

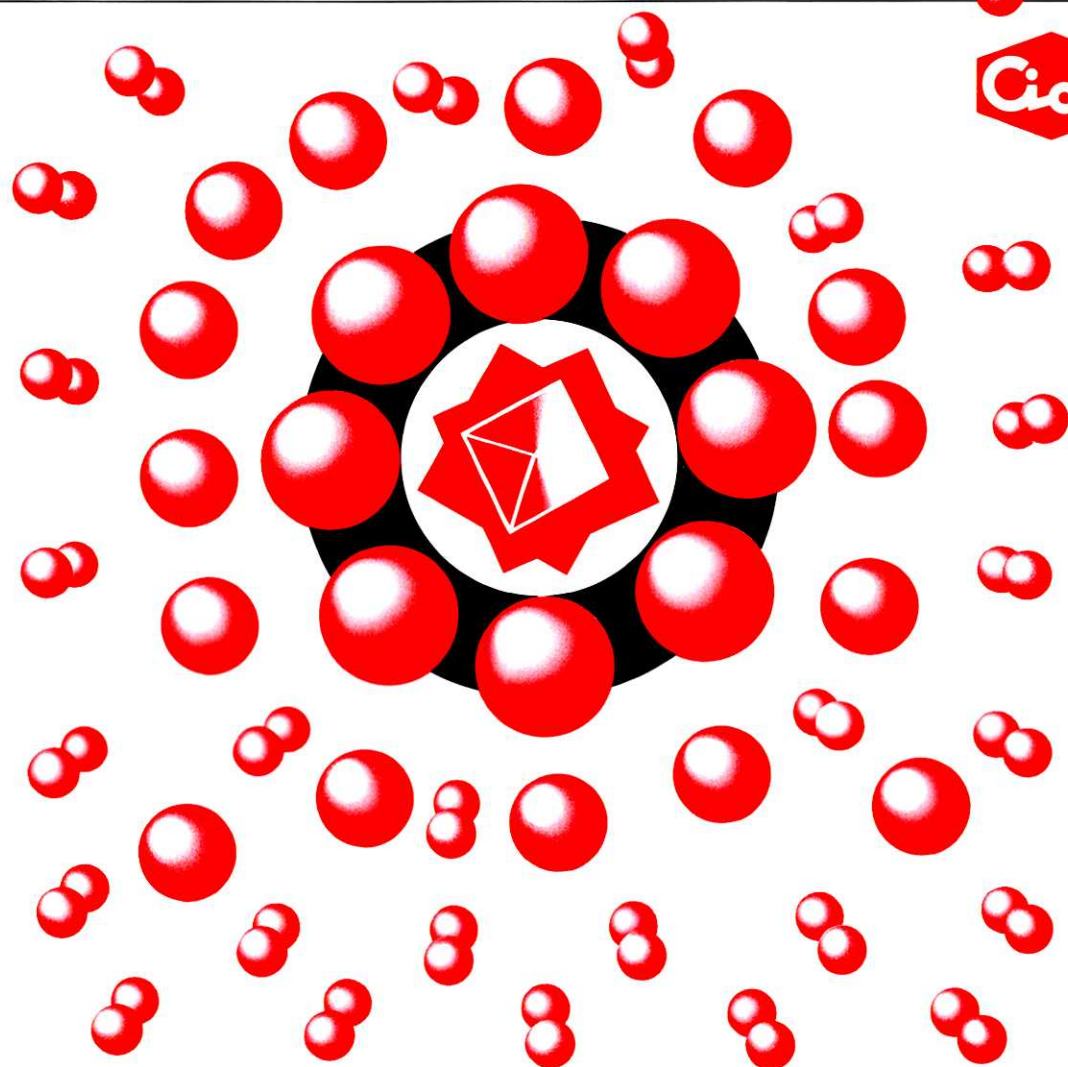
THE

CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446

KANTO CHEMICAL CO., INC.

2001 No.2 (通巻180号)



目次

バクテリアの光センシング.....	近藤 陽一..... 2
	真鍋 勝司
遺伝子情報を医薬品へ(その3).....	坂田 恒昭..... 8
ゲノム創薬	
農業分野で簡易分析計をさらに活用へ.....	鈴木 則夫..... 12
I 土壌診断のあるべき姿と課題	
生物活性化合物の構造修飾-6.....	横松 力..... 18
β -アミノ酸の機能と合成	渋谷 皓

編集後記.....	24
-----------	----

バクテリアの光センシング

横浜市立大学総合理学研究科

近 藤 陽 一

横浜市立大学総合理学研究科 教授

真 鍋 勝 司

1. はじめに

光合成を行う生物にとって、最適な光条件を得ることは、生存に有利に働く。高等植物はもちろんのこと、一見単純な生物であるように見えるバクテリアの仲間の中でも、より良い光条件を得るための様々な光環境適応現象を観察することができる。それがどんなに単純な仕組みであるとしても、光に反応するためには、まず光を認識する必要がある。光を認識するための光受容システムは古くから研究が行われており、最近では分子レベルでメカニズムがわかってきた。ここではバクテリアの光受容システムの中でも、特に光受容体に焦点を絞って概説する。

2. センサリーロドプシン

1) 好塩性古細菌

分類のしかたによっては、古細菌は現在の生物界を三つのグループに分けた時に、真核生物、真正細菌と共に独立した一群をなす（本稿では真正細菌と共に、古細菌もバクテリアに含み概説した）。この仲間には高塩濃度下

で生存している種が存在し、それらを好塩性古細菌という。好塩性古細菌はバクテリオロドプシンという膜タンパク質を使って光合成のような反応を行っていることで知られている。バクテリオロドプシンは発色団としてレチナールを持つなど、動物の視物質であるロドプシンに非常に似通っている。

2) 光驚動性とセンサリーロドプシン

好塩性古細菌の仲間である *Halobacterium salinarum* は顕微鏡下で観察するとゆっくりと泳ぎ、特に刺激のない条件下では5~50秒ごとに方向を転換するのを見ることが出来る。ここで突然紫色の光を当てると、進行方向の転換を誘導することができる(図1A)。このような反応の結果、有害な紫外線を含んでいる可能性のある紫色の光を避けることになる。同様に橙色光をあらかじめ当てておいて突然消灯しても進行方向が転換する(図1B)。この反応によりこのバクテリアはバクテリオロドプシンによる光エネルギーの利用に必要な橙色光下から突然出てしまった時に、元の環境に戻ることができる。光強度の変化を感じて、それまで行っていた運動を停止させるなどの種々のシ

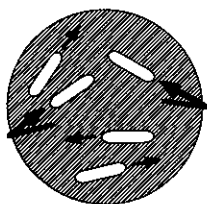
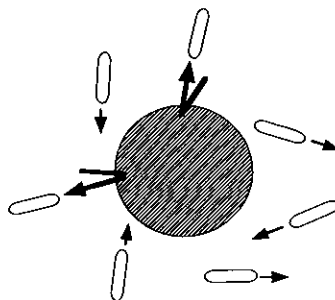


図1. 光驚動反応

(A) 紫色光照射環境

紫色光下では、暗い所(図中の斜線部分)から出ると方向を転換させる。
結果として、紫色光を避ける。



(B) 橙色光照射環境

橙色光下では、暗い所に入ると方向を転換させる。
結果として、暗い所を避ける。

ック反応のことを光驚動反応 (Photophobic response) と呼び、*H. salinarum* で見られる前述の現象もその一つである。この反応の作用スペクトル (注1) は1975年に測定されており、520nmよりも長波長の光がなくなるか、短波長の光が当たるかによって反応が起こることがわかっていった。その後の研究により、近紫外光による移動方向の転換は橙色光を同時に照射することによって強く促進されることが明らかになった。光驚動反応の光受容体としてセンサリーロドプシンが単離されたのは、1987年のことである。

センサリーロドプシンは二種類見つかり、それぞれセンサリーロドプシンⅠ、フォボロドプシン (センサリーロドプシンⅡ) と命名されている。前者は橙色光と近紫外光が同時に当たることによって起こる光驚動性と、橙色光が当たらなくなることによって起こる光驚動性の両方の光受容体として機能しているが、後者は紫色光が当たることによる光驚動性の光受容体としてのみ機能している。両者の吸収極大は、それぞれ587nm, 487nmである。

3) 立体構造と発色団

一般的にロドプシンファミリーは七本の膜貫通型 α ヘリックスを持っている膜タンパク質であり、発色団としてN末端側から数えて七番目のヘリックスにシッフ塩基結合したレチナールを持っている。動物のものと異なり、センサリーロドプシンのレチナールはオールトランス型であり、光によって13-シス型に異性化することによりタンパク質の立体構造の変化を引き起こし、いくつかの中間体を経て暗反動的に元のオールトランス型に戻るという一つのサイクルを形成する (フォトサイクル) (図2)。

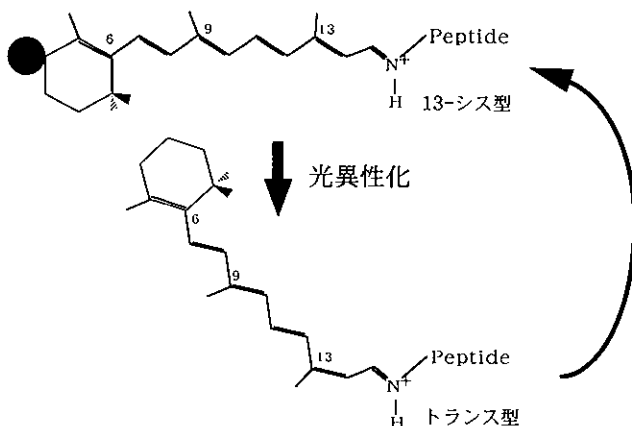


図2. センサリーロドプシンの発色団と光異性化

光驚動性を引き起こすのに重要な役割を果たしているのは、これらの中間体であることがわかっている。動物のロドプシンはこのように元の形に戻らず、いくつかの中間体を経た後、タンパク質部分と発色団部分に解離する。アミノ酸配列についても、動物のロドプシン類と好塩性古細菌のロドプシン類の間で相同性は見られない。

4) 集光反応と光驚動性

光驚動反応は光のオン・オフにのみ反応する現象であるが、実際には *H. salinarum* を橙色光の勾配のある環境下で観察すると、光の強い領域に集まっていく。これは光驚動反応の光受容系のアダプテーションによって起こる現象である。このアダプテーションはセンサリーロドプシンと膜上で複合体を形成している Htr (Halobacterial transducer) と呼ばれるタンパク質の複数の残基がメチル化、脱メチル化されることにより起こることが知られている。Htr のメチル化、脱メチル化には少し時間がかかるので、メチル化の程度は少し前の光強度を反映することになる (刺激の強さに応じて、3~20秒ほど遅れてアダプテーションする)。このアダプテーションの機構により *H. salinarum* は、少し前の光強度を記憶することが可能になり、ランダムに方向転換しつつも結果として光の連続的な勾配をたどって光の強い領域に集まることができる。

5) フォトサイクルとシグナルトランスダクション

実際にどのようにセンサリーロドプシンは現象発現のシグナルを発しているのだろうか。シグナルの発現には中間体が重要な役割を担っていることがわかってきている。1997年に Hoff らが示したモデルをもとにして、シグナルの発現を説明する。

フォボロドプシン (吸収極大 487nm) は光を吸収することによって pR530 (吸収極大 530nm) になり、続いて pR360 (吸収極大 360nm) を経て、pR540 (吸収極大 540nm) となり、元の状態に戻る。ここで実際にシグナルを発するのは pR360 と pR540 であると考えられ、フォボロドプシンと複合体を形成している Htr-II を介して CheA と呼ばれるプロテインキナーゼが活性化される。続いて CheA がリン酸基受容タンパク質である CheY をリン酸化、それが鞭毛の基部にあるタンパク質複合体と相互作用し、鞭毛の回転方向を変え、結果として移動方向が転換する (図3)。

注1 作用スペクトル

試料に単色光を照射する実験系において、試料の反応分子数 (試料が生物の場合は、生物学的反応の強度: M) を試料に対する照射光子数 (N_0) で割った値 (M/N_0) を縦軸にとり、横軸の波長に対してプロットしたスペクトル。理想的な場合にはその光反応に関与する光受容色素の吸収スペクトルと形状が一致する。

