3P229

グルタミン酸受容体のシナプスへの動的局在：刺激による安定化

○吉田 広人^{1,2}、中田 千枝子²、長谷川 理恵²、梅田 達也³、岡部 繁男³、楠見 明弘² (¹名大院・理・生命理学、²京大再生研/JST-ICORP 膜機構、³東京医科歯科大)

シナプスは、直径数 100nm の大きな分子複合体で、安定な構造体であるように見える。しかし、実際には、そこへの分子の出入りは極めて動的に起こっており、特にシナプスが活動すると、そのシナプスでは、分子の出入りが活性化したり、サイズも大きくなることなどがわかってきた。刺激依存的にシナプスが強化される機構を解明するため、我々は特に、シナプスを構成する分子群のリクルートとリサイクルの過程を検討している。本研究では、主に、イオン透過型グルタミン酸受容体である NMDA 型受容体の刺激に伴う動態の変化を調べた。すなわち、培養海馬細胞（生後 0～1 日のラットからの細胞を初代培養したもの）の細胞膜において、NR2A の YFP 融合タンパクを発現させ、全反射蛍光顕微鏡を用いて、その刺激前後の挙動を実時間で可視化、追跡した。YFP-NR2A の蛍光観察から、NMDA 型受容体の一部は、多数の受容体からなるクラスターとして存在し、さらに、その多くはシナプスにあることがわかった。個々の YFP-NR2A クラスターの蛍光を一度褪色させると、その後、蛍光強度が回復するが、回復率（回復曲線が 10 分後にほぼプラトーとなり、そこで決定）が、グルタミン酸刺激の前後で、大きく異なっていた。すなわち、刺激前は平均 50% であったのに対し、刺激後 15 分経過した細胞では、約 15% であった。これは、NMDA 型受容体クラスターにおける NR2A 分子の交換が、刺激後にきわめて遅くなることを示しており、刺激によって、NMDA 型受容体のシナプス局在とサブユニット構成が、安定化されることが示唆された。

H.Yoshida, C.Nakada, R.Hasegawa, T.Umeda, S.Okabe and A.Kusumi : Dynamic localization of glutamate receptors in synapses: stimulation-induced stabilization

3P231

大腸菌 1 細胞における個性創出タイミングの検出

○梅原 千慶^{1,2}、服部 明弘¹、安田 賢二^{1,2} (¹東大院・総合文化、²Stanford Genome Technology Center, Stanford Univ.)

【背景と目的】単細胞生物である大腸菌は、通常の培養環境において、等分裂により全く同じゲノム情報を持つ 2 匹の娘細胞となる。このとき細胞は、核酸や細胞質成分といった物理的実体の複製と分離を通じて、情報処理系の分離も行っていると考えられる。では、ここで分割される細胞情報とは示量変数なのであるか、示強変数なのであるか。本研究は、1 細胞内での情報処理系の分離（個性の創出）のタイミングとその過程を、細胞の物理的な成長・分裂と直接関連付けて観察することで、細胞が世代間で伝承する情報の性質を明らかにすることを目的とした。

【方法】親細胞と娘細胞を同一条件下で比較できる実験系が必要だったことから、チップ上に構築した微細構造物中で大腸菌 1 細胞を単離培養して表現型変化を追う「成長・運動デュアル実時間計測系」を用いた。この計測系では、約 10 世代に渡る 1 細胞直系子孫細胞を単離状態のまま、顕微鏡下で、100 ミリ秒の時間分解能で連続観察できる。細胞成長および細胞分裂は、細胞の長さの経時計測から決定した。情報処理系の状態推測には、構造生物学的・生理学的に広く研究されているべん毛運動に注目し、遊泳速度とタンプリング頻度を指標とした。

【結果と考察】遊泳速度は、細胞が成長するのに応じて徐々に低下し、娘細胞に分裂した直後に上昇した。タンプリングは、頻度について世代ごとの相関は見られなかったが、分裂直前期に限って特徴的な動きが確認された。この特徴的な動きは、分裂溝形成の後に現れ、細胞分裂と同時に解消した。本会ではこれらの結果をもとに、情報処理系の分離過程や世代間伝承情報の性質について議論する。

S. Umehara, A. Hattori and K. Yasuda : Detecting the emergence of separate entities within a mother cell in *Escherichia coli*

