光活性化アデニル酸シクラーゼ：神経生物学の発展につながる新たなツール

周 至文, 小山 隆太

光遺伝学的手法は、光活性化イオンチャネルを発現させた細胞を高精度な時間的制御下で活性化もしくは不活性化させる方法である。この手法により、脳内の神経細胞活動を時空間的に制御することが可能になり、脳機能研究をおこなう際に非常に強力なツールとなっている(1)。しかし、神経細胞の構造形成や神経回路形成のメカニズムを解明するためには、イオンチャネルだけではなく、細胞内シグナル伝達系を時空間的に制御する方法が必要となる。これを可能にする方法のひとつとして、我々は最近、青色光の照射に応じて環状アデノシン一リン酸 (cAMP) を産生する光活性化アデニル酸シクラーゼ (PAC: photoactivated adenylyl cyclase) に着目し、その利用を試みている (図 1)。

PAC は伊関峰生博士らによってミドリムシの鞭毛膨潤部から分離・精製された(2)。ミドリムシが光に対して回避運動を示すことは古くから知られていたが、その運動を制御する光感受性タンパク質は特定されていなかった。伊関博士らはその実行分子として、PAC α と PAC β を同定し、これらの分子が青色光の刺激により cAMP を合成するという重要な発見をした。PAC α と PAC β は 380~470 nm の紫/青色光によって特異的に活性化する(3)。PAC α および PAC β を発現させた HEK293T 細胞では、数秒の光照射によって細胞内 cAMP 濃度が急峻に上昇し、その後はホスホジエステラーゼによって分解され、数分以内にベースラインに戻ることが示された(3)。PAC α は PAC β と比較して光刺激に対する応答性が高いため、現在のところよく使われている(4)。

細胞内 cAMP 濃度の上昇は神経活動や神経伝達に影響し、個体の行動変化として顕れる。PAC α を線虫のコリン作動性神経に発現させ、光刺激したところ、ア

セチルコリン放出を介した泳動頻度と移動速度の増加が見られた(5)。また、PAC α と PAC β をアメフラシの感覚神経で活性化させると、神経活動の持続時間が増加し、学習の成立につながることを示唆された(6)。なお、近年、ベギアトア菌 (*bacterium Beggiatoa*) から、新たな PAC、すなわち bPAC が発見された(7)。bPAC はこれまでの PAC α と比較して暗所での活性が低いという利点がある。bPAC の使用例として、bPAC および環状ヌクレオチド感受性チャネルを共発現させた海馬錐体細胞では、光刺激に応じた脱分極電流が記録されている(7)。また、bPAC を発現させたマウス精子への光刺激は精子運動と卵子との接合を促進した(8)。

cAMP が制御する細胞内シグナリングは細胞構造の形成を調節するため、PAC は神経回路形成の研究にも応用されている。アフリカツメガエル の脊髄神経に発現させた PAC α を活性化すると、軸索誘導因子 Netrin-1 のシグナル遮断によって誘導された脊髄交連線維の異常投射を回復させた(9)。また、我々の研究グループでは、ラット由来の初代培養神経細胞に PAC α を発現させ、細胞内 cAMP 濃度の変動による軸索形態形成を検証しており、現在までに細胞内 cAMP 量上昇の時間的制御が軸索伸長と軸索分枝の分別化に必要であることを発見した。また、細胞内 cAMP 濃度の周期的変化が網膜神経細胞軸索の正常な投射に必要であることから(10)、細胞内 cAMP 量の時間的制御が神経回路形成において重要なことがわかる。今後は、PAC を用いた細胞内 cAMP 濃度の高精度な時間的制御により、神経回路形成機構に新たな知見が加えられることが期待される。また、PAC によって神経回路形成を人工的に制御することで、神経回路変性を有する脳疾患モデル動物の作製や、再生医療の基礎的研究の発展に貢献できる。

著者の利益相反：開示すべき利益相反は無い。

文 献

- 1) Tye KM, et al. Nat Rev Neurosci. 2012;13:251-266.
- 2) Iseki M, et al. Nature. 2002;415:1047-1051.
- 3) Yoshikawa S, et al. Photochem Photobiol Sci. 2005;4:727-731.
- 4) Schroder-Lang S, et al. Nat Methods. 2007;4:39-42.
- 5) Weissenberger S, et al. J Neurochem. 2011;116:616-625.
- 6) Nagahama T, et al. Neurosci Res. 2007;59:81-88.
- 7) Stierl M, et al. J Biol Chem. 2011;286:1181-1188.
- 8) Jansen V, et al. Elife. 2015;4.
- 9) Nicol X, et al. 2011;108:13776-13781.
- 10) Nicol X, et al. Nat Neurosci. 2007;10:340-347.

図 1 青色光による PAC 活性化と cAMP 生成の模式図

キーワード：光活性化アデニル酸シクラーゼ、神経活動制御、回路形成

東京大学大学院 薬学系研究科 薬品作用学教室 (〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1)

E-mail: rkoyama@mol.f.u-tokyo.ac.jp 原稿受領日：2015 年 5 月 1 日、依頼原稿

Title: Photoactivated adenylyl cyclase, a new optogenetic tool for neurobiology Author: Zhou Zhiwen, Ryuta Koyama