

セミナー報告

1. Rules and variability in the organization of excitatory and inhibitory inputs to

CA1 area pyramidal cells and interneurons

Attila I. Gulyas (Institute of Experimental Medicine, Laboratory of Cerebral Cortex Research
Hungarian Academy of Sciences Budapest, Hungary)

(2007.4.6)

Hippocampal principal cells and different subpopulations of interneurons show individually characteristic activity patterns during behavior associated brain states. In order to understand how neurons integrate input from the network, in a series of studies, we estimated the total number of excitatory and inhibitory synapses converging onto different domains of neurons on the CA1 area. We studied the synaptic organization of pyramidal cells as well as 5 functionally distinct subpopulation of inhibitory neurons: PC and CCK containing basket cells, dendrite targeting CB cells, interneuron selective CR cells and the hippocampo-septally projecting neurons (HS cells). We found in the case of all neuron populations (except a subgroup of HS cells) that, inhibition is always stronger on the soma and the proximal dendrites than on the distal dendrites, meaning that the majority of inhibitory inputs arrive onto the perisomatic region. There were however considerable differences in the density (and total number) of excitatory and inhibitory inputs and the ratio of inhibition among the examined cell types. The highest amount of inputs arrived to the pyramidal cells, HS cells and the PV cells (35,000- 15,000), while CCK, CB and CR cells received much less (5,000-2,000). The ratio of

inhibition did not correlate with the total excitatory inputs. Thus while the PV and pyramidal cells received dense excitatory input they received relatively small amount of inhibition (2-5%) if averaged over their entire surface. In contrast CCK, CB and CR cells received relatively large amount of inhibition (35-25%), balancing relatively scarce excitatory input. Different domains of pyramidal cells, associated with Schaffer collateral and entorhinal inputs showed characteristically different organization of synaptic inputs. Comparing the excitatory and inhibitory convergence data to the activity level of each neuron types, there is a mismatch. Though for example PV cells and pyramidal cells show extremely similar organization of synaptic inputs their activity pattern is highly different. PV cells are highly active, while CA1 pyramidal cells are less silent than any of the examined inhibitory neuron populations. These findings suggest that the activity level of a neuron is not solely formed by the absolute amount of excitatory inputs and by the ratio of inhibitory inputs, but by other properties, such as the distribution of different types of ion channels and transmitter receptors.

2. Anterior cingulate LTP: a synaptic model for pain and fear

Min Zhuo (University of Toronto)

(2007.4.11)

Investigation of the basic mechanisms of chronic pain not only provides insights into how the brain processes and modulates sensory information but also provides the basis for designing novel treatments for currently intractable clinical conditions. Human brain imaging studies have revealed new roles of cortical neuronal networks in chronic pain, including

its unpleasant quality, and mouse studies have provided molecular and synaptic mechanisms underlying relevant cortical plasticity. This review paper will critically examine the current literature and propose a cortical network model for chronic pain

3. ニューロン・グリア分化における bHLH 型転写因子 Olig ファミリーの役割

竹林浩秀 (生理学研究所 分子神経生理研究部門)

(2007.4.24)

オリゴデンドロサイトは、軸索の周りに、ミエリンという疎水性の構造を作るグリア細胞である。ミエリンがある事により跳躍伝導が起こり、action potential が素早く軸索を伝わる。オリゴデンドロサイトの発生を司る転写因子は、不明であったが、この数年の gain-of-function および loss-of-function 両面からの実験により、basic helix-loop-helix 型転写因子 Olig1, Olig2 が、重要な役割を果たしている事がわかってきた。ほとんどの脊髄オリゴデンドロサイトは、胎児期脊髄腹側の pMN ドメインと呼ばれる領域から産生される。この pMN ドメインには

Olig2 遺伝子が発現し、この Olig2 陽性細胞から、まず運動ニューロンが、そして、オリゴデンドロサイトが産生される。胎生早期の pMN ドメインにある Olig2 陽性の未熟細胞は神経幹細胞であると考えられるが、in vivo の発生過程において、これらの Olig2 陽性細胞から、どのような細胞種が生み出されるかについては、いまだ詳細な研究が必要である。我々の in vivo 解析の結果と in vitro の結果を比較を通して、細胞の in vivo における挙動と、in vitro における挙動についてディスカッションを行いたい。

4. 「Neurobiology of movement」: Introduction,

「Swimming and behavior in a simple chordate; *Ciona intestinalis*」

Euan R. Brown (Station of Zoology, Naples, Italy)

(2007.4.27)

Ascidians (urochordates) and vertebrates are close relatives, and shared a common chordate ancestor around 650 million years ago. For this reason ascidians have been studied for nearly 150 years as a means to uncover the origin and evolution of their more complex vertebrate relatives. With the recent sequencing of the genome of *Ciona intestinalis* there has been an increase in interest in ascidians as models to study the evolution of chordates. Although ascidians have a sessile adult form, the tadpole-like larva swims with rapidly alternating tail beats that superficially resemble vertebrate swimming. In vertebrates, alternating activity during swimming is generated in spinal segments and is controlled by the activation of ipsilateral inhibitory glycinergic interneurons and motoneurons. To achieve precise control of alternation, glycinergic interneurons act to inhibit contralateral excitatory

motoneurons. Do similar mechanisms control swimming in ascidians? Anatomical traits and gene expression patterns have predicted some 'homologies' between the ascidian larval nervous system and the vertebrate central nervous system (CNS). Even though the larval nervous system is rather simple and consists of some 80-100 neurons, there are three main sub-divisions, a brain vesicle (BV) that contains a photoreceptive ocellus, and a gravity sensing otolith, the visceral ganglion (VG), and the nerve cord (NC). Although these three divisions express *Hox* genes in a way that suggest these structures represent homologies of the forebrain, hindbrain and spinal cord, other analysis suggests that there are only two homologous divisions where the BV represents the forebrain and the VG the 'spinal cord'.

