

# 研究領域

## 「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用」

### 事後評価（課題評価）結果

#### 1. 研究領域の概要

本研究領域では、光操作技術の開発および応用による生命機能の高度理解と制御を目的とします。

近年、オプトジェネティクスなどの光操作技術の進展により、生命科学研究のあり方が大きく変わろうとしています。これらの技術は、高い時空間分解能での機能制御を特徴とすることから、生命機能の理解に飛躍的な進展をもたらしつつあります。光の特性を活かした生命機能の制御技術は、可逆性・即時性などの他にない技術特性等からも今後は多様な分野への急速な展開が予想されます。

一方で、これらの技術は生命機能の解明に向けて決して万能とは言えません。例えば、光源毒性による生体への影響や因子導入による機能障害、さらには光タンパク質の精密制御など、技術が浸透しつつある現在もなお多数の課題が挙げられています。また、将来の医療応用を見据えた場合、光照射や因子導入の生体侵襲そのものが臨床展開への大きな障害となることは容易に類推できます。

以上のような背景から、本領域では、上記課題を克服する光操作技術の開発とそれらを活用する生命機能の制御動作原理の解明を行います。具体的には、脳・神経、免疫、発生、再生、がんなどの多様な生命現象を対象とし、複雑な生体システムの理解と制御を目指します。

#### 2. 事後評価の概要

##### 2-1. 評価の目的、方法、評価項目及び基準

戦略的創造研究推進事業・CRESTにおける事後評価の目的、方法、評価項目及び基準に沿って実施した。

##### 2-2. 評価対象研究代表者及び研究課題

###### 2018年度採択研究課題

- (1) 小坂田 文隆（名古屋大学大学院創薬科学研究科 准教授）  
神経回路の4次元解析法の開発とサブネットワークの機能解明
- (2) 倉永 英里奈（東北大学大学院生命科学研究科 教授）  
オールオプティカルメカノバイオロジーの創出に向けた技術開発と発生生物学への応用
- (3) 松本 正幸（筑波大学医学医療系 教授）  
光操作技術による基底核ドーパミン回路の機能局在解明と機能再建
- (4) 柚崎 通介（慶應義塾大学医学部 教授）  
光操作によるシナプス可塑性と記憶形成の因果関係の解明

###### 2017年度採択研究課題（1年追加課題）

- (1) 神取 秀樹（名古屋工業大学大学院工学研究科 特別教授）

細胞内二次メッセンジャーの光操作開発と応用

(2) 渡邊 大 (京都大学大学院医学研究科 教授)

自由行動下での神経情報操作・解読技術の開発と意思決定の神経基盤解明への応用

#### 2-3. 課題事後評価会の実施時期

2023年11月22日 (水曜日)

2023年12月 各研究者からの研究報告書に基づき研究総括による書面での事後評価 (1年追加支援課題)

#### 2-4. 評価者

研究総括

影山 龍一郎 理化学研究所脳神経科学研究センター センター長

領域アドバイザー

石井 優 大阪大学大学院医学系研究科/生命機能研究科 教授

伊藤 博康 光産業創成大学院大学 学長/  
浜松ホトニクス (株) 取締役役員室 顧問

狩野 方伸 東京大学大学院医学系研究科 教授/  
帝京大学先端総合研究機構 特任教授

河村 悟 大阪大学 名誉教授

清末 優子 関西医科大学附属生命医学研究所 学長特命教授

小早川 令子 関西医科大学附属生命医学研究所 特命教授

小林 和人 福島県立医科大学医学部附属生体情報伝達研究所 教授

武田 洋幸 京都産業大学生命科学部 教授

永井 健治 大阪大学産業科学研究所 教授

南部 篤 自然科学研究機構生理学研究所生体システム研究部門 教授

濡木 理 東京大学大学院理学系研究科 教授

外部評価者

該当なし

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 神経回路の4次元解析法の開発とサブネットワークの機能解明

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名

研究代表者

小坂田 文隆 (名古屋大学大学院創薬科学研究科 准教授)

主たる共同研究者

磯部 圭佑 (理化学研究所光量子工学研究センター 上級研究員)

