

光遺伝学:脳を照射することで驚くべき発見が得られる

サリー・コール・ジョンソン

シングルセル光遺伝学やホログラフィック光遺伝学のような新しい技術により、神経科学者はすべての細胞に独自のコードを与え、脳にホログラムを投射できるようになっている。

光遺伝学は、光学・遺伝子学・ウイルス学を組み合わせたもので、特定の波長に反応するよう遺伝的に改変された脳細胞を、光によって制御できる。動物の脳に光を当てて神経回路を探索し、驚くべき発見をもたらすことで、神経科学に革命をもたらしている。

光遺伝学の基本コンセプトは、自然界に存在する多くの細胞は光に反応し、光で活性化されると荷電イオンが細胞内に流入し、電位差が生じるというものである。

2005年、藻類から単離された光感受性タンパク質で、小さな太陽電池ともいえるオプシンが、脳神経細胞と生体適合性を持つことが発見された。この最初の光遺伝学オプシンであるチャネルロドプシン2(ChR2)は、青色の光に反応して電荷を細胞内に通す。そのため、オプシンDNAをウイルスに挿入して神経細胞に注入すれば、脳細胞はオプシタンパク質をコードするよう「ペイント」され、光に反応するようになる。

光遺伝学のパイオニアの一人でMITの神経光学教授のエド・ボイデン氏(Ed Boyden)は、「光遺伝学の初期には、しばしば既知の事柄を検証するために使われていた」と話す。「しかし、そのような時代は終わり、研究者はますます驚くべき発見をするようになっていく」。

光遺伝学ツールの発展

光遺伝学の黎明期から、特にCRISPR技術による精密なゲノムエンジニアリングが出現したことを考えると、この10年間で光遺伝学のツールは大きく進歩している。

米ペンシルバニア大(University of Pennsylvania)生体工学准教授のブライアン・チャウ氏(Brian Chow)は、「ゲノム編集やRNA技術、より優れたウイルスデリバリー技術、完全な細胞型アトラスなど、遺伝子を標的にした制御を向上するためのあらゆるものが現在利用できるようになってきている」と話す。彼の研究室では、細胞生理学を操作、モニターする光学ツールを開発し、細胞が外部からの合図に反応して意思決定する方法を探索している。

同氏は、「さまざまな分野から多くの発展があり、それを活用できる」と述べる。「今後、そのトリクルダウン効果が見られると思う。例えば私の研究室では、低温電子顕微鏡や、計算機によるタンパク質構造予測におけるイノベーションの恩恵を受け、より優れた光遺伝学のタンパク質ツールを構築している。必要なものがすべて揃っているとは言わないが、今日の光遺伝学ツールは十分に多様で、今ではほとんどの人々が夢見る課題を研究するには十分パワフルだ」。

光遺伝学ツールはすべて天然の光受

容体タンパク質である。そのため、不揃いの菌類や海底で見つかった生物の塩基配列を調べている微生物学者や、こうした生物の光受容体を研究して概日リズムや病原性がどう制御されているかを理解しようとする研究者との議論に、チャウ氏は多くの時間を費やしている。

同氏の研究室では現在、細胞センシングと細胞内生物学、細胞内シグナル伝達の研究に取り組んでいる。「この研究は、この分野を立ち上げた神経科学におけるオプシンや興奮性の研究より数年遅れを取っているが、われわれが問いかけた多くの疑問は細胞内シグナル伝達が介在している」と彼は言う。「興奮性、シグナル伝達、転写やエピジェネティック制御の間には、細胞のダイナミクスを探るための世界が広がっている」。

光遺伝学ツールのフロンティアはまだ残されており、特に生体内ではより深い組織にまで浸透させるため、さらに光ウィンドウに合わせるようツールをレッドシフトする必要があると、チャウ氏は指摘する。

「光線力学的療法や分子イメージングに関わる多くの人から言われたのは、生物学的発色団のレッドシフトは赤外線(IR)の他の光学技術と比較してまだ波長が短く、われわれが光遺伝学で可能と考えているよりもさらに深

い組織に他の光学技術は作用するということだ」と、同氏は話す。「より深い組織に到達するにはどのような方法があるか、というフロンティアがまだ残っている。光学的な方法か、他の電磁放射の形式か、生体内での外科的なアクセスか。技術的な観点から、ここには大きな需要がある」。