5. 手部筋骨格構造の解剖学的数理モデルによる把握動作シミュレーション

荻原 直道 (京都大学大学院理学研究科動物学教室 自然人類学研究室)

(2007.5.17)

把握動作は、指が物体との接触点で発生する力の向きと大きさを、多数の筋を適切にコントロールすることによって達成される複雑な力学現象である。したがって、手部筋骨格構造に内在する機能的意味を明らかにするためには、その力学現象を再現する数理モデルを用いた生体力学的解析が重要な意味を持つと考えられる。我々の

グループでは、ヒトやチンパンジーの手部構造を解剖学的に精密に模擬した数理モデルを構築し、骨形状や筋配置といった形態的特徴が把握機能に与える影響を理解する試みを進めている。数理モデルに基づく把握の機能形態学的研究について紹介し、その可能性と問題点について議論したい。

6. 網膜神経節細胞における興奮性シナプスの位置は細胞の種類によらず規則正しく配置されている

小泉 周 (Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School)

(2007.5.18)

網膜の投射神経である網膜神経節細胞には最低でも12種類の異なる生理学的性質をもつ細胞が存在している。これまで、こうした生理学的性質の違いの一端は、シナプスの配置の違いによるものであることが予想されてきていたが、長い間、電子顕微鏡による部分的証拠と推論しかない状態であった。我々は、網膜神経節細胞において興奮性シナプスがどのように分布しているのか、新しく開発した成熟網膜培養法に Gene Gun を用いた遺伝子導入法を組み合わせる実験を行った。

我々は、海馬スライス培養などで用いられているインターフェース培養法に網膜灌流記録チャンバーの発想を組み合わせた interphase/perfusion ハイブリッド培養法を開発した。これによって、成熟網膜を最大6日間、光応答性などの生理学的性質を保ったまま培養し、Gene gun等を用いた遺伝子導入法が可能となった(Koizumi et al. 2007, PLoS One)。

興奮性シナプスの神経節細胞内での位置を同定するた

めに PSD95-GFP を成熟ウサギ網膜に導入し、その位置を共焦点顕微鏡で記録・解析を行った。結果、どの種類の神経節細胞内でも、等しく、PSD95はある一定の間隔 ($2.9 \pm 0.7 \mu\text{m}$) をもって規則正しく並んでいることが見出された。また、シナプス前細胞である双極細胞の Axonal varicosities も規則正しく配置されており、お互いに間隔が一致していた。この結果は、興奮性シナプスの位置は決してランダムな「相手探し」の結果ではなく、網膜全体にわたる配置メカニズムの存在を示唆している。また、シナプスの配置パターンが、多様な生理学的性質を持つ神経節細胞や双極細胞の種類によらず一定であったことは、長年の予想を覆す結果となった。さらに、シミュレーションによる解析で、こうしたシナプスの配置構造は、網膜が比較的小さな光刺激をより効率よくとらえるのに有利であることが分かった (Koizumi et al, in submission)。その意義とメカニズムについて、さらなる可能性を議論したい。

7. 「一步一步学ぶ医学生理学」による一般国民向け生理学教育の可能性

渋谷まさと (女子栄養大学短期大学部生理学研究室)

(2007.5.18)

日本生理学会の special interest group である「医学生理学教育シェアリンググループ」は「一步一步学ぶ医学生理学」という e-learning システムを一般公開している。名

前の通り、紙芝居のように最小単位の情報を step-by-step に提示し、自学自習がしやすいようにした。また、生理学の初学者にとっての重要情報を抽出し、オリジナルの

説明モデルを展開し、アニメーションやイラストなどを駆使して提示している。さらに、「横隔膜は[吸息呼息]筋である」のような 2 者択一的な「知識確認問題」を多数提示し、能動的に学習できるようにした。医学生を対象とした randomized controlled trial では、従来の教材と比べて教育効果が高いことが示された。また、co-medical 学生を対象に授業で使ってみると、基礎知識が少ない学

生の試験合格率 (75.5%) は基礎知識が多い学生の合格率 (80.4%) より大きく低いことはなかった。これらは、初学者が生理学を学習する教材として「一步一步学ぶ医学生理学」が有効であり、小中学生を含めた一般国民向けの生理学教育をも効率よく展開できる可能性を示唆すると思われる。

8. 遺伝子改変マウスの表現型解析を起点とした精神疾患の研究

宮川 剛 (藤田保健衛生大学総合医科学研究所システム医科学研究部門)

(2007.5.23)

演者らはこれまで、「脳で発現する遺伝子の機能の最終アウトプットレベルは行動である」という発想から、多くの遺伝子改変マウスの系統について「網羅的行動テストバッテリー」を行うことにより遺伝子の機能探索を行ってきた。この戦略により演者らは、カルシニューリン (CN) が統合失調症の発症と関係しているであろうことを報告したり、ダウン症の症状の多くを説明するメカニズムを明らかにするなどの成果を上げてきた。演者の研究室では、2003 年の発足以来、国内外 40 以上の研究室との共同研究で、50 以上の異なる系統のマウスに対して

既に一通りの網羅的行動テストバッテリーを行っており、遺伝子改変マウスの行動表現型の網羅的解析について国内で突出した最大の拠点となっている。この結果、既に数系統の精神疾患様の顕著な行動異常を示すマウスを同定することに成功しているが、本セミナーでは、これらのマウスのうち、主に CaMKII α ヘテロノックアウト (HKO) マウスの行動と脳の異常を例にとって紹介し、遺伝子改変マウスの表現型解析を活用した精神疾患研究の今後の展望についても議論する。

9. 2 光子顕微鏡による細胞生理機能の可視化解析法

根本知己 (生理学研究所 生体情報解析室)

(2007.5.24)

多光子励起を用いた蛍光顕微鏡法 (2 光子顕微鏡) は、インタクトに近い組織的標本の深部断層像を、高い空間分解能で長時間にわたって取得することができるため、細胞機能解析に最適なものの 1 つであり、特に神経科学の領域で広く使用例が多く報告されつつある。演者は昨年 1 月に、2 光子顕微鏡を担当する施設系准教授として昇任し、生体恒常機能発達機構研究部門、機能協同研究

部門、バイオ分子センサープロジェクト等の協力を得、顕微鏡室の整備や共同研究を推進してきた。特に、世界トップレベルの深部解像力を有する個体用 "in vivo" 2 光子顕微鏡システムを構築した。本セミナーでは、2 光子顕微鏡の原理、特徴から、開口放出・分泌現象の研究成果、そして実施してきた共同研究など例に、様々な応用可能性について議論する。

10. KCNQ/Kv7/M-type potassium channels as regulators of axonal excitability

Edward Cooper (Department of Neurology, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania)

(2007.6.6)

これまで有髄神経の跳躍伝導で電気的な興奮を起こす場である initial segment や node of Ranvier には、電位依存性カリウムチャネルが存在することが電気生理学的には知られていたが、長い間その分子が明らかではなかった。Cooper 博士らは、KCNQ/Kv7/M 電流のカリウムチャネル分子が、この重要な機能を担う分子実体であることを発見した。このイオンチャネル分子の変異がてんかんの原因になることから node でのカリウムチャネル活性の変化が、てんかんの神経系興奮性の異常につながると考えられる。

Schwarz JR, Glassmeier G, Cooper EC, Kao TC, Nodera H,

Tabuena D, Kaji R, Bostock H. KCNQ channels mediate IKs, a slow K^+ current regulating excitability in the rat node of Ranvier. *J Physiol.* 2006 May 15;573 (Pt 1):17-34. Epub 2006 Mar 9.

