

# 琉球大学学術リポジトリ

## [寄稿]ペプチド研究とハイペップ研究所沖縄ラボ設立 (2)ペプチドライブラリー構築の実際とその応用

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): Chemical library, Solid-phase synthesis, Molecular recognition, Highly efficient peptide synthesis, Combinatorial library, Characterization, Peptide-array 作成者: 軒原, 清史, 川上, 博哉, 大山, 貴史, NOKIHARA, Kiyoshi, KAWAKAMI, Hirochika, OHYAMA, Takafumi メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016622">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016622</a>

## ペプチド研究とハイペップ研究所沖縄ラボ設立 (2) ペプチドライブラリー構築の実際とその応用

軒原清史、川上博哉、大山貴史

\*<sup>株</sup>ハイペップ研究所

### Peptide Science and HiPep OKINAWA Laboratory (2) Construction of peptide libraries, practical methods and their applications

Kiyoshi NOKIHARA, Hirochika KAWAKAMI, Takafumi OHYAMA

*HiPep Laboratories*

#### 要旨

近年、分析技術の進歩や創薬競争における時間の節約と特許の網を広くかけるための幅広い検討などから化合物ライブラリーが注目を集めてきた。化合物ライブラリーは天然物、遺伝子産物に加え、化学合成によるものに大別できる。化学合成は、天然にない構造も作れるということで分子デザインの観点から特に重要である。生体内の認識による免疫応答、受容体を介する情報伝達など重要な役割を担っているペプチドの化学合成法（ペプチド結合の生成）は確立された手法があり、構成アミノ酸残基の様々な側鎖によって分子に多様性を持たせることができ、デザインしやすい。ゲノム情報の拡大と充実化に伴ってペプチドは重要な生体分子として再び脚光を浴び、創薬研究の出発点や生体防御からパーソナル医療という視点でも注目されている。ハイペップ研究所はペプチドを生体材料として、認識の素子へ応用しようと研究開発を進めている。

Keywords : Chemical library, Solid-phase synthesis, Molecular recognition, Highly efficient peptide synthesis, Combinatorial library, Characterization, Peptide-array

#### はじめに

多様な分子種の集団として定義される化合物ライブラリーは、化学合成物（ペプチド、核酸、PNA、糖、低分子有機化合物）、天然物由来化合物、そして遺伝子発現産物（例えばファージディスプレイ法）がある。化合物ライブラリーの構築は機能性分子の探索と最適化のための技術として発達してきた。コンビナトリアルケミストリーは、元来ペプチドの多種品目同時迅速固相合成から生み出され、実践されてきた<sup>[1]</sup>。特に固相法は不溶性樹脂（ポリマービーズ）の上にユニットとなる化学分子（ビルディングブロックと言う）をつなげていくことによって、分

子鎖を伸張し、いちいち精製しないで合成を進められるため、合成に迅速性をもたらす。ハイペップ研究所では化学合成物を中心にライブラリー構築を行っている。さらに、天然物からの生物活性物質関連のライブラリー構築も行い有用物質の探索を実施してきた。いずれも、有機合成化学と分析化学のノウハウがキーとなっている。

21世紀は生体の機能を応用した産業の時代であるといっても過言ではない。生体は、その生命維持のために分子同士の認識を用いて各種の情報伝達を行っているが、その認識機構は極めて特異的であり、分子の多様性がこれに対応している。すなわち、生体は特異性と選択性の高い省資源・省エネルギー型反応により、多くの機能を並行して稼働させ、恒常性

\*沖縄県うるま市字州崎12-76-203

を維持している。この分子認識機構で中心となるのはタンパク質／ペプチド同士の相互作用である。ペプチドはその構成ユニットがアミノ酸であり、それらは側鎖の官能基を有し、その官能基の数と種類が組み合わせの多様性を生み出し、ここで特異的な分子認識・分子識別が行われる。多細胞生物は G 蛋白質共役受容体 (GPCR) によって内外環境からくる多くの信号を認識し処理する。この大ファミリーに属する膜貫通蛋白質は中枢神経系や体内中で細胞間の傍分泌や内分泌、神経を介した連絡を細胞が授受するのを可能とする。また、GPCR と生体内のリガンドの相互認識は生体の恒常性や機能を調節している場合が多く、そのリガンドに基づく医薬は催奇性の懸念が少なく、さらに受容体とリガンドの結合領域は他の受容体と比べて狭い範囲に限定されている場合が多いため、低分子医薬の開発の可能性が高いとされている。このためコンビナトリアルケミストリー技術の応用に適していると考えられ、近年、創薬分野で熾烈な競争が行われており、探索や、ヒット化合物の構造デザインによる最大化および最適化を目指して、高効率な手法が求められている。コンビナトリアルケミストリーとハイスループットスクリーニング (HTS) のパラマウントは一括網羅的なあらゆる組み合わせとそれに続く特異的選択法である。軒原は、脳・消化器を中心に生体の分子認識に関し、合成ペプチドを用いて受容体タンパク質との相互作用の研究を長年続けてきた。特に脈管作動ペプチドの認識を受容体レベルで追求してきた。高効率なペプチドとその誘導体の合成、精製、検定技術、並びにライブラリー構築と構築物の検定技術を得意としており、現在これらを駆使した研究開発を展開している。

