

ジーン・ガンによる中枢ニューロンへのシグナリング 試薬・細胞内ローディング

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2021-02-19 キーワード: 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00060437

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



[◀ Back to previous page](#)

ジーン・ガンによる中枢ニューロンへのシグナリング試薬・細胞内ローディング

Research Project

Project/Area Number	15650075
Research Category	Grant-in-Aid for Exploratory Research
Allocation Type	Single-year Grants
Research Field	Neurophysiology and muscle physiology
Research Institution	Kanazawa University
Principal Investigator	田端 俊英 金沢大学, 医学系研究科, 助手 (80303270)
Project Period (FY)	2003 - 2004
Project Status	Completed (Fiscal Year 2004)
Budget Amount *help	¥2,800,000 (Direct Cost: ¥2,800,000) Fiscal Year 2004: ¥1,300,000 (Direct Cost: ¥1,300,000) Fiscal Year 2003: ¥1,500,000 (Direct Cost: ¥1,500,000)
Keywords	ジーンガン / ニューロン / 細胞内シグナリング / 細胞内投与 / ジーン・ガン

All 

Research Abstract

ニューロンの細胞内シグナリングを分析するために有用な試薬のほとんどが親水性すなわち低細胞膜透過性であり、生きた細胞標本に投与することが困難である。本研究では遺伝子導入に利用されているジーン・ガン(空気銃)を応用して、親水性試薬を付着させた弾丸(金属微粒子)を細胞内投与する技術の開発に取り組んだ。本年度は昨年度に開発した基礎技術の洗練と実用化を目指した。(1)中枢ニューロンへの最適化:培養マウス小脳ニューロンをモデルとして投与プロトコルを改良した。射出ガス圧を上げると細胞内導入効率が増すが、衝撃波や爆風により細胞が傷害された。この問題は昨年度に開発した爆風回避装置と低ガス圧(80~90psi)で何回かに分けて投与を行うプロトコルを用いることで大幅に改善できた。弾丸が通過する培地層を厚くすることで細胞が保護できるかも検討したが、培地層が数ミリメートルを越えると導入効率が急激に低下してしまうことが分かった。(2)投与濃度のコントロール:一定の濃度の試薬を細胞内投与するためには、i.弾丸に付着した試薬の濃度、ii.葉莖に含まれる弾丸の数などが重要なファクターであることが分かった。iiについては直径の小さな(0.6ミクロン)研磨済み金粒子の方が、直径が大きく(1ミクロン)表面に凹凸があるタングステン粒子より試薬の付着濃度が一定することが分かった。iiは葉莖の製造ムラに起因するもので、a)葉莖を使用前に蛍光顕微鏡で直接検査して弾丸数の揃ったロットに選り分けるとともに、b)それぞれのロットのサンプルでパラフィルムに向かって試射を行い、パラフィルムに命中した弾丸の密度から細胞内導入効率を予測することで概ね解決できた。蛍光カルシウムインジケータをモデル試薬とした比較では、ジーン・ガンによる細胞内導入後5~10分での細胞内蛍光輝度が、従来のパッチクランプ記録電極から細胞内に拡散させる方法で数十分投与した場合よりも強く、ジーン・ガンによってカルシウム濃度の測定や制御に十分な濃度の試薬を細胞内投与できることが分かった。


Report (2 results)


2004 Annual Research Report

2003 Annual Research Report


Research Products (7 results)

All	2005	2004	2003	Other
All	Journal Article	Publications		


[Journal Article] GABAergic activation of an inwardly rectifying K⁺ current in mouse cerebellar Purkinje cells 2005 


[Journal Article] Ca²⁺ activity at GABA_B receptor constitutively promotes metabotropic glutamate signaling in the absence of GABA 2004 

[Journal Article] Altered agonist sensitivity and desensitization of neuronal mGluR1 responses in knock-in mice by a single amino acid substitution at the PKC phosphorylation site 2004 

[Journal Article] Calcium-dependence of native metabotropic glutamate receptor signaling in central neurons 2004 

[Journal Article] Insulin-like growth factor-I as a promoting factor for cerebellar Purkinje cell development 2003 

[Publications] T.Tabata, Y.Fukudome: "Insulin-like growth factor-I as a promoting factor for cerebellar Purkinje cell development"European Journal of Neuroscience. 17・10. 2006-2016 (2003) 

[Publications] T.Tabata: "Calcium-dependence of native metabotropic glutamate receptor signaling in central neurons"Molecular Neurobiology. 印刷中. (2004) 

URL:

