年度には、fascia を培養基質として利用できないか検討を開始した。Fascia は筋膜と訳されることが多いが、疎性結合組織とよばれることもあり、定義が一定しない。高倍率の内視鏡により観察される、皮下組織や臓器間にある線維性の構造であるとされる。コラーゲンやエラスチンなどの ECM で構成され、脂肪組織が存在し、血管や神経などがその内部を走行している。ECM の線維は全身をくまなく繋がっており、その内部は組織液の通路ともなり得る。臓器をまとめたり、臓器間の摩擦を低減したりすると想像されるが、機能の実相については分かっていない。

我々は、ナマココラーゲンや VI 型コラーゲンの調製を行ってきた。非酵素的な手法を用いることが特徴で、生体に存在する状態に極力近いものを抽出することを目指してきた。Fascia に対しても、同様の方法論を適用することで、新しい分析法を開発してきた。その結果、トリやイヌの fascia 中のコラーゲン線維やエラスチン線維の分析が可能になった（図２）。イヌ fascia からは、脂肪細胞を包んでいる基底膜様構造が観察された。脱細胞化した培養基質としての利用を検討する。

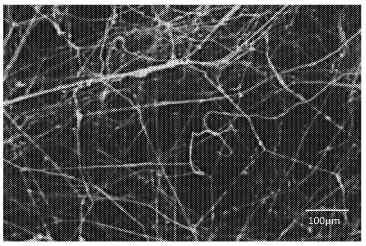


図２　トリ fascia 中のコラーゲン線維の可視化

４．関連文献

1. Sato T, Takano R, Takahara N, et al. Identification of a common epitope in the sequences of COL4A1 and COL6A1 recognized by monoclonal antibody #141. *J Biochem*. 2019;165(1). doi:10.1093/jb/mvy086

2. Sato T, Takano R, Tokunaka K, et al. Type VI collagen α1 chain polypeptide in non-triple helical form is an alternative gene product of COL6A1. *J Biochem*. 2018;164(2):173-181. doi:10.1093/jb/mvy040

3. Shin Y, Miyake H, Togashi K, Hiratsuka R, Endou-Ohnishi K, Imamura Y. Proteolytic inactivation of ADAMTS13 by plasmin in human plasma: risk of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biochem*. 2018;163(5):381-389. doi:10.1093/jb/mvx084

4. Morita M, Sugihara H, Tokunaka K, et al. Preparation and partial characterization of monoclonal antibodies specific for the nascent non-triple helical form of the type IV collagen alpha 1 chain. *Biochem Biophys Reports*. 2017;9(October 2016):128-132. doi:10.1016/j.bbrep.2016.11.013

1-3&3-2

血管管腔モデルおよびIV型コラーゲン会合体を用いた多機能性人工血管の開発

Development of Multifunctional Artificial Blood Vessel using the Model of Blood Vessel Lumen and Type IV Collagen aggregates

辛　英哲
工学院大学先進工学部生命化学科

Yongchol Shin
Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University

Construction of a model of blood vessel formation *in vitro* is important for not only elucidating the mechanism of angiogenesis but also exploring physiologically active substances, derived from natural substances contained in plants, which can control angiogenesis. These physiologically active substances are considered to be effective for enhancing the bypass mechanism of occluded blood vessels and treating cancer. In this study, we improved the culture method of vascular endothelial cells to develop the model of blood vessel formation, and investigate physiologically active substances affecting to blood vessel formation.

As a result, 1) investigation of the molecules that can control the existing model of blood vessel formation (co-culture of endothelial cells and fibroblasts) showed that the extracts from rose-hip or modified hesperidin, purified from the peel of citrus, negatively regulate blood vessel formation. 2) In the model using the spheroid co-culture with endothelial cells and fibroblasts, endothelial cells formed tubular networks elongated from the spheroid with a lumen structure and were connected with tight junctions. A basement membrane (BM)-like structure was observed around the tubular network. These results suggested the elongation of blood vessel could be reconstituted in our model.

Keywords: blood vessel, co-culture, spheroid

1. はじめに

生体内での血管形成を再現可能とする、試験管内での血管管腔形成モデルの研究を行った。このようなモデル系の構築は、血管形成機構の解明において重要なだけでなく、このモデル系を活用し、血管形成を制御可能とする、植物などに含まれる天然物由来の生理活性物質を探索、同定、活用することができる。これら生理活性物質は、閉塞血管のバイパス機構の増強や癌の治療にも有効と考えられている。癌治療を改善するための戦略として、腫瘍への血液供給を遮断する、抗血管新生薬の利用が考えられていたが、現在では、抗血管新生療法が腫瘍内の異常な脈管構造を正常化することによって腫瘍への薬物の供給を改善し、治療効果を促進することが明らかになっている（文献1，2）。本研究では、血管内皮細胞の培養法を改良し、血管形成に影響を及ぼす生理活性物質の効率的なアッセイに運用可能な血管管腔モデルの開発を行う。

2. 成果

1） 血管形成に影響を及ぼす因子を探索するため、既存の血管形成モデル系である血管内皮細胞と線維芽細胞を培養皿に同時に播種する系（文献 3）を用いた。探索に用いる試料として、重点課題1の安井英子よりDHMEQ 誘導体（文献 4）が、課題2−2の阿部克也より植物抽出液が提供された。その結果、ローズヒップ抽出液（図 1）あるいは柑橘類の皮に含まれるフラボノイドの一種ヘスピリジンの誘導体、メチルヘスペリジン（図 2）が、それぞれ血管形成を抑制するあるいは血管形成に影響を与えることを見出した。

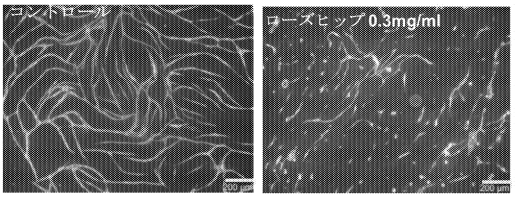


図1. ローズヒップ抽出液による血管形成阻害

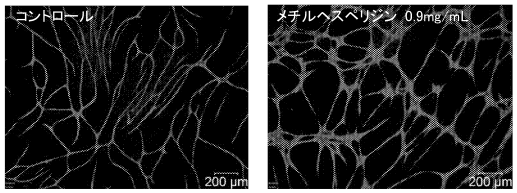


図 2. メチルヘスペリジンによる血管形成への影響

作用機序を明らかにするため、血管内皮細胞あるいは線維芽細胞を単独で培養する系にそれぞれの物質を添加した。ローズヒップ抽出液は細胞の増殖や形態に影響を与えなかったことから、細胞間の相

互作用に影響を与えていると考えられた。メチルヘスペリジンを添加し血管内皮細胞に単独培養を行ったところ、細胞間の間隙が減少し、密着している様子が確認された。細胞間結合構造の増強がなされている可能性が示唆された。

2)マトリゲルやコラーゲンゲル上での血管内皮細胞の培養を行い、血管様ネットワークが形成されるか、検討した。これら細胞支持体上にて血管様ネットワークは一旦構築されるが、3〜4 日後にはネットワークは見られなくなった。そこで、血管内皮細胞と線維芽細胞の球状細胞塊(スフェロイド)を形成させた後、培養皿に播種し、血管様ネットワークの形成を検討した。その結果、14 日までの培養期間に血管様ネットワークがスフェロイドから伸長する様子が確認された(図 3、文献 5)。

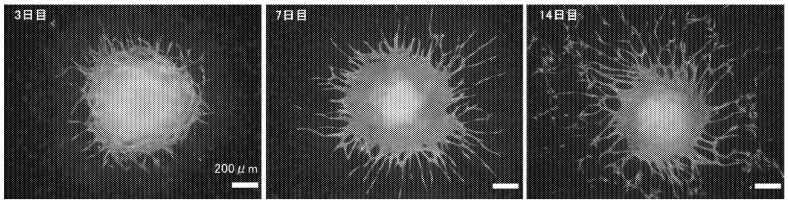


図 3. 血管内皮細胞と線維芽細胞のスフェロイドを用いた血管伸長モデル

血管様ネットワークが実際に血管としての構造を有しているか、電子顕微鏡を用いて観察した(図 4、文献 5)。その結果、ネットワークを形成する血管内皮細胞間にはタイトジャンクションと呼ばれる細胞接着構造が確認でき、複数の血管内皮細胞によって形成される管腔構造も確認された。スフェロイドから伸長する血管様ネットワークが生体内の血管同様の構造体を有していることから、生体内での血管形成を再現可能とする、試験管内での血管管腔形成モデルとして利用できることが示唆された。

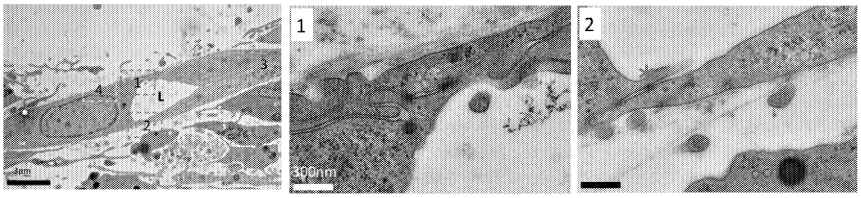


図 4. スフェロイドから伸長した血管様ネットワークの電子顕微鏡像(L:管腔、*:タイトジャンクション)

さらに、生体内の血管直下に観察される基底膜について検討した(文献 5)。基底膜の形成は、血管様ネットワークに沿って、細胞外マトリックスタンパク質が沈着していることで判断した。その結果、本モデル系での血管様ネットワークの基底膜には IV 型コラーゲン、ラミニン、ファイブロネクチンが含まれていた。I 型や VI 型コラーゲンと異なり、これらは特異的な沈着を示しており、ネットワークを形成していく際に重要であると考えられる。

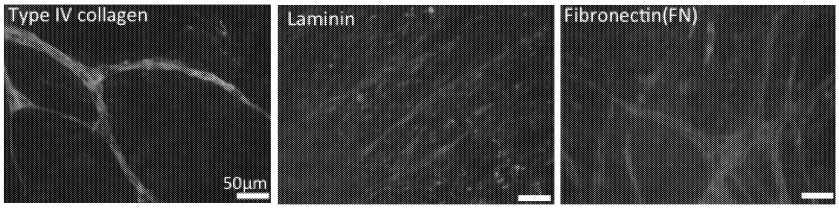


図 5. 血管様ネットワーク(赤)周辺に局在する細胞外マトリックスタンパク質(緑)

文献

1. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: A new paradigm for combination therapy, 2001, Nat. Med., R. K. Jain *et al.*, 7. 987-989

2. Direct evidence that the VEGF specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer, 2004, Med., C. G. Willett *et al.*, 10. 145-147

3. A novel nucleic acid analogue shows strong angiogenic activity, 2010, Biochem. Biophys. Res. Com., I. Tsukamoto, *et al.*, 399, 699-704

4. A new NF-κB inhibitor based on the amino-epoxyquinol core of DHMEQ, 2010, Bioorg. Med. Chem. Lett., T. Saitoh, *et al.*, 20, 5638-5642

5. Basement membrane-like structures conteining NTHa1(IV) are formed around the endothelial cell network in a novel in vitro angiogenesis model, 2019, Am. J. Physiol., Shin *et al.*, *revised.*

1.4 & 3.3　　NF−κB 阻害活性を指向した DHMEQ 類縁体の合成

Synthesis and Evaluation of DHMEQ Derivatives as NF-κB Inhibitor

安井　英子
工学院大学先進工学部生命化学科

Eiko Yasui
Department of Chemistry and Life Sicence, Kogakuin University

Dehydroxymethylepoxyquinomycin (DHMEQ) is well known to inhibit nuclear factor-kappa B (NF-κB), which is closely associated with immune, inflammatory, and apoptotic processes as an inducible transcription factor. The inhibitory effect seems to be the result of the ring opening of an epoxide of DHMEQ with Cys38 of p65. We have synthesized an analog containing a cyclopropanated quinol skeleton and examined its ability to inhibit NF-κB. Unfortunately, it showed no remarkable NF-κB inhibitory activity, but showed unique ring expansion reaction that gives functionalized 7-membered ring easily and in high yield. Finally, introduction of alkyl group to DHMEQ gave good results to improve its solubility to organic solvents while NF-κB inhibitory activity is maintained.
Keywords: **DHMEQ, NF-κB**

1. はじめに

近年、がん化学療法の標的分子として注目されているものの１つに転写因子 NF−κB がある。がん細胞内での NF−κB の活性化が、がん細胞のアポトーシスの抑制並びに抗がん剤に対する抵抗性発現の原因になるといわれ、NF−κB 活性化阻害剤は、新しいタイプの優れた抗がん剤になると考えられる。2000 年に当時慶應大学の梅澤らによって、天然物エポキシシキノマイシンをリード化合物として設計・合成された化合物 DHMEQ（**1**）は、NF−κB の活性化を抑制する作用を有している事が知られている（Fig. 1）。しかし **1** は体内に普遍的に存在するチオール基を有する化合物との反応性が高すぎること、種々の溶媒に対する溶解性が悪いことが問題となっている。そこで、**1** の類縁体を合成し、それら問題点を克服することを目指した。

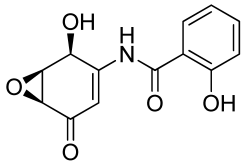


Fig. 1) DHMEQ **1**

2. 成果

まず、**1** のエポキシド環の代わりにシクロプロパン環を有する化合物 **2** の合成を行い、その NF-κB 阻害活性を生体機能化学研究室において評価した。NF-κB の活性化に伴って発現量が変化する COX-II を指標として **2** の NF-κB 阻害活性を調べたところ、**2** には活性がないことが分かった。[1] 類縁体 **2** には NF-κB 阻害活性は認められなかったが、化合物の合成過程において新しい反応が見出された。すなわち、化合物 **3** の２級水酸基をシリル化したところ、目的のシリル体 **6** は全く得られず、シクロプロパン環が開裂した化合物 **4** および **5** が得られた（Scheme 1）。この反応は穏やかな条件で速やかに、かつ高収率で官能基化された７員環化合物を与えるため、有用な反応であると考えられた。そこで、反応条件および環拡大反応が進行する基質構造の検討を行った。その結果、反応条件に関しては、テトラヒドロフラン（THF）溶媒中、５等量のトリメチルシリルクロリド（TMSC１）を反応させることが最適であることが分かった。また基質構造には、２級水酸基が置換した炭素を１位とすると、２位の炭素上に窒素原子が必要であり、さらにその窒素原子上にはカルボニル基が置換していなければいけないことが分かった。これらの知見より、本環拡大反応の反応機構を推察し、

