

課題番号	LS118
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	シナプス伝達における伝達物質量制御メカニズムの包括的解明
研究機関・ 部局・職名	同志社大学・脳科学研究科・教授
氏名	高森 茂雄

1. 当該年度の研究目的

我々の脳高次機能は、複雑な神経回路を形成した脳内において、神経細胞がシナプスを介して相互にシグナルを伝えることによって実現される。シナプス伝達は、神経終末からの一定の大きさを有した量子(=quanta)の放出によって喚起されることが知られている。本研究計画では、神経伝達物質をシナプス小胞内腔に輸送して Quanta を形成する小胞型神経伝達物質トランスポーターの作動原理を解明し、シナプス伝達の修飾機構の一端を明らかにすることを目指している。当該年度では、小胞型トランスポーターの再構成実験と pH 感受性蛍光タンパク質を利用したシナプス小胞内プロトン動態の可視化法を組み合わせ、Quanta 形成過程の作動原理を包括的に解明する。

2. 研究の実施状況

【1】小胞型グルタミン酸トランスポーター(VGLUT)の作動原理の解明:VGLUT は小胞膜上にあるプロトンポンプが作るプロトン電気化学勾配を利用してグルタミン酸を輸送するが、プロトンによる膜電位とpH勾配が如何にしてVGLUTを駆動するのかが長年の争点である。我々は、組換えVGLUTタンパク質をプロトンポンプと共に人工脂質二重膜に再構成し、(1)グルタミン酸輸送活性と膜電位には相関がないこと、(2)内液の緩衝能の強さが輸送活性に大きな影響を及ぼすことを発見した。

【2】小胞型GABAトランスポーターの作動原理の解明:VGLUTが興奮性伝達物質であるグルタミン酸を小胞内に輸送するのに対し、VGATは抑制性伝達物質であるGABAを小胞内に輸送する。【1】と同様に組換えVGATタンパク質の再構成実験を行った結果、小胞内液組成が輸送活性に与える影響がVGLUTの場合と異なることが判明した。小胞内pH測定・膜電位測定法でプロトン勾配の測定を同時に行ったところ、その違いはpH依存性にあることが推察された。

【3】シナプス小胞再充填と小胞酸性化・塩素イオン動態の可視化:pH感受性タンパク質を利用した実験系を用いてVGLUT1ノックアウトマウスのシナプス小胞における小胞酸性化と小胞内腔の緩衝能を測定した。その結果、VGLUT1が無いと小胞内緩衝能が低いことがわかった。また、VGLUT1ノックアウトマウスから得られたシナプス小胞の膜勾配とpH勾配を測定したところ、諸々の実験条件で、VGLUT1が無いと両勾配が低下することがわかった。これらの結果から、VGLUT1ノックアウトのシナプス小胞ではプロトンポンプの活性が低下していることが示唆された。この実験結果は、オルガネラ上のタンパク質が間接的にプロトンポンプ活性を制御し、特定のpHに留める役割を果たす可能性を示唆している(投稿準備中)。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 1 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 0 件</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件 著者名: 高森茂雄 論文名: 小胞型アセチルコリントランスポーターの分子性状と生理機能 誌名: 月刊 臨床神経科学 Clinical Neuroscience 別冊 出版年: 2012 年 6 月 1 日発行 Vol.30 No.6 掲載ページ: 642-644</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計 4 件</p>	<p>専門家向け 計 4 件</p> <p>Gordon Research Conferences on Membrane Transport Proteins 発表者: Shigeo Takamori 発表表題: Mechanism of vesicular glutamate transport 開催地: Les Diablerets Conference Center, Switzerland 主催機関: Gordon Research Conference 開催期間: 2012/7/1~6</p> <p>8th FENS Forum of Neuroscience Vesicular transporters: old story, fresh look! 発表者: Shigeo Takamori 発表表題: Vesicular glutamate transporters and their regulation 開催地: Universitat de Barcelona 主催機関: FENS 開催期間: 2012/7/13</p> <p>第 38 回日本分子生物学会年会 発表者: 高森茂雄(オーガナイザー) 発表表題: グルタミン酸のシナプス小胞への再充填機構 開催地: 福岡国際会議場 主催機関: 日本分子生物学会 開催期間: 2012/12/11~14</p> <p>日本学術振興会研究拠点形成事業 国際シンポジウム Mechanisms of synaptic transmission 発表者: 高森茂雄(オーガナイザー) 発表表題: Mechanism of glutamate uptake into synaptic vesicles 開催地: 同志社大学 主催機関: 同志社大学大学院脳科学研究科 開催期間: 2012/12/6~7</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</p>	<p>なし</p>

様式19 別紙1

<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>なし</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p> 標題:ときめき☆ひらめきサイエンス 実施日:2012/8/24 場所:同志社大学 学研都市キャンパス 対象者:中学生、高校生 参加者:20名 内容:細胞や分子のイメージングに用いられている種々の蛍光タンパク質がどういうものか,またそれを用いて どのような研究 が行われているのかを学ぶ。また実際に蛍光タンパク質の遺伝子を増幅し,その過程で分子 生物学の原理・手法を学んでいく。 標題:第3回脳科学若手の会 関西部会 「シナプス小胞のグルタミン酸再充填メカニズム」 実施日:2012/12/16 場所:同志社大学 学研都市キャンパス 対象者:大学学部生・大学院生・ポスドクを中心とした若手研究者 参加者:17名 内容:「海外でサバイバルされた研究者のトーク」をテーマに講演 </p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	<p>なし</p>
<p>その他</p>	<p> Seminar at Max-Planck Institute for Experimental Medicine 発表者:ShigeoTakamori 発表表題:Determinants for glutamate transport into synaptic vesicles 開催地:Goettingen, Germany 主催機関:MPIem (Prof. Nils Brose) 開催期間:2012/7/10 </p>

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	130,000,000	73,900,000	28,050,000	28,050,000	0
間接経費	39,000,000	22,170,000	8,415,000	8,415,000	0
合計	169,000,000	96,070,000	36,465,000	36,465,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	4,790,672	28,050,000	0	32,840,672	29,076,780	3,763,892	0
間接経費	0	8,415,000	0	8,415,000	8,415,000	0	0
合計	4,790,672	36,465,000	0	41,255,672	37,491,780	3,763,892	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	17,748,179	実験試薬等
旅費	221,280	研究打合、学会発表(東京、福岡、生理学研究所)
謝金・人件費等	8,973,023	研究員人件費
その他	2,134,298	遊離アミノ酸の定量分析、ギルソンピペットマン修理等
直接経費計	29,076,780	
間接経費計	8,415,000	
合計	37,491,780	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
倒立顕微鏡用モ ーター式ステージ	有磁ツラフプレート、Z軸 付 IMMTP-3400- 00P	1	1,575,000	1,575,000	2012/4/5	同志社大学
デジタルカメラ (ORCA-FLASH4.0)	C11578-22C	1	2,145,150	2,145,150	2012/5/11	同志社大学
フィルタホイールシ ステム	Lambda10	1	2,012,850	2,012,850	2012/5/11	同志社大学