

平成 20 年度 新潟生化学懇話会 抄録集

平成 20 年 6 月 21 日 (土) 13:00—

新潟大学旭町キャンパス内 (新潟市中央区旭町通 1)

脳研究所統合脳機能研究センター6F セミナーホール

目次

プログラム・・・・・・・・・・3-4 ページ

一般演題抄録・・・・・・・・・・5-8 ページ

シンポジウム演題抄録・・・・9-12 ページ

特別講演抄録・・・・・・・・・・13-14 ページ

平成 20 年度 新潟生化学懇話会プログラム

期日：平成 20 年 6 月 21 日（土）13:00—

場所：新潟大学旭町キャンパス内 脳研究所統合脳機能研究センター6F

セミナーホール（新潟市中央区旭町通 1）

（発表者は下線）

13:00-13:05 開会の辞 五十嵐 道弘 [新潟大学医歯学系・分子細胞機能学]

13:05-13:53 一般講演（4 題；各演題とも発表 10 分、討論 2 分）

座長：織田 公光 [新潟大学医歯学系]；堀米 恒好 [新潟大学自然科学系]

1. がん抑制遺伝子 Rit1/Bcl11b の T 細胞分化における役割

広瀬 哲史（新潟大学医歯学系・分子生物学）

2. 細胞膜蛋白質 ADAM2 により制御されるニューロブラストの移動

村瀬 真一¹⁾, Chunghee Cho²⁾, Judith M. White³⁾, Alan F. Horwitz³⁾

(¹⁾ 新潟大学医歯学系・薬理学; ²⁾ Dept Life Sci, Gwangju Inst Sci & Technol; ³⁾ Dept Cell Biol, Univ Virginia Sch Med)

3. 水晶振動子マイクロバランス法によるプロテアーゼ・プロテアーゼインヒビター分子間相互作用の解析

斎藤 英一¹⁾、笠原 仁¹⁾、串宮 範彦¹⁾、下村 雅人²⁾ (¹⁾新潟工科大学大学院・生物化学工学、²⁾ 長岡技術科学大学工学部・生物系)

4. 全自動リン酸化ペプチド精製システムの開発

岩瀬 由佳、堀米 恒好（新潟大学自然科学系・有機物質化学）

13:53-14:00 休憩

14:00-15:40 ミニシンポジウム「プロテオミクス」（4 題；発表は討論込みで各 25 分）

座長：五十嵐 道弘 [新潟大学医歯学系]、吉田 豊 [新潟大学医歯学系]

1. 質量分析計を用いた網羅的解析：限界と挑戦

吉田 豊（新潟大学医歯学系・腎研構造病理）

2. 細胞内リン酸化の大規模定量解析—シグナル伝達の全体像の解明を目指して—

松本 雅記（九州大学生体防御医学研究所・分子発現制御学）

3. リボヌクレオプロテオミクス：LC-MS を基盤とした低分子 RNA 同定法の開発

田岡 万悟（首都大学東京大学院理工学研究科・分子物質化学）

4. 成長円錐のプロテオミクスと機能解析

野住 素広、五十嵐 道弘（新潟大学医歯学系・分子細胞機能学）

15:40-15:50 休憩

15:50-17:10 **特別講演** (2 題 ; 発表は討論込みで各 40 分)

1. 特別講演 I. 新潟ゲノムタイピングセンターの活動

桑野 良三 (新潟大学脳研究所・**遺伝子機能解析学**)

(座長 : 木南 凌 [新潟大学医歯学系])

2. 特別講演 II. 神経細胞の多様性獲得のための分子戦略

星野 幹雄 (国立精神・神経センター神経研究所・診断研究部)

(座長 : 五十嵐 道弘 [新潟大学医歯学系])

17:10 - 17:15 閉会の辞 五十嵐 道弘 [新潟大学医歯学系・分子細胞機能学]

