

セミナー報告

1. カルモジュリンによる電位依存性 Ca^{2+} チャンネルの両極性フィードバック制御の分子機構

森 誠之 (Johns Hopkins 大学 バイオメディカルエンジニアリング学部 研究員)

(2006.4.5)

電位依存性 Ca^{2+} チャンネルのカルシウム依存的フィードバック制御がカルシウム結合蛋白質“カルモジュリン (CaM)”の直接相互作用によって成されていることが明らかになってきた。ここで、CaM は L 型 Ca^{2+} チャンネルに対してはネガティブフィードバック、逆に P/Q 型 Ca^{2+} チャンネルに対してはポジティブフィードバックの方向に働

くことが知られているが、それらの分子機構についてはまだ良く分かっていない。そこでこれら両極的な機能を比較することで、鍵となる分子機構を見出したい考えた。グリシンリンカーを用いたエンジニア Ca^{2+} チャンネルや、FRET などの実験から得られた予備的な結果を紹介したい。(担当：井本敬二)

2. A Surprise Theory of Attention

Laurent Itti (Assistant Professor of Computer Science, University of Southern California)

(2006.4.12)

The concept of surprise is central to sensory processing, adaptation and learning, attention, and decision making. Yet, no widely-accepted mathematical theory currently exists to quantitatively characterize surprise elicited by a stimulus or event, for observers that range from single neurons to complex natural or engineered systems. We describe a formal Bayesian definition of surprise that is the only consistent formulation under minimal axiomatic assumptions. Surprise quantifies how data affects a natural or artificial observer, by measuring the difference between posterior and prior beliefs

of the observer. Using this framework we measure the extent to which humans look towards surprising things while watching television and video games. We find that surprise is the strongest known attractor of human attention, with 72 percent of all human gaze shifts directed towards locations more surprising than on average, a figure which rises to 84 percent when considering only gaze targets simultaneously selected by four humans. The resulting theory of surprise is applicable across different modalities, datatypes, tasks, and abstraction levels.

(担当：伊佐 正, 吉田 正俊)

3. イノシトールリン脂質代謝異常による不随意運動の発現

佐々木雄彦 (秋田大学医学部・病理病態医学講座・感染制御学分野)

(2006.4.20)

ホスファチジルイノシトールは、細胞膜系を構成する微量リン脂質である。ホスファチジルイノシトールのイノシトール環が、その 3, 4, 5 位水酸基に可逆的なリン酸化を受ける結果、7 種類のイノシトールリン脂質 (PIs) が生成される。これらは、脂質性シグナル分子として個々に固有の機能を持ち、多様な細胞応答を制御する。我々

はこれまでに、PI3K, PTEN, SHIP, PIPKI などの PIs 代謝酵素の欠損マウスを用いて、これらの酵素の欠損が、発がんや免疫機能異常など、多様な病態へとつながることを見出した。また、PIs 可視化マウス (PIs 結合モジュールと GFP の融合タンパク質を発現するトランスジェニックマウス) の利用によって、PIs 局在化の機構と生理的

意義を検討している。今回のセミナーでは、L-PI3K (leucine-rich phosphoinositide phosphatase) の欠損マウス

が呈する不随意運動と病態の発現メカニズムに関して、最近の知見を発表する。

(担当：初山 俊彦)

4. 初期視覚系における輪郭線の表現の神経メカニズム

伊藤南 (感覚認知情報部門)

(2006.4.25)

私たちが物体を認知するに際して、物体の輪郭線の形状は重要な手がかりの一つとなります。では我々の脳はどのようにして輪郭線の形状を表現するのでしょうか？ 大脳皮質視覚野の中でも腹側視覚路が物体認知の神経メカニズムを担うと考えられています。腹側視覚路の最終段に位置する下側頭葉 TE 野のニューロンは輪郭線の形状を含む中程度に複雑な刺激特徴に対して選択的な反応を示すことが明らかにされています。一方、腹側視覚路の初期に位置する第一次視覚野のニューロンは小さな受容野内に呈示された線成分の傾きに選択的な反応を示すことが知られております。しかしながら、その中間部分においてこうした局所部分の刺激特徴の表現が物体全体の表現へとまとめ上げられていく様子についてはいまだあまりよく分かっていません。私たちは最も単純な組み合わせ刺激ということで折れ曲がり刺激に着目し、腹側視覚路における折れ曲がり刺激に対する選択性ならびにその形成の様子を明らかにすることで輪郭線表現の神経メカニズムを明らかにできるのではないかと考えました。

本日のセミナーではそのような考え方でここ数年続けております第一次視覚野ならびに第二次視覚野からの記録結果についてについてまとめてお話ししたいと思います。注視課題を遂行中のサルより単一細胞外記録を行いましたところ、第二次視覚野において多数の細胞が折れ曲がりに刺激に対する選択性を持つことが明らかになりました。最適な折れ曲がり刺激の半直線成分の両方または一方は個々の半直線に対する反応選択性のピークと一致しましたが、選択性自体は二本の直線成分の特異的な組み合わせに依存しており、単に各線成分に個別に反応しているものではないと考えられます。一方、個々の線成分に依らず折れ曲がりの角度や刺激の方向を表す細胞は見つかりませんでした。これらの結果より折れ曲がりの表現が各半直線成分による方位選択的な興奮性入力ないしは抑制性入力の特異的な組み合わせによっており、第二次視覚野が折れ曲がりの検出の初期段階を担うのではないかと考えています。

(担当：小野 勝彦)

5. Intermediate GABAergic neuron progenitors in the mouse neocortex

玉巻伸章 (熊本大学医学薬学研究部脳回路構造学分野)

(2006.5.1)

マウス大脳皮質は大きく分けて 2 種類の神経細胞で構成されています。一つは興奮性神経細胞であり他方は抑制性神経細胞です。大脳皮質の全ての抑制性神経細胞は GABA を伝達物質として使うので、大人の大脳皮質では GABA 神経細胞＝抑制性神経細胞といえます。最近、興奮性神経細胞の一部は、脳室帯ではなく、脳室下帯や、中間帯で作られていることが明らかになりました。そのような神経産生の前駆細胞のことを、神経細胞マーカーを発現していることから Intermediate neuron progenitor と

呼んでいます。では大脳皮質 GABA 神経細胞はどのような経過をたどって生み出されるのでしょうか。GABA 神経細胞の検出に役立つ GAD67-GFP knock-in mouse では、GABA の合成酵素 GAD67 のプロモーター活性に依存して GFP が発現し、脳の組織内で GFP の蛍光で検出することが出来ます。GABA 神経細胞の発生を追う目的で、マウス胎児の大脳皮質で GFP 陽性細胞を色々と調べてみると、中には分裂真っ最中の細胞や DNA を合成している細胞がいることが明らかとなりました。このよう

な細胞は Intermediate GABAergic neuron progenitor と呼ぶことを提唱しています。

Intermediate GABAergic neuron progenitor は全て, MAP2,

Tuj1 陽性ですが分裂能を持っています。また, 生後になっても脳室下帯に残存し, 刺激を与えると盛んに BrdU を取り込み増殖すると考えられます。

(担当: 鍋倉 淳一)

6. プレシナプス蛋白質 RIM1 α の翻訳後修飾による神経伝達物質放出の制御

瀬藤 光利 (岡崎統合バイオサイエンスセンター戦略的方法論(ナノ形態生理)部門)

(2006.5.11)

神経活動の制御において神経伝達物質放出の制御が重要である。プレシナプスの蛋白質 RIM1 α はアクティブゾーンを構成し, シナプス小胞の放出に関与していると考えられているが, その制御機構は明らかでない。今回, 我々は SAD1 キナーゼが RIM1 α を直接リン酸化し, グル

タミン酸の放出確率を制御すること(Neuron in press), さらに新規ユビキチンリガーゼが RIM1 α を直接ユビキチン化しプロテアソーム依存的に分解すること(投稿中)を見出したので, それら酵素のミュータントマウスの質量顕微鏡による解析を交えて紹介したい。

(担当: 小野 勝彦)

7. A Functional Role for Motor Cortical Oscillations

Stuart Baker (NewCastle 大学 Neuroscience センター助教授)

(2006.5.12)

Motor cortical recordings often show waves of oscillatory activity around 25Hz.

These synchronise with similar oscillations in contralateral muscles. Although much studied, until now there have been few plausible suggestions as to what their functional role might be.

In this seminar, I will examine certain pieces of

experimental data which do not fit with established ideas about these oscillations. From these, I will suggest a speculative hypothesis of what their functional role might be, namely to achieve a proprioceptive recalibration of the motor system.

I will then present some of our more recent data to support this.

