

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
2017 年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書

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・応用を目指しているが、2020年度には、以下の成果が得られた。

神取グループは、既知のチャネルロドプシンの中で最も短波長に吸収を持つ新規タンパク質 KnChR を発見したが、カルシウムイオンを透過させるツールとして期待される。また、酵素ロドプシン Rh-PDE の立体構造モデルを提唱した。新奇ロドプシンの研究においては、進化的に真核生物に最も近いアスガルド古細菌から発見したシズロドプシンが内向きプロトンポンプの機能を持つことを明らかにした。

山下グループは昨年度、光で活性が上昇し元に戻る(光活性化タイプ)光サイクル型 GPCR の創製を行った。本年度は、この光活性化タイプの光サイクル型 GPCR について光操作ツールとして最適化するため、光サイクルを速めることを行った。そして、細胞内二次メッセンジャー濃度の変化を光で誘起した後、応答回復が大きく速まることを確認した。

寺北グループでは、新たな光遺伝学ツールとなるロドプシン類を下等脊椎動物、無脊椎動物において探索した。その結果、ヤツメウナギに新規ロドプシンを発見し、その分光感度(青～緑感受性)と生化学的特徴(光依存的な cAMP の減少)を明らかにした。また、刺胞動物にも新規ロドプシンを見出した。これらは眼外オプシンであることから、有用なツールとして期待される。

日比グループは、神取、山下、寺北グループが開発した光操作ツールを、転写因子 Gal4 依存的に細胞に発現するゼブラフィッシュ系統を樹立してきた。これらの魚を用いて、光操作ツールを V2a 網様体脊髄路ニューロンと心筋細胞に発現させ、それぞれ光刺激依存性の遊泳行動の誘導および心臓の拍動停止を指標に、光操作ツールの活性を評価した。これらの実験により、小脳神経回路の機能解析に有用と思われる光操作ツールを明らかにした。

§ 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
 - ・微生物ロドプシンツールの有用性の実証

(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

・光サイクル型新規 GPCR の有用性の実証

(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」

- ・光平衡型ロドプシンをベースとする高感度ツールの開発
- ・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実証

(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 大学院理学研究科 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ゼブラフィッシュの樹立
- ・小脳神経回路の光操作の条件検討・ツールの評価

【代表的な原著論文情報】

- 1) Structural insights into the mechanism of rhodopsin phosphodiesterase.
Nat. Commun. 11, 5605 (2020).
- 2) Schizorhodopsins: A family of rhodopsins from Asgard archaea that function as light-driven inward H⁺ pumps.
Sci. Adv. 6, eaaz2441 (2020).
- 3) Rhodopsin-mediated light-off-induced protein kinase A activation in mouse rod photoreceptor cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 117, 26996-27003 (2020).
- 4) The non-visual opsins expressed in deep brain neurons projecting to the retina in lampreys.
Sci. Rep. 10, 9669 (2020).
- 5) Gsx2 is required for specification of neurons in the inferior olivary nuclei from Ptf1a-expressing neural progenitors.
Development 147, dev190603 (2020).