

# 光によるシナプス機能マッピング技術の開発

## Optical inactivation of synaptic molecules by chromophore-assisted light inactivation

三重大学大学院医学系研究科 竹本 研

動物はいかにして記憶を貯蔵するのだろうか？興奮性シナプス活動に重要な AMPA 受容体には、GluA1~4 サブユニットが存在する。成体の海馬ではこれらが組み合わさり、GluA1 ホモマー・GluA1/2・GluA2/3 複合体が発現する。中でも GluA1 を含む複合体は神経活動依存的にシナプスに移行し機能するが、GluA2/3 は恒常的に存在する<sup>1)</sup>。さらに、*in vitro* では長期増強誘導後に GluA1 ホモマーと GluA1/2 がまずシナプスへ移行し、その後 GluA2/3 に置き換わることから、GluA1 ホモマー・GluA1/2 が記憶の獲得、GluA2/3 が記憶の貯蔵に機能するとの仮説が立てられた<sup>2)</sup>。ところがこの 20 年以上間に立てられた仮説の証明は、各 AMPA 受容体特異的な阻害剤がないことや、遺伝子改変動物における機能相補の問題等により困難を極めていた。よって従来法では、そもそも記憶の獲得が出来ないのか？貯蔵が出来ないのか？という基本事項すら区別できない。即ち今後の記憶研究では、シナプス～脳領域レベルのマルチスケールで、局所かつ迅速に AMPA 受容体を不活性化する新技術が重要であると考えられた。

CALI 法 (Chromophore-assisted light inactivation) とは、光照射依存的に活性酸素を産生する光増感物質を用いた、タンパク質機能光不活性化法である。例えば、標的タンパク質に対する抗体を光増感物質で化学標識する。次に、標識された抗体と標的タンパク質を反応後に光を照射すると、産生した活性酸素が標的タンパク質を酸化し、標的タンパク質は立体構造が破壊され不活性化される。ここでの活性酸素の拡散半径は非常に短いため (一重項酸素で約 3-4 nm)、CALI 法では高い分子特異性が期待できる。

申請者はこれまでに CALI 法を応用し、シナプスで機能する AMPA 受容体 GluA1/1 ホモマーを光で迅速かつ複合体特異的に不活性化する新技術の開発に成功した。さらに本技術を用いて、GluA1 ホモマーは記憶の獲得に機能することを発見した<sup>3)</sup>。本手法は、AMPA 受容体の複合体特異的な光操作が可能な新技術であり、次世代の脳機能解析法としても注目されている (Humeau Y et al. *Nat. Neurosci.* 2019, Frank JA et al. *Nat. Biotechnol.* 2019 等)。そこで本研究ではこれまでの研究を元に、GluA2/3 複合体を CALI 法により迅速かつ特異的に光不活性化する新技術の開発を進める。本技術が実現すれば、GluA1 ホモマーの CALI 法で可能にした活性化直後のシナプス操作に加え、活性化終了後や定常状態のシナプス操作が可能となり、シナプス～脳領域レベルのマルチスケールでシナプスマッピング解析を行う技術が初めて実現すると期待できる。

### 【参考文献】

- 1) Takahashi T et al. *Science* 2003
- 2) Malinow R et al. *Curr Opin Neurobiol.* 2000
- 3) Takemoto K et al, *Nat. Biotechnol.* 2017