

光ピンセットによる神経細胞内分子動態の集合操作

Optical Manipulation of Intracellular Molecular Dynamics in Living Neurons

産総研 健康工学¹, 関西学院大 理工² ○細川 千絵^{1,2}, 武田 尚子^{1,2}, 植田 悠介^{1,2}, 工藤 卓²,
田口 隆久¹AIST¹, Kwansai Gakuin Univ.², °Chie Hosokawa^{1,2}, Naoko Takeda^{1,2}, Yusuke Ueda^{1,2},
Suguru N. Kudoh², and Takahisa Taguchi¹

E-mail: chie-hosokawa@aist.go.jp

神経回路網は、電気的活動とシナプス結合を介した細胞間情報伝達により脳の情報処理を実現している。シナプス領域に局在する受容体等の分子動態は、記憶や学習に関与することが知られている。我々は、この過程を能動的かつ非接触に操作可能な手法として、光ピンセットを用いた神経細胞内分子動態の集合操作法の開発に取り組んでいる。これまでに、神経細胞内シナプス小胞群の光捕捉に成功しており[1]、神経回路網の能動操作を実現しつつある。今回、単一分子での光捕捉が困難とされている、細胞表面に局在する分子に着目し、量子ドット(Q-dot)で標識した神経細胞接着分子(NCAM)に対して、光ピンセットによりその分子動態を操作することに成功した。

ラット胎児脳から調整した海馬神経細胞を、1次抗体としてマウス抗ラット NCAM モノクローナル抗体、2次抗体として Q-dot 655 標識ヤギ抗マウス IgG 抗体を用いて免疫蛍光染色し、生細胞条件において神経細胞接着分子の局在を確認した。波長 1064 nm の YVO₄ レーザーを細胞表面に集光すると、集光位置において Q-dot からの二光子励起蛍光が観測され、Q-dot で標識した神経細胞接着分子が時間とともに引き寄せられる様子が確認された(図 1)。レーザー光強度が高くなるにつれ、集光位置での蛍光強度の増加が顕著にみられたことから、光捕捉力の増大に伴いレーザー集光領域内の分子数の増加が示唆された。蛍光相関分光法により、Q-dot で標識した神経細胞接着分子にレーザーを集光し、集光位置での二光子励起蛍光強度の自己相関関数を測定したところ、レーザー光強度の増加とともに自己相関関数の減衰時間が長くなる傾向がみられ(図 2)、集光領域内の分子数が増加し、分子運動が束縛されたと考察した。講演では、光ピンセットによる神経細胞内分子動態の集合機構とともに、光捕捉力の増大へ向けたアプローチについても述べる。

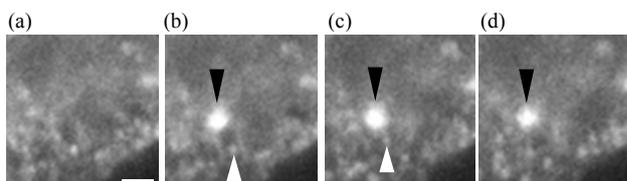


Fig. 1 (a–d) Fluorescence images of NCAMs labeled with Q-dots in a living neuron (20 days *in vitro*) before (a) and immediately after (b) and 1 s (c), 1.1 s (d) after the laser irradiation. The trapping laser power is 300 mW. The scale bar is 2 μ m. The black and white arrows indicate the focal spot of the laser and the position of Q-dots attached to NCAM.

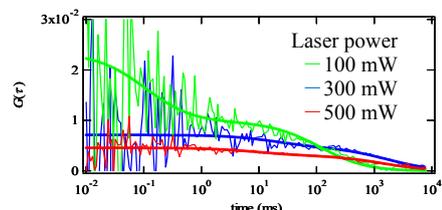


Fig. 2 Typical autocorrelation function curves of fluorescence intensity of NCAMs labeled with Q-dots in living neuron.

[1] 植田他: 第 72 回応用物理学会学術講演会, 1a-V-11 (2011).