

近赤外光スイッチタンパク質によるゲノム遺伝子活性化システム

(KISTEC¹・東大院総文²) ○中嶋 隆浩^{1,2}・佐藤 守俊²

Improved photoswitching proteins for endogenous gene activation by near-infrared light (¹Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology, ²Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo) ○Takahiro Nakajima^{1,2}, Moritoshi Sato²

Photoswitching proteins, which can dimerize by illumination with light, are core components of optogenetic tools. So far, several excellent photoswitching proteins that can dimerize by blue-light illumination have facilitated the development of a variety of blue-light optogenetic tools. However, in order to manipulate biological functions in deep tissues in living animals, NIR-light activatable optogenetic tools are highly needed, because light between 650 nm and 900 nm, called NIR window, can efficiently penetrate into biological tissues. Here, we found the cause of the serious problem that the existing NIR-light photoswitching proteins have. To overcome the problem, we engineered the existing NIR-light photoswitching proteins by introducing mutations and developed the improved photoswitching proteins. Using the improved photoswitching proteins, we developed the NIR-light activatable endogenous gene activation system that is based on CRISPR–Cas9 technology. We demonstrated that a mouse endogenous gene can be activated by NIR-light illumination in living mouse livers. Our NIR-light photoswitching proteins will facilitate to develop a variety of NIR-light optogenetic tools for *in vivo* in deep tissues.

Keywords : *Optogenetics; Photoswitching proteins; Near-infrared light; CRISPR–Cas9; Endogenous gene activation*

光スイッチタンパク質とは、光照射によって結合・解離を自在にコントロールできるタンパク質ペアであり、オプトジェネティクス・光操作技術を支える基盤技術である。青色の光スイッチタンパク質には優れたものがあるので、それらを用いて青色の光操作ツールが今まで多数開発されてきた。しかし、生体内で光操作を行うためには、青色でなく、組織透過性が高い近赤外色の光操作ツールが強く望まれている。今回我々は、近赤外色の光スイッチタンパク質が持っている重篤な問題点およびその原因を見つけ出し、これをアミノ酸変異を施すことで改良した。そしてこの改良型光スイッチタンパク質と CRISPR-Cas9 技術を融合して、近赤外光によってゲノム遺伝子を活性化できる光操作ツールを開発した。我々は、この光操作ツールによって、生きているマウスの肝臓内でゲノム遺伝子を活性化できることを示した(図)。我々の近赤外光スイッチタンパク質は、様々な近赤外光操作ツールの開発を促進するであろう。

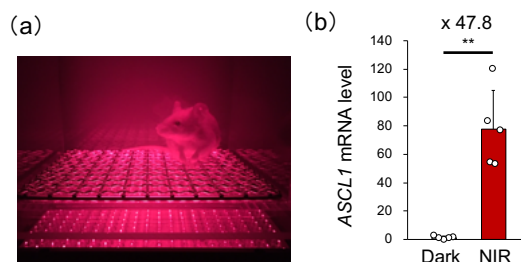


図 (a) 生きたマウスへの近赤外光照射の様子。
(b) 近赤外光照射によるマウスゲノム遺伝子 (ASCL1) 発現の活性化。光操作ツールのプラスミドDNAをマウス肝臓に導入する。その後、(a)のように光照射するか (NIR)、または暗所に置く (Dark)。肝臓からmRNAを抽出し、ASCL1遺伝子のmRNAをqPCRにより定量した。