

## 様々な神経細胞の活動制御と行動発現

山中 章弘

オプトジェネティクスの成功には、チャンネルロドプシン 2(ChR2)やハロロドプシンといった光活性化分子を特定の神経に十分量発現させることが重要である。多くの場合、ウイルスベクターが遺伝子導入に用いられているものの、ウイルスベクターはインジェクション手技などのばらつきによって感染領域や発現量に違いが生じ、異なる結果が得られることがある。この問題を解決するために、我々はテトラサイクリン遺伝子発現誘導システムをハウスキーピング遺伝子である $\beta$ -actin 遺伝子座にノックインすることにより、様々な種類の神経細胞に光活性化分子を安定的に発現することを可能にした新しい遺伝子改変マウスを作成した(KENGE-TetO ChR2 マウス)。このマウスと様々な神経細胞特異的にテトラサイクリントランスアクティベーター(tTA)タンパク質を発現するマウスとを交配させてダブルトランスジェニックマウスを作成すると、その神経細胞特異的に ChR2 を発現させることが出来る。まずは、光操作において実績がある視床下部のオレキシン神経を対象として機能検証を行った。オレキシン神経細胞特異的に tTA を発現する orexin-tTA マウスと交配させて、オレキシン神経特異的に ChR2 を発現する遺伝子改変マウスを作成し、組織化学的解析によって、オレキシン神経特異的に ChR2 が発現していることを確認した。次に、スライスパッチクランプを用いて光でオレキシン神経活動を十分活性化できることを確認した。さらに、インビボにおいてオレキシン神経細胞を光で活性化させると覚醒を誘導出来ることを確認した。このことから、同手法が正しく機能することが確認できた。そこで本手法を視床下部のメラニン凝集ホルモン産生神経(MCH 神経)に適用し、その機能を制御することを試みた。MCH 神経細胞特異的に tTA を発現する遺伝子改変マウス(MCH-tTA)を KENGE-TetO ChR2 マウスと交配させ、MCH 神経特異的に ChR2 を発現させた。オレキシン神経細胞と同様にして、組織化学的解析によって MCH 神経細胞特異的に ChR2 が発現していることを確認し、光で活動を操作出来ることを電気生理学的に確認した。MCH 神経細胞は自発発火が少なく、光で持続的に活動電位を発生する最適条件を電気生理実験において詳細に検討し、インビボにおいて光操作を行った。昼間の覚醒時に MCH 神経細胞を光で活性化することによって、マウスは摂食行動を開始した。MCH 神経活動を活性化している間の摂食量が有意に亢進した。以上のことから、KENGE-TetOChR2 マウスが様々な神経細胞において十分量の ChR2 を発現させるのに適していることを示した。また、MCH 神経細胞の活性化によって摂食行動を惹起出来ることを明らかにした。