

**国際共同研究事業（ICORP）における
平成 23 年度追跡評価結果について**

研究プロジェクト推進部
研究評価タスクフォース

国際共同研究事業（ICORP）における研究プロジェクトの追跡評価を実施したので報告する。なお、この評価は「基礎研究に係る課題評価の方法等に関する達」（平成 19 年 7 月 25 日）に基づき実施したものである。

1. 対象研究プロジェクトおよび評価報告書

平成 17 年度終了（研究期間：平成 13 年 1 月～17 年 12 月）の下記 1 プロジェクト

■カルシウム振動プロジェクト

共同研究相手国　：スウェーデン

共同研究相手機関：カロリンスカ研究所

代表研究者　　：御子柴 克彦

Anita Aperia

評価報告資料　：カルシウム振動プロジェクト 追跡評価報告書

2. 評価委員

ICORP カルシウム振動プロジェクト（総括責任者：御子柴 克彦）

◎野澤 義則　委員　岐阜県国際バイオ研究所 所長

村松 喬　委員　愛知学院大学 心身科学部 客員教授

井本 敬二　委員　自然科学研究機構 生理学研究所 教授

3. 評価の進め方

JST 事務局により各研究プロジェクトについての追跡調査実施

↓

追跡調査報告書＝追跡評価用資料の作成

↓

評価用資料の評価委員への送付

↓

追跡評価委員会開催

↓

評価委員会による追跡評価報告書(案) 作成

↓

追跡評価報告書（案）の元・代表研究者への送付（事実確認・意見等）

↓

追跡評価報告書の完成

↓

JST 研究主監会議報告

↓

JST ホームページにて公開

4. 資料

カルシウム振動プロジェクト追跡評価用資料

(独) 科学技術振興機構
創造科学技術推進事業
追跡評価用資料

ICORP

「カルシウム振動プロジェクト」
(2000-2005 年度)

2011 年 7 月 4 日

目次

要旨	1
1. プロジェクトの概要	1
2. プロジェクト終了から現在に至る状況	2
3. プロジェクト成果の波及と展望	2
プロジェクトの展開状況（図1）	4
第1章 プロジェクトの概要	6
1-1 ICORP プロジェクトの背景	6
(1) ERATO 以前	6
(2) ERATO 御子柴細胞制御プロジェクト	7
(3) カロリンスカ研究所での動き	7
1-2 ICORP カルシウム振動プロジェクトの概要	8
(1) カルシウム振動プロジェクトの概要	8
(2) 主な研究成果	10
第2章 プロジェクト終了から現在に至る状況	13
2-1. 各研究テーマの現在の状況	13
(1) IP ₃ レセプターの構造・機能相関の研究	13
(2) IP ₃ レセプターの調節機構の解明	14
(3) IP ₃ レセプターの発生・分化における役割の解明	15
(4) 新しい測定法の開発及び新化合物の合成	16
(5) スウェーデン側の動向	17
(6) カルシウム振動に係る体系的理解の進展	17
2-2. プロジェクトメンバーの活動状況	19
第3章 プロジェクト成果の波及と展望	21
3-1. 科学技術への波及と展望	21
(1) 研究コミュニティへの影響	21
(2) 教科書等への掲載	23
(3) 次世代の研究リーダーの輩出	23
(4) 新しい学術領域の創出	23
3-2. 社会・経済への波及と展望	26
(1) 新しい治療法、創薬への期待	26
(2) 日本・スウェーデン学術交流の進展	28
(3) 新しい研究センターの設立	31
第4章 事業運営に関する意見等	33
4-1. ICORP プロジェクトについて	33

(1) 国際共同研究のありかた	33
(2) ファンドとしての ICORP	33
4-2. 課題・JST への要望等	33
参考文献	34

要旨

1. プロジェクトの概要

国際共同研究事業 (ICORP)「カルシウム振動プロジェクト」(以下、本プロジェクト)は戦略的創造研究推進事業 (ERATO)「御子柴細胞制御プロジェクト (1995-2000 年)」の研究成果をさらに発展させるために、2001 年 1 月から 2005 年 12 月の 5 年間にわたって実施された日本＝スウェーデン間の国際共同研究事業である。日本側代表研究者は御子柴克彦教授 (当時：東京大学医科学研究所、理化学研究所脳科学総合研究センター (BSI)、現 BSI 発生神経生物研究チーム・チームリーダー) であり、スウェーデン側代表研究者は Anita Chatanina Aperia 教授 (当時：カロリンスカ研究所、現在：引退) である。

プロジェクトの目的は、細胞内におけるカルシウム (Ca^{2+}) 振動発生という根源的メカニズムの解明と、 Ca^{2+} 振動が生理機能の発現、さらには疾病を引き起こす病態発現のメカニズムにどのように関わっているのかについて、分子→細胞→組織→個体のレベルで解明し、細胞機能をコントロールする医薬品開発等につなげていくことであった。

研究テーマと主な成果

本プロジェクトの研究テーマと主な成果は次のとおりである。

【日本側研究成果】

- ① イノシトール 3 リン酸 (IP_3) レセプターの構造・機能相関の研究
- ② IP_3 レセプターの調節機構の解明
- ③ IP_3 レセプターの発生・分化における役割の解明
- ④ 新しい測定法の開発及び新化合物の合成

【スウェーデン側研究成果】

- ① Ca^{2+} 振動に IP_3 が必要であるか否かの検討 (IP_3 スポンジを使用)
- ② ウワバインの濃度の解析： Na^+/K^+ -ATP アーゼ (ナトリウム-カリウムポンプ) を阻害しない濃度でカルシウム振動が発生することを発見
- ③ Na^+/K^+ -ATP アーゼと IP_3 レセプターの関係性の解析
- ④ FRET (蛍光エネルギー移動法) による IP_3 レセプターと Na^+/K^+ -ATP アーゼの立体的アロステリック変換の解析

これらの研究成果は 2006 年に実施された事後評価^{*1}において「その研究目標、研究手法は独自性の高いもので、その結果、きわめて質が高く、研究コミュニティに対して多大なインパクトをもたらした」という評価を受けている。

^{*1} <http://www.ist.go.jp/icorp/jpn/evaluation/20060228/calcium.pdf>

2. プロジェクト終了から現在に至る状況

本プロジェクトは、戦略的創造研究推進事業 発展研究 (SORST) 「カルシウム振動 (2006-2010 年)」に発展的に引き継がれている。SORST 「カルシウム振動」プロジェクトでは、本プロジェクトで得られた知見をさらに深め、実用化に結びつけるために、次の3つの大きな研究テーマの下で推進されている。

後継プロジェクトでの展開

- ① IP₃ レセプターの特性に対するさらなる多角的検証 (生化学や物理化学、構造生物学、細胞生物学等) を進めることにより、カルシウム振動が生体内でどのような分子機構で引き起こされるのか、どのような多様な細胞機能を誘導するのかを明らかにした。
- ② カルシウム振動の生命現象における役割を理解するために、遺伝子特異的欠損マウスや阻害剤投与により引き起こされる病態の解析を進めた。
- ③ これらの知見を大きく発展させる形でカルシウム振動の異常により引き起こされる病気の治療・予防・診断法の確立を目指した研究を進めている。

現在までの画期的な成果として、IP₃ 擬似物質の新規タンパク質である IRBIT や、それを介した新規の代謝系を見出し、IRBIT のサードメッセンジャーとしての機能を解明しつつある。また、IP₃ 結合ドメインを用いて、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET : Fluorescence Resonance Energy Transfer) 現象を利用した IP₃ 指示薬を開発し、カルシウム振動時の IP₃ 動態を可視化した。さらに、将来的に治療薬としての展開が見込まれる IP₃ レセプターの新たな阻害剤の開発も進行中であり、前述の IP₃ 指示薬とともに製品化の可能性も追究している。本プロジェクトで開発した IP₃ レセプターノックアウトマウスとこれらの指示薬や阻害剤を用いた生理学的解析では、近年、慢性心不全や先天性心疾患、外分泌腺の炎症による機能障害 (シェーグレン病)、アルコール性膵炎などへの治療法開発に期待される成果が続出している。

3. プロジェクト成果の波及と展望

ERATO-ICORP-SORST を経て、御子柴研究室は IP₃ レセプターと細胞内情報伝達に関する研究では世界のトップラボとして広く認識されている。

(1) 科学技術への波及と展望

本プロジェクトの成果による科学技術への波及と展望としては次のようなものがある。

- ① 本プロジェクト以降、発表された海外査読付論文は 270 本に上り、Mol.Cell 誌や J. Cell Biol. 誌に対する被引用回数は累計で約 6,200 回に上っている*2。Nature 誌、Science 誌、Cell 誌、Journal of Biological Chemistry 誌など一流専門誌での発表が多く、世界の研

*2 Tomoson Reuter 社 ISI Web of Knowledge より。2010 年 10 月 1 日現在。

究コミュニティに与えた影響は非常に大きいと言える。

- ② また、IP₃レセプターに関する研究業績は生物学の標準的なテキストにも記載され、世界の研究人材育成にも貢献をしている。
- ③ ラボからは次代の研究リーダーが輩出されている。本プロジェクトの前身である ERATO プロジェクトからは宮脇敦史氏（理化学研究所脳科学総合研究センター副センター長、ERATO「生命時空間情報」プロジェクトリーダー）、当時専任研究員だった永井健治氏（北海道大学電子科学研究所教授）らを輩出している。両氏は本プロジェクトにおいても研究協力者として参画していた。
- ④ スウェーデン側でプロジェクトに参加した Agneta Richter-Dahlfors 教授は、2006 年にスウェーデン戦略財団のグラントを受けて研究室を主宰し、カルシウム振動のような化学的信号を電気的信号に変換するためのデバイスを有機導電性ポリマー（conducting polymer）を利用して開発した。この過程で、感染症生物学（infection biology）と有機エレクトロニクス（organic electronics）を融合させ、新しい学術領域、有機生体電子工学（organic bioelectronics）が確立された。

(2) 社会経済への波及と展望

本プロジェクトでは生体への影響を分析するため、各種ノックアウトマウスや IP₃ 指示薬、IP₃ スポンジなどのツールが開発された。これらを利用した生体機能の解明に関わる研究成果が近年、次々と発表されており、人類の健康への貢献が大きく期待されている。

- ① IP₃ スポンジとノックアウトマウスを利用して、Type 2 IP₃ レセプターを抑制することで生体における心肥大が抑えられることが実験により確認された。この発見により、慢性心不全の予後を改善する新しい薬剤の開発が期待されている。
- ② IP₃ レセプター Type 1 と Type 2 のダブルノックアウトマウスを使用した実験により心内膜床の発生異常が確認された。この研究成果により、今後の遺伝学的検討を通じて、これまで不明であった先天性心疾患の原因が明らかになり、さらに発症予防法の確立につながることを期待されている。
- ③ IP₃ 指示薬と Type 2 と Type 3 の IP₃ レセプターノックアウトマウスを利用した実験により、アルコールの大量摂取による急性膵炎の発症原因である脂肪酸エチルエステル（FAEE）の毒性の減少が確認された。この発見によって急性膵炎の特効薬の開発につながることを期待されている。

(3) 国際共同研究事業としての成果

本プロジェクトは日・スウェーデン科学技術協力協定の締結とほぼ時期を同じくしていたため、日・スウェーデンの学術交流の進展にも大きく貢献している。具体的には次のような展開に御子柴教授をはじめとして関係者が深くかかわっている。

