

# 審査の結果の要旨

氏名 梅田 暢大

現代の生命科学研究において、生物を「見る」ための計測・分析技術と、生物を「操る」ための摂動技術は、ともに欠かすことのできない実験技術の両輪である。解除光照射によって可視化活性あるいは薬理活性などを回復させることができる光分解性保護基（ケイジ基）を有する化合物は、摂動の非侵襲的な時空間制御を可能にする数少ない技術の一つである。本研究ではケイジド化合物に関して2つの研究を行なった。

## BODIPY 誘導体の光反応に基づいたケイジド化合物の解除光長波長化とその生体応用

従来の一光子励起によるケイジ基はその分解（アンケイジ）に 350 nm 程度の紫外光を必要とするため、解除光の細胞傷害性や組織透過性の低さが問題となるほか、紫外域に対応した光学系が実験系に必須になるなど実用上の観点からも不便が多い。長波長可視光でのアンケイジを可能にする二光子励起法も、特殊な光学系を必要とするため簡便性に欠け、励起範囲の拡張性も乏しい。本研究では、蛍光団として知られる BODIPY (Boron dipyrromethene) の新規光反応に基づき、長波長可視光により一光子アンケイジ可能なケイジド化合物の開発研究を行なった。

BODIPY をケイジ基として用いた長波長一光子励起ケイジド化合物の開発研究では、光誘起電子移動 (PeT) による蛍光の消光機構が働いている誘導体が高い反応量子収率を有し、光脱離反応に蛍光団 BODIPY への PeT が必要であることを明らかにした。また、HOMO レベルに基づいた分子設計により 600 nm 以上の長波長領域の光を解除光とするケイジド化合物も開発した。

生体系への応用として、BODIPY ケイジドヒスタミンを開発、HeLa 細胞に応用し、BODIPY ケイジド化合物が細胞中で 500 nm 以上の可視光で一光子アンケイジ可能であり、アンケイジによりヒスタミン活性を時空間的に制御して生成させることが出来ることを示した。また、化合物 DHNB が 600 nm という長波長の光照射でアンケイジ可能なケイジ基として利用可能であることも示した。開発した BODIPY ケイジド化合物は、500 nm 以上の可視光で一光子励起可能な初めてのケイジド化合物であり、解除光の組織透過性の高さや照射領域の広域拡張性を活かし、動物個体や組織レベルでの小分子光制御法としての広く応用できることが期待される。

## ケイジド Rapamycin の蛋白質複合体化による small GTPase の局所的活性化

細胞内における Rho ファミリー-small GTPase (以下 Rho GTPase) のダイナミックかつ精細な活性制御は、細胞遊走、貪食、細胞接着、分泌といった多様な細胞運動に密接に関わっている。細胞遊走における細胞内シグナルの流れは、近年の蛋白質可視化技術によって明らかになってきているが、Rho GTPase の振る舞いに関してさらに深い知見を得るためには、これまでの可視化技術に加えて、これら Rho GTPase の活性を Subcellular レベルで制御する技術が必要である。Inoue らは、Rapamycin 誘導体 (Rapalog) による FKBP-FRB ヘテロ

二量化を利用して、Rapalog 依存的な Rho GTPase 活性化を誘導する実験系を開発した。この系を利用して、Rapalog の局所的な投与を可能にするケイジド Rapamycin を開発すれば、Rho GTPase の時空間制御が可能になると考えられる。

Rapamycin のケイジド化合物はこれまで数例の報告例があるが、いずれも光照射前のバックグラウンド活性を十分に抑制できておらず、Subcellular レベルでの局所的ヘテロ二量化は達成されていない。本研究は、光開裂性のリンカーで Rapamycin と蛋白質を結合した Rapamycin 蛋白質複合体を設計することで、Rapamycin のバックグラウンド活性を十分に抑えたケイジド Rapamycin が開発可能であるとの仮説に基づいて行われた。すなわち、蛋白質と複合体化し細胞外に滞留させることで、細胞質内でのヘテロ二量化誘導活性をほぼ完全に失わせ、光照射によりリンカーが切断されると、膜透過性の Rapalog が光照射部位でのみ放出され、局所的なヘテロ二量化を誘導すると考えられる。この仮説に基づいて、新規化合物を設計・合成し、その細胞局所的活性化を検討した。その結果、Rapamycin のケイジド化合物を、Biotin を介して Avidin と複合体化させることでバックグラウンドの二量化活性を抑制し、Subcellular レベルでの Rac の細胞局所的活性化に成功した。本手法は Rac 以外のシグナル蛋白質へも容易に拡張可能であると考えられ、細胞遊走などの細胞運動におけるシグナル伝達機構のより詳細な解明に寄与することが期待される。

上記の成果は薬学研究に寄与するところは大きく、博士（薬学）の学位に値するものと高く評価された。