

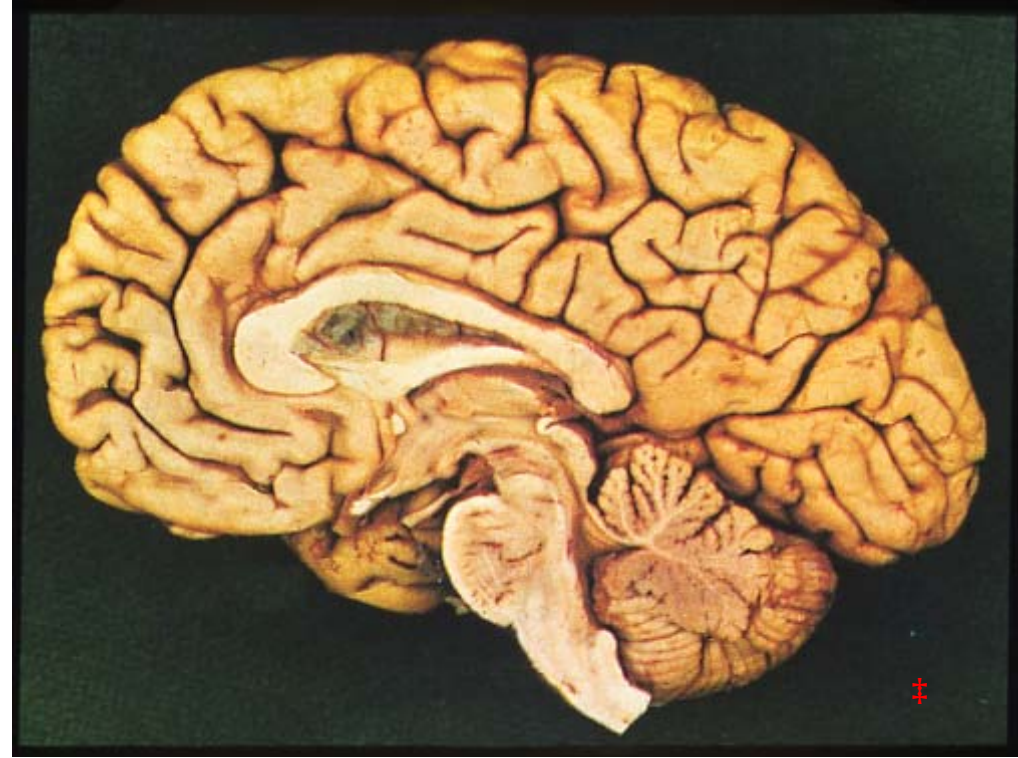
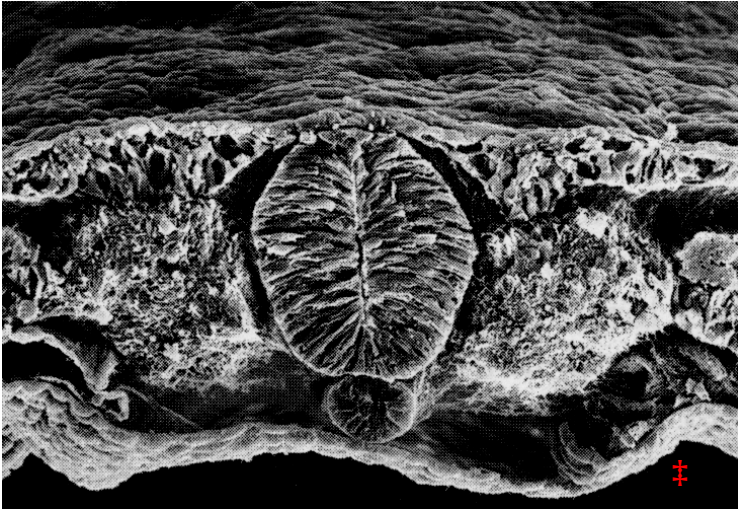
中枢神経系の発生・分化機構の解析

御子柴克彦

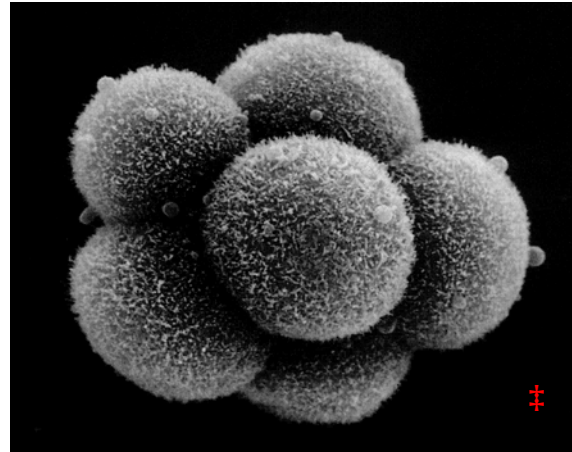
東京大学医科学研究所
脳神経発生・分化分野

※:このマークが付してある著作物は、第三者が有する著作物ですので、同著作物の再使用、同著作物の二次的著作物の創作等については、著作権者より直接使用許諾を得る必要があります。

Understanding the molecular basis of neural development



Molecular
biology,
Biochemistry,
Biophysics,
Structure biology



NORMAL



ABNORMAL

• *Normal* 正常 — *Abnormal* 異常

• *Health* 健康 — *Disease* 病気

著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
「ミュータントマウスの写真」
を省略させていただきます。

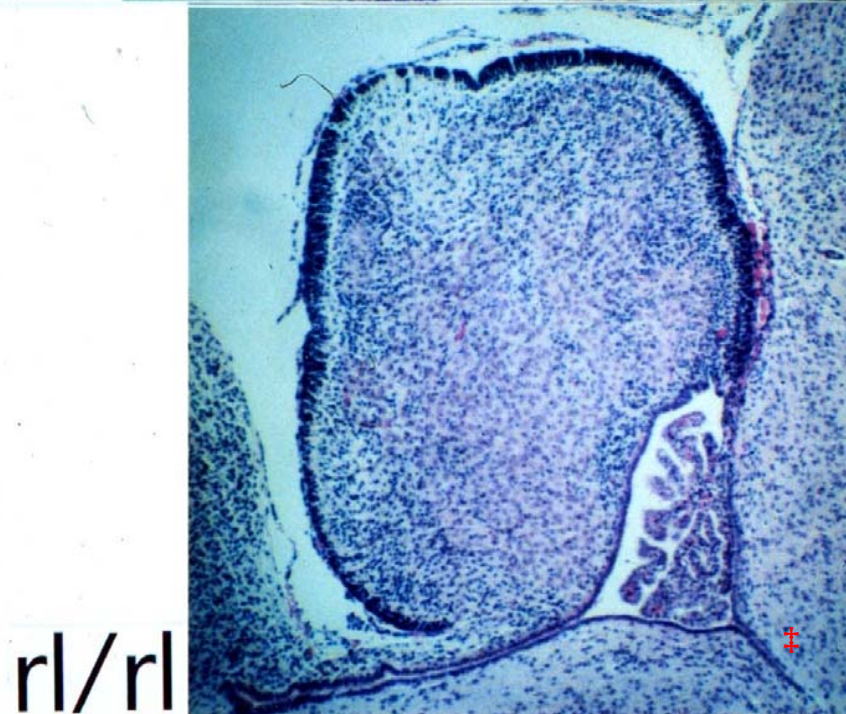
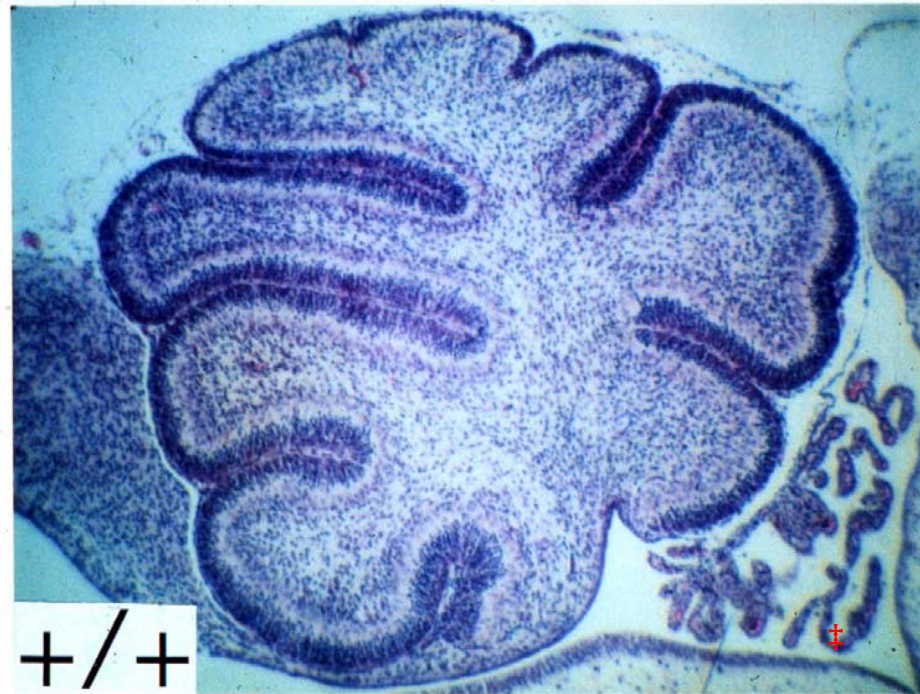
小脳失調ミュータントマウス
分子異常—形態異常—機能異常の
関連付けが可能

1. 神経細胞の位置決定と脳の皺形成
2. Zic遺伝子の発見とその解析
3. IP₃ receptorの発見とその解析



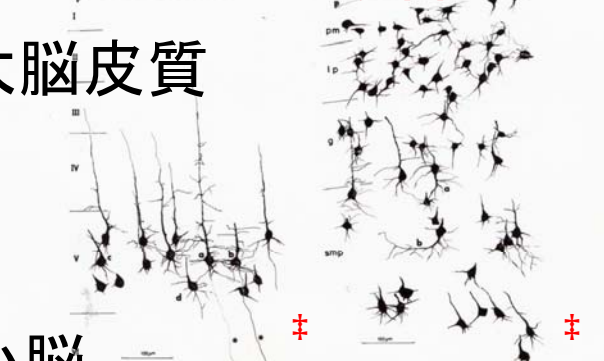
脳の皺はどのように
して作られるか？
神経細胞の位置はど
のように決まるか？

滑脳症 Lissencephaly
(ヒト、マウス)
リーラーマウス
よたリマウス

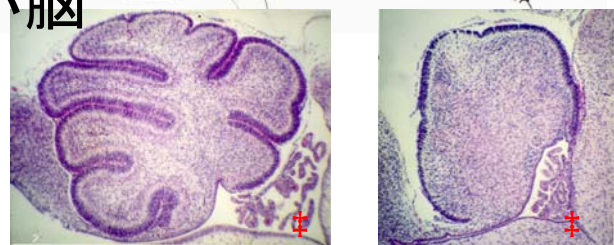


脳の皺が無く、神経細胞の位置が異常のマウスの解析

大脳皮質

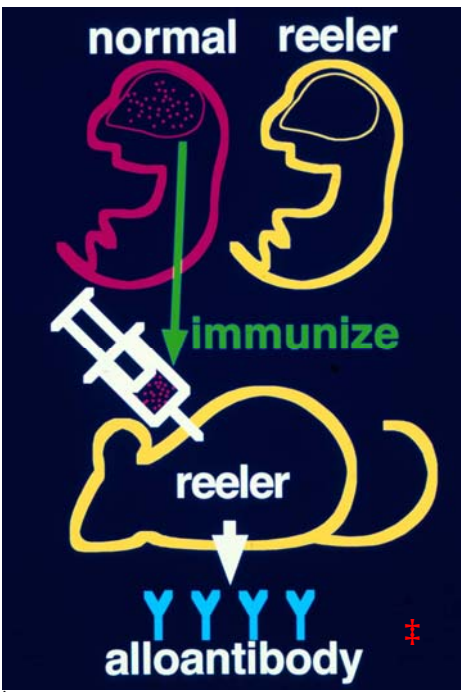


小脳



正常マウス

リーラー
(脳皺形成なし)
(神経細胞の位置異常)

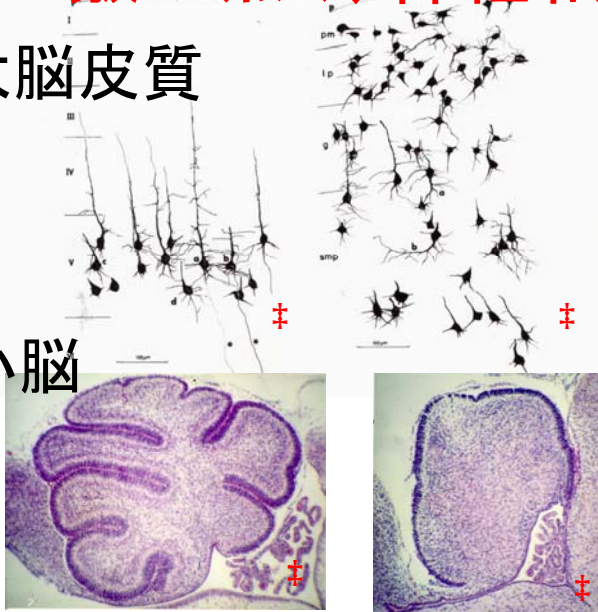


リーラーマウスに正常マウス脳を免疫して遺伝子産物(リーリン)に対する抗体を作成し遺伝子を同定して、分子生物学的研究の突破口となった (Neuron 1995)

脳の皺が無く、神経細胞の位置が異常のマウスの解析

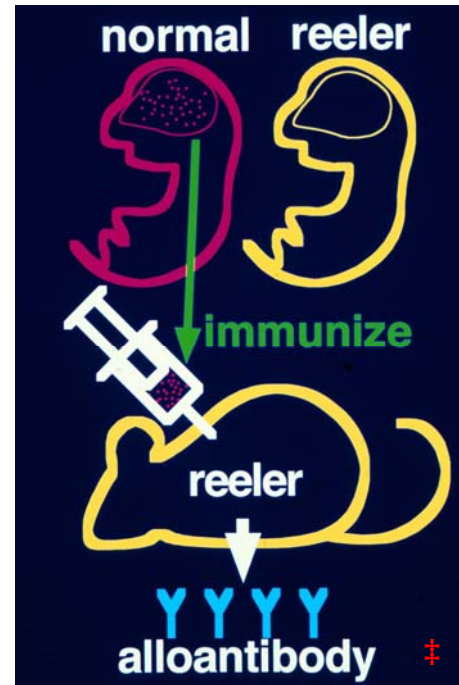
大脳皮質

小脳



正常マウス

リーラー
(脳皺形成なし)
(神経細胞の位置異常)



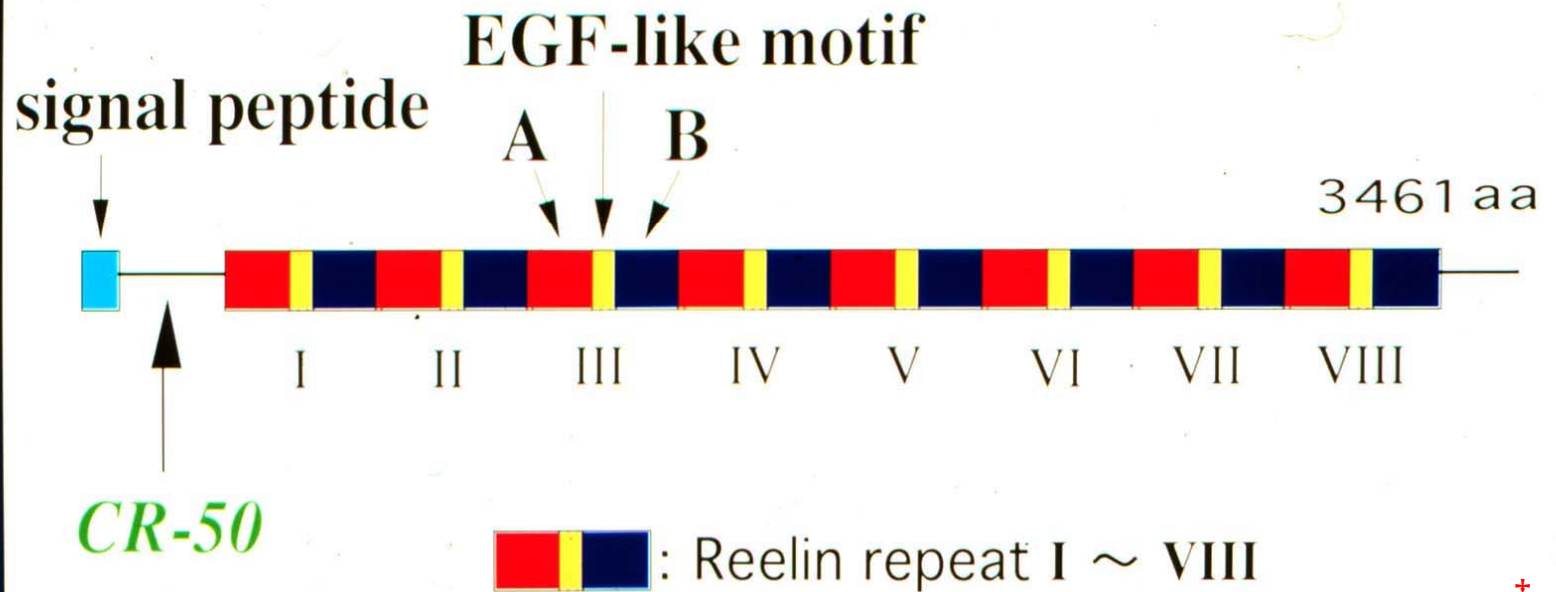
ヨタリ (Yotari) ミュータント
トマウスの発見・命名

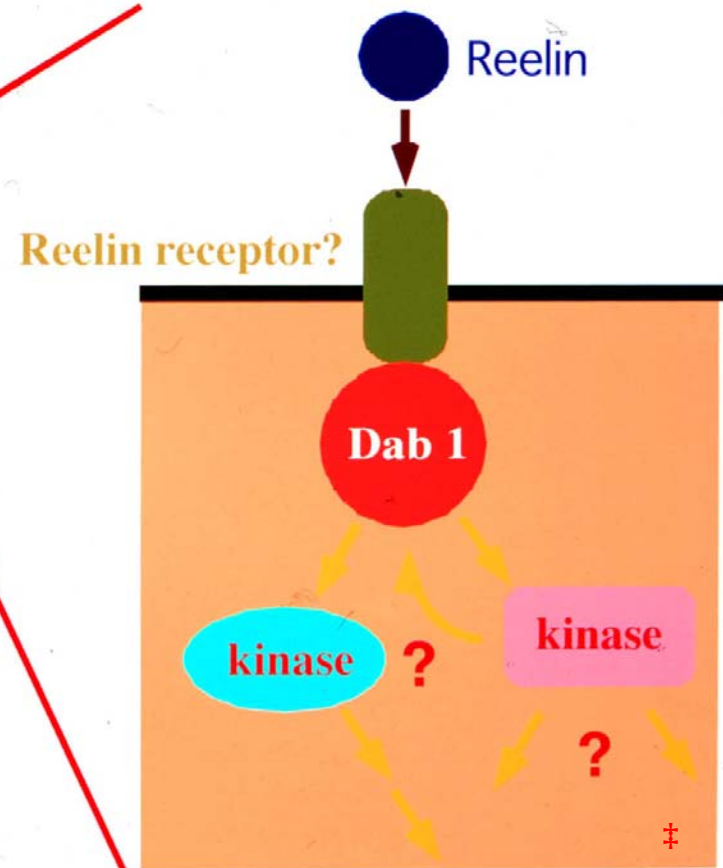
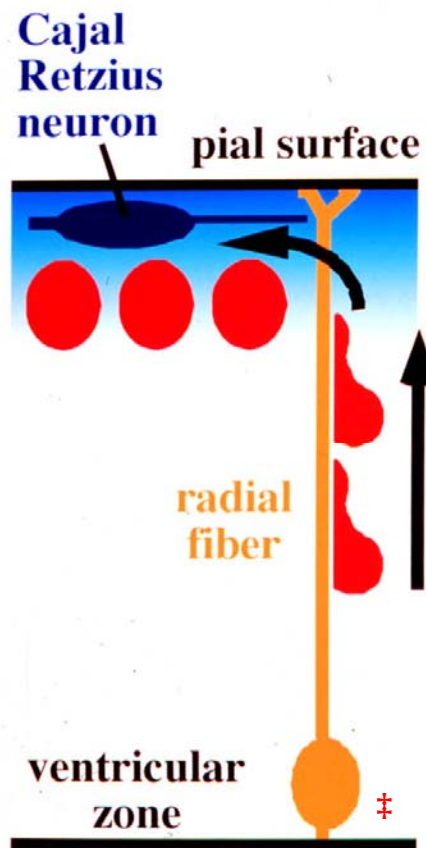
- 1) 脳の皺形成なし
- 2) リーリン の下流
- 3) *disabled-1* (Src, Abl and Fyn チロシンキナーゼのアダプター蛋白質の変異)

(Nature 389 730-733 1997)

リーラーマウスに正常マウス脳を免疫して遺伝子産物(リーリン)に対する抗体を作成し遺伝子を同定して、分子生物学的研究の突破口となった (Neuron 1995)

Reelin structure





1. 神経細胞の位置決定と脳の皺形成
2. Zic遺伝子の発見とその解析
3. IP₃ receptorの発見とその解析

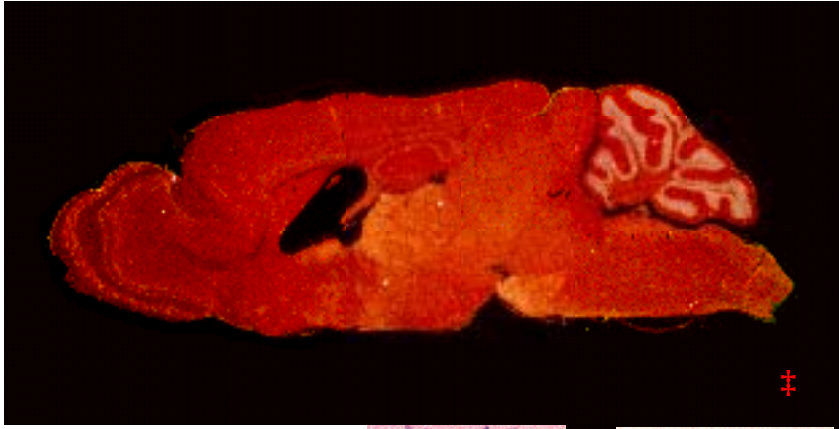
Zic (**Z**inc finger protein enriched in the **c**erebellum)

Odd-paired (*Drosophila*
homologue, single gene)
regulates *wingless* and
engrailed

Wingless----*Wnt* (vertebrate)

Engrailed----*En* (vertebrate)

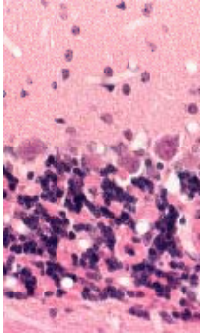
Zic (*Z*inc *f*inger protein of the *c*erebellum)



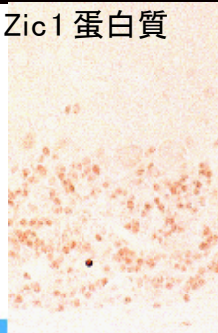
Molecular layer

Purkinje cell layer

Granule cell layer



Zic1 蛋白質



(C2H2)x5
Zinc Finger Domain

Mouse

Zic1



Zic2



Zic3



Zic4



Zic5

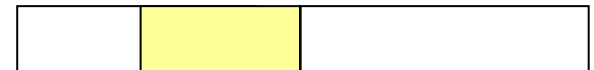


Drosophila
odd-paired
(single gene)



Odd-paired modulates gene expression of **wingless** and **engrailed**.

