

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

本研究では、微生物ロドプシンと動物ロドプシンを用いて細胞内二次メッセンジャーを制御する光操作ツールを開発するとともに、作製した新規光操作ツールを小脳の運動学習や恐怖応答学習における情報伝達過程の研究に応用することを目指している。二年目となる 2018 年度は、グループ間の緊密なディスカッションのもと、十分な連携を保ちつつ研究を推進した。グループごとの研究成果を以下にまとめる。

(神取グループ)

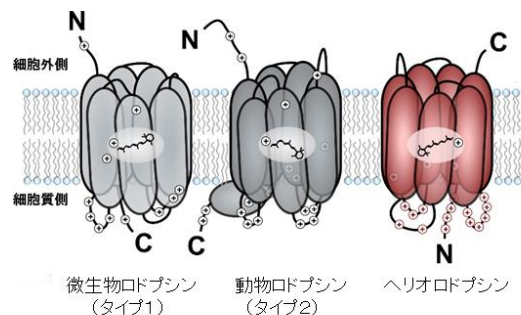
これまでの研究で微生物ロドプシンにはイオンポンプやイオンチャネル、センサー、光活性化酵素といった様々な機能が見出され、光操作ツールとしても大きな期待を集めているが、そのすべてがタイプ1と呼ばれるロドプシンファミリーに属していた。ところが2018年、我々は既知のロドプシンと配

列相同性を持たないロドプシンを発見し、ヘリオロドプシンと名付けた。今のところ機能は未知であるが、新しいロドプシンの発見は、新しい光操作応用の可能性を示唆するものである。

光操作ツールとして期待される既知のロドプシンに関しては、主として分光学的手法を用いた解析を行った。その結果、陰イオンチャネルの活性部位の水素結合構造を明らかにするとともに、ナトリウムポンプや内向きプロトンポンプの輸送ダイナミクスを明らかにした。これらは、細胞内二次メッセンジャーを制御する光操作ツールの開発においても基盤となる情報を提供するものである。

(山下グループ)

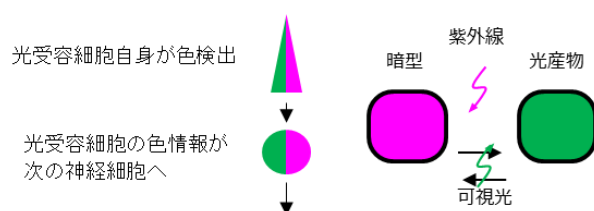
昨年度までに、光サイクルによって GPCR としての活性が制御される動物型ロドプシン (Opn5L1)



を発見し、その分子内制御メカニズムを解析することに成功した。しかし最初に発見したものは光サイクルの時定数が数時間と遅く、光操作ツールとして利用するにはデメリットであった。そこで本年度は、天然からの探索や変異の導入を行うことにより、時定数が1分以内のものを創製することに成功した。これは光操作ツールとして十分に利用できる可能性があり、今後その有用性を検証する。

(寺北グループ)

ヒトの目は網膜にある視細胞で光を感じて、赤、緑、青それぞれの光を感じる3種類の細胞によって色を識別する。一方、魚類などの脊椎動物では、目に加えて脳の表面に存在する松果体と呼ばれる器官でも紫外光と可視光の“色”を検出するが、そのしくみは不明であった。我々は、紫外線



を受容すると可視光を受容できる状態(光産物)に変化し、可視光を受容すると元の紫外線光受容(暗型)に戻る性質をもつ松果体光受容タンパク質(光平衡型オプシン)であるパラピノプシンが、1つの受容体

で暗型が紫外線光受容を担い、可視光に反応する光産物が可視光受容を担うことにより色検出を行っていることを見出した。これは、色検出には従来複数の光受容タンパク質が必須であるという従来の考えを覆す発見と言える。1種類の光受容タンパク質による色検出システムは、光遺伝学にも応用でき、色で細胞や動物の行動をコントロールできるようになれば、生命機能解明への貢献も期待される。

(日比グループ)

細胞内二次メッセンジャーである Ca^{2+} 、cAMP、cGMP および細胞膜電位の変化を検出する蛍光タンパク質を小脳神経回路および任意の細胞に発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ、また神取グループ開発の光操作ツール(新規チャンネルロドプシン GtCCR4、cGMP-cyclase ロドプシン、PDE ロドプシン)、山下グループ開発の光サイクル型 GPCR ロドプシン、寺北グループ開発の光平衡型 GPCR ロドプシン(Gq、Gs、Gi/o型)を小脳神経回路および任意の細胞で発現するトランスジェニックゼブラフィッシュの作製を開始した。

【代表的な原著論文】

1. Alina Pushkarev, Keiichi Inoue, Shirley Larom, José Flores-Urbe, Manish Singh, Masae Konno, Sahoko Tomida, Shota Ito, Ryoko Nakamura, Satoshi P. Tsunoda, Alon Philosofof, Itai Sharon, Natalya Yutin, Eugene V. Koonin, Hideki Kandori, Oded Béjà, "A distinct abundant group of microbial rhodopsins discovered via functional metagenomics", *Nature* 558, 595-599, 2018
2. Hideaki E. Kato, Yoon Seok Kim, Joseph M. Paggi, Kathryn E. Evans, William E. Allen, Claire Richardson, Keiichi Inoue, Shota Ito, Charu Ramakrishnan, Lief E. Fenno, Keitaro Yamashita, Daniel Hilger, Soo Yeun Lee, Andre Berndt, Kang Shen, Hideki Kandori, Ron O. Dror, Brian K. Kobilka, Karl Deisseroth, "Structural mechanisms of selectivity and gating in anion channelrhodopsins", *Nature* 561, 349-354, 2018

3. Seiji Wada, Baoguo Shen, Emi Kawano-Yamashita, Takashi Nagata, Masahiko Hibi, Satoshi Tamotsu, Mitsumasa Koyanagi, Akihisa Terakita, "Color opponency with a single kind of bistable opsin in the zebrafish pineal organ", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 115, 11310-11315, 2018

§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
 - ・環状ヌクレオチド濃度の光制御
 - ・新奇ロドプシンツールの開発

(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、助教)
- 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

(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検討

(4) 日比グループ

- ① 主たる共同研究者: 日比 正彦 (名古屋大学生物機能開発利用研究センター 教授)
- ② 研究項目 「光操作による小脳高次機能の解明」
 - ・運動学習および恐怖応答学習で活性化される小脳神経回路素子の同定
 - ・光操作ツールを発現するトランスジェニックフィッシュの樹立