

2024 年度年次報告書

細胞内現象の時空間ダイナミクス

2020 年度採択研究代表者

林 康紀

京都大学 大学院医学研究科
教授

記憶を司るシナプス微小構造の時空間ダイナミクス

主たる共同研究者:

浦久保 秀俊 (藤田医科大学 医学部 准教授)

大友 康平 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 准教授(兼任))

大友 康平 (順天堂大学 大学院医学研究科 准教授)

永井 健治 (大阪大学 産業科学研究所 教授)

松田 知己 (北里大学 理学部 教授)

研究成果の概要

林らは引き続き、cofilin-SN を用いた記憶固定化の時間経過の解明を試みた。この結果、記憶が海馬から前帯状皮質に移行する時間経過の詳細が明らかになった (Liu et al., in press)。また、遅れていた AMPA 受容体と NMDA 受容体ナドメインの可視化は専任のポストドク着任に伴い進みつつあり、神経発達過程の可視化と CaMKII の(査読中)と DNA paint を用い、生細胞での観察に成功している。

松田らは光切断蛍光タンパク質を CaMKII のリンカー領域に挿入して、リン酸化ドメインとハブドメインを光依存的に不可逆的に解離させる光切断型 CaMKII を開発した。発現細胞内で意図しない凝集を形成したため、変異導入による改良を行なった。昨年度開発した、光依存的にオリゴマー化を生じる poCaMKII について培養細胞内で PSD95 とともに液液相分離を起こし、さらに相内相分離を形成することを確認した。

大友らは二光子 STED 顕微鏡について、新たに開発した透過型液晶素子を実装した。これにより、二光子蛍光像の三次元等方的な超解像化に成功した。さらに、前年度に着手した膨張顕微鏡法の応用に関連し、巨大標本を簡易的に 3D 可視化する光シート顕微鏡を開発し、報告した。また、開発中の多点走査型二光子顕微鏡システムにより、Ab オリゴマー暴露が培養アストロサイトに与える影響の高速可視化に成功した。

浦久保らは CaMKII/ NMDAR/ AMPAR/ PSD-95 を混合するモンテカルロシミュレーションを行い、実験において混合体が示す相内相分離の再現に成功した。シミュレーション結果の解析より、相内相分離には足場タンパク PSD-95 に対する AMPAR と NMDAR の競合結合が重要である事が明らかとなった。また、CaMKII 形状が小さく多価であることも相内相分離に重要であることが明らかとなった。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Liu, J., Goto, A. & Hayashi, Y. (in press) Time-window of offline long-term potentiation in anterior cingulate cortex during memory consolidation and recall. *Neurosci. Res.*
- 2) Pandey, V., Hosokawa, T., Hayashi, Y., Urakubo, H. (2025) Multiphasic protein condensation governed by shape and valency. *Cell reports* 115504.
- 3) Otomo, K., Omura, T. et al., (2024) descSPIM: an affordable and easy-to-build light-sheet microscope optimized for tissue clearing techniques. *Nature Communications* 15 4941.