

# 光を使って細胞の働きを 操作する技術

名古屋工業大学  
大学院生命応用化学専攻  
特任准教授 角田聡

2019年10月18日

# 光遺伝学 Optogenetics

## 光によって生命現象を操作する



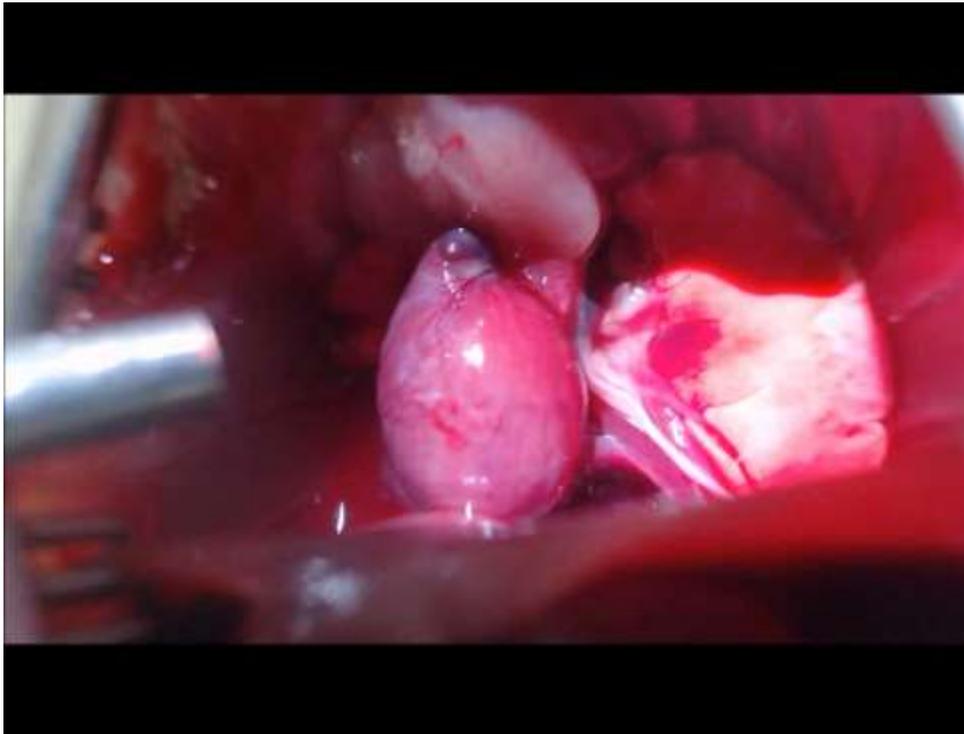
Fiberoptic Control  
of Locomotion in  
ChR2 Mouse

Karl Deisseroth Lab

# 光遺伝学 Optogenetics

## 光によって生命現象を操作する

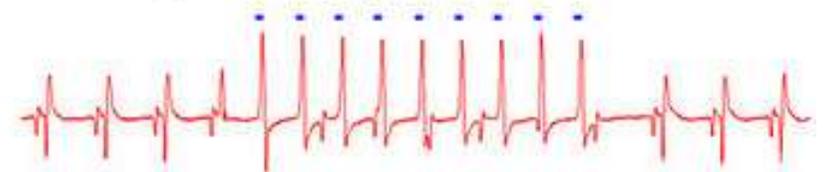
### 心拍数を光で操作



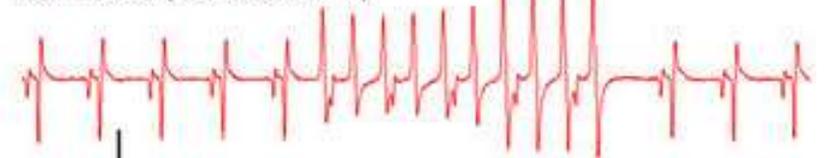
Baseline recordings (~100 b.p.m.)



Illumination (150 flashes/min)



Illumination (200 flashes/min)

