

# Press Release

2013年10月25日

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS)

## 光でガス分子を自在に取り出せる空間材料を開発 —記憶形成・血管拡張など、細胞内 NO ガスの謎を知るカギに—



京都大学 (総長：松本紘) の北川進物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS=アイセムス) 拠点長・教授、古川修平 iCeMS 准教授、ステファン・ディーリング iCeMS 助教らの研究グループは、一酸化窒素 (NO) \*<sup>1</sup>を光により自在に取り出すことが可能な多孔性構造体\*<sup>2</sup>の開発に成功しました。さらに、亀井謙一郎 iCeMS 助教らのグループと協力し、この材料を細胞培養基板に埋め込むことで、細胞の狙った場所を NO で刺激することに成功しました。この成果は、数多くの生理現象に関係している NO の役割の生体内での謎を解く、新しい手法として期待されます。

NO は一般的には毒性のガスとして知られています。しかしながら、私たちの身体の中においては非常に重要なガスであり、生体内の様々な情報伝達の役割を担っていると考えられています。この驚くべき発見に対し、1998年にノーベル医学・生理学賞\*<sup>3</sup>が授与されています。ところが、その細胞内における分子レベルでの役割は、現在もあまり解明されていませんでした。

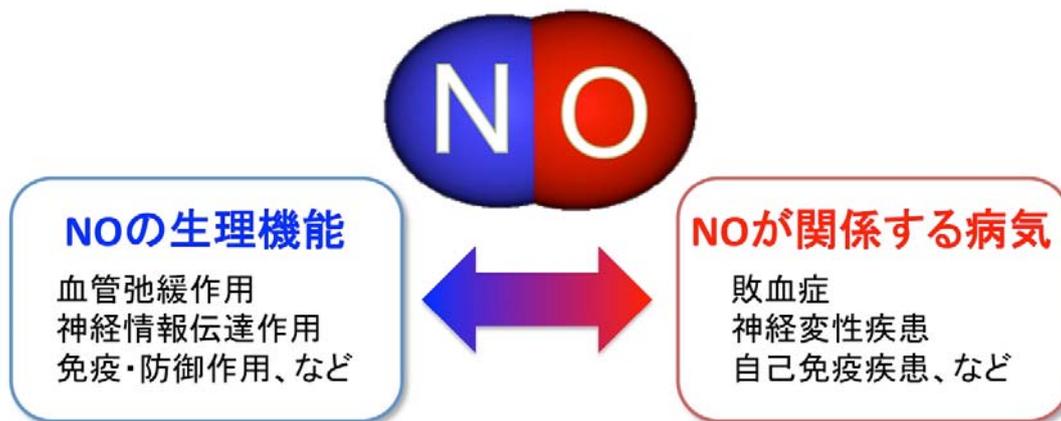
今回の研究では、有機物と無機物からなる「多孔性金属錯体 (PCP もしくは MOF、以下『PCP』という)\*<sup>4</sup>」というナノ細孔をもつ結晶性の多孔性材料を用いて NO を高密度に閉じ込め、光を当てた時のみ素早く取り出すことのできる物質を開発しました。この物質を細胞培養基板の中に埋め込み、レーザーを用いて狙った場所のみ光を当てることで、特定の細胞に NO を取り込ませることが可能になりました。また、この細胞培養基板は、他にも数多くの細胞種 (ES/iPS 細胞、神経細胞など) の培養・刺激試験に応用できます。

本成果により、NO が直接関与しているとされる血管拡張、記憶形成、免疫、代謝などの生物学・医学分野において、細胞の中での NO の役割解明に寄与することが期待されます。

本成果は 2013 年 10 月 25 日 10 時 (日本時間 25 日午後 18 時) に英オンライン科学誌「Nature Communications (ネイチャーコミュニケーションズ)」で公開される予定です。

## 1. 背景

ガス状分子である一酸化窒素（以下「NO」とする）は私たちの身体の中で作り出され、細胞間のコミュニケーションを調整する分子として知られています（情報伝達物質）。特に1987年にNOが血圧に応じて血管を弛緩する主要な因子（血管内由来弛緩因子：EDRF）として同定されて以来、中枢神経系などにおける情報伝達作用など様々な生理的作用を持っていることが明らかとなってきました。例えば、狭心症などの治療に使用されることでよく知られる血管拡張薬ニトログリセリンは、体内で加水分解・還元反応を介してNOになることによって、その効果を示します。一方で、一酸化窒素は毒性を持つガスとしても知られており、高濃度のNOを生物が吸収すると死に至り得ます。細胞に対しても同様、マクロファージと呼ばれる細胞は外敵（細菌、バクテリアなど）を殺すために、NOを放出するシステムを持っています。このようにNOは生物学ではもちろん、医学的にも重要な分子であり、その驚くべき生物学的機能の発見に対し、1998年にノーベル医学・生理学賞が授与されました。しかしながら、細胞内でどのような分子的メカニズムでNOが作用しているのかという謎は未だ完全には解明されていません。その理由には、NOはガス状分子であるため同じ場所に留まることができず（拡散が速く）、取り扱いが非常に困難なことが挙げられます。そこで、細胞内という非常に小さな領域で、NOの濃度を自在に制御できる材料の開発が待ち望まれてきました。

