

細胞内カルシウム濃度の変化を検出する 新たなバイオセンサーを開発

血中生理活性物質の測定や創薬開発の迅速化に貢献

【発表のポイント】

- 細胞内カルシウムイオン濃度の上昇に応じて発光量が減少するバイオセンサー（CalLuc-2.1）を開発しました。
- CalLuc-2.1 を用いることで、従来の手法と比較して、特別な計測機器を用いることなく、CalLuc-2.1 と GPCR^{注1} を発現する細胞にリガンドを添加するだけで簡便に細胞内カルシウムイオンの上昇を検出できました。
- GPCR の結合因子である生理活性物質（リガンド^{注2}）の血清濃度の測定や、ハイスループットスクリーニング^{注3} に応用可能であることを実証しました。

【概要】

G タンパク質共役型受容体（GPCR）は、ホルモンや神経伝達物質などの刺激を受け取り、細胞内へ情報を伝える膜タンパク質です。GPCR の情報伝達の主要な経路として、三量体 G タンパク質^{注4} を介した細胞内カルシウムイオン（Ca²⁺）の濃度上昇があり、神経伝達物質の分泌や筋肉の収縮など多様な生命現象を制御します。しかし、この細胞内 Ca²⁺濃度の変化は数秒から数十秒の短時間で起こるため、細胞内 Ca²⁺応答の計測には特殊な測定機器が必要でした。

東北大学大学院薬学研究科博士課程 土居耕介 大学院生（研究当時、兼ヤマサ醤油株式会社研究員）と、東北大学大学院薬学研究科 井上飛鳥教授（兼京都大学大学院薬学研究科 教授）らの研究グループは、ホタル由来の発光タンパク質ルシフェラーゼ^{注5} を改変した新しいバイオセンサー^{注6}（CalLuc-2.1 と命名）を開発しました。このバイオセンサーは、短時間で起こる細胞内 Ca²⁺濃度の変化を数十分間持続する発光シグナルへと変換する性質を有しており、汎用の測定機器に適用可能な有用なツールであることがわかりました。

本研究成果は、2026年3月29日に学術誌 Communications Biology に掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

Gタンパク質共役型受容体（GPCR）は、7つの膜貫通構造を持つ膜タンパク質であり、ホルモンや神経伝達物質などの細胞外刺激を細胞内シグナルへと変換します。GPCRの下流では、 G_s 、 $G_{i/o}$ 、 $G_{q/11}$ 、 $G_{12/13}$ の4つのサブファミリーに分類される三量体Gタンパク質が情報伝達を担っています。

この中でも $G_{q/11}$ は、細胞内のカルシウムイオン（ Ca^{2+} ）濃度を上昇させることで、分泌や細胞収縮など多様な生理現象を制御しています。細胞内 Ca^{2+} の変化は、 $G_{q/11}$ 共役 GPCR の機能解析に広く用いられてきました。従来は、 Ca^{2+} と結合して蛍光を発するカルシウムインジケータ^{注7}を用いた解析が一般的でしたが、 Ca^{2+} 濃度の上昇は刺激後すぐに起こり、数秒から数十秒の短時間で元の状態に戻るため、刺激と同時に計測を行う必要がありました。そのため、マイクロピペット^{注8}付きプレートリーダー^{注9}などの特殊な測定機器が必要であり、より簡便に Ca^{2+} を測定できる新たな手法の開発が求められていました。

今回の取り組み

本研究では、ホタル由来の発光タンパク質であるルシフェラーゼを二つの断片に分割し、 Ca^{2+} と結合することで大きな構造変化を起こす Ca^{2+} 結合ドメインと組み合わせた新規バイオセンサーを9種類設計しました。

