

【目的】動物はいかにして記憶を貯蔵するのだろうか？海馬記憶には、グルタミン酸シナプスに代表される興奮性シナプスの可塑的な変化、すなわちシナプス可塑性が重要である。興奮性シナプス活動に重要な AMPA 受容体のうち、GluA1 を含む複合体は神経活動依存的にシナプス移行するが、GluA2/3 は神経活動非依存的に・恒常的にシナプス移行する。我々はこれまでに、独自の AMPA 受容体光不活化技術・CALI 法 (chromophore-assisted light inactivation) を *in vivo* で駆使し、記憶の獲得には学習に伴いシナプス移行した GluA1 ホモマーが重要なことを見出した。さらに我々は最近、GluA2/3 に対する CALI 法の開発にも成功し、GluA2/3 は記憶の獲得ではなく記憶の貯蔵に特異的に機能することも発見した (Jitsuki S et al. 投稿準備中)。一方で前述の通り GluA2/3 は、神経活動非依存的・恒常的にシナプス移行を繰り返すため、従来は学習記憶には無関係な静的な分子と考えられていた。従って、こうした特徴を持つ GluA2/3 が、記憶貯蔵分子として機能するメカニズムは大きな謎である (図)。それに対して我々は、記憶貯蔵期に特異的な翻訳後修飾が GluA2/3 分子に生じることで GluA2/3 複合体のイオンチャネル特性が変化し、記憶貯蔵分子に変換されるとの仮説を立てた。我々はその解明を目指し、GluA2/3 を精製後にプロテオーム解析を行い、記憶貯蔵期に特異的に起こる翻訳後修飾の同定を計画した。そのためにはまず、GluA1/1 と GluA2/3 が記憶後どういった時期に特異的に機能するか、詳細な時間枠を特定する必要がある。

【方法】まず NMDA 電流を陰性対象にした電気生理学的解析や GluA3 ノックダウン細胞における電気生理学的解析を行い、GluA2/3 CALI 法の分子特異性について技術評価を行った。次に *in vivo* において学習後の様々なタイミングで GluA1/1 と GluA2/3 を CALI で不活化し、記憶テストにより記憶の消去を解析することで、GluA2/3 が記憶を担う時間枠の同定を行った。さらに *in vivo* CALI 後の脳スライスで、電気生理学的解析を行い、シナプス発現を確認した。

【結果】電気生理学的解析により、GluA3 抗体を用いた CALI 法は GluA2/3 特異的に不活性化することを明らかにした。さらに *in vivo* で CALI を行ったところ、GluA1/1 は学習後 2 時間まで記憶をコードし、GluA2/3 が学習後 4 時間以降から記憶をコードすることを見出した。即ちこの結果は記憶を担う AMPA 受容体は学習後 2~4 時間の間にシフトすることを意味する。また学習後 1 時間と 24 時間で *in vivo* CALI 後に海馬急性スライスを作製し、電気生理学的解析をしたところ、両時間ともに CALI による AMPA/NMDA の低下が認められた。これは、学習後 1 時間でも 24 時間でも GluA2/3 はシナプスに発現するが、記憶をコードするのは 24 時間だけということを示す。すなわち学習後 24 時間では GluA2/3 の分子特性が変化していることを発見した。

学習前後の AMPA 受容体動態