17:20-19:00 **懇親会** (新潟大学医歯学総合病院病棟 12F 職員食堂)

がん抑制遺伝子 *Rit1/Bcl11b* の T 細胞分化における役割 (一般演題 1)

広瀬 哲史

新潟大学大学院 医歯学総合研究科分子生物学分野

がん抑制遺伝子 *Bcl11b/Rit1* は、T リンパ細胞の初期段階において β -selection や positive selection に必須である。しかし、その後の分化段階や末梢での役割は不明であった。今回、変異原の投与により *Rit1/Bcl11b* 変異マウスを作製し、解析したところ、*Bcl11b/Rit1* 遺伝子が細胞障害性 T リンパ細胞分化、増殖や *CD8a* 遺伝子発現にも関与していることが示唆された。

細胞膜蛋白質 ADAM2 により制御されるニューロブラストの移動（一般演題 2）

村瀬 真一¹⁾, Chunghee Cho²⁾, Judith M. White³⁾ and Alan F. Horwitz³⁾

1) 新潟大学大学院医歯学総合研究科（医学部）・薬理学分野

2) Department of Life Science, Gwangju Institute of Science and Technology

3) Department of Cell Biology, University of Virginia School of Medicine

嗅球へ移動するニューロブラストは、側脳室周囲からrostral migratory stream (RMS) を経て嗅球の中央へ到達する。このニューロブラストの移動は、ニューロブラストが周囲のニューロブラストと接触しながら移動する連鎖移動の様式をとると考えられているが、その詳細な分子機構は不明である。私達は、膜蛋白質であるADAM2の発現を移動中のRMSニューロブラストに見出したので、ニューロブラストの移動におけるADAM2の機能を検討した。ADAM2ノックアウトマウス (KO) の嗅球は生後0日において、野生型マウス (WT) のそれよりも小さく、RMSの体積も吻側においてWTに比較して小さかった。BrdU標識によりKOのニューロブラストの移動速度はWTに比較して減少していることが示された。更に脳スライスを用いて個々のニューロブラストの移動を直接に観察したところ、KOでは移動速度の減少があり、移動の方向性が乱れていることが明らかになった。WTおよびKOのニューロブラストをマトリゲル内で培養すると、WT由来のニューロブラストは連鎖移動を示したが、KOのニューロブラストは連鎖を形成することなく、単独で、しかもより緩やかな速度で移動をするニューロブラストが大部分であった。KOにおいて観察されたこの表現型は、ADAM2の機能阻害ペプチドを脳スライスに適用した場合にも認められた。また、KOニューロブラストをWTのスライス上で移動させた場合、WTニューロブラストをKOのスライス上で移動させた場合それぞれに、ニューロブラストの移動速度の減少と移動方向の乱れが観察されたことから、ADAM2遺伝子の変異は個々のニューロブラストの移動だけでなく、ニューロブラストが移動するRMS環境にも影響していることがわかった。これらの結果から、ADAM2はニューロブラスト-ニューロブラスト間、またはニューロブラストとその移動環境間の相互作用に重要な役割を果たし、ニューロブラストがその目的地へと向かうための早い細胞移動を可能にしていると考えられた。

水晶振動子マイクロバランス法によるプロテアーゼ・ プロテアーゼインヒビター分子間相互作用の解析 (一般演題 3)

斎藤 英一¹、笠原 仁¹、串宮 範彦¹、下村 雅人²

¹新潟工科大学大学院・生物化学工学、²長岡技術科学大学工学部・生物系

生体物質がお互いに認識結合しあうことにより多くの生命現象が営まれる。分子認識の組合わせ例として、酵素_基質、酵素_阻害剤、抗原_抗体、ホルモン-レセプター、レクチン_糖鎖、DNA_DNA(または RNA)などがある。分子認識機能を水晶振動子(QCM)の表面に固定化すれば、固定化された機能に認識される物質の物理化学的性質を分析することが可能となる。分子認識機能を備えた QCM はピコグラムレベルの重量変化を周波数変化として捉えることができ、医療、環境、水産、食品などの幅広い分野で汎用されることが期待されている。我々は QCM 計測機を作成し、自作機を用いてプロテアーゼとプロテアーゼインヒビターの分子間相互作用を解析したので報告する。

