

CREST「細胞操作」 総括説明

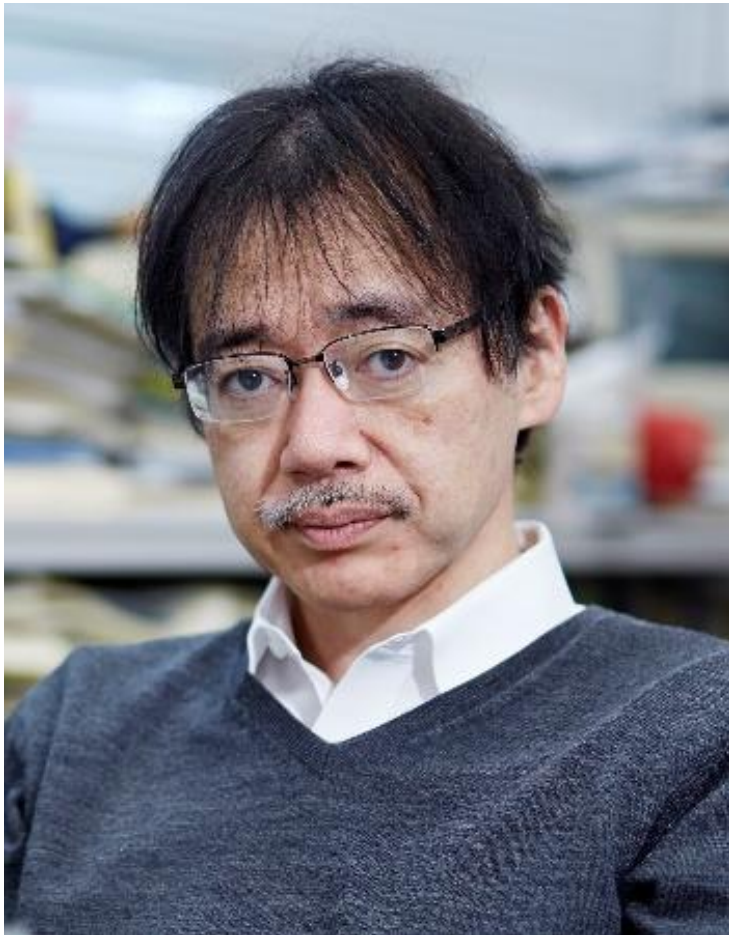
令和5年4月20日



科学技術振興機構

研究総括：宮脇敦史（理化学研究所）

研究総括からのご挨拶



理化学研究所
脳神経科学研究センター・
光量子工学研究センター

宮脇 敦史

研究分野: 神経科学、バイオイメーjing

2023年度に発足した新規領域

戦略目標



文部科学省

MINISTRY OF EDUCATION,
CULTURE, SPORTS,
SCIENCE AND TECHNOLOGY-JAPAN

革新的な細胞操作技術の開発と細胞制御機構の解明

概要

本戦略目標では、細胞制御機構の解明と細胞操作技術の開発を両輪として進めることとする。これまでにない新たなアプローチによる研究開発を推進するため、手法、生物種を特定せずに、多様な研究分野の研究者を巻き込むことで、革新的な細胞操作技術の開発や、細胞操作技術の開発を通じた細胞制御機構に関する新たな知見やイノベーションの創出等を目指す。

https://www.mext.go.jp/content/20230314-mxt_chousei01-000028067_00007.pdf

CREST 新規領域

領域名



細胞操作 Cell Control

領域概要

複雑なシステムを支配する因果関係を暴くには、ある特定の要素の働きを操作してシステム全体あるいは他の要素の振る舞いを調べる
ことが有効です。本研究領域は、細胞をさまざまに操作する技術の
開発を多面的に行います。参画研究者は、眼前の細胞が見せる謎
を十二分に慈しむこと、すなわち細胞を遊びぬくことが求められます
。

