

生命機能メカニズム解明のための光操作技術
2018 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

永田 崇

東京大学物性研究所
助教

光 OFF 型オプシンによる高感度かつ自然な視覚再生

§ 1. 研究成果の概要

本研究の狙いは、視細胞の変性により視覚が障害される網膜色素変性症の遺伝子治療につながる技術基盤の創出である。先行研究により、光受容タンパク質・オプシンを網膜内の神経細胞に導入することで網膜色素変性症のモデル動物の光感覚を回復させられることがわかっているが、明暗感覚の反転(光が来たときに暗くなったと知覚)が生じてしまうという問題点が指摘されていた。本研究では、『暗いときに活性化・光を受けると不活性化される』という通常のオプシンとは逆の性質をもった「光 OFF 型」オプシン・ペロプシンを用いることで、モデル動物において明暗反転のない自然な視覚再生を目指す。

標的となる神経細胞においてシグナル伝達を担うのは Go 型 G タンパク質であるが、類似の先行研究ではこれまで Go の活性化を直接評価していなかった。しかしながら前年度までの研究により、間接的に Go の活性化を類推する方法ではなく、Go の活性化を直接評価できる実験系の必要性が明らかとなった。これを踏まえ本年度は Go の活性化を直接調べられる実験系の確立に取り組んだ。最近開発された、スプリットルシフェラーゼを用いた Nano-BiT G dissociation assay 法を元に複数の実験条件の検討を行い、オプシンに対して最適な条件を決定した。これにより光 OFF 型オプシン・ペロプシン変異体が Go を活性化できることを初めて明らかにした。このオプシンに最適化された評価系を用いることで、Go を活性化する新たな変異体も複数取得することができた。現在、より詳細な比較検討を進めている。さらに光 OFF 型オプシンを網膜に発現させるための遺伝子組み換えゼブラフィッシュを作製し、網膜色素変性症と同様の網膜変性を生じさせる変異を導入するために交配を進めており、視覚の回復について評価する行動実験系の作製も行った。