

その心臓部であるモータードメインについて、ようやくその(力発生後の)原子構造を手にすることができた。しかし、今後明らかにしなくてはならない点が多い。まず、ATP加水分解サイクル中の各構造—特に力発生前の構造—を原子レベルで明らかにすることが次に求められる最重要課題の一つであろう。また、AAA2~AAA4によるモーター活性制御の具体的なメカニズムを明らかにすることも重要である。さらには、ダイニン複合体全体の運動と制御メカニズムを解明する必要がある。筆者らは、構造解析と機能解析の両面から、これらの課題を一步一步解明していきたいと考えている。

- 1) Vallee, R.B., McKenney, R.J., & Ori-McKenney, K.M. (2012) *Nat. Cell Biol.*, 14, 224-230.
- 2) Carter, A.P., Cho, C., Jin, L., & Vale, R.D. (2011) *Science*, 331, 1159-1165.
- 3) Kon, T., Sutoh, K., & Kurisu, G. (2011) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 18, 638-642.
- 4) Kon, T., Oyama, T., Shimo-Kon, R., Imamura, K., Shima, T., Sutoh, K., & Kurisu, G. (2012) *Nature*, 484, 345-350.
- 5) Schmidt, H., Gleave, E.S., & Carter, A.P. (2012) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 19, 492-497.
- 6) Roberts, A.J., Malkova, B., Walker, M.L., Sakakibara, H., Numata, N., Kon, T., Ohkura, R., Edwards, T.A., Knight, P.J., Sutoh, K., Oiwa, K., & Burgess, S.A. (2012) *Structure*, 20, 1670-1680.
- 7) Imamura, K., Kon, T., Ohkura, R., & Sutoh, K. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 16134-16139.
- 8) Neuwald, A.F., Aravind, L., Spouge, J.L., & Koonin, E.V. (1999) *Genome Res.*, 9, 27-43.
- 9) Kon, T., Shima, T., & Sutoh, K. (2012) in *Comprehensive Biophysics*, Vol. 4, pp. 360-376, Elsevier.
- 10) Burgess, S.A., Walker, M.L., Sakakibara, H., Knight, P.J., & Oiwa, K. (2003) *Nature*, 421, 715-718.
- 11) Kon, T., Mogami, T., Ohkura, R., Nishiura, M., & Sutoh, K. (2005) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 12, 513-519.
- 12) Roberts, A.J., Numata, N., Walker, M.L., Kato, Y.S., Malkova, B., Kon, T., Ohkura, R., Arisaka, F., Knight, P.J., Sutoh, K., & Burgess, S.A. (2009) *Cell*, 136, 485-495.
- 13) Erzberger, J.P. & Berger, J.M. (2006) *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 35, 93-114.
- 14) Carter, A.P., Garbarino, J.E., Wilson-Kubalek, E.M., Shipley, W.E., Cho, C., Milligan, R.A., Vale, R.D., & Gibbons, I.R. (2008) *Science*, 322, 1691-1695.
- 15) Kon, T., Imamura, K., Roberts, A.J., Ohkura, R., Knight, P.J., Gibbons, I.R., Burgess, S.A., & Sutoh, K. (2009) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 16, 325-333.

昆 隆英<sup>1,2</sup>, 栗栖 源嗣<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>法政大学生命科学部,

<sup>2</sup>科学技術振興機構さきがけ,

<sup>3</sup>大阪大学蛋白質研究所)

Structure and mechanism of cytoplasmic dynein  
Takahide Kon<sup>1,2</sup> and Genji Kurisu<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Faculty of Bioscience and Applied Chemistry, Hosei University, 3-7-2, Kajinocho, Koganei, Tokyo 184-8584, Japan, <sup>2</sup>JST, PRESTO, <sup>3</sup>Institute for Protein Research, Osaka University)

## 補助サブユニットによるグルタミン酸受容体の機能制御

### 1. はじめに

グルタミン酸はヒトの脳で主要な興奮性の神経伝達物質であり、グルタミン酸受容体の活性制御の仕組みを探ることは、脳の生理機能や病気を理解する上で重要である。近年、グルタミン酸受容体の機能を調節する補助サブユニットが注目され、多数の補助サブユニットが新たに報告されている。本稿では、哺乳類のイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の補助サブユニットの研究の進展を紹介する。

### 2. 興奮性シナプスとグルタミン酸受容体

化学シナプスでは、シナプス前終末からシナプス間隙へと神経伝達物質が放出される(図1)。放出された神経伝達物質が、シナプス後肥厚上の受容体に結合して応答を起こすことで、シナプス前細胞からシナプス後細胞へと情報が伝達される。興奮性シナプスはシナプス後膜で脱分極を起こし、シナプス後細胞の発火を導く。