2004年末からハイペップ研究所は、沖縄県の「平成16年度バイオベンチャー企業研究開発費補助事業」によって沖縄ラボラトリーを設立した。前稿では沖縄にラボを新設したハイペップ研究所の目指すところに加え、ペプチドの医学薬学分野での現況をまとめた<sup>[2]</sup>。本稿では、ハイペップ研究所の研究開発の中で重要な位置を占めるペプチドによる化合物ライブラリー構築を中心に、実際の手法やその応用に関して筆者らのこれまでの研究を紹介する。

## 1. ペプチドライブラリーとハイペップ研究所の技術ノウハウ

ハイペップ研究所を設立した軒原は長年に亘り、ペプチド合成反応における収量の向上、反応時間の最適化、難シーケンス (合成中に保護ペプチドがレジジン上でアグリゲーションなどを起こし、ペプチド鎖の伸長が妨げられ、欠陥ペプチドや目的物ではない生成物ができやすいアミノ酸配列) 対策なども研究してきた<sup>[3~8]</sup>。ドイツから帰国し、島津製作所の研究開発長の時代にはこの知見を生かして、今までにないペプチド合成装置を開発した (当該装置に関する発明は平成7年当時の科学技術庁の注目発明に選ばれた)<sup>[5,6,9]</sup>。さらにその後、ペプチドのみならず一般の有機合成化学に焦点を当て、自動化による合成ロボットワークステーション (平成10年度の第3次補正予算で軒原が提案、採択された新エネルギー・産業技術総合開発機構の委託研究開発)、プロセス検討に適したマニュアル合成機の開発など、高効率合成に関して機器 (デバイス) 面でも追求した<sup>[10]</sup>。また、合成とともに検定技術の研究も行い、より高感度で迅速な手法やデバイスを開発し、分子不斉解析でも世界で初めてとなる DLAA という自動キラル分析装置も開発した。さらに、分離精製においてもその手法と同時に新規の充填剤や、クロマトグラフィ用カラムの開発も行ってきた。機器の開発と並行して、合成ペプチドを駆使した、脈管作動性ペプチドの受容体認識の研究や、臓器 (天然物) からの単離精製、免疫組織化学的手法を駆使し、ペプチド受容体の臓器内における局在の検討も行った。また、内因性ペプチドの溶液中の構造解析を NMR を用いて解析し、そこで得た知見から構造と活性の関連について、数多くのペプチド誘導体を合成し研究を進めてきた<sup>[11~20]</sup>。1990年代からは、特に高効率化では、同時多種合成法の開発に力をいれ、HLA クラス I 認識ペプチドライブラリー<sup>[21~28]</sup> や抗酸化ペプチドライブラリー<sup>[29~33]</sup> などの研究を進め、一括同時アッセイのための化合物ライブラリー構築に力を注いだ<sup>[33]</sup>。このようにハイペップ研究所はペプチド関連物質の合成と検定、さらにその応用を主体とした技術を有するが、将来は工業生産スケール (GMP レベル) のペプチドおよびその誘導体の製造を株式上場とともに事業計画に盛り込んでいる。

## 2. ペプチドライブラリーの構築

### ① 一粒のビーズ（固相担体）に一種類のペプチド鎖だけが固定化された混合物ライブラリー

混合物ライブラリーのペプチドライブラリー構築の基本は混合分配繰り返しによる方法が知られている（図1）。異なる化合物を混合（mix）、均等に分割（split）、縮合を繰り返すことによりライブラリーを作製する方法であり、A等分の分配と混合をn回繰り返すことにより、A<sup>n</sup>種類の化合物からなるライブラリーを得ることが出来る。この方法は多種類のライブラリーを構築するのに優れた方法である。この方法を丹念に繰り返すことによって、固相担体であるレジーン一粒上に一種の配列のペプチドだけが存在することになる。通常エピトープなどの認識の最低単位は3-4残基とされているが、ペプチドの取るコンフォメーションをより確実にするために5～6個のアミノ酸が連結しているのが望ましいとされている。Cys残基の側鎖であるスルフィドリル基は不安定であるためライブラリー構築ではCys残基を除外することが多い。一方、筆者らのペプチドアレイでは認識素子としてのアミノ酸配列中にCysを用いず、Cys残基を固定化のアンカーに応用している<sup>[35]</sup>。Cysを除く19種の天然アミノ酸を6個つなげた場合19の6乗であり約4700万種類のペプチドが理論的に存在する。この原理を基にK.S. Lamらは、One Peptide on One Bead法を発表した<sup>[36]</sup>。実際に当該手法により、細胞表面受容体に対するリガンドの認識モチーフを決定した。この手法の代わりにDNAによってファージにペプチドを発現させる方