Pan Z, Kao T, Horvath Z, Lemos J, Sul JY, Cranston SD, Bennett V, Scherer SS, Cooper EC. A common ankyrin-G-based mechanism retains KCNQ and NaV channels at electrically active domains of the axon. *J Neurosci.* 2006 Mar 8;26(10):2599-613.

Devaux JJ, Kleopa KA, Cooper EC, Scherer SS. KCNQ2 is a nodal K^+ channel. *J Neurosci.* 2004 Feb 4;24(5):1236-44.

11. 新規酸受容チャネル複合体 PKD1L3/PKD2L1 の電気生理学的解析

稲田仁（統合バイオ・細胞生理）

(2007.6.26)

動物において、酸味受容は傷んだ食物や刺激の強い液体を避けるために必須な感覚である。酸味受容の分子機構は長年不明のままであったが、近年、PKD1L3/PKD2L1 チャネル複合体が有力な酸味受容体候補として同定された。PKD1L3 および PKD2L1 は、嚢胞性腎臓疾患 (Polycystic Kidney Disease : PKD) の原因因子とされる polycystin-1 および polycystin-2 のホモログとして同定された膜タンパク質で、PKD2L1 は TRP チャネルファミリーとして分類されている。マウスにおいて、PKD1L3 および PKD2L1 の発現は一部の味細胞で観察され、甘味・旨味・苦味の受容に関与す

るとされる IP3 受容体や TRPM5 の発現とは重ならない。HEK293 細胞を用いた強制発現系において、PKD1L3 および PKD2L1 は複合体を形成し、それらの共発現は膜表面への移行に必須である。PKD1L3 および PKD2L1 を共発現させた HEK293 細胞では、酸刺激特異的に細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が観察され、また、pH3.0 以下の酸刺激によって一過性の膜電流が引き起こされる。本セミナーでは、詳細な電気生理学的解析により明らかになった、PKD1L3/PKD2L1 チャネル複合体のユニークな性質について報告する。

12. デグラトンプローブを用いたライブイメージング

三輪佳宏（筑波大学大学院人間総合科学研究科）

(2007.7.11)

蛍光タンパク質を用いた生きた細胞や動物でのイメージングは生命科学における基本技術になりつつある。蛍光タンパク質は遺伝子を導入するだけで光ることが最大の特徴であるが、最近の技術開発によって、様々な特徴

を持つものが応用されている。

演者は細胞内の分解制御機構を組み合わせることによってコントラストを生み出す、デグラトンプローブと名付けた技術開発を進めており、マウスでの in vivo イメー

ジングなどを実施している。

今回の発表では、photoconversion を起こす蛍光タンパク質 Kaede を応用した培養細胞における細胞内機能の解析や、抗生物質ドキシサイクリンを生きたマウスでイメ

ージングするプローブの開発から実際のイメージング、特に血液脳関門のイメージングによる解析まで、現在開発を進めている方法を紹介し、蛍光イメージングの展望について議論したい。

13. Myelination Abnormalities and Recovery Assessment by DT-MRI in vivo:

Fine Microstructural Analysis of Brain White Matter

Said Ghandour (ルイパストゥール大学)

(2007.7.12)

Diffusion tensor magnetic resonance imaging (DT-MRI) was applied for in vivo quantification of myelin loss and recovery in several animal models of myelin abnormalities. A transgenic mouse (Oligo-TTK) expressing the herpes simplex virus 1 thymidine kinase gene (hsv1-tk) in oligodendrocytes was studied along with dysmyelinated jimpy male mice, a model of Pelizaeus-Merzbacher disease and the heterozygous females, carrier of jimpy mutation. Myelin loss and axonal abnormalities differentially affect values of DT-MRI parameters in the brain of transgenic mice. A significant increase of radial diffusion attributed to the lack of myelin was observed in white matter tracts in all dysmyelinated mice. In dysmyelinated transgenic mice, lower axial diffusion values were consistent with the histological observation of axonal modifications including reduced axonal caliber and

overexpression of neurofilaments and III β -tubulin. DT-MRI data of jimpy brain were compared to those obtained from dysmyelination of (Oligo-TTK) transgenic mice, which have a mild astrocyte hypertrophy, and from recovering jimpy females, presented with reduced astrocyte hypertrophy. The amplified magnitude of radial and axial diffusions in jimpy males was attributed principally to the pronounced astrocyte hypertrophy in jimpy brain. We showed clearly that myelination and axonal changes as well as astrocyte hypertrophy play a role in the degree of diffusion anisotropy. Importantly, myelin reparation during brain postnatal development induced a decrease in the magnitude of radial diffusion and an increase in anisotropy values compared to the same brain before recovery. The progressive increase in axial diffusion values was attributed to the gain in normal axonal morphology.

14. Node of Ranvier と Axon Initial Segment に局在する足場タンパク質の同定と役割

小川 泰弘 (University of Connecticut Health Center・神経科学)

(2007.7.12)

ニューロンは情報のアウトプットを、軸索を介して行う。この情報処理を調節する部位が Axon Initial Segment (AIS)と考えられており、ナトリウムチャネルの局在が観察される。また、有髄繊維と呼ばれる軸索は、グリア細胞の細胞膜が幾重にも巻かれた構造をしており、結果として伝達の効率化を担う構造になっている。これは、Node of Ranvier と呼ばれるミエリン間のギャップにおいてナトリウムチャネル (Nav) の局在化がおこることによる。このミエリン様の構造は、さまざまな進化系譜上でも観察されていることは興味深い。今回我々は、

Ranvier 構造のうち、ナトリウムチャネルが局在する Node の両脇に位置する Paranode 膜の性質が Lipid Raft であることを見いだし、この性質を利用することで Paranode 膜の精製を行い、それに含まれるタンパク質を同定した。そのうち、膜の裏打ちタンパク質として α II-, β II-spectrin が Juxtaparanode 及び Paranode に、AnkyrinB が Paranode に局在し、これらは膜タンパク質及び互いに結合することを示した。さらに、未発表データとして、エンドサイトーシス関連タンパク質、endophilinA2 が末梢神経系において、Paranode に局在することを示す。こ

これらの所見は, Paranode 構造をメンテナンスするものと示唆される。また, Paranode を挟んで Node の反対側を Juxtaparanode と呼び Kv1 チャネルが局在しているが, 興味深いことに AIS において, Nav チャネルだけでなく Kv1 チャネルが局在し, この局在には, チャネルの足場となる PSD-93 が必要であることを示す。

【参考文献】

1. Ogawa Y, Schafer DP, Horresh I, Bar V, Hales K, Yang

Y, Susuki K, Peles E, Stankewich MC, Rasband MN. Spectrins and ankyrinB constitute a specialized paranodal cytoskeleton. *J Neurosci*, 26, 5230-5239, 2006.

