

Recent Working Models of Synaptic Vesicle Pools at Central Synapses.

Takeshi SAKABA,* Rinako MIYANO,* and Taichi ONISHI**

(Received April 10, 2024)

At synapses, synaptic vesicles in the presynaptic terminal fuse with plasma membrane and release neurotransmitters. The released transmitters act on the postsynaptic membrane and elicit synaptic responses. It has been assumed that synaptic vesicles were docked and molecularly primed for fusion at the fixed number of release sites so that they could undergo rapid exocytosis with some probability upon Ca^{2+} influx. However, recent studies have indicated that such a simple model could not explain physiological responses, especially temporal dynamics of short-term plasticity. Therefore, more complex models have been postulated. Here, we review recent advances of such models.

Keywords: synapse, presynaptic terminals, synaptic vesicle pool

キーワード: シナプス, シナプス前終末, シナプス小胞プール

最近のさまざまなシナプス小胞プール仮説に関して

坂場 武史, 宮野 里菜子, 大西 泰地

1. はじめに

神経シナプスは神経細胞間の接合部であり、脳の情報伝達の要である。ここではいわゆる化学シナプスのことについて記述する。細胞体で発生した活動電位がシナプス前終末に到達すると、電位依存性 Ca^{2+} チャンネルが開口し、細胞外から Ca^{2+} が流入する。 Ca^{2+} がシナプス小胞の形質膜融合を促進し、小胞内の神経伝達物質を細胞外に放出する（開口放出）。放出された伝達物質はシナプス後部の受容体に作用し、シナプス後部の応答を惹起する（Fig. 1）。シナプス応答には興奮性、抑制性があり、前者はグルタミン酸、後者は GABA などの伝達物質によって媒介される。伝達そのものは ms 程度で起こる素早いも

のであるが、応答の振幅は短期・長期の可塑的な変化をする。

シナプス後部の特性やそれを媒介する分子メカニズムに関しては、受容体やそれをとりまく分子複合体の生化学・分子生物学の進展によって、1990年代から2000年代にかけて大きな研究の進展があった。シナプス前部に関しても伝達物質放出に関わる分子の同定が進んできた。一方で、現在でも放出メカニズムに関しては未解明の点が多く、放出の分子細胞メカニズムがわかっているとはいえない。シナプス小胞の膜融合は、タンパク質どうしの相互作用だけでなく膜の融合に関わる点、また放出に関わる分子が多く、それらの時空間的な組み合わせとその時々での役割の遷移が明らかではない点がメカニズムの

*Graduate School of Brain Science, Doshisha University, Kyoto

Telephone : +81-774-65-6057, E-mail : tsakaba@mail.doshisha.ac.jp, rmiyano@mail.doshisha.ac.jp

**Department of Pharmacology, Graduate School of Medicine, University of Tokyo

Telephone : +81-3-5841-3414, E-mail : taonishi@m.u-tokyo.ac.jp

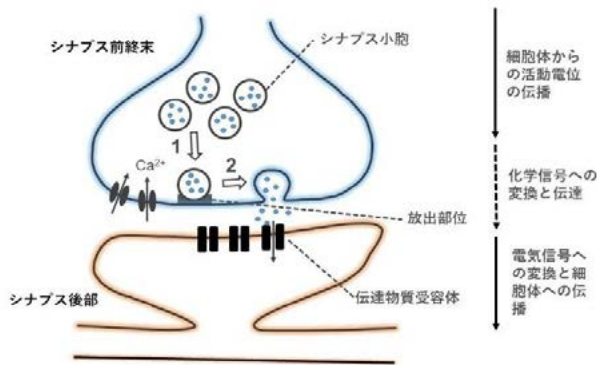


Fig. 1. Schematic drawing of the presynaptic terminal. Synaptic vesicles are docked at the release site, and are primed for fusion. Upon Ca^{2+} influx, synaptic vesicles fuse with the plasma membrane and release transmitters. The released transmitters act on the postsynaptic receptors. Arrow 1 and 2 correspond to recruitment and Prel in Fig 2A, respectively.