本領域名の略称

細胞を遊ぶ

yuCell

uCell

You Cell

あなたにとって「細胞操作」とは？

本領域名の略称

細胞を遊ぶ

yuCell

uCell

You Cell

あなたにとって「細胞操作」とは？

1. 細胞操作技術の開発

気になる言葉： 革新的

革新的技術 と 実用的技術

気になる言葉： 両輪

本戦略目標
細胞制御機構の解明と細胞操作技術の開発
科学の両輪
真理探究と技術開発

両輪の間に思いっきりゆらぐ(遊ぶ)こと



多様な車軸と両輪を設定すること



2大、先端的細胞操作技術

- ・ゲノム編集
- ・オプトジェネティックス

2大、先端的細胞操作技術

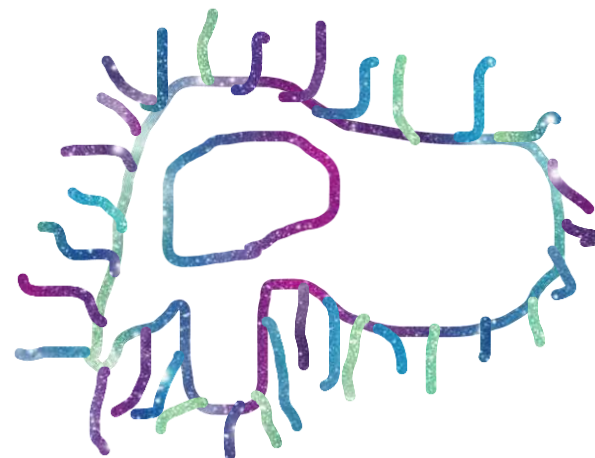
- ・ゲノム編集

CRISPR-Cas9

- ・オプトジェネティックス
微生物ロドプシン

デバイスを巡る両輪

＜entopic 本来の場で＞
細胞の戦略を知る
デバイスを切り取る



＜ectopic 異所的に＞
因果関係を解明する
有用なモノを開発する
デバイスをチューニングする



光と生命との相互作用

光受容タンパク質（発色団）

Rhodopsin (retinal)

Phytochrome (bilin)

Phototropin (flavin)

Cryptochrome (flavin)

...

.....

生物の大量絶滅



「見る」と「操る」の関係

Electrical Spiking in *Escherichia coli* Probed with a Fluorescent Voltage-Indicating Protein

Joel M. Kralj,¹ Daniel R. Hochbaum,² Adam D. Douglass,³ Adam E. Cohen^{1,4*}

Bacteria have many voltage- and ligand-gated ion channels, and population-level measurements indicate that membrane potential is important for bacterial survival. However, it has not been possible to probe voltage dynamics in an intact bacterium. Here we developed a method to reveal electrical spiking in *Escherichia coli*. To probe bacterial membrane potential, we engineered a voltage-sensitive fluorescent protein based on green-absorbing proteorhodopsin. Expression of the proteorhodopsin optical proton sensor (PROPS) in *E. coli* revealed electrical spiking at up to 1 hertz. Spiking was sensitive to chemical and physical perturbations and coincided with rapid efflux of a small-molecule fluorophore, suggesting that bacterial efflux machinery may be electrically regulated.

Bacterial membrane potential provides a major component of the driving force for oxidative phosphorylation, membrane transport, and flagellar motion. Yet this voltage is inaccessible to techniques of conventional electrophysiology, owing to the small size of bacteria

and the presence of a cell wall. Little is known about the electrophysiology of bacteria at the level of single cells (*1*).

We developed a genetically encoded optical indicator of membrane potential, V_m , in bacteria. The starting protein was green-absorbing proteorhodopsin (GPR), a light-driven proton pump found in bacteria in the ocean (2–4). In the wild, light-driven transport of a proton through GPR changes the color of the protein. We sought to run GPR backward: to use V_m to reposition a proton, and thereby to induce a color shift (5).

The dominant color-determining moiety in GPR is the Schiff base (SB), which links the

¹Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University, Cambridge, MA 02138, USA. ²Applied Physics Program, School of Engineering and Applied Sciences, Harvard University, Cambridge, MA 02138, USA. ³Department of Molecular and Cellular Biology, Harvard University, Cambridge, MA 02138, USA. ⁴Department of Physics, Harvard University, Cambridge, MA 02138, USA.