グルタミン酸はヒトの脳で主要な興奮性の神経伝達物質である。イオンチャンネル型グルタミン酸受容体は薬理的に $\alpha$ -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate (AMPA)型、*N*-methyl-D-aspartic acid (NMDA)型、カイニン酸型に分類される(図1)。AMPA受容体は速い情報伝達を担い、シナプス上のAMPA受容体の数は情報伝達の強度を調整する。NMDA受容体はカルシウム透過性を示し、カルシウム依存性酵素の活性を調節して、シナプスの形態や情報伝達の効率を修飾する。カイニン酸受容体は、前シナプスで神経伝達物質の放出を調節し、後シナプスでAMPA受容体に比べ遅い情報伝達を担う。

グルタミン酸受容体は、それぞれ GluA1~4 (AMPA 受容体), GluN1~3 (NMDA 受容体), GluK1~5 (カイニン酸受容体) サブユニットからなる四量体で構成する。これらのサブユニットは共通して、細胞外の長いアミノ末端 (N 末端) 部位, 3 個の膜貫通部位, チャンネル孔ループ部位とカルボキシル末端 (C 末端) 細胞質部位の構造を有する (図 2)。従来, グルタミン酸受容体の C 末端部位とそこに結合するタンパク質が, 精力的に研究されてきた。そして近年, 新たにグルタミン酸受容体の補助サブユニッ

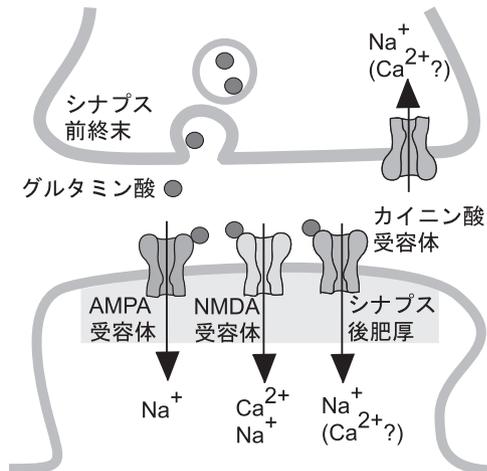


図 1 シナプスのイオンチャンネル型グルタミン酸受容体  
イオンチャンネル型グルタミン酸受容体は AMPA 型, NMDA 型, カイニン酸型に分類される。グルタミン酸受容体は陽イオンを透過し, 情報伝達を行う。

トの発見と機能制御が報告され注目を集めている。

### 3. AMPA 受容体補助サブユニット TARPs

transmembrane AMPA receptor regulatory proteins (TARPs) は最初に同定された AMPA 受容体補助サブユニットである。TARPs は 4 個の膜貫通部位と C 末端細胞質部位の構造を有する (図 2)。TARPs 自体はチャンネル孔を形成せず, AMPA 受容体に結合して作用する。TARPs は  $\gamma$ -2 (Stargazin, STG),  $\gamma$ -3,  $\gamma$ -4,  $\gamma$ -8 の I 型と  $\gamma$ -5,  $\gamma$ -7 の II 型から構成される<sup>1,2)</sup>。I 型 TARPs は C 末端部位に, 典型的な PSD-95/Dlg/ZO-1 (PDZ) ドメインへの結合配列を有する。

TARP  $\gamma$ -2 を欠損する変異体 *Stargazer* マウスは, 欠神性のけいれん発作と小脳性運動失調を示す。さらに, *Stargazer* マウスの小脳顆粒細胞は, シナプスの AMPA 受容体活性を消失することが報告されている<sup>3)</sup>。よって, TARPs は AMPA 受容体の活性に必要であると考えられる。

TARPs は AMPA 受容体のチャンネル機能を修飾する (図 3)。TARPs は, グルタミン酸に対する AMPA 受容体の不活性化動態を遅らし, 脱感作動態を低下し, 開口確率を増大し, その結果, 受容体のシグナル強度を増強する<sup>4)</sup>。

TARPs は AMPA 受容体の発現を安定化し, 細胞表面に分布する AMPA 受容体数を増大させる (図 3)。マウス TARP  $\gamma$ -8 の欠損変異は, 海馬神経細胞の表面に分布する AMPA 受容体数を減少させることが報告されている<sup>5,6)</sup>。

