

研究 成果 報告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		シナプス内シグナル分子の光操作による記憶・学習システムの理解			
研究テーマ (欧文) AZ		Understanding memory and learning system by optogenetic control of synaptic molecule			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓)ムラコシ	名)ヒデジ	研究期間 B	2017 ~ 2019 年
	漢字 CB	村越	秀治	報告年度 YR	2019 年
	ローマ字 CZ	Murakoshi	Hideji	研究機関名	生理学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		生理学研究所・准教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) CaMKII は、学習や記憶に関係していると考えられているシナプス長期増強や形態的可塑性において、極めて重要であると考えられている分子である。本研究では、シナプス可塑性における CaMKII の機能を直接調べるため、光応答 CaMKII を開発した。Phototropin1 は植物の光受容タンパク質キナーゼであり、青色光照射によって、自身の持つ LOV2 ドメインに結合していた α ヘリックスが解離し、分子構造が可逆的に変化する。我々は、LOV2 ドメインを CaMKII に融合することで、青色光照射によって活性化する光応答性 CaMKII の開発を進めた。LOV2 ドメインを用いて、現在までに光応答性 CaMKII のプロトタイプの開発に成功したが、生化学的なアッセイにより、paCaMKII は内在性の配列の CaMKII と比較して、光非存在下でのベース活性が3倍程度高く、細胞内のシグナル伝達系を乱してしまうことが分かってきた。そこで、光応答性 CaMKII のキナーゼドメインのリンカーの長さや変異導入によるダイナミックレンジの最適化(ベース活性を抑える)を行ったところ、リーク活性を4分の1に抑えることに成功し、さらにダイナミックレンジを2倍にすることに成功した。 また、単一シナプス(スパイン)内で paCaMKII を活性化させることでシナプス可塑性が惹起できるかどうかを調べた。海馬スライスに遺伝子銃を用いて paCaMKII を導入し、900 nm の2光子励起で paCaMKII を単一スパイン内で活性化させたところ、体積増大(シナプス形態的可塑性)が見られた。さらに、化学伝達物質であるグルタミン酸の受容体である AMPA 受容体の局在が、光応答性 CaMKII を活性化させたスパイン内で増加していることを蛍光イメージングと電気生理実験の両面から確認することができた。					
キーワード FA	LOV2	CaMKII	2-photon excitation		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 _{GB}	ShadowR: a novel chromoprotein with reduced non-specific binding and improved expression in living cells.							
	著者名 _{GA}	Murakoshi H et al	雑誌名 _{GC}	Scientific Reports					
	ページ _{GF}	12072	発行年 _{GE}	2	0	1	9	巻号 _{GD}	9
雑誌	論文標題 _{GB}								
	著者名 _{GA}		雑誌名 _{GC}						
	ページ _{GF}	～	発行年 _{GE}					巻号 _{GD}	
雑誌	論文標題 _{GB}								
	著者名 _{GA}		雑誌名 _{GC}						
	ページ _{GF}	～	発行年 _{GE}					巻号 _{GD}	
図書	著者名 _{HA}								
	書名 _{HC}								
	出版者 _{HB}		発行年 _{HD}					総ページ _{HE}	
図書	著者名 _{HA}								
	書名 _{HC}								
	出版者 _{HB}		発行年 _{HD}					総ページ _{HE}	

欧文概要 _{EZ}

A Ca²⁺/Calmodulin-dependent kinase II (CaMKII) is one of the most important signaling molecules for long-term potentiation and associated spine enlargement underlying learning and memory. Here, to understand the function of CaMKII for synaptic plasticity, we developed genetically encoded light-inducible CaMKII inhibitor by using LOV2 derived from phototropin1. We applied this newly developed optogenetic tool for the study of structural plasticity of single dendritic spines by using 2-photon fluorescence microscope and glutamate uncaging, and found that ~60 s of CaMKII activation is sufficient for inducing transient and sustained spine enlargement. In addition, we developed a photo-activatable CaMKII using LOV2 domain. Using this new genetically-encoded tool, we tested if CaMKII activation alone is sufficient for triggering structural plasticity or not. Interestingly, optogenetic CaMKII activation in single dendritic spines induced the spine enlargement and AMPA receptor recruitment, suggesting that CaMKII activation alone is sufficient for triggering synaptic plasticity.