特集: 生物がみる光・生物をみる光〜生物物理学を照らす七色の光〜

生命機能の光エンジニアリング

石塚 徹¹, 江川 遼¹, 梅田桂子², 東海林亙², 八尾 寛^{1,3}¹東北大学大学院生命科学研究所²東北大学学際科学フロンティア研究所³東北大学大学院医学系研究科附属創生応用医学研究センター

Since the discovery of channelrhodopsins in 2002-2003, the light is now engineered to manipulate physiological states of a cell, a tissue or a body with the progress of three kinds of researches: (1) molecular biology of photoreceptive proteins, (2) cause-effect relationships in the biological system and (3) fabrication of opto-electronics or nanodevices. The near-infrared light, which conveys energy deep into the tissues, is expected to be used for optogenetics with the creation of proteins that change their conformations with such energy or the improvement of nanodevices that transfer the energy to photoreceptive proteins.

channelrhodopsin / protein engineering / optogenetics / optoelectronics / nanoscience / near-infrared

1.

はじめに

生物は、様々な方法で光を受容し、そのエネルギーを情報や栄養として利用してきた。例えば、単細胞緑藻類クラミドモナスは、淡水の池や沼などにふつうに生息する植物プランクトンの一種だが、2本の鞭毛を持って遊泳するとともに、葉緑体における光合成により栄養を得ている。クラミドモナスは、適度な光に集合するとともに、強い光から遠ざかる性質（光走性）を有している。このとき、光を受容する仕組みは、古くより研究の対象とされてきたが、2002-2003年に、日本、ドイツ、米国のグループにより、微生物型ロドプシンファミリーのタンパク質の一種が光受容体であることが解明された¹⁾。G. Nagel と P. Hegemann のグループは、光受容体と陽イオンチャネルの機能を併せ持つ2種類のロドプシンを同定し、それぞれ、チャネルロドプシン1 (ChR1)、チャネルロドプシン2 (ChR2) と命名した。高橋哲郎のグループは、これらがクラミドモナス眼点近傍の形質膜に局在することを報告した。また、J. L. Spudich のグループは、これらのロドプシンがクラミドモナスの光走性に関与していることを報告した。その後、様々な藻類からチャネルロドプシン近縁のタンパク質が報告されており、光受容イオンチャネルのファミリーを作っていると考えられる。

チャネルロドプシンの発見が引き金となり、3つの大きなエンジニアリング革命が始まっている²⁾。

[1] 分子レベルの光エンジニアリング

[2] 生体機能の光エンジニアリング

[3] 光学・マテリアルレベルの光エンジニアリング

チャネルロドプシンなど光感受性タンパク質を利用した生体機能の光エンジニアリングは、オプトジェネティクス（光遺伝学）とよばれている。しかし、広義には、分子レベルや光学・マテリアルレベルの技術も含まれる。さらには、生体機能を光学的に計測する技術も含みつつ、これらの技術が相互に連携しながら、爆発的に進展していくことが期待される。本稿においては、それぞれの技術革新について簡潔に述べるとともに、その将来像を展望したい。

2.

分子レベルの光エンジニアリング

チャネルロドプシンは可視光（青色～緑色）に応答して陽イオンを透過させて膜電位を制御する光受容イオンチャネルで、この分子単独で光受容とイオンチャネルの機能を実現させている特異なタンパク質である。クラミドモナスでは、500 nm 付近に吸収極大を持ち、脱感作がほとんど見られないが小さな光電流しか生じない ChR1 と、460 nm 付近に吸収極大を持ち、

Engineering Biological Systems for Light

Toru ISHIZUKA¹, Ryo EGAWA¹, Keiko UMEDA², Wataru SHOJI² and Hiromu YAWO^{1,3}¹Tohoku University Graduate School of Life Sciences²Tohoku University Frontier Research Institute for Interdisciplinary Sciences³Center for Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Medicine