チャウ氏の研究室はIRにまで挑もうとしているが、光遺伝学の課題の1つは、発色団とタンパク質が天然由来であるということだ。「生物システムが使う光の帯域は、近赤外線から紫外線(UV)までとかなり限定されている」と、同氏は説明する。「近赤外線とは、720nm以下の遠赤外線のことであり、医療用イメージングで近赤外線について話すときには、1000nmに近い、より波長の長いレーザーラインを考えることになる」。

ここでの課題は、利用できる光受容体がほとんどなく、自然界に存在する光受容体は哺乳類の体に内在するものではないということだ。チャウ氏は、「これは、理論的には近赤外線を非常に効率よく吸収するタンパク質を細胞内で発現させることになる。しかし、そのタンパク質のほとんどは可視光外か、光学的に不活性である」と話す。

こうした問題をよりよく理解するため、チャウ氏の研究室では、補因子がどのようにタンパク質に取り込まれて結合するか、その基本的なプロセスを探っている。そして、多くのタンパク質が見えるよう改善しようとしている。

また、天然の補因子に限定する必要があるかどうかにも関心を持っており、哺乳類由来以外の補因子を結合させる実験も行っている。「遷移金属錯体でできた本物の補因子が近赤外であれば、生物の有機的な補因子よりもはるかに遠くまで、シャープな吸収帯で

到達できることは想像できる。スペクトルの多重化にはまだ困難があるものの、これは貴重になるだろう」と、彼は付け加える。

新しいモダリティもある。チャウ氏の研究室では近年、青色光に反応するタンパク質を発見し、驚くべき温度応答性を示すことがわかった。光と熱を結びつけることができるというわけだ。

現在、青色光を使わずに、このプローブの温度応答性だけを頼りにできないか考えている。「ペンシルベニア大のルカシュ・ブガイ氏(Lukasz Bugaj)の研究室の共同研究者とともに、組織深部まで到達するために現在取り組んでいる最も有望な方法の1つだろう」と、話している。

この分野には、他にも有望なアイデアがある。例えばソノルミネッセンスは、ほとんどの光受容体が吸収する青色を発光する。ソノルミネッセンスは超音波によって発生するので、真に深いところまで到達すると想像できる。「もう1つのコンセプトは、ナノ粒子をアップコンバートして赤外線まで近づけることである」と、付け足す。「これらのアプローチはすべて有望そうだが、われわれの研究室ですべてに取り組むには1日の時間が足りない」。

チャウ氏は、高出力の発光ダイオード(LED)のコモディティ化、コスト効率、スペクトル範囲の拡大が、過去10年間においていかに重要だったかを強調する。「顕微鏡や分光光度計の励起性能を拡張したり、実験のニーズに合わせてカスタマイズした光電子工学ハードウェアを構築したりすること、特に低コストの3Dプリンターで光メカニクスを作ることが、はるかに容易になっている」と話す。「非常にシンプルだが、大きな可能性を秘めている。例えば、われわれと共同研究者は、低

コストでマルチモードのプレートリーダーや、検出器一体型の96ウェルプレート照明器を作成したが、すべて学生の主導によるものだ」。

シングルセル光遺伝学とホログラフィック光遺伝学

仏視覚研究所(Institut de la Vision)のヴァレンティーナ・エミリアーニ氏(Valentina Emiliani)が先駆けて開発した二光子レーザーアプローチをシングルセルに用いて、すべての細胞にそれぞれ独自のコードを与え、脳にホログラムを投影する研究チームが増えている。

ボイデン氏は、「研究者はしばしば、光遺伝学の研究を用いて全細胞を同じ方法で駆動させようとするが、実際の生きている脳ではそのようにならない」と指摘する。「ホログラフィック光遺伝学は、脳がどのように機能するかという点に近づけることができるため、非常にエキサイティングだ。まだ初期の段階だが、どのようになるかご覧いただきたい」。

米ジョンズ・ホプキンス大(Johns Hopkins University)のパトリック・カーノルト氏(Patrick Kanold)の研究室では、音の経験が後の音知覚をどのように形成するかについて研究している(図)。また、光遺伝学で細胞の活動を変化させることができることと、ホログラフィによって光を正確に形作ることができることを組み合わせることで、行動中の動物内で識別されたシングルセルの活動を操作できる。

生体医学の教授であるカーノルト氏は、「行動中のマウスのニューロン群を刺激し、その動物の知覚を変えることができるかを確認することで、『神経コードを解読』できる」と話す。「それにより、ニューロン群の活動と知覚をリンクさせることができ、経験の変化が