材料と方法： 表面に金蒸着が施されている 21 MHz の QCM をサンライズ工業株式会社(新潟県糸魚川市)より入手した。QCM チップの金表面を 16 mM シスタミン水溶液、1 mM ジチオビス水溶液、1 mM 11-アミノ-1-ウンデカンチオール水溶液または 1 mM カルボキシ-EG₆-ウンデカンチオール水溶液に 1 時間浸漬することにより自己組織化単分子層(SAM)を形成した。次いで、0.02 mg/ml のプロテアーゼインヒビター溶液と 0.2 mg/ml の *N*-シクロヘキシル-*N'*-(2-モルホリノエチル)カルボジイミドメト-*p*-トルエンスルホン酸塩(CMC)溶液の等量混合溶液に QCM チップを 2 時間浸漬し、ボーマン・バークインヒビター(BBI)、大豆トリプシンインヒビター(STI)、卵白シスタチン(EWC)を固定化した。インヒビターが固定化されている QCM チップを 100 mM トリス緩衝液(pH 8)または 100 mM リン酸緩衝液(pH 6.8)中に浸漬させ、プロテアーゼ溶液(0.1 mg/ml)を 100, 100, 300, 600, 600, 600 1 ずつ逐次的に添加し、QCM に固定化されたプロテアーゼインヒビターとプロテアーゼとの結合が飽和するまで周波数変化を追跡した。解離定数 K_d (結合定数の逆数)は岡畑らの方法に従い算出した。

結果と考察： QCM 表面に固定化されたインヒビターのプロテアーゼに対する K_d を測定したところ、トリプシン-BBI、キモトリプシン-BBI、トリプシン-STI 間の K_d はそれぞれ 16.1 nM, 9.93 nM, 1.48 nM と算出された。これらの値はそれぞれ文献値とよく一致するので、各インヒビターの阻害部位が対応するプロテアーゼの活性溝と結合可能な配向(オリエンテーション)で QCM 表面に固定化されていると考えられた。一方、シスタミン、11-アミノ-1-ウンデカンチオール、ジチオビス、カルボキシ-EG₆-ウンデカンチオールなどの SAM 形成試薬で EWC を QCM 表面に固定化した場合、パパイーンと EWC 間における K_d はそれぞれ 112.8 nM, 116.6 nM, 129.4 nM, 205.2 nM と測定された。これらの値はいずれも文献値(0.6 fM)に比較して、きわめて大きな値であることが判明した。この解析データは EWC 分子内に存在する三つのパパイーン阻害部位 (⁹G, ⁵³QLVSG, ¹⁰³PW)のうち、阻害部位の一部しかパパイーンと結合できない配向で EWC が QCM 表面に固定化されたことを示唆する。

全自動リン酸化ペプチド精製システムの開発 (一般演題 4)

岩瀬 由佳、堀米 恒好

新潟大学自然科学系・有機物質化学

質量分析装置 (MS) の発達とともに、ホスホпротеオームも MS を用いた解析方法が主流となっている。しかし、リン酸化ペプチドは非リン酸化ペプチドによる抑制でイオン化されにくく、また生体内で実際にリン酸化されているタンパク質は一部であることから、タンパク質混合物のトリプシン分解物を直接 MS で分析してもリン酸化ペプチドはほとんど検出されない。そのため、MS の前処理としてリン酸化ペプチドのみを特異的に分離・精製する必要がある。そこで我々は、リン酸化ペプチドを特異的に保持するチタニアカラムを用いて、全自動リン酸化ペプチド精製システムの開発を行った。