解明を難しくしている。さらに、シナプス小胞は開口放出後、エンドサイトーシスによって回収され、終末内をサイクルしている点が特徴である。これは、分子的、薬理的な操作をサイクル内のどの時点で行っても開口放出量に影響する点では、機能解析からのメカニズム推定が難しくなることを意味する。以下、最近の伝達物質放出に関する生理学的研究から提唱された作業仮説である小胞プールモデルに絞って、議論する。

2. 単純なモデル

1954年のDel Castillo and Katzの論文を出発点とした放出モデルである¹⁾。神経筋接合部において、神経を刺激しない場合でも自発的な応答が見られることを見出し、この素過程とみられる応答を量子と呼んだ。現在では、単一シナプス小胞の自発的な開口放出に対するシナプス後部の応答であると考えられている。このとき、1量子の平均応答を q とする。細胞外 Ca^{2+} 濃度を下げるか温度を下げることで、放出の頻度を下げ、シナプス前終末を刺激したときのシナプス応答を計測すると、刺激に対して応答が0、

1的な形で起こる。このとき、シナプス応答に揺らぎがあること、振幅のヒストグラムのピークが q の整数倍になること、応答がない場合も含め、振幅のヒストグラムがポワソン分布から予測されるものとよく一致することがわかった。放出の頻度を上げた場合には二項分布から予測されるものと一致するが、ポワソン分布は二項分布のうち確率の低い特殊な場合であるため、背後にある過程は同一である。ポワソン分布や二項分布で当てはめることができるということは平均のシナプス応答の振幅(μ)が以下の式に表されることを意味する。

$$\mu = N \text{Pr} q \quad (1)$$

N は量子放出が起こる独立かつ斉一な伝達物質放出部位数を示す。それぞれの部位からは確率 Pr によって、放出が起こるとする。 q は1量子が引き起こす応答である。

このモデルは現在に至るまで有力な仮説である。また、量子の実体がシナプス小胞であり、小胞内の伝達物質が膜融合に伴って同時に細胞外に放出されることで量子的な特性を生み出す可能性が高い。 N と同様な用語にRRP (Readily Releasable Pool) というものがある。これは、刺激に対して直ちに開口放出可能なシナプス小胞プールを指すものであり、当座は N と同様な意味を持つものとする。

1998年にはSilverらによって、この一般形が導出された²⁾。つまり、ある条件での平均シナプス応答(μ)が式(1)で表されるということは、その分散 σ^2 は、

$$\sigma^2 = N \text{Pr} (1 - \text{Pr}) q^2 \quad (2)$$

となる。(1)と(2)を合わせると、

$$\sigma^2 = q \mu - \frac{1}{N} \mu^2 \quad (3)$$

となる。細胞外の Ca^{2+} 濃度を変えるなどして、いくつかの実験条件ごとに、単発の神経刺激によるシナプス応答を十分な間隔をとって繰り返すと。各条件での平均と分散の関係を算出しプロットすると、放物線を描くことになる。ただし、 Pr が低いと、放物線を描くに至らず、両者の関係は直線になり、傾きは q に等しくなる。

1999年には Schneggenburger らによって、より簡便に N や Pr を求める方法が提唱された³⁾。すなわち、高頻度のシナプス前終末への連発刺激によって、シナプス応答が減衰するとき（シナプス短期抑圧）、放出部位にあった量子（小胞）が枯渇したためであるとする。このとき、減衰するまでのシナプス応答の累積量 A は RRP に存在していた小胞の開口放出によって生じたシナプス応答の総和となる。1発目の刺激に対するシナプス応答 B は1発目の刺激で開口放出した小胞によって生じた応答とする。すると B を A で割った値が、1発の刺激で RRP 内の1小胞が開口放出する確率 Pr となる。この方法は繰り返し応答をとる必要がないことから広く使われるに至っている（Schneggenburger–Meyer–Neher モデル、SMN モデル）。

