

「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」
平成24年度採択研究代表者

H27 年度 実績報告書

深井 周也

国立大学法人東京大学
准教授

シナプス形成を誘導する膜受容体複合体と下流シグナルの構造生命科学

§ 1. 研究実施体制

(1)「深井」グループ

- ① 研究代表者: 深井 周也 (東京大学放射光連携研究機構、准教授)
- ② 研究項目
 - ・シナプス形成を誘導するタンパク質複合体のX線結晶構造解析

(2)「植村」グループ

- ① 主たる共同研究者: 植村 健 (信州大学学術研究院医学系、准教授)
- ② 研究項目
 - ・シナプス形成を誘導するタンパク質複合体の機能解析
 - ・シナプス形成制御法の開発

§ 2. 研究実施の概要

脳を構成する無数の神経細胞は、シナプスと呼ばれる特殊な細胞接着構造を介して接続され、複雑で多様な神経回路を形成することで、学習や記憶などの高次の脳機能を可能にしている。シナプス形成の異常は、知的障害や自閉症などの神経発達障害と深く関係していることが知られている。本研究では、シナプス形成を誘導するタンパク質複合体を解析することでシナプス形成のメカニズムを原子レベルの解像度で明らかにし、その情報に基づいてシナプス形成を制御する方法を開発することを目的とする。主たる共同研究者である植村のグループが発見した2種類の複合体の解析を行う。一つは、イオンチャネル型グルタミン酸受容体 $\delta 2$ (GluR $\delta 2$)、分泌タンパク質セレベリン 1 (Cbln1) と細胞接着因子 β ニューレキシン (β -Nrxn) から構成される3者複合体で、もう一つは、インターロイキン1受容体アクセサリタンパク質様 1 (IL1RAPL1) と受容体型タンパク質脱リン酸化酵素 δ (PTP δ) の複合体である。現在は有効な治療法のない神経発達障害の治療に役立てることを目指す。

(1) GluR $\delta 2$ -Cbln1- β -Nrxn 複合体の構造解析

化学架橋産物の質量分析や複合体の多角度光散乱測定の結果に基づいて予測した Cbln1 と Nrxn1 δ の複合体の立体構造モデルについて、電子顕微鏡による裏付けを試みた。Cbln1 は、三分子が会合して球状の構造ユニットを形成するが、負染色像において、その構造ユニットに対応する粒子が観察された。また、二つの構造ユニットが集まって六量体として機能すると考えられているが、Nrxn1 δ が存在することで、二つのユニットが比較的固定された位置に配置されることが示唆された。

(2) IL1RAPL1-PTP δ 複合体の構造解析

IL1RAPL1 と PTP δ との複合体、および、インターロイキン1受容体アクセサリタンパク質 (IL-1RAcP) と PTP δ との複合体の結晶構造解析と変異体の相互作用解析とシナプス形成誘導能の解析によって明らかになったスプライシング依存的なシナプスオーガナイザーの選択メカニズムを論文として発表した (山形他、*Nature Communications*)。また、同じくシナプス誘導活性を持つ Slitrk タンパク質ファミリーの Slitrk2 と PTP δ 複合体でも同様にスプライシング依存的なシナプスオーガナイザーの選択メカニズムを論文として発表した (山形他、*Scientific Reports*)。さらに、今年度は、新たに見出したシナプスオーガナイザー分子単体および PTP δ との複合体の結晶構造を決定した。また、変異体を用いた分子間相互作用の解析を行い、選択的な相互作用のメカニズムを明らかにした。

(3) 下流シグナル分子の機能解析

昨年度までのスクリーニングで同定した、PTP δ あるいは Nrxn1 δ の細胞内領域に結合してシナプス前部を誘導するシグナル候補分子のうち、特に Nrxn1 δ の共受容体の解析を進めた。ノックアウトマウスを作製中であり、ヘテロ接合体が得られている。