

# 知っておきたいキーワード

## オプトジェネティクス

(正会員) 徳田 崇<sup>†</sup>, (正会員) 太田 淳<sup>†</sup>

<sup>†</sup> 奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科

"Optogenetics" by Takashi Tokuda and Jun Ohta (Graduate School of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology, Nara)

キーワード: オプトジェネティクス, 光遺伝学, チャネルロドプシン, 光神経刺激

### オプトジェネティクスとは

最近、バイオ分野の解説などで、オプトジェネティクス (Optogenetics) という言葉を目にする機会が増えました。オプトジェネティクスは、“Opto=光の”と“Genetics=遺伝学”を組合せた造語で、光遺伝学と訳されます。最初にこの言葉が用いられたのは、2006年のDeisserothらの論文であるとされます<sup>1)</sup> (実際に彼らの論文で使われている言葉は"Optogenetic"という形容詞です)。

このキーワードだけみると、光を利用した遺伝子操作や関連技術を示すような印象を受けますが、実際には、チャネルロドプシン2 (ChR2) に代表されるロドプシタンパクを、遺伝子操作によって生体細胞に導入して、光反応性を付与する技術、および、この技術を利用した神経科学や脳科学全般の総称として用いられています。

ロドプシタンパクは、細胞膜の中に組み込まれて、細胞の内外のイオンの交換を光依存的に制御します。例えば、

藻類の一種であるクラミドモナス由来のチャネルロドプシン1 (ChR1) およびChR2は、光 (ChR1では約510nm, ChR2では約470nm) を吸収するとポア (イオンが通過する孔) が開いて、H<sup>+</sup> (プロトン) や陽イオンを透過させ、神経細胞の興奮を誘発します (図1)。

このほか、光を受けると陰イオンを透過するようになり、細胞の興奮を抑制するハロロドプシン (NpHR) や、光を受けると細胞の内側から外側へH<sup>+</sup>イオンをくみ出す、プロトンポンプであるバクテリオロドプシン (BR) なども利用されています。

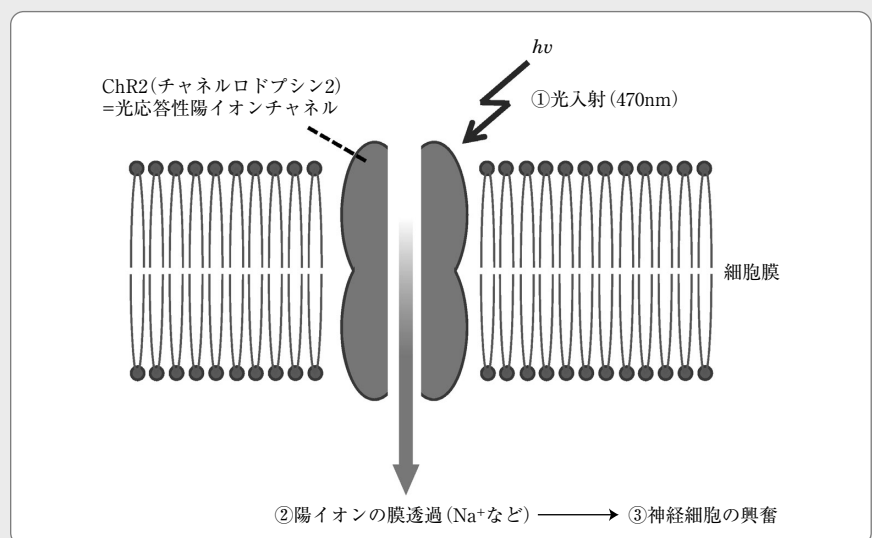


図1 チャネルロドプシン (ChR2) を導入した神経細胞の光反応性の概念図

### オプトジェネティクスのはじめ

神経科学や脳科学において、神経細胞や組織・脳のはたらきを理解するためには、細胞を刺激する技術が不可欠です。神経細胞の興奮は、膜電位（細胞膜の内側と外側の電位差）の急激な変動、膜タンパクであるイオンチャネルの開閉やイオンポンプの動作、そして、それらに伴う細胞内外のイオンの流入・流出が組合わさった細胞活動です。膜電位の変化がこれら主要素の一つであるため、古くから神経細胞の刺激や観察には、電気的な手法（電気生理）が利用されてきました。

しかし電気刺激では、電極が観察対象である神経細胞にダメージを与えることが多く、また一部の例外を除けば、特定の細胞の選択的刺激は困難でした。自然な経緯として、光を利用した、細胞を傷つけない局所刺激技術が期待されてきました。オプトジェネティクス以前にも、ケージド化合物と呼ばれる方法での光刺激の手法がありましたが、広く利用されてはいませんでした。

