

**【目的】** 抗がん剤の多くはがん細胞において特徴的なシグナル経路に働く分子標的型のものである。しかし、標的となるシグナル経路は正常な生命活動にも必要な場合が多い。そこで、分子標的型ではないが、がん特異的な特徴を捉えた、より汎用的ながん治療法が望まれている。本研究課題では、ほとんどのがん細胞が正常細胞よりも高い細胞質 pH を保持していることに注目した。我々はこれまでに高感度な pH イメージング手法を開発するなど、細胞内 pH の定量計測を広く実施しており、細胞内 pH が実際に細胞機能へどのように働いているかを明らかにしてきた。そこで本研究課題では、高感度 pH イメージングとオプトジェネティクス技術の応用によってがん細胞の細胞質 pH を光操作し、細胞質 pH と細胞機能の関係を明確にするための新規光操作技術の確立を目的とした。

**【方法】** 本研究では、生細胞の細胞質 pH を定量的に光操作する手法の開発を進めた。我々はこれまでに独自で開発・改良を行なった pH プローブを用いた高感度 pH イメージング計測手法を確立しており、1 細胞局所の pH 変化や pH を指標とした 1 細胞レベルでの分化のモニター等を可能としている。これまでに開発したプローブの高感度化および計測手法の改良により、生細胞内 pH 測定の定量性を向上させる。遺伝子操作が容易な大腸菌や細胞性粘菌を用いることで、プローブの性能や計測技術の効率的な改良を進める。

また、バクテリオロドプシンの一種であるプロテオロドプシンは光刺激により  $H^+$  を特異的に細胞外へと排出するため、細胞内 pH を任意に上昇させることができる。また、チャネルロドプシン 2 は光刺激により  $H^+$  を細胞内に取り込むため、細胞内 pH を低下させることが可能である。以上のように、プロテオロドプシンとチャネルロドプシン発現株をそれぞれ使い分けることにより、細胞内 pH の上昇および低下の光刺激制御を行うことができる。光刺激によって変化する細胞内 pH を高感度イメージングによって定量することにより、細胞内 pH を任意の値へと光操作することができ、細胞機能と細胞内 pH の関係を正確に理解することが可能となる。

**【結果】** 本研究によって、チャネルロドプシン 2 を用いることで細胞内 pH を任意に低下させ、その pH 変化量を定量的に計測することが可能となった。本技術はがん細胞研究だけにとどまらず、さまざまな生命科学研究への応用が可能な技術である。一方、プロテオロドプシンを用いた細胞内 pH を上昇させる手法は確立できておらず、光操作ツールタンパク質のさらなる検討、および異なる細胞系での計測が必要である。

細胞質 pH の定量的な光操作手法

