

公益財団法人 立松財団 御中

様式 2021A1,A2,B

2024 年 12 月 26 日

所属： 三重大学

氏名： 實木 亨

**2023 年度 助成****研究 経過 ・ 終了 報告書**

※ゴシック文字で記入下さい。

| | |
|--------------|---|
| 研究テーマ | 光増感物質を応用した脳機能回復法の開発 |
| 研究の結果 | <p>神経細胞同士は、細胞ごとに数百存在するシナプスを介してネットワークを形成する。認知症や脳梗塞、老化等で生じる脳機能の低下は、シナプス活性の低下が原因である。申請者を含む研究グループは、神経軸索の伸張を阻害する Nogo 受容体 (NgR1) の発現を抑制すると、様々な脳領域でシナプス活性化を誘導できることを発見した。よって NgR1 の機能を局所かつ一過的に抑制する技術を開発できれば、シナプス活性化を必要な場所・タイミングで誘導し、失われた脳機能を迅速かつ適切に回復できるとの着想を得た。CALI 法は、光照射依存的に活性酸素を放出する光増感物質を用いたタンパク質機能不活化法である (Jay DG et al. <i>PNAS</i> 1988)。そこで本研究で NgR1 に対する抗体を取得し CALI 法の開発を進める。これにより、NgR1 を光で局所かつ一過的に不活性化しシナプス活性化を誘導する新技术を開発する。さらに本技術と従来のリハビリと組み合わせることで、失われた脳機能を迅速かつ適切に回復する新技术「光リハビリ」法の確立を目指す。まず、Nogo 受容体 NgR1 の全長型を発現ベクターにクローニングし、10 匹のラットに DNA 免疫を行った。各抗血清に関し NgR1 を発現した CHO 細胞に対して結合能を FACS にて解析したところ、十分な反応を得ることが出来た。次に免疫後ラットからハイブリドーマの作製を行い、各ハイブリドーマの培養上製について FACS 解析を行い、NgR1 と十分な結合を示したハイブリドーマ 30 クローンを得た。さらに NgR1 だけではなく NgR2 や NgR3 に反応するか調べたところ、一部の抗体は弱いながらも結合することが認められた。これらのハイブリドーマを拡大培養し、さらに高純度抗体の取得のために、無血清培地に馴化した。馴化後、最終的に抗体産生能が十分にあるハイブリドーマを 10 クローン取得することに成功した。今回得られた抗体について光増感物質をラベル化し、さらなる機能評価を行なっていく予定である。</p> |
| 研究発表 (実績) | <p>【学会発表】 1. 實木 亨、サブユニット特異的な AMPA 受容体の光操作 第 46 回 神経組織培養研究会、三浦 2023 (招待講演) 2. Susumu Jitsuki, Kiwamu Takemoto. Optical inactivation of hippocampal GluA2/3 AMPA receptor. 第 46 回日本神経科学大会 仙台 2023 3. Susumu Jitsuki, Kiwamu Takemoto. Subunit-specific optical inactivation of hippocampal AMPA receptors. Neuro2024 福岡 2024</p> <p>【論文】 1. Shidara H, <u>Jitsuki S</u>, Takemoto K. Chromophore-assisted light inactivation of target proteins for singularity biology. <i>Biophysics and Physicobiology</i>. 21: e211009 2024</p> <p>Shidara H, Shirai T, Ozaki-Noma R, <u>Jitsuki S</u>, Nagai T, Takemoto K. Optical inactivation of intracellular molecules by fast-maturing photosensitizing fluorescence protein, HyperNova. <i>Communications biology</i> 7: 945-945, 2024</p> |

提出期限：研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。