このような単純なモデル（Fig. 2A）は、哺乳類中枢シナプスを含めてよく使われており、シナプス伝達特性の近似としては優れている。一方で、いくつかの特性、とくにシナプス応答の刺激周波数依存性に関してはうまく説明できない点が近年指摘されてきた。たとえば、Mueller et al. (2010)は calyx of Held シナプスで 20 Hz で連続刺激をすると、シナプス応答が短期抑圧することを示した⁴⁾。短期抑圧が小胞プールの枯渇によるのであれば、抑圧後に高頻度の刺激に切り替えたとしても、抑圧したままか、あるいはさらなる抑圧になるはずである。しかし、20 Hz の後で 200 Hz で刺激した場合、シナプス応答はそうではなく、むしろシナプス応答の増強現象である促通を起こした。通常、短期抑圧は Pr が高く小胞プールが枯渇する場合に起こると考えられる。一方で、短期促通は Pr が低く、蓄積した残存 Ca^{2+} によって Pr が上昇するために起こると考えられている。20 Hz の刺激では静止状態で既に Pr の高い小胞からの開口放出によってシナプス応答の抑圧が起こる。これとは別に静止状態で Pr の低い小胞が存在しており、20 Hz におけるシナプス応答に寄与しないが、より高頻度の 200 Hz の刺激では終末内 Ca^{2+} の蓄積によって Pr の上昇を起こすと考えると現象を説明できる。これ以外の説明も可能であるが、いずれにせよ、Mueller et al. の現象は均一な小胞で構成された1個の

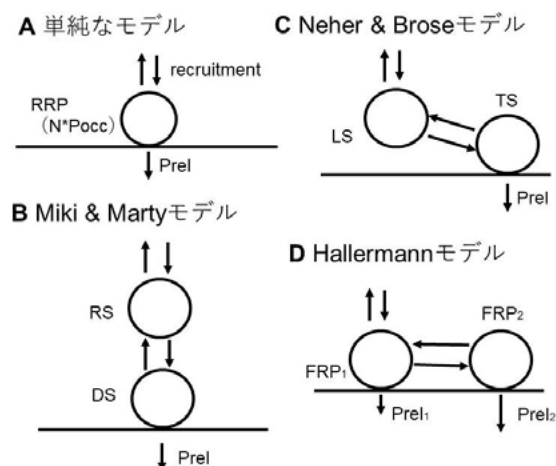


Fig. 2. Various vesicle pool models. **A:** Simple model. **B:** Miki & Marty model. Vesicles go through RS (Replacement Site) and DS (Docking Site) before fusion. **C:** Neher & Brose model. Vesicles at the release sites are either at the loose or tight state (LS vs TS). Vesicles can undergo fusion from TS. **D:** Hallermann model. Vesicles transit from FRP₁ to FRP₂. Vesicles can be fused from both pools with distinct release probabilities.

RRP によって開口放出が起こっているという単純なモデルでは説明できないのは間違いない。

このような状況を解決するため提唱された2015年以降の小胞プールモデルに関して以下に説明する。

3. Miki & Marty モデル

単純なモデルは、単発刺激によるシナプス応答をよく説明できる。一方で、連発刺激による応答などがうまく説明できない点が指摘された。Wu and Borst (1999)は、連発刺激に対するシナプス応答が短期的に減弱する短期抑圧現象の際、見た目の Pr が徐々に下がっている可能性をげっ歯類聴覚系 calyx of Held シナプス前後部の同時記録を用いて示した⁵⁾。これは、Betz (1970) によって神経筋標本で指摘されていた問題でもある⁶⁾。しかし、 Pr の減少は、シナプス小胞が形質膜融合する確率の減少を反映するのか、あるいは RRP の枯渇を反映するのか？そもそも

も、RRP の枯渇は Pr の減少をもたらすのか、あるいは N の減少をもたらすのか？ N はポワソン分布や二項分布では定数であり、短時間に変化することは想定外である。そもそも、放出部位が短時間に増減するのか？

