

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(研究機関別)

- 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(研究機関別)・

- ① 主たる共同研究者:植村 健 (信州大学医学部、講師)
- 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

平成 25 年度は、昨年度までに決定した GluR $\delta 2$ の N 末端ドメインと Cbln1 の立体構造に基づいて GluR $\delta 2$ の部位特異的変異体を作成し、シナプス誘導活性を指標として Cbln1 との相互作用部位を推定した。さらに、架橋剤を使って GluR $\delta 2$ と Cbln1、あるいは、Cbln1 と Nrxn1 β とを共有結合で架橋し、トリプシン消化後の断片を質量分析器で解析することで、それぞれの相互作用部位の同定を試みた。特定部位に架橋がかかることは確認できており、試料の調製法も改善されてきているので、来年度中の同定を期待している。また、昨年度に微小結晶が得られていた Cbln1 と β -Nrxn との複合体の結晶化条件の改善を試みたが、測定に適する結晶は得られなかった。

(2) IL1RAPL1-PTP δ 複合体の構造解析

昨年度までに結晶化に成功していた IL1RAPL1-PTP δ 複合体、IL1RAPL1 単体に加えて、IL1RAPL1 と同様にシナプス形成誘導活性を持つインターロイキン 1 受容体アクセサリタンパク質 (IL-1RAcP) と PTP δ との複合体と PTP δ 単体の結晶化にも成功し、平成 25 年度は4種類の立体構造を決定した。複合体の立体構造決定により、IL1RAPL1-PTP δ 複合体と IL-1RAcP-PTP δ 複体のそれぞれに特徴的な相互作用メカニズムが明らかになった。シナプス形成の制御のためには、今回明らかになった相互作用によって IL1RAPL1/IL-1RAcP と PTP δ が細胞内にシグナルを誘起するメカニズムをさらに知る必要があるが、その手がかりが得られたので検討を進める。

(3) 下流シグナル分子の探索

IL1RAPL1 あるいは GluR $\delta 2$ で刺激した初代神経細胞から、PTP δ あるいは Nrxn1 β 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分子の探索を行った。Nrxn1 β の下流シグナル分子は候補数が多いため、その数を絞り込むための条件検討を行った。一方、PTP δ の下流シグナル分子の候補はいくつか見つかっており、免疫沈降や組換えタンパク質を用いたプルダウンによる確認を行った。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国内)

該当なし

論文詳細情報(国際)

1. Masaru Ikegami, Takeshi Uemura, Ayumi Kishioka, Kenji Sakimura and Masayoshi Mishina, “Striatal dopamine D1 receptor is essential for contextual fear conditioning”, *Scientific Reports*, vol. 4, 3976, 2014
2. Kazumi Hirano, Takaaki Kinoshita, Takeshi Uemura, Hozumi Motohashi, Yohei Watanabe, Tatsuhiko Ebihara, Hidetoshi Nishiyama, Mari Sato, Mitsuo Suga, Yuusuke Maruyama, Noriko M. Tsuji, Masayuki Yamamoto, Shoko Nishihara and Chikara Sato, “Electron microscopy of primary cell cultures in solution and correlative optical microscopy using ASEM”, *Ultramicroscopy*, published online ahead of print, 2013
3. Ayumi Kishioka, Takeshi Uemura, Fumiaki Fukushima and Masayoshi Mishina, “Consolidation of auditory fear memories formed by weak unconditioned stimuli requires NMDA receptor activation and de novo protein synthesis in the striatum”, *Mol. Brain*, vol. 6, 17, 2013
4. Takashi Hayashi, Tomoyuki Yoshida, Moonjin Ra, Ryo Taguchi and Masayoshi Mishina, “IL1RAPL1 associated with mental retardation and autism regulates the formation and stabilization of glutamatergic synapses of cortical neurons through RhoA signaling pathway”, *PLoS One*, vol. 8, e66254, 2013