

Press Release

2021年8月24日

京都大学アイセムス（高等研究院 物質-細胞統合システム拠点）

ミトコンドリアの変異 DNA を減らす化合物の開発

- ミトコンドリアは細胞核の DNA とは異なる独自の DNA（ミトコンドリア DNA）塩基配列を持っている。
- ミトコンドリア DNA 変異の一部はミトコンドリア病と呼ばれる疾患の原因となる。
- ミトコンドリア DNA の変異部位を選択的に傷つける化合物を開発し、生きた細胞の中で変異したミトコンドリア DNA の量を減らすことに成功した。

京都大学アイセムス（物質-細胞統合システム拠点）のガネシュ・パンディアン・ナマシヴァヤム（Ganesh Pandian Namasivayam）講師、杉山弘（すぎやま・ひろし）連携主任研究者（兼 理学研究科 教授）、日高拓也 理学研究科博士課程学生（現・日本学術振興会特別研究員、理化学研究所訪問研究員、アイセムス客員研究員）らの研究グループは、独自に開発した化合物をミトコンドリア内の DNA に結合させることで、変異ミトコンドリア DNA を減らすことに成功しました。

細胞内がもつ DNA の大半は核内にありますが、細胞内小器官の一つであるミトコンドリアも独自の DNA（ミトコンドリア DNA）を持っています。また、一つの細胞には、数十から数千コピーのミトコンドリア DNA が含まれます。一部のミトコンドリア DNA に生じる変異は、ミトコンドリア機能に障害を与え、ミトコンドリア病と呼ばれる疾患を引き起こすことが知られています。そのため、変異したミトコンドリア DNA を細胞から取り除く手法が求められています。

本研究グループは 2017 年に、細胞内の特定の DNA 配列に結合する「ピロールイミダゾールポリアミド (PIP)」にミトコンドリアを透過するためのペプチド導入した「MITO-PIP」を作成し、これがミトコンドリア DNA の配列に対して選択的に結合できることを報告しています。本研究では、この MITO-PIP に DNA をアルキル化する化合物「クロラムブシル」を加えることで、細胞内のミトコンドリア DNA 変異箇所を選択的にアルキル化し、そのコピー量を減らすことに成功しました。

本研究では、特定のヒト培養細胞が持つ、グアニンからアデニンへのミトコンドリア DNA 変異を標的とし、クロラムブシルが標的変異の近くに来るよう、MITO-PIP を設計しました。すると、クロラムブシルがもつアデニン選択的な反応性により、標的変異のアルキル化が効率よく起きることを明らかとしました。さらに、生きた培養細胞をこの MITO-PIP で処理したところ、正常なミトコンドリア DNA と比較して、変異ミトコンドリア DNA の量が減少することが確認されました。

今後、ミトコンドリア病の原因となるミトコンドリア DNA 変異を標的とした化合物を開発することで、化合物を用いたミトコンドリア病の遺伝子治療へと応用されることが期待されます。

本研究成果は、2021年8月26日に米国の科学誌「*Cell Chemical Biology*」オンライン版で公開される予定です。

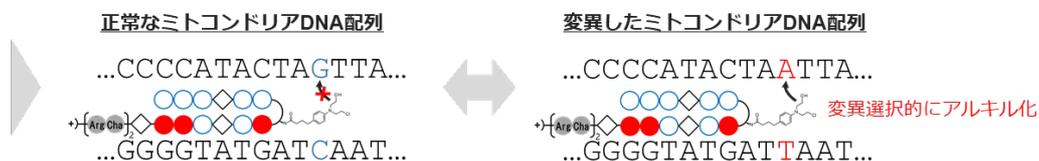
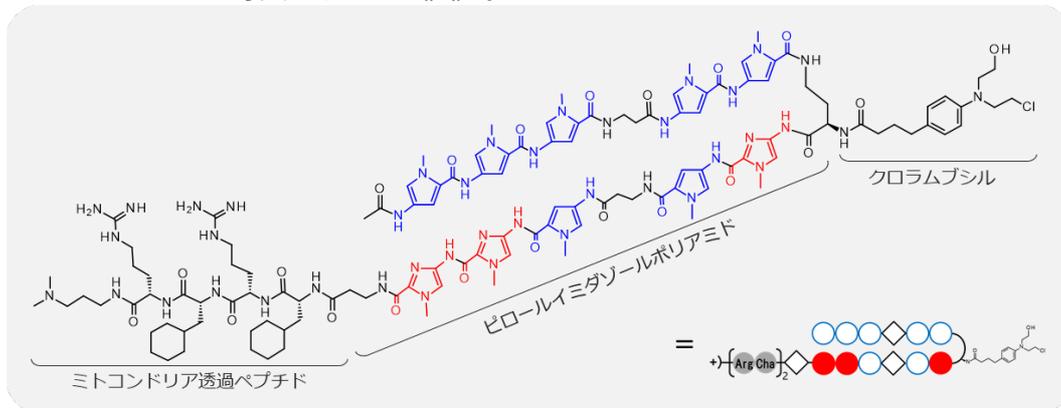
1. 背景