これらの曖昧な点に関して、Zucker(1973)は、シナプス小胞の形質膜融合現象だけが確率的な事象なのではなく、小胞が放出部位にドッキングしているかどうかも確率的な事象であると考えた⁷⁾。換言すれば、Pr は放出部位にドッキングしている小胞の開口放出確率 (Prel) とドッキングしている確率 (Pocc) の積である可能性を示唆している。この考えに従えば、RRP は N と Pocc の積となり、N と RRP は同一ではない。短期抑圧や促進は、Pocc の変化である可能性がある。

Prel と Pocc を分離することは従来の方法では難しかった。Miki et al. (2016)は、小脳顆粒細胞—抑制性介在神経細胞間の単一シナプスにおいて、連発刺激を十分な間隔を置いて、繰り返し与えた。このような連発刺激に対するシナプス応答から、刺激開始から刺激 n (1~刺激終了まで) までの累積放出量の平均と分散を算出し、そこから Pocc と Prel を算出する方法を考案した⁸⁾。たとえば、連発刺激中の小胞プールへの新たな小胞補充を無視できるとし、小胞プールが枯渇すればシナプス応答は 0 になるとする。十分待てば小胞プールは元に戻るとする。このとき、連発刺激を十分な間隔をもって繰り返し与えてシナプス応答を測定すると、Pocc が 1 であれば、累積放出量の最終的な値はどのような場合でも同じになるので、分散は 0 であるが、Pocc が 1 でなければ、その分のゆらぎが残る。Miki et al. (2016)は、さらにドッキング部位 (DS) それぞれの前段階である置き換え部位 (Replacement Site, RS) があると考え、累積放出量の平均と分散の挙動をよく説明できることを明らかにした (Fig. 2B)。また、シナプス潜時の解析からも同様の 2 部位コンセプトが支持された⁹⁾。RS, DS のコンセプトは、電子顕微鏡による形態学研究とよく一致する。つまり、放出部位の集積するシナプス前終末 active zone において、形質膜から数 nm 以内でドッキングしているシナプス小胞、そ

こからわずかに離れている小胞があることが示された最近の研究のことである^{10,11)}。

4. Neher & Brose モデル

Lee et al. (2013)は、calyx of Held シナプスにおいて、シナプス前後部の同時記録をおこなった¹²⁾。シナプス前終末の脱分極パルスに対するシナプス応答において、非常に速い成分とそれに引き続く速い成分があることを見出した。また、脱分極パルスによって、小胞プールを枯渇させた後の回復過程を見ることで補充速度を計測すると、この非常に速い成分は回復が遅く、分子的な準備が必要であることが推察された。速い成分はむしろ回復が速いので分子的な準備がそれほど完全である必要がないと解釈できる⁵⁾。この非常に速い放出成分を”Super-primed Pool”と呼び、その他の”Primed pool”と区別した。その後、Neher and Brose (2018)は それぞれを”Tight State” (TS), ”Loose State” (LS) と呼び変えた¹³⁾。Pool と呼ぶ場合は、一定の数の小胞がその中に含まれていることを含意するのに対し、State の場合は、どちらの場合にも遷移可能であることを含意する。電子顕微鏡におけるドッキング状態の小胞とそこから離れている小胞の存在、開口放出に必須の SNARE タンパク質が loose complex, tight complex の 2 状態をとる可能性も、この仮説の根拠になっている。その後、Taschenberger et al. (2016)や Lin et al. (2022)において、calyx of Held におけるシナプス間の伝達特性や連発刺激でみられる短期シナプス可塑性の挙動をモデルがよく説明できることが示された^{14,15)}。

このモデルは、シナプス小胞が LS を経て TS に至り、TS からのみ開口放出可能であると仮定する (Fig. 2C)。LS から TS への遷移は基本遅いが、活動依存的 (Ca²⁺依存的) に高速となる。LS と TS 間の遷移は双方向であり、小胞は放出部位で TS か LS のどちらかしかとれない。分子状態の遷移によって開口放出能が決まるという考え方は神経シナプスではなく、むしろ、クロム親和細胞などの分泌細胞の顆粒分泌で提唱されていた考え方であり、セカンドメッセンジャーなどによる分子修飾により、放出能

がダイナミックに変化するシステムでは現在でも有効である (release state model)¹⁶⁾. 一方でシナプスでは, Katz 以来の放出部位数 (N) が一定であるとの考え方から当てはまらないとされてきた (release site model). Release state という考え方を放出部位という拘束のもとで復活させたものともいえる.

