

岡崎共通研究施設(生理学研究所関連)

OKAZAKI RESEARCH FACILITIES (NIPS)

岡崎統合バイオサイエンスセンター OKAZAKI INSTITUTE FOR INTEGRATIVE BIOSCIENCE

時系列生命現象研究領域(神経分化) Department of Development, Differentiation and Regeneration (Section of Developmental Neurophysiology)

職員 (Staff)



教授 岡村 康 司 (生理学研究所兼務)

東京大学医学部卒, 同医学系研究科修了, 医学博士。東京大学医学部助手, ニューヨーク州立大学ストーニーブルック校客員研究員, 産業技術総合研究所主任研究員(東京大学総合文化研究科助教授併任)を経て平成13年5月から現職。
専攻: 神経生理学, 発生生物学。

Professor (concurrent, NIPS):

OKAMURA, Yasushi, MD, PhD

1985 Graduated from University of Tokyo, Faculty of Medicine. 1989 Completed the doctoral course in Medical Science, University of Tokyo. 1995 Senior Researcher, National Institute of Bioscience and Human Technology. 2001 Professor, NIPS.
Speciality: Developmental Neurobiology, Ion channel biophysics



助教授 東 島 眞 一 (生理学研究所兼務)

東京大学理学部生物化学科卒, 同大学院博士課程修了, 理学博士。基礎生物学研究所助手, 科学技術振興事業団さきがけ研究専任研究員, ニューヨーク州立大学ストーニーブルック校客員研究員を経て平成15年11月から現職。
専攻: 神経生理学, 発生神経科学。

Associate Professor (concurrent, NIPS):

HIGASHIJIMA, Shin-ichi, PhD

1989 Graduated from University of Tokyo, Faculty of Science. 1994 Completed the doctoral course in Science, University of Tokyo. 1994 Research Associate, National Institute for Basic Biology. 1996 PREST Researcher. 1998 Research Scientist, State University of New York at Stony Brook. 2003 Associate Professor, NIPS.
Speciality: Developmental Neurobiology, Neurophysiology



助 手(兼務) 久木田 文 夫 (生理学研究所より出向)

東京大学理学部物理学科卒, 同大学院博士課程修了, 理学博士。昭和52年12月から現職。
専攻: 神経の生物物理学, 神経生理学。

Assistant Professor (NIPS): KUKITA, Fumio, PhD

1971 Graduated from the University of Tokyo, Faculty of Science. 1976 Completed the doctoral course in physics at the University of Tokyo, 1977 Research Associate, NIPS.
Speciality: Biophysics and Molecular Physiology



助 手(兼務) 岩 崎 広 英 (生理学研究所より出向)

東京工業大学生命理工学部卒, 東京大学医学系研究科修了, 医学博士, 理化学研究所基礎科学特別研究員を経て平成14年4月から現職。
専攻: 神経生物学。

Assistant Professor (NIPS): IWASAKI, Hirohide, PhD

1994 Graduated from Tokyo Institute of Technology, Department of Bioscience and Biotechnology. 2001 Completed the doctoral course in Medical Science, University of Tokyo. 2001 Special Postdoctoral Fellow, The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN). 2002 Research Associate, NIPS.
Speciality: Developmental Neurobiology



研究員 木 村 有 希 子

埼玉大学卒, 東京大学理学系研究科修了, 理学博士, 平成16年4月から現職。
専攻: 発生生物学。

Postdoctoral Fellow (NIPS): KIMURA, Yukiko, PhD

1999 Graduated from Saitama University. 2004 Completed the doctoral course in biological sciences, the University of Tokyo. 2004 Research fellow, NIPS.
Speciality: Developmental Biology

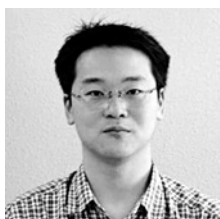


日本学術振興会特別研究員 西 野 敦 雄

東京大学理学部卒, 京都大学大学院理学研究科中退, 理学博士, 東京大学大学院新領域創成科学研究科助手を経て, 平成16年4月から現職。
専攻: 無脊椎動物学。

Postdoctoral Fellow: NISHINO, Atsuo, PhD

1997 Graduated from University of Tokyo, Faculty of Science. 2001 Left the doctor course in Graduate School of Science, Kyoto University. 2001 Research Associate, Graduate School of Frontier Sciences, University of Tokyo. 2004 JSPS Postdoctoral Research Fellow.
Speciality: Invertebrate Zoology



日本学術振興会特別研究員
村田 喜理

明治薬科大学卒，東京医科歯科大学医学系研究科修了，医学博士，平成16年4月から現職。
専攻：神経生物学。

Postdoctoral Fellow: MURATA, Yoshimichi, PhD

1996 Graduated from Meiji Pharmaceutical University, Faculty of Pharmacy. 2002 Completed the doctoral course in in Medical Science at Tokyo Medical and Dental University. 2002 Research fellow, NIPS, 2004 JSPS Research fellow.

Speciality: Ion channel biophysics



研究員 佐々木 真理
(生理学研究所より出向)

大阪大学薬学部卒，大阪大学薬学研究科博士前期課程修了，総合研究大学院大学生命科学研究科博士後期課程修了，理学博士。平成18年4月から現職。
専攻：生理学，分子生物学。

Postdoctoral Fellow (NIPS): SASAKI, Mari, PhD

2001 Graduated from Osaka University. 2006 Completed the doctoral course in Life sciences. The Graduate University for Advanced Science. 2006 Research fellow, NIPS.

