

岡部繁男

東京大学
教授

ナノ形態解析によるシナプス動態制御システムの解明

§ 1. 研究実施体制

(1) 「岡部」グループ

- ① 研究代表者: 岡部 繁男 (東京大学大学院医学系研究科、教授)
- ② 研究項目 ナノ形態イメージングによるシナプス動態解析
 - ・ In vivo 二光子イメージングによる脳内シナプスの寿命測定と電子顕微鏡観察
 - ・ 培養神経細胞でのナノスケール分子動態イメージングと形態測定

(2) 「楠見」グループ

- ① 主たる共同研究者: 楠見 明弘 (沖縄科学技術大学院大学・教授)
- ② 研究項目 一分子追跡法によるシナプス分子動態解析
 - ・ 一分子追跡法によるスパイン内での膜分子の動態
 - ・ 膜分子の PSD 領域への出入りと領域内での挙動の解析

(3) 「井上」グループ

- ① 主たる共同研究者: 井上 康博 (京都大学再生医科学研究所、准教授)
- ② 研究項目 数理モデリングによるシナプス動態解析
 - ・ ブラウン動力学法に基づくシナプスでの分子拡散シミュレーション
 - ・ シナプスに特徴的な幾何学的変数の抽出のためのクラスター分析

§ 2. 研究実施の概要

平成 28 年度はこれまでに確立したナノ形態解析技術を具体的にシナプス・スパインの動態に適用し、高精度のデータを取得してシナプス・スパインの動的制御についてのモデルの検討を実施した。一部の実験においてはナノ形態解析技術の確立と高度化を更に進めた。分子動態のモデル化に関しては、前年度に検討した数理モデルを最適化・高度化するための方法論を実際のデータにおいて活用するために、実データを用いた分子拡散動態のシミュレーションを開始した。

岡部グループ

(1) In vivo 二光子イメージングによる脳内シナプスの寿命測定と電子顕微鏡観察

前年度までの研究では in vivo 二光子イメージングの条件とその後の電子顕微鏡観察の成功率の低さが問題となり、効率的なデータ取得に向けて更に実験条件等の検討が必要であることが明らかになっていた。そのため本年度は引き続き効率の良い光学顕微鏡と電子顕微鏡の相関観察技術を確立するための実験を行った。その結果、前年度までに問題となっていた個体レベルでの観察に必要な頭蓋骨へのガラス窓の作成条件が確立し、また電子顕微鏡観察についてもイオンビームを用いて標本の表面を切削しつつ画像を取得する FIB-SEM 法を用いることで成功率を向上できることがわかった。この方法の組み合わせにより、実際のデータ取得を開始した。

(2) 培養神経細胞でのナノスケール分子動態イメージングと形態測定

前年度に確立した、構造化照明顕微鏡(SIM)を利用して、スパインの微細形態観察手法を用いたスパイン動態の解析を実施した。まずSIM法によって取得されたスパイン形状のデータを電子顕微鏡のデータと比較して定量性を検証した。次に遺伝子改変動物由来の神経細胞のスパイン形態と対照群のスパイン形態を比較して相違点の検出を行った。更に生細胞での時系列データを利用してスパイン形態の分類を行う方法論について検討した。一方で井上グループとの共同によりスパイン内部での分子拡散を光学顕微鏡により推定する方法の開発および理論データとの比較を実施した。

楠見グループ

ラット培養海馬神経細胞を用い、樹状突起内のスパインヘッド、ネック、および、シャフトの3つの部位で、細胞膜分子の動態と部位間の出入りを調べた。特に、1分子を追跡・解析する技術の開発をおこない、その応用を進めた。スパインにおけるラフト分子間相互作用を解明するためにガンダリオシドGM1, GM2, GM3, GD1b、および、スフィンゴミエリンの蛍光アナログ開発に成功した。また、培養神経細胞において蛍光退色を抑える方法の開発を進めた。さらに、AMPA受容体の蛍光ラベル法を確立し(出版済み、および投稿中)、AMPA受容体は、いままでの想定に反して単量体・2量体・4量体を含む多量体が動的平衡にあること、が分かってきた。

井上グループ

岡部グループ、楠見グループが取得するスパインシナプス内の分子動態測定の結果を in silico に再現する分子動態モデリングを行い、シミュレーションによる作業仮説の検証や予測を行うことを目標としている。本年度はスパインの数理モデルに向けて、分子拡散動態についてスパイン内の物理的構造の観点から検討を行った。スパイン形状を模したシステム内に物理的構造を配置した分子拡散動態のシミュレーションなどを行い、スパイン内での分子の停留時間と物理的構造との関

係について解析した。LTP 誘導後、活性を受けた分子の伝播領域を決める機構として、活性化持続時間に対する停留時間に応じて、スパイン内部に停留する活性化分子と、外部へと伝播する活性化分子の選別が化学的親和性を仮定せずに、物理的構造のみで起こる可能性を示唆した。

N. Komura, K. G. N. Suzuki, H. Ando, M. Konishi, M. Koikeda, A. Imamura, R. Chadda, T. K. Fujiwara, H. Tsuboi, R. Sheng, W. Cho, K. Furukawa, K. Furukawa, Y. Yamauchi, H. Ishida, A. Kusumi (Co-Corresponding Author), and M. Kiso, "Raft-based interactions of gangliosides with a GPI-anchored receptor", *Nat. Chem. Biol.*, vol. 12, No. 6, pp. 402-410, 2016

S. Hirai, K. Hotta, Y. Kubo, A. Nishino, S. Okabe, Y. Okamura, H. Okado Ca²⁺ permeable AMPARs are originally required for sensory organ formation and morphogenesis in ascidian *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* vol. 114, No.15, pp. 3939-3944, 2017

Y. Inoue, T. Adachi Mechanosensitive kinetic preference of actin-binding protein to actin filament", *Physical Review E*, 042403, 2016