3. 事後評価結果

○評点：

A 優れている

○総合評価コメント：

脳内の神経回路は、3次元分布に時間変化が加わることで、4次元的に活動する。神経回路の4次元的な活動から生み出される複雑な脳機能の理解に向け、本課題では、4次元光観察・光操作技術とウイルス遺伝子工学的手法とを組み合わせた神経回路解析法の開発と、脳内で複数の領域に局在し特定のタスクに特化する神経細胞ネットワーク（サブネットワーク）の機能解明を目指した。

研究期間前期では、脳内の1つの神経細胞活動を4次元イメージングする技術の開発に成功した。また、狂犬病ウイルスベクターを改良し、複数の神経回路を同時に標識する技術を開発した。期間の後期ではイメージング技術の高度化に取り組み、長期に渡って多平面を同時にイメージングできる技術を開発した。さらに、単一神経細胞レベルでの4次元パターン光刺激技術の開発に成功したことに加え、光学技術を応用したマウスの脳へ適応できる光学式ブレインマシンインターフェース（BMI）の開発など、in vivoでの神経回路機能解析に対する革新的かつ高度な技術開発を実施した。

本課題では、オルガノイドを用いた脳の領域間相互作用の検討や、開発したイメージング技術を用いた、単一神経細胞における多数のスパインの同時解析、視覚運動予測誤差が生じる脳内情報処理過程の解析、脳の多領域活動に基づく行動を光学式BMIによって制御する試みなど、神経サブネットワークの機能解明を目的とした様々な生物学的研究が実施された。しかしながら、研究期間中に開発された4次元解析技術を十分に活用し、新たな生命機能を解明する段階までは至らなかったことは残念である。

本課題で開発された技術は、国内の企業と連携し、普及への取り組みが実施されている。今後は、知財化や産業化を通じて、技術の普及に一層努めていただきたい。加えて、本課

題にて開発された技術を十分に活用し、独創的な生物学研究が将来展開されるよう期待する。

以 上

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： オールオプティカルメカノバイオロジーの創出に向けた技術開発と発生生物学への応用

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名  
研究代表者

倉永 英里奈（東北大学大学院生命科学研究科 教授）

主たる共同研究者

岡田 康志（東京大学大学院理学系研究科 教授）

柴田 達夫（理化学研究所生命機能科学研究センター チームリーダー）

渡邊 朋信（理化学研究所生命機能科学研究センター チームリーダー）

3. 事後評価結果

○評点：

A 優れている

○総合評価コメント：

本課題では、光を用いて細胞の力学反応を操作、計測、観察する「オールオプティカルメカノバイオロジー」の創出に向けて、技術開発と発生生物学への応用を目指した。

本課題において、光応答タンパク質および蛍光タンパク質をそれぞれ応用し、上皮細胞内のアクチン制御分子を光によって活性化、または不活性化させるプローブの開発に成功した。各プローブを発現させたショウジョウバエ系統において、上皮組織変形の人為的操作が可能であることを示した。さらに、数理モデルを用いた上皮組織変形の予測・検証を実施し、数理モデルから新たな光力学活性化プローブの開発に至っている。

開発された技術を用いて、ショウジョウバエ上皮組織の形成過程における細胞接着モデリングや細胞接着収縮の新たな機序を解明しており、発生生物学における基礎研究として非常に優れた成果が得られている。

光による力学計測技術の開発について、当初予定していたブリルアン散乱光および光第二高調波発生（Second Harmonic Generation, SHG）による組織内の細胞粘弾性計測は研究期間内の実用が困難であることが判明したため、研究期間の後半より、これらを活用した代替技術の開発を目指した。SHGを用いたミオシン活性評価技術は生体試料への適用に成功したものの、代替となる光力学計測プローブについては培養細胞レベルでの概念実証の成功に留まり、ショウジョウバエの生体への応用には至らなかった。本課題では光力学計測のための様々な要素技術が開発されているため、これらの技術を応用し、今後「オー

「ルオプティカルメカノバイオロジー」の確立が達成され、そこから新たな生命機能が解明されるような展開を期待する。

以 上

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 光操作技術による基底核ドーパミン回路の機能局在解明と機能再建
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）  
研究代表者  
松本 正幸（筑波大学医学医療系 教授）  
主たる共同研究者  
高田 昌彦（京都大学ヒト行動進化研究センター 研究員）  
知見 聡美（自然科学研究機構生理学研究所 助教）

