

論文内容の要旨

論文題目 ポストシナプスにおける分子動態の総合的イメージング

指導教官 尾藤晴彦 准教授

東京大学大学院医学系研究科医学博士課程脳神経医学専攻

2004年4月入学 藤井 哉

ポストシナプスにおける生化学反応は神経細胞の分化、神経可塑性の発現、代謝調節、細胞死など神経機能の基盤となっている。ポストシナプスはその体積の極小性、分子構築、拡散の性質などの点で試験管内での再現が困難な特殊な反応場であるため、その中での細胞内シグナル伝達を明らかにするには実際の生きた神経細胞のポストシナプスにおいて測定を行うことが不可欠である。また、細胞内シグナル伝達はたくさんのタンパクが複雑に相互作用しあうことで構築されており、その全体像を理解するためには定量的かつ高時空間分解能で複数の細胞内シグナルを同時に計測する必要がある。しかし、これらの要求を満たす測定方法はこれまでに報告されていない。そこで、私たちは複数の細胞内シグナルを同時に可視化することが可能な dual FRET 計測システムを開発し、さらに生細胞蛍光イメージングによる高時空間分解能計測とフォトアンケイジングによる局所刺激を組み合わせ、新しい実験手法を開発してこの問題に取り組んだ。

この実験手法を用いることで、神経細胞内においてふたつの異なるセカンドメッセンジャー (Ca^{2+} と cAMP) の濃度を同時計測することが可能になった。また、CaMKII の活性を示すインディケータを新たに開発し、セカンドメッセンジャー (Ca^{2+}) の濃度からそのエフェクター (CaMKII) の活性への変換機構を解析した。その結果、神経細胞の細胞体およびスパインにおいて上昇した Ca^{2+} 濃度が基底状態に下がった後も CaMKII の活性化が持続することを単一細胞・単一シナプスレベルで可視化・定量化することができた。この活性の持続には 286 番目のスレオニンに対するリン酸化が重要な役割を果たすことが示された。また、流入した Ca^{2+} の総量が一定であってもその時間変化曲線のプロファイルに応じて CaMKII 活性の総量に変化する応答特性を持つことを示唆する結果が得られた。

本論文で開発した実験手法は従来の研究手法では検出が困難であった細胞内シグナル伝達の新たな様相を明らかにすることのできる有効な手段であると考えられる。