大きな脱感作が生じるが比較的大きな光電流を発生させることができる ChR2 という 2 種類のチャネルロドプシンが発現している。光によるニューロンの活動制御という観点で両者を比較すると、ChR2 の方が優れているように思われた。実際、遺伝子工学技術により、ChR2 をニューロンに発現させると、400-500 nm の青色光に応答して効率よく脱分極を引き起こし、活動電位を発生させることができることが 2005-2006 年にかけて相次いで報告された。例えば K. Deisseroth のグループは、ChR2 をラット培養ニューロンに発現させ、ミリ秒オーダーの活動制御ができることを報告した³⁾。ほぼ同時期に、筆者らのグループは、**ウイルスベクター**を用いて ChR2 をマウス *in vivo* 海馬ニューロンに発現させ、青色 LED 光パルスにより、リズムミットに活動制御できることを報告した⁴⁾。ChR2 は、その優れた利便性から、光によるニューロン活動の制御分子（オプトジェネティクスツール）として急速に神経科学研究の領域に広がっていった。

しかし、ChR2 の光電流特性（細胞膜上での発現量、吸収スペクトルの多様性、光電流の大きさやキネティクスなど）はオプトジェネティクスに最適化されているとはいえない。そこで、この分子に様々な変異を導入することで、ネイティブとは異なった特性を持つ分子を創りだそうというアイデアが生まれたが、そもそもこの分子がどのようなメカニズムで光受容とイオンチャネルの機能を 1 個の分子内で実現しているのかからして謎だった。そこで、筆者らは ChR1 と ChR2 の性質の違いが構造のどの部分に由来するのかを調べるために、チャネルロドプシンの 7 回膜貫通構造に着目し、ChR2 の 7 回膜貫通構造を N 末端側から順次 ChR1 のものと置き換えたキメラ分子を作製して、それぞれのキメラ分子の細胞膜上での発現量、吸収スペクトル、光電流キネティクスを詳細に解析することで、構造-機能連関を明らかにした^{5), 6)}。この解析により、チャネルロドプシンの各膜貫通構造が担っている役割を明らかにするとともに、細胞膜上での発現量、光電流の大きさ、脱感作の小ささ、吸収スペクトルの広帯域化や長波長側へのシフトといった特性において、オプトジェネティクスに最適化された改変型チャネルロドプシンの開発（ChRWR, ChRFR, ChRGR の 3 種類）に成功した。新規のチャネルロドプシンの発見と相まって、キメラ分子の作製は、チャネルロドプシン改変の主要な方法の一つになっている⁷⁾。

チャネルロドプシンは、微生物型ロドプシタンパク質ファミリーに属しており、このファミリーには、光駆動プロトン (H^+) ポンプや光駆動塩化物イオン (Cl^-) ポンプなども含まれる。光駆動イオンポンプの構造-機能解析には長い歴史があり、その結晶構造や

イオン輸送メカニズムについても多くの知見が蓄えられていた²⁾。チャネルロドプシンのアミノ酸配列は、光駆動イオンポンプなどの他の古細菌由来のロドプシンのものと比べると、局所的には高い相同性が認められたものの、分子全体で眺めると必ずしもよく似ているとはいえるものではなかった。しかし、7 回膜貫通構造という共通の立体構造を有しているとの推定のもとに、いくつかのホモロジーアライメントが提案された。これにより、光駆動イオンポンプにおいて、イオン輸送や吸収スペクトルに影響を与えるアミノ酸残基に相当するチャネルロドプシンのアミノ酸残基に様々な変異が導入され、それらの中にはオプトジェネティクスツールとして有用な変異体も多く見出された⁸⁾。また、2012 年に ChR1 と ChR2 のキメラ分子 C1C2（筆者らの開発した ChRWR とほぼ同一のキメラ分子）の結晶構造が明らかにされたことで、チャネルポアを形成していると推定される領域の静電ポテンシャルの計算や精度の高い水分子との相互作用シミュレーションが可能となった⁹⁾。P. Hegemann のグループと K. Deisseroth のグループは独立に、ChR2（または C1C2）を陽イオンチャネルから塩化物イオン選択的チャネルに転換させた研究成果を 2014 年に発表した^{10), 11)}が、これらの改変体は、構造-機能連関研究や結晶構造解析の知見に基づいた部位特異的アミノ酸変異法により作製された^{10), 11)}。