### 3. 事後評価結果

○評点：

A+ 非常に優れている

○総合評価コメント：

本課題は、ヒトに近縁なマカクザルに適用する光遺伝学技術を確立し、ドーパミン神経系が多様な脳機能を実現するメカニズムを解明するとともに、ドーパミン神経系の異常がもたらす様々な脳機能障害に対して、光遺伝学を用いた脳深部刺激療法（DBS）を開発することを目指した。

研究期間において、蛍光ドーパミンイメージング技術をマカクザルに応用することに成功した。また、この技術を活用し、意思決定過程で活動する新たなドーパミン神経路を発見した。さらに、マカクザルのドーパミン神経路に適用可能な光遺伝学システムを開発し、ドーパミンニューロンを光操作することで、サルの意味決定を制御することに成功した。加えて、サルの大脳皮質一次運動野の神経細胞を光刺激することにより、上肢運動を誘発することに成功した。このように、霊長類に適用可能な光遺伝学技術の確立に成功し、同技術がマカクザルの脳活動を操作できることを実証するなど、本課題では高い水準の研究が実施され、学術的・社会的にも非常に意義深い成果が得られたといえる。

また、脳機能障害の治療に対する光遺伝学を用いた脳深部刺激療法（DBS）の開発については、病態モデルザルでの電気生理学的解析により、治療標的となりうる神経回路の同定にまで至った。

本課題で開発された技術と成果は、霊長類における脳機能の更なる解明や、将来的な医療応用が期待される。霊長類を標的とした脳機能のメカニズム解明や、光遺伝学を用いた脳機能障害の治療法開発について、今後も高い水準での研究開発を継続していただきたい。

以上

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 光操作によるシナプス可塑性と記憶形成の因果関係の解明

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名

研究代表者

柚崎 通介（慶應義塾大学医学部 教授）

主たる共同研究者

浜地 格（京都大学大学院工学研究科 教授）

松田 信爾（電気通信大学大学院情報理工学研究科 准教授）

3. 事後評価結果

○評点：

A+ 非常に優れている

○総合評価コメント：

本課題は、シナプス可塑性のモデルである長期増強（LTP）、および長期抑圧（LTD）を急速かつ可逆的に制御する光操作ツールを開発し、LTP および LTD と記憶・学習との因果関係の解明につなげることを目的とした。

研究期間において、光照射によって特定のシナプスの LTD を阻害するツールである PhotonSABER、および光照射で特定のシナプスの LTP を阻害するツールである LysopH-up の開発に成功した。期間の後半では、これらの光操作ツールの改良や、代謝型グルタミン酸受容体（mGlu1）の化学遺伝学的活性化による LTD 誘導ツールの開発にも取り組んだ。開発された光操作ツールを活用し、長年結論づいていなかった LTD/LTP と記憶・学習の因果関係を明確に示した。加えて、LTP/LTD 時のシナプスにおける AMPA 受容体や、神経細胞内の様々な小分子を高解像度で可視化できる技術の開発にも成功しており、本課題では目標を超えて、神経科学研究の発展に大きく貢献する成果が得られたといえる。

また、人工シナプスコネクタ CPTX を開発し、CPTX タンパク質が様々な病態モデルマウスのシナプス形成を強力に誘導し、病態を改善することを示した。本技術は、シナプスが原因の神経疾患に対する医療応用が期待できる成果である。

本課題において開発された光操作ツールは汎用性が高く、国内外の様々な研究者に提供され、脳の多様な機能メカニズムの解明に用いられている。今後も積極的な共同研究に取り組んでいただくとともに、LTP/LTD と記憶・学習の分野において世界をリードする研究を引き続き実施していただきたい。