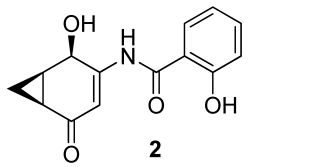
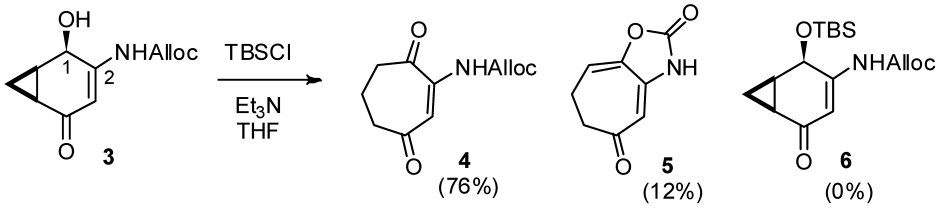


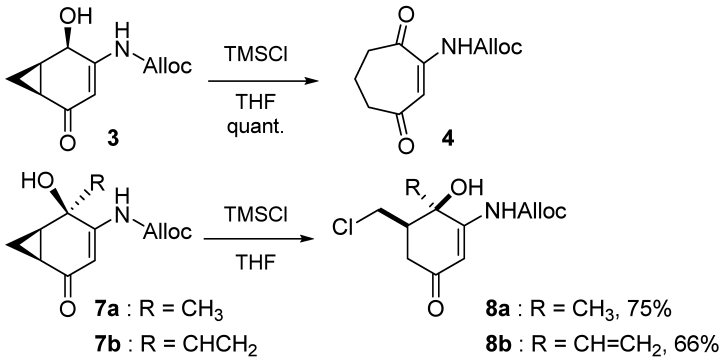
Fig. 2) Derivatives of DHMEQ



Scheme 1) Unexpected Ring Expansion Reaction

学術誌に投稿した。[2)]

ところで、環拡大反応の反応機構を推察するために、以下のような実験も行った（Scheme 2）。すなわち、環拡大を進行させて７員環を与えるためには、２級水酸基が置換した炭素上の水素原子がどのような挙動をとるのかを明らかにする必要がある。そこで、この水素原子をメチル基 **7a** およびビニル基 **7b** へと変換して、同様の反応を行った。その結果、７員環への環拡大反応は進行せず、シクロプロパン環に塩素原子が求核付加した化合物 **8a** および **8b** が得られた。この結果より、アルキル基の転位によってシクロプロパン環が開くことはないことが分かったが、３級水酸基を有する **7a** や **7b** のような化合物では、シクロプロパン環に求核剤が付加しやすいと考えられたため、この知見を新たな DHMEQ 類縁体の合成に活かすこととした。



Scheme 2) Ring Expansion of Cyclopropane Ring

類縁体 **2** には NF-κB 阻害活性が認められなかったが、これは類縁体 **2** が NF-κB を構成するチオール残基と反応しなかったためであると考えられた。そこで、類縁体 **2** にメチル基が付加した化合物 **9** ならば、シクロプロパン環部位と NF-κB が有するチオール残基が反応するのではないかと考えられた（Fig. 3）。新たに合成した類縁体 **9** は、医薬化学研究室において、NO 産出量を指標として NF-κB 阻害活性を評価した。その結果、残念ながら類縁体 **9** は NF-κB 阻害活性を示さなかったが、メチル基を導入したことで、種々の溶媒に対する溶解性が向上することが分かった。DHMEQ および類縁体 **2** は種々の溶媒に対して難溶性であったが、類縁体 **9** はメタノールに可溶であり、扱いが格段に楽になった。そこで、DHMEQ にメチル基を付加した類縁体 **10**、エチル基を付加した類縁体 **11**、ブチル基を付加した類縁体 **12** を合成し、NF-κB 阻害活性および溶解性を検討した。その結果、それぞれ DHMEQ とほぼ同等の NF-κB 阻害活性を示すことが分かった。また、いずれの化合物もメタノールに可溶であり、ブチル基を有する化合物 **12** はクロロホルムに易溶であった。

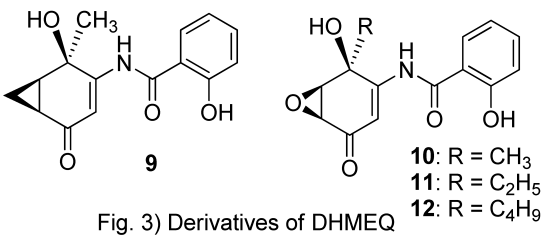
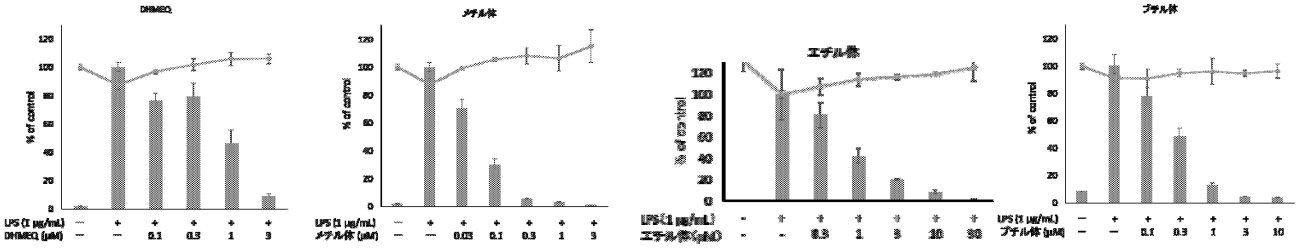


Fig. 3) Derivatives of DHMEQ



文献

1) Synthesis and Evaluation of a Cyclopropane Derivative of DHMEQ.
Eiko Yasui, Kan Takayama, Takahiro Nakago, Nobuyuki Takeda, Yasutada Imamura, Shinji Nagumo, *Chem. Phar. Bull*. **2014**, *62*, 304-307.

2) Unique ring expansion of a 6-3 bicyclic ring system forming a functionalized 7-membered ring accelerated by nitrogen functional groups.
Eiko Yasui, Rio Ootsuki, Kan Takayama, Shinji Nagumo; *Tetrahedron Lett*. **2017**, *58* (32), 3092-3095.

4.1

接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーブラシの合成とその表面の接着力測定

Synthesis of Polymer Brushes Bearing Adhesive Protein-Mimetic Amino Acid Groups and Adhesion Force Measurement of their Surfaces

小林　元康
工学院大学先進工学部応用化学科

Motoyasu Kobayashi
Department of Applied Chemistry, Kogakuin University

Zwitterionic phosphorylcholine (PC) is a phosphobetaine consisting of anionic phosphate and cationic quaternary amine groups that can be found in the polar headgroup at the outer surface of lipid bilayer cell membranes. We synthesized choline phosphate (CP) derivatives, which have an amine connected with phosphate in the reverse orientation in contrast to PC. Force distance curve measurements of polymer brushes having a CP group was conducted in water by scanning probe microscopy (SPM) using a spherical probe covered with PC or CP groups. Large adhesion force was observed between the CP-polymer brushes and PC-functionalized probe, whereas PC-polymer brushes revealed extremely low adhesion force with PC- and propylsilane-modified sphere probe. The specific adhesive molecular interaction between CP and PC groups was quantitatively evaluated.
Keywords: Force curve measurement, Phosphorylcholine, Polymer Brushes, Molecular interaction

1. はじめに　生理活性物質はターゲットとなる細胞やタンパク分子など生体分子と強い相互作用をもち、種々の機能を発現している。本研究では主な分子間相互作用の力学強度を物理化学的手法により測定し、生理活性分子、不活性分子の違いを評価する手法の確立を目指している。生体細胞表面に存在する双性イオン型官能基を有するモデル化合物、およびこれと相互作用を示す接着タンパクを模倣した分子を合成し、両者にはたらく相互作用を走査プローブ顕微鏡により実測することを試みる。これにより細胞組織やコラーゲン繊維などの局所表面の形態や相互作用を分析し、生理活性作用との関係を明らかにすることが研究の目的である。これらを達成するため、分子間相互作用を示すモデル分子および高分子ブラシの設計、および走査プローブ顕微鏡(SPM)を用いたフォースカーブ測定による分子間接着力の評価とその応用を目指した。

2. 成果　生体膜はリン脂質二分子膜で覆われており、その表面にはホスホリルコリン(PC)基という双性イオン型官能基が存在する。この PC 基を結合したポリマーは特異な水和構造を有し、種々のタンパク分子との相互作用が弱く優れた生体適合性を示すことが知られている。一方、最近 PC 基のリン酸エステルとアンモニウム基の結合位置を逆にしたコリンホスフェート(CP)基を有する化合物が、細胞膜に吸着し PC 基と大きく異なる性質を示すことが報告されるようになってきた[1]。そこで本研究ではホスホベタイン型の PC 基、CP 基をモデル分子として取り上げ、これらを側鎖に結合したポリマーを合成した[2]。MCP および MPC それぞれを表面開始重合することでポリマーブラシを調製した[3-5]。静的対水接触角は poly(MCP)グラフト表面が高く、poly(MPC)よりも疎水的であったが、両者とも表面ゼータ電位は一般的な高分子電解質よりも小さな値であった(Figure 1)。

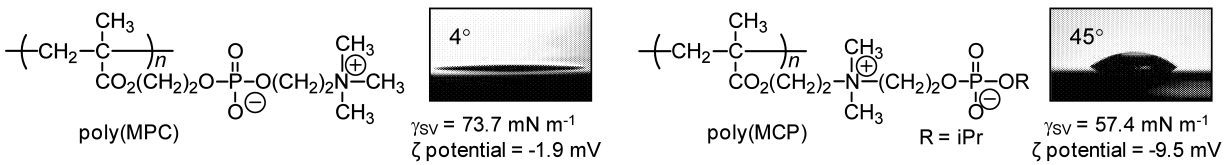


Figure 1. Chemical structure of poly(MPC) and poly(MCP), and static water contact angle and zeta potential on the surface of the corresponding polymer brushes

表面を CP 基または PC 基で修飾したシリカ微粒子(d = 25 μm)をカンチレバー(バネ定数 0.0457 N/m)に固定し、これをプローブとして SPM (JPK 製 NanoWizard 3)を用いた水中フォースカーブ測定を行った。Figure 2 に示すように poly(MPC)ブラシ表面は CP 修飾プローブと特異的に大きな凝着力を示した。これは CP 基と PC 基は強く相互作用することを示しており、同種双性イオンでありながらアンモニウム基とリン酸基の結合位置の違いが表面物性に大きな影響を与えることが明らかとなった[2]。

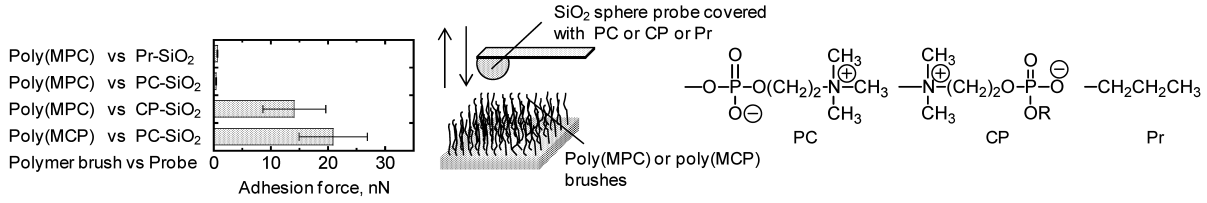


Figure 2. Adhesion forces between polymer brushes and sphere probe bearing PC or CP functional groups by force curve measurement in water at 25 °C

フジツボは代表的な海洋付着性生物であり、様々な物質に固着する。その接着プロセスは幼生のキプリスが触角から分泌する接着タンパクに由来する。本研究では、生きたままのキプリス幼生をカンチレバーに固定化し、その触角とポリマーブラシとの凝着力を直接測定した。変態後、約 5 日令のキプリス幼生の第一触角と疎水性ガラス表面間に働く凝着力は 2.6 μN であったが、21 日後には最大 40 μN 以上の凝着力が観測され、幼生の加齢とともに凝着力が増大することが明らかとなった(Figure 3a-c)。一方、poly(MAPS)ブラシ表面と触角の間には加齢後も凝着力がほとんど検出されず、ブラシ表面の生物付着抑制効果に関する情報が得られた[6]。こうした技術を活かし、現在、コラーゲン線維の表面における凝着力マッピングを検討中である(Figure 3d)。

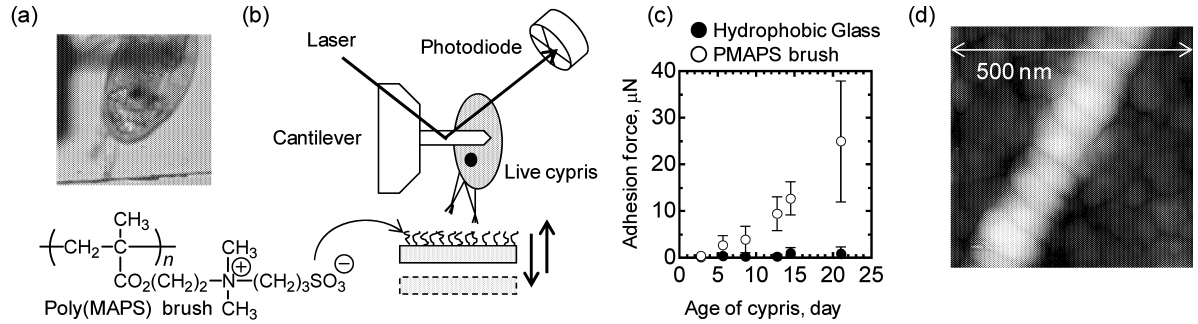


Figure 3. (a) Microscope photograph of live cypris-immobilized cantilever for SPM, (b) schematic images of adhesion measurement of tentacles of cypris, and (c) averaged adhesion force between tentacles of cypris and glass or poly(MAPS) brush surface in sea water at 25 °C. (d) AFM image of collagen fiber

文献

[1] T. Emrick et al., JACS, 138, 1828 (2016).