【日・スウェーデンの学術交流の進展】

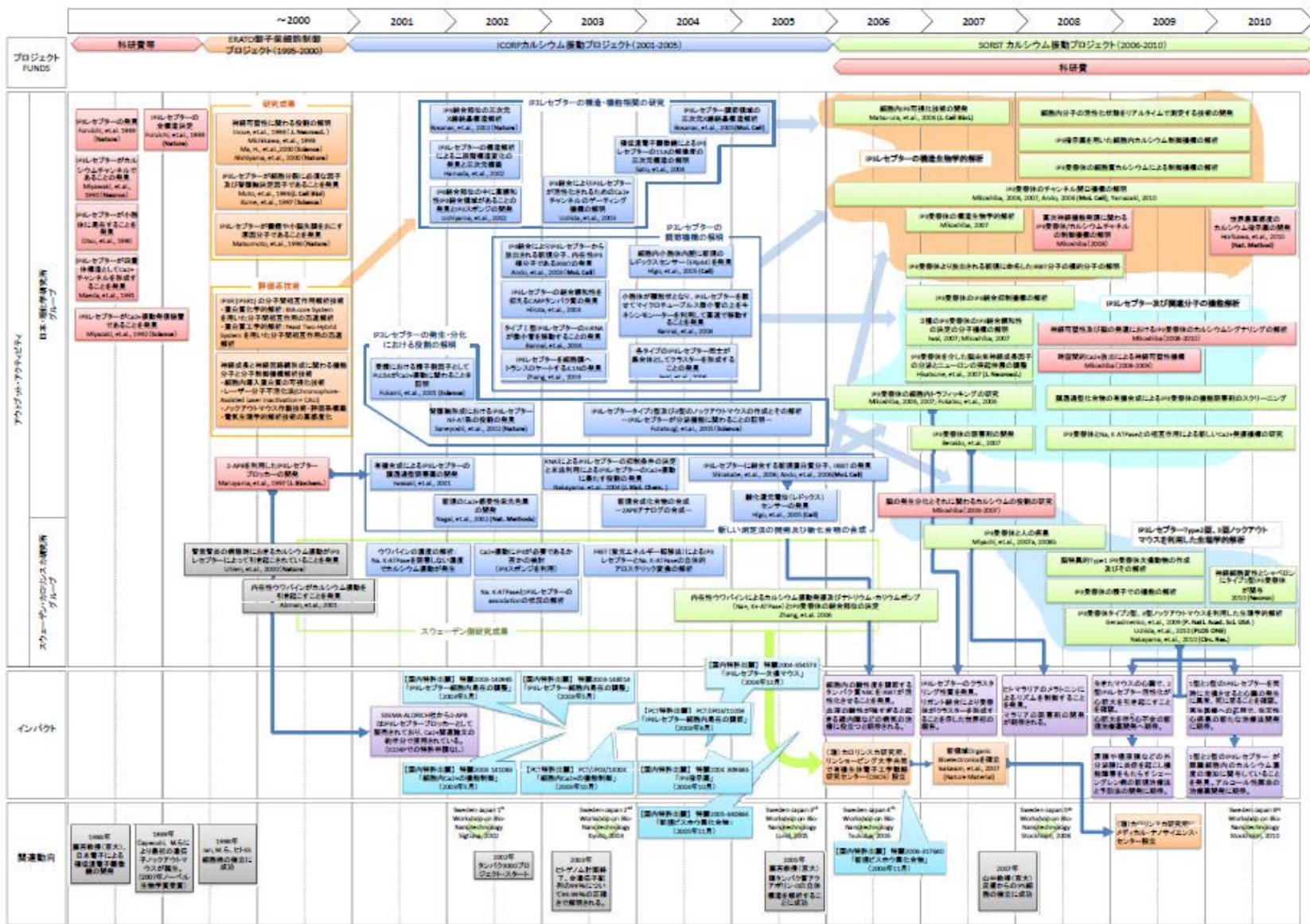
- ① JST、スウェーデンイノベーション技術庁 (VINNOVA)、スウェーデン戦略財団 (SSF) の三者間で日・スウェーデン共同研究プログラム「ライフサイエンスと他の分野を結合した複合的領域 (Multidisciplinary BIO)」に関する合意を取り、プログラムが発足した (2003 年から開始)。
- ② 「バイオナノテクノロジーに関する国際ワークショップ」の開催 (2002 年から日本とスウェーデンで交互に 6 回開催)。
- ③ カロリンスカ研究所と理化学研究所の間でポストドク等の交換滞在が実現した。また博士課程のジョイントコース「細胞核の機能および構造 (Functional Architecture of the Cell Nucleus)」を開設した (2010 年)。

【スウェーデンにおける波及】

スウェーデン側においては、本プロジェクトで培った計測技術を基に、感染症生物学 (infection biology) と有機エレクトロニクス (organic electronics) を融合させて新しい学術領域、有機生体電子工学 (organic bioelectronics) が確立された。この研究を推進するための研究センターが新たに設立されている。

- ① 有機生体電子工学のツールおよびデバイス開発のためのプラットフォームを形成することを目的として、有機生体電子工学戦略研究センター (OBOE : Strategic Research Center for Organic Bioelectronics) が設立した (2006 年)。御子柴教授はボードメンバーとして当初から関与している。
- ② OBOE での研究成果を医療に役立てるために、カロリンスカ研究所にスウェーデン・メディカル・ナノサイエンス・センター (Swedish Medical Nanoscience Center : SMNC) が設立。Richter- Dahlfors 教授は初代センター長として就任した。

プロジェクトの展開状況 (図 1)



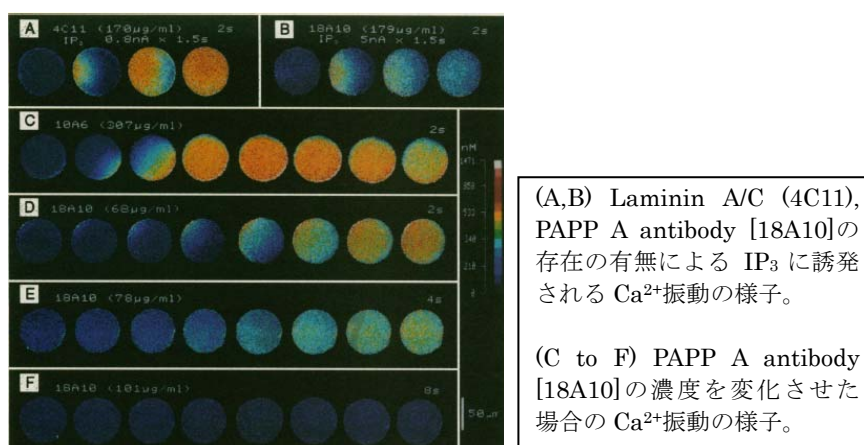
第1章 プロジェクトの概要

1-1 ICORP プロジェクトの背景

(1) ERATO 以前

1980年代、イノシトール3リン酸(IP₃)が細胞内のCa²⁺放出のためのセカンドメッセンジャー^{※3}であることはよく知られており、生物学の教科書にも記述されている事実であった。1983年にIP₃が細胞内の袋からCa²⁺を出すことが報告されたが^[1]、そのメカニズムについては全く不明であり、世界中でIP₃の標的分子を追い求めている状況にあった。

御子柴教授グループは行動異常を起こすマウス突然変異体における小脳プルキンエ細胞の形態形成不全と機能障害の分子機構の解析により、高分子量の膜蛋白質(P400タンパク質)の欠落があることに注目し、P400タンパク質がIP₃レセプターそのものであることを発見し、IP₃レセプターの生成・cDNAクローニング、機能解析を行った^{[2], [3]}。続けてIP₃レセプターが分子量約31万の巨大膜タンパク質であること、3種のアイソフォームを持つことを発見し、それらの全構造決定にも世界ではじめて成功した^{[4], [5]}。当時、IP₃レセプターはCa²⁺チャンネルとは別分子と考えられていた。しかしながら、精製したP400はIP₃結合活性を持っていたため、そのタンパク質を人工脂質二重膜へ組み込んだところ、Ca²⁺チャンネルの活性化が確認された。このことから、IP₃レセプターはCa²⁺チャンネルであることが発見された^{[6], [7]}。御子柴教授グループはIP₃レセプターを阻害するとCa²⁺振動と受精が停止することから、IP₃レセプターがCa²⁺振動の発振装置であることを世界で初めて証明した^[8]。図2は受精における卵細胞のIP₃レセプターの阻害とCa²⁺振動を示したものである。



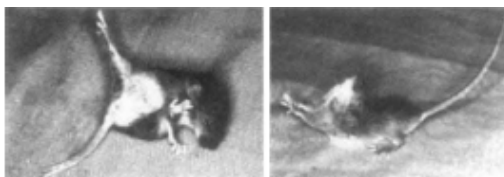
出典: Science(257), 1992

図2 ハムスターの卵細胞におけるカルシウム振動の様子

^{※3} 細胞内において、情報伝達物質が受容体(レセプター)に結合すると、新たに別の情報伝達物質が作られ、これが細胞の代謝や変化に影響を及ぼす。この二次的に産生される情報伝達物質のことをセカンドメッセンジャー(英文表記: Second messenger system)という(Encyclopedia Britannica)。

(2) ERATO 御子柴細胞制御プロジェクト

御子柴教授グループの IP₃ レセプター関連の研究は 1995 年 10 月から 2000 年 9 月までの 5 年間、科学技術振興事業団（当時）の創造科学技術推進事業「ERATO 御子柴細胞制御プロジェクト」として採択され、展開されていった。ERATO プロジェクトでは、「細胞内での IP₃ レセプターとカルシウムの挙動に着目して、カルシウムを介する細胞内シグナル伝達の機構を究明することにより、受精、卵割、発生から神経細胞の発達と記憶など多岐にわたる機構を明らかにすること」を目的として、研究が実施された。



出典: Nature(379), 1996

図3 癲癇症状を起こす IP₃ レセプター欠損マウス

ERATO プロジェクトでは多くの成果がもたらされた。特に重要な成果として、IP₃ レセプターが細胞分裂に必須な因子及び背腹軸決定因子であることを発見した研究^[9]、神経の突起進展に関与することを発見した研究^[10]、IP₃ レセプターが癲癇や小脳失調を起こす原因分子であることを発見した研究^[11]がある。図 3 には IP₃ レセプター欠損マウスの例を示した。これらの研究により IP₃ レセプターが発生や脳の高次機能に大きく関与していることを示すこととなった。

また小脳では特徴的なシナプス可塑性である長期抑圧現象（LTD）が IP₃ レセプター欠損マウスでは抑えられ、海馬では長期増強現象（LTP）が促進していた^{*4}。このことから IP₃ レセプターがシナプス可塑性に関わっていることを明らかにした。また IP₃ レセプターがシナプス形成におけるシナプス特異性^{*5}に深く関わることも明らかにした^{[12], [13], [14]}。

(3) カロリンスカ研究所での動き

スウェーデン・カロリンスカ研究所の Aperia 教授グループは、大腸菌産生毒素（ α -ヘモリシン）が腎上皮細胞の Ca²⁺振動を誘起することを発見していた。そこで Ca²⁺振動の最先端研究を実施していた御子柴研究室にコンタクトを取り、御子柴教授らが開発した膜透過性 IP₃ 誘導 Ca²⁺放出阻害剤 2-APB (2-Aminoethyl diphenylborinate) を供与された。2-APB を外液中に加えたところそれまで続いていた Ca²⁺振動が停止したことから、病態時に起こる

^{*4} LTD: long term depression、LTP: long term potentiation : シナプスでのシグナルの伝達効率が長期にわたって増強/減弱するという現象。行動の発達や学習の獲得といった神経回路の変化の基礎過程をなしている可能性（シナプス可塑性）があると考えられている。

^{*5} シナプス特異性: ニューロンとニューロンの接合点であるシナプスが形成される際に、シナプス前部とシナプス後部の標的細胞が正しく結合すること。

ゆっくりとした Ca^{2+} 振動が IP_3 レセプターによって引き起こされていることが明らかになった^[15]。

同時に、Aperia 教授グループは植物から抽出される強心配糖体のウアバイン^{*6}によっても Ca^{2+} 振動を確認していた。通常、腎臓の上皮細胞では細胞内 Ca^{2+} 振動は起きないが、Aperia 教授グループは従来ナトリウムポンプ ($\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}$ アーゼ^{*7}) の阻害剤として知られていたウアバインを腎細胞外から加えることにより、 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}$ アーゼをほとんど阻害しない濃度で細胞内 Ca^{2+} 振動を発生させることに成功した。この細胞内のゆっくりとした Ca^{2+} 振動に対しても、膜透過性 IP_3 誘導 Ca^{2+} 放出阻害剤 2APB を細胞外から投与することにより、振動が停止することを発見した。この実験により IP_3 レセプターと $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}$ アーゼが Ca^{2+} 振動に何らかの形で関わっていることが予想された^[16]。2000 年当時、生体内のウアバイン様物質の存在が相次いで報告されていたことから、生体の全ての細胞において Ca^{2+} 振動などの機能調節に IP_3 レセプターと $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}$ アーゼが深く関わっている可能性があった。そのため、 Ca^{2+} 振動のメカニズムの解明は大変重要な研究テーマとなった。

1-2 ICORP カルシウム振動プロジェクトの概要

(1) カルシウム振動プロジェクトの概要

御子柴教授と Aperia 教授のそれまでの研究から、 Ca^{2+} 振動メカニズムの解明に向けた共同研究の基本構想が立てられた。ICORP カルシウム振動プロジェクトでは、共同研究の目標を次のように定めて開始された。

【研究目標】

- 1) 宿主-寄生体相関における Ca^{2+} 振動の産生機構を明らかにする (日本・スウェーデン)。
- 2) 細胞に感染した細菌の毒素が、 Ca^{2+} 振動を引き起こし、腎障害を引き起こすメカニズムを細胞→組織→個体レベルで解析する (スウェーデン・日本)。
- 3) IP_3 レセプターによる Ca^{2+} 振動産生機構を種々の物理化学的手法 (蛍光エネルギー転移法、エバネッセント光を用いる分子イメージング法の導入など) を用いて解析する (日本)。
- 4) 分子構造のデータと細菌毒素-宿主相関のシステムを利用して特異的作用薬の開発を行う (日本・スウェーデン)。
- 5) Ca^{2+} 振動を引き起こす IP_3 レセプターの分子の実体を結晶構造解析や、種々の生化学的方法により明らかにする (日本)。
- 6) 生体リズムと Ca^{2+} 振動の相関の解明を行う (日本・スウェーデン)。

*6 ウアバイン (ouabain) : 強心配糖体のひとつ。キョウチクトウ科の種子から抽出される。細胞膜に存在する $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ を阻害することにより心筋細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させ、収縮力を増大させる。心臓病の治療薬。(日化辞番号 : J6.892F)

