

派遣先：Duke University Department of Cell Biology (USA)

研究期間：2011 年 3 月 16～2011 年 3 月 31 日

派遣者：筑波大学大学院人間総合科学研究科 生命システム医学専攻 博士課程 2 年 秋山 雅博

派遣目的：派遣先研究機関である研究室はマウス個体における中枢および抹消神経系の研究分野の専門家であり、画期的なトランスシナプス標識法として新たに開発された変異体 rabies virus⁽¹⁾を用いた神経回路の解析など、これからの神経科学研究において大変有益であろうと思われる高度な個体解析技術を多数有している。そこで、派遣先研究室において、研究を遂行し、それらの研究手法を学び、今後の研究に生かすことを目的とする。

さらに、派遣学生にとって、米国のトップクラスの大学において研究指導を受け、英語での討論の経験を積むことにより、研究者としての素養を培うことも目的とする。

研究内容：私は派遣先の研究室において、以下の二つの新たな研究手法の開発を行った。

1) 特定領域の特異的な神経細胞への軸索投射回路の解析

2) in vivo での neuropeptide transmission の可視化

研究状況：

1) 特定領域の特異的な神経細胞への軸索投射回路を解析するために以下のことを行った。

i) シュードタイプ ΔG rabies virus の作製

通常の rabies virus からトランスシナプスを行うのに必要な Rabies G タンパク質が欠損した ΔG rabies virus を作り、さらに、ほ乳類細胞への感染に必要な EnvA を鳥由来の EnvA へ作り替え、シュードタイプの ΔG rabies virus を作製に取り組んだ。

2) in vivo での neuropeptide transmission の可視化するために以下のことを行った。

i) Split-GFP-intein が結合した Neuropeptide および Neuropeptide receptor の作製

Neuropeptide と Neuropeptide receptor の結合を可視化するために Split した GFP を

Neuropeptide と Neuropeptide receptor に結合させた。これにより Neuropeptide と Neuropeptide receptor が結合した際、Split-GFP 同士も結合し蛍光を発する。しかし、Split-GFP の結合効率が低いため、in vivo での可視化は難しいと考えられた。そこで、Split-GFP の結合効率を高めるために intein を GFP と同様に Split し Neuropeptide と Neuropeptide receptor に結合させ、intein による Protein splicing⁽²⁾を利用し Split-GFP の結合率を高めることで neuropeptide transmission の可視化を試みた。そこで、Split-GFP-intein が結合した Neuropeptide と Neuropeptide receptor を発現させるプラスミドベクターの作製に取り組んだ。

参考文献：(1) Neuron. 2007 Mar 1;53(5):639-47. (2) Methods. 2001 Jul;24(3):257-77.

その他：

Duke University は多くの緑に囲まれており、協会を中心にゴシック調の歴史的建造物が広がっている一方、Medical Center を中心として近代的建物が存在している大変静かな環境であり、研究設備も大変充実していることから、研究を行うにあたり大変恵まれた環境であると感じた。



Duke大学キャンパス