

# 同志社大学

## 2014年度 個人研究費研究経過・成果報告書

2015年 2月 20日提出

所 属	職 名	氏 名
高等研究教育機構	特定任用研究員 准教授	森 靖典
研 究 題 目	プレシナプスにおける Syntaxin-1 の動態制御メカニズムの解明	
研 究 成 果 の 概 要	<p>本研究課題は、神経細胞においてプレシナプス膜に局在する Syntaxin-1 がどのような分子メカニズムでその動態が制御されているのかについて明らかにすることを目的に研究を行った。</p> <p>本年度はプレシナプスにおける Syntaxin-1 タンパク質の局在を観察するために pH 感受性蛍光タンパク質である pHluorin の蛍光強度をモニターするライブイメージングの手法の構築を目標とし、以下のことに成功した。</p> <p>(1) Syntaxin-1-pHluorin の融合タンパク質が神経細胞においてライブイメージによる観察が可能な発現量であることを確認した。(2) Syntaxin-1-pHluorin は内在性の Syntaxin-1 と同様にプレシナプスに局在する事を免疫染色法により確認した。(3) 細胞膜表面のみの酸性化处理および細胞全体のアルカリ化处理によりプレシナプスにおける Syntaxin-1-pHluorin の表面との内側の割合の定量化を行った。その結果、Syntaxin-1-pHluorin は膜表面と内側で約 85%:15%の割合で存在しているという結果が得られた。さらに、プレシナプスにおいて活動電位を誘導する電気刺激を行ったところ、Synaptophysin-pHluorin (シナプス小胞マーカー) は電気刺激に依存して一過的な蛍光強度の増加が観察されシナプス小胞のエキソサイトーシスおよびエンドサイトーシスが起きているのに対して、Syntaxin-1-pHluorin の場合は蛍光強度の変化は起こらなかった。これらの結果は過去の先行研究 (<i>J. Neuro. Sci.</i> (2004) 24:4884-4888) とほぼ一致しており、この実験系を構築することが成功した事を意味している。</p> <p>さらに予備的ではあるが、この実験手法を用いる事によりこれまでにある種の変異型 Syntaxin-1 はプレシナプスにおいて Synaptophysin と同様に電気刺激依存的に一過性の蛍光強度の増加が検出されることを明らかにすることができたので、来年度以降の詳細な解析が期待される。</p>	