

第一原理に基づいた分子言語による生命プログラミング

Life Programming by Molecular Language Based on the First Principle

吉田 弘¹⁾ 杉野圭司²⁾
Hiroshi YOSHIDA Keiji SUGINO

1) 広島大学大学院 理学研究科 (〒739-8526 東広島市鏡山一丁目3-1)

E-mail: yoshida@molda.org)

2) 日清食品株式会社 食品安全研究所 (〒520-2145 大津市大將軍一丁目2-1-4 1 1)

E-mail: k-sugino@mx.biwa.ne.jp)

ABSTRACT. A molecular modeling program MOLDA QuLiS has been developed as a 3D data-interaction tool for computational chemistry and structural bioinformatics using scene graph technology. It can work multiplatform environment. In the present work, MOLDA QuLiS has been implemented with the functions of the structural bioinformatics for the purpose of protein modeling as follows: (1) The importing function of the PDB file is enhanced; (2) 3D structure of polypeptides can be generated by inputting the sequences; (3) The conformation of the polypeptide can be changed by reading the dihedral angle matrix; (4) An amino acid residue can be changed by the point mutation operation. MOLDA QuLiS will become a useful tool for structure-based drug design (SBDD) by using the virtual reality technology.

1. 背景

新しい物質、とくに複雑な有機化合物やタンパク質を設計し実際に合成することは、重要な事柄であることはいままでもない。そしてこのような営みは、これまで数十億年の間、偶然の積み重ねにより生み出されてきたゲノムという分子プログラムが長い時間をかけて改良を行いつづけてきた。近代化学が誕生し、ゲノムを用いなくても生体分子をはじめとする多くの有機化合物がフラスコの中で合成されるようになった今日でも、新規分子の設計と合成は研究者の経験と偶然の積み重ねが重要な役割を担っている。しかし、20世紀に入って、量子物理学が化学の分野に応用されるようになり、量子化学と呼ばれる学問分野が確立されるようになると、さらに効率よく物質を合成するために、理論的に新規分子の設計を行うためのソフトウェアの開発が注目され必要とされるようになってきた。本プロジェクトの代表者は、このような目的を果たすために、1980年代前半より分子モデリングプログラムの開発を進めてきた[1-9]。この分子モデリングプログラムは、量子化学計算プログラムとの間のインターフェース機能を持ち、比較的小型の有機化合物について、分子軌道計算プログラムや分子動力学シミュレーションプログラムを併用することで、精密な分子構造や電子構造を計算により予測することを可能としている。一方、このような量子化学の発展とは別に、近年ゲノム解析の発展にともないバイオインフォマティクスと呼ばれる分野が急速に拡大し、生物学分野でのコンピュータ利用の重要性が増してきた。国際ヒトゲノム計画によるヒトゲノム解析も20世紀から21世紀に移行するころにはほぼ終了し、いまやコンピュータによる情報検索による新しい医薬品の開発に向けた研究が進められている。そしてそのような創薬を実現するためには、理論計算と

ゲノム情報から生体分子の立体構造を正確に予測することが必要となる。しかし、20世紀において量子化学の分野とバイオインフォマティクスの分野は別々に発展してきたがために、両者を結びつける分野は未踏の領域である。この未踏の領域を開拓し、医薬品開発につながることは、21世紀を向えた現代における重要な課題である。

2. 目的

本プロジェクトの目的は、20世紀において基礎研究分野で大きく発展した量子化学とバイオインフォマティクスとを結びつけることにより、新薬開発を行うためのソフトウェアの開発を行うことである。本プロジェクトでの指針は、できるだけ経験則を排除し、第一原理に基づいた医薬品の開発を行うためのソフトウェアを創ることである。現在は既に『ポストゲノム』の時代をむかえており、遺伝子解析の主要情報はすでに既知であり、時代は生命の多様性を司るタンパク質の研究にシフトしている。ヒトゲノムプロジェクトにおいて、日本の寄与は6%しかなかったとされており、もしタンパク質の研究でもこの程度の寄与でしかないのであれば、日本から新薬を創生・発信することは、すでに欧米で取得されている特許により妨害され、現実的に不可能である。この状況を打破するためには、タンパク質の機能発現のメカニズムを分子のレベル（量子化学的レベル）で明らかにし、いち早く特許につながる有益な情報を抽出、実験評価するという技術を構築し、それを迅速に企業化することが必要である。それにもかかわらず、我国の量子化学やバイオインフォマティクス分野で利用されるソフトウェアはほとんどすべて欧米産であるといつてよい。本プロジェクトにより、世界に先駆けてこの領域の日本独自の国産ソフトを開発し、我国で医薬品開発を行う製薬会社やバイオベンチャー企業の研究開発に役立てることは、日本の産業界において急務であるといえる。

3. 開発内容

(1) 開発の概要

ソフトウェアの開発は、量子化学分野で広く用いられてきた申請者による分子モデリングプログラム MOLDA for Java [4-6, 9]にバイオインフォマティクス分野の機能を実装することを基本とした。具体的には、タンパク質モデリング機能として、ポイントミュートーション、ホモロジーモデリングおよびモレキュラードッキングを追加した。さらに、携帯電話などモバイル機器への対応やXMLの実装など、最新の情報技術を開発に導入する。また、MOLDA がもつ計算化学プログラムのハブとしての機能も、分子動力学シミュレーションを中心に強化し、さらにバーチャル・リアリティ技術を用いた分子グラフィックス・対話処理機能を実現した。今回、本プロジェクトにより新規にMOLDAに追加した機能は次のとおりである。

