

# 脳の先へ：非神経オプトジェネティクス

バーバラ・ゲフェルト

オプトジェネティクスの恩恵を受ける分野は神経科学だけではない。さらに、細胞内構造やシグナル経路との相互作用が光によって可能になり、課題を克服して長年の疑問に答えられることを、細胞生物学者や発生生物学者は見出している。

オプトジェネティクスについて考えることは珍しくなくなった。オプトジェネティクスとは、コードされた遺伝子によって細胞活性を制御する光アプリケーションであり、神経科学の技術である。事実、オプトジェネティクスは神経科学研究のために開発され、オプトジェネティクスのパイオニアである米スタンフォード大(Stanford University)のカル・ダイセロス氏(Karl Deisseroth)と米マサチューセッツ工科大(Massachusetts Institute of Technology)のエド・ボイデン氏(Ed Boyden)は、この領域で研究している。彼らのラボあるいは他の場所の研究者らは、光感受性のイオンチャネルを発現する遺伝子の活性化によってマウスの行動に影響を与えるという実験で、この技術を証明してきた。対象となる細胞が遺伝的にコードされた分子を発現すると、特定の生物学的過程を高い精度で制御できる<sup>(1)</sup>。

しかしながら、そのような制御は神経細胞に限ったことではない。細胞内構造やシグナル経路と相互作用できるという大きな可能性を認識しているのは、神経科学者だけではないことがわかってきた。オプトジェネティクスにおいて、新しく急速に伸びている方向性として、非神経細胞で機能するものがある。このタイプの研究では、従来の細胞操作法(化学的アプローチや遺伝的「ノックアウト」)は、観察のため

に長時間かかり、可逆的ではない。これに対してオプトジェネティクスは、時空間的に高い精度をもつ。さらに可逆的であり、これはたとえば、タンパク質のオン／オフを切り替えて効果を比較できることを意味する。

このようにオプトジェネティクスは、細胞と全身両方において、形態や構造の発達に影響を及ぼすメカニズム、進行中の活動など、さまざまなレベルにおける分子メカニズムの重要性に関する新たな知見をもたらす。この技術は、意図しない副作用のリスクを抑えながら、複雑なシグナルネットワークの分析を可能にする<sup>(2)</sup>。さらにオプトジェネティクスは、比較的安価に利用できる。

## 異なる細胞には異なるツール

神経細胞のオプトジェネティクスは「チャネルタンパク質」の制御に関わるが、細胞生物学や発生生物学の研究では、細胞シグナルに影響を与える他のプロセスに関わるため、異なるツールボックスが必要となる<sup>(3)</sup>。そのため、非神経オプトジェネティクスにおける研究の多くが、解くべき疑問を解決するために求められる正確な操作を可能にするツールやシステムの開発に集中していたのは驚くべきことではない。

ところで、オプトジェネティクスを使う科学者が「ツール」や「システム」という言葉を口にするときには、一般的に光活性タンパク質を意味する。多

くのジャーナルの論文では、特定の課題を解決するための特定の分子やアプリケーションが報告されており、他方ではこれらの手段の発展が要約されている。そして近年では、光活性ツールの開発者であり、細胞生物学者に「比類なき時空間的制御によって細胞の挙動を調べる」ことを約束する米オプトロジックス社(Optologix)と呼ばれるスタートアップが、「初の商業利用な光誘導遺伝子発現システムである」LITE Switch Kitを発表した。

事実、オプトジェネティクスは光学とフォトンクスに依存しているが、これらのツールへの関心は限定的だ。なぜなら、オプトジェネティクスの分子が可視光に感受性がある傾向にあり、発光ダイオード(LED)や低出力で動作するレーザを含む通常の顕微鏡の光源を使って、これらを活性化できるからだ。低倍率の対物では一細胞の刺激が可能であり、高倍率の対物では細胞内領域を活性化するために用いられる。デジタルマイクロミラーデバイス(特定の光パターンを投影するよう個々に制御できるミラー配列)によって、精度よい空間的な制御と、細胞の形状におけるダイナミックな応答変化が可能である<sup>(4)</sup>。

しかし、米プリンストン大(Princeton University)の分子生物学のジャレッド・テットヒャー助教(Jared Toettcher)は、「パターン化された光刺激のためのデジタルマイクロミラーデバイスは高価で、ニッチな製品と見なされている。インキュベータや多様なマルチウェルプレートにマウントできる、安価でロバストな光伝送デバイスを、われわれ

はもっていない」と話す。「これらの光伝送デバイスのほとんどはいまだに、研究をしているラボ内の一品ものだ」。

そして、動き回るマウスの脳内に光を送るためのミニチュアヘッドセットを必要とする神経科学実験とは異なり、オプトジェネティクスベースの細胞生物学では特注のハードウェアを必要としない。

## オープンソースの手法比較

米ライス大 (Rice University) の研究者らは、選択を広げるために別のアイデアをもっている。非神経細胞の手法で適切に利用できる光学ハードウェアが欠けているために、オプトジェネティクスと光生物学の影響が限られたものになっていると彼らは述べる。「オプトジェネティクスのツールのパフォーマンス特性を直接比較するデータはほとんどない」。