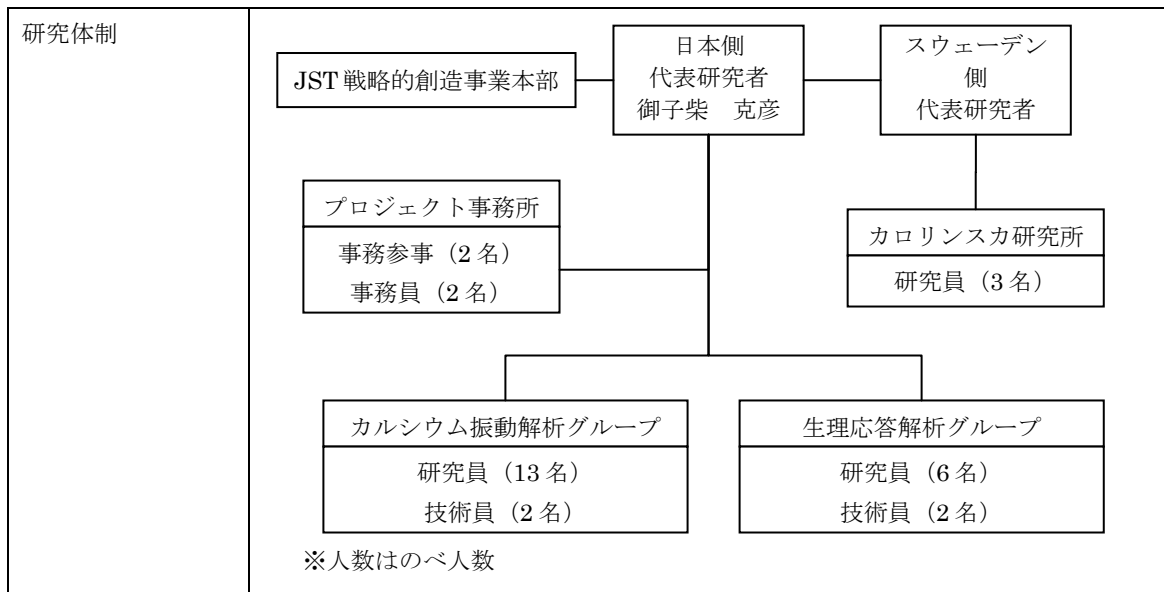
*7 細胞内からナトリウムイオンを汲み出し、細胞外からカリウムイオンを取り込む細胞膜輸送系の膜貫通タンパク質。

---研究主題「カルシウム振動」の構想^{*8} (JST 資料) より

表 1 ICORP カルシウム振動プロジェクトの概要

研究実施機関 日本側	独立行政法人 科学技術振興機構 カルシウム振動プロジェクト (研究実施場所・所在地) ○カルシウム振動解析グループ 東京大学医科学研究所 脳神経発生・分化分野 〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1 ○生理応答解析グループ 理化学研究所脳科学総合研究センター発生発達研究グループ内 〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1 ○事務所 〒108-0071 東京都港区白金台 3-14-4 LB ビル 6 階
スウェーデン側	カロリンスカ研究所 (Karolinska Institutet) SE-171 77 Stockholm, Sweden http://ki.se/
研究代表者 日本側	 御子柴 克彦 東京大学医科学研究所 脳神経発生・分化分野 教授 理化学研究所 脳科学総合研究センター発生発達研究 グループ ディレクター ※役職は当時
スウェーデン側	 Anita Chatanina Aperia Professor of Pediatrics Dept. of Woman and Child Health, Karolinska Institute Astrid Lindgren Children's Hospital ※役職は当時
研究期間	2001 年 1 月 1 日～2005 年 12 月 31 日 (5 年間)

*8 <http://www.ist.go.jp/pr/report/report150/kousou.html>



日本・スウェーデンの研究グループは各々が異なる専門領域を有しているために相補的な共同研究体制となった。Aperia 教授は腎臓の専門家であり、細胞→組織→個体の解析を通じた正常状態と病態との比較解析に優れており、御子柴教授は分子（遺伝子・タンパク質）レベル→細胞レベルの解析に優れており、かつ、IP₃ レセプター欠損マウス作成や阻害剤開発などの分析技術も有していた。結果、ICORP カルシウム振動プロジェクトでは、細胞内における Ca²⁺振動発生という根源的メカニズムの解明と、Ca²⁺振動が生理機能の発現、さらには疾病を引き起こす病態発現のメカニズムにどのように関わっているかについて、分子→細胞→組織→個体のレベルで解明し、細胞機能をコントロールする医薬品開発につなげていくことが大きな研究の目的となった。

(2) 主な研究成果

本プロジェクトの研究テーマと主な成果は次のとおりである。

① イノシトール 3 リン酸 (IP₃) レセプターの構造・機能相関の研究

- ・ IP₃ 結合部位の三次元 X 線構造解析
- ・ IP₃ レセプター調節領域の三次元 X 線結晶構造解析
- ・ IP₃ レセプターの構造解析による二段階構造変化の発見と三次元構築
- ・ 極低温電子顕微鏡による IP₃ レセプターの 15 Å の解像度の三次元構造の解明
- ・ IP₃ 結合により IP₃ レセプターが活性化されるための Ca²⁺チャンネルのゲーティング機構の解明

② IP₃ レセプターの調節機構の解明

- ・ IP₃ 結合により IP₃ レセプターから放出される新規分子、内在性 IP₃ 様分子である IRBIT (IP₃ Receptor Binding protein released with Inositol 1,4,5-Trisphosphate) の発見

- IP₃ レセプターの結合親和性を抑える CARP タンパク（心筋特異的なアドリアマイシン反応性タンパク）の発見
- Type 1 IP₃ レセプターの mRNA（メッセンジャーRNA）が微小管を移動することの発見
- IP₃ レセプターを細胞膜へトランスロケートするタンパク質 4.1N の発見
- 細胞内小胞体内腔に真意のレドックスセンサー（ERp44）を発見
- 小胞体が顆粒状となり、IP₃ レセプターを載せてマイクロチューブス微小管の上をキネシンモーターを利用して高速で移動することの発見
- 各タイプの IP₃ レセプター同士が集合体としてクラスターを形成することの発見

③ IP₃ レセプターの発生・分化における役割の解明

- 受精における精子側要因として PLC δ 4（ホスホリパーゼ酵素 δ 4）が Ca²⁺振動に関わることを証明
- 背腹軸形成における IP₃ レセプターの NF-AT（nuclear factor of activated T）系の役割の発見
- IP₃ レセプター2型及び3型ノックアウトマウスの作成とその解析

④ 新しい測定法の開発及び新化合物の合成

- 有機合成による IP₃ レセプターの膜透過型阻害薬の開発
- 新規の Ca²⁺感受性蛍光色素の開発
- RNAi（RNA 干渉）による IP₃ レセプターの抑制条件の決定と本法利用による IP₃ レセプターの Ca²⁺振動に果たす役割の発見
- 新規合成化合物の合成—2APB アナログの合成—
- IP₃ レセプターに結合する新規タンパク質分子 IRBIT の発見
- 酸化還元電位（レドックス）センサーの発見

⑤ スウェーデン側研究成果

本プロジェクトでのスウェーデン側の成果としては、以下のものが挙げられている。

- ウアバインが Ca²⁺振動を引き起こす濃度に関する解析により、Na⁺/K⁺-ATP アーゼを阻害しない濃度で Ca²⁺振動を引き起こすことを発見^[17]。
- IP₃ レセプターは IP₃ 産生によって Ca²⁺を放出するのではなく、Na⁺/K⁺-ATP と IP₃ レセプターとが直接ドッキングすることによって、IP₃ レセプターのチャンネルのポアの部分の構造変換を起こし、その結果 Ca²⁺が放出されることを確認。
- Na⁺/K⁺-ATP と IP₃ レセプターの結合反応の状況の解析のために抗体を用いて共沈の実験を行った。IP₃ レセプターの抗体で Na⁺/K⁺-ATP アーゼが、Na⁺/K⁺-ATP アーゼの抗体で IP₃ レセプターが共沈殿していることを明らかにした。これにより Na⁺/K⁺-ATP アーゼと IP₃ レセプターは、何らかの反応をして近傍に局在していることが示された。
- FRET（蛍光エネルギー移動法）による IP₃ レセプターと Na⁺/K⁺-ATP アーゼの立体的アロステリック変換の解析：ウアバインを加えると Na⁺/K⁺-ATP アーゼを介してその

情報が IP_3 レセプターに伝えられるならばウアバインがある時とない時で、 Na^+/K^+ -ATP アーゼと IP_3 レセプターの両分子間で三次元のアロステリックな構造変換をおこす可能性が予想される。そこで、 Na^+/K^+ -ATP アーゼと IP_3 レセプターに各々蛍光色素を結合して、FRET がおきるか否かの検討を進めた。その結果、固定した組織切片のレベルではあるが FRET が観察された^[18]。

これらの研究成果は 2006 年に実施された事後評価において「その研究目標、研究手法は独自性の高いもので、その結果、きわめて質が高く、研究コミュニティに対して多大なインパクトをもたらした」という評価を受けている。

御子柴教授は、これらの業績を評価され、米国 Salk 研究所の Fred H. Gage 博士とともに、2003 年 9 月にドイツのゲルトルート・レームスマ財団から Zülch (チュールヒ) 賞を、2004 年には武田医学賞、2009 年には日本学士院賞などを受賞している。また、スウェーデン側研究代表者である Aperia 教授は小児科学での功績を評価され、2007 年にスウェーデン王立科学アカデミーより H.M. The King's Medal を受賞している。

第2章 プロジェクト終了から現在に至る状況

本プロジェクトは御子柴教授による IP₃ レセプターの発見^[2]を契機とした一連の研究活動の流れの中に位置づけられる。1995年から2000年までは ERATO 御子柴細胞制御プロジェクトとして展開され、ICORP（2000年～2005年）を経て SORST カルシウム振動プロジェクト（2006年～2010年）に引き継がれてきた。御子柴教授らの研究グループが本プロジェクト開始年（2001年）から現在までに発表した論文は270本に上る。

2-1. 各研究テーマの現在の状況

図1は本プロジェクトに関連する研究活動の推移を示したものである。本プロジェクトの研究テーマの多くは SORST カルシウム振動プロジェクトに引き継がれ、現在までに数々の成果を輩出している。以下では本プロジェクトの研究テーマ群別の展開状況を記す。

(1) IP₃ レセプターの構造・機能相関の研究

「IP₃ レセプターの構造・機能相関の研究」ではタンパク構造レベルから IP₃ レセプターの機構を理解しようとするものであり、X線結晶構造解析と極低温電子顕微鏡を組み合わせることによって、IP₃ レセプターの構造的特性の解明が行われた^[19]。これらの研究は SORST プロジェクトにおいて、「IP₃ レセプターの構造生物学的解析」というテーマで研究が発展され、重要な成果として蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）法による IP₃ 可視化技術が開発され（図4参照）^[20]、新しい IP₃ レセプター指示薬「IRIS（IP₃ Receptor-based IP₃ Sensor）」が開発された。IRISは IP₃ と結合することで立体構造が変化し、FRET効率が減少し、蛍光特性が弱くなる。この蛍光の変化によって細胞内の IP₃ 濃度変化を知ることが可能となる。これにより、IP₃ シグナルとカルシウム振動の関係が明らかになり、IP₃ レセプターが細胞内情報伝達系による情報符号化の際に極めて重要な役割を担っていることが解明された^[21]。

これらの IP₃ レセプター評価技術を基に、現在、細胞内カルシウムの制御機構ならびに細胞質カルシウムの制御機構の解明が行われている。また、IP₃ 指示薬の性能向上も図られて

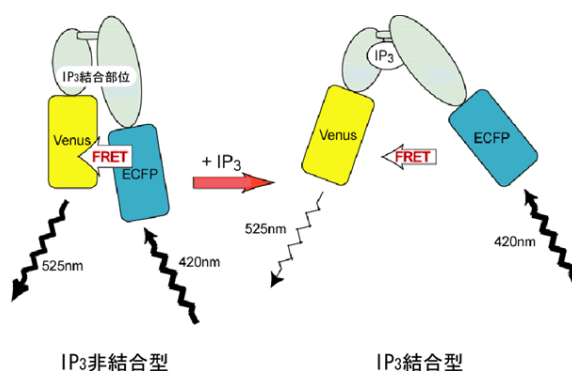


図4 IP₃結合部位を使った蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）法によるIP₃可視化技術の開発に成功（J. Cell Biology 2006）

おり、より感度の高い指示薬の開発や、細胞内分子の活性化状態をリアルタイムで測定する技術の開発が行われている。

(2) IP₃レセプターの調節機構の解明

「IP₃レセプターの調節機構の解明」では IP₃レセプターの細胞内における制御機構の解明が主眼として進められた。その中で IP₃レセプターの機能調節に関与するタンパク質分子の探索が行われ、いくつかの重要な新規分子の発見がなされた。その1つに IRBIT の発見がある^[22]。IRBIT はサードメッセンジャーとして Na⁺/HCO₃⁻共輸送体を標的として生体の酸・塩基バランスの調節に関わる (図5参照) という全く新しい代謝経路を発見することにつながった^[23]。