(担当: 伊佐 正, 関 和彦)

8. Exploration of Mechanotransduction in Cells and Implications in Fundamental Cellular Functions : p130Cas Serves as a Direct Mechano-sensor in Force-initiated Src Signaling Through

Unfolding-dependent Substrate Priming

澤田 泰宏 (Department of Biological Sciences, Columbia University)

(2006.5.25)

物理的な力(メカニカルストレス)が, 循環器, 神経, 骨など多くの組織の発生や機能の制御に重要な役割を果たしていることが知られている。さらに, 癌の浸潤や転移において基質への接着が重要であることは, 癌細胞の

機能調節あるいは癌化自体における, メカニカルストレスに関わる生物学的現象の重要性を示唆する。近年の細胞のメカニカルストレス応答機構に関する研究により, 様々な細胞内シグナルがメカニカルストレスによって活

性化されることが明らかとなっている。しかし、細胞のメカニカルストレスの受容機構、すなわち細胞に負荷される物理信号が細胞内の（生）化学信号に変換される直接的なメカニズムについては、イオンチャネルの関与が知られているのみである。これまでに我々は、small GTPase の一つである Rap1 の活性化が細胞伸展による p38 MAP キナーゼの活性化に関わっていること（文献 1）、細胞骨格 (detergent-insoluble structure) 中に細胞伸展の受容機構があること（文献 2）、細胞骨格中のタンパクのチロシンリン酸化が細胞伸展による Rap1 の活性化に重要な役割を果たしていることを報告した（文献 3）。今回は

この研究をさらに進め、Src ファミリーキナーゼの基質である p130Cas のチロシンリン酸化が細胞伸展による Rap1 の活性化に重要であること、および細胞伸展による p130Cas のチロシンリン酸化の促進はその基質部分のコンフォメーションの変化を介していることを明らかにした。したがって、p130Cas は伸展という物理信号を（生）化学信号に変換する分子といえる。イオンチャネル以外のメカニカルストレス受容体としては最初の報告となる。さらに、本講演では、酵素反応の制御における基質の役割の重要性に関してもふれる。

(担当：岡村 康司)

9. Properties of C3-C4 Spinal Neurons during Voluntary Arm Movements in the Behaving Monkey

Steve I. Perlmuter (University of Washington, Dept. of Physiology & Biophysics

及び米国国立霊長類研究センター助教授)

(2006.5.31)

Evolution has given the primate a unique, direct pathway from the motor areas of the cerebral cortex to arm muscle motoneurons. This pathway conveys enormous control capability and has endowed the primate with a wide, flexible repertoire of movement. There are other, less direct, corticospinal pathways that contribute to this behavioral repertoire. Motor cortical areas have dense terminations in interneuronal fields throughout the cervical cord. What is the function of these projections? One descending pathway relays cortical signals disynaptically to motoneurons through short, premotor, propriospinal neurons in the C3-C4 segments. In

the cat, this pathway exerts significant control over forelimb reaching movements, and recent evidence suggests that it is also important in primates. We are recording the activity of interneurons in the C3-C4 segments of monkeys performing trained hand, arm, and neck movements to help elucidate the functional role of this propriospinal pathway in the primate. Our data provide insights into the organization of cortical control of movement and have implications for potential mechanisms of motor recovery following spinal cord injury.

(担当：伊佐 正, 関 和彦)

10. Activation of Potassium Channels (ポタシウムチャネルのトラフィックと活動の調節機構)

Min Li (Professor of Neuroscience and Physiology, Johns Hopkins University, Baltimore, USA)

(2006.6.19)

Potassium channels play a critical role in controlling membrane excitability. Using genetics analyses and chemical biology techniques, we have been investigating the signaling

processes that regulate channel expression and activities. The seminar will discuss special properties of new trafficking motifs and chemical probes targeted to potassium channels.

(担当：久保 義弘)

11. Molecular anatomy of synaptic contacts between nociceptive primary afferents and sensory neurons in the spinal dorsal horn

Antal Miklos (Professor and Chairman, Department of Anatomy,
Histology and Embryology Faculty of Medicine, University of Debrecen, Hungary)

(2006.6.21)

All vertebrate animals possess a sensory system that allows them to detect potentially tissue-damaging (or noxious) stimuli. The proper functioning of this system is essential to protect their bodies from tissue damage. Nerve impulses generated by noxious stimuli are conducted by C and A-delta (nociceptive) primary afferent fibers to the superficial spinal dorsal horn. Spinal neurons receive and process these signals, and in certain conditions transmit them to higher brain centers where nociceptive impulses generate pain. The seminar is going to focus on the first site of synaptic processing of pain-related signals, and intends to give an overview about the molecular anatomy of synaptic contacts between nociceptive

primary afferents and spinal sensory neurons. It will be shown that the molecular architecture of these synapses is highly complex that gives various possibilities for pre- and postsynaptic modulation. It will also be emphasized that in addition to being highly complex, the molecular organization of these synaptic contacts shows a high degree of activity evoked plasticity; e.g. enhanced activities of nociceptive primary afferents in certain pathologic conditions like chronic inflammation or nerve injury induce various changes in the molecular organization of these synapses that contribute to the development of central sensitization and chronic pain syndromes.

(担当：重本 隆一)

12. 淡蒼球内節の活動パターン—正常サルとパーキンソン病モデルサルを比較して—

橘 吉寿 (生理学研究所 統合生理研究系 生体システム研究部門)

(2006.6.22)

大脳基底核の主要な出力部である淡蒼球内節は、入力部である視床下核や線条体、あるいは中継核である淡蒼球外節と密な線維連絡を保っていることが、これまでの研究から明らかとなっています。今回のセミナーの前半では、正常サルの淡蒼球内節ニューロン活動が、視床下核からのグルタミン酸作動性の興奮性入力と、線条体および淡蒼球外節からの GABA 作動性の抑制性入力によって、巧妙に制

御されていることを明らかにした研究結果について発表します。また、後半では、パーキンソン病モデルサルの淡蒼球内節において、正常サルでは見られない *bursting* や *oscillation* といった異常な活動パターンが観察されたことを紹介し、パーキンソン病の病態生理について迫りたいと考えています。

(担当：小野 勝彦)

13. 脊髄一次求心性線維の投射路を規定する分子メカニズム

増田 知之 (福島県立医科大学 神経解剖・発生学講座)

(2006.7.7)

増田先生は、福島県立医科大学、神経解剖・発生学講座 (八木沼洋行教授) から共同研究で分子神経生理部門にこられます。増田先生は、脊髄神経節 (DRG) から脊髄方向へまた末梢方向へ軸索が伸長する分子メカニズム

を調べておられます。この研究は、筑波大学基礎医学系大学院で志賀 隆教授の下で始められ、現在も続けているものです。これまでに、DRG の axon がなぜ脊髄背側部から脊髄に進入するのかという問題に着目し、これが分

泌性シグナルおよび細胞表面分子によって制御されていることを明らかにされてきました。来所の機会にこれまでの研究成果を紹介していただきますので、お誘いあわせの上おいでください。

(セミナーは日本語で行われます)

Dr. Tomoyuki Masuda, an assistant professor of Department of Anatomy in Fukushima Medical University, has been studying mechanisms by which DRG axon

pathfinding is regulated, for nearly 10 years. He started this work under a guidance of Dr. Takashi Shiga, a professor of Tsukuba University. Dr. Masuda has elucidated that several secreting, cell surface and extracellular matrix molecules play roles of chemo- and contact-repulsion on DRG axons elongation to guide the axons to the dorsal spinal cord or to periphery. He comes to the Ikenaka's lab for collaboration and will have a seminar about his recent findings. Please come and enjoy his talk.

(担当：渡辺啓介, 小野勝彦)

14. Phasic cholinergic signaling in the neocortex

Allan Gullledge (Division of Cerebral Circuitry)

(2006.7.13)

Acetylcholine is a central neurotransmitter critical for cognitive function. We show that transient ACh receptor activation generates cell-type specific responses in neocortical neurons. In layer 5 pyramidal neurons, ACh acts via M1 muscarinic receptors, intracellular calcium release, and subsequent SK-type calcium-activated potassium channels to inhibit neuronal output. Pyramidal neurons in layer 3 were generally much less responsive to ACh, but substantial apamin-sensitive inhibitory responses occurred in deep layer 3 neurons of the visual cortex. Fast spiking (FS) nonpyramidal neurons in all cortical areas were non-responsive to ACh, even when exposed to very high agonist concentrations (5

mM). When applied to non-FS interneurons in layers 3 and 5, ACh generated mecamylamine-sensitive nicotinic responses (37% of cells tested), apamin-insensitive hyperpolarizing responses (10% of neurons), or no response at all (53% of cells). Responses in interneurons were similar across cortical layers and regions, but were correlated with cell physiology. Finally, ACh generated nicotinic responses in all layer 1 neurons tested. These data demonstrate that phasic cholinergic input can inhibit projection neurons throughout the cortex while sculpting intracortical processing, especially in superficial layers.

