

**【目的】** 脳内において、神経細胞は主に「シナプス」と「非シナプス性接着」という 2 種類の細胞間相互作用により、記憶・情動・意欲などの脳高次機能を担う複雑な神経回路網の構築や再編成、神経活動を制御している。神経細胞のシナプスは、シナプス前膜と後膜にシナプス小胞や受容体が集積した非常に特徴的な接着構造を形成し、グルタミン酸や GABA などの神経伝達物質を介した速い情報伝達（配線伝達）を行う。一方で、非シナプス性接着構造はグリア細胞 - 神経細胞間やドーパミン作動性神経細胞 - 中型有棘神経細胞間で観察され、この非シナプス性接着構造では比較的遅い情報伝達（拡散性伝達）を行う。興味深いことに、ドーパミン作動性神経細胞の非シナプス性接着部位では神経伝達物質と受容体がミスマッチした「異種結合」であることもわかってきた（内ヶ島ら、*PNAS*, 2016）。また、ドーパミンの拡散性伝達はグルタミン酸神経伝達への応答性を高めることで情動行動を制御しており（永井ら、*Neuron*, 2016）、情動行動の異常は統合失調症、自閉症、気分障害などの多くの精神疾患と密接に関連している。しかし、拡散性伝達を担う非シナプス性接着構造を構成する分子メカニズムについては十分に分かっていない。近年、私達は分割型近依存性ビオチン標識（Split-TurboID）法を開発し、特定の細胞間接着部位に存在する構成分子のビオチン標識と網羅的探索を行ってきた（高野ら、*Nature*, 2020；高野ら、*Neurosci Res.*, 2021）。そこで、本研究課題では、Split-TurboID 法を腹側被蓋野 - 側坐核のドーパミン作動性神経細胞に適用することによって、生体内ドーパミン作動性神経細胞の非シナプス性接着に関与する分子ネットワークの網羅的同定と生理的意義を解明することを目的とした。

**【方法】** 私達は、まず野生型マウスを用いて Split-TurboID の断片 N TurboID を腹側被蓋野に、もう一方の断片 C TurboID を側坐核に細胞種特異的アデノ随伴ウイルス（AAV）を用いて遺伝子導入した。3 週間後にビオチン投与を行い、ビオチン標識を誘導した。その後、ドーパミン作動性神経細胞特異的 Cre マウス（dopamine transporter 遺伝子-Cre マウス）を用いて同様の実験を行った。Split-TurboID によるビオチン標識を免疫組織染色、silver staining にて検討し、また質量分析を用いてビオチン標識分子を解析した。

**【結果】** マウス脳内において、腹側被蓋野から側坐核において長距離に投射されるドーパミン作動性神経細胞の非シナプス性細胞接着部位において Split-TurboID 法によりビオチン標識が誘導されることが分かった。また私達は、これらのドーパミン作動性神経細胞の非シナプス性細胞接着部位のビオチン標識タンパク質を streptavidin ビーズによるアフィニティークロマトグラフィーによって精製できることを確認し、質量分析解析を行った。その結果、ドーパミン作動性神経細胞の非シナプス性細胞接着部位を構成する分子として、194 もの分子を同定した。興味深いことに、これらの分子はシナプス関連分子が非常に多く含まれており、非シナプス細胞接着部位はシナプスとよく似た分子機能によって制御されている可能性が考えられた。

### Split-TurboID 法を用いたドーパミン作動性神経細胞接着部位の構成分子の網羅的探索