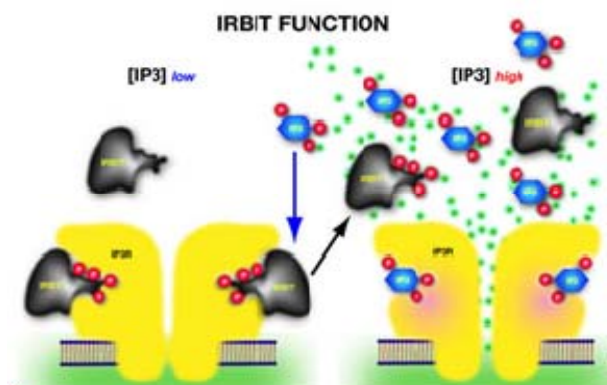


図5 IRBITは、IP₃受容体(IP₃R)上の結合部位をめぐってIP₃と直接競合することで、その活性を調節する。IP₃が閾値濃度に達すると、結合部位からIRBITを追い出してIP₃Rに結合する。(Pはリン酸基で、リン酸化状態を示す(赤色の点で表示)。緑色の点はカルシウムイオン) 出所:RIKEN資料より

図5 IRBIT の機能

生体内の酸性度が強すぎると起こる緑内障、白内障、低身長、知能障害が起こることが知られていることから、IRBIT の代謝経路の解明はこれらの疾病や障害の治療に役立つことが期待されている。

また、細胞内の小胞体にある ERp44 と呼ばれるタンパク質が、酸化ストレスを検出して細胞内のカルシウム濃度を調節し、酸化還元(レドックス)機構を制御していることを解明した^[24]。細胞内カルシウム恒常性のかく乱は、細胞応答の異常、ひいては様々な疾患を引き起こす。特に最近では、IP₃レセプターType 1 のカルシウム放出活性の異常がアルツハイマー病やハンチントン病の発症に関与していることが報告されているとともに、酸化還元状態の制御不全も加齢に伴う様々な老化現象を引き起こす一因として考えられている。また ERp44 を過剰発現させると細胞死を抑制することも分かった。ERp44 の発見は様々な疾患や神経細

胞死のメカニズム解明や、薬剤開発などに対して貢献することが期待されている。

また IP₃ レセプターの調節領域に結合する CARP(Carbonic Anhydrase Related Protein) を見つけ、これが結合することによって、IP₃ の結合親和性が低下する作用を明らかにした^[25]。

(3) IP₃ レセプターの発生・分化における役割の解明

ERATO における画期的な成果である「IP₃ レセプターが細胞分裂に必須な因子及び脊腹軸決定因子であることを発見^[26]」を受けて、ICORP では放出されたカルシウムの標的分子を探索して、NF-AT (Nuclear Factor of Activated T cell) を特定した。NF-AT が背側化シグナル系を抑制して腹側化を誘導することを立証した (図 6 参照)。

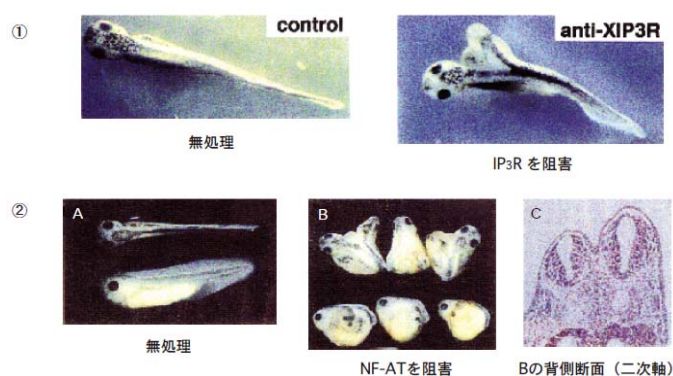


図6

①IP₃受容体を阻害すると、二次軸が形成される(IP₃受容体からのCa²⁺放出が背腹軸を決める)。(Science 278 1997)

②転写因子 NF-ATを阻害すると、二次軸が形成される(図中B,C)。(Nature 417 2002)

また、受精時の精子の先端反応に Ca²⁺振動が起こることを世界で初めて観察し^[27]、このメカニズムに IP₃ 産生酵素 PLC δ 4 が必須であることも明らかにした。

ICORP では Type2、Type3 IP₃ レセプター欠損マウスの実験から、一方の IP₃ レセプター欠損では顕著な表現型の変化は生じないが、両レセプターの欠損によって唾液分泌および膵臓のアミラーゼなど消化酵素分泌障害が生じることが分かり、Type2、Type3 IP₃ レセプターの外分泌機能における役割が明らかにされた^[28]。

本プロジェクトの事後評価では「IP₃ レセプターの発生・分化における役割の解明」における成果群をプロジェクト中の最も優れた成果として高く評価している。これらの研究テーマは SORST においても引き継がれ、現在、下記のような病理解明に資する成果を多く輩出することに繋がっている。

- ① 涙腺や唾液腺などの外分泌腺に炎症を起こし機能障害をもたらすシェーングレン病の新規治療法と予防法の開発が期待される (JST プレスリリース 2005 年 9 月 26 日)。

- ② Type 1 と Type 2 の IP₃ レセプター が膵臓細胞内のカルシウム濃度の増加に関与していることを発見した。このことは、アルコール性膵炎の治療薬開発に繋がるものと期待される^[29] (RIKEN プレスリリース 2009 年 6 月 16 日)。
- ③ 生きたマウスの心臓で、Type 2 IP₃ レセプター活性化が心肥大を引き起こすことが確認された。この現象から、心肥大を伴う心不全の新規治療薬開発の可能性が示唆される^[30] (RIKEN プレスリリース 2010 年 7 月 9 日)。
- ④ Type 1 と Type 2 の IP₃ レセプターを同時に欠損させると心臓の発生に異常をきたし、死に至ることも確認された。この成果は、再生医療への応用で、先天性心疾患の新たな治療法開発へ繋がるものと期待される^[31] (慶應義塾大学プレスリリース 2010 年 8 月 30 日)。

(4) 新しい測定法の開発及び新化合物の合成

本プロジェクトでは IP₃ インディケーター (指示薬) を開発している。当時、Ca²⁺の指示薬は存在したが、IP₃ 指示薬は存在しなかった。そこで、御子柴教授グループは新規分子 IRBIT が生理的濃度の IP₃ によって IP₃ レセプターから解離する性質を利用し、蛍光エネルギー転移法 (FRET) を適用することから、IP₃ の検出及び定量方法を開発した。この指示薬については 2002 年に特許出願され (「新規 IP₃ 受容体結合タンパク質と IP₃ 指示薬」特願 2002-29429、特開 2004-129612)、さらに改良したものが 2006 年には特許公開されている (「IP₃ 指示薬」特願 2004-309686、特開 2006-115807)。

この指示薬の開発に先立ち、研究協力者 (ERATO メンバー) であった宮脇敦史氏 (理研脳科学総合研究センターチームリーダー (当時)、現グループリーダー) 永井健治氏 (理研特別研究員 (当時)、現北海道大学電子科学研究所教授) らが開発した新規の Ca²⁺感受性蛍光色素 Venus が指示薬に組み合わされている^[32]。Venus は現在でも最高感度のカルシウム感受性蛍光色素であるため、世界中で利用されている。Venus を組み込んだカルシウム指示薬は、その後 Chameleon、Chameleon-Nano と進化している。北海道大学と理研との共同研究により、Chameleon-Nano は世界最高感度のカルシウム指示薬として 2010 年 8 月に公表された^[33]。

また、IP₃ レセプターの膜透過型阻害剤の開発も行われた。御子柴教授グループは 1997 年に既に 2-APB 開発・発表していたが、本プロジェクトでは膜透過性 IP₃ 依存性 Ca²⁺放出の阻害だけでなく、細胞外より細胞膜上のチャンネルを介して Ca²⁺が流入するという容量性 Ca²⁺流入を特異的に阻害するという性質を明らかにした。2-APB は現在、SIGMA ALDRICH 社から IP₃ レセプターブロッカー (製品名: 2-Aminoethyl diphenylborinate、製品番号 D9754) として販売されており、世界の Ca²⁺関連論文の約半分で使用されて

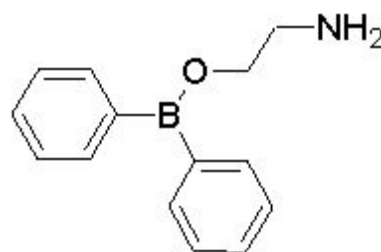


図7 細胞内のIP₃誘導性カルシウム放出に関する膜透過性モジュレーター
Sigma-Aldrich “D9754”

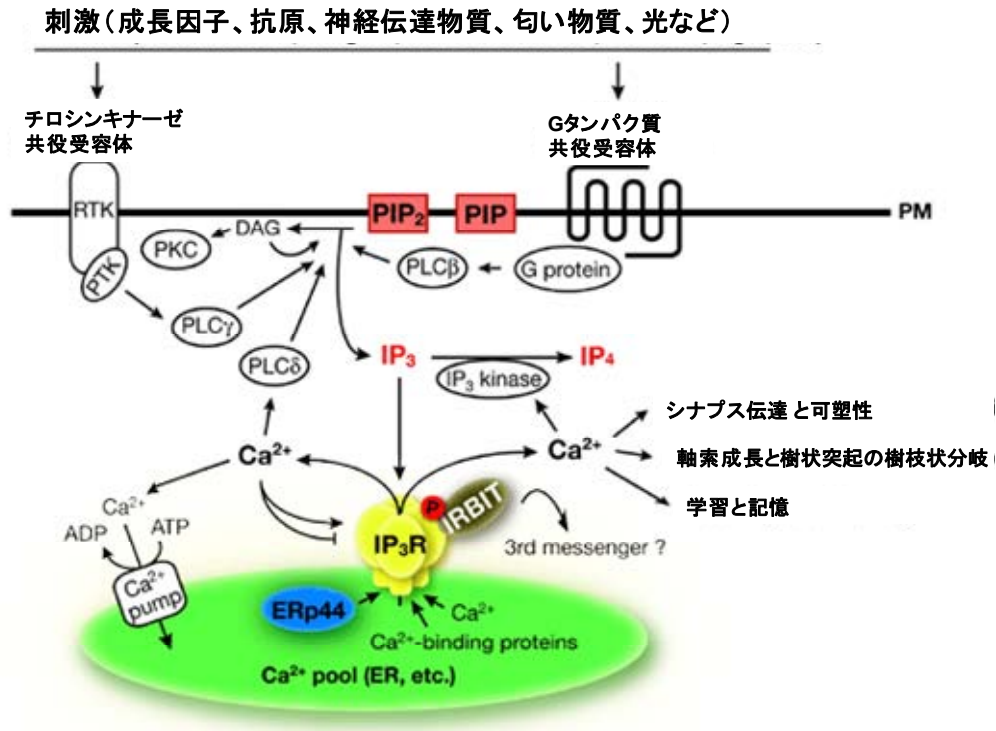
いる（図7参照）。残念ながら ERATO、本プロジェクトでの特許出願を行っていなかったため、特許収入は得られていない。

（5）スウェーデン側の動向

研究代表者の Aperia 教授は現在カロリンスカ研究所を退職されており、本プロジェクト関係の研究チームを引き継いだのは当時研究員であった Richter-Dahlfors 教授（カロリンスカ研究所スウェーデン医学ナノサイエンス・センター、専門は感染症）である。Richter-Dahlfors 教授らの研究グループでは、本プロジェクトで展開された電気生理学的解析の成果を基に、感染症生物学（infection biology）と有機エレクトロニクス（organic electronics）を融合させ、新しい学術領域、有機生体電子工学（organic bioelectronics）を確立した。有機生体工学によるカルシウム振動の研究は 2007 年にとりまとめられている^[34]。

（6）カルシウム振動に係る体系的理解の進展

御子柴研究室では、これまでの研究で IP₃ レセプターによって産生される Ca²⁺波や Ca²⁺振動の時空間的な特性が膵液・唾液分泌、受精、背腹軸決定など様々な生理現象に必須であることを明らかにしてきた。現在、研究室では IP₃ レセプター分子のチャネルゲーティングメカニズムの解明、細胞内 IP₃ 動態および Ca²⁺動態の同時イメージング、Ca²⁺波や Ca²⁺振動の発生源となる局所的 Ca²⁺放出（Ca²⁺ puff）の機構解析などに力を注ぐことにより Ca²⁺動態の時空間的制御メカニズムの解明を目指して研究が進められている。図8は細胞外の刺激が細胞内の情報伝達機構を介して、核に到達する経路を示したものである。



出典：御子柴研究室 Web サイト

図8 細胞内情報伝達とカルシウムシグナリング

近年の IP $_3$ レセプターに結合する新規蛋白質分子 IRBIT の発見により、細胞内情報伝達の新しい経路が明らかになるようとしている。現在、ラボでは IRBIT の発現量・リン酸化レベル・細胞内局在の如何によって、PIs や IPPs を介した細胞機能発現が時空間的に調節されているのではないかとする仮説を基に、IRBIT のリン酸化状態を調節する酵素（タンパク質キナーゼ、タンパク質フォスファターゼ）の同定と IRBIT 以外の結合分子の同定が精力的に行われている。研究手法としては分子生物学的、生化学的解析手法はもとより、構造生物学、蛍光顕微鏡による細胞イメージング、1 分子イメージング、パッチクランプや人工脂質二重膜を用いた電気生理学などの生物物理学的手法など多岐にわたる手法が用いられている。現在の研究課題は以下の通りである。