センサリーロドプシン I (SR₅₈₇) の場合は、もう少し複雑である。SR₅₈₇ (吸収極大 587nm) は光によって S₆₁₀ (吸収極大 610nm) になり、続いて S₅₆₀ (吸収極大 560nm), S₃₇₃ (吸収極大 373nm) となり、SR₅₈₇ に戻る。橙色光に対して誘引的なシグナルを発しているのはこの S₃₇₃ であり、センサリーロドプシン I と複合体を形成している Htr-I を介して鞭毛モーターの回転方向の転換を抑制する。この抑制は結果として、光が照射された時にその場に留まろうとする反応になる。この光に対して誘引的なシグナルの発生は S₃₇₃ と複合体を形成している Htr-I のメチル化によるアダプテーションで減少する。橙色光消灯時の進行方向転換 (図 1B) のシグナルは、消灯により増加した SR₅₈₇ とメチル化の進んだ Htr-I の複合体により発される。また、S₃₇₃ は実は近紫外照射による移動方向の転換、即ち近紫外光が当たることによって起こる光驚動性の光受容体であり、光によって S^b₅₁₀ (吸収極大 510 nm) という新たな中間体を経て最初の状態に戻る。この S^b₅₁₀ が Htr-I を介して鞭毛モーターの回転方向の転換を誘導している。これは結果として近紫外光に対する忌避的な反応になる (この反応は橙色光照射によって S₃₇₃ が生じている時に起こる) (図 4)。

これらのシグナル発生過程は大腸菌の走化性のものと非常に類似しており、CheA や CheY といった情報伝達を担う分子も類似している。しかし、*H. salinarum* ではタンパク質のメチル化とアダプテーションの関係が大腸菌のように簡単に対応づけられないこともわかっている。

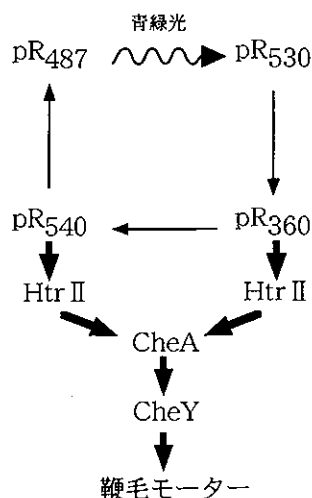


図 3. フォボロドプシンのフォトサイクルとシグナル伝達
波線は光受容体の光化学反応, 細い線は熱化学反応, 太い線は生理シグナルの伝達を表す。

3. PYP (Photoactive Yellow Protein)

1) 紅色硫黄細菌と PYP

紅色硫黄細菌とは SO, H₂S, S₂O₃²⁻ や H₂ などの無機物を水の代わりに電子供与体として用いて光合成を行う光合成細菌の一群である。1985年, Meyer らによって紅色硫黄細菌の一種である *Ectothiorhodospira halophila* か

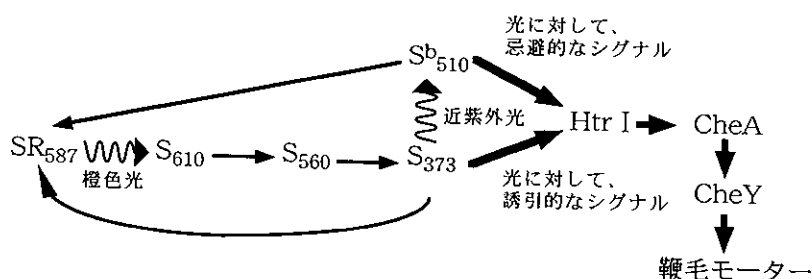


図 4. センサリーロドプシンのフォトサイクルとシグナル発生概念図 (Hoff ら (1997), による)¹⁾

波線は光受容体の光化学反応, 細い線は熱化学反応, 太い線は生理シグナルの伝達を表す。

ら単離された PYP は、実はチトクロムの精製中に偶然 DEAE カラムクロマトグラフィーで分離されたものであった²⁾。PYP はアミノ酸 125 残基、14kDa の比較的分子量の水溶性色素タンパク質で、吸収極大は 446nm であり、長波長側にはほとんど裾野がないことから鮮やかな黄色を呈している。紅色硫黄細菌は青色光によって方向転換頻度が上昇し、負の集光反応（青色光から逃げる反応）を示す。この作用スペクトルが測定されており、PYP の吸収スペクトルと良く一致することから、PYP は紅色硫黄細菌の負の集光反応の光受容体であると考えられている。

2) 発色団と立体構造

PYP の発色団は *p*-クマル酸で、69 番目のシステイン残基にチオエステル結合しており、暗の中ではフェノール部分の水酸基が解離して負に帯電し、7 位の炭素のまわりはトランス構造をとっている。この構造は *p*-クマル酸中のフェノール部分の解離した水酸基と周りのアミノ酸との水素結合ネットワークにより安定化されていることが立体構造解析によりわかっている。*p*-クマル酸は光を吸収することによってトランス型から *g*-シス型へと光異性化を起こし（図 5）、PYP 中間体への変化を引き起こす。*p*-クマル酸は元々植物におけるリグニン合成の中間体として知られていた物質である。

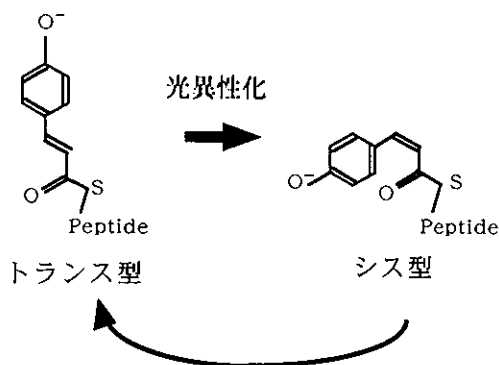


図 5. PYP の発色団 *p*-クマル酸

PYP は可溶性の低分子量タンパク質であるという特徴から、光情報伝達系に関与する光受容タンパク質の中で、最も高分解能での高次構造解析に成功している。この高次構造解析の中で最も重要な成果は、中間体の立体構造をも決定したことであろう。

3) フォトサイクル

PYP はセンサリーロドプシンと同様に、光を吸収することによりいくつかの中間体を経て、再び元の状態に戻

る（フォトサイクル）（図 6）³⁾。基底状態の PYP (pG: 吸収極大 446nm) は光を吸収することにより pR (吸収極大 465nm) となり、pB (吸収極大 355nm) を経て、pG へと戻る。現象へのシグナルの発現には、中間体の寿命が約 500 ミリ秒と長い pB（ちなみに pR の寿命は 0.1 ミリ秒）が関与していることが強く示唆されているものの、直接シグナルを受け渡すような分子は未だに同定されていない。この領域は今後の研究課題であるが、シグナルがセンサリーロドプシンのようにフォトサイクルを介して発信されることから、その後のシグナル伝達系も似ている可能性があり、メチル基受容タンパク質を介したものであるかもしれない。

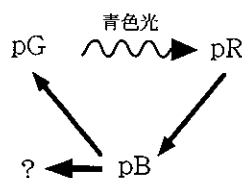


図 6. PYP のフォトサイクル

波線は光受容体の光化学反応、細い線は熱化学反応、太い線は生理シグナルの伝達を表す。

4. フィトクロム

1) ランソウ

ランソウは酸素発生型の光合成を行う原核生物の一群である。その名の通り、かつては藻類として緑藻や紅藻といった真核の光合成生物と同等にくくられていたが、実は核膜に囲まれた核を持たない原核生物であるため、最近ではラン色細菌、またはシアノバクテリアなどとも呼ばれている。ランソウには、補色適応（注 2）や光化学系の遺伝子発現の光応答性などといった光依存性であるが、光受容系が光合成系を構成している色素によるものではないと考えられている反応がいくつか知られている。しかし最近までこのような光依存反応の物質的実体は解明されてこなかった。現在ではランソウの光情報伝達系に関与する光受容体の少なくとも一つは、高等植物の光受容体として古くから研究されてきたフィトクロムであると言ってほぼ間違いのないと思われる。

注 2 補色適応

ある種のシアノバクテリア等では、生育時の光質によって細胞の色調が変化する事が知られている。これは光合成色素であるフィコエリスリンとフィコシアニンの相対量が赤色光と緑色光により可逆的に変化する事から起こる現象である。この現象を補色適応という。

2) フィトクロム

最初、フィトクロムはレタスの種子発芽に対する光質効果の研究過程で見つけられた。暗所で吸水させた光発芽性レタスの種子の発芽には数分間の赤色光照射が有効であり、この赤色光照射後に近赤外光を照射すると、赤色光の発芽誘導効果が抑制される。赤色光と近赤外光を繰り返し照射した場合には、最後に照射された光が赤色光か近赤外光であるかによって、発芽するかしないかが決定される(赤色光-近赤外光可逆性)。この現象から赤色光と近赤外光領域に吸収極大を持つ光受容体の存在が想定され、実際に組織抽出液中で存在が確認されたのがフィトクロムである。現在、フィトクロムは光形態形成(光によって発生や分化の過程が調節、制御される現象)において、主に赤色光から近赤外光をモニターしている光受容体であることが知られている。植物のフィトクロム分子は、約1,200個のアミノ酸残基より成るフィトクロム単量体のホモダイマーである。フィトクロム単量体は、一個の開環したテトラピロールであるフィトクロモビリンを発色団として持っており、これはN末端側発色団ド

メインの320番目付近のシステイン残基にチオエーテル結合している。この分子はセンサリーロドプシンやPYPとは異なり、赤または近赤外光に吸収極大のあるふたつの吸収型(P_R型とP_{FR}型)の間を可逆的に光変換する。光変換は主に発色団のシス・トランス異性化に起因するもので、生理的にはP_{FR}型が活性型であると考えられている(図7)。最近ではフィトクロムと相互作用するタンパク質がいくつか見つかかり、フィトクロム自身が光により活性化されるセリン/スレオニン・キナーゼである可能性が示されるなど、フィトクロムを介した光情報伝達系の解明は急速に進んでいる。

3) ランソウでのフィトクロム様タンパク質の発見

かつてフィトクロムは原核生物には存在しないと考えられていた。1996年、最初にランソウの補色適応の突然変異体の原因遺伝子として、フィトクロム遺伝子に類似した配列をもつ遺伝子が単離された⁴⁾。同年、単細胞性のランソウ *Synechocystis* sp. PCC 6803 の全ゲノム配列が解明され、その中にフィトクロムに類似した配列の遺伝子が見つかった。この遺伝子の産物のタンパク質は、高等植物のフィトクロムと同様に、フィトクロモビリンや、ランソウに多く存在する光合成色素フィコシアニンの発色団であるフィコシアノビリンを自己触媒的に取り込み、可逆的に光変換することが確かめられた⁵⁾。このフィトクロム類似タンパク質は現在、Cph1(Cyanobacterial phytochrome 1)と呼ばれている。Cph1は高等植物のフィトクロムのN末端側発色団ドメインに類似するドメインと、ヒスチジンキナーゼの配列に類似した部分を含むC末端側ドメインを持っている。興味深いことに、Cph1は高等植物では不活性型であるはずの赤色光吸収型(P_R型)が自己リン酸化能を持っており、このリン酸基はCph1の遺伝子のすぐ下流にコードされているRcplと呼ばれる応答調節タンパク質に転移される⁶⁾。また、Cph1とRcplの遺伝子の転写は、光によって調節されていることなどもわかっている。しかしCph1の遺伝子破壊株は野生型と変わらない表現型を示すことから、これがどのような現象を調節しているのかはわかっていない。*Synechocystis* sp. PCC 6803 のゲノム中にはフィトクロムに類似した配列が他にもいくつか見つかった。もしかしたらこれらがお互いに働きを補いあい、Cph1の遺伝子だけを破壊した変異株では野生型と表現型が変わらないように見えてしまっているのかもしれない。

