

【 その他のセミナー 】

山手イブニングセミナー

1. 演題：Structural and Functional Properties of Nitric Oxide Synthase
日時：2005 年 10 月 18 日
演者：Prof. Denis L. Rousseau, Ph.D. (Professor and University Chairman Department of Physiology and Biophysics)
2. 演題：温度感受性 TRP チャネルー構造・発現・機能と生理学的意義
日時：2006 年 1 月 17 日
演者：富永 真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命環境研究領域）

プロテオミクスセミナー

1. 演題：ディフェレンシャルディスプレイ 2D-DIGE システムと細胞蛍光イメージング装置 IN Cell Analyzer の紹介
を用いた複合プロテオーム解析
日時：2005 年 4 月 27 日
演者：Amersham Biosciences 社（現 GE ヘルスケアバイオサイエンス社）
内容：2D-DIGE システムの紹介を中心に開催した。このシステムでは、比較したい 2 つのサンプルを、異なる蛍光色素でラベルし、1 枚のゲルで 2 次元電気泳動を行うことで、容易に 2 のサンプル間で発現量の異なるタンパク質を同定することが可能となった。またサーモエレクトロン社製マスマススペクトルとアマシャム社製液体クロマトグラフィーシステムを組み合わせた LC/MS/MS システムである Ettan MDLC, そのマスマススペクトル解析で同定されたタンパク質の細胞内挙動を統計的に検討するための蛍光イメージング装置 IN Cell Analyzer の紹介も行われた。
2. 演題：“Zoom In” 手法を用いた二次元電気泳動によるタンパク質分離分析（Multiplexed Proteomics）
日時：2005 年 6 月 8 日
演者：Invitrogen 社
内容：Invitrogen 社は、2 次元電気泳動からタンパク質の蛍光染色までの技術をトータルに提供しており、特にミニゲルを用いた 2 次元電気泳動 ZOOM システムは、従来の方法よりも大幅な時間短縮が実現され、約 1 日半でタンパク質スポットの検出が可能である。また現在、広く用いられているタンパク質スポット検出用の蛍光試薬 SYPRO Ruby や、リン酸化タンパク質のみを染色する ProQ Diamond など各種タンパク質蛍光検出試薬の紹介もなされた。
3. 演題：MALDI-TOF/MS および LC/MS におけるプロテオミクス解析
日時：2005 年 7 月 14 日
演者：Bruker Daltonics 社
内容：今回よりマスマススペクトロメトリーシステム（質量分析計）のメーカーにセミナーを依頼した。Bruker Daltonics 社は、分析室に 1 台設置されている MALDI/TOF-MS のメーカーで、セミナーの前半に、その MALDI/TOF-MS を利用して、どこまで何を明らかに出来るのか、という具体的なアプリケーションの解説、後半に液体クロマトグラフィー(LC)を組み合わせた最新の LC/MS システムの紹介が行われた。

4. 演題：プロテオーム解析における質量分析法 ―蛋白質の機能解析を目指して―
日時：2005 年 7 月 27 日
演者：島津製作所
内容：今回のセミナーでは、イオン化原理やハードウェアの構造などのマスペクトル解析のきわめて基本的な解説が前半で行われた。その後、島津製作所が提供している最新のプロテオーム解析技術について、MALDI/TOF-MS および最新液体クロマトグラフィーを組み合わせた LC/MS を中心に紹介が行われた。
5. 演題：バイオマーカー探索・翻訳後修飾解析に向けた新プロテオミクスソリューションの提案
日時：2005 年 9 月 22 日
演者：ABI (アプライドバイオシステムズ) 社
内容：前回まで中心であった MALDI 方式のイオン化方法とは異なる ESI 方式によるイオン化を利用した LC/MS (液体クロマトグラフィーとマスペクトルを組み合わせたシステム) が解説された。リン酸化などの翻訳後修飾の解析を目的としたアプリケーションも併せて紹介された。また、二次元電気泳動を用いず、マスペクトル解析のみで、2 サンプル間で発現量の異なるタンパク質を同定することが出来る「ICAT」試薬や「iTRAQ」試薬の解説も行われた。
6. 演題：AKTA システムによるタンパク質精製の原理と実技
日時：2005 年 9 月 27 日
演者：Amersham Biosciences 社 (現 GE ヘルスケアバイオサイエンス社)
内容：サテライトセミナーとして、タンパク質分析・精製に利用する液体クロマトグラフィーである Amersham 社製 AKTA システムのセミナーおよび講習会を開催した。午前中、クロマトグラフィーの原理、アプリケーションの紹介をセミナー形式で行ってもらい、午後から生理研に共通機器として導入済みの AKTAexplorer10XT を使って実際に、抗体精製や各種融合タンパク質精製のデモンストレーションを行った。
7. 演題：プロテオミクス解析のための LC/MS 最新技術セミナー
日時：2005 年 10 月 24 日
演者：AMR 社および Thermo 社共催
内容：今回は予め岡崎 3 研究所から公募したサンプルを AMR 社/Thermo 社に送り、その解析結果と共に、バイオサイエンス分野における LC/MS システムの応用技術が紹介された。特に MS 解析で優れた結果を出すために必要な、タンパク質サンプル調製について詳細な解説が行われた。
8. 演題：新型 NanoLC-LIT-TOFMS によるプロテオーム解析のご紹介
日時：2005 年 11 月 15 日
演者：日立ハイテク社
内容：今回は日立ハイテク社により、イオントラップ型 TOF マスペクトロメトリーシステムという、これまでとは異なる最新機種の紹介が行われた。日立ハイテク社は、ハードウェアからソフトウェアまでを一から開発しており、その経験を踏まえて、現在の MS 解析技術の特徴と問題点を説明してもらった。説明は、実際に開発に携わった担当者によるもので、実際の開発現場の話を直接、聞くことが出来た。