Speciality: Physiology, Molecular biology



研究員 黒川 竜紀

九州工業大学卒，同大学院情報工学研究科修了，情報工学博士，平成17年7月から現職。
専攻：生化学。

Postdoctoral Fellow: KUROKAWA, Tatsuki, PhD

2000 Graduated from Kyushu Institute of Technology.

2005 Completed the doctoral course in computer sciences, Kyushu Institute of Technology. 2005 Research fellow.

Speciality: Biochemistry



研究員 小谷 素子

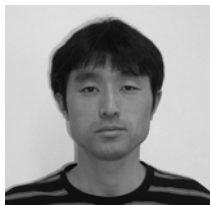
東京大学理学部卒，東京大学理学系研究科修了，理学博士，東京理科大学生命科学研究所助手を経て，平成18年4月から現職。
専攻：分子生物学。

Postdoctoral Fellow: KOTANI, Motoko, PhD

1994 Graduated from the University of Tokyo Faculty of Science.

1999 Completed the doctoral course in biochemistry, the University of Tokyo. 1999 Research Associate, Research Institute for Biological Sciences, Tokyo University of Science. 2006 Research Fellow, NIPS.

Speciality: Molecular Biology



研究員 大河内 善史
(生理学研究所より出向)

北海道大学農学部卒，名古屋大学理学研究科修了，理学博士。平成17年12月から現職。
専攻：分子神経生物学。

Postdoctoral Fellow (NIPS): OKOCHI, Yoshifumi, PhD

1998 Graduated from Hokkaido University, Faculty of Agricultural Science.

2005 Completed the doctoral course in Graduate School of Science, Nagoya University. 2005 Research Fellow, Nips.

Speciality: Molecular Neurobiology

研究内容

イオンチャネルをはじめとする膜機能分子は，興奮性細胞機能の基本的な分子であり，その機能は，膜電位変化，細胞外からの伝達物質の刺激，細胞内の物理的な変化，機械的な刺激などにより，微妙にコントロールされる。そのうち特にイオンチャネルは，従来から生理学的及び分子の実体が研究されており，構造と機能の関係の理解が進んでいる。しかし，実際の細胞においては，複数の膜分子の発現を統合し，細胞の種類，細胞が形成される時間的な過程，細胞の置かれている状況に応じて調節されている。膜分子の発現が，どのように生理機能に合った形で制御されているのか？ 発生過程においてどのように発現が制御され，どのような機能を有するか？ 別々の遺伝子でコードされている多様な種類の膜機能分子を，一つの機能に集約する制御はどういうものか？ これらを明らかにするため，以下の研究を行っている。

(1) 新規電位感受性膜タンパク機能の解析

神経や筋を始めとして細胞膜の膜電位変化は様々なイオンチャネル分子を介してイオンの出入りが生じることにより細胞内へ情報が伝達されることが知られてきた。しかし，本当に膜電位現象は，イオンチャネルを介するものだけなのであろうか？ 我々は，ホヤのゲノムから，電位依存性チャネルの電位センサーをもちながらイオンの通過部位(ポア領域)をもたず，かわりに C 末側にホスファターゼドメインをもつ分子を同定した。VSP と命名されたこの分子は，イノシトールリン脂質を脱リン酸化する酵素活性を示し，生理学的な膜電位の範囲内で，酵素活性を変化させる。イオンの移動なしに細胞膜の膜電位変化を細胞内の化学的情報に転換する，膜電位の信号伝達の新しい経路である。更に電位センサーをもつ別の分子も同定した。この分子は電位センサードメインのみを有しポア領域をもたないが (VSOP=voltage sensor-only protein)，驚くべきことに電位依存性プロトンチャネル活性をもつことが明らかになった。VSOP はマクロファージなど免疫系の細胞に多く発現し，膜電位を介する活性酸素の産生や細胞内環境の制御に関わっていると考えられる。これらの分子の存在は，膜電位シグナルが従来考えられてきたように活動電

位などの形成に限定されるのではなく、様々な生物現象に関わる可能性を示唆している。現在、VSP での1分子内の電位センサーの動作がどのように酵素活性の変化をもたらすのか、またVSP がどのような生物現象における膜電位変化に対応して機能しているのか、哺乳類に固有の生理機能の進化とどのような関係があるか、などを明らかにしようとしている。VSOP については、どのように膜電位を感知しプロトンの輸送を制御するのか、生理機能での意義は何か？などを明らかにしようとしている。これらに加え、イカ巨大神経線維の高速細胞内灌流法による精密な電気生理学的測定とタンパク質科学の視点に立った理論的な取り扱いからの電位センサーの構造機能連関の解明も行っている。

(2) 中枢神経系ニューロンの個性の確立の理解

神経回路は、転写因子の発現と活動依存的な修飾機構により規定される個々のニューロンにより構成される。特定のニューロンは神経回路機能に見合った特性(イオンチャネルによる膜興奮性や伝達物質の種類)を獲得する。発生過程において個々のニューロンが生まれ神経機構が成立するメカニズムを、トランスジェニックゼブラフィッシュなどを用いて解析している。

(3) ロコモーションの生理進化的研究

尾索動物ホヤ、オタマボヤ、魚類、哺乳類は、相互に保存された神経発生機構や神経回路構築を示しつつも、異なる細胞数とシステムの複雑性を有し、これによって異なる物理的環境への適応能力を実現している。ゲノムレベル、システムレベル、ニューロンレベルで複数の生物種の運動機能を、特に脊椎神経回路に着目して解析することにより、脊椎動物運動機能の生物史の変遷を明らかにしようとしている。

Research works

Diverse types of membrane proteins act in concert to form excitabilities in neurons and muscle cells. To establish membrane excitabilities in the context of cell physiology and embryogenesis, single cells need to integrate expression of ion channels in a manner specific to subcellular compartments and developmental stages. We are studying on function and regulation of membrane proteins, mainly ion channels, by focusing on the following biological events.

1. Physiological role of membrane potential and novel voltage-sensing proteins

Voltage sensors have long been thought as traits unique to voltage-gated ion channels that underlie membrane excitabilities. We have recently identified a novel protein that contains voltage sensor similar to ion channel and phosphatase. This protein shows voltage-dependent tuning of phosphatase activity based on the operation of voltage sensor. This indicates that voltage sensing is not confined to ion channels but could be more widespread than

previously realized. We are currently asking how voltage sensor operation is coupled to phosphatase activity, and what kind of biological context this protein is involved. We have recently identified another voltage sensor domain protein, VSOP, that lacks cytoplasmic region. Surprisingly, this protein exhibits voltage-gated proton channel activities when expressed heterologously. This channel is abundantly expressed in blood cells such as macrophage, and could play role in regulation of production of reactive oxygen species and intracellular pH. How this protein senses membrane potential, and how proton permeation is achieved by this small molecule, are being investigated.

