



研究課題名 大脳棘シナプスと開口放出の2光子顕微鏡による研究

東京大学・大学院医学系研究科・教授 かせい はるお
河西 春郎

研究分野：神経科学

キーワード：シナプス、大脳、神経可塑性、脳機能イメージング、神経内分泌学

【研究の背景・目的】

大脳は心の住処と考えられている。即ち、心とは大脳を中心とする脳の高次機能のことである。最近の脳機能イメージングの研究は、様々の脳の高次機能が脳の各部位に局在している様子を明らかにしている。さて、それでは、各部位に局在する多様な脳高次機能、たとえば視覚や聴覚を担う脳の活動とは一体どういうものなのであろうか。これまでの、脳研究においては、それは脳を構成する神経回路の電気的活動に由来すると考えられてきた。神経細胞は長い軸索を出し多数の神経細胞をシナプスを作り、神経回路が構成される。この軸索を電気信号が走り、シナプスでそれが次の細胞に受け渡されることで、神経回路が活動する。しかしながら、この様な電気的活動は、麻酔下や睡眠時の様に意識されない状態でも見られ、電気的活動からのみ脳高次機能を理解することは困難に思われる。

我々は、神経回路の動作を決めるシナプスが、その結合強度を変えるとときに、秒単位で形を変え運動することを見出した。この様によく運動するシナプス（棘シナプス）は、大脳でとりわけよく発達している。この運動は、神経回路の動作を反映するシナプス前後の細胞の同期的発火でもよく誘発される。更に、この運動は時に長期化し、記憶の特性を満たす。シナプスは神経細胞に数千個存在し、その運動は、神経細胞の発火より遙かに多様な状態をコードすることができる。

これらの知見を受けて、脳機能を理解するためには、大脳の神経細胞の運動性の分子細胞基盤をより詳細に解明し、覚醒脳における神経運動の可視化作業を進める必要がある。

【研究の方法】

生きた脳組織の深部観察のためには、超短パルス光の非線形効果を用いる2光子顕微鏡の利用が不可欠であり、我々は、シナプス運動を観察する工夫を積み重ねる。更に、シナプスの運動性を調べるためには、個々のシナプスや神経を刺激する際に光を用いる、光刺激法が威力を発揮する。光刺激法には、神経伝達物質受容体を直接刺激するケイジド試薬、遺伝子導入が可能な種々の蛋白質(PA-GFP, ChR2, OptoXR, PA-smallGs)などが既にあるが、我々もその開発・応用に参加する。これらの手法を用いることにより、最終的には個体

脳において大域的なシナプス結合性の改変を行い、それによる動物行動や学習能への影響を調べる方法を構築する。

一方、覚醒した個体動物における、シナプスの運動を直接観察する実験系を構築し、その覚醒状態依存性、刺激特異性、神経突起特異性、変化の長期化の観察を行う。

更に、シナプスの速い運動の帰結を明らかにするために、シナプス運動時のシナプス前終末の機能、即ち、開口放出機能を調べる。これにより、シナプス運動には高次機能に関わる非古典的な作用があるか否かを検証する。

これらの、神経細胞の運動が精神疾患モデル動物でどの様に変化するかを調べる。

【期待される成果と意義】

これまでの脳機能、心、の理解は、神経細胞の電気的活動に基盤を置くものであった。我々の研究は、これに加えて、神経細胞の運動の果たす具体的な役割を可視化し、また、操作的に明らかにする。覚醒時の脳機能はこのシナプスの運動の影響を受けて、能動的に変化しているとすれば、神経運動の観察により局在化している脳機能の謎が解かれるかもしれない。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* **429**:761-766.

Tanaka, J., Horiike, Y., Matsuzaki, M., Miyazaki, T., Ellis-Davies, GCR & Kasai, H. (2008). Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines, *Science* **319**:1683-1687.