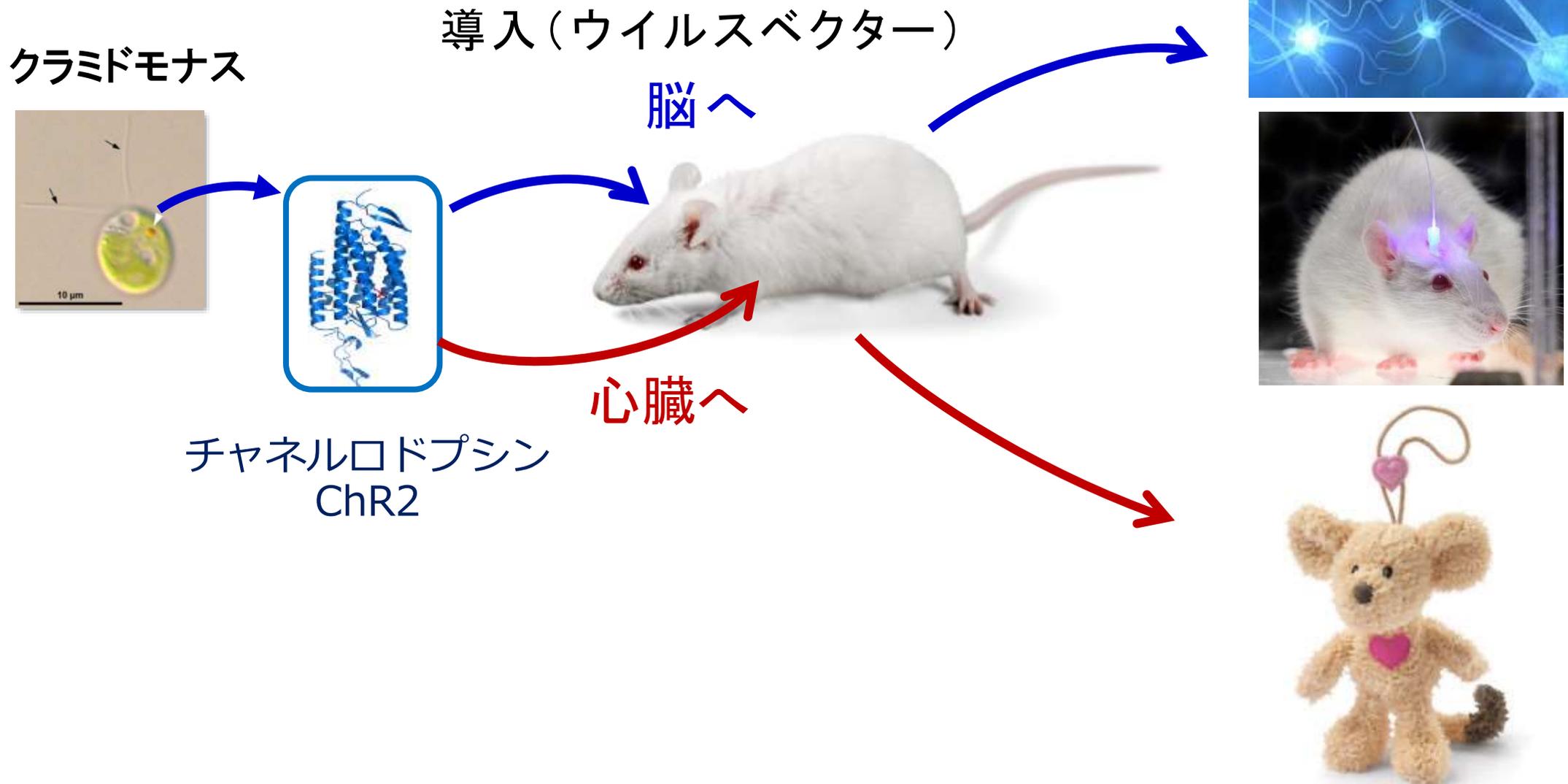


2 V

2 s

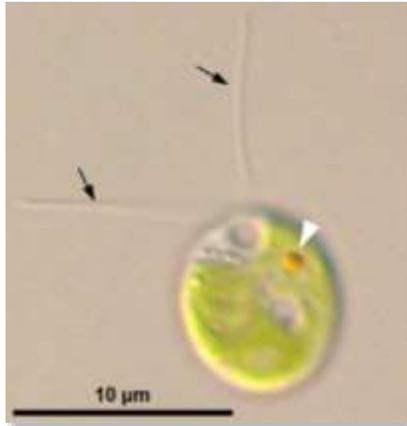
Nussinovitch et al. *Nature Biotechnology* **33**, 750–754 (2015)

# 光遺伝学 Optogenetics

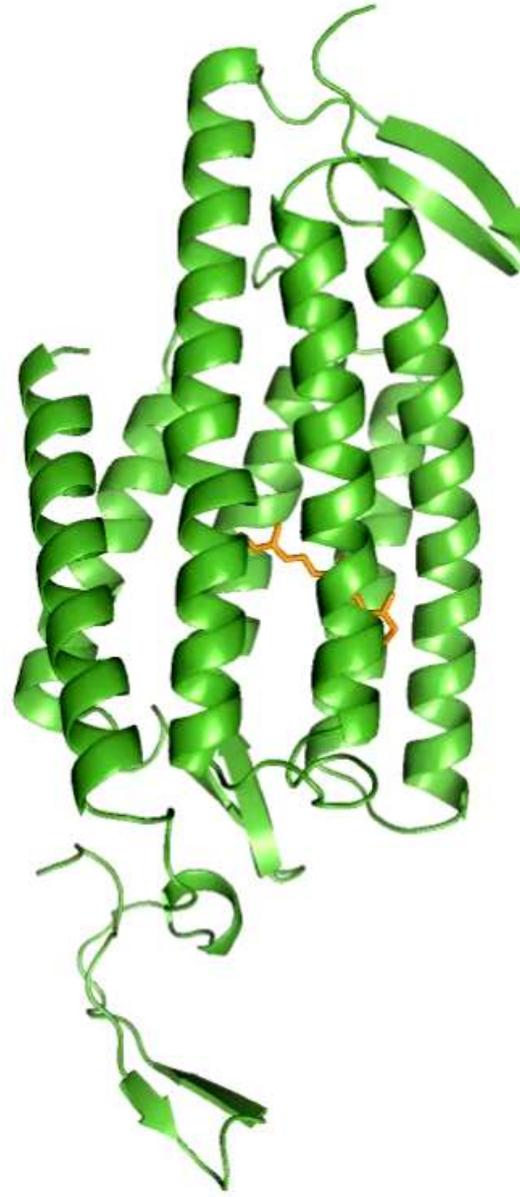
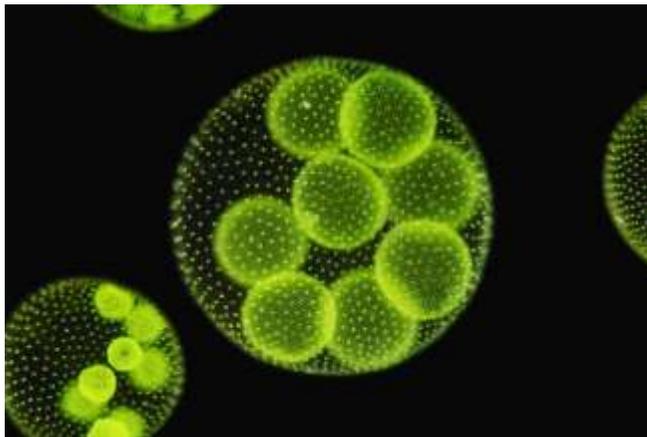


