

松田 道行

京都大学大学院生命科学研究科  
教授

マイクロからマクロまでシームレスに細胞と会話する光技術

## § 1. 研究実施体制

### (1) 研究代表者グループ

- ① 研究代表者: 松田 道行 (京都大学大学院生命科学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・ 二光子励起に最適化した光誘導性二量体化システムの開発
  - ・ 光スイッチと相性の良いバイオセンサー開発
  - ・ 生きた組織での分子活性の操作と観察技術の開発

### (2) 光スイッチ開発グループ

- ① 主たる共同研究者: 青木 一洋 (自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター、教授)
- ② 研究項目
  - ・ フィコシアノビルリン PCB の動物細胞内の効率的な全合成系の開発と光誘導性二量体化システム PhyB-PIF 系の改良
  - ・ PhyB-PIF 系による細胞内シグナル伝達系の制御、遺伝子発現、細胞系譜トレース技術の開発

### (3) イメージングセンサ開発グループ

- ① 主たる共同研究者: 笹川 清隆 (奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科、助教)
- ② 研究項目
  - ・ FRET 観察用フィルタ搭載 CMOS イメージングデバイス試作
  - ・ 小型イメージングデバイスによる FRET 発現細胞観察実験

(4) 初期発生イメージンググループ

① 主たる共同研究者: 藤森俊彦 (自然科学研究機構基礎生物学研究所、教授)

② 研究項目

- ES 細胞における ERK 活性の解析
- マウス胚の ERK 活性を可視化する為のトランスジェニックマウスの作製

## § 2. 研究実施の概要

以下の戦略で研究を進める。まず、生きたマウスにおいて様々な分子活性を顕微鏡レベルの分解能で観察し、生理学的あるいは病理学的事象の背景にある分子機構に関する仮説を立てる。そして、光遺伝学のツールを用いて分子

活性を操作し、その仮説を実証する。初年度は、組織深部で分子活性を観察する技術、分子活性を光操作する技術等の開発研究、および初期発生における分子活性の変化の観察を中心に研究を行った。

組織深部の観察には二光子励起顕微鏡が用いられるが、現在汎用されている光遺伝学のツールは、二光子励起の効率が悪いことが明らかになってきた。そこで代表的な光誘導性二量体化システムである Cry2-CIBN 系を二光子励起する新たなシステムを構築した。

一方、より深部での操作を可能とするため、また既存の蛍光バイオセンサーと併用するために、長波長の光で活性化できる光スイッチの開発を進めた。光合成生物に含まれる Phytochrome B (PhyB) は赤色光を吸収すると Phytochrome interacting factor (PIF) と結合し、近赤外光を露光するとこの結合は解離するという性質を持っており、光遺伝学のツールとして応用が期待されている。PhyB は発色団として Phycocyanobilin (PCB) 、もしくは Phytochromobilin (PΦB) を必要とするが、これらは動物細胞では合成できない。そこで、PCB を哺乳類動物細胞において合成するために必要な四因子を確定し、それらを簡便に発現できる系を開発した。また、光スイッチとの併用のために、発光バイオセンサーの開発も平行して進めた。

観察する対象としては細胞増殖シグナル伝達系の分子活性に対する蛍光バイオセンサーを発現するマウスを用いる。これまでは二光子顕微鏡を使って観察してきたが、より簡便かつマウス自由行動下にも観察できるように、イメージングセンサーの開発も進めた。まず、細胞用および生体埋植用の CMOS イメージングデバイスの試作を行った。さらに、これらの小型デバイスに搭載可能な、FRET 蛍光観察用多色フィルタを開発した。細胞観察用デバイスについては、デバイス上に FRET プローブを発現した細胞を播種したマイクロ流路を配置し、FRET 応答信号観察を確認した。

これらの最先端技術を使って解明すべき問題として、細胞増殖シグナルが組織でどのように伝播するかを検討している。これまでの皮膚観察から進めて、腸管腺房細胞や膀胱上皮で観察し、その意義を明らかにした。また、マウス発生初期段階における細胞増殖シグナルがどのように伝播するのかについても研究を行った。