【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

430,900千円

ホームページ等

<http://www.bm2.m.u-tokyo.ac.jp>

hkasai@m.u-tokyo.ac.jp



研究課題名 **ゲノム伝達の中核にある染色体動原体の方向性を決める分子機構**

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授 **わたなべ よしのり**
渡邊 嘉典

研究分野：生物学

キーワード：遺伝学、ゲノム

【研究の背景・目的】

体細胞分裂過程では、ゲノム情報を担う染色体は、複製とそれに続く均等分裂によって正確に娘細胞へ受け継がれていく（図1）。この過程に間違いが起きると、細胞はアポトーシスにより死滅するか、あるいは癌化して個体の生命を脅かすことになる。一方、次の世代を生み出す生殖細胞では、減数分裂という特殊な染色体分配によって、最終的に一組の染色体の組み合わせをもつ半数体の配偶子（卵および精子）が形成される（図1）。ヒトの先天性疾患であるダウン症候群および早期流産の多くが、この減数分裂の染色体分配異常に起因する。染色体分配の制御機構を分子レベルで理解することは、基礎生物学および基礎医学いずれの見地からもきわめて重要な意義をもつ。

我々の分裂酵母の研究から、減数分裂のときに動原体の一方方向性を決定する過程で、動原体タンパク質 Moa1 やコヒーシン Rec8 などの働きによりセントロメア中央領域の染色体接着が確立されることが重要であることが示唆された（図1）。本研究で、その具体的な分子機構を解明する。また、マウスの新規動原体因子の解析を進めることにより、分裂酵母で明らかになったコンセプトについてその保存性を検証する。さらに、セントロメアの接着の保護に必要なタンパク質シュゴシン Sgo1 の制御機構および新たな分子機能を解明し、動原体が正しく二方向を確立する分子機構の根本原理の解明を目指す。

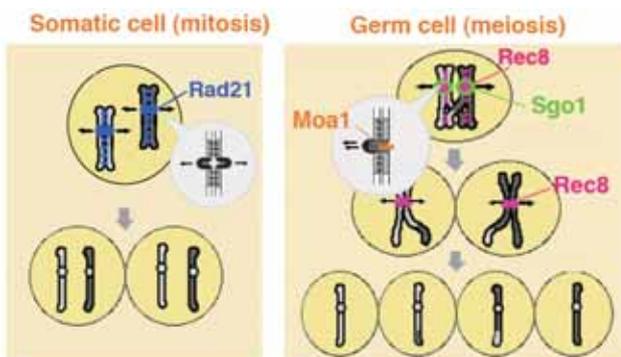


図1 体細胞分裂と減数分裂の染色体分配の違いとそこに関わる制御因子

【研究の方法】

分裂酵母の動原体の一方方向性を決定づけるタンパク質 Moa1 の分子機能を、分子遺伝学的手法を駆使して解明する。さらに、マウスの生殖細胞から、減数分裂特異的な動原体因子を検索・単離し、ノックアウトマウス作製などによりそれらの因子の分子機能を明らかにする。その際、分裂酵母で明らかになってきた分子機構が、高等動物でどこまで保存されているかが一つの焦点となる。

オーロラキナーゼは動原体とスピンドル微小管の結合の制御の中核を担っている。分裂酵母では、オーロラキナーゼのセントロメア局在がシュゴシンに依存しているため、そこに関わる分子機構を解明し、動物細胞でもこの制御の普遍性を検証する。さらに、分子遺伝学的手法が駆使できる分裂酵母および細胞生物学的手法に長けた動物細胞を用いて、シュゴシンのセントロメア局在化機構を分子レベルで明らかにする。

【期待される成果と意義】

動原体の一方方向性の制御および、シュゴシンに依存した動原体の二方向性の保証のメカニズムを解明するという二つの柱となる研究を推し進め、さらに動物における対応する解析を並行して推進することにより、真核生物一般に保存された動原体の方向性制御の根本原理が解明されることが期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Yamagishi, Y., Sakuno T., Shimura, M. and Watanabe, Y. Heterochromatin links to centromeric protection by recruiting shugoshin *Nature* 455, 251-255 (2008).
- ・ Yokobayashi, S. and Watanabe, Y. The kinetochore protein Moa1 enables cohesion-mediated monopolar attachment at meiosis I. *Cell* 123, 803-817 (2005).

