

News Release



令和 7 年 1 2 月 2 5 日

各報道機関文教担当記者 様

記憶を司るタンパク質 CaMKII の リング構造の新発見

金沢大学自然科学研究科数物科学専攻博士後期課程の松島啓介、ナノ生命科学研究所（WPI-NanoLSI）／新学術創成研究機構の柴田幹大教授らの研究グループは、自然科学研究機構生理学研究所の村越秀治准教授らの研究グループとの共同研究で、脳の記憶や学習に欠かせないタンパク質、カルシウム/カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaMKII) が 12 個のサブユニットから成るリング内で α 型と β 型を同一リングに混在させ、隣接して配置することを高速原子間力顕微鏡（高速 AFM、※1）を用いて世界で初めて明らかにしました。これにより、長年残されていた CaMKII のリング構造に関する疑問に決着をつけました。

CaMKII は、12 個のサブユニットがリング状に集まって働いています。脳の神経細胞内の CaMKII には α 型と β 型の 2 種類があり、脳の領域や発達段階でその存在比率が変わることが知られています。しかし、これまで一つのリングの中で α 型と β 型が一緒に存在するかどうか、そして混ざるとすればどのように並んでいるのかは謎でした。本研究では、高速 AFM という特殊な顕微鏡を使って、溶液中で動く CaMKII のリアルタイム観察を行いました。その結果、CaMKII の 12 量体リングの中には α 型と β 型が混ざっており、それぞれのサブユニットが α 型と β 型のどちらに由来するかを識別することで、高確率で隣り合う配置をとることも明らかにしました。これにより、長い間未解決であった CaMKII の真のリング構造の謎が解け、約 40 年にわたる疑問に終止符が打たれました。

これらの知見は、シナプスでの CaMKII を介したシナプスの可塑性（シナプスの強さや結合が変化する仕組み）の分子基盤や分子メカニズムを理解するうえで重要な手がかりになると考えられます。将来的には、記憶、学習、認知などの脳機能をタンパク質といった分子レベルで明らかにすることにつながり、ひいてはアルツハイマー病などのさまざまな精神・神経疾患の臨床応用（治療薬）の開発にも貢献すると期待されます。

本研究成果は、2025 年 12 月 24 日午前 10 時（英国時間）に英国科学雑誌『Nature Communications』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

私たちの記憶は、大脳皮質や海馬と呼ばれる脳部分の神経細胞ネットワークによって保存されています。この神経細胞同士がつながる場所は「シナプス」と呼ばれ、そこでは情報の伝達が行われています。シナプスの構造や性質が長期間にわたって変化することがあり、これを「シナプスの可塑性」と呼びます。例えば、シナプスの体積や受容体が増えたり減ったりすることで、情報伝達の効率が強くなったり弱くなったりします。この現象は、「長期増強 (LTP)」や「長期抑圧 (LTD)」と呼ばれ、記憶の形成や忘却の基盤になっていると考えられています。こうしたシナプスの変化を担う重要な分子の一つが、カルシウム/カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaMKII) という酵素です (図 1)。CaMKII には、同じ機能を持ちながら構造や性質が少し異なるアイソフォーム (※2) があり、脳の神経細胞では α 型と β 型が知られています。例えば、 α 型の CaMKII が欠損したマウスは、場所の記憶障害が起きることが報告されており、記憶との直接的な関係性が示されています。一方、 β 型は神経発達や精神疾患 (統合失調症やうつ病) への関与が示されており、これらの異なる CaMKII が脳機能の制御において重要な役割を担っています。