[2] Mihara, S.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M. Intermolecular Interaction of Polymer Brushes Containign Phosphorylcholine and Inverse-Phosphorylcholine, *Langmuir* **2019**, *35*, 1172-1180.

[3] Yoshioka, H.; Izumi, C.; Shida, M.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M. Repeatable adhesion by proton donor-acceptor interaction of polymer brushes, *Polymer* **2017**, *119*, 167-175.

[4] Shiomoto, S.; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M. Time Evolution of Precursor Thin Film of Water on Polyelectrolyte Brush, *Langmuir* **2018**, *34*, 10276-10286.

[5] Yoshioka, H; Yamaguchi, K.; Kobayashi, M. Deviant polymerization behavior of 4-acetoxystyrene found through a detailed study on the ATRP of *para*-substituted styrenes, *Polym. J.* **2019**, *51*, in-press.

[6] Shiomoto, S.; Yamaguchi, Y.; Yamaguchi, K.; Nogata, Y.; Kobayashi, M. Adhesion force measurement of live cypris tentacles by scanning probe microscopy in seawater, *Polym. J.* **2019**, *51*, 51-59.

1.5 & 4.2　　生体分子間の相互作用の共鳴ラマン散乱による
振動分光学的検討

Vibrational spectroscopic studies on intermolecular interactions of biological molecules by resonance Raman scattering method.

伊藤　雄三
工学院大学先進工学部応用化学科

Yuzo Itoh
Department of Applied Chemistry, Kogakuin University

The vibrational spectroscopic studies on intermolecular interactions of biological molecules have been done. The target intermolecular interactions were those between collagen and heparin. The surface enhanced Raman spectra (SERS) of collagen, heparin and the mixture of collagen and heparin were measured and the intermolecular interactions between them were analyzed by using ab initio molecular orbital calculations. In particular, the spectra of the mixture of collagen(V) and heparin, of which the interactions between them are very strong, were compared with those of the mixture of collagen(I) and heparin, of which the interactions between them are not very strong, and discussed the difference of the interactions.

Keywords: Intermolecular Interaction、Resonance Raman Scattering, Surface Enhanced Raman Scattering

1. はじめに

生理活性が認められた物質，基質、オリゴマー等と生体分子の分子間相互作用を振動分光学的に解析し、その生理活性の作用機作を明らかにすることを目的として、表面増強ラマン散乱(SERS)の測定を行った。ラマン散乱法は、振動分光学の手法として一般的に用いられる赤外吸収法(IR)と異なり、水分を含む系でも適用できることから、生体系の解析に優れているが、その感度が弱いことが欠点である。SERS 法では、金、銀、銅などの金属コロイドを用いることで、ラマンスペクトルを 10^3～10^6 倍に増強することができるため、単分子層程度で金属表面に吸着した分子の振動スペクトルを検出でき、その生理活性の解析には非常に有効である。また、分子間相互作用の解析には、ab initio 分子軌道法などの理論計算も用い、実験と理論計算の両輪からの解析を行った。測定及び解析の対象としては、生体分子間の典型的な分子間相互作用を示すコラーゲンとヘパリンを採用した。

２．成果

コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用

V 型コラーゲンとヘパリンが強い親和性を示すことは、よく知られており、コラーゲン(V)の側鎖の NH_3^+ とヘパリンの SO_3^- が強い相互作用をしていると考えられている[1)]。今回この相互作用を解析するため、サンプルをガラス基板上にキャストし、銀コロイドを加えた後、真空乾燥器で水分を飛ばすことにより、コラーゲン(V)単独、ヘパリン単独、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物の薄膜フィルムを作製し、表面増強ラマン散乱の測定を行った。

一例として、図１にコラーゲン(V)の薄膜フィルムの表面増強ラマン散乱スペクトルを、表１にピークの帰属を、それぞれ示した。ヘパリン単独、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物の薄膜フィの表面増強ラマン散乱スペクトルの測定及び帰属も同様に行った。

コラーゲン(V)の NH_3^+ 基によるピークがコラーゲン(V)とヘパリンの混合物の表面増強ラマン散乱スペクトルではシフトしている。コラーゲン(V)の NH_3^+ 基とヘパリンの SO_3^- 基の強い相互作用によりピークシフトしたものと考えられる（表２）。比較のため、コラーゲン(I)とヘパリンには関し同様の測定を行った。コラーゲン(I)の NH_3^+ 基によるピークのコラーゲン(I)とヘパリンの混合物の表面増強ラマン散乱スペクトルにおけるピークシフトを表３に示した。コラーゲン(I)とヘパリンの相互作用は、コラーゲン(V)とヘパリンの相互作用より弱いとされており[2),3)]、相互作用によるラマンピークのシフトが、コラーゲン(I)とヘパリンの混合物の方が小さいことは、前記の知見と整合性が取れていると思われる。

これらの相互作用によるピークシフトを定量的に解析するため分子軌道法による理論計算を行った。コラーゲンのモデル化合物としてはリシンをヘパリンのモデル化合物としてはカルボキシル基と硫酸基を含む単糖を用いて、リシン側鎖の NH_3^+基とヘパリンのモデル化合物の SO_3^-基が相互作用するとして２分子のエネルギーミニマムを示す構造最適化計算を行い、その最適構造をもとに基準振動計算による分子振動の計算を行った。各ピークのピークシフトの結果を表４に示した。表2と表4を比べると、実測と計算で絶対値は一致していないが、ピークシフトの向きは一致しており、計算分子のモデル化がかなり荒い近似であったことを考慮すると、これらのピークシフトは分子間相互作用を示していると考えられる。

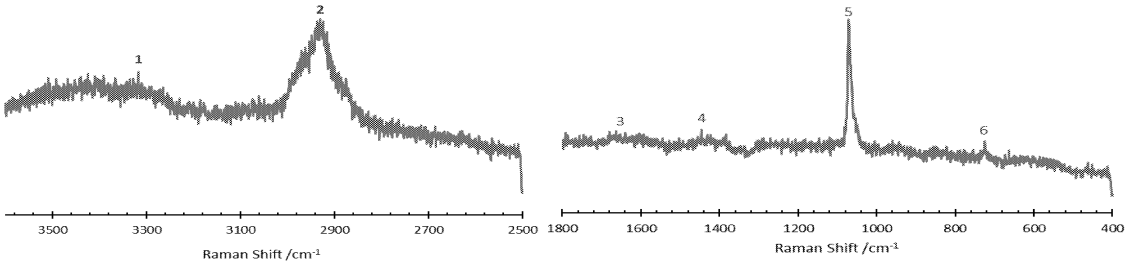


図１　コラーゲン(V)の表面増強ラマン散乱スペクトルスペクトル

表１　コラーゲンのラマンスペクトルの帰属

No.	cm^{-1}	帰属
1	3317	OH 伸縮振動、NH_2伸縮振動
2	2930	CH_2逆対称伸縮振動
3	1662	CO 伸縮振動
4	1445	NH_3^+対称変角振動
5	1071	NH_3^+変角振動
6	725	CH_2横揺れ

表２　コラーゲン(V)、ヘパリン、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物のラマンスペクトルの比較

No.	混合物/cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	$\Delta\nu$ /cm^{-1}	帰属
1	1413	1445	−	−32	NH_3^+対称変角振動
2	1052	1071	−	−19	NH_3^+変角振動

表３　コラーゲン(I)、ヘパリン、コラーゲン(I)とヘパリンの混合物のラマンスペクトルの比較

No.	混合物/cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	$\Delta\nu$ /cm^{-1}	帰属
1	1420	1443	−	−23	NH_3^+対称変角振動
2	1078	1090	−	−12	NH_3^+変角振動

表４　コラーゲン(V)、ヘパリン、コラーゲン(V)とヘパリンの混合物のラマンスペクトル計算値の比較

No.	混合物/cm^{-1}	コラーゲン /cm^{-1}	ヘパリン /cm^{-1}	$\Delta\nu$ /cm^{-1}	帰属
1	1352	1386	−	−34	NH_3^+対称変角振動
2	1033	1043	−	−10	NH_3^+変角振動

なお、本研究は今村保忠教授との連携研究である。

文献

1） S. Ricard-Blum et al., J. Biol. Chem. **281**, 25195 (2006)
2） H. Munakata et al., Glycobiology, **9**, 1023(1999)
3） J. San Antonio et al., J. Biochem. **32**, 4746(1993)

別紙５
外部評価結果

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1 の評価	小課題 1.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.1 へのコメント】

課題担当者は合成化学者であるが、生物系研究者との共同研究に適した合成ターゲットを設定している。合成ターゲットであるセコスリキシドは、14 員環マクロラクトンに連続する不斉中心をもつ側鎖が結合したユニークな構造をもち、合成ターゲットとしても魅力的であるが、各種誘導体展開への可能性、天然物からの分子プローブへの構造展開を考えた場合にも、分子中の多数の官能基をはじめ、足がかりとできる部分が多い。また、共同研究を見据えて、合成的供給を可能にするなど、共同研究の基盤形成に向けた積極的な取り組みが見られる。セコスリキシドの作用機構に関しては、小課題 1.2 における細胞評価系の構築や小課題 1.6 の結合分子同定に受けた方法論開発など、異分野共同研究体制構築の中核課題のひとつとなっている。今後は、細胞評価系と分子プローブによる標的探索とともに、がん細胞パネルの活用など学外リソースの活用も視野に入れた展開を期待したい。また、研究発表活動も活発に行われており、非常に高く評価できる。

【小課題 1.2 へのコメント】

本小課題は、小課題 1.1 との研究連携を中核として、コルヒチン存在下に置いて KB-CS 細胞に対して強力な札細胞活性を示すセコスリキシドの標的探索と、その誘導体の活性評価系構築を目的として、多剤耐性作用アッセイ系の構築を目的としている。当初の研究計画から、蛍光色素排出活性を指標とするアッセイ系へと計画を変更し、結果として簡便な評価法の構築に成功している。今後、小課題 1.1 において合成される環拡大セコスリキシドや各種立体異性体、生化学的な標的探索に使用する分子プローブなどの活性評価が可能となったことは極めて大きな成果である。今後は、小課題 1.1 担当者との共著論文の発表など、化学者と生物学者の共同研究成果が発表されることを期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.3 の評価	小課題 1.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.3 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、がん細胞の増殖において極めて重要である血管新生に関する評価系の立ち上げを検討している。特に GFP を構成的に発現する血管内皮細胞系の構築は魅力的であり、血管形成を動的にかつ高感度で評価できる系となる可能性がある。また、学内共同研究により、合成化合物や植物抽出物の活性評価を行い、ヘスペリジンならびにローズヒップエキスに活性を見出した点は高く評価できる。物理的に近い距離に、高性能な評価系をもつことで、共同研究が促進されており、今後の共同研究成果の発表を期待したい。

【小課題 1.4 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、NF-κB 活性化を抑える DHMEQ の構造展開と評価が検討された。DHMEQ の安定性、物性に関する問題点解決に向けた試みがなされ、その過程で見出された知見を新規環拡大反応へと展開するなど野心的な試みが見られる。現在の所、DHMEQ の問題点のひとつである安定性の改善に向けた試みは難航しているが、溶解度の改善には有効な知見が得られており、ひとつひとつ問題点を解決しながらも進展が認められており、論文発表も順調に行われている。今後は、NF-κB 結晶構造を利用する構造生物学的な知見を加味するなどの展開を期待したい。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、共通の目標に向かって化学者と生物学者の共同研究が順調に進展している。互いのコミュニケーションがよく取れており、化学者は生物学者の利用に供するために物質供給を目指した合成と構造展開を行い、生物学者はその評価系構築を主眼としている。これらの研究を通じて、学生の中からも、化合物を使う生物学者、生物学的評価系を十分理解できる化学者が育ってくることを期待したい。また今後は、相互の共同研究成果として、共著論文の発表を期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（B）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.1 へのコメント】

ユニークな気性微細藻類に着目し、それが激しい環境ストレス下に置かれるそれらが生産する二次代謝産物を有用物質のソースと捉える視点は非常に高く評価できる。特に、気性微細藻類が多量に蓄積するカロテノイド、細胞内の油滴に着目し、ABA の蓄積や新規抗菌活性物質を見出した点は興味深い。同じく藻類における脂質蓄積に着目した研究として太田（東工大生命理工）らの研究が知られているが、これらとの比較も興味深いのではないだろうか。また、環境ストレス下において脂質から合成される植物ホルモンとしてジャスモン酸類が知られているが、気性微細藻類におけるジャスモン酸応答の活性化など、今後の展開が期待される。

【小課題 2.2 へのコメント】

天然デンプンの性質改善を目的としたデンプン加工法と各種物理計測によるその構造的知見を加味した評価が行われている。人類にとって有用な天然資源であるデンプンを生理活性物質と捉えると、大きな意味では、本基盤形成事業における出口のひとつと捉えることができる。一方で、今後学内の他研究者との活発な共同研究を期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.3 へのコメント】

本小課題は、ほ乳類のキチナーゼに着目したユニークなものである。効率的な大腸菌発現系の構築、蛍光標識基質を利用した高感度活性評価法の確立に加え、その生理的な意義に関する知見など、研究は順調に展開している。順調な研究展開は、今後、化学者との共同研究によるほ乳類キチナーゼ阻害剤の探索や構造生物学的知見に基づく分子設計と合成など、新規生理活性物質探索のための有用なプラットフォームの提供を可能にすると期待できる。また、極めて旺盛な論文発表成果や学生の受賞など、アウトプットも非常に高く評価できる。

【小課題 2.4 へのコメント】

最近に由来するキチナーゼやトレハラーゼなど、各種糖鎖分解酵素に関する堅調な研究活動が展開されている。これらは、小課題 2.3 と同様に、化学者との共同研究による新規生理活性物質探索のための有用なプラットフォームの提供を可能にすると期待できる。また、論文発表も活発である。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 2.5 へのコメント】