# チャネルロドプシン ChR2

クラミドモナス



ボルボックス

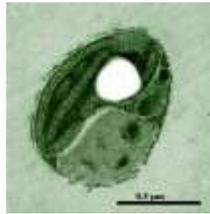


ChR2



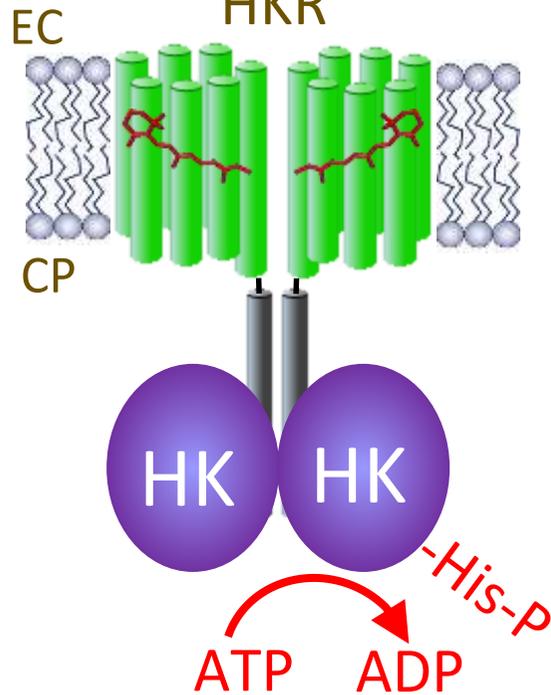
# 微生物由来の酵素型ロドプシン

*Ostreococcus tauri*



ヒスチジンキナーゼ

HKR



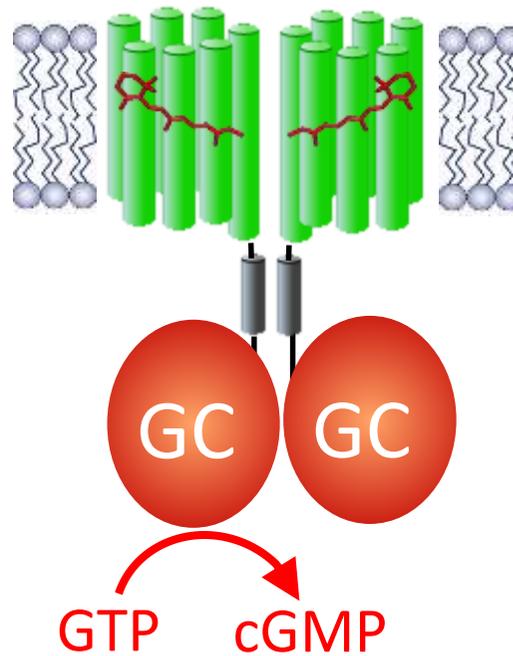
