

2020/12/10 文献セミナー回答 (B4 幅崎)

D156 の変異について、アラニン以外の疎水性残基への置換でも同じ表現型が見られるか？

D156 の変異で C128X のような光サイクルを大きく遅らせるような変化が見られるのではないかと最初に予想し変異体を作製した論文では、アラニン以外に置換した変異体について、特に触れられてはいないようでした。

その後の報告を見ても、D156 をその他の残基に変えたという報告は、ざっと見た感じでは見当たりませんでした。

アラニン mutant 以外で目立った表現型の変化が見られないのか、あるいはチャネル機能の喪失やフォールディング不良など根本的な問題が生じてしまったりするのか、そのあたりはよく分かりませんでした。

Deisseroth, Hegemann, Yizhar *et al. Nature* **2011**, *477*, 171-178.

オプトジェネティクスを治療に用いる場合、光を当て続けることになるのか？

SSFO や SOUL でも、神経活動活性化の持続時間はせいぜい 30 分ほどなので、一度当てれば済むというのは難しいのではないかと思います。

電極を用いたパーキンソン病治療の場合は、患者さんが自分で刺激を調整しつつ常時使い続ける形のようなので、短期的な話で言えば、単純に電極よりも選択性が高いことを活かした代替法という形になるのではないのでしょうか。

ちなみに現状最も臨床応用に近いのは、(そのあたりが問題にならない)網膜変性による失明の治療だそうです。

<http://www.nouge.net/approach/%E8%84%B3%E6%B7%B1%E9%83%A8%E5%88%BA%E6%BF%80%E7%99%82%E6%B3%95dbs-deep-brain-stimulation/>

Paquet *et al. Front. Neural Circuits* **2020**, *14*, 41

↑オプトジェネティクスの臨床応用を目指した研究と課題をまとめたレビューです。

Plasmid 導入の時に硬膜や脳を傷つけることは問題ではないのか？

これは SOUL に残る課題として指摘されているところです。

光源を埋め込むほどの侵襲性ではないというようにセミナーでは回答しましたが、やはり改善はしたいポイントで、それを目指した研究もおこなわれているようです。

具体的には、ウイルスベクターを静脈注射しターゲティングによって脳を傷つけることなくベクターを運搬する方法が研究されていて、AAV(アデノ随伴ウイルス)ベクターのカプシドに変異を入れることで効率的なターゲティングを目指しているようです。

Paquet *et al. Front. Neural Circuits* 2020, 14, 41

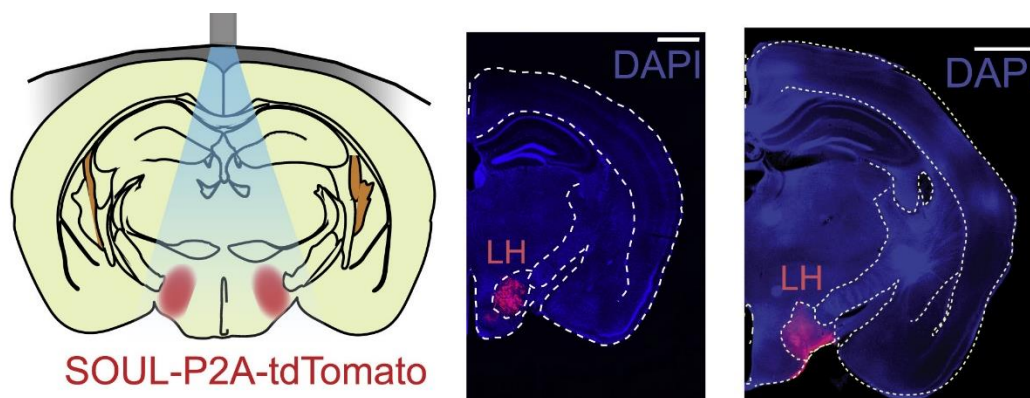
↑ オプトジェネティクスの臨床応用を目指した研究と課題をまとめたレビューです。

局所にウイルスベクターを注入する方法だと、何個のニューロンに広がってしまうか？

何個、というの難しいのですが、どれぐらいのウイルスが実際にターゲット細胞に感染するのかの指標として、「力価」というものが知られています。

例えば SOUL のマウスで用いられた AAV ベクターの力価は $2-9 \times 10^{13}$ GC/mL で(GC = genome copies)、これが感染に必要な最低濃度とのことです(ちなみにこれは高い部類)。空間的な選択性が十分かという意味では、SOUL の発現を同時発現させた蛍光タンパク質のシグナルを元に見た画像より、狙った領域からほぼはみ出すことなく遺伝子導入できていることが分かります。

(SOUL は細胞種特異的な発現のシステムも用いているため、これも効いているのかもしれませんが。)

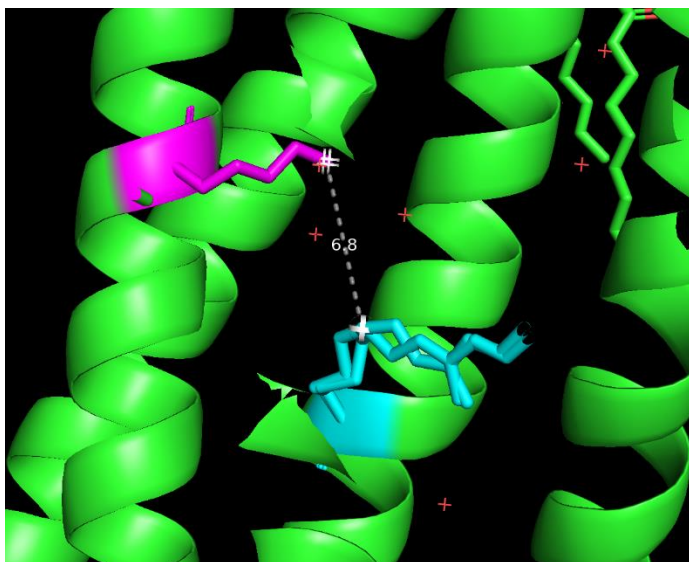


Feng *et al. Neuron* 2020, 107 (1), 38-51.

イミニウムが近くのリジン残基に転位していく可能性はないのか？

レチナールが別のリジン残基に転位するという報告は、ざっと調べた感じではなさそうでした。

結晶構造を見てみたところ一番近いリジンは(見落としがなければ)画像のような位置にありましたが、そこそこ大きな移動になってしまいそうな印象です。



PDB ID: 6EID, cyan = K + Retinal, magenta = another K

SOUL が二つのミュータントの足し算になる理由は？

SOUL の結晶構造や分光学的なデータはまだないため、これについては現状答えがないと思います。

変異を足せば表現型も足し算になるのは当たり前かというところとも限らないようで、SOUL で SSFO と TC mutant の表現型がちょうど足し算になったのは偶然の成功だったと、開発者らは述べています。

(実際 TC mutant の開発時にすでに別の変異体との組み合わせが作られていますが、個人的には難航したような印象を受けました。)

だからこそ、一見「足せばいい」という簡単なアイデアに見えますが、大きな成果として注目されているのかもしれませんが。

<https://www.the-scientist.com/news-opinion/deep-brain-optogenetic-control-without-implants-67498>

↑ SOUL 開発者へのインタビュー