

## 【基盤研究(S)】

### 総合・新領域系（総合領域）



#### 研究課題名 シナプス構造の分子解剖

東京大学・大学院医学系研究科・教授 **おかべ しげお**  
**岡部 繁男**

研究分野：総合領域

キーワード：分子神経生物学

#### 【研究の背景・目的】

光学的測定技術を活用したシナプス研究はその進展が急速であり、シナプス可塑性に伴うシナプス部位における分子の局在変化やシナプス構造の変化について多くの知見が得られている。シナプスのサイズは約 2-3 ミクロン程度と非常に小さく、その内部における分子位置や機能変化を読み出すための技術が必要である。スパイン頭部に存在するシナプス後部膜分子が、他の機能分子とどのように関連しているのか、その詳細を明らかにするためには新たな方法論を開発する必要がある。また光学的測定を利用したシナプス研究のもう一つの重要な流れとして、生体内でのシナプスのイメージング(in vivo imaging)が挙げられる。シナプスの形成・維持機構を理解するには in vitro の実験結果を in vivo で検証することが極めて重要であり、両者をつなぐ方法論の開発が必要である。本研究計画ではこのような背景から、以下の二つの具体的目標を設定した。

1. シナプス後肥厚部 (PSD) 内部構築の高解像度観察法の開発
2. 上記手法の in vivo シナプス解析への応用

#### 【研究の方法】

一分子蛍光の検出を利用して、20 nm 程度の分解能を得ることが出来る高解像度光学顕微鏡法の可能性が近年報告されている。一個の PSD は直径が 400 nm 程度のディスク状の構造であり、この原理を適用して、その内部構造を捉えることが可能である。本研究計画では、蛍光蛋白質で標識された PSD およびスパインについて、新しい光学顕微鏡法を応用してその内部構造を検出することを試みる。第二に、蛍光蛋白質の活性を維持したまま樹脂に脳組織を包埋し、厚さ 1 ミクロン程度の切片を作成することで、脳組織内の PSD 構造について同様の手法を適用することを検討する。更にこれらの技術を基盤として、in vivo imaging によりシナプス形成やシナプス構造の変化が確認できた脳内微小領域について、切片を作成してシナプスの内部構造の変化の有無を検討する。脳内でのシナプス形成・リモデリングと、PSD の微細構造の関連を解析することで、PSD 構造の構築原理の解明を目指す。

#### 【期待される成果と意義】

個体レベルでシナプスを同定し、その分子分布の変化を読み出すことが可能になれば、個体内で

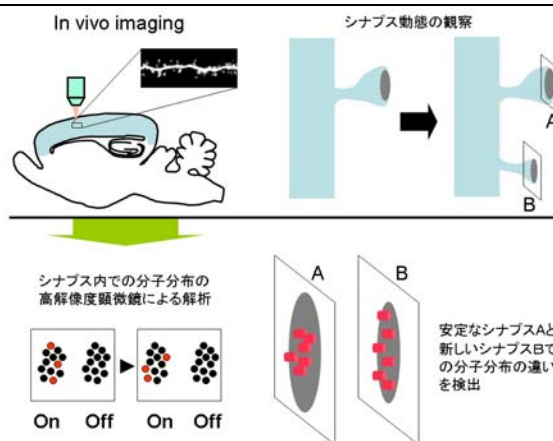


図1 研究計画の概要

のシナプス形成に伴う分子変化の実体を明確に出来る。グルタミン酸受容体、シナプス足場蛋白質、リン酸化酵素など、活動依存的に分布を変化させる分子について、安定化されたシナプスと新しく形成されたシナプスについて、その分子的な差異を明確にすることも可能となる。シナプス安定化の分子機構は、記憶の定着や消去に関連しており、本研究によって安定化されたシナプスの分子的・形態学的な特徴が確立すれば、安定に存在し機能し続ける神経回路を同定して、その脳システム全体との関係を解きほぐすことが期待できる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Sugiyama, Y., Kawabata, I., Sobue, K., and S. Okabe Determination of absolute protein numbers in single synapses by a GFP-based calibration technique. *Nature Methods* 2, 677-684, 2005.
- Kuriu, T., Inoue, A., Bito, H., Sobue, K., and S. Okabe Differential control of postsynaptic density scaffolds via actin-dependent and independent mechanisms. *Journal of Neuroscience* 26, 7693-7706, 2006.

#### 【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

109,500千円

ホームページ等

<http://synapse.m.u-tokyo.ac.jp/>