Luck *et al.* 2012

*Blastocladiella emersonii*



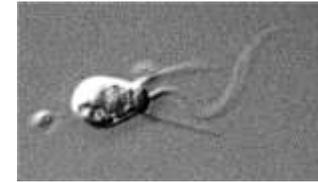
グアニル酸シクラーゼ

Rh-GC



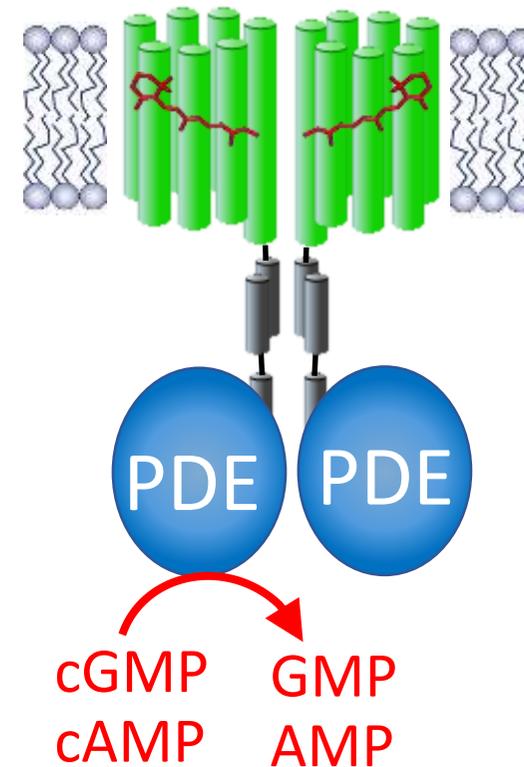
Avelar *et al.* 2014

*Salpingoeca rosetta*



