

生体内のエネルギーの流れを制御する光応答分子を開発

～副作用の少ない抗がん剤への応用に期待～

ポイント

- ・生体内のエネルギー通貨といわれる ATP に対して光応答的に働く阻害剤を開発。
- ・ATP を使って動く微生物はこの阻害剤を添加後青色光照射で運動を止め、紫外線で運動を再開。
- ・がん細胞への ATP の流れを選択的に止めて死滅させる、副作用の少ない薬への応用に期待。

概要

北海道大学電子科学研究所の玉置信之教授、西上幸範助教、国立研究開発法人情報通信研究機構 (NICT) の大岩和弘主管研究員らは、生体内のエネルギーの流れを自由に制御する光分子スイッチの開発に成功しました。

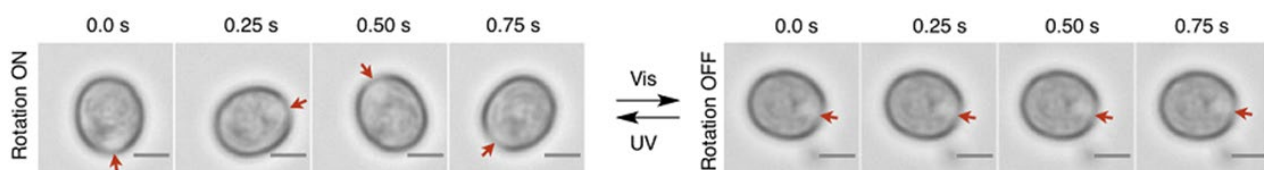
最近、薬の副作用を低減させるために、光の作用で薬効を可逆的にスイッチしうる新しいタイプの薬及び治療法が着目されています。そのような新しい薬を用いることで、がん細胞のみに一定の波長の光を照射して薬効を発現させてがん細胞を死滅させ、その後、薬剤が正常細胞へと拡散した後は、別の波長の光で薬効を消滅させることができ、その結果、副作用のないがん治療を実現できます。

今回は、細胞が増殖する際のエネルギー源となる物質、アデノシン三リン酸 (ATP) に着目し、酵素中で ATP と競争的に取り込まれて、ATP の働きを阻止して、細胞の活動を停止する物質を開発しました。その物質は光によって可逆的に分子構造が変化するアゾベンゼンという部位を有しているため、光の作用で行き来しうる性質が異なる2つの状態を示します。

青色光照射後の状態では ATP に対する阻害効果を発揮しますが、紫外光照射後は阻害効果が消失しました。その ATP に対する光応答的な阻害効果は、ATP の作用で機能するタンパク質の実験や ATP を使って活動する微生物の実験で確認しました。微生物クラミドモナスの実験では、青色光照射後では、クラミドモナスが阻害剤の作用でほとんど動かず、紫外線照射後には阻害剤の活性が消失し、クラミドモナスが鞭毛を使って活発に運動しました。

以上より、今回設計・合成した物質が ATP のエネルギーを利用するタンパク質の働きを光で自由に ON-OFF 制御でき、その効果は個体レベルの機能にまで反映されることが示されました。このような物質は、ATP をエネルギー源とするあらゆる細胞の活動の光制御に応用できると考えられ、本研究分野である光薬理学の今後の発展に大きく寄与すると考えられます。

なお、本研究成果は、2022年3月25日(金)に Chemistry-A European Journal 誌にオンライン公開されました。



光応答分子の効果で、クラミドモナスの回転運動は青色光照射で止まり、紫外線照射で再開される。

【背景】

近年、光薬理学 (Photopharmacology) という学問分野が注目を集めています。光の作用で薬効を可逆的にスイッチできる物質を開発することで、副作用を低減できる薬剤や治療法を創出したり、薬効のメカニズムを調べるための分子ツールを提供したりして、薬学の分野に貢献しようという学問分野です。

すでに、世界中で様々なタンパク質に対して選択的に阻害剤として働く光応答性化合物が開発されてきました。当研究グループにおいても、モータータンパク質キネシンや一定のりん酸化酵素に対して特異的に働く光応答性阻害剤を開発して、報告してきました。

しかし、このような特定のタンパク質に対して特異的に働く阻害剤の場合、ターゲットとなるタンパク質が変われば、また1から新しい分子構造をデザインし直さなければならないという課題がありました。一方で、アデノシン三リン酸 (ATP) は細胞活動のエネルギー源となる物質で、生物の運動を司る筋線維の収縮や微生物における鞭毛、繊毛の波打ち運動、細胞分裂における染色体を始めとする細胞内物質の運搬、エネルギーを要する化学反応の促進など、生物活動の末端では常に、ATP加水分解酵素が触媒的に働くATPのADPと無機リン酸への加水分解反応によって生じる化学エネルギーが使われています。もし、ATPの世界を自由に制御できる分子スイッチがあればすべての細胞での活動を制御できることを意味します。