(担当：小野 勝彦)

15. Remodeling of the Atrium in Hypertension:

A Basis to Increased Susceptibility to Atrial Tachyarrhythmia?

Andrew F. James (University of Bristol, UK)

(2006.7.18)

The major research focus of our laboratory is cardiac electrophysiology and the basis to arrhythmia. Atrial fibrillation (AF), the most common arrhythmia (its incidence increasing with age), is associated with increased mortality. AF has many causes and its etiology is complex. Animal models, in which causes of AF are studied in isolation, have provided valuable insights into the mechanisms underlying

the disease. However, while hypertension is the most prevalent risk factor for AF, to date there have been no reports of atrial remodeling in any animal model of hypertension. We have examined the remodeling of the left atrium (LA) associated with hypertension, using spontaneously hypertensive rats (SHR) and their normotensive Wistar Kyoto control (WKY) at two ages; 12-weeks and 42-weeks. The incidence of LA

tachyarrhythmia (AT) following burst pacing in excised perfused whole hearts was increased in 42-week SHR compared with their age-matched WKY controls and compared with the 12-week SHR, demonstrating the development of a substrate for arrhythmia with age in hypertensive animals. This increased susceptibility to AT was not associated with changes in LA effective refractory period. On the other hand, whole-cell Ca^{2+} currents in isolated LA myocytes showed evidence of

remodeling. There was also evidence of LA structural remodeling in SHR: SHR LA was hypertrophied compared to WKY and showed evidence of fibrosis. In conclusion, this study provides the first evidence of atrial remodeling producing a substrate for AT in an animal model of hypertension. Our work on sex differences in ventricular repolarisation and drug-induced arrhythmia was also presented in this seminar.

(担当：岡田泰伸)

16. Towards a neural prosthesis for motor injury

Andrew Jackson (Dept of Physiology and Biophysics, University of Washington, Seattle USA)

(2006.7.24)

Our research uses small implantable electronic circuits (Neurochips) for neural recording and stimulation with the aim of building artificial connections to replace or augment nervous pathways lost through injury or disease. For example, activity recorded in the motor cortex could be used to control electrical stimulation of the spinal cord to restore function following spinal cord injury or stroke. In this talk I will discuss the development of our Neurochip technology, and describe a series of experiments designed to test the feasibility of this approach in primates. We used a Neurochip to record the activity of motor cortex cells and arm muscles during completely unrestrained movement and compared this to data collected using a conventional tracking task. We saw robust correlations between cells and muscles on a variety of time-scales over the repertoire of waking behaviour. The

range of correlation values was comparable during task performance, although many individual cells exhibited interesting differences across conditions. In a second experiment we investigated arm movements elicited by electrical stimulation of the cervical spinal cord in anaesthetised primates. We found that a full range of movements could be elicited at low thresholds from sites distributed throughout the cord. Often movements involved the synergistic activation of multiple muscles. We are currently using Neurochips to implement long-term artificial connections within the motor cortex and hope soon to extend this to artificial cortico-spinal connections. We propose that a prosthesis comprised of many such connections could help to restore motor function following injury.

(担当：伊佐 正)

17. Fast-spiking neocortical GABAergic interneurons in layer 2/3 mouse barrel cortex:

Molecular contributions to cell function

Ethan M. Goldberg (New York University School of Medicine)

(2006.7.27)

Abstract: Fast-spiking GABAergic interneurons (FS cells) are the most common subtype of neocortical GABAergic interneuron, and are so named for the striking ability to discharge sustained trains of thin action potentials at high frequency in a non-accommodating fashion. We show that the cellular neurophysiology of FS cells can be described by three

so-called “voltage regimes,” a subthreshold, near-threshold, and suprathreshold regime. The behavior of FS cells within each of these voltage regions is dominated by a different, and specific, type of potassium conductance. These conductances contribute to many aspects of FS cell physiology, including the maintenance of the resting membrane potential, input

resistance, action potential threshold, and suprathreshold firing properties of FS cells. In addition, some of the ion channels expressed at the FS cell soma are also present at the FS cell synapse, where these channels regulate the efficacy and dynamics of neurotransmitter release. It is interesting to

note the parallel between the diversity of neocortical interneurons and the molecular and biophysical diversity of potassium channels expressed in the brain. Our current work is aimed at a precise molecular identification of the channel proteins that underlie the potassium conductances in FS cells.

(担当：窪田 芳之)

18. 脳磁計 (MEG) を用いた高次視覚野のイメージング

野口 泰基 (感覚運動調節研究部門)

(2006.8.7)

脳磁計 (MEG) は磁場検出器を頭の表面に置き、脳の活動 (電気信号) が生み出す磁界を捉える技術です。細胞記録法や核磁気共鳴画像法 (fMRI) と同様に脳の神経活動を観察することができますが、特に (1) 非侵襲的な手法なので人間を被験体に出来る、(2) 時間分解能が高い (ms 単位)、という 2 つの利点を併せ持つことが特徴です。そのため他の動物ではなく「人間」において顕著

に見られるような日常的な心理現象、特にミリ秒単位の「時間」的变化を伴うような現象を扱うことを得意としてきました。ここでは「ブライミング効果」および「時間錯覚」という人間が持つ 2 つの心理現象に焦点を当て、それらの現象が脳内における視覚野の活動の時間的变化と密接に関わっていることを示した最近の研究をご紹介します。

(担当：小野 勝彦)

19. ゼブラフィッシュ分節時計における同期とノイズ耐性のメカニズム

Synchronized and noise-resistant oscillation in the somite segmentation clock of zebrafish

武田 洋幸 (東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻)

(2006.9.7)

複雑な構造を持つ私たちのからだは正しく作られるためには、多くの遺伝子が秩序だって、かつ正確に発現することが必須である。一方、遺伝子発現のタイミングは本来それほど正確なものではなく、生体内ではおおきなばらつきをもつことが明らかになりつつある。正確なからだづくりのためには、この“遺伝子発現のばらつき”の影響を積極的に排除する必要がある。今回我々は背骨の繰り返しパターンを作るために必要な分節時計の作動

原理の一端を、ゼブラフィッシュ胚を用いた胚操作実験と数学的シミュレーションにより明らかにした。特に、“遺伝子発現のばらつき”は、細胞を単位とする多数の小さな時計がノッチ・デルタと呼ばれる細胞表面で機能する分子を介して大きな集合体をつくることによって最小化され、からだの中で正確に時が刻まれていることを明らかにした。

(担当：東島眞一)

20. 脊椎動物における味覚受容の分子基盤

The molecular nature of taste reception in vertebrates

石丸 喜朗 (Duke University Medical Center)

(2006.9.14)

我々ヒトを含め動物は、食物の栄養価、毒性、塩含有量、酸度を味覚系を用いて評価している。口腔に取り込まれた味物質は、味蕾という組織に存在する“味覚受容体”で受容される。このシグナルは味神経を通じて最終的に脳へと到達し、味覚として認識される。最近我々は、

魚類における2種類の味覚受容体候補 T1R, T2R ファミリー、及び、哺乳類の酸味受容体候補 PKD1L3/PKD2L1 を同定した。これらの味覚受容体候補を中心として、ここ数年で急激に明らかになりつつある脊椎動物における味覚受容の分子機構に関する話をしたい。

(担当：富永真琴)

21. 体温維持が海馬神経活動に与える影響：温度センサー蛋白質による膜電位の制御

柴崎 貢志 (岡崎統合バイオサイエンスセンター助手)

(2006.9.21)

古典的な研究により、我々が体温を維持していることにより神経活動が室温条件下よりも活発になっていることが、温度条件を変化させた電気生理学的解析や脳波解析により明らかとされている。しかしながら、どのような分子メカニズムで体温を情報源とした神経活動上昇が起こるのかは全く未解明である。近年、様々な温度により活性化する温度センサー蛋白質として TRP チャンネルが同定された。現在までに9つの TRP チャンネルが温度センサーとして機能することが明らかとなっている(2つが熱刺激の受容, 2つが冷刺激の受容, 残りの5つが体温近傍の暖かさを受容)。最近、演者は体温近傍の温度により活性化する温度センサー蛋白質・TRPV4 が脳に広範

に存在すること、特に海馬において高発現が見られることを見いだした。TRPV4 はカルシウム透過性の高い非選択的陽イオンチャンネルである。ここに着目し、野生型、TRPV4 欠損型の海馬神経細胞を用いた電気生理学的解析を行い、体温によるチャンネルの活性化、陽イオンの流入、海馬神経細胞の静止膜電位の脱分極が引き起こされることを明らかとした。今回の昼食セミナーでは、TRPV4 の発現分布、神経細胞内局在、神経機能への影響に焦点をあててお話を進めたい。そして、我々が体温維持をすることにより神経細胞が興奮しやすい土台環境を作り出していることを考察したい。

