

研究成果

令和5年5月9日

本研究成果は論文掲載先である Nature Communications から、すでに報道解禁が設定されています。  
令和5年5月11日10時（ロンドン時間）

テレビ・ラジオ・WEB 令和5年5月11日18時（日本時間）  
新聞 令和5年5月12日 朝刊

## 暑さを嫌い涼しい環境に棲むサンショウウオの仲間、その生息地選択の仕組みを解明 —たった2個のアミノ酸残基で変わる高温センサーTRPV1の温度感受性—

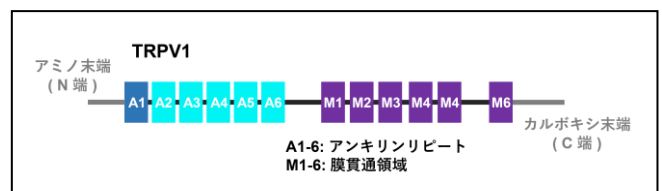
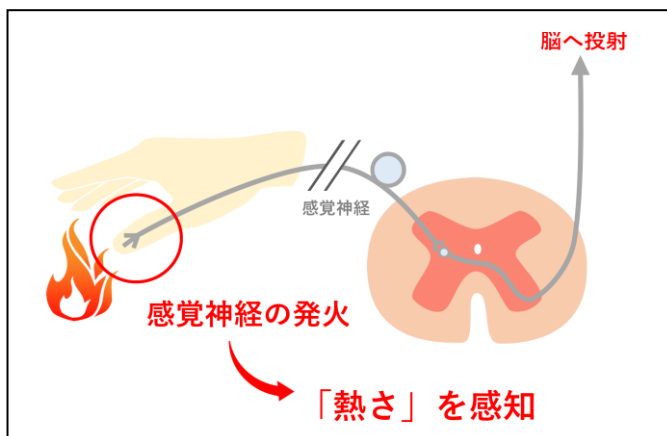
### ❖ 概要

齊藤修 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部教授、堀翔悟 同助手と久保義弘 自然科学研究機構生理学研究所教授らの研究グループは、涼しい環境を好むサンショウウオなどの有尾両生類が持つ熱さを感じるセンサーTRPV1の特徴を明らかにしました。この高温のセンサーは、ヒトやマウスなど多くの動物に比べ10°C近くも低い温度から活性化される特別な性質があり、有尾両生類という動物の生態を良く説明することが分かりました。そして、更にこの特性はセンサータンパク質のアミノ末端の2個のアミノ酸残基の変化で獲得されたものであることを突き止めました。

これらの発見は、温度感覚を生み出すセンサーの活性化機構の解明だけでなく、地球上に生息する動物界で起きてきた多様性獲得の仕組み解明に大きく貢献します。以上の研究成果は英国科学誌 Nature Communications に令和5年5月11日付けで公開されます。

### ❖ 研究の背景

TRPV1：動物は、皮膚表面にある感覚神経の終末で温度を感じて、その情報が神経を通じて脳に伝わり、暑さや寒さを感じます。この感覚神経の終末には温度を感じる受容体（センサー）があります。高温で活性化され熱さの感覚を引き起こす主要なセンサーが TRPV1 というイオンチャネルで、2021年にノーベル生理学医学賞を受賞した David Julius 教授が発見しました。この分子には、N端側にアンキリンリピートという繰り返し配列が6個あり、C端側にチャネルを形成する6個の膜貫通領域があります。そして、多くの動物でこの TRPV1 は、43°C以上で活性化することが分かっていました。



有尾両生類：地球温暖化などの影響を最も受け、世界的に減少しているのが両生類であると言われています。中でも特に、サンショウウオやイモリの仲間は有尾両生類と呼ばれ、涼しい環境を好む動物とされています。有尾両生類は温帯から寒帯という限られた地域に生息する動物群であり、高温への

適応性を欠いていると考えられていました。しかし、これらの有尾両生類がどのような高温センサーを使い、外界の温度を感知しているのかについては全く調べられていませんでした。そこで私たちは、メキシコの涼冷な高原湖原産のアホロートル（ウーパールーパー）、スペインなどに生息するイペリアトゲイモリ、滋賀県長浜市に

