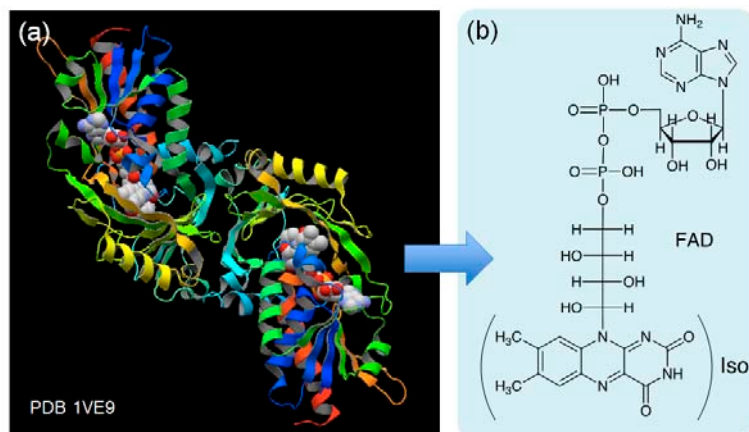


CONTENTS

- レーザー計測によるD-アミノ酸酸化酵素の機能阻害効果の研究
- Laser Optics 2014 国際会議参加報告
- 【光と薬】社会の活性化
- 主な学会等報告予定



【表紙図】ブタ腎臓由来D-アミノ酸酸化酵素(DAAO)の(a)結晶構造(2量体)、(b)補因子フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)の分子図

レーザー計測によるD-アミノ酸酸化酵素の機能阻害効果の研究

レーザーバイオ化学研究チーム 谷口誠治、ハイク コスロービアン

■D-アミノ酸酸化酵素(DAAO)の機能と阻害効果

酵素の機能阻害効果に関して近年、D-アミノ酸酸化酵素(DAAO、表紙図(a))のアミノ酸濃度調整機能が注目されている。DAAOの補因子はフラビンアデニンジヌクレオチド(FAD、表紙図(b))で、生体内でD-アミノ酸(D-セリン)を選択的に代謝(分解)する機能を示す(図1)が、FADが安息香酸等の分子と結合して錯体を形成すると、反応が阻害される(図2)。福井ら(徳島大)は近年、統合失調症患者の脳内D-アミノ酸濃度がDAAOの異常活性により通常より低下していることを明らかにし、薬剤(阻害剤)の投与によりその反応活性が抑制され治療に有効であると報告した¹⁾。この報告は、さまざまな脳疾患に対する治療薬開発の糸口となるといって非常に重要である。一方で、DAAOは光科学の観点からみても興味深い酵素である。FAD中のイソアロキサジン(Iso、表紙図(b))は青色光を吸収し緑色の蛍光を発するため、レーザー分光法を用いればDAAOの反応メカニズムに関する有益な情報が取得できる。さらに興味深いことに、福井らは一部の阻害剤に光照射による阻害活性の増大効果があることも報告してい

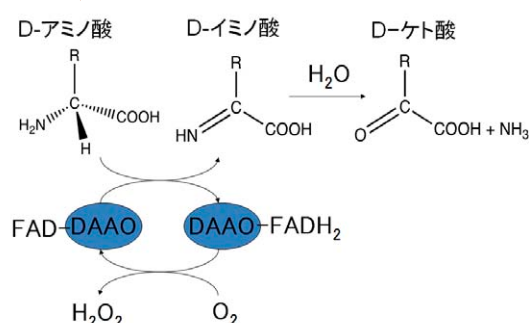
る²⁾。本研究では、DAAOの蛍光過程と機能阻害の関連性や、阻害効果の評価法としてのレーザー分光法の有用性等を明らかにすることを目的に、DAAOおよび阻害剤を添加した試料の光励起過程をフェムト秒蛍光計測法により観測した。