治療法の少ない疾患に着目し、その医薬品シードの探索を目標として、学内の生物学者との活発な共同研究を展開しており、非常に高く評価できる。特に、がん細胞の免疫寛容機構に着目したキヌレニン産生阻害物質の探索は、化学と生物学の見事な共同研究成果であり、がん治療薬の開発研究として、セコスリキシドの研究と並んで、本支援事業を代表する成果に発展する可能性もある。また、これ以外にも多くのシーズ探索が進行中であり、化学と生物学の共同研究成果として発表されることを期待したい。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、これまで学内で別個に展開してきたユニークな研究テーマが、有用物質探索のリソースあるいはプラットフォームとして統合されつつある。また、天然由来の生理活性物質探索と構造決定に実績のある研究者が参入したことで、それぞれに新たな展開の可能性が生まれたことも非常に高く評価できる。今後、共同研究成果が形となって発表されることを期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 3.1 の評価	小課題 3.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 3.1 へのコメント】

本小課題は、小課題 1.1 との研究連携を中核として、コルヒチン存在下に置いて KB-CS 細胞に対して強力な札細胞活性を示すセコスリキシドの標的探索と、その誘導体の活性評価系構築を目的として、多剤耐性作用アッセイ系の構築を目的としている。また、細胞培養における基礎的知見としてコラーゲンの効果を検証し、その新たな機能を見出した。しかし、ワールブルグ効果様の応答に関してはさらなる慎重な検討が望まれる。今後は、他の小課題担当者との共著論文の発表など、化学者と生物学者の共同研究成果が発表されることを期待したい。

【小課題 3.2 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、がん細胞の増殖において極めて重要である血管新生に関する評価系の立ち上げを検討している。特に GFP を構成的に発現する血管内皮細胞系の構築は魅力的であり、血管形成を動的にかつ高感度で評価できる系となる可能性がある。また、学内共同研究により、合成化合物や植物抽出物の活性評価を行い、ヘスペリジンならびにローズヒップエキスに活性を見出した点は高く評価できる。物理的に近い距離に、高性能な評価系をもつことで、共同研究が促進されており、今後の共同研究成果の発表を期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ３：新機能表面・構造の流体・エネルギー分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 3.3 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 3.3 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、NF-κB 活性化を抑える DHMEQ の構造展開と評価が検討された。合成化合物の評価系として、小課題 3.2 との学内共同研究が活発に行われている。物理的に近い距離にある評価系を活用することで、学内リソースの活発な活用と共同研究の促進が見られており、今後の共同研究成果の発表を期待したい。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、学内の生物学者によって構築された評価系を化学者が有効に活用するというシステムが効果的に運用されている。生物学者は、基礎的な部分から評価系を見直すことで、その構築に向けて最大限の努力を行っており、相互の意見をフィードバックすることで、今後ますます研ぎ澄まされた評価系が完成していくものと期待できる。この恵まれた環境を活用して、今後ますます学際的な研究を推進して頂きたい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　　上田　実

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 4.1 の評価	小課題 4.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（B）

【小課題 4.1 へのコメント】

本小課題では、走査型プローブ顕微鏡を活用した、細胞膜や接着タンパク質と生体分子の相互作用に関する基礎的研究が展開されている。SPM 観測の性質上、比較的強い分子間相互作用を与える系をモデルとして基礎的な検討が行われている。今後は、共同研究の推進が期待される。

【小課題 4.2 へのコメント】

ラマン分光の活用による生体分子間相互作用の解析を目標としている。学内共同研究も行われているが、現在の所、生体分子への展開に向けて基礎的知見を蓄積している状況である。今後、適切な系の設定による活発な学内共同研究の推進を期待したい。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、生理活性の作用機作解明に向けて、分子間相互作用を分光学的に解析する重要な試みが検討されている。比較的強い分子間相互作用を与え、いくつかの小課題において重要なプレイヤーであるコラーゲンに的を絞り、各種の基礎的な検討が行われている。今後、コラーゲンとどのような分子との相互作用を観測するのか、研究展開の的を絞り、活発な共同研究が推進されることを期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：品田哲郎

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1 の評価	小課題 1.6 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（B）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（B）	評点（A）

【小課題 1.1 へのコメント】

抗がん活性化合物として期待がもたれながらも天然から微量にしか得られないいくつかの天然物の全合成に取り組み、その合成経路を確立した点は評価できる。プロジェクトに導入された機器も有効に活用されており成果がもたらされている。化合物の量的供給・構造活性相関研究・標的同定のためのプローブ合成をスムーズに展開するために有機合成技術をより進化すること、ならびに、未同定の分子標的を明らかにするための方向性をより明確にすることで、重点研究を特色づけるがん治療リード化合物の創出を期待したい。

【小課題 1.2 へのコメント】

生物活性化合物の分子標的を明らかにするための効率的なタンパク質標識化技術を提案し、その有用性をモデル系ならびに複数のタンパク質が会合する複雑系において実証したことは高く評価できる。研究成果はインパクトファクターの高い学術雑誌に掲載されているだけでなく、国内外における学会での招待講演件数も数多いことは特筆すべきである。標的分子同定の実例を着実に積み上げることで、創薬・ケミカルバイオロジー研究を牽引する成果を挙げられることを期待したい。

[評点] 以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：品田哲郎

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.7 の評価	小課題 1.8 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（B）

【小課題 1.3 へのコメント】

四重鎖ＤＮＡと相互作用するテロメスタチンをリードとする抗がん剤開発として、膨大なアナログ合成と抗がん活性評価研究から、がん細胞に対する種特異性や作用特性の異なるアナログを見出している。ヌードマウスを用いた in vivo 活性試験や脳腫瘍治療の効果を調べる研究へと発展しており、論文発表件数も数多い。研究成果は目標を大きく上回っている。次のステージの課題となる、吸収・分布・代謝・排泄過程なども考慮した統合的な観点を取り入れた分子設計や、センター内での連携と相互発展を導くような研究展開にも期待したい。

【小課題 1.4 へのコメント】

がん細胞の免疫寛容の制御に着眼し、免疫寛容に関連するキヌレニンの生合成経路を阻害する分子の探索を実施し、45 のヒット化合物の存在を明らかにしている。2 年目からプロジェクトに参加したにもかかわらず一定の成果を挙げており、独創的なリード分子の創出に向けた研究の芽は着実に見え始めている。本研究より創出される新規天然物は創薬リードとなる大きな可能を秘めており、今後の取り組みに期待したい。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

研究計画は順調に達成できている。本プロジェクトにより導入された FT-NMR を初めとする分析機器類も余すところなく活用されており、実りある成果をもたらしている。重点課題の特色となるような抗がん剤リードの創出に向けた一層の展開を期待したい。

[評点] 以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　品田哲郎

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（B）

【小課題 2.1 へのコメント】

気生微細藻類に着目した独創的な観点から、培養条件の確立と利用価値の高い天然化合物の探索を実施し、エステル型カロテノイドや抗菌活性分子を有する構造未知のクロロフィル系化合物の存在を明らかにしている。これらの構造と生物活性を明らかにすることで藻類生産物の特色を生かした有用物質を提供・生産することが今後の課題である。短期間で量的に有用分子を入手できる培養系の確立や、カロテノイド生合成酵素遺伝子の解析と生合成酵素の利用などの展開にも期待したい。

【小課題 2.2 へのコメント】

デンプン湿熱処理加工技術を用いて、おいしさを担保しながら血糖値上昇を伴わない難吸収性アミノ酸複合化小麦デンプンの開発を独自に目指している点は評価できる。糊化、エンタルピー測定、ＩＲ分析による水素結合様式の解析などにより、機能と構造との関連についての議論と考察がなされるなど、一定の成果が得られている。実用展開に向けたヒトでの血糖値上昇抑制効果の検証を進めるとともに、分子構造レベルでの解析をさらに深化させることで高機能デンプン創製のためのデザイン指針を導出するような展開にも期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　品田哲郎

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（B）

【小課題 2.3 へのコメント】

キチン分解酵素（キチナーゼ）は節足動物に普遍的に存在している。喘息などとの疾病との関連も示唆されているものの、哺乳動物では希である。哺乳動物のキチナーゼの機能と役割を明らかにし、その成果をキチンオリゴ糖の生産技術に展開することを目指した独創性の高いものである。これまでにマウスとヒトにおけるキチナーゼを同定し、それらのアミノ酸配列と酵素活性の差異を解析するとともに、酵素生産物の解析のための再現性の高い蛍光分析法を確立している。研究成果はインパクトファクターの高い論文に発表されており、プロジェクト研究を通じて後期博士課程の育成にも大きく貢献している。有用分子の創成と機能創出に向けた研究展開に期待したい。

【小課題 2.4 へのコメント】

細菌由来のキチン分解酵素（キチナーゼ）、Listeria から 2 種、Bacillus から 1 種新規ホモログを発掘している。新規トレハロース分解酵素（トレハラーゼ）をあわせて見出し、それらの酵素機能を明らかにしている。これらの研究基盤をもとに新規トハラーゼの逆反応を用いた新しい糖鎖修飾法にむけたアイデアが示されたことからも技術開発に向けた基盤は整った。オリジナルな糖鎖修飾技術の開発に向けた展開に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　品田哲郎

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（B）	
2. 研究実施状況	評点（B）	
3. 研究成果	評点（B）	

【小課題 2.5 へのコメント】

固形がん特有の栄養飢餓状態、一部のがんに見られる免疫寛容、神経変性疾患との関与が示唆されている小胞体ストレス、および過剰な自然免疫の応答機構の病態スクリーニング系を構築し、小胞体ストレスを阻害する天然物 4 種、LPS による炎症阻害活性分子として stachlineD、キヌレニン生産阻害分子として 4 つの活性分子を見出している。2 年目からプロジェクトに参加したこともあり構造解析に遅れが生じている点はやむを得ないものの、研究の芽は着実に見えはじめている。優れた化合物を単離できれば方向性はおのずと明確なものとなる。今後の展開に期待したい。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

技術基盤を物質生産に結実するための取り組みを一層推進されることを期待する。他のプロジェクトとの協同による相乗効果にも期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　品田哲郎

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 3.1 の評価	小課題 3.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（A）
3. 研究成果	評点（B）	評点（B）

【小課題 3.1 へのコメント】

生物活性物質のアッセイ系の開発の基礎研究としてウシ角膜由来のコラーゲンの会合状態、培養時の細胞形態観察などの基礎的知見を集積している。予備的ではあるが、薬剤排出にかかるアッセイ系の構築から、小課題 1.1 で合成された化合物の薬剤排出抑制能を検出したことや、小課題 4－2 と連携を進められている点は高く評価できる。これまでの研究から見えてきた課題を克服できれば、プロジェクト研究に大きな波及効果をもたらすことができる。課題の早期解決による飛躍に期待したい。

【小課題 3.2 へのコメント】

血管新生機構の解明に結び付く血管管腔モデルの開発の基礎研究として、人線維芽細胞を用いた血管内皮細胞の効率的培養法の開発、共培養での血管内皮細胞形成モデルの作成、ならびにＩＶ型コラーゲンゲルを用いることの重要性を明らかにするなどの成果を挙げている。本アッセイ系を用いてローズヒップやミカンフラボノイドに活性が認められることを見出し、食品や薬効植物機能の新たな一面を見出している。小課題 2.1, 3.3, 3.4, 4-1,4-2 と連携を果たすなど、共同研究を推進している点は高く評価できる。一層の研究の進展と成果発信に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　品田哲郎

＜テーマ３：新機能表面・構造の流体・エネルギー分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 3.3 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（B）	
2. 研究実施状況	評点（B）	
3. 研究成果	評点（B）	

【小課題 3.3 へのコメント】

がん攻略のターゲットの一つである NF-κB を阻害する Dehydroxymethylepoxyquinomycin (DHMEQ)をリードとして、本分子の難水溶性を解決するアナログの創製に成功し、その生物活性が DHMEQ と同程度であることを見出したことは医薬展開を期待させる成果である。また、合成研究の途中において興味深い環拡大反応を見出すなど、有機合成化学・医薬品化学の基礎研究分野にも貢献している。DHMEQ はよく研究されているため、先行研究との差別化に向けた方向性を定めることが今後の課題である。水溶性を高めた新規アナログの動物実験と分子設計へのフィードバックによる有効なアナログ分子の創出に期待したい。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

独自のアッセイ系を持つことはセンターの大きな強みとなるだけでなく、独創的な生物活性発掘のための原動力となる。共同研究も活発に行われており、新たに導入された機器類も十分に活用されている。今後の展開に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　品田哲郎

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 4.1 の評価	小課題 4.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（B）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（C）

【小課題 4.1 へのコメント】

生体分子相互作用解析ツールとして、逆ホスホコリンを担持したポリマーの合成ならびにノーマルタイプとの機能の違いを、共鳴ラマン分光ならびに共鳴プラズモンを用いた解析によって明らかにしている。基礎データを、生物活性分子の相互作用の解析と生体分子を模倣した人工接着分子の創成に向けて、どのように発展させていくのかに期待がもたれる。ＴＶ報道などを通じて独自の研究成果が外に見える形で発信されている点は高く評価できる。今後の展開に期待したい。

【小課題 4.2 へのコメント】

ラマン分光法と計算科学的な手法により、コラーゲンとヘパリンとの相互作用についての知見を得るとともに、βカロテンをモデルとする計算と実測の比較検証など、生体分子の相互作用解析に向けた基盤が集積できたことは評価できる。小課題 3.1 とも連携が進んでいる。生体間分子相互作用、とりわけ膜やタンパク質と小分子リガンドの相互作用解析はかならずしも容易ではなく、重要な取り組みと位置付けられるため着実な成果を挙げられることを期待したい。研究成果等の発信に遅れがあることを踏まえて「３．研究成果」は今後の期待を込めた評価とした。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマは挑戦的な要素を含む一方で、大きなブレークスルーにつながる可能性を秘めている。共鳴ラマン分光を用いることで明にできることをさらに追求するとともに、他の分光学的解析手法などを補完的に取り入れつつ、モデルからその先を見据えた研究の進展に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1&3.4 の評価	小課題 1.6&4.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.1&3.4 へのコメント】

