

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

2020 年度 年次報告書

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

§ 1. 研究成果の概要

CaMKII がシナプスに多量に存在する点、12 量体であるという点、さらに GluN2B や Tiam1 といった基質と安定した複合体を作る点から CaMKII が液液相分離(LLPS)を起こすと考えた。そこで CaMKII と GluN2B を精製・混合し、顕微鏡下で観察した。Ca²⁺の非存在下では LLPS を起こさなかったが、Ca²⁺/カルモジュリンで刺激すると、LLPS が起こったことが示唆された。一旦起こった LLPS は Ca²⁺をキレートしても継続した。LLPS には、キナーゼ活性は必要なかったが、それが Ca²⁺キレート後にも継続するためには T286 の自己リン酸化が必要であった。さらに PSD 足場蛋白質である、PSD-95、AMPA 受容体補助サブユニット Stargazin、シナプス接着因子ニューロリギンを CaMKII、GluN2B、カルモジュリンと共に LLPS を形成するかを検討した。Ca²⁺の非存在下では、CaMKII 以外の蛋白質が LLPS を起こした。ここに Ca²⁺を添加すると CaMKII が濃縮相に加わった。更に濃縮相がさらに相内相形成を起こした。CaMKII と GluN2B が共に外側の相を形成し、Stargazin、PSD-95、ニューロリギンが内側の相を形成した。超高解像顕微鏡によって神経細胞のシナプスにおけるシナプス内の AMPAR と NMDAR 蛋白質の分布を観察すると、お互いに分離して存在するが、CaMKII と GluN2B との相互作用を抑制すると、両者の分離が減少した。このことは、CaMKII がシナプスの AMPAR と NMDAR 蛋白質の分布を制御していることを示唆している。さらにニューロリギンは、シナプス前部のニューレキシンを介してシナプス前部の活性帯の構成要素とも相互作用するので、AMPA がシナプス顆粒の放出部位直下に濃縮される可能性があり、それがシナプス可塑性のメカニズムである可能性がある。

§ 2. 研究実施体制

(1) 林グループ

- ① 研究代表者: 林 康紀 (京都大学大学院医学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・In vitro での LLPS 実験
 - ・AMPA と NMDAR ナドメインの可視化とそのシナプス可塑性による再構成
 - ・活性帯の可視化とシナプス下の AMPAR 再分布による可塑性の解明

(2) 松田グループ

- ① 主たる共同研究者: 松田 知己 (大阪大学 産業科学研究所 准教授)
- ② 研究項目
 - ・光増感蛋白質 SN を用いた CaMKII 機能阻害による LLPS 制御
 - ・光による CaMKII 12 量体構造の制御法の開発

(3) 大友グループ

- ① 主たる共同研究者: 大友 康平 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 助教)

② 研究項目

- ・ナノボディと IRIS を用いた超高解像度顕微鏡法
- ・高解像二光子顕微鏡システムによるスパイン構造可塑性の観察
- ・グルタミン酸センサー蛋白質を用いた CaMKII による受容体局所でのグルタミン酸濃度測定

(4) 浦久保グループ

① 主たる共同研究者: 浦久保 秀俊 (自然科学研究機構 生理学研究所 特任助教)

② 研究項目

- ・IRIS イメージングの最適化の数理モデル化からの支援
- ・CaMKII LLPS の計算モデルの開発

【代表的な原著論文情報】

- 1 Hosokawa, T. *et al.* CaMKII activation persistently segregates postsynaptic proteins via liquid phase separation. *Nat. Neurosci.* 24(6); 777-785 (2021).