そこで、今回は、生命活動のエネルギー源であるATPが作用する分子システム、すなわち「ATPシステム」を光で動的に制御する光分子スイッチを開発することを目的としました。

【研究手法】

研究グループで2013年に開発した“人工ATP”をもとにして、ATPに対して競争的に働く光応答性の阻害剤を開発しました。すでに開発済みの“人工ATP”(AzoTPと命名)は、光異性化反応を示す分子構造であるアゾベンゼンと三リン酸部位を有し、アゾベンゼン部位がトランス体のときは、ATPと同様にモータータンパク質に取り込まれてモータータンパク質の運動を駆動し、シス体のときはモータータンパク質に対する親和性が本質的に消失してエネルギー源として働かないことがわかっていました。今回合成した物質は、AzoTPの三リン酸部位(P-O-P-O-P構造)を非加水分解性(P-O-P-CH₂-P構造)としたものです。ATP加水分解酵素による分解を受けて濃度が減少することなく、ATP加水分解酵素のATP認識部位に光応答的に取り込まれて、本来の基質であるATPの働きを制御できると考えました。

得られた化合物の阻害効果は3つの方法で確認しました。すなわち、ATPの加水分解酵素として知られるモータータンパク質ダイニンを使ったATPの加水分解反応速度を調べる実験、ダイニンの運動速度を調べるモーターリテーア実験、及びダイニンの働きで活動する微生物クラミドモナスの脱膜モデルを使った細胞運動の実験です。

【研究成果】

ATPに対して競争的に働く光応答性阻害剤として、加水分解性のAzoTPに加えて非加水分解性の2種の化合物Azo-Amido-PCPとAzo-Propyl-PCPを合成しました(図1(a))。

得られた非加水分解性の2種の化合物Azo-Amido-PCPとAzo-Propyl-PCPは、水溶液の状態では、光照射前はトランス体として存在しますが、紫外線を照射するとシス体へと変化し、青色光照射により、もとのトランス体に戻ることが、紫外可視吸収スペクトル、核磁気共鳴スペクトル、液体クロマトグラフィーによって確認できました(図1(b))。

Azo-Amide-PCPをモータータンパク質ダイニン-微小管-ATPのモーターリテーア系に添加するとダイニンの運動活性(ダイニンの働きで駆動される微小管のスライド運動)が著しく阻害され

ることがわかりました(図2)。その後、紫外線を照射すると運動活性が復活し、さらに青色光照射により阻害状態となりました。この変化は繰り返し起こすことができました。

さらに、細胞中でも同様の光照射条件に反応する ATP を基質とするタンパク質の阻害効果が現れることを確かめることを目的に、ダイニンの働きによって鞭毛をスイングさせて水中を泳ぐ微生物、クラミドモナスに Azo-Amido-PCP または Azo-Propyl-PCP を与えて、微生物の運動の光依存性を調べました。その結果、青色光照射後には運動がほぼ止まり、紫外線照射により、再度動き出す様子が確認できました(図3)。

以上の結果は、Azo-Amido-PCP または Azo-Propyl-PCP は ATP を基質とするタンパク質に対して競争的阻害剤として働き、その阻害効果を光でスイッチできることを明らかにしました。さらに、その光応答的な阻害作用は、個体レベルの機能にも反映されることがわかりました。

【今後への期待】

がん細胞への ATP の流れを選択的に止めて死滅させる、副作用の少ない薬への応用が期待されます。また、ATP を基質とする他のモータータンパク質や、その他の酵素、例えば、抗がん剤のターゲットにもなっているりん酸化酵素キナーゼなどの機能を光でスイッチできることを確認し、本化合物の光応答性 ATP 阻害剤としての一般性を確認する予定です。

【謝辞】

本研究は、科学研究費補助金基盤研究(B)「光異性化反応によるモータータンパク質の駆動の試み」(研究代表:玉置信之)(No. 18H02042)等による支援を受けて行われました。