2. How are neuronal traits established during development?

There are ten genes coding alpha-subunits of voltage-gated sodium channels (Nav channels) in mammals and four genes are expressed in CNS neurons. However, the same Nav channel gene, for example, Nav1.6, underlies diverse types of sodium currents which distribute on different compartments of neurons. Such diversity of Nav channel function may depend on interacting proteins or cellular environments. Spinal neurons consist of multiple populations with distinct functional properties including excitability, transmitter phenotype and innervating patterns. We aim to reveal how cell-specificity and diversity of neuronal functions are acquired in CNS development by integrating methods of electrophysiology, cell biology and molecular biology.

3. How is vertebrate locomotion system originated from the ancestral chordate?

Embryos of ascidian and appendiculum develop very rapidly into swimming tadpole-like larva and show conserved organization and behavior similar to primitive vertebrates. These larvae have a nervous system with much smaller number of neurons than in the vertebrate. Locomotion system in these lower chordates is being studied at both levels of cellular organization and electrophysiology as compared with that in vertebrates.

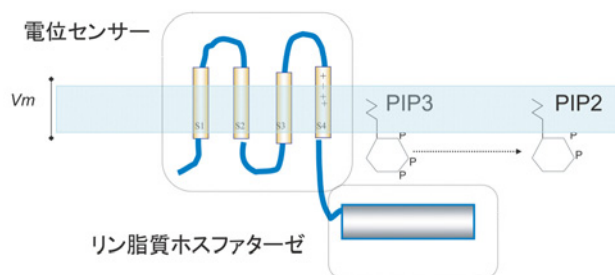


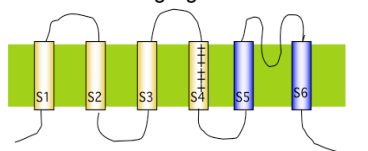
図1 新しい電位センサー膜タンパク分子 Ci-VSP。電位依存性チャネルと同様な電位センサー部分と、細胞内側の構造としてホスファターゼドメインをもつ。電位依存的にホスファターゼ活性を変化させる特性を示す。

Novel voltage-sensing protein

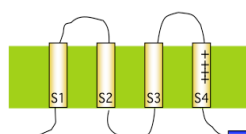
We have recently discovered a novel protein that contains channel-like voltage sensor and phosphatase. Phosphatase activity is tuned by the

operation of its intrinsic voltage sensor in response to change of membrane potential. This suggests a novel signaling pathway coupled with membrane potential change without requiring ionic flow.

Conventional Voltage-gated channels

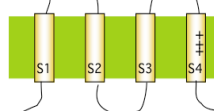


Voltage-regulated phosphatase (Ci-VSP)



Murata, Iwasaki, Sasaki et al,
Nature, 2006

Voltage-gated proton channel VSOP (Voltage sensor-only protein)



Sasaki, Takagi, Okamura,
Science, 2006

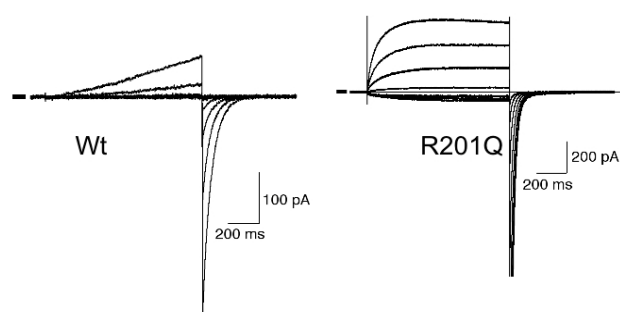


図2 電位依存性プロトンチャネル mVSOP の構造(上)とその cDNA を哺乳類培養細胞に強制発現させたときに得られるプロトン電流。通常の電位依存性チャネルの電位センサードメインに対応する部分からのみからなりポア領域を持たないが、プロトンを通す。保持電位-60mV から脱分極パルスを与えている。膜貫通領域の特定のアミノ酸(201 のアルギニン)をグルタミンに置換すると低い脱分極でも開くようになり、内向き電流が生じる。

Structure of voltage-gated proton channel (upper) and patch clamp recording of voltage-gated proton currents from tsA201 cells transfected with mouse VSOP cDNA (lower)

Voltage-gated proton currents recorded in the whole-cell patch recording mode. Wt shows outward-rectifying currents and tail inward currents. R201Q mutant shows inward currents during depolarization due to the altered voltage-dependency.

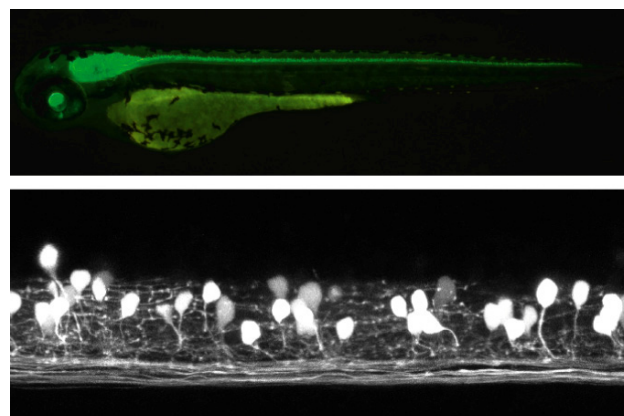


図3 生きたままニューロンを蛍光タンパクの発現によって可視化したトランスジェニックゼブラフィッシュ。上図は通常の蛍光写真。下図は共焦点顕微鏡画像。

Studies with zebrafish as a model system to understand molecular mechanisms underlying development of neuronal wiring and neurophysiology of locomotion.

In the transgenic zebrafish, a class of interneurons are easily identified by fluorescence of GFP in live animals. The upper panel is an image using a regular fluorescent microscope. The bottom panel is an image by a confocal microscopy.