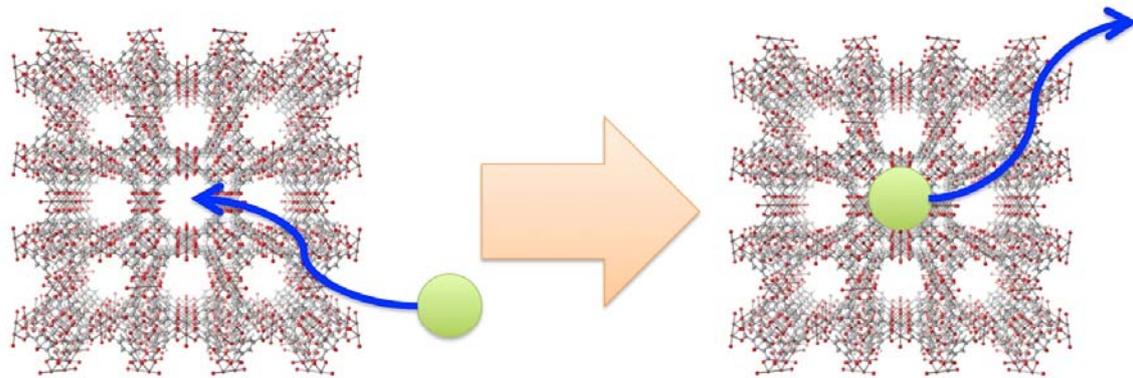


NOの取り扱いが難しく、詳細な機能は謎のままである。

図1. 一酸化窒素 (NO) の生理学的役割の概要。

一方で、多孔性金属錯体 (PCP) とよばれる金属イオンと有機物からなる、極めて均一なナノサイズの細孔を持つ多孔性物質が近年注目を集めています。この結晶性化合物は、細孔のサイズや特性を変えることができるため、目的に応じた設計が可能であり、様々な分子（特にガス分子）をその細孔中に効率的に取り込むことができます。その性質を活かして、エネルギー燃料であるメタンや水素ガスの大量吸蔵や分離、二酸化炭素の大気中からの分離などへの応用が期待されており、高い注目を集めています。これらの機能は「ガスが細孔の中に入ってくる」現象であり、これまではこの制御を行う研究が主になされてきました。本研究グループではこのPCPにNOを取り込ませ、必要な時に、必要なだけ取り出すことができる材料が開発できれば、細胞内におけるNOの濃度調整ができるのではな

いかと考えました。しかし、そのためには「ガスが細孔から出てくる」というこれまでとは全く逆の現象を制御する必要があり、そこで本研究グループでは新しい PCP の合成に取り組みました。



### これまでの研究

吸着、分離、触媒、センサー

「細孔へ入ってくる分子」の制御

### 今回の研究

細胞応用

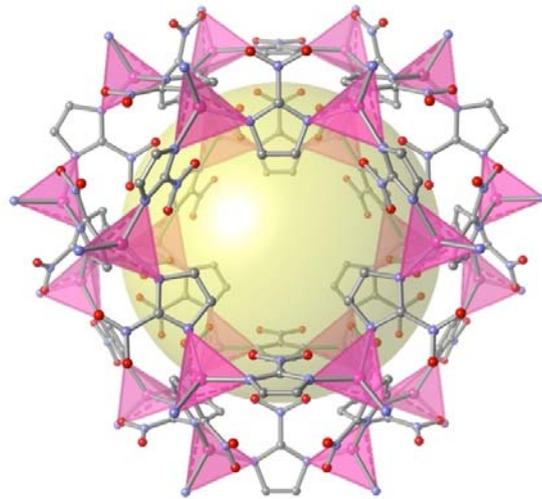
「細孔から出て行く分子」の制御を行う

図2. これまでの PCP の「ガスが細孔の中に入ってくる」現象を制御する概念と、今回取り組んだ「ガスが細孔から出て行く」現象を制御する概念の違い。

## 2. 研究内容と成果

本研究では、PCP に閉じ込めた NO を光照射によってのみ取り出すことに成功し、さらに細胞培養基板に PCP 結晶を埋め込むことで、レーザー光で狙った場所でのみ NO を取り出し、生きた細胞に取り込むことに成功しました。

