様式1-5-1

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
平成２５年度共同研究者派遣実施報告書
［研究分野：行動・システム・認知］

１．所属機関･職名･氏名：
東京大学理学系研究科生物科学専攻・助教・神田真司

２．研究課題名：
環境や生理状態の変化による逃避行動変化の電気生理学的解明

３．米国側研究機関･共同研究者：
Ono, Fumihito
National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism
Chief

４．派遣期間：平成25年 6月26日～平成25年11月26日

５．研究の概要，成果および意義（1000字）：

逃避行動は環境要因、生理状態の変化により、厳密に修飾されている。
Yokogawaらは、Dorsal rapheのセロトニンニューロンが、個体の覚醒状態を修飾することを報告した。したがって、これらのセロトニンニューロン逃避行動を修飾することが示唆される。多くのセロトニン受容体の中､現在までに報告されている唯一のイオンチャネル共役型受容体は5HT3a, bである。当研究室の先行研究(未発表)から、哺乳類の5HT3に対する特異的なアンタゴニストが、ゼブラフィッシュの逃避行動を修飾することが示唆されている。そこで、チャネルレベルでどのような修飾がなされているのかを詳細に研究するため、*5ht3*をRACE法によりクローニングした。クローニングしたチャネルをHEK293細胞にリポフェクション法、あるいはエレクトロポレーション法を用いて強制発現させ、ホールセルパッチクランプ法によって5HT投与時に発生する電流を計測したが、電流は観察されなかった。マウスの5ht3aを用いて同様の実験を行ったところ、顕著な電流が見られたことから、我々がクローニングしたゼブラフィッシュの5HT3クローンは、HEK293細胞において機能しないことが示唆された。そこで、FLAGタグをC末端に付加したht3コンストラクトを作成し、免疫組織化学によって可視化したところ､膜を界面活性剤処理した細胞においてのみ､シグナルが見られたため、このクローンはHEK293細胞において膜移行が正常に行われていないことが原因であると考えられる。同様の現象が5HT3の属するcysteine-loopファミリーのチャネルであるニコチン性アセチルコリン受容体において報告が存在し、Xenopus 卵母細胞ではチャネルの膜移行が正常に行われたので、今後HEK細胞特異的な問題を回避するため､Xenopus卵母細胞を用いて同様の実験を行うことを計画している。本研究は、哺乳類において機能・作用機序が完全には明らかにされていない5HT3を、小型魚類という、哺乳類とは異なる多数のメリットを持つ新しいモデルを用いる研究の第一歩目となる。

６．その他（実施上の問題点，特記事項）
NIHは１０月に行われた政府シャットダウンの対象になっており、数週間にわたって試薬の発注等が停止された。

◎参考資料があれば，添付ください。