2. Yang Y, Ogawa Y, Hedstrom KL, Rasband MN. BetaIV spectrin is recruited to axon initial segments and nodes of Ranvier by ankyrinG. *J Cell Biol*, 176, 509-519, 2007..

15. Understanding Drug-Receptor Interactions at Neuroreceptors and Ion Channels

Kristin Rule (California Institute of Technology, Division of Chemistry and Chemical Engineering,
Professor Dennis A. Dougherty Laboratory)

(2007.7.12)

Neuroreceptors and ion channels are the molecules of memory, learning, and sensory perception. Through the use of unnatural amino acid mutagenesis by nonsense suppression, we aim to obtain a chemical scale understanding of these important integral membrane proteins. In this talk, I will

describe how this methodology has been applied to identify a crucial noncovalent interaction in agonist binding in several Cys-loop receptors. Time permitting, I will also talk briefly about backbone ester mutagenesis, as an example of my own research in the Dougherty group.

16. An approach from a macroscopic end to learn the functional architecture of the brain

小川 誠二 (財団法人 濱野生命科学研究財団小川脳機能研究所)

(2007.7.18)

fMRI is a non-invasive method to detect some localized system activities of neuronal pools participating in performing a functional task in the brain. The signals based on CBF, CBV and BOLD are well coupled to the synaptic neuro activation, although the response time in seconds is far slow to follow the dynamics of neuronal activity that proceeds in 10s to 100s of milliseconds. There are other fMRI methods potentially overcome the shortcoming of the slow response, diffusion-sensitized fMRI or neuro current induced magnetic field detection. However, the characteristics and how they should be measured are still in their infancy. We have been using BOLD fMRI to explore some aspects of dynamic functional processes in terms of intra- and inter- system interaction. The details of these phenomena viewed at macroscopic size will help to understand how the functional anatomy of the brain is built up.

By stimulation of the brain with a pair of identical or different inputs, the activation characteristics involving refractory suppression are examined to see intra-site interaction as well as inter-site interaction. The degree of interaction depends on the site in the pathway of signal processing. There at some sites the presence of sub functional units can be suggested and the extent of their interaction varies with the inputs to the site. Non-interacting sub sites, if any, means the spatial resolution of fMRI is not sufficient enough to resolve them. At some sites, inputs from two different stimuli of same category appear to be regarded as the same as judged by the strong suppressive response to the stimuli, although to the stimuli other sites respond as inputs are different.

The functional composition of a site, either with weakly interacting or strongly interacting functional subunits, ie

neuronal circuits from the pool of neurons in the site, can be distinguished from the mode of neuro function with the whole pool of neurons that contains individual neurons each assigned to a specific function. We believe the former mode of operation with localized sub functional units that have their

specific roles. One may be able to see the plasticity of such small neuro-circuits and their behaviors. The knowledge of these detailed specificities and the mode of functional operation will help to construct functional architecture of the brain.

17. 機械的に急性単離した中枢ニューロンを用いた神経伝達物質放出機構の電気生理学的解析

石橋 仁 (生体恒常機能発達機構研究部門)

(2007.7.31)

細胞を単離すると細胞外のイオン環境や薬物濃度のコントロールが容易にできるため, 中枢ニューロンに発現する受容体やイオンチャネルの電気生理学的研究に, 酵素処理により単離した中枢ニューロンが広く利用されてきました。しかし, 酵素処理を用いると, シナプス前終末部を保持したまま単離することができないため, シナプス前神経終末部の受容体やイオンチャネルの研究に単離ニューロンは使用出来ませんでした。ところが, 酵素処理を用いなくても, 機械的処理のみによって中枢ニューロンを単離することができ, さらに, この単離ニューロンの表面には

神経終末部が付着していることが, 我々の研究などからわかってきました。我々は, この単離ニューロンにパッチクランプ法を適用して, 主として抑制性シナプス伝達とその調節機構について解析を行ってきました。本セミナーでは, この標本でみられる抑制性シナプス後電流 (IPSC) の特徴と, これまでの我々の研究の概略を紹介するとともに, 最近, 高 K^+ による脱分極刺激が細胞外 Ca^{2+} に依存せずに神経伝達物質放出を増強し, これにシナプス前神経終末部のホスホリパーゼ C が関与している知見を得たので, その経緯について紹介したいと思います。

18. in vivo2 光子顕微鏡による視覚情報処理機構の検証

大木 研一 (ハーバード大学医学部)

(2007.9.19)

多光子励起法を生体動物サルに適用し, 視覚における情報処理機構をカルシウムイ感受性色素を利用して, 大脳皮質視覚野のニューロン群の大域的活動, 視覚情報入力による時間的・空間的な神経細胞の活動パターンにつ

いて新たな知見を紹介する。さらに, 近年開始した 2 光子顕微鏡によるサル大脳皮質の視覚情報へのアプローチも紹介する。

19. 凍結切断レプリカ標識法による電氣的・化学的シナプスの解析

釜澤 尚美 (生理研・脳形態解析)

(2007.9.28)

凍結切断レプリカ標識法は, 生体膜表面を二次元で観察できるというレプリカ法の利点を生かし, その膜上に存在する分子を抗原抗体反応によって同定することが可能である。中枢神経系には受容体やチャネルを構成する膜タンパクが多数存在し, これらの分子の存在様式につ

いての超微構造学的情報は生理現象の理解に不可欠である。私はこれまでに, ギャップ結合の構造が大きさ, 形状ともに非常に多様であることを明らかにしてきた。また, ギャップ結合と神経伝達物質受容体が頻繁に隣接するという観察結果から, ギャップ結合の構造的可塑性が

シナプス伝達に影響する可能性を示唆した。現在、興奮性・抑制性それぞれの神経伝達物質受容体の後シナプス膜上での存在様式を解析すると同時に、前シナプス膜の受容体の可視化をめざして実験を行っている。本セミナー

では、電気的・化学的シナプスの解析から得られた知見とともに、本法の技術的な利点と限界についてもあわせて紹介したい。

20. 覚醒下モデルマウスにおけるニューロン活動記録によるジストニア病態の解析

知見 聡美（生体システム研究部門）

(2007.10.24)

ジストニアは、持続性または反復性の筋収縮により、体幹、四肢の異常姿勢や異常運動を示す神経疾患である。病態を解明するためには、疾患モデル動物を解析することが非常に有効な手段であるが、これまで適当なモデルが存在しなかったことから、正確な病態については、不明なことが多い。しかしながら、近年、数種類のマウスがジストニアのモデルとして提唱されている。私達は、麻酔薬の影響を排除し、覚醒条件下でマウスのニューロン活動を記録、解析するシステムを確立したので、これらのモデルマウスからニューロン活動を記録することに