これらのバイオセンサーと GPCR を発現させた HEK293 細胞^{注10} にリガンドを添加したところ、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に応答して発光量が減少し、この変化が数十分にわたり持続することが確認され、その中でも最も強く反応するバイオセンサーを、CaLuc-2.1 と命名しました（図1, 2）。また、CaLuc-2.1 を用いた細胞内 Ca^{2+} 濃度の計測は、ピペット付きプレートリーダーではなく、一般的な発光プレートリーダーで実施可能でした（図3）。

さらに、CaLuc-2.1 の応用可能性を検討するため、血清中に含まれるリガンドの検出を試みました。血清中には、目的とするリガンド以外にも様々な物質が含まれており、細胞内の様々なシグナル伝達経路を活性化してしまうため、血清中のリガンドの評価には障壁がありました。CaLuc-2.1 とリゾホスファジン酸（LPA）^{注11} 受容体を発現させた細胞に血清を添加した結果、血清中の LPA に由来するシグナルを検出することに成功しました（図4）。また、創薬研究で重要なハイスループットスクリーニングへの適合性を評価したところ、評価指標である Z'ファクター^{注12} が 0.9 以上と高い値を示しました（図5）。

今後の展開

本研究で開発した CaLuc-2.1 を用いることで、特別な測定機器を用いることなく、従来法に比べて簡便に細胞内 Ca^{2+} の変化を検出できるようになります。本技術は、GPCR を介したシグナル伝達研究の新たな解析ツールとしての活用

が期待されます。

さらに、細胞内 cAMP^{注13}濃度を計測するバイオセンサーは既に体外診断用医薬品^{注14}として社会実装されており、CaLuc-2.1 も血清中のリガンドの活性測定に応用できる点から体外診断用医薬品への展開が期待されます。また、ハイスループットスクリーニングへの適合性の高さから、創薬研究への応用も期待されます。

