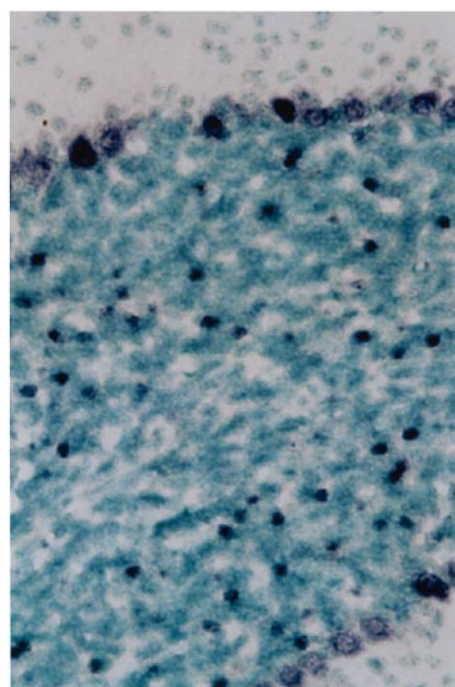


Molecular biological studies on
neural plasticity and long-term memory

神経可塑性と長期記憶に関する
分子生物学的研究

プロジェクトリーダー 井 本 敬 二

岡崎国立共同研究機構
生理学研究所 教授



小脳プルキンエ細胞に発現するTRP3。右は拡大図。

1. 研究の目的

脳機能の特徴は状況に応じて自己の構成を変化させていく可塑性にあります。その一つの例としてシナプスにおける長期増強があげられます。しかしながら脳の構成変化を持続的に保つためには、シナプス局所の変化だけでは不十分であり、シナプス部位と核との情報の交換が必要となってきます。近年の分子生物学の進歩により、数多くの生体機能分子の存在が知られるようになり、特にシナプス部位で機能する神経伝達物質受容体やイオンチャネルなどシナプス伝達に関与する分子の機能が解明されてきました。さらにノックアウトマウス利用によりこれらの分子の生体での機能を検討することが可能となってきています。しかしシナプス部位-核の情報交換をになう分子的基盤は、いまだにあまり研究がおよんでいない領域です。

この領域の研究の困難性は、細胞内での情報伝達の解析を分子レベルでしかも細胞の形態を保ちつつ行なわなくてはならない点にあり、そのためには従来の分子生物学的あるいは電気生理学的手法のみでは不十分で、生理活性物質動態可視化のための新技術開発を含めてプロジェクトを展開させなくてはなりません。

本プロジェクトにより、記憶・情動・意識など分子生物学では容易に迫ることの出来なかった領域にも、分子的な方法論を持ち込むことが可能になるであろうと期待されます。さらに脳高次機能の分子的基盤を明らかにすることは、数多くある難治性神経疾患の治療方法を探る上でも重要です。



カルシウムイメージング装置を用いたTRPチャネルの機能解析。

2. 研究の内容

本プロジェクトの特色は、分子生物学・電気生理学・光科学・合成化学など諸領域の最新技術を活用しつつ、なおかつ新技術の開発を目指し、脳機能の基本的原則を解明しようとする点にあります。具体的には下記の内容の研究を進めています。

(1) シナプス部位と核間の情報伝達に関与する分子の同定

カルシウムイオンは細胞内セカンドメッセンジャーとして細胞の諸機能に重要な役割を果たしています。われわれは、これまで行ってきた電位依存性カルシウムチャネルの分子的な機能解析に加えて、これらの異常によって生じる小脳失調症マウスの研究を進めています。またわれわれは、現在カルシウム代謝とイノシトール3リン酸代謝を結び付ける上で重要と考えられるいわゆるレセプター活性化型カルシウムチャネル (Receptor-activated calcium channels) の分子生物学的解析に努力しており、特にこのチャネルファミリーのひとつであるTRPチャネルの機能解析と活性化因子の同定を目指しています。これまでにこのチャネルファミリーのcDNAクローニングを終え、現在cDNAからの発現を行っています。その結果、この種類のチャネルが脳に多く発現していること、従来考えられていたチャネル活性化メカニズムとは異なる機序でチャネルが活性化されることなどが明らかになってきています。このタイプのカルシウムチャネルは、シナプス刺激が反復して行われた場合にONとなる回路として働いているのではないかと予想されています。さらにこれらのチャネルの生理的活性を検討するために、マウス発生工学を積極的に取り入れて研究を進めています。