より、ジストニアの病態を解明することを目指して実験を行っている。これまでに、全身性に重度のジストニア様症状を示すミュータントマウスである *Wriggle Mouse Sagami*, およびヒト早期発症全身性ジストニアの原因遺伝子である *DYT1* 変異遺伝子を組み込むことによって作製した *DYT1* トランスジェニックマウス (*Shashidharan et al., Hum Mol Genet* 2005, 14:125-133) の2種類のモデルマウスについて解析を行ったので、その結果について報告し、ジストニアの病態について考察したい。

21. 成体脳で産生される神経細胞の移動制御機構

澤本 和延（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野（分子医学研究所再生医学部門））

(2007.10.25)

脳の一部の領域においては、成体脳においても神経幹細胞から活発な神経細胞の新生が起こることが明らかになった。我々は、側脳室の脳室下帯で起こる神経細胞の産生に着目し、そのメカニズムと再生医学への応用の可能性について研究を行っている。本講演では、正常成体マウス脳及び脳梗塞モデルの脳室下帯で生まれる幼若神経細胞の移動に関する我々の研究成果を中心に紹介したい。

【参考文献】

1. Hirota, Y. et al. Cyclin-dependent kinase 5 is required

for control of neuroblast migration in the postnatal subventricular zone. *J. Neurosci.* 27, 12829-38, 2007.

2. Yamashita, T. et al. Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum. *J Neurosci* 26, 6627-6636, 2006.

3. Sawamoto, K. et al. New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science* 311, 629-632, 2006.

22. Glycine Receptor Structure-Function - an electrophysiological approach to investigating the molecular determinants of ion permeation

Andrew J Moorhouse (The University of New South Wales)

(2007.11.15)

The glycine receptor is a member of the cys-loop family of ligand-gated ion channels that mediate fast synaptic transmission in the central and peripheral nervous system. There have been some significant recent advances in determining which components of the structure of these receptor-channels mediate their functions of neurotransmitter binding, channel gating and ion permeation. This talk will initially review the general structure and physiological function of the glycine receptor, before focusing on the molecular determinants of ion permeation. Using a combination of site-directed mutagenesis and patch-clamp electrophysiology, our laboratory has characterised the amino acid residues in the second transmembrane domain that primarily determine the conductance and ion-charge selectivity of the glycine receptor. More recent experiments have investigated the potential role of residues in a novel intracellular region known as the lateral portals, as well as addressing the question of how counter-ion cations may permeate through these predominantly anionic channels. Time permitting, this talk may also briefly describe results investigating the determinants of ion-charge selectivity in a member of the P-loop family of cation channels, the cyclic nucleotide-gated channel.

【参考文献】

1. Moorhouse A.J., Jacques, P., Barry, P.H. and Schofield, P.R. (1999) The startle disease mutation Q266H, in the second transmembrane domain of the human glycine receptor, impairs channel gating. *Molec. Pharmacol.*, 55, pp 386-395.
2. Moorhouse, A.J., Keramidas, A., Zaykin, A., Schofield, P.R. and Barry, P.H. (2002) Single-channel analysis of conductance and rectification in cation-selective mutant glycine-receptor channels. *J. Gen. Physiol.*, 117, 411-425.
3. Moorhouse, A.J., Li, S., Vickery, R.M., Hill, M.A. and Morley, J.W. (2004). A patch-clamp investigation of membrane currents in a novel mammalian retinal ganglion cell line. *Brain Res.*, 1003, 205-208.
4. Ammala C., Moorhouse A., Gribble F., Ashfield R., Proks P., Smith P.A., Sakura H., Coles B, Ashcroft S.J.H. and Ashcroft F.M.A. (1996) Promiscuous coupling between the sulphonylurea receptor and inwardly rectifying potassium channels. *Nature*, 379, pp 545-548.
5. Akaike, N. and Moorhouse, A.J. (2003) Techniques: applications of the nerve-bouton preparation in neuropharmacology. *TIPS.*, 24, 44-47.
6. Jeong, H.J., Jang, I.S., Moorhouse, A.J. and Akaike, N. (2003) Activation of presynaptic glycine receptors facilitates glycine release from presynaptic terminals synapsing onto rat spinal sacral dorsal commissural nucleus neurons. *J Physiol.*, 550.2, 373-383.
7. Keramidas, A, Moorhouse, A.J., French, C.R., Schofield, P.R. and Barry, P.H. (2000) M2 pore mutations convert the glycine receptor channel from being anion- to cation-selective. *Biophys. J.*, 78, pp 247-259
8. Carland, J.E., Moorhouse, A.J., Barry, P.H., Johnston, G.A. and Chebib, M. (2004) Charged residues at the 2' position of human GABAC rho 1 receptors invert ion selectivity and influence open state probability. *J. Biol. Chem.*, 279, 54153-54160.
9. Qu W., Moorhouse, A.J., Lewis, T.M., Pierce, K.D. and Barry, P.H. (2005). Mutation of the pore glutamate affects both cytoplasmic and external dequalinium block in the rat olfactory CNGA2 channel. *Eur. Biophys. J.*, 34, 442-453.
10. Qu, W., Moorhouse, A. J., Chandra, M., Lewis, T. M., Pierce, K. D. and Barry, P. H. (2006). A single P-loop glutamate point mutation to either lysine or arginine switches the cation-anion selectivity of the CNGA2 channel. *J. Gen. Physiol.*, 127, 375-389.

23. Designing Higher Performance Neural Prosthetic Systems

Byron Yu (stanford University)

(2007.11.21)

The prospect of helping disabled patients, by translating neural activity from the brain into control signals for prosthetic devices, has flourished in recent years. Rapid progress on such neural prosthetic systems has been possible because of systems neuroscience discoveries and major advances in computational and neural-recording technologies. For example, several research groups have now demonstrated that monkeys can learn to move a computer cursor to various target locations simply by activating neural populations that participate in natural arm movements. Despite tremendous advances in the past decade, even these compelling

proof-of-concept laboratory demonstration systems fall short of exhibiting the level of control needed for many everyday behaviors, such as typing words rapidly on a keyboard or reaching straight for a cup of water. I will first present the design and demonstration of a fast and accurate key selection system, capable of transmitting up to 6.5 bits/s or <15 words per minute. Next, I will describe how arm trajectories can be accurately decoded from neural activity using probabilistic state-space models. Taken together, these developments should substantially increase the clinical viability of neural prostheses in humans.