戦略的方法論研究領域(ナノ形態生理) Department of Strategic Methodology (Section of Nano-Structure Physiology)

職員 (Staff)



教授 永山 國昭
(生理学研究所兼務)

東京大学理学部卒，同大学院修了，理学博士。日本電子(株)生体計測学研究室長，科学技術振興事業団プロジェクト総括責任者，東京大学教養学部教授，生理学研究所教授を経て平成13年2月から現職。
専攻：生物物理学，電子線構造生物学，生理現象の熱統計力学。

Professor (concurrent, NIPS): NAGAYAMA, Kuniaki, PhD
1968 Graduated from University of Tokyo. 1973 Completed the doctoral course in Science, University of Tokyo. 1974 Research Associate, University of Tokyo. 1984 Director, Biometrology Lab, JEOL Ltd. 1990 Project Leader, Nagayama Protein Array Project, ERATO, JRDC. 1993 Professor, The University of Tokyo. 1997 Professor, NIPS. 2001 Professor, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (OIB).
Speciality: Biophysics, Electron Microscopy



助教授 村上 政隆
(生理学研究所より出向)

京都府立医科大学卒，医学博士。大阪医科大学助手，生理学研究所助教授を経て平成15年4月から現職。
専攻：分子生理学，外分泌腺分泌機構とエネルギー供給，傍細胞輸送。

Associate Professor (NIPS):
MURAKAMI, Masataka, MB, M.D.

1976 Graduated from Kyoto Prefectural University of Medicine. 1976 Research Associate, Osaka Medical College. 1981 Doctor of Medicine in Physiology of Osaka Medical College. 1983 Postdoctoral Fellow, Department of Physiology, University of Sydney. 1985 Associate Professor, NIPS. 2003 Associate Professor, OIB (Seconded from NIPS).
Speciality: Physiology of exocrine glands, Energy metabolism and transport of electrolyte and water, Paracellular Transport



助教授 瀬 藤 光 利

東京大学医学部卒，医学博士。東京大学医学部助手，さきがけ21研究者を経て平成15年11月から現職。
専攻：解剖学，細胞生物学，細胞内輸送，受容体動態，老化。

Associate Professor: SETOU, Mitsutoshi, MD, PhD
1994 Graduated from University of Tokyo, School of Medicine. 1998 Research Associate, University of Tokyo, School of Medicine. 2001 Doctor of Medicine in Cell biology and anatomy of University of Tokyo, School of Medicine. 2002 Principal Investigator of PRESTO, Japan Science and Technology Corporation. 2003 Associate Professor.
Speciality: Cell Biology and Anatomy, Intracellular transport, Receptor dynamics, Aging



外国人研究職員

KUVICHKIN, Vasily

1976 ロストフ・ドン大学生物物理学部修士修了，1991 Ph.D.USSR科学アカデミー生物物理研究所，応用微生物学研究所研究責任者，Pushchino 大学物理学科上級講師，ロシア科学アカデミー，理論実験生物研究所，細胞生物物理学研究所，主任研究員を経て平成18年4月から現職。
専攻：生物物理学。

Researcher from abroad: KUVICHKIN, Vasily, PhD

1976 Graduated from Rostov Don University, Faculty of Physics. 1991 completed Ph.D.. Institute of Biophysics of Academy of Sciences (USSR), Institute of Applied Microbiology, Sr. Lecturer of Physics Dpt., Agrobiotechnological College of Pushchino, Senior Staff Scientist, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Institute of Biophysics of Cell, Russian Academy of Sciences. 2006 Postdoctoral Fellow, NIPS
Speciality: Biophysics



助手 大橋 正人

京都大学理学部卒，同大学院修了，理学博士。ドイツ，ハイデルベルク大学研究員，生理学研究所助手を経て平成15年7月から現職。
専攻：細胞生物学。

Assistant Professor: OHASHI, Masato, PhD

1986 Graduated from Kyoto University, Faculty of Science. 1992 Completed the doctoral course in Science, Kyoto University. 1992 Postdoctoral Fellow, Department of Neurobiology, University of Heidelberg. 1996 Assistant Professor, NIPS. 2003 Assistant Professor, OIB.
Speciality: Cell Biology

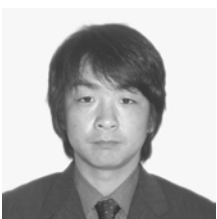


研究員 ダネフ ラドスチン

ソフィア大学(ブルガリア)物理学部卒，同大学修士課程修了，総合研究大学院大学生命科学研究科修了，理学博士。生理学研究所非常勤研究員を経て平成16年4月より現職。
専攻：電子線構造生物学。

Postdoctoral Fellow: DANEV, Radostin, PhD

1997 Graduated from Faculty of Physics, Sofia University, Sofia, Bulgaria. 2001 Completed the doctoral course in Science, The Graduate University for Advanced Studies, NIPS, Okazaki. 2001 Postdoctoral Fellow, NIPS. 2002 Research fellow, OIB.
Speciality: Solid State Physics, Electron Microscopy



専門研究職員 早坂 孝宏

芝浦工業大学システム工学部卒，同大学修士課程機械工学専攻修了，同大学博士課程機能制御システム専攻修了，工学博士。JST，三菱化学生命科学研究所を経て平成16年8月より現職。
専攻：生化学。

Postdoctoral Fellow: HAYASAKA, Takahiro, PhD

1997 Graduated from Shibaura Institute of Technology. 2003 Completed the doctoral course in Functional Control Systems. 2003 Postdoctoral Fellow, JST. 2004 Postdoctoral Fellow, Mitsubishi Kagaku Institute of Life Sciences. 2004 Postdoctoral Fellow, OIB.
Speciality: Biochemistry



専門研究職員 重松 秀樹

東京工業大学生理工学部卒，東京工業大学大学院生命理工学研究科修了，博士(工学)。工業技術院，キリンビール(株)，科学技術振興機構，東京工業大学を経て平成17年1月より現職。

専攻：生物工学，タンパク質工学。

Postdoctoral Fellow: SHIGEMATSU, Hideki, PhD

1994 Graduated from Tokyo Institute of Technology. 1999 Completed the doctoral course in Biotechnology, Tokyo Institute of Technology. 1999 Postdoctoral Fellow, NIBH, 2000 Postdoctoral Fellow, Kirin Brewery Co., Ltd., 2002 Postdoctoral Fellow, JST, 2003 Research Associate, Tokyo Institute of Technology, 2005 Postdoctoral Fellow, OIB.