細胞実験を行う室温・大気圧中では NO はガス状の分子であるため、PCP の細孔で単純に取り込むことはできず、PCP と強い化学結合を持たせる必要があります。そこで、本研究グループは、NO をニトロ基 ( $-\text{NO}_2$ ) として共有結合的に PCP の骨格に固定しました。具体的には、イミダゾールと呼ばれる PCP を構築する有機化合物にニトロ基を導入したニトロイミダゾールを用いて亜鉛イオンとともに反応させることで、図3に示したような PCP を合成しました。ここではこの PCP を NOF-1 と呼ぶことにします (NOF: Nitric Oxide Framework の略称)。この NOF-1 に紫外光を当てると、ニトロ基が分解され、NO が放出されることが確認されました。実際に紫外光の照射を止めると、数秒のうちに NO の放出はなくなり、光の ON/OFF で NO の放出を制御できることがわかりました。さらに時間あたりの放出量は、当てる光の強度を変えることで調整できることもわかりました。



### 新しく合成したPCP (NOF-1)の構造

ピンク色は亜鉛イオン、黄色は内部空間を表している

図3. NOF-1 の結晶構造解析による分子構造

次に、NOF-1 を細胞実験に応用するために、図4に示すような細胞培養基板を作成しました。まず、ガラス基板上に NOF-1 結晶をコーティングした後、生体適合性の高いシリコンゴム PDMS をさらに上からコーティングしました。この PDMS はガス透過性が高いことでも知られており、NOF-1 結晶から放出された NO ガスを妨げることなく速やかに PDMS 膜を透過することができます。細胞培養を行うために、この NOF-1 を用いた細胞培養基板を 70%エタノールで滅菌した後、細胞接着・増殖を促すマトリゲルをコーティングしました。

### 今回の研究で開発したNO放出可能な細胞培養基板

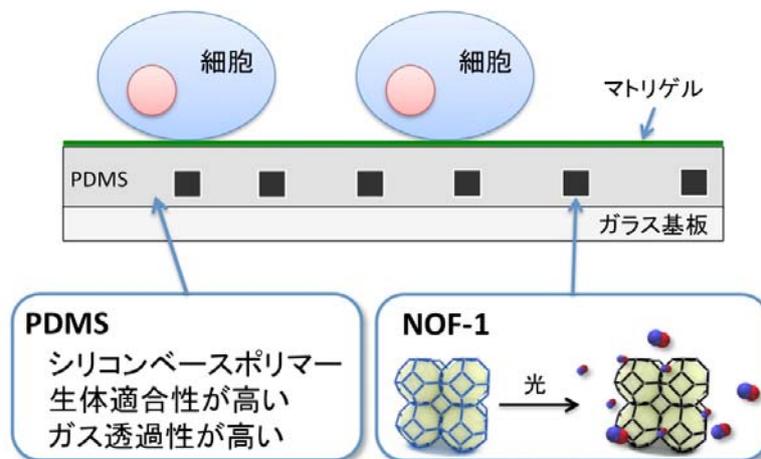


図4. NOF-1 結晶を用いた細胞培養基板。

この細胞培養基板中に埋め込まれた NOF-1 結晶にのみ、顕微鏡下でレーザーを当てることで局所的に NO を放出することができます。また、この基板の上に NO と反応すると緑色に発色する蛍光分子を入れた HEK293 細胞と呼ばれる細胞を培養しました。これにより、図 5 に示すように、狙った場所にレーザー光を当てることで、自在に NO を放出し、局所的に細胞刺激を行うことができる全く新しい手法の開発に成功しました。