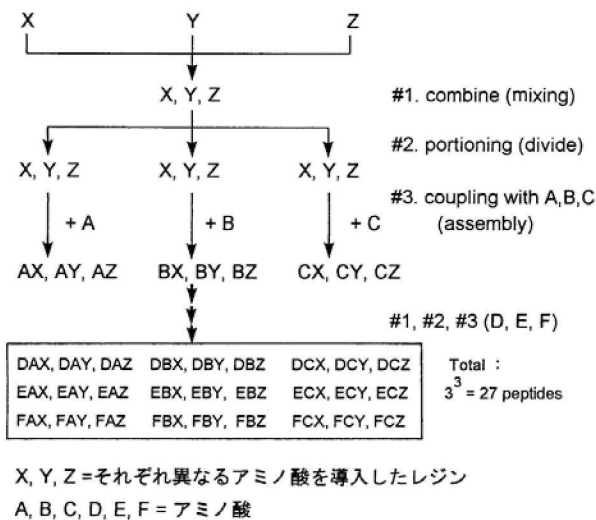


図1 混合分配法によるライブラリー構築の基本概念

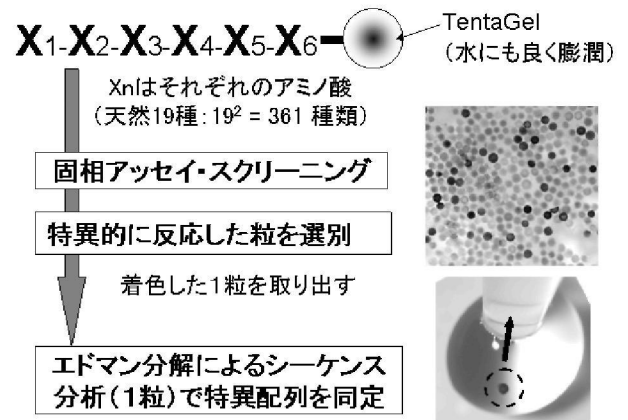


図2 一粒のビーズ（固相担体）に一種類のペプチド鎖だけが固定化された混合物ライブラリーからペプチドレジンのスクリーニング例

法もあるが、化学合成ではD-アミノ酸や非天然アミノ酸を用いることができ、さらには環状化合物ライブラリーなどの構築も容易であるという利点がある。筆者らが作製したヘキサペプチドライブラリー（6-mer）は固相担体にポリオキシエチレンとポリスチレンの共重合体であるTentaGelRを用いているが、このビーズは有機溶媒（合成溶媒）のみならず水にも良く膨潤する（バッファーなどの生物アッセイ溶媒）（図2）。また軒原らはスクリーニングやバイオアッセイ（固相アッセイ）により得られた、特異的に反応したレジンをエドマン分解することによって配列を決定し、N末端2残基を特定のアミノ酸で固定したヘキサペプチドライブラリーを作製した<sup>[37]</sup>。N末端2残基を固定することにより配列解析法の確認が容易となった。

### ② 混合物ではない多種同時ライブラリー構築、抗酸化トリペプチドライブラリー

大豆部分消化物の中から抗酸化ペプチドを見出し、トリペプチド（3-mer）が活性のコアであることが示された<sup>[30-33]</sup>。最近、筆者らは標識ペプチド群の迅速精製を目的として96種同時一括処理デバイス AB96を開発した。当該AB96を駆使し、トリペプチドライブラリーを迅速に作成した。図3は合成と粗ペプチドの検定の例である。抗酸化スクリーニング手法も改良し、それぞれの活性スペクトルを解明した。図4は改良した多種一括抗酸化アッセイの結果の一例である<sup>[34]</sup>。