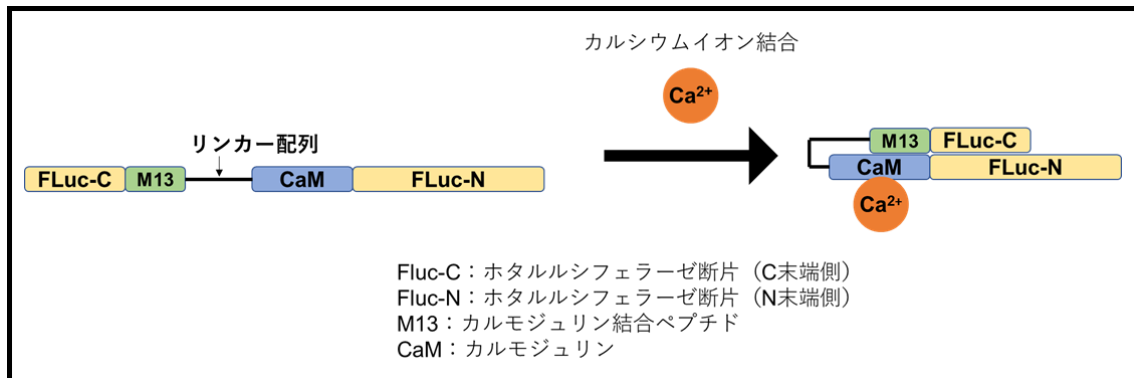


図 1. CaLuc-2.1 の模式図

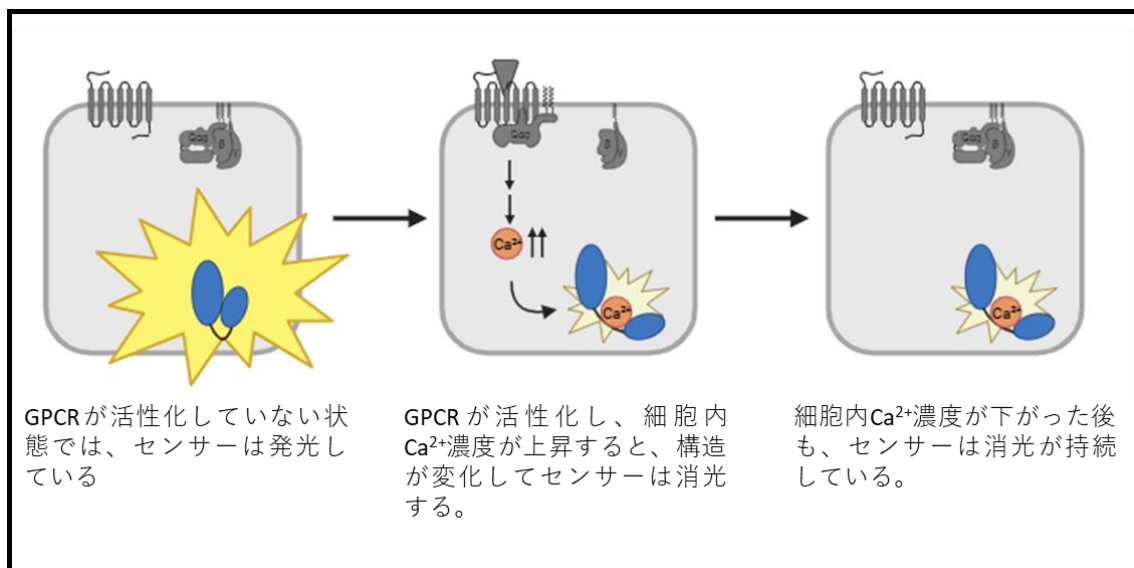


図 2. CaLuc-2.1 を用いた測定原理の模式図

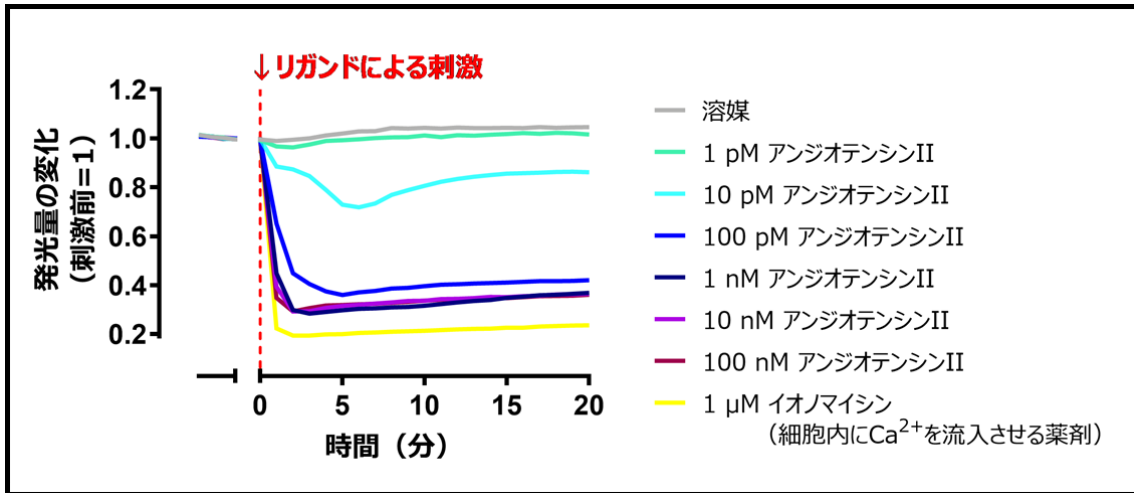


図 3. リガンド刺激後の発光量の変化

CalLuc-2.1 とアンジオテンシン II 受容体を発現する細胞を、リガンド（アンジオテンシン II）で刺激した際の発光量の変化を表す。アンジオテンシン II 濃度が高いほど、変化量は大きくなる。