(担当：小野 勝彦)

22. Axon-glia interactions and the control of myelination

Klaus-Armin Nave (Max-Planck-Institute of Experimental Medicine, Germany)

(2006.10.16)

Myelination of axons is a prerequisite for rapid impulse conduction in the nervous system and essential for normal motor and cognitive functions. In the peripheral nervous system, Schwann cells (SC) either engulf multiple small-caliber axons (Remak bundle), or single-out and spirally enwrap larger axons with a multi-lamellar myelin sheath. We have previously shown that axonal neuregulin-1 signaling to

glial cells that express ErbB receptors is a critical regulator of myelination and myelin sheath thickness in vivo. Mice with reduced NRG1 gene dosage are hypomyelinated, whereas transgenic mice with elevated NRG1 expression in DRG and motoneurons are hypermyelinated. In the PNS, NRG1 type III is the responsible isoform. Whether NRG1 serves a similar function in the myelination of axons in the central nervous

system is not known but of obvious clinical relevance. Also the molecular mechanisms downstream of ErbB receptor activation that initiate the spiral wrapping by SC are unknown. By targeting a null mutation of the PTEN gene to SC, we can demonstrate that the signaling lipid PtdIns (3,4,5) P3 (PIP3) induces myelin membrane outgrowth. In adult mice, elevated PIP3 activates Akt1 and causes hypermyelination as well as

myelin outfoldings that resemble the pathology of human CMT4B. Surprisingly, elevated PIP3 is sufficient to induce the wrapping of small C-fiber axons in Remak bundles, and even the ensheathment of collagen fibers that completely lack axonal surface signals. These observations demonstrate a key role for PIP3 in inducing spiral wrapping and driving myelin membrane outgrowth.

(担当：池中一裕)

23. KCNQ チャネルの活性制御機構：細胞内構造のゲーティングにおける役割

中條 浩一（神経機能素子研究部門）

(2006.10.18)

電位依存性 K^+ チャネルファミリーの一部を構成する KCNQ チャネルは、心臓や神経細胞などに発現しており、不整脈やてんかんなどの原因遺伝子でもあることから、細胞の興奮性制御に重要な役割を果たしていることが知られている。近年ホスファチジルイノシトール (4,5) 2リン酸 (PIP2) をはじめ、PKC や Ca^{2+} など、細胞内シグナル伝達に関わるさまざまな物質によって制御されていることが明らかになってきている。これらの物質による

KCNQ チャネル活性の制御機構、特に PKC のリン酸化によるゲーティングの性質の変化についてお話ししたい。また、C 末端細胞内領域には2つのコイルドコイルドメインが存在し、チャネルが4量体構造をとるために重要であると考えられているが、その他にもゲーティングあるいは発現量調節に重要な働きを持つことが示唆される結果を得た。これらの知見について紹介した。

(担当：小野 勝彦)

24. Chronic Inactivity Increases the Fraction of High Vesicular Release Probability

Pool at Hippocampus Synapse

桂林秀太郎（崇城大学 薬学部 薬理学研究室）

(2006.11.15)

Christian Rosenmund (Baylor College of Medicine) の研究室で行った神経終末における伝達物質放出機構・vesicle recycling の活動依存性変化を中心に、伝達物質放出の可塑的変化の最先端のお話をさせていただきます。多数ご参加ください。

なお、セミナーは英語で (Talk will be given in English) 行っていただく予定です。

Disuse of synaptic activity causes homeostatic adaptations of the pre and postsynaptic functions. Here we show that in hippocampal autaptic cultured neurons long-lasting tetrodotoxin-induced chronic inactivity potentiates evoked responses. While we found that the potentiation was due to a

presynaptic mechanism, the size of the readily releasable pool size was unchanged. Dynamics of short-term plasticity, and unchanged apparent Ca^{2+} -sensitivity imply that the presynaptic potentiation is unlikely due to a change in the efficiency of the Ca^{2+} -triggering step.

Interestingly, while complete, genetic blockade of release activity did not prevent the development of presynaptic potentiation, chronic absence of synaptotagmin-1 prevented them. Moreover, rescues of synaptotagmin-1 using two different viruses reveal that the vesicle machinery requires prolonged period for the presynaptic potentiation. Our data suggest a novel, inactivity-mediated vesicle localization system underlying the heterogeneity of the vesicular release

probability, involving the unknown molecular interactions with synaptotagmin-1.

(担当：鍋倉 淳一)

25. Development and plasticity of inhibitory circuits in the auditory system

Karl Kandler (ピッツバーグ大学)

(2006.11.16)

Kandler 博士は抑制性回路の発達モデリングに関して世界最先端の研究者です。近年、聴覚系をモデルとした回路において、抑制性回路の synapse elimination や、発達期において GABA/グリシンとグルタミン酸の co-release の存在などを報告しています。

Kandler K, Gillespie DC. Developmental refinement of inhibitory sound-localization circuits. *Trends Neurosci.*

2005 Jun;28(6):290-6.

Gillespie DC, Kim G, Kandler K. Inhibitory synapses in the developing auditory system are glutamatergic. *Nat Neurosci.* 2005 Mar;8(3):332-8. *Epub* 2005 Jan 30

Kim G, Kandler K. Elimination and strengthening of glycinergic/GABAergic connections during tonotopic map formation. *Nat Neurosci.* 2003 Mar;6 (3):282-90.

(担当：鍋倉 淳一)

26. Neural machinery for detecting and measuring faces in fMRI-identified macaque face patches

Doris Tsao (Head of Young Research Group, Institute for Brain Research, University of Bremen)

(2006.11.17)

What are the neural circuits underlying face perception in primates? Using fMRI in alert monkeys, we identified three face-selective regions in the temporal lobe. In my talk, I will describe single-unit recordings targeted to two of these fMRI identified face patches. Single-unit recordings targeted to the middle face patch revealed that almost all visually responsive neurons in this region are strongly face selective. Experiments with a sequence of cartoon faces rapidly changing along 19 feature dimensions revealed that most cells in the middle face patch are tuned to small subsets of facial feature dimensions; tuning to different parameters was independent and usually

ramp-shaped, suggesting face coding by dimensions rather than exemplars. Recordings from a second, more anterior face-selective region showed that almost all cells in this region are also face selective. However, functionally, this new anterior area differs in several ways from the middle face patch: 1) cells are much more strongly view selective 2) view selectivity is highly mirror symmetric, 3) a subset of cells show separable coding of identity and view direction, and 4) LFPs, biphasic in shape in response to all objects, are several tens of milliseconds faster for faces than other objects.

(担当：小松英彦)

27. Klotho は体液 Ca 恒常性を司る

伊村 明浩 (科学振興助教授)

(2006.11.20)

1997 年に「老化に似た表現型」を示す変異マウスとその責任遺伝子が報告され、klotho と名付けられました。

(Nature, 97)。以来マウスの解析を行い、klotho 遺伝子機能の全容を解明したので報告する。遺伝子欠損を生物の設

計ミスと考えると、破綻が波及して起きた最終現象が「老化様の」表現型である。そこで、「老化」の直接的原因を探ると、ビタミン D 過剰症であった。その原因は、ビタミン D 活性化酵素の過剰発現であった。さらに深く探るため、ビタミン D 欠乏食を与えることで症状をレスキューし、より直接的な表現型を探索した。klotho 遺伝子は脈絡膜、副甲状腺、尿細管に発現しているが、それぞれの部位で、脳脊髄液の Ca 低下、副甲状腺ホルモンの分泌低下、尿中 Ca 再吸収低下が見いだされた。また、別のアプローチとして Klotho の結合タンパク質を同定したところ、Na,K-ATPase であることが判明した。併せて考えると、「Klotho は体液 Ca 調節の中枢部位に位置し、Ca 濃度に反応して Na,K-ATPase の活性を調節しているのではないか？」という仮説が浮上した。

しかし当時、そのようなイメージを支持してくれる知見は皆無であった。この仮説を検証するためには、Klotho は Na,K-ATPase とどこでどのように結合しているのか、Ca 濃度に反応して Na,K-ATPase の活性は変化するのか、Na, K-ATPase の活性がどのように体液 Ca 恒常性と関係するのか、Klotho 欠損がどのようにしてビタミン D 活性化酵素の発現上昇に結びつくのか、などの諸問題が山積していた。それらに対峙し、時に共同研究者の助力によりたどり着いた成果が、今回の報告である。偶然の遺伝学により発見された klotho は、遺伝子から想定される情報が乏しく、厳しい逆遺伝学のルートをたどらねばならなかった。今から考えると、もっと良い進路があったかもしれない、生理学の視点からご批判を賜りたいと思っています。