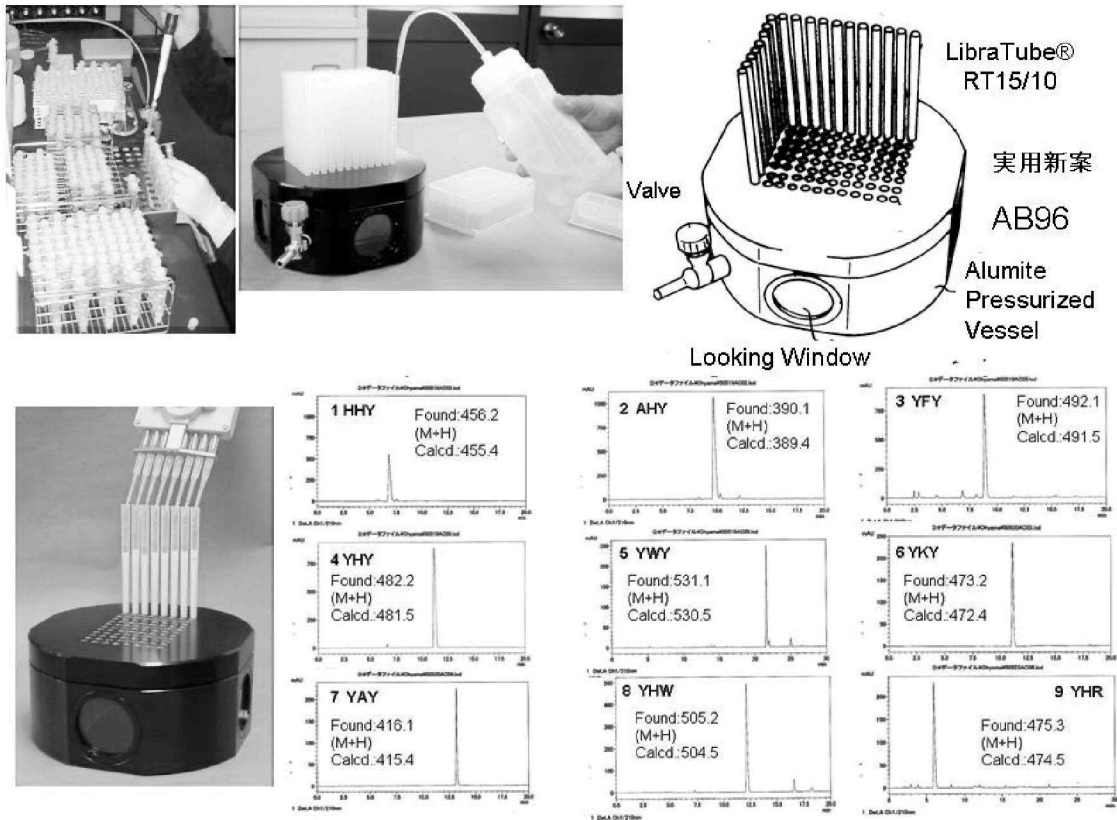
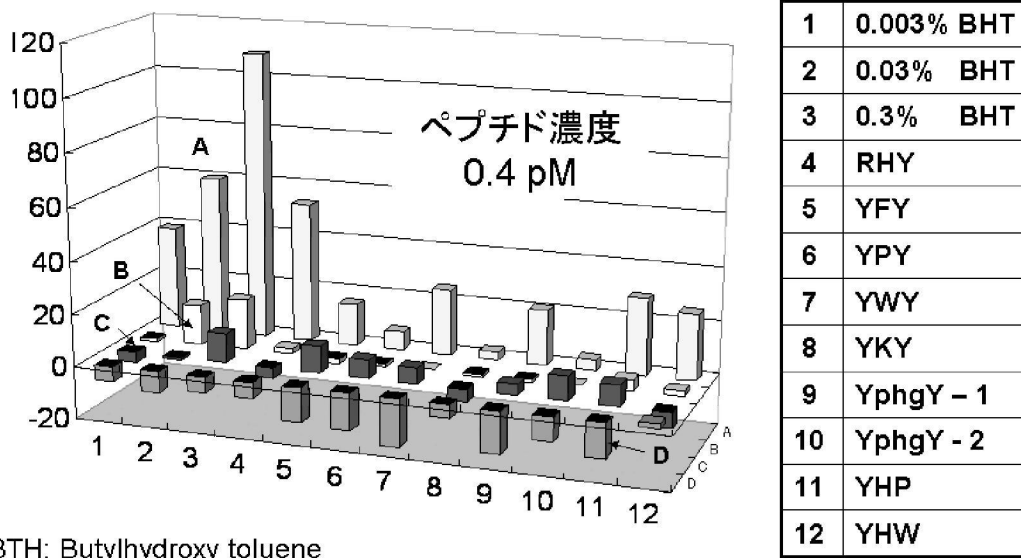


図3 手動によるトリペプチドライブラリー構築と典型的な合成粗ペプチドのLCMSによる検定

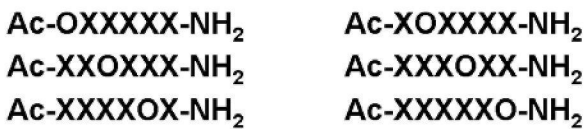


BHT: Butylhydroxy toluene  
 A:  $\beta$ - carotene/ linoleic acid system  
 B: Radical Scavenging Activity using 1,1-diphenyl 2-picrylhydazyl method  
 C: SOD Assay Kit-WST (Dojin Co.Ltd.)  
 D: Peroxidase inhibitory activity (Guaicol method used for old rice discrimination)

図4 抗酸化アッセイ結果の例 (Multiple Antioxidative Assays for the 2nd Library)

③ ポジションスキャンライブラリーによるもっとも都合のよいユニット(アミノ酸残基)を推定する

Houghtenらは合成とスクリーニングの繰り返しを排除した Position Scanning (ポジションスキャン)法を考案した<sup>[38]</sup>。この方法は、あらかじめ定められた位置に任意のアミノ酸を固定してライブラリーを作製するものである。例えば19種のアミノ酸からなるヘキサペプチドライブラリー(6-mer)では、各位置に19種のアミノ酸をそれぞれ導入し、その他のすべての位置には19種のアミノ酸等モル混合物が導入される。この結果、 $19 \times 6 = 114$ 種の混合物ライブラリー(ペプチドの種類としては約4700万種類)が構築される(図5)。作製されたポジションスキャンライブラリーのスクリーニングによって各々のポジションで好ましいアミノ酸残基が推定できるため、可能性のあるペプチド配列の再合成、再スクリーニングを経て最も活性の高いペプチドが決定できる。ターゲットの構造が皆目見当がつかない場合にとりわけ好都合なこの手法は、①リード探索に有用、②迅速簡便なターゲットの構造推定が可能(ヒットがわかりやすい)、③ペプチドライブラリーに限定されず、有機化合物小分子ライブラリーなどにも適用できる、④少量でもアッセイが可能、など利点が多い。しかしながら、各成分のペプチドの量を均等に存在させることは労力を要する作業であり、スクリーニングにおいてはこの点が最も重要となる。図6にポジションスキャンライブラリー構築法を模式的に示す。一般的な構築方法ではアミノ酸を混合物で導入するため、各アミノ酸残基によって反応性に違いを生じ、立体障害の少ないアミノ酸残基が優先的に導入されるため、均一な混合物は得られない。しかし、スクリーニングの成否はライブラリーの質だけではなく、アッセイの感度にも左右されるため、例え



