

神経細胞グルタミン酸受容体分子の光捕捉過程における細胞膜電位変化

Evaluation of electrical activity in neurons by optically trapping glutamate receptors



阪市大院理¹, 関学大院理工², 情通機構脳情報³, 産総研・阪大先端フォトバイオ⁴

○岸本 龍典^{1,2}, 工藤 卓², 田口 隆久³, 細川 千絵^{1,4}

Osaka City Univ.¹, Kwansei Gakuin Univ.², NICT³, AIST⁴

○Tatsunori Kishimoto^{1,2}, Suguru N. Kudoh², Takahisa Taguchi³, Chie Hosokawa^{1,4}

E-mail: k18sg03f@xg.osaka-cu.ac.jp

脳における神経回路網は複雑なネットワークを形成しており、シナプスを介して情報伝達が行われる。シナプス後細胞表面に局在する神経伝達物質受容体の分子数や分子動態の変化は、シナプス伝達効率やシナプス可塑性に重要な役割を果たす。我々は、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) の分子動態を集光レーザービームの光圧により操作し、伝達効率を直接的に制御する手法の開発を進めている。これまでに、神経細胞表面の AMPAR を量子ドット (QD) で標識し、QD-AMPA の光捕捉過程が AMPAR の初期集合状態に依存することを示している。今回、QD-AMPA の光捕捉過程における神経細胞膜電位を計測し、QD-AMPA の分子動態と神経細胞の電気的活動変化との関係性について検証した。

胚令 18 日目のラット胎児由来海馬神経細胞を分散培養し、神経細胞表面の AMPAR を QD により可視化した (Fig. 1(a)). 波長 1064 nm の Nd:YVO₄ レーザー照射前後における単一神経細胞の膜電位変化を計測するため、蛍光顕微鏡にパッチクランプシステムを組み合わせ、同時計測を可能とした。Cell-attached mode を用いて神経細胞 (培養 17 日目) の膜電位を計測し、Na⁺チャネル阻害剤である Tetrodotoxin 添加後にスパイク状の神経活動が消失したことから、自発活動に相当する神経活動を確認した。神経細胞表面の QD-AMPA にレーザー (レーザー光強度 300 mW) を集光したところ、レーザー集光領域内の二光子励起蛍光強度が時間とともに増加し、QD-AMPA が光捕捉され、集合していると考察した。同時に計測した単一神経細胞の膜電位変化では、レーザー照射後の自発発火回数が照射前と比較して増加する傾向が見られた (Fig. 1(b)). これらの結果から、QD-AMPA の光捕捉過程は、神経細胞の自発発火回数の増加、すなわちシナプス伝達効率の変化に関与していると考えられる。

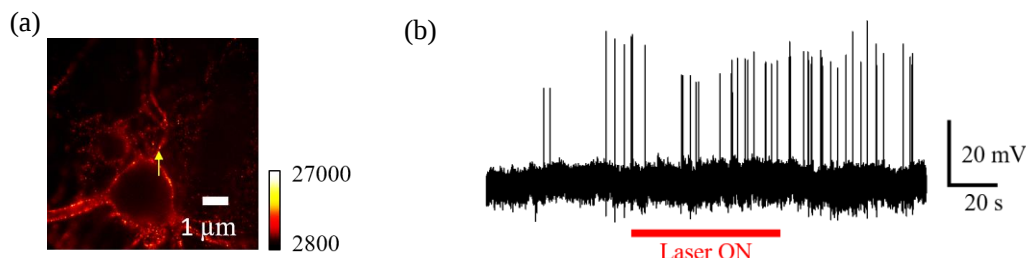


Fig. 1 (a) Fluorescence image of neurons (17 DIV). The yellow arrow indicates laser focal spot. (b) Time trace of cell-membrane potentials of single neuron before and during the laser irradiation.