

再生医療は医学を変革する。怪我や病気の後の損傷を身体が再生、修復するのを待つ代わりに、患者への移植用に複雑な完全機能の組織をラボで成長させることができる。

タンパク質は、この未来へのカギである。われわれの身体では、タンパク質シグナルが細胞に、どこへ行くべきか、何時分割し何をすべきかを指示する。ラボでは、研究者はタンパク質を同じ目的のために使う。改良されたスカフォールドの上、あるいは中に特定点タンパク質を置く、さらにこれらのタンパク質シグナルを使って細胞移動、分割、分化をコントロールする。

しかしこれらの設定のタンパク質は脆弱でもある。タンパク質をスカフォールドに貼りつけておくために、従来、研究者は化学的性質を使ってタンパク質を改良したが、これはその機能の 90%以上を殺す。*Nature Materials* に発表された論文で、ワシントン大学の研究チームは、光を使って化学的にタンパク質をスカフォールドにつなぎ止めておけるように、タンパク質を特定点で改良することでタンパク質を完全なままに、機能を維持する新たな戦略を明らかにした。その拘束はレーザー光で切断もできるので、この方法は、様々なタイプの細胞でできた組織を成長させる生体材料スカフォールドの至る所で、シグナルタンパク質の進化パターンを作ることのできる。

「タンパク質は、生物学的情報の究極の通信手段である。タンパク質は、実質的に、細胞機能の全ての変化、分化、移動、成長、死を促進する」と同大学化学工学・バイオエンジニアリング准教授、Cole DeForest は話している。

そうした理由で、研究者は、細胞の成長、組織工学における分化をコントロールするために以前からタンパク質を使ってきた。

「しかし、タンパク質を、組織工学のスカフォールドを含む材料につなぎ止めるために人々がごく普通に使ったその化学的性質は、タンパク質機能の圧倒的多くを破壊する」と DeForest は言う。「歴史的に、研究者は、スカフォールドにタンパク質をオーバーロードすることで補償しようとした。そのほとんどが不活性であることが分かっていたからである。ここでは、われわれは、そのフル機能を維持しながら、タンパク質で可逆的に生体材料を機能化するための一般化できる方法を考えついた」。

そのアプローチは、多くのバクテリアに見つかるソルターゼという酵素を使い、特定点全てのタンパク質に存在する C 末端で、各シグナルタンパク質に短い合成ペプチドを付加する。研究チームは、そのペプチドがシグナルタンパク質を特定箇所につながるよ

うに設計した。特定箇所とは、ヒドロゲルとして知られ、組織工学では一般的な液体で満たされた生体材料スカフォールド内である。

シグナルタンパク質の単一サイトをターゲットにすることは、UW チームのアプローチが際立つ点である。他の方法は、化学基をランダムな箇所に付着させることでシグナルタンパク質を改良するが、これはタンパク質の機能を壊すことが多々ある。DeForest によると、タンパク質の C 末端を改良するだけでは、タンパク質の機能を破壊する可能性はほとんどない。チームは、6 個以上の異なるタイプのタンパク質でそのアプローチをテストした。C 末端タンパク質機能に大きな影響を与えないことが結果からわかり、タンパク質をヒドロゲルの至る所につなぎ止めることに成功した。

研究チームのアプローチは、額に入った芸術作品を壁に吊すことに類似している。ランダムに釘をガラス、キャンバス、額に打ち込む代わりに、個々の額の背後に 1 本のワイヤをクロスして結びつき、壁にそれを掛けるのである。

さらに、つなぎ綱はレーザー光の集束にさらすことで切断でき、タンパク質を「光放出」(photorelease)させる。この科学的光メスにより、研究チームは、多くの異なるタイプのタンパク質シグナルをヒドロゲルにロードすることができ、次にヒドロゲルをレーザー光にさらし、タンパク質をヒドロゲルのある箇所からつなぎを解くことができる。材料の一部だけを選択的にレーザー光にさらすことで、チームはタンパク質シグナルがヒドロゲルにつながったままの箇所をコントロールした。

タンパク質のつながりを解くことは、ヒドロゲルでは有用である。細胞が次に、そのシグナルをとり上げ、それらを細胞の内部に持ち込んで、遺伝子発現のようなプロセスに影響を与えるからである。

研究チームは、上皮細胞増殖因子、一種のタンパク質シグナルをロードしたヒドロゲルを使ってフォトリリースプロセスをテストした。チームは、ヒドロゲルにヒト細胞株を導入し、細胞膜に結合する成長因子を観察した。チームは、レーザー光を使って、個々の細胞の片側のタンパク質シグナルのつながりを解いたが、他方は解かなかった。つなぎ止められた方の細胞では、タンパク質は、まだヒドロゲルに付着しているので、細胞の外側にとどまっている。つながりを解かれた側では、タンパク質シグナルは、細胞に取り込まれた。