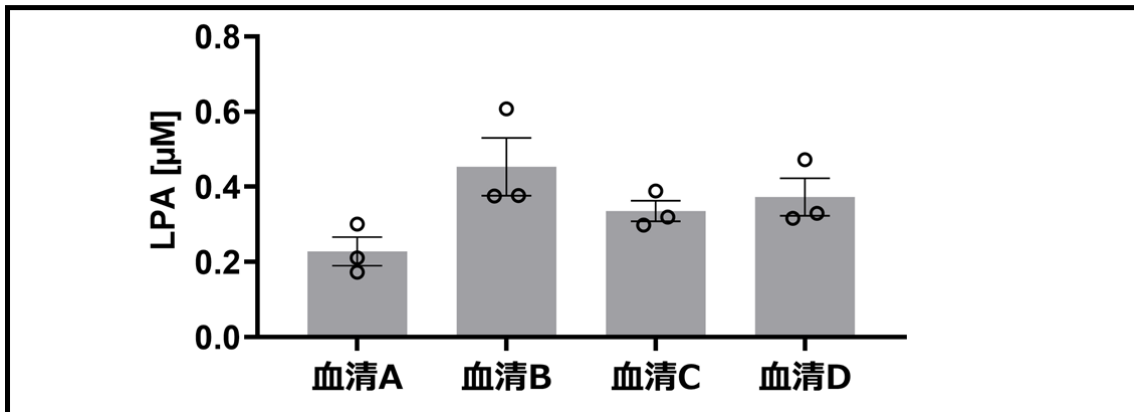


図 4. 血清中の LPA の測定結果

CalLuc-2.1 と LPA 受容体を発現する細胞を用いて、血清中に含まれる LPA を定量した結果を表す。合成 LPA を用いて検量線を作成し、LPA を定量した。

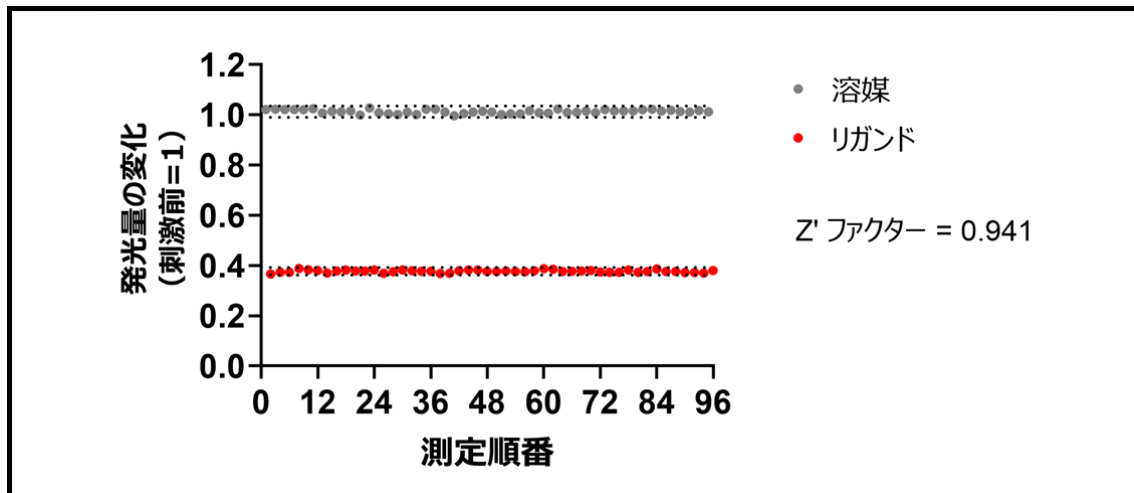


図 5. Z'ファクターの算出

CalLuc-2.1 とアンジオテンシン II 受容体を発現する細胞を用いて、Z'ファクターを算出した。96 ウェルプレートの奇数列には溶媒を添加し、偶数列にはリガンドを添加した。

【謝辞】

本研究は、「文部科学省科学研究費補助金（課題番号：JP21H04791 JP24K21281、JP25H01016）」「科学技術振興機構（JST）創発的研究支援事業（課題番号: JPMJFR215T、JPMJMS2023）」、日本医療研究開発機構創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（JP22ama121038、JP22zf0127007）を始めとする様々な研究費支援を受けて実施されました。本論文は『東北大学2025年度オープンアクセス推進のためのAPC支援事業』の支援を受け、Open Access となっています。