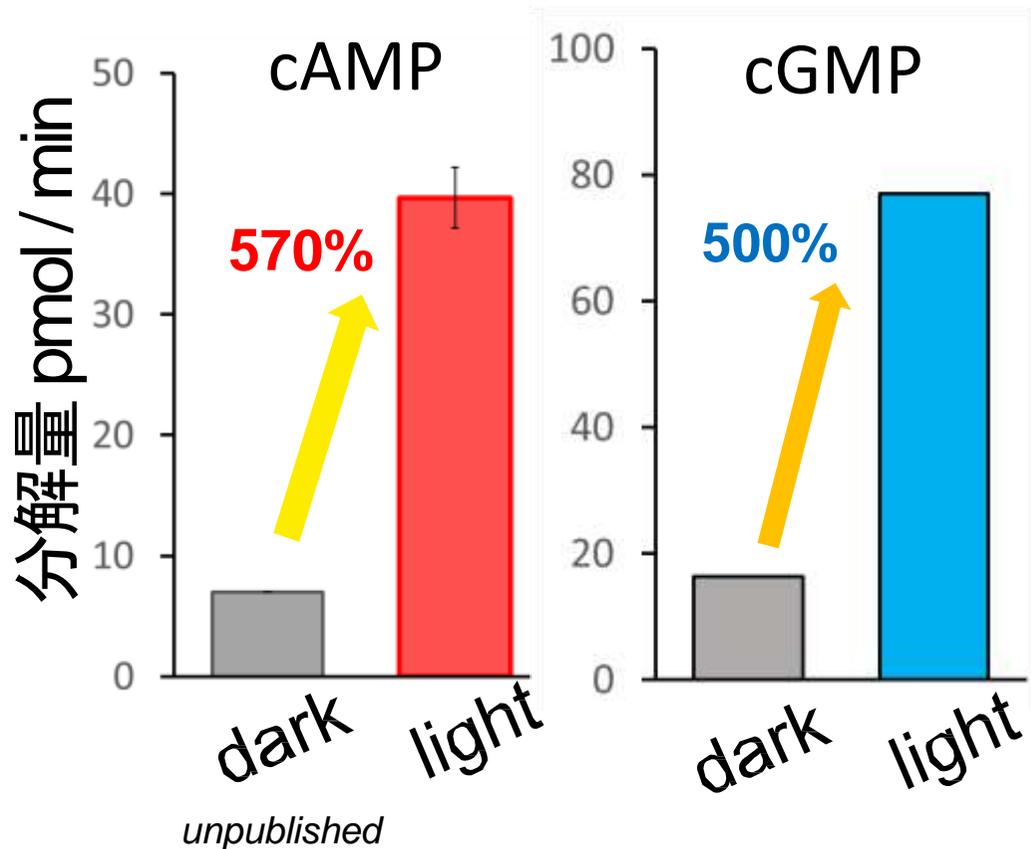
フォスホジエステラーゼ

Rh-PDE

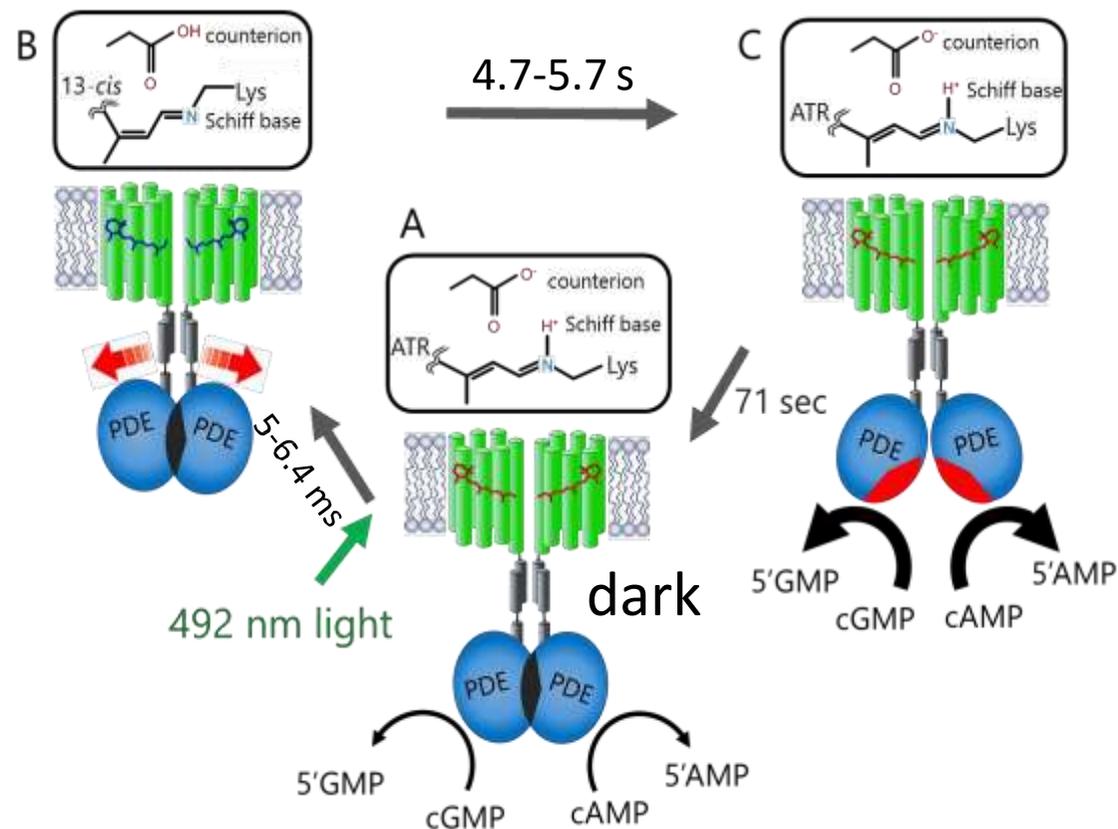


Yoshida *et al.* 2017

## 分解活性



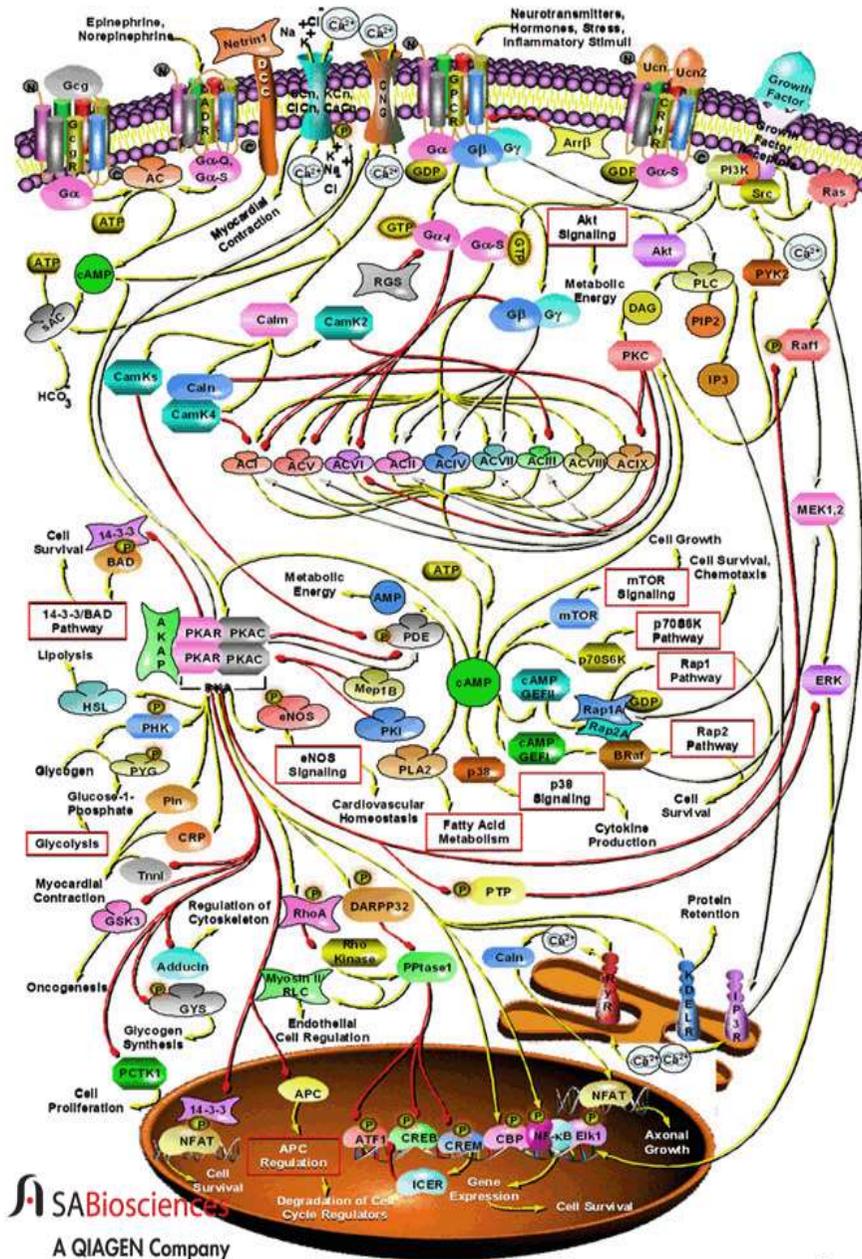
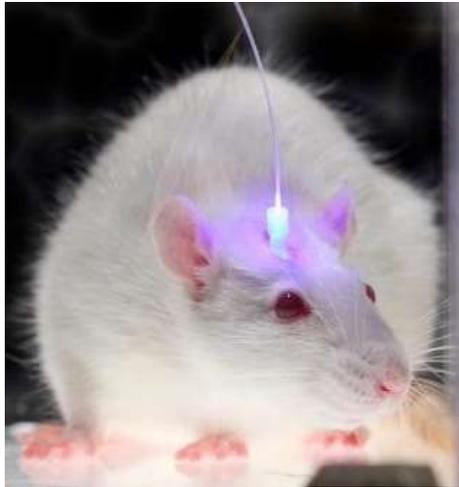
## 反応サイクル