Speciality: Bioengineering, Protein Engineering



研究員 安田 浩史

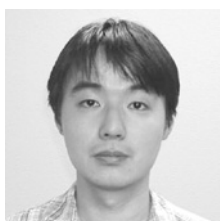
茨城大学理学部卒，同大学院理工学研究科修了，理学博士。高エネルギー加速器研究機構素粒子原子核研究所理論部協力研究員を経て平成17年2月より現職。

専攻：理論物理学，場の量子論。

Postdoctoral Fellow: YASUTA, Hirofumi, PhD

1992 Graduated from Faculty of Physics, Ibaraki University. 1999 Completed the doctoral course in Science and Engineering, Ibaraki University. 2000 Postdoctoral Fellow, Theory Division, Institute of Particle and Nuclear Studies, High Energy Accelerator Research Organization. 2005 Postdoctoral Fellow, OIB.

Speciality: Theoretical Physics, Quantum Field Theory



研究員 新田 浩二

埼玉大学理学部卒，同大学院理工学研究科修了，学術博士。平成17年4月より現職。

専攻：植物細胞生物学。

Postdoctoral Fellow: NITTA, Koji, PhD

2000 Graduated from University of Saitama, Faculty of Science. 2005 Completed the doctoral course in Science and Engineering, University of Saitama. 2005 Postdoctoral Fellow, OIB.

Speciality: Plant Cell Biology

研究内容

新しい学問領域は，新しい方法論の発見・発明によりスタートすることが多い。例えば，現在医学の診断に幅広く使われている磁気共鳴イメージングは，もともと分光装置として誕生した磁気共鳴(NMR)から生まれ，近年は機能イメージングとして脳研究にまで利用されている。

このように，各学問分野の急速な発展の裏には新しい方法論の発見がある。その方法論が，新しい分野を生み出すきっかけを与え，それがまた新しい方法論を次々に生む。こうした革新的

方法論を戦略的方法論と呼ぶ。

統合バイオサイエンスという新しい学際領域は，領域間の単なる和では確立し得ない困難さを持っている。そこで，領域全体を引っ張る新しい方法論のブレークスルーが必要となる。すなわち，従来の方法では見えなかった1分子レベルの3次元構造解析，分子レベルの機能の入出力解析，細胞系のその場の機能観測などを可能にする戦略的方法論が期待されている。

具体的には，以下の研究を行っている。

- (1) 電子位相顕微鏡の開発と応用—「電磁波・物質波の位相と振幅の観測」を可能とする電子位相顕微鏡(位相差法，微分干渉法，複素観測法)を応用し，蛋白質や細胞骨格などの *in vitro* 立体構造解析と *in vivo* 構造生物学を行う。特に“生”状態生体系の高分解能観察を行うため光顕と電顕の有機的統合手法を開発している。
- (2) 物質輸送研究 I—水，イオン，基質の経細胞及び傍細胞輸送機構，開口分泌の分子機構とエネルギー供給の分子機構の研究を行う。
- (3) 質量顕微鏡を開発，神経伝達物質受容体および内分泌受容体の細胞内輸送制御の観点から個体の老化制御の研究を行っている。
- (4) 物質輸送研究 II—エンドサイトーシスはゴルジ体への外向き輸送とリソソームへの内向き輸送間の選別装置として働き，細胞内膜系の分子の運命を決定する。このエンドサイトーシス経路をめぐる細胞内膜系の選別輸送の分子機構および細胞のシグナル伝達，極性形成などにおける役割を研究する。

Research works

A novel methodology, when it is very informative, gives an aid to the opening of a novel scientific field. For example, MRI originally born from NMR in chemistry and primarily developed for diagnosis has outgrown to cover almost all medical sciences. We call such a productive innovation, emerged from an old regime but creative to a new field, as a strategic methodology. Integration of biosciences might bring about such a difficulty that a simple sum of constituent disciplines never makes a good start. Fusion of different disciplines can be encouraged by novel breakthroughs in methodology. The expected are new methods for three-dimensional structural analysis of single biological molecules and the *in situ* functional observation of complex biological systems.

This laboratory works on above methodological themes by relying on the technical breakthrough of imaging methods such as electron microscopy.

- (1) Development and application of phase-contrast electron microscopy: Different kinds of phase observation schemes have been developed including the novel optical principle for the reconstruction

of complex wavefunctions. They are expected to enhance the contrast of biological samples which is inherently very poor in electron microscopy.

Applications are:

- 1) direct visualization of protein molecules or cytoskeltons in the *in vivo* state of cells and tissues,
 - 2) structural and functional analyses of membrane proteins and viruses with the aid of single particle analysis.
- (2) Biological transports: Transcellular and paracellular mechanisms for transport of water, electrolytes, and substrates are investigated by laying much emphasis on molecular mechanism of exocytosis and energy supply for transport in the exocrine glands.

- (3) Aging process is, at least partially, regulated by the intracellular transport of neurotransmitter receptors and hormone receptors. We investigate the mechanism of receptor traffic especially via posttranslational modifications. Toward this goal, we developed mass microscope to visualize posttranslational modifications, and identified several novel enzymes for posttranslational modifications.
- (4) Sorting in the endocytic pathway: The endocytic pathway functions as a sorting station for molecules that are destined either for lysosomes (a degradative pathway) or for recycling pathways, thereby determining the fate of endomembrane molecules. The physiological roles and the mechanisms of sorting in the endocytic pathway are investigated.