我々は、³²P ラベルした生体試料を用いて、従来からよく用いられている IMAC カラムよりもチタニアカラムのほうがよりリン酸化ペプチドの保持力が大きいことを認めた。一方で、チタニアカラムは保持力が強いため、生体試料のトリプシン分解物に大量に含まれる非リン酸化ペプチドの一部が非特異的に吸着して混入し、リン酸化ペプチドのイオン化が抑制された。よって、チタニアカラムは、非特異的に保持された非リン酸化ペプチドをいかに取り除くかがキーとなる。そこで、標準タンパク質トリプシン消化物の混合物を用いて様々なチタニアカラム洗浄条件を検討した。その結果、イソプロパノールによる洗浄が非リン酸化ペプチドの除去に有効であることを見出した。チタニアチップ法で有効と報告された 750 mM トリフロロ酢酸 / 80 % アセトニトリルによる洗浄も、酸性ペプチドの除去に有効であったことから、これらを組み合わせることで洗浄条件を最適化した。また、リン酸化ペプチドをリン酸緩衝液でチタニアカラムからオンラインで溶出し ODS カラムに保持させる際、高親水性のリン酸化ペプチドが保持されないという問題が生じたが、その原因を突き止め改良することで確実に ODS カラムに保持させた。その他、試料の前処理としてポリスチレン系逆相カラムを組み込む等、さまざまな改良を行い、全自動リン酸化ペプチド精製システムを構築した。そして、この方法をアフリカツメガエル卵分裂期抽出液のトリプシン分解物からのリン酸化ペプチドの精製に適用した結果、501 種類のリン酸化ペプチドを MALDI-TOF-MS で検出した。このときのリン酸化ペプチド精製度は 85 % であった。

以上より、生体試料に適用可能な全自動リン酸化ペプチド精製システムを確立できた。このシステムは、プロテアーゼ処理した試料さえ準備すれば、ポリスチレン系逆相カラムでの前処理、チタニアカラムのペプチド混合物からリン酸化ペプチドの分離・精製、ODS カラムでのリン酸化ペプチド分離を全自動で行うことができる。今後 LC-MS と組み合わせることにより、さらなるリン酸化ペプチド同定数の増加が見込まれる。

シンポジウム「プロテオミクス」

1. 質量分析計を用いた網羅的解析：限界と挑戦

吉田 豊

新潟大学医歯学系・腎研究施設構造病理学分野

質量分析計を用いたタンパク質解析の飛躍的な技術革新とヒトをはじめとする多くの生物種のゲノム配列のデータベース化により、従来では考えられなかったハイスループットなタンパク質同定が可能になり、新規バイオマーカー、疾患関連タンパク質、治療標的タンパク質発見の有力な手法としてプロテオミクス解析が大きな期待を集めている。しかしながら、プロテオミクス研究が世界的に広がり始めたのは実際にはおよそ 5 年まえからであり、歴史的な蓄積が低いという点を考慮しても、プロテオーム解析からの臨床応用が可能なバイオマーカー・疾患関連タンパク質の発見は少ないといわざるを得ないのが現状である。

この原因として、これまでの研究が質量分析計によるタンパク質の網羅的解析の限界を意識的あるいは無意識的に軽視し、その解析能力に過剰な期待をもっていったことが指摘できる。質量分析計を用いた網羅的解析の限界はこれまでも指摘されてきたことでもあるが、改めて整理してみると以下の 3 点に要約できる。

- 1) 対象となる試料(血漿、血清、尿、脳脊髄液などの体液、手術により摘出された組織、生検試料)の濃度範囲(ダイナミックレンジ)が広く(10^7 - 10^{10})、それに比較して現在入手可能な高性能質量分析計のダイナミックレンジ(およそ 10^4)が狭く、極めて低濃度であることが予想されるバイオマーカー・疾患関連タンパク質の同定が困難であること。
- 2) 高濃度と低濃度のタンパク質・ペプチドが共存した場合、ESI など広く利用されているイオン化法において、低濃度のタンパク質・ペプチドのイオン化が抑制される現象(ion suppression)。
- 3) 網羅的解析に多く利用されている LC-MS/MS 法では標的イオンの選択がランダムに起こり、特に低濃度のターゲットイオンが選択できなかつたり、1 回の解析のみでは同定できないタンパク質の存在が無視できないこと。

