

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「プロセスインテグレーションによる機能発
現ナノシステムの創製」
研究課題「光神経電子集積回路開発と機能解析・
応用」

研究終了報告書

研究期間 平成21年10月～平成27年3月

研究代表者：宇理須恒雄
(名古屋大学革新ナノバイオデバイス
研究センター、特任教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

代表者のグループが世界に先駆けて開発した培養型プレーナーパッチクランプ素子技術をもとに神経細胞ネットワークのハイスループットスクリーニング素子の開発と応用を目的としてスタートした。“イオンチャンネルを情報伝達の駆動部品とする神経細胞ネットワークにおいて、その機能解析の観点から、チャンネル電流計測は最も重要な計測である”しかし“従来のピペットパッチクランプでは多チャンネル化が困難”、また、“インビトロ神経細胞の場合培養が必須の工程である”、という理由で、本研究課題はスタート時から、神経変性疾患などの神経難病の研究に何らかのブレークスルーをもたらす可能性が期待されるものであったが、研究の内容は、平成 24 年秋を境に大きく変化した。それは平成 24 年 6 月に神経細胞ネットワークの自然発火電流や、自然放出シナプス電流の計測に初めて成功したことによる。丁度、本研究の前半と後半の境目であった。

前半においては、チャンネルロドプシン(ChR)を細胞に発現し、これに LED 光またはレーザー光を照射してこれにより流れるイオンチャンネル電流を計測することに力を注いだ。チーム内の研究分単体制も明瞭で、ハイスループット素子開発と神経細胞ネットワークの機能解析(宇理須グループ)、新規高性能チャンネルロドプシンの開発(石塚グループ、古谷・木村グループ)、神経細胞への発現とネットワーク構造(自己組織化)制御(深澤グループ)、という役割分担で研究を進めた。すなわち、“CHR を発現させた神経細胞を光励起し活動電位を発生させ、その伝播特性から、神経細胞ネットワークの機能解析を行う”という方針であった。脱感作がなく、電流も大きく取れる新規なチャンネルロドプシン(ChRWR)をはじめて開発(石塚 G、古谷・木村 G)、レンチウイルスによる神経細胞への遺伝子導入技術の開発(深澤 G)、などの協力を得て、チャンネル電流計測の実験を進め、“プレーナーパッチクランプにおける安定電極の利用”という、本研究の大きな成果の一つを生む結果となった。培養型プレーナーパッチクランプの弱点はピペットパッチや通常のプレーナーパッチと比較してシール抵抗が二桁近く低いため、ベースライン変動などの雑音電流が大きく、チャンネル電流の計測を非常に困難ものになっている点であった。この変動の主要な原因が AgCl/Ag 電極の界面電位の変動によることを突き止め、塩橋型の安定電極を開発し、これを適用することにより、大幅に雑音電流を減衰することに成功した。これにより、培養型プレーナーパッチにおいて、ピペットパッチ並みの安定な電流波形を、再現性よく比較的容易に測定できることを、ChRWRを用いて確認した。この成果に到達できたのは、増殖が容易な HEK293 や PC12 という細胞にチャンネルロドプシンを発現して、簡易にチャンネル電流計測が出来るようにし、多くの試行錯誤をこなすことができたお陰である。

神経細胞においてチャンネル電流計測をするため、当初[平成23年頃]レンチウイルスやシンドビスウイルスによる ChRWR や ChRGR などの遺伝子導入を試み、初代培養の系への効率のよい遺伝子導入条件を探索した。しかし、培養型プレーナーパッチ基板にラット大脳皮質の神経細胞ネットワークを形成し、思いがけずチャンネル電流を計測することに成功し(平成 24 年 6 月)、研究の進め方を見直すこととなった。即ち、神経細胞の場合自然発火という現象があるため、チャンネルロドプシンなどを導入することなく、チャンネル電流を計測することができること、しかも神経細胞に何の刺激を与えなくても計測できることに初めて気づいた。名古屋大学環境医学研究所の小松由紀夫教授に計測データを見ていただき、この信号が、自然発火やシナプスの自然放出電流であることが判明した。神経細胞ネットワークは刺激を与えると、特性が変化する(長期増強現象)ため、刺激を与えることなくチャンネル電流を計測できることは、ハイスループットスクリーニングへの応用の観点からも好都合と考え、これまで、チャンネルロドプシンの遺伝子導入を必須と位置づけた研究計画を見直すこととなった。

後半の研究においては、“長期間培養可能な神経細胞ネットワーク形成技術の開発”、“測定されるチャンネル電流波形の解析”、“細胞内 Ca^{2+} の動態を知るための Ca^{2+} イメージング測定”、“これら成果の神経変性疾患の原因解明と創薬への応用”、に目標を重点化して、研究を進めた。従来神経細胞ネットワークの構造制御には溝を形成し、この溝の中に細胞体や軸索を置いて軸索伸長の方向などを制御する手法がとられていたが、この手法が長期間の培養に適さないことが判明し、新たに、柵構造を基板上に形成しこの柵の中に細胞体を閉じ込める手法を新たに考案したこの

基板をセルケージ基板と名づけた]。これらの実験手技や結果の解析などをチーム内の共同研究で効率よく進めることが出来た。後半の研究での大きな成果は、“疾患モデル素子”の概念の創出と実現可能性を示した点であると考えられる。ALS(筋萎縮性側索硬化症)やアルツハイマー病が100年以上もの研究にもかかわらず原因も確固たる治療法も不明なのはなぜかを考え、(1) 患部である脳の神経細胞を存命中に採取できない、(2) 多くがヒト固有の疾患であるため、疾患モデル動物で得られた情報がそのままヒトに適用できないことが多い、(3) 適切なハイスループットスクリーニング技術が未開発、のせいであると結論付け、あらたに、ヒト iPS 細胞の培養と、神経細胞への分化誘導の研究をスタートした。この疾患モデルチップの研究については、上記重点化した研究成果を活用し、ラット大脳皮質神経細胞のネットワークの系で、グルタミン酸毒性について調べ、インビトロのネットワークで毒性の表現と適切な試薬[アンタゴニスト]により毒性の消失を表現できること、即ち、インビトロのネットワークで疾患モデル素子を製作できる可能性が高いことを証明した。また、神経細胞ネットワーク疾患をチャンネル電流という電気信号で早期に表現できる可能性があることを始めて示した点は大きな成果といえる。さらに代表者のグループでヒト iPS 細胞から運動ニューロンへの効率のよい分化誘導に成功したことから、この疾患モデルの研究については、ヒト大脳皮質への分化誘導に成功した理化学研究所器官発生グループとの共同研究により大脳皮質神経細胞—運動ニューロン複合ネットワーク形成というあらたな展開を生み出す幸運な機会を得た。ALS など神経性筋肉難病のこれまでに無い高性能な疾患モデル素子を実現できると期待される。

(2) 顕著な成果

< 優れた基礎研究としての成果 >

1. 多点計測可能なプレーナーパッチクランプによる神経細胞ネットワークからのイオンチャンネル電流計測に世界で初めて成功(宇理須グループ)

概要: ALS やアルツハイマー病などの神経変性疾患は神経細胞のネットワーク機能の異常として症状が現れる。ネットワークの信号伝達はイオンチャンネルといわれる多様な膜タンパクが担っているので、ネットワーク機能を調べる上で、チャンネル電流計測が極めて重要で、またハイスループットスクリーニングは基礎研究においても、ネットワークの不均一性のため必須である。従来技術であるピペットパッチクランプは本質的に多点計測が困難で、今回の成果は神経細胞ネットワーク研究に新たなブレークスルーをもたらす。

2. 感覚入力の時間的パターンが、脳内神経回路(シナプス)構造変化と分子発現変化の時間動態を左右することを始めて明らかにした。(深澤グループ)