- ① シーケンス三次元化機能
- ② ポイントミュートーション機能
- ③ ホモロジーモデリング機能
- ④ モレキュラードッキング機能
- ⑤ 分子動力学シミュレーションデータ表示機能
- ⑥ XML変換機能
- ⑦ サイバー空間での分子グラフィックス・対話機能
- ⑧ モバイル機器対応機能

また、本プロジェクトで開発されたプログラムは、主として次の二つである。

- (i) MOLDA for Protein Modeling
- (ii) MOLDA QuLiS

MOLDA QuLiS は、MOLDA for Protein Modeling のグラフィックス強化版である。次にMOLDA for Protein Modeling およびMOLDA QuLiS それぞれで、タンパク質を描画した図を示す(図1, 2)。タンパク質のモデリング機能については両方で共通していることから、本報告書では、シーングラフ技術を用いることにより3Dグラフィックスが強化されているMOLDA QuLiS についてのみ示す。

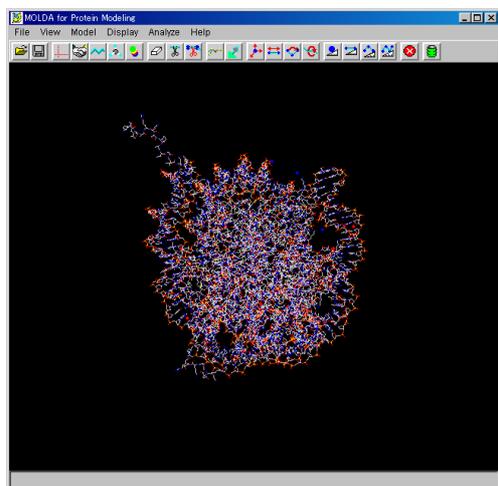


図1: MOLDA for Protein Modeling によるタンパク質の表示

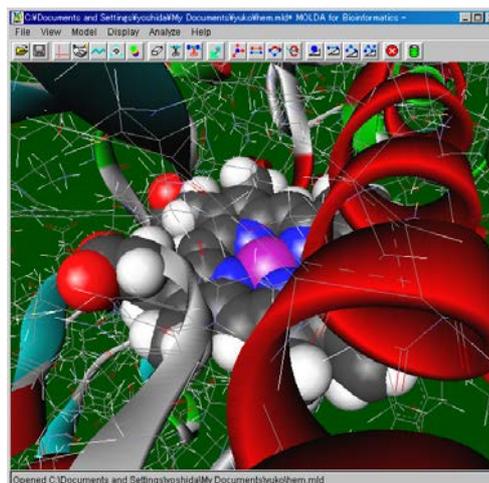


図2: MOLDA QuLiS によるタンパク質の表示

(2) MOLDA QuLiS のシーングラフ構造

MOLDA QuLiS は、MOLDA for Protein Modeling に加えられたタンパク質のモデリング機能に加え OpenInventor のクラスを用いることによりシーングラフベースでの3D コンピュータグラフィックスの機能を実装した。MOLDA QuLiS では、シーングラフの子ノードとして、次の3つを定義している:(1) MOLDA の分子モデルの表示 (2) VRML の3D表示 (3) MOLDA システム全体のスケールアップ。MOLDA QuLiS の分子モデリング部とグラフィックス部の関係の概略を図3に示す。

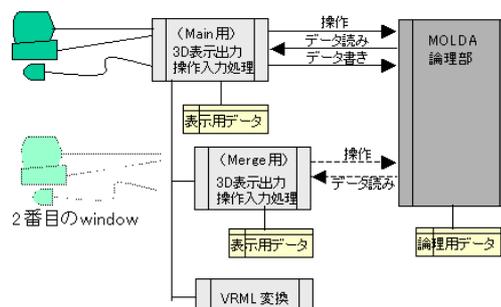


図3: MOLDA QuLiS の概略

(3) MOLDA QuLiS の機能の概略

MOLDA QuLiS は、分子モデリング及び分子グラフィックスに関する多彩な機能を持ち、それらの機能は、メニューバーやツールバーのボタンを用いて手軽に呼び出すことができる。メニューとして、次のようなものが準備されている。

a) File メニュー

File メニューでは、MOLDA 形式の分子モデルの読込や保存の他、化学や生物学の分野で標準的に用いられている各種データ (PDB, CML, XMol, MolFile) のインポートやエクスポート、各種計算化学プログラム (TINKER, Amber, MOPAC, GAMESS, Gaussian) の入力データの作成・保存や出力結果の読込ができる。また、読込まれた分子モデルを VRML 形式のファイルとして保存し、WWW ブラウザでみることが出来る。さらに、他のソフトで作成された VRML ファイルを読込んで表示させることも可能である。その他、FASTA 形式でのシーケンス