○理化学研究所 BSI 発生神経性物研究チーム(御子柴研究室)の現在の研究課題

- ① IP $_3$ レセプターを介した細胞内カルシウム動態と高次脳機能・脳疾患との関わり の 解明
- ② 蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した IP $_3$ センサーおよび Ca $^{2+}$ 蛍光指示薬による細胞内 IP $_3$ 動態と Ca $^{2+}$ 動態の同時イメージング、局所的 Ca $^{2+}$ シグナルの検出と解析
- ③ IP $_3$ レセプターのゲーティングメカニズムおよび IP $_3$ レセプターの機能調節因子の解析
- ④ IP $_3$ レセプターとその結合蛋白質を介したイノシトールリン脂質-イノシトールポリリン酸-カルシウムシグナルの包括的理解

2-2. プロジェクトメンバーの活動状況

本プロジェクトではプロジェクト期間中、延 8 人の専任研究員、7 人の兼任研究員、4 人の技術員が採用されていた。プロジェクトメンバーで大学等のテニユアポストに就任した人数は 5 人に上る。中村健氏は順天堂大学大学院医学研究科の講師として採用され、井上貴文氏は早稲田大学生命医療工学研究所の客員研究員に採用された後、2007 年から早稲田大学理工学術院の教授を務めている。道川貴章氏は理化学研究所研究員を経て、現在、発生神経性物研究チームの副チームリーダーを務めている。吉田学氏は東京大学大学院理学系研究科付属臨海実験所の講師を経て 2009 年より准教授となった。二木啓氏は理化学研究所研究員を経て神戸看護大学の准教授となっている。また、5 名が SORST 研究員として引き続きプロジェクト研究に携わり、うち 1 名が本プロジェクト共同研究機関であったカロリンスカ研究所の研究員となっている。

しかしながら、実際に研究に携わった人数はこれよりもさらに多く、プロジェクトの研究課題を通じて大学院生の実施教育の機会提供にも結びついていた（※プロジェクトの終了報告書に参加メンバーの氏名が全員分記述できなかった理由は、当時の終了報告書に記載できるメンバーは何らかのかたちで賃金が支払われた研究者に限るという実施機関（JST）側からの指示によるものであった）。研究室ではこれまで、200 人ほどの研究員（ポスドク）、大学院生を受け入れてきており（図 9 参照）、このうち約 40 人が大学等でテニユアポストを獲得している。ICORP 等の外部資金による研究プロジェクトは、カルシウム振動の関連分野で世界最高水準のラボを構築しただけでなく、そこで研究に携わった若手研究人材の育成にも多大な貢献を果たしている。

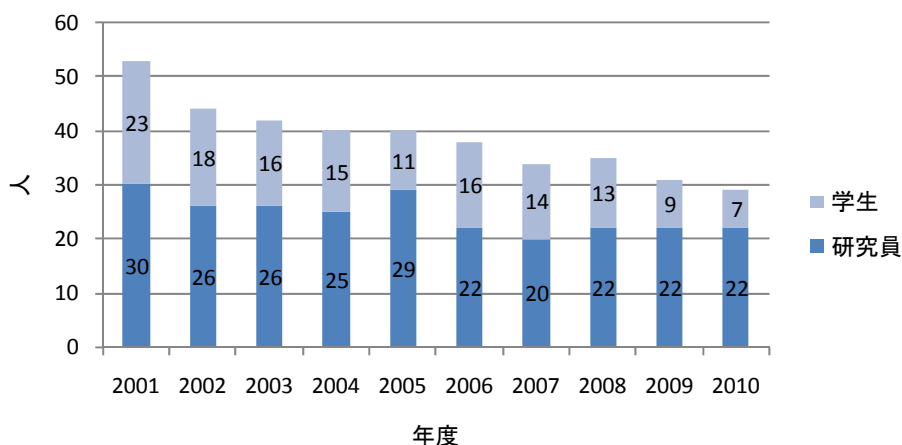


図9 理化学研究所 BSI 御子柴研究室の参加メンバー構成の推移
(御子柴教授へのヒアリングにより IFTECH 作成)

またスウェーデン側でも Anita C. Aperia 教授の下で本プロジェクトに参加していた

Richter-Dahlfors 研究員が現在では独立してカロリンスカ研究所の Swedish Medical Nanoscience Center の教授となり、研究室を主宰している。また、当時研究員 Per Uhlen 博士 Neuroscience Department の教授となっている。

さらに、御子柴代表研究者は本プロジェクトを軸として、3-2 項(2)項にも示すように、日本・スウェーデン学術交流の進展に大きく貢献していることや、IP₃ レセプターの発見から始まり、その細胞内での機能の解明、機能喪失による疾病の誘発まで、突き止めた功績は世界的に高く評価され、2011 年 5 月にはカロリンスカ研究所から、「honorary doctorate」(名誉学位)を授与されている。

第3章 プロジェクト成果の波及と展望

3-1. 科学技術への波及と展望

(1) 研究コミュニティへの影響

理化学研究所 BSI 発生神経性物研究チーム(御子柴研究室)は ERATO-ICORP-SORST を通じて得られた科学的成果により、IP₃ レセプターとカルシウム振動に関する世界最高峰のラボとして学术界に広く認知されている。

本プロジェクトの終了以降、御子柴研究室から発表された論文(海外査読付)は約 270 本であり、これらに対する被引用回数は累計で約 6,200 回に上っている。図 10 は Tomoson Reuter 社 ISI Web of Knowledge を用いて、2001-2010 年の御子柴研究室の論文について、被引用数が 100 回以上の論文について雑誌別に集計したものである。Nature 誌、Science 誌、Cell 誌、J Biol Chem 誌など海外主要ジャーナルでの発表が多く、世界の研究コミュニティに与えた影響は非常に大きいと言える。

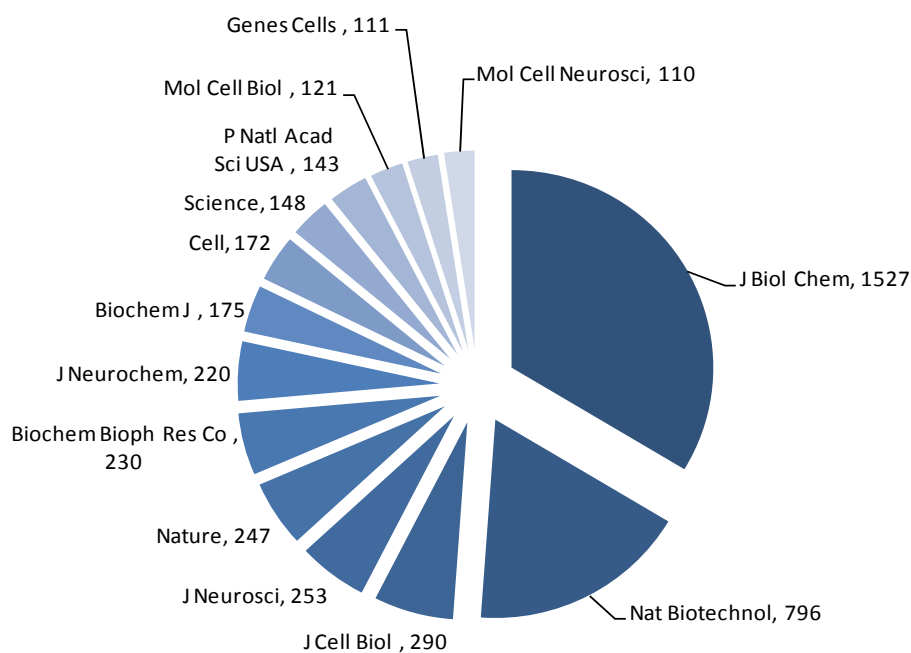


図 10 被引用数 100 回以上論文の掲載誌別集計値の内訳
(2001-2010 に発表された論文, 数字は被引用数)

特に本プロジェクトの成果である Nagai, T *et.al.*, 2002 (Nat Biotechnol)^[35]は主要な海外学術論文データベースである Web of Science を用いた引用で、「Highly Cited Paper」に選ばれており、被引用数が単独で 800 件に及んでいる。本プロジェクトの学術成果は質・量と

もに圧倒しているといえる（図 11 参照）。

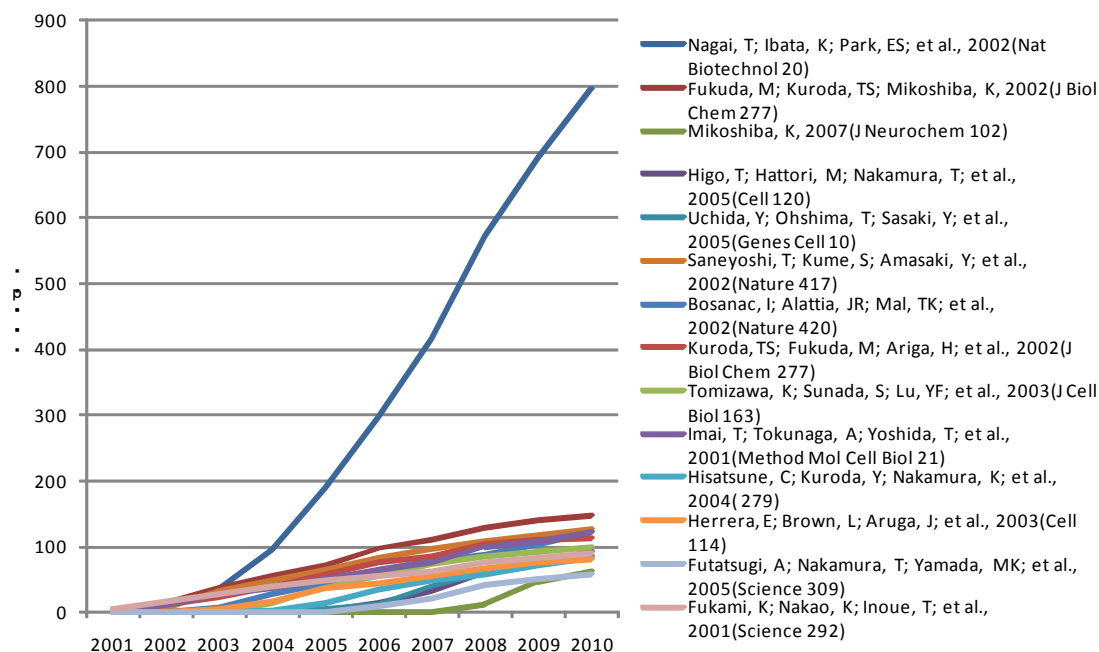


図 11 年平均引用数が 10 以上の論文の累積被引用数の推移
(2001-2010 に発表された論文)

Paper	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	平均引用数
Nagai, T; Ibata, K; Park, ES; et al., 2002(Nat Biotechnol 20)		6	34	95	188	297	414	570	689	796	88.4
Fukuda, M; Kuroda, TS; Mikoshiba, K, 2002(J Biol Chem 277)		14	38	56	72	96	110	129	141	148	16.4
Saneyoshi, T; Kume, S; Amasaki, Y; et al., 2002(Nature 417)		6	32	48	65	82	96	109	117	126	14.0
Bosanac, I; Alattia, JR; Mal, TK; et al., 2002(Nature 420)			8	28	45	65	78	88	104	121	13.4
Imai, T; Tokunaga, A; Yoshida, T; et al., 2001(Method Mol Cell Biol 21)	1	13	28	37	51	65	75	99	108	121	12.1
Kuroda, TS; Fukuda, M; Ariga, H; et al., 2002(J Biol Chem 277)		11	23	39	57	77	86	103	111	112	12.4
Tomizawa, K; Sunada, S; Lu, YF; et al., 2003(J Cell Biol 163)			1	15	37	55	74	86	93	99	12.4
Higo, T; Hattori, M; Nakamura, T; et al., 2005(Cell 120)					3	15	33	60	76	91	15.2
Fukami, K; Nakao, K; Inoue, T; et al., 2001(Science 292)	4	16	27	39	49	56	62	76	83	90	9.0
Uchida, Y; Ohshima, T; Sasaki, Y; et al., 2005(Genes Cell 10)					4	13	40	59	73	86	14.3

※()内は巻数を示している

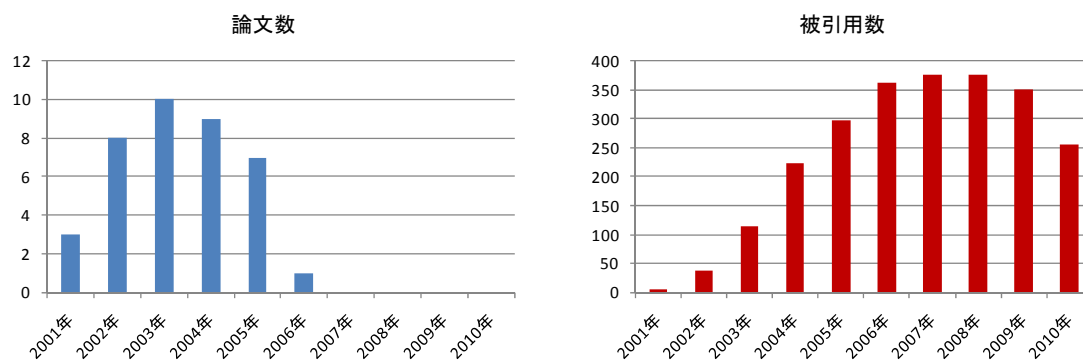


図 12 プロジェクト期間中の発表論文数(左)と発表論文に対する年別被引用数(右)

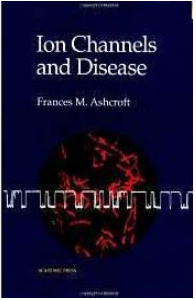
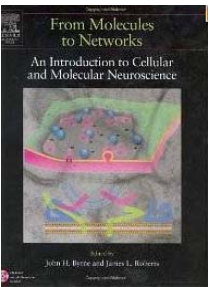
※被引用数は 2010 年 10 月 1 日現在