概要: 運動学習モデルとして用いられる視機能性眼球運動の順応課題をマウスに課し、眼球運動の反射を司る小脳片葉内神経回路の分子発現及びシナプス形態の変化を定量的に解析し、連続訓練と分散訓練の影響を評価した。その結果、どの訓練パターンも訓練終了時には同程度の順応レベルを示したのに対し、長期間持続する順応成分は分散訓練時のインターバル依存的に向上することを見出し、且つ、この長期持続成分の比率とシナプス除去量が反比例することを見出した、この発見は回路構造の変化が記憶の長期持続を支える脳内メカニズムであることをはじめて実験的に証明したものである。

3. 光で神経活動を可逆的に操作可能なタンパク質素子の開発(古谷・木村・須藤グループ)

概要: 光受容タンパク質であるレチナールタンパク質は、光によりイオンを能動的、もしくは受動的に輸送することで、脳神経活動の興奮と抑制を可逆的に操作できるタンパク質素子である。本研究では、波長変換によりこれまで利用されてきた緑色光以外に青色光での制御を可能とした(Sudo et al., 2013, J. Biol. Chem.)。また、好熱性生物より、極めて高い安定性を持つ分子を発見し TR と命名するとともに、これまでで最も高い神経抑制活性を示すことを見出した(Tsukamoto et al., 2013, J. Biol. Chm.)。さらに3つのアミノ酸置換により、人工的な光駆動チャンネルを創成することに成功し、新しい神経興奮素子としての可能性を見出した(Sudo et al., under revision)。このように、特定の神経活動を光により高い時空間分解能で可逆的に操作できる分子基盤を構築した。

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

1. 塩橋型安定電極を用いた低雑音培養型プレーナーパッチクランプ技術を開発 (宇理須グループ)

概要: ハイスループットスクリーニング素子を実現すると、ALS やアルツハイマー病の原因解明や創薬にブレークスルーをもたらす可能性がある。実現のキーポイントの一つは培養型プレーナーパッチクランプにおいて、わずかな電極の界面電位変動でベースラインが激しく変動するという課題を解決することであった。本研究では塩橋型安定電極を用いることによりこの課題を解決した。また、これにより神経細胞ネットワークからのイオンチャンネル電流をプレーナーパッチクランプではじめて計測することに繋がった。これは神経難病を早期に電気信号で発見できる可能性を示す。

2. 柵構造を有するプレーナーパッチクランプ基板を開発 (宇理須グループ)

概要: イオンチャンネル電流を多点計測するハイスループットスクリーニング素子実現のもうひとつの技術課題は、基板上の微細貫通穴の上に長時間安定に神経細胞体を設置することである。本研究では、柵で囲った領域の中に微細貫通穴を形成し、柵内に神経細胞を閉じ込めることにより、微細貫通穴の上に長時間安定に神経細胞体を設置するとともに、柵に適切な隙間を与え、細胞間のコミュニケーションを容易にし、これにより一ヶ月以上の長期培養を実現した

3. 緑色光に応答し、ニューロンの光刺激に最適なチャネルロドプシン・グリーンレシーバー (ChRGR) の作出に世界に先駆けて成功 (Wen et al., PLoS One, 2010) [石塚グループ]

概要: 緑色光に応答し、実効コンダクタンスや脱感作などの特性などにおいてもニューロンの光刺激に最適化した改変型チャネルロドプシン、チャネルロドプシン・グリーンレシーバー (ChRGR) の作出に世界に先駆けて成功した。青色光と比較して緑色光は光毒性が少なく、また組織への浸透でも優れているため、*in vivo* への応用も含めて野生型の ChR2 よりも信頼性高く、光パルス刺激に同期したニューロンの発火を引き起こすことが可能となった。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「宇理須」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
宇理須恒雄	分子科学研究所 生命錯体分子科学研究領域	教授	H21.10～H23.3
宇理須恒雄	名古屋大学 革新ナノバイオ デバイス研究センター	教授	H23.4～H27.3
古谷祐詞	分子科学研究所 生命錯体分子科学研究領域	准教授	H21.10～H23.3
宇野秀隆	分子科学研究所 生命錯体分子科学研究領域	技術補佐員	H21.10～H23.3
宇野秀隆	名古屋大学 革新ナノバイオ デバイス研究センター	博士研究員	H23.4～H27.3
鈴木光一	分子科学研究所装置開発室	技術課長	H21.10～H23.3
青山正樹	同上	技術職員	H21.10～H23.3
水谷伸雄	同上	技術職員	H21.10～H23.3
高田紀子	同上	技術職員	H21.10～H23.3
吉田久史	同上	技術職員	H21.10～H23.3

内山 功一	分子科学研究所装置開発室	技術職員	H21.10～H23.3
豊田 朋範	同上	技術職員	H21.10～H23.3
Wang Zhihong	分子科学研究所 生命錯体分子科学研究領域	博士研究員	H21-12～H23.3
Wang Zhihong	名古屋大学 革新ナノバイオ デバイス研究センター	博士研究員	H23.4～H27.3

研究項目

- ・基板開発
- ・多チャンネル素子開発・
- ・ネットワーク形成と機能計測プロトコル開発
- ・Ca²⁺イメージング技術
- ・疾患モデル素子開発(新たにスタート)

②「下島」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
下島 康嗣	産業技術総合研究所 中部センター	研究員	H24.11～H27.3

研究項目

- ・光神経電子集積回路開発と機能解析・応用

②「深澤」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
深澤 有吾	生理学研究所 大脳皮質 機能研究系	助教	H21.10～H23.8
同上	名古屋大学 医学部	准教授	H23.9～H26.5
同上	福井大学 医学部	教授	H26.5～H27.3

研究項目・

神経回路の解剖学的解析と自己機能化制御

- ・光電子集積回路用細胞の樹立
- ・脳内神経回路の解剖学的特徴付け
- ・基板上神経回路の解剖学的特徴付け
- ・神経回路網自己機能化機構の解析と応用

③「石塚」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
石塚 徹	東北大学大学院生命科学研究科	講師	H21.10～H27.3
八尾 寛	同上	教授	H21.10～H27.3

研究項目

- ・ChR2 と HR の高効率化・変異体 ChR2,HR の開発
- ・ChR2, HR の遺伝子導入技術確立
- ・疾患モデル素子として有用な核内反応制御物質の遺伝子導入技術確立

③ 「古谷・木村・須藤」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
古谷祐詞	分子科学研究所 生命錯体分子科学研究領域	准教授	H23.4～H23.9
木村哲就	自然科学研究機構分子 科学研究所	助教	H23.10～H25.3
須藤 雄気	名古屋大学大学院理学 研究科	准教授	H25.4～H26.3
須藤 雄気	岡山大学大学院医歯薬 学総合研究科	教授	H26.4～H27.3

研究項目

2. ChR2とHRの高効率化

2-2 光受容分子の機能・構造解析(須藤グループ)

2-2-1. 脱分極(ChR2)・過分極(HR, AR3)型分子

2-2-2. 新規光受容分子の単離同定とその利用

2-2-3. モデル生物での実証と改造

(2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

宇理須恒雄

研究者仲間とのネットワーク:

- ALSに関する疾患モデルチップを構築するには、ヒトiPS細胞から運動ニューロンおよび大脳皮質神経細胞に分化し、これらの複合神経細胞ネットワークを形成し、ハイスループットスクリーニング素子に搭載する必要がある。ハイスループットスクリーニング素子の開発と運動ニューロンへの分化誘導に成功している宇理須グループと大脳皮質神経細胞への分化誘導に成功している理化学研究所の器官発生・再生グループとの共同研究がスタートしている。この共同研究はモデル素子の実用化も視野に入れており、関係する企業も含めた新しいネットワークが形成される見通しである。(宇理須グループ)
- 本研究成果の実用化には自分の専門を越えた知識や技術を必要とし、幅広い分野の研究者とのネットワークが重要で、毎年ナノメディスン国際シンポジウム、日本—中国ノメディスン交流、を開催、また、分子科学研究所研究会「細胞核内反応の分子科学」を開催するなど、100名以上のいつでも相談にのっていただける国内外の友人ネットワークを構築している。
- H26年10月スタートのCRESTに北陸先端大学院大学高村禅教授を代表として、応募し採択され、新たに、ALSの原因解明にも有用な単一細胞の研究者仲間とネットワーク形成が出来つつある。