ファイルを読み込み、ポリペプチド鎖の立体構造を作成する機能等もある。また、基本的な有機化合物、アミノ酸・核酸・糖など、よく使用される化合物はテンプレートとして登録されている。さらに、作成された分子モデルを置換基として保存する場合もこのメニューで行うことができる。

b) View メニュー

View メニューでは、座標軸や原子の番号の表示の on/off を指定することができる。また、分子モデルを読み込んだときに、自動的に大きさを調節したり、結合を生成したりすることを可能にする。さらに、PDB ファイルを読み込んだときにシーケンス情報や水素結合の表示も可能にする。

c) Model メニュー

Model メニューでは、アルカンの生成や、骨格原子への水素の付加、ならびに分子に置換基を接続することができる。また、元素の種類を変換したり、結合長・結合角・二面体角の変更を行うことや原子や原子団、結合を削除することができる。タンパク質のモデリング機能として、一文字表記のアミノ酸を入力することにより α ヘリックスのポリペプチドを構築したり、指定したアミノ酸残基のポイントミュートーションを行ったりできる。また、酵素にリガンドを結合させるような分子ドッキングの機能もある。

d) Display メニュー

Display メニューでは、分子モデルの表示法を、空間充填型モデル、球棒モデル、Dreiding モデルならびにラインモデルの中から選択することが可能である。また、PDB ファイルを表示する場合には、シーケンスビューワで選択したアミノ酸残基だけを異なる表示法にしたり、主鎖と側鎖の表示法を変えたりできる。また、原子の色や背景色を、ここで変更することができる。

e) Analyze メニュー

Analyze メニューでは、マウスで指定した原子の座標値、原子間距離、3 原子間の角度、二面体角をステータスバーに表示する。また、PDB ファイルを使用しているときは、アミノ酸の二面体角(ϕ , ψ)のマトリックスを出力する。

f) Help メニュー

Help メニューでは、使用中の MOLDA QuLiS のバージョン情報を表示する。

(4) MOLDA QuLiS のモデリング操作の概略

a) アルカンとエーテルの作成

MOLDA QuLiS には、有機化合物をモデリングするための多くの機能がある。ここでは[Model]-[Input]-[Alkane]メニューを用いてペンタンおよびジエチルエーテルをつくる例を示す。[Model]-[Input]-[Alkane]メニューを選択すると炭素数を入力するように促されるので、テキストボックスに5を入力して、[OK]ボタンをクリックする。すると、炭素数が5個のn-アルカンであるペンタンが全トランス形配座としてつくられる(図4)。ペンタンからジエチルエーテルを作成するためには、中心にある炭素原子を酸素原子に置換え、その原子についている2つの水素を削除する必要がある。そのためには、選択カーソル設定ボタンを押してカーソルを矢印型にした後、[Model]-[Input]-[Element]メニューを選択し、ダイアログボックスに酸素の元素記号(O)を入力し、酸素に変換したい炭素原子をクリックする。さらに、水素原子を削除するためには[Model]-[Delete]-[Atom]メニューを選択した後、削除したい水素原子をクリックしていく。以上でジエチルエーテルが作成される(図5)。

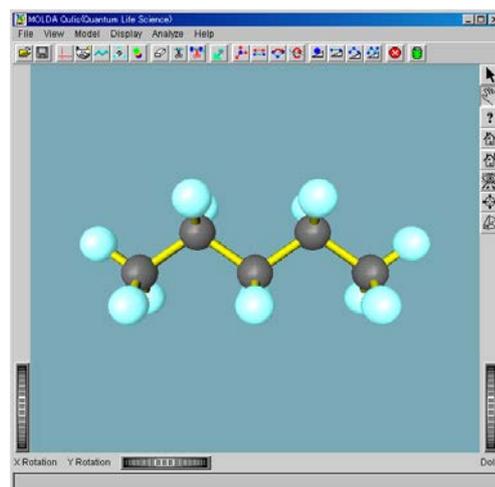


図4: 作成されたペンタン

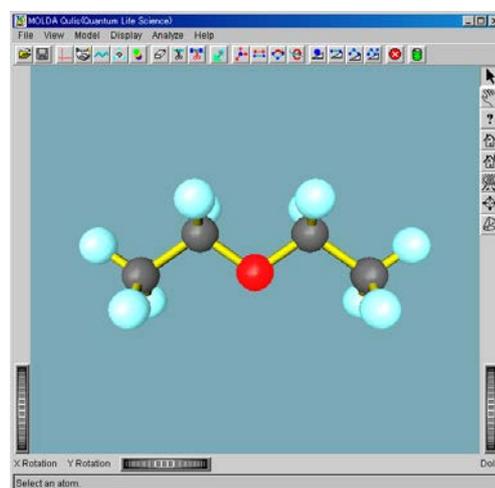


図5: 作成されたジエチルエーテル

b) PDB ファイルの読み込みとシーケンスの表示

MOLDA QuLiS には、タンパク質のモデリングを行うための多様な機能がある。その中で、最も基本的なものが PDB ファイルの読み込みとシーケンスの表示である。PDB ファイルを読み込む場合には、[File]-[Import]-[Protein Data Bank (*.pdb)]メニューを用いる。また、読み込まれたタンパク質のシーケンスを表示させるためには、[View]-[Sequence Viewer]を有効にする。シーケンスビューワにリストされているある特定のアミノ酸残基をクリックして OK ボタンをクリックするとタンパク質のその残基の部分の指定することができる。さらに、指定した残基を他の部分とは異なるモデル表示にすることが可能である(図6)。シフトキーを押しながら残基を選択することで、複数の残基を指定することができる。さらに、Disappear ボタンをクリックすると、指定された残基を見えなくすることができる。また、残基の指定を解除するためには Cancel ボタンをクリックする。また、タンパク質のモデル中の原子をクリックすると、その原子がどのアミノ酸残基に含まれるのかを、ステータスバーに表示する。このシーケンスビューワと[Display]-[Preferences]メニューを組み合わせることにより、後述するように多彩な3Dグラフィックスが可能となる。

