



生体内におけるタンパク質の活性変化の可視化に成功！

概要

生物において、タンパク質が様々な反応を媒介し、外界からのシグナルを伝達する役割を担っています。しかし、生きている生物個体内でタンパク質の活性化を捉える（可視化する）ことは非常に困難でした。九州大学大学院システム生命科学府大学院生 魚住隆行、大学院理学研究院広津崇亮助教、石原健教授らは、東京大学大学院理学系研究科 飯野雄一教授らとの共同研究で、生体内の神経細胞におけるタンパク質の活性変化を可視化することに成功しました。本研究成果は 2012 年 7 月 9 日、Nature 姉妹誌のオンラインジャーナル「Scientific Reports」に掲載されます。

背景

生物は、外界からの刺激を受け、それに対して適切に応答することで生存しています。その情報伝達と応答には、タンパク質の活性変化が大きな役割を担っています。しかしながら、これらのタンパク質が、実際に生きている生物の体内でいつ、どのように活性化・不活性化しているかをライブで観察することは困難でした。そこで本研究では、生体内におけるタンパク質の活性変化の可視化を試みました。

内容

研究グループは、タンパク質の活性変化を生体イメージングする生物として、線虫 *C. elegans* を選択しました。線虫は体が透明で、生体での細胞観察に適した生物です。さらに、活性変化を可視化するタンパク質として Ras タンパク質(※注 1)に注目することにしました。Ras タンパク質は多くの生物種に保存され様々な局面で重要な働きをすること、またガン遺伝子であるだけでなく種々の疾患の原因分子であることから、様々な生物種での研究や医学面への応用が期待できるからです。

線虫では、嗅覚感覚神経(※注 2)において Ras タンパク質が匂いシグナルを伝達するために重要な働きを担っていることが報告されています (Hirotsu et al, *Nature*, 2000)。そこで Ras タンパク質の活性変化を観察するために、Ras タンパク質の活性状態によって発する蛍光が変化するイメージング分子 “Raichu-Ras” (京大・松田道行教授より提供) を、線虫の嗅覚神経細胞に導入しました。そして、生きたままの線虫において嗅覚神経をライブ観察しました。その結果 Ras タンパク質が数秒という極めて短い時間で活性化・不活性化することを捉えることに成功しました(図 1)。

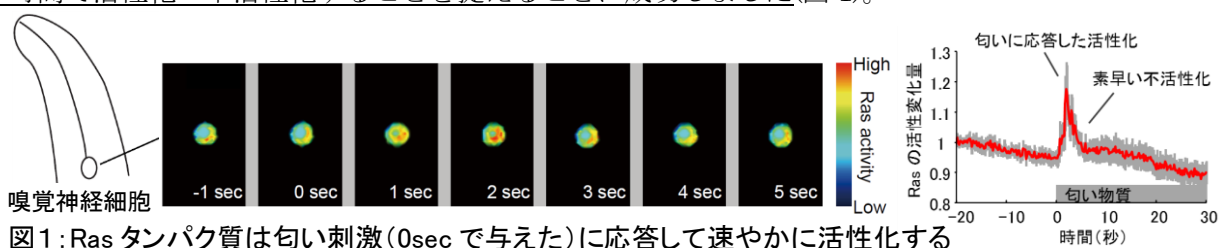


図1: Ras タンパク質は匂い刺激(0sec で与えた)に反応して速やかに活性化

Ras タンパク質は培養細胞などでの解析から、数分～数時間単位で活性化することが報告されていたことから、今回捉えた数秒単位での活性化・不活性化は予想外のものでした。それでは、この素早い Ras タンパク質の活性変化はどのようにして制御されているのでしょうか。研究グループはその制御メカニズムの解明を試み、Ras タンパク質が匂いシグナル伝達経路、RasGRP(※注 3)により活性化を制御されていること、また下流の因子からのネガティブフィードバックにより素早い不活性化がコントロールされていることを見出しました(図 2)。

