

生命と化学

2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

遠藤 瑞己

東京大学 大学院理学系研究科
助教

超音波による細胞間シグナル伝達の熱遺伝学的制御

§ 1. 研究成果の概要

本年度は、熱遺伝学的解離・結合モジュールの開発を行った。熱遺伝学的解離モジュールの開発においては、*Salmonella typhimurium* 由来の TlpA に点変異を複数導入することで温度応答能、およびダイマー形成効率の異なる変異体を用意し、さらに構造予測により coiled-coil 形成領域を推測し削除可能な領域を削った変異体を複数用意した。作製した変異体それぞれについて、培養細胞に発現させ、タンパク質を回収した。ヘテロ二量体を形成するタンパク質溶液を混合し、サーマルサイクラーでサンプルを加熱しながら塩化銅により架橋し、加熱前後の二量体形成効率を評価したところ、既報の Heterodimer は加熱により 8.1 倍の変化を示していたが、今回作成した変異体のうち一つは 42.2 倍の変化を示した。また、Homodimer についても同様に検討したところ、既報の Homodimer は加熱により 2.8 倍の変化を示していた一方で、今回作成した変異体のうち一つは 17.1 倍の変化を示した。したがって、従来よりも熱応答能が改善された熱遺伝学的解離モジュールを開発することに成功した。開発したモジュールが超音波照射による局所加熱現象で作動することを確認するため、ゲル上に固定したチューブ内に Heterodimer、Homodimer 溶液を添加し、HIFU 照射装置により超音波を照射した。結果、超音波照射に伴う加熱により、Heterodimer および Homodimer モジュールの解離を 42℃までの通常加熱と同程度に誘導可能であることが明らかとなった。また、培養細胞中での加熱応答を評価するため、細胞内局在を指標にモジュールの解離を評価した。結果、熱遺伝学的モジュールを活用することでタンパク質の細胞内局在を制御可能であることが示された。また、解離・結合モジュールの改良のため大腸菌発現系による評価系を構築した。