

## 生きた細胞内のタンパク質を光操作する革新的基盤技術の開発

研究者所属・職名： 大学院理学系研究科・教授

ふりがな おざわ たけあき

氏名：小澤 岳昌

主な採択課題：

- [基盤研究 \(S\) 「分子イメージングを基軸とする生細胞内分子計測・光操作法の開発」 \(2014-2018\)](#)
- [新学術領域研究\(研究領域提案型\) 「細胞膜タンパク質機能を制御する人工光応答分子の開発」 \(2018-2019\)](#)

分野：分析化学、生体関連化学

キーワード：バイオ分析、オプトジェネティクス、発光、GPCR、膜タンパク質、キナーゼ

### 課題

● なぜこの研究をおこなったのか？ (研究の背景・目的)

生命の分子化学的理解は、生命現象に対する我々の知的欲求を満たすとともに、医療・診断技術の開発や疾患の原因解明に直結する大きな課題である。中でも化学的視点から生体分子の素過程を解明すること、そしてその分子のネットワークを包括的に理解する試みは、生命理解のための重要な課題である。この課題に挑むためには、新しい分析基盤技術を創出すること、すなわち化学的視点から生命の素過程を理解するための革新的な「観る技術」と「操作する技術」が分析技術として必要とされている。ここでは「操作する技術」に焦点をあて、その代表的な研究成果を紹介する。

● 研究するにあたっての苦労や工夫 (研究の手法)

タンパク質の3次元構造と機能に関する情報をもとに光操作ツールをデザインし、遺伝子工学的手法を用いて光操作タンパク質を開発した。そして生細胞に開発した光操作ツールを発現させ、スペクトル解析、蛍光イメージングおよび生化学実験等により、開発したタンパク質の機能を評価した。詳細については、以下の研究成果と合わせ概説する。

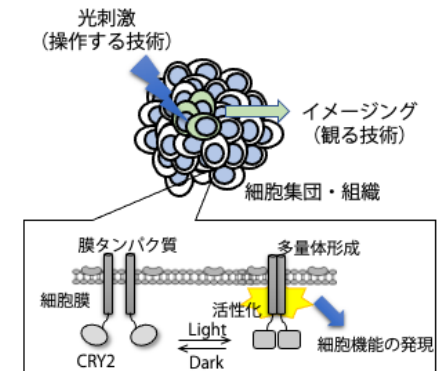


図1 生体分子を光で操作する技術の開発

## 生きた細胞内のタンパク質を光操作する革新的基盤技術の開発

### 研究成果

#### ●どんな成果がでたか？どんな発見があったか？

1. 光による酵素活性の制御—光受容タンパク質の一つ（Cry2）をホタル由来の発光タンパク質であるルシフェラーゼに挿入し、光によりルシフェラーゼ活性を制御する技術を開発した。この成果を展開し、細胞内リン酸化酵素（Akt）の光操作法を開発した（図2）。光照射によりAkt活性が可逆的に上昇し、さらに細胞遊走や遺伝子発現といったAktにより制御される生理機能の光操作を可能にした。そして、光入力とAkt活性出力の時間パターンを記述する数理モデルを作成し、Akt活性の時間的変動パターンを定量的に操作する技術を開発した。この光操作可能なAktを用いて、細胞に与えるAkt活性の総量が同じであっても、その時間的な変動パターンによって、細胞からの出力強度（特定遺伝子の発現量）が異なることを見出した。

2. 光による膜タンパク質の制御—細胞膜上のGPCRのリサイクリング、即ち細胞膜とサイトゾル間の動態を光操作する方法を開発した。GPCRの一つであるアドレナリン受容体（ADRB2）と細胞内タンパク質Arrestinとの相互作用を光で惹起することで、ADRB2のリサイクリングが誘起されることを見出した。この原理を展開して、神経軸索の伸長方向を光によって操作する方法を開発した。成長円錐の誘導を担うタンパク質であるDCCの活性を光操作するキメラタンパク質を開発した。成長円錐を局所的に光照射することで、軸索の伸長方向を空間的に操作できることを実証した。さらに、細胞接着タンパク質やキナーゼ型膜タンパク質の光操作技術の開発にも成功しており、一連の成果は様々な機能を有する膜タンパク質に対して、時空間的に光操作する基盤技術となることが期待できる。

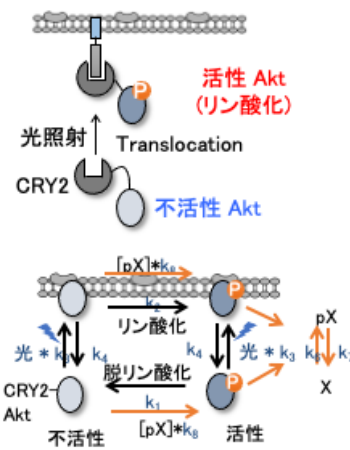


図2 Aktの光操作の原理（上）と数理モデルの構築（下）

### 今後の展望

#### ●今後の展望・期待される効果

開発した光操作ツールの実践応用を見据え、マウスなど動物個体内における酵素活性や膜タンパク質を、外部からの光で操作する技術開発に展開している。用いる刺激光の組織透過性、光操作ツール導入に伴う生体侵襲、またシグナル光操作における定量性等の課題を克服することで、生命科学研究の新たな解析技術を提供することが可能となる。さらに生命科学研究に留まらず、医学や農学や創薬分野など、広く応用可能な技術となることが期待される。

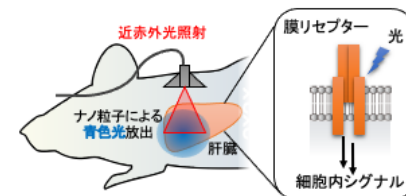


図3 動物個体内の特定のタンパク質を光操作する技術展開