では嗅覚神経における Ras の活性変化は、嗅覚神経回路や嗅覚

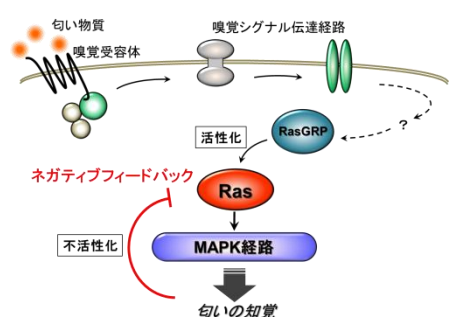


図 2: Ras タンパク質の活性制御

行動にとってどのような意味があるのでしょうか。それを明らかにするために、嗅覚神経からの入力を受ける介在神経(※注 4)の Ca^{2+} イメージング(※注 5)を行い、神経活性の観察を行いました。その結果、Ras タンパク質の機能が低下した変異体では、介在神経の匂いに対する応答が不安定であることが分かりました。この結果は嗅覚神経における Ras タンパク質の活性が、介在神経の応答の安定化に寄与していることを表しています。

さらに、Ras タンパク質の変異体を用いて行動測定を行い、Ras タンパク質の活性が線虫の行動にどのような影響を及ぼすのかを調べました。すると、正常型の線虫では匂い物質の元への的確に寄って行く行動を示したのに対し、Ras タンパク質の変異体は、その行動に異常を示しました。これらの結果から、嗅覚神経における Ras タンパク質の活性変化は、匂いに向かった的確に寄っていく行動に重要であることがわかりました(図 3)。

■研究成果のまとめ

本研究は、これまで困難であった生きた生物個体内でのタンパク質の活性変化を可視化することに成功したものです。さらに、数秒単位での活性化という Ras の新規の活性化機構を見出しました。また、嗅覚神経における Ras タンパク質の活性変化が、嗅覚システム(神経回路、行動)においてどのような意味を持つかについて明らかにした点でも、大変意義のある研究であると言えます。

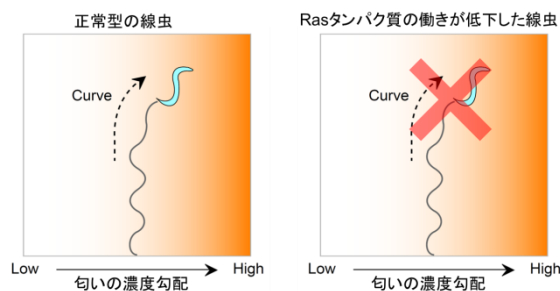


図3: Ras タンパク質の活性変化は匂いの元への的確に向かうために重要である

■効果、今後の展開

今後、生体内におけるタンパク質の働きを知る上で、タンパク質の活性変化の生体内での観察がさらに重要となることが予想されます。その点で本研究は、その先駆的研究であると言えます。Ras タンパク質は広い生物種に保存されており、多くの組織で多彩な働きをしていることから、Ras タンパク質の活性の生体イメージング技術は、嗅覚だけでなく様々な生命現象のメカニズムの解明に貢献できると予想されます。さらに本研究で得られた成果、技術は、Ras タンパク質以外のあらゆるタンパク質についても、その活性動態を生体内で観察する上で応用可能です。また、Ras タンパク質はガンを含む多種の疾患に関わる原因分子として知られており、ガン研究など医学面への貢献も期待されます。

■用語説明(※注)

1. Ras タンパク質: 細胞の分化や増殖などを制御する、代表的なシグナル伝達タンパク質の一種。ガンや多種の疾患の原因分子であることが報告されている。
2. 感覚神経: 外界からの刺激を最初に受け取る神経の総称。
3. RasGRP: Ras グアニルヌクレオチド放出タンパク質。Ras タンパク質の活性化を直接的に制御する。
4. 介在神経: 感覚神経からの入力を受け、刺激の情報を伝達する神経の総称。
5. Ca^{2+} イメージング: 匂い物質など各種刺激に対する神経の応答を、カルシウムイオン濃度を指標として可視化、測定する方法

論文

Takayuki Uozumi, Takaaki Hirotsu, Kazushi Yoshida, Ryuji Yamada, Akiya Suzuki, Gun Taniguchi, Yuichi Iino, Takeshi Ishihara

Temporally-regulated quick activation and inactivation of Ras is important for olfactory behaviour
Scientific Reports 2, 500, 2012

【お問い合わせ】

理学研究院生物科学部門

助教 広津 崇亮 (ひろつ たかあき)

電話: 092-642-4402

FAX: 092-642-2645

Mail: hirotsu.takaaki.056@m.kyushu-u.ac.jp