Gli1-3



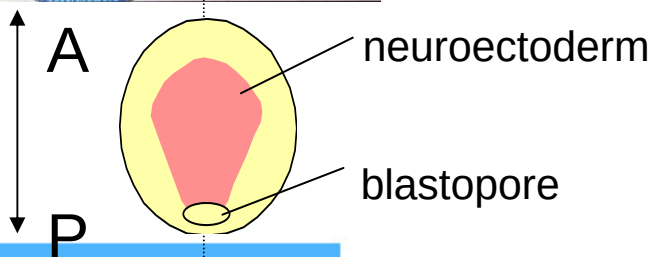
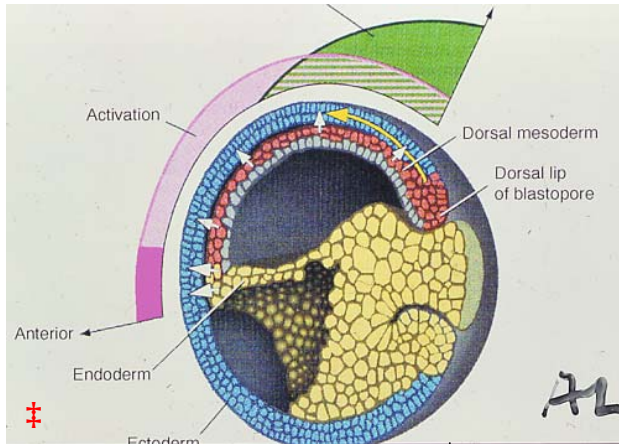
Gli mediates hedgehog signal as a transcriptional regulator.

Zic 欠損に伴う脳の形態形成異常

- ・ 小脳のパターン形成に関わる *Zic 1*
- ・ 中枢神経系全体の発生を制御する *Zic 2*
- ・ 左右軸を決定する *Zic 3*

神経外胚葉の分化（神経誘導）

Neuroectodermal differentiation (neural induction)

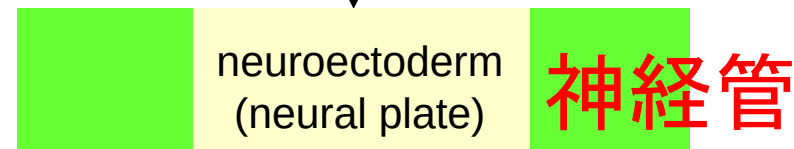
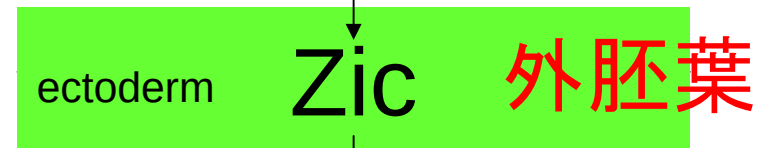


neural inducer

Noggin

Chordin

Follistatin



“proneural gene”

NeuroD

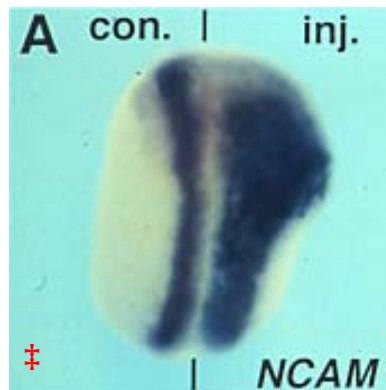
Neurogenin

Ash etc

Neuronal differentiation

Zic は神経外胚葉の分化を促進する

Zic1 was overexpressed in the right side

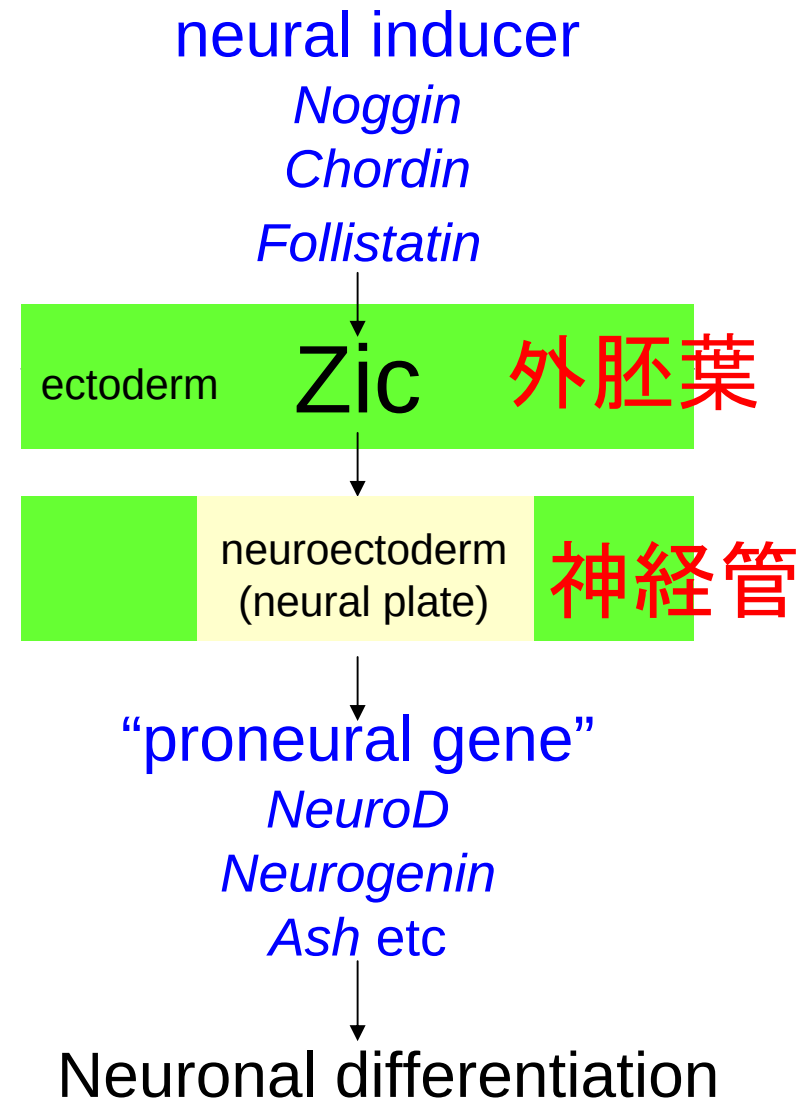


neuroectodermal
marker

(dorsal view of *Xenopus* neurula)



epidermal
marker



Zic 欠損に伴う脳の形態形成異常

- ・ 小脳のパターン形成に関わる *Zic 1*
- ・ 中枢神経系全体の発生を制御する *Zic 2*
- ・ 左右軸を決定する *Zic 3*

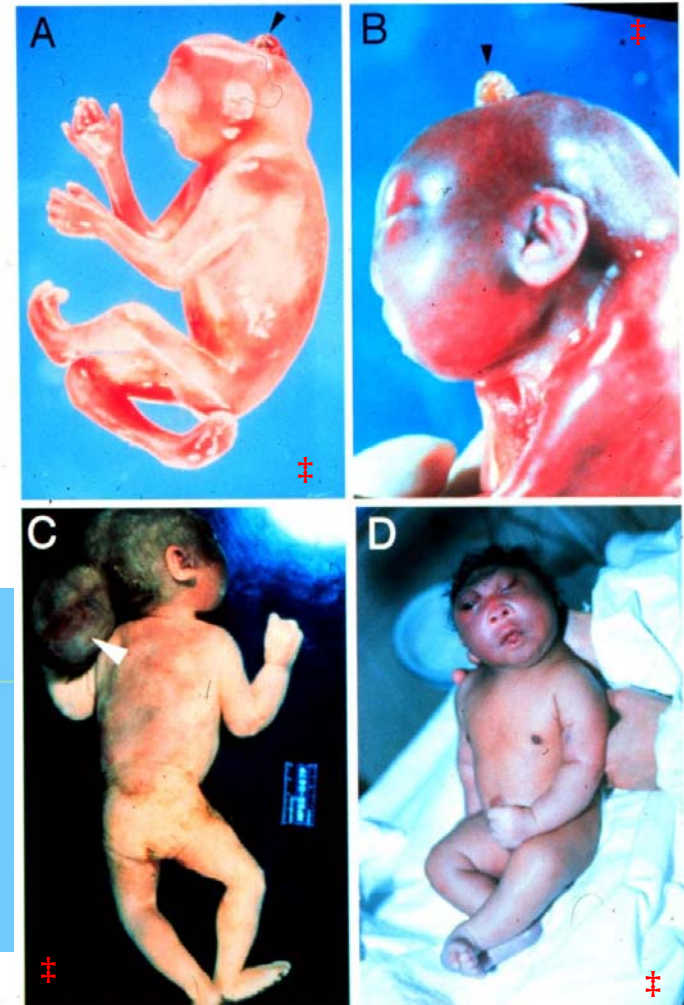
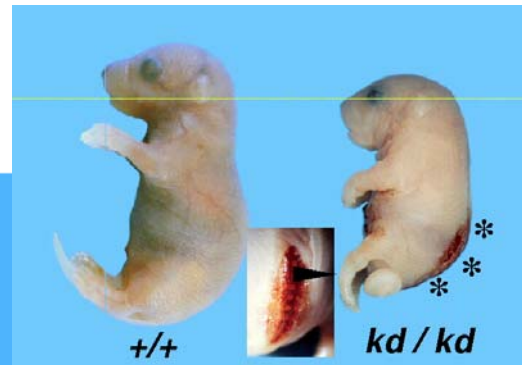
Zic の異常による形態異常

PNAS 97 1618-1623 2000

遺伝子欠損マウス

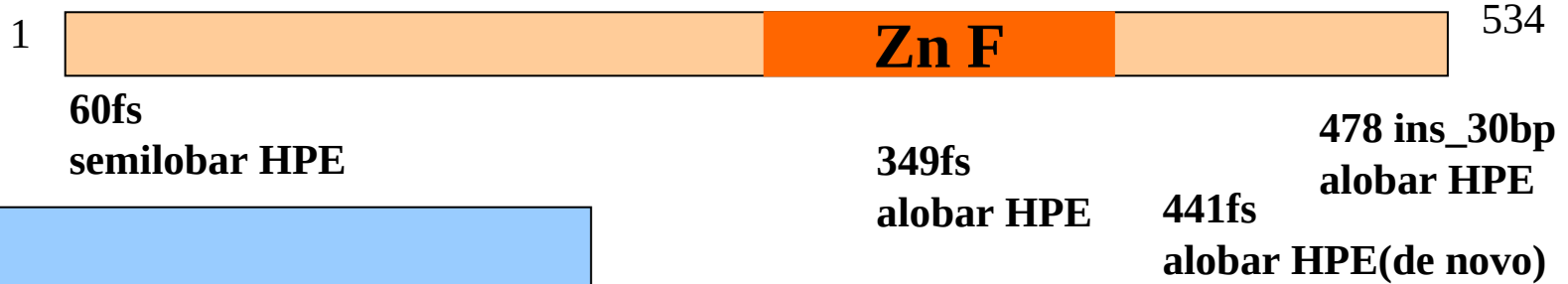
13q deletion syndrome

著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
「遺伝子欠損マウスの写真」
を省略させていただきます。



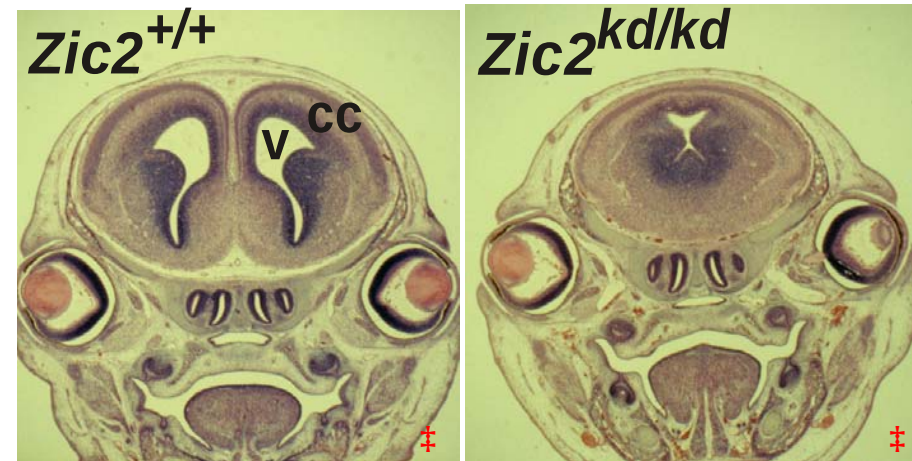
(From Brown, 1993, Courtesy of S. Brown)

Human ZIC2 is a causal gene of holoprosencephaly (全前脳症)



著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
論文画像
を省略させていただきます。

Brown et al., Nat.Genet,20,180-183 (1998)



Zic2 mutant mice show a similar phenotype to holoprosencephaly.

Nagai et al., PNAS, 97, 1618 (2000)

Zic 欠損に伴う脳の形態形成異常

- ・ 小脳のパターン形成に関わる *Zic 1*
- ・ 中枢神経系全体の発生を制御する *Zic 2*
- ・ 左右軸を決定する *Zic 3*

Zic 3は左右の決定に関わる

(Kitaguchi et al. Development 127 4787-4795 2000)

Zic 3 の異常: Situs inversus 内臓逆位

Situs ambiguus 内臓不定位

**X-linked situs abnormality results from mutations in
Zic 3 (Nature Genetics 17, 305-308 1997)**

著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
論文画像
を省略させていただきます。

Zic (**Z**inc finger protein enriched in the **c**erebellum)

小脳顆粒細胞に豊富なタンパクとして発見して命名した

Zic1: 小脳のパターン形成異常

Zic3: 内臓の左右逆位

(*Development* 2000)

Zic2:

a) 立体視障害 (*Cell* 2003)

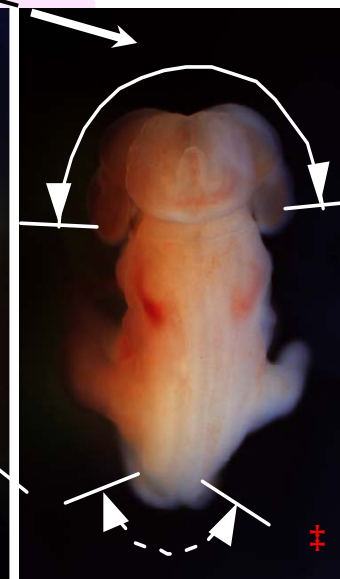
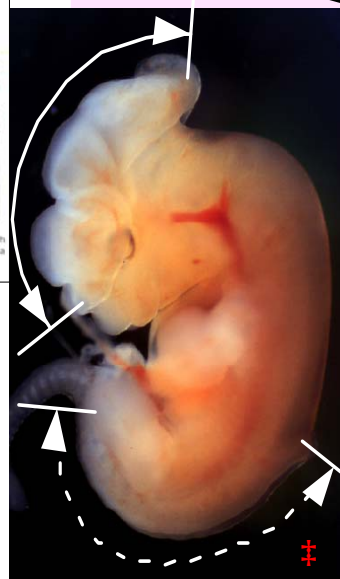
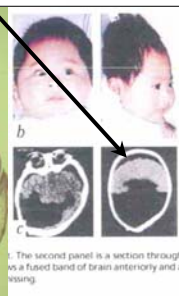
b) 外脳症 (*PNAS* 2000)

c) 全前脳症(中隔欠損)(*PNAS* 2000)

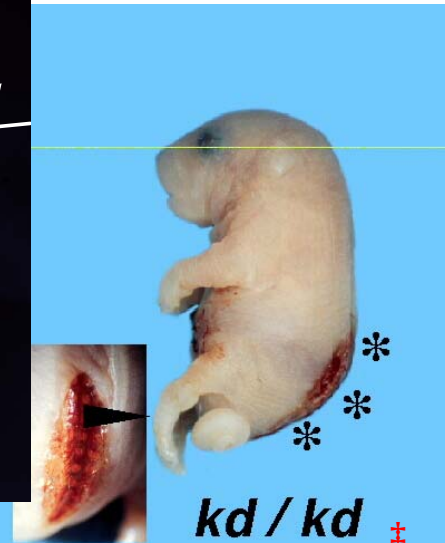
13q deletion syndrome



(From Brown, 1993, Courtesy of S. Brown)



+/+



kd / kd

Zic2ノックアウトマウス

1. 神経細胞の位置決定と脳の皺形成
2. Zic遺伝子の発見とその解析
3. IP_3 receptorの発見とその解析

突然変異により生まれた小脳失調症マウス

—行動異常—

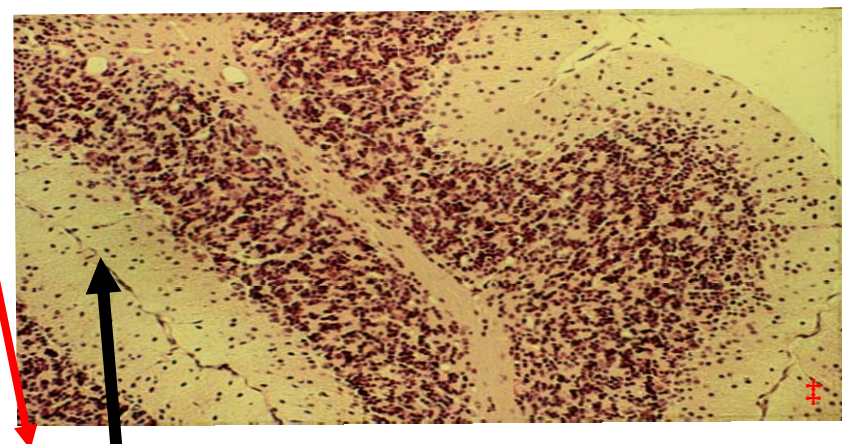
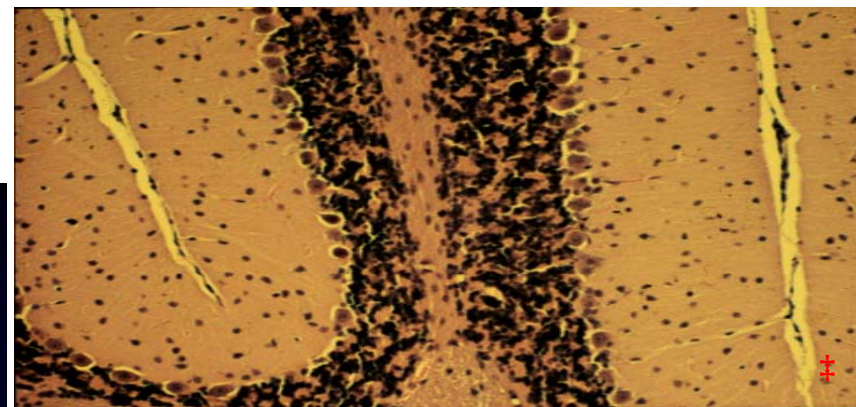
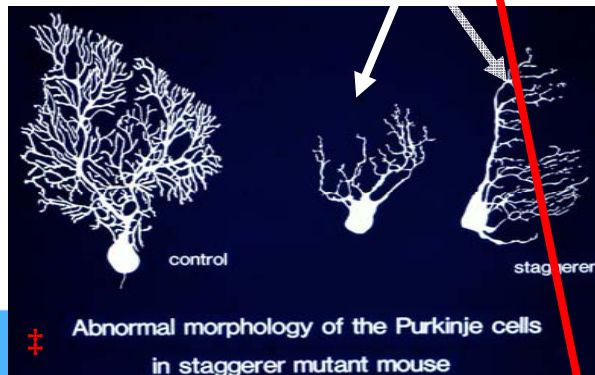
—形態形成異常—

—タンパク質異常—

(欠損タンパク質の検索)