24. 皮質回路における錐体細胞サブタイプに依存した結合特異性

大塚 岳（大脳神経回路論研究部門）

(2007.11.27)

機能的に似た細胞が集まったコラム構造が大脳皮質の情報処理の単位と考えられている。しかし、大脳皮質回路において細胞間で特異的に結合がなされサブネットワークを形成していることが近年報告されている。大脳皮質錐体細胞は形態学的、生理学的に様々なサブタイプに分類することができるが、これらの錐体細胞サブタイプが皮質回路において特異的に結合しサブネットワ

ークを形成しているのかはまだ知られていない。今回、錐体細胞の発火特性に着目し、発火パターンで分類される5層錐体細胞サブタイプについて、2/3層錐体細胞から5層錐体細胞サブタイプへの結合特異性をスライスパッチ法とグルタミン酸による刺激法を用いて検討したのでその結果を報告したい。

25. Cannabinoid/vanilloid interactions on rat dorsal root ganglion neurons

Rolf-Detlef Treede (Johannes Gutenberg University)

(2007.11.27)

potassium channels contribute to basic neuronal excitability and modulation. Here, we examined expression patterns of the voltage-gated potassium channel Kv1.4, the nociceptive transduction channels TRPV1 and TRPV2 as well as the putative anti-nociceptive cannabinoid receptor CB1 by immunofluorescence double-labelings in sections of rat dorsal root ganglia (DRGs). Kv1.4, TRPV1 and CB1 were each detected in about one third of neurons ($35.7 \pm 0.5\%$, $29.4 \pm$

1.1% and $36.4 \pm 0.5\%$, respectively, mean diameter 19.1 ± 0.3 microm). TRPV2 was present in $4.4 \pm 0.4\%$ of all neurons that were significantly larger in diameter (27.4 ± 0.7 microm; $P < 0.001$). Antibody double-labeling revealed that the majority of Kv1.4-positive neurons co-expressed TRPV1 ($73.9 \pm 1.5\%$) whereas none expressed TRPV2. The largest overlap was found with CB1 ($93.1 \pm 0.1\%$). CB1 expression resembled that seen for Kv1.4 since the majority of neurons expressing

CB1-protein also expressed TRPV1 ($69.4 \pm 6.5\%$) but not TRPV2 ($0.6 \pm 0.3\%$). When CB1-mRNA was detected using in situ hybridizations an additional subset of larger neurons was labeled including $82.4 \pm 17.7\%$ of the TRPV2 expressing neurons. However, co-localization of Kv1.4 with CB1-mRNA (92%, mean diameter: 18.5 microm) was essentially the same as with CB1-protein. The almost complete overlap of CB1 and Kv1.4 in nociceptive DRG neurons suggests a functional synergistic action between Kv1.4 and CB1. The potassium channel may have two important roles in nociception. As the molecular basis of A-type current it could be involved in the control of repetitive discharges at peripheral terminals and as a downstream signal transduction site of CB1 in the control of presynaptic transmitter release at central terminals.

As an endogenous agonist at the cannabinoid receptor CB1 and the capsaicin-receptor TRPV1, anandamide may exert both anti- and pronociceptive actions. Therefore we studied the effects of anandamide and other activators of both receptors on changes in free cytosolic calcium ($[Ca^{2+}]_i$) in acutely dissociated small dorsal root ganglion neurons (diameter: $< \text{or } = 30 \text{ microm}$). Anandamide (10 microM) increased $[Ca^{2+}]_i$ in 76% of the neurons. The EC(50) was 7.41 microM, the Hill slope was 2.15 ± 0.43 (mean \pm SE). This increase was blocked by the competitive

TRPV1-antagonist capsazepine (10 microM) and in Ca^{2+} -free extracellular solution. Neither exclusion of voltage-gated sodium channels nor additional blockade of voltage-gated calcium channels of the L-, N-, and/or T-type, significantly reduced the anandamide-induced $[Ca^{2+}]_i$ increase or capsaicin-induced $[Ca^{2+}]_i$ transients (0.2 microM). The CB1-agonist HU210 (10 microM) inhibited the anandamide-induced rise in $[Ca^{2+}]_i$. Conversely, the CB1-antagonist AM251 (3 microM) induced a leftward shift of the concentration-response relationship by approximately 4 microM ($P < 0.001$; Hill slope, 2.17 ± 0.75). Intracellular calcium transients in response to noxious heat (47 degrees C for 10 s) were highly correlated with the anandamide-induced $[Ca^{2+}]_i$ increases ($r = 0.84$, $P < 0.001$). Heat-induced $[Ca^{2+}]_i$ transients were facilitated by preincubation with subthreshold concentrations of anandamide (3 microM), an effect that was further enhanced by 3 microM AM251. Although anandamide acts on both TRPV1 and CB1 receptors in the same nociceptive DRG neurons, its pronociceptive effects dominate. Anandamide triggers an influx of calcium through TRPV1 but no intracellular store depletion. It facilitates the heat responsiveness of TRPV1 in a calcium-independent manner. These effects of anandamide differ from those of the classical exogenous TRPV1- agonist capsaicin and suggest a primarily modulatory mode of action of anandamide.

26. Ca^{2+} signaling: Molecules, Organelles and Disease Processes

Ole H. Petersen (University of Liverpool, 国際生理科学連合 IUPS Secretary General)

(2007.12.10)

The basic characteristics of cellular Ca^{2+} signaling will be reviewed with particular emphasis on events in the pancreatic acinar cells. Physiological stimulants of pancreatic exocrine secretion, such as cholecystokinin and acetylcholine, utilise up to 4 intracellular messengers (IP3, cADPR, NAADP and Ca^{2+} [Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release]) to induce specific oscillatory patterns of cytosolic Ca^{2+} signals in the acinar cells. These are tightly controlled in a temporal-spatial manner and are coupled to mitochondrial metabolism necessary to fuel secretion. The physiological Ca^{2+} signals controlling fluid and

enzyme secretion are repetitive local (apical pole) and short-lasting (a few seconds) events. The Ca^{2+} signals are primarily generated by release of very small amounts of Ca^{2+} from up to 4 intracellular stores, namely the endoplasmic reticulum, the secretory granules, the lysosomes and the endosomes. These stores form an effective apical Ca^{2+} signaling complex. When normal Ca^{2+} homeostasis is disrupted by hyperstimulation or by toxic agents (for example, bile acids or non-oxidative ethanol metabolites - substances known to precipitate acute pancreatitis) Ca^{2+} stores become depleted and sustained

cytosolic $[Ca^{2+}]$ elevations replace transient signals, leading to severe consequences. ATP depletion, due to mitochondrial inhibition, paralyzes energy-dependent Ca^{2+} pumps causing cytosolic Ca^{2+} overload, whilst digestive enzymes are activated prematurely within post-exocytotic, endocytic

vacuoles. The result is Ca^{2+} -dependent cellular necrosis. However, when the stress applied to the acinar cell is relatively mild, release of Ca^{2+} from stores leads to oscillatory global waves, associated with partial mitochondrial depolarisation, and the result is apoptotic cell death.

27. 食餌嗜好性に及ぼす視床下部 AMP キナーゼの調節作用ーレンチウイルスを用いた解析

岡本 士毅 (生殖・内分泌系発達機構研究部門)

(2007.12.13)

視床下部は、摂食行動の調節に重要な部位である。近年、様々な視床下部神経ペプチドが発見され、その発現部位及び機能が解明されたことによって、摂食調節に関わる視床下部神経回路網の一端が少しずつ明らかとなっていった。しかし、食餌嗜好性を調節する分子機構については全く明らかとなっていない。今回我々は、活性型 AMP キナーゼ (AMPK) をコードするレンチウイルスベクター (シナプシンプロモーターを使用) をマウス視床下部室傍核 (PVN) に接種して活性型 AMPK を PVN に持続的に発現させ、摂食行動に及ぼす影響を調べた。その

結果、PVN の AMPK が、細胞内の脂肪酸酸化を促進することにより炭水化物と脂肪食の嗜好性を制御することを見出した。また、マウスを一昼夜絶食させた後、再摂食させると、PVN における AMPK 活性ー脂肪酸酸化が亢進し、炭水化物食の嗜好性が高まること、さらに、PVN の AMPK 活性ー脂肪酸酸化機構がメラノコルチン受容体及び NPY 受容体シグナルの制御を受けることも見出した。このように PVN は、摂取カロリーを調節するだけでなく、AMPK-脂肪酸酸化機構を介して選択的栄養素の摂食行動の制御に関与することが明らかとなった。

28. Toward a new science of connectomics

Sebastian Seung (Howard Hughes Medical Institute and MIT)

(2007.12.17)

Judging from current progress in nanoscale imaging and cutting, histochemical and genetic methods for staining, and computational algorithms for image analysis, it should soon be possible to create automated systems that will take a sample of brain tissue as input and generate its “connectome,” a list of all synaptic connections between the neurons inside. Such systems will give rise to a new field called “connectomics,”

defined by the high-throughput generation of data about neural connectivity, and the subsequent mining of that data for knowledge about the brain. I will discuss the possible impact that connectomics could have on our understanding of how the brain wires and rewires itself, the dynamics of activity in neural networks, and the neuropathological basis of mental disorders.

29. AMPA 受容体動態制御機構：蛋白質複合体解析によるアプローチ

深田 優子 (生体膜研究部門)

(2008.1.16)

神経シナプス間の情報伝達効率は外界刺激に応じてその機能が変化し、記憶や学習など脳の高次機能を担って

いる。脳内の主要な興奮性シナプス伝達を司る AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA 受容体) は神経活動に応

じてその活性（質）とシナプス発現（量）が時間・空間的に制御され、シナプス伝達効率を規定している。したがって、AMPA 受容体の機能や動態を制御する分子機構の解明は現在の脳科学の最重要課題の一つと考えられている。私どもは AMPA 受容体に関連した脳内蛋白質複合体を精製することにより、1) AMPA 受容体の動態を制御する主要制御分子が Stargazin と PSD-95 であることを示し、また 2) 細胞外から AMPA 受容体機能の特異的に促進する新規のリガンド・受容体 LGI1/ADAM22 を同定し

た。Stargazin, LGI1, ADAM22 いずれの変異もシナプス伝達の異常が原因と考えられるてんかん発症に関連しており、私どもの手法は遺伝学的にも支持されうる生理的なシナプス蛋白質ネットワークを同定したものと考えられた。現在は新規のシナプス伝達修飾分子と考えられる LGI1 に着目し、LGI1 の作用機構と LGI 分子ファミリーの機能多様性を解析している。本セミナーではシナプス伝達制御とその破綻のメカニズムに対するアプローチとしての蛋白質複合体解析について紹介したい。

30. 小脳抑制性シナプスにおける Ca^{2+} 依存性伝達物質放出

坂場 武史（マックスプランク生物物理化学研究所）

(2008.1.17)

Ca^{2+} 依存性の神経伝達物質放出機構の電気生理学的解析は、形態的に大きな神経終末を持つグルタミン酸作動性シナプスをモデルとしておこなわれてきた。一方で形態的に小さなシナプス終末における伝達物質放出に関しては不明な点が多く、中枢シナプス伝達特性の多様性がどのようなメカニズムによっているのかはわかってい

ない。小さな終末における伝達物質機構を解析するため、シナプス前細胞にケイジド Ca^{2+} を導入することで終末内の Ca 濃度を任意に操作することを試みた。この方法を小脳の basket cell シナプスに適用した結果、シナプス小胞プールのダイナミクスがグルタミン作動性のモデルシナプスとは異なることがわかった。

31. 結核菌の宿主細胞内サバイバル機構における膜融合阻害のメカニズム

早川 枝李（東京女子医科大学）

(2008.1.18)

結核は一部休眠状態を含み人類の三分の一に感染しており、HIV、マラリアとともに世界三大感染症の 1 つである。さらに近年、全ての抗生物質が効かない超多剤耐性結核菌の感染例が世界規模で報告されており、根本的な治療方法・メカニズムの解明が急務である。

結核菌はマクロファージに感染するが、生きた結核菌を取り込んだファゴソームはリソソームとの膜融合 (P-Lfusion) を阻害され、結核菌はマクロファージ内で生存・増殖が可能となる。この P-Lfusion 阻害の誘導因子は幾つか報告例はあるが、その決定的なメカニズムはまだ解明されていない。全ての感染症は宿主細胞の「膜」を介して起こることから、「膜」の物性から感染のメカニズムを検討することは極めて重要である。

本講演では、細胞膜の物理化学的性質、特に脂質分子

の自己組織化に焦点をあて、結核菌が宿主細胞内でのサバイバルメカニズムとして「脂質膜」をどのように利用しているのか、原子間力顕微鏡 (AFM) 及び FRET を用いて研究した結果についてお話しする。

参考文献：

- 1: Mycobacterium tuberculosis Phagosome Maturation Arrest: Mycobacterial Phosphatidylinositol Analog Phosphatidylinositol Mannoside Stimulates Early Endosomal Fusion, 2004, Molecular Biology of the Cell, (15), p751&8211;760,
- 2: Nanoscopic Lipid Domain Dynamics Revealed by Atomic Force Microscopy, 2003, Biophysical Journal, (84), p2609&8211;2618

32. Decoding Frequency and Timing of Emotion Perception

土谷 尚嗣 (カリフォルニア工科大学・人文社会科学学部)

(2007.1.24)

How do regions of higher-order visual cortex represent information about emotions in facial expressions? This question has received considerable interest from fMRI, lesion, and electrophysiological studies. The most influential model of face processing argues that static aspects of a face, such as its identity, are encoded primarily in ventral temporal regions while dynamic information, such as emotional expression, depends on lateral and superior temporal sulcus and gyrus. However, supporting evidence comes mainly from clinical observation and fMRI, both of which lack temporal resolution for information flow. Recently, an alternative theory has been proposed which suggests that common initial processing for both aspects occurs in the ventral temporal cortex. To test these competing hypotheses, we studied electrophysiological responses in 9 awake human patients undergoing epilepsy monitoring, in whom over 120 sub-dural electrode contacts were implanted in ventral temporal (including fusiform face area, FFA) and lateral temporal (including superior temporal

sulcus, STS) cortex. The patients viewed static and dynamic facial expressions of emotion while they performed either a gender discrimination or an emotion discrimination task.