5. Hallermann モデル

Wu and Borst (1999)⁵⁾によって指摘されていたシナプス抑圧における Pr の減少の問題を解決するために Ritzau-Jost et al. (2018)によって, 小脳苔状線維シナプスにおいて提案されたモデルである (Fig. 2D)¹⁷⁾. 定性的には Wu and Borst (1999)によって説明されている. このモデルではシナプス小胞が FRP₁ (Fast-Releasing Pool₁) にまず入り, 数秒の時間経過で FRP₂ に入る. FRP₂の方が開口放出確率は高いものと仮定するが, FRP₁からも開口放出が可能である. 連発刺激で Ca²⁺が蓄積すると, 促進現象 (facilitation) で放出確率が上昇するため, FRP₁の関与が増大していくことになる. FRP₁への小胞の補充も, FRP₁から FRP₂への補充も, Ca²⁺依存性を必要としない.

6. 4つのモデルをめぐって

単純なモデルは, 多くのシナプスで, 単発刺激に対する応答に関しては比較的うまくあてはめることができる^{18, 19)}. よって, 単発の場合はある程度, 一様な小胞プールによって担われていると考えられる. 一方で, 連発刺激の場合, 単純なモデルではうまくいかない場合が出てくる. 上記のように, この点は Katz グループの Betz (1970)⁶⁾, Zucker(1973)⁷⁾によって既に認識されていた問題であり, 新たな技術の進展やコンセプトの深化によって, リバイバルを繰り返していると見ることができる. 連発刺激の場合, 時間的側面, すなわち刺激時間が数十 ms 以上になると, 小胞プールへの補充や, 小胞プールどうしでの状態遷移が起こるため, 単純なプールモデルでは説明できなくなる. これを無理に当てはめた場合, N や Pr の誤った推定を行うことになりかねない²⁰⁾.

では, 最近のより複雑な3つのモデルではどれが妥当なのか? より複雑なモデルではパラメーターの数が増えるため, データの説明ではどれでも有利になる. ただし, 3つのモデルでは背後に想定されるメカニズムが異なる. Miki & Marty モデルでは DS と RS の双方に, Hallermann モデルでは FRP₁, FRP₂の双方に小胞が同時に入ることができるが, Neher & Brose モデルでは TS, LS のどちらかしか入れない. Miki & Marty モデルでは RS, Neher & Brose モデルでは LS からの開口放出はできないが, Hallermann モデルでは FRP₁, FRP₂の双方から開口放出ができる. Weichard et al. (2023)では, Neher & Brose モデルでも Hallermann モデルでも同様に伝達や可塑性データを説明できることが示されており²¹⁾, 分子的な実体を考慮に入れない限り, どのモデルが正しいかはわからないのが実情である. 電気生理学で測定するだけでなく, 分子的な操作を取り込みつつ, 電子顕微鏡やライブイメージングで小胞の位置, 状態と開口放出の関係を詰めていく必要がある.