論文情報

論文名	Dynamic control of microbial movement by photoswitchable ATP antagonists (光応答性 ATP アンタゴニストによる微生物の運動の可逆的制御)
著者名	Sampreeth Thayil, ^{1,2} Yukinori Nishigami, ^{1,2} Md. Jahirul Islam, ^{1,2} P.K. Hashim, ^{1,2} Ken'ya Furuta, ³ Kazuhiro Oiwa, ³ Jian Yu, ⁴ Min Yao, ⁴ Toshiyuki Nakagaki, ^{1,2} Nobuyuki Tamaoki ^{1,2} (1 北海道大学電子科学研究所, 2 北海道大学大学院生命科学院, 3 国立研究開発法人情報通信研究機構(NICT), 4 北海道大学大学院先端生命科学研究院)
雑誌名	Chemistry-A European Journal (化学の専門誌)
DOI	10.1002/chem.202200807
公表日	2022年3月25日(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学電子科学研究所 教授 玉置信之(たまおきのぶゆき)

T E L 011-706-9356 F A X 011-706-9357 メール tamaoki@es.hokudai.ac.jp

U R L <http://tamaoki.es.hokudai.ac.jp/index.html>

配信元

北海道大学社会共創部広報課(〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

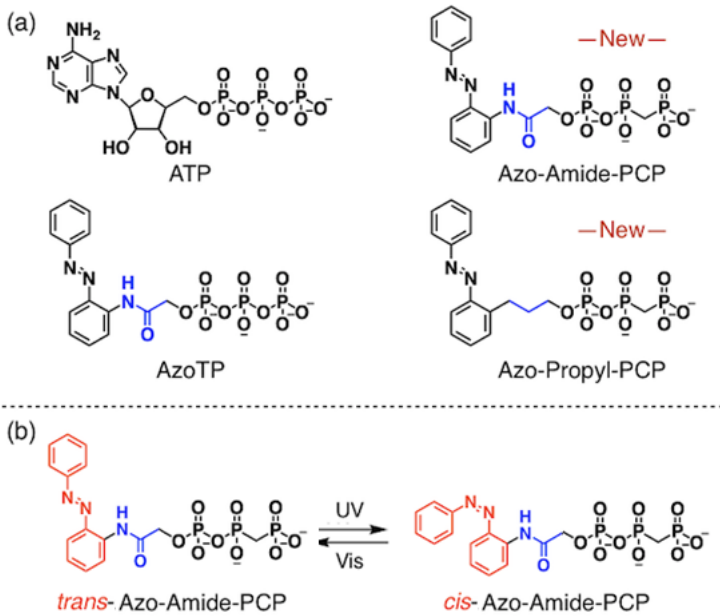


図1 (a) アデノシン三リン酸 (ATP), 光応答性高エネルギー化合物 (AzoTP) 及び新たに合成された非加水分解性 ATP 競争阻害剤 (Azo-Amide-PCP と Azo-Propyl-PCP) の分子構造。(b) Azo-Amide-PCP の光異性化反応。

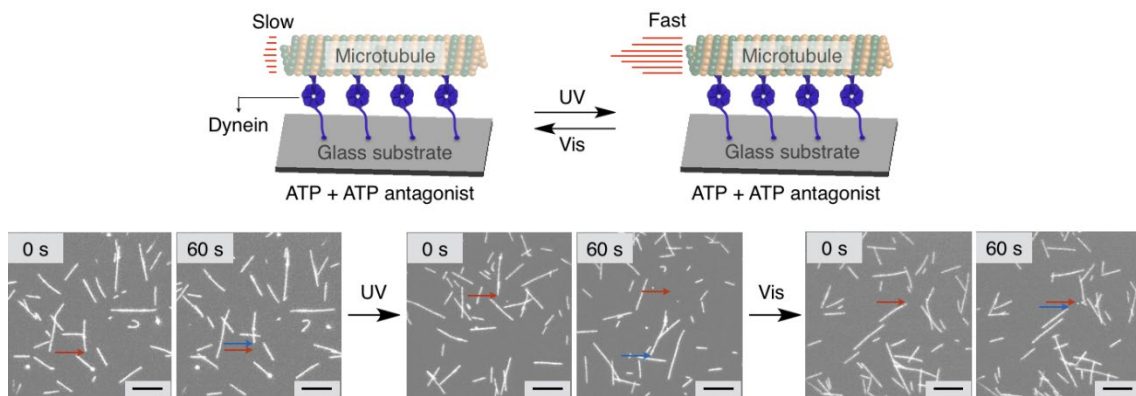


図2 ダイニン-微小管-ATP からのモーターリティー実験系の模式図 (上) とダイニンの運動機能による微小管の滑走状態の光照射依存性 (下)。Azo-Amido-PCP を加えた系では光照射前では微小管の末端の位置 (赤と青の矢印でそれぞれ 0 s 時, 60 s 時を指し示す) がほとんど変わらないが, 紫外線 (UV) 照射後には位置が大きく変化し, 更に青色光 (Vis) 照射後にはほぼ止まっていることがわかる。

