

「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用」
平成 29 年度採択研究代表者

H29 年度
実績報告書

礒村 宜和

玉川大学脳科学研究所
教授

シナプス光遺伝学を用いた脳領域間シグナル伝播機構の解明

§1. 研究実施体制

(1)「礒村」グループ

- ① 研究代表者:礒村 宜和 (玉川大学脳科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・C1.高速2波長多点光照射装置の確立

(2)「大塚」グループ

- ① 主たる共同研究者:大塚 稔久 (山梨大学大学院総合研究部 教授)
- ② 研究項目
 - ・A1.プレシナプス光刺激／抑制ツールの系統的開発
 - ・A3.遺伝子改変動物の作成・提供

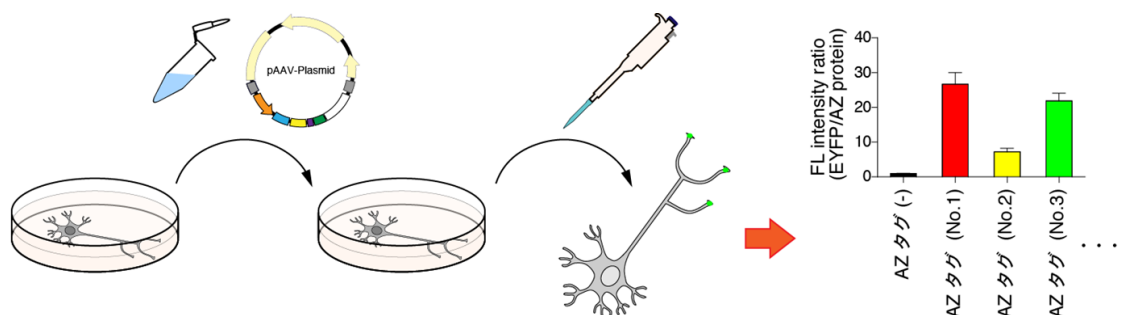
(3)「渡部」グループ

- ① 主たる共同研究者:渡部 文子 (東京慈恵会医科大学医学部 教授)
- ② 研究項目
 - ・B1.プレシナプス光刺激／抑制ツールのインビトロ評価

§2. 研究実施の概要

本研究課題では、研究代表者(磯村宜和)が考案した脳領域間のスパイク情報を細胞単位かつミリ秒単位で追跡できる Multi-Linc 法の次世代化のために、主たる共同研究者(大塚稔久・渡部文子)の専門技術を活かして、投射細胞の軸索終末(プレシナプス)に集積し、光応答性の高いプレシナプス光刺激ツールと、シナプスの開口放出を光抑制するプレシナプス光抑制ツールを開発する。これらのツールを脳の広範囲に発現させることにより、時間的にも空間的にも計測精度と低侵襲性を大幅に向上させた次世代(プレシナプス)Multi-Linc 法を確立することを主な目標とする。さらに、本研究で生み出されるプレシナプス光刺激/抑制ツールの有用性・汎用性を実証するため、未だ謎多いシナプス伝達・可塑性の機構と情動回路機構に狙いを定め、分子・シナプス・回路・行動レベルにわたる脳機能の仕組みの解明に応用することも目指す(シナプス光遺伝学の確立)。

平成 29 年度(初年度)は、大塚グループは研究項目 A1(プレシナプス光刺激/抑制ツールの系統的開発)に取り掛かった。具体的には、チャンネルロドプシン 2(ChR2)のC末端に、軸索終末側への軸索輸送に関わる配列やアクティブゾーン分子結合配列を蛍光タンパクとともに付加した候補分子を作成した(計 32 種類のコンストラクト)。これらの候補分子をスクリーニングするために、スモールスケールでAAVベクターを使った遺伝子発現系を確立し、光刺激による電気生理学的な評価方法の立ち上げも進めた。なお、研究項目 A3(遺伝子改変動物の作成・提供)については、大学外の研究室と連携し、現在、蛍光タグ付きのプレシナプス分子のノックインマウスの作出を進めている。渡部グループは、研究項目 B1(プレシナプス光刺激/抑制ツールのインビトロ評価)に取り掛かった。腕傍核-扁桃体経路をモデルとして、各種AAVを用いてプレシナプス特異的なオプシン発現効率を組織学的に確認し、さらに急性脳切片を用いて光電気生理学的に光誘発シナプス電流を解析した。また、個体レベルで経路特異的にウイルスベクターを打ち分けることで、脳切片において経路特異的刺激によるシナプス応答特性などを解析するための各種パラメーターの確立に着手した。磯村グループは研究項目 C1(高速2波長多点光照射装置の確立)に取り掛かった。プレシナプス Multi-Linc 法の実現の前提となる高速2波長多点光照射装置1台を設計・製作し、行動・生理記録実験のセットアップに設置した。さらに、スパイク情報に基づいて同装置をリアルタイムで制御するコンピュータ・プログラムを作成し、ハード・ソフト両面での動作を実際の実験環境での試行で確認した(引き続きチューニング中)。



候補分子とプレシナプス・マーカーの共発現のスクリーニング評価