

神経系の細胞培養および器官培養における 簡便な分子ターゲティング法の開発と適用

○佐藤泰史^{1,2}, 五嶋良郎^{1,2}, 竹居光太郎^{1,2}
(¹横浜市大院・医・薬理, ²CREST, JST)

興味ある分子の機能を簡便に不活化できれば、目的分子の機能解析の強力な方法となる。そこで我々は、光照射で FITC 蛍光色素から発生する一重項酸素によって FITC 近傍の分子を不活性化できる Fluorophore-assisted light inactivation (FALI, Surrey, T. et al., PNAS. 1998, 95, 4293-98) を利用することを考え、FITC ラベルした抗体を用いて細胞培養系や器官培養系で抗原分子を簡便に不活化する方法を開発した。

まず簡便さを求め、卓上スタンドの白熱球の光を利用する FALI 法の有効性を検討した。分泌性の神経ガイド分子 Semaphorin-3F (Sema3F) の受容体である Neuropilin-2 (Nrp2) に対する抗体を用いて FALI 実験を行った結果、2時間の卓上スタンドの白熱球の光照射により、COS-7 細胞に発現させた Nrp2 と Sema3F の結合が阻害された。FALI の有効性が確認されたので、次に培養下における FALI の適用を検討した。はじめに FALI を起こすために必要な青色光の照射は、神経細胞の初代培養に影響を与えないことを確認した。次に培養交感神経節細胞における Nrp2 の FALI を行ったところ、Sema3F が Nrp2 を介して引き起こす成長円錐の崩壊が阻害された。また、数日間の長期培養を要する終脳の器官培養においても、FALI を行う条件は影響を与えず、Nrp2 に対する FALI の効果が示された。

これらの結果は培養系において任意の空間と任意の時間で分子を簡便に不活化できることを示し、FALI は発生などの比較的長い時間スケールで目的分子を継続的に不活性化させることができる方法として強力な実験ツールになると考えられる。