

—脳内亜鉛イオン動態の記録と定量マッピング—

京都大学大学院工学研究科 浜地格 教授（研究当時、現：同大学エネルギー理工学研究所 特任教授）、同 朱 浩 青藍プログラム助教（研究当時、現：大阪大学産業技術研究所 助教）、同 坂本清志 ERATO 特定准教授（研究当時、現：特定研究員）、同 中村圭佑 特定助教（研究当時、現：九州大学工学研究院 助教）、同 野中洋 ERATO 特定准教授（研究当時、現：京都大学工学研究科 准教授）らの研究グループは、生きた動物脳内の神経伝達物質受容体上で蛍光性の亜鉛センサーを化学的に構築することで、刺激にともなってシナプス間隙に放出される亜鉛イオンの履歴を記録し、定量的なイメージング解析によって領域特異的にマッピングする新規手法を開発しました。

本研究成果は、2026 年 10 月 12 日に国際学術誌「*Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* (PNAS) (米国科学アカデミー紀要)」にオンライン掲載されました。

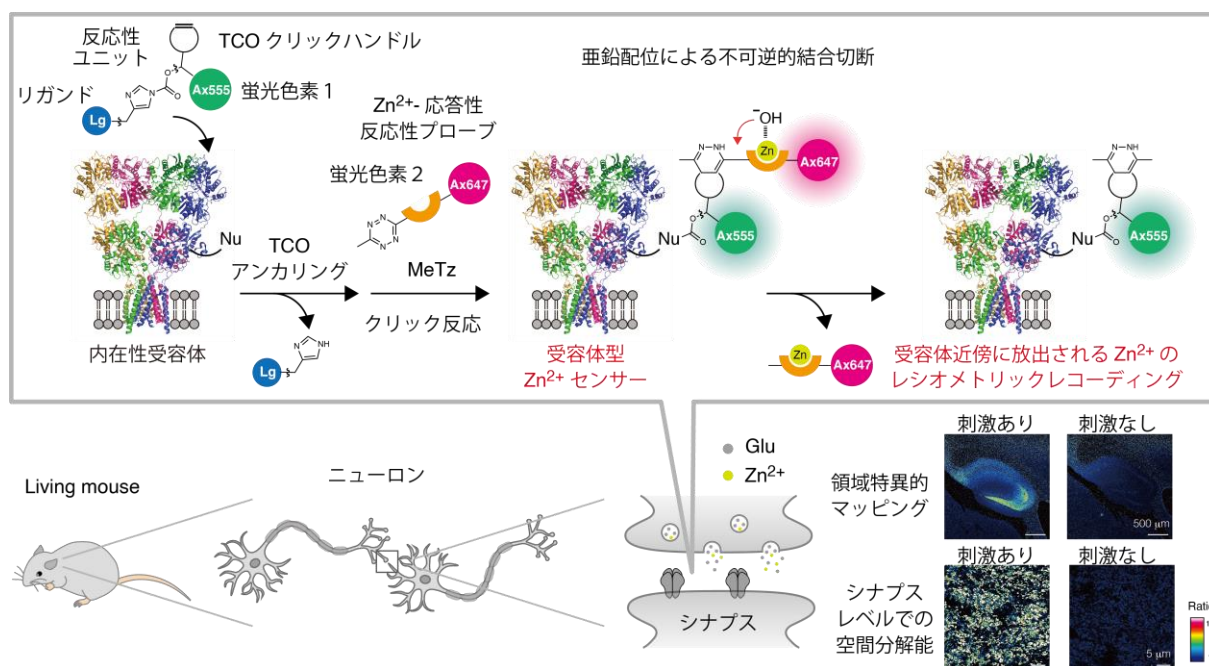


図 1. 生きている動物脳内の特定受容体上で蛍光亜鉛センサーを構築 ©工学研究科 / 坂本清志

1. 背景

亜鉛は必須微量元素の一つで、タンパク質の構造形成や酵素の活性中心など、我々が生命活動を維持する上で重要な役割を担っています。脳内では、遊離の亜鉛イオンが特定の興奮性シナプスにおいて、グルタミン酸とともにシナプス小胞に含まれ、神経活動依存的にシナプス間隙へと放出されます。放出された亜鉛イオンは神経伝達物質受容体との相互作用を介して、シナプス可塑性や記憶・学習などの脳機能に関与すると考えられていますが、生きた動物脳内のいつ、どの領域で、どのくらいの量の亜鉛イオンが放出されているのか、などその詳細なメカニズムは、よくわかっていませんでした。

