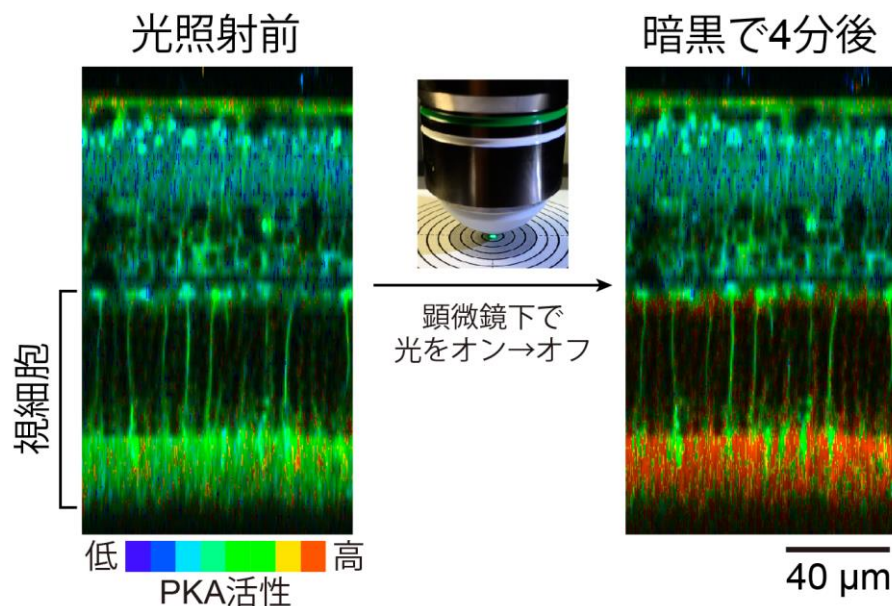


網膜の知られざる光応答を顕微鏡観察で発見

光センサー細胞が暗黒に反応した

概要

京都大学大学院生命科学研究科の佐藤慎哉助教、松田道行教授、および理学研究科の山下高廣助教の研究グループは、網膜内の酵素の働きを観察する顕微鏡法を開発して、cAMP 依存性キナーゼ (PKA) と呼ばれる酵素が光オフ、すなわち暗黒をきっかけにして網膜内での働きを強めることを世界で初めて発見しました。以前より、松田教授のグループでは生物内部で働く様々な酵素の働きを蛍光顕微鏡で直接観察する技術の開発を進めてきました。今回の発見は、その技術が生み出した遺伝子改変マウス PKAchu を網膜の研究に応用することで実現されました。本研究ではさらに、顕微鏡の高い解像度を生かして、PKA の働きが強まるのは桿体視細胞と呼ばれる、暗所視力を担う光センサー細胞だけであることも突き止めました。これらのデータから、発見された現象は暗所視力を補助するものだと予想されます。本成果は、2020 年 10 月 13 日に米国の国際学術誌「米国科学アカデミー紀要 (PNAS)」にオンライン掲載されました。



網膜PKA活性の顕微観察で新発見

暗黒をきっかけに起こる視細胞PKAの活性化

1. 背景

当研究室が2012年に作製した遺伝子改変マウス PKAchu は、cAMP 依存性キナーゼ（またはプロテインキナーゼ A、PKA）と呼ばれる体の中で幅広い機能を持つ酵素の働きを顕微鏡で観察することを可能にしました。PKAchu はこれまでに脳の神経細胞や、血液中の細胞の一種である好中球の研究に活用されてきましたが、私たちは今回初めて網膜を対象とする研究を行いました。

