

補助事業番号 2020M-203

補助事業名 2020年度 集光レーザー摂動による細胞機能操作技術の開発 補助事業

補助事業者名 細川 千絵

## 1 研究の概要

本研究課題では、集光レーザービームの局所力学摂動により培養神経回路を能動的に操作し、摂動に伴い過渡的に応答する細胞内の分子秩序形成機構を明らかにする。集光レーザー摂動印加による神経活動の時空間ダイナミクスの光操作を実現し、神経回路の細胞機能操作技術を開発する。

## 2 研究の目的と背景

生命現象に何らかの外部摂動を加えて誘発された過渡的応答を解析することは、入力である外部摂動と出力として得られる生命活動変化との関係性を見出すことができ、生命機能への理解を深化させる。細胞を対象としてその過渡応答を考える場合、印加する外部摂動の時間分解能および空間分解能が高いほど詳細に解析できることから、光が有用なツールとなる。光を用いた細胞機能操作のためには、細胞への化合物添加や事前の遺伝子導入等が必要であり、細胞機能をありのままの状態で高精度に操作することは依然として難しい。そこで本研究課題では、集光レーザー摂動による細胞機能操作技術の開発を目的とした。

## 3 研究内容

集光レーザー摂動による細胞機能操作技術の開発に関する研究

(<https://www.omu.ac.jp/sci/chem-biophys/report/index.html>)

神経シナプス部位に局在する神経伝達物質受容体の分子動態や分子数の変化は、記憶や学習といった脳機能に深く関与している。本研究課題では集光レーザー摂動による細胞機能操作を目的として、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受容体）の分子動態を、集光レーザービームの光圧により操作する手法について検討した（図1）。

現有の光摂動用レーザー光源である波長1064 nmのNd:YVO<sub>4</sub>レーザーを倒立蛍光顕微鏡に導入した顕微蛍光イメージング測定システムに、神経細胞の電氣的活動の取得が可能となるパッチクランプ用増幅器を新たに導入した計測システムを組み込み、単一神経細胞の顕微蛍光測定と電位変化との同時計測が可能なシステムを構築した。神経細胞表面に局在するAMPA受容体に対して免疫蛍光染色により量子ドットを標識し、集光レーザー摂動による量子ドット標識AMPA受容体の光捕捉過程の蛍光解析を行った。神経細胞表面に局在する量子ドット標識AMPA受容体の一粒子トラッキング解析を行った結果、レーザー集光領域内では集光領域外と比べて約90倍程度低下し、集光領域内において光圧により分子運動が束縛されることを見出した。レーザーを神経細胞表面に集光すると、量子ドット標識AMPA受容体が光捕捉され、

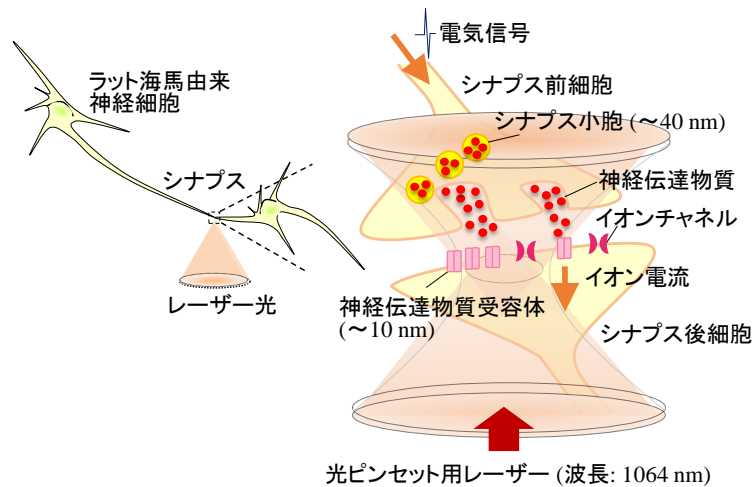


図 1. 集光レーザー摂動による神経細胞機能操作.

集合することを明らかにした。さらに、神経細胞表面上の量子ドット標識AMPA受容体の光捕捉過程における細胞内電流変化を計測し、集光レーザー摂動によるシナプス伝達過程の操作について検証した。神経細胞に対してパッチクランプ計測を行い、量子ドット標識AMPA受容体の光捕捉過程における微小シナプス後電流を計測した。神経細胞表面の量子ドット標識AMPA受容体にレーザーを集光すると、量子ドット標識AMPA受容体が光捕捉されている時間において微小シナプス後電流が増加する傾向を見出した。神経伝達物質受容体分子の光捕捉に基づいて神経シナプス伝達強度が上昇することを示しており、集光レーザー摂動による神経伝達効率制御の可能性が示された。

#### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

集光レーザー摂動による細胞機能操作技術は、従来法では必要不可欠となるケージド化合物や事前の遺伝子導入を必要とせずに単一神経細胞に対して直接適用でき、原理的には単一シナプス精度という高い空間分解能で神経活動の操作が可能となる。したがって、従来の遺伝子操作を代替あるいは補完する脳機能操作技術や脳・神経疾患治療の標的分子に着目した光治療研究への波及効果が期待される。さらに、集光レーザー摂動により誘発された細胞内分子動態の変化は生命現象における分子ダイナミクスの新たな理解を生み出し、神経機能操作という応用のみばかりでなく、生命科学を分子論的に理解する新たな学問領域を切り開くと期待される。

#### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本研究において、集光レーザー摂動を利用した神経細胞の局所操作を実証し、神経シナプス伝達に関与しているAMPA受容体の分子動態を操作可能であることを示した。集光レーザー摂動の利点は、数100 nm程度の高い空間分解能で細胞に対して非接触な操作が可能となる他、細胞内の特定の位置や任意の時刻に力学的摂動を印加でき、光圧を自在に調整可能であるこ

とから、入力エネルギーを定量し、出力として現れる分子群の運動を分子レベルの時系列変化として計測できる利点が挙げられる。今後、集光レーザー振動を用いて細胞内の分子集合状態や反応過程を一時的に操作する手法を確立することにより、神経細胞間の情報伝達機構の解明に寄与することが期待される。

## 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

- [1] Chie Hosokawa, “Optical manipulation of cell surface molecules for direct control of neuronal activity”, 日本生物物理学会第58回年会, オンライン (2020).
- [2] 岸本龍典, 工藤卓, 田口隆久, 細川千絵, “神経細胞表面におけるAMPA 型グルタミン酸受容体分子の光捕捉過程”, 電気学会論文誌C, vol. 141, pp. 668–675 (2021), DOI: 10.1541/ieejieiss.141.668.
- [3] Chie Hosokawa, Takashi Koizumi, Tomoya Nagasue, and Keiko Tawa, “Optical trapping of nanoparticles suspended in water with a bull’s eye-type plasmonic chip”, Proceedings of SPIE, vol. 11926, pp. 119260W (2021), DOI: 10.1117/12.2616159.
- [4] Chie Hosokawa, “Optical trapping of cellular receptors on neurons toward manipulation of cellular activity”, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2021 (Pacifichem2021), オンライン (2021).
- [5] 細川千絵, “集光レーザービームの光圧による神経細胞内分子操作と活動制御”, レーザー研究, vol. 50, pp. 82–86 (2022).

## 7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

該当なし

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

該当なし

## 8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 大阪公立大学 (オオサカコウリツダイガク)

住 所: 〒558-8585

大阪市住吉区杉本3-3-138

担 当 者: 教授 細川 千絵(ホソカワ チエ)

担 当 部 署: 同上

E - m a i l: hosokawa@omu.ac.jp

U R L: <http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/chem/biophyschem/index.html>