

自己評価報告書

平成23年 4月 10日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20117006

研究課題名（和文） 化学プローブを駆使した活性酸素シグナルの制御機構解明

研究課題名（英文） Probing ROS signaling with small molecules

研究代表者

有本 博一 (ARIMOTO HIROKAZU)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：60262789

研究分野：ケミカルバイオロジー

科研費の分科・細目：生物分子科学・ケミカルバイオロジー

キーワード：活性酸素, 化学プローブ

1. 研究計画の概要

赤池らと共同で見出した 8-ニトロ cGMP は、セカンドメッセンジャーとして重要な cGMP の誘導体である。内因性の cGMP 誘導体は、これまで全く知られておらず、その生理機能に注目が集まっている。8-ニトロ cGMP は、タンパク質に含まれるシステイン残基の側鎖チオールと反応して、亜硝酸イオンを放出し、共有結合を形成する。我々は、このタンパク質 S-グアニル化修飾に着目した。8-ニトロ cGMP は、活性酸素シグナルに深い関係があると予想される。S-グアニル化修飾は、活性酸素をタンパク質がセンシングする重要なメカニズムと考えた。そこで、8-ニトロ cGMP と反応する含 Cys タンパク質の同定を目指す。さらに、本修飾が消去される過程を研究する。ニトログアニン誘導体をもとに蛍光プローブを設計して解析に活用する。

2. 研究の進捗状況

細胞が酸化ストレス条件におかれると、細胞内では活性酸素や活性窒素酸化物が生成する。そして、一酸化窒素とスーパーオキシドアニオンから生成するパーオキシナイトライトは種々の生体分子をニトロ化する。cGMP のニトロ化体である 8-ニトロ cGMP は、酸化ストレスに呼応して生成するシグナル分子である。本研究では、8-ニトロ cGMP をもとにした蛍光プローブ分子の合成法を開発し、細胞に投与して、その動態を研究してきた。

この分子の生理機能は、ほとんど知られていなかったが、生細胞イメージングの結果からヒントが得られてきた。このシグナル分子は、ストレスから細胞を保護するために働い

ている。従来、活性酸素は生体分子を傷つける悪玉のイメージが強かったが、生体がストレスに対抗するという意味合いが明確になったと考えている。

8-ニトロ cGMP がシグナル伝達に関与している以上、そのシグナルを消去するメカニズムが存在すると予想される。一つの経路は、S-グアニル化修飾そのものである。この反応によって 8-ニトロ cGMP は消費される。S-グアニル化修飾によって活性化されたタンパク質の分解過程は完全に明らかになっていないが、タンパク質ごと酵素消化されている可能性が示唆されている。

もう一つの過程は、含 Cys タンパク質と反応しなかった「過剰の」8-ニトロ cGMP が消去されるプロセスである。シグナル分子は、一般に非常に短寿命であり、化学構造が細胞内で変化するため、分析は困難がともなう。そこで、合成化学的手法で 8-ニトログアニン誘導体に同位体原子を導入し、標識をつけたうえで細胞に投与した。このような化学プローブを用いることによって、微量の代謝産物が同定できた。得られた情報をもとに、8-ニトロ cGMP 自体にも酸素同位体を導入し細胞内に投与した。上記の予備実験から予想される代謝産物の標品を用意し、細胞抽出物を質量分析装置を用いて詳細に解析したところ 8-ニトロ cGMP の代謝産物を初めて明らかにすることができた。その代謝過程については、近日中に論文として発表する予定である。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 研究計画の前半の中心的課題である種々の化学プローブ開発に目処が付き、8-ニ

トロ cGMP の生理作用解析も順調にすすんでいるため。

4. 今後の研究の推進方策
グアニンとともにプリン塩基を有するアデニンのニトロ化の生体内存在の解明、ならびに、その生理機能解析に重点を置いて研究する。

5. 代表的な研究成果
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. T. Sawa, H. Arimoto, T. Akaike ,
Regulation of Redox Signaling Involving
Chemical Conjugation of Protein Thiols by
Nitric Oxide and Electrophiles,
Bioconjugate Chem. 21巻, pp. 1121-1129,
2010年、査読あり
2. 澤 智裕、有本博一、赤池孝章、
チオール基の修飾による活性酸素のセンサー
機能制御、実験医学増刊：病態解明に迫る活
性酸素シグナルと酸化ストレス pp.
2341-2347、2009年、査読あり

[学会発表] (計 7 件)

1. H. Arimoto, Discovery and Functions
of Novel cGMP derivative (基調講演)、東
北大学GCOE サマースクール2010、東北
大学大学院理学研究科、平成22年8月19日
2. 有本博一、感染症の理解と制御のための
化学的アプローチ (招待講演)、第22回万
有札幌シンポジウム、さっぽろ芸術文化の館
平成22年7月3日
3. Y. Saito, C. Ito, T. Sawa, T. Akaike,
H. Arimoto, Chemical probes for elucidation
of metabolism of nitrated nucleotides,
中華人民共和国 北京大学、Tetrahedron
Symposium 2010、平成22年6月22日-25
日
4. H. Arimoto, Chemical studies on
protein modifications by nitronucleotides,

The 6th International Conference on the
Biology, Chemistry, and Therapeutic
Applications of Nitric Oxide, 京都国際会議
場、平成22年6月15日

5. 有本博一、ニトロ化ヌクレオチドのケミ
カルバイオロジー、日本化学会 第90 春季年
会 (特別講演)、近畿大学 本部キャンパス
平成22年3月29日