そこでライス大の研究チームは、オープンソースで自作のハードウェア/ソフトウェアソリューションを設計している。彼らの産物は、複数の特性(空間的、強度依存的、動的)に基づいて、多様な生物(細菌、酵母、哺乳類の細胞など)で遺伝子発現の出力をもたらすすべての手法を直接かつ定量的に比較する。彼ら自身の実験の設定を用いて、たとえば、ある手法は別の手法に比べて光への感受性が50倍以上低いことを発見した。

システムのうち、Lite Plate Apparatus (LPA) と呼ばれるハードウェアの部分は、それぞれが400ドル以下のコストであるLEDベースのデバイスだ(図1)。消耗品コストは同程度に低い。LPAに24ウェルプレートを取納し、各ウェルに独立した光源の1組をミリ秒分解能で照射する。ユーザーは、Irisというウェブベースのインターフェ

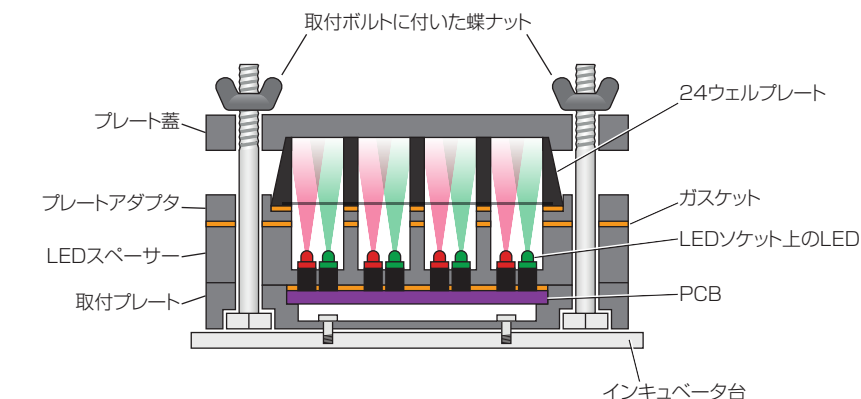


図1 ライス大のチームによる、オープンソースで拡張性のあるLite Plate Apparatus (LPA)の横断面であり、LEDから24ウェル培養プレートへの光路を示す。高価でないプラットフォームであり、非神経細胞のオプトジェネティクス手法の定量的な比較が可能である。(提供: K.P.ゲールハルト(K. P. Gerhardt)ら<sup>(4)</sup>)

スを用いて、シグナルをプログラムする。ここでは310~1510nmにわたる波長と、3ケタに広がる強度を制御できる。拡張性のあるシステムは高スループットであり、非専門家でも1日でLPAの組み立てとキャリブレーションができるチームは話す。ハードウェアもソフトウェアもオープンソースであるため、追加用途に応じて自由に修正、拡張できる。

## 顕微鏡で実現する人々

オプトジェネティクスの初期のアプリケーションは、すでに結果を出している。米カリフォルニア大サンフランシスコ校 (University of California San Francisco) 心血管研究所と生化学・生物物理学部のダグ・ティッシャー氏 (Doug Tischer) とオリオン・ウェイナー氏 (Orion Weiner) は、「この領域は概念実証を超えている。細胞シグナルは時空間的にどう制御されるのかなど、従来のツールでは取り組むのに困難あるいは不可能であった、実際の生物学の疑問を明らかにしている」と説明する。

そしてウェイナー氏によれば、光学とフォトリソグラフィをベースにし、理想的

には自動化された装置がより洗練されて統合されれば、さらに非神経細胞のオプトジェネティクス研究が進むだろう。「蛍光ベースのイメージングプラットフォームと交互に、一連の光入力(時間や強度が変更可能)を指定できるハードウェア/ソフトウェアの高度なシームレス統合はまだない」と彼は述べる。

「実験中に意思決定するようプログラムできれば」顕微鏡法システムはさらによくなるだろうと、ウェイナー氏は付け加える。同氏が望む機器は、次のようなものだ。対象の分子を発現する細胞を検索して活性を読み出す(カーラジオが使えるシグナルをスキャンするように)。そして、適切な標的が見つければ、細胞が反応しうるか判断するための仮の光刺激を試みる。それを評価し、その後システムはプログラムされた実験を実行する。もし反応がなければ、他の候補となるものをスキャンし続け、事前に決めた細胞数が集まるか、試料内の全細胞が多すぎるか反応なしと判断されるまで処理を続ける。

2016年6月に欧州分子生物学研究所 (European Molecular Biology Lab) で5日間開催された、「非神経細胞オプトジェネティクス、細胞シグナ