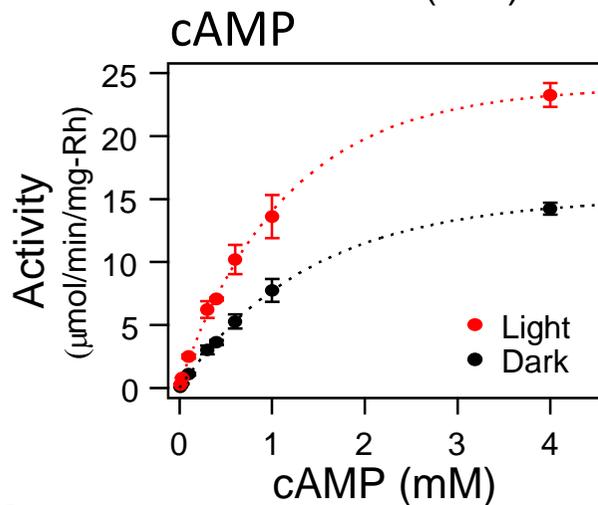
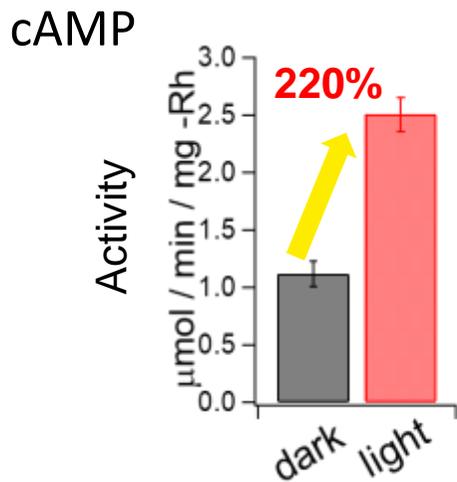
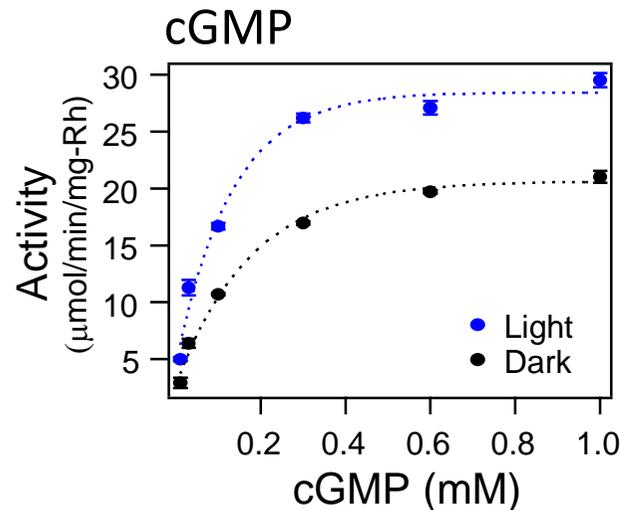
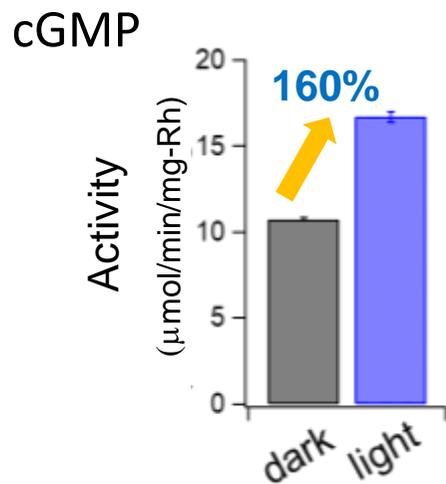
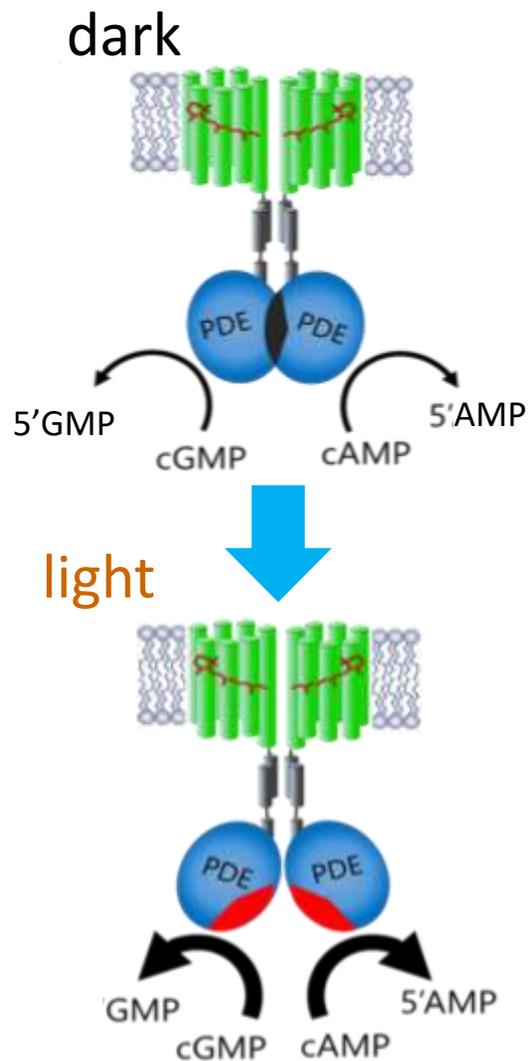