2. 研究手法・成果

PKAchu の網膜を蛍光顕微鏡で観察することで、一つ一つの網膜細胞が持つ PKA の働きを色に変換して見られるようになりました。ある日、PKA 活性の観察をしながら網膜に強い光を6秒という短時間だけ当てる、という実験を試したところ、光が当たったところでだけ PKA の働きが約15分間強くなることを発見しました（図1）。そこで次に、10分間という長時間に渡って強い光を当てる実験を行ったところ、予想外にも光オンではなく、光オフ、つまり暗黒が PKA の働きを強めていることが分かりました（図2）。さらに、厚みが約200ミクロンある PKAchu 網膜の表面から裏面までを同時観察したところ、暗黒で PKA の働きが強くなるのは桿体視細胞と呼ばれる、暗所視力を担当する光センサー細胞だけであることが判明しました（図3）。さて、我々の眼は明るいところから暗いところへ移動した際、30分以上かけてゆっくりと暗闇に慣れる機能、暗順応の仕組みを持っています。私たちは、今回発見した暗黒をきっかけに起こる桿体 PKA 活性化が、これまでに知られていなかった暗順応を補助する仕組みではないかと考えています。

3. 波及効果、今後の予定

本研究で注目した PKA は、細胞の中で環状 AMP と呼ばれる物質を検出すると働く酵素です。実は、網膜の環状 AMP 量が光で変化することは約50年前から知られていました。しかし技術的な問題から、この現象を詳細に調べた研究はほとんどなく「なぜ環状 AMP 量が光で変化するのか？」という疑問に対する明確な答えはまだ出ていません。今回の技術開発で、PKA の働きを一つ一つの網膜細胞で分析することが可能になりましたので、上記の疑問に答えを出したいと考えています。

また、私たちのグループでは PKA だけではなく、色々な分子の働きを観察する顕微鏡技術を持っています。網膜は、光情報を検出して脳に伝達するという特別な役割を持つことから、PKA 以外にも光と闇にまつわる特別な機能をたくさん持っていると考えられます。今後も網膜内の知られざる分子の働きを、顕微鏡などを使った丁寧な観察で発見していきたいと思っています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は以下の研究助成金の支援で行われました：日本学術振興会（JSPS） 科研費（15H05949「レゾナンスバイオ」、16H06280「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」、19H00993、19K16087）；科学技術振興機構（JST） CREST「オプトバイオ」（JPMJCR1654、JPMJCR1753）；日本医療研究開発機構（AMED；19gm5010003h0003）；一般財団法人 清水免疫学・神経科学振興財団；公益財団法人 京都大学教育研究振興財団；京都大学若手スタートアップ研究費。

<研究者のコメント>

本研究は筆頭著者の佐藤が、大阪大学での7年、Washington University in St. Louis での3年間の修練を経て、京都大学で3年間取り組んできたもので、研究キャリアの中で初めて自分が主導して作り上げた研究

成果となりました。始めた頃は顕微鏡技術習得に苦労しましたが、今では新技術が研究を跳躍させるということ強く実感しています。今後も貪欲に技術を取り込んで挑戦を続けていきたいです。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Rhodopsin-mediated Light-off-induced Protein Kinase A Activation in Mouse Rod Photoreceptor Cells (マウス桿体視細胞でロドプシンが介するが光オフによって生じるプロテインキナーゼ A の活性化)

