

## 28M-am13

急性マウス海馬スライスで放出される L-グルタミン酸のイメージング法の開発とその応用

○東海林 敦<sup>1</sup>, 奥村 渉<sup>1</sup>, 森寺 信勝<sup>1</sup>, 金澤 恵奈<sup>1</sup>, 平野 愛弓<sup>2</sup>, 菅原 正雄<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日本大文理, <sup>2</sup>東北大医工)

**【目的】** L-グルタミン酸 (L-Glu) は学習や記憶の獲得, 脳の発達などの脳の高次機能に重要な役割を果たしているだけでなく, 脳神経細胞死に伴う様々な脳疾患にも関与している. 当研究室では, これまでに脳内で放出される L-Glu の時間的・空間的分布を可視化する手法として, グルタミン酸酸化酵素 (GluOx) を物理吸着させた酵素膜プレートによるイメージング法を構築してきた. 今回は, 新たに構築したアミンカップリング法により GluOx を導入した酵素膜プレートを紹介するとともにその応用例を報告する.

**【実験】** 円形カバーガラス (直径 18 mm, 厚さ 0.12~0.17 mm) 上にシラン化剤 (MTS), 二価性架橋試薬 (KMUS), アビジンを順次修飾した. アミンカップリング法により, アビジン修飾基板に GluOx を積層 (8 層) して導入したものを GluOx 酵素膜プレートとした. 急性マウス海馬スライスから放出された L-Glu の増加量を, GluOx, 西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) の酵素反応により生じる色素の単位時間・単位面積当たりの生成量 (フラックス:  $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) で評価した.

**【結果および考察】** 急性マウス海馬スライスの虚血刺激に伴う L-Glu の増加量は 3 分で最大となり, 脳領野の序列は CA1 > CA3 > DG であった. さらに, CA1 や CA3 は刺激開始から 4~5 分程度で再び L-Glu が増加した. グルタミン酸トランスポーター阻害剤存在下において, KCl による脱分極刺激およびテトラエチルアンモニウム (TEA) 刺激では, L-Glu 増加量に一段階のピークが見られ, 領野間の L-Glu 増加量の序列がそれぞれ CA1 > CA3 > DG, CA3 > CA1  $\approx$  DG であった. これらの結果は他の分析手法で得られた結果ともよく一致していることがわかった.