臨床医のネットワーク:

- 神経変性疾患を研究する上で、臨床医のネットワークは必須で、名大医学部の教員:若林俊彦[脳外科教授]、祖父江元(脳神経内科教授)、夏目敦至(脳神経外科准教授)、石垣診祐(脳神経内科特任助教)、千賀威(腫瘍生物学講座准教授)、小松由紀夫(環境医学研究所教授)、等多数のほか、三重大学、熊本大学、東京大学など多くの大学の医学部の教員との強固なネットワークがある。

海外研究者とのネットワーク:

- 毎年委員長の一人として開催しているナノメディスン国際シンポジウムを通して、米国、欧州、中

国、台湾、韓国などの海外の多数の研究者とのネットワークを構築してきた。

須藤雄気

- 新しく開発した光タンパク質神経制御素子が、名古屋大学・天野浩教授(2014年ノーベル物理学賞受賞)の目にとまり、超小型・高輝度青色 LED の研究で共同研究を持ちかけられ、H26年2月より共同研究を行っている。日本発の光源(天野教授)と日本発のタンパク質素子(須藤)が手を組んだ純国産のネットワークが形成されている。

§ 3 研究実施内容及び成果

3.1 光神経電子集積回路開発と機能解析・応用(名古屋大学 宇理須グループ)

(1)研究実施内容及び成果

多点計測素子開発—基板開発—

プレーナーパッチクランプの基板として、スタート時は Si 基板(SOI 基板)を利用した。プレーナーパッチクランプで重要なのは、チャンネル電流計測のための微細な貫通穴の形成である。SOI 基板を用いると、裏面のピペット溶液用の穴加工を、正確に SiO₂ 層でエッチングを停止できる TMAH エッチングで行って、微細貫通孔は集束イオンビームにより形成した(図 1)。穴あけ部の膜厚は5ミクロン程度にする必要がある。Si 基板は表面の平坦性が良いので高いシール抵抗を得やすく、チャンネル電流を計測しやすい長所があるが、不透明なため、生物試料で重要となることが多い倒立顕微鏡に適応しない点は短所といえる。

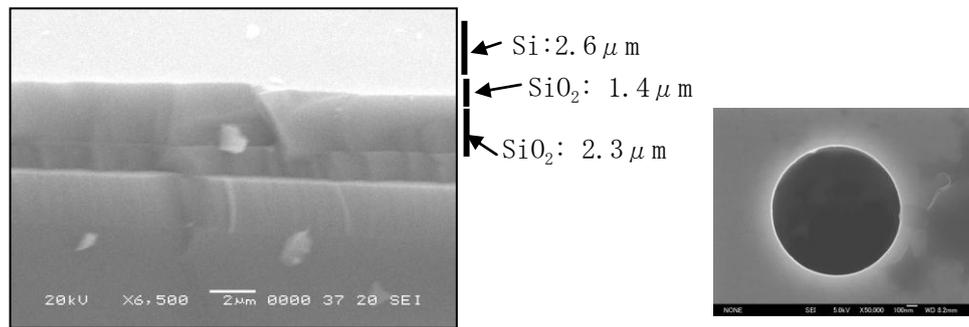


図 1 SOI 基板でプレーナーパッチクランプ基板を製作。
左:SOI 基板断面 SEM 写真。右:微細貫通孔。直径 1.3 μm

透明基板の必要から、H22 年にプラスチック基板の開発を開始した。最初は X 露光で微細貫通孔が開けられる PMMA で製作した。両面ホットエンボスで基板の構造を形成し、X 線露光で微細貫通孔を形成した。(図 2) X 線露光は非常に空間分解能が高くアスペクト比の大きな穴形成が可能で、チャンネル電流も容易に計測できるが、位置あわせ(微細穴の位置を所定の位置に形成すること)が非常に難しく、また、基板そのものが傷みやすい。H 24 年以降はポリカーボネイト基板を使用している。ポリカーボネイト基板の加工は、最初両面ホットエンボスでピペット溶液用の穴などを加工し、後に薄膜部に微細貫通孔を集束イオンビームで形成した。エンボスの上面モールドは、Si 基板表面にフォトリソグラフィにより形成したポジ型レジストパターンを電気メッキしたものである。下面のモールドは超精密加工により整形した。いずれも神経細胞ネットワークを形成し、その後のイオンチャンネル電流計測に供されているが、いったん使用すると、再使用の前の滅菌液やイメージングのための染色液の影響が残り、神経細胞が死にやすくなることに気づき、使い捨て基板の重要性に気づいた。また、集束イオンビーム加工のコストが非常に高いことも実験を思う存分行ううえで、大きな支障となった。そこで、本 CREST 研究で、量産性のよい基板製作技術に目途をつけておくこととした。ポリカーボネイト基板を①ホットエンボス加工、②Ti 蒸着、③レジストパターン形成、④フルオロカーボンガスをを用いたドライエッチングの工程で微細貫通孔を低コストで形成できる見通しを得た。なお、ドライエッチングによってガラス基板にも微細貫通孔形成が可能であるので、量産した場合のコストと性能の両面からプラスチック基板とガラス基板を比較する必要があると考える。

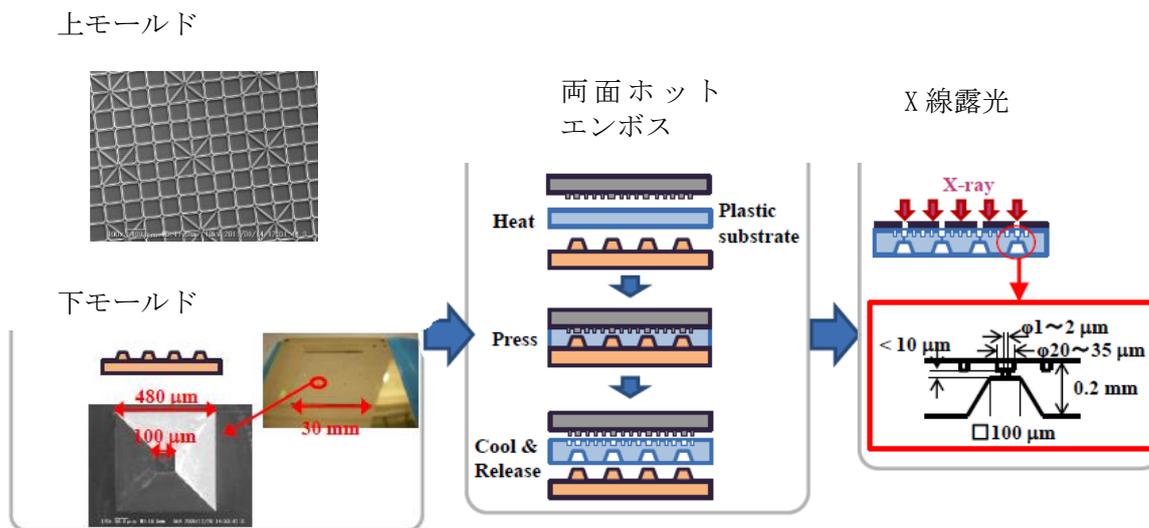


図2 両面ホットエンボス工程と、X線露光工程。
ポリカーボネイト基板の場合はX線露光が使えないので、両面をCu蒸着してチャージアップを防ぎ、集束イオンビームによる微細貫通孔加工を行った。