著者：佐藤慎哉、山下高廣、松田道行

掲載誌：米国科学アカデミー紀要 (PNAS) DOI : <https://doi.org/10.1073/pnas.2009164117>

<参考図表>

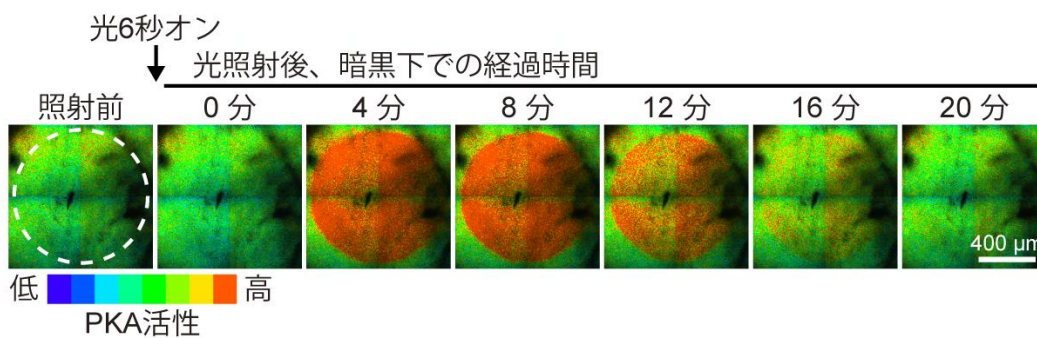


図1 PKA活性化は光照射部位 (白点線) だけで起こる

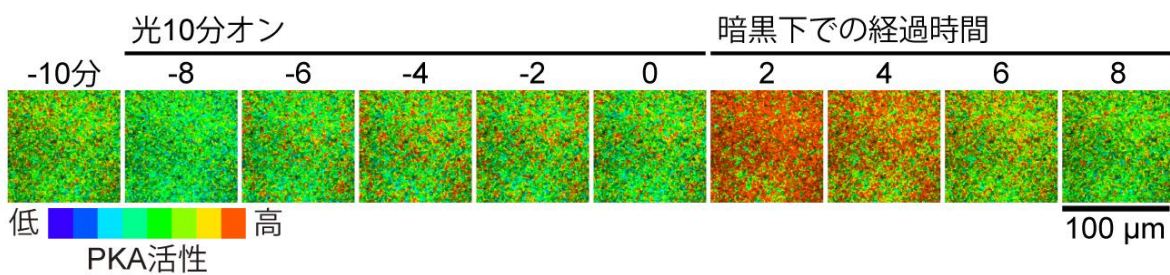


図2 PKA活性化の引き金は光オフ (暗黒)

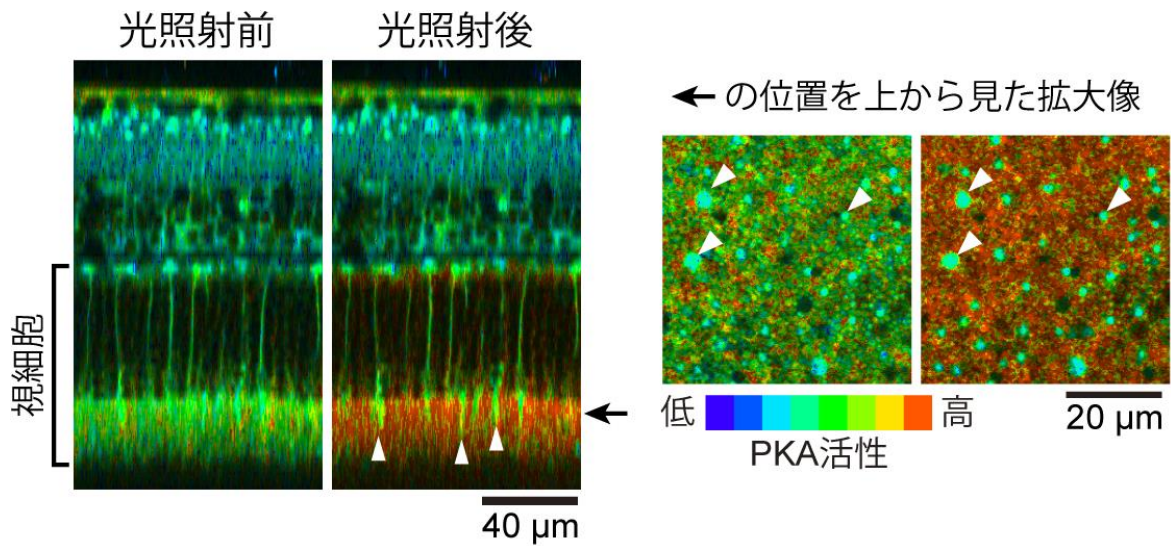


図3 PKA活性化は暗所視を担う桿体視細胞で起こる
明所視と色覚を担う錐体視細胞では、PKAの活性化が起こらない（白矢頭）