

光で操る組み換え生物

福田 憲隆\*・永井 健治

近年、生物の行動を光で操作することが可能になってきていることを御存知だろうか。

2005年Deisserothらのグループは光吸収によりNa<sup>+</sup>などの陽イオンを細胞内へと輸送するChR2 (Channel rhodopsin 2) を導入した神経細胞が照射により活動電位を発生することを示した<sup>1)</sup>。神経活動は行動、記憶、感情などを制御していることから、ChR2を用いることで、これらの高次生理現象を制御できる可能性が示唆され、2年後にはマウスの行動を光で制御可能であることが実際に示された<sup>2)</sup>。これを契機として新しい科学的手法である“光遺伝学”という新分野が創設された。

2009年には同グループは光によって活性化されるGタンパク質共役型受容体 (GPCR) であるロドプシンの細胞内ドメインをβ2アドレナリン受容体またはα1アドレナリン受容体の細胞内ドメインとスワップすることで、セカンドメッセンジャーであるcAMPあるいはIP<sub>3</sub>の産生を光で誘導できる技術の開発に成功した<sup>3)</sup>。本手法は今後その他のGタンパク質を介したシグナル伝達の光制御に応用されていくであろう。

一方、Hahnらのグループは燕麦 (*Avena sativa*) のフォトロピンタンパク質内の光吸収によって構造が変化する“LOVドメイン” (light, oxygen, voltage domain) をタンパク質の光活性化に利用することを考案した<sup>4)</sup>。具体的にはLOVドメインを低分子量GTPaseファミリーに属するRac1タンパク質に融合することによって、光活性化型のPA-Rac1 (photoactivatable-Rac1) を開発することに成功している<sup>5)</sup>。照射前の状態ではLOVドメインがRac1の活性を立体的に阻害するためPA-Rac1は不活性であるが、照射に伴うLOVドメインの構造変化によってその阻害が解消され活性化する(図2(A))。PA-Rac1を用いた光刺激による局所的なRac1の活性化により、リン酸化酵素PAKの活性化を介したアクチンの重合が促進され、細胞の形態や動きの時空間的な操作が

実現した。

LOVドメインのその他の応用例として、照射依存的に特異的遺伝子の活性化を可能とするLightONシステム<sup>6)</sup>も紹介しておきたい。このシステムは2量体化能を減弱したGal4のDNA結合ドメイン、アカバカビ (*Neurospora crassa*) 由来のLOVドメインであるVVD、そして転写活性化因子p65の転写活性化ドメインがタンデムに連結された人工タンパク質 (GAVPO) を光活性化型転写アクチベーターとして用いている。またシスエレメントとしてGAL4の結合配列(UASG)にTATAボックスを連結し、その下流に発現させたい遺伝子を連結し、両者を適当な方法で細胞に導入しておく。すると、GAVPOタンパク質は、VVDを介して照射依存的に二量体化を起こす。その結果、Gal4部分の二量体化によりDNA結合活性が増加し、UASGへ結合する。次にGAVPOのp65を介して転写複合体がTATAボックス上に形成され、下流の遺伝子の転写が促進されるという仕組みである(図2(B))。本方法により培養細胞のみならず、マウスの個体レベルでの特異的遺伝子発現も実現している。

以上紹介した方法を用いれば、将来的に記憶や感情などを司る神経回路の解明や任意のタイミングで発酵を開始する酵母の開発、はたまた照射によりタンパク質発現を順々に変えていくことで複雑な化合物を生物体内で生産できる細菌など、従来技術では困難であった生命科学的研究や技術開発が可能になるかもしれない。

- 1) Boyden, E. S. *et al.*: *Nat. Neurosci.*, **8**, 1263 (2005).
- 2) Gradinaru, V. *et al.*: *J. Neurosci.*, **27**, 14231 (2007).
- 3) Airan, R. D. *et al.*: *Nature*, **458**, 1025 (2009).
- 4) Wu, Y. I. *et al.*: *Nature*, **461**, 104 (2009).
- 5) Wang, X. *et al.*: *Nat. Methods*, **9**, 266 (2012).

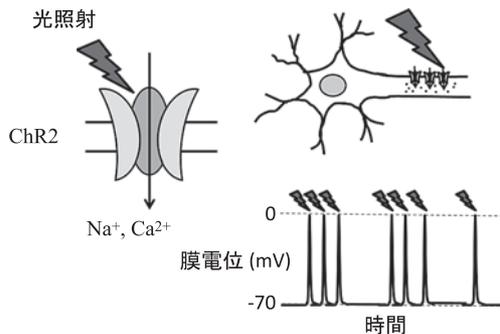


図1. ChR2の模式図

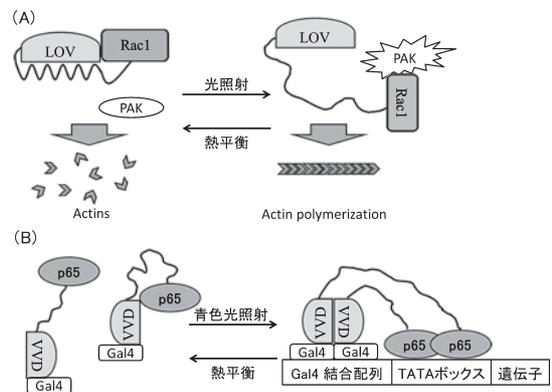


図2. (A)PA-Rac1の模式図。(B)LightONシステムの模式図。

\*著者紹介 北海道大学大学院生命科学院 (修士2年) E-mail: nekodaisuki40@sanken.osaka-u.ac.jp