【用語説明】

注1. Gタンパク質共役型受容体（GPCR）

細胞膜表面に存在する受容体タンパク質であり、細胞膜を7回貫通する特徴的な構造を持つ。細胞外に存在する特定のリガンドと結合することで細胞内に情報伝達を導く。

注2. リガンド

GPCR に特異的に結合する分子であり、GPCR を活性化して細胞内シグナルを伝達する。ホルモン、神経伝達物質などがリガンドとして機能する。

注3. ハイスループットスクリーニング

多数の化合物や資料を短時間で一括して評価する実験手法。創薬研究などで有望な候補物質を探索するために用いられる。

注4. 三量体 G タンパク質

$G\alpha$ 、 $G\beta$ 、 $G\gamma$ からなるヘテロ三量体 G タンパク質であり、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) の下流で働くシグナル伝達分子。GTP との結合およびその加水分解を通じて、細胞内シグナルのオン・オフを制御する。

注5. バイオセンサー

タンパク質、核酸などの生体成分 (バイオ) を改変して特定の物質を検知するツール

注6. ルシフェラーゼ

ホタルなどが光る際に利用している酵素で、基質 (D-ルシフェリン) と反応することで発光する性質を持つタンパク質。

注7. カルシウムインジケーター

Ca^{2+} と結合することで蛍光特性 (蛍光強度や波長) が変化するため、細胞内 Ca^{2+} の濃度を測定するために使用される化学物質。

注8. マイクロピペット

生化学実験などで少量の液体を量り取るときに用いる器具。

注9. プレートリーダー

多数の小さな穴 (ウェル) を持つプレート (96 ウェルプレート、384 ウェルプレートなど) 上の液体サンプルに対し、吸光度、蛍光強度、発光強度などを一度に同時測定できる実験装置

注10. HEK293 細胞

ヒト由来の培養細胞株で、遺伝子導入が容易なことから、生命科学研究や創薬研究で広く利用されている。

注11. リゾホスファチジン酸

生体内に存在する脂質の一種で、細胞表面の受容体を介してシグナルを伝えるリガンドとして働く。

注12. Z'ファクター

ハイスループットスクリーニングにおいて、測定系の信頼性や再現性を評価する指標。最大値を1として値が高いほど優れた測定系であることを示す。

注13. cAMP

サイクリックアデノシンモノリン酸の略称。細胞内でシグナル伝達に用いられる物質（セカンドメッセンジャー）の1種。

注14. 体外診断用医薬品

人に由来する試料（血清、血漿、尿など）を検体とし、検体中に含まれる物質を検出または測定することにより、疾病の診断に使用することが目的とされているもの。

【論文情報】

タイトル：A luminescent calcium biosensor enabling endpoint measurement of GPCR-mediated calcium signaling

（日本語訳：GPCR 下流のカルシウム応答をエンドポイント計測可能な発光カルシウムバイオセンサーの開発）

著者：Kosuke Doi^{1,2}, Ryoji Kise^{2,3}, Kota Shimizume^{2,3}, Masataka Yanagawa^{2,3,4}, Asuka Inoue^{2,3*}

1. ヤマサ醤油株式会社 診断薬事業部 診断薬基礎開発室
2. 東北大学大学院 薬学研究科
3. 京都大学大学院 薬学研究科
4. 理化学研究所 開拓研究本部 細胞情報研究室

*責任著者：東北大学 大学院薬学研究科 教授（京都大学 大学院薬学研究科 教授兼任）井上飛鳥

掲載誌：Communications Biology

DOI： <https://doi.org/10.1038/s42003-026-09920-4>

URL： <https://www.nature.com/articles/s42003-026-09920-4>