

【目的】動物はある行動をしようとする意思を決定する前に、意識下あるいは意識上にシミュレーションを行うことで脳内モデルを形成し、そのうち最適なものを選択していると考えられる。しかし、それに関わる神経回路は明らかではない。本研究では特に海馬に着目して研究を進める。海馬では動物の場所に応答する場所細胞がある事が知られているが、最近、場所細胞が行動前、これからの行動を予想するように順番に発火する事が見出された。特に、動物に走った経験がない新たな経路を予想させても、これまで経験した発火を組み合わせ、新しい発火順列を形成することができることから、単にこれは既に走った経験がある経路の場所細胞が再活性化されているのではなく、行動の意思決定に伴い、新たな脳内モデルが形成されていると想定される。

しかしこの「行動予想発火順列」の生理的意義は明らかではない。特に重要な事に、それが行動を計画し、かつ引き起こすのに必要十分であるかは明らかではない。この解明にあたり難しい点は、行動予想発火順列は時間的に制御されたものであり、単に光遺伝学的に活性化させただけでは誘導できない点である。そのため、いくつかの技術的な工夫が必要である。そこで本研究では、まず LTP の閾値を調節するシグナル経路である CaMKIV 及び CREB の活性を、光感受性タンパク質である LOV2 ドメインを用いることで光にて制御できるようにする。これを用いると場所体験時に光を照射する事により、特定の細胞に選択的に場所をコードさせる事ができる。さらに ChR2 と共発現する事により、場所をコードさせた細胞を任意の時に再活性化する事が可能となる。

【方法】本研究では、まず、光活性化 CREB ならびに CaMKIV 作製し、それを用い、特定の神経細胞に記憶をエンコードさせることを目的とした。この目的のため、両者が核タンパク質であることを利用し、光活性化核移行シグナル (paNLS) を作製することを試みた。この目的のためには燕麦由来の向光性に関与する蛋白質ドメインである、LOV2 ドメインを用いた。LOV2 ドメインは光照射により、構造が変化し、他のタンパク質の活性を調節できる。そこで、mCherry と核輸出シグナル-LOV2 ドメイン-核移行シグナルとを融合し、細胞に発現し光照射する構築をスクリーニングした。出来た paNLS にさらに CREB を融合し、光活性化により核に移行することを確認した。最終的に、CRE 下流で luciferase 発現する構築と共発現し、luciferase を western blotting にて検出した。

【結果】作製した paNLS は核へ移行することが観察された。このことから、光活性化核移行シグナルの作製に成功したと考えられた。しかし CREB と融合し、CRE 下流で luciferase 発現させたところ、光照射していない場合も発現が見られ、mCherry のシグナルでは検出されなかったが、その程度の発現でも CREB の活性が leak していることが疑われた。現在、CaMKIV を同様なアプローチで作製している他、優勢抑制体の CREB ならびに CaMKIV を作製し、記憶固定化の実験に利用できないかを試行していく。

実験計画の概念図