本発表では、これらの限界を解消するための現在のプロテオミクス解析技術の現状について考察するとともに、現在我々が取り組んでいるヒト腎糸球体の網羅的解析についてこれまでの研究成果を報告する。また、あわせて、腎生検試料から laser microdissection (LMD)法により切り出した糸球体切片の対象としたマイクロ・プロテオミクス解析の現状についても紹介する予定である。

シンポジウム「プロテオミクス」

2. 細胞内リン酸化の大規模定量解析

ーシグナル伝達の全体像の解明を目指してー

松本 雅記

九州大学生体防御医学研究所 分子発現制御学分野

付属感染防御研究センター(GCOE プロテオミクスセンター)

ゲノム科学の発展によって得られた情報を基盤として、トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析に代表される網羅的解析法が盛んに行われている。特に近年急速に発達した質量分析計を用いたプロテオーム解析はタンパク質の発現量情報に加えて、さまざまな翻訳後修飾情報を与える。タンパク質のリン酸化は細胞内シグナル伝達において最も重要な翻訳後修飾の一つである。これまでに様々なプロテインキナーゼの生物学的重要性が示されてきたが、その生理的基質が十分に同定されているものは意外に少なく、インプット（細胞外刺激など）とアウトプット（細胞応答）との間に依然大きなブラックボックスが存在するのが現状である。このブラックボックスの中身を理解するためには、「如何なるタンパク質」の「どの部位」がリン酸化を受けているかを知ること（＝シグナル伝達分子のカタログ化）が重要である。さらに、「いつ」、「どれぐらい」リン酸化を受けているかを知るとは、リン酸化を介したシグナル伝達ネットワークのダイナミクスを計測することを意味する。

このような背景からわれわれは、細胞内リン酸化の網羅的な定量解析技術の開発に取り組んできた。具体的には、1) 金属イオン固定化アフィニティークロマトグラフィー(IMAC)の徹底的な最適化による高純度リン酸化ペプチド濃縮法の確立、2) SILAC 法や iTRAQ 法などの安定同位体標識法とリン酸化ペプチド精製技術の組み合わせによるリン酸化ペプチドの変動解析法の確立、3) 得られた大規模データを効率よく解析するための情報処理基盤の整備を行ってきた。その結果、一回の解析によって数千カ所のリン酸化部位の同定・定量が可能となり、リン酸化を指標とした細胞内シグナル伝達ネットワーク動態解析が現実味を帯びてきた。本シンポジウムではわれわれが構築したシステムの概要と、それを利用した細胞周期や細胞外刺激依存的なリン酸化の大規模解析を紹介したい。

シンポジウム「プロテオミクス」
3. リボヌクレオプロテオミクス：
LC-MS を基盤とした低分子 RNA 同定法の開発

田岡万悟

首都大学東京 大学院理工学研究科分子物質化学専攻

近年、RNA や RNA/タンパク質複合体が担う多彩な細胞機能が注目されている。これらの RNA 分子の多くは前駆体である非コード RNA やコード領域のイントロンから生じることが知られているが、複雑な転写後修飾を受けるため、実際の細胞で機能している RNA の種類や構造、存在量などの詳細は殆ど知られていない。本研究では、プロテオミクス研究のために開発した高性能のショットガン解析システムを RNA 分析のために最適化することで、生体から分離した RNA 混合物や RNA/タンパク質複合体に含まれる RNA 成分を網羅的に解析できる「RNA ショットガン法」の開発に向けた基礎的な検討を行った。まず、RNA をポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離した後に塩基特異的な RNA 切断酵素でゲル内消化する方法を検討した。また、低分子 RNA の LC での分離条件ならびにナノ LC から超微流速で送液されてくる微量 RNA の質量分析のための安定したイオン化の方法について検討した。さらに、それらの LC-MS/MS 解析で得られたマススペクトルをクエリーとして、新たに開発した RNA サーチエンジンによってデータベース検索することで、試料中の RNA を同定することができるようになった。これらの方法で、酵母細胞から調製した tRNA やヒト培養細胞由来のリボソーム先駆体などに含まれる主要な RNA の同定に成功した。