X=19種のランダムアミノ酸混合 O=19種の各々のアミノ酸  
 $19 \times 19 \times 19 \times 19 \times 19 \times 19 = \text{約}4700\text{万種類}$

対内因性分解酵素 = N末端アセチル化(Ac); C末端はアミド

図5 Solution Assayのためのポジションスキャンライブラリーの模式図(6-merヘキサペプチドの場合)

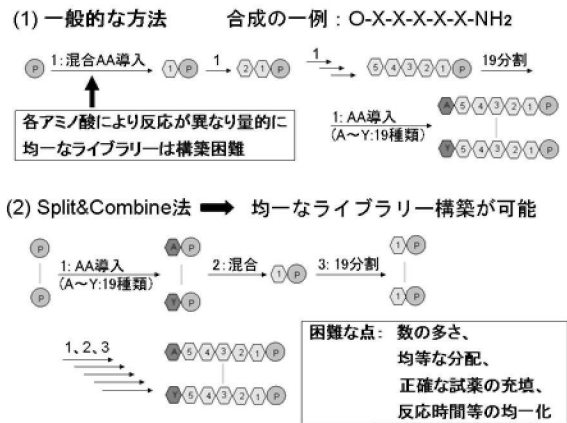


図6 ポジションスキャンライブラリーの構築法

ばCTLアッセイなどでは大きな問題にはならない。

我々は、感染性心内膜炎の予防薬となりうるリード化合物の探索において「Split & Combine法(分割・混合法)」を用いてライブラリーの構築を行った。Split&Combine法は煩雑で多くの労力を要するが、均一なライブラリーを構築するにはこの方法しかない。この方法により作製した114種類のポジションスキャンヘキサペプチドライブラリーを用いて、スクリーニングを行った。アッセイ時の反応性を高めるべく、N末端はアセチル化ではなくビオチン化した。感染性心内膜炎は、口腔の常在細菌の血流への侵入によって誘導されることが多く、高リスク者における発症予防には、抗生剤が広く使用されている。しかし周知のごとく抗生剤の頻繁な使用による薬剤耐性菌の蔓延は、社会的な問題となっており、抗生剤に代わる、より安全でより効果的な感染症予防薬の開発が望まれている。筆者らは、フィブロネクチンに対する細菌の付着が本疾患の成立のために必須の第1段階であり、これまでに知られていなかった機序によるフィブロネクチンと心内膜炎起炎菌との相互作用の存在を発見した<sup>[39]</sup>。そこでこの細菌とフィブロネクチン間の相互作用を阻害できる候補物質をライブラリー技術を駆使して探索した。前述のN末端をビオチン標識した6-merのランダム・ポジション・スキャン・ペプチドライブラリーを構築し、すでに樹立した細菌のフィブロネクチンに対する結合を阻害するモノクローナル抗体を用いて、抗体との結合性によってライブラリーのスクリーニングを行った。期待されるペプチド配列は、細菌が結合する領域のフィブロネクチンの、局所的な高次構造を模倣するものであると想定した。6-merの

ライブラリーによる一次スクリーニングで示唆された各ペプチドを個別に合成し、細菌のフィブロネクチンに対する付着への影響を検討したが、期待した特異的抑制作用を示唆する配列を見出すことはできなかった。このことから、立体構造依存性のエピトープの関与の可能性が考えられた。すなわち、当該モノクローナル抗体が認識するのは不連続なアミノ酸残基で構成される立体構造であると推定した。そこで、よりリジッドな構造を求めて長鎖の 9-mer のライブラリーを構築し、評価した。9-mer のオンビーズライブラリーでは出発原料の固相担体が 100kg 単位で必要となり、現実的ではなく、ポジションスキニングが有利である。ノナペプチド (9-mer) のポジションスキニング・ペプチドライブラリーの構築では、構築に要する合計時間を短縮し、効率化を図るために、厳密に Split&Combine 法を行うのではなく、アミノ酸誘導体の混合物をカップリングに用いることにした。19種のアミノ酸は筆者らの過去の経験に基づき、その反応性から 2群に大別し混合物で縮合反応を実施した。その結果、構築に要する時間が 10分の 1 に短縮された。一次スクリーニングの結果、1・3・4・5・6・7・8 位のアミノ酸残基が特定でき、2 と 9 番目の位置はどのアミノ酸でも許容されることが判明した。この結果に基づいて設計した二次ライブラリーの合成では個々のペプチドを個別に合成した。その結果 3種のペプチドが抗体への特異的な結合能を示した<sup>[40]</sup>。

#### ④ 天然物からの化合物ライブラリー構築 (天然物ライブラリー)

天然物ライブラリーとは、臓器、植物、海洋生物、微生物代謝産物などの粗抽出物もしくはそれらから得られる多様な化合物をライブラリー化したものであり、すでに多くの製薬企業や研究所が独自の天然物ライブラリーを保有している。我々は、創薬よりむしろ生体機能解明という観点で、伝統医学的見地から活性を示すとされる天然物由来の粗抽出物の中から生物活性を有する化合物の探索同定も実施している。図 7 に筆者らの天然物ライブラリー構築の流れを示す。例えばサソリ毒囊 (図 8 右端円内) にはチャンネルブロッカーとして知られているジスルフィド含有ペプチド群が存在する。これを抽出してサソリ毒関連ライブラリーを構築した (未発表)。(図 8)