も分布するヤマトサンショウウオ、山地の溪流に棲むハコネサンショウウオ、これら4種のTRPV1の温度応答性を調べました（写真提供：自然写真家・関慎太郎）。



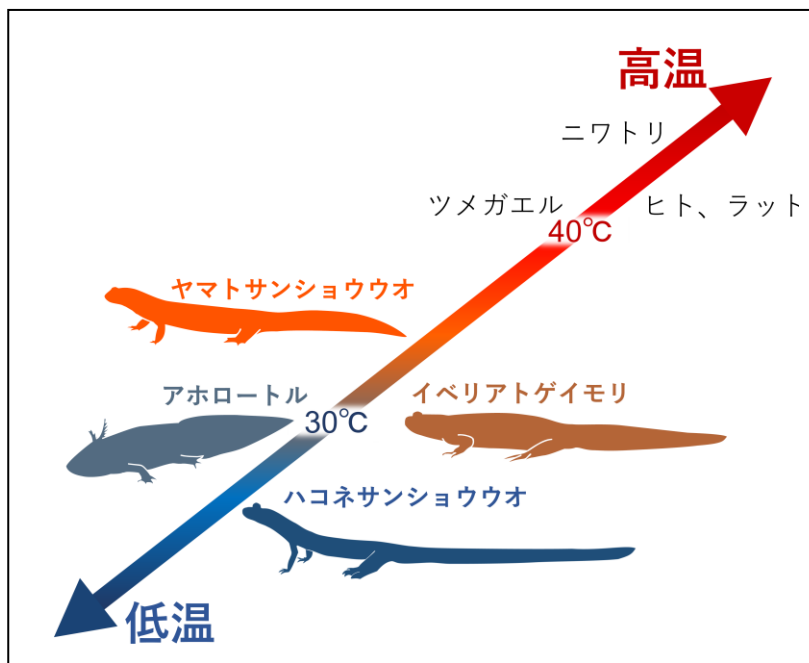
## ❖ 研究成果

＜有尾両生類は何℃から熱いと感じるか＞

研究グループは、まず4種の有尾両生類が、何℃から高温を嫌がるのか、その忌避温度を調べました。他の多くの動物の忌避温度は43℃くらいですが、私たちが調べた有尾両生類の忌避温度は、全て明らかに低く、特に最も低温の山地溪流に棲むハコネサンショウウオの忌避温度が最も低いことが分かりました。

＜有尾両生類の高温センサーTRPV1は30℃前後で活性化する＞

そこで、このような有尾両生類の低い温度での高温忌避行動が、どのような仕組みで起こるのか、動物の主要な高温センサーであるTRPV1の性質を調べました。クローニングして解析すると、4種の有尾両生類のTRPV1は、いずれも活性化温度がかなり低く30℃前後であることが示されました。多くの動物のTRPV1は43℃から反応する為、この温度では全く活性化されません。この結果は、低温を好み涼冷地域に生息するという有尾両生類の生態を良く説明しています。