以 上

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 細胞内二次メッセンジャーの光操作開発と応用

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名

研究代表者

神取 秀樹（名古屋工業大学大学院工学研究科 特別教授）

主たる共同研究者

寺北 明久（大阪公立大学大学院理学研究科 教授）

日比 正彦（名古屋大学大学院理学研究科 教授）

山下 高廣（京都大学大学院理学研究科 講師）

3. 事後評価結果

○評点（2022年度事後評価時）：

A+ 非常に優れている

○総合評価コメント：

（以下、2022年度課題事後評価時のコメント）

本課題は、Ca<sup>2+</sup>イオンや環状ヌクレオチド等の濃度を光で自在に制御する光操作ツールを開発し、それらをゼブラフィッシュの脳神経回路に応用し、新たな生物学的知見を得ることを目指した。

本課題において、新規ロドプシンとして、ヘリオロドプシン、シゾロドプシン、ベストロドプシンを発見し、構造や機能を解析した。また、光サイクルでGタンパク質活性化が制御される動物ロドプシンの発見と光操作ツールへの改変に成功した。本ツールは多くの組織で汎用的に利用することが可能であり、今後、多くの細胞機能の研究に資するものと期待されるなど、研究期間において優れた成果を挙げた。高い光感度をもつ陽イオン透過型チャンネルロドプシンは、予想に反してCa<sup>2+</sup>イオンを透過しないことが明らかになったが、その特徴と光感度の高さから、神経科学分野において新たな光操作ツールとして利用されているほか、産業界との連携によって視覚再生への応用も試みられており、科学技術イノベーションへの寄与が期待される。加えて、開発された光操作ツールをゼブラフィッシュに発現させその活性を測定し、神経活動や心臓の機能を制御する能力の高い光操作ツールであることを実証した。

本課題は、多くの新規ロドプシンの発見と光操作ツールの作出により、光遺伝学ツールの展開に大きく貢献したといえる。今後は開発したツールを新たな生命機能解明の研究に応用し、その実用性をより一層実証していただきたい。

(2023年 12月 追記)

1年追加支援期間において、ゼブラフィッシュを用いた新規ロドプシンの機能解析を追加で実施し、これらの研究成果を論文発表した。さらに、産業界と連携して実施した、高い光感度をもつ陽イオン透過型チャンネルロドプシンの視覚再生への応用についても進展があった。以上より、1年追加支援期間中においても、科学技術イノベーションに貢献する取り組みが継続して実施されたと言える。

以 上

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 自由行動下での神経情報操作・解読技術の開発と意思決定の神経基盤解明への応用

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名  
研究代表者

渡邊 大（京都大学大学院医学研究科 教授）

3. 事後評価結果

○評点（2022年度事後評価時）：

A 優れている
---------

○総合評価コメント：

（以下、2022年度課題事後評価時のコメント）

本課題は、脳神経細胞の活動を単一細胞レベルの精度で計測する技術を開発し、さらにその技術を用いて自由行動下の動物個体における意思決定の神経基盤を解明することを目指した。

研究期間前半では、チーム内での密接な連携体制のもと、高性能の膜電位センサーの開発、マルチカラー内視顕微鏡イメージングでの光照射制御技術などの技術開発が進められた。期間の後半では、より高感度な膜電位センサーの改良、高速・高感度のイメージング技術の開発と内視顕微鏡イメージングへの適応により、単一細胞精度で神経活動および細胞内シグナル動態を追跡可能な内視顕微鏡イメージング技術の開発に成功した。加えて、開発された内視顕微鏡を用いて、自由行動下のマウスから長期間にわたり脳神経細胞の活動電位を測定することに成功した。

開発された膜電位センサーを生体に応用し、新たな生命機能を解明するまでには至らなかったものの、内視顕微鏡イメージングを利用してマウスにおける認知・意思決定機構の神経基盤に関する生物学研究を進展させた。

本研究課題によって開発された膜電位計測のシステムは、神経科学研究に新たな展開をもたらす可能性が見込まれる有用な技術である。今後は国内外の研究コミュニティへの普及や、他の研究チームとの共同研究にも努めていただきたい。

（2023年 12月 追記）

1年追加支援期間において、開発された内視顕微鏡イメージング技術の高速化・高感度化が実施された。その結果、単一細胞レベルでの内視顕微鏡イメージングがより長期間可

能になるような改良に成功しており、1年追加支援期間において期待通りの成果が得られたと言える。

以 上