■DAAOのフェムト秒蛍光ダイナミクス

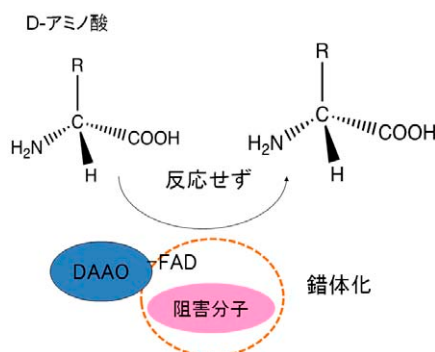
観測にはブタ腎臓由来のD-アミノ酸オキシダーゼを精製したものを使用し、阻害剤には4-アミノ安息香酸ナトリウム(o-AB)を用いた。フェムト秒蛍光の計測にはTi:サファイアレーザーを光源に用いた蛍光up-conversionシステムを使用した³⁾。DAAOのフェムト秒蛍光計測結果(励起波長410nm、観測波長525nm)を図3(a)に示す。蛍光は非指数関数の減衰を示し、2成分指数関数でのフィッティングにより3.7ps(0.49)、37.8ps(0.51)の寿命成分が得られた(()内は前指数因子の比)。これらの減衰は光励起されたFADと周囲に存在するアミノ酸残基との電子移動過程に起因する。DAAOは水溶液中では単量体と2量体が混在しており、蛍光寿命はそれぞれ約160ps、40psであることが先に報告されている⁴⁾ことから、37.8psの寿命は2量体

次ページへつづく▶

レーザー計測によるD-アミノ酸酸化酵素の機能阻害効果の研究



【図1】DAAOのD-アミノ酸代謝スキーム



【図2】FADの錯体化による機能阻害効果

の励起寿命に同定される。また本測定では3.7psのさらに短い寿命成分が新たに観測された。蛍光減衰寿命の変化はFADとアミノ酸残基間の電子移動速度の変化により起こるため、DAAOには単量体や2量体とは別の構造を持つもの(蛋白構造異性体)が存在する可能性がある。図3 (b)、(c)に、DAAOにo-ABをそれぞれ18mM、71mM加えた試料でのフェムト秒蛍光を示す。o-ABの添加により寿命数100fsの超高速減衰成分が生成し、o-AB濃度の増大によりその成分比は増大することから、この減衰はDAAO中のFADとo-AB間で形成されたCT錯体に起因するものである。各データを、DAAOの計測で得られた2つの寿命を固定し、さらに超高速成分を加えた3成分指数関数によりフィッティングした結果、高速減衰成分の寿命はo-AB 18mM添加試料で380fs(0.27)、71mM添加試料では280fs(0.51)であり、濃度の増大に対してその存在比も増大した。一方、o-ABと錯体を形成しないDAAOの2つの寿命成分に関して、それらの前指数因子の比がDAAOのみの試料では0.96、o-AB濃度18mMで1.21、71mMでは1.72と変化することがわかった。これはおそらく37.8psの寿命を持つ構造異性体のo-ABとの反応性が3.7psの寿命を持つものよりも高く、錯体形成が優先して起こるためであると考えられる。

■蛋白構造と機能阻害の関連

DAAOの構造に関して最近、Kokpol, 田中らが分子動力学(MD)計算を用いて水溶液中での蛋白構造を計算し、2量体を形成するDAAOのそれぞれが異なる蛋白構造(サブユニット)を持つ可能性を明らかにしている⁵⁾。これらを考慮すると、DAAO 2量体は光によりどちらかのサブユニットのFADが励起され電子移動を引き起こすが、蛋白構造の違いにより速度が異なるため、蛍光は3.7psと37.8psの2成分減衰を示すものと考えられる。また各サブユニットの阻害剤との反応性は異なっており、o-ABを加えた場合、サブユニットの

どちらかが優先的に結合し、残ったサブユニットの存在比がo-AB濃度に依存して変化する。これらの結果は、水溶液中ではDAAOの構造が多様に変化し、それが阻害効果にも影響することを示しており興味深い。現状ではどちらのサブユニットが優先的にo-ABと結合するか

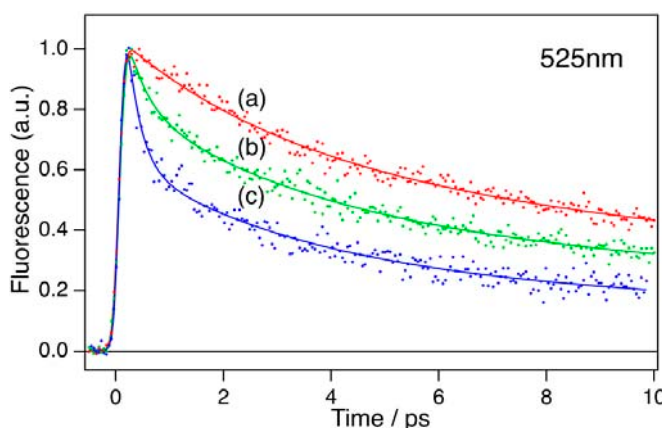
等については明らかではないが、今後電子移動理論計算や、蛍光ダイナミクス計測による阻害剤効果の検討を継続し、これらについてより詳細に検討する。また今後ヒト由来のDAAOを用いた研究を同様に進め、創薬等応用に向けたより具体的な知見を提供したい。

