

細胞の動的・高次構造体  
2021 年度採択研究代表者

2022 年度  
年次報告書

坂本 寛和

東京大学 大学院医学系研究科  
助教

神経伝達物質の放出確率を制御する超分子集合体の再構成

## 研究成果の概要

本研究課題の目的は、神経伝達物質の放出確率を決定する動的な高次構造体であるアクティブゾーン超分子集合体の動作原理を解明することである。アクティブゾーンはシナプスにおける神経伝達物質放出の場であり、Munc13, RIM, RIM-BP, CASTなどの構成タンパク質から成る超分子集合体である。シナプス前終末内ではアクティブゾーン超分子集合体が自己組織化することで、シナプス小胞と電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルの空間分布パターンが自律的に決まり放出確率が決定されるとの仮説を立てその検証を行う。そのために、アクティブゾーン超分子集合体の *in vitro* 再構成技術およびライブセル超解像イメージング技術を構築し、アクティブゾーン超分子集合体の空間分布パターン形成の動的なメカニズムを解明する。今年度の研究では、四つの主要な構成因子 Munc13, RIM, RIM-BP, CAST を非神経細胞の細胞膜近傍に配置させることで、アクティブゾーン超分子集合体を *in vitro* 再構成させる技術を完成させた。また、構成因子にケミカルタグを導入し超解像イメージングに最適化された低分子蛍光色素の標識を行うことで、アクティブゾーン超分子集合体のライブセルナノイメージングを実現した。再構成させたアクティブゾーン超分子集合体は特定の条件化で、非常に秩序の高いナノ構造を取ることが分かった。この結果は、アクティブゾーン構成タンパク質の自己組織化による空間パターン形成が放出確率を決定するという仮説を強く支持する。さらに、*In situ* のシナプスのアクティブゾーン超分子集合体と再構成させたアクティブゾーン超分子集合体のナノレベルの秩序構造を比較するためのデータ取得と解析手法の構築を進めており、これまでに4種類の放出確率の異なるシナプスのデータを取得済みである。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) “Increased vesicle fusion competence underlies long-term potentiation at hippocampal mossy fiber synapses”, *Science Advances*, vol. 9, eadd3616, 2023
- 2) “RIM-BP2 is required for rapid neurotransmitter release through regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  channel clustering at hippocampal mossy fiber terminals”, *bioRxiv*, 2022