藻類のゲノムデータベースの検索やトランスクリプトーム解析、あるいはクローニングにより、新種のチャネルロドプシンが単離・同定されている。これらの中から、オプトジェネティクスツールとして有望な分子を探索する手法もツールの選択肢の幅を広げる上で成果を挙げている。J. L. Spudis のグループは PsChR と名付けたチャネルロドプシンを *Platymonas subcordiformis* という緑藻から単離・同定した。PsChR（のちに PsChR2 と改名）はこれまでに同定されているチャネルロドプシンの中では、吸収極大がもっとも短波長（青色; 445 nm）である¹²⁾。一方、E. S. Boyden のグループは藻類のトランスクリプトーム解析により Chrimson と名付けた新種のチャネルロドプシンを発見した¹³⁾。Chrimson はこれまでに同定されているチャネルロドプシンの中で、吸収極大がもっとも長波長（赤色; 590 nm）である。このような吸収スペクトルの異なるチャネルロドプシンをそれぞれ異なるニューロン種に発現させることで、光刺激に使用する光の波長を変えるだけで、特定のニューロン種のみを優れた時間・空間精度で刺激することが可能になる。キメラや点変異導入、種々の環境下で生息している藻類のゲノム解析による新種のチャネルロドプシンの単離、そしてこれらの組み合わせによる人為的な分子改変など

により、吸収スペクトル、光电変換効率、透過イオンの選択性などにおいて多様なチャンネルロドプシンの開発が行われ、ツールとしての選択肢の幅が広がっていくものと思われる (図 1a)。

チャンネルロドプシンは陽イオンチャンネルなので、ニューロンの脱分極を引き起こす脱分極ツールとして使われている。では、その反対の作用を持つ過分極ツールはどうなっているのだろうか？ この目的には、特殊な環境下に存在している古細菌から単離されたロドプシンが使われている (図 2)。例えば、ハロロドプシン (NpHR) は光駆動塩化物イオンポンプで、ニューロンに発現させ、光パルス刺激を与えるとその刺激に同期して細胞外の Cl^- を細胞内に輸送する。この結果、細胞内の Cl^- 濃度が増加して膜電位は過分極となり活動電位が発生しにくくなる。また、光駆動プロトンポンプである ArchT の場合は、光刺激に同期して細胞外にプロトンを排出することで膜電位が過分極

となり、活動電位の発生を抑制する。神取秀樹のグループにより近年単離された海産真正細菌 *Krokinobacter eikastus* 由来のロドプシン・KR2 は、光駆動 Na^+ ポンプとしてはたつき、これも過分極型のオプトジェネティクスツールとして有用であることが報告された¹⁴⁾。古細菌や真正細菌の世界は非常に多種多様なので、今後新しい微生物型ロドプシンが発見・単離され、それらの中から新たなオプトジェネティクスツールが開発されることが期待される¹⁵⁾。ところで、古細菌や真正細菌に由来するロドプシンを哺乳類細胞に発現させても、その発現量は極めて少ないか、発現しても細胞膜まで輸送されずに細胞内膜系に貯留してしまい、これが細胞変性や細胞死を引き起こすことさえある。そこで哺乳類細胞での発現を改善することを目的とした様々な改変が試みられている。例えば、ツールを発現させる細胞 (宿主) に合わせたコドンの最適化がその一例である。コドンとは、核酸の塩基配列がタンパク質に翻訳される際に使われる 3 個の連続したヌクレオチドの塩基の組み合わせのことで、一つのコドンは一種類のアミノ酸を規定している。このコドンの使われ方が生物種によって大きく偏っていることが知られており、使用頻度の少ないコドンが続くと、タンパク質翻訳の律速になってしまう。蛍光タンパク質として有名な緑色蛍光タンパク質 (GFP) はオワンクラゲ (*Aequorea victoria*) に由来するため、野生型の GFP 遺伝子を哺乳類細胞に導入して発現させても、十分量のタンパク質が作られず、蛍光強度もイメージングツールとしては不十分であった。しかし、発色団を形成するアミノ酸の一つを置換し、さらにコドンをヒトなどの哺乳類細胞でよく使われているコドンに置き換えたことで、哺乳類細胞での発現に優れ、イメージングに十分な蛍光を発する enhanced GFP (EGFP) が開発されたのは、コドン最適化の一例である¹⁶⁾。また、ニューロンに元々発現している内向き整流型 K^+ チャンネル・Kir2.1 に由来する細胞膜移行配列や小胞体 (ER) 輸出处配列といった細胞内移行配列を付加する方法 (いわゆる Deisseroth の 3.0 バージョンとよばれる基本構成) などにより、異所性に発現させた光駆動イオンポンプが細胞内膜系に貯留することを防ぎ、細胞膜上への移行を促進させることを狙った改変など、様々な工夫が蓄積されている。

図 1 (a) 吸収波長特性におけるチャンネルロドプシンの多様性。カルシウム感受性蛍光センサータンパク質 (GECI) の吸収スペクトルとの重なりを図示した。(b) 組織構成成分のエネルギー吸収率。700-1000 nm の近赤外光帯域は、組織吸収率が低いので、「生体の窓」とよばれている。

図 2 脱分極性ロドプシンと過分極性ロドプシン。

3.