- ・光依存性 フォスフォジエステラーゼ 活性を持つ
- ・Light/Dark 活性化比率 (5倍程度)
- ・HEK293細胞などの哺乳類細胞でも機能発揮

⇒細胞内 cAMP, cGMP濃度の光操作ツールとなりうる

# cAMP signaling pathway



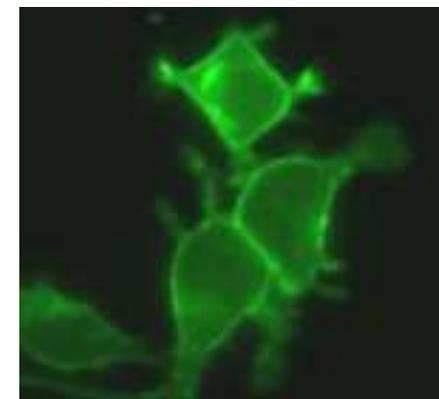
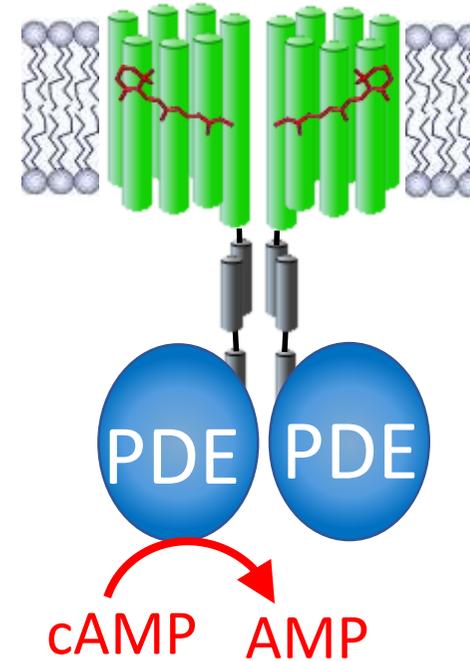
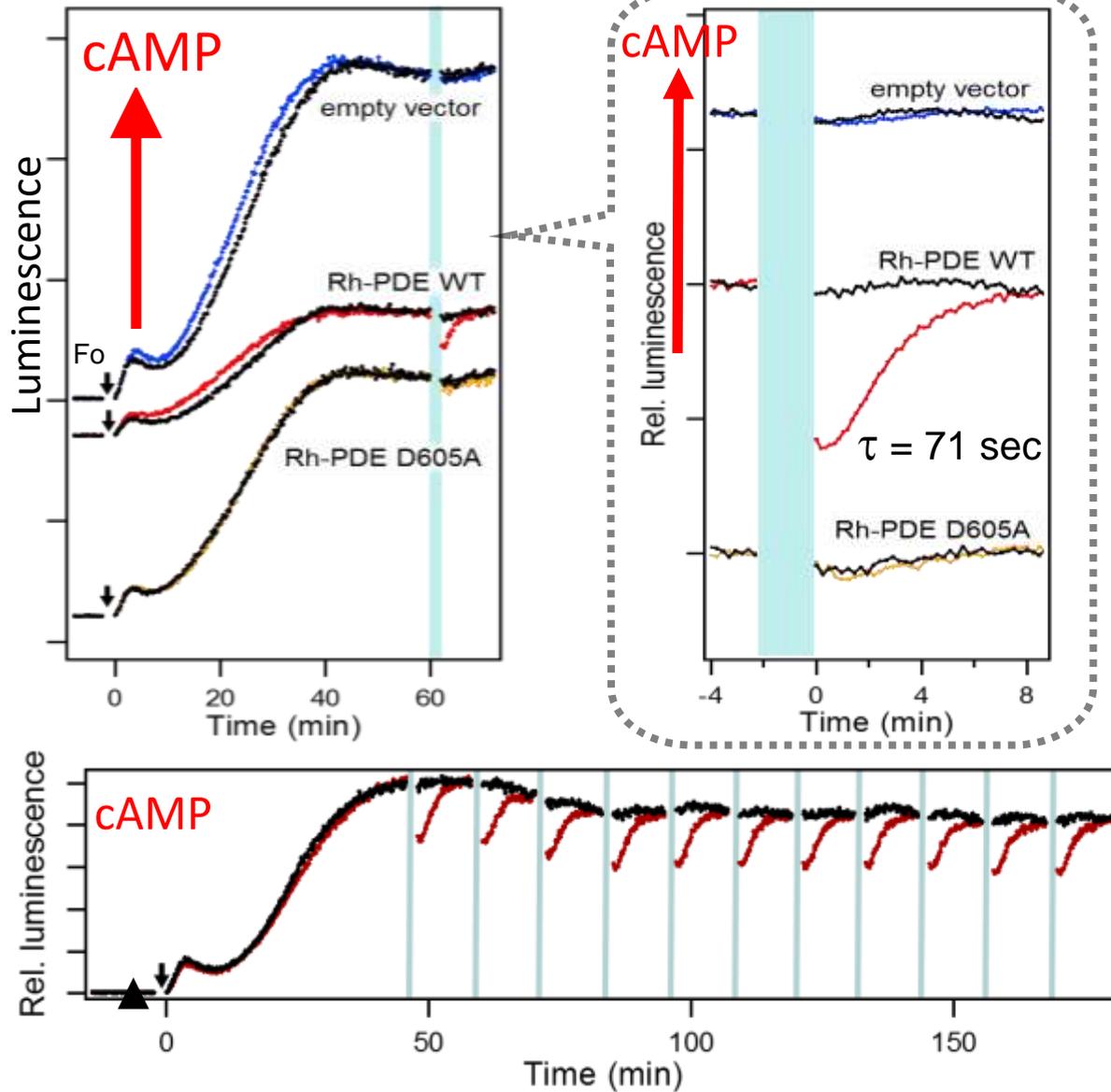


Parameters

	cGMP		cAMP	
	Dark	Light	Dark	Light
$V_{\text{max}}$ ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg-Rh}$ )	20.7	28.5	15.1	23.9
$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	97.1	68.0	968	781