(2) 分子センサーの設計・開発

細胞の機能を調べるには、細胞内での情報のやりとりを知る必要がありますが、そのやりとりを測定する技術の開発が必要です。われわれは、重要な細胞内セカンドメッセンジャーであるイノシトール 3- リン酸をターゲットとして分子センサーの設計・開発を行っています。イノシトール 3- リン酸を結合する蛋白に改変を加え、合成化合物と結合させる予定で、これまでにもとなる蛋白のcDNAクローニングを終えまし。また測定系を改良するために、バイオセンサーシステムのセンサーチップの表面加工を行っています。

(3) 測定機機の開発

平成9年度末に設置予定である多光子励起走査型レーザー顕微鏡は、新しいタイプのレーザー顕微鏡であり、従来の共焦点レーザー顕微鏡に比べて、厚みのある生きたサンプルを観察する事ができ、また光による細胞障害も弱く長時間の測定が可能となります。また光感受性の化合物を用いてレセプターの機能的マッピングも可能であると期待されています。この多光子励起走査型レーザー顕微鏡の円滑な稼動を目指し、脳スライスを用いたカルシウムイメージングを行い、とくにマウス脳における基礎データの収集に取り組んでいます。

分子的な基礎知識に基づいた測定を脳スライスあるいは将来的には脳そのものを用いて行い、いろいろな入力に対する神経細胞の短期的・長期的応答を分子のレベルから理解していくことが、脳の謎の解明に貢献するとわれわれは考えています。

3. 研究の体制

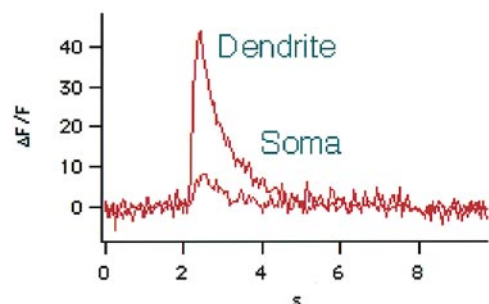
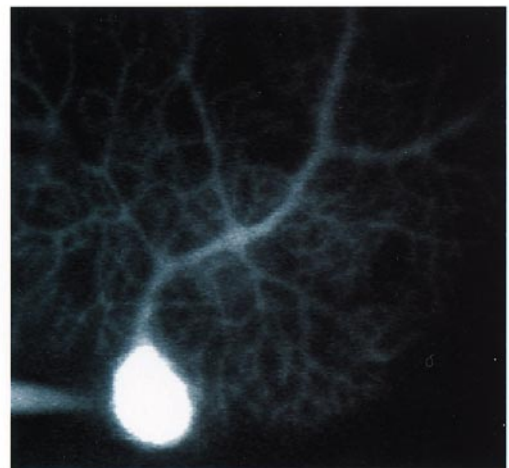
期 間：1996年10月～2001年3月

構 成：プロジェクトリーダー 1名、コアメンバー3名、研究協力者 1名（内日本学術振興会研究員 1名）で構成されています。その他、研究室に属する大学院学生、生理学研究所特別協力研究員がこの研究に参加しています。

実施場所：この研究の拠点は岡崎国立共同研究機構 生理学研究所 液性情報研究部門ですが、多くの研究室とも連絡を取ってプロジェクトを進めています。



バイオセンサーシステムを用いた分子センサーとタンパクの結合状態の解析。



小脳プルキンエ細胞の樹状突起と細胞体におけるカルシウム動態。