【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

362,400千円

ホームページ等

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/watanabe-lab/ywatanab@iam.u-tokyo.ac.jp>



研究課題名 一分子生理学を超えて：
生体分子機械を力で優しく働かせる

早稲田大学・理工学術院・教授

きのした かずひこ
木下 一彦

研究分野：生物学・生物科学・生物物理学

キーワード：1分子計測・操作、タンパク質・核酸の構造・動態・機能、ナノマシン

【研究の背景・目的】

たんぱく質ないしRNAでできた「分子機械」、たとえば体の中でのくるくる回りながらエネルギー源であるATPを合成しているATP合成酵素、あるいは神経を伝わる電気信号を作り出すイオンチャネル、などが働く仕掛けを知りたい。そのために最も有効な手段として、分子一個が働いているところをその場観察し、必要なら力を加えて応答を観るという「一分子生理学」を、標榜し実践してきた。しかし、観るだけだと仕掛けの想像は出来ても決め手に乏しく、また従来の一分子生理学における力の加え方は、分子機械を壊す・止める・邪魔する、といった負の作用が大部分であった。

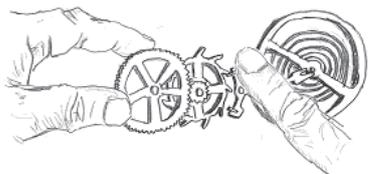


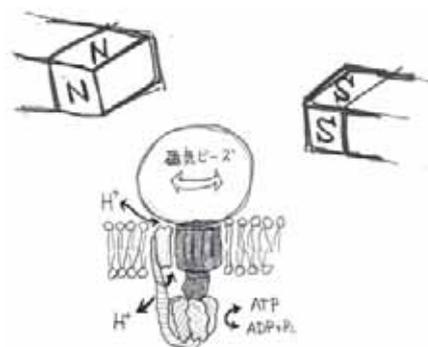
図1. 機械仕掛けの時計の心臓部を探る。

そこで、本研究では、外からかけた力によって分子機械を働かせてみるにより、仕掛けを理解する。たとえば、ヒトが機械時計が時を刻む仕組みを探るとしたら、ゼンマイの代わりに左手で力を加え、右手でテンプと呼ばれる心臓部をそっと動かしてみるだろう(図1)。そっと優しく力を加えるのがこつで、正しい場所に正しい方向に力を加えればすっと動き、間違えれば指先が教えてくれる。これを分子機械を相手に行うことにより、一気に仕掛けの核心に迫ろうというのが、本提案である。電位差やATPなどの、分子機械の本来の駆動力源を無くしてしまったり、あるいは分子機械の大事な部品を取り去ってしまったり、ヒトの加える力で代替できないかを問う。困難だが、うまくいけば誰もが納得できる答えが得られよう。

【研究の方法】

これまで我々が提唱してきた一分子生理学は、対象となるナノメートルサイズの分子機械に、マイクロメートルサイズの巨大な目印(プラスチックビーズなど)を付けてやり、その動きを光学顕微鏡下で直視するものであった。本研究では、巨大目印に光ピンセットや磁気ピンセットを通じて微少な力をかけてやり、その力で分子機械を働か

せてやる。たとえば図2のようにATP合成酵素の回転子に磁気ビーズ(実際は図より遙かに大きい)を付けてやり、磁石で回転させてやることにより、ATP



を合成させたり水素イオン(H⁺)をポンプしたりさせる。弱い力で回すことにより、分子機械の出す(抵抗する)力も分かる。

図2. 磁石で回して働かせる。

【期待される成果と意義】

一分子生理学の立ち上げを初めとして、非常に困難だが面白く、成功すれば意義深い課題に挑戦してきたのが、日本の生物物理学である。新たな高みとして、「力で動かしてやる一分子生理学」へのルートを開くことを目指す。

分子機械の部品間、さらに分子機械同士の作用の伝達に力がどう働くか、分子機械に共通する一般原理を提示したい。同時に、外力の補助により新しい機能を生み出すことも試みる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- S. Furuike *et al.* "Axle-less F₁-ATPase rotates in the correct direction" *Science*, 319, 955-958 (2008).
- K. Adachi *et al.* "Coupling of rotation and catalysis in F₁-ATPase revealed by single-molecule imaging and manipulation" *Cell*, 130 309-321 (2007).
- K. Shiroguchi & K. Kinosita, Jr. "Myosin V walks by lever action and Brownian motion" *Science*, 316 1208-1212 (2007).