(担当：富永真琴)

28. 膜電位依存性酵素 Ci-VSP の基質特異性

岩崎 広英 (岡崎統合バイオサイエンスセンター神経分化研究室)

(2006.11.29)

Ci-VSP は電位依存性イオンチャネルの電位センサー様の膜貫通領域と、イノシトールリン脂質のホスファターゼである PTEN と高い相同性を有する細胞質領域から構成される分子である。これまでに、Ci-VSP が PTEN と同様にホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 (PI(3,4,5)P₃) を脱リン酸化してホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 (PI(4,5)P₂) を生成するホスファターゼ活性を有すること、および膜電位を脱分極させると PI(4,5)P₂ が減少し、過分極させる PI(4,5)P₂ が増大することから Ci-VSP の酵素活性が膜電位によって調節され

ることを報告した。今回 Ci-VSP の基質特異性について解析を試みたところ、PTEN と異なり Ci-VSP は PI(4,5)P₂ を基質として脱リン酸化を行なうことが明らかとなった。このことから Ci-VSP は脱分極時において活性化され、PI(4,5)P₂ 濃度を減少させる活性をもつホスファターゼであることが明らかとなった。さらに、363 番目のグリシンをアラニンに置換すると PTEN 型の基質特異性を示すことから、このアミノ酸が基質特異性に重要であることが明らかとなった。

(担当：小野 勝彦)

29. 尾索動物オタマジャクシの遊泳運動とその生理基盤～ロコモーション・ゲノム・イオンチャネル～

西野 敦雄 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 神経分化研究部門)

(2006.11.29)

尾索動物は脊椎動物にきわめて近縁な無脊椎動物である。尾索動物は生活史の中で、脊椎動物のものに似た、オタマジャクシ型の体制を示す。そのオタマジャクシは、脊椎動物よりはるかに少数の細胞により構成されることを特徴としている。その一種、カタユウレイボヤ *Ciona*

intestinalis のゲノムは完全に解読されており、また近年トランスジェニック技術も確立されるなど、海産動物では唯一、モデル生物としての位置を占めつつある。

尾索動物オタマジャクシは、その細胞構成の単純さに関わらず、洗練された遊泳運動を行う。しかし現在まで、

尾部筋肉の収縮制御やその神経制御の分子的生理機構はほとんど不明であった。尾索動物オタマジャクシの運動制御機構を理解することは、脊椎動物の単純な「ひな型」を提示し、脊椎動物に「もともと何が備わっていたのか?」、そして「何が脊椎動物に特異的な特徴なのか?」を明示することにつながる。

演者はこれまで、神経分化研究部門において、①カタユレイボヤ幼生の遊泳運動の定量的解析を行い、また②カタユレイボヤゲノムからイオンチャネル遺伝子を

網羅的に同定するプロジェクトに参加した。さらに、③遊泳運動制御に関与することが特に期待されるニコチン受容体 **nAChR** を主とするリガンド作動性イオンチャネル群に注目し、全長 cDNA の単離・解析を進め、これにより、④ホヤ幼生の遊泳筋で機能する **nAChR** のサブユニット構成を定めた。⑤また、そのチャネルの電氣的解析から、ホヤ幼生筋の **nAChR** は脊椎動物の筋肉型よりもむしろ神経型に類似した特性を示すことが分かってきた。

(担当：岡村康司)

30. Cryo-EM study of dynein-microtubule interaction

水野直子 (Texas Southwestern Medical Center)

(2006.12.4)

Recent Biochemical studies of dynein, a minus-end-directed microtubule motor, have shown ATP-cycle dependent conformational changes. However, most experiments have been based on a 2D negative staining classification of dynein and were carried out in the absence of microtubules. The present study has carried out an analysis using cryo-EM and 3D reconstruction methods to investigate the structural interaction of dynein bound to microtubules.

The current investigation has used single particle analysis, in combination with helical image analysis of microtubules. Recombinant cytoplasmic dynein containing 2/3rds of the heavy chain's C-terminal region was expressed in *Dictyostelium*. Images were collected using a CCD camera and (14.3) microtubules were selected manually according to their moiré

patterns. Approximately 300 microtubule filaments were analyzed. 1200 dynein particles, sparsely bound to microtubules, were selected. Images of microtubules were straightened and magnifications normalized. To select particles overlapped with microtubule density on images, the density from microtubules was computationally removed. The initial model was made from dynein decorated to the microtubule with sub-stoichiometric amount by reconstruction using microtubule helical symmetry. During the refinement process, cluster analysis was added to remove incorrect density of dynein. The reconstructed dynein microtubule complex showed a disk feature of dynein whose axes is orthogonal to the microtubule. Seven sub-domains of dynein were clearly visualized together with a short tail on top of the disk.

(担当：永山國昭)

31. Single particle analysis of Gro EL with Zernike phase contrast TEM

Radostin Danev (OIB, NINS)

(2006.12.4)

We research the application of Zernike Phase Contrast Transmission Electron Microscope (ZPC-TEM) to acquisition of image data for single particle analysis. The ZPC-TEM utilizes a Zernike phase plate which consists of a thin film with a small hole in the center. It is positioned at the back-focal plane of the objective lens introducing a half pi

phase shift to the scattered electrons leaving the central beam of unscattered electrons intact. The resulting images exhibit much higher contrast and information content compared to the conventional TEM.

We present a comparison between 3D models of proteins generated using ZPC and conventional TEM data. Finding

and boxing the particles in the ZPC-TEM images is much easier due to the high contrast. CTF fitting and demodulation is not necessary for the ZPC-TEM data which greatly simplifies the reconstruction process. Combined all the advantages of the ZPC-TEM technique can shorten

dramatically the time required for generation of 3D model of unknown specimens at intermediate resolutions. If higher resolution is required the model can be further refined by adding small defocus conventional TEM data to the dataset.

(担当：永山國昭)

32. Structural Analysis of Non-Selective Cation Channel TRP-V4 using a Phase-Contrast

Transmission Electron Microscope

重松秀樹 (OIB, NINS)

(2006.12.4)

Transient receptor potential (TRP) family is widely expanding superfamily of non-selective cation channels; most of them are permeable for Ca^{2+} . TRP superfamily is classified into seven subfamilies according to the sequence homology: the TRPC (Canonical) family, the TRPV (Vanilloid) family, the TRPM (Melastatin) family, the TRPP (Polycystin) family, the TRPML (Mucolipin) family, the TRPA (Ankyrin) family, and the TRPN (NOMPC) family. Some of TRPV and TRPM are known to as a temperature-sensitive channel, although each has a different range of temperature sensitivity. TRPV4 is activated by hypotonic stimuli and also by warm temperature; $\sim 27\text{-}35^\circ\text{C}$ resulting in an increase in intracellular Ca^{2+} concentration. All TRP channels have putative six-

transmembrane (6TM) domains, which are thought to assemble as tetramer to form cation-permeable pores. To dissolve the tertiary structure of such macromolecules, transmission electron microscopy (TEM) is known as one of powerful methods. Recombinant TRPV4 was expressed using baculo virus-infected Sf-9 cells and purified using genetically attached hexa histidine-tag. The membrane fraction was solubilized by detergent and purified by affinity chromatography and following size-exclusion chromatography. The detergent solubilized TRPV4 was analyzed using a phase-contrast cryo-TEM in its size distribution and purity. The single-particle analysis of its tertiary structure has been underway and the preliminary structure has been determined.

(担当：永山國昭)

33. Direct Observation of Intracellular Materials Using a Phase Contrast

Transmission Electron Microscope (TEM)

新田浩二 (OIB, NINS)

(2006.12.4)

Generally intracellular materials become visible with microscopes once labeled by specific markers. To observe biological specimens using TEM, moreover it is requested to prepare samples with lengthy steps of fixation, dehydration, resin embedding, sectioning and staining. Specific markers have many varieties including heavy metal agents and immune or enzyme reactions. In these methods, chemical fixatives are necessary for agents to penetrate into the cell. This procedure, however, introduces serious artifacts.

The phase contrast TEM has been developed to solve this

problem in our laboratory. It has become possible to observe biological objects without staining in the ice embedded state of whole cells.

We expect that the intracellular materials can be directly observed at a high resolution with phase contrast TEM without the traditional sample treatment.

We have also succeeded to observe unstained resin embedded sections including Qdots in a correlateal manner with light and electron microscopes. We could observe the cryo-section of Qdots treated cells after high pressure freezing.

