

平成 22 年 4 月 15 日現在

研究種目：若手研究 (A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19680020

研究課題名 (和文) 2光子励起ケイジド GABA 活性化法による単一抑制性シナプス機能・構造の包括的研究

研究課題名 (英文) Study of the function and structure of single inhibitory synapses revealed by two-photon uncaging of GABA

研究代表者

松崎 政紀 (MATSUZAKI MASANORI)

東京大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：50353438

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経・筋肉生理学

キーワード：ニューロン・シナプス機能

1. 研究計画の概要

本研究では、2光子励起ケイジド GABA 活性化法を新たに開発し、これをラット大脳海馬及び新皮質の興奮性細胞に適用し、単一シナプスレベルでの機能的 GABA 受容体の細胞全体にわたるマッピングを行い、単一抑制性シナプス後部の機能・形態を明らかにすることを目的としている。

2. 研究の進捗状況

これまでに主にふたつの新規ケイジド GABA について研究を行った。

(1) うちひとつの CDNI-GABA の 2光子励起活性化法によって、生理的 GABA シナプス電流とほぼ同じキネティクスをもつ GABA 受容体電流を得ることができ、その空間解像度は光軸に対してはおおよそ $2\mu\text{m}$ であった。これを用いて、GABA 受容体の 3次元機能マッピングを行った。その結果、細胞体付近、および細胞体近傍の樹状突起の膜上に沿って、GABA 感受性のホットスポットが点在していることを高解像度に明らかにした。ケイジド GABA の 2光子励起法によるマッピングとケイジドグルタミン酸の 2光子励起法マッピングを交互に行うことで、GABA 受容体のホットスポットが、グルタミン酸受容体のホットスポットと異なることを見出した。また、活動電位の生成部位である、Axon initial segment においても機能的 GABA 受容体が存在することを明らかにした。

(2) もうひとつの DCAC-GABA は、この 2光子励起では通常の GABA 電流よりもキネティクスが遅いが、830nm の励起波長でも励

起できることを見出した。さらに、この研究期間中に新たに開発したケイジドグルタミン酸、CDNI-Glu を併用することで、異なった波長 (720nm, 830nm) でグルタミン酸受容体と GABA 受容体を別々に刺激できることがわかった。そこでこれをほぼ同時に別々に刺激できる、新しい 2光子顕微鏡を構築した。これを用いて、細胞体に存在する抑制性シナプスをケイジド GABA による 2光子励起法で刺激し過分極を起こし、このことによって、ケイジドグルタミン酸を多数のシナプスで刺激して誘発された大きな脱分極の細胞体への伝播を抑えて、活動電位誘発を阻害できることを再現よく繰り返すことが出来るようになった。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

(理由)

2光子励起ケイジド GABA 活性化法で単一シナプスレベルでの GABA 受容体の機能マッピングが行えることを示し、その細胞体周辺での分布を明らかにすることができた。またグルタミン酸と GABA を別々に光学的に刺激できる化合物と顕微鏡を開発し、この実現性を示すことができた。これらは Nature Chemical Biology 誌と Nature Methods 誌に掲載され、世界的な競争の中で最初に示すことができたことは、研究が順調に進展していると考えられる。

4. 今後の研究の推進方策

今後は興奮性シナプス後部スパイン周辺

や、樹状突起における興奮性シナプス入力の伝播を抑制性シナプス活性がどのように抑制するかを明らかにしていくことに重点を置く。

5. 代表的な研究成果
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計9件)

#Matsuzaki M., Hayama T., Kasai H. and #Ellis-Davies G.C.R. Two-photon uncaging of γ -aminobutyric acid in intact brain tissue. *Nature Chemical Biology* 6, 255-257, 2010. (#co-corresponding authors) 査読有

*Kantevari S., *Matsuzaki M., Kanemoto Y., Kasai H. and Ellis-Davies G.C.R. Two-color, two-photon uncaging of glutamate and GABA. *Nature Methods* 7. 123-125, 2010. (*equal contribution) 査読有

Honkura N., Matsuzaki M., Noguchi J., Ellis-Davies G.C.R. and Kasai H. The subspine organization of actin fibers regulates the structure and plasticity of dendritic spines. *Neuron* 57. 719-729, 2008. 査読有

Tanaka J., Horiike Y., Matsuzaki M., Miyazaki T., Ellis-Davies G.C.R. and Kasai H. Protein-synthesis and neurotrophin dependent structural plasticity of single dendritic spines. *Science* 319. 1683-1687, 2008. 査読有

Ellis-Davies G.C.R., Matsuzaki M., Paukert M., Kasai H. and Bergles D.E. 4-carboxymethoxy-5,7-dinitroindolyl-glu: an improved caged glutamate for expeditious ultraviolet and 2-photon photolysis in brain slices. *Journal of Neuroscience* 27. 6601-6604, 2007. 査読有

[学会発表](計2件)

Matsuzaki M. Optical Stimulation of synapses and neurons. 第47回日本生物物理学会年会(Tokushima, 2009.11.1)

[その他]

ホームページ
<http://www.bm2.m.u-tokyo.ac.jp/>