We used a novel decoding method that quantified the information about the facial stimulus that is available from the time-varying neuronal oscillation in the field potential. We estimated the stimulus-induced oscillation from a time-frequency spectral analysis using a multi-taper method. This time-frequency representation of the response was then subjected to a multivariate decoding analysis.

Our analysis revealed that ventral temporal cortex rapidly categorizes faces from non-face objects within 100ms. We found that ventral temporal cortex represents emotion in dynamic morphing faces more quickly and accurately than lateral temporal cortex. Finally we found that the quality of represented information in ventral temporal cortex is substantially modulated by task-relevant attention.

33. APP の代謝と機能 —結合因子 X11L, alcadein, JIP1b の果たす役割—

鈴木 利治 (北海道大学大学院薬学研究院)

(2008.1.28)

APP は家族性アルツハイマー病の原因遺伝子であり、アルツハイマー病 (AD) の発症に関わるアミロイドβ-タンパク質 (Aβ) の前駆体である。従って、神経細胞における APP の代謝と機能は、AD の発症に深く結び付いている。APP は神経細胞で、X11 ファミリー分子、特に X11-like (X11L)を介して膜タンパク質 alcadein と複合体を形成することで、代謝が制御されている。一方、APP は JIP1b (JNK- interacting protein 1b)との結合を介し、キネ

シン-1 モーターによる軸索順行輸送を受ける。また、alcadein も直接キネシン-1 に接続し APP とは別のカーゴ受容体として機能し、キネシン-1 モーターへの接続のバランスは APP の輸送・代謝に影響を与える。APP と相互作用する分子群が APP の代謝や機能に果たす役割を紹介すると共に、これら分子群の独自の機能についても議論する。

34. Distinct modes of activity-dependent secretion of BDNF from axons and dendrites of

cultured hippocampal neurons

松田 尚人 (カリフォルニア州立大学バークレー校 分子細胞生物学部)

(2008.1.31)

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a member of the neurotrophin family of proteins that are known to serve important functions in the differentiation and survival of neurons and in the activity-dependent modification of synapses. BDNF is synthesized, sorted to large-dense core vesicles, and transported to both axons and dendrites. Secretion of BDNF from the axonal terminal and the dendrite can serve as anterograde and retrograde signals at the synapse, respectively, for trophic regulation of post- vs. presynaptic

neurons, as well as for the induction of activity-dependent synaptic modification. How activity regulates axonal and dendritic release of BDNF is largely unknown. Using cultured hippocampal neurons expressing fluorescent protein-tagged BDNF, we found that a train of action potentials triggers differential modes of secretion of BDNF in axons and dendrites. Our results suggest that neurons may utilize different vesicle fusion mechanisms to regulate the amount and time course of secreted BDNF.

35. 脊髄反射：その機能再定義の試み

関 和彦 (認知行動発達機構研究部門)

(2008.2.27)

脊髄反射回路は中枢神経系の中で最も詳細に調べられ、そこから多くの知見が確立してきた。現在、それらの知見の多くは「教科書レベル」となっている。しかしよく考えてみると、蓄積されてきたのは反射回路を構成する脊髄ニューロン、またそれらへの入出力関係など反射回路の「静的」な側面に関する知識のみである。一方、反射回路の「動的」な側面、つまりそれらが、随意運動を含めたダイナミックな運動制御にどのように関わってい

るのかについては多くが不明なままである。この点を明らかにするため、我々は覚醒行動下のサル頸髄から単一ニューロン活動を記録し、脊髄反射を中継しているニューロンの随意運動中の活動パターンを調べている。本セミナーでは、このようなアプローチによって明らかにされつつある脊髄反射の新しい機能について時間の許す限り紹介したい。

36. Characterization of state-dependent conformational changes of Segment 6 of Nav1.5

channels linked to fast inactivation and intracellular pore formation

Mohamed Chahine (Professeur titulaire Le Centre de recherche Universite' Laval Robert-Giffard Que'bec, Canada)

(2008.2.28)

The membrane-spanning S6 segments of the cardiac Na channel (Nav1.5) harbor amino acids that form the cytoplasmic entrance of the channel and are important determinants of gating and pharmacology. Despite their functional significance, the S6 amino acids that line the cytoplasmic pore of the Nav1.5 channel have not been clearly established. To identify residues exposed within the aqueous

pore, cysteines were introduced into the S6 segment of the fourth homologous domain (DIVS6) and the mutant channels examined for sensitivity to a thiol-specific reagent (MTSET). Internally applied MTSET reduced the peak currents, induced hyperpolarizing shifts of steady-state availability, and slowed the recovery of the Y1767C and V1763C mutants. The MTSET inhibition of these cysteine mutants was

voltage-dependent and well correlated with the steady-state availability of the MTSET-modified channels suggesting a link between inactivation and MTSET modification. The role of inactivation was further investigated by transferring the DIVS6 cysteine mutations to an inactivation-deficient background created by replacing a conserved phenylalanine (F1486) of the DIII-DIV linker with cysteine (ICM) or IQM. Internal MTSET abolished the inactivation of the V1763C-ICM and Y1767C-ICM mutants and attenuated the MTSET inhibition. MTSET modification of a cysteine

introduced near the intracellular end of the DIVS6 segment (I1770C) disrupted fast inactivation suggesting that this region may contribute to a binding site for the inactivation gate. The data suggest that the docking of the inactivation gate near the cytoplasmic entrance of the channel induces a localized conformational change that regulates the aqueous accessibility of residues situated near the C-terminus of the DIVS6 segment. State-dependent changes in the pore lining have important implications for Na channel pharmacology.

37. Central Mesencephalic Reticular Formation Circuitry or the Tale of the Collicular Handmaiden

Paul May (米国ミシシッピー大学)

(2008.3.28)