9. 演題：ウォーターズ UPLC/MS セミナー

日時：2005 年 11 月 22 日

演者：Waters 社

内容：前半は LC/MS（旧 Micromass 社）に関する解説を，後半は詳細な液体クロマトグラフィー（LC）システムに関する解説が行われた。さらにプロテオーム解析と関連し，代謝産物の網羅的解析手法である「メタボローム解析」についての解説も行われた。

合同セミナー

1. 演題：Imaging synaptic inhibition with Clomeleon, a genetically encoded chloride indicator

日時：2006 年 2 月 23 日

演者：George J. Augustine (Department of Neurobiology, Duke University Medical Center, USA)

内容：Clomeleon is a genetically encoded indicator that uses FRET to provide an absolute measure of the internal Cl^- concentration ($[\text{Cl}]_i$). We have developed transgenic mice with Clomeleon expression targeted selectively to neurons by employing a neuron-specific promoter, *Thy1*. This transgene was introduced into several lines of transgenic mice, each of which express Clomeleon in specific subsets of neurons.

The ability of Clomeleon to report changes in $[\text{Cl}]_i$ associated with phasic synaptic activity was tested in vitro by preparing acute slices from the brains of these transgenic mice. $[\text{Cl}]_i$ was imaged in brain slices from the cerebellum, amygdala and hippocampus of 14–20-day-old mice. In all of these regions, synaptic activation caused detectable rises in $[\text{Cl}]_i$, although relatively large inhibitory events are required to produce an adequate signal/noise. These results indicate that Clomeleon can report changes in $[\text{Cl}]_i$ associated with phasic synaptic inhibition. We also used Clomeleon to examine the properties of tonic inhibition of cerebellar granule cells. Application of the GABA_A receptor antagonists reduced resting $[\text{Cl}]_i$ in these cells, due to blockade of tonic activation of GABA_A receptors. Cl^- imaging allowed us to examine the spatial distribution of tonic inhibition in the cerebellum. GABA_A antagonists decreased $[\text{Cl}]_i$ in the molecular layer, where granule cell axons (parallel fibers) reside, and also in some mossy fiber terminals. These results indicate that Clomeleon can be used to image tonic release of GABA and that this release causes tonic inhibition at several loci within the cerebellar cortex. In summary, Clomeleon permits imaging of both phasic and tonic inhibition of central neurons in vitro. This ability should enable imaging of the spatiotemporal dynamics of inhibitory circuits in the brain.

主な論文

1. Duebel J, Haverkamp S, Schleich W, Feng G, Augustine GJ, Kuner T, Euler T. (2006) Two-photon imaging reveals somatodendritic chloride gradient in retinal ON-type bipolar cells expressing the biosensor Clomeleon. *Neuron*. 49:81-94.
2. Gitler, D., Y. Xu, H-T. Kao, D. Lin, S. Lim, J. Feng, P. Greengard, and G.J. Augustine (2004) Molecular determinants of synapsin targeting to presynaptic terminals. *J. Neurosci.* 24:3711-3720.
3. Nishiki T, Augustine GJ (2004) Synaptotagmin I synchronizes transmitter release in mouse hippocampal neurons. *J Neurosci* 24:6127-6132.
4. Kuner, T. & G.J. Augustine (2000) A genetically encoded ratiometric indicator for chloride: capturing chloride transients in cultured hippocampal neurons. *Neuron* 22: 447-459.
5. Miyata, M., E.A. Finch, L. Khiroug, K. Hashimoto, S. Hayasaka, S.-I. Oda, M. Inouye, Y. Takagishi, G.J. Augustine & M. Kano (2000) Local calcium release in dendritic spines required for long-term synaptic depression. *Neuron* 28: 233-244.

(担当：鍋倉淳一)

2. 演題：脳の情報表現を Cell Assembly と Brain-Machine Interface から観る

日時：2006 年 3 月 22 日

演者：櫻井 芳雄（京都大学大学院文学研究科 心理学研究室）

内容：脳の柔軟な情報表現は、協調的に活動するニューロン集団，すなわち Cell Assembly が実現している。その実態をとらえるには，課題遂行中の動物から長期間にわたりマルチニューロン活動を記録し，近接したニューロン間の同期活動も含め解析する必要がある。今回はその最新の記録法と解析法について解説し，これまで得られた実験結果を紹介する。また，マルチニューロン活動が表す Cell Assembly が確かに情報そのものであり，課題に応じて可塑的に変わることを構成的手法により確かめる方法が Brain-Machine Interface である。その方法と現在の研究プロジェクト，及び予備的な結果についても紹介する。

(担当：小松英彦)