	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	計
論文数	3	8	10	9	7	1					38
被引用数	4	38	114	223	296	363	375	375	350	256	2,394

(2) 教科書等への掲載

御子柴研究室による IP₃ レセプターの発見とその機能解明は標準的な生物学の教科書にも記載されており、同分野の研究者の育成にも広く貢献している。

表2 教科書への記載

	<p>著者：Frances M. Ashcroft 書名：Ion Channels and Disease 出版社：Academic Press 出版年：1999 掲載ページ：263-264 Chapter 14 Ligand-Gate Ca²⁺ Channels Cloning of the IP₃ Receptor の項で、その発見と構造が記載されている。</p>
	<p>著者：John H. Byrne and James L. Roberts 書名：From Molecules to Networks; An Introduction to Cellular and Molecular Neuroscience 出版社：ELSEVIER 出版年：2003 掲載ページ：142-143 Chapter 6 Molecular Properties of Ion Channels Intracellular calcium channels の項に IP₃ レセプターの構造と小胞体での貯蔵に関して記載されている。</p>

(3) 次世代の研究リーダーの輩出

ラボからは次世代の研究リーダーも育っており、本プロジェクトの前身である ERATO プロジェクトから参加している研究協力者の宮脇敦史氏（理化学研究所脳科学総合研究センター副センター長、ERATO「生命時空間情報」研究総括）、当時専任研究員だった永井健治氏（北海道大学電子科学研究所教授）らを輩出している。御子柴研究室ではこうした研究室との共同研究を現在も展開している。

(4) 新しい学術領域の創出

本プロジェクトに参加した Richter-Dahlfors 教授は、プロジェクト終了後、スウェーデン戦略財団（SSF）の戦略研究センタープログラムのグラントを受けて研究室を主宰した。Richter-Dahlfors 教授はカルシウム振動のような化学的信号を電気的信号に変換するための

デバイスを有機導電性ポリマー (conducting polymer) を利用して開発した。導電性ポリマーを利用した化学的信号の計測技術は、従来の銅線を使った計測技術よりも生体の信号を計測するのに優れており、実験計測の方法として現在では主流となっている。この過程で、感染症生物学 (infection biology) と有機エレクトロニクス (organic electronics) が融合し、新しい学術領域、有機生体電子工学 (organic bioelectronics) が確立された^[36]。図 13 は、異なった学術領域の融合により形成された新領域では、知識の生産性が相乗的に高まることを模式的に表したものである。

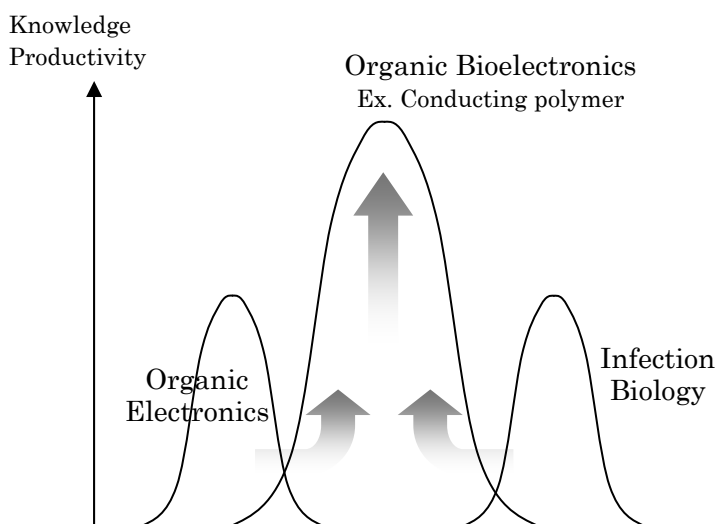


図 13 新しい知の領域の開拓と知識の生産性に関するイメージ
Richter-Dahlfors 教授へのヒアリングより作成

有機生体電子工学については、スウェーデン・リンショーピング大学 (Linköping University) の Magnus Berggren 教授、カロリンスカ研究所の Richter-Dahlfors 教授らが中心となって有機生体電子工学戦略研究センター (OBOE : Strategic Research Center for Organic Bioelectronics^{**9}) を 2006 年に設立した。御子柴教授は同センターのボードを務めている。OBOE は細胞シグナルや幹細胞、神経の相互接続などに関わる生物学の未解決問題の解明に貢献するため、有機生体電子工学のツールおよびデバイス開発のためのプラットフォームを形成することを目的としている。中心的なデバイスは導電性高分子ワイヤー (conducting polymer wire)、高分子電解質プローブ (polyelectrolyte probes)、有機界面スイッチ (organic surface switch)、電子イオンポンプ (electronic ion pumps) などであり、それぞれのデバイスを利用した研究が推進されている。

^{**9} http://www.oboe.nu/index.php?option=com_frontpage&Itemid=1

		<input type="text" value="search..."/>
<p>MAIN MENU</p> <ul style="list-style-type: none"> • Home • OBOE Visions • Management • Board • Media • OBOE Research Groups • OBOE Research Projects • Publications • Education • Calendar • OBOE Members • Alumni • Links • E-Newsletter • Intranet • Administrator 		<p>NEWSFLASH</p> <p>OBOE Inventions If you are an OBOE researcher with a proposal for an invention, click here for the appropriate document.</p> <p>Powered by  version 1.0</p> <p>POPULAR</p> <ul style="list-style-type: none"> • Welcome! • Inventions!
		
<p>Home • Board</p>		
<p>Board [PDF] [Print] [Email]</p> <p>Ove Öhman <i>Chairman in the OBOE Center Board, Ämic AB</i></p> <p>Bo Liedberg The Department of Physics, Chemistry and Biology, Linköping University</p> <p>Ingemar Lundström – The Department of Physics, Chemistry and Biology, Linköping University</p>		
<div style="display: flex; align-items: flex-start;"> <div style="flex: 1;">  <p>Katsuhiko Mikoshiba – Group Director of Brain Development Research Group RIKEN Brain Science Institute</p> <p>Eva Munch-Wiklund Head and Neck Surgery at the Department of Clinical Neuroscience, Unit of Otorhinolaryngology and Audiology, ENT department, Karolinska Institutet and Karolinska University Hospital.</p> </div> <div style="flex: 1; padding-left: 10px;"> <p>Last Updated (Tuesday, 23 March 2010)</p> <p style="text-align: center;">[Back]</p> </div> </div>		
<p>© 2010 oboe Joomla! is Free Software released under the GNU/GPL License.</p>		

図 14 OBOE の Web サイト

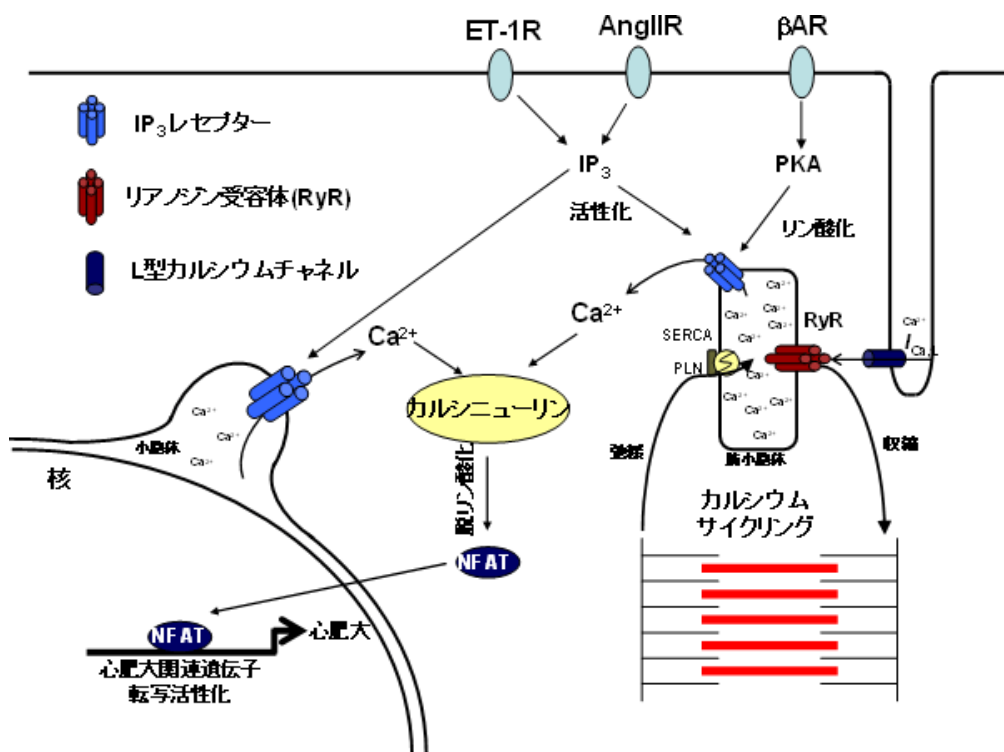
<http://www.oboe.nu/>

3-2. 社会・経済への波及と展望

(1) 新しい治療法、創薬への期待

本プロジェクトでは生体への影響を分析するためのツールが開発された。各種 IP_3 レセプター (Type 1,2,3) のノックアウトマウスや IP_3 指示薬、 IP_3 スポンジなどである。これらを利用した生体機能の解明に関わる研究成果が近年、次々と発表され、本プロジェクトで取り組んだ研究テーマが身を結びつつある。

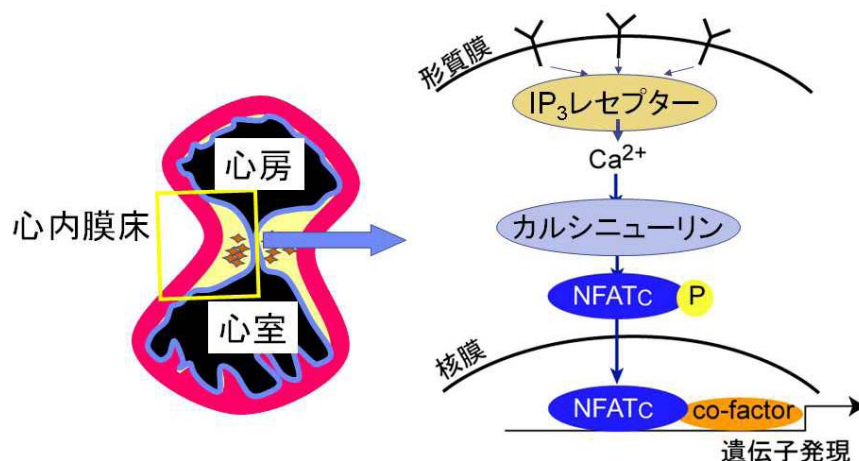
御子柴研究室が 2002 年に開発した IP_3 スポンジは、 IP_3 レセプターと比較して約 500 倍の IP_3 に対する親和性を有し、 IP_3 を結合することによって IP_3 レセプターの活性化を抑制する。この IP_3 スポンジとノックアウトマウスを利用して、Type 2 IP_3 レセプターを抑制することで生体における心肥大が抑えられることが実験により確認された。これまで心筋細胞のように細胞内カルシウムイオン濃度が常に変化する細胞ではカルシウム依存性シグナルの活性化によって心肥大が引き起こされるメカニズムが不明であった。この発見により、慢性心不全の予後を改善する新しい薬剤の開発が期待されている (図 15 参照)。



心臓の収縮と弛緩はカルシウムイオンサイクリングにより制御されている。その一方で、心臓の細胞膜上ではアンジオテンシン II 受容体 (AngIIIR) やエンドセリン-1 (ET-1R) 受容体刺激により IP_3 が生成し、 IP_3 レセプターを活性化する。また、 β アドレナリン受容体 (β AR) 刺激により活性化されるプロテインキナーゼ A (PKA) が、 IP_3 レセプターをリン酸化し IP_3 に対する感受性を増加させる。これらのメカニズムにより、心筋細胞において IP_3 レセプターからカルシウムイオン流出が生じる。今回、生体心で IP_3 レセプターが、カルシウムサイクリングから独立してカルシニューリンを活性化し、NFAT の脱リン酸化による核内移行を介して心肥大を引き起こすことが判明した (RIKEN プレスリリース 2010 年 7 月 9 日資料より)。

図 15 Type 2 IP_3 レセプターの抑制: 心肥大のメカニズムの解明

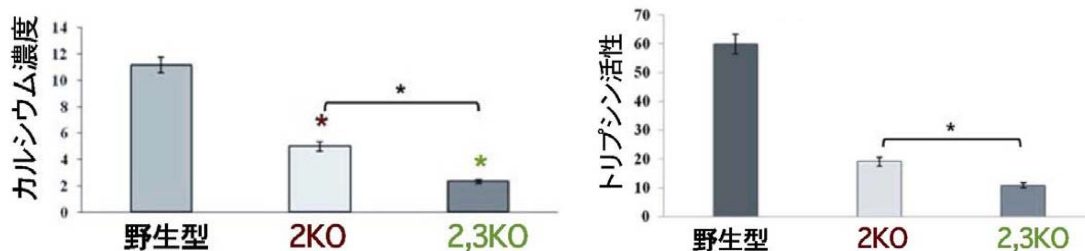
この研究成果に引き続き、IP₃レセプターType 1 と Type 2 のダブルノックアウトマウスを使用した実験により心内膜床の発生異常が確認された^[37]。先天性心疾患の中でも頻度の高い心室中隔欠損、心房中隔欠損、心内膜床欠損などの疾患や弁の形成異常の一部に、IP₃レセプターを介する細胞内カルシウムシグナルによるカルシニューリンの活性化が関与することが判明した。図 16 はそのメカニズムを模式的に示している。



