

光ピンセット集光時における AMPA 受容体分子の動態観測

Observation of dynamic of AMPA receptor molecule irradiation with optical tweezers

産総研 バイオメディカル¹、.関西学院大 理工²、情報機構 脳情報³岸本 龍典^{1,2}、前澤 安代¹、細川 千絵^{1,2}、田口 隆久³、工藤 卓²AIST.¹, Kwaseigakuin Univ.², NICT.³Tatsunori Kishimoto^{1,2}, Yasuyo Maezawa¹, Chie Hosokawa^{1,2}, Takahisa Taguchi³, Suguru Kudoh²E-mail: tatsunori-kishimoto@aist.go.jp

脳における神経回路網は、シナプスを介して情報伝達を行っている。神経シナプスに局在する神経伝達物質受容体分子の動態や数の変化は、記憶や学習に関与することが知られている。本研究では、興奮性神経伝達において主要な受容体分子である、AMPA 型グルタミン酸受容体(AMPA)分子の動態や数を光ピンセットを用いて操作し、シナプスを介した情報伝達効率の可逆的制御を目的としている。神経細胞表面に局在する AMPAR は並進拡散運動しており、神経細胞の培養日数に依存してその動態が変化することが報告されている[1]。我々はこれまでにレーザー光強度を上昇させることで AMPAR の拡散運動をより制限している[2]。今回、AMPA に光ピンセット用レーザー(レーザー光強度:300 mW)を集光し、光捕捉されている AMPAR と光捕捉されていない AMPAR の動態の違いを粒子トラッキング解析することにより拡散係数をそれぞれ導出し比較した。

胚令 18 日目のラット胎児由来海馬神経細胞を初代分散培養し、培養日数 31 日目を使用した。AMPA と特異的に結合する GluR2 抗体と Q-dot 655 結合抗体を加え、AMPA を可視化した。Q-dot を標識した AMPAR(QD-AMPA)に光ピンセット用レーザーを照射し CMOS カメラを用いて蛍光像を取得した。取得した蛍光像を粒子トラッキング解析し、レーザー集光領域中と集光領域以外の QD-AMPA の拡散係数を導出した。レーザー集光領域内の QD-AMPA の平均拡散係数は $D=0.091 \pm 0.005$ (N=7, 平均 $\pm$ 標準誤差) [$\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$]と導出され、レーザー集光領域外の QD-AMPA では、平均拡散係数が $D=0.454 \pm 0.015$ (N=9, 平均 $\pm$ 標準誤差) [$\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$]と導出された。レーザー集光領域内の QD-AMPA の拡散係数と、レーザー集光領域外の QD-AMPA の拡散係数を比較した場合、約 5 倍の差が表れた。この結果から、QD-AMPA の拡散運動は光ピンセット用レーザーの光捕捉によって制限されていることが示唆された。

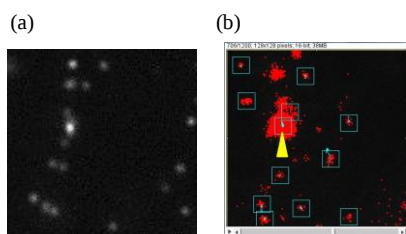


Fig 1. (a) 培養日数 31 日目神経細胞上の Q-dot 標識 AMPA 受容体分子の蛍光像の拡大像。

(b)得られた蛍光画像の粒子トラッキング解析。黄色矢印はレーザー照射位置、青線は分子の軌跡、青四角はトラッキングのターゲットとなる分子(赤色)を示している。

[1] D.Choquet et al.: Regulation of AMPA receptor lateral movements, Nature vol.417, 6(2002)

[2] 前澤他：神経細胞に局在するグルタミン酸受容体タンパク質の光捕捉ダイナミクス, 第 76 回応用物理学会秋季学術講演会,13p-PB7-3(2015)