

光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用
2017 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

神取 秀樹

名古屋工業大学 大学院工学研究科
教授

細胞内二次メッセンジャーの光操作開発と応用

§ 1. 研究成果の概要

神取グループは、海洋性細菌に含まれる TAT ロドプシンがカルシウムイオンと特異的に結合することを見出した。レチナール分子が持つ正電荷のため、陽イオンはロドプシン内部に結合しないと信じられてきたが、正電荷を中性化し、黄緑色光から紫外線を吸収する状態へと変換することで、カルシウムイオンの結合が達成されることがわかった。カルシウム依存的な紫外線センサーとしてはたらく TAT ロドプシンは、光操作応用への期待も高い。

山下グループは昨年度までに創製した光で活性が上昇し元に戻る(光活性化タイプ)光サイクル型 GPCR を用いて、細胞に繰り返しの光刺激を行った際に短時間で一過的な cAMP 濃度減少が観察できることを確認した。また、分子特性の改変により、cAMP 濃度減少の時間スケールを調節できることも確認し、光操作ツールとしてカスタマイズして利用できると考えられた。

寺北グループは、下等脊椎動物の眼外ロドプシンである平衡型パラピノプシン(PP)が生体内で UV 光と可視光の比率を検出するメカニズムを解明した。そのメカニズムを利用し、PP を運動神経に導入したセンチュウを数秒間 UV 刺激することにより、運動制御が暗中で 30 分以上持続し、緑色光照射で直ちに運動回復することを明らかにし、PP の光遺伝学ツールとしての有用性を示した。

日比グループは、転写因子 Gal4 依存的に細胞に発現するゼブラフィッシュ系統を用いて V2a 網様体脊髄路ニューロンと心筋細胞に光操作ツールを発現させ、それぞれ光刺激依存性の遊泳行動の誘導および心臓の拍動停止を指標に、光操作ツールの活性の評価を行った。その結果、新たに KnChR がゼブラフィッシュでの光操作効率が良いこと、GPCR ロドプシンの心拍制御の詳細なメカニズムを解明した。さらに、小脳機能解析のためのゼブラフィッシュ系統の開発とバーチャル・リアリティ学習実験の立ち上げを行った。

§ 2. 研究実施体制

(1) 神取グループ

- ① 研究代表者: 神取 秀樹 (名古屋工業大学 大学院工学研究科 教授)
- ② 研究項目 「微生物ロドプシンの光操作ツール開発」
 - ・カルシウムイオン濃度の光制御
 - ・新奇ロドプシンのツール開発
 - ・微生物ロドプシンツールの有用性の実証

(2) 山下グループ

- ① 主たる共同研究者: 山下 高廣 (京都大学 大学院理学研究科 講師)
- ② 研究項目 「光サイクル型新規 GPCR ツールの開発」
 - ・光サイクル型新規 GPCR の改変とツール開発
 - ・光サイクル型新規 GPCR の有用性の実証

(3) 寺北グループ

- ① 主たる共同研究者: 寺北 明久 (大阪市立大学 大学院理学研究科 教授)
- ② 研究項目 「GPCR 型光操作ツールの開発」
 - ・GPCR 型ツールの波長制御
 - ・GPCR 型ツールの機能制御
 - ・GPCR 型ツールの選別と有用性の実証

(4) 日比グループ

- ① 主たる共同研究者: 日比 正彦 (名古屋大学 大学院理学研究科 教授)
- ② 研究項目 「光操作による小脳高次機能の解明」
 - ・光操作ツールを発現するトランスジェニックゼブラフィッシュの樹立
 - ・小脳神経回路の光操作の条件検討・ツールの評価

【代表的な原著論文情報】

- 1) Calcium Binding to TAT Rhodopsin.
J. Phys. Chem. B. 126, 2203–2207 (2022).
- 2) Creation of photocyclic vertebrate rhodopsin by single amino acid substitution.
eLife 11, e75979 (2022).
- 3) Evolutionary adaptation of visual pigments in geckos for their photic environment.
Sci. Adv. 7, eabj1316 (2021).
- 4) Insights into the evolutionary origin of the pineal color discrimination mechanism from the river lamprey.
BMC Biology 19, 188 (2021).

5) Involvement of Cerebellar Neural Circuits in Active Avoidance Conditioning in Zebrafish.
eNeuro 8(3): ENEURO.0507-20 (2021).