最近の電子顕微鏡や分子遺伝学, 電気生理学の研究からは, 従来考えられていたようにシナプス小胞のドッキングとプライミング (開口放出のための分子的な準備) が別々のプロセスではなく同時に起こることがわかった^{10, 11)}. また, 開口放出とその前のドッキング・プライミングの時間スケールがそれぞれ ms 以内と 10 ms と考えられ, 従来考えられていたよりもタイムスケールが近い事象であると考えられている¹³⁾. これらのことは, 開口放出 (Prel) とドッキング・プライミング (Pocc) の解析上の分離の難しさを示す. あるいは, 両者を独立したものと捉えず, 連続したものと考えたほうが妥当な可能性もある. 開口放出の Ca²⁺センサーであると考えられてきた Synaptotagmin1 はドッキング・プライミングにも関わるなど¹⁴⁾, 両方に関わる分子も多い. その点を考慮し, プライミングと開口放出をエネルギー地形 (energy landscape) という見方で統合的に捉えるモデルも存在する^{22, 23)}.

ここまで見た通り, シナプス前部からの開口放出だけでも, 数理モデルとして定量的に把握すると複

雑になってしまい、しかも、一意に定まっていない。開口放出はシナプス伝達に限らず、細胞の小胞輸送系一般の現象であり、細胞生物学一般の問題である。シナプスはその時間的な極限である、ms 以内の高速で安定的に作動する小胞輸送システムである。一方で、短期・長期で可塑的な変化を示すという一見相反する性質を持つ。さらに、SNARE タンパク質という小胞輸送系で一般に使われるタンパク質の上に、神経特有のタンパク質群が組み合わさる複雑な分子細胞システムで、一見矛盾した特性を実現している。これを根本から解明するのはたやすいことではない。最近の電子顕微鏡や超解像光学顕微鏡、遺伝学の技術の進展は、分子の空間分布とそのダイナミックな変化を捉えられる点で有利な状況にある。一方で、欧米ではげっ歯類のみならず iPS 細胞などを用いたヒト標本での研究が飛躍的に進んでおり、分子細胞レベルでのヒトらしさが明らかにされ始めている点は興味深い²⁴⁾。基礎生物学・医学として従来、学術的に定義されていた分子—細胞—回路—個体といった階層を踏まえた形での本質的な理解には時間がかかるであろうが、シナプスレベルから回路レベルを越えて一足飛びに個体レベルの機能操作ができる点で、古典的な定義を越えた医学的応用が今後急速に進む可能性がある。