興味深いことに、神経細胞内にある CaMKII の α 型と β 型の比率は、脳の部位によって大きく異なることが報告されています。例えば、前脳では α 型 : β 型の比率が 3:1 であるのに対し、小脳では逆に 1:4 と、全く反対の比率です。さらに、発達の過程でもこの比率は変化し、生後 10 日のマウスでは 1:1 の割合で存在しています。ここで、CaMKII は主に 12 個のサブユニットが集まってできた多量体 (複合体) として存在しますが (図 1)、その多量体はサブユニットが全て同じ (α 型または β 型) であるホモ多量体なのか、それとも α 型と β 型が混ざったヘテロ多量体なのか、長い間議論の的となっていました。CaMKII は神経細胞内で働く酵素ですが、どの場所 (局在) で働くかも非常に重要なポイントです。これまでの研究によると、 β 型の CaMKII だけが細胞骨格の一つである F-アクチンと結合できることが分かっています。もし CaMKII が α 型だけのホモ多量体と仮定すると、F-アクチンと結合できず、F-アクチンの枝分かれが多いシナプス付近に局在させることは難しいと考えられます。一方、 α 型と β 型が混ざったヘテロ多量体であれば、 α 型は β 型に連れられてシナプス近傍への局在が可能となります。こうした性質は、LTP や LTD とも関係しており、CaMKII が F-アクチンと結合と解離を繰り返しながら、シナプスの体積変化を引き起こすとも言われています。このように、CaMKII 多量体の正確な構成を解明することは、シナプスの可塑性を分子レベルで理解する上で非常に重要です。

【研究成果の概要】

CaMKII 12 量体内のサブユニットが、 α 型と β 型のどちらに由来するのかを調べるには、ナノメートルスケールのタンパク質そのものを直接イメージングするのが最も確実です。そこで私たちは、高速 AFM を使って、CaMKII の 1 分子イメージングを試みました。以前の研究で、 α 型の CaMKII ホモ多量体に対して高速 AFM を適用し、キナーゼドメインの活性化状態依存的なダイナミクスを可視化することに成功しています (S.

Tsujioka *et al. Sci. Adv.* 2023)。本研究では、前脳の存在比 (α 型 : β 型 = 3:1) を模擬した CaMKII を哺乳類細胞 (HEK293) に過剰発現し、単離精製した試料に対して 0.3 秒の時間分解能で高速 AFM 観察を行いました。その結果、CaMKII の 12 量体リング構造内に、 α 型と β 型が混ざった「ヘテロ多量体」が形成されていることが分かりました。しかも、量的に少ない β 型は、80%以上の確率で隣り合って並んでいることも判明しました (図 2)。さらに、CaMKII が活性化した状態 (カルシウム/カルモジュリン ($\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$) 結合状態や Thr286 のリン酸化状態) では、12 個のサブユニットの中で、特に隣り合った β 型同士が安定したキナーゼドメイン複合体を作り出すことを発見しました (図 3)。生化学実験から、 β 型は α 型よりもキナーゼ活性が低いことが分かりましたが、脱リン酸化酵素に対しては耐性が同じだという事実も判明しました。つまり、この特別なキナーゼドメイン複合体は、CaMKII の酵素としての働きは抑えるものの、LTP の誘導に必須な部位 (Thr286 やグルタミン酸受容体、NMDAR への結合部位 (T-site)) を露出した構造ということが示唆されます。また実際に、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ が解離した後も、 β 型が形成するキナーゼドメイン複合体は長時間活性化構造を保つことが分かり、LTP の分子メカニズムを理解するカギとなる可能性があります。

今回の研究で、CaMKII は α 型と β 型のサブユニットが混ざり合ったヘテロ多量体を形成することを突き止めました。これらの発見と、既知の知見を組み合わせ、新しいモデルを提唱しました (図 4)。特に、 β 型が隣り合ってリング状に並ぶ構造が、F-アクチンへの結合や、活性化状態での NMDAR への結合を促進する仕組みを示しています (図 4)。これらの結果は、分子の姿を直接可視化できる高速 AFM でしか捉えることができないものであり、これまでの多様な実験データに新たな解釈をもたらす可能性があります。

【今後の展開】

本研究で明らかとなった CaMKII の真のリング構造は、CaMKII を介したシグナル伝達のメカニズムをより正確に理解するための重要な分子基盤となります。これにより、記憶や学習の仕組みを分子レベルで解明するだけでなく、精神や神経の病気に対する新しい治療薬の開発にもつながる可能性があります。ただし、高速 AFM 観察は、あくまで *in vitro* (試験管内) 環境での観察であるため、実際の神経細胞内で同じ現象が起きているかは、さらなる検証が必要です。また、シナプスを構成するタンパク質は数百種類も存在しています。記憶の形成や忘却といった複雑な現象を分子レベルで理解するには、CaMKII だけでなく他のシナプスタンパク質の働く姿や、CaMKII と協働して作用する姿も明らかにしなければなりません。私たちの持つユニークな高速 AFM 技術はその一端を担える可能性を秘めており、今後の研究のさらなる進展が期待されます。

