

2021 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	宮本 大祐
研究機関名	富山大学
所属部署名	学術研究部医学系
役職名	准教授
研究課題名	新旧の情報を統合する睡眠脳のダイナミクス
研究実施期間	2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日

**研究成果の概要**

本研究は睡眠時における神経活動のイメージングと光操作を行うため、遺伝子工学的手法により種々の分子プローブを発現用にアデノ随伴ウイルス (AAV) を脳に局所注入して神経細胞に感染させる。分子プローブの中には、アデノ随伴ウイルス (AAV) ではなくプラスミドとして配布されているものも多い。そこで、研究開発代表者らは 2021 年度において、プラスミドに含まれる配列を AAV に搭載するために、AAV293 細胞を用いた培養細胞の実験系を導入した。興奮性細胞選択的な遺伝子発現の誘導のために、制限酵素を用いて、シナプシンプロモーターから CaMKII プロモーターへの組換えを行った。AAV の力価を測定したところ、脳に注入して発現させるために十分な値が得られている。AAV を用いてカルシウムインディケーター (緑蛍光の G-CaMP 又は赤蛍光の jRGECO1a) を記憶関連脳領域である海馬や大脳皮質に発現させた。蛍光顕微鏡を用いて、脳切片上において、目的脳領域における遺伝子発現を確認している。そして、カルシウムインディケーターを発現させたマウスに対して、細胞種選択的なファイバーフォトメトリー法や単一神経細胞の解像度を有する超小型内視顕微鏡を適用して、神経活動観察に成功している。本研究で行う睡眠時における脳ダイナミクスのイメージング及び光操作研究について、日本語文献 (宮本大祐, Medical Science Digest, 2021) と英語総説論文を執筆している (Miyamoto, Neuroscience Research, Available online 16 April 2022)。