シナプス欠損(樹状突起発育不全)マウス

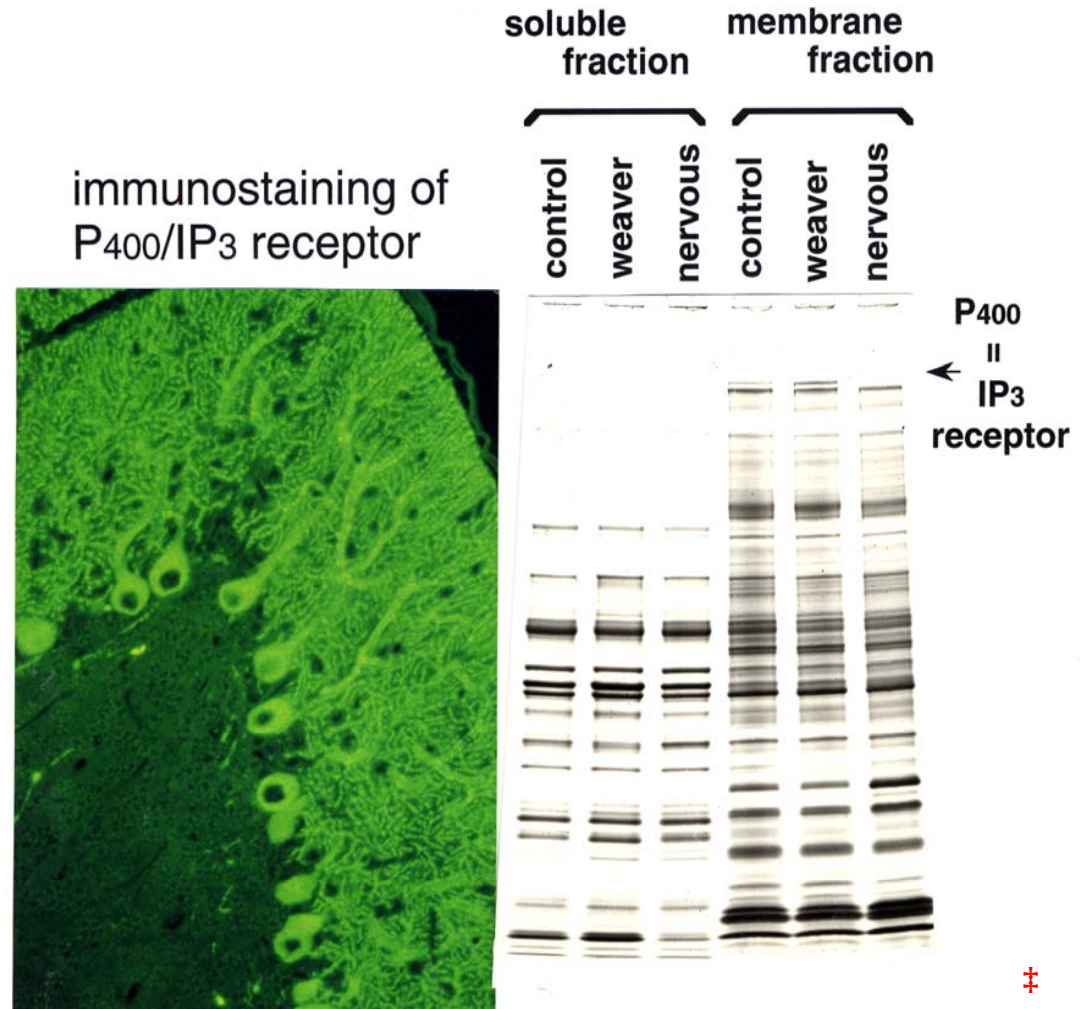
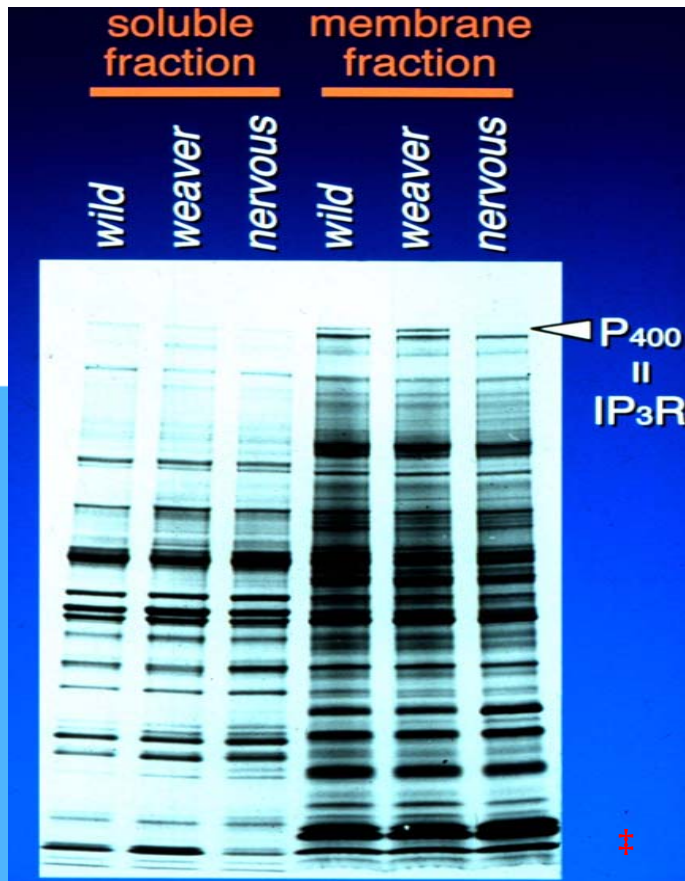
正常 P400欠失



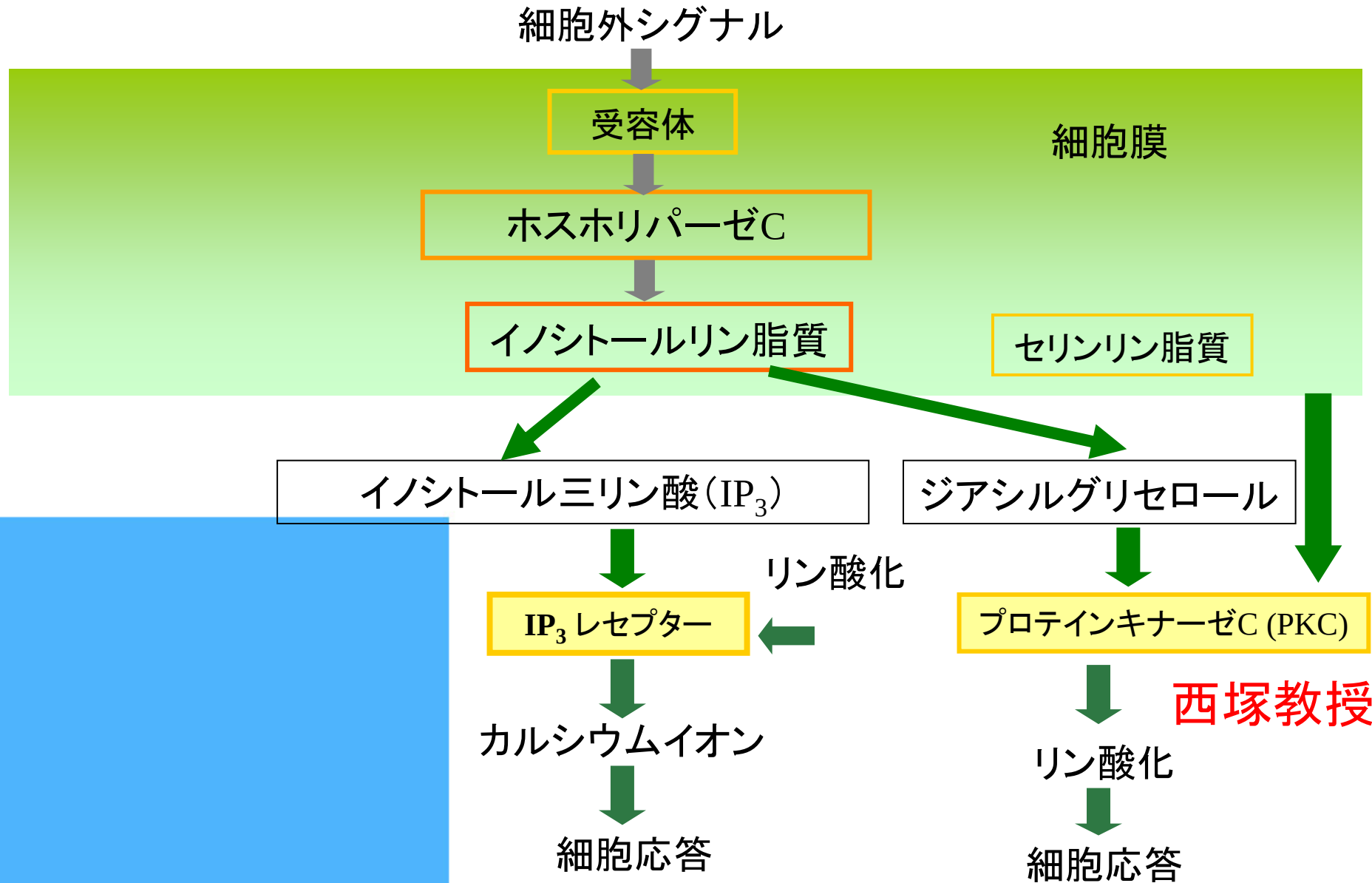
Purkinje細胞欠損マウス
(nervous, pcd)

P400 と IP₃ Receptorは同一分子

(*Nature* 342 32-38 1989, *EMBO J.* 61-67 1990)



IP₃レセプターとプロテインキナーゼCの活性化機構



IP₃ RECEPTOR の発見と解析の歩み

P400 (IP₃ receptor): 発達特異的なリン酸化・糖蛋白質として解析
御子柴ら 1977

ミトコンドリア以外の部位からのIP₃によるカルシウム放出

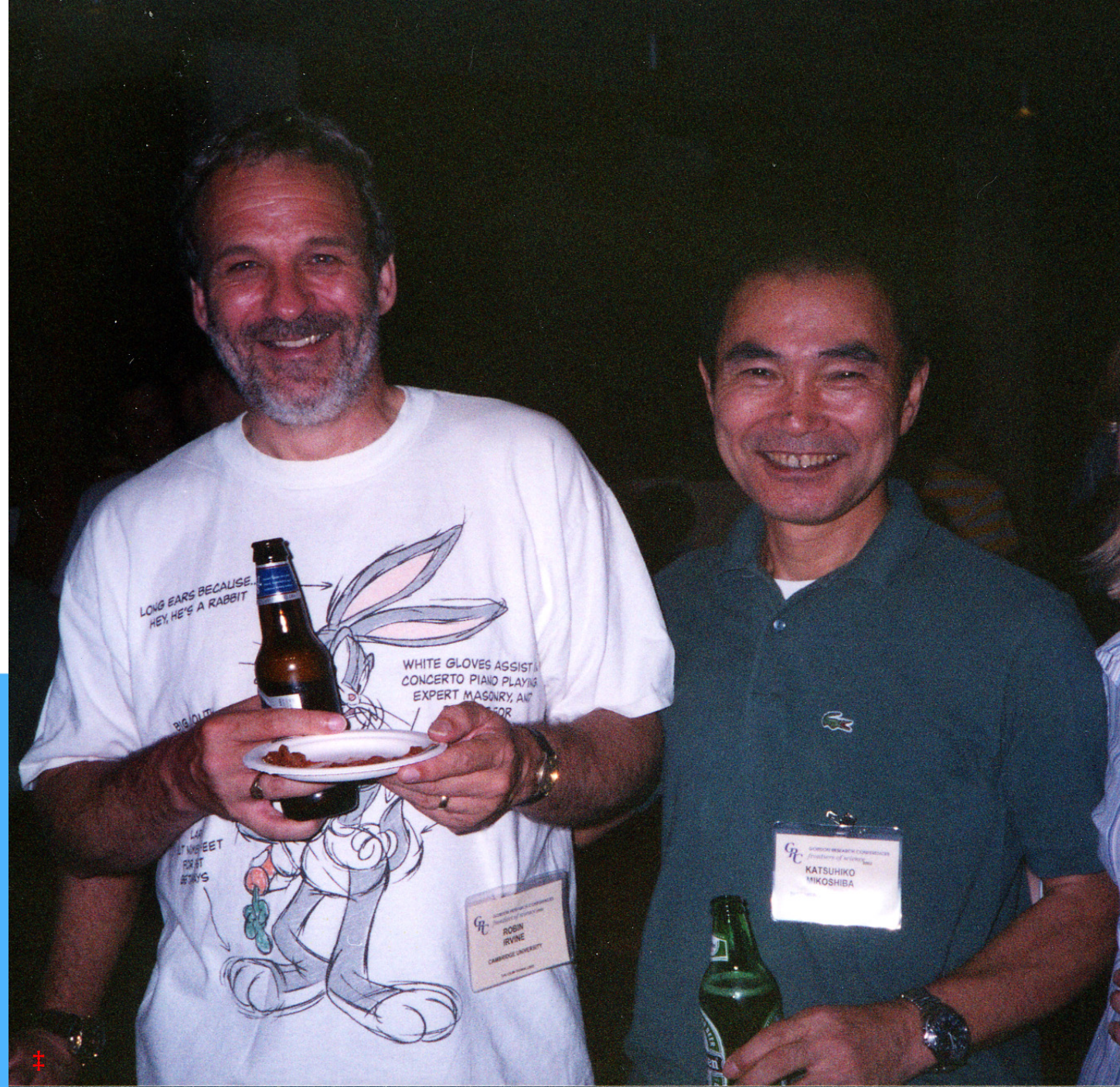
ベーリッジら 1983

GP-A : シナプス部位の糖タンパク質 ケリー 1984

PCPP-260 : リン酸化タンパク質 グリーンガード 1986

P400 は IP₃ Receptorであることを発見。
cDNA cloningして
全長決定(1989(Nature))して、カルシウム・チャンネル
であることを証明(1991(J. Biol. Chem.)90
(Neuron))。





LONG EARS BECAUSE
HEY, HE'S A RABBIT

WHITE GLOVES ASSIST IN
CONCERTO PIANO PLAYING
EXPERT MASONRY, AND
FOR

ROBIN
IRVINE
CAMBRIDGE UNIVERSITY

KATSUHIKO
MIKOSHIBA
CAMBRIDGE UNIVERSITY

P400とIP3 receptor を結びつけるに至った経過

1) シナプス欠損(樹状突起発育不全)マウスのプルキンエ細胞(スタゲラー・マウス、staggerer mouse)でカルシウムスパイクが無いことが電気生理学の研究室から報告された (Crepel et al. J. Physiol 1984)

———— P400とカルシウムとの関係を想定した。

小脳に多いタンパク質として当時カルシウム結合タンパク質が多く報告されていた。しかしそれらの殆どは水溶性で低分子であった——これらではなさそう

2) IP3がセカンドメッセンジャーとしてカルシウムを放出することが報告された(ベアリッジら1983)。

IP3結合活性は小脳が最も高い。P400も小脳に多い。

以上の情報からP400とIP3 レセプターとの関係を想定した。

=====

P400 とIP3結合タンパク質との関係を調べるため、次の実験を行った (1983–1989)年頃。

実験2

P400 とIP3 結合タンパク質との同一性の生化学的証明

1) 特異的**モノクローナル抗体**の作成に成功した。(是非とも**特異的抗体**を得たかったため、**2年半**かけて**モノクローナル抗体**を得ることに**執着**した)

(一般の人達はバンドをゲルから切り出しウサギに免疫していた
——特異性が疑わしい)

そこで精製したP400 をマウスに免疫して、プルキンエ細胞欠損マウスのhomogenate をもちいて、**ウェスタンblotting** で**抗体のスクリーニング**を2年半かけて**自分の研究室**で行った(阪大タンパク研時代)。

2)「**P400**は強い条件で精製したため**IP3**を結合する**活性ない**」

そのため、IP3 receptorとの関連の直接の手がかりなし。

3) そこでIP3結合タンパク質を精製して、それとP400との**同一性を抗体をもちいて調べる**ことにした。
(アイソトープ・ラベルしたIP3を用いて**IP3 結合を指標**にしてタンパク質の精製に**1年**費やした)

4) 各精製過程で、**IP3結合活性**とP400モノクローナル**抗体**は反 応した

5) **最終精製産物**はP400モノクローナル**抗体**と反応した

6) P400モノクローナル**抗体**により、**IP3 結合能**も沈降した。

以上の結果よりP400=IP3結合タンパク質と結論した。

一方、平行して進めていたプロジェクトは

1) モノクローナル**抗体**を用いて

P400**全長の cDNA**クローニング(当時世界で2番目の大きさ)に成功(上記の生化学的実験によりIP3 receptorと**後に判明**した)

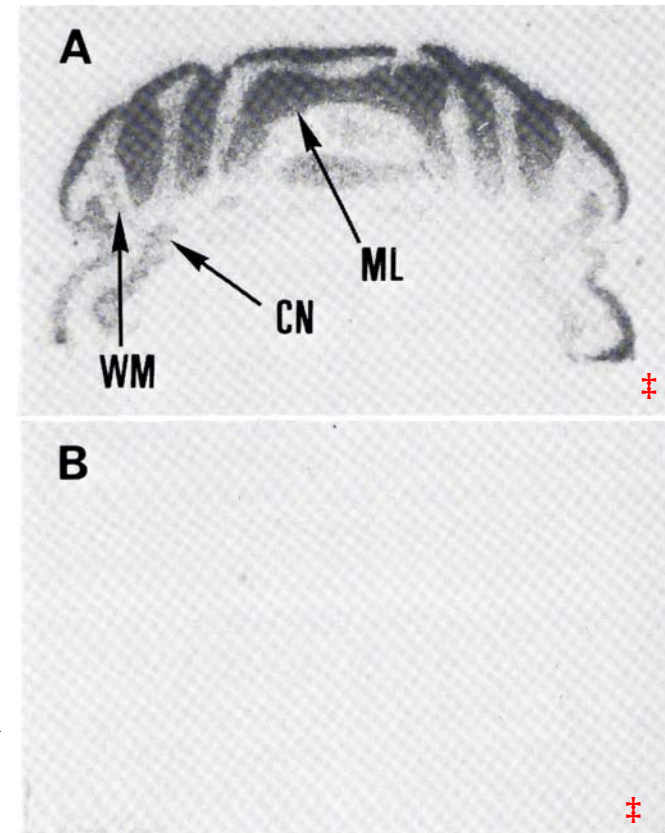
2) モノクローナル抗体のスクリーニングを徹底的にしたため**機能を阻害する抗体**も得た。——受精を阻害する研究に展開した

実験1. プルキンエ細胞欠損マウスの**小脳の切片を用いてIP3との結合**を調べた(後に EMBO J.1990 に発表)。

IP3と結合しないことを発見した(B下図)(1983—1989)。

——この結果よりIP3結合タンパク質とP400との関連を確信。

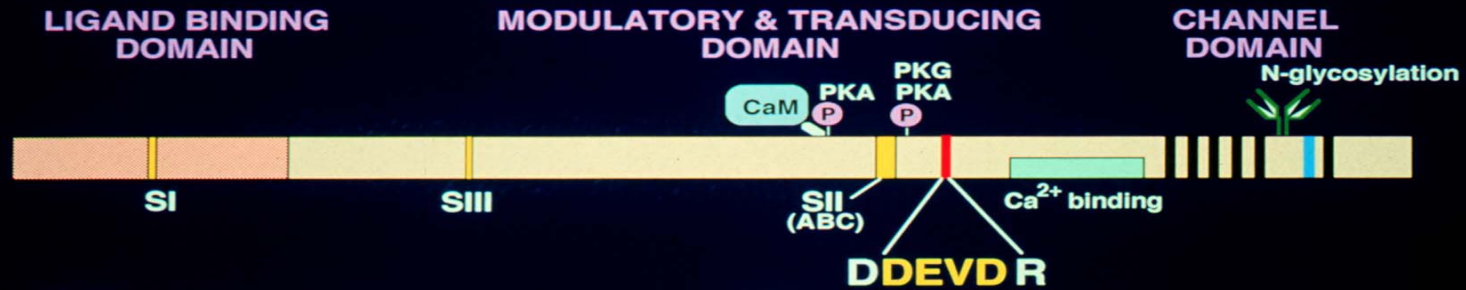
野生型マウス小脳の切片でのIP3
結合をしめすオートラジオグラ
フィー →
(プルキンエ細胞層にシグナルが
みられる。)



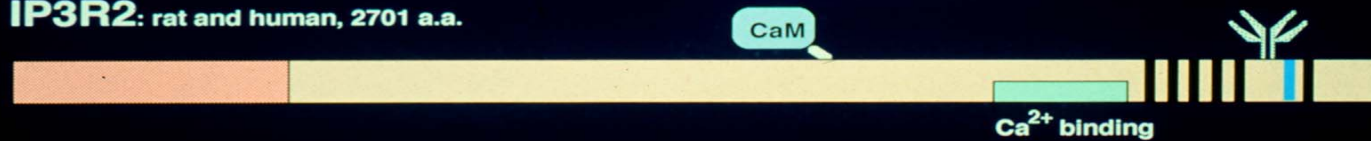
プルキンエ細胞欠損マウスの小脳切片では、IP3結合の反応はみられない。

IP3R FAMILY

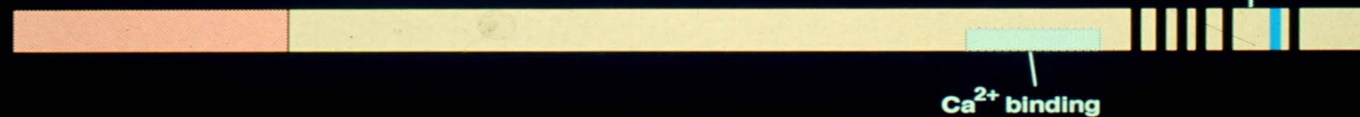
IP3R1: mouse and rat (SI+/SII+), 2749 a.a.; human (SI-/SII-) 2695 a.a.



IP3R2: rat and human, 2701 a.a.



IP3R3: rat, 2670 a.a.; human 2671 a.a.