生体機能の光エンジニアリング

第二の革命は、チャンネルロドプシンなどの光受容機能分子を利用して、生理機能を光操作するエンジニアリングである。オプトジェネティクスを従来の細胞活動の操作技術と比較した場合、特筆すべき点は高い

時間精度・空間精度による操作が可能なことである。生きている動物の脳内の神経回路を操作する場合を考えるとその重要性をイメージしやすい。神経組織では、百万個オーダーの莫大な数の細胞がわずか1立方ミリメートル中に詰め込められており、興奮性ニューロンや抑制性ニューロン、グリア細胞など様々な種類の細胞が混在して非常に複雑な回路を形成している。神経回路を操作する技術としては、電気刺激と局所的な薬物投与がこれまで主に使われてきた。電気刺激の場合、脳に電極を刺して目的領域を高い時間精度で刺激することができるが、刺激の範囲は電極周辺に拡散するため特定の細胞群だけを選択的に刺激することは困難である。また薬物投与の場合、神経伝達物質の受容体の作動薬を使うことで同種の細胞群を刺激したり、阻害薬を使うことで抑制したりすることが可能だが、薬物が細胞の隙間を拡散したり長時間留まったりするため時間・空間精度はよくない。これらに対してオプトジェネティクスでは、近年の遺伝子工学技術を駆使することで特定の細胞にチャンネルロドプシンなどの分子ツールを発現させることができるほか、発現細胞でミリ秒オーダーの活動制御も可能である。

このようなオプトジェネティクスの技術を活用した神経回路操作に適したモデル生物として、ゼブラフィッシュが注目されている。ゼブラフィッシュの幼生は体が透明なために生きたままの状態での神経回路の光操作が容易であり、さらにその光透過性は後述する光による神経活動の計測にも有利である。また遺伝子工学の基盤技術が充実しており、例えば遺伝子組換え体の作製によりチャンネルロドプシンを特定のニューロンに発現させることが可能である。近年、川上浩一によりゼブラフィッシュの GAL4 ライブラリーが作製・整備され¹⁷⁾、NBRP (ナショナル・バイオリソース・プロジェクト) から分譲されているが、研究者はこのライブラリーを用いることによって以前より容易に、標的とする組織や細胞群に任意の遺伝子を発現させることができるようになってきている。こうした動物モデルの整備により、脊椎動物間で共通の神経回路、例えば体幹・付属肢のリズム運動、驚愕反射、眼球運動といった個体の運動機能を担う神経回路の研究にオプトジェネティクスの手法が利用され始めている^{18), 19)}。さらに今後は探索・闘争・恐怖といった高次の神経活動の研究においてもオプトジェネティクスによるアプローチが効果的に利用されるであろう^{20), 21)}。

筆者らは最適化したチャンネルロドプシンの一つである ChRWR を UAS プロモーターの制御下に置き、その遺伝子配列をゼブラフィッシュのゲノムに組み込んだトランスジェニック系統 *Tg (UAS:ChRWR-GFP)* を樹立することで、前述の GAL4 ライブラリーの系統と

の組み合わせにより特定のニューロンで ChRWR を発現させるシステムを構築した²²⁾。例えば GAL4 系統の一つである SAGFF36B 系統は、体幹部・尾部の表皮知覚を担う RB (Rohon-Beard) ニューロンで選択的に UAS プロモーターを駆動することが公表されており、これと筆者らの樹立した系統との掛け合わせは RB ニューロンに ChRWR を持つゼブラフィッシュ胚を産出する。このゼブラフィッシュ幼生の尾部領域へ光照射を行うと、大きな機械的刺激が尾部に唐突に与えられた状況の神経活動を生じ、驚愕反射の一つである逃避行動が誘発された (電子付録)。このように遺伝子工学により特定の細胞群にチャンネルロドプシンを発現させた上で、さらに光照射領域を限定すればより高い解像度で神経回路の解析を行うことができる。このためのデバイスとして、レーザー光による刺激装置や DMD (Digital Micromirror Device)、LcoS (Liquid crystal on silicon) を利用したパターン型光照射装置が各社から開発・供給されており、筆者らは共焦点レーザーを利用したデバイス (Nikon 社製 A1R) を使用し、単一細胞レベルの解像度で個々の RB 知覚ニューロンの引き起こす反応を比較することに成功している。このような個々の細胞の神経活動と生物の行動発現とを比較・対応させた神経機能の解析は、オプトジェネティクスがもたらす新しい研究手法といえ、今後の神経科学領域に大きな成果をもたらすことが期待される。