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: cohen@chemistry.harvard.edu

Can we run microbial rhodopsins in reverse?

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 333 15 JULY 2011

A light-driven proton pump >> A fluorescent voltage sensor
Converting Light to Voltage Converting Voltage to Light (Fluorescence)

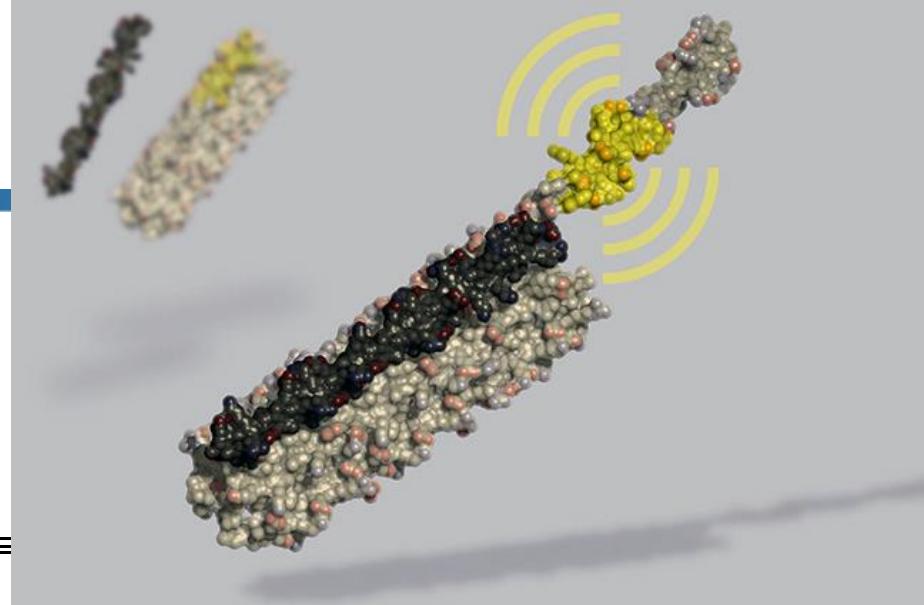
生物資源に頼らないやり方

人工設計の

Latching orthogonal cage-key proteins

ARTICLE

LOCKR



De novo design of bioactive protein switches

Robert A. Langan^{1,2,3,11}, Scott E. Boyken^{1,2,11}, Andrew H. Ng^{4,5,6,7,11}, Jennifer A. Samson⁵, Galen Dods⁴, Alexandra M. Westbrook⁴, Taylor H. Nguyen⁴, Marc J. Lajoie^{1,2}, Zibo Chen^{1,2,3}, Stephanie Berger^{1,2}, Vikram Khipple Multigan^{1,2}, John E. Dueber⁵, Walter R. P. Novak⁸, Hana El-Samad^{4,9} & David Baker^{1,2,10*}

Allosteric regulation of protein function is widespread in biology, but is challenging for de novo protein design as it requires the explicit design of multiple states with comparable free energies. Here we explore the possibility of designing switchable protein systems de novo, through the modulation of competing inter- and intramolecular interactions. We design a static, five-helix 'cage' with a single interface that can interact either intramolecularly with a terminal 'latch' helix or intermolecularly with a peptide 'key'. Encoded on the latch are functional motifs for binding, degradation or nuclear export that function only when the key displaces the latch from the cage. We describe orthogonal cage-key systems that function in vitro, in yeast and in mammalian cells with up to 40-fold activation of function by key. The ability to design switchable protein functions that are controlled by induced conformational change is a milestone for de novo protein design, and opens up new avenues for synthetic biology and cell engineering.

from scratch!

