

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	シヨ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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	小坂 二郎		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	鈴木 崇之	准教授	審査員	廣田 順二	教授
	審査員	増田 真二	准教授		立花 和則	准教授
		藤田 尚信	准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「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」と題し、六章より構成されている。

第一章「序論」では、シナプス特異性と可塑性研究における当該領域の研究知見と課題について、そして本研究の着想に至った経緯を述べている。

第二章「材料と実験方法」では、本研究で用いた解析手法や抗体や試薬について、再現可能なように研究方法を述べている。また、本研究で作製した遺伝子組み換えショウジョウバエの作製方法、それに用いた遺伝子プライマーが述べられている。

第三章「シナプス可塑性を規定する新規分子の探索」結果」では、視神経 R8 の自動シナプス解析ツールの開発と、それを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。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。

第四章「シナプス特異性を規定する新規分子の探索」結果」では、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、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。

第五章「シナプス可塑性を規定する新規分子の探索」考察」では、開発した Synapse Quantifier の応用と、同定したシナプス安定化分子である Cir1 による分子機構について論じている。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を用いて、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。Cir1 によるシナプス安定化機構として、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。

第六章「シナプス特異性を規定する新規分子の探索」考察」では、新規の神経接続特異性に関わる分子である、Side によるシナプス特異性規定のメカニズムについて論じている。Side はその他のシナプス誘導因子で見られるリガンドとの膜タンパク質クラスターを形成し、そこへシナプス構成要素をリクルートしており、このような分子機構が広く保存されていることが示唆される。さらに、リガンドである Beat との結合性を持ってい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 の機能欠損実験では、誤った箇所での誤接続の表現型が見られた。Side はリガンドである Beat によって、適切なシナプス形成箇所に細胞内局在を規定される。また、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。

以上を要するに、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ており、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(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。