3P257

DHPGにより誘導される長期抑圧に対するアラキドン酸の代謝産物の関与

○福本 翔太、城間 晋作、小野 方子、米谷 快男児（九工大 情報工 生命情報工学）

<序論>我々はこれまで、group I の mGluR のアゴニストである DHPG の投与による長期抑圧（DHPG-LTD）の誘導には、アラキドン酸（AA）あるいはその代謝産物が関与していることを報告した。AA は大別して lipoxygenase（LO）と cyclooxygenase（COX）による 2 つの経路で代謝される。COX 経路の関与はすでに報告したので、本研究では LO 経路と DHPG-LTD 誘導の関係を調べ、DHPG-LTD 誘導に関与する AA 代謝産物を明らかにすることを目的とした。

<方法>生後 4~6 週のラット海馬スライスの CA1 放線層から、EPSP を細胞外で記録した。AA の LO 経路を阻害する薬物（NDGA および Baicalein）の存在下で DHPG を投与して、LTD 誘導に与える効果を調べた。

<結果・考察> LO 経路の非選択的阻害剤である NDGA 存在下で DHPG を投与すると、DHPG-LTD は誘導されなかった。LO 経路には 5-LO と 12-LO による代謝経路があるので、12-LO の選択的阻害剤である Baicalein を用いて実験を行った。Baicalein 存在下では DHPG-LTD は誘導されなかったため、12-LO による AA の代謝産物（12-HPETE）の DHPG-LTD への関与を考察することが出来る。12-HPETE は K チャネルの開口確率を上昇させるので、DHPG-LTD の原因であるシナプス前細胞からの伝達物質放出の抑制に関与している可能性が考えられる。この可能性を検討するために、K チャネルの阻害剤である 4-AP の存在下で DHPG を投与した。その結果、DHPG-LTD は誘導されなかったため、12-HPETE による K チャネルの開口確率の上昇が LTD の原因になっている可能性を示している。

S.Fukumoto, S.Shiroma and K.Kometani : Contribution of arachidonic acid and its metabolites to DHPG induced long-term depression in the hippocampus.

3P259

単一神経細胞の軸索・樹状突起の段階的伸長方向制御とその電気生理学的解析

○北村 哲生¹、鈴木 郁郎²、杉尾 嘉宏²、柴田 克也²、金子智行²、安田 賢二²（¹ 東大・教養・基礎、² 東大院・総合文化・広域科学）

脳の基本素子は神経細胞であるが、脳における高度な情報処理を実現しているのは、そうした神経細胞同士が複雑に結合した神経回路である。すなわち、個々の細胞がネットワークを形成することによって、1 神経細胞では実現することのできない柔軟な機能を発揮するのである。このことは、形成されているネットワークパターン自身が機能を発揮する上で重要な役割を担っていることを示唆している。それでは、ネットワークパターンの違いに依存してどのような機能が現れてくるのだろうか？このような疑問に対して実験的にアプローチするためには、脳切片などすでに複雑にネットワークが形成されたサンプルを対象にした計測だけでなく、1 細胞単位でさまざまな人工的ネットワークパターンを人為的に構築して比較計測するという構成的アプローチを用いることで、ネットワークの空間配置がもつ意味がより厳密に理解できると考えている。そこで本研究では、構成的にネットワークパターンを構築するにあたって、まず 1 神経細胞に着目して、従来不可能であった、軸索・樹状突起をそれぞれ選択的に希望する方向へ誘導・伸長させる技術の確立と、その 1 神経細胞由来の神経突起における性質の違いを電気生理学的に調べることを目的とした。

1 細胞単位で軸索・樹状突起の伸長方向を選択的に制御する方法として、当研究室で開発した培養中であっても段階的に微細構造を追加加工できるアガロースゲルを用いた集束光マイクロ加工技術を用いた。この特徴を利用して、海馬初代培養細胞を 1 細胞配置し、神経突起を伸長させるマイクロチャンネルを培養中に段階的に追加加工することによって軸索・樹状突起の選択的伸長方向制御に成功した。現在、軸索・樹状突起の分化タイミングや他細胞との結合による影響等を調べている。電気生理学的データと共にこれらの結果を本会にて報告する。

T.kitamura,I.Suzuki,Y.sugio,K.shibata,T.kaneko,and K.Yasuda : Stepwise controlling direction of neurite outgrowth for single cell and electrophysiological measurement

