

補助事業番号 2025M-405
補助事業名 2025年度 相分離液滴内部の薬効機序を可視化するための装置の開発
補助事業
補助事業者名 神戸大学大学院 理学研究科 化学専攻 生命分子化学分野
茶谷 絵理

1 研究の概要

アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患は、神経細胞の損傷により認知障害や運動障害が進行する疾病群である。これらの疾病では、神経毒性を有するアミロイド線維の生成が発症や進行に深く関与すると考えられているが、生体内での効果的な阻害法は未だ確立されていない。そのようななか近年、原因タンパク質が液-液相分離によって液滴状に濃縮した「相分離液滴」が、アミロイド線維生成の場となる可能性が指摘されている。本事業ではこの視点に着目し、相分離液滴を標的とした薬剤開発を見据えて、液滴内部に作用する薬剤の機序を解析するための手法開発を目的とした。

液滴内部を詳細に観察するためには、その形成を時空間的に制御することが必要であるが、試験管内での制御手段は限られている。そのようななか我々は、光の照射によって生じる力(光圧)を利用し、相分離液滴の形成を試験管内で駆動できることを見出した(Yuzu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 121, e2402162121 (2024))。本研究ではこの光圧を利用し、薬剤共存下で相分離液滴を一液滴レベルで詳しく顕微鏡観察するためのシステムの開発を行った。

2 研究の目的と背景

神経変性疾患は生活の質を著しく低下させるだけでなく、発症後は病状が進行し続ける。本疾患の根本的な治療法は確立されておらず、そのため患者本人だけでなく、家族や介護者にも大きな苦悩や負担を強いる。さらに、高齢化に伴い罹患者数は増加し続けており、予防や根治に繋がるような新たな治療方法の開発は重要な課題である。

そこで本補助事業では、神経変性疾患の画期的な治療法開拓を目標とし、これに資する解析システムの構築をはかった。上述のとおり、近年相分離液滴が生体におけるアミロイド線維の生成場と考えられるようになり、有力な創薬ターゲットとして注目されている。さらに我々は、近赤外レーザーを α シヌクレイン(パーキンソン病に関わるタンパク質)試料の気液界面に照射すると、光圧により相分離液滴が形成する現象を見出している。そこで本研究では、光圧によって一つの相分離液滴の内部

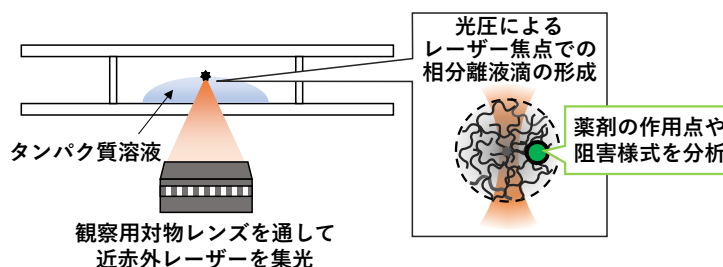


図1. 本補助事業の概要

におけるアミロイド線維形成過程をマイクロなスケールで直接観察できる実験系を構築し、液滴内部に作用する薬剤の効果とその分子機構を明らかにするためのシステム開発を目的とすることにした(図1)。

3 研究内容

1. 光圧による相分離液滴形成技術の確立

本システムの実現には、疾患関連タンパク質が光圧により液滴を形成することが必要である。そこで、 α シヌクレインに加え、タウおよびFUSについて検討を行い、さらにモデルタンパク質として学術的な知見蓄積が豊富なニワトリリゾチームも用いた。各試料に近赤外レーザー光を集光した結果、いずれも光圧による捕捉が確認された。初期条件では固体状凝集が生じたが、タウとリゾチームでは条件最適化により液滴形成に成功し、本手法の有効性を確認できた。一方、FUSでは明確な液滴形成には至らずに今後の課題とした。