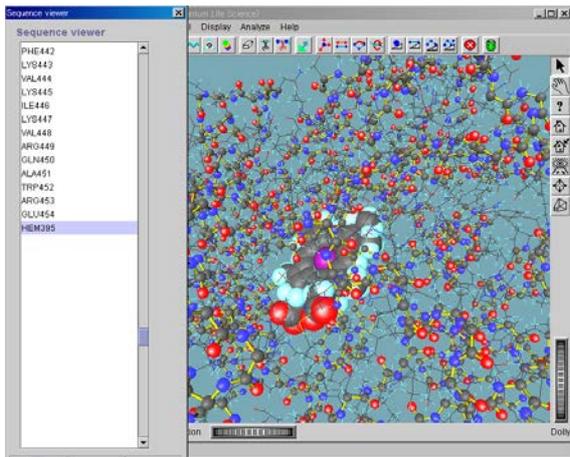


図 6: チトクローム P450 (2C17) 中のヘム分子の指定

c) ポリペプチドの構築

MOLDA QuLiS には、アミノ酸のシーケンスを入力していくことにより、任意のポリペプチド鎖を構築する機能がある。最も簡単に作成するためには、[Model]-[Input]-[Peptide]メニューを用いる。[Model]-[Input]-[Peptide]メニューを選択すると一文字表記でアミノ酸を入力するためのダイアログボックスが現れる。ここに、例えば”AAAAA AAAA”と入力すれば、 α ヘリックスの構造をもつアラニンの9量体が構築される (図 7)。

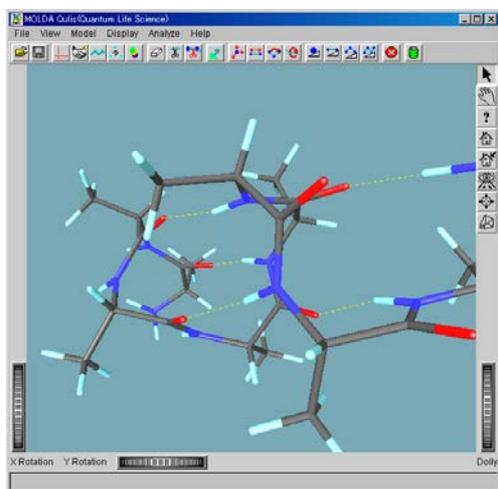


図 7. ポリアラニンの作成

また、[File]-[Import]-[Sequence]メニューを用いても、一文字表記でのアミノ酸のシーケンスが書かれたファイルを読み込むことにより同様にポリペプチドを構築することができる。この場合、ファイルの先頭が”>ALPHA”となっていれば α ヘリックスを、”>BETA”となっていれば β シートを生成する。例えば、次のようなテキストファイルをこのメニューを用いてインポートすると図 8 のようなポリペプチドが作成される。

```
>ALPHA
EEIDQNV
```

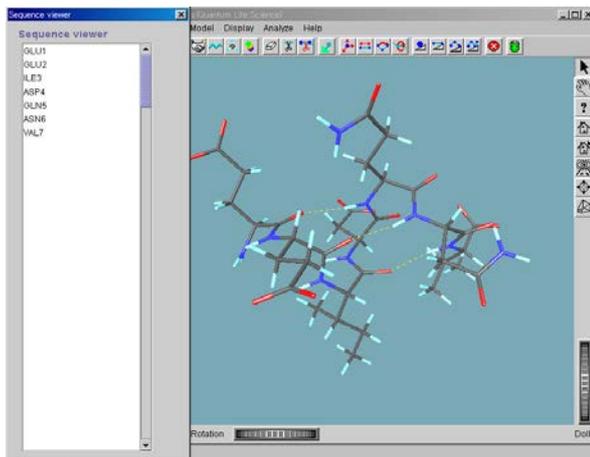


図 8: 作成された EEIDQNV

さらに、[File]-[Import]-[Ramachandran]メニューを用いると、アミノ酸のシーケンスだけでなく二面角(ϕ , ψ)のマトリクス (図 9) を読み込むことにより指定したコンホメーションをもつポリペプチドを構築することができる。

GLU	999.0	313.0
GLU	303.0	313.0
ILE	303.0	313.0
ASP	303.0	313.0
GLN	303.0	313.0
ASN	303.0	313.0
VAL	303.0	999.0

図 9: Ramachandran Plot で用いるファイル形式

d) ポイントミューテーション

MOLDA には、読み込んだ PDB ファイルや作成したポリペプチドのアミノ酸残基に対してポイントミューテーションを行う機能がある。図 8 の EEIDQNV のグルタミン (Q/GLN) をヒスチジン (H/HIS) に置き換えるには、まずシーケンスビューワで GLN5 を選択した後、OK ボタンをクリックする。つづいて、[Model]-[Point Mutation]メニューを選択する。すると、1 個のアミノ酸残基名を入力するためのダイアログボックスが現れるので、”HIS”と三文字表記 (一文字表記でも可) で入力する (図 10)。

