

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
グループ共同研究実施報告書（平成23年度～平成24年度）

[研究分野：細胞・分子]

1. グループ共同研究代表者

所属機関・職名・氏名 生理学研究所・教授・重本隆一

2. 研究課題名

細胞膜シグナリング分子の凍結割断レプリカによる局在解析

3. 日本側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

代表者 生理学研究所・教授・重本隆一

分担者 生理学研究所・准教授・田淵克彦

分担者 生理学研究所・助教・松井 広

分担者 生理学研究所・大学院生・Laxmi Kumar Parajuli

分担者 生理学研究所・大学院生・Dwi Wahyu Indriati

4. 米国側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

代表者 University of California, Professor, James Trimmer

分担者 University of California, PhD student, Hannah Bishop

分担者 University of California, PhD student, Danielle Mandikian

5. 研究期間 平成23年 4月 1日～平成 25年 3月 31日

6. 研究の概要、成果及び意義（1000字）

この研究の目的は、重本研で進められている定量的凍結割断レプリカ標識法をはじめとする免疫電子顕微鏡法をトリマー研で作成された数多くの抗体に適用し、イオンチャネルの神経細胞膜上におけるクラスターを可視化し、どのようにそれが調節され、細胞内のカルシウムシグナリングと関連しているのかを明らかにすることである。トリマー研の Danielle Mandikian は、4ヶ月にわたって生理研に滞在し、Kv2.1 が錐体細胞や線条体中型細胞において細胞体の膜上に高密度クラスターを形成し、それらがしばしば細胞内カルシウムを貯蔵している subsurface cistern の直上に存在することを見出した。Kv2.1 関連蛋白質 AMIGO も同様の局在を示し、これらの結果は、細胞内カルシウムの放出によりリン酸化を介して Kv2.1 のクラスター化が調節されている可能性を示す。また、重本研の Laxmi Kumar Parajuli は3ヶ月にわたってトリマー研に滞在し、Cavの抗体をスクリーニングすることによって、免疫電子顕微鏡法に有用な beta subunit の抗体を見出した。これによって、小脳の平行線維シナプスにおいて Cav2.1 が beta4 subunit と coclustering していること、脚間核においては Cav2.3 が beta3 subunit と共存していることが分かった。また、プルキンエ細胞の細胞体においては、Cav2.1 はカルシウムによって活性化されるカリウムチャネル BK および SK2 チャネルと共に、高密度クラスターを形成していることが明らかになり、カルシウム流入によるカリウムチャネルの即時的な活性化が細胞興奮性のチューニングを担っていることが示唆された。今後はリン酸化などによる神経活動依存的なイオンチャネルクラスターリング調節の分子メカニズムについて、さらに共同研究を進める。

7. その他（実施上の問題点、特記事項等）

特になし。

◎参考資料があれば、添付ください。