オプトジェネティクス勃興の大きなきっかけは、2001年に、かずさDNA研究所と米国デューク大学が公開した、クラミドモナスのゲノム配列から、クラミドモナスがもつ光に対する反応性（走光性など）の起源としてChR1

とChR2の構造が同定され、光応答性のイオンチャネルとして働くことが示されたことです<sup>2)3)</sup>。

これを受けて、2005年前後に、米国スタンフォード大学のDeisserothや東北大学の八尾・石塚らのグループなどから報告された、哺乳類の神経細胞でのロドプシタンパクの発現と光刺激の成功が、現在のオプトジェネティクスにつながるブレークスルーにな

りました<sup>4)5)</sup>。その後、多数の研究グループが新しい改変ロドプシタンパクの開発や新しい実験手法の提案と利用に参入し、わずか数年のうちに脳・神経科学の一大分野に成長しました。

図2に、オプトジェネティクスに関する重要イベントと、分野を構成する研究要素について筆者らのイメージを示します。

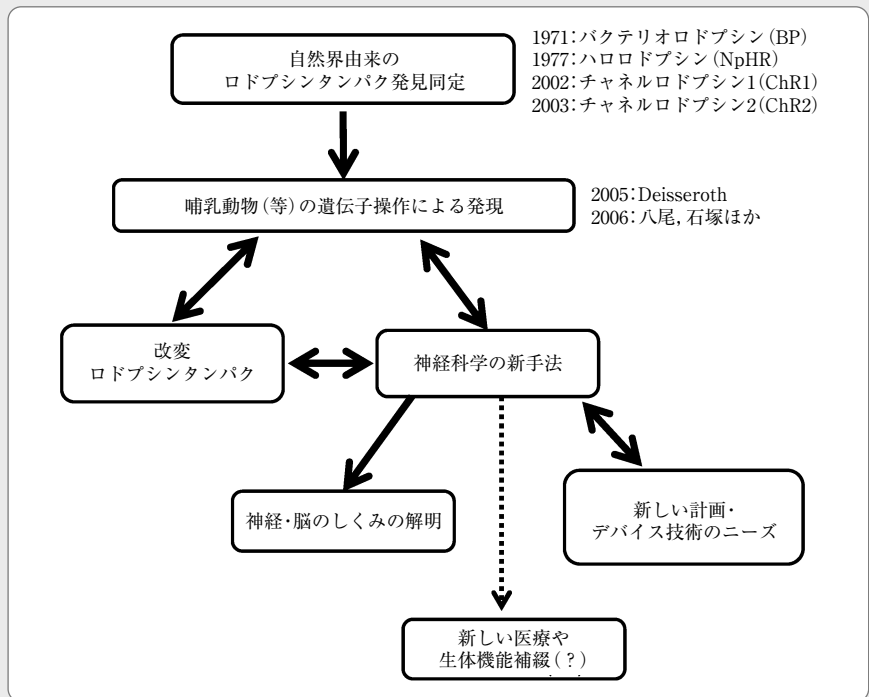


図2 オプトジェネティクス分野の構成イメージ

### オプトジェネティクスの利点

オプトジェネティクスが従来の技術と比較して優れる点はたくさんありますが、なんとといっても、すでに実現されている多様な遺伝子改変技術や遺伝子導入技術と組合せて、（専門家にとっては）スタンダードな技術を利用しながらも多様で新しい神経科学の実験

を創出できること、そしてその成果である新しいロドプシタンパクの多くが、しかるべき手続きのもと、世界中の研究者間で共有されていることが挙げられます。例えば、脳の中のある特定の種類の細胞や、特定の領域の細胞にだけ光応答性を付与するようなことが可能です。また、世代を超えて、安定して光応答性を備えた遺伝子組み換え動

物も実現可能です。

さらにその上、光の照射を空間的に制御することによって、高い分解能で局所的な刺激を行えることも大きな利点です。隣接する細胞や細胞間の電解質での電流広がりがつきまとう電気刺激と比較して、光刺激の局所性は大変大きなメリットとなります。

### オプトジェネティクス研究の 周辺技術：光刺激、イメージ ング

オプトジェネティクス分野の研究では、ロドプシンタンパクとその導入技術だけでなく、光反応性を付与した神経細胞や組織、脳に対して光刺激を行う技術も重要な役割を担います(図3)。生物系の実験は、大きく分けて *in vitro* (生体から細胞を取出したり、培養細胞を用いて行うもの) と、 *in vivo* (個体が生きてままの状態で行うもの) に大別されます。

*in vitro* 実験の多くは顕微鏡下で行われるため、顕微鏡の光学系を用いて光のパターンを投影する方法が利用されています。光源として、レーザー<sup>6)</sup> や LED アレイ<sup>7)</sup> を用いることで、顕微鏡視野の任意の場所に光を照射する系が実現されています。また筆者らは、独自の取組みとして、顕微鏡を利用せず、光刺激デバイスをサンプルに接触させて、局所光刺激を行う技術を提案しています<sup>8)</sup>。