3P258

1 細胞レベル微小多電極アレイ計測システムの開発とそれを用いた構成的神経回路網の活動計測

○鈴木 郁郎¹、服部 明弘^{1,3}、杉尾 嘉宏¹、神保 泰彦²、安田 賢二¹（¹ 東大院・総合文化・広域科学、² 東大院・工学系・精密機械、³ 科学技術振興機構）

【目的】局所神経ネットワークの可塑的活動変化は、主に分散培養系や脳切片などを試料にパッチクランプ法などを用いて分析的・解析的に研究されている。その結果、1~4 細胞系における spike-timing dependent plasticity といった局所ネットワークの spike 列に着目した時間依存的な可塑性などが次第にわかってきた。しかしながら、すでに各種神経細胞や各種グリア細胞によって複雑にネットワークが構成されたサンプルを対象とした計測では、各細胞の結合関係に基づく空間的要素を考慮した応答を測ることは限界があり、また、計測手法に関しても侵襲的計測であるが故に、同一サンプルを長期間計測することも不可能であった。そこで我々は 1 神経細胞を構成単位とし、各神経細胞の結合関係を自在に制御した人工的神経回路の作製、その 1 細胞レベル長期同時計測という構成的アプローチをとることによって、局所神経ネットワークパターンが有する履歴依存的な活動変化を調べることを目的とした。

【方法・結果】非侵襲的に長期多点計測可能な手法として、細胞外記録である微小多電極チップシステムを新たに開発した。電極サイズ 8μm、電極間ピッチ 50μm の多電極チップを作製したことで、1 細胞を細胞体、軸索、樹状突起ベースで測りながらネットワークの応答検出が可能となった。このチップと 1 細胞単位で神経細胞の空間配置、軸索・樹状突起の伸長方向を培養中に自在に制御できるアガロースレーザー局所過熱法を組み合わせて使用することで、ラット海馬初代培養細胞を 1 細胞単位でパターン制御し、その活動計測に成功した。ネットワークの構成要素・刺激条件に依存した電気的応答の解析結果、また開発に成功した装置システムについて等、詳細について報告する。

I.Suzuki,A.Hattori,Y.Sugio,Y.Jimbo,K.Yasuda : Development of small multi-electrodes-array system and electrophysiological measurements of artificially constructed neural network

3P260

スパインにおける活性化 CaMKII の PSD への局在

○市川 一寿（金沢工大・生命情報 人情研）

シナプス長期増強（LTP）により、スパインの Ca²⁺-カルモデュリン依存性リン酸化酵素 II（CaMKII）がシナプス後膜 PSD に移動することが知られている。CaMKII は PSD に存在する AMPA 型受容体をリン酸化するので、この移動は LTP において重要なプロセスであるが、そのメカニズムについては不明である。そこでスパインの 3 次元形態と生化学反応のコンピュータモデルを構築し、活性化 CaMKII（CaMKII*）のスパインにおける時空間ダイナミクスを調べた。モデルスパインを直径 1 μm のスパインヘッド、直径 0.4 μm 長さ 2 μm のスパインネック、直径 1 μm の樹状突起で構成し、3112 個の立方体コンパートメントに分割した。生化学反応モデルはグルタメイトの放出と AMPA 型受容体及び NMDA 型受容体への結合、NMDA 型受容体のマグネシウムブロックと Ca²⁺ 透過、カルモデュリン（CaM）と CaMKII とカルシニューリン（CaN）の活性化、Ca²⁺ の排出と Ca²⁺ バッファとの結合から構成されている。シミュレーションは CaM、CaMKII、及び CaN の拡散状態を変化させて行った。本モデルは A-Cell で構築されており、<http://www.his.kanazawa-it.ac.jp/ichikawa/index.html> からダウンロードできる。CaM、CaMKII、CaN いずれも拡散しない場合は CaMKII* の濃度のピークがスパインネックに出現し、PSD ではむしろ濃度が低い結果となった。CaM のみを拡散させると CaMKII* がスパインヘッド内部に局在した。CaM と CaN を拡散させると局在性が増加してスパインヘッド内の PSD 近傍にのみ局在した。このように、LTP に関わるタンパクの拡散状態を変化させると CaMKII* の局在性が変化し、CaMKII* を PSD に局在させることがわかった。さらに、細胞内において拡散が活性化タンパクの局在を制御する重要なファクターである可能性を示唆する結果を得た。

K.Ichikawa : Localization of Activated Ca2+/calmodulin- Dependent Protein kinase II within a spine