本研究は、文部科学省の世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI）、日本学術振興会科学研究費助成事業（挑戦的研究萌芽 24K21942、基盤研究（A） 25H00972[代表：柴田幹大]、学術変革領域研究（A） 23H0424、24H01298[代表：村越秀治]）、ABiS（JP22H04926）、持田記念医学薬学振興財団、上原記念生命科学財団、内藤記念科学振興財団、JST ERATO（JPMJER2403）[代表：柴田幹大]、JST CREST（JPMJCR1762）[代表：古寺哲幸、ホルガー・フレクシグ]、JST SPRING（JPMJSP2135）[代表：松島啓介]の支援を受けて行われました。

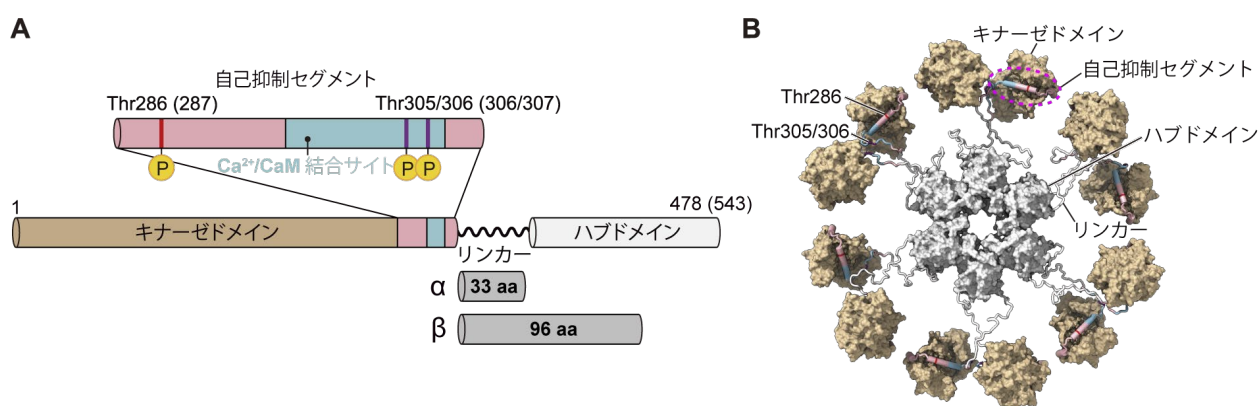


図 1 : CaMKII のドメイン構成。(A) 括弧内の数字は β 型のアミノ酸残基を示す。 α 型と β 型の主な違いはリンカーのアミノ酸残基数である。電子顕微鏡画像に基づいて予想された CaMKII α の 12 量体構造モデル (B)。

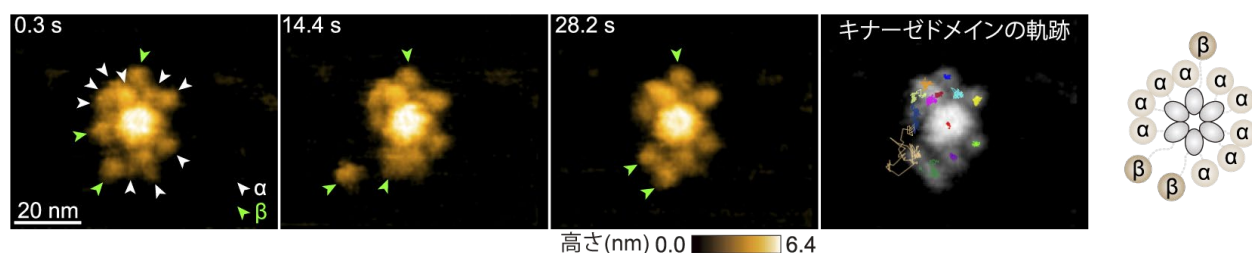


図 2 : CaMKII α/β ヘテロ多量体の連続する高速 AFM 画像。中央にハブ集合体が存在し、その周囲をキナーゼドメインが自由に動く様子が観察された。 α 型と β 型の判定は、ハブ集合体からの距離と運動性で判断できる。原著論文では動画を見ることができる。