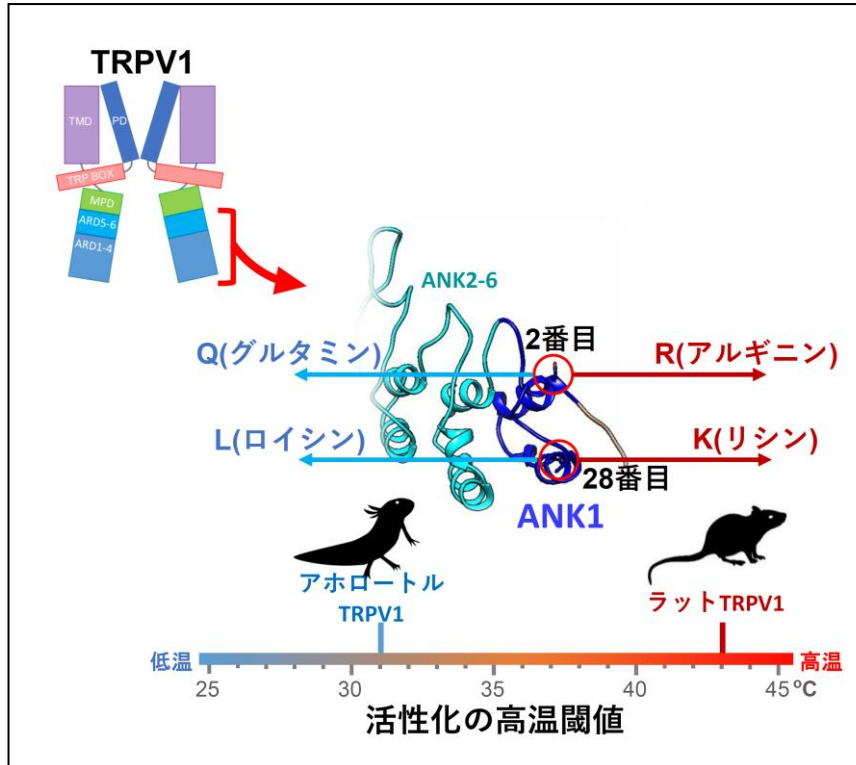


＜TRPV1の活性化温度はN端のANK1の2番目と28番目のアミノ酸残基が決める＞

次に有尾両生類のTRPV1が、チャネル分子のどの部位が原因で30℃前後で活性化されるようになっているのかを詳しく調べました。TRPV1分子には、N端側に6個のアンキリンリピート、C端側にチャネルを形成する6個の膜貫通領域があります。活性化温度を変化させる原因部位を探索する実験を進めていった結果、N末側の1個目のアンキリンリピート(ANK1)内の2番目と28番目のアミノ酸残基が重要であることを突き止めました。

この二つの部位のアミノ酸残基は、有尾両生類のTRPV1ではQ(グルタミン)とL(ロイシン)またはV(バリン)であり、一方、ラットなどの多くの動物のTRPV1ではR(アルギニン)とK(リジン)になっています。まず、

アホロートルの TRPV1 を用いて、この2か所のアミノ酸残基をラット型の R と K に交換すると、活性化温度が 40°C 近くまで大きく上昇し、ラット型温度特性に変化することが分かりました。その上、43°C 以上で活性化するラット TRPV1 の同じ ANK1 内の 2 番目と 28 番目のアミノ酸 R と K を逆にアホロートル型の Q と L に変化させると、今度は活性化温度が大きく低下しアホロートル型温度特性に変化することが判明しました。

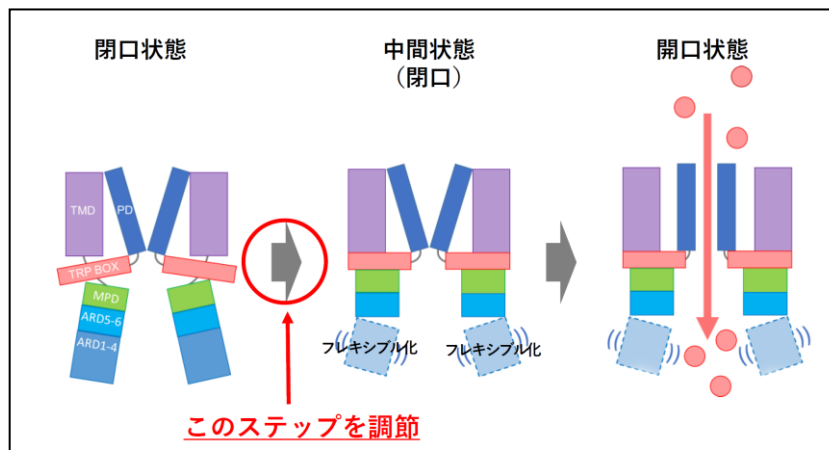


しかもこの仕組みは、有尾両生類共通であり、イベリアトゲイモリ・ヤマトサンショウウオ・ハコネサンショウウオいずれの TRPV1 も、同じ ANK1 内の 2 番目と 28 番目のアミノ酸残基をラット型の R と K に変化させると、アホロートル TRPV1 の結果と同じ様に活性化温度が大きく上昇し、ラット型温度特性に変化しました。つまり、高温を嫌う有尾両生類とラットの TRPV1 は大きくその活性化温度が違い、有尾両生類は 30°C 前後から、ラットは 43°C から活性化されますが、この違いは N 末近傍にあるたった 2 個のアミノ酸残基の違いにより起こっていることが判明しました。

<TRPV1 の N 端 ANK1 の 2 か所のアミノ酸残基が活性化温度を決める仕組み>

次に、研究グループは、TRPV1 の ANK1 の 2 番目と 28 番目のアミノ酸の選択だけで、どのようにして活性化温度が大きく変わるのか、その機構解明に取り組みました。

