

共鳴光ピンセットによる神経伝達物質受容体分子の並進拡散運動の抑制

Suppression of Molecular Diffusion of Neurotransmitter Receptors on Neurons
with Resonant Optical Tweezers阪公大院理 [○](D)宮崎 達夢, 谷本 泰士, 増井 恭子, 細川 千絵Osaka Metropolitan Univ., [○]Tatsumi Miyazaki, Yasushi Tanimoto, Kyoko Masui, Chie Hosokawa

E-mail: sg22230q@st.omu.ac.jp

中枢神経系の興奮性シナプスでは、神経細胞表面に局在する膜貫通型の AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA) がシナプス伝達において重要な役割を果たしている。我々は、神経細胞間のシナプス伝達効率を光で可逆的に制御することを目的として、光ピンセットにより量子ドット (QD) で標識した AMPAR (QD-AMPA) の分子動態を操作する手法の開発を進めている。光ピンセットは、集光レーザービームの光圧により微粒子を非接触に捕捉可能な手法であるが、光捕捉力は捕捉対象の体積と屈折率に依存するため、ナノ粒子を安定的に捕捉することは依然として困難である。近年、単一ナノ粒子に働く光捕捉力を増大する手法として、従来の光ピンセット用近赤外 (NIR) レーザーと捕捉対象の電子遷移に共鳴する波長のレーザーを同時に照射する、共鳴光学応答を用いた手法が注目されている [1]。本研究では、NIR レーザーに加えて QD の電子遷移に共鳴する波長のレーザーを同時に集光し、神経細胞表面の QD-AMPA の分子動態変化について検証した。

免疫染色法により培養 16-17 日目のラット胎児由来海馬神経細胞の細胞膜に局在する AMPAR に QD (発光ピーク波長: 655 nm) を標識した。波長 1064 nm の NIR レーザーに加え、共鳴用レーザーとして波長 488 nm に調整した波長可変 Ar⁺レーザーを同軸で倒立顕微鏡へ導入し、100 倍の油浸対物レンズを用いて QD-AMPA に集光した。レーザー集光領域内における QD-AMPA の蛍光像を CMOS カメラで取得し、神経細胞表面の QD-AMPA の分子動態を一粒子追跡法により解析した。NIR レーザー出力を 300 mW、共鳴用レーザー出力を 0–1100 nW の範囲で神経細胞上の QD-AMPA に同時に集光した (Fig. 1 (a))。NIR レーザー照射中において、集光点の中心座標から QD-AMPA の重心座標間の距離が、共鳴用レーザー出力の増加に伴い減少する傾向がみられた (Fig. 1 (b))。QD-AMPA の各フレーム間の移動距離は、共鳴用レーザー出力の増加に伴い減少する様子も確認され

た。これらの結果は、共鳴光ピンセットにより光捕捉力が増大し、神経細胞膜上の分子拡散をより強く束縛した可能性を示唆している。

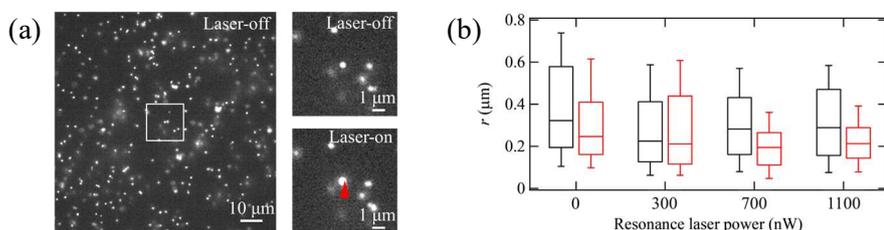


Fig. 1. (a) Fluorescence images of the QD-AMPA on neurons and enlarged images (right) of the white square before and during NIR and resonance laser irradiation. The red arrow indicates the laser focus. (b) Distances between the center of the laser focus and the centroid coordinate of the QD-AMPA before (black) and during (red) NIR and resonance laser irradiation. In (b), the lower and upper fences are the 25th and 75th percentiles, respectively, and the median is in between. The bars represent the 10th and 90th percentiles, respectively.

[1] T. Kudo and H. Ishihara, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 15, 14595-14610 (2013).