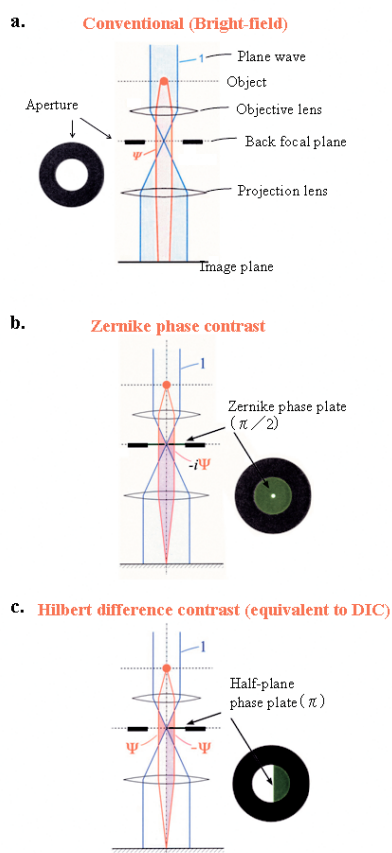


図1. 電子位相顕微鏡法の3種。

- a. 焦点はずし(デフォーカス)を導入し、分解能を犠牲にしてコントラストを向上する通常法(明視野法)。
- b. ゼルニケ(Zernike)位相版($\pi/2$ シフト)を対物レンズ後焦点面に挿入し、正焦点で高コントラストを回復する Zernike 位相差法。
- c. 半円位相版(π シフト)を後焦点面に挿入し、微分干渉光学顕微鏡と同じような地形図的位相像を得るヒルベルト(Hilbert)微分法。

Fig. 1 Three kinds of schemes for electron-phase microscopy.

- a. Conventional (bright-field) method to enhance the image contrast at the expense of a deenhancement of the spatial resolution by defocusing.
- b. Zernike phase contrast method to enhance the image contrast under the just focus condition by inserting a Zernike phase plate to the objective back-focal plane.
- c. Hilbert differential method to obtain phase contrast images similar to light-microscopic DIC (Differential-Interference-Contrast) images by inserting a half-plane π phase plate to the objective back-focal plane.

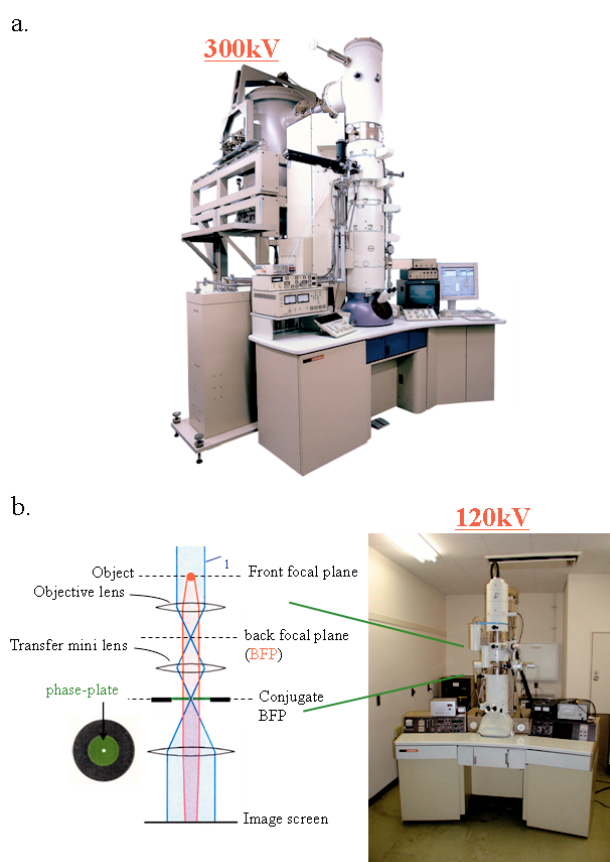


図2. 2つの位相差電子顕微鏡装置。

- a. 300kV 分析型極低温電子顕微鏡(FEG, He-ステージおよび ω -フィルター搭載)に位相板を挿入。
- b. 120kV 電頭をモデルチェンジし、対物レンズ後方にトランスファーダブレットを付加することで位相板の加熱や精密位置決めを容易にした位相差専用機。

Fig. 2 Two kinds of phase-contrast electron microscope models.

- a. 300kV analytical cryo-electron microscope (equipped with a FEG, a He-stage and a ω -filter) equipping phase plates at the back-focal plane.
- b. 120kV TEM particularized to the phase contrast observation by furnishing a lens system immediately below the objective and facilitating heating and precise positioning of phase plates.

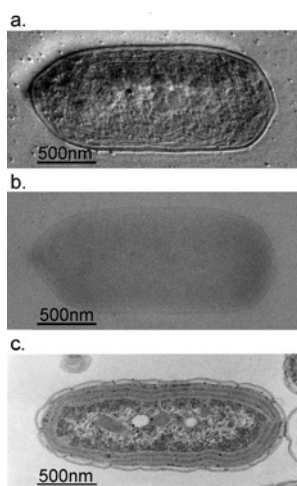


Fig. 3 Comparison of 300kV and 100kV TEM images for ice-embedded and plastic-embedded cyanobacterial cells.

- A 300kV Hilbert differential image for an ice-embedded cyanobacterial whole cell, which holds a resolution sufficient for the identification of subcellular structures down to 2.5nm.
- A 300kV conventional image shot for just the same sample as shown in a., of which low contrast makes it difficult to identify subcellular structures.
- A 100kV conventional image for a plastic-embedded and thin-sectioned cyanobacterial cell, which was prepared with a chemical fixation, dehydration and a heavy metal staining. Due to the harsh and lengthy chemical treatments, subcellular structures are heavily damaged making their morphological preservation hard.

