

「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」
平成 28 年度採択研究代表者

H29 年度
実績報告書

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
 - ・ 二光子励起用 ftCRY2 の開発
 - ・ 赤色 FRET バイオセンサーの開発
 - ・ 発光と蛍光と二つのモードで作動する hyBRET バイオセンサーの開発およびこのバイオセンサーを発現するマウスの作成
 - ・ AMPK 活性制御の臓器、細胞特異性
 - ・ ftCRY2 を発現するマウスならびに PCB を産生するマウスの開発

(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
 - ・ PCB の哺乳類動物培養細胞内合成
 - ・ ERK 活性波伝播による細胞運動の決定

(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
 - ・ BRET 観察用フィルタ搭載 CMOS イメージングデバイスの試作

- ・ CMOS イメージングデバイスによる AMPK 活性測定

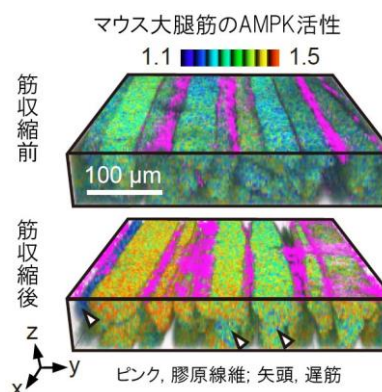
(4) 初期発生イメージンググループ

- 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
 - ・ マウス胚における光誘導型 Cre による組換え誘導の検討
 - ・ 着床前マウス胚における ERK 活性の解析

§2. 研究実施の概要

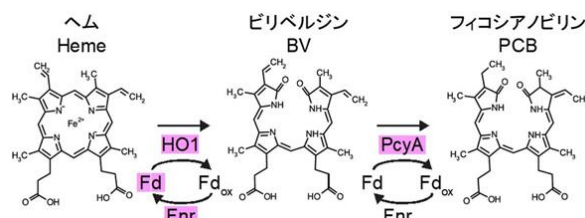
以下の戦略で研究を進めている。①生きたマウスにおいて様々な分子活性を顕微鏡レベルの分解能で観察し、生理学的あるいは病理学的事象の背景にある分子機構に関する仮説を立てる。②光遺伝学のツールを用いて分子活性を操作し、その仮説を実証する。

観察系の進捗としては、まず、代謝系の主要制御分子である AMP 依存性キナーゼ (AMPK) について研究した。AMPK は体内エネルギーが枯渇すると活性化される酵素で、糖尿病の治療標的である。AMPK のバイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスを作成し、AMPK 活性を多光子顕微鏡を使いライブ観察した¹⁾。糖尿病薬として広く使われているメホルミンは肝臓で AMPK を活性化させるが、横紋筋では効果が認められなかった。一方、運動能を上昇させるドーピング薬として有名な AICAR は横紋筋で AMPK を活性化させるが、肝臓では効果がなく、どの組織の AMPK 活性を上昇させるかが薬剤効果とよい相関を示すことが示した。また、横紋筋には速筋と遅筋があるが、AMPK は速筋で選択的に上昇することもわかった。開発したトランスジェニックマウスが、AMPK の研究に極めて有用であることを示す結果である。その他、皮膚の創傷治癒過程に ERK マップキナーゼの活性波が傷口から伝播することを発見していたが、ERK 活性



波が上皮細胞の運動方向性を決めていていることを明らかにした²⁾。

一方、光遺伝学ツールの開発にも進捗があった。赤色光/近赤外光による光遺伝学ツールとしてはフィトクローム B (PhyB) が知られているが、PhyB は光反応性官能基として、フィコシアノビルリン (PCB) を必要とする。光合成細菌の PCB 合成にかかわる4つの遺伝子をミトコンドリア内に発現させることで動物細胞内でも PCB を合成できることを見出し、この PCB 合成系を用いた PhyB-PIF 系による細胞内シグナル伝達系の操作に成功した³⁾。



発表論文

1. Konagaya, Y., Terai, K., Hirao, Y., Takakura, K., Imajo, M., Kamioka, Y., Sasaoka, N., Kakizuka, A., Sumiyama, K., Asano, T. & Matsuda, M. A Highly Sensitive FRET Biosensor for AMPK Exhibits Heterogeneous AMPK Responses among Cells and Organs. *Cell Rep.* 21, 2628-2638, (2017).
2. Aoki, K., Kondo, Y., Naoki, H., Hiratsuka, T., Itoh, R. E. & Matsuda, M. Propagating wave of ERK activation orients collective cell migration. *Dev Cell* 43, 305-317, (2017).
3. Uda, Y., Kohchi, T., Matsuda, M. & Aoki, K. An efficient synthesis of

phycoyanobilin in mammalian cells for optogenetic control of cell signalings.
Proc Natl Acad Sci USA 114, 11962-11967, (2017).