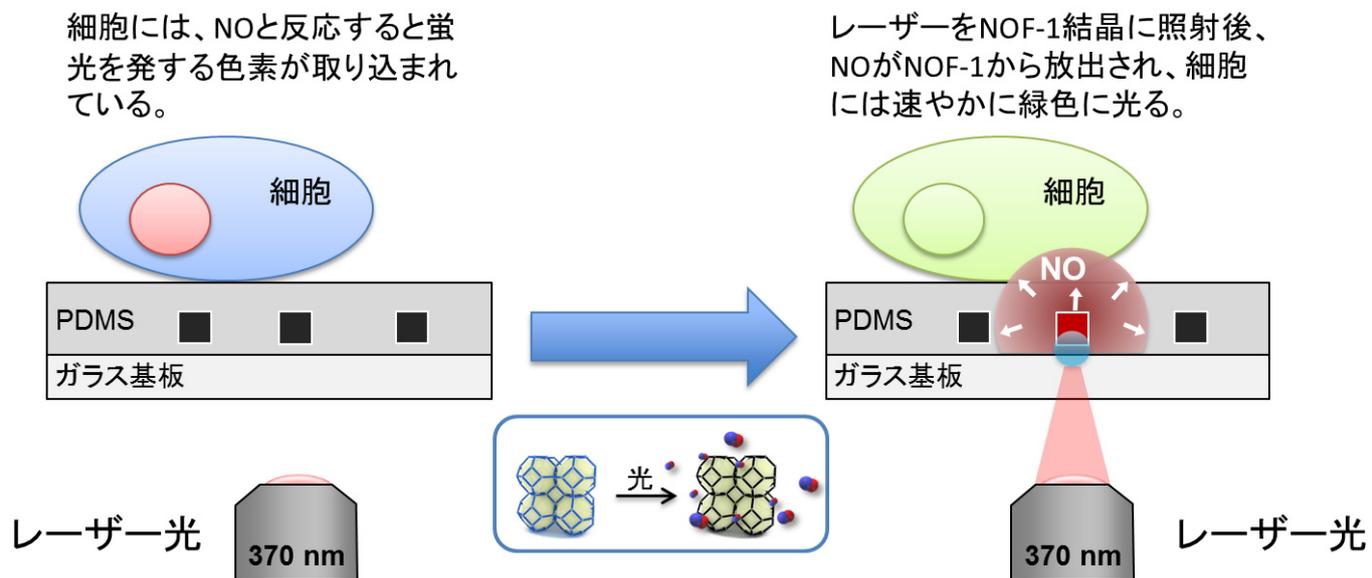


図 5. 細胞を用いた実験概要。細胞には NO と反応すると蛍光を発する指示薬が導入されている。NO と反応した細胞のみ蛍光を発するので、局所的な NO 放出、および細胞刺激を観察することができる。

### 3. 今後の期待

今回、本研究グループが開発した手法は、光により NO を取り出すことができる PCP を開発し、それをさらに培養基板へ埋め込むことで、実際に細胞生物学へ応用することが可能になりました。この細胞培養基板は、他にも数多くの細胞種（ES/iPS 細胞、神経細胞など）の培養・刺激試験への応用が可能です。今後は、様々な細胞へ応用することで、未だ謎のままである NO の細胞内での役割を解明していく予定です。

---

## 用語解説・注釈

- ※ 1 **一酸化窒素**：化学式で表すと「NO」となる、常温・大気圧条件下ではガス状の分子。1987年に血管弛緩を担う因子として同定されて以来、神経・幹細胞などでの様々な生理活性を持つことが明らかになってきている。その反面、神経変性性疾患やなどへの関与も報告され、NOの作用機構解明が今後の薬剤開発などにおいて重要となっている。
- ※ 2 **多孔性構造体**：多数の微細な孔を持つ物質。吸着材、分離材や触媒などに利用される。
- ※ 3 **1998年のノーベル医学・生理学賞**：1987年にNOが血管弛緩を担う因子であると同定し、更に細胞シグナル伝達への関与を明らかにした功績を表して、ムラド教授（米国ジョージ・ワシントン大）、ファーチゴット教授（米国ニューヨーク州立大、故人）、イグナロ教授（米国カリフォルニア大ロサンゼルス校）に授与された。
- ※ 4 **多孔性金属錯体（PCPもしくはMOF）**：金属イオンと有機物がジャングルジム状に組み上がった金属錯体結晶。本質的に内包するナノサイズの細孔を利用した、ガス貯蔵・ガス分離・触媒・センサーなど幅広い分野での応用が期待されている化合物群。

---

## 論文タイトルと著者

### “Localized cell-stimulation by nitric oxide using a photoactive porous coordination polymer platform”

Stéphane DIRING, Dan Ohtan WANG, Chiwon KIM, Mio KONDO, Yong CHEN, Susumu KITAGAWA, Ken-ichiro KAMEI\*, Shuhei FURUKAWA\*

*Nature Communications* | DOI: 10.1038/ncomms3684

---

## 問い合わせ先

<研究内容について>

古川 修平（フルカワ シュウヘイ）

京都大学 物質－細胞統合システム拠点（iCeMS）准教授

携帯: 080-3827-0547 | Tel: 075-753-9868 | shuhei.furukawa@icems.kyoto-u.ac.jp

亀井 謙一郎（カメイ ケンイチロウ）

京都大学 物質－細胞統合システム拠点（iCeMS）助教

携帯: 080-3581-9293 | Tel: 075-753-9774 | kkamei@icems.kyoto-u.ac.jp

<京都大学 iCeMS について>

今羽右左 デイヴィッド 甫（コンハウザ デイヴィッド ハジメ） 相山 朋加（アイヤマ トモカ）

京都大学 物質－細胞統合システム拠点（iCeMS）広報掛

Tel: 075-753-9755 | pr@icems.kyoto-u.ac.jp