図 3. シアノバクテリアの 300kV 全細胞氷包埋像と 100kV プラスチック包埋切片像。

- Hilbert 微分法で観察したシアノバクテリア 300kV 氷包埋像。無染色にもかかわらず細胞内構造が 2.5nm の分解能で見える。
- 通常法で同一サンプルを観察したときのシアノバクテリア 300kV 氷包埋像。コントラストが低いため内部構造を特定できない。
- 固定、脱水、プラスチック包埋、電子染色して得たシアノバクテリアの 100kV 切片像。化学的処理は時間がかかり(～数日)、かつ細胞内構造を破壊する。従って切片像では 10nm 以下の微細構造を議論するのが困難である。

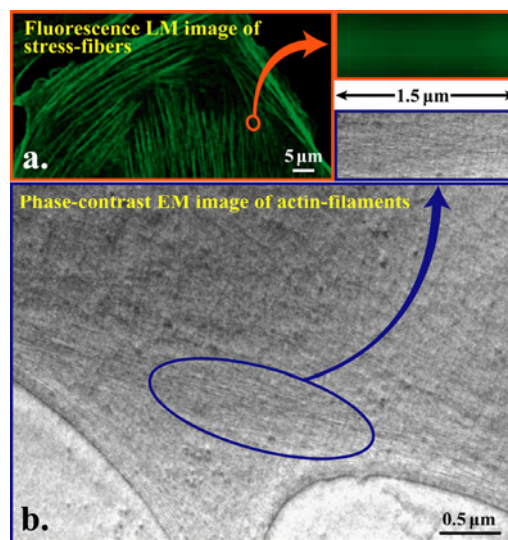


図4. 細胞 (PtK2) 内のアクチン繊維の光顕と電顕の解像度比較。

- ファロイジンで染色したストレスファイバーの蛍光顕像。
- ストレスファイバー内のアクチン繊維を解像する 300kV ヒルベルト微分像。

Fig. 4 Comparison of image resolving power between fluorescence light microscope and phase-contrast electron microscope for actin filaments.

- Fluorescence microscopic image of phalloidin stained stress fibers.
- Hilbert differential TEM image (300kV) of actin filaments, of which bundles correspond to stress fibers Show in a.

生命環境研究領域(細胞生理) Department of Bio-Environmental Science (Section of Cell Signaling)

職員 (Staff)



教授 富永真琴

愛媛大学医学部卒, 京都大学大学院医学研究科博士課程修了, 博士(医学)。生理学研究所助手, カリフォルニア大学サンフランシスコ校博士研究員, 筑波大学講師, 三重大学教授を経て平成16年5月から現職。
専攻: 分子細胞生理学。

Professor: TOMINAGA, Makoto, MD, PhD

1984 Graduated from Ehime University, Faculty of Medicine. 1992 Graduated from Kyoto University Graduate School of Medicine. 1993-1999 Assistant Professor, National Institute for Physiological Sciences. 1996-1999 Research Fellow, University of California at San Francisco. 1999-2000 Assistant Professor, University of Tsukuba. 2000-2004 Professor, Mie University School of Medicine. 2004 Professor, Okazaki Institute for Integrative Bioscience.

Specialty: Cellular and Molecular Physiology



助教授 富永知子

愛媛大学医学部卒。三井記念病院内科研修医, 京都大学医学部内分泌内科・医員, 研究生を経て, 学位取得(医学博士, 京都大学)。生理学研究所助手, カリフォルニア大学サンフランシスコ校博士研究員, 獨協医科大学助教授, 三重大学講師を経て平成16年6月から現職。
専攻: 分子細胞生物学, 生化学。

Associate Professor: TOMINAGA, Tomoko, MD, PhD

1984 Graduated from Ehime University, Faculty of Medicine. 1984-1986 Resident, Internal Medicine, Mistui-Memorial Hospital, 1988-1993 Research Fellow, Kyoto University. 1993-1995 Research Fellow, National Institute for Basic Sciences and National Institute for Physiological Sciences. 1995 Assistant Professor, National Institute for Physiological Sciences. 1996-1999 Research Fellow, University of California at San Francisco. 1999-2000 Associate Professor, Dokkyo University School of Medicine. 2003-2004 Assistant Professor, Mie University School of Medicine. 2004 Associate Professor, Okazaki Institute for Integrative Bioscience.

Specialty: Cellular and Molecular Biology



助手 柴崎貢志

宇都宮大学農学部卒, 九州大学大学院農学研究科修了, 総合研究大学院大学生命科学研究科修了, 博士(理学), 米国ロチェスター大学博士研究員を経て, 平成16年9月より現職。
専攻: 分子神経生物学

Assistant Professor: SHIBASAKI, Koji, PhD.

1996 Graduated from Utsunomiya University, Faculty of Agriculture.
2001 Graduated from The Graduated University for Advanced Studies,

School of Life Science, 2001-2002 Research Associate, National Institute for Physiological Sciences. 2002-2004 Research Fellow, University of Rochester School of Medicine. 2004 Assistant Professor, Okazaki Institute for Integrative Bioscience.

Specialty: Cellular and Molecular Neurobiology



特任助手 稲田 仁

九州大学理学部卒, 九州大学大学院理学研究科修了, 博士(理学)。九州大学博士研究員, 名古屋大学博士研究員, 岡崎統合バイオサイエンスセンター非常勤研究員を経て平成18年4月から現職。
専攻: 分子神経生物学, 行動遺伝学。

Research Associate: INADA, Hitoshi, PhD

1998 Graduated from Kyushu University Graduate School of Science. 1998-1999 Postdoctoral Fellow, Kyushu University. 1999-2005 Postdoctoral Fellow, Nagoya University. 2005 Research Fellow, Okazaki Institute for Integrative Bioscience. 2006 Research Associate, Okazaki Institute for Integrative Bioscience.

Specialty: Molecular Neurobiology, Behavioral Genetics



研究員 曾我部 隆 彰

姫路工業大学(現兵庫県立大学)理学部卒, 東京大学大学院医学系研究科博士課程修了, 博士(医学)。東京大学学術研究支援員を経て平成17年4月から現職。
専攻: 分子細胞生物学。

Postdoctoral Fellow: SOKABE, Takaaki, PhD

1998 Graduated from Himeji Institute of Technology, Faculty of Science. 2004 Graduated from University of Tokyo Graduate School of Medicine. 2004-2005 Research Fellow, University of Tokyo Graduate School of Medicine. 2005 Research Fellow, Okazaki Institute for Integrative Bioscience. 2006 Research Associate, Okazaki Institute for Integrative Bioscience.