なお、神経細胞ではなく、HEK293 や PC12などの培養細胞を扱っていた時期は微細貫通孔の上に細胞を置くために、凹型のくぼみと溝からなるパタン(図2参照)で、くぼみ内に微細貫通孔を形成し、細胞をトラップするようにした。神経細胞を扱うようになってからは、後述するように柵構造を形成した基板(セルケージ基板)を使用している。

多チャンネル素子開発

初期の素子は流路をテフロンチューブで構成し、ピペット溶液や培地の供給排出を行っていたが、結線外れ、液漏れなどのトラブルが多く、PDMS ブロックにマイクロ流路を形成し、その上に基板を設置する構成とした。当初は基板に微細貫通孔1箇所を形成した基板1枚の素子、ついで、この基板を PDMS ブロック上に4枚設置した4チャンネル素子、ついで、一枚の基板に5箇所微細穴を形成したものを PDMS ブロック上4箇所を設置した20チャンネル素子を開発した。[図 3] これらの素子開発において、大きなブレークスルーは安定電極の開発による大幅なノイズの低減であった。

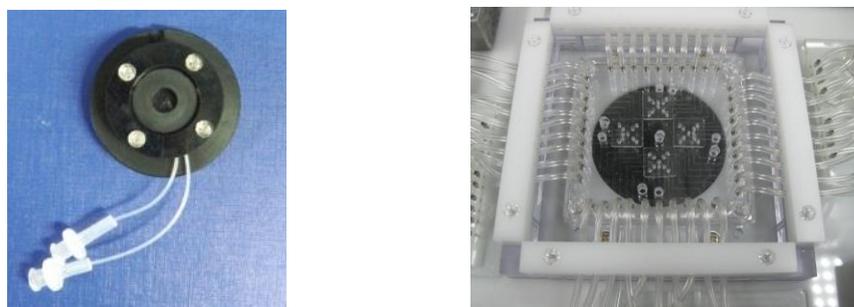


図3マイクロ流路化された単一チャンネル素子(左)と20チャンネル素子[右]

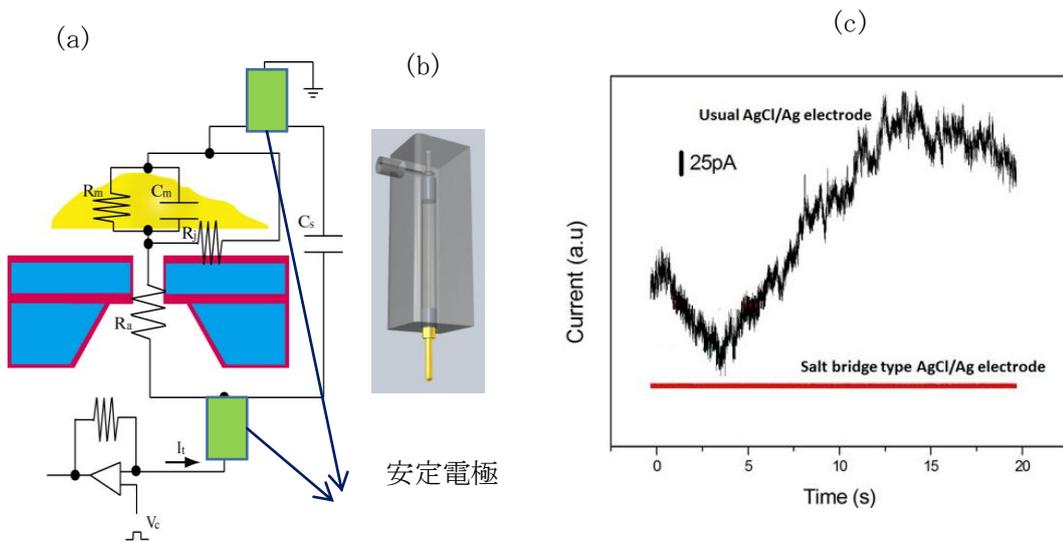


図4 (a)プレーナーパッチクランプ素子の等価回路, (b)安定電極。PDMN ブロックの中に円筒状の穴が形成してある。中に飽和 KCl 溶液が満たしてあり、中に AgCl/Ag 電極が入れている。外部に突き出ているピンは金メッキがしてある。(c) 安定電極を用いる前と後のノイズの比較。

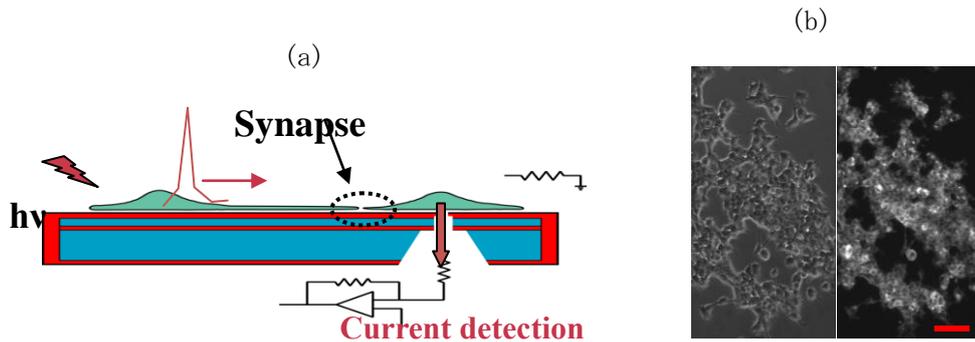


図5 神経細胞対のあいだでの光励起による活動電位発生(発信)と受信[a]。HEK293 細胞に ChRWR を遺伝子導入しクローニングを行った結果の観察像[b]。明視野像(左)と蛍光像(右)を比較すると100%近く遺伝子導入されていることがわかる。

培養型プレーナーパッチクランプの等価回路を図4に示す。培養型の場合、細胞外マトリックスが基板に塗布されているため、細胞と基板の隙間のシール性がわるくシール抵抗 R_j は $10\text{M}\Omega$ 以下、神経細胞の場合ネットワークを形成すると細胞間の張力で細胞が浮き上がり、一そうシール抵抗が小さくなる。電極界面は電位変動 $\pm \Delta v$ があり、この変動により流れるノイズ電流は $\pm \Delta v / R_j$ で、シール抵抗が小さいと非常に大きくなる。本研究では、KCl 飽和溶液に AgCl/Ag 電極を浸し、外液との間をバイכולガラスでシールした安定電極を〔図 4(b)〕を開発した。安定電極の効果は目覚しく、図4(c)に示されるように大幅なノイズの低減が達成された。イオンチャンネル電流の計測が、ほとんど計測不能であったものが、これにより可能となった。

H21~H24の間は細胞にチャンネルロドプシン(ChR)を遺伝子導入し、レーザーあるいはLEDで励起し、そのイオンチャンネル電流を計測することを計画していた。また、神経細胞の場合は、図5に示すように、レーザー励起により、細胞に脱分極を誘起し、活動電位を発生し、軸索、シナプスを經由して隣接する神経細胞に活動電位を伝達し、そこで流れるチャンネル電流をプレーナーパッチクランプで測定する方式を計画していた。そこで、ChR

を遺伝子導入した細胞が大量に必要なため、クローニングを行った。研究分担者である石塚グループで、チャンネル電流が多く取れ波形の特性も良いチャンネルロドプシンワイドレシーバー(ChRWR)が開発されたので、このプラスミドを石塚グループより入手し、HEK293細胞に遺伝子導入しクローニングを行った。(図5)

ChRWRのHEK293細胞への遺伝子導入、クローニングに成功したことから、この細胞を単一チャンネル素子に乗せ、レーザー(473nm)励起によりイオンチャンネル電流を計測した(図6)。安定電極を用いることにより測定に成功し、観測された電流波形の膜電圧依存性は、立ち上がりが高く、平坦な脱感作の無い特性、そして立ち下がりが少しテールを引くというピペットパッチクランプでの測定結果とよく一致する特性が得られた。シール抵抗が30M Ω と非常に低いにもかかわらず、安定電極を用いることにより、信頼できる計測が出来た。