Three types	Mouse IP3 R	(1,2,3)	MW: 314kD
	Human IP3R	(1,2,3)	
	<i>Xenopus laevis</i> IP3R	(1)	
Single gene	<i>C. elegans</i> IP3R		
	<i>Drosophila</i> IP3R		
	Starfish IP3R		

HISTORY OF IP₃ RECEPTOR

P400 (IP₃ R) : developmentally regulated glyco-phospho-protein

Mikoshiba et al. 1976

*IP₃ releases Calcium from **non**-mitochondrial store*

Streb, Irvine, Berridge, Schulz 1983

GP-A : synaptic junctional glycoprotein

Kelly et al. 1984

PCPP-260 : phospho-protein

Greengard et al. 1986

P400 = IP₃ Receptor cDNA cloning,
Calcium channel

Mikoshiba Lab. 1989

細胞内外の Ca^{2+} 濃度と Ca^{2+} 貯蔵庫からの IP_3 による Ca^{2+} 放出

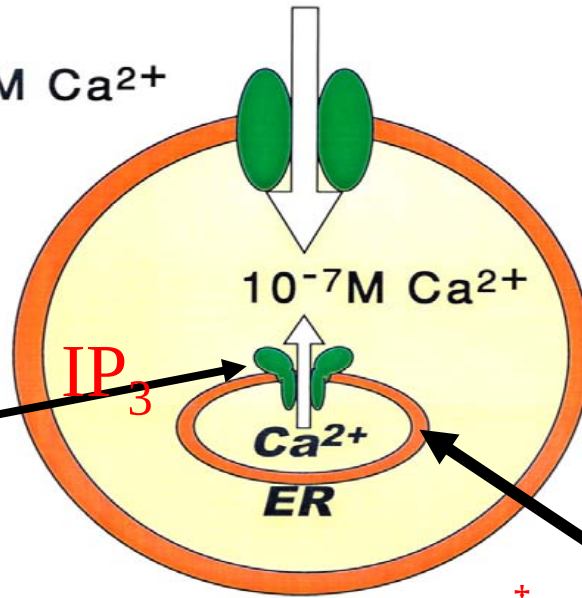
細胞外の Ca^{2+} 濃度

$10^{-3}\text{M } \text{Ca}^{2+}$

$10^{-7}\text{M } \text{Ca}^{2+}$

細胞内の Ca^{2+} 濃度

「 IP_3 レセプターがチャネルか否かも不明であった」

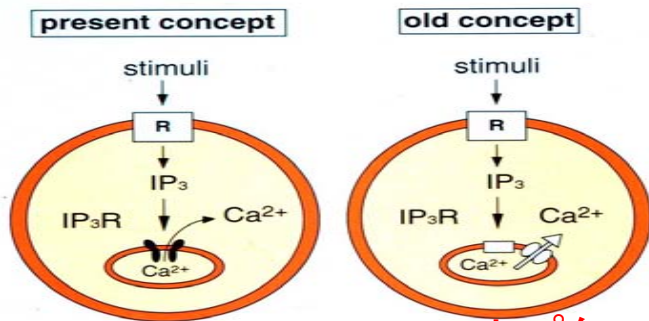
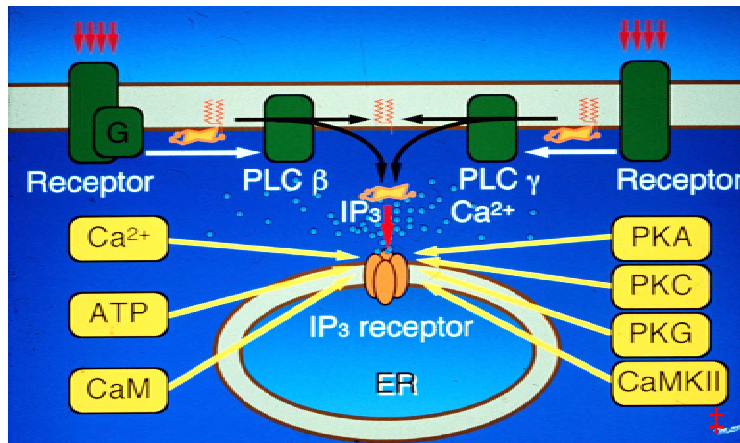


「細胞内カルシウム貯蔵庫の実体も不明であった」

ER:小胞体

細胞外 Ca^{2+} 濃度は血液中と同様に mM 濃度であるが、細胞内はその1万分の1の 10^{-7}M である。 Ca^{2+} は多くの生理作用を引き起こすので、外界からの Ca^{2+} 流入に全て引き起こされると考えられていたが、Fura-2等の Ca^{2+} 指示薬が開発されることにより、細胞外の Ca^{2+} を除いても細胞に刺激を加えると細胞内に Ca^{2+} 貯蔵庫があることが判明した。

外界の刺激によるIP₃産生とIP₃レセプターを介するCa²⁺放出

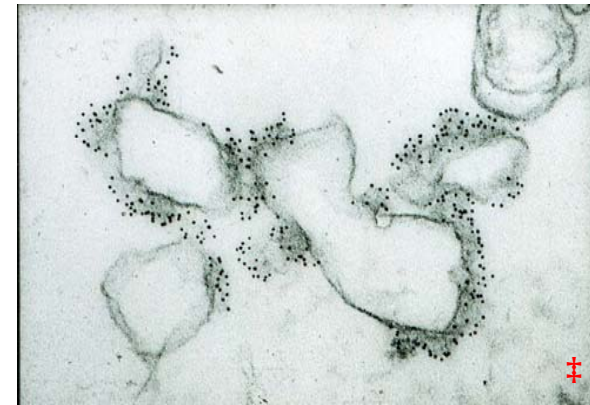


IP₃レセプターはCa²⁺チャネルである

従来はIP₃レセプターはIP₃結合タンパク質であり、Ca²⁺チャネルは別の分子であると考えられていたが

IP₃結合タンパク質を人工脂質二重膜へ組み込ませるとIP₃により開くCa²⁺チャネルであることを明らかにした(J.Biol.Chem. 1991)。Nature 1989でクローニングしたIP₃レセプターのcDNAを細胞に発現させるとIP₃結合能とCa²⁺チャネル活性が増加した(Neuron 1990)。

以上の結果により、IP₃レセプターはIP₃結合タンパク質とCa²⁺チャネルの両方の性質を合わせて持つことを証明した。



カルシウム貯蔵庫は小胞体であることを証明(1991)
(金コロイド法による免疫電顕像)

人工脂質二重膜の実験
(J.Biol.Chem. 1991)

過剰発現実験:

Ca²⁺放出・IP₃結合活性上昇
(Neuron 1990)(Nature 1989)

カルシウム

金属イオン

細胞毒、

骨格の成分 骨(脊椎動物)

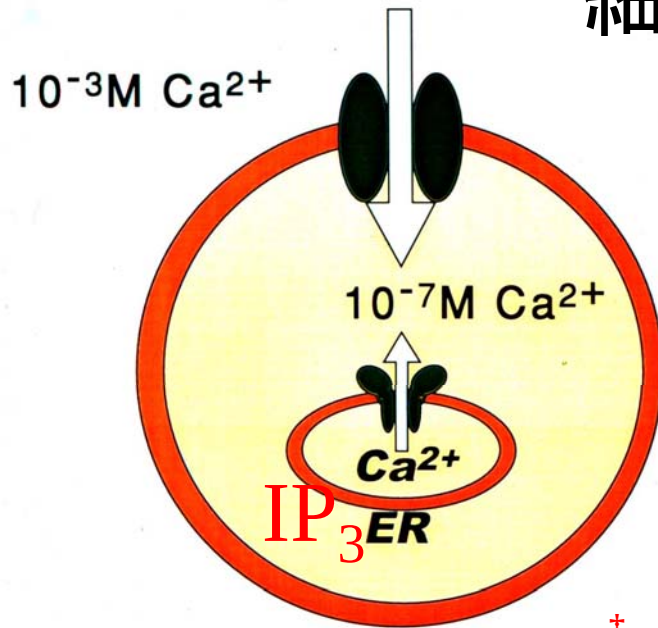
クチクラ(昆虫)

重要なセカンドメッセンジャー(細胞内)

基礎———臨床

正常———病気

細胞内カルシウム動態



小胞体

ER: Endoplasmic Reticulum

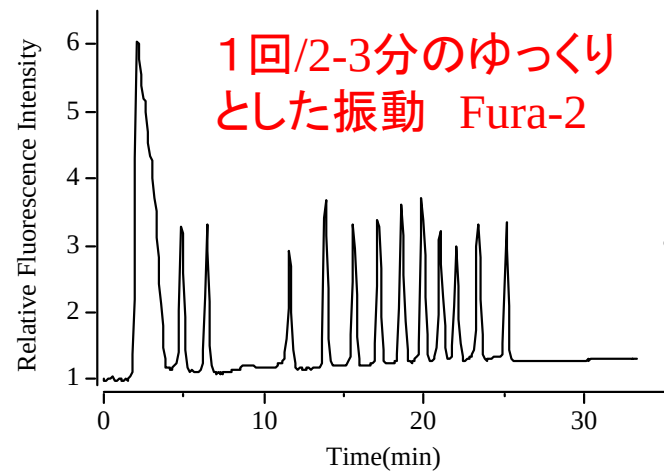
1) **Calcium Influx** (流入)
(through the
plasma membrane)

2) **Calcium Release** (放出)
(from the
intracellular stores)
**(Ca²⁺ wave and
oscillation)**

(カルシウム波、カルシウム振動)

IP₃レセプターがCa²⁺振動(Ca²⁺ オッシレーション)発信装置であることの発見。(Science 1992)

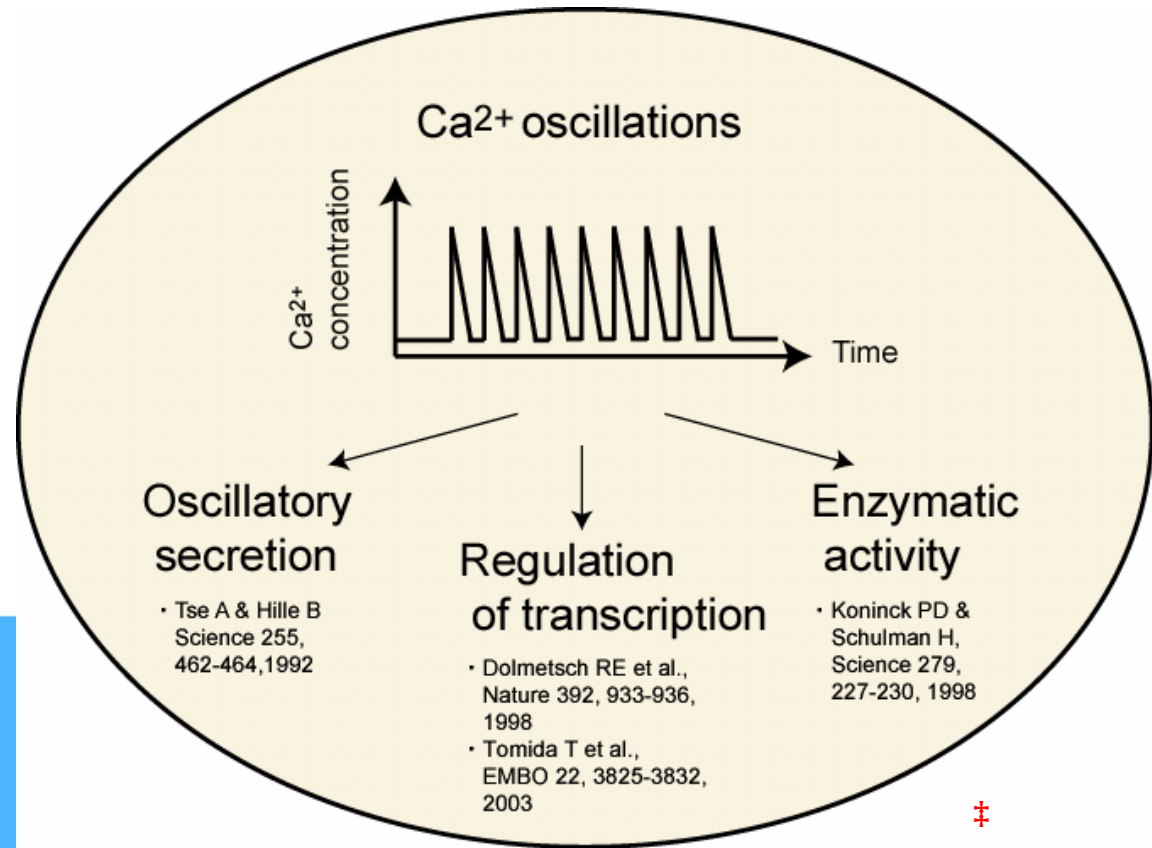
著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
画像を省略させていただきます。



1回/2-3分のゆっくり
とした振動 Fura-2

QuickTime® Ç² ÉÁÉÉ ÄÄ|ÉVÉáÉîLíÉvÉéÖ ÉáÄ Ç™Ç±ÇÄÉsÉÉÉ`ÉÉÇ¾ä® ÇÈÇÇ ¼Ç...Ç ÖKáÇÇ ÄB

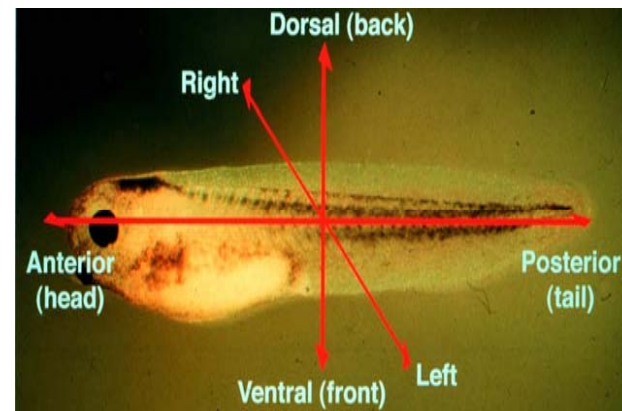
Amplitude and frequency of Ca^{2+} oscillation determine the targets inside the cell.



神経形成と背腹軸形成

発生時期では背側化と神経化とは同義語として使われているように背腹軸の形成は神経系の形成に特に重要である。

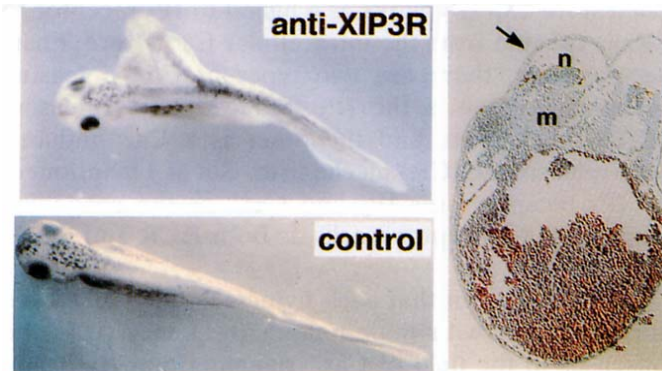
この背腹軸の形成は受精後、4割球の時に決定する。



※

リチウム (lithium) の効果

- 1) リチウム製剤 躁鬱病の治療薬
- 2) inositol polyphosphate 1-phosphatase, inositol monophosphate phosphatase の阻害
- 3) 発生異常 (二次軸形成)
腹側 (4細胞期) → 背側化



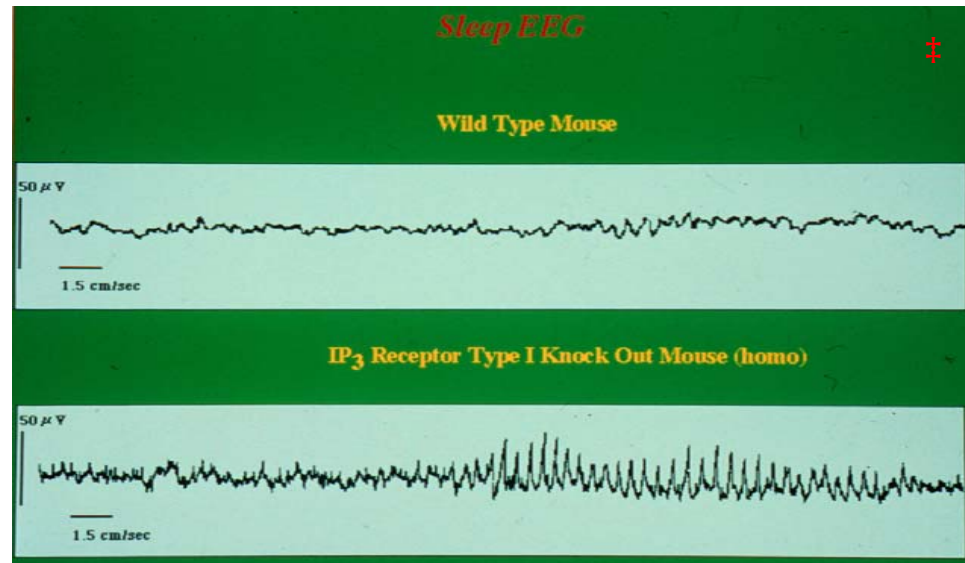
背腹軸形成にIP₃レセプターが関与 (Science 278, 1940-1943, 1997) (Nature 417 295-299 2002)

リチウムは上記の作用があることが知られていたが、イノシトールリン酸系の酵素を阻害することからIP₃レセプターの機能に障害を与えるものと御子柴教授は推論した。そこで約2年近くかけてアフリカツメガエルのIP₃レセプターの機能障害抗作を作製し、背腹軸の決定する4細胞期の胚の将来腹側になる部位に注入したところ、腹側が背側に変換して、二次軸の形成が見られた。この実験により、IP₃レセプターからのCa²⁺放出が背腹軸形成に関わることが証明された (Science 278, 1940-1943, 1997) その下流因子としてNF-ATも同定した (Nature 417 295-299 2002)

IP₃レセプターの遺伝子欠損マウスは「てんかんと小脳失調」をおこす。

(Nature 379,168-171,1996)

著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
「遺伝子欠損マウスの写真」
を省略させていただきます。



IP₃レセプターの神経可塑性への役割を発見

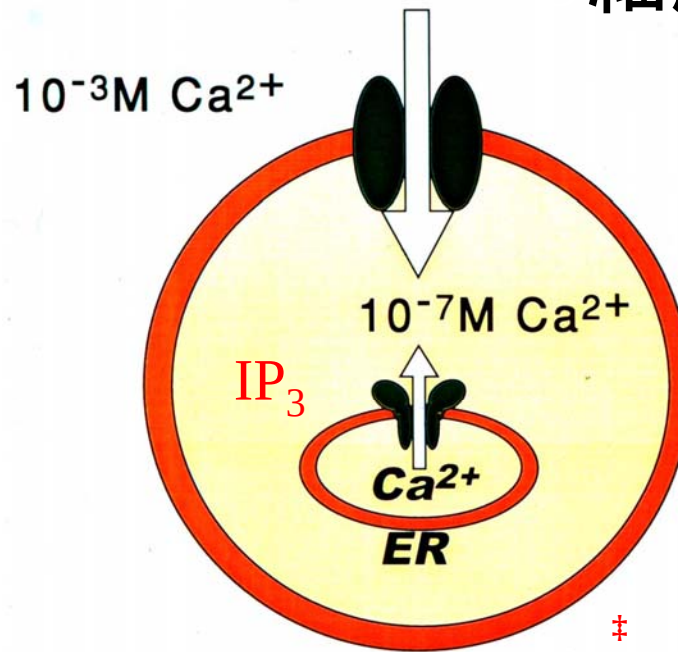
小脳切片：長期抑圧（LTD）が消失 (J.Neurosci. 18, 5366-5373,1998)

海馬（CA1）切片：長期増強（LTP）が増強、LTP suppressionが消失、
De-potential消失、LTD不変

(Learning & Memory 7, 312-320,2000)

シナプスの特異性に関与する。(Nature 408,584-588,2000)

細胞内カルシウム動態



小胞体

ER: Endoplasmic Reticulum

1) **Calcium Influx** (流入)
(through the
plasma membrane)

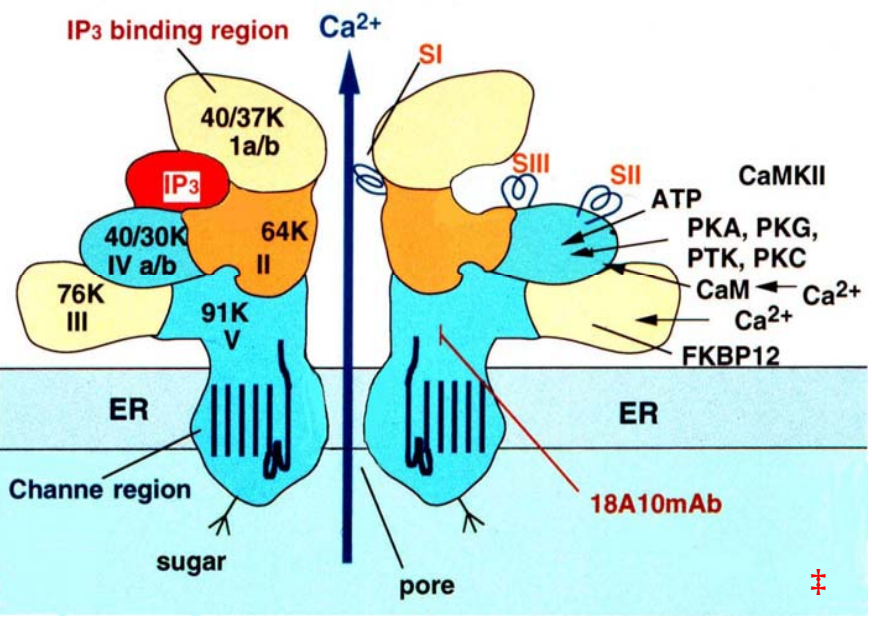
2) **Calcium Release** (放出)
(from the
intracellular stores)
**(Ca^{2+} wave and
oscillation)**

(カルシウム波、カルシウム振動)

Unique biochemical properties of IP₃R

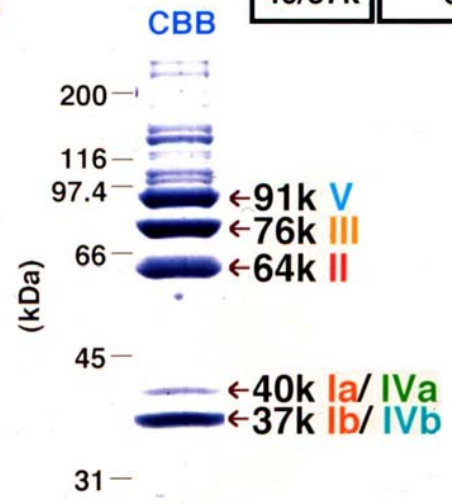
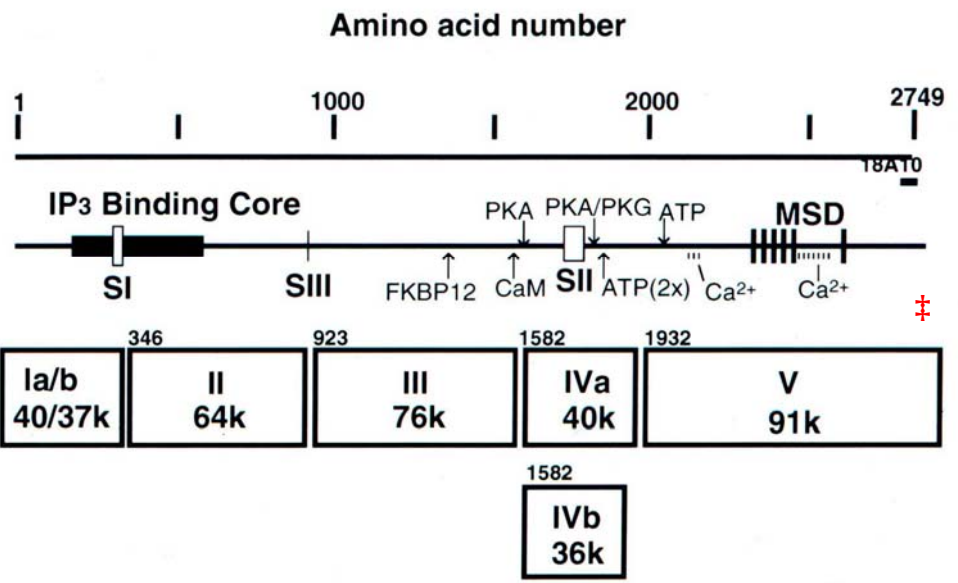
- 1) high affinity IP₃ binding (IP₃ sponge) (IP₃スポンジ)
- 2) molecular assembly of fragmented functional units of IP₃ R (分子集合)
- 3) quantal Ca release (量子的放出)
- 4) translocation of IP₃R to the PM (細胞膜へのトランスロケーション)
- 5) a) reticular ER movement, b) vesicular ER movement,
 - c) mRNA transportation, d) IP₃R clustering vesicular ER movement (網状+粒子輸送+IP₃R1のmRNA輸送+IP₃Rのクラスター形成)
 - 6) porous structure with cavities (中空構造)
 - 7) allosteric structural change (矢車→四角)
 - 8) IRBIT is released from IP₃R (IRBITを放出する)
 - 9) Redox regulation is linked to Ca²⁺ signaling (レドックスとカルシウム)