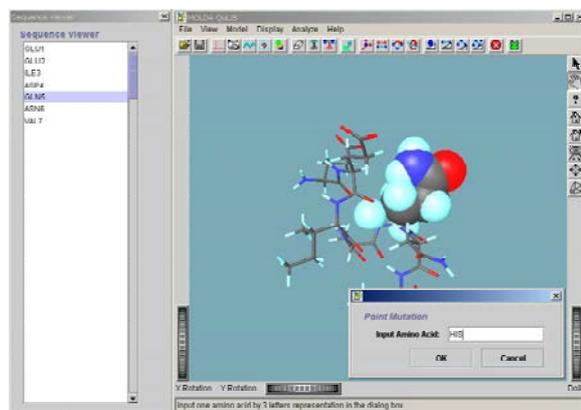


図 10: ポイントミューテーションを実行するところ

この操作により、グルタミンがヒスチジンに置き換わる(図 11)。

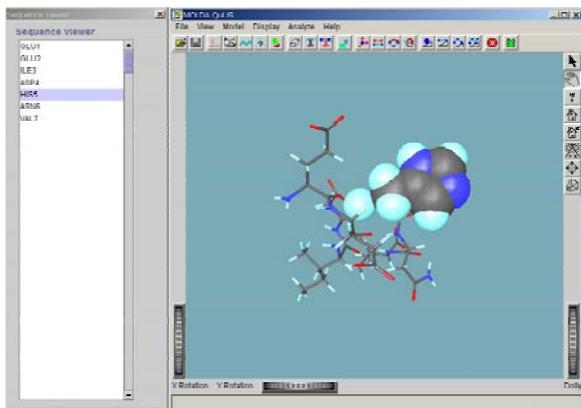


図 11: ポイントミューテーションを実行した結果

(5) 分子ドッキング

MOLDA QuLiS では二つの分子を読み込んで、それらを独立に操作することができる。また、最初に読み込む分子は、MOLDA 形式や PDB 形式等の分子データに限らず、VRML 形式で作成された分子モデルを読み込むこともできる。すなわち、MOLDA QuLiS は VRML ビューワとしての表示機能をもつ。このような MOLDA QuLiS の機能を用いることにより、タンパク質の結合部位の構造情報からリガンドをデザインすることが容易できるようになり、創薬の種を見出すための薬物設計の指針を与えることができる。

a) 二つの分子の読み込みとマニピュレータの操作法

二つの分子を読み込む例として、[File]-[Templates]メニューからベンゼンを読み込む場合を示す。最初に読み込んだベンゼンを少し傾けておく。すると、図 12 のようになる。さらに、[Model]-[Molecular Docking]メニューを用いて同じベンゼンをファイルから読み込む。すると、図 13 のように二つのベンゼンが一つの画面に表示される。図 14 のようにマニピュレータを表す立方体の 1 面の中をカーソルでクリックするとその面の中央に十字の矢印が出てくるので、マウスボタンを押したままカーソルを移動するとマニピュレータと中のオブジェクトはカーソルを移動した方向と一緒に移動する。また、図 15 のようにマニピュレータを表す立方体の 1 辺をカーソルでクリックするとその軸と垂直を成す面の中心に選択した辺と平行な軸が現れるので、マウスボタンを押したままカーソルを辺に垂直に移動するとマニピュレータと中のオブジェクトはカーソルを移動した方向と一緒に回転する。

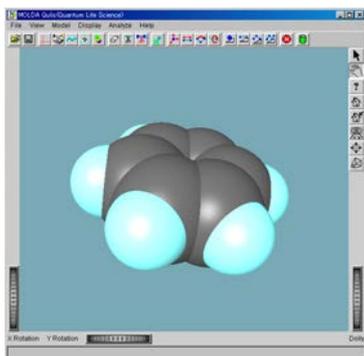


図 12: [File]メニューで読み込んだベンゼン

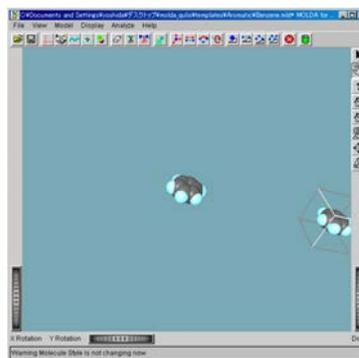


図 13: [Model]-[Molecular Docking]メニューで追加したベンゼン

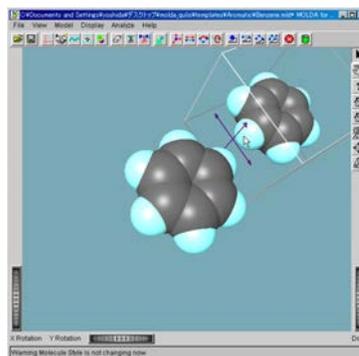


図 14: マニピュレータの移動

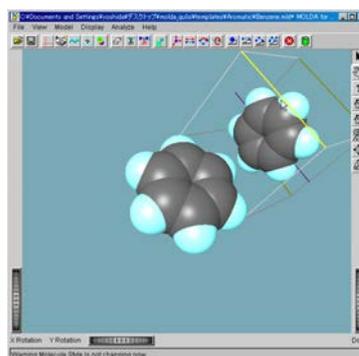


図 15: マニピュレータの回転

b) VRML ファイルの読み込みと分子ドッキング

MOLDA QuLiS による VRML ファイルの読み込みは、[File]-[Load VRML for View]メニューを用いて行う。図 16 はアクセルリス社の ViewerLite で作成したタンパク質のリボン表示での VRML ファイルを読み込んだ結果である。

