

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ショウジョウバエ視覚系におけるシナプス特異性と可塑性を規定する分子基盤の解明
Title(English)	
著者(和文)	小坂二郎
Author(English)	Jiro Osaka
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12334号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:鈴木 崇夫,廣田 順二,増田 真二,立花 和則,藤田 尚信
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12334号, Conferred date:2023/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	小坂 二郎		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	鈴木 崇之
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)	

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

神経細胞は、発生段階においてはシナプスを介した神経接続（シナプス特異性）によって神経回路を形成し、発生後においては刺激依存的なシナプス特性の変化（シナプス可塑性）によって神経回路を調節するが、分子基盤の多くは未解明である。本研究では、遺伝学的に優れるショウジョウバエを用いて、これら現象に関わる新規分子の探索を行った

シナプス可塑性を規定する新規分子の探索として、視神経 R8 の自動シナプス解析ツールの開発と、それを用いたシナプス安定化に関わる分子のスクリーニングの結果を述べている。始めに簡便なシナプス不安定化の指標である Brp-short-mCherry を用いたシナプス不安定化の 1 次スクリーニングを行い、300 遺伝子から 27 の候補遺伝子を選定した。その後、金沢大学との共同研究により機械学習を組み込んだシナプス自動解析ツールである Synapse Quantifier を開発した。Synapse Quantifier は、ユーザーが視覚的に簡便に操作出来る GUI (Graphic User Interface) が搭載され、多くの研究者が利用する Matlab で動作し、現在インターネットで公開されている。さらに、本研究で学習させたニューラルネットワーク用いて、他の研究室で異なる顕微鏡で撮影したシナプス画像も適切にシナプス数を定量することができた。このことは、Synapse Quantifier はさらなる学習をさせることなく、他の研究者のシナプス解析に応用できることを示唆しており、新しいシナプス解析ツールの選択肢となりうる。これを用いて候補遺伝子ノックダウン体のシナプスを定量し、結合性 GPCR である Cir1 を最終的なシナプス安定化分子として同定した。さらに、Cir1 と結合性があると考えられる Ten-a もシナプス安定化に働いていることを発見した。Cir1 は前シナプスで、Ten-a は後シナプスでノックダウンされた際にシナプスの不安定化が起きたことから、前後シナプスの Cir1-Ten-a 相互作用がシナプス安定化に働いていることが示唆される。

シナプス特異性を規定する新規分子の探索として、神経接続特異性に関わる分子を探索し、新たに免疫グロブリン様スーパーファミリーに属する Side が接続特異性に関わることを、初めて明らかにした。Side はリガンドである Beat とクラスター複合体を形成することで、シナプス構造体をリクルートすることを明らかにした。さらに、Side は細胞外ドメインを介して共受容体と、細胞内ドメインを介して足場タンパク質と複合体形成することで、複数のシナプス誘導のシグナルを伝達することを突き止めた。さらに、リガンドである Beat との結合性を持つてもクラスター化形成能を失った Side の変異体は、シナプス誘導が全くできなかった。このことは、シナプス誘導にはリガンドと相互作用することに加えて、クラスター化によって局在レベルを増強する必要があると分かった。さらに、Side はシナプス構造体をリクルートするために、シナプス形成因子である共受容体や足場タンパク質と複合体形成する必要があることが分かった。ここから、シナプス誘導には、①リガンドとの結合性、②クラスター形成能、③シナプス形成因子との複合体形成、これらが満たされる必要があることを示唆している。さらに、内在性の Side の機能解析により、Side が機能喪失すると誤った箇所に異所性のシナプスが誘導されてしまうことが分かった。これには、Side のリガンドである Beat によって規定される部位に偏った細胞内局在による、シナプス形成部位の規定が重要であることが分かった。さらに、Side はシナプス性の足場タンパク質を自身の近傍にアンカーする機能を持つことが分かった。Side が無くなるとシナプス形成因子である足場タンパク質が不適切な箇所にリークしてしまう。これらのことから、Side は適切な箇所に細胞内局在をすることでシナプス形成箇所を決定し、足場タンパク質の局在を自身の近傍に留めることで誤接続を抑制していることが示唆された。このモデルは、Side によるシナプス形成箇所と接続相手を決定する新たなシナプス特異性の制御機構を提案すると論じられている。

本論文は神経生物学において新規分子 Cir1 がシナプス安定化に関わることを明らかにし、新しいシナプス可塑性の分子機構を明らかにした。また、シナプス特異性に関わる新規分子として、シナプス誘導因子 Side を発見し、新しいシナプス特異性確立のメカニズムを提案した。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース：	生命理工学	系
Department of, Graduate major in	生命理工学	コース
学生氏名：	小坂 二郎	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野)：	博士	(理学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員 (主)：	鈴木 崇之	
Academic Supervisor(main)		
指導教員 (副)：		
Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

During development, neurons establish a neural circuit by synaptic connections through synaptogenesis (synaptic specificity). After development, a neural circuit is modulated by stimulus-dependent changes in synaptic properties (synaptic plasticity). However, the molecular mechanism remains elusive. *Drosophila* is an excellent model organism for the comprehensive search for new molecules because of its abundance of genetic analysis tools and short life cycle. Using the *Drosophila* visual system as a model, we conducted two studies: (1) to search for and identify synaptic stabilizing molecules in activity-dependent synaptic plasticity and (2) to elucidate the molecular mechanisms underlying synaptic specificity.

(1) Previous research revealed that the synaptic numbers of *Drosophila* photoreceptor R8 reversely change depending on the light stimulation. Using this stimulus-dependent plastic change in synapse number, five "synaptic destabilizing molecules" were identified. On the other hand, synaptic stabilizing molecules were largely unknown. Therefore, we performed an RNAi screen against 300 genes to search for molecules involved in synaptic stabilization. First, 27 candidate genes were selected by using the formation of aggregate signals of Brp-short-mCherry as a simple marker of synaptic destabilization. Next, a custom-made image analysis software which automatically counts the number of synapses along individual R8 axons was developed and identified *cir1* as a candidate gene responsible for synaptic assembly. Finally, our study proposes a new model of stimulus-dependent synaptic assembly through the interaction of *cir1* and its possible ligand, *ten-a*.

(2) By genetic screening, Side was identified as a new synapse organizing molecule. Side made cluster complex with Beat by transsynaptic interaction and recruits a component of the presynaptic active zone. Side-IV transduced signals for synapse induction through its co-receptor, Kirre, and a synaptic scaffold protein, Dsyd-1. By the loss of function analysis, our data revealed that Side instructed the location of synapse formation of the monopolar neuron. Side showed subcellular localization defined by Beat restricted in the proximal region where synapse formation occurs. The subcellular localization of Side-IV limited the localization of Dsyd-1 in the proximal region and inhibit the mis-wiring. Our data demonstrated an instructive role in the synapse induction of Side and its regulatory mechanism of synaptic specificity.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).