



脳内有機化学

ヘテロな時空間分子ネットワーク情報をそのまま読み解く挑戦

浜地 格 Itaru HAMACHI

高等動物において脳は様々な高次機能を司る中枢組織であり、1000億個以上の神経細胞には多種多様な分子が存在し、ヘテロに区画化された3次元構造体中に不均一に分布・変動している。分子レベルから個体行動との相関解析まで革新が進む神経・脳科学の潮流において、時空間的な分子ネットワーク情報を精密に読み解くための貢献が期待される「脳内有機化学」の挑戦と可能性について概説する。

神経・脳科学の新潮流

高等動物において脳は、運動、思考や記憶から感情まで様々な高次機能を司る中枢組織である。脳内は大脳、小脳、海馬など解剖学的に不均一で階層的な3次元空間に区画化され、領野ごとに異なる役割を果たす。我々ヒトの脳は1000億個の神経細胞を有し、その中にタンパク質や遺伝子を含む多種多様な生体分子が詰め込まれているが、その分布は領野や層によって異なる。その中で神経細胞は複雑なネットワーク（神経回路）を形成し、その可塑性が柔軟な脳活動の基盤と考えられている。ナノメートルからメートルまでのスケール、分子間相互作用から記憶や感情までの機能の多彩さは、化学者にとって眩暈がするほど複雑である。

脳内の信号伝達は主に電気信号と化学物質が担い、特に神経細胞間の連結部（シナプス）では、電気信号が Ca^{2+} イオンや神経伝達物質に変換されて隣の神経細胞へ伝えられる。近年この変換において主役となるイオンチャンネルと神経伝達物質受容体の立体構造が次々に明らかになり、その活性化機構が原子レベルで議論される時代となった。また、光遺伝学と呼ばれるチャンネルロドプシンを基盤とした特定神経細胞の光活

はまち・いたる

京都大学大学院工学研究科 教授
〔経歴〕1988年京都大学工学博士。九州大学工学部助手、助教授、同大学先端物質化学研究所教授を経て、2005年から現職。18年からERATO（ニューロ分子技術）研究総括。〔専門〕分子夾雑の生命化学。〔趣味〕ホークスとルフィーの応援、くだらない夢を見ること。

E-mail: ihamachi@sbchem.kyoto-u.ac.jp



性化技術の創出によって、神経細胞間ネットワーク形成と行動や記憶など個体レベルの脳機能との相関解析が大きく進んでいる。これらの事実は、脳機能の基盤は分子であること、革新的分子ツールが脳研究に大きな発展をもたらすことを端的に示している。

このような神経・脳科学研究の新時代において、有機化学にどのようなユニークな貢献が可能であろうか？ヘテロな3次元構造の中で時空間的に広がり揺らぐ多くの分子情報を、精密に読み解く分子技術を開発することが1つの鍵となると筆者らは考えている。ここでは筆者らが最近取り組んでいる、生きたマウス脳内で駆動するタンパク質の化学修飾を基軸とした「脳内有機化学」とでもいべきアプローチを紹介し、その可能性を展望させていただきたい。

In-brain リガンド指向性化学による受容体標識

グルタミン酸受容体は興奮性シナプスに存在し、記憶・学習に関与するので、その動態解析は記憶の分子メカニズム解明だけでなく、神経疾患の診断法開発にもつながる。筆者らはリガンド指向性化学（LDchem）を使って脳内受容体の選択的な可視化タグ修飾を試みた。LDchemは、分子認識と近接効果による反応加速を共役させた筆者ら独自のタンパク質修飾戦略である^{1,2)}。アシル転移型ラベル化剤を麻酔下のマウス側脳室に注入すると、脳髄液の流れに乗って全脳へ拡散され標的受容体による認識を介したアシル化反応が起こることを想定した。覚醒後24時間活動したマウスの脳組織を種々の生化学的解析や定量質量分析すると、驚くほどの選択性で標的受容体への蛍光タグ付けに成功

