

| 第 1 領域 (公募班員) |                                   |        |                     |
|---------------|-----------------------------------|--------|---------------------|
| 研究課題名         | 遺伝学的に神経細胞の活動を変化させることによる、神経回路機能の解析 |        |                     |
| 研究代表者名        | 東島 眞一                             | E-mail | shigashi@nips.ac.jp |
| 所属・職名         | 自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・助教授     |        |                     |
| 研究分担者名        |                                   |        |                     |
| 分担者所属         |                                   |        |                     |

# 研究成果報告書

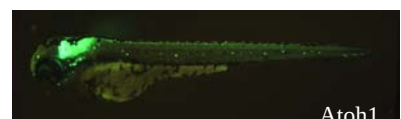
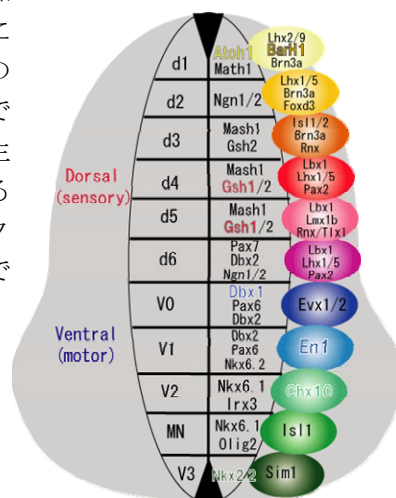
発生期に、さまざまな転写因子が発現して多くの種の介在神経細胞が生じてくる(下の模式図参照)。最近、それらが回路の中でどのような神経細胞へ分化していくかを問いかける研究が進み始めており、ゼブラフィッシュはこのような研究を行う上で重要な役割を果たしつつある。回路が比較的単純であることと、GFP を用いて特定のクラスの神経細胞を生きたまま高精度に可視化できることが大きな利点となっている。

私は、右図に示すように、様々なクラスの神経細胞を蛍光タンパク質で可視化し、それらから電気生理学的記録を取って解析することによって、おのおののクラスの神経細胞の、回路中での機能の解析を進めている。

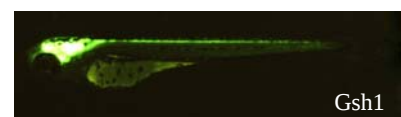
このようにして、特定のクラスの神経細胞を可視化できるようになり、その神経回路中での役割が推測できるようになると、次なるチャレンジは、その神経細胞

の活動に人為的に変化を加えて、その結果(たとえば動物の行動パターン)を見ることである。それにより、推測された神経細胞の役割を、より確かな因果関係として提示することができるようになる。本研究課題では、ゼブラフィッシュの系を用いて、特定のクラスの神経細胞を不活性化させることにより脊髄神経回路機能を解析することを目標としている。

神経細胞を不活性化させる手段として、その神経細胞からのシナプス伝達を阻害するテタナス毒素を第一候補として研究を進めている。テタナス毒素を Gal4-UAS 発現誘導システムにより、トランスジェニックフィッシュ同士の掛け合わせで、さまざまなクラスの神経細胞でテタナス毒素を発現させていく予定である。まずモデルケースとして、神経細胞全体で発現を促す HuC プロモーターのもとで Gal4 を発現するラインと、UAS プロモーターのもとでテタナス毒素を発現するラインを作製した。それらを掛け合わせたところ、すべての神経細胞でテタナス毒素が発現し、全く動かない魚を得た。したがって、Gal4-UAS システムとテタナス毒素の双方ともうまく機能していることが示された。このシステムで、シナプス伝達阻害の程度の定量化を試みた。この目的のため、RB 細胞と CoPA 細胞の 2 細胞記録を行った。RB 細胞は一次感覚神経細胞であり、CoPA 細胞はその情報を伝達する感覚系介在ニューロンである。この二者は、非常に高い頻度でシナプス結合している。実験の結果、野生型では必ず記録される EPSC が、テタナス毒素発現魚では完全に消失していた。したがって、HuC:Gal4 によってドライブされるテタナス毒素の発現レベルは、シナプス結合をほぼ完璧に阻害しうるレベルにまで達していることが示された。現在、HuC ではなく、特定のクラスの神経細胞(たとえば Chx10 陽性細胞)で Gal4 を発現するトランスジェニックフィッシュの作製を進めている。



Atoh1



Gsh1



Dbx1



Nkx2.2