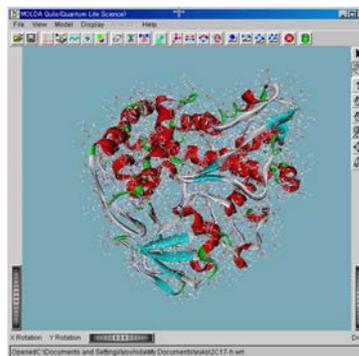


図 16: [File]-[Load VRML for View]メニューで VRML ファイルを読み込んだ結果

つづいて、[Model]-[Molecular Docking]メニューを用いてヘム分子を読み込むと、マウスを用いて、タンパク質と分子ドッキングが可能になる(図 17)。ここで、分子ドッキング可能な分子のデータ形式はMOLDA形式である必要がある。また、タンパク質中のリガンド分子を詳しくみるために、分子全体を平面で切断することが、ポップアップメニューの Preferences を用いて可能になる(図 18)。

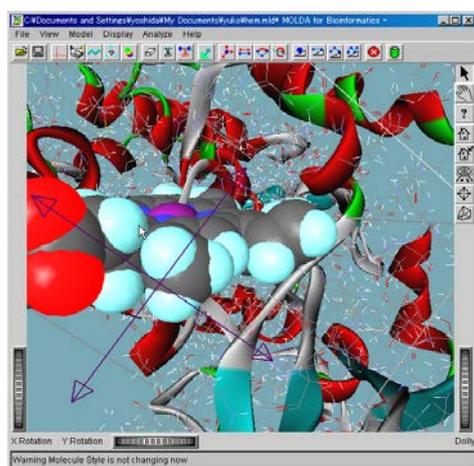


図 17: [Model]-[Molecular Docking]メニューでヘム分子を読み込んだ結果

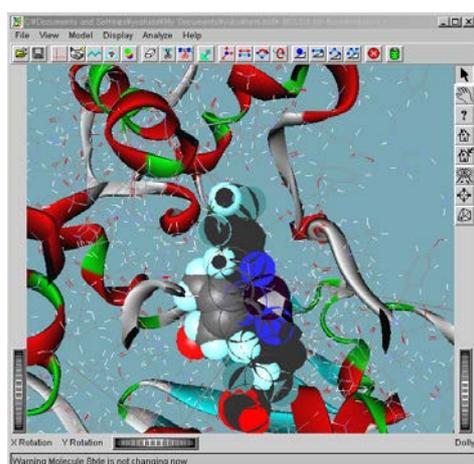


図 18: 平面で切断したところ

(6) 分子グラフィックス

MOLDA QuLiS では、[Display]-[Preferences]メニューにより、多彩な 3D グラフィックスが可能となる。次に、このメニューを用いた分子モデルの表示法の変更や原子の色の変更、そして、タンパク質の種々の描画方法について説明する。

a) 分子モデルの設定について

MOLDA QuLiS の 3D グラフィックスに関する Preference 操作は[Display]-[Preferences]メニューを選択すると出てくる次のダイアログの各ボタン、コンボボックスを使用して行う(図 19)。SET ボタンのチェックボックスやコンボボックスの設定を有効にするには、SET ボタンをクリックする必要がある。色の設定等については、各ボタンをクリックした時に出てくるカラーダイアログ、マテリアルダイアログの設定を変更すると即座に有効になる。ベンゼンについて、空間充填型モデル、球棒モデル、Dreiding モデル、ラインモデルを標準的な解像度で

