

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
グループ共同研究実施報告書

〔研究分野：(2)運動の発現・制御の神経機構〕

1. グループ共同研究代表者

大阪大学・教授・岡村康司

2. 研究課題名

軸索起始部におけるイオンチャネル分布の分子制御機構

3. 日本側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

大阪大学・教授・岡村康司

生理学研究所・教授・久保義弘

岡崎統合バイオサイエンスセンター・准教授・東島眞一

生理学研究所・助教・中條浩一

大阪大学・助教・西野敦雄

大阪大学・助教・筒井秀和

明治薬科大学・助教・小川泰弘

大阪大学・助教・藤原祐一郎

大阪大学・特任研究員（ポスドク）・坂田宗平

4. 米国側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

Division of Neurology, Children's Hospital of Philadelphia (Present: Department of Neurology, Baylor College of Medicine) ・ Professor ・ Edward Cooper

Department of Neural and Pain Science, University of Maryland, Assistant Professor ・ Hiroaki Misonou

University of California at San Diego, Professor, Jack E. Dixon

Washington University, Professor, Jianmin Cui

Baylor College of Medicine, Professor, Matt Rasband

5. 研究期間 平成20年4月1日～平成23年3月31日

6. 研究の概要，成果及び意義（1000字）

神経細胞の興奮性の要である軸索起始部 (axon initial segment: AIS) での電位依存性イオンチャネルの集積機構を明らかにすることを目的とした。Nav チャンネルが AIS に集積するためには、細胞内領域 II-III リンカー部分のアンキリン結合モチーフとアンキリン G との相互作用が重要であることが明らかにされてきたが、集積の分子機構が node of Ranvier と AIS で共通であるのか、また K チャンネルの集積とどのように共役するのは、明らかでない。代表者の岡村らは、これまでホヤ Nav チャンネルやほ乳類 Nav1.6 チャンネルなど Nav チャンネルの cDNA クローニングを行い、細胞内領域にアンキリン G 結合モチーフが原索動物から、ほ乳類まで広く保存されていることを見いだしていた。一方、連携先の Edward Cooper 氏らは、これまで node of Ranvier と AIS に局在する K チャンネルとして KCNQ2/3 を報告し、この細胞内領域に、Nav チャンネルにみられるアンキリン結合モチーフが保存されていること、またこのモチーフが

実際の AIS や node への集積に必要であることを報告していた。

(1) 我々は、Cooper 氏らと協力し、様々な動物種の KCNQ2/3 チャンネルと Nav チャンネルの細胞内領域のアミノ酸配列、とくにミエリンをもたない原索動物、円口類からミエリンをもつ軟骨魚類での Nav チャンネルと KCNQ チャンネルを比較した。その結果、KCNQ2/3 のホモログ分子で、アンキリン結合モチーフを有する分子は円口類より高等の脊椎動物にしか存在せず、ミエリンをもつ生物にのみ存在することを明らかにした。また、抗体染色により、ミエリンを持たない円口類に Nav チャンネルの集積を示す AIS 様の構造が存在することを明らかにした。これにより、AIS と node of Ranvier は進化の過程で、複数のステップにより獲得され、Nav チャンネルの集積、その後ミエリンの獲得と KCNQ チャンネルの集積機構が獲得されたと推定される(ミエリンと KCNQ2/3 チャンネルの集積がどちらが先行していたかは不明)。また、このように AIS と node は起源が異なることから、その分子制御機構が異なることが推察される。これらの成果は 2008 年にオンラインジャーナルの PLoS Genetics に発表され、同じ号の Perspective の記事で取り上げられた。ホヤの神経系の Nav チャンネルがアンキリン依存的に集積するかどうか、また、AIS 様の構造がどの生物種までさかのぼれるかは、今後の課題である。

(2) この過程で明らかにされたホヤの KCNQ チャンネル(KCNQ1 グループ)の分子機能を解析し、ほ乳類のものとのゲーティング特性の相違を明らかにした(論文投稿中)。
Kv1チャンネルと結合する膜一回貫通型タンパク質ADAM22と結合する分子の解析

(3) Kv1チャンネルは軸索起始部、ジャクスタパラノード、pinceauシナプス領域に局在しており、そのいずれの場合も膜一回貫通型タンパク質であるADAM22とMAGUKsタンパク質であるPSD-95/93を介して結合している。そこで、ADAM22がKv1チャンネルに対しどのような機能を示すかを検討する目的で、ADAM22と結合する分子を免疫沈降により探索し、共発現系により実際に結合するかを検討した。現在、新規分子がKv1チャンネル-PSD-95/93-ADAM22複合体に対しどのような影響を及ぼすかを検討する目的でノックダウン法により解析している。(小川助教がRasband博士の研究室において実施)

(3) NavチャンネルとアンキリンGの結合の物理特性を明らかにするため、各Navチャンネルアイソフォームの細胞内領域のタンパクを大腸菌で合成し精製した。

7. その他(実施上の問題点, 特記事項等)

参考資料があれば, 添付ください。