*in vivo* 実験の場合、比較的広い領域を一度に刺激する場合であれば、光ファイバの先端を頭蓋に固定して、光を

脳に照射する方法がよく利用されている<sup>9)</sup> ほか、頭蓋に固定したLEDを用いる方法があります<sup>10)</sup>。 *in vivo* で局所光刺激を行いたい場合には、現在のところは、動物を拘束して顕微鏡下で開頭して実験を行う方法が多く利用されています。その場合の光刺激系は、上に述べた *in vitro* と類似の仕組みを利用します。非拘束・自由行動下で、かつ、局所刺激を行いたいというニーズに対しては、現在さまざまな電極アレイやデバイスが提案されており、今後の技術的発展とそれによる神経科学・脳科学の新しい成果が期待されています。

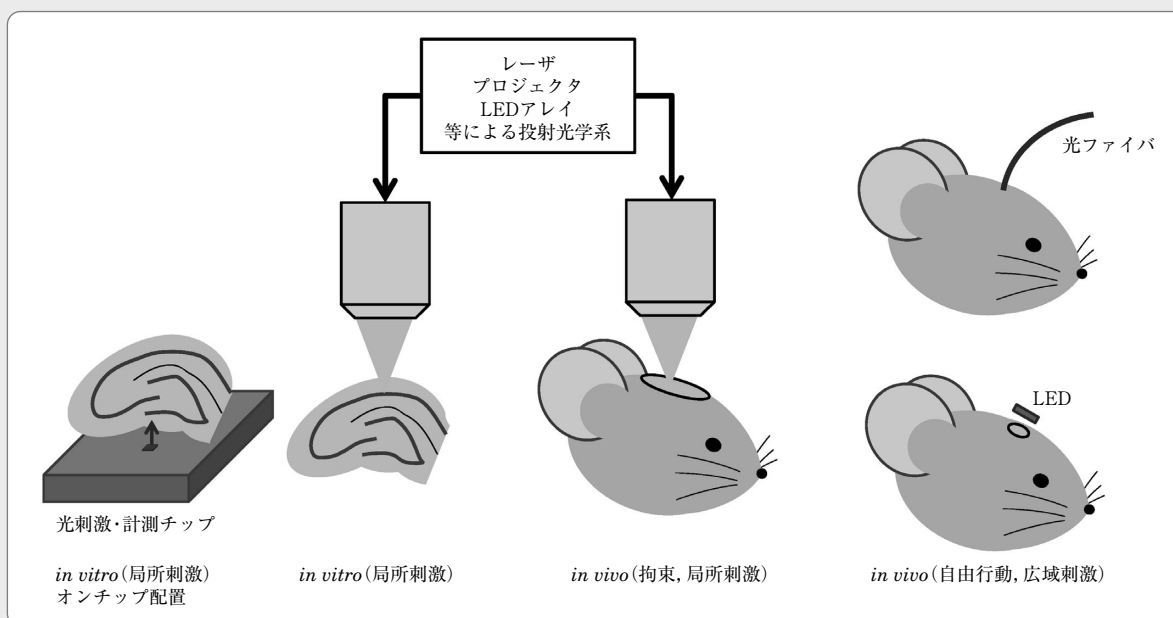


図3 オプトジェネティクスにおける光刺激の手法 (例)

### むすび

ここ数年で急激な発展を示す、バイオ分野の技術であるオプトジェネティクスについて概説しました。オプトジ

ェネティクスは、計測技術についても、さまざまな新しいニーズを生み出しています。工学分野の研究開発に携わる者にとっても、新しいアプリケーションフィールドとして目が離せない領域

だと考えます。本稿が読者諸氏にとって興味のきっかけになれば幸いです。

(2012年8月22日受付)

