

光感受性色素メラノプシンを用いた光操作法による局所神経回路の電気生理学的機能解明

Electrophysiological dissection of local neural circuits by optically manipulating neuronal activity with photosensitive melanopsin expression

自然科学研究機構生理学研究所 小泉 周

要旨 (1200 字程度)

光を感じて電気信号に変換する光感受性色素メラノプシン (OPN4) は、もともと哺乳類網膜の神経節細胞 (RGC) の一種、約 1% において見つかったものである。OPN4 は、非哺乳類で見出された光感受性色素であるチャネルロドプシン (ChR2) やハロロドプシン (HaloR) とは異なり、7 回膜貫通型の G タンパク質共役受容体 (GPCR) のため、イオンチャネルとは直結していない。G タンパク質の活性化を介して、TRPC チャネルを活性化させ、Ca²⁺などの陽イオンの流入をおこし、神経細胞を脱分極させる。こうした細胞内メカニズムによる増幅作用もあり、ChR2 や HaloR と比して OPN4 は光感受性が高い。このことから、OPN4 をさまざまな神経細胞群へ遺伝子強制導入し、必要に応じて共役するイオンチャネルも共導入することで、光によって *in vivo* で脳神経機能を制御することが考えられる。

本研究では、RGC や RGC 以外の神経細胞において OPN4 を異所性に発現させ、特定の神経細胞とその局所神経回路の機能を、光によって *in vitro* および *in vivo* で操作する方法の確立を目的とした。そのため、異所性に OPN4 を発現させる遺伝子改変動物 (BitetO-hOPN4-mCherry 遺伝子改変マウス) を開発した。これは、特定のプロモーター活性化下で誘導されるテトラサイクリン・アクティベーター (tTA) 存在下に特定の神経細胞で OPN4 を発現できるものである。この BitetO-hOPN4-mCherry 遺伝子改変マウスと、視床下部の orexin 神経細胞特異的なプロモーター活性の見られる orexin-tTA マウスとを掛け合わせることで、orexin 神経細胞に特異的に OPN4 を発現するダブル遺伝子改変マウスの開発に成功した。このダブル遺伝子改変マウスの脳スライス標本上で、青色光による光刺激を行ったところ、OPN4 の電気応答として特徴的な数十秒持続する活動電位の頻度の上昇がみられた。また、このダブル遺伝子改変マウスの視床下部に対して、光ファイバーによる *in vivo* 光刺激を行ったところ、徐波睡眠 (SWS) 中のマウスを覚醒させることに成功した。さらに、網膜内で視覚情報処理の局所神経回路の起点となる双極細胞に OPN4 を特異的に発現させる

ため、BitetO-hOPN4-mCherry 遺伝子改変マウスと、双極細胞特異的プロモーター下に tTA を発現するマウスを掛け合わせたところ、双極細胞に特異的に OPN4 を発現させることに成功した。今後さらに、このマウス網膜に対して、*in vitro* および *in vivo* での光操作法を適用し、網膜局所神経回路を操作して、網膜視覚情報処理機能の解明を行っていく予定である。