プロジェクトの一年目に、それまで手掛けてきたセコスリキシドの全合成を達成し、さらに工程の短縮や収率の向上を達成していることは評価に値する。研究の進捗は良好であり、学内共同研究も積極的に推進していることから、重点課題として今後の発展と成果発表に期待したい。

【小課題 1.6&4.3 へのコメント】

本小課題では、プロジェクト内で見出される生物活性化合物の標的分子をより効率的に同定するために、新しい標的分子同定法の開発を進めている。研究成果はレベルの高い学術雑誌に数多く掲載されており、研究の進捗は良好である。今後、ターゲットを広げていくことで、プロジェクトの目指す創薬・ケミカルバイオロジー研究を加速させることを期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.7 の評価	小課題 1.8 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（C）

【小課題 1.7 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、テロメスタチンの構造をもとに、合成化学を基盤とした構造展開を行い、より強力な抗腫瘍活性を示す化合物の創製に取り組んでいる。研究成果はレベルの高い学術雑誌に数多く掲載されており、目標を十分達成している。今後さらに系統的な構造展開（分子設計）を実施し、より強力な抗腫瘍活性を有する化合物の探索を期待する。

【小課題 1.8 へのコメント】

本小課題では、スクリーニング系と化合物ライブラリーの構築から始め、順次スクリーニングを実施するため、成果が出るまでに時間がかかることが予想された。しかしながら、2 年目からプロジェクトに参加したにもかかわらず、45 のヒット化合物の存在を明らかにしている。今後、作用機序を解明していくことで、独創的なリード分子の創出に期待したい。特許性との関係で論文発表が遅れることは理解できるが、論文成果発表は強く望まれる。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、研究の進捗は良好であり、実りある成果をもたらしている。導入機器類も積極的に利用されており、特色ある抗がん剤リードの創出に向けた一層の展開を期待したい。今後さらに、共同研究成果として、特に他大学の研究者との共著論文の発表を期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（C）

【小課題 2.1 へのコメント】

本小課題は、特異な生物機能を有する気生微細藻類の脂質成分から生理活性物質を探索し、それらの機能解析および効率的生産に関する研究であり、その独創的な視点は高く評価できる。研究成果は着実に積み上げられており、進捗状況は良好である。今後、構造と生物活性を明らかにすることで、さらなる有用物質が生産されることを期待する。

【小課題 2.2 へのコメント】

本小課題では、天然デンプンをさらに上回る特性を有するアミノ酸複合化小麦デンプンの開発を独自に目指しており、興味深い。糊化挙動の検討など、機能と構造との関連についての議論もなされており、進捗状況は良好である。しかしながら、本研究課題に関連する論文発表がないため、積極的な成果発表が望まれる。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.3 へのコメント】

本小課題では、この 3 年間の研究で、マウスとヒトにおけるキチナーゼ遺伝子発現の解析を終了し、キチナーゼが高く発現する組織を明らかにしている。さらに、大腸菌でのマウス AMCase と Chit1 の発現に成功し、組換えほ乳類キチナーゼが収得できたことは高く評価される。研究成果はインパクトファクターの高い論文に発表されており、プロジェクト研究を通じて博士課程の大学院生の育成にも大きく貢献している。今後、ほ乳類キチナーゼによるキチンオリゴ糖の生産への展開が期待される。

【小課題 2.4 へのコメント】

本小課題では、各種細菌からキチナーゼ遺伝子を取得し、新規キチナーゼとして酵素化学的性質やキチン分解活性および多糖への結合活性を解析し、これら酵素は固有の特性を示すことを明らかにしている。研究成果はインパクトファクターの高い学術雑誌に掲載されており、目標を十分達成している。今後、小課題 2.3 との連携のみならず、学内共同研究の推進が望まれる。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（B）	
3. 研究成果	評点（C）	

【小課題 2.5 へのコメント】

本小課題では、微生物や海洋生物等の天然由来の新規医薬シード化合物の探索に取り組んだ。複数のスクリーニング系を構築し、それぞれの評価系で海洋生物由来サンプルに活性を見出し、活性物質の単離に至った。特に栄養飢餓選択的細胞死誘導物質としてシアノバクテリアからカルキピロンを単離し、本化合物がミトコンドリアの呼吸鎖複合体Ⅰを標的とすることを明らかにしたことは評価に値する。しかしながら、本研究課題に関連する論文発表がないため、積極的な成果発表が望まれる。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、それぞれの小課題の独自性（独立性）が強いため、今後、共同研究が推進されることを期待したい。また、論文による成果発表も重要と考える。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 1.2&3.1 の評価	小課題 1.3&3.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（C）

【小課題 1.2&3.1 へのコメント】

本小課題では、ケミカルバイオロジーのアッセイ法として利用可能な細胞培養系の開発を目的とし、小課題 1.1 や小課題 4.2 と連携を進めている点で高く評価できる。研究成果は着実に積み上げられており、進捗状況は良好である。今後、共同研究成果として共著論文の発表を期待したい。

【小課題 1.3&3.2 へのコメント】

本小課題では、血管形成に影響を及ぼす因子として、ローズヒップ抽出液とヘスピリジンを得ている。また、GFP を血管内皮細胞に導入することで、血管形成を動的に観察できる系を構築し、さらに、血管内皮細胞と線維芽細胞のスフェロイドを形成させることで、血管の伸長観察できる系を構築するなど、一定の成果を得ている。細胞培養と細胞の観察には、本プロジェクトで購入した細胞培養関連設備、およびバイオイメージング装置が活用されている。小課題 2.2 や小課題 3.3 と連携を進めている点でも評価できる。しかしながら、本研究課題に関連する論文発表が少ないため、積極的な成果発表が望まれる。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ３：新機能表面・構造の流体・エネルギー分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 1.4&3.3 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（B）	

【小課題 1.4&3.3 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、DHMEQ をリード化合物として新規 NF-κB 阻害剤を見出すべく検討を行い、DHMEQ にメチル基を導入した類似体が、種々の溶媒に対する溶解性が高く、かつ NF-κB 阻害活性を示すことを明らかにしている。学内共同研究も活発に推進しており、評価に値する。今後の共同研究成果の発表を期待したい。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは共同研究も活発に行われており、研究の進捗は良好である。また、新たに導入された機器類も十分に活用されている。今後の展開に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 4.1 の評価	小課題 1.5&4.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（C）

【小課題 4.1 へのコメント】

本小課題では、分子間相互作用の力学強度を物理化学的手法により測定し、生理活性分子、不活性分子の違いを評価する手法の確立を目指している。研究成果は着実に積み上げられており、進捗状況は良好であるが、他のテーマとの関連を明らかにし、今後は、共同研究の推進が期待される。

【小課題 1.5&4.2 へのコメント】

本小課題は、生理活性が認められた物質、基質、オリゴマー等と生体分子の相互作用を振動分光学的に解析し、その生理活性の作用機作を明らかにするための分析法を開発する基礎的かつ重要な研究であり、どのように発展させていくのかに期待がもたれる。小課題 3.1 との連携の具体的内容を示すことで、成果がよりわかりやすいものになると考える。今後、研究成果の発表が望まれる。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、それぞれの小課題の独自性（独立性）が強いため、今後、共同研究が推進されることを期待したい。また、論文による成果発表も重要と考えます。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1&3.4 の評価	小課題 1.6&4.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（A）

【小課題 1.1&3.4 へのコメント】

初年度のセコスリキシドの全合成達成から発展して、４０工程近くを要した第一世代合成から２９工程への削減を達成して、収率を大幅に改善したことは評価に値する。

今後はコルヒチン耐性を獲得した腫瘍細胞の作製への発展が期待される。また、セコスリキシドのジアステレオマーの合成が現段階で４種の作製に成功していることからも研究の進捗は良好であると判断される。今後の発展に期待したい。

一方、全合成を達成した 2014 年度は３報の論文が発表されているが、それ以降は年１報となっており、こちらも今後の発展に期待したい。

【小課題 1.6&4.3 へのコメント】

報告されている論文から、本研究が順調にすすんでいるものと判断いたします。

研究計画はよくまとまっているのですが、成果・まとめと今後の予定については、より具体的な記述、特にこれまでの成果に対する本年度の成果とその位置づけや、それらを踏まえた今後の予定との関連をより明確にしてくださると、より成果がわかりやすいものになると思います。

些末なコメントかもしれませんが、研究表題が「生理活性化合物」とされているのに対して、報告書では「生物活性化合物」となっているということは、現段階では作製した化合物が生体の中で役に立っていることがまだ確認されていない、という解釈でよろしいでしょうか。この他にも「アフィニティーラベリング法」「アフィニティーラベル化法」など、用語が若干異なるものが報告書内で散見されます。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.7 の評価	小課題 1.8 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（B）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（C）

【小課題 1.7 へのコメント】

平成２８年度は「テロメスタチンの母核(OTD)を有する化合物類に関する構造活性相関」ということで、Y2H2-6M(4)OTD がグアニン四重鎖を選択的かつ hybrid 型に安定化していて、顕著な細胞増殖抑制活性を示すことを解明していることは評価に値する。

次年度のリード化合物の取得と最終年度の大量合成に期待したい。

【小課題 1.8 へのコメント】

目的物質の探索ということで、すぐ成果をだすことが容易ではない研究であることは理解されるが、論文がないという点については憂慮される。現在論文１報作成中ということですが、更に次の論文成果発表を期待したい。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

各研究と他の研究、特に他大学の研究者と本学の研究者との連関が明確かつ具体的なもの（例えば共同研究）があると、本プロジェクトの目的と意義の達成へより近づくのではないかと考えます。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。(必須項目)

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（A）
3. 研究成果	評点（C）	評点（B）

【小課題 2.1 へのコメント】

本年度で、*Coelastrella* sp. KGU-Y002 のエステル型カロテノイドの選択合成と ABA との関係を解明し、採取した気生微細藻類のコロニーから抗菌活性を示す新規クロロフィルの単離に成功したことは評価します。

フィールドワークが必要とされる研究ということで、論文を執筆する時間の確保に乏しいことは理解できますが、2014 年と 2017 年に各１報ということで、より活発な成果発表を期待したい。

【小課題 2.2 へのコメント】

本年度は理事長賞を受賞され、本研究の対外成果発表と本学の認知度向上に多大なる貢献をされたことに敬意を表します。

また、本年度は３報の和文論文を成果として発表されていることも、本学の国内での認知度を上げることに貢献していると判断いたします。これらの成果を更に国外へと発信していくことを期待いたします。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.3 へのコメント】

本年度は、キチンオリゴ糖の解析法の確立ということで、マウスとヒトにおけるキチナーゼ遺伝子発現の解析を終了し、ヒト AMCase キチナーゼ活性が nsSNPs によって制御され、高い活性を有したヒト AMCase variant のアミノ酸置換がマウス AMCase のアミノ酸配列と一致することを解明するなど、十分な成果が得られたと判断する。

また、本研究によって本学の学生がポスター賞を受賞していることは、本学への研究成果のフィードバックとしても高く評価したい。

【小課題 2.4 へのコメント】

十分な研究成果が出ていることが、本年度報告された論文からも判断される。

ただ、研究計画に対する本年度の成果との関連、そしてまとめと今後の予定と研究計画との関連性を、より具体的に示してくだされば、よりよい成果報告になると考えます。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（B）	
3. 研究成果	評点（C）	

【小課題 2.5 へのコメント】

平成２９年度の研究計画を示してくださると、今後の予定との関連がより明確になると判断します。

また、本研究の成果を国内外に示すためにも、論文による成果発表を期待したい。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

論文による成果発表を重要視してくださると、より本プロジェクトの目的の達成と、意義を示すことになると考えます。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 1.2&3.1 の評価	小課題 1.3&3.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（B）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（C）

【小課題 3.1 へのコメント】

課題２がないということは、課題２は何らかの理由で取り下げになったということでしょうか？

報告書からは十分な成果がでていると判断されるのですが、成果報告の論文がないということは、これから成果発表がされるものと期待したい。

【小課題 3.2 へのコメント】

図１～４を示されているのですが、この図から何が言えてどう結論へと至ったのかの説明が具体的でないため、成果の評価を十分に行うことができません。

また、成果を国内外にどのように発信したのかを示す文献（論文など）を示してくだされば、より成果の評価が正当に行うことができます。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ３：新機能表面・構造の流体・エネルギー分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 1.4&3.3 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（B）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 3.3 へのコメント】

年１報ペースで論文発表によって成果を発信していることを評価いたします。

ただ、研究計画をより具体的に示してくだされば、その研究計画に対する成果が十分であったことへの評価が正当に行えますので、研究計画の具体案の再考をお願いします。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

テーマ２での総合所見でも書きましたが、論文による成果発表を重要視してくださると、より本プロジェクトの目的の達成と、意義を示すことになると考えます。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2017 年 3 月 15 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)第１回研究評価シート

評価委員氏名：　高見　知秀

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 1.5&4.1 の評価	小課題 4.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（B）	評点（B）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（B）

【小課題 4.1 へのコメント】

IR・ラマンのスペクトルが得られていて、*ab initio* MO 計算の結果との対比から生体分子間相互作用を示そうとされていることは理解しましたが、では具体的に本研究から何が提言されているのかを評価することができませんでした。解析だけでなく、実際にどのように本成果を他の研究、例えば 3.2 の今村先生との研究にどう結びついているのかを具体的に示してくだされば、成果がよりわかりやすいものになると考えます。

【小課題 4.2 へのコメント】

本研究の成果が十分に出ていることは評価いたしますが、課題の「生理活性の作用機構解析のための」にどのように結びついていくのかを、目的からだけでなく、成果とそのまとめからも具体的かつ明確に示してくだされば、本成果を本プロジェクトに対してどのように貢献しているのかがわかりやすくなると思います。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

報告書に成果として発表された論文などを示してくださると、本研究の成果に対してより正当な評価が行えますので、よろしくお願いします。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1&3.4 の評価	小課題 1.6&4.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.1&3.4 へのコメント】

がん細胞の多剤耐性克服への効果が期待できるセコスリキシドを合成的に供給するための有機合成研究である。独自の合成計画によって、全合成をより効率化することに成功している。工程数はあまり短縮されていないが、各段階の反応を改善・効率化することで、29 段階で約 5%と十分に実用的な供給法を作り上げた。本事業の他研究課題との連携もうまく計画・実施されており、ユニークな成果を期待できる優れた研究である。また、成果の論文発表も堅調である。

