

尾藤晴彦

東京大学大学院医学系研究科  
教授

可塑的神経回路を支えるシグナル伝達の分子基盤解明と制御

## § 1. 研究実施体制

### (1) 尾藤グループ

① 研究代表者: 尾藤晴彦 (東京大学大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

・可塑的神経回路を支えるシグナル伝達の分子基盤解明と制御

i. 可塑的回路の可視化

ii. 個体脳における回路可塑性の外的制御法の確立(喜田グループとの協同)

iii. 可塑的回路形成発現の分子基盤・シグナル伝達解明(菊地グループとの協同)

### (2) 喜田グループ

① 主たる共同研究者: 喜田聡 (東京農業大学応用生物科学部、教授)

② 研究項目

・可塑的回路操作による恐怖条件付けの形成・固定・再固定・消去機構の解析

i. 回路機能操作による表現型改変の実証に向けた実験プロトコルの検討

ii. 各種記憶課題における記憶制御脳領野・分子の同定とその役割・機能解析・改変

### (3) 菊地グループ

① 主たる共同研究者: 菊地和也 (大阪大学大学院工学研究科、教授)

② 研究項目

・可塑的回路のシグナル伝達解明を目指した蛍光プローブケミストリーの改良

i. タグ蛋白質と蛍光プローブを利用した蛋白質標識法の開発と応用

## § 2. 研究実施の概要

神経回路には、遺伝子プログラムによって決定される回路 (hardwired circuit) に加え、経験に依存して連結性が強化される可塑的回路 (plastic circuit) の存在が想定されている。本研究では、新規のイメージング技術を開発し、この可塑的回路を支えるシグナル伝達の分子基盤をシナプスレベルならびにシステムレベルで明らかにする。さらに、可塑的神経回路の脱構築・再構築を制御するための新技術を開発する。

平成 26 年度は、CREB 経路の制御分子である CRTC1 に着目し、その転写活性化機構を明らかにするとともに、変異 CRTC1-AAV ウィルス、CRTC1-shRNA AAV ウィルスを用いた解析から、CRTC1 の作用が、扁桃体と海馬で異なる可能性を喜田らと共同で見いだした (Nonaka et al., 2014)。CRTC1 は CREB へ結合するコアクチベーターであり、直接 CREB へ結合しないものの、神経活動依存的な CREB 依存的転写を促進し、神経特異的最初期遺伝子 *Arc* などのプロモータを強く活性化する作用を有する。CREB と CRTC1 とでは活性化経路が異なる。カルシウム・カルモジュリンキナーゼ経路を中心とした CREB リン酸化経路に加え、カルシニューリン依存的 CRTC1 脱リン酸化制御の両者を巧みに組み合わせることにより、脳部位特異的な転写活動制御が成立していると考えられる。記憶固定と再固定の相互作用による恐怖記憶制御 (Fukushima et al., 2014) において CRTC1 がどのように関与するか否かは今後の課題である。

可塑的回路は複数の回路の相互作用から成り立つため、究極的には *in vivo* におけるシナプス活動の可視化をリアルタイムで実行する必要がある。これまでに緑色の高速  $\text{Ca}^{2+}$  インディケータは存在したが、赤色の  $\text{Ca}^{2+}$  インディケータはまだ存在しなかった。そこで我々はシナプス活動のイメージングに最適化した赤色  $\text{Ca}^{2+}$  インディケータ R-CaMP2 の開発に着手した。具体的には、R-CaMP2 では CaMKK $\alpha$  の CaM 結合ペプチド配列をカルシウムセンサー領域に用いた。この結果、R-CaMP2 のヒル係数が 1 付近となり、非常に線形性が高く、*in vivo* でのシナプス活動と発火活動が記録可能な高感度赤色の  $\text{Ca}^{2+}$  インディケータが世界で初めて実現した。また R-CaMP2 は  $\text{Ca}^{2+}$  応答性が早く、40Hz のスパイク発火を実時間イメージングできる、現時点で世界最速  $\text{Ca}^{2+}$  インディケータである (Inoue et al., 2015)。

### 原著論文

1. Nonaka M, Kim R, Fukushima H, Sasaki K, Suzuki K, Okamura M, Ishii Y, Kawashima T, Kamijo S, Takemoto-Kimura S, Okuno H, Kida S, Bito H. (2014) Region-specific activation of CRTC1-CREB signaling mediates long-term fear memory. *Neuron* 84: 92-106. (DOI: 10.1016/j.neuron.2014.08.049)
2. Fukushima H, Zhang Y, Archbol G, Ishikawa R, Nader K, Kida S. (2014) Enhancement of fear memory by retrieval through reconsolidation. *eLife* 3: e02736. (DOI: 10.7554/eLife.02736)
3. Inoue M, Takeuchi A, Horigane S, Ohkura M, Gengyo-Ando K, Fujii H, Kamijo S, Takemoto-Kimura S, Kano M, Nakai J, Kitamura K, Bito H. (2015) Rational design of a high-affinity, fast, red calcium indicator R-CaMP2. *Nat Methods* 12: 64-70. (DOI: 10.1038/nmeth.3185)