Molecular Assembly of Functional Domains of IP₃R

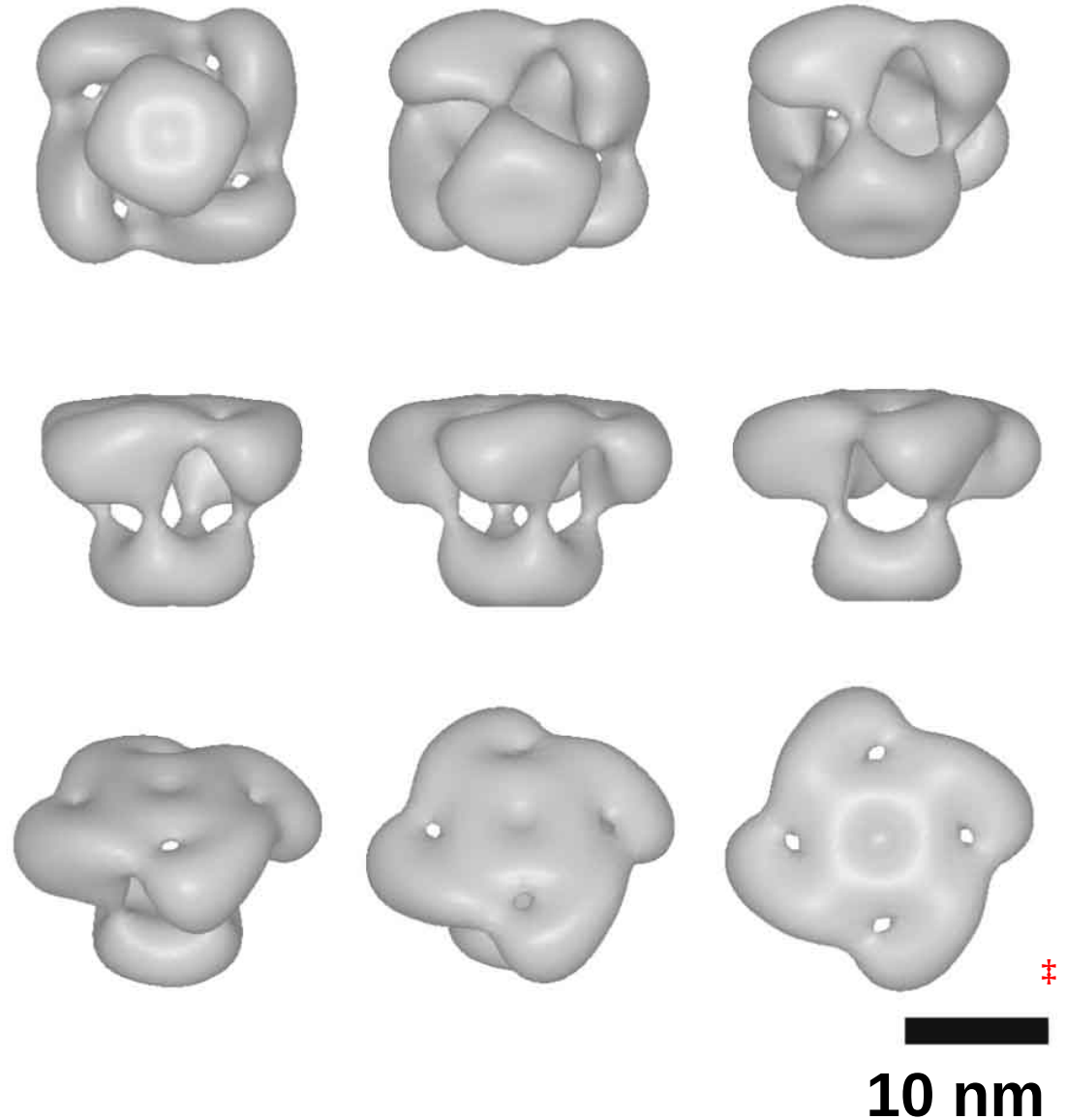


IP₃ receptorはトリプシンで
分割されても
再集合してIP₃ 結合活性と
Ca²⁺放出活性はコンロー
ルと同じ (J. Biol Chem. 274
316-327 1999)

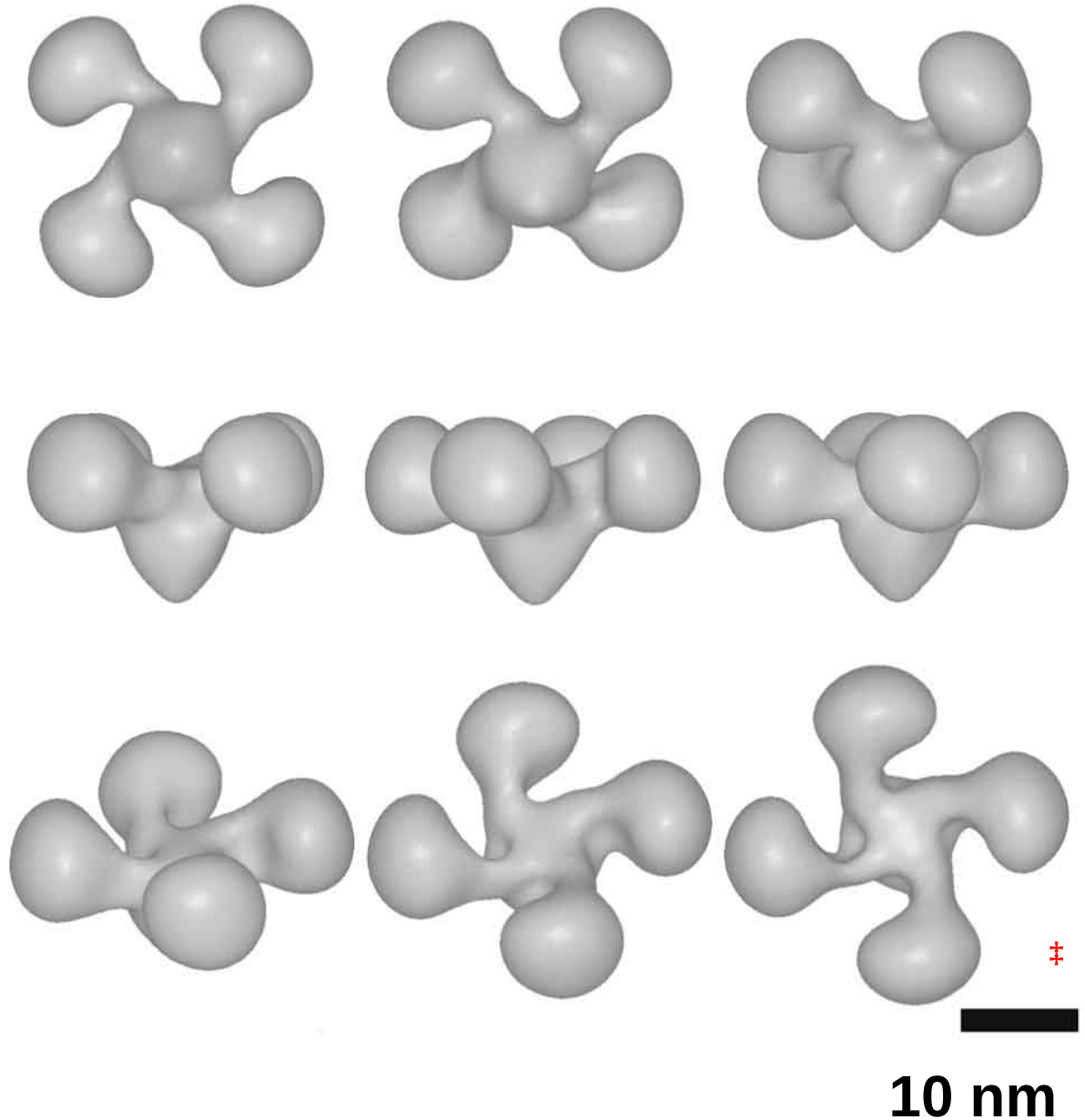
Functional Domains of IP₃R



A 3D-Structure of IP₃R1 in the Ca²⁺-unbound State



A 3D-Structure of IP₃R1 in the Ca²⁺-bound State



Gating mechanism of IP₃ receptor

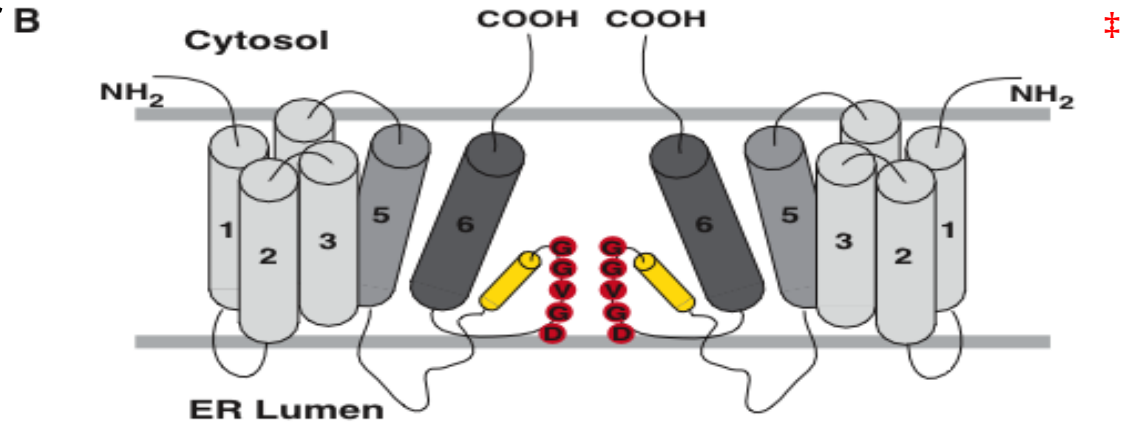
チャネルのゲーティング機構

IP₃レセプター/Ca²⁺チャネルのポア構造

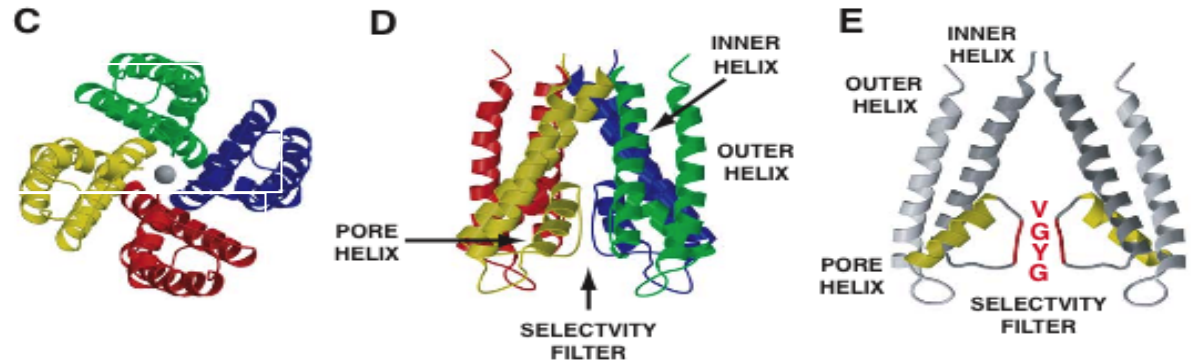
A

IP3R1	HTCETLLMCIVTVLSHGLRSGGGVGDVLRK	2554
IP3R2	RTCDTLLMCIVTVLNQGLRNGGGVGDVLRK	2506
IP3R3	RACDTLLMCIVTVMNHGLRNGGGVGDVLRK	2482
RyR1	MKCDDMMTCYLFHMYVGVRAGGGIGDEIED	4903
RyR2	MKCDDMLTCYMFHMYVGVRAGGGIGDEIED	4834
RyR3	MKCDDMMTCYLFHMYVGVRAGGGIGDEIED	4738
KcsA	PGAQLYPRALWWSVET--ATTVGYGDLYPV	85

各種チャネルの配列比較



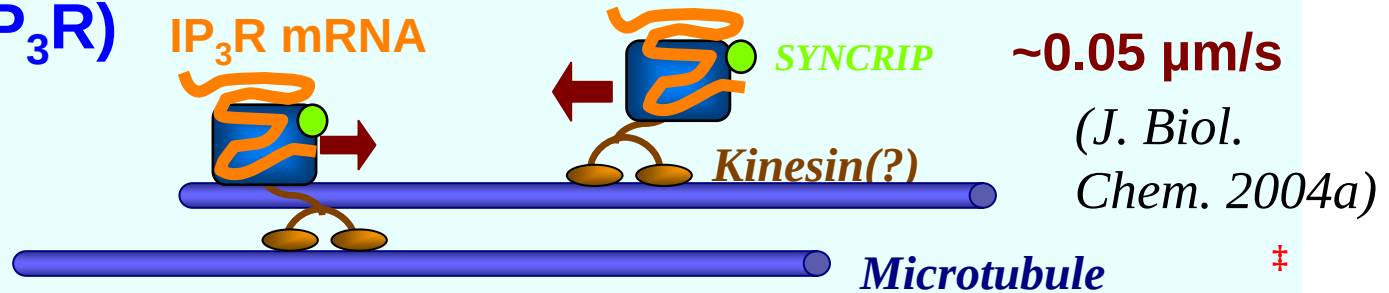
IP₃レセプターのポア構造



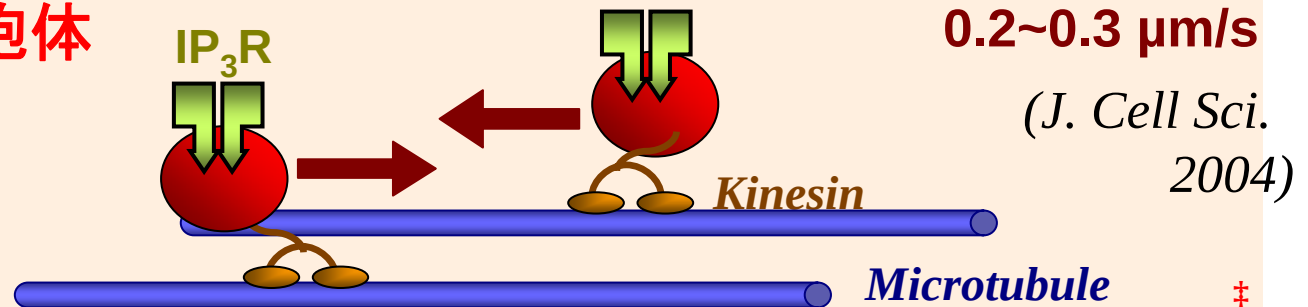
KCSAチャネルの構造

IP₃レセプターの細胞内の4つの輸送方法

1) mRNA (IP₃R)



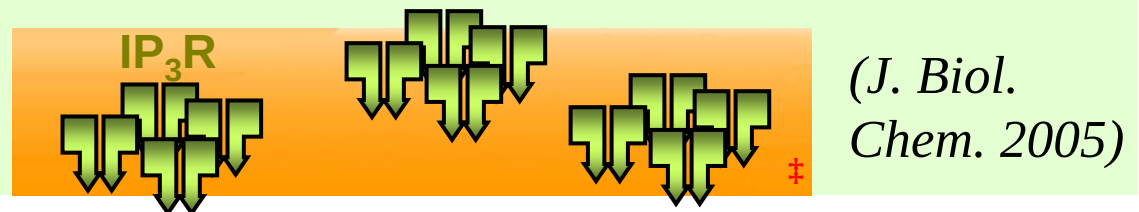
2) 顆粒状 小胞体



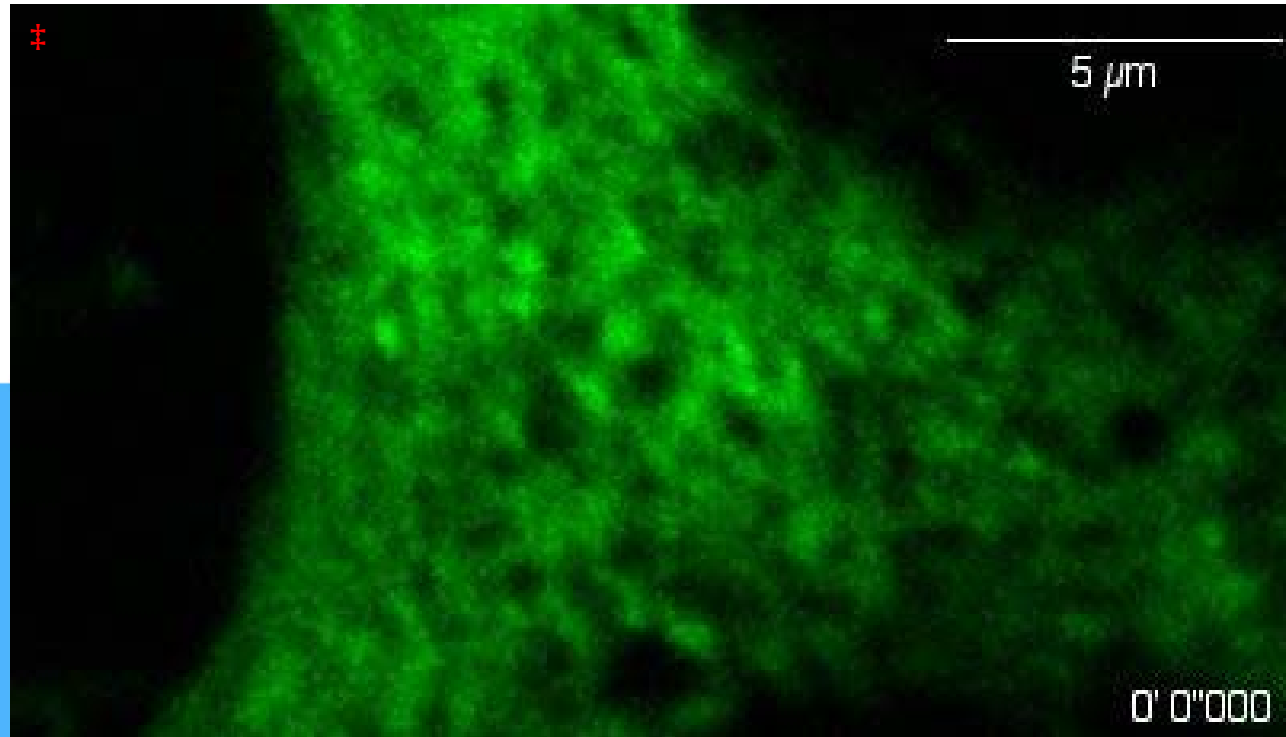
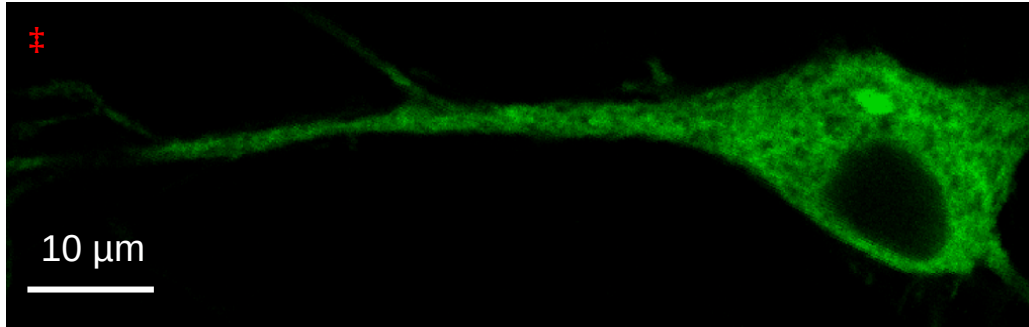
3) 網状 小胞体