【小課題 1.6&4.3 へのコメント】

生物活性リガンドの標的を網羅的に探索する首相の開発を行った。一例として、turn-on 型蛍光色素をリガンドに結合させ、標的タンパク質のリシン残基との共有結合形成を利用する方法を提案している。リガンド近傍にリシン残基を持つ例が、受容体中にどの程度含まれるのか、など一般性に関する議論はあるものの、優れた手法として評価できる。また同様に、アルキンタグ結合リガンドを用いて標的タンパク質をラマン検出する方法に関しては、銀ナノ粒子上でラマンシグナルの検出感度を劇的に向上させることに成功しており、こちらも優れた成果を上げている。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.7 の評価	小課題 1.8 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.3 へのコメント】

テロメラーゼ阻害剤テロメスタチンの構造展開により、優れた抗がん剤候補を開発する内容である。洗練された合成手法により、各種誘導体の合成展開を可能とし、優れた候補化合物 Y2H2-6M(4)OTD を見いだした。この化合物は、各種がん培養細胞の増殖を抑制するのみならず、モデルマウスに対しても顕著な腫瘍増殖抑制活性を示した点は注目に値する。非常に優れた成果と言って良い。

【小課題 1.4 へのコメント】

がん細胞の免疫寛容機構について、原因物資のひとつとしてキヌレニンを明らかにした大きな成果である。また、その産生阻害剤による免疫寛容の回避を目指しており、化合物スクリーニングからヒット構造に必要な構造要素の同定を目指している点は、研究方針として優れている。また、これと並行して小課題との共同研究によって、天然資源からのより高性能な阻害剤の探索を進めている。今後の発展が期待できる優れた研究成果である。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマは、本事業の中核課題に位置づけられる内容であるが、有機合成、ケミカルバイオロジー、創薬研究のいずれの方向から見てもユニークで優れた成果が上がっている。特にセコスリキシドやキヌレニン生産阻害剤など、優れた抗がん剤候補のタネを有することは本研究課題の強みである。これを生かすための基盤研究も順調に推移しており、今後は本学内外の他研究グループとの共同研究により、生物活性の作用機作解析を含めた検討を期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.5 へのコメント】

天然由来の分子資源として、抗酸化活性を持つカロテノイド類に着目し、その生産に着もした研究を展開している。このような方針を徹底したおかげで、本事業における本小課題の位置づけが明確になった。特に、カロテノイド生合成を活性化する成分の探索や気生微細藻類の生態に着目した抗菌性物質探索などユニークな成果が見られており、高く評価できる。

【小課題 2.6 へのコメント】

バイオマス資源としてのデンプンに着目し、その物性改善を図ることで、有用生物活性物質を生み出すための研究を展開している。この方針により、本事業における本小課題の位置づけが明確になった。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.7 へのコメント】

バイオマス資源として、セルロースに次いで天然に豊富に存在するキチンに着目し、新たな生物活性物質を開発する研究内容である。キチンを生合成しないほ乳類もキチナーゼを持つことに注目し、その性質の解明とそれを用いたキチンオリゴマー生産について検討を行い、数々の成果を上げている。活発な論文報告実績もあり、高く評価できる。

【小課題 2.8 へのコメント】

バイオマス資源として、セルロースに次いで天然に豊富に存在するキチンおよびキトサンに着目し、新たな生物活性物質を開発する研究内容である。新規キチナーゼの性質と、これを利用したキチンオリゴマーの生産について、成果を上げている。キチンオリゴマーには、医療材料としての応用など様々な展開が期待できる。酵素機能の解明は随分と進んでおり、これを利用したユニークなキチンオリゴマー生産を期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 2.9 へのコメント】

海洋資源からの新規生物活性物質探索を行い、成果を上げた。高細胞密度のがん細胞に対して選択的にアポトーシス誘導を引き起こす OGG や、LPS による炎症を阻害する Biseokeaiamide A、免疫寛容に関与するキヌレニンの生産を抑制する物質など、ユニークな化合物群が得られた。今後は本学内外の他研究グループとの共同研究により、生物活性の作用機作解析を含めた検討を期待したい。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、天然資源からの有用物質探索と、天然資源バイオマスの有効利用による生物活性物質の開発を行っている。小分子を扱う小課題 2.1 および 2.5 はいずれも優れた成果を与えている。また、高分子を利用する小課題 2.2-2.4 においてもユニークな成果が得られており、今後の研究の発展に大いに期待が持てる。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 3.1&1.2 の評価	小課題 3.2&1.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 3.1&1.2 へのコメント】

小課題 1.1 で得られたセコスリキシドおよび他の類縁体を用いる評価系を構築する課題である。特に、各種類縁体の生物活性評価に、正確な定量的活性評価法が必要であり、基盤研究として本課題の果たす役割は大きい。結果として、MDCK と蛍光色素の組み合わせを精査することで、セコスリキシドのもつ生物活性を他の阻害剤と定量的に比較することが可能となった。この成果は、小課題 1.1 で得られたセコスリキシド類縁体の活性評価を可能とするものであり、今後の研究展開が期待できる。

【小課題 3.2&1.3 へのコメント】

In vitro での血管管腔形成モデルの開発研究である。本事業で得られた幾つかの生物活性物質には、血管新生に関係するものも含まれており、その作用機作の解明ならびに活性評価には本研究が必須である。血管内皮細胞が、血管様のネットワークを形成し、血管用の内腔を形成するマトリックスならびに培養条件を見いだしており、実際の assay に使用可能な優れた成果が得られた。高く評価したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 3.3&1.4 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 3.3&1.4 へのコメント】

抗がん剤として期待される NK-κB 活性化阻害剤 DHMEQ に関する研究である。DHMEQ には、難溶性という物性と生体内副反応という活性上の２つの問題があり、その改善に有機合成化学的に取り組んだ。エポキシドをシクロプロパン環に置換することで生体内副反応を抑制するという方針は、結果的に良い成果を与えなかったが、その過程で得られた知見を流用することで、前者の問題を解決に導いた点を高く評価したい。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、生物活性分子の物性改善による実用化への検討ならびにそれに必要となる生物活性試験法の開発が行われた。いずれの小課題においても成果が得られており、特により現象を直接的にモニターできる血管内腔形成系の開発や、薬剤排出の定量的評価系の構築など、本事業全般に寄与する基盤的な成果が得られている。今後は、各種生物活性物質の評価を行い、共同研究成果発表に向けて研究を推進して頂きたい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　上田　実

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 4.1 の評価	小課題 4.2&1.5 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 4.1 へのコメント】

本小課題では、走査プローブ顕微鏡を用いる分子間接着力評価により、双性イオン膜成分として注目を集めるコリンホスフェート基ならびにホスホベタイン基を有するポリマーの接着活性について検討を行っている。現在は基礎的な研究データを蓄積した段階であるが、今後の発展に期待したい。

【小課題 4.2&1.5 へのコメント】

生体分子分析へのラマンスペクトル法の適用が盛んに検討されているが、その低感度がしばしば問題となっている。本小課題では、表面増強ラマン散乱を用いた感度の飛躍的増大に着目して、これを生体分子間相互作用の分析に適用した。本手法は小課題 1.2 にも使われ、成果を上げつつある。現在の所、モデル系を対象とした研究であるが、着実にデータを蓄積している。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、物理化学的な計測法による生体分子の物性測定を検討した。いずれの課題も基礎的な検討を行っている段階であり、実際の評価法への葉点までには至っていない。しかしながら、表面増強ラマン散乱を用いた小課題 1.2 にもあるように、同じ研究グループにこのような研究課題を持つことの有用性は明らかであり、今後の発展に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1&3.4 の評価	小課題 1.6 &4.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.1&3.4 へのコメント】

ガン細胞の多剤耐性獲得は抗ガン薬剤を用いた薬剤治療において取り組むべき課題である。本研究では、多剤耐性を獲得した細胞に対して細胞毒性を示す天然物、セコスリキシドを含むマクロリド系天然物に焦点を当て、全合成による物質供給とカルバイオロジー研究を展開した。中間評価までに標的天然物の合成経路を確立し、その後、量的合成と類縁体合成を達成している。今村ら、松野らとの共同研究により、生物活性にかかるデータを蓄積し、活性発現に必要な構造単位を見出している。論文も発表になされ、また、合成研究に携わった学生が博士号を取得するなど、次世代を担う研究者の育成にも貢献している。目的の達成のみならず、共同研究の推進という観点からセンター事業をけん引する効果をもたらした。

【小課題 1.6&4.3 へのコメント】

医薬開発において生物活性化合物の分子標的を同定することは、創薬の行方を左右する重要な課題である。本研究課題では、分子標的の同定に向けた２つの方法論の開発を目標として、方法論の確立に向けた研究に取り組んでいる。中間評価までに Ortho-nitrobenzoxadiazole (O-NBD) ユニットを用いたアフィニティーラベル化法を確立し、その成果を報告している。その後の研究では、アルキンタグと表面増強ラマン分光を組み合わせた新しい解析手法の開拓研究に取り組み、生細胞中でのアルキン標識化合物の可視化、ならびに、アルキンタグ標識化したペプチドフラグメントの微量構造解析法を確立するに至っている。独創性の高い研究成果はインパクトファクターの高い雑誌に掲載されるなど、本プロジェクトの成果を対外的にアピールすることにも貢献している。当初掲げた目的は達成されており、今後の応用面での活用が大いに期待できる成果を挙げている。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.7 の評価	小課題 1.8 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.7 へのコメント】

がん細胞はテロメアーゼを高発現することで、細胞分裂による老化・アポトーシスを回避し、生存率を高めている。本課題ではテロメア―ゼの阻害に基づく抗がん剤の開発を目的として、天然物テロメスタチンの構造活性相関研究に基づく有効な抗がん剤の創製を試みている。中間評価までに得られたアナログ合成と活性にかかる知見をもとに、後半期では合理的な分子設計と合成・活性評価さらに進めた。その結果、がんモデルマウスにおいて顕著な活性を示すアナログを見出すことに成功している。目的を十分に満足するアナログ創製を導くだけでなく、ネイチャー系雑誌である Sci.Rep.を含む多数の論文に研究成果を掲載し、事業成果をアピールしたことは高く評価できる。プロジェクトの目的に合致する、創薬を指向した優れた成果が創出されたことは高く評価できる。

【小課題 1.8 へのコメント】

免疫に着目した抗がん剤開発が近年脚光を集めている。一方で、抗体を用いる免疫療法は高価であるため、より安価な医薬の開発が切望されている。本研究では、がんの免疫寛容とキヌレニン生産に焦点を当てた、キヌレニン生産阻害剤分子の探索から、新たなリードの発掘を目標としている。中間評価までに、500 以上のライブラリーから複数の候補化合物を見出すことに成功している。後半期では、ライブラリー分子の数を 2 倍程度に増やし、構造未決定であった天然物の構造解析に成功している。海洋生物由来の阻害剤は新規である特許申請に至っている。もう一つのアプローチとして、キヌレニン阻害分子の構造活性相関と作用機序解析を展開し、その中から興味深い活性機序を示す新規アナログを見出している。In vitro のみならず in vivo での生物活性評価も進行中であるなど、今後の展開にも期待がもたれる。共同研究も活発に展開されており、目標を上回る成果が得られている。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

研究成果も蓄積され、共同研究の実施も活発に行われている。対事業効果という観点から、プロジェクトを推進するために導入された機器は十分に活用されているなど、目標を上回る成果が上がっている。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.1 へのコメント】

本研究では、陸上の厳しい環境（直射日光、寒暖差、乾燥、栄養分の欠乏など）において、岩場などの基物表面上に生息する気生微細藻類のアンユージュアルな生物機能に着目し、それらが生産する生物活性分子の探索と効率的生産に向けた研究を行っている。中間評価までに、カロテノイドの生産制御法因子の探索、培養法の検討、および、抗菌活性成分の探索研究を行った。植物成分を中心とする 75 検体の粗抽出物からカロテノイド生合成を活性化させるテルペン化合物を見出すとともに、エステル型カロテノイド生産における光度・CO_2 濃度との関係と KC１の添加効果を明らかにした。後半期では、抗菌活性成分の本体がクロロフィル系化合物であることを突き止め、構造をあきらかにした。研究成果は、2017 年以降 4 報の論文に発表されており、目に見える成果として公表されている。希少な生物種に着目した意欲的な取り組みから、有用物質生産に向けた分子基盤が形成されつつあることは意義深い。成長制御因子の作用機序の解明を含めたさらなる展開に期待がもたれる。

【小課題 2.2 へのコメント】

本研究課題では食品に添加可能な難消化性デンプンを開拓し、血糖値向上抑制などの付加価値を付与した食品素材の創製を目指している。中間評価までにアミノ酸複合化コムギデンプンの糊化および難消化性特性を評価した。それ以降、難消化性向上のメカニズムの検討と評価系の再検討、パン製品の試作と品質特性へと研究を展開した。湿熱処理を特色として、種々の天然型アミノ酸を配合した複合化デンプンを調製し、その中から酸性アミノ酸やプロリンを配合したデンプンが優れた難消化性と老化しにくい特性を持つことを見出している。プロリン複合化コムギデンプンを用いたパンの試作が検討され、無添加のパンに近い性質を備えたパンの試作に成功している。あわせて、血糖上昇を抑える効果を調べるためのヒト試験に向けた申請も進行中であることから、当初掲げた目的は十分に達成されて、製品開発に最も近いところに位置している点は高く評価できる。中高生への支援を含めたアウトリーチ活動も積極的であり、広い意味での成果発信にも貢献されている。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.3 へのコメント】