I 型 TARPs の C 末端部位は, シナプス後肥厚に特徴的

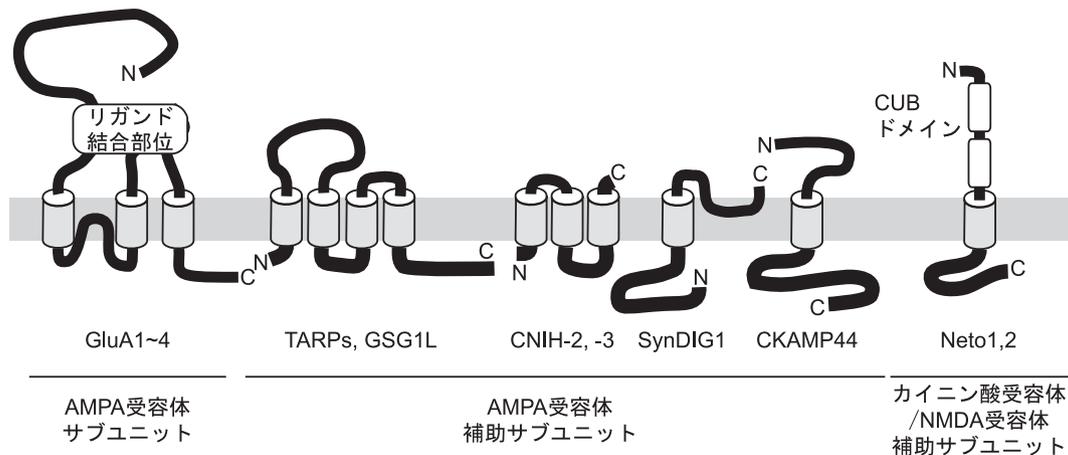


図 2 AMPA 受容体サブユニットと補助サブユニット

AMPA 受容体は GluA1~4 から構成される共通した構造を有する。TARPs, GSG1L, CNIH-2, 3, SynDIG1, CKAMP44 が哺乳類 AMPA 受容体の型補助サブユニットとして報告されている。NMDA 受容体の補助サブユニットとして Neto1 が, カイニン酸受容体の補助サブユニットとして Neto1, 2 が報告されている。N, C: N 末端, C 末端。

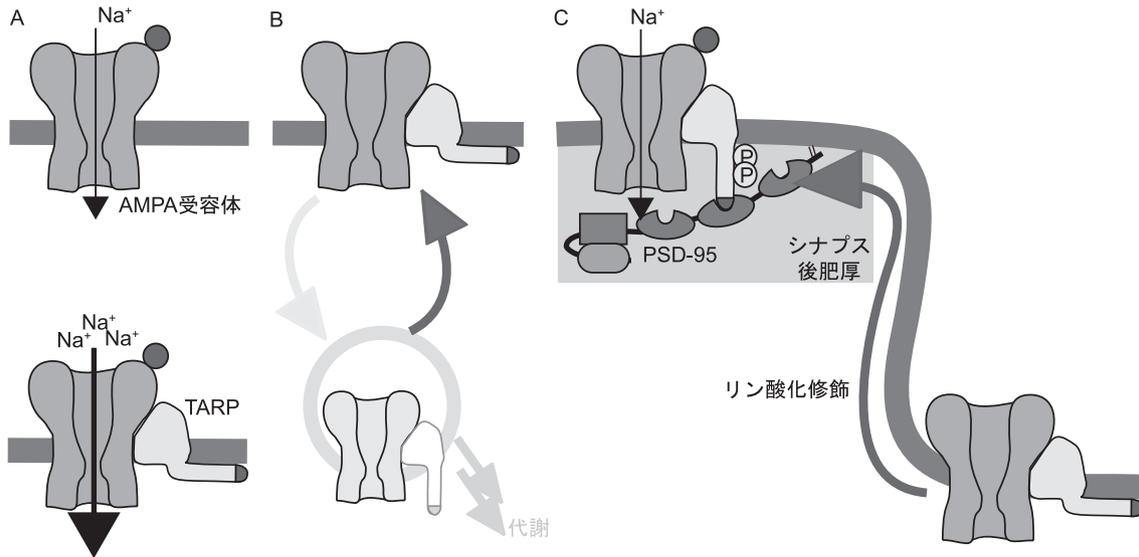


図3 TARPsのAMPA受容体補助サブユニットとしての機能

(A) TARPsはAMPA受容体のチャンネル活性を修飾し、シグナル強度を増強する。(B) TARPsはAMPA受容体の発現を安定化し、細胞表面のAMPA受容体量を増大する。(C) TARPsとPSD-95の結合はAMPA受容体複合体をシナプ스에係留し、シナプスのAMPA受容体活性を維持する。TARPs細胞質部位のリン酸化修飾はこの結合と局在を制御する。