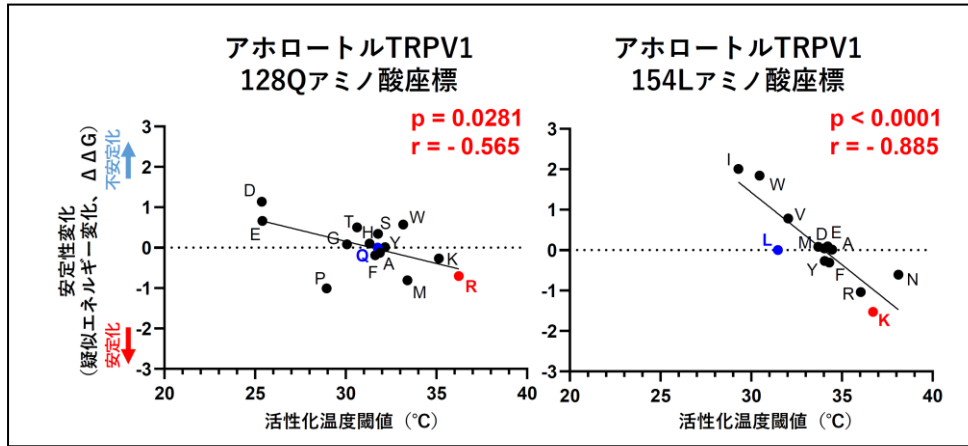
最近、ラット TRPV1 のクライオ電子顕微鏡像から立体構造と高温活性化のモデルが示されていました (Nature Struct.Mol.Biol.28:554,2021)。主張された高温活性化モデルでは、TRPV1 は閉じた状態から中間状態を経て開口状態へと遷移すると仮定されています。このモデルでは、まず閉じた状態からの第一ステップで、温度上昇により N 端のアンキリンリピート部で構造をとらなくなるフレキシブル化が起こり、更に N 端の基部が回転して中間状態となります。



次に中間状態から開口までの第二ステップでは、外側のイオン透過路が再配置し、更に第6膜貫通域とその周辺のヘリックスが再配置することでゲートが開き、開口状態となると主張されました。このモデルに従うと、本研究で見出した ANK1 の点変異は N 端のフレキシブル化 に影響を与え、高温活性化の初期過程の起こり易さを変化させることで活性化温度を変えるのだと考えられます。

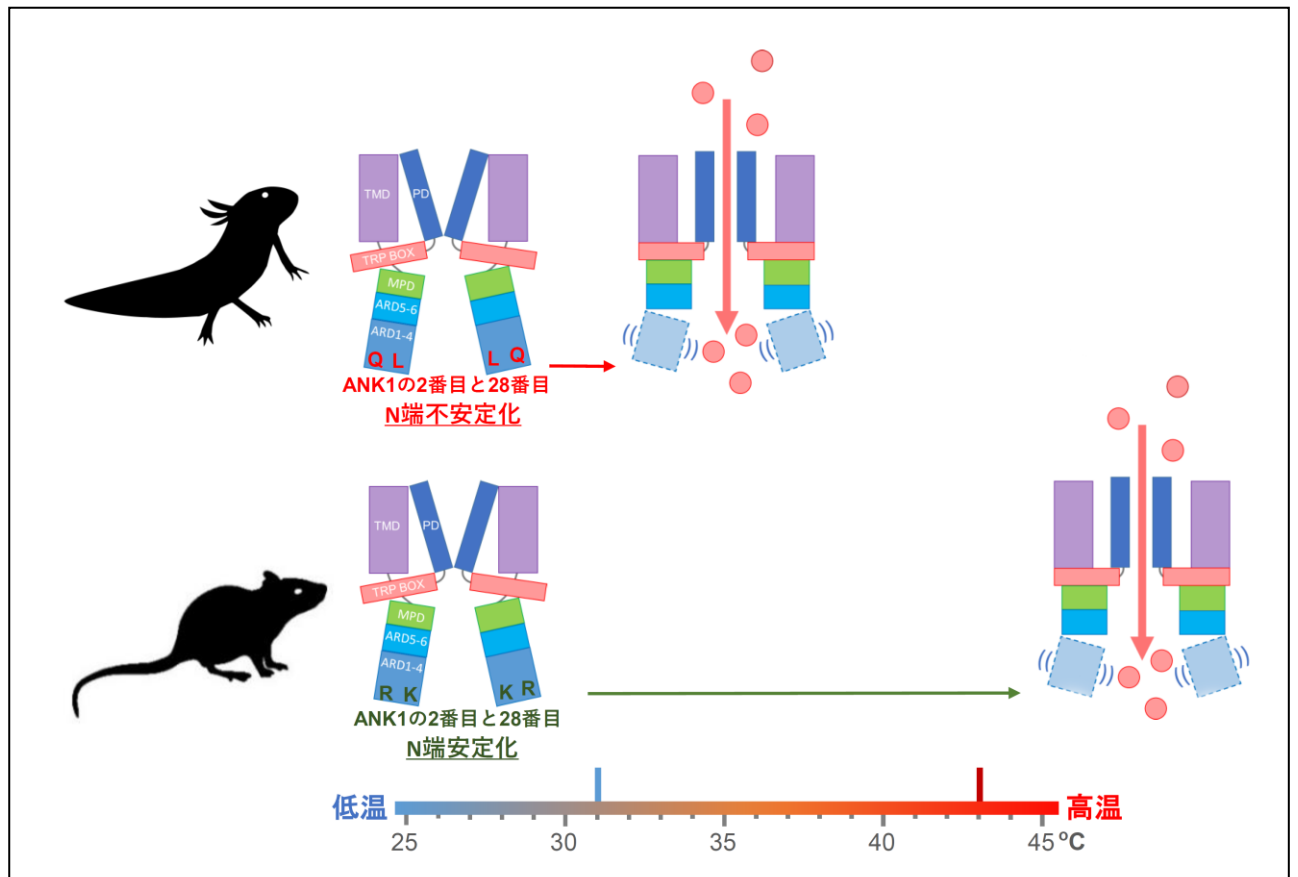
そこで、構造の安定性と同定した2点のアミノ酸変異の関係を知る為、既に決定されたラット TRPV1 の立体構造か