4) 光受容体としてのフィトクロム

では実際にフィトクロムはランソウのどのような現象の光受容体なのであろうか。そのヒントは我々が行ったランソウの走光性の作用スペクトルから得られた。走光

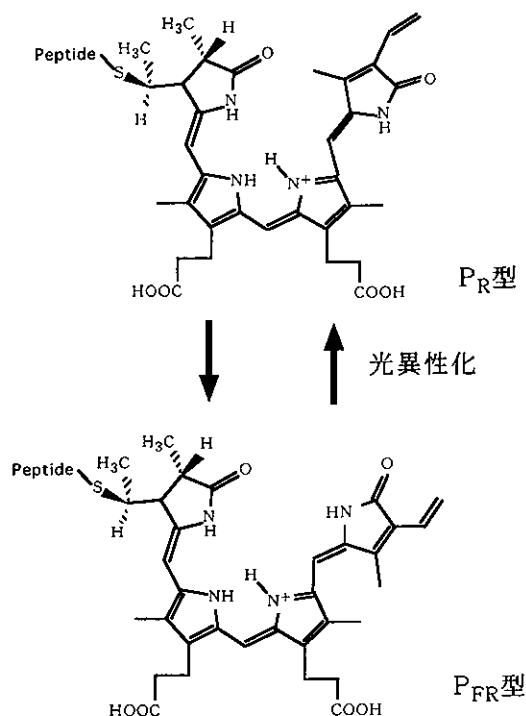


図7. フィトクロムの発色団フィトクロモビリンの光異性化

性とは、光驚動性とは異なり、純粋に光の方向を認識し光に向かって正、または負の方向に移動していく現象である。ランソウの走光性に関する作用スペクトルは、繊維状のランソウでは古くから測定されており、光合成色素の関与なども示唆されてきた。最近になって単細胞性のランソウ *Synechocystis* sp. PCC 6803 の走光性に関する作用スペクトルが測定され、赤色光の他に近赤外光も作用することがわかりフィトクロムの関与が示唆されている⁷⁾。筆者らは好熱性の単細胞性ランソウ *Synechococcus elongatus* の走光性に関する作用スペクトルを詳細に測定した。その結果、弱い光の時は赤色光のみが作用し、光を強くしていくと赤色光の作用が減少し、緑、黄色光および、近赤外光が作用することがわかった。弱い光を認識できる赤色光の受容体、強い光を認識できる緑色、黄色光受容体、および近赤外光受容体の少なくとも3種類の光受容系の存在が示唆される。さらに走光性を誘導できない弱い光強度の近赤外光を上方から照射すると、横から照射している赤色光による走光性の誘導を阻害することがわかった。この現象はフィトクロムの光可逆性によって説明でき、光受容体としてフィトクロムの関与が強く示唆される。

走光性の作用スペクトルからも明らかのように、赤色光・近赤外光を認識するフィトクロム系とは別に、緑色、黄色光を認識する光受容体の存在が示唆される。また *Synechocystis* sp. PCC 6803 では、青色光が負の走光性を誘導するが、*Synechococcus elongatus* ではまったく作用しない。負の走光性だけを誘導するような青色光受容体が *Synechocystis* sp. PCC 6803 中に存在している可能性がある。もしかしたらこれら青色光から黄色光を受容している光受容体は、センサリーロドプシンや PYP のようなものであるかもしれない。

5) ランソウ以外のバクテリアに存在するフィトクロム

最近、光合成能を持たない真正細菌である緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* などフィトクロム類似のタンパク質をコードする遺伝子が発見され、その産物がカロチノイド合成の調節に関与していることが示された。驚

くべきことに、このフィトクロム類似タンパク質はこれまで発色団結合残基であると考えられていたシステインを持っていないにもかかわらず、フィトクロモビリンとフィコシアノビルを自己触媒的に取り込み、フィトクロムと類似の光可逆性を示した。この場合発色団は、フィトクロム類似タンパク質のシステイン残基の隣のヒスチジン残基とシッフ結合することが示された⁸⁾。また、紅色硫黄細菌 *Rhodospirillum rubrum* から、PYP に類似したN末端ドメイン、フィトクロムの発色団結合ドメインに類似したドメイン、ヒスチジンキナーゼに類似したドメインが順に連結した新規の色素タンパク質をコードすると思われる遺伝子が見つかったという興味深い報告もなされている⁹⁾。フィトクロムはバクテリアから高等植物まで普遍的に存在するセンサータンパク質のスーパーファミリーであると言える。

5. 最後に

バクテリアの光センシングと題して、バクテリアの光受容系に関して駆け足で見てきた。これらの光受容系が植物や動物へどのように受け継がれ、進化し、また時にはなくなっていったのかを考えると興味は尽きない。

参考文献

- 1) Hoff, W. D., et al., Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., 1997. 26: p 223-258.
- 2) Meyer, T. E., Biochim. Biophys. Acta, 1985. 806: p. 175-183.
- 3) 今元泰・徳永史生, 蛋白質核酸酵素, 1997. 42: p. 129-135.
- 4) Kehoe, D. and A. Grossman, Science, 1996. 273: p. 1409-1412.
- 5) Hughes J., et al., Nature, 1997. 386(6626): p. 663.
- 6) Yeh, K. C., et al., Science, 1997. 277(5331): p. 1505-1558.
- 7) Choi, J. S., et al., Photochem. Photobiol., 1999. 70(1): p. 95-102.
- 8) Davis, S. J., et al. Science, 1999. 286: p. 2517-2520.
- 9) Jiang, Z. Y., et al., Science, 1999. 285: p. 406-409.

遺伝子情報を医薬品へ (その3)

ゲノム創薬

塩野義製薬(株) 創薬研究所 主管研究員 坂田 恒 昭

前回で述べた遺伝子治療は、遺伝子解析で得られた遺伝子情報をそのまま薬にしようとする試みであったが、今回のゲノム創薬(この言葉は造語であり一般に認められた言葉ではないが本章ではこの言葉を用いることとする)とは、遺伝子解析で得られた新規遺伝子産物をスクリーニングの標的として、薬効を持つ新規化合物を探索するという試みである。

3.1 はじめに

近年、製薬業界では新規薬効化合物の探索には、各社が保有する化合物ライブラリーをロボットを用いてランダムにスクリーニングすることが主流になっている(HTS: high throughput screening)。この際に、化合物ライブラリーのサイズにもよるが、一次スクリーニングに要する時間がマニュアルに頼る従来法に比べてはるかに短くなっている。このために、いかに重要な、しかも数多くの新規スクリーニングターゲットを見出すことが求められている。

ヒトゲノム計画によりヒトの遺伝子が解明され、それから蛋白質に翻訳される遺伝子が推測される。ヒトのゲノムには約10万個の遺伝子がコードされており、そのうち創薬ターゲットとなりうる標的遺伝子は約千個以上存在するであろうと推測されている。しかしながら、現在のところ10万個有るといわれる遺伝子のうち、機能の判明している遺伝子はそのうちせいぜい10%の1万個に過ぎない。このために現在は、既に機能が解明されている蛋白質(遺伝子配列)のデータベース(例えば米国NCBI: National Center for Biotechnology InformationのUnigene, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene>)もしくはマウス、大腸菌など他の生物の同様な蛋白質から、これらヒト新規蛋白質の機能を推定する。これが、受容体、酵素と推定されるなら、その蛋白質を1章で述べたように大腸菌、動物細胞、昆虫細胞などでヒトの蛋白質を作らせてスクリーニング系に供することができる。

本章では、近年発展しているゲノム創薬のいくつかの代表的なアプローチについて述べる。

3.2 発現プロファイルを用いた創薬の試み

臓器、組織、細胞で発現される遺伝子の強度を体系的に解析できる方法が近年活用されつつある。この方法がDNAチップ/DNAマイクロアレイであり、原理的には数cm四方程度のスライドガラスやシリコンなどの基板上に、既知だけでなくEST (expression sequence tag)などの未知を問わない数千個から数十万個のDNAを配置し、ごく少量の標識したプローブでハイブリダイゼーションを行い、高感度で検出する。

この遺伝子解析のHTS法は、多数のDNA断片やオリゴヌクレオチドを固相表面に相互のコンタミネーション無しに整列させるための高密度アレイ(DNAチップ)作製技術、コンピューターを用いたハイブリダイゼーションパターン解析技術、またそれらを自動的に行うロボティックス技術が必要となる。

DNAチップの作製方法としては、大雑把に言ってスタンフォード大学のBrown研究室で開発された、PCR法などであらかじめ調製したDNAをスライドガラスやシリコンなどの基板に固定するBrown法とAffimetrix社が開発した、基板上で直接DNAを合成するAffimetrix法とがある。この二つの方法はそれぞれに一長一短がある。作製されたチップは、現在のところ蛍光標識されたDNAプローブにより検出される。検出には1~10 μ mの解像度を持つ高性能蛍光スキャナーが用いられている。また、蛍光イメージを解析するソフトウェアが必要となる。

DNAアレイを用いることにより、プローブ中にある個々の遺伝子の発現プロファイルを知ることができる。例えば疾患臓器と正常臓器の遺伝子の発現プロファイルの違いを比較することにより、疾患に関与する遺伝子群またそのネットワークを包括的に把握することが可能となった(図1)。

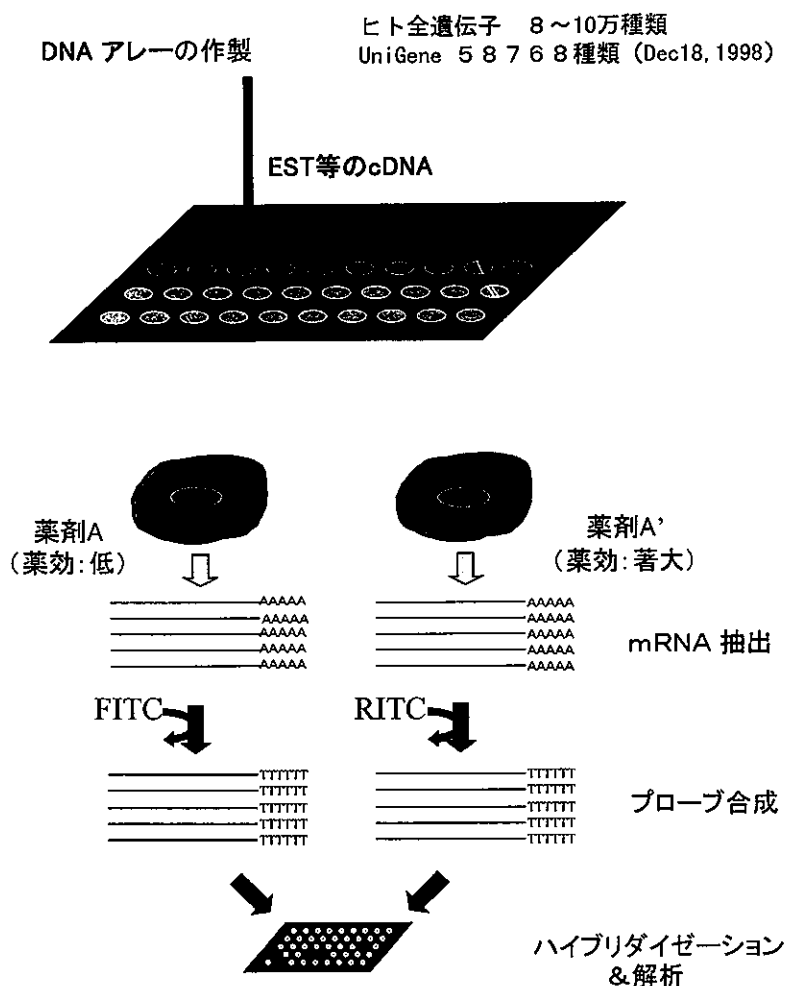


図1. DNAチップ利用の模式図

この方法を用いることにより、創薬ターゲットとなる遺伝子を同定しようとする試みが国内外の製薬企業、ベンチャー企業で行われている。今後近い将来にヒトゲノムプロジェクトの成果に基づいて、ヒトの全遺伝子の発現をモニターできるDNAアレーが市販されることであろう。

3.3 SNPsを利用した創薬の試み

もう一つ最近ゲノム科学の世界で良く使われる言葉に、SNPs (Single Nucleotide Polymorphism: 一塩基多型) がある。これは、ゲノム配列中の1塩基の違いで、個人

差や多様性を規定する基本となるものである。多型はある塩基の違いが人口中1%以上の頻度で存在するものと定義される。すなわち10,000人について、特定の遺伝子を解析し、100人以上で塩基の違いが存在すればそれが多型となる。SNPsは1,000塩基対に一箇所の頻度で存在すると言われている。ヒトの全ゲノムは30億塩基対であるので、計算上SNPsはヒトにおいては300万個存在することになる。また、SNPsは人種人種で独自のSNPsが有り、またその頻度も異なるとされている。

SNPsの解析方法には、ここでは詳しくは述べないが、Invader法、TaqMan法、Primer Extension法、RCA法、

Sniper 法, MALDI-TOF/MS 法などがある。

上記に述べたように日本人には日本人の SNPs 解析が重要となる。日本における SNPs 解析の現状を述べると、文部科学省関係の科学技術振興財団 (JST) のプロジェクトで、日本人ゲノムの SNPs の位置決めが行われている。また、日本バイオ情報化コンソーシアム (JBIC) のプロジェクトの標準 SNPs 頻度解析センターで、それら SNPs に関しての頻度解析が行われている。