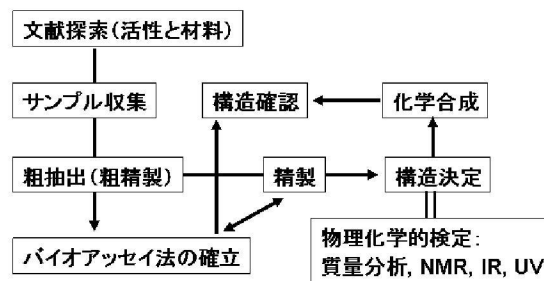
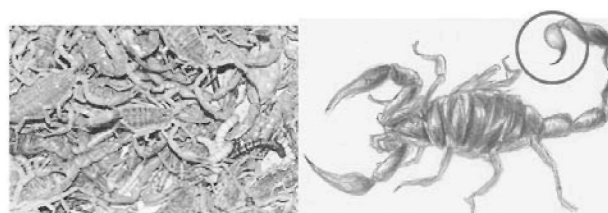


図 7 筆者らの天然物ライブラリー構築と有用物質探索のストラテジー



- ① Extracted with TFA-ACN
- ② Chromatographed on RP-C18 Column
- ③ Bioassay
- ④ Positive Fraction Protein Sequence Analyses
- ⑤ Homology Search

図 8 サソリ毒囊からの活性物質の探索

天然物ライブラリーの構築では、HPLC による分離精製が必須であり、多種多様な化合物を高純度を得るためにはカラムの分離性能がきわめて重要である。天然物ライブラリーでは合成生成物とは異なり、HPLC 上での大きなピークがターゲットとは限らず、ごく微量の成分でも有用な生理活性を示す可能性があるため、小さいピークであったも見逃すわけにはいかない。10年以上前、軒原は、高い分解能を実現するために、SynProPep カラムを開発し、合成品のみならず臓器抽出等で駆使した。しかしその後、充填剤の原料が入手できなくなり、要求する性能を満たす ODS カラムがなくなったため、以前の共同研究者が興したインタクト社と共同で、新規に HiPep-Cadenza カラムを開発した。このカラムの特長は塩基性アミノ酸残基の多いペプチドでも、ピークの切れがよく分離できることである (図 9)。本カラムの使用で、丸印の微量成分の分離も容易となり、市販の普及カラムでは分取できなかった矢印のピークも分取できるようになった。この HiPep-Cadenza カラムを用いて、多種の天然物の成分ライブラリーの構築を高効率に進めている (図 10)。