■謝辞

本研究は、田中文夫 Chulalongkorn大学客員教授(レーザー総研特別研究員(兼務))との共同研究として行われたものである。また酵素の精製には、北村昌也大阪市立大学大学院工学研究科教授、中西猛同講師の協力を得た。ご協力に感謝致します。

参考文献

- 1) K. Fukui, *et al.*, *Flavins and Flavoproteins*, **2005**, 853-860, 2005.
- 2) S. Ishikawa *et al.*, *J. Enzim. Inhib.*, **23**, 901-911, 2008.
- 3) N. Mataga *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, **106**, 8917-8920, 2002.
- 4) F. Tanaka *et al.*, *Biochemistry*, **28**, 4259-4262, 1989.
- 5) A. Nueangaudom *et al.*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **B16**, 1930-1944, 2014.



【図3】DAAOのフェムト秒蛍光とフィッティング曲線 (a)DAAOのみ、(b)o-AB添加(18mM)時、(c)o-AB添加(71mM)時

Laser Optics 2014 国際会議参加報告

レーザー計測研究チーム ハイク コスロービアン

■Laser Optics 2014がロシアで開催

今年6月30日～7月4日に、サンクトペテルブルグ(ロシア)で開催された国際会議「Laser Optics 2014」(主催: Fund for Laser Physics (www.laseroptics.ru))に参加した。ほぼ2年に1度のペースで同地にて開催され、今回で16回目となるこの会議は、レーザー物理、量子エレクトロニクス、フォトンクス、光学エンジニアリングの分野における世界的にも主要な会議の一つに数えられるようになった。期間中には本会議の他、7つの国際シンポジウムと3つのサイドイベントが開催

され、世界37カ国から集まった約850人の参加者から計650件の口頭およびポスター発表が行われた。会議のトピックはダイオード励起レーザー、セラミックレーザー、高出力レーザー、レーザービーム制御、新非線形材料を用いたコヒーレント光源、増幅デザイン、パワースケーリング等であった。筆者は、会議枠内で開催された「第7回高出力ファイバーレーザーとその応用に関する国際シンポジウム」(7th International Symposium on High-Power Fiber Lasers and Their Applications)でコヒーレントビーム結合技術(Laser Cross No.311

山中千代衛



……208

社会の活性化

わが日本はかつての隆々たる国力を失い、言うならば一億層中流で居心地はいいが活力不足の長期停滞状況にある。2000年前後まで需要が伸びていた時代はよかったが、成熟社会となるとエネルギー不足。成長はおろか次第に沈滞の傾向にある。

安倍政権は経済浮上をねらってアベノミクスという政策を掲げ、日本銀行の金融政策を中心に資金供給の緩和をすすめ、女性の活用、公共投資、医療介護政策に力を入れ円安、株高と好景気を演出しようとしている。

しかし肝腎の規制緩和は遅々として進まず、財政均衡も手がつかずのまま、日本国の前途に灯が見えない。

少子高齢化時代を迎え、人口分布は年齢別にみて逆三角形を示している。労働人口が減少し高齢者人口が増加し、まさに成熟国家である。この逆分布状態ではエネルギー不足に陥り、社会の活性化は全く望むべくも無く、成長の兆しは見えない。

中国や米国が成長を続けているのは不断の人口の増大と各人の向上志向にある。若年層の人口が多く労働力に不足がなく、よりよい生活を求めエネルギーが湧出しているからである。

社会の構成はあらゆる職種に万遍なく人が配置されなければならない。総中流社会となり、産業の現場で働く若者が不足すれば忽ち経済は行き詰まるのである。交通機関、産業現場、医療介護現場、自衛隊、警察、土木建築現場など体力が求められるあらゆる職種に適切な人材が配分出来なければ国家は成り立たない。いわゆる4K事業に若年層が見向きもしなくなれば、その国は機能不全になる。