2. 細胞操作技術の実践

個体レベルでの研究

因果関係を解明する
有用なモノを開発する

ボトムアップ型で学術の振興を目的とする**科学研究費助成事業**と、**トップダウン型**でイノベーションにつながる新技術の芽の創出を目指す**戦略的創造研究推進事業**は、その制度趣旨及び内容が大きく異なる。

ボトムアップ型 【科学研究費助成事業】

(日本学術振興会)

幅広く独創的で多様な
学術の振興を図る

- ・ 人文学・社会科学から自然科学までの全ての分野にわたり、あらゆる学術研究を支援
- ・ 応募時に提出した研究計画に基づき、研究者が自律的に研究を実施

学術的な観点から独創的・先駆的な
優れた研究に対して補助

- ・ 研究者が自ら研究課題を設定
- ・ 研究者コミュニティから選ばれた研究者による審査(ピアレビュー)により研究課題を選定

研究者の自由な発想に基づく
研究提案

トップダウン型 【戦略的創造研究推進事業】

(科学技術振興機構等)

国が定める戦略目標等の下、
科学技術振興機構等が研究領域を設定

- ・ 研究領域毎に研究総括を選定
- ・ 研究総括を補助し、マネジメントに参画する領域アドバイザーを委嘱

研究領域の趣旨に沿った
研究課題を研究領域毎に公募

- ・ 研究総括に責任と裁量を与えた採択
- ・ 研究総括が、各研究課題の進捗状況の把握・予算配分・研究への助言等を行い、研究領域をマネジメント

イノベーションにつながる新技術の芽を創
出するための研究を推進

A Wild Card

寄生虫学 Parasitology

人体寄生虫学

寄生 vs. 共生

寄生	parasitism
相利共生	mutualism
片利共生	commensalism

寄生虫バック

The Wild Life of Our Bodies

Rob Dunn

わたしたちの体は寄生虫を欲している

ゲノム編集 で病原性除去

寄生虫分類

原虫 人体内で分裂・増殖する

根足虫 赤痢アメーバ

鞭毛虫 トリコモナス トリパノソーマ

胞子虫 マラリア トキソプラズマ

繊毛虫 バランチジウム

蠕虫 人体内で分裂・増殖しない

線虫 回虫 アニサキス 鉤虫、顎口虫、、、

吸虫 肝吸虫 肺吸虫 住血吸虫、、、

条虫 日本海裂頭条虫 マンソン裂頭条虫、、、

寄生虫マシン

蠕虫にゲノム編集
で行動を制御可能に
獣医寄生虫学から

寄生虫分類

原虫 人体内で分裂・増殖する

根足虫 赤痢アメーバ

鞭毛虫 トリコモナス トリパノソーマ

胞子虫 マラリア トキソプラズマ

繊毛虫 バランチジウム

蠕虫 人体内で分裂・増殖しない

線虫 回虫 アニサキス 鉤虫、顎口虫、、、

吸虫 肝吸虫 肺吸虫 住血吸虫、、、

条虫 日本海裂頭条虫 マンソン裂頭条虫、、、

3. 細胞操作の再考

共有したい心構え

一度も失敗をしたことがない人は、何も新しいことに挑戦したことがない人である。

Albert Einstein

小さなことは本当に小さい。でも、小さなことを真心を込めて行うことは偉大なこと。

Mother Teresa

樹木にとって最も大切なものは何かと問うたら、それは果実だと誰もが答えるだろう。

しかし実際には種なのだ。

Friedrich Nietzsche

研究期間と研究費

研究期間

5年半以内

研究費

1) 1課題あたり総額3億円(直接経費)を上限

2) 発展的柔軟性を考慮し、

小規模チーム構成(ミニCREST)でのスタートも歓迎

※1 ミニCRESTとしての予算上限は設けませんが、規模や内容に見合った予算計画を記載してください。

※2 研究機関中に規模拡張のための追加支援を行う可能性があります。

ミニCRESTとは

小回りが利くので推奨。

提案に関する留意事項

1. 原則的にCRESTはチーム型研究です。チームを構成する研究者がそれぞれの強みを活かし相乗効果を生み出すような体制を練ってください。
2. しかしながら、チームづくりは時間がかかるものです。とくに初年度は十分な時間が確保されないまま提案提出に至ると考えられます。‘彼是のチームメンバー求ム’の状態で提案する場合もあり得るでしょう。

ご清聴、ありがとうございました。



科学技術振興機構