シンポジウム「プロテオミクス」

4. 成長円錐のプロテオミクスと機能解析

野住 素広、五十嵐 道弘

新潟大学医歯学系・分子細胞機能学

神経が成長したり、再生する際には突起の先端に成長円錐という運動性に富んだ構造をとる。この構造体には分子メカニズムはよくわかっていない。特定の分子が成長円錐の機能に関係することを証明する手段はあるが、成長円錐の機能を説明する分子経路を証明するためには、基本的な分子群が成長円錐では何かを調べる必要がある。このような観点から、ある系に存在する蛋白質を網羅的に同定するプロテオミクスの手法を適用することで、この問題を解決することとした。成長円錐蛋白質を 950 種類程度同定し、その中で成長円錐に新たに見出された分子 150 種を免疫染色して軸索と成長円錐のどちらに強く分布するかを決定し、成長円錐に濃縮されているもの 90 種類を証明した。成長円錐においては、通常よく行われる比較プロテオミクスの手法が使えないので、免疫染色によって形態学的に、より濃縮されている分子を証明したわけである。またこの結果、上記の 150 種類の中で、false-positive とと思われる分子は 1 件を見出せなかった。よって、本研究で得られたプロテオミクスデータは極めて信頼性【特異性】の高いであることが証明された。

これらをリソースとして、どのような研究が可能であろうか？われわれは上記の 90 種類程度のうち、導入効率の低い神経細胞に適用できる RNAi 解析法を開発して実施し、そのうちの 15 種類程度が神経成長に直接関係することを証明した。すなわち、これらが神経成長の分子マーカー、すなわち機能的な成長円錐のマーカー分子であることを解明した。以上をまとめると、神経系でのプロテオミクスの結果は《当然はあるが》、神経科学で用いられている分子細胞生物学的手法と結びついて初めて、有効な手段であるといえる。今回は、これ以外にも上記のデータを使って初めて可能となった研究法を紹介する。

なお本研究は、首都大学東京の磯辺 俊明・田岡 万悟 両博士との共同研究である。

特別講演 I: 新潟ゲノムタイピングセンターの活動

桑野 良三

新潟大学脳研究所附属生命科学リソース研究センター

バイオリソース研究部門 遺伝子機能解析学分野

長い人類の歴史の中で、十分な食料の確保、感染症の克服、医療技術の進歩・・・今日 我々はかつてない高齢社会を迎えている。一方、長寿と引換えに、これまで人類が経験したことのない病気と向き合うことになった。その 1 つが高齢者の認知症である。我が国の認知症は 170～200 万人、世界では 2400 万人、2020 年には 4000 万人、2040 年には 8000 万人が罹患し、460 万人/年 (1 人/7 秒) の新規発病が推定される。認知症の 2/3 はアルツハイマー病 (AD) である。1906 年 11 月にドイツの精神科医アルツハイマーが最初の患者を診察して以来、100 年間で AD は急増した。臨床的には軽い物忘れから重度認知障害、寝たきりで食べることもできない状態に緩徐に進行する。細胞生物学的には可逆的な神経細胞機能低下から不可逆的な形態変化である老人斑の出現、神経原繊維変化、神経細胞脱落へと 10 年以上かけて進行する。このように高齢者疾患は個体死が細胞死に近づいたとも言える。