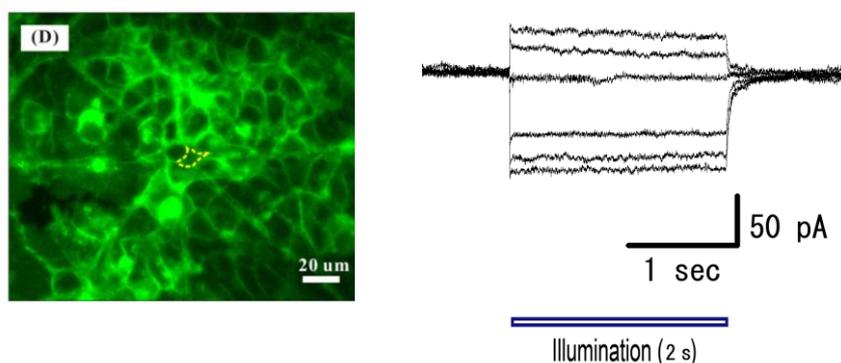


図6 HEK293細胞にChRWRを遺伝子導入しクローニングした細胞を単一チャンネル素子基板上に播種し、培養4日後にレーザー[473 nm]照射し、チャンネル電流を計測。基板表面は細胞播種前に細胞外マトリックス(コラーゲン4)を塗布。凹型の溝をネガ型レジストSU8で形成したSi基板を使用。数日の培養でHEK293のモノレーヤーのコロニーが形成され、一つの細胞が微細貫通孔を覆う。

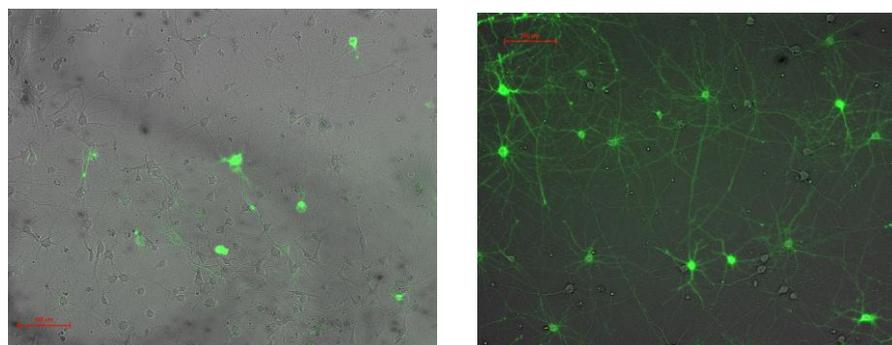


図7 ラット大脳皮質神経細胞をデイッシュに播種後、プラスミドの構成を変えてレンチウイルスベクターによる遺伝子導入を行い、7日間培養後、導入効率を比較。[左: pFC(Chop2-Ve)、右: plenti6PW-T(mChopFR-Ve) + plenti6PW-SYN-TA]、レンチウイルスベクターは深澤提供。

チャンネルロドプシンを利用することにより、簡単に大量に増やせる扱いやすいHEK293細胞を用い、レーザー励起により、チャンネル電流測定を試行錯誤が何度も出来た。世界で初めての培養型プレーナーパッチクランプ技術を開発することが出来たことは、ChRWRを利用できたお陰ともいえる。しかし、本来の目的である神経細胞ネットワークに、このChRWR利用のチャンネル電流計測法を応用することはかなり大変な作業であることも次第に判明してきた。神経細胞は細胞分裂で増えないクローニングが出来ない。そこ

で、ラット大脳皮質神経細胞をディッシュに播種し、播種直後に ChRWR を本来の遺伝子に挿入したレンチウイルスベクターを添加し、7日間培養し遺伝子導入の様子を観察した。〔図 7〕 各種のプラスミドを作成しレンチウイルスベクターに導入したものを石塚グループと深澤グループが作成し、提供していただいた。

神経細胞ネットワーク形成と機能計測プロトコル開発

神経細胞は遊走現象を有し播種後放置しておく仲間同士で凝集してしまう傾向に有るため測定場所によって、細胞の環境が異なる結果となり、ハイスループットスクリーニング応用の観点から好ましくなく、ネットワークの自己組織化を制御する必要があると考えた。最初は、HEK293 の播種培養で用いた、凹型の溝で、軸索や樹状突起の伸長法方向を制御することを試みたが、細胞体は微細貫通穴が形成されている円形の凹部を嫌う傾向が見られた。また、凹部の細胞は播種後数日で死んでしまう傾向も見られた。原因を明確に突き止めてはいないが、我々はネットワーク形成で障害の無い、隣接する細胞が同じ平面上になり、かつ所定の細胞が微細貫通穴の上において長期間そこに留められる構造として、図8(a)に示す柵構造に細胞体を止められる基板(セルケージ基板)を開発した。柵は数本の直径 $30\mu\text{m}$ 高さ $8\sim 10\mu\text{m}$ の円柱で囲った構造で、円柱と円柱の間隙は使用する神経細胞の短径よりやや狭くなるようにした。ラット大脳皮質神経細胞の場合この隙間を $8\sim 9\mu\text{m}$ とした。この柵の中に細胞体ができるだけ入るようにマイクロシリンジを用いて細胞を播種し、13日間培養して形成したネットワークを図8(b)に示す。このセルケージ基板を用いた培養は期待通り1ヶ月以上の培養も安定に行えることがわかった。柵の中の面積、言い換えると柵の中に何個の細胞を播種するのが良いかという問題があるが、微細貫通穴を通して自然発火のチャンネル電流を観測できることが、ハイスループットスクリーニング応用の目的から望ましいと考えており、細胞密度があまり低いと自然発火がおこらず、またあまり密度が大きいと現象が複雑となり、解析がむづかしくなると考え、後に紹介する Ca^{2+} イメージングの実験から、7-9個程度を設置することを考えている。この問題は、今後ハイスループットスクリーニングの応用が進む中でより詳しく調べる必要があると考えている。

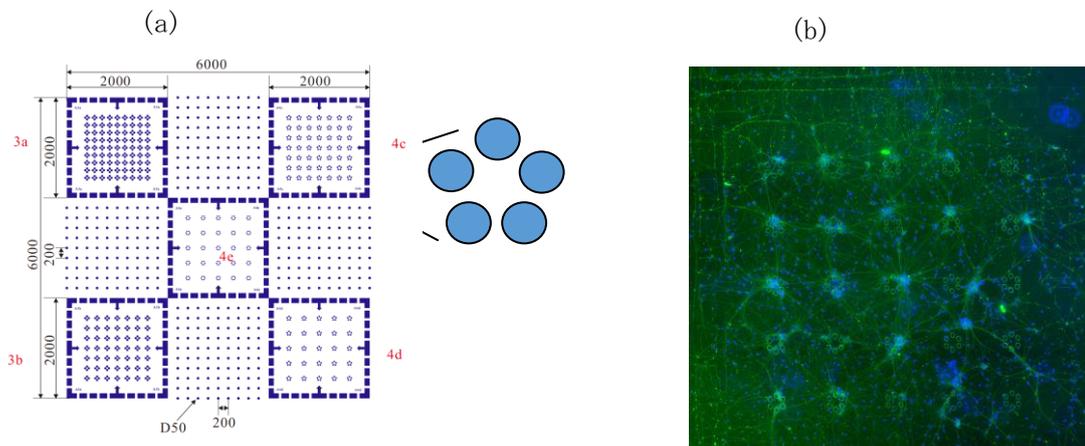


図8 (a)円柱状の柵を所定の間隔で形成したセルケージ基板。テスト用基板として、柵の大きさや柵と柵の間隔の異なった数種類のパターンが形成してある。柵で囲った中に微細貫通穴が形成されている。この中に細胞を設置することにより、微細貫通穴の上に細胞が来る確率が大きくなる。また、細胞の遊走現象を抑え、凝集を防ぐ効果もある。(b)セルケージ基板上にラット大脳皮質の神経細胞を、できるだけ、細胞が柵の中に置かれるように播種し、13日間培養後の蛍光顕微鏡写真。