このように、日本においても SNPs プロジェクトが精力的に行われている。この SNPs は次章で詳しく述べるが、疾患に対してのかかり易さ・かかり難さ、薬剤感受性、薬剤の副作用に関係していわれると言われ、今後個人個人の医療を考えるとときに重要な指標になる。また、製薬企業にとっては臨床試験の効率化にも期待されている。

SNPs 解析を利用して疾患遺伝子を同定しようとする試みが精力的に行われている。SNP は従来より行われてきた、サテライトマーカーなどのマーカーを用いての遺伝子の同定をより詳細に正確にできると期待されている。例えば Glaxo Wellcome では実際に SNPs マーカーと連鎖不平衡解析の組み合わせで、乾癬の原因遺伝子の同定を試みた。第3染色体の乾癬関連遺伝子領域1.6メガ塩基対領域にマップされる19個の SNPs マーカーの連鎖解析により、2ヶ月間で100キロ塩基対の領域に絞り込むことに成功した。

また、ある遺伝子の翻訳領域もしくはプロモーター領域について、特定の SNPs を持つヒトだけがある疾患に罹っているとすると、この遺伝子がすなわちその遺伝子の原因遺伝子となっていることは明らかである。

3.4 プロテオミクス

ゲノム研究の総称「ゲノミクス (genomics)」に対して、プロテオーム (proteome) の構造と機能に関する大規模研究の総称を「プロテオミクス (proteomics)」という。なお、プロテオームとは1995年に Wilkins が作った造語であり、蛋白質 (protein) と集合体 (ome) を結びつけた言葉である。

プロテオミクスとは、核酸レベルの解析から蛋白質へと演繹するのではなく、発現蛋白質のカatalogを最初から作ろうというものである。成熟蛋白質はプロテアーゼによるプロセッシング、糖鎖の付加、リン酸化等さまざまな修飾を受けている。これらは核酸の解析では直接の情報は得られない。正常臓器と疾患臓器の間で、発現蛋白質の比較を行うことにより、発現蛋白質レベルで何が起きているか、さらには細胞内ネットワークやプロセスなどの全体的な生物情報を得ることができる。

プロテオミクスの概略を図2に述べている。多種類の蛋白質を O'Farrell の二次元ゲル電気泳動により分離精製し、トリプシンなどで消化分解してペプチドの混合物の分子量を測定する。これには、マトリックスレーザー脱離イオン化 (matrix-assisted laser desorption ionization; MALDI) と飛行時間型 (time-of-flight; TOF) 質量分析を使った MALDI-TOF 質量分析 (MALDI-TOF MS) とエレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESIMS) が有り、プロテオーム解析の最も重要な分析技術である。

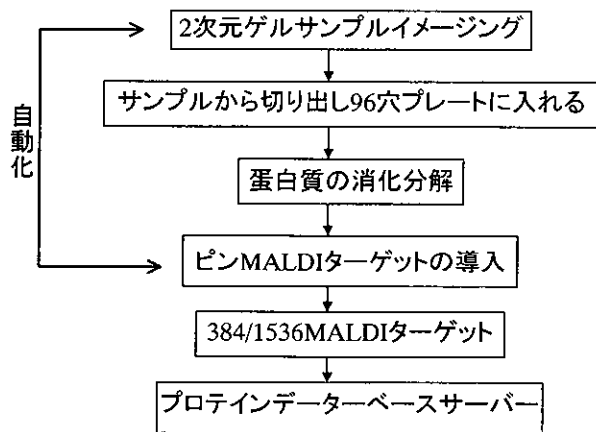


図2. プロテオミクスの概略

電気泳動で分離した蛋白質をゲル電気泳動でゲル中でプロテアーゼにより消化したり、化学的に分解し、得られたペプチドを MALDI-TOF や NANO-ESI により質量スペクトルのペプチドマップ (ペプチドマスフィンガープリント; PMF) を作製し、これと DNA の塩基配列から予想されるアミノ酸配列から計算される質量スペクトルのデーターとの比較などにより、蛋白質をコードする遺伝子が同定される。

現在、創薬を考える上で、蛋白質-蛋白質相互作用、蛋白質-リガンド間相互作用、酵素活性などが重要なポイントであり、これらを包括的に解析できる機器の開発が行われている。

3.5 バイオインフォーマティクス

遺伝子解析のデーターは、随時インターネットの各ホームページにアップロードされ、それらを利用するのが最近の分子生物学の常識になっている。NCBI のホーム

ページには遺伝子配列情報の GenBank と文献情報の Medline (PubMed), Entrez の検索エンジンが組み込まれており、無料で情報を検索することができる。その他にも文献情報としては JICST, 遺伝子情報は国立遺伝研の DDBJ, 欧州の EMBL, 蛋白質配列情報は PIR, 蛋白質立体構造情報は Protein Data Bank などのデータベースがある。

一方、新しいゲノム研究では、上記に述べたように発現プロファイルにしても SNPs 解析にしても新しい実験技術であるが、今後も確実に次々と技術革新が行われると予想される。ますます大量かつ多様なデータが蓄積される。その網羅的な莫大なデータを解析するためには、コンピューター科学を活用するのが不可欠となる。このバイオ科学とコンピューター科学を融合させたのがバイオインフォマティクスと呼ばれるもので、生命を情報のシステムとして統合的に理解する学問である。バイオ分野における IT と言える。しかし、バイオインフォマティクスは単にデータベースや大量データ処理といった情報処理技術だけでなく、もっと重要で新しい概念を提供する。生命の働きを分子や遺伝子といった個々の要素に還元するのではなくて、相互作用するトータルなシステムとして理解する概念を提供できる。創薬の分野では、個々の遺伝子もしくは遺伝子産物がどのように相互作用しているのか、そのネットワークを解析し、そのネットワークが他のシステム（生物、外界）とどのように相互作用するのかを明らかにできる。

また、遺伝子産物であるすべての蛋白質ファミリーの立体構造を解析し、データベース化し、将来的にはコンピューター上で立体構造を予測して、コンピューター

上で創薬研究を可能にするツールを提供する構造ゲノム科学も、バイオインフォマティクスの研究分野の一つである。日本においては理化学研究所（横浜市）においてこの分野での研究が開始している。

また、近年日本においてもこの分野の重要性が論議され、産業界ではバイオ情報化コンソーシアム (JBIC) が組織され、経済産業省関係のバイオインフォマティクス研究所が計画されるなど動きが活発化している。

3.6 ゲノム創薬の今後

ゲノム創薬は、近年急速に発達してきた新しい知識、技術を正確に理解し、かつ結びつけて初めて可能になるものであり、最新技術の三種の神器と言われる①ゲノミクス、②HTS 技術、③今回は述べなかったがコンビナトリアルケミストリーが効率よく結びついて可能になる。莫大な遺伝子情報から如何に有用な創薬ターゲットを見つけるかがスタートとなる。これら新技術は、すべてランダムで膨大な情報を如何に整理し、またランダムで膨大なストックから如何に有益な化合物を見つけ出すかが課題となる。如何に大量の情報を効率よく整理し、如何に早く有用物質を探し出すかについての技術革新が今後ますます進んでいくであろう。ゲノム創薬とは情報の勝負と言ってよいだろう。

参考文献

- 1) ファーマコゲノミクス (財)ヒューマンサイエンス振興財団編 (財)ヒューマンサイエンス振興財団
- 2) 21世紀の創薬科学 辻本豪三・田中利男編 共立出版(株)

農業分野で簡易分析計をさらに活用へ

I 土壌診断のあるべき姿と課題

静岡県農業試験場 土壌肥料部 鈴木 則 夫

ここ数年、農業分野において作物生産現場や実験室の中でも簡易に使える分析計の利用が増えている。その理由は、新しい簡易な分析機器が開発されてきたことによって、分析技術操作に馴染みがなかった人でも測定が可能であること、分析測定値をいち早く必要とする場面が増えたこと等がある。

筆者も農林水産省実用化支援研究事業「施設栽培における作物体及び土壌養分のリアルタイム診断による施肥管理技術」及び農産業振興奨励会実用化事業「小型反射式光度計システム(RQフレックス)を用いた作物体・土壌診断技術の開発」に、関東化学(株)と協力して取り組んできたので、農業現場で簡易分析計が広く使われるようになった流れや実用場面での測定事例、将来的に利用が増えることが予想される場面について数回にわたり述べてみる。

1. 土壌診断とは

作物栽培では一定の耕地から最小の労力で最大の収穫量を継続的に得ようとする。さらに、作物は適度の養分と水を根等から吸収することにより成長する。このため、作物の栄養に供するため土壌や作物に肥料を施し、この栽培の目的を達しようとする。しかし、土壌中の養分が過剰でも不足でも、作物の生育は悪くなったり障害が生じたりするため、適正な範囲に収まるように改良する。

土壌診断は作物の適正な施肥管理を目指して、以前から行われている農業生産上の基本的な技術である。さらに近年は、農業による環境負荷軽減、特に硝酸性窒素が環境基準項目に組み入れられたことから窒素の過剰施肥に由来する負荷を軽減するために、土壌診断や栄養診断を実施して適正な施肥管理を行うことは一層重要になってきている。

試験場にも時々「作物の生育が悪いので、土壌を持ってきたので診て」とか「このような症状が出たが、何が原因であろうか」との持ち込みがある。ほとんど、これだけでは何故作物の生育が悪いのか、何故作物に生育障

害が出たのかは解らない旨を告げて断っているのが現状である。持ち込んだ人は何を期待しているのだろうか。おそらく、窒素が不足しているとか、加里が不足しているとかの答を期待していると思う。

確かに、昭和40年代頃までは特定な養分が不足して、その結果作物の生育不良とか生育障害の発生が多かった。しかし、今日では養分過剰に伴う拮抗作用による特定な養分の欠乏や養分間のアンバランスによる生育不良、作土の浅層化や物理性の悪化による生育不良、温度管理や水管理の失敗による生育不良等が増えているのが現状である。

持ち込まれた土だけを土壌診断室内で分析して、生育不良要因の特定やその対策を講じることができるケースは稀である。

土壌診断の基本としては、多くの教科書があるが、概ね図1の流れで行われる。このため、やたら土壌を持って来られても、現地の状況が全く判らないために、何の項目を分析するか判断も難しいし、仮に各養分量を分析して結果が出たとしても、それから生育不良要因を断定して、改善策を講じることが難しい。

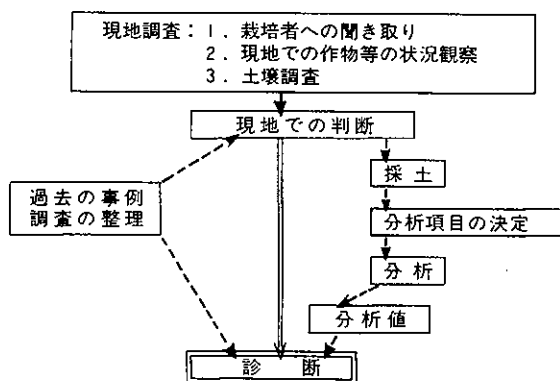


図1. 土壌診断の基本的な流れ

2. 土壌診断基準値、適正基準値とは

土壌肥料の教科書や土壌診断ハンドブック等に土壌診断基準値とか改善基準値、適正基準値が確実に記載されている。静岡県でも水田土壌、畑土壌、施設内土壌、茶

園土壌、果樹園土壌、飼料畑土壌に分けて、各土壌統群別の改善基準値を示している（表1にその1例として施設内土壌の改善基準を表示）。

表1. 静岡県における施設内土壌の改善基準

土壌統群		黒ボク土	淡色黒ボク土	(細粒質、中粒質) 赤色土、黄色土 褐色低地土 灰色低地土	砂丘未熟土 (砂土)	
土壌の性質						
作土の厚さ		25 cm以上				
作土のpH1.5の気相		18 %以上				
主要根群域最大ち密度		20 mm以下			10 mm以下	
主要根群域の粗孔隙量		15 %以上				
地下水位		60 cm以下				
pH	(H ₂ O)	6.0～6.5				
	(KCl)	5.5～6.0				
腐植(乾土)		—	10 %以上	5 %以上	2 %以上	
陽イオン交換容量(乾土)		30 me以上	20 me以上	15 me以上	5 me以上	
塩基 含量 (乾土)	CaO	440～630 mg (52～75%)	290～420 mg (52～75%)	250～320 mg (59～76%)	80～100 mg (57～71%)	
	MgO	100～150 mg (17～25%)	65～100 mg (16～25%)	55～75 mg (18～25%)	20～25 mg (20～25%)	
	K ₂ O	25～50 mg (1～4%)	15～50 mg (2～5%)	15～50 mg (2～7%)	15～25 mg (6～11%)	
塩基飽和度(乾土)		80～100 %			90～100 %	
当量比	Ca/Mg	6以下				
	Mg/K	2以上				
有効態P ₂ O ₅		10～50 mg			20～80 mg	
置換性MnO(乾土)		—	4 mg以下			
有効B(乾土)		0.3 ppm				0.2 ppm
電気 (施肥前)		0.3 mS以下				0.2 mS以下
伝導度	(栽培中)	0.3～0.8 mS			0.2～0.3 mS	
		0.3～0.7 mS			0.2～0.3 mS	

