

## リガンド指向性 2 段階ラベル化法による「細胞内」AMPA 型グルタミン酸受容体の可視化

(名大院工<sup>1</sup>・京大院工<sup>2</sup>・JSTERATO<sup>3</sup>) ○杉原 佑太朗<sup>1</sup>・小島 憲人<sup>1,2</sup>・浜地 格<sup>2,3</sup>・清中 茂樹<sup>1</sup>

Visualizing “intracellular” AMPA-type glutamate receptors by ligand-directed two-step labeling (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Nagoya University, <sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Kyoto University, <sup>3</sup>ERATO, JST) ○Yutaro Sugihara,<sup>1</sup> Kento Ojima,<sup>1,2</sup> Itaru Hamachi,<sup>2,3</sup> Shigeki Kiyonaka<sup>1</sup>

AMPA-type glutamate receptors (AMPARs), which mediate the majority of excitatory synaptic transmission, are critical for synaptic plasticity in the central nervous system. The localization of AMPARs is controlled precisely and dynamically, which is the basis of synaptic plasticity. Analyzing the localization and trafficking of AMPARs is required to reveal molecular mechanisms of learning and memory. We recently developed ligand-directed two-step labeling<sup>1)</sup> for cell-surface AMPARs to quantify their trafficking in neurons. However, high reactivity of tetrazine and unique properties of fluorescent dyes prevented selective labeling of intracellular AMPARs. We report chemical labeling of intracellular AMPARs by optimizing the two-step labeling condition.

**Keywords :** AMPA-type glutamate receptors; chemical labeling; intracellular labeling

AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA) は、中枢神経系で興奮性の神経伝達を担う受容体である。記憶・学習時には AMPAR の動態が厳密に制御されているため、その可視化法の開発が活発に進められている。我々は、リガンド指向性化学と生体直交反応を組み合わせたリガンド指向性 2 段階ラベル化法<sup>1)</sup>を開発し、神経細胞に内在する細胞表層 AMPAR の動態解析に成功している。しかし、2 段階目の反応で用いる tetrazine (Tz) の反応性の高さや色素の特徴から、夾雑環境下である細胞内の AMPAR を選択的に可視化することは困難であった。そこで本研究では、細胞内 AMPAR の解析を目的に、リガンド指向性 2 段階ラベル化の細胞内適応に着手した。実際に、問題であったバックグラウンド蛍光を大幅に抑制し、細胞内 AMPAR の選択的なラベル化に成功した。

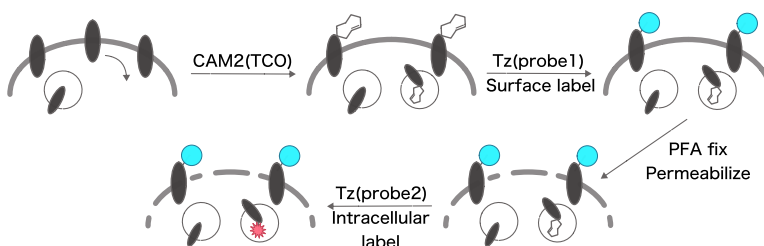


Fig. 1 Schematic illustration of intracellular AMPARs labeling by ligand-directed two-step labeling.

1) K. Ojima, et al., Ligand-directed two-step labeling to quantify neuronal glutamate receptor trafficking. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 831.