表示した結果を図 20~23 に示す。

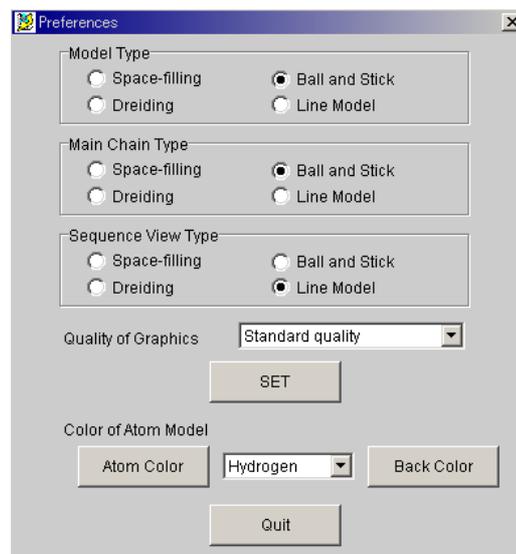


図 19: Preferences パネル

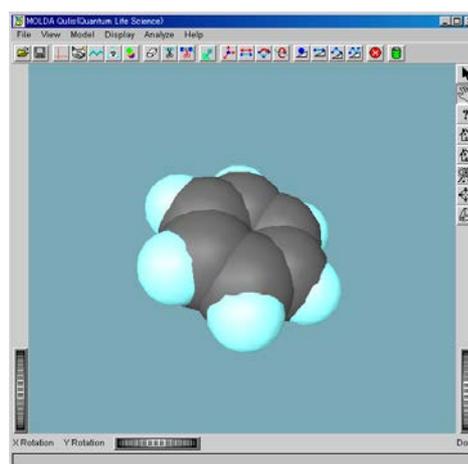


図 20: 空間充填型モデル

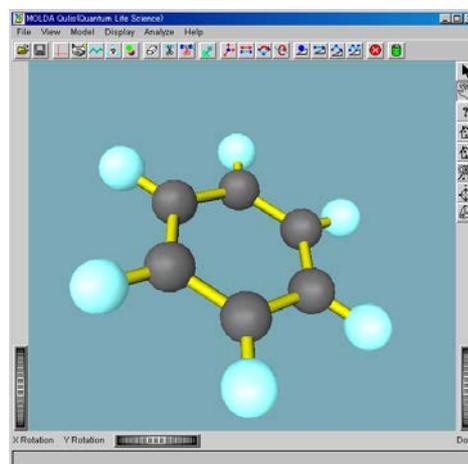


図 21: 球棒モデル

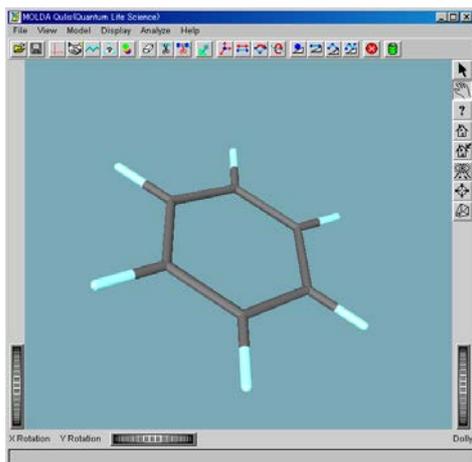


図 22: Dreiding モデル

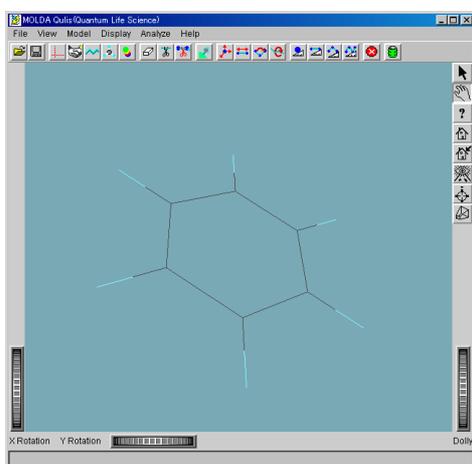


図 23: ラインモデル

b) 原子の色の設定について

原子の色を設定するには、Preferences パネルの Color of Atom Model の下のコンボボックスから色を変更したい原子に設定し、Atom Color のボタンをクリックする。するとマテリアルエディターのダイアログボックスが表示されるので、これを操作して原子の色を変更する(図 24)。

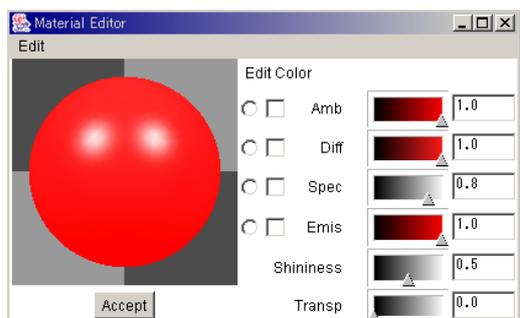


図 24: 原子の色の設定

原子の色は現在設定されている色で最初表示される。設定できる項目は上から次のようになる。

- ① 環境色(Amb)
- ② 拡散色(Diff)
- ③ 鏡面色(Spec)
- ④ 放射色(Emis)
- ⑤ 輝き度合い(Shininess)
- ⑥ 透明度(Transp)

①～④については各行の左端のチェックボックスをクリックするとカラーダイアログが表示されるので、それを設定する。輝度については右側のスケールのカーソルを移動するか、右側のテキストボックスに数値を入れることにより行う。輝き度合いについてはスケールのカーソルを移動して行う。透明度についてもスケールのカーソルを移動して行うが、右に移動するほど透明度が上がリ、右端に移動すると原子は消えてしまう。また、この設定は、各スケーラ等を操作したらすぐ有効になる。

c) 分子モデルの表示法の選択について

分子モデルの表示法の設定は、通常表示 (Model Type) , 主鎖表示 (Main Chain Type) , シーケンスビューワ表示 (Sequence View Type) の3通りがあり、それぞれ別々に設定できる。設定は表示ごとに枠の中にあるモデルタイプのチェックボックスをクリックすることで選択される。ただし、SET ボタンを押すまでは有効にならない。例えば、チトクローム P450 中のヘム分子をシーケンスビューワで選択し、図 25 のように Preference パネルを設定すると図 26 のようなモデルが表示される。