細胞内にある DNA の大半は核内にありますが、ミトコンドリア (※1)も独自の DNA (ミトコンドリア DNA) を持っています。一部のミトコンドリア DNA に生じる変異は、ミトコンドリア機能の障害を伴うミトコンドリア病を引き起こします。そのため、変異したミトコンドリア DNA を人為的に細胞から取り除く手法がミトコンドリア病の治療開発に求められています。これまで、ミトコンドリア DNA の変異配列を選択的に切断する酵素 (ヌクレアーゼ) をミトコンドリアに送達するアプローチが報告されていましたが、これにはウイルスベクターを用いるなどして、外来の DNA を細胞に導入する必要がありました。

本研究グループは 2017 年に、細胞内の特定の DNA 配列に結合する「ピロールイミダゾールポリアミド (PIP)」(※2) にミトコンドリア透過ペプチド (※3) 導入した「MITO-PIP」が、ミトコンドリア DNA に対して配列選択的に結合できることを報告しています。本研究では MITO-PIP に対して DNA 損傷を引き起こす化合物を導入することで、ミトコンドリア DNA の変異配列を選択的に傷つける化合物を開発しました。

2. 研究内容と成果

本研究では DNA に損傷を引き起こす化合物として、DNA アルキル化剤(※4)であるクロラムブシルが用いられました。クロラムブシルは DNA が含む 4 種類の塩基 (アデニン (A)、チミン (T)、グアニン (G)、シトシン (C)) のうち、アデニンに対して選択的に反応することが報告されています。そこで変異により生じたアデニンを標的とし、隣接する DNA 配列を認識する MITO-PIP にクロラムブシルを導入しました (図)。



化合物によりアルキル化された部位を同定する手法を新たに開発し、特定のヒト培養細胞が持つミトコンドリア DNA 変異を標的として評価を行ったところ、正常な配列と比べて変異配列はより高効率でアルキル化されることが明らかとなりました。さらにこの化合物を生きた細胞に処理したところ、正常なミトコンドリア DNA と比較して、変異ミトコンドリア DNA の量が化合物の濃度に依存して減少することが確認されました。これは MITO-PIP による変異選択的なミトコンドリア DNA のアルキル化が、変異ミトコンドリア DNA 量を減少させるために有効であることを示しています。

3. 今後の展開

今後はミトコンドリア病の原因となるミトコンドリア DNA 変異を標的とした化合物を開発することで、外来 DNA の導入を伴わないより安全なミトコンドリア病の遺伝子治療へと応用されることが期待されます。

4. 用語解説

- ※1 ミトコンドリアは細胞のエネルギー工場とも呼ばれ、細胞内の代謝において重要な機能を持っている。
- ※2 ピロールイミダゾールポリアミド (Pyrrole-Imidazole Polyamide) は Peter B. Dervan らによって開発された DNA 結合分子であり、本研究グループも PIP の研究を行っている。ユニットの組み換えにより任意の DNA 配列を狙えることが最大の特徴であり、抗がん剤などとしての応用が期待される分子である。
- ※3 ペプチドは 2 個以上のアミノ酸がペプチド結合によりつながった物質のこと。
- ※4 DNA アルキル化剤は、DNA 塩基と反応することで共有結合を形成することができる。一部の DNA アルキル化剤は抗がん剤として応用されている。

5. 研究プロジェクトについて

日本学術振興会 (JSPS): 基盤研究 S (16H06356), 基盤研究 A (20H05936), 基盤研究 B (19H03349), 特別研究員奨励費 (18J21755)

日本医療研究開発機構 (AMED): 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (BINDS, JP20am0101101)

武田科学振興財団: 薬学系研究助成

ヒロセ財団: 研究助成

内藤記念科学振興財団: 研究助成

NIH アワード (R01CA236350)

6. 論文タイトル・著者

“Targeted Elimination of Mutated Mitochondrial DNA by a Multi-functional Conjugate Capable of Sequence-specific Adenine Alkylation”

(参考訳: DNA 配列選択的なアデニン塩基のアルキル化による変異ミトコンドリア DNA の除去)

著者: Takuya Hidaka, Kaori Hashiya, Toshikazu Bando, Ganesh N. Pandian, and Hiroshi Sugiyama
Cell Chemical Biology | DOI: 10.1016/j.chembiol.2021.08.003