キチンはさまざまな生物種に存在する。キチンはキチナーゼにより分子量の小さいオリゴマーへと加水分解される。本研究では、キチン分解酵素の解析、機能研究から、さまざまな生物活性を示すことが報告されているキチンオリゴ糖生産基盤を確立することを目的としている。研究は、ほ乳類や鳥類におけるキチナーゼの発現レベルの探索，キチナーゼ生産組織の同定、キチナーゼの精製・組み換え酵素の調整、機能評価に至る広範囲に及び行われている。その結果、これまで未知であったキチナーゼの役割と機能が種々解明されたことは大きな進歩であり、成果である。研究期間中に、Nature 系雑誌 Sci.Rep.を含む 14 報の論文が掲載されたことは、独創性の高さが評価されていることを示すものであり、プロジェクトのプレセンスを対外的に示すことに大きく貢献している。本プロジェクトには 7 名の博士課程の学生が関わるなど、次世代を担う若手の育成にも大きく貢献している。目標に掲げた、キチンオリゴマー生産のための分子基盤の構築は果たされた。

【小課題 2.4 へのコメント】

キチン・キトサンオリゴ糖は生体的合成と生分解性を備えているのみならず、さまざまな生理活性を示すことが報告され、健康食品や化粧品産業における素材として注目が集まっている。本研究では、細菌由来のキチン分解酵素の同定とチキンオリゴ糖生産への展開を目的としている。本研究では、リステリア菌のキチナーゼに着目し、２つの異なるキチナーゼを見出した。それらの機能解析の結果、活性発現に必須の部位を特定した。キチナーゼの中には、加水分解の逆反応である糖転移反応を触媒するものが知られている。今回、見出したキチナーゼ LinChio35 の触媒活性部位の変異により、糖転移活性を付与する試みから、キチンオリゴマーの生産の可能性を検討した。その結果、加水分解酵素としての性質が著しい低下と、4 量体から 6 量体が生成することを確認した。これより、キチンオリゴ糖生産への基盤が構築された。研究成果は着実に論文発表されている。量的生産という観点からは、一段の飛躍が必要と思われるものの、今後に向けた学術基盤は構築された。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 2.5 へのコメント】

本課題は、治療法の少ない重大な疾患の治療に役立つ新規医薬シード化合物の発掘を目的としている。海洋生物等の天然に新規医薬シード化合物を求める研究として、（１）固形癌に特有にみられる栄養飢餓状態、（２）一部のがんに見られる免疫寛容、（３）敗血症の発症に関与する過剰な自然免疫の応答機構等をターゲットとして、これらに効果を示す新規化合物を探索した。中間評価以降精力的に研究に取り組み、（１）1-*O*-octadecatrienoyl-3-*O*-b-D-galactopyranosylglycerol、（２）KNP-1、（３）biseokeaniamide A などを構造決定している。また、構造解析中のものも複数見出している。これら化合物の作用機序の解析もあわせて行うなど、新たなシード化合物の発掘に向けた基盤が着実に構築された。プロジェクト内外における共同研究も活発になされ、プロジェクト内では松野ら、南雲らとの共同研究成果がもたらされている。論文発表も数多くなされ、研究成果の発信に大きく貢献している。今後の展開に期待がもたれる。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

物質生産に向けた学術的基盤は確立された。物質生産にむけてはまだ越えなければならない課題はのこされているものの、学術的価値の高い研究成果が多くもたらされている点は高く評価できる。今後の展開に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。(必須項目)

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 3.1&1.2 の評価	小課題 3.2&1.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（B）

【小課題 3.1&1.2 へのコメント】

本課題では、重点課題としてがん治療薬の開発研究のためのアッセイ系の構築を目指すとともに、アッセイ法として利用可能な細胞培養系構築の鍵を握る細胞外マトリクスの開発を目的としている。がん治療薬の開発に向けた取り組みでは、中間評価までに、南雲らが合成したマクロリド系化合物の薬剤排出抑制効果を調べるアッセイ系の構築に取り組み、課題点を明らかにした。その後の研究では、前半期で見出した課題を解決し、構築したアッセイ系を用いたマクロリド系天然物の活性を明らかにした。これより、環状構造が活性発現に重要なこと見出すに至っている。細胞培養系の構築においては、fascia（筋膜）を培養基質として活用する研究を新たに展開し、トリとイヌの fascia の解析から、コラーゲン繊維やエラスチン繊維を可視化する方法を確立した。あわせて、VI 型コラーゲン会合体を用いた細胞培養への応用として、標品提供を含む共同研究を数多く実施した。中間評価以降の研究成果は、4 報の論文にて公表されている。オリジナリティーの高いアッセイ系の開発基盤と新規生物活性化合物の探索への道筋が本研究において確立された点は高く評価できる。

【小課題 3.2&1.3 へのコメント】

細胞培養はアッセイ系構築の要である。本課題では血管新生モデル系の開発を目的としている。血管新生はガン細胞において活発である。血管新生を阻害する薬剤は抗がん剤として有望視されている。本研究では、血管内皮細胞と線維芽細胞の共培養スフェロイド形成によるモデル構築を試みている。中間評価までに、モデル構築の基礎を固め、以降の研究では、電子顕微鏡による血管構造と基底膜の構造解析について成果を挙げている。これらの解析を踏まえて、新たに構築した系がモデルとして利用できる可能性を示すとともに、基底膜において、ＩＶコラーゲン、ラミニン、フイブロネクチンが特異な沈着を示していることを明らかにした。後半期ではこれらの研究成果をまとめ論文発表している。新たに構築したアッセイ系を用いた血管新生化合物の探索が今後の課題である。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ３：新機能表面・構造の流体・エネルギー分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 3.3&1.4 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（B）	
2. 研究実施状況	評点（B）	
3. 研究成果	評点（B）	

【小課題 3.3&1.4 へのコメント】

NF-κB は免疫反応において中心的役割を果たす転写因子である。ガン細胞において高発現していることから、NF-κB の転写阻害剤は抗がん剤になりうると期待されている。本課題では、NF-κB の転写阻害剤として見出された DHMEQ をリードとする新規アナログの創製に取り組んでいる。中間評価までにアナログ合成と新規反応開発にかかる成果が報告され、その後の研究において、7 員環化合物の新規合成法について論文発表された。構造活性相関研究の成果発表が今後の課題である。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

研究成果は着実に積みあがっている。当初掲げた目標はおおむね順調に達成されている。研究成果の発信に向けた今後の取り組みに期待する。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　品田　哲郎

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 4.1 の評価	小課題 4.2&1.5 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（B）	評点（B）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（B）
3. 研究成果	評点（A）	評点（B）

【小課題 4.1 へのコメント】

本研究は、細胞組織やコラーゲン繊維などの局所表面の形態や相互作用を分析し、生理活性作用との関係を明らかにすることを目的し、そのモデルとして接着タンパク模倣アミノ酸含有ポリマーブラシの合成とその表面の接着力測定を課題としている。分子間相互作用を示すモデル研究については中間評価までに一定の解析を終え、論文発表 5 報として成果発信している。これとは別に、フジツボの吸着にかかる分子機構の解析研究に新たに着手し興味深い研究成果を挙げている。モデルの域を超えてはいないところはあるものの、基礎研究としての学術的意義は高い。これらを基盤として、生体分子吸着相互作用の分子機構の本質に迫る研究成果の創出に期待したい。

【小課題 4.2&1.5 へのコメント】

本研究では、生体分子の分子間相互作用の理解のために、共鳴ラマン散乱による分光学的解析と理論計算によるアプローチを試みている。題材として相互作用が比較的強いとされるＶ型コラーゲンとヘパリンを採用し、分光学的解析を行っている。その結果、コラーゲンのアンモニウムイオン部位とヘパリンの硫酸イオン部位との相互作用が分子間相互作用に関与していることを示唆する結果を得た。モデル分子系における理論計算からピークシフトが分子間相互作用の結果であることを支持するものであった。本研究課題は、今村らとの共同研究であり、プロジェクト内の連携に貢献している。研究成果の発信が今後の課題である。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

生体分子作用の解析は挑戦的な課題であり、基礎研究としての上記アプローチの重要性は高い。成果発信ならびにモデルの信頼性を高める研究展開に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1&3.4 の評価	小課題 1.6&4.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.1&3.4 へのコメント】

プロジェクトの一年目に、それまで手掛けてきたセコスリキシドの全合成を達成し、さらに工程の短縮や収率の向上を達成していることは評価に値する。研究の進捗は良好であり、学内共同研究も積極的に推進している。様々な腫瘍細胞に対する活性を調べ、その傾向から標的分子を明らかにしていくなど、重点課題として今後の発展と成果発表に期待したい。

【小課題 1.6&4.3 へのコメント】

本小課題では、プロジェクト内で見出される生物活性化合物の標的蛋白質をより効率的に同定するために、複数の結合蛋白質を同定できる新しい標的分子同定法の開発を進めている。研究成果はレベルの高い学術雑誌に数多く掲載されており、研究の進捗は良好である。今後、ターゲットを広げていくことで、プロジェクトの目指す創薬・ケミカルバイオロジー研究を加速させることを期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.7 の評価	小課題 1.8 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（B）

【小課題 1.7 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、テロメスタチンの構造をもとに、合成化学を基盤とした構造展開を行い、より強力な抗腫瘍活性を示す化合物の創製に取り組んでいる。研究成果は多くの学術雑誌に掲載されており、目標はある程度達成しているが、中間報告後の進展があまり見られない。今後さらに系統的な構造展開（分子設計）を実施し、より強力な抗腫瘍活性を有する化合物の探索を期待する。

【小課題 1.8 へのコメント】

本小課題では、スクリーニング系と化合物ライブラリーの構築から始め、順次スクリーニングを実施するため、成果が出るまでに時間がかかることが予想された。しかしながら、2 年目からプロジェクトに参加したにもかかわらず、49 のヒット化合物の存在を明らかにしている。作用機序解析も進められ、特許出願や論文発表など着実に成果を挙げている。今後、独創的なリード分子の創出に期待したい。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、研究の進捗は良好であり、実りある成果をもたらしている。導入機器類も積極的に利用されており、特色ある抗がん剤リードの創出に向けた一層の展開を期待したい。今後さらに、共同研究成果として、特に他大学の研究者との共著論文の発表を期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（B）	評点（B）
3. 研究成果	評点（B）	評点（B）

【小課題 2.1 へのコメント】

本小課題は、特異な生物機能を有する気生微細藻類の脂質成分から生理活性物質を探索し、それらの機能解析および効率的生産に関する研究であり、その独創的な視点は高く評価できる。研究成果は着実に積み上げられており、進捗状況は良好である。今後、構造と生物活性を明らかにすることで、さらなる有用物質が生産されることを期待する。

【小課題 2.2 へのコメント】

本小課題では、天然デンプンをさらに上回る特性を有するアミノ酸複合化小麦デンプンの開発を独自に目指しており、興味深い。糊化挙動や難消化性の検討など、機能と構造との関連についての議論もなされており、進捗状況は良好である。しかしながら、本研究課題に関連する論文発表がないため、積極的な成果発表が望まれる。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.3 へのコメント】

本小課題では、ほ乳類、鳥類のキチナーゼの発現レベルを調べ、キチナーゼ生産組織を明らかにした。そして、それらのタンパク質を大腸菌で発現あるいは動物組織より精製し、キチンオリゴマーを生産するかどうかについて各種キチンを基質に検証した。研究成果はインパクトファクターの高い論文に多数発表されており、プロジェクト研究を通じて博士課程の大学院生の育成にも大きく貢献している。

【小課題 2.4 へのコメント】

本小課題では、各種細菌からキチナーゼ遺伝子を取得し、新規キチナーゼとして酵素化学的性質やキチン分解活性および多糖への結合活性を解析し、これら酵素は固有の特性を示すことを明らかにしている。また、アミノ酸配列比較から、既知酵素に見られない配列が酵素活性上昇に貢献しており、その中心となるアミノ酸を同定した。さらに、加水分解活性に寄与しているアミノ酸を置換し、 糖転移活性を付与することで、キチンオリゴ糖生産を試みた。研究成果はインパクトファクターの高い学術雑誌に掲載されており、目標を十分達成している。今後、小課題 2.3 との連携のみならず、学内共同研究の推進が望まれる。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（B）	
3. 研究成果	評点（B）	

【小課題 2.5 へのコメント】

本小課題では、微生物や海洋生物等の天然由来の新規医薬シード化合物の探索に取り組んだ。固形癌に特有にみられる栄養飢餓状態、一部のがんに見られる免疫寛容、敗血症の発症に関与する過剰な自然免疫の応答機構等をターゲットとして選択的に抑制効果を示す薬剤を、ヒト培養細胞を用いたスクリーニング系を駆使して天然より探索し、成果を挙げている。今後の積極的な成果発表が強く望まれる。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、それぞれの小課題の独自性（独立性）が強いため、今後、共同研究が推進されることを期待したい。また、論文による成果発表も重要と考える。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 1.2&3.1 の評価	小課題 1.3&3.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（B）

【小課題 1.2&3.1 へのコメント】

本小課題では、ケミカルバイオロジーのアッセイ法として利用可能な細胞培養系の開発を目的とし、小課題 1.1 や小課題 4.2 と連携を進めている点で高く評価できる。研究成果は着実に積み上げられており、進捗状況は良好である。共同研究成果として共著論文も発表されており、さらなる発展を期待したい。

【小課題 1.3&3.2 へのコメント】

本小課題では、血管内皮細胞の培養法を改良し、血管形成に影響を及ぼす生理活性物質の効率的なアッセイに運用可能な血管管腔モデルの開発を行い、一定の成果を得ている。細胞培養と細胞の観察には、本プロジェクトで購入した細胞培養関連設備、およびバイオイメージング装置が活用されている。小課題 2.2 や小課題 3.3 と連携を進めている点でも評価できる。論文投稿も進められており、今後更なる成果発表が望まれる。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ３：新機能表面・構造の流体・エネルギー分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 1.4&3.3 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（B）	

【小課題 1.4&3.3 へのコメント】

本小課題では、がん治療薬の開発という重点課題の達成に向けて、DHMEQ をリード化合物として新規 NF-κB 阻害剤を見出すべく検討を行い、DHMEQ にメチル基などを導入した類似体が、種々の溶媒に対する溶解性が高く、かつ NF-κB 阻害活性を示すことを明らかにしている。学内共同研究も活発に推進しており、評価に値する。今後の共同研究成果の発表を期待したい。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは共同研究も活発に行われており、研究の進捗は良好である。また、新たに導入された機器類も十分に活用されている。今後の展開に期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　大倉 利典