(担当：永山國昭)

34. Unique Mechanism of Action of Alzheimer's Drugs on Brain Nicotinic Acetylcholine

Receptors and NMDA Receptors

Toshio Narahashi (John Evans Professor of Pharmacology, Department of Molecular Pharmacology
and Biological Chemistry, Northwestern University Medical School Chicago, IL 60611, USA)

(2006.12.6)

Alzheimer's disease is one of the most serious neurological disorders, yet no effective cure has been developed yet, as we do not know the exact cause of the disease. At present, only symptomatic treatments are being used to improve the patient's conditions. Since Alzheimer's disease is known to be associated with down-regulation of both cholinergic and glutamatergic NMDA systems, several anticholinesterases are being used for the symptomatic treatment of the disease in the U.S. Recently, memantine, an NMDA receptor blocker, has

been approved. This raises many questions as to how these drugs work. We have recently found that some of these anticholinesterases also stimulate the down-regulated NMDA receptor and that memantine works to modulate the NMDA-mediated glutamatergic system in a very unique manner through its neuroprotective action. These studies pave the way toward further developments of more effective therapeutic drugs for Alzheimer's disease patients.

(担当：鍋倉 淳一)

35. The radial bias: a different slant on visual orientation sensitivity in human and non-human primates

佐々木由香 (Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging,
Department of Radiology, Massachusetts General Hospital)

(2006.12.13)

It is generally assumed that sensitivity to different stimulus orientations is mapped in a globally equivalent fashion across primate visual cortex, at a spatial scale larger than that of orientation columns. However some evidence predicts instead that radial orientations should produce higher activity than other orientations, throughout visual cortex. Here this radial orientation bias was robustly confirmed using 1) human psychophysics, plus fMRI in 2) humans and 3) behaving monkeys. In visual cortex, fMRI activity was at least 20%

higher in the retinotopic representations of polar angle which corresponded to the radial stimulus orientations (relative to tangential). In a global demonstration of this, we activated complementary retinotopic quadrants of visual cortex by simply changing stimulus orientation, without changing stimulus location in the visual field. This evidence reveals a neural link between orientation sensitivity and the cortical retinotopy, which have previously been considered independent.

(担当：柿木 隆介)

36. 中枢神経系におけるギャップ結合の構造の多様性：

Freeze-fracture Replica Immunogold Labeling (FRIL) による解析

釜澤 尚美 (Department of Biomedical Sciences, Colorado State University)

(2006.12.15)

Freeze-fracture Replica Immunogold Labeling (FRIL) は、藤本が開発した SDS-FRL 法 (1)を基に、レキサンを利用した replica grid mapping 法 (2)を組み合わせた手法で、電子顕微鏡の観察結果を組織の切片像と対応させて解析

することができるため、中枢神経系のような複雑な組織の解析に有用である。本講演では、FRIL の手法を紹介するとともに、FRIL を用いた研究例として、ギャップ結合の構造の多様性について、またギャップ結合と神経伝達

物質受容体の局在と両者の関連性について考察したい。
Rashらは中枢神経系において、ギャップ結合を構成するタンパク、コネクシン (Cx) の細胞種特異的な発現をFRILの結果を基に提案してきた (3)。従来ギャップ結合は斑状 (plaque) を呈すると考えられてきたが、最近我々は、コネクソンがひも状や網状に会合したギャップ結合を網膜の神経細胞間に見いだした (4)。また、ギャップ

結合の数、大きさも中枢神経系の部位によって非常に多様であり、数個から数千個のコネクソンで形成されるギャップ結合が存在した。さらに、ギャップ結合は神経伝達物質受容体と高頻度に隣接して観察された。これらの多様な形態および局在様式は、ギャップ結合の未知の役割を示唆すると考えられ、超微構造学から得られた新しい知見として興味深い。

(担当：重本 隆一)

37. Effects of Viscosity on Calcium Release Channel Gating (In Japanese)

Brodwick Malcom (Texas University Associate Professor)

(2006.12.18)

(担当：鍋倉淳一)

38. Maxi-anion channel and VSOR chloride channel serve as releasing pathways of signalling molecules from astrocytes

Liu Hongtao (劉 洪涛) (日本学術振興会外国人特別研究員 細胞器官研究系機能協同研究部門)

(2007.1.5)

Astrocytes release glutamate upon hyperexcitation in the normal brain, and in response to pathologic insults such as ischemia and trauma. In our experiments using cultured mouse astrocytes, both hypotonic and ischemic stimuli caused the release of glutamate, which occurred with little or no contribution of gap junction hemichannels, vesicle-mediated exocytosis, or reversed operation of the Na-dependent glutamate transporter. Cell swelling and chemical ischemia activated, in cell-attached membrane patches, anionic channels (maxi-anion channels) with a large unitary conductance (~400 pS) and inactivation kinetics at potentials more positive than +20 mV or more negative than -20 mV. These properties are different from those of volume-sensitive outwardly rectifying (VSOR) Cl⁻ channels, which were also expressed in these cells and exhibited an intermediate unitary conductance (~80 pS) and inactivation kinetics at large positive potentials of more than +40 mV. Both maxi-anion channels and VSOR Cl⁻ channels were permeable to glutamate with

permeability ratios of glutamate to chloride of 0.21 ± 0.07 and 0.15 ± 0.01 , respectively. However, the release of glutamate was significantly more sensitive to Gd³⁺, a blocker of maxi-anion channels, than to phloretin, a blocker of VSOR Cl⁻ channels. We conclude that these two channels jointly represent a major conductive pathway for the release of glutamate from swollen and ischemia-challenged astrocytes, with the contribution of maxi-anion channels being predominant. On the other hand, in our separate study, we demonstrated that maxi-anion channels but not VSOR chloride channels are involved in ATP release from astrocytes under the stress of OGD (oxygen-glucose deprivation). In our recent study using neuron-glia cocultures, we have shown that the involvement of VSOR, but not maxi, anion channels in bradykinin-induced glutamate-mediated signalling from astrocytes to neurons. Thus, both maxi-anion channels and VSOR Cl⁻ channels in astrocytes play important roles in the brain functions dependent on the situations.

(担当：小野 勝彦)

39. 放出可能なシナプス小胞プールの補充の Ca^{2+} 依存性とその機能的役割

細井 延武 (マックス-プランク生物物理化学研究所 膜生物物理研究部門研究員)

(2007.1.11)

放出可能なシナプス小胞のプールはいったん枯渇すると数秒の時定数で補充される。Calyx of Held シナプスにおいて、この補充過程は、シナプス前終末での活動依存的な Ca^{2+} 濃度上昇によって Ca^{2+} /calmodulin 依存的に促進されることが明らかにされている (Sakaba et al., 2001)。しかし、シナプス小胞プールの補充速度と Ca^{2+} 濃度との間の定量的な関係は、いまだ明らかにされていない。そこで、プール補充の単純なモデルを構築し、ペアパルスを用いて、シナプス小胞プールの枯渇させた後の EPSC とシナプス前終末の Ca^{2+} 濃度を同時に測定することに

よって、補充速度と Ca^{2+} 濃度の関係を定量的に調べた。その結果、小胞プールの補充速度は、シナプス前細胞の Ca^{2+} 濃度に対して直線的に速くなり、cooperativity は見られないことが明らかになった。実験データに基づいてプール補充のモデルから推定したところ、プール補充速度は、100 Hz の生理的なスパイク列の刺激中に、刺激前に比べて 10 倍ほど速くなっていることが分かり、この Ca^{2+} 依存性の補充速度の促進が、高頻度刺激中の持続的なシナプス伝達を維持していることが分かった。

(担当：井本敬二)

40. 単一シナプスでの情報伝達の可視化

(Imaging spatiotemporal dynamics of signal transduction in individual synapses)

安田 涼平 (Duke University, Assistant Professor)

(2007.2.7)

In the central nervous system, most excitatory synapses terminate on dendritic spines, tiny (~0.1 femtoliter) protrusions emanating from the dendritic surface. Calcium influx into spines activates signaling networks composed of tens of species of molecules to induce synaptic plasticity and other adaptive reactions. Although many of the molecules required for synaptic plasticity have been identified, the signaling mechanisms by which calcium dynamics in spines are decoded and translated into specific cellular responses are unknown. To further our understanding of signal transduction in spines, we have developed a technique to measure protein-protein interactions in individual spines using fluorescence resonance energy transfer (FRET). By combining fluorescence lifetime imaging with 2-photon laser scanning microscopy, we can achieve robust FRET detection with single-synapse resolution deep in brain slices. Using this

technique, we have imaged the activation of the GTPase protein Ras in response to calcium influx into spines. Ras is an essential component of the signaling pathways that lead to rapid synaptic potentiation, the formation of new synapses, and the regulation of dendritic excitability. When 2-photon glutamate uncaging is used to stimulate a single spine, Ras activation occurs initially at the stimulated spine, and subsequently spreads more than 10 μm into the parent dendrite and nearby spines. The same stimulation induces both structural and functional plasticity in the stimulated spine, as indicated by a long-term (~60 min) spine enlargement associated with a potentiation of postsynaptic glutamate receptor current. To understand how Ras activation spreads and the role it may play in synaptic plasticity, we are now developing techniques to image molecules upstream and downstream of Ras.