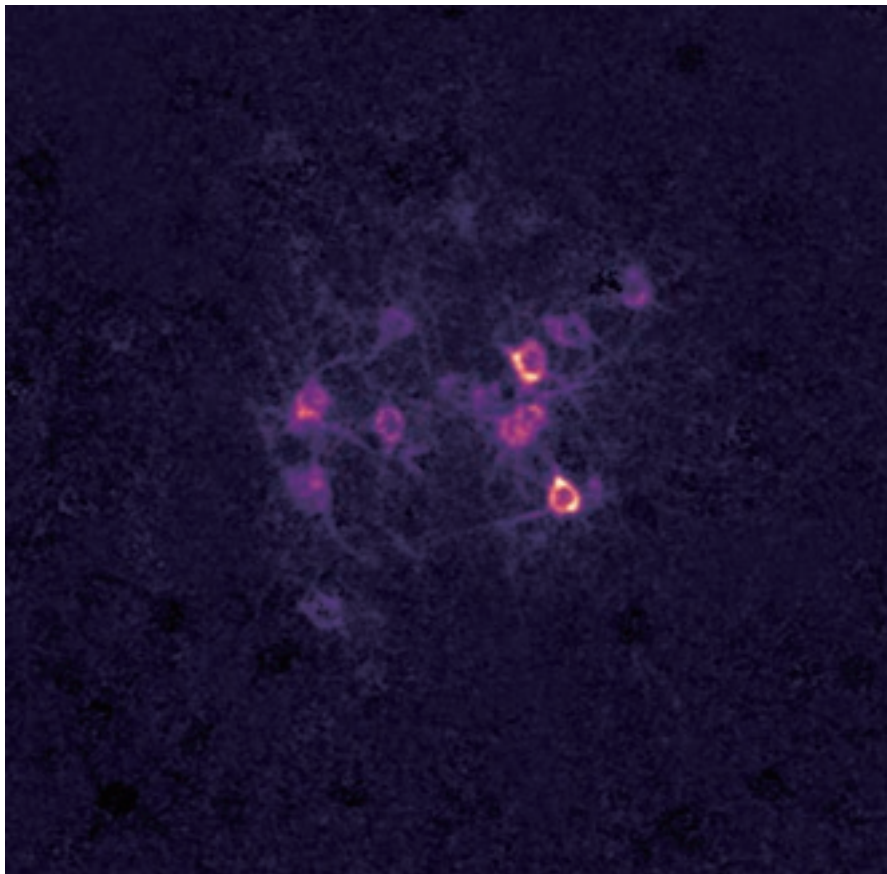


図 大人の聴覚皮質において、光で活性化するイオンチャンネルChRmineを発現する神経細胞集団に対する光刺激。

この『コード』をどう変化させるかを調べることができる。例えば、特定の音の経験の後で、知覚を呼び起こすために刺激が必要なニューロンのセットがどう変わるか、といったことがある」。

逆光遺伝学？

神経科学の聖杯の1つは光遺伝学の逆方向の構築、つまり光を用いてニューロンの電圧を測定することである。これは米ボストン大(Boston University)の研究者が取り組んでいるものだ。彼らは脳の電圧を赤色光で画像化し、脳のニューロンを青色光で制御できることを示している。

同大の生体医工学教授であるシュエ・ハン氏(Xue Han)は近年、変異した光遺伝学タンパク質SomArchonを

蛍光の電圧シンジケータとして用いた研究を主導した。覚醒中のマウス脳に赤色光を照射すると、SomArchonを発現するニューロンでは電圧に比例して赤外光を放出した。この光をカメラで集めることで、多くのニューロンの電圧を同時に画像化できる。これにより、脳のリズムや行動に関連して、異なるニューロンがどのように発火するか観察できる。青色光で駆動する光遺伝学分子CoChRを同じニューロンで発現させることで、青色光で駆動して赤色光で画像化できた。

ボイデン氏は、「私は、すべての光入力・出力戦略の可能性に興味をそそられている」と話す。「脳にプローブを挿入する必要なしに、脳組織のイメージングが可能になるかもしれない。こ

れは、より安定でダメージの少ないアプローチになるだろう」。

光と音でアルツハイマー病に挑む

これまでの光遺伝学による最も驚くべき発見の1つは、リー・フエイ・ツァイ氏(Li-Huei Tsai)によるものである。ツァイ氏は、MITピカワー学習・記憶研究所(Picower Institute for Learning and Memory)のディレクターで、MITの神経科学の教授でもある。2016年、同教授のグループは、ヒトのアルツハイマー病モデルのマウス脳に40Hzのガンマ波を駆動させると、脳が回復し得ることを発見した。また、40Hzで明滅するLED光と、40Hzのトーンパルスという形で音刺激を組み合わせるだけで、光遺伝学を用いずに上記の効果をシミュレートできたという。