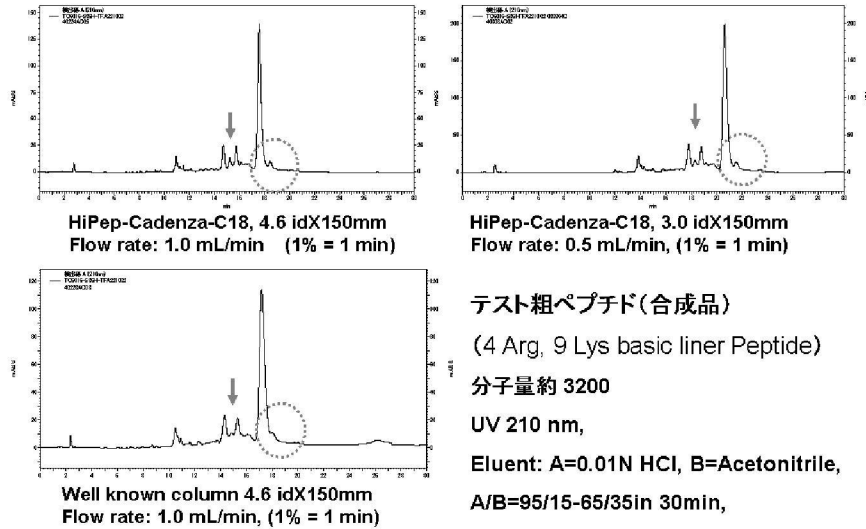


図9 筆者らの開発した高分解能のODSカラムの特徴と分離の比較

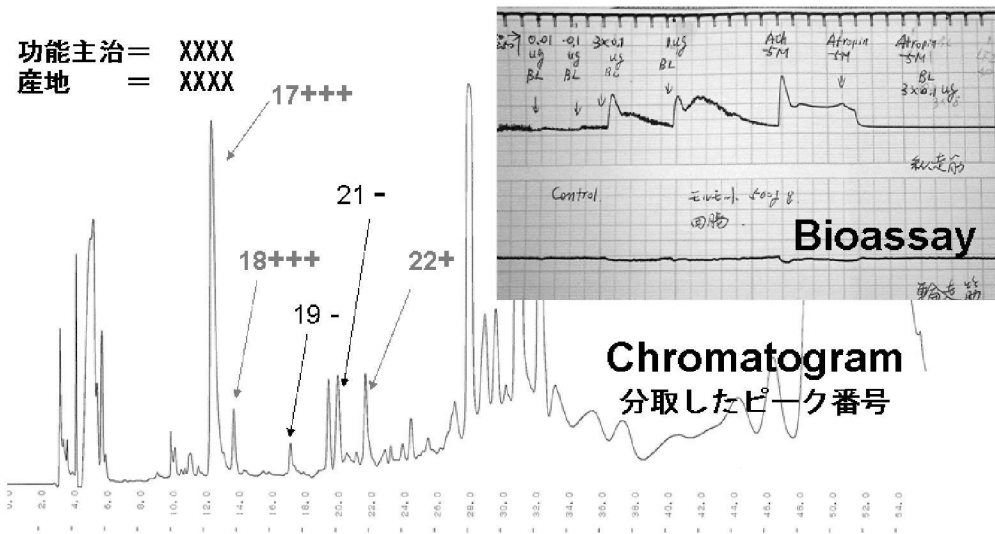


図10 天然物の成分中の脈管作動物質の探索  
 バイオアッセイでの各ピークの活性の強度を+印で示す。

おわりに

本稿では、筆者のこれまでの研究の内、ハイペップ研究所の技術ノウハウとペプチドライブラリーを中心に化合物ライブラリーについて解説した。コンビナトリアルケミストリーの発達に伴ったハイスループットスクリーニング技術の進歩は医薬品をはじめとする有用物質の探索に大きな効率を与えてきた。コンビナトリアルケミストリーの応用による研究の迅速化と化合物ライブラリーへの需要は今後ますます高まるものと予想される。ハイペップ研究所では、これからも当該研究の基盤をなすペプチドやライブラリー構築とスクリーニング法を駆使し、多くの有

用物質の開発を行っていきたい。また、前稿 [2] で述べた次世代バイオチップの実用化に向けて日々邁進している。

参考文献

[1] 軒原清史、化学と生物、学会出版センター、34、670-675、610-615、1996: 39、56-62、2001.  
 [2] 軒原清史、南方資源利用技術研究会誌、21、23-31、2005  
 [3] Nokihara, K., and Semba, T., *J. Amer. Chem. Soc.*, 110, 7847-7854, 1988.  
 [4] Nokihara, K., *Peptides*, 11, 185-191, 1990.

- [5] 軒原清史、有機合成化学協会誌、52, 347-358, 1994
- [6] 軒原清史、高分子学会誌、43, 611-615, 1994,
- [7] Nokihara, K., Nagawa, Y., Hong, S-P., and Nakanishi, H., *Letters in Peptide Science*, 4, 141-146, 1997.
- [8] Nokihara, K., and Yasuhara, T., ed. Epton, R., *Solid Phase Synthesis and Combinatorial Chemical Libraries 1998*, Mayflower Scientific Ltd., Birmingham, UK, 105-110, 1999.
- [9] Nokihara, K., Yamamoto, R., Hazama, M., Wakizawa, O., and Nakamura, S., *Innovation and Perspectives in Solid-Phase Synthesis 1992*, ed., Epton, R., Intercept Limited, Andover, UK, 445-448, 1992.
- [10] Nokihara, K., *Innovations and Perspectives in Solid-Phase Synthesis and Combinatorial Chemical Libraries 2002*, ed: Epton, R., Mayflower Scientific, UK. 61-66, 2002.
- [11] Naruse, S., Suzuki, T., Ozaki, T., and Nokihara, K., *Peptides*, 14, 505-510, 1993.
- [12] Wray, V., Kakoschke, C., Nokihara, K., and Naruse, S., *Biochemistry*, 32, 5832-5841, 1993.
- [13] Ando, E., Nokihara, K., and Naruse, S., *J. Biomedical Peptides, Proteins and Nucleic Acids*, 1, 45-50, 1994/5.
- [14] Wray, V., Nokihara, K., Naruse, S., Ando, E., Kakoschke, C., and Wei, M., *J. Biomedical Peptides, Proteins and Nucleic Acids*, 1, 77-82, 1995.
- [15] Ando, E., Nokihara, K., Naruse, S., and Wray, V., *Biomedical Peptides, Proteins and Nucleic Acids*, 2, 41-46, 1996.
- [16] Suzuki, M., Nokihara, K., Naruse, S., and Kobayashi, S., eds. A. Arimura and S. I. Said, *VIP, PACAP, and Related Peptides, Annals of the New York Academy of Sciences*, 805, 692-696, 1996.
- [17] Suzuki, M., Nokihara, K., Naruse, S., and Kobayashi, S., eds. A. Arimura and S. I. Said, *VIP, PACAP, and Related Peptides, Annals of the New York Academy of Sciences*, 805, 692-696, 1996.
- [18] Blankenfeldt, W., Nokihara, K., Naruse, S., Lessel, U., Schomburg, D., and Wray, V., *Biochemistry*, 35, 5955-5962, 1996.
- [19] Nokihara, K., Naruse, S., Ando, E., Wei, M., Ozaki, T., and Wray, V., *Peptides*, ed. Ramage, R., Mayflower Scientific Ltd., Birmingham, UK, 63-66, 1998.
- [20] Wray, V., Nokihara, K., and Naruse, S., *VIP, PACAP, and Related Peptides, Annals of the New York Academy of Sciences*, 865, 37-44, 1998.
- [21] Takamiya, Y., Nokihara, K., Ferrone, S., Yamaguchi, M., Kano, K., Egawa, K., and Takiguchi, M., *Int. Immunol.*, 6, 255-261, 1994.
- [22] Schoenbach, C., Ibe, M., Shiga, H., Takamiya, Y., Miwa, K., Nokihara, K., and Takiguchi, M., *J. Immunology*, 154, 5951-5958, 1995.
- [23] Schoenbach, C., Miwa, K., Ibe, M., Shiga, H., Nokihara, K., and Takiguchi, M., *Immunogenetics*, 45, 121-129, 1996.
- [24] Schoenbach, C., Nokihara, K., Bangham, C.R.M., Kariyone, A., Karaki, S., Shiga, M., Takatsu, K., Egawa, K.,
- [25] Wiesmueller, K-H., and Takiguchi, M., *Virology*, 226, 102-112, 1996.
- [26] Sakagucghi, T., Takamiya, Y., Edidin, M., Tomiyama, H., Nokihara, K., Miwa, K..
- [27] Schoenbach, C., and Takiguchi, M., *Immunogenetics*, 47, 149-158, 1998.
- [28] Kubo, H., Ikeda-Moore, Y., Kikuchi, A., Miwa, K., Nokihara, K., Schoenbach, C., and Takiguchi, M., *Immunogenetics*, 47, 256-263, 1998.
- [29] Chen, H?M., Muramoto, K., Yamauchi, F., and Nokihara, K., *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2619-2623, 1996.
- [30] Nokihara, K., Yasuhara, T., Muramoto,