注1. 塩基含量は陽イオン交換容量の90(火山灰土では80)~100%飽和で、各塩基の飽和度がCaO: 65~75%、MgO: 20~25%、K₂O: 2~10%になるように設定した。

2. 表中のカッコ内の数字は陽イオン交換容量全体に占める各塩基の飽和度。

確かにこの基準値は過去の先人たちによる多くの試験例から算出されたものであり、この基準値を守っていれば作物は順調に生育する。しかし、実際の現場をみると、この基準値から外れていても作物が順調に生育している場合が往々にある。これは何を意味するか。

仮に農家に5筆の畑があったとして、同じ作物のため同じ栽培管理、施肥管理を行っても同一の生育をしないことが多い。1筆1筆の土壌条件が違うためである。農家はこれを肌で感じていて、この畑は肥料を多くとか、この畑は灌水をこまめに行うとかの管理を行う。1筆1筆に個性があるのである。土壌診断結果も当然異なってくる。これを平均値で診て良いであろうか。確かに、講習会とかで普及所や農協、試験場の職員はこれが基準値ですよ。多すぎないように少なすぎないようにとの話があるが、農家の方は一面ではまともに聞いて、一面では

眉唾で聞いておいて欲しい。農家は一国一城の主である。個々の圃場における土壌条件の個性、長所短所を十二分に把握したうえで、作物生育の観察から平均的な適正基準値から1筆1筆の適正值を作成することが篤農家の条件である。

3. 優良樹園地成立の条件、肥培管理は本当に重要か

静岡県は茶園やミカン園が多く、土壌診断も各機関で非常に多く行われている。そして、その結果を基に肥培管理を検討する機会が多い。しかし、実際には肥培管理以前の問題を抱えた圃場が多々ある。永年作物は一度定植すると、園地条件や土層改良が難しいために、優良樹園地成立の条件を重要度から列挙すると以下のように考える。

① 樹園地環境の整備

防風林の設置, 畑面侵食保全, 排水性の改良(地区, 地表, 地下), 灌水施設

② 圃場造成時の土層物理性改善

改良位置, 改良範囲, 改良資材の種類と施用量, 改良方法

③ 土壌の土層化学性・生物性改善

酸性の矯正, 肥沃度の向上, 緩衝力の増加

④ 改良効果の保持

物理性, 化学性, 生物性の不良化防止

⑤ 肥培管理

適正な施肥 ← 狭義の土壌診断

①から順に成り立ち, 適正な肥培管理は順序から言う
と最後になる。肥培管理以前の項で未改善があると根の
生育が阻害されることから, こまめな土壌診断に基づく
きめ細かな肥培管理を行っても, 作物の生育は順調にな
らずに優良圃地にはなりにくい。

4. 静岡県における土壌診断の実態

現在, 静岡県では土壌診断は普及所, 経済連・農協が
主体で実施し, 試験場は国の土壌保全事業の一環として
の環境モニタリングを行っている。各々の概要について
まとめると以下のようなものである。

表2. 経済連・農協の作物別土壌診断点数

年度	実施機関	水稻	茶樹	柑橘	果樹	露地作	施設作	花卉	その他	小計	合計
11	農協	8	1971	234	149	569	1398	800	0	5138	
	経済連	9	1617	1100	5	448	1017	173	0	4369	
	合計	17	3588	1334	154	1017	2415	982	0		9507
10	合計	16	5707	1190	184	1268	2160	849	0		11374
9	合計	91	2465	952	198	848	2409	144	152		7259

各年度とも上期(4月～9月)の集計である。

経済連・農協の土壌診断点数は表2に示したように,
年によって変動はあるがほぼ1万点実施している。土壌
診断の実施時期は本県では秋冬作や施設栽培作が多いこ
とから夏期集中型であり, 下期には実施点数は激減する。
作物別では茶樹が約4割, 施設作が約3割占めて, 水稻
は近年分析点数が激減している。農協の自主分析は専用
の診断分析室のあるJAとびあ浜松, 茶産地の牧之原地区
が約半数を占めている。他地区では農協の自主分析から
経済連の土壌診断車対応に変わりつつあり, 経済連と農

協, 普及所, 肥料メーカーが協力して実施する傾向にあ
る。写真1に土壌診断の作業風景を表示した。

普及所における土壌診断は, 環境に配慮した新しい施
肥法の実証に伴う土壌分析, 地域特産作物の定期的な土
壌診断, 作物生育障害の原因究明に伴う土壌分析が主で
あり, それぞれ担当者が普及課題の下に行い, 成績にま
とめている。その成績の掲載数は表3のように年間約40
地区ほどであるが, 経年的に見ると減少気味である。

表3. 農業改良普及センターが実施した土壌肥料に関
する成績書実施数

年度	肥料実証・展示ほ成績		定期的な土壌・養液診断			生育障害診断等	合計
	一般	環境保全	野菜	花卉	茶その他		
11	14	9	3	7	0	1	34
10	13	11	10	11	3	0	48
9	16	9	12	13	1	1	52
8	15	9	8	8	3	1	44
7	13	6	11	14	8	3	55
6	7	16	14	12	7	13	69

このうち, 新しい施肥法の実証・展示は成績のうち8
割ほどは茶栽培を対象にした減肥試験や新肥料試験であ
り, 定期的な診断のうち半数以上は養液栽培における培
養液診断である。いずれも, 農協やメーカーと共同で実
施した課題が多いことから, 分析診断点数は前記の表2
に含まれているケースがある。

試験場で実施している土壌診断は国の土壌保全事業の

一環として行っており, 同一圃場を5年毎に土壌調査や
栽培管理, 土壌管理を含めて実施している。調査地点は
各作物の主要産地90地区に450点の定点を設けて, 過去
20年近く継続的に調査してきた。調査対象作物は水稻19
地区95地点, 畑作物15品目33地区165点, 施設作物6品
目17地区85点, 樹園地3品目21地区105地点である。その
後, 本調査は事業内容の変更により, 定点数を180地点余

に減らして、分析項目を増やして継続調査中である。



写真1. 経済連、農協、普及所が一体になった
土壌診断作業風景



写真2. 土壌調査の作業風景

5. 土壌診断結果を如何に施肥管理に生かすか

土壌診断の目的は、結果を個別の農家に如何に返して施肥管理に生かしてもらうかである。

経済連・農協の場合には2通りある。一つは作物別に地区毎の結果を算出し、講習会等で地域としての動向や作物別の動向を把握して、土壌改良資材の投入量の算出や施肥改善の方向性を示し、土づくりと物流に役立てる

ことである。また、本県特有の配合肥料の配合設計変更を生かしている。地域、作物のまとめの1例を表4に示した。この場合の総括コメントは「リン酸と石灰、苦土、加里の3塩基とも富加されており施肥の削減ができる」である。また、表4とともに、各項目の出現頻度分布図が作成される。

表4. A農協管内イチゴ栽培土壌の土壌診断結果の
適正域分布割合(診断点数100点, %)

区 分	pH	EC	リン酸	石灰	苦土	加里	腐植
少ない(低い)	27	—	1	2	3	1	38
適正域	30	54	5	2	12	50	62
多い (高い)	43	46	94	96	85	49	—

また、地区集計とは別に個別の農家にも診断結果を個表にして渡し、どのような養分が不足しているかと、この状態を改善するために次作に向けて圃場に施用が必要な肥料名と量を明示してやる。余談になるが、この肥料名と量が経済連の物流集計に貢献している。

普及所の実証展示圃結果は、地域の各部会で報告し、栽培管理指針等に生かしている。

試験場の調査結果は、20年前からのデータを個表にして変動が判るようにするとともに、数行のコメントを付けて返している。しかし、跡地土壌を対象とし、土壌調査を行ってから全ての分析結果がそろうのに数ヶ月かかり、個々の農家への回答が遅くなることから、この土壌診断結果からは今後具体的にどのような肥培管理をして良いかは明示していないし、次作あるいは次年度作に役

立てることは難しい。

6. 土壌診断における現状の問題点

1) 時間と技術と専用な機器を要する

土壌診断特に化学分析診断の一番大きな欠点は時間と分析操作技術を要する点である。土を乾燥して、砕いて、篩って(通常の土壌分析は乾燥した土壌を2mmの篩を通して分析に供する)、それから分析を開始する。操作が簡単なpH、ECはすぐに測定できるが、他の項目はいずれもかなり専門的な分析操作を必要とする。また、測定器具や装置も他の物では代用がきかないものばかりである。一通りの結果を出すには時間もかなりかかる。このため、長期栽培下での追肥主体栽培体系や圃場の無作付期間をなくす方向の栽培体系では、測定結果に基づくきめ細か

な施肥管理対応ができない欠点がある。

また、土壌の物理性診断も根が侵入する下層土まで調査となると、穴を掘るのも大変だし、化学性と同様に時間と技術と特別な装置を要する。山中式硬度計や貫入抵抗計による土壌の硬さであれば現場ですぐに診断できるが、他の三相分布とか有効水分になると非常に時間もかかるし、専用の機器を要する。

2) 測定結果数字に対する農家の理解

土壌診断をしてもらい、結果が返ってきてても一般農家は化学分析数字、物理性測定数字をなかなか理解できない。基準値や改良値から高いか低いかわりやコメントに書いてあることは判り、診断結果の処方箋のとおり資材を圃場に施用すれば問題がない場合が多いので、これで良いとも言える。土壌診断とは、このようなものであると割り切れば目的を達したことになる。

しかし、例えば腐植が少ないので有機物や堆肥を施用して土づくりをして下さいとの処方箋が出たとして、本当に農家は土づくりに対する「問題意識」を持ってくれるか疑問である。また、有機物や堆肥をどの位の量を何年位施用したらよいのか「到達目標」も曖昧である。「解決方法」もバイテク等の農業先端技術に比べて、有機物や堆肥の施用は体力勝負であり時代遅れの印象があり魅力に乏しい。どの位施用したので、どの位の「改善効果」があったかもすぐには結果が出ないことから不明確である。病害虫の発生であれば、すぐに作物の収量に影響するから農家に直結している問題であるが、土づくりや施肥に伴う環境保全問題は意識がうすい。

もっと、農家が土壌に関心を持ち、土壌の化学性や物理性の値と地上部の作物生育状況を関連付けて欲しい。我々もこのことを機会ある毎にPRすべきである。

3) 土壌診断は将来的に誰がすべきか

一昔前は土壌診断ができれば、我々は飯を食べていた。しかし、今は土壌診断は経済連・農協が主体で行っている。最近では、個々の肥料販売店も得意先の土壌診断を行うことが多くなり、病害虫の発生診断と合わせて農家の庭先診断を行い、物流に生かしている。将来的に、土壌診断はだれが行うのが良いであろうか。

将来的に、農家の経営形態は大規模経営とか法人組織が増えてくることが予想されている。となると、窒素とかの重要な養分項目は農家自身が診断して、結果を直ぐに施肥に生かしてきめ細かな肥培管理を行い、無駄をなくして肥料等の資材費の節減を図るのが理想と考える。

このためには、測定精度が多少低くても、短期間に多くの測定点数が可能であり、かつ生産現場で誰にでも測定ができる簡便な診断方法、診断機器の普及が望まれる。

4) 分析機器の低感度化・簡易化

近年、科学技術の進歩により、土壌分析に使用する分析機器類の進歩が著しい。ほとんどの機器がマイクロ・プロセッサ内蔵にかわり、ボタン一つ間違えると作動不可能になる。さらに、検出感度も高くなる傾向にある。専門の分析技術者にとっては有用なことであるが、農業場面での活用を考えると逆である。操作が簡単で、土ほこりや少々の水にも耐える堅固な機器、感度も生産現場の実態に合う程度の希釈を必要としない機器の開発普及が望まれる。