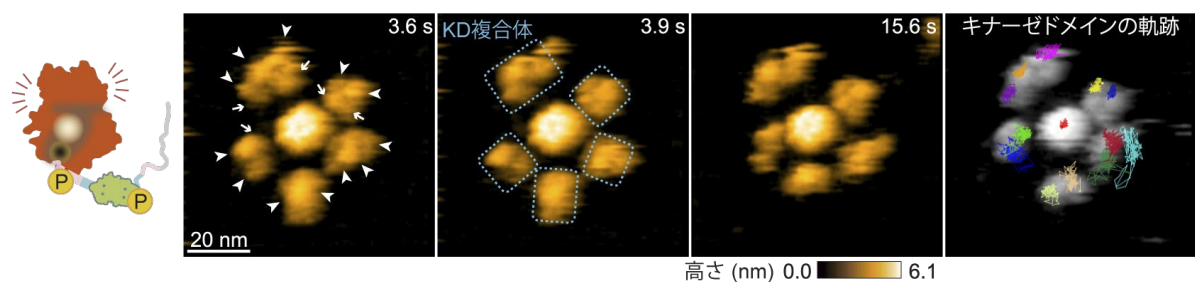


図 3 : CaMKII β ホモ多量体のリン酸化活性化状態の連続する高速 AFM 画像。キナーゼドメイン複合体 (KD 複合体、 青色破線) の形成が観察された。原著論文では動画を見ることができる。