2. 研究手法・成果

生体において特定のタンパク質を化学修飾・機能化することは、生命現象を理解する上で強力なアプローチです。例えば、自然界にはない機能を持つ分子を標的タンパク質に付与することで、各種の解析や新たな機能の発現が期待できます。こういった背景のもと、本研究グループは、これまでに生きている動物脳内で標的受容体タンパク質に蛍光色素などの小分子の導入を可能とする「脳内リガンド指向性化学」の開発に成功しています (*PNAS*, 121, e2313887121 (2024), *Nat. Chem. Biol.*, 21, 109 (2025))。また最近では、「脳内リガンド指向性化学」と「クリック反応」を連動させることで、狙った受容体のみを迅速かつ選択的に様々な機能性分子で化学修飾可能な「ケミカルノックイン」法を報告しました (*Nat. Synth.*, 4, 1128 (2025))。本研究では、「ケミカルノックイン」法を用いて、生きたマウス脳内のシナプスにあらかじめ存在する神経伝達物質受容体を蛍光亜鉛センサーへと化学変換しました。具体的には、「脳内リガンド指向性化学」によって興奮性シナプスに存在する AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA 受容体)^{注 4)} と抑制性シナプスに存在する GABA_A 受容体^{注 5)}に、TCO クリック官能基^{注 6)}と蛍光色素 1 の選択的導入を行いました。次に、TCO 基と生体直行的に反応するメチルテトラジン (MeTz) 基と蛍光色素 2 を亜鉛に応答して切断されるリンカーで連結したプローブをマウス脳内に投与することで、「クリック反応」を介して蛍光亜鉛センサーを構築しました。それぞれの受容体近傍に遊離の亜鉛イオンが放出された場合、プローブのリンカーの切断が受け、色素 1 と 2 の蛍光強度比が変化し、シナプス間隙への亜鉛放出の履歴を不可逆的に記録することが出来ます。また、異なる亜鉛濃度で切断されるリンカーを用いることで、どのくらいの亜鉛イオンが受容体近傍に放出されたかを推定することが可能となりました。我々は、生きたマウス脳内に構築した蛍光亜鉛センサーを用いて、カイニン酸投与にともない海馬の受容体近傍に放出される亜鉛イオンの履歴を記録し、イメージング解析によって定量マッピングしました。その結果、同じ海馬であっても領域依存的に興奮性シナプス受容体近傍に放出される亜鉛イオン濃度が大きく異なることや、抑制性シナプスに漏れ込む亜鉛イオンの濃度は、興奮性シナプス受容体近傍よりもかなり低いことを、シナプスレベルの空間分解能で明らかにしました。この結果は、亜鉛が関与するシナプス可塑性の調整や脳神経疾患のメカニズム解明につながる成果です。

3. 波及効果、今後の予定

今回開発した脳内の特定受容体のセンサーへの化学変換戦略は、亜鉛のみならず他の金属イオンや様々な酵素、活性酸素などの化学種の、標的タンパク質近傍でのセンシングに展開可能です。今後、導入するプローブの種類や基体となる受容体タンパク質の拡張を進めることで、脳機能を分子レベルで解析するための強力な研究ツールとなることが期待できます。

4. 研究プロジェクトについて

日本学術振興会（JSPS） 科学研究費助成事業 特別推進研究

課題名：生体分子夾雑の有機化学の開拓

課題番号：JP23H05405

日本学術振興会（JSPS） 科学研究費助成事業 基盤研究(B)

課題名：生きたマウス脳内でのミクログリア選択的化学修飾法の開発と近傍環境解析への応用

課題番号：JP24K01627

日本学術振興会（JSPS） 科学研究費助成事業 基盤研究(C)

課題名：内在性 GABA(A)受容体のケミカルラベルを基軸とする薬剤アッセイ系の構築

課題番号：JP23K04960

日本学術振興会（JSPS） 科学研究費助成事業 基盤研究(C)

課題名：Proteomic profiling of cell-cell contacts via Split-BmTyr

課題番号：JP25K08856

<用語解説>

注1) シナプス可塑性

シナプスの活動の増加または減少に応じて、シナプスの結合を強めたり弱めたりすることです。シナプス可塑性は記憶や学習の重要な神経化学的基盤の一つです。

注2) 脳内リガンド指向性化学

本研究グループが開発してきた脳内の内在性受容体を化学修飾できる手法です。標的受容体に選択的に結合するリガンドと導入したい機能性分子を反応性ユニット（解離型求電子剤：アシルイミダゾール）で連結した標識試薬を用います。受容体のリガンド認識にともない、受容体のリガンド結合サイト近傍の求核性アミノ酸残基が反応性ユニットと反応し、近接効果による受容体選択的な化学修飾が可能となります。この修飾反応後に、リガンドが受容体から解離するように設計されているため、受容体本来の機能が保持されます。

注3) クリック反応

特定の反応基のペアにより、高い反応性と選択性で新たな分子を合成する手法です。2022 年に「クリックケミストリーと生体直行化学の開発」に対して、ノーベル化学賞が授与されています。

注4) AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）

イオンチャネル型グルタミン酸受容体の一種で、中枢神経系に広く分布し、速い興奮性神経伝達を担っています。記憶や学習に大きく関与しています。

注5) GABA_A 受容体

中枢神経系で、速い抑制性神経伝達を担うイオンチャネル型受容体で、神経伝達物質の一つである γ -アミノ酪酸（GABA）との結合により活性化されます。多くの向精神薬の標的受容体としても知られています。

注6) クリック官能基

クリック化学による反応を起こすことが可能な官能基です。本研究では、トランスシクロオクテン (TCO) とメチルテトラジン (MeTz) のクリック官能基のペアを用いています。

<研究者のコメント>

「本研究で得られた成果は、生きた動物脳内で起こっている生理学的イベントを任意のタイミングで記録し、後のイメージングベースで詳細に解析する手法に発展可能だと考えています。今後、この技術を用いて、化学的アプローチを生かした脳・神経科学研究に役立てていく予定です。」(坂本 清志)

<論文タイトルと著者>

タイトル: Imaging and recording of synaptic zinc in the brain by covalent-chemistry based semisynthetic biosensors (共有結合化学に基づく半合成バイオセンサーを用いた脳内シナプス亜鉛のイメージングおよび記録)

著 者: Hao Zhu, Seiji Sakamoto, Keisuke Nakamura, Chengli Qiu, Kohei Nakajima, Hiroshi Nonaka, Itaru Hamachi*

掲 載 誌: *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* (PNAS)

DOI: 10.1073/pnas.2606947123