古くから、全農式簡易土壌診断器（経済連土壌診断で今も活用中）等もあり、最近では SPAD 製品も開発されつつあるが、現場で使える一層の簡易化を望む。

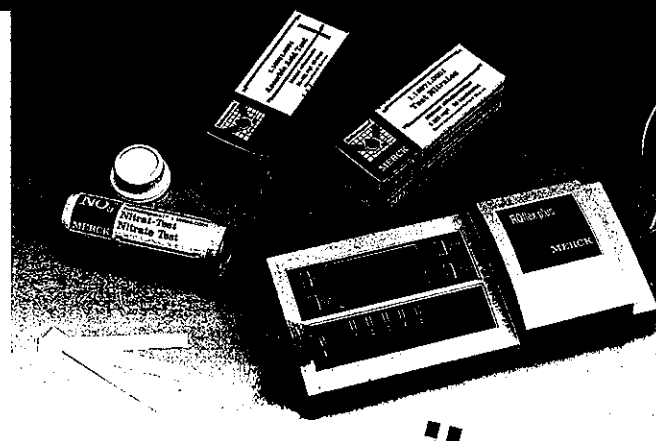
分析試料の調整も、風乾土当たりと異なって操作時間が短縮できて、的確に作物生育を反映する方法の検討も必要と考える。

7. 簡易測定機器によるリアルタイム診断、センサー利用による土壌養分の直接センシング

近年、多くの簡易測定機器が開発され、農業分野でも利用され始めている。これらを使って、土壌溶液や作物体汁液を測定して栄養状態を判断するリアルタイム診断が各地で検討されつつある。簡易測定機器としては、RQ フレックスシステム、コンパクト硝酸イオンメーター、メルコクアント硝酸イオン紙、カルチャライザ等がこの診断に使われる。いずれも、現場で簡単に誰にでも使用可能な方法であり、今後これらを用いた場合の診断基準の作成や整理が必要である。

さらに、できれば栽培土壌に差し込むだけで、養分状態が一目でわかるようなセンサーやモニタリング装置の開発も望む。この埋設型センサーには連続的測定が可能な EC センサーがあって、茶栽培等では実用化している。しかし、EC は硝酸イオンだけでなく土壌中に付随する硫酸イオンや塩素イオン、リン酸イオン等の影響もある。土壌中の硝酸イオンを直接にセンシングできるセンサーが開発されれば、近年問題になっている環境保全型農業の推進に大きく寄与できることから、切に開発を望む。

リアルタイム簡易栄養診断に RQフレックスシリーズ



早い!

簡単!

正確!

硝酸	5-225	mg/l
りん酸	5-120	mg/l
カリウム	0.25-1.20	g/l
ビタミンC	25-450	mg/l
マグネシウム*	5-50	mg/l
ほう素*	0.1-4.0	mg/l
しゅう酸*	10-80	mg/l
グルタミン酸*	10-80	mg/l
カリウム*	1.0-25.0	mg/l

※セル型。RQフレックスプラスのみ使用可能。
この他、アンモニア、pH、カルシウム、
鉄、マンガンなどございます。

パンフレットの御請求は、下記までお問い合わせください。

簡易型反射式光度計 RQフレックスシリーズ

1. ポケットサイズだからどこへでも持ち運びが可能です。
2. 1台で約30項目の金属・非金属・有機物が測定できます。
3. 測定は3ステップ! 迅速な測定が行えます。
(バーコードを挿入→試験紙を試料に浸す→試験紙を装置に挟む)
4. 取り扱いが簡単! どなたにでもご利用いただけます。
5. 面倒な検量線作成の必要はありません。
試験紙を挟み込めば、即座に濃度が表示されます。



関東化学株式会社 試薬事業本部

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町 3-11-5 03(3663)7631
〒541-0048 大阪市中央区瓦町 2-5-1 06(6222)2796
〒612-0007 福岡市博多区東比恵 2-22-3 092(414)9361

<< インターネットホームページ ; <http://www.kanto.co.jp> E-mail; reag-info@gms.kanto.co.jp >>

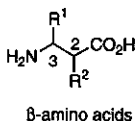
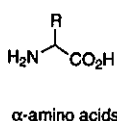
生物活性化合物の構造修飾— 6

β -アミノ酸の機能と合成

東京薬科大学 薬学部 助教授 横 松 力
教授 渋谷 皓

1. はじめに

β -アミノ酸はアミノ基とカルボキシル基の間に2個の炭素原子が挿入された構造をもつ。 α -アミノ酸は天然に広く分布されているが、 β -アミノ酸は天然に多くはみられない。しかし、ペプスタチンなどの生理活性ペプチドや抗がん剤タキソールの部分構造にも認められ²⁾、それらの生物活性の発現に β -アミノ酸部分構造が重要な役割を担うことが明らかとなるにつれて、 β -アミノ酸誘導体の生物活性が医薬品化学の分野で注目されるようになった³⁾。

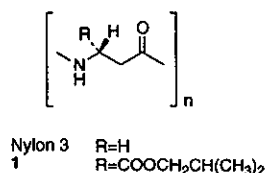


一方、 β -アミノ酸は、新たなヘリックス構造単位としても注目されている。DNAおよびRNAによる遺伝情報や酵素の触媒作用などの生体機能は、核酸や蛋白質などの生体高分子がヘリックス（らせん）構造や折たたみ構造などを取り、核酸や蛋白質中の特定の官能基が生体機能を発揮するのに都合のよい空間に配置（フォールディング）されることに起因している。このような生体高分子のヘリックス構造や折たたみ構造は、これまで、これらの構成単位である核酸分子や α -アミノ酸によってのみ構築される二次構造と考えられてきた。ところが、最近になり、 β -アミノ酸を構成成分とするオリゴマー（ β -ペプチド）も、 α -アミノ酸から誘導されるオリゴマー（ α -ペプチド）のようにヘリックスを形成することが明らかとされた。このことから、ある種の β -ペプチドが生体高分子のフォールディングを模倣することが出来るのではないかと期待感から、 β -ペプチドの物性と機能を明らかにする研究が急速に展開されている⁴⁾。今後、生物活性化合物のデザイン・合成に β -アミノ酸構造が積極的に取り入れられると予想される。

本稿では、生物活性化合物の構造修飾とは必ずしも言いがたいが、 β -アミノ酸およびそのオリゴマーに関連した最近の話題を紹介する。

2. β -ペプチドの物性

β -アラニンのポリマー（Nylon 3）および関連ポリマーの溶液中や固体状態の構造に関する研究が1960年代から行われていた⁵⁾。これらの研究から、Nylon 3 誘導体は β -シート型の二次構造を取ることが示唆されていたが、十分な構造解析は行われなかった。しかし、1984年に Subirana らはアスパラギン酸由来の Nylon 3 誘導体 (1) が β -シートよりもヘリックス構造を取ることをX線構造解析結果をもとにして明らかとした⁶⁾。これが β -アミノ酸が α -アミノ酸と同様にヘリックス構造単位となることを明らかにした最初の報告例である。



その後、 β -アミノ酸のヘリックス構造単位としての機能を明らかとする研究は殆ど行われていなかったが、1996年に Seebach および Gellman らのグループにより β -アミノ酸を構成成分とする比較的分子量の小さなオリゴマーの物性が相次いで報告された^{7,8)}。Seebach らは天然 α -アミノ酸の側鎖を有する β -アミノ酸の6量体 (2) の^{7a)}、Gellman らは、シクロヘキサン環構造を側鎖に持つ環式 β -アミノ酸 (2-アミノシクロヘキサンカルボン酸 (*trans*-ACHC)) の6量体 (4)^{8a)}の構造をNMRやX線結晶解析、計算化学を駆使して解析した。これらの解析結果から、両グループはいずれの β -ペプチド (2 および 4) にも分子内水素結合に基づくヘリックスが存在することを確認した。これら

の結果は、 β -アミノ酸のオリゴマーのヘリックス安定性が極めて高く、2および4も Nylon 3 誘導体 (1) と同様にラセン構造を取ることを意味している。

β -ペプチド (2) で観察された分子内水素結合を構造式に点線で示した。これらの水素結合により、2 はラセン構造をとる。1 個の水素結合で形成されるヘリックスは 14 員環である。この 14 員環ヘリックスは、極性溶媒 (MeOH) 中でも固体状態でも観測される。一方、2 と同じアミノ酸側鎖をもつ α -ペプチド (3) には、ヘリックスは全く観測されなかった。また、 β -ペプチド (2) のペプチダーゼに対する耐性は対応する α -ペプチド (3) よりもはるかに高いことが明らかとされた^{7a)}。

通常、 α -アミノ酸から誘導されるオリゴマーが安定なヘリックスを形成するには 20 個以上のアミノ酸残基を必要とするので⁹⁾、 α -ペプチド (3) がヘリックスを形成しないことは予想されたことである。しかしながら、 α -アミノ酸よりも柔軟な構造をもつ β -アミノ酸を 6 量体オリゴマーに誘導すると、極性溶液中でも安定なヘリックスを形成することは予想外の結果であり極めて興味深いことである。

Gellman らの合成した *trans*-ACHP オリゴマー (4) も、Seebach の合成した β -ペプチド (2) と同様に 14 員環ヘリックスを形成する^{8a)}。

プチドおよび α -ペプチドのラセン構造の模式図を Fig 1 に示す。よく知られているように、L-アミノ酸由来の α -ヘリックスは右まきのラセン構造を取り、その双極子の方向は C-末端側に向いている。 α -ヘリックスのラセン 1 回転あたりのアミノ酸残基数は 3.6 個であり、そのピッチは 5.4 Å である⁹⁾ (Fig 1)。一方、L-配位のアミノ酸側鎖を持つ β -ペプチド (2) の 14 員環ヘリックスは C-末端側に双極子の方向があり左まきである。ラセン 1 回転あたり 3 個のアミノ酸残基よりなり、そのピッチは 5.0 Å であることが明らかとなっている⁷⁾ (Fig 1)。

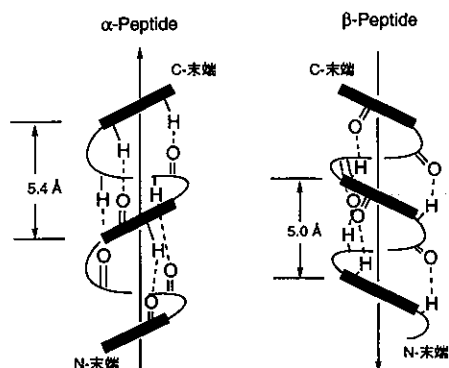
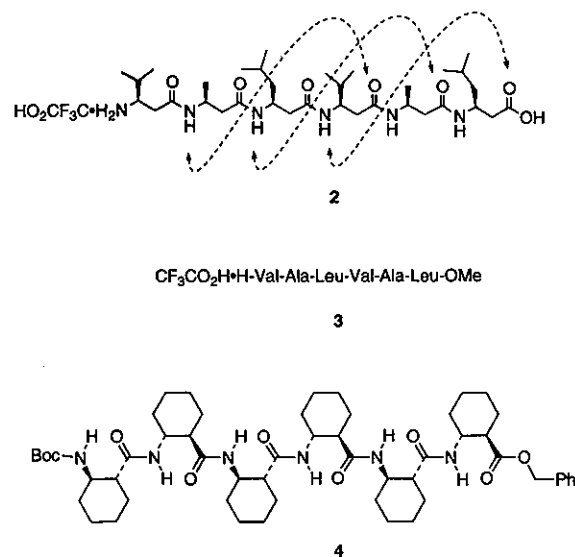
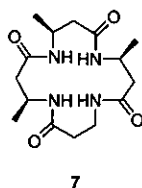
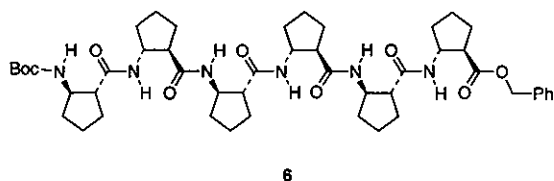
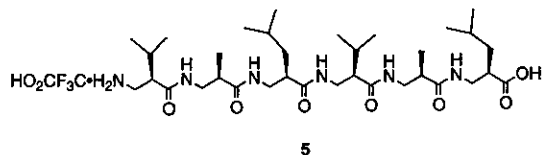