発症年齢のより若いアルツハイマー型認知症と老人性認知症は長い間区別されていたが、1970 年代に病理学的所見から両者は同じ疾患であることが解った。多くの神経疾患には多発家系が知られており、AD も症例数は非常に少ないが常染色体優性遺伝形式を示す単一遺伝病が存在し、その原因遺伝子 (*APP*, *PSEN1*, *PSEN2*) が同定され、95%以上を占める晩期発症型孤発性 AD についても分子遺伝学、細胞生物学の研究が急速に進んだ。AD もゲノム情報を基調として環境因子が複雑に絡み合った生体反応の破綻と捉えることが出来る。加齢に伴って AD の有病率および罹患率は共に高くなるが、高齢者全員が AD にはならない。発症するかしないかの閾値を上下させているのが遺伝的「罹りやすさ」と考えられる。

このような背景にあって、「AD の遺伝的危険因子の探索研究」が「高齢者 5 大疾患の克服 (2000 年-)」プロジェクトに取り上げられた。このミレニアムプロジェクトでオールジャパン体制の JGSCAD (The Japanese Genetic Study Consortium for Alzheimer's Disease; 45 施設) を組織した。JGSCAD が中心となって、共通診断基準を作成して発症年齢、性別、臨床心理検査、血液生化学データ等の診療情報が付随した「質の高い」大規模ゲノム収集を行い、現在 7000 例を越えた。DNAはすべて Niigata Genotyping Center に集め、一括してゲノム解析を行う中核施設として活動してきた。AD は緩徐であるが確実に進行する疾患であるので、現在正常であっても 5 年後に発病するかも知れない。JGSCAD では横断的に試料を収集したので、正常→軽度認知障害→AD への移行を的確に診断する前向き研究で収集する試料が不可欠である。JGSCAD が母胎となって全国 35 施設が参加する大規模前向き臨床研究が、2007 年から開始された。臨床診断、心理検査、脳画像、バイオマーカー測定、ゲノム解析を 600 人について半年ごとに追跡する。全被験者のバイオマーカー

測定およびゲノム解析並びに DNA、血漿、血清、脳脊髄液、尿、不死化リンパ球などバイオリソース保存のコアとして任務に当たっている。

特別講演 II: 神経細胞の多様性獲得のための分子戦略

星野 幹雄

国立精神・神経センター 神経研究所 診断研究部

我々ヒトを含むほ乳類の中樞神経系には数百〜数千種類もの神経細胞が存在するが、これら多種多様な神経細胞がそれぞれ固有の機能を発揮することによって、複雑かつ高度な脳機能が可能となる。かように、「いかにして多種多様な神経細胞が生み分けられるのか」は神経科学における重要な問題である。発生過程においては、大半の神経細胞は神経管の神経上皮から生み出される。従来の解剖学的研究や **birth dating study** などによって、神経細胞の種類は、その細胞が生み出される神経上皮の位置および時期に相関があると考えられていたが、その分子的な実体については未だ不明な点が多い。

近年になって、マウスをはじめとするモデル動物での遺伝学的解析手法が目覚ましく発展してきた。これによって、特定の神経細胞が神経上皮のどの領域からいつ生み出されるのか、そしてそこにはどのような遺伝子・分子が関与しているのか、などが明らかにされつつある。我々は、小脳皮質の全ての領域を欠失し、運動失調症状を示す、新たな突然変異マウス *cerebellless* を発見し、その原因遺伝子を同定・解析することによって、上記問題に迫ろうとしてきた。そして、小脳の各種神経細胞および小脳へ投射する二種類の神経細胞がいかにしてそれぞれの個性を獲得するのか、少しずつではあるが体系的に明らかになりつつある。本講演では、マウスの遺伝学を用いた我々および他のグループの研究を紹介しながら、「神経細胞がその多様性を獲得するための分子戦略」について、考察したい。