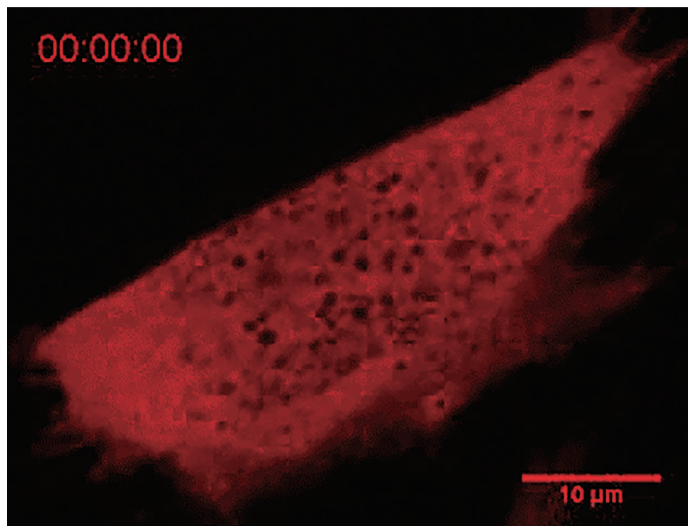


図2 プリンストン大の研究者らは、あるタンパク質がどのようにして機能的に重要な細胞成分に集まるかを解明するために、細胞と相互作用するOptoDropletを設計した。(提供：ブランワイン研究室)

ルと組織形態形成における設計から応用へ」という実践講座では、欧州神経科学研究所 (European Neuroscience Institute) のバレンティナ・エミリアーニ博士 (Valentina Emiliani) が自身の波面工学顕微鏡法チームの研究を紹介した。このチームは、位相変調を用いて光学波面の時空間的工学に基づいた光学技術を開発している。このアプローチは、パワーロスを最小限にし、実験における励起パターンを高速に適応させることを目指し、励起ボリュームの3D描写が可能になるだろう。

## 臨床応用に向けて

プリンストン大で行われ、近年報告された研究に言及すると、テットヒャー助教の同僚である化学・生物工学のクリフォード・ブランワイン助教 (Clifford Brangwynne) は、「これはわれわれが行っている基礎科学であり、細胞の相転移に関する基礎的疑問に答えるものだ」と話す。しかし、究極の目標は大きい。「これらの知見が、健全な細胞がどう機能するかだけでなく、どのように病的になるかも明らかにし、やがては治療できることを望んでいる」<sup>(5)</sup>と述べる。実際、脳を超えて臨

床価値をもたらすアプリケーションが多く現れている (図2)。

さらに、臨床応用に向けて最も素晴らしい進捗のあるオプトジェネティクスペーアの研究が、RST-001だ。RST-001は、網膜色素変性症 (RP) の治療のために、米ウエイン州立大 (Wayne State University) の研究者であるジュオホウ・パン氏 (Zhuo-Hua Pan) がデザインした手法である。パン氏は、ポストングローブメディア発行の『STAT』2016年9月の記事によれば、オプトジェネティクス技術の事実上の起案者ではないかとされている人物だ。パン氏は、視力回復のためにチャンネルロドプシン2を使うという特許を確保した後、米レトロセンス・セラピューティクス社 (RetroSense Therapeutics) という企業にライセンス供与した。レトロセンス社は2016年下期に、製薬会社である米アラガン社 (Allergan) に6000万

ドルの全額現金前払いで買収された。これには、今後起こりうる法的、商業的な目標達成報奨金が含まれる。

RST-001では、網膜神経節細胞に新たな光受容器を作る。2015年8月に、FDAはレトロセンス社の新薬臨床試験 (IND) 開始届を受理し、レトロセンス社は翌年に、RST-001の安全性を評価するフェーズIとIIaの臨床試験が成功したと発表した。アラガン社の総括研究開発官であるデビッド・ニコルソン氏 (David Nicholson) は声明の中で、「RST-001計画と、それによるオプトジェネティクスな遺伝子治療アプローチは、RPを含む多くの網膜疾患で未対応の治療ニーズにおいて、本当のブレイクスルーとなり得るだろう」と述べた。さらに、「アラガン社はまったく新しいアプローチを進展できる見込みがあるために興奮している」と付け加えている。

非神経細胞オプトジェネティクスで臨床応用の可能性があるもう1つの例が、「青色光誘導でペニス勃起を可能にする人工的勃起オプトジェネティック刺激」<sup>(6)</sup>というタイトルの論文の中で詳細に述べられている。

英クリーデンスリサーチ社 (Credence Research) による「オプトジェネティクスのマーケット成長、将来予測と競合分析、2016～2022」という報告によると、世界中でおよそ1000施設がオプトジェネティクス研究を行っており、このうち非神経細胞の試みはわずかな少数に過ぎないという。それでも、この分野には興味深い未来がある。

## 参考文献

- (1) B. Y. Chow and E. S. Boyden, *Sci. Transl. Med.*, 5, 177ps5 (2013).
- (2) K. Zhang and B. Cui, *Trends Biotechnol.*, 33, 2, 92-100 (2015).
- (3) D. Tischer and O. Weiner, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 15, 8, 551-558 (2014).
- (4) K. P. Gerhardt et al., *Sci. Rep.*, 6, 35363 (2016); doi:10.1038/srep35363.
- (5) Y. Shin et al., *Cell*, 168, 1-2, 159-171.e14 (2017).
- (6) T. Kim, M. Folcher, M. Doaud-El Baba, and M. Fussenegger, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 54, 20, 5933-5938 (2015).