

細胞内のシグナル伝達を光操作する分子プローブの創製

Molecular probes for optical control of cellular signaling processes

東京大学 佐藤守俊

【目的】 様々な酵素の光操作を実現するための基盤技術として、研究代表者は最近、アカパンカビ由来の青色光受容体に対して様々なプロテインエンジニアリングを施し、任意のタンパク質の結合解離を青色光照射で自由自在にコントロールできる光スイッチタンパク質 (“Magnet” と呼ぶ) を開発した (文献1)。本研究では、この光スイッチタンパク質を用いて、細胞内のカルシウムイオン (Ca^{2+}) の動態制御に関与する酵素 (三量体 G タンパク質の Gαq サブユニット) を自由自在に光照射でコントロール (光操作) することを目的として、分子プローブ (“photoactivatable (PA)-Gαq” と呼ぶ) の開発研究を行った (文献2)。

【結果】 Gαq は G タンパク質連結型受容体の活性化に伴って細胞膜で活性化され、 Ca^{2+} の濃度上昇を誘起する酵素である。本研究のアイデアは、細胞膜近傍における Gαq の動態を光でコントロールすることにより、当該酵素の活性と細胞内 Ca^{2+} 濃度の光操作を実現するというものである。上述のように作製した PA-Gαq は青色光に反応して活性化し、細胞内の Ca^{2+} 濃度を上昇させることがわかった。しかも、PA-Gαq の反応は可逆的であり、青色光の ON/OFF によって、自由自在に Ca^{2+} 濃度を増減させることができるようになった。

上述の PA-Gαq は青色光に反応する Magnet を用いて開発されているため、青色光で Gαq の酵素活性と細胞内 Ca^{2+} 濃度の光操作を実現できるツールである。本研究ではさらに、Magnet の部分を赤色光スイッチタンパク質で置き換えることにより、赤色光でコントロールできる PA-Gαq を開発した。赤色光スイッチタンパク質として、シロイヌナズナの光受容システム (PhyB-PIF システム) を用いた。開発した PA-Gαq は赤色光照射に反応して細胞内の Ca^{2+} 濃度を上昇させることがわかった。さらに、赤色光の ON/OFF によって、可逆的に Ca^{2+} 濃度を増減できることも示した。

さらに本研究では、PA-Gαq を改変して、 Ca^{2+} とは全く異なるセカンドメッセンジャーの環状アデノシンリン酸 (cAMP) を生成する酵素 (三量体 G タンパク質の Gas サブユニット) の光操作を試みた。具体的には、上述の赤色光に反応する PA-Gαq の Gαq ドメインを Gas で置き換えることにより PA-Gas を設計・開発した。cAMP 応答エレメント (CRE) を導入したレポーター遺伝子アッセイを利用して評価を行ったところ、PA-Gas は赤色光照射に反応して活性化し、cAMP を生成することがわかった。さらにそのレベルは CRE を介した遺伝子発現に十分であることも明らかになった。

【まとめ】 上述のように、本研究では Ca^{2+} の動態に関与する酵素 (Gαq) の光操作技術を開発すると共に、その赤色化を実現した。さらに、cAMP の動態に関する酵素 (Gas) の光操作にも当該技術を拡張できることを示した。 Ca^{2+} と cAMP はいずれも細胞内での主要なセカンドメッセンジャーである。本研究で開発した技術は様々な生命現象を明らかにするための強力なツールを提供すると期待できる。

【文献】

1. F. Kawano, H. Suzuki, A. Furuya and M. Sato, “Engineered Pairs of Distinct Photoswitches for Optogenetic Control of Cellular Proteins” *Nat. Commun.*, 6, 6256 (2015).
2. G. Yu, H. Onodera, Y. Aono, F. Kawano, Y. Ueda, A. Furuya, H. Suzuki and M. Sato, “Optical Manipulation of the Alpha Subunits of Heterotrimeric G Proteins Using Photoswitchable Dimerization Systems” *Sci. Rep.*, 6, 35777 (2016).