このためにも人材の養成と教育は第一義的に大切である。早急の解決策は門戸開放移民受入れの実施だろう。今なら社会格差があるから十分可能である。しかし総中流の日本社会はこれに対し常にNOを表示する。今から出産奨励政策をとっても効果が見えるまで30年の年月が必要となる。

グローバル化の時代に目覚めて社会の活性化をはかり移民を許容するか、減少する人口の下、縮小均衡の旗を守りじっと辛抱するか、これは国民的判断を必要とする大課題である。

伝統にしばられた相撲界が外国人力士の導入で活力を取り戻した現状は日本の未来を暗示している。

【名誉所長】



【写真1】会議場に併設された展示場にて(筆者)

を参照)に関する研究発表を行い、好評を得た。また本会議は、ロシアが設立地であるIPGフォトンクス社のプレミアムプレゼンテーションが行われる場でもあり、期間中にはIPG社の後援によるスペシャルセッションが組まれていた。他にも、Thomas F. Krauss、Zhores. I. Alferov、Charles H. Townesら、世界的に著名な研究者の講演がスケジュールされていた。

本会議での講演の半分以上は、ロシアと旧ソ連各国からのものであった。また他国からの講演もロシアを起源とするものが多く、例えば、Y. Kivshar教授(オーストラリア国立大)は「メタマテリアルによる光成形」と題したプレナリートークを行った。他にもロシア語のみで行われたサイドミーティングや、ロシア語と中国語が公用語の「レーザーにおける露中協力」というイベントがあり、興味深かった。

筆者が最もインパクトを受けたのは、IPG社のUVレーザー開発に関する報告であった。IPG社では高出力の波長変換UVレーザーの開発に成功しており、コンパクトでメンテナンスフリー、高効率といった特徴から、現在使用されているkW級のエキシマーレーザーは、近い将来全てこの装置に置き替わるであろう、とのことであった。また筆者はIPGドイツの研究者との議論の際、IPG社の現状についての話を聞いた。IPG社は現在、IPG社を設立したロシアIRE-POLUS社 (www.

ntoire-polus.ru) と密接な共同開発を進めているという。また高出力レーザーに用いられるファイバーはダイナミックなコア構造(中央部の径は大きく、エッジ部分ではより小さい)を持つとのことであった。またIRE-POLUS社は、さまざまな加工応用(切削や穴あけ)に対応した、1000m²の敷地に8つの集積レーザー装置(結合強度75kW)を持つ納入後すぐに操業可能なレーザー工場を売り出すということで、印象的であった。

本会議は、世界をリードする優れた研究者達と議論を交わす最もよい場のひとつである。筆者は、高出力レーザー開発やビーム結合技術等の研究に関して多くのディスカッションを行った。例えばVyatkin博士(IAP RAS、ロシア科学アカデミー応用物理学研究所、(IAP RAS))とレーザー媒体中で熱的に誘起された複屈折を位相制御素子なしで補償するための新しい手法について議論し、Mukhin博士(IAP RAS)とはディスク型のYb:YAGレーザー媒質の寄生発振(ASE)を低減する手法について議論した。またLukhin博士(SB RAS、ロシア科学アカデミーシベリア支部大気光学研究所)とは、インコヒーレント光源イメージをリファレンスに用いた大気乱流中での効果的なレーザービームの集光法について議論した。他にも多くの研究者とディスカッションを行い、多くの新しい情報を得ることができた。今後の研究に生かして行きたい。



【写真2】サンクトペテルブルク近郊にあるペテルゴフ宮殿(夏の庭園)

主な学会等報告予定

- | | |
|------------------|--|
| 11月3日(月)~4日(火) | 日米科学協力 核融合理論共同研究 ワークショップ(米国・オースチン)
砂原 淳 「Irradiation of ultra-intense laser on the inner surface of CD shell to generate the hot spark」 |
| 11月3日(月)~6日(木) | 2014 International Workshop on EUV and Soft X-ray Sources(アイルランド・ダブリン)
砂原 淳 「Modeling of EUV emission from Laser-produced Tin plasmas」 |
| 11月13日(木)~14日(金) | 第15回量子科学シンポジウム(日本原子力研究開発機構 関西光科学研究所)
藤田 雅之「複合材の超短パルスレーザー加工」 |