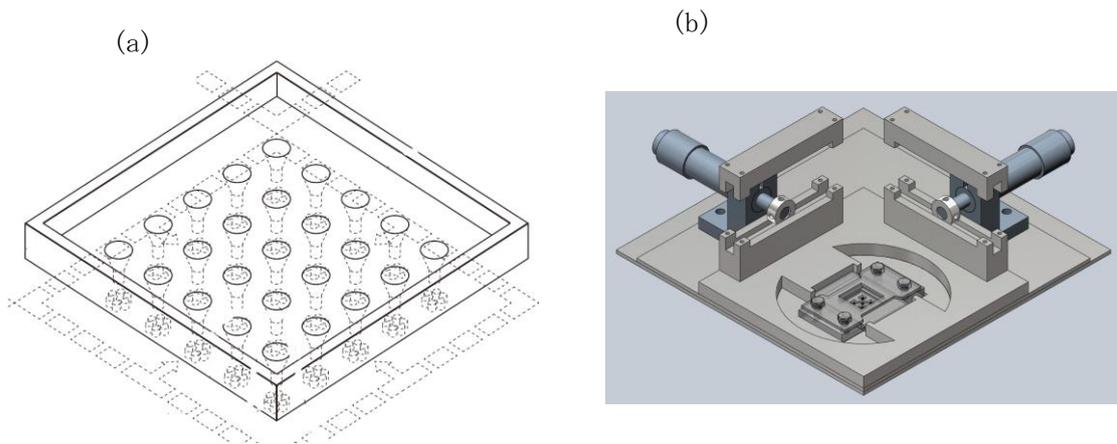


図9 (a)Jhoro 基板をセルケージ基板上に位置合わせをして設置した状態の図。
(b)位置合わせ装置。

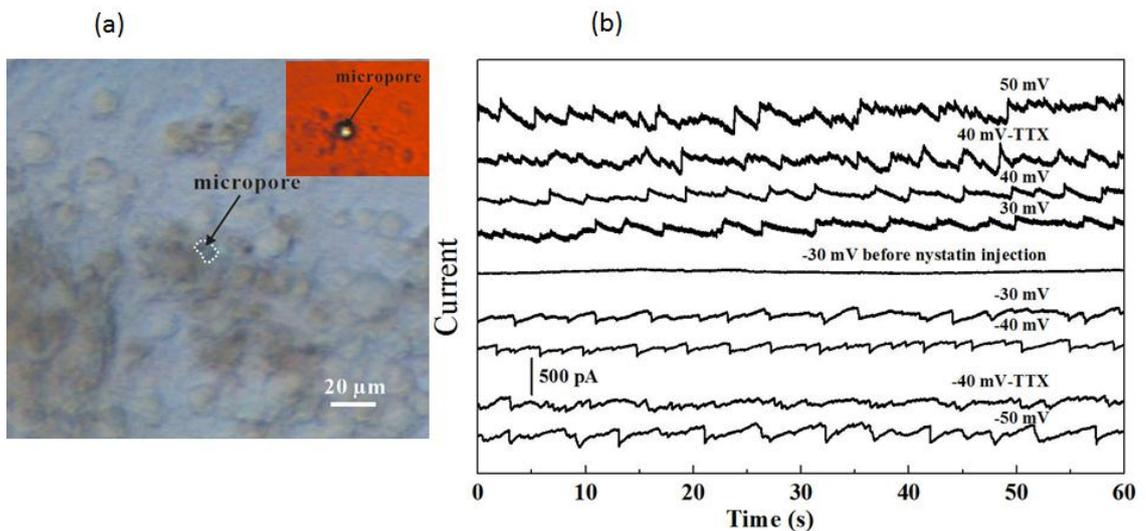


図10 Si(SOI)基板のプレーナーパッチクランプ基板の表面にポリエリジンをコートし、ラット大脳皮質神経細胞を播種。微細貫通穴の上に細胞があることを確認し、単一チャンネル素子に基板設置し、電圧固定モードでイオンチャンネル電流を計測。ナイスタチンを供給してホールセルモードを形成する前は、ベースラインは平坦。ナイスタチンを供給すると瞬く間に小刻みな電流が観測された。TTX はテトロドトキシン添加の意味。

マイクロシリンジでの播種は時間がかかりすぎて、実用性が無いと考え、すべてのケージに対応する位置に漏斗状の穴をあけた基板 (Jhoro 基板[図 9]) を作成し、セルケージ基板の上に漏斗状の穴とケージの位置が一致するよう位置を合わせて重ねて置き、Jhoro 基板の上面に細胞懸濁液をふりかけることで、一気に細胞を播種することを考案した。一応ネットワークが形成できてはいるが、まだ、Jhoro 基板が柵に接触した時にセルケージ基板が破損するなどの解決すべき問題が残っている。

神経細胞ネットワークを形成し、これにチャンネルロドプシンを遺伝子導入により発現し、発現した細胞をレーザーで励起して活動電位を発生させ、微細貫通穴の上にいる隣接細胞にこの信号を伝播させる。そしてこの細胞の中に流れるチャンネル電流を計測するという

当初の計画が非常に困難であることに気づいた。神経細胞を微細貫通穴の上に置く確率と、この細胞にシナプス結合した隣接細胞が存在する確率、その隣接細胞にチャンネルロドプシンを発現させるという確率が掛け合わさり、さらにレーザー光をその隣接細胞にうまく照射する技術開発の必要および神経細胞ネットワーク形成に2週間近くかかることを考えると、ハイスループット実用素子としては、かなり問題をはらんでいることに気づいた。しかし、同じ頃、神経細胞ネットワークの細胞密度を比較的大きくすると頻繁に自然発火が起こることも見出し、この自然発火をレーザー刺激で活動電位を発生させることに変えられるのではないか。そうすれば、遺伝子導入の手間や、レーザー光を細胞の位置に合わせて集光するという大変さも省くことが出来るのではないかと考えた。

微細貫通穴の上に細胞をおいてネットワークを形成し、ナスタチン溶液をピペット溶液側に供給しホールセルモードにすると、それまで、平坦なベースラインであったところに、瞬く間に小刻みな信号が現れた。固定膜電位を逆転させると小刻みな信号も流れる方向が逆転し、チャンネル電流の性質を示した。各種のアンタゴニストを添加し調べた結果、この電流は周辺の神経細胞の自然発火に基づくシナプス電流と、シナプス前膜から自然放出的に漏れる神経伝達物質によるシナプス電流によるものであると説明できた。レーザー刺激でシナプス電流を誘起する場合は長期増強等シナプスの構造を変化させるため、疾患の特徴を調べる上では不都合ではないかということも考えると、この自然発火や自然放出の現象を疾患すなわちネットワークの異常を検出するに利用することは、実用性の観点からも非常に優れた方向であるように思われた。この結果により、本研究の進め方を、当初の計画と大きく変えることとなり、開発の目標も、適度に自然発火の観測されるネットワークを作るということに明確に絞ることができた。

Ca²⁺ イメージング技術開発

素子の上方部に全く自由な空間があいていることから、現在開発中の素子が、チャンネル電流計測のみならず、イメージング計測を合わせて行えるという特徴がある。また、多くの神経変性疾患において、細胞内 Ca²⁺動態に異常が現れることから、Ca²⁺イメージングの計測技術を合わせて開発することとした。細胞内小器官による Ca²⁺の放出や取り込みが神経細胞ネットワークの機能や神経変性疾患の病態から非常に重要であるにも関わらず、イオンチャンネル電流の変化としては観測されないことから、合わせて Ca²⁺動態を観測することは極めて重要なことと言える。

