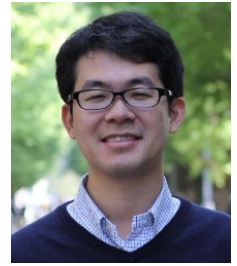


ゲノムの光操作技術の開発

Optical manipulation of the genome

東京大学大学院総合文化研究科 佐藤 守俊



米国スタンフォード大学の Karl Deisseroth 博士の研究グループは、2005 年、緑藻の光受容器官に発現する光駆動型の陽イオンチャネル（チャネルロドプシン）を使って、光刺激で神経細胞の脱分極を引き起こし、神経細胞の活動を光操作することに成功した。以来、チャネルロドプシンは、脳の神経細胞の機能を解明するツールとして利用され、生命現象の光操作に基づく新たな学問分野（オプトジェネティクス）の開拓に繋がっている。しかし、このツールは細胞膜の膜電位の操作にしか利用できないため、その有用性は神経細胞等の興奮性細胞に限定され、それ以外の、いわば生体内で生起するほとんどの生命現象は、この新しい技術や学問の適用外であった。研究代表者は、もしオプトジェネティクスの適用範囲を大幅に拡張し、様々な生命現象を光で自在に操ることができるになれば生命科学は大きく変わると考え、新しい光操作技術の開発を戦略的に行ってきた。

研究代表者が、生命現象の光操作に基づく学問分野を新たに開拓する上で、最も重要と考えて、まず最初に取り組んだのは、汎用性の高い基盤技術の開発である。この目的のために、研究代表者は、アカパンカビの青色光受容体に目をつけ、様々なプロテインエンジニアリングを施して、サイズが非常に小さく、高い光反応性と可逆性を有する青色光スイッチタンパク質“Magnet”を開発した（参考文献 1）。さらに、Magnet をゲノムエンジニアリングツールの CRISPR-Cas9 システムや Cre-loxP システムと組み合わせることで、ゲノムの働きを青色光で操作する様々な技術を開発してきた（参考文献 2）。本研究では、青色光よりも生体組織透過性が高い赤色光でコントロール可能な新たな光スイッチタンパク質“MagRed”を開発した。

MagRed は光操作の基盤技術なので、さまざまな応用が可能である。本研究では、MagRed と CRISPR-Cas9 システムを用いて、赤色光による遺伝子発現の光操作技術（Red-CPTS）を開発した。この技術では、赤色光を照射すると、転写活性化に必要なコンポーネントが標的遺伝子の転写開始点の上流領域に集積し、当該遺伝子の転写を活性化する。光照射をやめると、当該コンポーネントがバラバラになり、標的遺伝子の転写は停止する。このように、赤色光照射の有無によって、標的遺伝子の発現をコントロールできる。しかも Red-CPTS は CRISPR-Cas9 システムを用いているので、ガイド RNA の塩基配列を設計するだけで、ゲノムにコードされたどんな遺伝子でも、その発現を赤色光で操作できる点が非常に使いやすい。本研究では、培養細胞での検証に加えて、Red-CPTS をコードするプラスミドを hydrodynamic tail vein injection 法を用いてマウスの肝臓に遺伝子導入し、生体（*in vivo*）での当該技術の検証を行った。

本研究では、ゲノムにコードされた遺伝子の発現を光刺激で自在に活性化できる技術を開発した。高い時間・空間分解能で、かつ個々の遺伝子レベルで摂動を加えることが可能な本技術を用いることで、生命のメカニズムをさらに深く理解することが可能になると期待される。

【キーワード】 光操作、光スイッチタンパク質、CRISPR-Cas9 システム

【参考文献】

1. F. Kawano, H. Suzuki, A. Furuya and M. Sato, “Engineered pairs of distinct photoswitches for optogenetic control of cellular proteins” *Nature Communications*, 6, 6256 (2015).
2. Y. Nihongaki, F. Kawano, T. Nakajima and M. Sato, “Photoactivatable CRISPR–Cas9 for optogenetic genome editing” *Nature Biotechnology*, 33, 755–760 (2015).