さらに、 α シヌクレインを題材として、低出力レーザーでの液滴形成のために光圧増強を目指した。その手段として、金ナノ粒子と軽水の添加効果の解析を実施した。前者では共有結合したコンジュゲートタンパク質を作製し少量添加した。その結果、液滴形成は加速したものの、急激な液滴の膨張や収縮が見られるなど不安定であった。一方で後者では、安定かつ顕著な液滴形成および成長の促進が観察され、低レーザー強度での液滴形成が可能になった。

2. 液滴内部観察のための基本技術の構築とこれを用いた薬剤効果の観察

続いて、液滴内部の状態および経時的变化を追跡するため、明視野および蛍光プローブを基盤とした観察系を構築した。ローダミン標識タンパク質およびチオフラビンTを用いることで、液滴内部のタンパク質濃度分布および液滴内部からのアミロイド線維生成の可視化を可能とした。なお集光点でのラマン散乱スペクトル測定により、ThT蛍光がタンパク質の異常な構造化を検出していることを確認した。

さらに本システムを用いて、 α シヌクレインのアミロイド線維形成阻害剤として知られるカテキン的一种であるEGCGが α シヌクレインの相分離液滴に与える効果を検討した。EGCGが存在する条件下で光圧による液滴形成を行いながら、顕微鏡観察を行った。その結果、同サイズの液滴を比較した際に、液滴内部のタンパク質濃度がEGCG存在下において有意に低下していることを見出した(図2)。今後も解析を継続することで、本システム上でのEGCGの液滴への作用機構の解明が期待される。

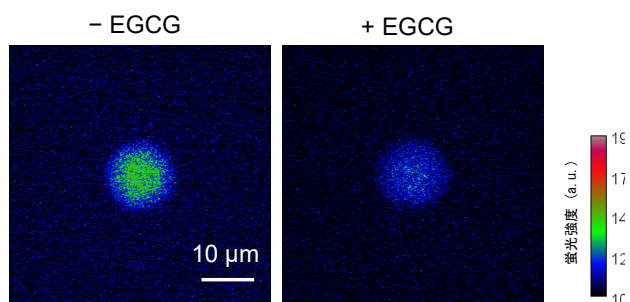


図2. 共焦点蛍光顕微鏡観察により明らかにされたEGCGの共存下における液滴内タンパク質濃度の低下

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本事業により、光圧を利用した相分離液滴の操作および内部観察技術の基礎骨格が確立した。一つの液滴に注目し、その内部を詳しく分析する手法は限られている。このため本技術は、液滴内部で進行するアミロイド線維生成の解析に威力を発揮し、新しい形の薬剤評価システムとしての発展が期待される。本システムの汎用性と精度を高めることで、創薬標的に対する薬効を直接評価する技術基盤としての実用への展望が開け、将来的に、多くの罹患者の治療を可能にする薬剤の誕生を強く後押しできると期待される。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本補助事業者は、アミロイド線維の構造や形成機構の解明研究に取り組んできた。特にアミロイド線維が出現するまでの初期凝集過程に注目し、実験的な観測が難しいとされる反応の途中段階を明らかにしてきた。またこれらの研究の一環として、液滴からのアミロイド生成にも着目し、本研究で注目した光圧による液滴形成現象を見出してきた。本事業は、これらの知見を統合することによって着想し、実行に至った研究として位置づけられる。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

現時点では該当なし

7 補助事業に係る成果物

(1) 補助事業により作成したもの

該当なし

(2) (1)以外で当事業において作成したもの

該当なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 神戸大学 大学院理学研究科
(コウベダイガク ダイガクインリガクケンキュウカ)

住 所： 〒657-8501
兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1

担 当 者： 教授 茶谷 絵理(チャタニ エリ)

担 当 部 署： 化学専攻 生命分子化学分野 茶谷研究室
(カガクセンコウ セイメイブンシカガクブンヤ チャタニケンキュウシツ)

E - m a i l: chatani@crystal.kobe-u.ac.jp

U R L: <https://www2.kobe-u.ac.jp/~echatani/>