いまや、様々な実験動物において、例えば、チャンネルロドプシンを摂食行動に関連するニューロン群だけに発現させて光刺激することで餌をとめどなく食べさせたり、怖い体験をした時に活動した細胞群に発現させて光刺激することで恐怖体験を思い出させて居すくませたりするような、行動や記憶の人為的な操作が可能となり、その背景にある神経回路機構にまでアプローチすることができるようになった。このような利点により、オプトジェネティクスは登場して間もなく爆発的に神経科学分野に普及し、スタンダードの研究手法としての地位を確立しつつある。

光で細胞機能を「操作」する技術と同様に、光で細胞機能を「計測」する技術も発展を続けている。広義には、後者もオプトジェネティクスの範疇である。その中でも代表的なものが、カルシウム感受性蛍光センサータンパク質 (GECI: genetically encoded Ca^{2+} indicator) である。ニューロンが活動すると、電位依存性カルシウムチャンネルが開くことで細胞内のカルシウム濃度が一過的に上昇する。GECI を導入することで、このカルシウム変動を蛍光の強さの変化として捉え、神経活動を計測することができる。他にも、膜電位変動や開口放出といった細胞機能をターゲットとしたプローブや、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET: fluores-

cence resonance energy transfer) を利用して分子構造の変化を捉え、任意の分子の活性化状態を検出するプローブなど、光で計測できる対象は多種多様である²³⁾。

近年ではさらに、「光操作」と「光計測」を組み合わせ、神経活動を光で引き起こしその活動を光で計測するような、オール光のアプローチも実現しつつある。同じ光を使って操作と計測を同時に行おうとする場合、ネックとなるのは励起波長の干渉の問題である。例えば、活動を計測するための励起光で活動を操作してしまうという問題が生じ得る。しかし、青色光で活性化するチャンネルロドプシンと赤色光 GECI を上手に組み合わせれば、励起光の干渉を最小限に抑えられる(図 1a)²⁴⁾。現在ではまだプローブの応答波長のバリエーションは少ないが、近赤外域にまで帯域を広げることにより、複雑な細胞機能や神経回路に対して文字通り自在に光を当てることのできる時代が来るだろう。

4.

光学・マテリアルレベルの光エンジニアリング

脳内のニューロンを光刺激するにあたり、光ファイバーや光導体プローブを媒体として、LED やレーザーからの光を標的ニューロンに照射する方法が一般的である²⁵⁾。これらのいくつかは、小型化され、光源、電源、受信装置などを頭蓋に固定し、光のオン・オフを遠隔操作できるようになった。また、テトロッド、多点電極、イメージングシステムなどと組み合わせ、多数のニューロンの活動を並行して計測することができるようになった²⁶⁾。しかし、脳などの組織により可視光が吸収されるので、ファイバー先端をできるだけ標的に近づけるとともに、比較的強い光で照射する必要がある。また、標的以外の細胞や通過線維を非特異的に光刺激する可能性がある。

これには、光源をできるだけ小さくし、標的細胞に近接させる方法が有効である。半導体製造技術を応用し、シリコンウェファーに窒化ガリウムのパターンを作りこむことにより、単一細胞レベルの大きさの LED (μ LED) が作られている²⁷⁾。同様に、微小な電極、シリコン・フォトダイオードや温度センサーなどを作りこめば、脳内微小ネットワークの動作を双方向的に解析することができるだろう。また、このようなマイクロデバイスを複数操作することにより、多点並列的なネットワーク解読が行われるだろう。今後、マイクロデバイスにパワーを供給する方法や双方向的な信号をやり取りする方法が改善されることにより、適用が拡大することが期待される。

光源をさらにスケールダウンするには、ナノマテリアル技術が有効になるだろう。例えば、希土類元素混合物の結晶体のランタニドナノ粒子 (LNP) は、近赤

外光エネルギーを吸収し、可視光を発光する性質(アップコンバージョン)を有している。この性質を利用し、近赤外光エネルギーでチャンネルロドプシンを活性化することができるようになった²⁸⁾。同様に、ラジオ波、磁場、超音波などのエネルギーを効率よく可視光に変換するナノ粒子がオプトジェネティクスに用いられる可能性がある。さらに、これらのナノ粒子をチャンネルロドプシン分子などに接着させることにより、分子レベルの光操作が見込まれる。

5.