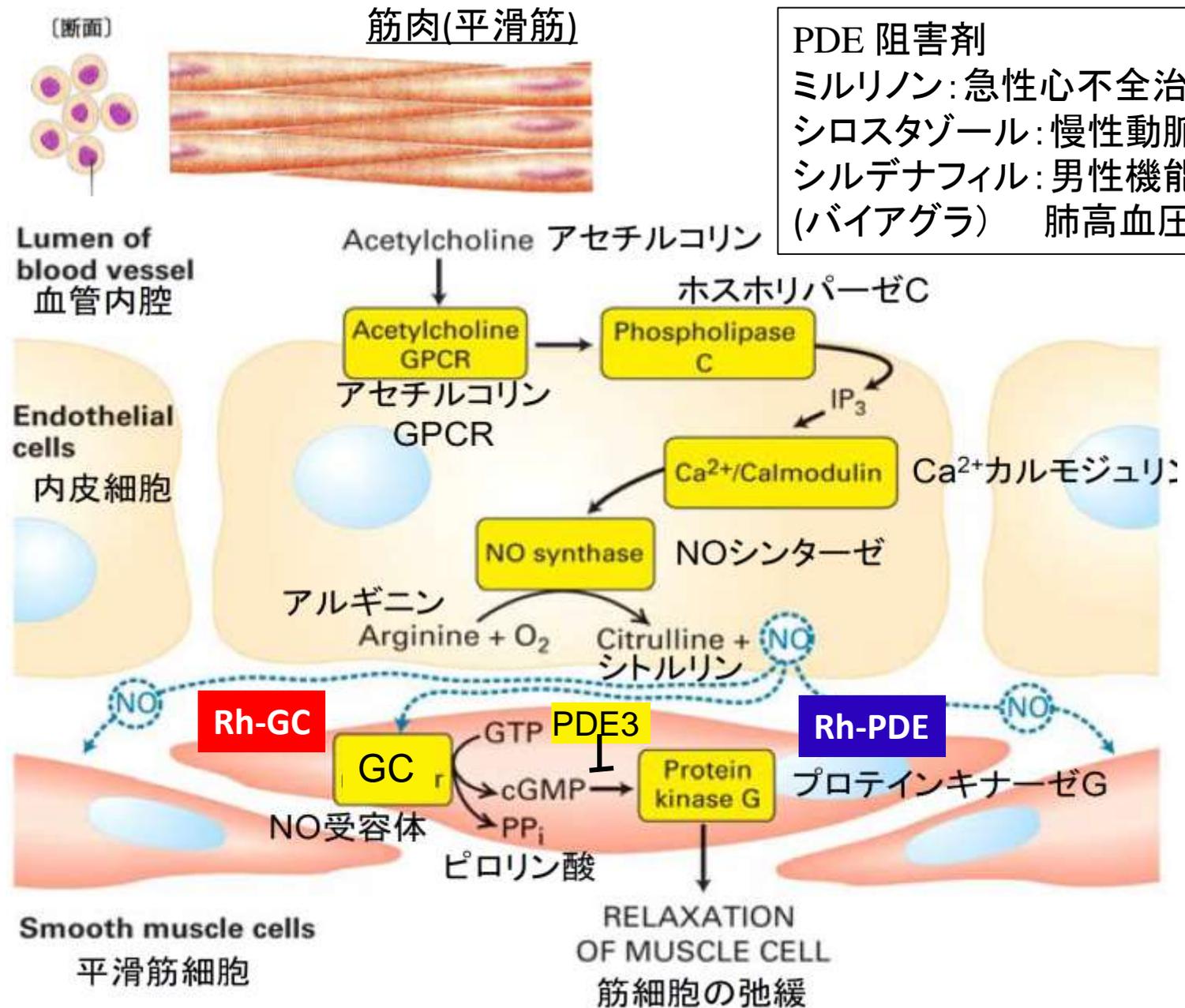
光照射  
510 nm

光照射  
510 nm



哺乳類細胞へ導入可能 → 創薬に役立てることはできるか？

# 一酸化窒素(NO)とcGMPによる血管平滑筋収縮の調節



PDE 阻害剤  
 ミルリノン: 急性心不全治療薬  
 シロスタゾール: 慢性動脈閉塞症  
 シルденаフィル: 男性機能障害(ED)  
 (バイアグラ) 肺高血圧症

# 従来技術とその問題点

- 既に様々なPDE阻害剤が実用化されている。しかし、組織、器官への非特異性に起因する副作用などの問題がある。
- 従来のチャンネルロドプシンは、膜電位を変化させる神経系や心臓機能などの研究に限定される。

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 光スイッチ型フォスフォジエステラーゼ (Rh-PDE) というタンパク質を発見した。

- 何ができるようになったのか

細胞内シグナル伝達物質であるcAMPやcGMPを光照射により迅速に分解することができ、それらが関与する種々の実験系に適応できる。

- どこが他の技術と違い優位なのか

一般的な薬剤投与とは異なり、光を使うことでその効果を秒単位で、標的細胞特異的に、操作することが可能である。

# 想定される用途

- 視覚疾患の治療
- cAMPやcGMPがシグナル伝達に関わる生体応答の光操作実験
- cAMPやcGMPが関わる疾患のモデル動物作成→疾患メカニズムの解明→治療法の開発

# 実用化に向けた課題

- 現在、cAMP, cGMPの分解活性の光操作が可能であることを培養哺乳類細胞で確認済み。
- 今後、生体組織での実験データを取得し、生体器官に適用していく場合の条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、光を照射しない際でもある程度の活性を示すため、これを低減できるよう技術を確立する必要もあり。

## 企業への期待

- 未解決の暗状態での活性については、変異体開発により克服できると考えている。
- 様々な生体組織への特異的遺伝子導入のためのウィルスベクター作製の技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、視覚再生医療分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : ロドプシンホスホジエステラーゼ
- 出願番号 : 特願2017-174601
- 出願人 : 名古屋工業大学
- 発明者 : 神取秀樹、角田聡、吉田一帆

# 産学連携の経歴

- 2018年-2020年 第一三共(株)と共同研究実施  
(TaNeDS)

# お問い合わせ先

**名古屋工業大学**

**産学官金連携機構**

**産学官コーディネータ 佐藤 久美**

**TEL 052-735-7276**

**FAX 052-735-5542**

**e-mail sato.kumi@nitech.ac.jp**