な足場タンパク質 postsynaptic density-95 (PSD-95) と結合する。このTARPsとPSD-95の結合が、AMPA受容体をシナプ스에係留し、シナプスのAMPA受容体活性を維持する。また、TARPsのリン酸化修飾は、この結合を制御し、シナプスのAMPA受容体活性を調節する(図3)<sup>7,8)</sup>。

これらの知見は、補助サブユニットによる機能調節という、グルタミン酸受容体研究の新たな一面を示した。そして、次から挙げるように2009年以降相次いで、新たに補助サブユニットが発見、報告されている。

#### 4. 新規なAMPA受容体補助サブユニットの発見

##### 1) CNIH-2, -3

cornichon homolog-2, -3 (CNIH-2, -3) は、ラット脳から精製されたAMPA受容体複合体のプロテオミクスにより同定された<sup>9)</sup>。CNIH-2, -3は短いN末端細胞質領域と3個の膜貫通部位と短いC末端細胞外領域の構造を持つ(図2)。脳内ではCNIHはTARPsと共にAMPA受容体と結合しており、マウスTARP $\gamma$ -8の欠損変異はAMPA受容体と共にCNIH-2の発現低下を引き起こすことが報告されている<sup>10)</sup>。また、CNIHはグルタミン酸に対するAMPA受容体の不活性化動態と脱感作動態を低下させる<sup>9)</sup>。

##### 2) SynDIG1

synapse differentiation induced gene 1 (SynDIG1) は元々、

生後小脳の発達期に変動する遺伝子の一つとしてマイクロアレイ解析により単離・同定された。実際、マウス脳から抗SynDIG1抗体により免疫沈降したSynDIG1複合体にはAMPA受容体サブユニットが含まれることが報告されている<sup>11)</sup>。SynDIG1のシナプスAMPA受容体への作用に関し、RNA干渉による海馬神経細胞のSynDIG1のノックダウンが、シナプスのAMPA受容体電流の頻度と振幅を低下することが報告されている<sup>11)</sup>。

##### 3) CKAMP44

cystine-knot AMPA receptor modulating protein 44 (CKAMP44) はマウス脳から精製されたAMPA受容体複合体のプロテオミクスにより同定された<sup>12)</sup>。CKAMP44は1個の膜貫通部位を持つI型膜タンパク質である(図2)。CKAMP44はグルタミン酸によるAMPA受容体の定常電流を低下し、脱感作からの回復を遅らす<sup>12)</sup>。

##### 4) GSG1L

germ cell-specific gene 1-like (GSG1L) はラット脳から精製されたAMPA受容体複合体のプロテオミクスにより同定された<sup>13)</sup>。GSG1LはTARPsと類似した4回膜貫通構造を有する(図2)。GSG1Lの結合はグルタミン酸へのAMPA受容体の脱感作動態を低下させ、脱感作からの回復を遅らす<sup>13)</sup>。

## 5. AMPA 受容体以外の補助サブユニットの発見

### 1) Neto1, 2

neuropilin tolloid-like 1 (Neto1) は、細胞外部位に complement C1r/C1s, Uegf, Bmp1 (CUB) 部位と1個の膜貫通領域をもつ I 型膜タンパク質である (図 2)。Neto1 と NMDA 受容体の結合に関して、マウス脳から免疫沈降した Neto1 複合体への NMDA 受容体サブユニットの回収が報告されている。そしてマウス Neto1 の欠損変異は、NMDA 受容体依存的な海馬長期増強を抑制することが、報告されている。また、Neto1 はカイニン酸受容体の補助サブユニットとしても報告されている<sup>14)</sup>。

Neto2 はラット小脳から精製されたカイニン酸受容体複合体のプロテオミクスにより同定された<sup>15)</sup>。Neto1, 2 は類似した構造を有し、脳内でカイニン酸受容体に結合する<sup>14,15)</sup>。Neto1, 2 はカイニン酸受容体のグルタミン酸によるシグナル強度を劇的に増強し、また、不活性化動態と脱感作動態を遅らす。発現安定化の作用に関しては TARPs の例とは逆に、カイニン酸受容体の存在が Neto の発現を安定化する。マウス GluK5 の欠損変異が海馬 Neto1 の発現量を減少することが、報告されている<sup>14)</sup>。