ツァイ氏のグループは、光遺伝学を使って40Hzのガンマオシレーションを刺激し、遺伝子改変したニューロンに光を当ててその活動を制御した。これらのニューロンは介在ニューロンとして知られており、ガンマ活性を興奮性ニューロンに拡散させることで同期する。

40Hzで1時間刺激すると、海馬内のβアミロイドタンパク質のレベルが40～50%低下した。興味深いことに、他の周波数で刺激を与えても同様の結果は得られなかった。

つまり、海馬への光刺激は、マウスの脳の視覚野にあるアミロイド斑を大幅に減少させ、アルツハイマー病を一掃させるということだ。

そこで研究者は、これを完全に非侵襲的な技術として使い、人々も助けられないか考えた。これを行うため、40Hzの光と音を組み合わせた脳波ムービーを作成した。「このムービーをマウスが1週間、毎日1時間見ると、アミロイドが減少した」とボイデン氏は

述べる。

この技術は非常に見込みがあるため、ツイ氏とボイデン氏はスタートアップ企業のコグニート・セラピューティクス社 (Cognito Therapeutics) を2016年に立ち上げた。現在、軽度から中等度のアルツハイマー病と診断された患者を対象に複数の大規模臨床試験を実施している。

ボイデン氏は、「現在で最大の難治性疾患の1つを目指すのはエキサイティングだ」と話す。「現在のアルツハイマー病の治療法はすべて症状を改善するだけで、疾患の進行を遅らせたり止めたりするものではない。われわれの非侵襲的なアプローチは、臨床試験をクリアできれば、自宅のできるだろう」。

失明の遺伝子治療

失明の治療も、光遺伝学が驚くべき結果をもたらしている領域であり、現在複数のグループが取り組んでいる。米コーネル大ワイル・メディカル・カレッジ (Weill Medical College of Cornell University) の生理学・生物物理学教授のシーラ・ニーレンバーグ氏 (Sheila Nirenberg) が設立した米バイオニック・サイト社 (Bionic Sight) は、遺伝性疾患である網膜色素変性症の遺伝子治療を研究している。

ニーレンバーグ氏のアプローチは、光遺伝学タンパク質を注入し、神経コードデバイスを用いて活性化させるというものだ。ボイデン氏は、「同氏のグループは、網膜の神経コードの解明

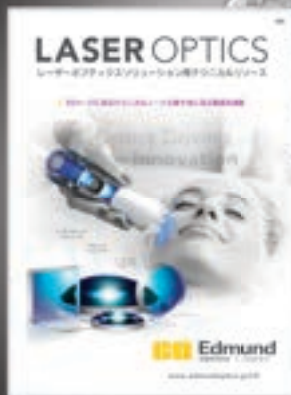
に貢献した。網膜が、見えている世界をシグナルに変換し、われわれの脳が理解できるようにするしくみである」と話す。「同氏らは、われわれのグループが2014年に発見した分子を使用しており、もしこの試みがうまくいけば、さらなる扉が開かれるだろう」と付け加える。

印象的だったことは、臨床研究に参加した全盲、またはほぼ全盲の患者4名が現在、光と動きを見ることができるとのことだ。そのうち2名は動きの方向も検知できている。

「光遺伝学が人間を直接助けることができるか分析している人々を称賛したい。本当に勇気が必要なのだ」と、ボイデン氏は話す。

LFWJ

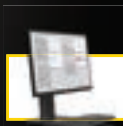
THE FUTURE DEPENDS ON OPTICS™



NEW

2022年度版レーザーオプティクス カタログが完成しました!

2022年、新創刊の全166ページの本カタログは、レーザーオプティクスに特化したテクニカルリソースです。50ページを超えるテクニカルコンテンツ、広範囲に及ぶ製品情報、更には方程式や用語集までも網羅し、複雑なレーザーオプティクスの理解に役立つ情報源として編集されています。



FREE eカタログ デジタル
バージョンもご用意しています!

エドモンド・オプティクス・ジャパン株式会社

〒113-0021 東京都文京区本駒込2-29-24

パシフィックスクエア千石 4F

TEL: 03-3944-6210 E-mail: sales@edmundoptics.jp

EO Edmund
optics | japan

詳しい情報はこちらへ:

www.edmundoptics.jp/092-8155