Specialty: Cellular and Molecular Biology



研究員 富 樫 和 也

東京理科大学理学部卒, 総合研究大学院大学生命科学研究科修了, 博士(理学)。平成18年4月から現職。
専攻: 分子細胞生理学。

Postdoctoral Fellow: TOGASHI, Kazuya, PhD

2001 Graduated from Tokyo University of Science, Faculty of Science. 2006 Graduated from The Graduated University for Advanced Studies, School of Life Science. 2006 Research Fellow, Okazaki Institute for Integrative Bioscience.

Specialty: Cellular and Molecular Physiology

研究内容

分子細胞生物学的, 生化学的, 発生工学的, 電気生理学的手法を用いて TRP チャンネルを中心として温度受容・痛み刺激受容の分子機構の解明を行っている。また哺乳動物細胞での細胞接着と細胞運動に関わる情報伝達経路, イオンチャンネルの解析を行っている。

(1) 温度受容の分子機構の解明に関する研究: 既知の温度受容体の異所性発現系を用いた解析, 変異体等を用いた構造機能解析, 感覚神経細胞等を用いた電気生理学的な機能解析, 組織での発現解析, 遺伝子欠損マウスを用いた行動解析を通して温度受容機構の全容解明を目指している。新規温度受容体の探索も進めている。

(2) 痛み刺激受容の分子機構の解明に関する研究: 主に感覚神経細胞, 異所性発現系を用いて感覚神経終末における侵害刺激受容の分子機構を明らかにする。この研究には, 遺伝子欠損マウスの行動薬理学的解析も行う。

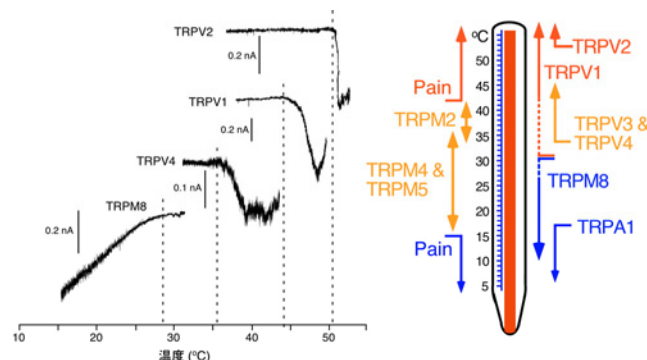
(3) 細胞接着と細胞運動に関わる情報伝達機構の解明に関する研究: 哺乳動物細胞での Rho ファミリー蛋白質の下流の細胞接着・運動に関わる情報伝達経路の解析を分子細胞生物学的, 生化学的手法を用いて進めている。我々が見いだした新規情報伝達物質 DIP/WISH の遺伝子改変動物の解析を上皮細胞, 血球細胞, 神経細胞で行っている。

Research works

We mainly investigate molecular mechanisms of thermosensation and nociception by focusing on TRP ion channels. We also investigate signal transductions and channels involved in cell adhesion and cell movement in mammalian cells. Molecular cell biological, biochemical, developmental biological and electrophysiological techniques are utilized to achieve the above objectives. The followings are major projects in progress.

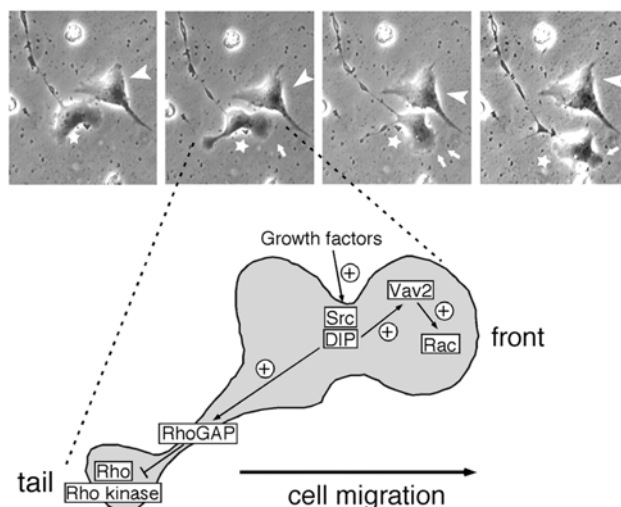
- (1) Molecular mechanisms of thermosensation: Temperature sensing ability is conferred by ion channels of the TRPV, TRPM and TRPA families. We try to clarify the molecular mechanisms of thermosensation by focusing on those thermosensitive TRP channels. We are also doing behavioral analyses of mice lacking TRPV3, TRPV4 or TRPM2. Furthermore, we are trying to isolate a novel thermosensitive TRP channels.
- (2) Molecular mechanisms of nociception: Capsaicin receptor TRPV1 and TRPA1 are ion channels activated by different noxious stimuli. We try to clarify the nociceptive mechanisms at peripheral nerve endings by focusing on TRP ion channels, especially TRPV1 and TRPA1. We are also doing behavioral analyses of TRPV1-deficient mice.

- (3) Signaling mechanisms involved in cell adhesion and cell motility: We try to understand underlying mechanisms for cell adhesion and cell motility by focusing on signal transduction cascades involving Rho family proteins and its related proteins using cell biological and biochemical techniques. We are also analyzing the function of newly identified Rho family-related protein, DIP/WISH in epithelium, blood cells and brain using mice lacking DIP/WISH.



[哺乳類の温度感受性 TRP チャンネルの活性化温度閾値(右)と温度活性化電流記録]

カプサイシン受容体 TRPV1 は約 43 度以上, TRPV2 は約 52 度以上, TRPV4 は約 36 度以上, メントール受容体 TRPM8 は約 28 度以下で活性化される。



[細胞運動における DIP/WISH の役割]

上段は, EGF 刺激による線維芽細胞の経時的変化を示す。正常細胞(☆)はダイナミックに運動しているが, DIP/WISH (mDia and N-WASP Interacting Protein) の dominant negative 体を発現させた細胞(矢頭)は全く動かない。矢印は front の membrane ruffling を示す。下段は, 細胞運動時における DIP の役割を模式化したものである。