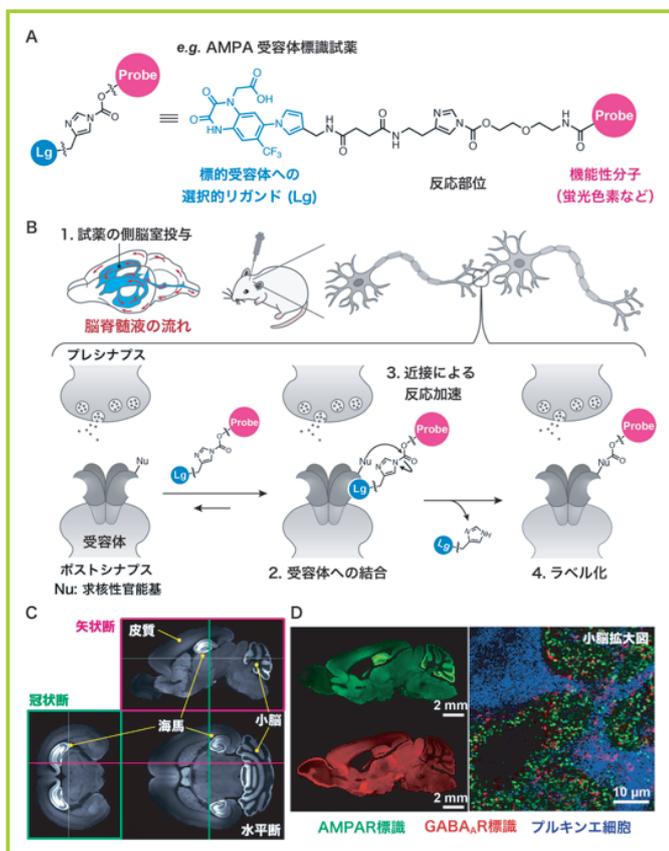


図1 In-brain リガンド指向性化学の概念図 (A, B), ラベル化 AMPA 受容体の全脳 3D イメージング (C), AMPA/GABA_A 受容体の同時標識とイメージング (D)

したことが明らかになった³⁾。さらにマウス全脳を透明化しライトシート顕微鏡によって観察すると、AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA: α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4 イソキサゾールプロピオン酸) が多く発現している海馬や小脳分子層に明るい蛍光輝点が観測された (図1)。拡大画像の輝点はマイクロメートルサイズであり、興奮性シナプスに局在している受容体の分布をシナプス分解能かつ全脳レベルで可視化できることがわかった。リガンド部分を入れ替えてラベル化剤の特異性を変えると、抑制性の神経活動を支配する GABA 受容体 (GABA: γ -アミノブタン酸) への標識も可能であり、興奮性と抑制性シナプスの空間分布や数の違いを明確にイメージングできた。同様の戦略は、情動に関与するドパミン受容体などにも適用範囲が広がってきており、アシル転移を基軸とした In-brain LDchem は一般性を持った戦略となりそうである。

In-brain LDchem は、細胞表層に発現した活性な受容

体のみを、ラベル化剤投与のタイミングで標識できる特徴を有する。これによって、ある時点で発現していた受容体のその後の運命 (局在変化や分解) を、脳内環境のまま追跡することが可能となった。多数のシナプスが頻繁に形成・除去される生後発達期において、小脳の AMPA 型グルタミン酸受容体の動態をパルスチェイス解析した結果、受容体の長距離移動や機能的に異なるシナプスへの乗り換え現象を初めて発見した。LDchem は、遺伝子操作を必要としないため霊長類を含む様々な生物種や疾患モデルにも適用できる汎用性があり、脳神経科学者との共同研究が進んでいる。

In-brain 光有機化学によるプロテオーム解析

In-brain LDchem では、可視化タグ以外の分子の修飾も可能である。筆者らは、光増感剤のタグ付けにより、生きたマウス脳内で適用可能な光駆動の近傍ラベル化法 (PhoxID) を開発し、高い時空間分解能でマウス脳内の受容体インタラクトーム (タンパク質間相互作用ネットワーク) を解析することに成功した⁴⁾。神経伝達物質受容体のインタラクトームの解明は、複雑な脳機能を理解するための分子基盤を与えるという意味で重要であり、生きた動物個体脳内で使用できる解析技術が待望されていた。PhoxID では、まず LDchem を使ってマウス脳内の標的受容体に光増感剤を修飾し、その後、脳内に挿入した光ファイバーを用いて緑色光を照射、限定空間で発生した一重項酸素によって周辺タンパク質を酸化する。この酸化タンパク質をヒドラジド連結デスチオビオチン修飾後に濃縮、質量分析することで、受容体インタラクトームの網羅的な同定が実現した (図2)。本手法により、受容体ごとのインタラクトームの違いや、海馬と小脳など領域による差異が明確に示された。さらに、生後発達期から成熟期にかけて、シナプス形成に重要な AMPA 受容体の周辺タンパク質群が変化することを実証しただけでなく、幼若期特異的に受容体近傍に局在する複数のタンパク質を新たに発見した。PhoxID は、脳機能を分子間相互作用の視点から仮説フリーに迅速解析するための強力な分子ツールとして、いろいろな展開が期待されている。