おわりに

チャンネルロドプシンに始まったオプトジェネティクスは、時間・空間精度において優れたニューロンの活動制御を可能にした。そのインパクトは絶大で瞬く間に神経科学研究に不可欠な方法論の一つになった。当初は光による膜電位制御が主要な操作対象だったため、ニューロンや筋肉などの興奮性細胞への応用に制限され、脳神経科学分野でのみ注目を集めた手法であったが、その後のツール開発によって、時間・空間精度に優れた細胞内シグナル伝達系や遺伝子発現調節が可能になったことで、広く細胞生物学の分野にまでその活用を広げつつある²⁹⁾。

オプトジェネティクスは、光を使っている点において、刺激の非侵襲性もその特徴の一つに挙げられる。しかし、実際には可視光領域を使っているために、光の組織透過率という点において問題がある(図 1b)。一般的に、*in vivo* オプトジェネティクスでは、光ファイバーや微小光導波路付き電極(マイクロオプトロード)などを用いているため、自由行動下での動物の行動実験において制限がある。非侵襲的に神経活動をコントロールすることは神経回路の生理機構の解明にとって重要なだけでなく、神経疾患に対する長期間の治療にも応用できる可能性が展望される。そこで、真の意味において非侵襲的で時間・空間精度に優れた活動制御法を目指して、近赤外光、ラジオ波、超音波、そして磁場といった個体の組織の深部にまで十分届くエネルギー媒体を用いて、優れた時空間解像度での活動制御を目指す研究が展開することが予想される。

これまでのところ、天然に存在するラジオ波感受性イオンチャンネルのような分子の報告はないが、まだまだ完全には解明されていない地球上の全生物のゲノム情報のどこかに、非侵襲的かつ時間・空間精度に優れた生体機能調節を可能にする分子が隠れているかもしれない。また、オプトエレクトロニクスやナノサイエンスとの融合が加速されることにより、技術的な壁を乗り越えていくことが予想される²⁹⁾。