脳神経系ではシナプス結合による神経細胞間の複雑なネットワークが構築されており、脳の機能を理解するためには多数の神経細胞の活動を同時に計測する必要がある。その方法のひとつに、カルシウム感受性の蛍光色素を神経細胞に取り込ませて顕微鏡観察する Ca²⁺イメージング法がある。この手法は、顕微鏡視野内の神経細胞の発火を、細胞内カルシウム濃度上昇による色素の蛍光強度変化として同時に多数観察することが可能である、35mm デイッシュ内にマウス大脳皮質神経細胞をいろいろな濃度で分散播種し、14日間培養を行った。カルシウム感受性蛍光色素 Oregon green BAPTA-1 を取り込ませた後、蛍光顕微鏡で Ca²⁺イメージング観察を行なった。顕微鏡の励起光による色素の退色を防ぐため、

顕微鏡の光路にシャッターを取り付けた。一定の時間間隔で蛍光強度をイメージング用の CCD カメラで計測した。細胞播種密度 2x10⁵/デイッシュ、と 2x10⁶/デイッシュの場合について、結果を図11に示す。興味深い現象が観察された。2x10⁵/デイッシュの低密度の場合は、自然発火が細胞ごとにばらばらに起こっているのに対し、密度が高くなると、多数の細胞が同期して発火することが見出された。このことは、ネットワークの特徴、言い換えると、疾患の状態を検出する目的の場合、(現時点でどのような密度がよいか結論できないが)ネットワーク形成において細胞密度の制御が重要であることを示唆している。

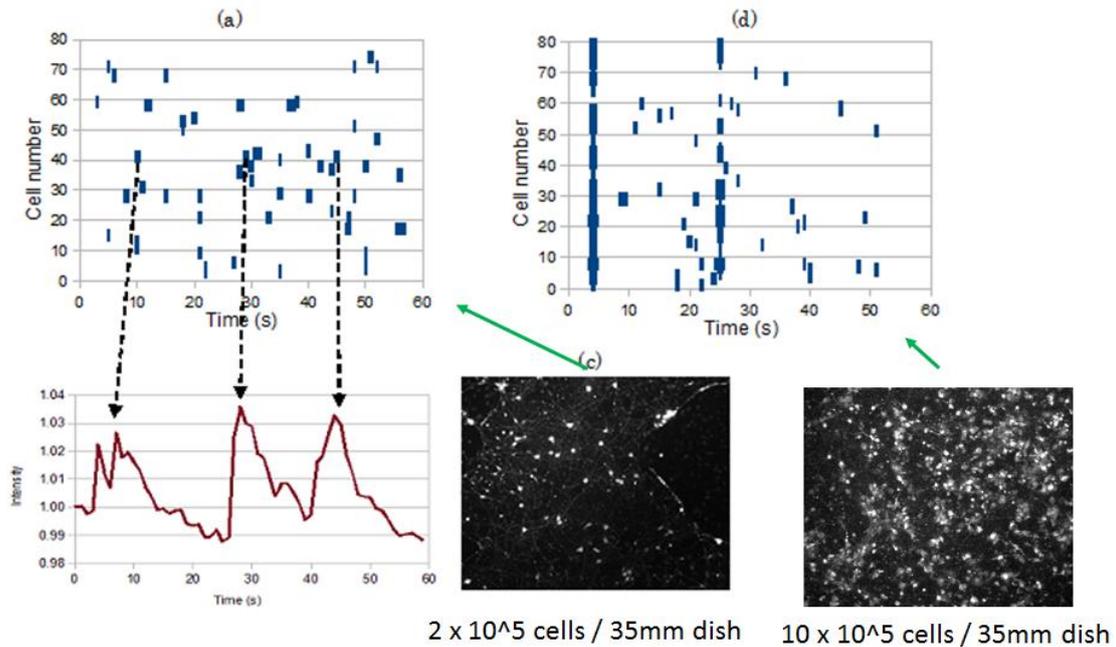


図 11 Ca^{2+} イメージングの測定結果。PLL コートした 35mm デイッシュに 2×10^5 および 2×10^6 の数の細胞を播種し、14 日間培養後、培養液中にカルシウム感受性蛍光色素 Oregon green BAPTA-1 を溶かし、1 時間放置後、液をバスソリューションに置き換え、CCD カメラのついた蛍光顕微鏡で蛍光の時間変化を観察。細胞一つ一つに番号を付け、自然発火の観察された時間を記録。

疾患モデル素子開発

ヒトの脳神経細胞を存命中に採取できないという決定的問題を克服できる可能性を期待して、神経変性疾患をはじめとする神経難病に関して、マウスを代表とする疾患モデル動物が開発され利用されてきたが、モデルマウスで開発された薬品がヒトではほとんど効かないという問題が生じている。明白な理由を報告者は知らないが、ヒトとマウスでは遺伝子には大きな差がないが、ノンコーディング RNA の種類と数で大きな違いがあることが知られている。ノンコーディング RNA が遺伝子の発現の制御に密接に関わっていることが知られており、この違いが起きているのではないかと推定される。従って、神経変性疾患のような難病の研究には、ヒトの神経細胞が欠かせないのではないかと考えられる。このことは、神経変性疾患などの神経難病の原因解明や創薬には、究極のところ、ヒトの神経細胞を用いた疾患モデルが必要であると言える。しかし、ヒトの神経細胞となると、ES 細胞や iPS 細胞の利用が現実的となるが、まだこれら ES 細胞や iPS 細胞からの器官への分化誘導の技術は未開発で、しかも器官対応のハイスループットスクリーニング素子となると、さらに先の技術となる。そこでまず考えられるのは、in vitro での神経細胞ネットワークの利用である。しかし、この場合はこの場合で、別の検討課題が残る。即ち、in vitro のネットワークが器官としての機能不全とも言える疾患を表現するか、表現するとしたら、どのように表現するかという問題である。

培養型プレーナーパッチクランプ基板の量産化に目途

最近まで基板の2ミクロン貫通穴を収束イオンビーム(FIB)で形成していたため、量産化が困難で(1箇所20点計測し平均化、これを96か所で計測すると仮定すると、1基板あたりのコストは約4000万円)、実用化の最大の障害であったが、平成27年1月から3月の実験で、基板をSiに変え、ボッシュプロセスを取り入れたプレーナー技術の開発を進め、コストを1/10000以下に下げられる見通しを得た(図12参照)。これで、近いうちに神経細胞播種、ネットワーク形成、チャンネル電流計測と解析などの実用化を進めるうえで必須の研究を思う存分進めることができる。

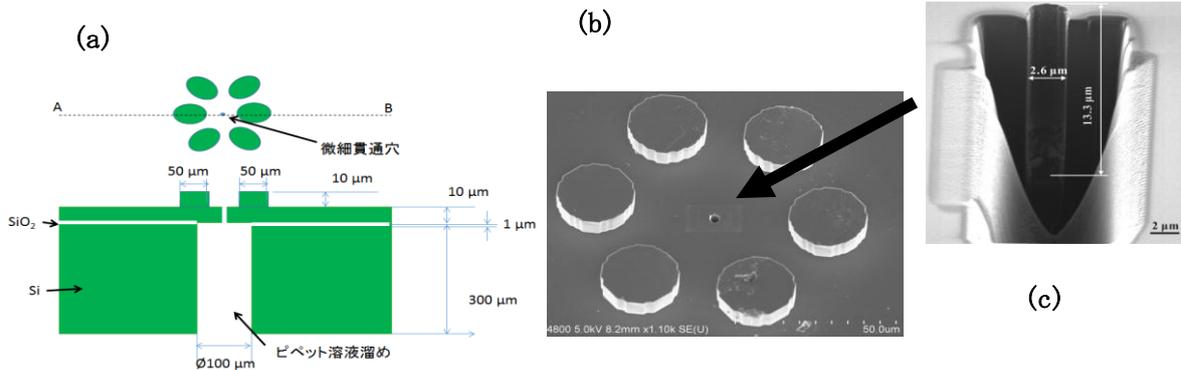


図12. (a)セルケージ構造を有する基板の概念図。(b)新たにプレーナー技術(ボッシュプロセス)で形成したセルケージ構造のSEM像。(c)微細貫通穴部分をFIBで断面観察