- K., Ando, E., and Wray, V., *Peptide Chemistry 1996*, ed. C. Kitada, Protein Research Foundation, Osaka, 245-248, 1997.
- [31] Chen, H-M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K., and Nokihara, K., *J. Agric. Food Chem.*, 46, 49-53, 1998.
- [32] Saito, K., Jin, D-H., Ogawa, T., Muramoto, K., Hatakeyama, E., Yasuhara, T. and Nokihara, K., *J. Agric. Food Chemistry*, 51, 3668-3674, 2003.
- [33] Yasuhara, T., and Nokihara, K., *Peptide 1997*, ed. Shimonishi, Y., Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 134-135, 1999.
- [34] Nokihara, K., Ono, N., Hattori, M., Kawakami, H., Ohyama, T., and Yasuhara, T., *Peptide Science 2005*, ed: Wakamiya, K., The Japanese Peptide Society, 35-38, 2006.
- [35] 軒原 清史、大山 貴史、臼井 健二、米村 耕一、富崎 欣也、三原 久和、*高分子論文集*, 61, 523-532, 2004.
- [36] K. S. Lam, S. E. Salmon, E. M. Hersh, V. J. Hruby, W. M. Kazmierski, R. J. Knapp, *Nature*, 354, 82-84, 1991.
- [37] Nokihara, K., Ito, H., Soutome, S., Ohyama, T., Yamamoto, S., Yasuhara, T. and Inoue, M., *Peptide Science 2002*, ed. Yamada, T., The Japanese Peptide Society, 77-80, 2003.
- [38] Houghten, R.A., Pinilla, C., Appel, J.R., Blondelle, S.E., Dooley, C.T., Eichler, J., Nefzi, A., Ostresh, J.M., *J. Med. Chem.* 42:3743-3778. 1999.
- [39] Ito, H.O., Soutome, S., Nokihara, K. and Inoue, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320, 347-353. 2004.
- [40] Ito, H., Nokihara, K., Soutome, S. and Ohyama, T., *Int. J. Peptide Research and Therapeutics.* 12, 275-281, 2006.

#### 筆者プロフィール

軒原 清史 (薬学博士)

㈱ハイペップ研究所・代表取締役、最高科学責任者  
南京医科大学客座教授

CEO and CSO, HiPep Laboratories, Professor  
of Nanjing Medical University

南方資源利用技術研究会誌, 21, 23-31, 2005参照

川上 博哉 (博士・医学)

㈱ハイペップ研究所・沖縄ラボ、副主任研究員  
琉球大学理学部化学科卒業後、同大学院農学研究  
科生物資源科学専攻2001年修士課程修了。その後、  
同大学院医学研究科形態機能系専攻、同研究科環境  
生態系専攻、成人T細胞性白血病や胃ガンの発ガン  
機構の解析により2005年学位 (博士・医学) 取得。  
直ちに株式会社ハイペップ研究所でポストドクトラ  
ルフェローとなる。2006年から現職。

大山 貴史 (博士・工学)

㈱ハイペップ研究所・主任研究員

群馬大学工学部材料工学科を卒業後、2001年 群馬  
大学大学院工学研究科博士後期課程物質工学専攻修  
了。合成ペプチドを生体材料として用いるための基  
礎研究で学位を取得。当該分野でさらに研鑽を積む  
ためポストドクトラルフェローとして、軒原が設立  
した島津総合科学研究所に採用され、ペプチドチッ  
プ関連の研究に参画。ハイペップ研究所設立ととも  
に移籍。2003年から現職。