(担当：岡田泰伸)

41. 遺伝性高血圧疾患の分子病態 — WNK4 ノックインマウスの作成と解析 —

内田 信一 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科腎臓内科学・助教授)

(2007.2.8)

偽性低アルドステロン症 II 型 (以下 PHAII) は、高血圧、高 C1 性アシドーシス、高 K 血症をきたす優性遺伝形式の遺伝病である。腎臓遠位尿管でのクロライド再吸収の亢進がそのメカニズムと言われてきたが、その責任遺伝子として、WNK キナーゼという新規キナーゼの変異が同定された。見つかった変異は、WNK1 はイントロンの変異、WNK4 はミスセンス変異であったが、これら変異の持つ意味、またこれら WNK キナーゼの上流および下流に存在する分子も未だ明らかでない。PHAII の

病態を説明すべく、これら WNK と種々のチャネル・トランスポーターをアフリカツメガエル卵母細胞や MDCK 細胞に強制発現させ、これら輸送体に対する WNK の作用についての報告が相次いだ。どの報告も強制発現による非特異的影響が懸念された。今回我々は真の分子病態を明らかにすべく、ヒト PHAII 患者と同じ変異を持つ WNK4 ノックインマウスの作成に成功した。このマウスの解析により、PHAII の真の分子病態を明らかにする。

(担当: 鍋倉 淳一, 岡田 泰伸)

42. ABC トランスポータの NBD ゲーティングエンジンの動作機構

相馬 義郎 (大阪医科大学 基盤医学 I 講座 生理学教室・講師)

John M. Dalton Cardiovascular Research Center, University of Missouri-Columbia, USA)

(2007.2.8)

ABC (ATP Binding Cassette) 蛋白質は、よく保存された 2つの ATP 結合ドメイン NBD (Nucleotide Binding Domain) を共通に持つスーパーファミリーを形成している。ABC トランスポータにおいては、NBD は ATP の加水分解エネルギーをトランスポータ分子の輸送機能を発揮するために必要な機械的駆動力に変換していると考えられる。ABC トランスポータは、生理学的に重要な様々に異なる機能・構造を持つが、この“NBD エンジン”の動作メカニズムはすべての ABC トランスポータにおいて共通し

ていると推測される。

Cystic Fibrosis Transmembrane-conductance Regulator (CFTR) は、このスーパーファミリーの中で唯一イオンチャネルの機能を有し、パッチクランプ法によってリアルタイムで NBD の動態の観察が可能な ABC トランスポータ分子である。この CFTR をモデルシステムとして、ABC トランスポータ・スーパーファミリーに共通した NBD エンジンの動作メカニズムの解明を試みた。

(担当: 岡田泰伸, 鍋倉淳一)

43. Using the anti-saccade task to probe brain function and dysfunction

Douglas P. Munoz (Department of Physiology, Queens Univ, Canada)

(2007.2.14)

(担当: 伊佐 正)

44. AMPA 型グルタミン酸受容体の動態制御機構

深田 正紀 (国立長寿医療センター研究所, 室長)

(2007.2.15)

シナプス間の情報伝達効率の使用状況によって柔軟に

変化し、記憶や学習の基盤を成します。この制御機構の

破綻は認知症やてんかん等の神経疾患の重要な一因と考えられています。AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA 受容体) は脳内の興奮性神経伝達の大部分を司るので、この受容体がどのようにしてシナプス膜へ輸送され、その機能が制御されているかは現在の神経科学における重要な問題です。我々はポストシナプスの代表的な足場蛋

白質である PSD-95 に着目して AMPA 受容体の制御機構を解析してきました。本セミナーでは 1) PSD-95 のシナプス膜局在を規定するパルミトイル化脂質修飾酵素、および 2) PSD-95 結合蛋白質として同定したリガンド・受容体 LGI1/ADAM22 による新しい AMPA 受容体制御機構について報告した。

(担当：岡田泰伸)

45. 蛍光単分子観察が明らかにした細胞内アクチン制御の謎

渡邊 直樹 (京都大学医学部, 助教授)

(2007.2.15)

アクチン線維は細胞質膜直下の主要な構成成分であり、重合・脱重合を繰り返し細胞の形態変化・運動を制御する。我々は分子可視化を通して、生きたアクチン細胞骨格の重合・解離動態を捉える手法を実現した。これにより、細胞伸展縁の葉状仮足において、線維の 3 分の 1 が 10 秒以内の短寿命で脱重合することがわかった。更に、インビトロではアクチン伸長端に高親和性で結合するキャッピングプロテインが、細胞内では急速に (半減期 1.2 秒) 解離すること、その解離がアクチン崩壊に依存する

ことから、アクチン崩壊のメカニズムとして「高頻度線維切断-再結合仮説」を提唱した。また、アクチン核化・重合を促進するフォルミンファミリーの 1 つで、アクチンストレス線維形成や平滑筋収縮を制御する G 蛋白質 Rho の標的分子 mDia1 が、伸長するアクチン反矢じり端に結合したままプロセスに分子移動する性質をもつことが見出された。分子イメージングによって明らかにされつつある、予想外に動的な細胞骨格改変のための分子機構やその制御シグナルの本態を紹介した。

(担当：岡田泰伸)

46. 海馬長期増強現象の分子機構

林 康紀 (RIKEN-MIT, Assistant Professor)

(2007.2.15)

シナプス可塑性の一つである海馬長期増強現象は、記憶の細胞モデルとして考えられている。シナプス後部には可塑性に関わる多数の蛋白が存在し、その物理的・生化学的なネットワークがシナプス伝達の維持と可塑性に重要と考えられる。我々は、電気生理学に分子生物学、イメージングの手法を組み合わせたアプローチでその分子機構を探ってきた。今回のセミナーでは、まず CaMKII とアクチンによるシナプス後部の形態と分子組成の量的

な調節機構について解説した。これは、これまでシグナル分子であると考えられてきた CaMKII が細胞骨格の一員であるということを位置づけるものである。次にシナプス後部から伝達物質の放出確率の逆行性調節機構について解説した。以前、一酸化窒素、アラキドン酸などが逆行性伝達物質の候補として考えられたが、この結果は細胞接着因子がこのような役割を果たしうるということを示すものである。

(担当：岡田泰伸)

47. 匂いやフェロモンの受容機構の多様性と進化

東原 和成 (東京大学新領域創生科学研究科, 助教授)

(2007.2.21)

多くの生物では, 食物認知, 個体認識, 生殖行動の誘発など生存に不可欠な行動や習性に匂いやフェロモンが深く関わる。匂いセンサーである嗅覚受容体は, 多重遺伝子群を形成しており, G タンパク質共役型受容体のなかでも最大のサブファミリーを形成している。我々は, 嗅覚受容体の機能解析を, 単一匂い応答嗅神経細胞からの機能的クローニングという逆転の発想で成功させ, その後, 嗅覚受容体が多種多様な幅広い匂い分子を正確に識別するメカニズムを明らかにしてきた。また, カイコガ性フェロモンの受容体の同定および機能解析に成功し,

高感度・高選択性の昆虫フェロモンセンサー機構を明らかにした。マウスでは, 遺伝子にコードされている新規ペプチドがオスの涙腺から分泌されてメスの鋤鼻器官に取り込まれ, V2R 受容体発現神経を刺激することがわかった。空間を飛びかう匂いやフェロモン, また, 飛ばない不揮発性フェロモンの受容機構の解析を通して得られた知見をもとに, 哺乳類, 昆虫, 植物など生物全般の嗅覚を介した個体間コミュニケーションのやりかたの進化的変遷を議論した。

(担当: 岡田泰伸)

48. タイトジャンクション: 細胞間をシールする分子メカニズム

古瀬 幹夫 (神戸大学医学部, 教授)

(2007.2.21)

私たちの体は, 皮膚により外界から守られるとともに, 上皮系細胞がつくるシートによって様々なコンパートメントに分けられている。上皮細胞シートは, 細胞膜上のトランスポーター蛋白質やサイトシスによって方向性のある物質輸送を行う一方で, 細胞間隙において物質の受動的な拡散, いわゆる「漏れ」を制限しており, その総和として各コンパートメントに特有の環境が動的に維持される。このとき, 細胞同士の隙間をシールして「漏

れ」を防ぐバリアとしてはたらくのがタイトジャンクション (TJ) と呼ばれる細胞間接着構造である。私たちの研究グループは, TJ の分子構築の中心を成す接着分子クローディンファミリーを同定してその性質を解析してきた。本セミナーでは, クローディン研究から明らかになってきた TJ のバリア機能の分子基盤と今後の課題について紹介した。