1 型・2 型IP₃レセプターを介する細胞内カルシウムシグナルは、カルシニューリンを活性化することにより心内膜床発生を制御する。
【慶応義塾大学プレスリリース 2010年8月30日資料より】

図 16 Type 1・Type 2 IP₃レセプターの抑制: 心内膜症の発生抑制

この研究成果により、今後の遺伝学的検討を通じて、これまで不明であった先天性心疾患の原因が明らかになり、さらに発症予防法の確立につながることを期待されている。また、心臓は再生能がないために重度障害心筋の機能代償の治療法は移植のみである。本研究成果に遺伝子導入の手法を用いて血管新生を促進させ、心臓そのものを再生するような再生医療へ応用することで、現在、外科的修復に頼らざるを得ないこれらの疾患の新たな治療法の開発につながることを期待されている。



POAEE(FAEEの一種)によるカルシウム放出とトリプシン(消化酵素)の活性化は2型、3型IP₃レセプターの働きにより引き起こされる
【RIKENプレスリリース 2009年6月16日資料より】

図 17 Type 2・Type 3 の IP₃ レセプターの働き:FAEE の毒性 IP₃ レセプターを介して引き起こされる。POAEE は脂肪酸エチルエステル(FAEE)の一種で、アルコールの大量摂取により、人体で産生される。

また IP₃ 指示薬と Type 2 と Type 3 の IP₃ レセプターノックアウトマウスを利用した実験により、アルコールの大量摂取による急性膵炎の発症原因である脂肪酸エチルエステル (FAEE) の毒性 (膵臓細胞内での過剰なカルシウム濃度上昇と消化酵素の活性化) の減少が確認され (図 17 参照)、Type 2 と Type 3 の IP₃ レセプターが急性膵炎発症に重要な役割を果たすことが判明した。現在のところ、膵炎の治療には特効薬が存在しないことから、この発見によって急性膵炎の特効薬の開発につながることを期待されている。

(2) 日本・スウェーデン学術交流の進展

ライフサイエンス分野における日本とスウェーデンの共同研究は、1993～1997 年にかけて実施された ICORP「サブフェムトモルバイオ認識プロジェクト^{※10}」(日本側研究代表者: 渡辺恭良氏 大阪バイオサイエンス研究所, スウェーデン側: Bengt Langstrom 教授 ウプサラ大学) が契機となっている。スウェーデン側では当時スウェーデン産業技術開発庁 (NEUTECH、現在のスウェーデンイノベーション技術庁 VINNOVA) が支援機関としてプロジェクトに参加し、日・スウェーデン共同研究の素地が形成された。

1999 年 1 月に日・スウェーデン科学技術協力協定が締結されると、JST、VINNOVA、スウェーデン戦略財団 (SSF) の三者間で日・スウェーデン共同研究プログラム「ライフサイエンスと他の分野を結合した複合的領域 (Multidisciplinary BIO)」が 2001 年に合意された。同プログラムは 2003 年に開始され、これまでに 4 回の公募を終えて 21 課題を採択している。既に研究に着手しているバイオと隣接領域を含む研究課題に対して共同研究を実施することが条件であり、研究期間 3 年間、予算は日本側で総額 2,250 万円を超えない範囲で 3 年間補助、スウェーデン側は総額 210 万クローナを超えない範囲で 3 年間支給となっている^{※11}。また、2001 年には日本学術振興会 (JSPS) のストックホルム事務所が開設され、SSF との共同でポストドク向け研究グラントやスカラシップ・プログラムが創設された^{※12}。

Multidisciplinary BIO プログラムと並行した動きとして、ライフサイエンス分野における学術交流として現在まで続いている活動として、「バイオナノテクノロジーに関する国際ワークショップ」が挙げられる。2000 年に SSF 代表 Jan Staffan Normark 教授が来日した際、相澤益男東京工業大学学長 (当時) との会談で構想された。SSF と文部科学省の共催により、これまでに 6 回の開催実績があり、スウェーデンと日本で交互に開催されている。

【バイオテクノロジーに関する国際ワークショップ開催実績】

➤ 1st Workshop on Bio-Nanotechnology, Sigtuna, 2002.

^{※10} 'Subfemtomole Biorecognition Project' http://www.jst.go.jp/icorp/english/past_proj/sub-e.html

^{※11} <http://www.jst.go.jp/inter/project/country/sweden.html>

^{※12} <http://www.stratresearch.se/Global/publikationer/activity%20reports/ActivityReport2001.pdf>

- 2nd Workshop on Bio-Nanotechnology, Kyoto^{*13}, 2003
- 3rd Workshop on Bio-Nanotechnology, Lund^{*14}, 2005
- 4th Workshop on Bio-Nanotechnology, Tsukuba^{*15}, 2006
- 5th Workshop on Bio-Nanotechnology, Stockholm, 2008
- 6th Workshop on Bio-Nanotechnology, Mishima^{*16}, 2010

同ワークショップはバイオナノテクノロジー分野、特にバイオ、IT、ナノテクノロジーの融合領域に関する日・スウェーデン間の情報交換と新たな共同研究の関係づくりを目的としており、ワークショップを通じて両国の若手研究者が両国の研究機関に短期滞在を具体化させるなどの研究交流が図られている。つくばでの第4回ワークショップでは本プロジェクトのスウェーデン側代表研究者の Aperia 教授と Richter-Dahlfors 教授も参加した。

本プロジェクトは日・スウェーデン間の研究交流の進展に併せて展開されたため、例えば 2003 年 11 月 7 日にノーベルフォーラム（ストックホルム）で開催された ICORP 中間評価シンポジウム^{*17} ではスウェーデン側では科学技術担当大臣、VINNOVA 理事長、SSF 理事長らが出席、日本側では JST 理事長が出席するなどの国家レベルでの交流が行われた。

このような学術交流の機会をさらに発展させ、2010 年 11 月からはカロリンスカ研究所と理化学研究所との間で博士課程のジョイントコース、「細胞核の機能および構造 (Functional Architecture of the Cell Nucleus)」が開設された (図 18 参照) ^{*18}。このジョイントコースの開設実現には御子柴教授と Richter-Dahlfors 教授とが主導的な役割を果たしている。

^{*13} <http://www.nanonet.go.jp/japanese/exchange/sw001.html>

^{*14} <http://www.nanonet.go.jp/japanese/exchange/sw002.html>

^{*15} <http://www.nanonet.go.jp/english/exchange/sw003.html>

^{*16} http://www.tillvaxtanalys.se/en/news_and_events/calendar/article0007.html

^{*17} “Calcium Oscillations: Molecular Mechanisms and Medical Implications of an Extraordinarily Versatile Cell Signal”, Joint Symposium of Karolinska Institute and Japan Science and Technology, International Cooperative Research Project(ICORP) “Calcium Oscillation Project”, November 7, 2003, Nobel Forum, Stockholm. < http://www.jstage.jst.go.jp/browse/jst200302/2003/0/_contents >

^{*18} Karolinska Institute – RIKEN Joint International Doctoral Course “Functional Architecture of the Cell Nucleus” November 24th-30th, 2010. < <http://www.osc.riken.jp/event/cell2010/> >

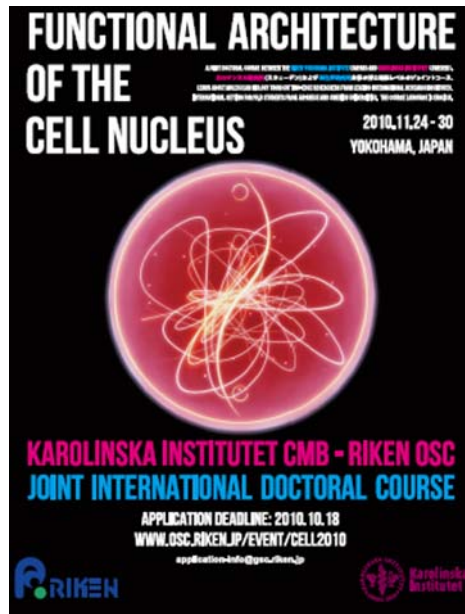


図 18 カロリンスカ研究所と理化学研究所の博士課程ジョイントコースの案内

また、カロリンスカ研究所 200 周年シンポジウムは東京六本木のスウェーデン大使館で開催される運びとなり、御子柴教授や Richter-Dahlfors 教授が基調講演を行った (図 19) ※19。

Join us at the Embassy of Sweden for Karolinska Institutet's bicentenary celebration

EMBASSY OF SWEDEN Tokyo

KAROLINSKA INSTITUTET Karolinska Institutet 200 1811 - 2011 years

Bicentenary Symposium in collaboration with RIKEN
Neuroscience - Unravelling Mysteries of the Brain
Seminar on the occasion of Karolinska Institutet's bicentenary celebration

Venue & Time: Embassy of Sweden, Tokyo, Friday October 15, 15:00-18:00, followed by refreshments and snacks. Registration starts at 14:00
(bi-lingual with simultaneous interpretation)

Time	Speaker	Topic
15:00-15:05	Prof Anders Karlsson, Science Counsellor, Embassy of Sweden	Introduction, practical details
15:05-15:10	H.E. Stefan Noreén, Ambassador of Sweden to Japan	Welcoming remarks
15:10-15:25	Prof. Hans Wallberg-Henriksson, President, Karolinska Institutet	Karolinska Institutet 200 years - Past, Present and Future!
15:25-15:45	Prof. Martin Ingvar, Dean of Research	Pain - Lost in translational research
15:45-16:05	Prof. Agneta Richter-Dahlfors	Nanomaterial approaches to neuroscience
16:05-16:20	Coffee break	
16:20-16:40	Dr. Katsuhiko Mizushima, Laboratory Head, Laboratory for Developmental Neurobiology, RIKEN Brain Science Institute, Adjunct Professor Karolinska Institutet	Brain damage: how to protect from ER stress?
16:40-17:00	Prof. Thomas Hökfelt	Too little or too much: How to control food intake
17:00-17:20	Assoc. Prof. Clara Hellner Gumpert, Dean of Doctoral Education	Adolescent aggression - brain and behavior
17:20-17:40	Prof. Fredrik Ullén	Practice makes perfect - the neurobiology of expertise
17:40-18:00	Panel Discussion Q & A Hans Rhodinier, Industrial Counsellor, Head Invest Sweden, Tokyo	Closing remarks

A reception will be held in the Embassy Exhibition Hall following the Seminar

growth analysis

EMBASSY OF SWEDEN Tokyo

KAROLINSKA INSTITUTET Karolinska Institutet 200 1811 - 2011 years

EMBASSY OF SWEDEN Tokyo

KAROLINSKA INSTITUTET Karolinska Institutet 200 1811 - 2011 years

growth analysis

INVEST SWEDEN

図 19 カロリンスカ研究所 200 周年シンポジウムの案内

※19 “Neuroscience –Unraveling Mysteries of Brain”, Seminar on the occasion of Karolinska Institute’s bicentenary celebration, October 15, 2010, Embassy of Sweden, Tokyo.

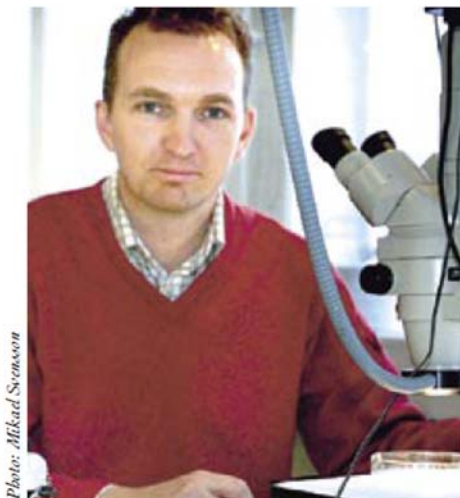
(3) 新しい研究センターの設立

Richter-Dahlfors 教授は本プロジェクト参加後、Berggren 教授と共同で SSF のファンドである戦略研究センタープログラムに採択された。同プログラムはスウェーデン国内のトップレベルの研究者 20 人に対して 5 年間に総額 8 億クローナ（約 120 億円）を支給する拠点支援型の基礎研究向けファンドである。2005 年 12 月に 17 人の研究者が採択された。

Richter-Dahlfors 教授と Berggren 教授は有機生体電子工学戦略研究センター（OBOE : Strategic Research Center for Organic Bioelectronics）を 2006 年から立ち上げ、世界における有機生体電子工学の Center of Excellence として研究を展開している（図 20 参照）。

Organic electronics

Devices made of organic materials offer new possibilities for bridging the gap between biology and electronics. The centre being built up by researchers at Linköping University and Karolinska Institutet is interested in translation between electrons and the chemistry of the human body. With the grant they have received from the Swedish Foundation for Strategic Research, the researchers will now have the resources to tackle the big questions.



What determines when stem cells differentiate? How does calcium ion signaling really take place in the cell?

“These are the kinds of things we will now be able to study,” explains Magnus Berggren at Linköping University, the director of the new centre together with Agneta Richter-Dahlfors of Karolinska Institutet.

