

山中 章弘

名古屋大学環境医学研究所  
教授

## ファイバーレス光遺伝学による高次脳機能を支える本能機能の解明

### § 1. 研究成果の概要

従来の光遺伝学は、生体透過性の低い可視光を用いていたため、脳深部への適用には光ファイバー刺入が必須であり、侵襲と行動制限が避けられなかった。これを解決するために、ランタニドマイクロ粒子(LMP)を用いて、生体透過性の高い近赤外光から可視光を発光させるアップコンバージョン(UPC)発光を利用する。本研究では、近赤外光を体外から照射し、脳深部において可視光を発生させ、その光で特定神経活動操作を行う。そのために、生物物理学と理論科学の協力を得て、既存分子の効率的な改変と新分子の探索を行い、UPC 発光に最適化した分子を作出する。これらの分子を特定神経に発現させ、近赤外光を体外から照射することにより、光ファイバーの接続なしに特定神経活動を操作する低侵襲、自由行動下のファイバーレス光遺伝学を達成する。開発したファイバーレス光遺伝学を視床下部神経細胞に適用し、高次脳機能を支える本能機能として、睡眠時に記憶を消去する神経に着目して生理的意義の解明を目指す。

山中グループでは、報酬に関わる脳領域として知られる腹側被蓋核(VTA)に存在する GABA 作動性神経(VTA-GABA)に、須藤グループが発見した新しい光抑制オプシンである Anion Channelrhodopsin2 (ACR2)を発現させ、この神経がノンレム睡眠調節に重要であることを同定した (Chowdhury et al., *eLife* (2019) 8, e44928)。また、視床下部のメラニン凝集ホルモン産生神経が、レム睡眠時に活動し記憶を消去していることを明らかにした (Izawa et al., *Science* (2019) 365, 1308-1313)。

須藤グループでは、ファイバーレス光遺伝学を支える分子開発と検証を目的に研究を行った。具体的には光受容分子ロドプシンを対象に、新しい分子の単離・同定ならびに機能・構造解析やそれらを基盤とした分子機能の解明および創成を行っている。今年度は、神経抑制型分子としてウィルスロドプシンを世界に先駆け見いだすとともに (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (2019) 116, 20574)、これまでのロドプシンとは分布および膜トポロジーが全く異なる機能未知分子・ヘリオロドプシンを報告した (Biochemistry (2019) 58, 2934)。また、光電子分光 (Mol. Cryst. Liq. Cryst. (2019) 687,

34), 吸収分光と理論計算 (Sci. Rep. (2020) 10, 282: 石北グループとの共同研究), 理論計算 (J. Phys. Chem. B (2020) 124, 990: Editor's choice award, J. Chem. Inf. Model. (2020) in press) を駆使して、ロドプシンの機能・構造の一端を様々な時空間分解能で明らかにした。さらに、アニオンチャンネルロドプシンを用いることで、従来の 1/1000 の光強度で神経抑制を惹起できることを線虫 (Sci. Rep. (2019) 9, 7863: 山中グループとの共同研究) およびマウス個体 (eLife (2019) 8, e44928: 山中グループとの共同研究) で実証した。このように、ファイバーレス遺伝学を支えるロドプシンの機能と性質を次々と解明し、動物個体での実証にも成功していることから、分子開発と検証は順調に進んでいると考えられる。

石北グループでは、「分子の最適化」のためには「原理・機構(メカニズム)の理解」が必要、との観点から、本研究では、タンパク質分子における量子化学的手法(QM/MM)、静電相互作用計算、分子動力学的手法、分子モデリング手法等の理論化学的手法を駆使して、ロドプシンの工学的応用を理論面からサポートした。吸収波長、プロトン・イオン輸送機構に重要なアミノ酸やタンパク質因子を特定するとともに、須藤グループにアミノ酸変異体作成の指針を積極的に提案した。また、ランタニド粒子によるアップコンバージョン機構の理論的解明のため、ランタニド(Yb<sup>3+</sup>)をモデル系として f 軌道のスピン-軌道相互作用を考慮した光励起の理論解析を行った。

#### 【代表的な原著論文】

1. Izawa S, Chowdhury S, Miyazaki T, Mukai Y, Ono D, Inoue R, Ohmura Y, Mizoguchi H, Kimura K, Yoshioka M, Terao A, Kilduff TS, \*Yamanaka A. REM sleep-active MCH neurons are involved in forgetting hippocampus-dependent memories. **Science**, 2019; 365: 1308-1313.
2. Needham DM, Yoshizawa S, Hosaka T, Poirier C, Choi CJ, Hehenberger E, et al. A distinct lineage of giant viruses brings a rhodopsin photosystem to unicellular marine predators. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2019; 116(41): 20574-20583.
3. \*Tamura H, Azumaya K, Ishikita H. Long-range exciton diffusion via singlet revival mechanism” **J Phys Chem Lett** 2019; 10: 7623-7628. doi: 10.1021/acs.jpcllett.9b03029

## § 2. 研究実施体制

### (1)「山中」グループ

- ① 研究代表者:山中 章弘 (名古屋大学環境医学研究所 教授)
- ② 研究項目
  1. 開発:① ファイバーレス光遺伝学開発
  2. 検証:⑥ 機能確認・ウィルスベクター・遺伝子改変動物作成
  3. 適用:⑧ 視床下部神経活動操作による、睡眠覚醒と記憶制御のメカニズム解明

### (2)「須藤」グループ

- ① 主たる共同研究者:須藤 雄気 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科(薬学系) 教授)
- ② 研究項目
  - ・ファイバーレス光遺伝学を支える分子開発と検証
  1. 開発:②既存分子の原理・動作機構の理解、④新規分子の探索・改変
  2. 検証:⑤線虫・培養細胞による機能確認

### (3)「石北」グループ

- ① 主たる共同研究者:石北 央 (東京大学先端科学技術研究センター 教授)
- ② 研究項目
  - ・ファイバーレス光遺伝学を支える分子機構の解明
  1. 吸収波長制御機構解明と長波長化
  2. プロトン移動(光中間体の寿命を制御)・イオン透過機構の解明