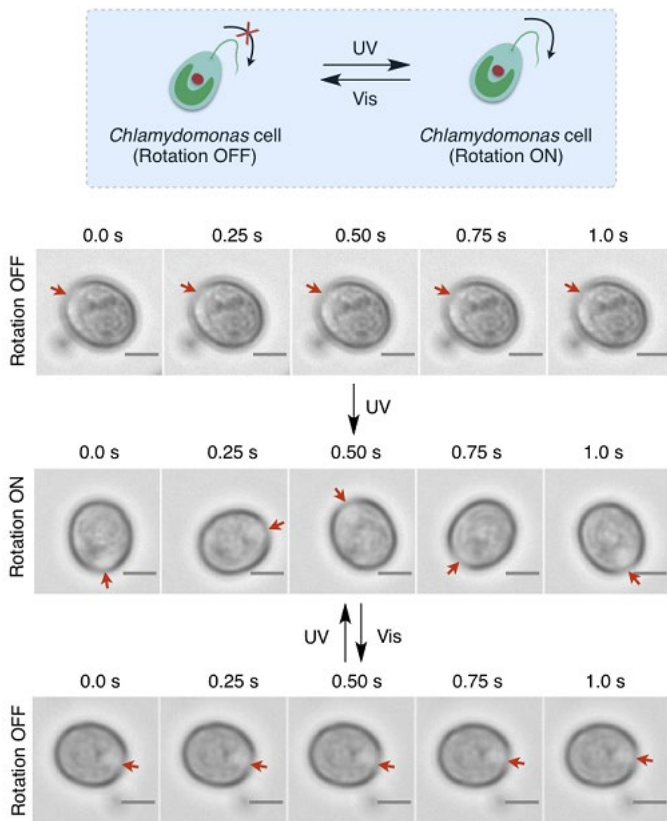


図3 鞭毛を一つもつクラミドモナス変異体（運動が並進運動から回転運動になるため顕微鏡下で運動状態の定量的な解析がしやすい）の光応答的な運動状態の模式図（上）と1つのクラミドモナスの光応答的な回転運動の様子（下）。赤矢印は鞭毛が生えている起点を指し示す。鞭毛はかすかに見える程度で鮮明には写っていない。光照射前にはほぼ静止しており、紫外線照射後に回転し、青色光照射で再び静止した。細胞は脱膜処理をしてあり、ATPと光応答性阻害剤はバッファー液に溶解して与えている。

【用語解説】

- *1 アデノシン三リン酸（ATP）… すべての植物、動物及び微生物の細胞内に存在するエネルギー分子。ATPは、細胞の増殖、筋肉の収縮、植物の光合成、菌類の呼吸及び酵母菌の発酵などの代謝過程においてエネルギーを供給するために用いられる。酵素の作用でATPの三リン酸部位が二リン酸と無機リン酸へと加水分解される際にエネルギーが放出される。
- *2 モータータンパク質… アデノシン三リン酸(ATP)の加水分解酵素であり、ATPの加水分解によって生じる化学エネルギーを運動に変換するタンパク質。アクチン上を動くミオシン、微小管上を動くキネシンやダイニンが知られている。細胞分裂の際の力の発生、筋肉の収縮、細胞内の物質移動、微生物の運動器官である鞭毛や繊毛の運動などを担っている。
- *3 ダイニン… モータータンパク質の一種で、ATPを加水分解して得られるエネルギーで微小管上を運動するタンパク質。真核生物の鞭毛・繊毛の運動を生み出すタンパク質（軸糸ダイニン）として同定された。また、後に細胞内での様々な物質の移動に関わっている種類（細胞質ダイニン）も存在することが明らかとなった。
- *4 アゾベンゼン… 光の照射によって可逆的に分子構造を変化させるフォトクロミック化合物の一種。様々な誘導体が合成可能であり、近年では、生体分子中に導入して生体機能を可逆的にスイッチさせる光スイッチ分子部位として盛んに用いられている。
- *5 クラミドモナス… 一般にはクラミドモナス属の1つの種であるコナミドリムシ(*Chlamydomonas reinhardtii*)を指す。10~30ミクロン程度の球状または楕円形の単細胞生物で、葉緑体を持ち淡水に生息する。二本の鞭毛を有し、それを平泳ぎのようにスイングさせて水中を移動することができる。

参考 URL : <https://www.youtube.com/watch?v=eH3aTsaVI7M>