## 6. おわりに

本稿ではイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の補助サブユニットの発見と、その機能解析の近年の成果を紹介した。これらの多様な補助サブユニットの存在は、グルタミン酸受容体の多様な機能調節を可能にし、生理機能の理解に貢献するだろう。

しかし、新たな課題も同時に挙げられる。脳神経細胞内では、どの補助サブユニットがどの程度の割合で受容体と結合しているのだろうか？ また、他のイオンチャンネル型受容体では補助サブユニットは存在しないのか？ 今後の研究の発展を期待したい。

- 1) Tomita, S., Chen, L., Kawasaki, Y., Petralia, R.S., Wenthold, R.J., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2003) *J. Cell Biol.*, 161, 805–816.
- 2) Kato, A.S., Siuda, E.R., Nisenbaum, E.S., & Brecht, D.S. (2008) *Neuron*, 59, 986–996.
- 3) Hashimoto, K., Fukaya, M., Qiao, X., Sakimura, K., Watanabe, M., & Kano, M. (1999) *J. Neurosci.*, 19, 6027–6036.
- 4) Tomita, S., Adesnik, H., Sekiguchi, M., Zhang, W., Wada, K., Howe, J.R., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2005) *Nature*, 435, 1052–1058.
- 5) Fukaya, M., Tsujita, M., Yamazaki, M., Kushiya, E., Abe, M.,

- Akashi, K., Natsume, R., Kano, M., Kamiya, H., Watanabe, M., & Sakimura, K. (2006) *Eur. J. Neurosci.*, 24, 2177–2190.
- 6) Rouach, N., Byrd, K., Petralia, R.S., Elias, G.M., Adesnik, H., Tomita, S., Karimzadegan, S., Kealey, C., Brecht, D.S., & Nicoll, R.A. (2005) *Nat. Neurosci.*, 8, 1525–1533.
- 7) Sumioka, A., Yan, D., & Tomita, S. (2010) *Neuron*, 66, 755–767.
- 8) Nomura, T., Kakegawa, W., Matsuda, S., Kohda, K., Nishiyama, J., Takahashi, T., & Yuzaki, M. (2012) *Eur. J. Neurosci.*, 35, 402–410.
- 9) Schwenk, J., Harmel, N., Zolles, G., Bildl, W., Kulik, A., Heimrich, B., Chisaka, O., Jonas, P., Schulte, U., Fakler, B., & Klockner, N. (2009) *Science*, 323, 1313–1319.
- 10) Kato, A.S., Gill, M.B., Ho, M.T., Yu, H., Tu, Y., Siuda, E.R., Wang, H., Qian, Y.W., Nisenbaum, E.S., Tomita, S., & Brecht, D.S. (2010) *Neuron*, 68, 1082–1096.
- 11) Kalashnikova, E., Lorca, R.A., Kaur, I., Barisone, G.A., Li, B., Ishimaru, T., Trimmer, J.S., Mohapatra, D.P., & Diaz, E. (2010) *Neuron*, 65, 80–93.
- 12) von Engelhardt, J., Mack, V., Sprengel, R., Kavenstock, N., Li, K.W., Stern-Bach, Y., Smit, A.B., Seeburg, P.H., & Monyer, H. (2010) *Science*, 327, 1518–1522.
- 13) Shanks, N.F., Savas, J.N., Maruo, T., Cais, O., Hirao, A., Oe, S., Ghosh, A., Noda, Y., Greger, I.H., Yates, J.R., 3rd, & Nakagawa, T. (2012) *Cell reports*, 1, 590–598.
- 14) Straub, C., Hunt, D.L., Yamasaki, M., Kim, K.S., Watanabe, M., Castillo, P.E., & Tomita, S. (2011) *Nat. Neurosci.*, 14, 866–873.
- 15) Zhang, W., St-Gelais, F., Grabner, C.P., Trinidad, J.C., Sumioka, A., Morimoto-Tomita, M., Kim, K.S., Straub, C., Burlingame, A.L., Howe, J.R., & Tomita, S. (2009) *Neuron*, 61, 385–396.

住岡 暁夫

(国立長寿医療研究センター)

Diverse regulation of ionotropic glutamate receptors by auxiliary subunits

Akio Sumioka (National Center for Geriatrics and Gerontology, Morioka-cho Gengo 35, Oobu city, Aichi 474-8511, Japan)

## マウス受精卵前核期におけるクロマチンダイナミクス

### 1. はじめに

我々の身体を構成する細胞はおよそ 60 兆個と言われているが、それら全てはもともと一つの細胞、すなわち受精卵から増殖・分化したものである。受精卵は全ての細胞に分化し、個体を形成することができる。この能力は「全能