アホロートル TRPV1 の構造を予想し、その構造から ANK1 の 2 番目と 28 番目のアミノ酸残基を変えた場合の安定性変化を PC 上で計算し、更に実際の各アホロートル TRPV1 変異体の活性化温度を実験的に計測しました。すると、アミノ酸変異で N 末構造が安定化すると活性化温度は上がり、不安定化すると活性化温度が下がる、という関係が示されました。



それでは、TRPV1 の N 端部は ANK1 の 2 番目と 28 番目のアミノ酸残基の選択だけで、本当にタンパク質レベルで熱安定性が変化するのか、実際にラット TRPV1 の N 端部のタンパク質の組換えタンパク質を作り、これら 2 点のアミノ酸残基をアホロートル

型の Q と L にした場合に、安定性がどう変化するのか解析しました。結果、ラット TRPV1 の N 端タンパク質は、やはりこれら 2 点の変異だけで顕著に熱安定性が低下しました。つまり、有尾両生類で見つかった TRPV1 の 2 か所のアミノ酸変異部は、N 端の熱安定性を決定する重要な部位であることが明らかになりました。



このように私たちは、ANK1 の 2 番目と 28 番目の 2 点の座標が TRPV1 チャンネルの N 端の安定性を支配し、これにより、「高温センサー TRPV1 の開き易さが変わり、何°C で開口するか」が決まっていることを世界で初めて明らかにしました。そして、この部位への変異の獲得が、涼しい環境を好む有尾両生類の低温生息地選択と適応に大きく寄与していると考えられました。

❖ **この研究の社会的意義**

近年、温暖化により暑くなる日が増えています。この温暖化により多くの両生類が数を減らしていますが、特に涼しい環境に棲むサンショウウオなどの有尾両生類は大きな影響を受けていると考えられます。これらの動物がどのような仕組みで外界温度を感じているのかを知ることは、温暖化による動物への真の影響を理解し、予測し、そして種の保全につなげてゆく為の有益な情報になります。

また、本研究の対象である高温センサーの TRPV1 は、ヒトにも共通な“痛みのセンサー”でもあります。その為、本研究のような TRPV1 の活性化の仕組みや、その感受性の変化が起きる仕組みを明らかにすることは、ヒトの神経障害性など様々な「痛み」に関係した疾患の治療や新薬開発、更に遺伝マーカーの開発に繋がる突破口になる可能性があります。

❖ **研究グループ・論文情報**

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部  
齊藤修 教授、白井剛 教授、堀翔悟 助手  
自然科学研究機構・生理学研究所  
久保義弘 教授、立山充博 准教授

**Nature Communications**

**Two Single-Point mutations in Ankyrin Repeat One Drastically Change the Threshold Temperature of TRPV1**

**Shogo Hori, Michihiro Tateyama, Tsuyoshi Shirai, Yoshihiro Kubo and Osamu Saitoh**

DOI : 10.1038/s41467-023-38051-1

URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-38051-1>

❖ **本件に関する問い合わせ先**

<研究に関すること>

長浜バイオ大学 アニマルバイオサイエンス学科  
教授 齊藤 修 (サイトウ オサム)

TEL: (研究室) 0749-64-8165 (携帯) 090-2402-2382 E-mail: o\_saito@nagahama-i-bio. ac. jp

<報道に関すること>

長浜バイオ大学 アドミッション・オフィス 広報担当

TEL: 0749-64-8100 (代) FAX: 0749-64-8140 E-mail: kouhou@nagahama-i-bio. ac. jp

自然科学研究機構 生理学研究所 研究力強化戦略室

TEL: 0564-55-7722 FAX: 0564-55-7721 E-mail: pub-adm@nips. ac. jp