

生命現象と機能性物質
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

小坂元 陽奈

理化学研究所 生命機能科学研究センター
基礎科学特別研究員

内在及び人工アミノ酸センサーの同定と開発

研究成果の概要

本年度は、1. 非必須アミノ酸チロシンの感知実体を明らかにする、2. 人工チロシンセンサーの開発、の二つの目標のうち、特に1の課題を中心に取り組んだ。

目標1達成のため、ショウジョウバエを用いた核内受容体に着目した解析と、哺乳類細胞を用いた網羅的な siRNA スクリーニングを実施した。着目している核内受容体について、リガンド結合部位への点変異を導入しチロシン有無で変化する表現型についての寄与を検討した。チロシン欠乏に応答して活性化することを見出している ATF4 レポーターの蛍光を観察したところ、点変異によりその応答が鈍ることを見出した。同様の結果は当該核内受容体の機能欠損個体でも観察されたことから、チロシンセンシングへの関与が示唆された。しかし、幼虫の摂食量変化などこれまで着目してきた個体全体としての表現型に大きな変化は見られなかった。そこで成虫に視点を移し、チロシン制限で見られる寿命延長や食嗜好性の変化に対する当該核内受容体の寄与を検討中である。

また、この核内受容体の精製タンパク質とチロシンを用いた生化学的なリガンド結合アッセイでは、チロシンとの結合を明確に証明することができなかった。精製タンパク質の DNA 結合ドメインの疎水性が高く溶解していなかったことが原因の一つと考えられるため、リガンド結合部位のみを用いた結合アッセイに取り組んでいる。哺乳類細胞を用いた siRNA スクリーニングについても終了させ、チロシンセンシングをはじめアミノ酸飢餓や小胞体ストレスに共通して関与する可能性のある経路としてスプライシングイベントが浮上し、詳細なメカニズムを解析中である。

一方目標2の達成のため、ポジティブコントロールとなる RNA aptamer 配列をショウジョウバエ体内で過剰発現させることに成功したが、色素を導入しても蛍光を観察することができなかった。現在改良版のポジティブコントロールを用いた培養細胞での検討を進めているところである。