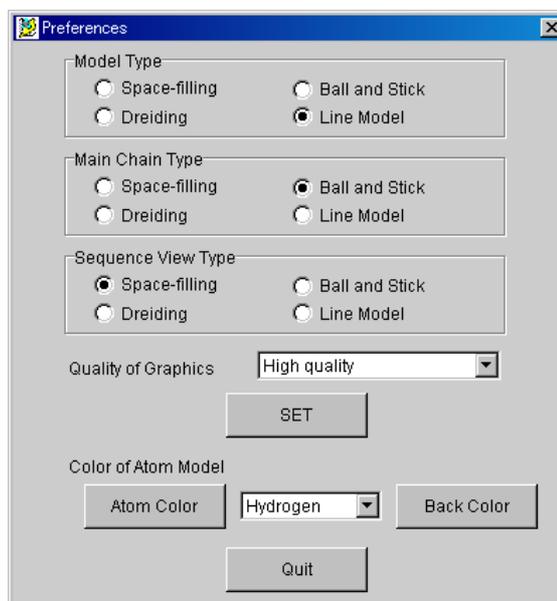


図 25: 図 26 のモデルを描くための Preferences パネルの指定

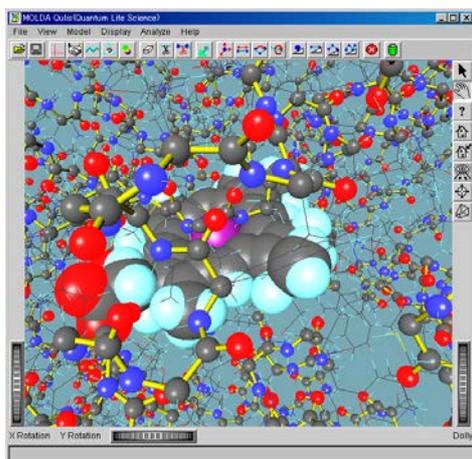


図 26: チトクローム P450 中の主鎖を球棒モデル、側鎖をラインモデルで描画しヘム分子を空間充填型モデルで表示したもの

4. 結語

本稿では、主に本プロジェクトで開発された MOLDA QuLiS のタンパク質モデリング機能と分子グラフィックス機能を中心に示した。しかし、MOLDA QuLiS のより重要な機能は、量子化学計算やバイオインフォマティクス分野のソフトウェアとの間のインターフェース機能にほかならない。しかし、これらの機能の解説は膨大な量になるため、本稿では割愛させていただいた。MOLDA シリーズのソフトウェアの量子化学計算プログラムとの間のインターフェース機能、ならびに、バイオインフォマティクスとの関連については、ホームページから情報が提供されているのでそちらを参考にいただきたい [10, 11]。

MOLDA QuLiS の今後の発展の方向としては、医薬品データベースやバイオインフォマティクス分野のデータベースとの連携が考えられる。本プロジェクトでも、PHP と PostgreSQL を連携した小規模なデータベースの構築を試みた [11]。しかし、実際の創薬を視野に置くならば、Client 側のデータベースブラウザとしても機能する、MOLDA QuLiS と大規模データベースとを仲介するためのミドルウェアが必要となるであろう。MOLDA QuLiS は、Java 言語で記述されているために、Client 側の OS に依存することなく動作するように設計されている。また、試作的ながら、本プロジェクトにより MOLDA QuLiS は JAXP API による XML 管理機能を実装した。今後、XML を基盤としたデータベースとの連携機能を、MOLDA QuLiS に追加していく計画である。

5. 参加企業

日本エンジェルス・インベストメント株式会社
 (プロジェクト実施管理組織)
 株式会社マックスネット
 (OpenInventor によるグラフィックス関連の委託開発)
 株式会社メイブ
 (マニュアルの英訳)

6. 参考文献

- [1] Keiichiro Ogawa, Hiroshi Yoshida and Hiroshi Suzuki: *GRIMM - an Interactive Personal-computer Graphics Interface to Molecular Mechanics*, J. Mol. Graphics, 2(4), 113-116(1984)
- [2] Hiroshi Yoshida: *Molecular Structure Data Processor MOLDA5*, Journal of the Association of Personal Computers for Chemists, 8(3-4), 45-68(1986)
- [3] Hiroshi Yoshida and Hiroatsu Matsuura: *MOLDA for Windows - A Molecular Modeling and Molecular Graphics Program Using a VRML Viewer on Personal Computers*, J. Chem. Software, 3(4), 147-156(1997)
- [4] Hiroshi Yoshida and Hiroatsu Matsuura: *MOLDA for Java - A Platform-independent Molecular Modeling and Molecular Graphics Program Written in the Java Language*, J. Chem. Software, 4(3), 81-88(1998)
- [5] Hiroshi Yoshida, Alan P. Tonge and Peter Murray-Rust: *MOLDA - A Platform-independent Molecular Modelling and Molecular Graphics Program for use with Chemical Markup Language*, ChemInt'98, Irvine, California (1998)
- [6] Hiroshi Yoshida, Henry S. Rzepa, and Alan P. Tonge: *MoldaNet. A Network Distributed Molecular Graphics and Modelling Program that Integrates Secure Signed Applet and Java 3D Technologies*, J. Mol. Graph. Mod., 16, 144-149 (1998)
- [7] 吉田 弘: 分子のモデリング, サイエンスハウス, 東京(1998)
- [8] H. Yoshida: *Molecular Modeling on Computers*, Science House, Tokyo(2000)
- [9] Hiroshi Yoshida: *MOLDA: World-wide 3D Data-interaction Tool for Molecular Science*, 5th World Multiconference on Systemics, Cybernetics and Informatics (SCI 2001), Orlando (2001)
- [10] Hiroshi Yoshida: <http://www.molda.org/>
- [11] Keiji Sugino: <http://www.biwa.ne.jp/~k-sugino/>