【研究期間と研究経費】

平成21年度-25年度

474,900千円

ホームページ等

<http://www.k2.phys.waseda.ac.jp>



研究課題名 プロテアソームを基軸としたタンパク質分解系の包括的研究

(財)東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・所長代行

たなか けいじ

田中 啓二

研究分野：生物系・生物学・生物科学・細胞生物学

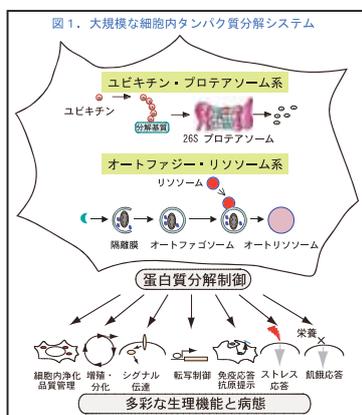
キーワード：タンパク質分解

【研究の背景・目的】

今日「タンパク質分解」は、20世紀後半に爆発的に進展したセントラルドグマに象徴される「タンパク質合成」と同等に生命科学研究の中樞を占めるに至っている。細胞内の大規模なタンパク質分解系はユビキチン・プロテアソームシステムとオートファジー・リソソームシステムから構成されており(図1参照)、これらをコードする遺伝子群はゲノム遺伝子総数の約3%を占める。細胞内のタンパク質分解系は、生命活動の作動原理や多彩な病態生理学的機能に密接に関係しており、生命の謎を解くキープレイヤーであると共に健康を守るための生体監視システムとしても重要な役割を担っている。われわれは四半世紀以上に亘りタンパク質分解の全貌解明のために分子から個体レベルに至る幅広い研究に邁進してきた。その結果、タンパク質分解の理解は徐々に深まり、タンパク質分解の重要性は、今日、生命科学の隅々に幅広く浸透し、タンパク質分解研究は未曾有の発展を遂げている。しかしタンパク質分解の生命活動における役割については、なお未解明な謎が山積しており、本課題はそれらの謎の解明に向けて邁進する。具体的には、プロテアソームを基軸にユビキチン・オートファジーを含めたタンパク質分解の包括的研究を多面的に展開する。

【研究の方法】

プロテアソームと物理的に相互作用する機能未知なPIPs(Proteasome Interacting Proteins)やユビキチン・オートファジーを制御する新規因子群について、主として超高感度プロテオミクス法や酵母の遺伝学的手法を用いて解析する。さらにプロテアソームの転写量・形成・活性・局在などがどのように制御されているかを包括的に解明するために、これらをモニターすることが可能な培養細胞系を樹立し、ゲノムワイドなRNAiスクリーニングにより、プロテアソームの動態を制御する



生物学的に重要な新しい因子群の網羅的探索・同定を行う。取得した新規分子については、マウス遺伝学を基盤にした分子遺伝学的方法で病態生理機能を解明すると共に重要分子については構造生物学的手法を駆使して原子レベルで作用機構を明らかにする。

【期待される成果と意義】

① プロテアソームに関する研究

生命科学史上他に類を見ない巨大で複雑な複合体であるプロテアソームの分子構造と形成機構の全容解明を成し遂げることで、他の重要な超分子集合体の生物学的意義の解明へと波及効果が期待される。また免疫プロテアソームや胸腺プロテアソームなど多様性の解析及び細胞内における動態解析は、生命の謎に迫ると共に健康科学の発展に大きく貢献することが期待される。

② ユビキチンに関する研究

ユビキチン連結酵素である Parkin (若年性パーキンソン病の責任遺伝子産物)の作用機構を通してパーキンソン病の発症機構を解明する。その他、ユビキチン代謝系の多彩な役割を分子レベルで解析しその破綻で発症する疾病の解明に向けた研究に取り組む。

③ オートファジーに関する研究

われわれが作出した多数の組織特異的オートファジー欠損マウスを駆使してオートファジーの多面的な役割を解明すると共にわれわれが見出した‘選択的オートファジー’の作動機構を個体レベルで解析する。そしてオートファジーの不具合で発症する癌・神経変性疾患をはじめとする様々なヒト難病の病態解明と治療法開発のための分子基盤を確立することを目標とする。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Murata, S. et al., Regulation of CD8⁺ T cell development by thymus-specific proteasomes. *Science* 316, 1349-1353 (2007)

Murata, S., Yashiroda, H., and Tanaka, K., Molecular mechanisms of proteasome assembly. *Nature Rev Mol Cell Biol* 10, 104-115 (2009)

【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度
621,000千円

ホームページ等

<http://www.rinshoken.or.jp>

Email: tanaka-kj@igakuken.or.jp