

● 電子顕微鏡とX線自由電子レーザーを用いた構造解析研究

生体分子やその複合体の立体構造解明は、生体の生理現象解明、医療創薬に重要な情報を付与する。これまでのX線結晶解析法やNMR法に加えてクライオ電子顕微鏡法(Cryo-EM)が開発され、細胞やタンパク質の生体試料を化学固定せずに、生体環境に近い水和状態のまま非晶質の水薄膜に瞬間凍結包埋して電顕撮影し、タンパク質の構造を原子レベルで把握できるようになった。Cryo-EMによる解析事例数は、2017年のノーベル化学賞の受賞以来さらに加速している¹⁾。

2022年5月に大戸らが、B型肝炎ウイルス(HBV)感染初期にウイルスタンパク質が肝細胞表面に結合する際の標的となるヒト膜タンパク質NTCP(Na⁺-taurocholate co-transporting polypeptide)の立体構造をCryo-EM単粒子解析により解明した²⁾。

Cryo-EM単粒子解析法(SPA)は、液体窒素冷却下(-196℃)で様々な方向を向いているタンパク質分子を薄い水中に閉じ込め電子線を照射し、数万~数十万分子からの透過像を観察・組み合わせることでタンパク質の立体構造を3次元構造へと再構築する手法である。HBVの感染者は世界に約2.9億人いると言われ、慢性感染は肝硬変と肝細胞癌の主な原因となり、年間推定82万人が死亡している。研究成果はNTCPを介したHBVの感染機構解明およびB型肝炎に対する新規治療薬の開発につながると期待される。

同じく2022年5月に鈴木らが全固体電池用の硫化物系固体電解質を1フェムト秒(1000兆分の1秒)のX線自由電子レーザー(XFEL)による無損傷・ナノスケール観察に成功したと発表した³⁾。全固体電池は、電気自動車の次世代電池の有力候補であるが、アモルファスと結晶粒が混在するガラスセラミクス材料であるために熱力学的な安定性が低く、電子線やX線照射での構造解析が非常に難しい。独自に開発した、XFELで溶液試料のスナップショットを捉えるパルス状コヒーレントX線溶液散乱法では、フェムト秒のX線レーザーが一瞬で試料のありのままの構造を映し出すために試料が変質する時間的な隙間が無い。生きた細胞の姿を捉えることもできる。X線回折パターンデータから試料像を鮮明に再構成するデジタル画像処理法(MorphoCIEP)も開発し、マンモグラフィにおけるかすかな病変の検出などへの応用が期待されている。Cryo-EMやXFELの活用によるデータ構築法は今後さらに大きく発展すると予想され、医療創薬や持続可能な社会の実現に向けた材料開発の推進に貢献する重要な分析技術である。

1) E. Landhuis : *Nature*, 577, 585 (2020).

- 2) J. Asami, K. Terakado-Kimura, Y. Fujita-Fujiharu, H. Ishida, Z. Zhang, Y. Nomura, K. Liu, T. Uemura, Y. Sato, M. Ono, M. Yamamoto, T. Noda, H. Shigematsu, D. Drew, S. Iwata, T. Shimizu, N. Nomura, U. Ohto : *Nature*, in press.
- 3) A. Suzuki, H. Tanaka, H. Yamashige, Y. Orikasa, Y. Niida, T. Kimura, K. Tono, M. Yabashi, T. Ishikawa, Y. Bessho, Y. Joti, Y. Nishino : *Nano Lett.*, 22, 4603 (2022).

[千葉工業大学大学院先進工学研究科

生命科学専攻 南澤磨優寛]

● キラルメタボロミクスが拓く新たな創薬・診断研究

生体内にはアミノ酸やヒドロキシ酸、糖、タンパク質など、不斉中心を有するキラルな化合物が数多く存在する。自然界におけるこれらの鏡像異性体比には大きな偏りがあり、例えば生体を構成するアミノ酸はすべてL-アミノ酸であると考えられていた。分析技術の進歩に伴い、ヒトを含む哺乳類の体内にこれまでマイナーとされていたD-アミノ酸をはじめとする様々な微量鏡像異性体が存在することが明らかとなり、鏡像異性体を区別して定量するキラルメタボロミクスに関心が集まっている。

現在、キラルメタボロミクスに関する報告のほとんどを特定の化合物を対象とするターゲットメタボロミクスが占めており、限られた一部のアミノ酸やヒドロキシ酸について微量鏡像異性体の生理機能解明や疾患による含量変化の解析が進められている。更なる病態理解や診断マーカーの開発に繋がる多種多様なキラル化合物の網羅的な解析が切望されており、Pandeyらはアミノ酸およびヒドロキシ酸のアンターゲットキラルメタボロミクスを報告している¹⁾。ジアセチル酒石酸無水物(DATAN, diacetyl-tartaric anhydride)を用いて水酸基およびアミノ基を有する生体成分をプレカラム誘導体化し、液体クロマトグラフィー-高分解能タンデム質量分析装置(LC-HR-MS/MS)により一斉分析を行う。DATANは不斉炭素を有するため、生体内のキラル化合物はジアステレオマーとして分離される。また、(+)-DATANおよび(-)-DATANを用いた溶出順序反転の確認により(キラルな化合物であれば溶出順序が反転し、アキラルな化合物であれば反転は生じない)アキラルな化合物とキラルな化合物の識別が可能である。Pandeyらは300種以上のキラル・アキラルな代謝物の分離および検出を達成し、急性骨髄性白血病患者の骨髄血漿および末梢血血漿の解析を行った。その結果、D-アラニンやD-2-ヒドロキシグルタル酸などの様々なアミノ酸およびヒドロキシ酸のD体が血漿中に存在することに加え、一部の代謝物については治療により鏡像異性体比が有意に変化することを示しており、今後、様々な臨床試料分析を通じて病態解明や診断マーカーの開発など新たな創薬・診断研究へと繋がることを期待される。

- 1) R. Pandey, M. Collins, X. Lu, S.R. Sweeney, J. Chiou, A. Lodi, S. Tiziani : *Anal. Chem.*, 93, 5805 (2021).

[福岡大学薬学部 古賀鈴依子]