The phenomenon is linked to several diseases, which shows that even such general questions are closely connected with applications. Since cells signal in a different way than electronics, it has

been difficult to unite the two. But the research group for organic electronics in Linköping has developed an electrochemical transistor that can translate from and to the body’s systems. Organic electronics entails building devices with organic materials, which means they work together with biological systems. This makes it possible to get cells to grow, which is very difficult on silicon-based devices.

“When we use organic electronics we can create signals identical to those in biological systems,” says Berggren.

A total of twelve researchers at Linköping University and Karolinska Institutet are collaborating at this centre to work on neurons, stem cells and cell signalling. They were already collaborating, but now they can broaden their approach and tackle the more fundamental questions. “This will lead to new analysis tools and new forms of analysis, and in the longer term perhaps even to electronic drugs,” speculates Berggren.

“We are very proud to have received this grant,” he concludes. “It will enable us to do many new things.”

図 20 SSF 戦略研究センターOrganic Electronics の紹介 (写真は Berggren 教授)

出典: SSF Strategic Research Centers 2006-2010

OBOE での研究成果を医療に役立てるために、2009 年には最先端技術と医療研究の融合を目的として VINNOVA とカロリンスカ研究所、民間企業 (Carl Bennet AB 医療機器メーカー) の出資でカロリンスカ研究所内にスウェーデン・メディカル・ナノサイエンス・センター (Swedish Medical Nanoscience Center : SMNC) が設立された。Richter-Dahlfors 教授は初代センター長として就任している（図 21 参照）。



図 21 Swedish Medical Nanoscience Center の Web サイト

<http://www.medicalnanoscience.se/>

SMNC が手掛けている主な研究領域は 1) Cancer nanotechnology、2) Circadian rhythms、3) DNA-membrane interactions、4) DNA nanostructures、5) DNA nanostructure-mediated drug delivery、6) Drug delivery systems、7) Enzymatic DNA oligonucleotide production、8) Infection biology、9) Nanomedicine、10) Organic bioelectronics、11) Tissue microbiology となっている。SMNC ではこれらの研究を推進する上で日本との研究交流を重視しており、日本側のコンタクトパーソンとして、御子柴教授、馬場嘉信教授(名古屋大学)、鳥光慶一氏(NTT 物性科学基礎研究所)、宮脇敦史氏(RIKEN)、宮原裕二氏(NIMS 生体材料センター長)などの諸氏をセミナー等招聘するなどの活動を行っている。

第4章 事業運営に関する意見等

4-1. ICORP プロジェクトについて

これまで見てきたように、本プロジェクトでは ERATO 御子柴細胞制御プロジェクトの研究成果を国際共同研究のかたちでさらに展開し、IP₃ レセプターの機能解明と細胞内情報伝達の仕組みやその生理的影響に関する新しい発見を次々と生み出していった。御子柴教授と Richter-Dahlfors 教授へのヒアリングから、本プロジェクトの利点等を以下にとりまとめた。

(1) 国際共同研究のありかた

- ・ 共同研究のパートナーは隣接する領域の専門家が組むと非常に知識生産性が高まる。御子柴研究室は分子生物学、Anita 教授は臨床研究からカルシウム振動現象に接近したが、その結果、分子→細胞→組織→生体というフレームで IP₃ レセプターの機能解明が可能となった。その理由として、異なる領域の専門家がある同一の現象について異なる説明をしている、ということがよくあり、それを相手に分からせるために、説明の工夫をすることで、新しい考え方のヒントを生まれると考えられる。
- ・ 国際共同研究は face to face でなければならない。相手の考えを理解しようとするれば、直接会って対話し、議論を深めることが重要である。そのためには、本プロジェクトはそのような機会を容易に作る事が出来、非常に有益だった。

(2) ファンドとしての ICORP

- ・ 海外のファンドは大型のものでも研究期間が 2 年～3 年というものがほとんどである。ERATO や ICORP のように 5 年間継続というファンドは少ない。通常は最終年に次のファンドを獲得するための準備や報告に追われてしまうため、短いサイクルで研究を実施しなければならない。しかし、5 年間という研究期間を与えられれば、参加する研究者は集中して研究することができるし、研究の質の向上にもつながると思われる。
- ・ ICORP がなければスウェーデン側の研究推進体制も現在のような進展はみられなかったもので、御子柴教授研究室との出会いは非常に幸運なことであった。

4-2. 課題・JST への要望等

- ・ ICORP 事業が、終了したことは非常残念である。本プロジェクトのような有効関係を築き、大きな成果を挙げたプロジェクトを見本として、国際共同研究の意義を見出して欲しい。

参考文献

- [1] Streb H, Irvine RF, Berridge MJ, Schulz I., “Release of Ca^{2+} from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate”, *NATURE*. 1983 Nov 3-9;306(5938):67-9.
- [2] Furuichi, T; Yoshikawa, S; Miyawaki, A; et al. “Primary structure and functional expression of the Inositol 1,4,5-Trisphosphate-binding protein-P400”, *NATURE*, 342, 32-38, 1989.
- [3] Maeda, N; Niinobe, M; Mikoshiba, K, “A Cerebella porcine-cell marker P400 protein is an Inositol 1,4,5-trisphosphate (INSP3) receptor protein purification and characterization of INSP3 receptor complex”, *EMBO J*, 9(10), 61-67, 1990.
- [4] Kume, S; Muto, A; Aruga, J; et al., “The Xenopus IP(3) Receptor - Structure, Function and Localization in Oocytes and Eggs”, *CELL*, 73(3), 555-570, 1993.
- [5] Yamamoto, M; Sugiyama, T; Hikichi, K; et al., “Cloning and Characterization of Human Type-2 and Type -3 Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptors”, *RECEPTOR CHANNEL*, 2(1), 9-22, 1994.
- [6] Miyawaki, A; Furuichi, T; Maeda, N; et al., “Expressed Cerebellar Type Inositol 1,4,5 -Trisphosphate Receptor P400 has Calcium Release Activity in a Fibroblast L-Cell Line”, *NEURON*, 5(1), 11-18, 1990.
- [7] Maeda, N; Kawasaki, T; Nakade, S; et al., “Structural and Functional Characterization of Inositol 1,4,5 -Trisphosphate Receptor Channel From Mouse Cerebellum”, *J BIOL CHEM*, 266(2), 1109-1116, 1991.
- [8] Miyazaki, S; Yuzaki, M; Nakada, K; et al., “Block of Ca^{2+} Wave and Ca^{2+} Oscillation by Antibody to the Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor in Fertilized Hamster Eggs”, *SCIENCE*, 257(5067), 251-255, 1992.
- [9] Kume, S; Muto, A; Inoue, T; et al., “Role of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in ventral signaling in Xenopus embryos”, *SCIENCE*, 278(5345), 1940-1943, 1997.
- [10] Takei, K; Shin, RM; Inoue, T; et al., “Regulation of nerve growth mediated by inositol 1,4,5 -trisphosphate receptors in growth cones”, *SCIENCE*, 282(5394), 1705-1708, 1998.
- [11] Matsumoto, M; Nakagawa, T; Inoue, T; et al., “Ataxia and epileptic seizures in mice lacking type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor”, *NATURE*, 379(6561), 168-171, 1996.
- [12] Inoue, T; Kato, K; Kohda, K; et al., “Type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is required for induction of long-term depression in cerebellar Purkinje neurons”, *J NEUROSCI*, 18(14), 1998.
- [13] Ma, HT; Patterson, RL; van Rossum, DB; et al., “Requirement of the inositol trisphosphate receptor for activation of store-operated Ca^{2+} channels”, *SCIENCE*, 287(5458), 1647-1651, 2000.
- [14] Nishiyama, M; Hong, K; Mikoshiba, K; et al., “Calcium stores regulate the polarity and

- input specificity of synaptic modification”, *NATURE*, 408(6812), 584-588, 2000.
- [15] UhleÅn, P; Laestadius, A; Jahnukainen, T; SoÈderblom, T; BaÈckhed, F; Celsi, G; Brismar, H; Normark, S; Aperia, A; Richter-Dahlfors, A, “Alpha-Haemolysin of uropathogenic *E. coli* induces Ca²⁺ oscillations in renal epithelial cells”, *Nature*, 405(6809), 694-697, 2000.
- [16] Brismar, H; Asghar, M; Carey, R; Greengard, P; Aperia, A, “Dopamine-induced recruitment of dopamine D1 receptors to the plasma membrane”, *P NATL ACAD SCI USA*, 95, 5573-5578, 1998.
- [17] Belusa R, Aizman O, Andersson RM, Aperia A, “Changes in Na⁺-K⁺-ATPase activity influence cell attachment to fibronectin”, *AM J PHYSIOL-CELL PH*, vol.282, No.2, c302-309, 2002.
- [18] Aizman O and Aperia A, “Na,K-ATPase as a signal transducer”, *ANN NY ACAD SCI*, Vol.986, 489-496, 2003.
- [19] Bosanac, I; Alattia, JR; Mal, TK; et al., “Structure of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor binding core in complex with its ligand”, *NATURE*, 420(6916), 696-700, 2002.
- [20] Matsu-ura, T; Michikawa, T; Inoue, T; et al., “Cytosolic inositol 1,4,5-trisphosphate dynamics during intracellular calcium oscillations in living cells”, *J CELL BIOL*, 173(5), 755-765, 2006.
- [21] Matsu-ura, T; Michikawa, T; Inoue, T; et al., “Cytosolic inositol 1,4,5-trisphosphate dynamics during intracellular calcium oscillations in living cells”, *J CELL BIOL*, 173(5), 755-765, 2006.
- [22] Ando, H; Mizutani, A; Kiefer, H; et al., “IRBIT suppresses IP3 receptor activity by competing with IP3 for the common binding site on the IP3 receptor”, *MOL CELL*, 22(6), 795-806, 2006.
- [23] Shirakabe, K; Priori, G; Yamada, H; et al., “IRBIT, an inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-binding protein, specifically binds to and activates pancreas-type Na⁺/HCO₃⁻ cotransporter 1 (pNBC1)”, *P NATL ACAD SCI USA*, 103, 9542-9547, 2006.
- [24] Higo, T; Hattori, M; Nakamura, T; et al., “Subtype-specific and ER luminal environment-dependent regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 by ERp44”, *CELL*, 120(1), 85-98, 2005.
- [25] Hirota, J; Ando, H; Hamada, K; et al., “Carbonic anhydrase-related protein is a novel binding protein for inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1”, *BIOCHEM J*, 372, 435-441, 2003.
- [26] Kume, S; Muto, A; Inoue, T; et al., “Role of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in ventral signaling in *Xenopus* embryos”, *SCIENCE*, 278(5345), 1940-1943, 1997.
- [27] Fukami, K; Nakao, K; Inoue, T; et al., “Requirement of phospholipase C delta 4 for the zona pellucida-induced acrosome reaction”, *SCIENCE*, 292(5518), 920-923, 2001.

- [28] Futatsugi, A; Nakamura, T; Yamada, MK; et al., “IP3 receptor types 2 and 3 mediate exocrine secretion underlying energy metabolism”, *SCIENCE*, 309(5744), 2232-2234, 2005.
- [29] Gerasimenko, JV; Lur, G; Sherwood, MW; et al., “Pancreatic protease activation by alcohol metabolite depends on Ca²⁺ release via acid store IP3 receptors”, *PNATL ACAD SCI USA*, 106(26), 10758-10763, 2009.
- [30] Nakayama, H; Bodi, I; Maillet, M; et al., “The IP3 Receptor Regulates Cardiac Hypertrophy in Response to Select Stimuli”, *CIRC RES*, 107(5), 659-660, 2010.
- [31] Uchida, K; Aramaki, M; Nakazawa, M; et al., “Gene Knock-Outs of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptors Types 1 and 2 Result in Perturbation of Cardiogenesis”, *PLOS ONE*, 1-Sep, 2010.
- [32] Nagai, T; Ibata, K; Park, ES; et al., “A variant of yellow fluorescent protein with fast and efficient maturation for cell-biological applications”, *NAT BIOTECHNOL*, 20(1), 87-90, 2002.
- [33] Horikawa, K; Yamada, Y; Matsuda, T; et al., “Spontaneous network activity visualized by ultrasensitive Ca²⁺ indicators, yellow Cameleon-Nano”, *NAT METHODS*, 7(9), 729, 2010.
- [34] Joakim Isaksson, Peter Kjäll, David Nilsson, Nathaniel Robinson, Magnus Berggren & Agneta Richter-Dahlfors, “Electronic control of Ca²⁺ signalling in neuronal cells using an organic electronic ion pump”, *NAT MATER* 6, 673 - 679 (2007).
- [35] Nagai T., Ibata K., Park E.S., Kubota M., Mikoshiba K., Miyawaki A., “A variant of yellow fluorescent protein with fast and efficient maturation for cell-biological applications”, *NAT BIOTECHNOL* Vol. 20, No.1, 87-90, 2002.
- [36] M. Berggren and A. Richter- Dahlfors (2007). “Organic bioelectronics in nanomedicine”. *Advanced Materials*.
- [37] Uchida, K; Aramaki, M; Nakazawa, M; et al., “Gene Knock-Outs of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptors Types 1 and 2 Result in Perturbation of Cardiogenesis”, *PLOS ONE*, 1-Sep, 2010.