文 献

- 1) Hegemann, P. (2008) *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**, 167-189. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092847.
- 2) Yawo, H. *et al.* (2015) *Optogenetics: Light-Sensing Proteins and Their Applications*, Springer, Tokyo. DOI: 10.1007/978-4-431-55516-2.
- 3) Boyden, E. S. *et al.* (2005) *Nat. Neurosci.* **8**, 1263-1268. DOI: 10.1038/nn1525.
- 4) Ishizuka, T. *et al.* (2006) *Neurosci. Res.* **54**, 85-94. DOI: 10.1016/j.neures.2005.10.009.
- 5) Wang, H. *et al.* (2009) *J. Biol. Chem.* **284**, 5685-5696. DOI: 10.1074/jbc.M807632200.
- 6) Wen, L. *et al.* (2010) *PLoS ONE* **5**, e12893. DOI: 10.1371/journal.pone.0012893.
- 7) 八尾 寛, 石塚 徹. 改変された光受容体チャネル型ロドプシンタンパク質. 特許第 5544659 号. 2014-05-23.
- 8) Mattis, J. *et al.* (2012) *Nat. Methods* **9**, 159-172. DOI: 10.1038/nmeth.1808.
- 9) Kato, H. E. *et al.* (2012) *Nature* **482**, 369-374. DOI: 10.1038/nature10870.
- 10) Wietek, J. *et al.* (2014) *Science* **344**, 409-412. DOI: 10.1126/science.1249375.
- 11) Berndt, A. *et al.* (2014) *Science* **344**, 420-424. DOI: 10.1126/science.1252367.
- 12) Govorunova, E. G. *et al.* (2013) *J. Biol. Chem.* **288**, 29911-29922. DOI: 10.1074/jbc.M113.505495.
- 13) Klapoetke, N. C. *et al.* (2014) *Nat. Methods* **11**, 338-346. DOI: 10.1038/nmeth.2836.
- 14) Kato, H. E. *et al.* (2015) *Nature* **521**, 48-53. DOI: 10.1038/nature14322.
- 15) Sharma, A. K. *et al.* (2006) *Trends Microbiol.* **14**, 463-469. DOI: 10.1016/j.tim.2006.09.006.
- 16) Yang, T. T. *et al.* (1996) *Nucleic Acids Res.* **24**, 4592-4593. DOI: 10.1093/nar/24.22.4592.
- 17) Kawakami, K. *et al.* (2010) *BMC Dev. Biol.* **10**, 105. DOI: 10.1186/1471-213X-10-105.
- 18) Kimura, Y. *et al.* (2013) *Curr. Biol.* **23**, 843-849. DOI: 10.1016/j.cub.2013.03.066.
- 19) Portugues, R. *et al.* (2013) *Curr. Opin. Neurobiol.* **23**, 119-126. DOI: 10.1016/j.conb.2012.11.001.
- 20) Cachat, J. *et al.* (2010) *Nat. Protoc.* **5**, 1786-1799. DOI: 10.1038/nprot.2010.140.
- 21) Amo, R. *et al.* (2014) *Neuron* **84**, 1034-1048. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.10.035.
- 22) Umeda, K. *et al.* (2013) *Neurosci. Res.* **75**, 69-75. DOI: 10.1016/j.neures.2012.08.010.
- 23) Knöpfel, T. (2012) *Nat. Rev. Neurosci.* **13**, 687-700. DOI: 10.1038/nrn3293.
- 24) Egawa, R. *et al.* (2013) *PLoS ONE* **8**, e59179. DOI: 10.1371/journal.pone.0059179.
- 25) Warden, M. R. *et al.* (2014) *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **16**, 103-129. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071813-104733.
- 26) Buzsáki, G. *et al.* (2015) *Neuron* **86**, 92-105. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.01.028.
- 27) Kim, T. I. *et al.* (2013) *Science* **340**, 211-216. DOI: 10.1126/science.1232437.
- 28) Hososhima, S. *et al.* (2015) *Sci. Rep.* **5**, 16533. DOI: 10.1038/srep16533.
- 29) Yawo, H. *et al.* (2013) *Dev. Growth Differ.* **55**, 474-490. DOI: 10.1111/dgd.12053.

石塚 徹

石塚 徹 (いしづか とおる)

東北大学大学院生命科学研究科講師
1997 年新潟大学大学院自然科学研究科博士課程修了. 博士 (理学). 2002 年より現職.
研究内容: 分子・細胞神経生物学
連絡先: 〒 980-8577 宮城県仙台市青葉区片平 2-1-1

E-mail: ishizuka@m.tohoku.ac.jp

URL: http://neuro.med.tohoku.ac.jp

江川 遼

江川 遼 (えがわ りょう)

東北大学大学院生命科学研究科助教 (研究特任)
2013 年東北大学生命科学研究科博士課程修了. 博士 (生命科学). 14 年より現職.
研究内容: 神経生物学
連絡先: 同上

E-mail: ryo.egawa.e4@tohoku.ac.jp

URL: 同上

梅田桂子

梅田桂子 (うめだ けいこ)

東北大学研究学際科学フロンティア研究所教育支援者
2013 年東北大学生命科学研究科博士課程修了. 博士 (生命科学). 13 年より現職.

研究内容: 発生生物学・神経生物学

連絡先: 〒 980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻 青葉 6-3

E-mail: k.umeda@m.tohoku.ac.jp

URL: 同上

東海林 互

東海林 互 (しょうじ わたる)

東北大学学際科学フロンティア研究所准教授
1993 年東北大学大学院医学系研究科博士課程修了. 博士 (医学). 2012 年より現職.

研究内容: 発生生物学・神経生物学

連絡先: 同上

E-mail: wataru.shoji.a2@tohoku.ac.jp

URL: http://www.fris.tohoku.ac.jp/fris/organization/advanced/shoji.html

八尾 寛

八尾 寛 (やお ひろむ)

東北大学大学院生命科学研究科教授
1981 年京都大学大学院医学系研究科博士課程修了. 医学博士. 2001 年より現職.

研究内容: 光遺伝学・神経生物学

連絡先: 〒 980-8577 宮城県仙台市青葉区片平 2-1-1

E-mail: yawo-hiromu@m.tohoku.ac.jp

URL: http://neuro.med.tohoku.ac.jp