参 考 文 献

- 1) K. Deisseroth, G. Feng, A.K. Majewska, G. Miesenbck, A. Ting and M.J. Schnitzer: "Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits", the Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, 26, 41, pp.10380-6 (Oct. 2006)
- 2) G. Nagel, D. Ollig, M. Fuhrmann, S. Kateriya, A.M. Musti, E. Bamberg and P. Hegemann: "Channelrhodopsin-1: A light-gated proton channel in green algae.", Science (New York, N.Y.), 296, 5577, pp.2395-8 (June 2002)
- 3) G. Nagel, T. Szellas, W. Huhn, S. Kateriya, N. Adeishvili, P. Berthold, D. Ollig, P. Hegemann and E. Bamberg: "Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel.", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 100, 24, pp.13940-5 (Nov. 2003)
- 4) E.S. Boyden, F. Zhang, E. Bamberg, G. Nagel and K. Deisseroth: "Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity.", Nature Neuroscience, 8, 9, pp.1263-8 (Sep. 2005)
- 5) T. Ishizuka, M. Kakuda, R. Araki and H. Yawo: "Kinetic evaluation of photosensitivity in genetically engineered neurons expressing green algae light-gated channels.", Neuroscience Research, 54, 2, pp.85-94 (Feb. 2006)
- 6) O.G.S. Ayling, T.C. Harrison, J.D. Boyd, A. Goroshkov and T.H. Murphy: "Automated light-based mapping of motor cortex by photoactivation of channelrhodopsin-2 transgenic mice", Nature Methods, 6, 3, pp.219-24 (Mar. 2009)
- 7) V. Poher, N. Grossman, G.T. Kennedy, K. Nikolic, H.X. Zhang, Z. Gong, E.M. Drakakis, E. Gu, M.D. Dawson, P. M. W. French, P. Degenaar and M. A. Neil: "Micro-LED arrays: A tool for two-dimensional neuron stimulation", Journal of Physics D: Applied Physics, 41, 9, p.094014 (May 2008)
- 8) T. Tokuda, H. Kimura, T. Miyatani, Y. Maezawa, T. Kobayashi, T. Noda, K. Sasagawa and J. Ohta: "CMOS on-chip bio-imaging sensor with integrated micro light source array for optogenetics", Electronics Letters, 48, 6, p.312 (2012)
- 9) V. Gradinaru, K.R. Thompson, F. Zhang, M. Mogri, K. Kay, M.B. Schneider and K. Deisseroth: "Targeting and readout strategies for fast optical neural control in vitro and in vivo.", the Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, 27, 52, pp.14231-8 (Dec. 2007)
- 10) D. Huber, L. Petreanu, N. Ghitani, S. Ranade, T. Hromdka, Z. Mainen and K. Svoboda: "Sparse optical microstimulation in barrel cortex drives learned behaviour in freely moving mice.", Nature, 451, 7174, pp.61-4 (Jan. 2008)



**徳田 崇** 1998年、京都大学大学院工学研究科博士後期課程修了。1998年、日本学術振興会特別研究員(PD)。1999年、奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科助手。2008年より、同准教授。半導体フォトニクスデバイス、特に、バイオイメージングデバイス、ニューロエレクトロニクスデバイスの研究に従事。博士(工学)。正会員。



**太田 淳** 1983年、東京大学大学院工学研究科修士課程修了。同年、三菱電機(株)入社。1992年～1993年、コロラド大学客員研究員。1998年、奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科助教授。2004年同大学教授。人工視覚、バイオメディカルデバイス、高機能CMOSイメージセンサの研究に従事。博士(工学)。フェロー認定会員。映像情報メディア学会理事。



映像情報メディア基幹技術シリーズ9  
**CMOS イメージセンサ**

相澤清晴, 浜本隆之 編著

本書を読み終えてから、手元にあるデジカメの説明書(仕様欄)を片っ端から調べてみた。2001年製はCCD, 2005年製はまだCCD, 2008年製と2010年製はCMOS。本書の2章には、「2004年に、CMOSイメージセンサの出荷数はCCDイメージセンサを上回った」とある。なるほど。本書は、CMOSイメージセンサに特化した技術解説書で、5章で構成されている。1, 2章は基礎的内容, 3～5章は発展的内容や応用例を扱っている。1章は、シリコンデバイスの物理から始まり、MOS, CCD, CMOSへと続くイメージセンサの歴史と概要, そしてイメージングシステムの概論へと続く。2章が本書の中核を成す章で、CMOSイメージングセンサについて、経緯や特長, 原理や構造, そして応用や展望などが、豊富な図を用

いて解説されている。続く3, 4章は、高解像度化や高感度化等の高画質化技術, センサ上に集積される種々のAD変換器の構成法や特長, あるいは広ダイナミックレンジや高速化の技術が解説されている。最後の5章では、CMOSならではの特長を活かした高機能化技術として、センサ機能の拡張や距離計測センサ等のシステムへの応用, さらには人工視覚への応用などが論じられている。

本書は、構成図や回路図などの多くの図を用いて各トピックが平易に解説されていると同時に、基礎から応用に至る内容がコンパクトにまとめられており、通読することでCMOSセンサのデバイスの諸構造から応用場面に至るまでの内容が理解できる。また、文献も豊富に挙げられており、専門家にも有益な情報を与えるであろう内容となっている。

ページ制約のため、半導体やデバイス物理については概要がまとめられている程度であるので、特にMOS構造を扱っているデバイスの教科書などを側に置きながら勉強されると良いのではないかと思います。 紹介 吉田俊之(福井大)

コロナ社刊 (2012年8月6日発行), A5判, 271頁,  
定価: 4,830円(税込)