

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  
2016 年度採択研究代表者

2020 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. 研究成果の概要

本プロジェクトは光操作のためのツール開発とそのツールを用いた生命現象の開発を二つの柱とする。光遺伝学ツールの開発については二つの進歩があった。まず、光遺伝学ツールの弱点の一つである多光子顕微鏡での励起効率を克服した光依存的 cAMP 誘導系を開発し、マウス肝臓や3次元培養組織中でピンポイントの cAMP 依存性キナーゼの活性に成功した。次に、長波長光操作分子の作成に必要なフィコシアノビリンの動物細胞での合成系の改良を行った。これにより、近赤外蛍光タンパク質を従来型より4倍明るくすることに成功したほか、線虫の行動や酵母の細胞分裂を光操作する技術を確認した。また、マウス胚における光誘導型 Cre リコンビナーゼによる組換えの最適化を行った。

一方、光遺伝学ツールおよび蛍光バイオセンサーを使った生命現象の解明にも進歩があった。まず、創傷治癒過程等や発生過程でしばしば観察される細胞の集団運動が、細胞の引張力とそれによる ERK MAP キナーゼ上昇というサイクルによって効率よく制御されていることを、ERK MAP キナーゼの光操作系と FRET バイオセンサーとを用いて明らかにした。また、血管損傷時に誘導される血管攣縮過程を FRET バイオセンサーを用いて観察し、血管攣縮が損傷部位局所においてはカルシウム依存性に、損傷部位より離れ場所では交感神経反射系を用いて Rho キナーゼ依存性に引き起こされていることを明らかにした。さらに、がん細胞の免疫回避機構について研究を行い、血管細胞増殖因子により活性化された血管内皮から分泌されるトロンボキサン A2 が腫瘍細胞からの PGE2 分泌を誘導して免疫抑制を引き起こすことを明らかにした。これにより、抗凝固薬の抗腫瘍効果のメカニズムを明らかにしたのみならず、血管細胞増殖因子阻害剤が血管内皮細胞の増殖を介さずに抗腫瘍効果をもたらすことも明らかになった。

## § 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 2pabPAC の開発
- ・ Rho キナーゼの活性を検出する FRET バイオセンサーの開発
- ・ 細胞集団運動時の ERK 活性波のメカノバイオロジー
- ・ がん細胞排除過程におけるがん細胞と宿主細胞コミュニケーションの可視化
- ・ 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 の細胞内合成系の改良と近赤外蛍光イメージングへの応用

- PCB 合成系の分裂酵母と線虫への適用と光操作
- 新しい細胞形態の光操作法の開発

### (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 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小型無線デバイス

### (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

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) Hino, N., L. Rossetti, A. Marín-Llauradó, K. Aoki, X. Trepast, M. Matsuda, and T. Hirashima. 2020. ERK-mediated mechanochemical waves direct collective cell polarization. *Dev Cell*. 53:646-660.
- 2) Imanishi, A., H. Ichise, C. Fan, Y. Nakagawa, K. Kuwahara, K. Sumiyama, M. Matsuda, and K. Terai. 2021. Visualization of spatially controlled vasospasm by sympathetic nerve-mediated ROCK activation. *Am. J. Pathol.* 161:194-203.
- 3) Kinjo, T., T. Watabe, K. Kobachi, K. Terai, and M. Matsuda. 2020. Single-Cell Activation of the cAMP-Signaling Pathway in 3D Tissues with FRET-Assisted Two-Photon Activation of bPAC. *ACS chemical biology*. 15:2848-2853.
- 4) Konagaya, Y., K. Takakura, M. Sogabe, A. Bisaria, C. Liu, T. Meyer, A. Sehara-Fujisawa, M. Matsuda, and K. Terai. 2020. Intravital imaging reveals cell cycle-dependent myogenic cell migration during muscle regeneration. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*. 19:3167-3181.
- 5) Sato, S., T. Yamashita, and M. Matsuda. 2020. Rhodopsin-mediated light-off-induced protein kinase A activation in mouse rod photoreceptor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*