参考文献

- 1) J. Del Castillo and B. Katz, "Statistical aspects of transmission at a single nerve muscle junction." *J Physiol.* **124** [3], 560-573 (1953).
- 2) R. A. Silver, A. Momiyama and S. G. Cull-Candy, "Locus of frequency-dependent depression identified with multiple-probability fluctuation analysis at rat climbing fibre-Purkinje cell synapses." *J. Physiol.* **510** [3], 881-902 (1998).
- 3) R. Schneggenburger, A. C. Meyer and E. Neher, "Released fraction and total size of a pool of immediately available transmitter quanta at a calyx synapse". *Neuron* **23**[2], 399-409 (1999).
- 4) M. Müller, J. D. Goutman, O. Kochubey and R. Schneggenburger, "Interaction between facilitation and depression at a large CNS synapse reveals mechanisms of short-term plasticity." *J. Neurosci.* **30** [6], 2007-2016 (2010).
- 5) L. G. Wu and J. G. Borst, "The reduced release probability of releasable vesicles during recovery from short-term synaptic depression." *Neuron.* **23** [4], 821-832 (1999)
- 6) W. J. Betz, "Depression of transmitter release at the neuromuscular junction of the frog." *J. Physiol.* **206** [3], 629-44 (1970).
- 7) R. S. Zucker, "Changes in the statistics of transmitter release during facilitation." *J. Physiol.* **229** [3], 787-810 (1973).
- 8) T. Miki, G. Malagon, C. Pulido, I. Llano, E. Neher and A. Marty, "Actin- and Myosin-Dependent Vesicle Loading of Presynaptic Docking Sites Prior to Exocytosis." *Neuron* **91** [4], 808-823 (2016).
- 9) T. Miki, Y. Nakamura, G. Malagon, E. Neher and A. Marty, "Two-component latency distributions indicate two-step vesicular release at simple glutamatergic synapses." *Nat. Commun.* **9** [1], 3943 (2018).
- 10) C. Imig, S. W. Min, S. Krinner, M. Arancillo, C. Rosenmund, T. C. Südhof, J. Rhee, N. Brose and B. H. Cooper, "The morphological and molecular nature of synaptic vesicle priming at presynaptic active zones." *Neuron* **84** [2], 416-431 (2014).
- 11) S. Chang, T. Trimbuch and C. Rosenmund, "Synaptotagmin-1 drives synchronous Ca²⁺-triggered fusion by C₂B-domain-mediated synaptic-vesicle-membrane attachment." *Nat. Neurosci.* **21** [1], 33-40 (2018).
- 12) J. S. Lee, W. K. Ho, E. Neher and S. H. Lee, "Superpriming of synaptic vesicles after their recruitment to the readily releasable pool." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110** [37]:15079-84 (2013).
- 13) E. Neher and N. Brose, "Dynamically primed synaptic vesicle states: Key to understand synaptic short-term plasticity." *Neuron* **100** [6]:1283-1291 (2018).
- 14) H. Taschenberger, A. Woehler and E. Neher, "Superpriming of synaptic vesicles as a common basis for intersynapse variability and modulation of synaptic strength." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **113** [31], E4548-57 (2016).
- 15) K. H. Lin, H. Taschenberger and E. Neher, "A sequential two-step priming scheme reproduces diversity in synaptic strength and short-term plasticity." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **119** [34], e2207987119 (2022).
- 16) E. Neher, "Neurosecretion: what can we learn from chromaffin cells." *Pflugers Arch - Eur J Physiol* **470**, 7-11 (2018).
- 17) A. Ritzau-Jost, L. Jablonski, J. Viotti, N. Lipstein, J. Eilers and S. Hallermann, "Apparent calcium dependence of vesicle recruitment." *J. Physiol.* **596** [19], 4693-4707 (2018).
- 18) Y. Sahara and T. Takahashi "Quantal components of the excitatory postsynaptic currents at a rat central auditory synapse." *J. Physiol.* **536** [1]:189-197 (2001).

- 19) V. Scheuss, R. Schneggenburger and E. Neher, "Separation of presynaptic and postsynaptic contributions to depression by covariance analysis of successive EPSCs at the calyx of Held synapse." *J. Neurosci.* **22** [3], 728-739 (2002).
- 20) E. Neher, "Merits and limitations of vesicle pool models in view of heterogeneous populations of synaptic vesicles." *Neuron* **87** [6], 1131-1142 (2015).
- 21) I. Weichard, H. Taschenberger, F. Gsell, G. Bornschein, A. Ritzau-Jost, H. Schmidt, R. J. Kittel, J. Eilers, E. Neher, S. Hallermann and J. Nerlich, "Fully-primed slowly-recovering vesicles mediate presynaptic LTP at neocortical neurons." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **120** [43], e2305460120 (2023).
- 22) S. Schotten, M. Meijer, A. M. Walter, V. Huson, L. Mamer, L. Kalogreades, M. ter Veer, M. Ruiten, N. Brose, C. Rosenmund, J. B. Sørensen JB, M. Verhage and L. N. Cornelisse. "Additive effects on the energy barrier for synaptic vesicle fusion cause supralinear effects on the vesicle fusion rate." *Elife* **4**, e05531 (2015).
- 23) A. Kádková, J. Murach, M. Østergaard, A. Malsam, J. Malsam, F. Lolicato, W. Nickel, T. H. Söllner and J. B. Sørensen. "SNAP25 disease mutations change the energy landscape for synaptic exocytosis due to aberrant SNARE interactions." *Elife* **12**, RP88619 (2024).
- 24) C. Patzke, M. M. Brockmann, J. Dai, K. J. Gan, M. K. Grauel, P. Fenske, Y. Liu, C. Acuna, C. Rosenmund and T. C. Südhof, "Neuromodulator signaling bidirectionally controls vesicle numbers in human synapses." *Cell* **179** [2], 498-513 (2019).