さらに最近、LDchem と逆電子要請型クリック反応が脳内で連続して使えることが明らかになった (図

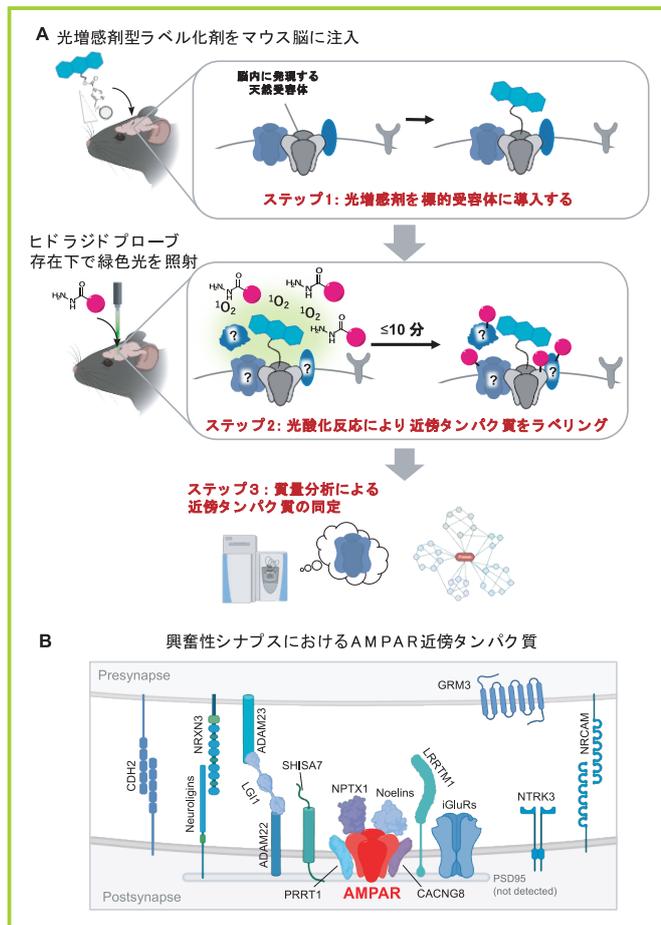


図2 PhoxIDのスキームと同定されたAMPA受容体近傍タンパク質群

3)。本戦略では、LDchemで生体直交性の反応基を標的受容体に修飾し、クリック反応で機能分子をタグ付けするので、受容体に搭載できる分子がペプチドや核酸などへ大きく拡張すると期待される⁵⁾。また、この研究の過程でラベル化剤を脳全体に行き渡らせて効率良い反応を実現するために、cLogP値が良い指標となることを見いだした。脳内での化学変換はフラスコの化学と異なり、暗中模索の域を出ていないが、このような制御因子の同定は脳内有機化学の確立に重要であると考えている。

また、脳内には神経細胞のほかに多数のグリア細胞が存在し、脳内環境の監視や維持に関与している。その重要性は徐々に明らかにされつつあるが、未解明な部分も多い。筆者らは、ミクログリア選択的な受容体を選び出し⁶⁾、これを標的にIn-brain LDchemを進めている。ミクログリアは遺伝子操作が難しい細胞である

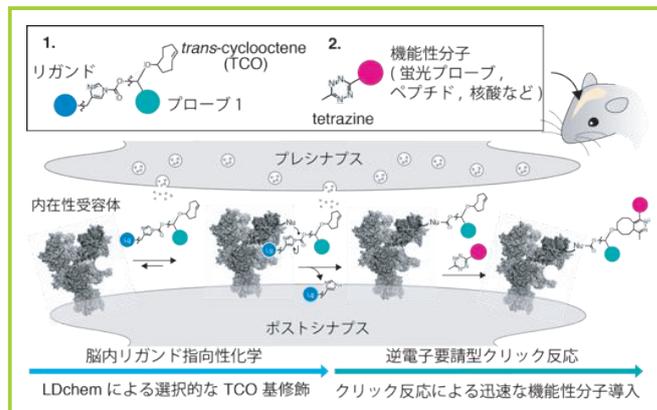


図3 脳内LDchemと逆電子要請型クリック反応の連動による受容体選択的な機能性分子導入

ため、化学の強みを活かしたアプローチへの期待は大きい。

展望

脳内の混み入った構造や複雑な状態を維持したまま分子情報を解読することは、3次元空間で時間軸を持って広がる脳内の多様な分子地図作成を可能とし、それはAIなどの情報科学との協働によって、脳機能不全に由来する認知症や神経疾患などの治療薬開発、副作用予測などに貢献するであろう。一方で、脳の分子複雑環境や階層的で不均一な構造での分子変換は、これまで意識することのなかった多くの課題を我々化学者に突き付けている。この領域は始まったばかりであり、山積する難問に丁寧に答えることは、学問としての化学の領域を広げることに繋がると思っている。

最後に、無謀と思われた研究プロジェクトに参画し粘り強く挑戦を続けたERATOメンバーや厚いご支援をいただいたJSTに深謝したい。

- 1) S. Tsukiji, M. Miyagawa, Y. Takaoka, T. Tamura, I. Hamachi, *Nat. Chembiol.* **2009**, *5*, 341.
- 2) K. Ojima et al., *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 831.
- 3) H. Nonaka et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2024**, *121*, e2313887121.
- 4) M. Takato, S. Sakamoto, H. Nonaka, F. Y. Tanimura Valor, T. Tamura, I. Hamachi, *Nat. Chembiol.* **2025**, *21*, 109.
- 5) S. Sakamoto, K. Shiraiwa, M. Wang, M. Ishikawa, H. Nonaka, I. Hamachi, *Nat. Synth.*, Accepted.
- 6) H. Nonaka, M. Wang, I. Hamachi, *Chem. Lett.* **2024**, *53*, upae185.