4) クラスター形成



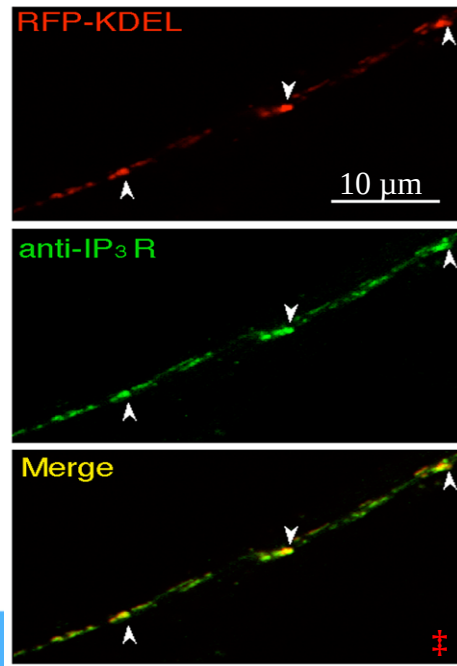
ER in Neuron Is a Meshwork, Mainly



ER meshwork is rather static

小胞体マーカー (RFP-KDEL) は IP₃R1、カルシウムポンプと共局在する

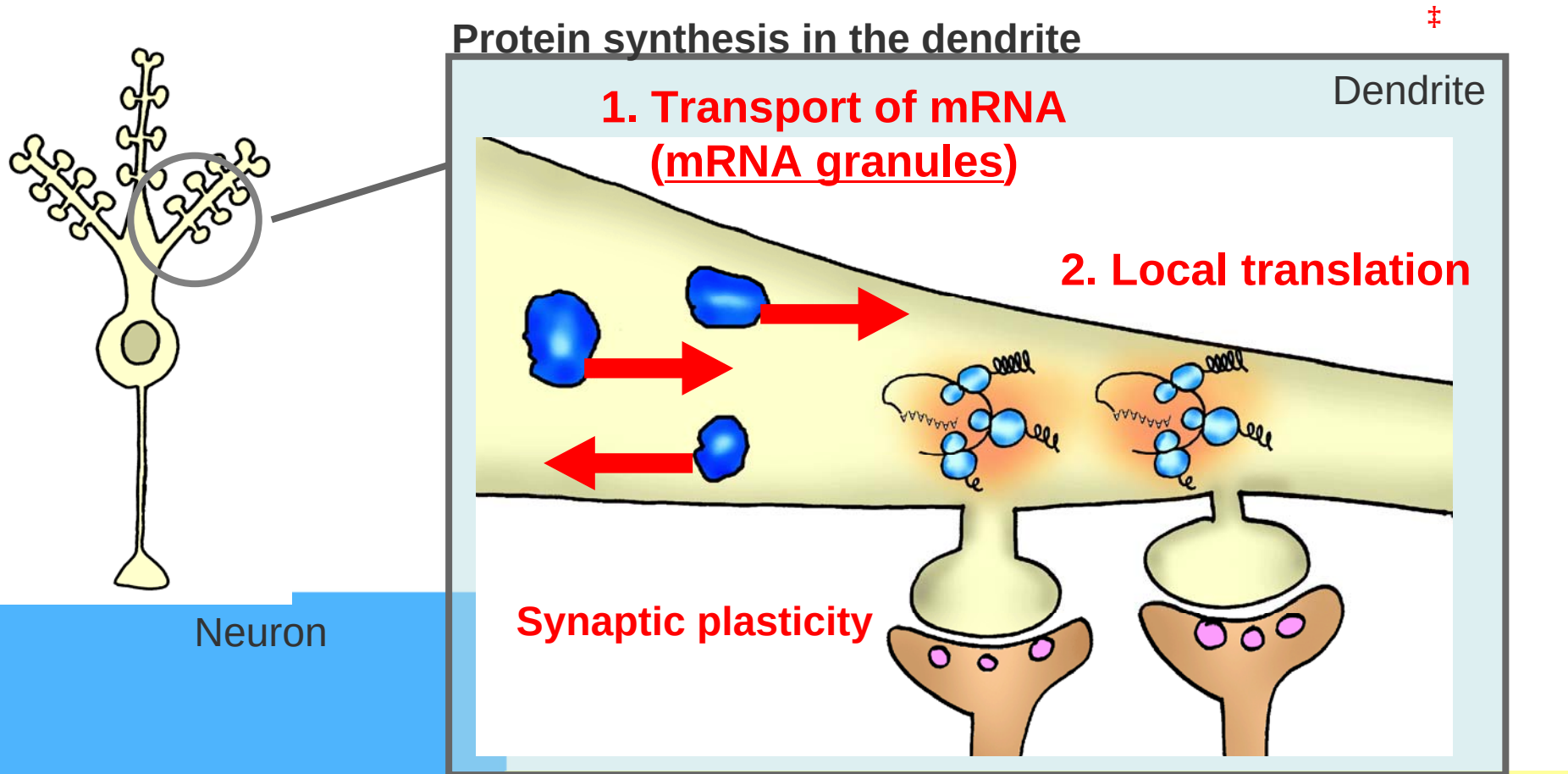
ER 顆粒は樹状突起中を両方向性に移動する (*J. Cell Sci.* 2004)



著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
写真
を省略させていただきます。

RFP-KDEL : A marker for ER

Local Protein Synthesis in the Neuronal Dendrite



Various kinds of mRNAs are targeted to the dendrite

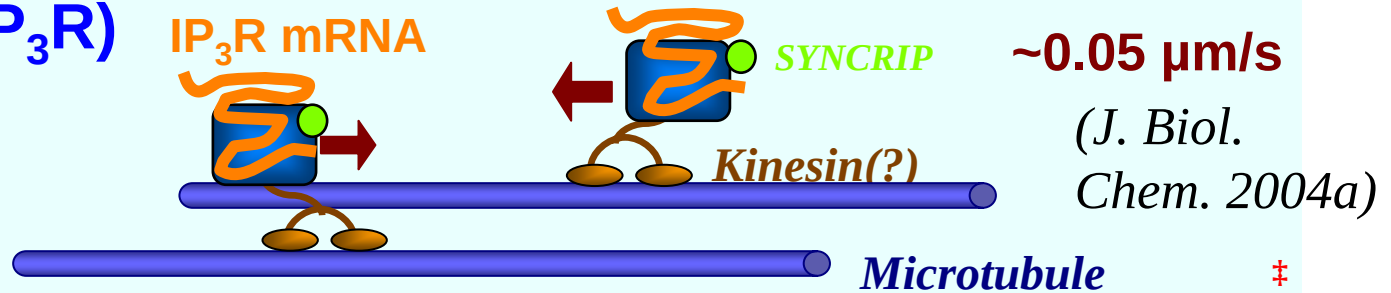
Cytoskeletal proteins (MAP2, β -actin, Arc, neurofilament protein)

Kinase (CaMKII α)

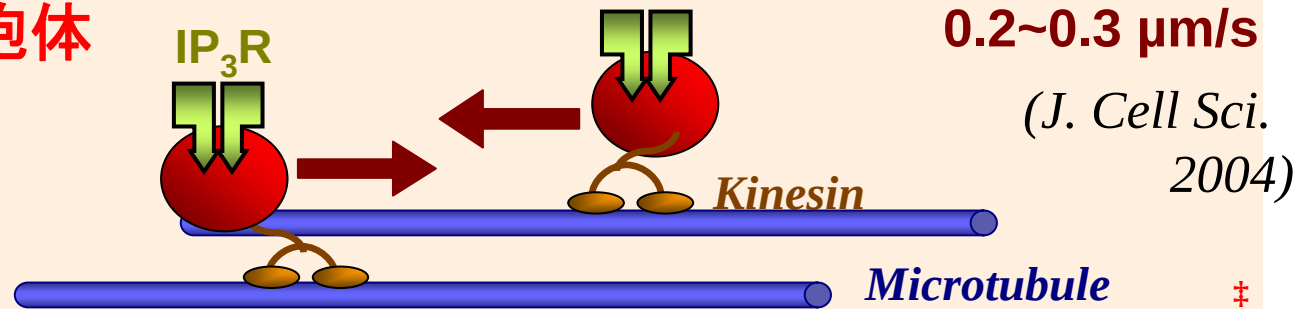
Receptors and Channels (Glycine receptor, Glutamate receptor, IP₃R1)

IP₃レセプターの細胞内の4つの輸送方法

1) mRNA (IP₃R)



2) 顆粒状 小胞体



3) 網状 小胞体



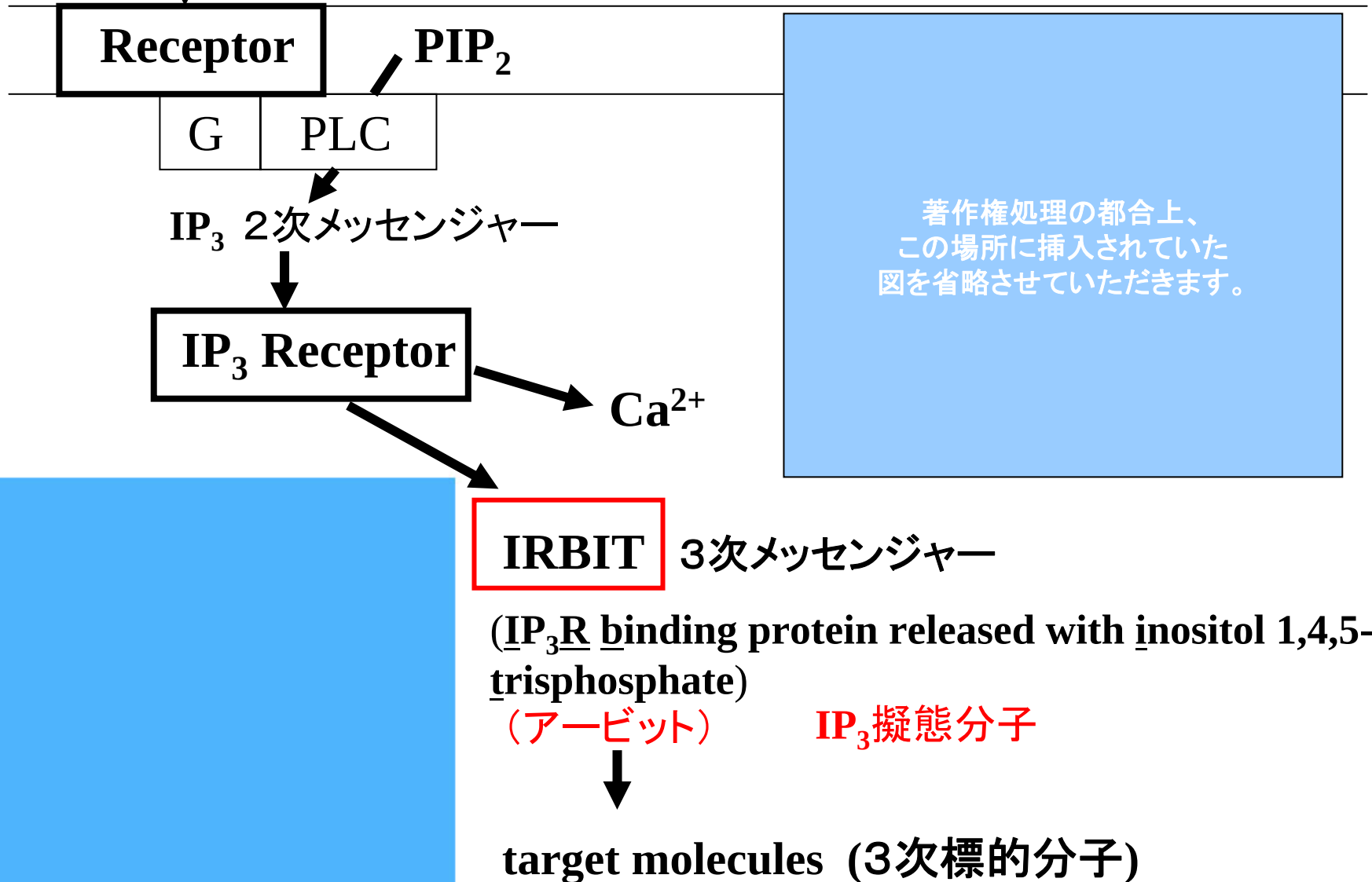
4) クラスター形成



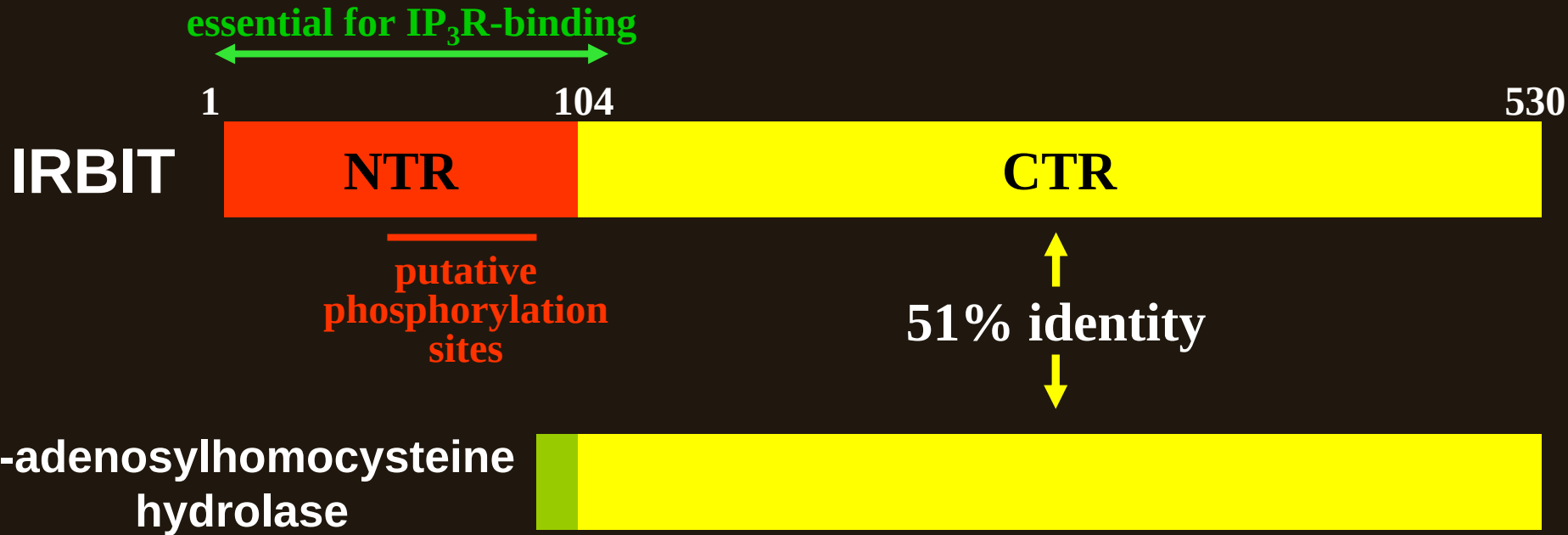
刺激 Stimuli

IP₃の次のメッセンジャーはあるか？

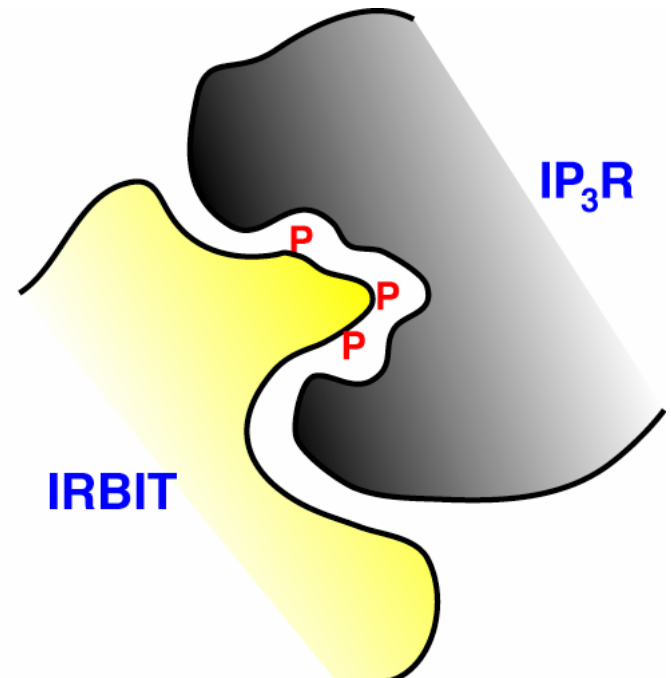
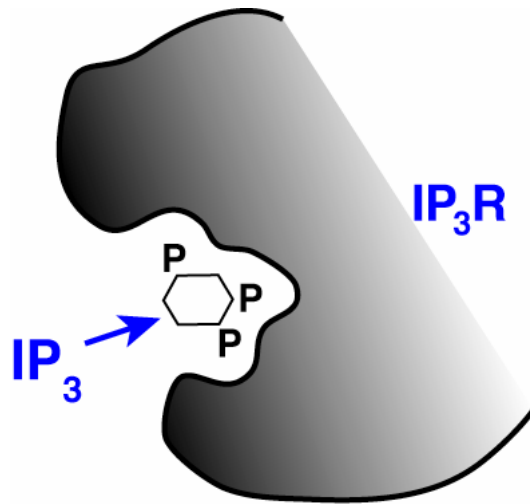
(*J. Biol. Chem.* 2003)(*Molecular Cell* 2006)



Structure of IRBIT



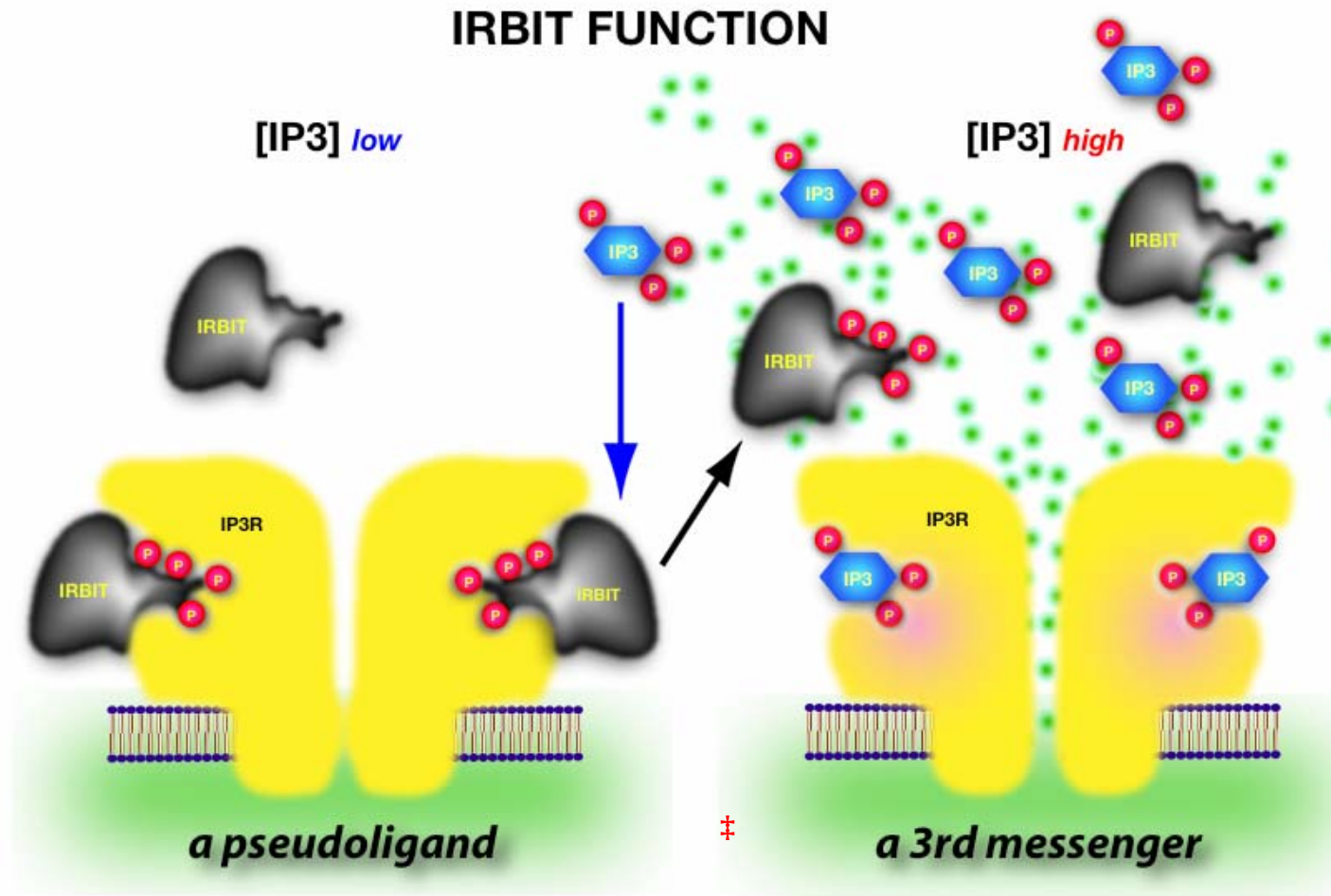
Molecular mimicry ‡



Mimicry



Two functions of IRBIT



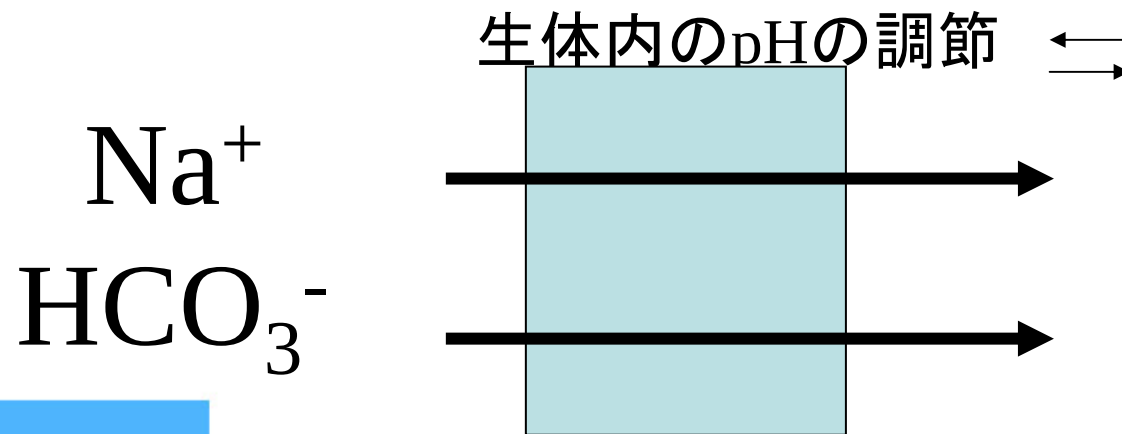
IRBITの標的分子:

Na^+ , Bicarbonate $^-$ cotransporter (NBC1)

10回細胞膜貫通型タンパク質

$(\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O})$

$\text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$

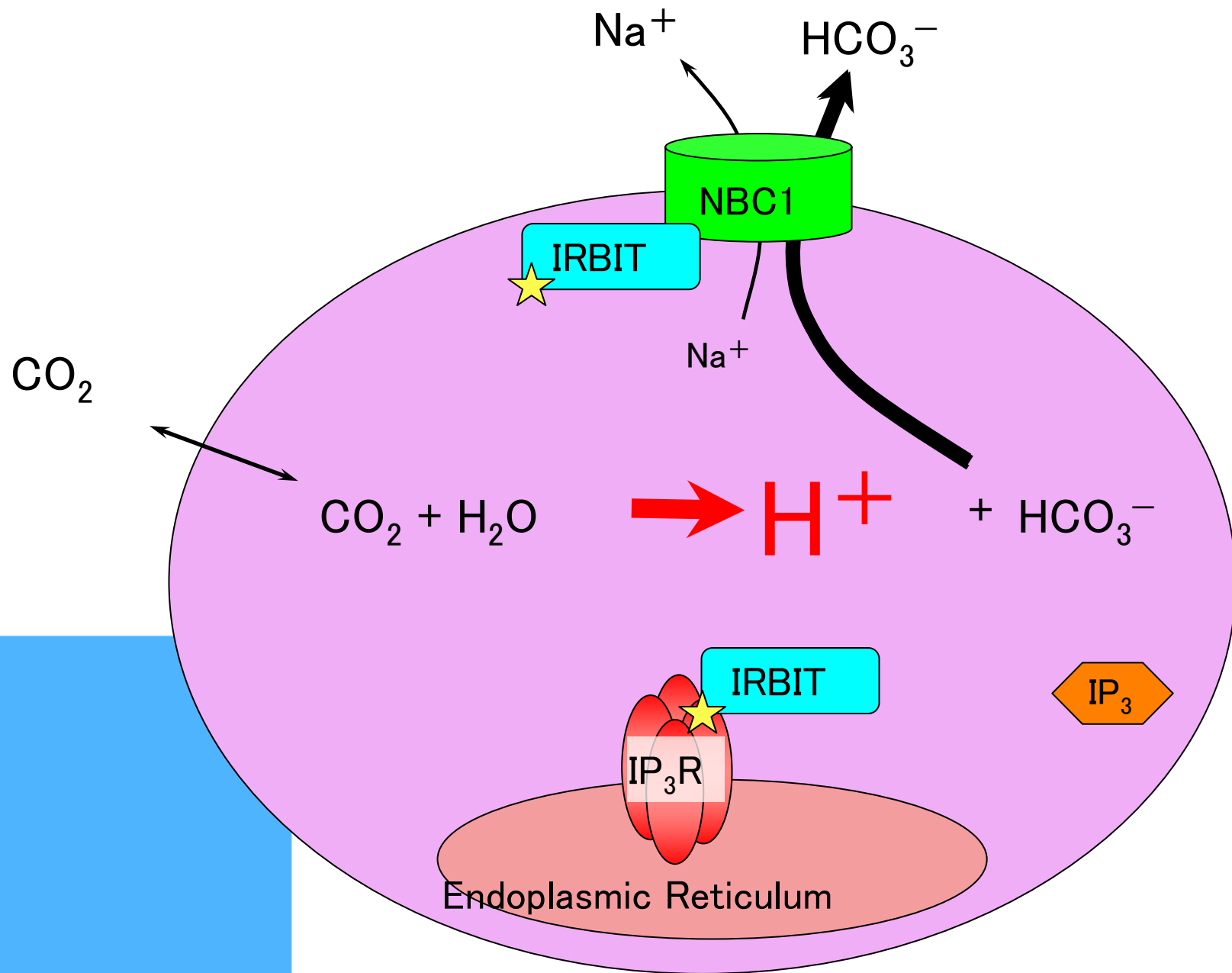


IRBIT はNBC1を活性化する(*Proc. Natl. Acad. Sci.* 2006)