Fig. 1 α -ペプチドおよび β -ペプチドのヘリックス模式図

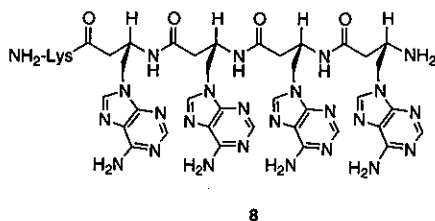


β -ペプチドの 14 員環ヘリックスと α -ペプチドの代表的な 13 員環 α -ヘリックスのラセン構造には、ラセンピッチや双極子の方向などで明らかな違いが認められる。 β -ペ

Seebach と Bellman らは、2 および 4 に関連する数十種類の β -ペプチド誘導体の二次構造を計算化学を用いて予想している。計算により予想された二次構造と合成された β -ペプチドの NMR および X 線結晶解析から得られた二次構造はよく一致する。これらの研究から、 β -ペプチドのヘリックス構造は構成 β -アミノ酸の側鎖の置換位置などにより大きく変化することが明らかとされている。例えば、 β -ペプチド (2) のアミノ酸側鎖の置換位置を 3 位から 2 位に変えた異性体 (5) は 14 員環ヘリックスを形成するが、ヘリックスは右まきとなり 2 の 14 員環ヘリックスよりも熱安定性が僅かに減少することが明らかとなっている^{7c)}。また、4 のシクロヘキサン環をシクロペンタン環に置き換えた β -ペプチド (6) は、14 員環ヘリックスよりもむしろ 12 員環ヘリックスを形成することが明らかとなっている^{8b)}。さらに、環状 β -ペプチド (7) は、結晶状態でシリンドー状に折り重なった集合体を形成することなども明らかにされている^{7b)}。



以上のように β -ペプチドには、 α -ペプチドでは見られない特異な二次構造が観察される。Seebach および Bellman の研究を契機に、 β -ペプチド誘導体を生物活性 α -ペプチド誘導体の構造修飾に利用する研究も行われるようになった。



α -ペプチドのアミノ酸側鎖に核酸塩基を導入した誘導体は α -ペプチド核酸(α -PNA)と呼ばれ、アンチセンス分子に利用されている¹⁰⁾。Diederichsen らは、 α -PNA の構成アミノ酸を β -アミノ酸に置き換えたペプチド核酸(β -PNA)の合成と構造解析を行っている¹¹⁾。Diederichsen らは、側鎖にアデニンを導入した β -PNA (8)の二次構造がヘリックスよりも β -シート型構造を取ることを見だしている。このことは、アデニンの塩基対形成能がペプチド結合の分子内水素結合に優先するためと予想されて

いる。このコンフォメーションにおいて、4つのアデニンの Watson-Crick および Hoogsteen 結合部位は塩基対を形成しやすいようにペプチドバックボーンの方の面に規則正しく配置される。したがって、8は二分子が会合して安定な二重鎖を形成することなどが明らかとされている。

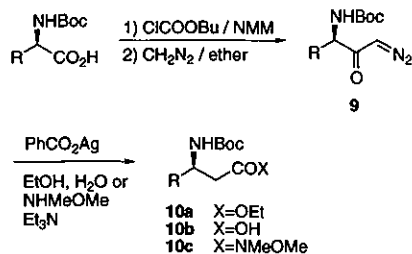
3. β -アミノ酸の不斉合成

β -アミノ酸の不斉合成に関しては、 β -アミノ酸が β -ラクタム系抗生物質の有用な合成中間体となることから、優れた方法が古くから知られていた¹²⁾。しかし、 β -アミノ酸誘導体のこれまで知られていなかった物性が明らかとなつて、従来法では合成困難な特異な置換基を持つ β -アミノ酸誘導体を簡便に合成するために、新しい不斉合成法や改良合成法が研究されるようになった。以下に、代表的な β -アミノ酸誘導体の不斉合成法について述べる。

3-1 β -置換- β -アミノ酸の不斉合成

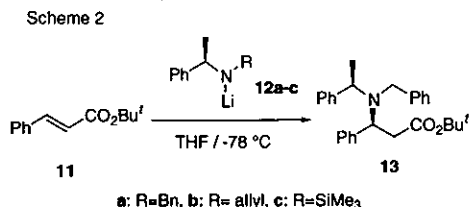
β -置換- β -アミノ酸の不斉合成法の一つに、*N*-Boc- α -アミノ酸から誘導されるジアゾケトン(9)を銀塩存在下で Wolf 転位する方法(Arndt-Eistert法)がある^{3,12)}。この方法は、Boc基以外にも Fmoc基や Cbz基などの窒素保護基が利用できる。通常、 β -アミノ酸は Wolf 転位で生成するケテン中間体をアルコールや水でトラップして β -アミノ酸エステル(10a)あるいは遊離酸(10b)として単離されるが、*N*, *O*-ジメチルヒドロキシアミンでトラップするとペプチド固相合成に利用可能なジメチルヒドロキサマー(10c)を合成することもできる¹³⁾。Arndt-Eistert法を利用する β -アミノ酸の合成は、爆発性のジアゾメタンを用いることから大量合成には不向きであるが、 α -アミノ酸をラセミ化することなく増炭することができるので、天然アミノ酸側鎖を有する β -置換- β -アミノ酸を合成するときに特に有効である。

Scheme 1



β -置換アクリル酸誘導体へのアミン類の不斉マイケル反応も光学活性 β -置換- β -アミノ酸を合成するときに有用な方法の一つとなる^{14,15)}。

Davies らは、 α -フェニルエチルアミンから誘導されるキラルなリチウムアミド (**12a**) と桂皮酸エステル (**11**) を低温で反応させると、マイケル反応が高ジアステレオ選択的に進行して付加体 (**13**) が高収率で得られることを見いだしている^{12a,14a)}。アミン求核剤として、**12a** 以外にもアリル基、トリメチルシリル基などの脱保護可能な置換基を持つリチウムアミド (**12b, c**) などが利用できる。この反応は、さまざまな β -置換アクリル酸エステルに適用でき、非天然型アミノ酸側鎖を持つ β -置換- β -アミノ酸の不斉合成に広く利用できる。しかし、 β 位の置換基に酸性度の高いプロトンがあると、リチウムアミドが塩基として働きジェノラートを生成しマイケル反応が進行しないことがある。



d'Angelo らは、クロトン酸の8-(2-ナフチル)メンチルエステル (**14**) とベンジルアミンを加圧条件下 (14~15 kbar) で反応させると、ジアステレオ選択的なマイケル反応が進行することを見いだしている^{15a)}。ナフチル基がクロトン酸の二重結合と π -スタッキングして、一方のジアステレオ面を遮蔽することによりベンジルアミンの付加する方向を制御している (Fig. 2)。類似の不斉マイケル反応は Yamamoto らも報告しているが、Yamamoto らはアミン求核剤として、リチウムシリルアミドと1価銅から調製した複合反応剤 (**16**) を用いている^{15b)}。

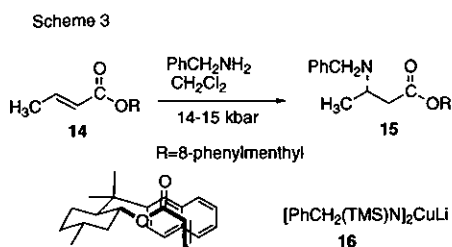
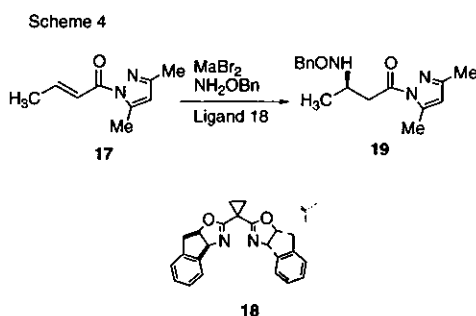
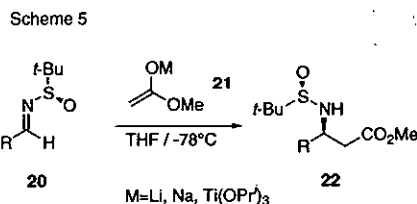


Fig. 2

上記の反応例は、アミン反応剤あるいは共役エステルに不斉補助基を導入して、ジアステレオ選択的に β -アミノ酸誘導体を不斉合成する方法である。最近、Sibi らは、MgBr₂ と不斉リガンド (**18**) から調製されるルイス酸が *O*-ベンジルヒドロキシアミンのクロトン酸アミド誘導体 (**17**) へのマイケル付加反応の有効な触媒となることを見だし、高純度の光学活性付加物 (**19**) を得ている^{15c)}。この反応は、アミン求核剤がキラルルイス酸触媒下の高い選択性で不斉マイケル反応した最初の報告例である^{15d)}。



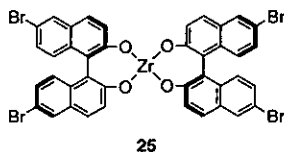
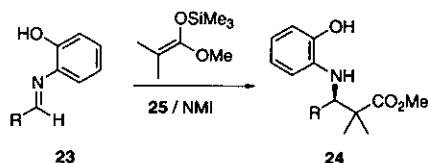
イミン誘導体とエステルエノラートの反応も β -置換- β -アミノ酸の不斉合成に利用されている¹⁶⁾。最近、Ellman らは、光学活性 *L*-ブタンスルフィニミン (**20**) とエステルエノレート (**21**) の反応を報告している^{16c)}。この反応のジアステレオ選択性は、エステルエノラートの金属種により大きく変動し、チタニウムエノレート (**21**: M=Ti(OPr^{*i*})₃) を用いたときに高いジアステレオ選択性が発現する。この反応は一般性が高く、さまざまな置換基をもつアルドイミンおよびケトイミンに適用できる。チタニウムエノレートと光学活性スルフィニミンの類似の反応は Fujisawa らも報告している^{16b)}。



キラルルイス酸触媒下にイミン類を活性化しエステルエノレートと反応させると、マンニヒ型反応がエナンチオ選択的に進行して β -アミノ酸誘導体が不斉合成できると推定されていたが、ほとんど反応例が知られていな

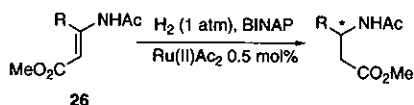
かった^{16d)}。最近, Kobayashi らは, $\text{Zr}(\text{OBu})_4$ とビナフトールから調製したキラルジリコニウム錯体 (25) の存在下に, イミン (23) とケテンシリルアセタールを低温で反応させると高純度の光学活性 β -アミノ酸誘導体 (24) が生成することを見いだしている^{16e)}。

Scheme 6



このほかにも, BINAP-Ru(II) 触媒下のデヒドロ- β -アミノ酸 (26) の不斉還元を利用する β -置換- β -アミノ酸の不斉合成が Noyori らにより報告されている¹⁷⁾。

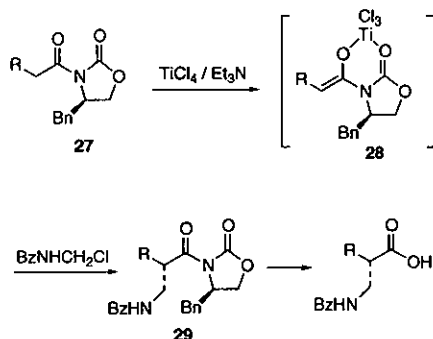
Scheme 7



3-2 α -置換- β -アミノ酸の不斉合成

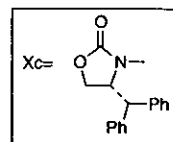
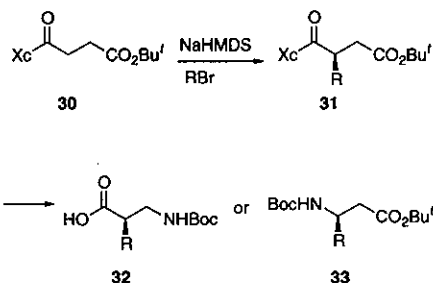
β -置換- β -アミノ酸の合成法と比較して, α -置換- β -アミノ酸の不斉合成法はあまり知られていない。 α -置換- β -アミノ酸誘導体の代表的な不斉合成法の一つに, 光学活性 *N*-アシルオキサゾリジノン (27) から調製されるチタニウムエノラート (28) を *N*-クロロメチルベンズアミド (BzNHCH_2Cl) でアミノメチル化して **29** に立体選択的に誘導する方法がある^{18a)}。この方法は収率, ジアステレ選択性ともに高いが, Cbz 基や Boc 基などのアミン保護基をもつ誘導体合成に拡張することができない難点がある。最近, Wyatte らは, *N*-Cbz-1-アミノメチルベンゾトリアゾールをアミノメチル化反応剤に用いる方法や $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{Bu}^t$ をアミノメチル基等価体として用いる改良合成法を報告している^{18b)}。

