

Title	A Study of Activity-Dependent Dynamics of the Transcription Factor CREB in Cortical Neurons Revealed by Single-Molecule Imaging
Author(s)	北川, 宏信
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67085
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (北 川 宏 信)

論文題名

A Study of Activity-Dependent Dynamics of the Transcription Factor CREB in Cortical Neurons Revealed by Single-Molecule Imaging (1分子イメージングを用いた皮質神経細胞における神経活動依存的な転写因子CREBの動態解析に関する研究)

論文内容の要旨

Transcriptional regulation is crucial for activity-dependent processes that govern neuronal circuit formation and synaptic plasticity. An intriguing question is how neuronal activity influences the spatiotemporal interactions between transcription factors and their target sites. Here we investigated the activity dependence of DNA binding and dissociation events of cAMP-response element binding protein (CREB), a principal factor in activity-dependent transcription, using a single-molecule imaging technique. To visualize CREB at the single-molecule level, fluorescent-tagged CREB in living dissociated cortical neurons was observed by highly inclined and laminated optical sheet (HILO) microscopy. We found that a significant fraction of CREB spots resided in the restricted locations in the nucleus for several seconds (dissociation rate constant: 0.42 s^{-1}). In contrast, two mutant CREBs, which cannot bind to the cAMP-response element (CRE), scarcely exhibited long-term residence. To test the possibility that CREB dynamics depends on neuronal activity, pharmacological treatments and an optogenetic method involving Channelrhodopsin-2 were applied to cultured cortical neurons. Increased neuronal activity did not influence the residence time of CREB spots, but markedly increased the number of restricted locations (hot spots) where CREB spots frequently resided with long residence times ($> 1 \text{ s}$). These results suggest that neuronal activity promotes CREB-dependent transcription by increasing the frequency of CREB binding to highly localized genome locations.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名（北川宏信）		
	（職）	氏名
論文審査担当者	主査	教授 山本 亘彦
	副査	教授 八木 健
	副査	教授 石島 秋彦
	副査	教授 藤田 一郎
論文審査の結果の要旨		
<p>脳の発達過程において外的環境の変化、すなわち神経活動に応答して神経回路が再編されることが古くから知られている。その要因の一つとして、神経活動に依存した転写調節因子の挙動は重要な役割を果たすが、その分子機構については不明な点が多い。申請者北川宏信君は、転写調節因子の一つCREBが神経活動依存的に下流の遺伝子発現を調節するメカニズムを1分子イメージング法を用いて研究を行った。その結果、CREBは培養大脳皮質ニューロンにおいて、核内の局所部位で数秒のオーダーで滞在することを見出し、ゲノム上の特定領域に結合することを示唆した。さらに、神経活動の上昇に伴い、結合解離のカイネティクスに顕著な変化はないが、その結合回数が増大することを明らかにした。本成果は、神経科学の一流誌であるThe Journal of Neuroscience誌に2017年初めに掲載され、プレスリリースによる反響も大きい。以上、本論文はオリジナルティのある研究であり、博士号に十分に値するものである。</p>		