活性化にIRBITのリン酸化が必要

近位尿細管型アシドーシスの原因遺伝子は
NBC1

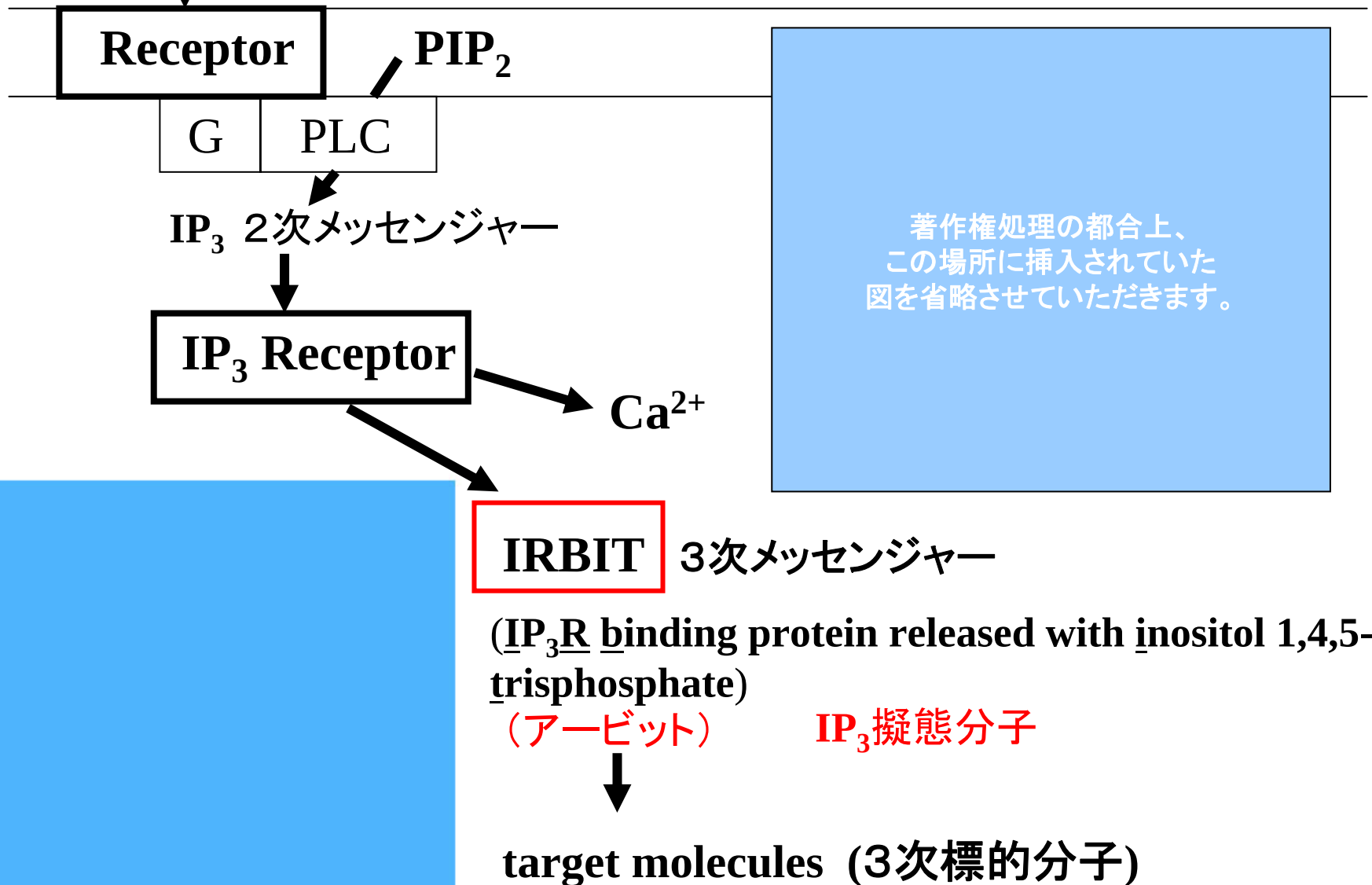
(緑内障、白内障、低身長、精神遅滞を伴う)
pNBC1は膵臓を始めとして神経系に多い



刺激 Stimuli

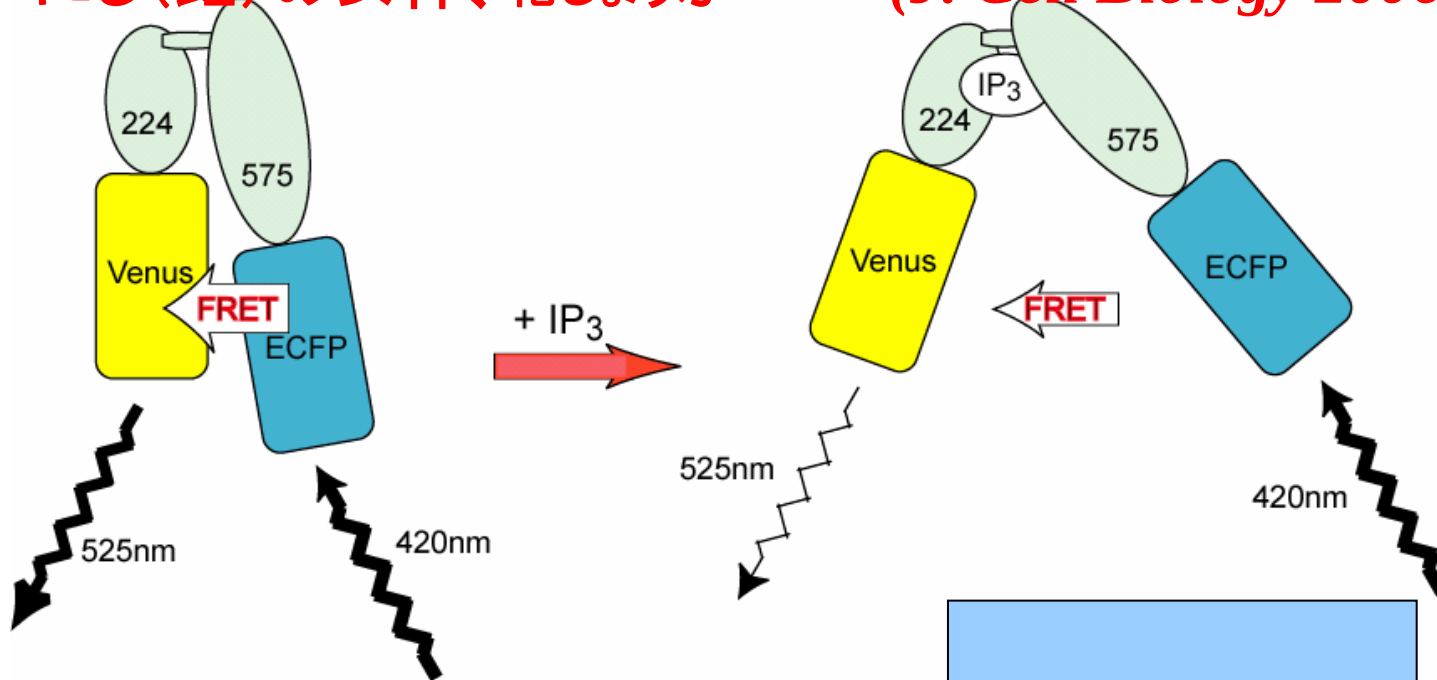
IP₃の次のメッセンジャーはあるか？

(*J. Biol. Chem.* 2003)(*Molecular Cell* 2006)



IP₃R-based IP₃ sensor (IRIS) は新しいIP₃ インディケーター

にじ(虹)の女神、花しょうぶ (J. Cell Biology 2006)



Fluorescence
Resonance Energy
Transfer (FRET)
蛍光共鳴エネルギー移動

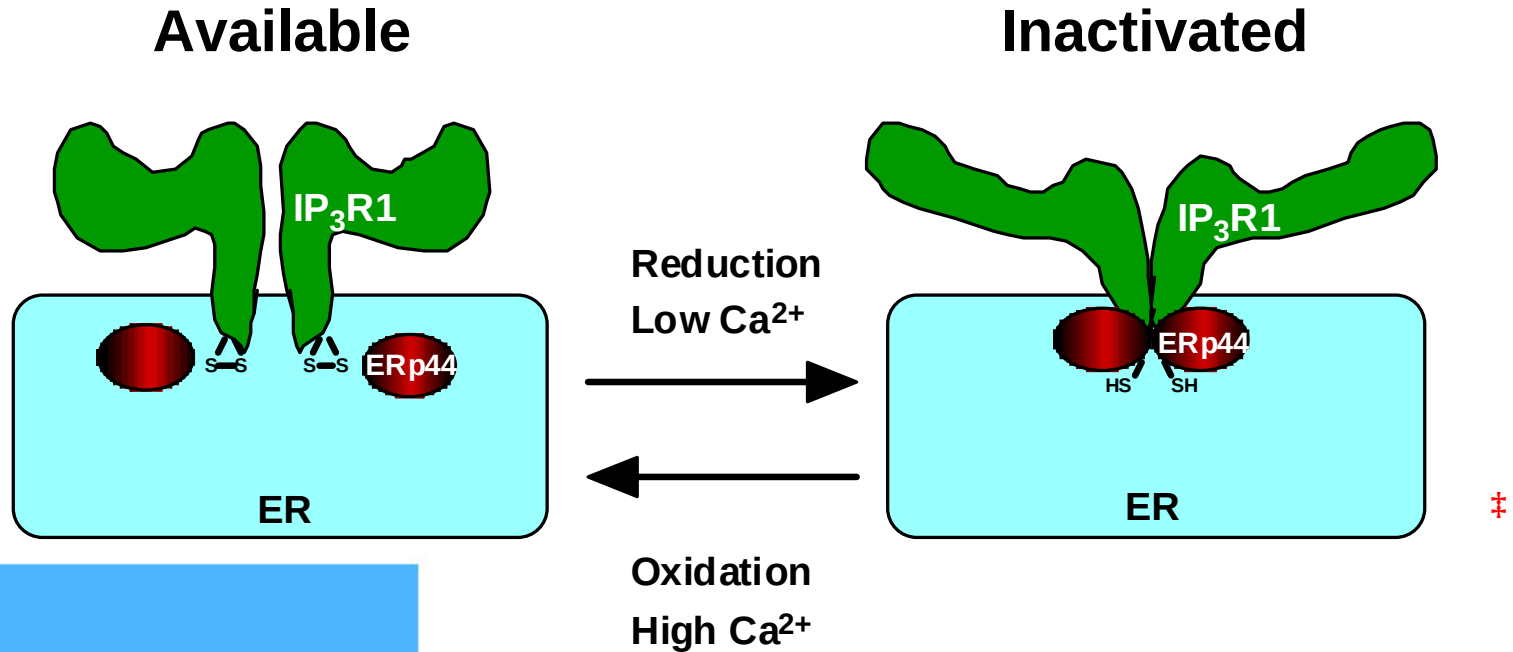
著作権処理の都合上、
この場所に挿入されていた
図を省略させていただきます。

IP₃ binding core
(Nature 20002)

酸化・還元（レドックス）制御と カルシウム



小胞体内のERP₄₄ (Thioredoxin family) は酸化還元状態をセンシングしてカルシウムシグナリングを調節する (*Cell* 2005)

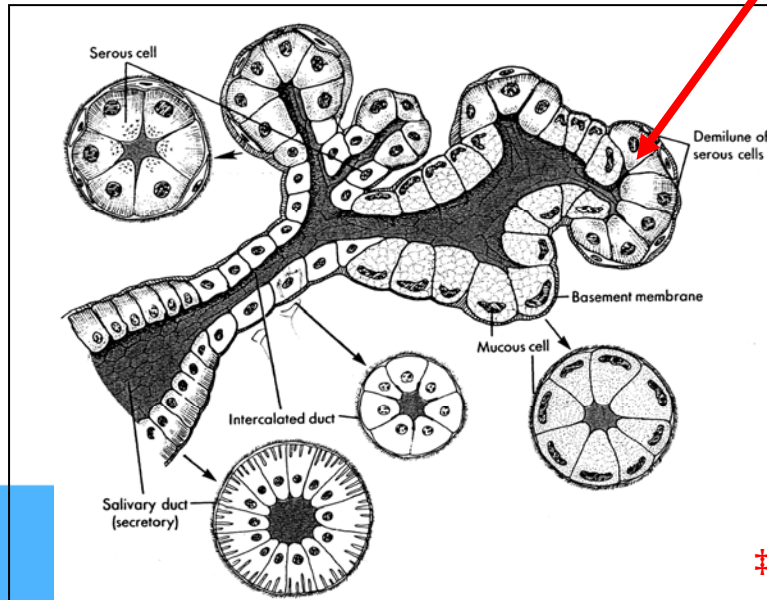


外分泌と IP_3 レセプター

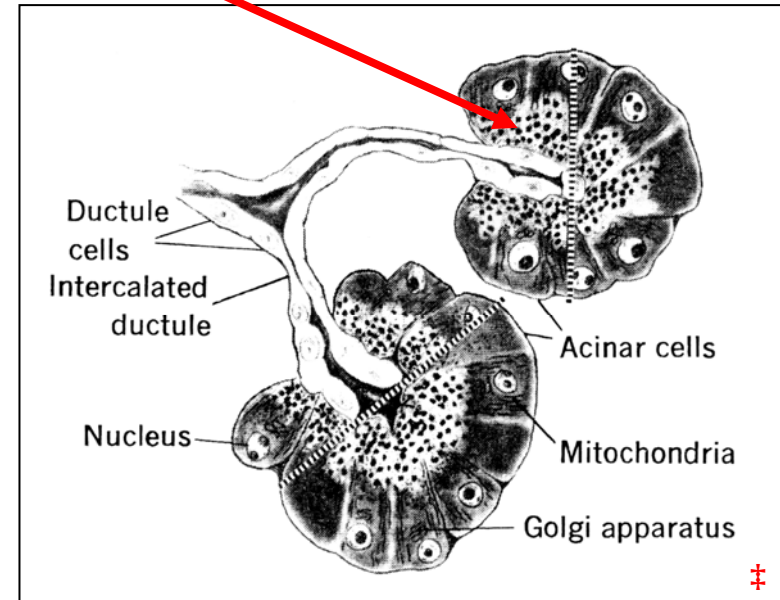


Type 2 and type 3 IP_3 receptors play key roles in Ca^{2+} signaling and secretory function of exocrine glands.

IP3R2 & IP3R3



Salivary gland

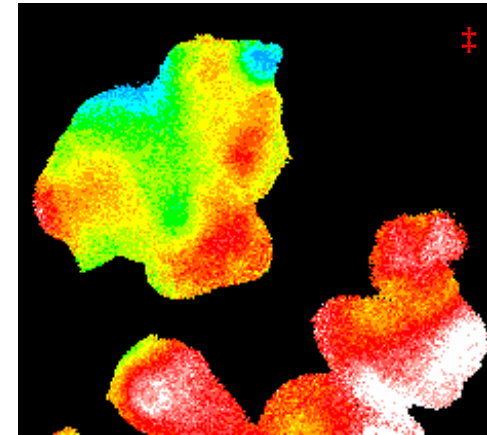
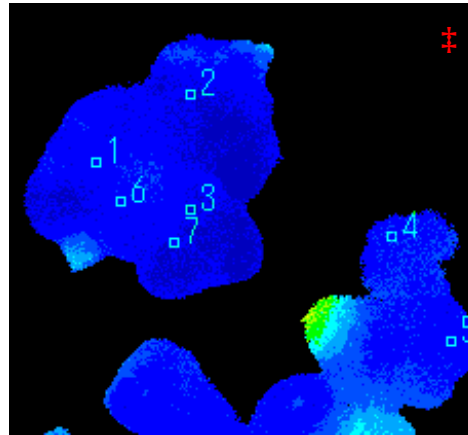
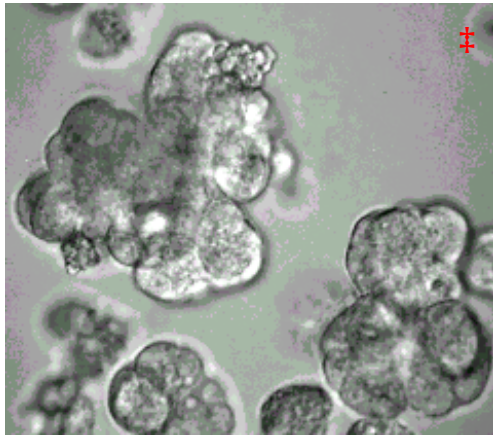


