

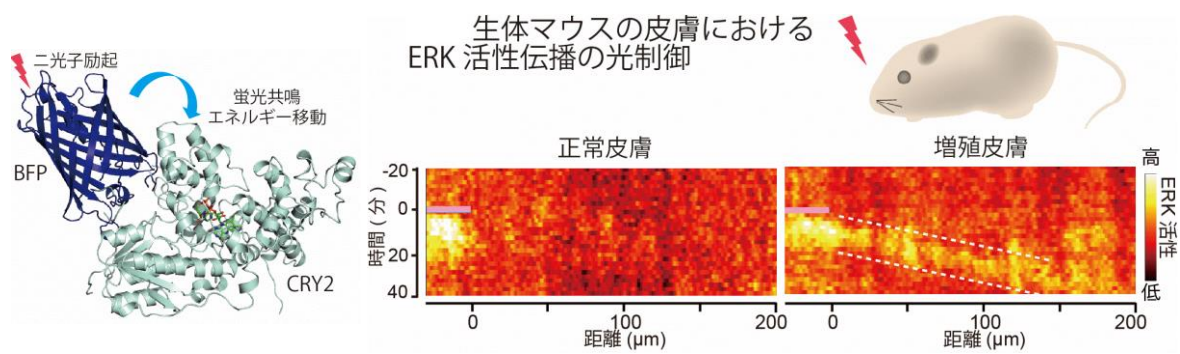
松田 道行

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. 研究成果の概要

近年、イメージングの技術やツールの進歩により、生体内のシグナル伝達を、高い時空間解像度で観察することが可能になってきた。しかし、観察したシグナルと、結果として生じる表現型との因果関係を証明することは、観察のみでは困難である。この問題の解決策として、植物が光感知に用いる光応答性分子を用い、シグナル伝達経路を光で操作する光遺伝学ツールが開発されている。これら従来型の光遺伝学ツールは試験管内で飼育される培養細胞では容易に使用できるものの、生きたマウスの体の中で使用するためには更なる工夫が必要である。生体組織は光を通しにくい。そのため、組織深部を見るためには、通常の顕微鏡よりも組織透過性のよい二光子顕微鏡を使用する。しかしながら、光遺伝学ツールは一般には二光子励起効率が非常に低く、このままの状態では生体内での使用に不向きである。この問題を解決するため、二光子励起効率の高い青色蛍光タンパク質(BFP: Blue Fluorescent Protein)からの、Förster 共鳴エネルギー移動により、光応答性分子を二光子励起で活性化する FRAPA (FRET-assisted photoactivation) 法を発明した (概要図)。本技術の有用性を示すため、細胞増殖やがん化に重要な ERK 分子を光で活性化することができるシステムを作製し、生きたマウスの皮膚において、単一細胞レベルの非常に高い空間解像度で ERK 活性を制御できることを示した。本成果により、生体内での細胞間情報伝達の研究が進み、生体組織における生理学的な機能や、病気のメカニズムの解明につながるものと期待される。今後は、様々な分子を光で操作ツールを作製し、生体内の情報伝達の方法について調べて行きたいと考えている。



### 【代表的な原著論文】

1. Tetsuya Watabe, Kenta Terai, Kenta Sumiyama, and Michiyuki Matsuda, M. “Booster, a red-shifted genetically encoded Förster resonance energy transfer (FRET) biosensor compatible with cyan fluorescent protein/yellow fluorescent protein-based FRET biosensors and blue light-responsive optogenetic tools”, *ACS Sensors*, vol. 5, pp.719–730, 2020
2. Tomoaki Kinjo, Kenta Terai, Shoichiro Horita, Norimichi Nomura, Kenta Sumiyama, Kaori Togashi, So Iwata, and Michiyuki Matsuda, “FRET-assisted photoactivation of flavoproteins for in vivo two-photon optogenetics”, *Nature Methods*, vol 16, pp.1029–1036, 2019
3. Akira T. Komatsubara, Yuhei Goto, Yohei Kondo, Michiyuki Matsuda, and Kazuhiro Aoki, “Single-cell quantification of the concentrations and dissociation constants of endogenous proteins,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 294, pp.6062–6072, 2019

## § 2. 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 2paCRY2 の開発
- ・ 赤色 FRET バイオセンサーの開発
- ・ FRET マウスおよび hyBRET マウスを用いた生命現象の探索
- ・ SPREAD の発生機構の解明
- ・ 免疫系細胞における分子活性と細胞機能の解明
- ・ 網膜細胞での情報伝達系の解明

### (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 (自然科学研究機構生命創成探究センター 教授)

#### ② 研究項目

- ・ PCB の哺乳類動物培養細胞内合成系の改良
- ・ PCB 合成系の分裂酵母と線虫への適用と光操作

### (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先端科学技術研究科 准教授)

#### ② 研究項目

- ・ BRET 観察用イメージングデバイス用センサの開発
- ・ 生体埋植イメージング用無線デバイスの小型化

### (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