Scheme 8



Sibi らは, コハク酸から誘導される *N*-アシルオキサゾリジノン (30) のアルキル化反応を利用して, β -アミノ酸合成に有用な中間体 (31) を立体選択的に合成している。**31** は, 末端カルボキシレートを経ルチウス転位を利用して *N*-Boc 基に変換後, キラル補助基を除去することにより α -置換- β -アミノ酸 (**32**) に誘導することができる^{18c)}。また, **31** のキラル補助基を除去後, 生成するカルボキシル基を経ルチウス転位することにより β -置換- β -アミノ酸 (**33**) に誘導することもできる^{18c,d)}。

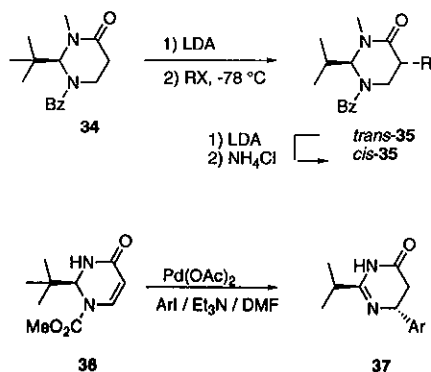
Scheme 9



Juaristi らは, アスパラギンから数工程で得られる光学活性ピリミドン誘導体 (34) を α -置換- β -アミノ酸の不斉合成に利用している^{19a)}。**34** を LDA でリチオ化後アルキル化すると, 求電子反応剤が立体障害の少ないジアステレオ面から反応して *trans*-**35** が高ジアステレオ選択的に生

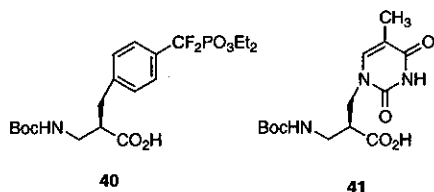
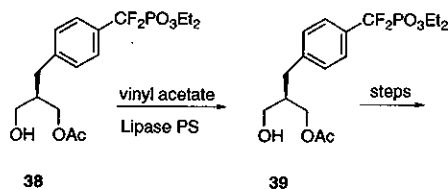
成する。また, *trans*-35 を LDA で処理し, 生成するエノレートをプロトン化するとエピメリ化反応が進行して *cis*-35 が高選択的に得られる^{19a)}。 *trans*-37 および *cis*-37 から α -置換- β -アミノ酸の両エナンチオマーをそれぞれ合成することができる。光学活性ピリミドン誘導体は, β -置換- β -アミノ酸の不斉合成に利用できる汎用性の高い合成中間体である。Konopelski らは, 不飽和ピリミドン誘導体 (36) を Heck 反応の条件下アリールヨジドと反応させると, マイケル型の付加反応が進行して 37 が立体選択的に生成することを見だしている^{19b)}。 37 を NaBH₄ で還元後, 加水分解することによりキラル補助基を除去することができる。

Scheme 10



著者らは α -置換- β -アミノ酸誘導体の不斉合成に, 1,3-プロパンジオール誘導体のリパーゼ触媒下の不斉アシル化反応を利用している²⁰⁾。 ジオール (38) を lipase PS の触媒下にビニルアセテートと反応させると, 光学活性アセテート (39) が高エナンチオ選択的に生成する。 39 のヒドロキシル基およびアセトキシメチル基をそれぞれ N-Boc 基およびカルボキシル基に変換することによりラセミ化すること

Scheme 11



となく α -置換- β -アミノ酸 (40) に誘導できる^{20a)}。 40 は, ペプチド性 PTP 阻害薬の有用な構成 α -アミノ酸 (F₂Pmp)²¹⁾ の β -アミノ酸類縁体である。本法は, β -ペプチド核酸 (β -PNA) の物性を明らかにするとき有用と推定される β -アミノ酸 (41) の不斉合成にも利用できる^{20b)}。

4. おわりに

以上, β -ペプチドの特異な物性ならびに β -アミノ酸の不斉合成法を簡単にまとめた。 β -ペプチドに関する研究は, 現在のところ構造解析を中心に進められているが, 興味深い生物活性を示す β -ペプチド誘導体も見いだされている²²⁾。紙面の都合で, このことを言及するには至らなかった。また, β -アミノ酸の不斉合成に関しては, β -置換- β -アミノ酸および α -置換- β -アミノ酸誘導体の代表的な反応例を中心に述べた。このほかにも, α , β -ジ置換- β -アミノ酸誘導体や α -ヒドロキシ- β -アミノ酸誘導体の優れた方法が多数報告されている^{3a, 12)}。

参考文献

- 1) 生物活性化合物の構造修飾-5, T. Yokomatsu, S. Shibuya, *The Chemical Times*, 177, 2(2000).
- 2) (a) D. Guenard, F. Gueritte-Voegelein, P. Potier, *Acc. Chem. Res.*, 26, 160(1993). (b) E. K. Rowinsky, R. C. Donehower, *Pharmacol. Ther.*, 52, 35(1991).
- 3) (a) *Enantioselective Synthesis of β -Amino Acids*, ed E. Juaristi, Wiley-VCH, New York, 1997. (b) S. Shinagawa, T. Kanamaru, S. Harada, M. Asai, H. Okazaki, *J. Med. Chem.*, 30, 1458(1987).
- 4) β -ペプチドに関する総説: (a) S. Borman, *Chem. Eng. News*, 36, 32(1997). (b) D. Seebach, J. L. Matthews, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 2015(1997). (c) U. Koert, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 36, 1863(1996). (d) S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.*, 31, 173(1998). (e) 現代化学, 1998年1月.
- 5) R. Graf, G. Lohaus, K. Börner, E. Schmidt, H. Bestian, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1, 482(1962). H. Yuki, Y. Okamoto, Y. Taketani, T. Tsubota, Y. Marubayashi, *J. Polym. Sci., Chem. Ed.*, 16, 2237(1978) and references cited therein.
- 6) J. M. Fernández-Santin, J. Ayami, A. Rodríguez-Galán, S. Muñoz-Guerra, J. A. Subirana, *Nature*, 311, 53(1984).
- 7) (a) D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta*, 79, 913(1996). (b) D. Seebach, J. L. Matthews, A. Meden, T. Wessels,

- C. Baerlocher, L. B. McCusker, *Helv. Chim. Acta*, **80**, 173 (1997). (c) D. Seebach, S. Abele, K. Gademann, G. Guichard, T. Hintermann, B. Jaun, J. L. Matthews, J. V. Schreiber, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta*, **81**, 932 (1998).
- 8) (a) D. H. Appella, L. A. Christianson, I. L. Karle, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 13071 (1996). (b) D. H. Appella, L. A. Christianson, D. A. Klein, D. R. Powell, X. Huang, J. J. Barchi, Jr., S. H. Gellman, *Nature*, **387**, 381 (1997).
- 9) 濱口浩三, 改訂 蛋白質機能の分子論, 学会出版センター, 1990.
- 10) (a) B. Hyrup, R. E. Nielsen, *Bioorg. Med. Chem.*, **4**, 5 (1996). (b) U. Diederichsen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **35**, 445 (1996). (c) T. Yokomatsu, S. Shibuya, *The Chemical Times*, **174**, 6 (1999).
- 11) U. Diederichsen, H. W. Schmitt, *Eur. J. Org. Chem.*, 827 (1998); *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 302 (1998).
- 12) β -アミノ酸の合成に関する総説: (a) S. G. Davies, 市原 収, 有機合成化学協会誌, **55**, 42 (1997). (b) E. Juaristi, D. Quintana, J. Escalante, *Aldrichimica Acta*, **27**, 3 (1994). (c) A. F. Abdel-Magid, J. H. Chen, C. A. Maryanoff, *Current Med. Chem.*, **6**, 955 (1999).
- 13) D. Limal, A. Quesnel, J.-P. Briand, *Tetrahedron Lett.*, **39**, 4239 (1998).
- 14) (a) S. G. Davies, O. Ichihara, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2**, 183 (1992). (b) J. M. Hawkins, T. A. Lewis, *J. Org. Chem.*, **57**, 2114 (1992).
- 15) (a) J. d'Angelo, J. Maddaluno, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 8112 (1986). (b) Y. Yamamoto, N. Ueyehara, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 5427 (1992). (c) M. P. Sibi, J. J. Shay, M. Liu, C. P. Jasperse, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 6615 (1998). (d) T. Ishikawa, K. Nagai, T. Kudoh, S. Saito, *Synlett*, 1291 (1998).
- 16) (a) F. A. Davis, J. M. Szweczyk, R. E. Reddy, *J. Org. Chem.*, **61**, 2222 (1996). (b) T. Fujisawa, Y. Kooriyama, M. Shimizu, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 3881 (1996). (c) T. P. Tang, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.*, **64**, 12 (1999). (d) E. J. Corey, C. P. Decicco, R. C. Newbold, *Tetrahedron Lett.*, **32**, 5287 (1991). (e) H. Ishitani, M. Ueno, S. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 7153 (1997).
- 17) W. D. Lubell, M. Kitamura, R. Noyori, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2**, 543 (1991).
- 18) (a) D. A. Evans, F. Urpi, T. C. Somers, J. S. Clarke, M. T. Bilodeau, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 8251 (1990). (b) E. Arvanitis, H. Ernst, A. A. Ludwig, A. J. Robinson, P. B. Wyatt, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 521 (1998). (c) M. P. Sibi, P. K. Deshpande, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1461 (2000). (d) D. A. Evans, L. D. Wu, J. J. M. Wiener, J. S. Johnson, D. H. B. Ripin, J. S. Tedrow, *J. Org. Chem.*, **64**, 6411 (1999).
- 19) (a) E. Juaristi, D. Quintana, M. Balderas, E. Garcia-Pérez, *Tetrahedron: Asymmetry*, **7**, 2233 (1996). (b) K. S. Chu, G. R. Negrete, J. P. Konopelski, F. J. Larkner, N-M Woo, M. M. Olmstead, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 1800 (1992).
- 20) (a) T. Yokomatsu, T. Minowa, T. Murano, S. Shibuya, *Tetrahedron*, **54**, 9341 (1998). (b) 横松 力, 高田 健, 湯浅洋子, 渋谷 皓, 日本薬学会第120年会(岐阜)要旨集 **2**, p 88 (2000).
- 21) T. Yokomatsu, S. Shibuya, *The Chemical Times*, **174**, 6 (1998).
- 22) M. Werder, H. Hauser, S. Abele, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta*, **82**, 1774 (1999).

〔お知らせ〕 THE CHEMICAL TIMES 2001年 No.1 (通巻179号)の「ドイツ科学史巡礼(原田 馨)」におきまして、p.24の参考文献5) E. Farber ed., 「Great Chemists」, p.1019~1030, Interscience Publishers, (1961). で、アンダーライン表示部分の印刷欠落誌が一部、混入致しました。ここにそのお知らせとお詫びを申し上げます。

〔お願い〕 弊誌はご愛読者の皆様年に4回郵送しております。皆様方に確実にお届けするために郵送先の見直しを行っております。添付の用紙に、「送付先変更又は送付中止」の方のみ、FAX又はE-メールで広報室・北原音作まで、ご連絡をお願い申し上げます。 FAX 03-3279-5560 E-mail: chemiti-info@gms.kanto.co.jp

〈編集後記〉 21世紀を迎えて第2号となるケミカルタイムズ春季号をお届けいたします。昨年来の予報では今年は暖冬との予想でしたが、降雪地域においては数年ぶりの大雪に見舞われ、全国的にも厳しい冬となりました。いよいよ4月に入り、皆様方の地域ではもう春でしょうか。日本を代表する桜の開花で春の到来を実感し、冬の間中おおっていた厚着を脱ぎ去り、萎縮気味だった心身を思いきり解放すに絶好の季節です。

またスポーツ界を代表するプロ野球が開幕し、野球ファンにとっては待望の季節でもあります。今年は日本プロ野球代表のイチロー、新庄の両選手が、メジャーリーグに挑戦しその活躍が期待されます。ファンのみならず全国民が日本、米国の両方に目を離せず、季節から睡眠不足が一段と加速することが心配ですが、景気の回復に大きなインパクトを与える好材料となることを期待するものです。(三城記)



関東化学株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>
編集責任者 三城 侑三 平成13年4月1日 発行