(担当: 岡田泰伸)

49. A role of the cerebellum in visual perception - fact or fiction ?

Peter Their (Hertie-Institut für Clinical Brain Research,
Department of Cognitive Neurology, Tübingen, Germany)

(2007.2.22)

(担当: 伊佐 正)

50. 蛍光ゼブラフィッシュを用いた脊髄神経回路の解析～発生から生理機能まで

東島 真一 (岡崎統合バイオサイエンスセンター, 神経分化研究部門)

(2007.2.28)

異なった転写因子の発現の組み合わせにより, 形態学

的に異なったタイプの介在神経細胞が分化してくること

が示唆されている。しかしながら、これらの介在神経細胞が、最終的に神経回路網の中で機能的にどのようなタイプの神経細胞へ分化していくかは、まだよく分かっていない。ゼブラフィッシュは、その脊髄神経回路が単純であるため、上記の課題を追求するためのよいモデル生物である。こういった背景の元、我々は、特定の転写因子の発現する神経細胞の、発生分化および、回路中での機能の解析を、ゼブラフィッシュを用いて進めている。この課題にアプローチするため、中枢神経系の特定の種類の神経細胞で、蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを作製して、それら神経細胞

を生きたまま可視化することを方法論の中心に据えて研究している。可視化することで、神経細胞の発生過程（軸索の伸長、樹状突起の成長、神経細胞の移動等）をダイレクトに追跡することができる。さらには、機能している神経回路中で、蛍光を発する特定のクラスの神経細胞をねらって電気生理学的な解析を行うことができる。このような解析を通じて、神経発生から神経機能解析までをつなげていきたいと考えている。本セミナーでは、我々のアプローチの概略を紹介するとともに、Chx10 陽性細胞と、En1 陽性細胞に関する研究を紹介したい。

(担当：小野 勝彦)

51. 画像解析法を用いた精子機能調節機構の解析

吉田 学（東京大学大学院 理学系研究科 附属臨海実験所）

(2007.3.5)

受精に至る過程において、精子は放精の際の運動開始、雌由来物質による運動活性化、卵に対する走化性、受精能獲得、先体反応、卵との結合など、刻々とその機能を変化させている。この精子機能の調節においては、いずれの過程においても環境中のカルシウムイオンが必須であることが知られており、細胞外からのカルシウム流入がこれらの制御機構に深く関わると考えられている。しかし、精子は大きさが小さい上に高速で運動をするため、従来のイメージング技術では細胞内カルシウムイオンの挙動を測定することは困難であった。特に鞭毛運動調節

とカルシウムとの関連は古くから興味を持たれていたが、数十 Hz で運動する鞭毛を可視化することはほとんど不可能であった。

我々は、新たに LED ストロボ照明装置を用いて、高速蛍光イメージングを可能とする装置を開発し、精子走化性における鞭毛運動調節機構の解析を中心に研究を行っている。今回は、これまでの精子におけるイメージング研究について、最近得られた鞭毛内カルシウムイメージングの結果と併せて紹介する。

(担当：根本知己)

52. ヒト側頭極は何をしているか

杉浦 元亮（大脳皮質機能研究系心理生理学部門）

(2007.3.8)

ヒトの側頭葉の前端部「側頭極」は謎の領域である。脳損傷患者の研究では、この領域の損傷によって逆行性健忘（自分の過去や知人など、自伝的記憶が思い出せない）や人物認知障害が起きることから、自伝的記憶の想起に関与している可能性が示唆されている。脳機能イメージングでも、この領域が自伝的記憶の想起や人物認知によって活動することが示されている。しかし、単語リスト等を用いた典型的な出来事記憶想起課題では、この領域が活動するという報告はない。一方で、最近の脳機能イメージング研究では、文章理解課題、情動を誘発す

る課題、社会認知を要求する課題等、直接自伝的記憶とは関係のない課題を遂行する際に側頭極が活動するという報告が増えている。私はこれまでの PET・fMRI 研究で、側頭極が人物認知において記憶内容そのものではなく、記憶内容を関連付ける役割に関係している可能性を示してきた。そして、この「関連付ける」という概念を発展させ側頭極の機能を一般化できるのではないかと予想している。

今後の側頭極研究はシステム脳科学研究諸領域の総力戦になるであろう。重要課題として、まず側頭極の根本

的 (primary) な機能概念の探索, すなわち「側頭極は何をしているのか」が挙げられる。この課題に対しては PET や fMRI を用いたイメージング研究に社会心理学的な多変量解析的アプローチを取り入れることで概念的な進展が期待される。また, 側頭極が解剖学的に複数の領域に細分化されることがサルの研究で示されており, 側頭極のサブ領域の考え方をヒト脳の研究に取り入れる必要がある。その際には他領域との繊維連絡についての動物解剖研究とヒト脳イメージング研究との積極的な比較検討

が必要である。さらに, 「関連付ける」ことが側頭極の特徴だとすれば, MEG や EEG 等の時間分解能に優れたイメージング手法を用いることで, 側頭極の役割を逐次的な認知処理過程の中に位置づけることが必要であろう。また, ヒト脳における機能領域同定で中心的な役割を果たすと期待される fMRI においては, 側頭極近傍における磁化率アーチファクトの問題にどう対処するかという技術的問題も重要検討課題である。

(担当: 小野 勝彦)

53. 人・機械適応系に関する研究 (筋電義手使用時の脳活動について)

横井 浩史 (東京大学精密機械工学専攻)

(2007.3.9)

個性適応型情報処理技術は, 人の運動機能を, 機械・電子・化学等の工学技術を用いて, 外部装置に置き換えることを可能とする技術である。この技術は, 直接的には, 工学と医学との融合を通して, 肢体不自由者の機能再建を支援し, 残された感覚運動系のあらゆる可能性を甦らせる能力を有しており, さらには, これまで人が持ち得なかった超精密複雑な領域を探索するための人工感覚や, 巨大でハイパワーな装置などを自在に操作する新しい制御機能を開拓するような可能性をも持ち合わせて

いる。本発表では, 個性適応型情報処理を筋電義手の制御に応用し, 利用者の利便性を高めることを目的とした実験結果について述べる。利用者と筋電義手の関係性の変化を定量的に求めるために, fMRI 解析を用い, 脳の賦活状態を調査した。特に運動野と感覚野の適応的な反応に興味深い結果が得られており, これらについて詳しく述べるとともに, 人と機械の相互適応系に関する研究方針と将来展望について概観する。

(担当: 伊佐 正)

54. Non-invasive Medical Diagnostic Devices : from Bench to Bedside To Business

Ian Smith (カナダ MRC 部長, Inst. Biodiagnostics 所長)

(2007.3.14)

Ian Smith 博士は, fMRI の発明者小川誠二博士と同門 (Gutowsky) の NMR 専門家で, 高分解能 NMR による有機物構造解析を経て草創期の MRI 分野に転身, 1990 年代初めに Biodiagnostics 研究所を設立した。以来, 所長を続けている。17 テスラをはじめとする数台の MRI を中

心に NMR 分光法, 赤外イメージング, 蛍光イメージングを駆使して, ガン, アルツハイマーなどの非侵襲診断法を確立している。現在世界生物物理学連合の会長職も兼ね, この方面の世界的リーダーであり, 生物物理的手法面からの新しい応用分野を開拓している (文責永山)。

(担当: 永山 國昭)

55. 一次視覚野ニューロンにおける受容野周囲抑制のメカニズム, 皮質ネットワークの動作原理の理解を求めて

尾関 宏文 (米国ノースウエスタン大学 博士研究員)

(2007.3.26)

細胞内記録法は, スパイク発火応答に加え, 膜電位応

答, 興奮性および抑制性入力量の変化を調べることが可

能である。David Ferster 研究室ではネコ一次視覚野 (V1) ニューロンから in vivo whole-cell patch clamp による細胞内記録実験を行い, V1 における入出力とその情報処理を研究している。V1 ニューロンの受容野刺激応答は受容野周囲に提示する刺激によって抑制性修飾を受け, 受容野刺激と周囲刺激の方位が同一であるとき最大の抑制を生じる。周囲抑制の程度は膜電位応答よりもスパイク応答の方が顕著であり, 膜電位の発火閾値が抑制を増強して

いることが分かった。また, 周囲抑制下では興奮性入力量の低下のみならず抑制性入力量の低下も生じていることが分かった。この周囲刺激の方位に依存した興奮性入力量の低下は皮質下ニューロンの活動低下によるものではなかった。皮質内抑制の一過性の活動増加が興奮性および抑制性ネットワークの活動低下をもたらすことを示し, ニューロンの活動性を安定化させる皮質ネットワークのダイナミクスについて新しいモデルを紹介する。

(担当: 窪田 芳之)