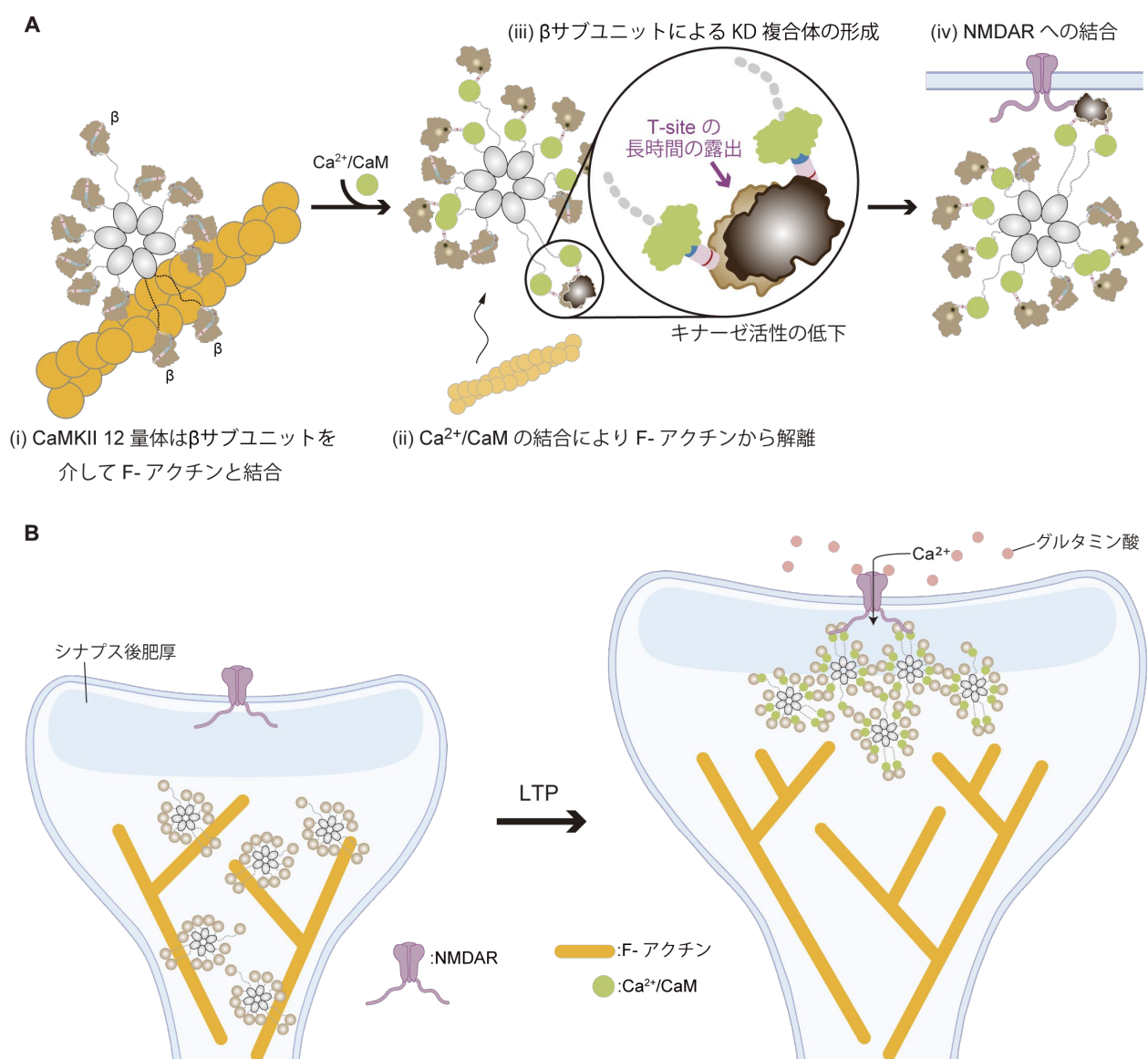


図 4 : 高速 AFM 観察より明らかとなった CaMKII α/β ヘテロ 12 量体の F-アクチンへの結合モデル (A) と LTP 誘導時に起こるスパイン内での CaMKII の局在化モデル (B)。12 量体内の β 型の隣接により基底状態で F-アクチンと結合し、LTP 誘導時には NMDAR

との結合が促進される。

【掲載論文】

雑誌名 : *Nature Communications*

論文名 : Structural dynamics of mixed-subunit CaMKII α / β heterododecamers filmed by high-speed AFM

(高速 AFM を用いた CaMKII α / β が混合したヘテロ 12 量体のナノ動態イメージング)

著者名 : Keisuke Matsushima, Takashi Sumikama, Taisei Suzuki, Mizuho Ito, Yutaro Nagasawa, Ayumi Sumino, Holger Flechsig, Tomoki Ogoshi, Kenichi Umeda, Noriyuki Kodera, Hideji Murakoshi, and Mikihiro Shibata

(松島啓介、炭竈享司、鈴木大晴、伊藤瑞穂、長澤祐太郎、角野歩、ホルガー・フレクシグ、生越友樹、梅田健一、古寺哲幸、村越秀治、柴田幹大)

掲載日時 : 2025 年 12 月 24 日午前 10 時 (英国時間) にオンライン版に掲載

DOI : 10.1038/s41467-025-66527-9

【用語解説】

※1 高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM)

柔らかい板バネの先に付いた細い針を使い、試料の表面形状を映し出す顕微鏡。針が試料の表面に触れながら、針と試料の水平方向の相対位置を少しずつ変え、試料の高さを計測する。試料の表面を高速 (最速 33 フレーム/秒) にスキャンすることで、試料の動きを可視化することができる。生物学や材料科学などの幅広い分野で利用されている。

※2 アイソフォーム

アミノ酸配列や構造は少しずつ違うが、同じ機能をもつタンパク質 (ここではサブユニット) のことを指す。遺伝子は、エクソンと呼ばれる部分と、その間にあるイントロンと呼ばれる部分で構成されている。エクソンは、スプライシングという仕組みで取り除かれたりつながったりして、最終的に mRNA になる。そして、エクソンのつながりや長さが変わることによって、同じ遺伝子からいろいろなアイソフォームが作られる。この現象により、一つの遺伝子から、多彩なタンパク質が作られる。

【本件に関するお問い合わせ先】

■研究内容に関すること

金沢大学ナノ生命科学研究所（WPI-NanoLSI）／新学術創成研究機構 教授
柴田 幹大（しばた みきひろ）
TEL：076-264-5927
E-mail：msshibata@staff.kanazawa-u.ac.jp

自然科学研究機構 生理学研究所 准教授

村越 秀治（むらこし ひでじ）
TEL：0564-55-7857
E-mail：murakosh@nips.ac.jp

■広報に関すること

金沢大学先端科学・社会共創推進機構 特任准教授
山崎 輝美（やまざき てるみ）

金沢大学ナノ生命科学研究所事務室

西村 公恵（にしむら きみえ）
TEL：076-234-4555
E-mail：nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp

自然科学研究機構 生理学研究所

TEL：0564-55-7722
E-mail：pub-adm@nips.ac.jp