3P230

心筋細胞をモデルとした細胞ネットワークの空間パターンとコミュニティ・エフェクトの定量解析

○小島 健介、金子 智行、安田 賢二（東大院・総合文化）

【目的】細胞は集団化することにより、組織、器官で見られるような高度な機能を持つようになる。しかし、細胞集団のサイズや、その空間配置などの違いによって生じるネットワークの複雑さの多様性が、細胞集団として現れるマクロな性質に対し、いかなる効果を持つのかという、細胞ネットワークの空間パターンとコミュニティ・エフェクトの意味に関しては未知である。この詳細な知見は、細胞が持つさらに高次な集団としての情報の保持、順応機構の理解に大きな寄与を与えると考えられる。そこで本研究では、空間パターンに内在する細胞ネットワークの情報の解明に向け、そのマクロな性質を、1 細胞単位のミクロな観点から物性論的に明らかにしていくことで、“細胞集団が持つ空間情報の物性論”を確立することを目的とする。

【実験方法と結果】細胞集団における空間情報の解明には、1 細胞単位で任意の空間パターンを持った細胞集団を作製し、その細胞集団のサイズ、ネットワークパターンに依存したダイナミクスを計測・解析する構成的アプローチが有効であると考え、細胞培養容器の形状を任意に変化させることができる構成的 1 細胞培養法の開発に成功している¹。心筋細胞をこの方法で培養し、別々のリズムで拍動していた 9 個の孤立した心筋細胞が段階的に相互作用して、拍動リズムがすべて同期するまでのダイナミクスを連続計測した所、細胞数の増加に依存して拍動リズムゆらぎが段階的に減少し、平均拍動周期に対して 10% 程度のゆらぎで安定化する傾向を見出した²。次に、細胞数を固定した時、その細胞ネットワークパターンに依存したゆらぎの減少過程の差異の有無、及び、電気刺激、薬物刺激に対する応答変化について検討した。詳細については本会にて報告する。

1) Kojima, et al. *Lab Chip*. 2003.3(4):292-6

2) Kojima, et al. *J Nanobiotechnology*. 2005.3:4

K.Kojima, T.Kaneko and K.Yasuda : Quantitative analysis of spatial pattern of cell network and cell community effect by using cardiac myocyte

3P232

セラミドとグリセロリン脂質間の相互作用

○佐藤 智^{1,3}、車田 真吾¹、矢野 義明²、松崎 勝巳²、小林 俊秀³ (¹京都大学大学院理学研究科、²京都大学大学院薬学研究科、³理研フロンティア)

セラミドは、アポトーシスなどに関与するほか、スフィンゴ脂質の材料となる重要な脂質である。その機能は、細胞内コンパートメントの脂質組成と密接な関連があると考えられつつある。我々は、セラミドの膜における構造に対するホストのリン脂質の影響を研究した。セラミドと各種リン脂質とを混合したものに対する抗セラミド抗体の結合は、リン脂質の極性基と脂肪酸のいずれの違いをも反映して変化した。ホスファチジルコリンでは、飽和脂肪酸<単不飽和脂肪酸<多不飽和脂肪酸の順にセラミドがよく認識された。セラミドは、非イオン性の小さな極性基と長く飽和したアルキル鎖を持つため、多くのリン脂質と混じりあわないことが知られている。しかし、アルキル鎖を蛍光修飾した誘導体を用いた解析では、これとセラミド-抗体相互作用との関連性は認められなかった。これに対し FT-IR によって、セラミドのアミド結合周辺は多不飽和脂肪酸 (PUFA) PC によってよく水和することが示された。一方、セラミドはホスファチジルエタノールアミン (PE) 中では全く抗体に認識されなかった。FT-IR はセラミドのアミドが非常に強い水素結合を起こしていることを示唆した。これらの結果は、セラミドの膜界面構造がホストのリン脂質に強く依存して変化することを示している。多不飽和脂肪酸 (PUFA) は脳や網膜機能に必須である。我々の結果は、PUFA-リン脂質が特殊な膜環境を作ること初めて明らかにした。

SB Sato, S Kurumada, Y Yano, K Matsuzaki and T Kobayashi : New aspects of interaction between ceramide and glycerophospholipids