「われわれがどのようにレーザー光を標的とするかに基づいて、異なる細胞、単一の細胞の異なる部分でさえも、確実に異なる環境シグナルを受け取ることができる」と

DeForest は話している。

単一細胞内のこの特異なレベルの精度は、再生医学に役立つだけでなく、細胞生物学の基礎研究にも役立つ、と DeForest は付け加えている。研究者は、このプラットフォームを使って、例えばタンパク質シグナルの複数の組合せに生きた細胞が、どのように反応するかを研究することができる。この種の研究は、細胞分化のコントロール、病気の組織の治癒、ヒトの発達の促進のためにタンパク質シグナルがどのように協働するかを理解しようとする研究者に有用である。

「このプラットフォームにより、われわれは、いつ、どこで生理活性タンパク質シグナルが、物質内の細胞に導入されるかを正確に制御できるようになる。それは、再生医学や治療研究における多くの既存アプリケーションに道を開くことになる」と DeForest はコメントしている。

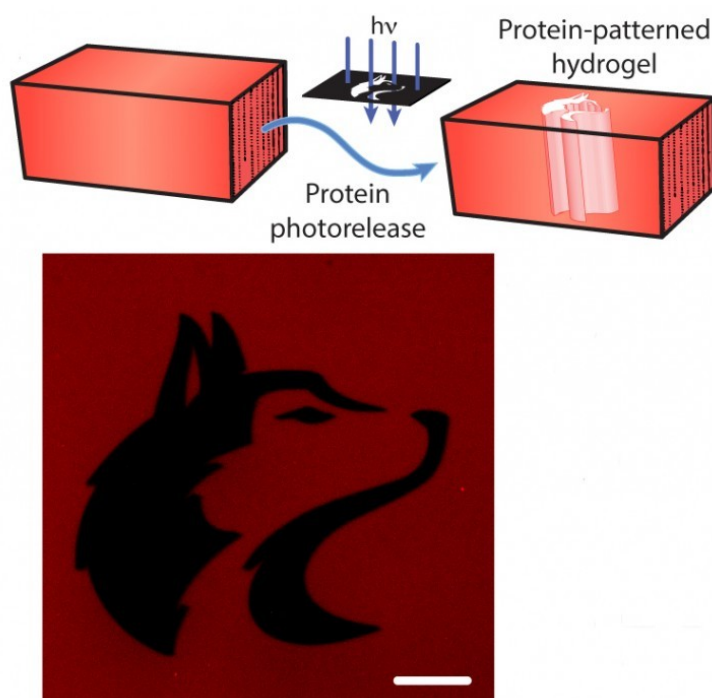


図1 ハイドロゲルからのタンパク質のフォトリリース。(上部)mCherry レッド蛍光タンパク質がハイドロゲルにつなぎ止められている。研究者は、指向性光(青の矢印)でつなぎを裂き、ハイドロゲル(ブルーの矢)から mCherry を解放する。(下) mCherry 解放後のハイドロゲルの画像、ワシントン大学マスコットけ以上にパタン化。スケールバーは 100 $\mu$ m(Shadish, Benuska and DeForest, 2019, Nature Materials.)。

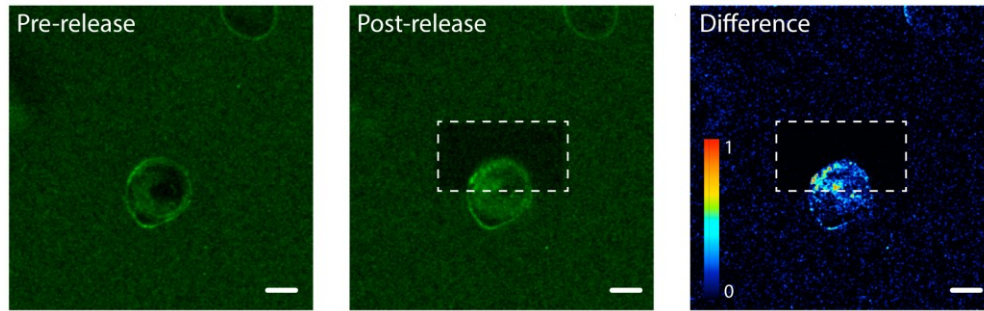


図2 ヒト細胞の片側の上皮細胞増殖因子(EGF)タンパク質。左: EGF(グリーン)が単一のヒト細胞(中央)につながれている。細胞膜はEGFを固め、膜をグリーンにする。中央: 細胞上部のEGFタンパク質をレーザーを使ってつなぎを解き、解放した後のハイドロゲル。右: リリース後とリリース前の画像の間で、グリーン蛍光色の違いを画像は示している。細胞上部の色の増強は、細胞が解放されたEGFタンパク質を内在化し始めたことを示している。ただし、片側のみ。スケールバーは10 $\mu$ m(Shadish, Benuska and DeForest, 2019, Nature Materials.)。