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 4.1 の評価	小課題 1.5&4.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（B）

【小課題 4.1 へのコメント】

本小課題では、分子間相互作用の力学強度を物理化学的手法により測定し、生理活性分子、不活性分子の違いを評価する手法の確立を目指している。研究成果は着実に積み上げられており、進捗状況は良好であるが、他のテーマとの関連を明らかにし、今後は、共同研究の推進が期待される。

【小課題 1.5&4.2 へのコメント】

本小課題は、生理活性が認められた物質、基質、オリゴマー等と生体分子の相互作用を振動分光学的に解析し、その生理活性の作用機作を明らかにするための分析法を開発する基礎的かつ重要な研究であり、大変興味深い。小課題 3.1 との連携内容も示されており、今後、共同研究の成果発表が望まれる。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

本テーマでは、それぞれの小課題の独自性（独立性）が強いため、今後、さらに共同研究が推進され、成果発表されることを期待したい。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.1&3.4 の評価	小課題 1.6&4.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.1&3.4 へのコメント】

セコスリキシドの全合成達成から発展して、４０工程近くを要した第一世代合成から２９工程への削減を達成している。更に、総収率 4.9%を達成して当初の収率から大幅に改善したことも評価に値する。

更に、セコスリキシドの排泄抑制活性に関して、今村グループとの連携で検討が進んでおり、4 位、6 位、8 位に関する立体異性体の合成も行っていて、それらの抗腫瘍活性評価は松野、大野グループが行っている。このようにセコスリキシドの全合成から発展して、他のグループとの連携へと発展させている点も高評価である。

【小課題 1.6&4.3 へのコメント】

生物活性化合物の結合分子を蛍光で標識する手法として、オルトニトロベンゾキサジアゾールユニットを用いて、アミノ基と反応して *N*-NBD へと変換されると蛍光を発する「Turn-ON 型」蛍光分子の開発に成功している。また、生細胞中でのアルキン標識化合物の可視化にも成功していて、表面増強ラマン散乱と銀ナノ粒子を用いてアルキン修飾ペプチドを高感度で検出することも成功している。そして後者の成果は J. Am. Chem. Soc.に報告されていることも高評価に値する。

これらの成果は、JST 課題達成型基礎研究の成果にもなっているが、作用メカニズムが分からない薬物の標的蛋白質の発見に貢献し、生細胞内での蛋白質の動態追跡などが可能となり、医薬品開発の推進や蛋白質の機能解明に有力な手段となると期待される。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ１：重点課題・がん治療薬の開発研究＞

評 価 項 目	小課題 1.7 の評価	小課題 1.8 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 1.3 へのコメント】

テロメスタチンの構造を基に、ヘキサオキサゾール(OTD)を母核とした強力な抗腫瘍活性を示す化合物の創製ということで、Y2H2-6M(4)OTD がグアニン四重鎖を選択的かつ hybrid 型に安定化していて、顕著な細胞増殖抑制活性を示すこと解明している事は評価に値します。そしてテロメア G4 を標的とし、種々のがん細胞の増殖を抑制すること、また脳腫瘍細胞株 U251 の担がんモデルマウスにおいて顕著な腫瘍増殖抑制活性を発揮することがわかり、これらの成果が Scientific Reports に掲載されたことで高評価としました。

【小課題 1.4 へのコメント】

がん細胞が産出するキヌレニンの産生阻害剤、すなわちがん細胞による免疫寛容の解除を行う免疫チェックポイント阻害剤を開発するということで、スクリーニングによる探索、そして沖縄県産のシアノバクテリア *okeania sp.*から、キヌレニン産生抑制活性を示す化合物 KNP-1 の単離に成功して、特許出願がなされ、最終年度に論文が Bioorg. Med. Chem. Lett.に掲載されたことを評価します。

一方、IDO 阻害活性を持つ分子も合成され、そちらの発展も期待しております。

【テーマ１の総合所見、および今後に対する提言】

他の研究者との連携が明確かつ具体的になったことで、本プロジェクトの目的と意義が達成されたと判断いたします。また本成果がインパクトの高い雑誌に掲載されたことも評価いたします。今後はこの連携によって、より多くの論文による成果発表となることを期待いたします。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ２：天然物由来の生理活性物質および有用物質の収集と合成・構造研究＞

評 価 項 目	小課題 2.1 の評価	小課題 2.2 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.1 へのコメント】

気生微細藻類の脂質成分に含まれる生理活性物質の探索と、それらの機能解析および効率的生産に関する研究ということで、多検体検出が容易な細胞内カロテノイド蓄積定量分析法を開発し、植物粗抽出物からカロテノイド生合成を活性化させる物質を探索した結果、針葉樹サワラの樹皮成分に含まれていることがわかり、その脂溶性成分から単離した物質は強い活性を示すジテルペノイドであることが見出されている。また、気生微細藻類における抗酸化物質の選択合成や、気生微細藻類の抗菌活性物質の単離同定などの研究成果を上げて､阿部教授の後を継いで 2017 年からで計 4 報の論文が掲載されたことを評価します。

【小課題 2.2 へのコメント】

レジスタントスターチの創製と食品への応用ということで、アミノ酸と浮き粉の複合化による難消化性デンプンの創製を行い、その評価法として洗浄とアミラーゼ処理で出たアミノ酸の量を計測することで、レジスタンススターチ含有量とアミノ酸包摂量に正の相関があることを示されたことを評価いたします。また、湿熱処理によるコムギデンプン／アミノ酸複合体は糊化や老化が起こりにくいので食品素材として有望で、この特性は酸性アミノ酸で顕著だが、難消化性はアミノ酸との複合化、特にプロリンとの複合体で顕著に上昇する、という知見も優れた成果と評価します。

本成果を踏まえて HMT コムギデンプンを添加したパンの作製と、ヒトを被験者とした血糖値上昇抑制効果試験を行うということで、今後の研究展開を期待いたします。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）　＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.3 の評価	小課題 2.4 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 2.3 へのコメント】

Chit1 と AMCase との比較においてキチナーゼ活性の pH 依存性が異なることや、マウス AMCase の機能解析について、ほ乳類，鳥類におけるキチナーゼ遺伝子発現解析・大腸菌での組換えキチナーゼの発現系の確立と天然キチナーゼの精製法の確立・キチンオリゴマーの蛍光標識の改良法の確立とキチナーゼ分解産物の解析・そして Chia が消化器系で働く糖質分解酵素であることを証明するなど、多くの研究成果が出ています。

そして、Scientific Reports や PLoS ONE などインパクトの高い雑誌に 10 報以上報告されていることは特筆すべきものであります。更に、本研究の成果により 4 名の博士を輩出されたことも、本プロジェクト自身の成果にもなっています。

【小課題 2.4 へのコメント】

未利用バイオマスの有効活用という観点から、キチナーゼやそのアミノ酸変換体を用いて、六量体以上のキチンオリゴ糖の生産を目標とされて、AMB Express や Appl. Microbiol. Biotechnol.など 8 報の論文が研究成果として出ていることを評価いたします。

キチンオリゴ糖の解析法確立というこでマウスヒトにおけるキチナーゼ遺伝子発現の解析を行い、その結果ヒト AMCase キチナーゼ活性が nsSNPs によって制御され、高い活性を有したヒト AMCase variant のアミノ酸置換がマウス AMCase のアミノ酸配列と一致することを解明するなど、十分成果が得られたと判断します。

また、本研究によって本学の学生がポスター賞を受していることは、本プロジェクトの成果にもなっているのでこちらも評価します。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ２：新機能表面・構造の生体医工学分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 2.5 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 2.5 へのコメント】

海洋生物等の天然由来の新規医薬シード化合物の探索ということで、海洋生物を捕集してスクリーニングサンプルを 900 以上集めてのフィールドワークが主体の研究であり、また、本学の「みつばちプロジェクト」の協力で、ミツバチの外敵を捕獲した際の副産物であるオオスズメバチから K226 を抽出してスクリーニングサンプルとされていること等は、本学の特色を活かした研究になっています。(1) 栄養飢餓選択的細胞死誘導物質の探索として脂肪酸グリセリドの配糖体 OGG が、解糖系阻害条件のがん細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する化合物であることや、また、(2) 小課題 1.4 との連携で、海洋シアノバクテリアから新規環状ペプチド化合物である活性物質 KNP-1 を単離して、そのキヌレニン産生阻害活性は、IDO 活性阻害ではなく、その発現阻害に関与しており、かつ JAK-STAT シグナル伝達経路に存在する STAT1 および p-STAT1 の発現阻害に起因していること、更に、(3) *Okeania sp.* のメタノール抽出物に LPS 誘導性 NO 産生阻害活性を見出し、LPS 刺激によって誘導される iNOS の発現を biseokeaniamide A が阻害すること、等が成果である。

論文成果としては Tetrahedron Lett. に 1 報報告されたが、今後の成果発表が期待される。

【テーマ２の総合所見、および今後に対する提言】

インパクトファクターの高い論文だけでなく、学生の受賞や博士学位取得など、成果として十二分に出ていると評価いたします。

テーマ１と比較して、研究者間の連携があまり密接には見られていませんので、こちらにつきましては今後の研究展開として期待いたします。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ３：生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化＞

評 価 項 目	小課題 3.1&1.2 の評価	小課題 3.2&1.3 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 3.1&1.2 へのコメント】

ケミカルバイオロジーのアッセイ法として利用可能な細胞培養系の開発として、がん治療薬の開発研究と生理活性物質のアッセイ系の開発と改変・有効化について研究が行われ、前者については、セコスリキシドの正常細胞と腫瘍細胞の両方における細胞毒性を見出し、耐性因子である MDR1 と MRP1 に対しては、両方因子を阻害する可能性が示された。後者については、VI 型コラーゲン会合体の調製法と会合体の特徴付を中心に検討がなされ、トリやイヌの fascia 中のコラーゲン線維やエラスチン線維の分析が可能になった。

研究としてはまだ発展途上であるが、いくつかの論文成果報告がなされており、他の研究者との連携を含めて今後の論文成果発表に期待したい。

【小課題 3.2&1.3 へのコメント】

血管形成に影響を及ぼす生理活性物質の効率的なアッセイに運用可能な血管管腔モデルの開発を目的としており、ローズヒップ抽出液やメチルヘスペリジンが血管形成を抑制する、あるいは血管形成に影響を与えることが見出された。メチルヘスペリジンは血管新生を促進するが血管細胞増殖は促進しないことや、共培養スフェロイドで血管周囲に IV 型コラーゲンやラミニンなどの ECM タンパク質が存在している、という成果も得られた。また、マトリゲルやコラーゲンゲル上での血管内皮細胞の培養では、ネットワークを形成する血管内皮細胞間で細胞接着構造が確認され、複数の血管内皮細胞によって形成される管腔構造も確認された。更に、血管直下の基底膜には IV 型コラーゲン・ラミニン・ファイブロネクチンが含まれていることも見出された。これらの成果は現在論文査読中であり、受理されることが期待される。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ３：新機能表面・構造の流体・エネルギー分野への応用＞

評 価 項 目	小課題 3.3&1.4 の評価	
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	
2. 研究実施状況	評点（A）	
3. 研究成果	評点（A）	

【小課題 3.3&1.4 へのコメント】

DHMEQ の類縁体の合成ということで、メチル基が付加した化合物についてはメタノールに可溶であるが、ブチル基が付加した化合物については DMSO 以外の有機溶剤に可溶ということが見出された。また、合成した分子の評価は医薬化学研究室との連携で行われている。

シクロプロパン環拡大による７員環合成については、Tetrahedron Lett.に論文が掲載されたことを評価いたします。

【テーマ３の総合所見、および今後に対する提言】

他のテーマと比較して論文が書きにくい研究内容なのかもしれませんが、論文による成果発表の促進をお願いいたします。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。（必須項目）

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。

2019 年 4 月 20 日

工学院大学総合研究所

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

生体分子システムセンター(ＢＭＳＣ)最終年度用研究評価シート

評価委員氏名：　高見 知秀

＜テーマ４：生理活性の作用機作解析のための分析法の開発＞

評 価 項 目	小課題 4.1 の評価	小課題 4.2&1.5 の評価
1. 研究目的が明確であり、その必要性が高いか。	評点（A）	評点（A）
2. 研究実施状況	評点（A）	評点（A）
3. 研究成果	評点（A）	評点（A）

【小課題 4.1 へのコメント】

AFM による生理活性作用についての評価法の開発について、生体細胞表面に存在する双性イオン型官能基を有するモデル化合物、およびこれと相互作用を示す接着タンパクを模倣した分子を合成し、両者にはたらく相互作用を走査プローブ顕微鏡により実測する機器が開発された。ホスホベタイン型の PC 基、CP 基をモデル分子として取り上げ、これらを側鎖に結合したポリマーを合成した。MCP および MPC それぞれを表面開始重合することでポリマーブラシを調製した。poly(MPC)ブラシ表面は CP 修飾プローブと特異的に大きな凝着力を示した。これは CP 基と PC 基は強く相互作用することを示しており、同種双性イオンでありながらアンモニウム基とリン酸基の結合位置の違いが表面物性に大きな影響を与えることが明らかとなった。他にはフジツボのキプリス幼生のポリマーブラシとの凝集力の直接測定や、コラーゲン繊維の表面における凝着力マッピング等の観察が可能となった。以上の成果が Langmuir や Polym. J.などの著名な雑誌に受理されていることは評価に値する。

【小課題 4.2&1.5 へのコメント】

今村研究室との連携で、コラーゲンとヘパリンの混合物の SERS 測定と *ab initio* 計算との比較を行い、実測とのシフト傾向が一致したという成果が得られた。これらの成果が論文になることを期待しております。

【テーマ４の総合所見、および今後に対する提言】

結果として、他の研究者との連携の努力は評価いたしますが、このテーマでの分析法の開発が、生理活性の作用機作解析に役立つには、更なる連携の努力を期待いたします。

[評点]　以下の判定基準に基づき、小課題ごとに評価をお願いします。

非常に良い（優）＝A　　良い（良）＝B

概ね適切（可）＝C　　改善が必要（不可）＝D

[コメント] 小課題ごと及び中課題の総合所見を記載してください。評点がＣ、Ｄの場合は特に記載してください。