Pancreas

WT

resting

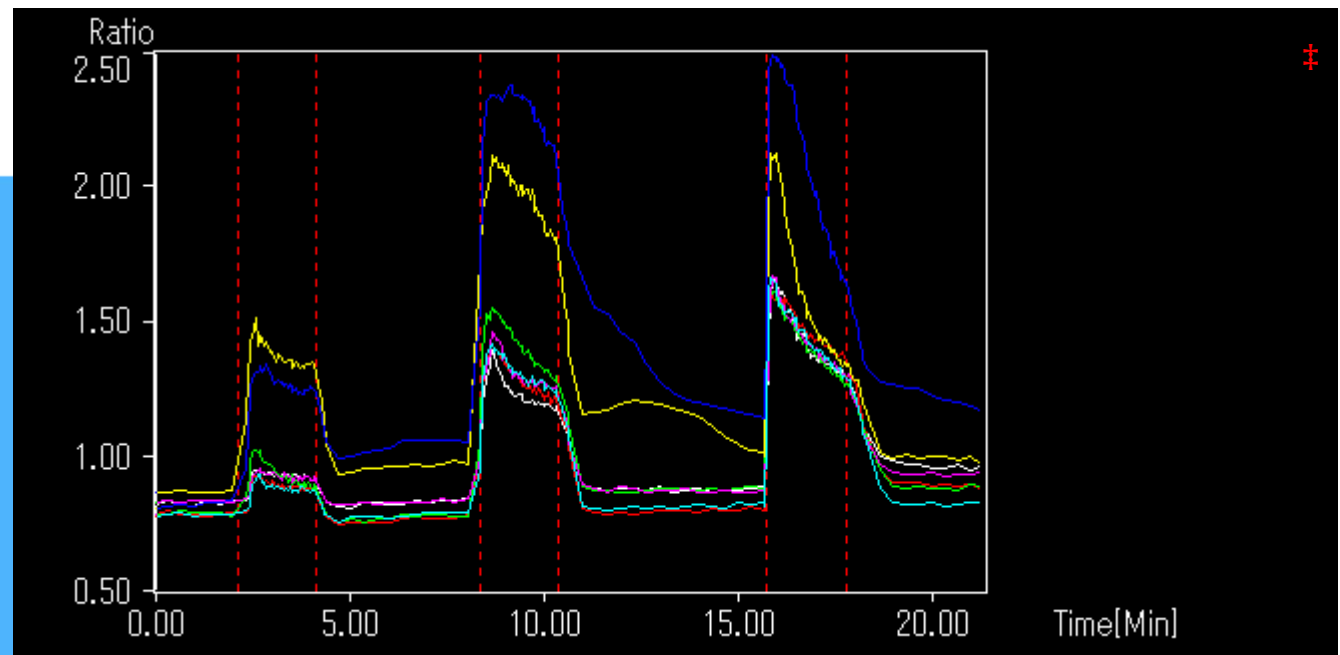
30 μ M CCh



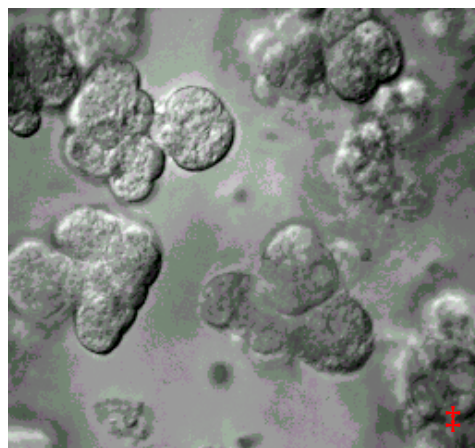
CCh
0.3 μ M

3 μ M

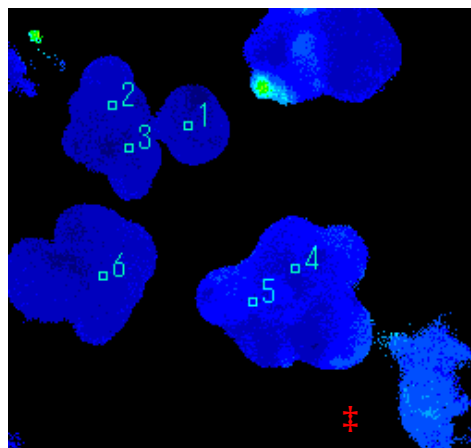
30 μ M



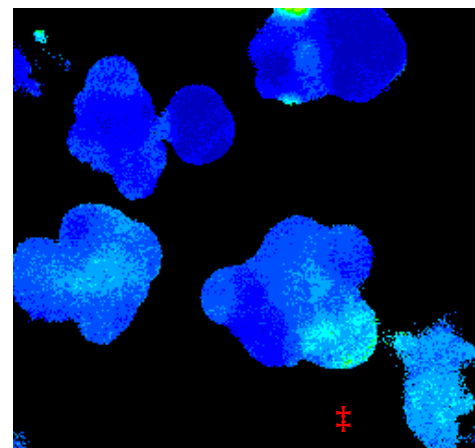
O/O



resting



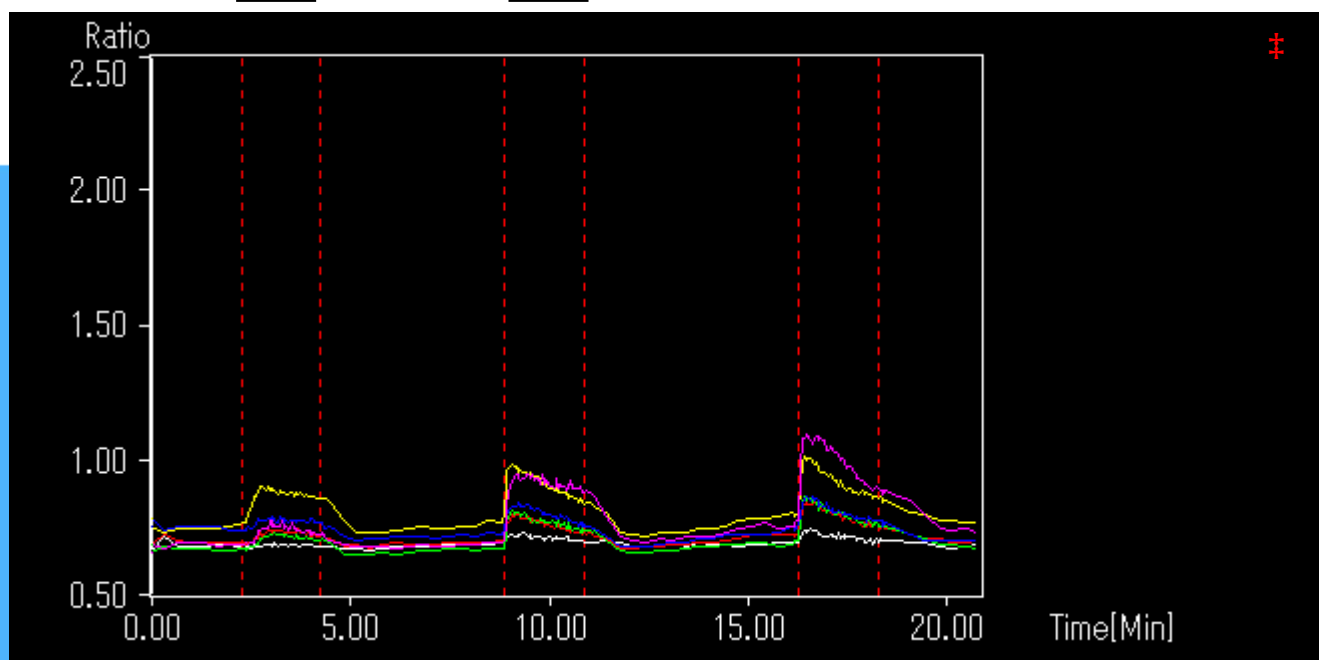
30 μ M CCh



CCh
0.3 μ M

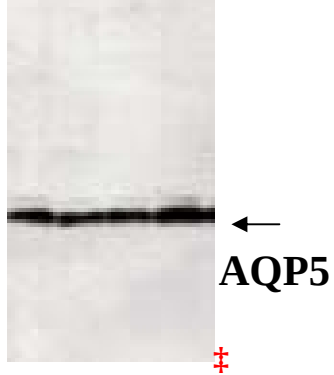
3 μ M

30 μ M

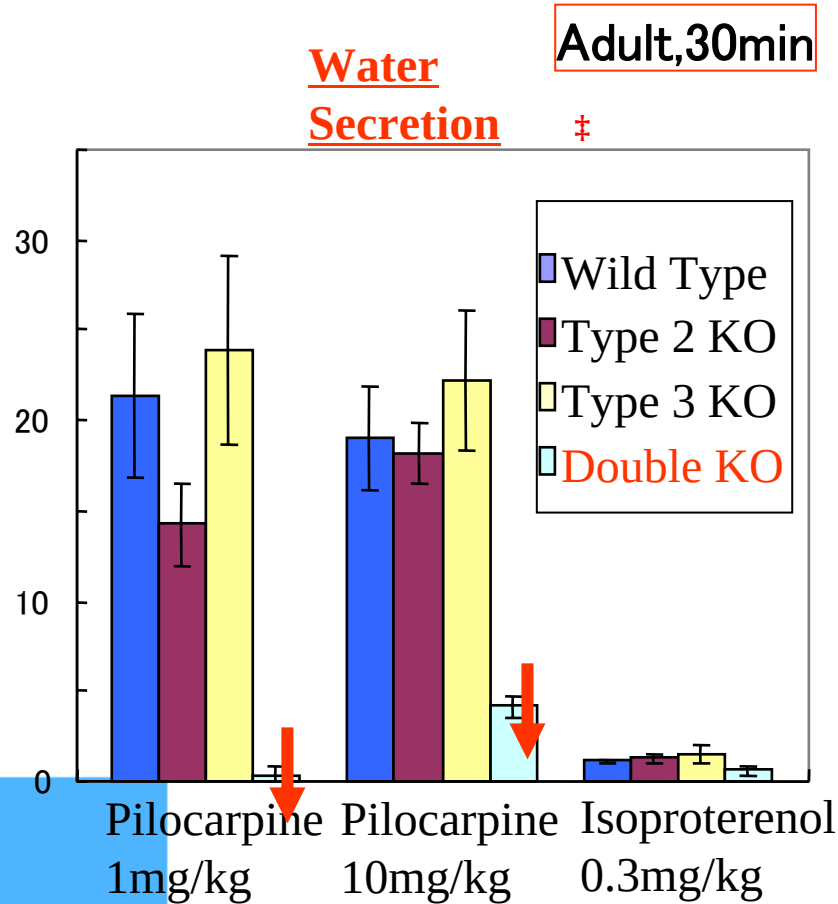


Defective Saliva Secretion in IP₃R2/IP₃R3 Double Knockout Mice

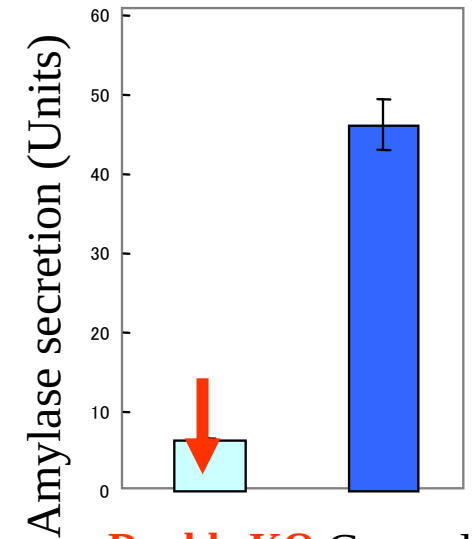
Double Wild
KO Type
Water Channel is
Expressed Normally



Saliva output (mg per body weight in g)



Enzyme Secretion (Amylase) ‡

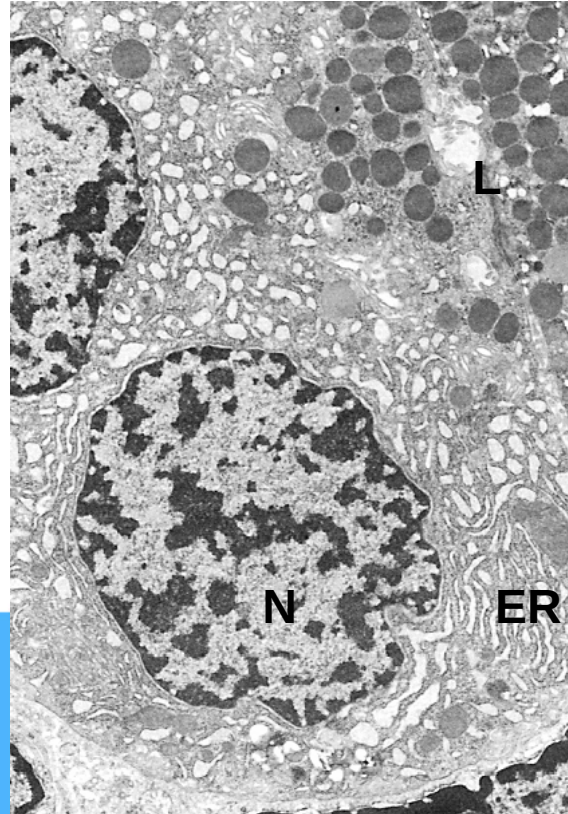


Double KO Control
Pilocarpine 10 mg/kg

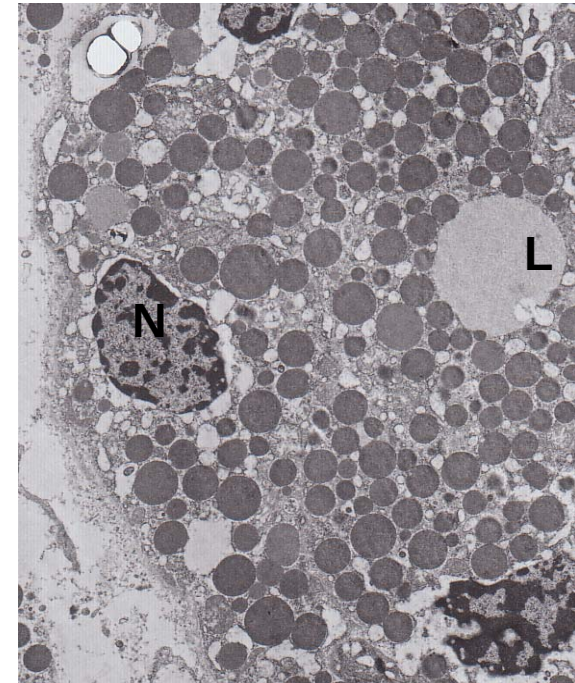
P21 mice gave similar results.

Electron Micrographs of Lacrimal Gland of Wild-type and $IP_3R2^{-/-}IP_3R3^{-/-}$ Mouse

Wild ‡



$IP_3R2^{-/-}IP_3R3^{-/-}$ ‡



L: lumen
ER: rough
endoplasmic
reticulum
N: nucleus

(X2,000)

Abnormal accumulation of secretory granules was observed in acinar cells of $IP_3R2^{-/-}IP_3R3^{-/-}$ mouse.

A. IP_3 レセプターの発見・一次構造決定・カルシウムチャネル

1. IP_3 レセプターの発見

(Brain Res. 1977)(Dev. Neurosci. 1979) (Nature 1989) (EMBO J. 1990)

2. IP_3 レセプターの全一次構造の決定

(Nature 1989)

3. IP_3 レセプターは Ca^{2+} チャネルである

(J.Biol.Chem.1991,1995)

4. 細胞内の Ca^{2+} オッシレーター（振動発振装置）である

(Science 1992)

B. 神経系の発生・分化と可塑性における役割の解明

1. 将来神経をつくる背側化のメカニズムの解明

(Science 1987, Nature 2002)

2. ニューロンの突起伸展に関与

(Science 1998) (J.Neurosci. 2006)

3. ノックアウトマウスは小脳失調を示し、てんかんをおこす

(Nature 1996)

4. IP_3 レセプターがシナプス可塑性に関わることの証明

1) 小脳の長期抑圧に関与

(J.Neurosci. 1998)

2) 海馬の長期増強に関与

(Learning & Memory 2000)

3) シナプスの特異性を規定

(Nature 2000)

C. 新しいシグナル機構の発見

1. IP_3 がレセプターに結合するとカルシウム放出の他に新規のIRBIT を出する.

(J.Biol.Chem 2003) (Molecular Cell 2006)

IRBIT は酸・塩基バランスを調節する

(PNAS 2006)

2. ユニークな様々な細胞生物学的性質

(J.Biol Chem.a,b,c,d 2004)(J. Cell Sci. 2004)

3. レドックス（酸化還元）とカルシウムシグナルはリンクする。

(Cell 2005)

4. 外分泌に $\text{IP}_3\text{R}2,3$ が必須

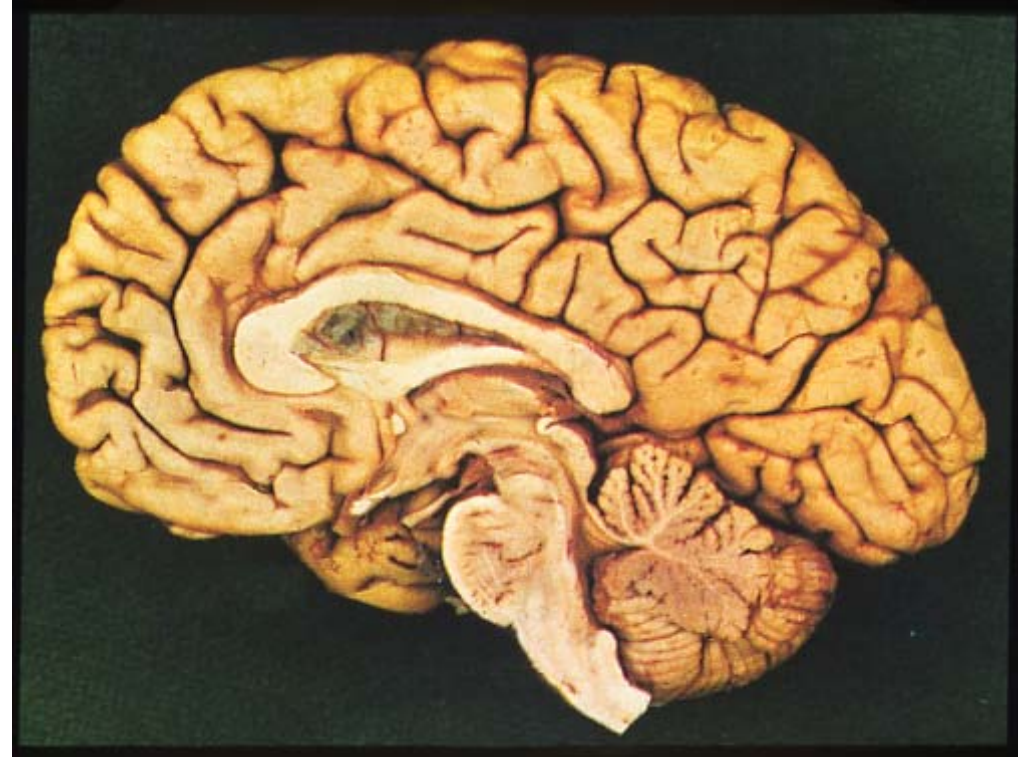
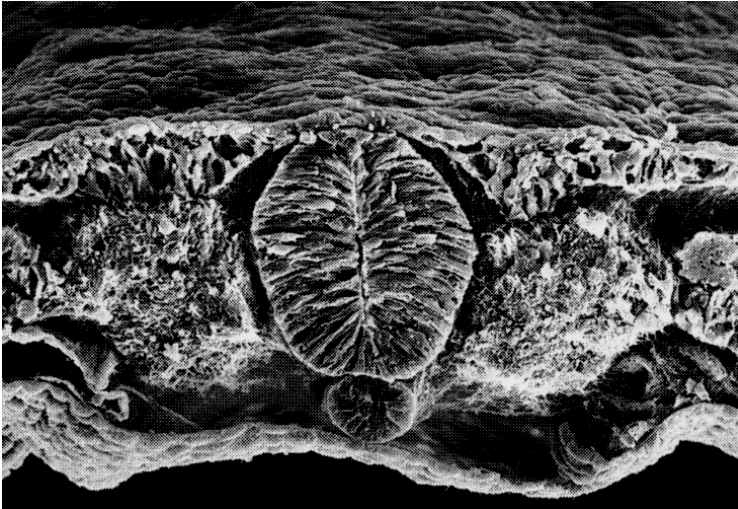
(Science 2005)

D. 3次元構造

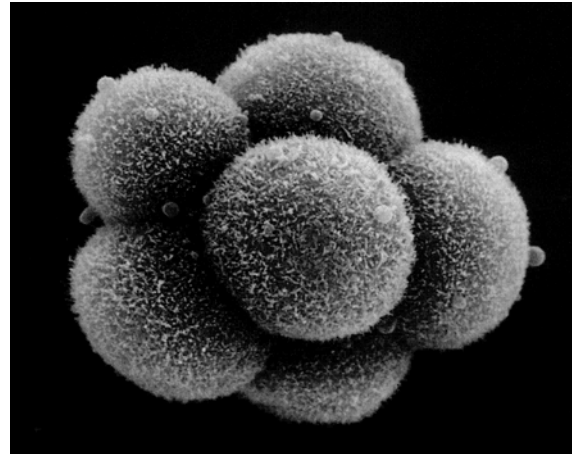
1. IP_3 認識部位の3次元X線結晶構造(2.2Å)の決定

(Nature 2002)

Understanding the molecular basis of neural development



Molecular
biology,
Biochemistry,
Biophysics,
Structure biology



• *Normal* 正常 — *Abnormal* 異常

• *Health* 健康 — *Disease* 病気

小脳失調ミュータントマウス
分子異常—形態異常—機能異常の
関連付けが可能

1. 神経細胞の位置決定と脳の皺形成
2. Zic遺伝子の発見とその解析
3. IP₃ receptorの発見とその解析

研究

1. 新しい研究の切り口と視点
2. 因習、固定概念の打破
3. ワンパターンからの脱却
4. 発想のユニークさ、自由さ、豊かさ
3. 材料の自由な選択
4. 新しい技術の導入
5. 新しい技術の開発

人材

1. 多様な分野からの人材の確保
2. ユニークな人材の確保
3. 発信して人を引きつけるような人材の確保

個人の独立心の養成

池上 徹
井上 貴文
岩井 美和子
久恒 智博
小川 直子
上野 洋子
水谷 顕洋
張 松 柏
道川 貴章
内田 敬子
来馬 明規

濱田 耕造
後藤 純一
黒倉 あゆ子
坂内 博子
松浦 徹
肥後 剛康
鈴木 昭夫
Helene Kiefer
Roman Hudec
尾崎 庄一郎
篠原 理

鈴木 商信
綴木 大
中村 京子
中村 秀樹
西田 多香子
山口 直秀
山崎 美佳
山田 義之
山本 恵美子
安東 英明
榎本 匡宏
永吉 旭土
河合 克宏
宮本 章歳
玉虫 さやこ
黒田 有希子
佐藤 真衣子
佐藤 明渚
寺本 渚
松本 津美
菅原 健之

石田 幸子
藤本 一朗
能村 光紀
有菌 美沙
清水 知佳
澤口 琴美
白壁 恭子
笹治 としみ
清水 義則
山口 博世
大島 登志男
小川 実幸
東門 誠一
二木 啓
樺山 博之
阿部 (鈴木) 靖子
山田 みず樹
皆川 徹也
廣中 克典
徳重 直子
竹内 誠
鈴木 博美
戎井 悦子

足立 知子
福田 七穂
畑山 実
越智 由香里
池辺 美子
高村 美和
相原 優子
青山 淳夫
有賀 純
安藤 亮子
池中 一裕
石渡 みずほ
泉 国辰
伊藤 梨絵
稲生 秀俊
井上 貴史
井端 啓二
今井 貴雄
芋川 浩
岩崎 広英
岩崎 靖乃
岩附 正人

内山 剛/彩	笠原 博子	小出 剛	須賀 (矢野)	真 奮	田 修平
太田 幸子	加藤(磯野)敏子	幸田 和久	杉山 友康	中尾 純治	
大畠 慶子	神長 達郎	小久保 互	鈴木 昇	長岡 直美	
大矢 保子	河崎 雅暢	小島 俊男	角田 恒輔	中川 敏幸	
岡野 栄之	菅野 栄子	小菅 康弘	Lee G. Sayers	仲嶋 一範	
岡野 (小黒) 美枝	菊地 清美	小薮 芳男	高橋 琢哉	永井 健治	
岡部 (前田) 恵子	北口 哲也	近藤 哲朗	高橋 直子	永田 栄一郎	
岡部 正隆	久保 健一郎	犀川 和佳奈	高山 千利	中田 勝紀	
岡本 太郎	糸 昭苑	蔡 偉華	滝山 容子	中出 真嗣	
須田 祐紀代	黒田 垂歩	斎藤 哲一郎	竹居 光太郎	中西 節子	
海津 雅彦	黒田 優佳子	斎藤 みゆき	竹下 浩	中野 陽子	
鹿川 哲史	桑島 吾郎	三枝 智香	武田 洋幸	中平 健祐	
		酒井 恵子	竹宮 公仁子	中俣 佳恵	
		榊原 伸一	武山 康子	中村 真	
		定方 哲史	楯 直子	中山 高宏	
		実吉 岳郎	立石 陽子	中山 智博	
		澤本 和延	田畑 秀典	夏目 徹	
		澤本 尚美	田村 隆明	新延 道夫	
		塩田 千代	辻村 恵美	橋本 光広	
		星(柴) 玲子	角田 伊久子	服部 光治	
		周 虹	坪井(浅井) 久恵	濱里 史明	
		山口 (白石) 陽	髯井 昭夫	濱田 (大西) 知	
		辛 龍文	土井 麻子	濱中 裕喜	
		須賀 圭	徳山 勤		

林 周宏
林 雅美
久野 泰子
平嶋 千恵
平塚 敦子
廣田 順二
福田 光則
福田 (相澤)
藤井 重元
藤野 一郎
船水 博文
古市 貞一

裕子

古玉 大介
星野 明美
星野 潤
千場 和永
前田 信明
前田 伸子
松下 文雄
松村 礼子
松本 峰男
Julie M.Matheson

萬木 浩
三浦 正幸
三上 敦
水野 秀昭
光山 冬樹
宮内 浩
宮田 卓樹
宮村 毅
宮本 歩
宮本 一世
宮脇 敦史
武藤 彩
森口 聡
森田 規之
森田 光洋
守村 敏史
門川 俊明
安井 正人
安富 大祐
ベイン(旧 柳田) 知花
山内 和志

山口 宜秀
山崎 彰子
山田 憲彦
山田 麻紀
山本 秀幸
山本 (日野) 美紀
山寄 紀子
柚崎 通介
横田 尚樹
横山 玲
坂本 (吉川) 香代子
吉川 真悟
吉川 (川本) かおり
吉川 文生
吉田 学
米島 宏幸
李 敏
李 勝天
梁 淑姫