3.2 神経回路の解剖学的解析と自己機能化制御(福井大学 深澤グループ)

(1)研究実施内容及び成果

本研究グループは、深澤有吾(主たる共同研究者)が生理学研究所・脳形態解析研究部門(重本隆一教授)在籍していた課題採択時から、その後、名古屋大学・医学部・分子細胞生物学分野(藤本豊士教授)・准教授を経て、現福井大学・医学部・組織細胞形態学/神経科学研究室・教授に至るまで全期間を通して参画した。本グループでは分子解剖学的な研究基盤を元に「光電子集積回路技術」の確立に関わる支援研究(サブテーマ1と3)と独自のテーマである脳内神経回路内機能分子の局在解析(サブテーマ2)を行った。サブテーマ4である「神経回路網自己組織化機構の解析と応用」に関しては、宇理須チームの研究進行に伴う新展開(細胞播種技術の確立、神経細胞機能イメージング、iPS技術の導入等)に合わせ着手を見送った。

主に取り組んだ研究内容と成果は以下の通り。

1. 光遺伝学プローブ(チャンネルロドプシン等)を基板上神経細胞に導入する技術の開発と材料提供

石塚グループが新規開発した光応答特性を向上させた光感受性陽イオンチャンネル: ChopFRのcDNA配列をマウスゲノム中の使用頻度に合わせ改変することで転写翻訳効率を向上させ、タンパク質レベルの発現量の向上を行った。更に改変したcDNA配列をレンチウイルスベクターに組み込みウイルス粒子を産生し、光電子基板上の神経細胞に遺伝子を導入するツールを宇理須グループに提供した。

2. 光遺伝学プローブを発現する神経細胞を有する遺伝子改変マウスの作出

基板上に播種し、光照射により活動量を人為的に制御できる神経細胞を安定的に得ることを目的に、遺伝子導入マウスの作出を行った。上記研究項目1で得たマウスゲノムに最適化したChopFR cDNAをテトラサイクリン応答性遺伝子発現プロモーター配列(TetO配列)の下流に配

置した遺伝子導入ベクターを作製し、TetO-mChopFR遺伝子導入マウスを作出した。得られた12系統のマウスの中からmChopFRの発現制御が設計通りのマウス系統2つを選別した。石塚グループの作製したChopFRは既存のチャンネルロドプシン群に比べ、光による電流応答速度が速く、且つ、不活性化も少ないこと、更に、光照射終了後の電流遮断の速度も速いことから、時間精度良く神経細胞の興奮を誘導できる特性がある。近年の光遺伝学技術の発展とこれを用いた神経科学研究の急速な進展を考えると、今回作出した遺伝子導入マウスが今後の神経科学領域の研究の進展に大きく寄与する可能性が有り、需要も高いことが容易に予想される。そこで、これらマウスをnational bioresource centerに近く寄託し、国内外を問わず多くの神経科学研究者に配布可能にする予定であり、また、そうする事で基礎科学研究の発展に役立てたい。

3. 神経細胞における情報の伝達と統合に関与する分子群の脳内局在解析

神経細胞特有の機能の多くは、シナプス伝達や電位統合、活動電位発生に関わる神経伝達物質受容体やイオンチャンネルにより担われている。これら機能分子は神経細胞の細胞膜上の発現部位や分布パターンにより、関与する電気生理学的な現象が異なるほか、現象そのものの特性が変化するので、その細胞膜上の正確な分布を知ることは神経生理学的な現象の分子機構を理解する上で欠かせない情報となる。そこで、グルタミン酸受容体をはじめとする各種神経伝達物質受容体と電位依存性イオンチャンネルについて、その発現分布を定量的に解析し報告した(文献)。同時にシナプス結合の構造そのものが学習行動下の動物でどのように変化し、その変化が学習の成立や維持にどのように関与しているかについて明らかにする研究も行った。この解析では運動学習課題として視機性眼球運動の順応課題をマウスに課し、眼球運動の反射を司る小脳片葉内神経回路の分子発現及びシナプス形態の変化を定量的に解析し、連続訓練と分散訓練の反射量への影響を評価しながら、脳内の微細構造と分子発現分布の変化を捉えることを試みた。その結果、どの訓練パターンも訓練終了時には同程度の学習(順応)レベルを示したのに対し、長期間持続する学習成分が分散訓練時のインターバル依存的に増加し、この長期持続成分の比率と小脳片葉内の特定部位でおきたシナプス除去の量が反比例することを見出した。また、シナプス除去に至る過程でAMPA型グルタミン酸受容体の発現量の減少が起きていることも突き止めた。これらの発見は、1)学習時に特定のシナプスで変化が起き、その変化は機能分子の発現分布、そして構造変化の順に起きることを実験的に示した。また、2)シナプス除去は神経回路構造の変化でもあるので、神経回路の変化が記憶の長期的持続を支える脳内メカニズムであるとの長年の仮説に対し、それを支持する実験データを世界で始めて提示した。これら個体内で起きている分子発現分布や微細構造の変化の様子を捉えた研究成果に加え、分散学習の効果が長期記憶を効率良く成立させる点であることを示したことも本研究の重要な発見の一つである。特に、訓練の時間分布が脳内神経回路の構造変化の時間動態と相関していると言う発見は予想外のものであり、この現象を神経回路・細胞レベルで詳細に研究することで長期記憶形成の体内機構が明らかできることが期待でき、今後、有用な学習モデルとして多くの研究者が追従することが予想される。

3.3 変異体ChR2, HRの開発 (東北大学 石塚グループ)

(1)研究実施内容及び成果

〈ChR2とHRの高効率化・変異体ChR2, HRの開発〉

チャンネルロドプシン(ChR)は緑藻の一種、クラミドモナスの眼点から単離・同定された光受容イオンチャンネルで、一分子で光受容とイオンチャンネル機能を合わせ持つ特異な一分子光電変換分子である。このタンパク質遺伝子を本来光感受性を有しないほ乳類のニューロンに遺伝子導入し発現させるだけで、ニューロンに光受容能を賦与することができ、青色光でニューロンの膜電位の脱分極とそれに伴う活動電位の発火を光でコントロールすることが可能になる。遺伝子工学的手法を用いて、特定のニューロン種特異的にChRを発現さ

せることで、様々な種類のニューロンが複雑につながり合って形成されるニューロンネットワークの動作を、ニューロン種特異的に制御することが可能になる。この画期的な光による時空間解像度に優れたニューロン活動制御法は、オプトジェネティクスと呼ばれ、現在ではニューロンネットワークの動作原理を解析する強力な解析技術のひとつとなっている。ニューロンの活動をコントロールする光作動分子(オプトジェネティクスツール)として、ChR2 が専ら用いられてきたが、ハロドロプシン(HR)などの光作動 Cl⁻ポンプや Arch などの光作動 H⁺ポンプも光照射により膜電位を過分極させることで、ニューロンの活動を抑制するツールとして使われている。光受容イオンチャネルや光駆動イオンポンプは、いずれも7回膜貫通構造を共通に持つ微生物型ロドプシンファミリータンパク質で、現在でも様々な特性を有する微生物型ロドプシンタンパク質の単離とオプトジェネティクスツールへの活用が試みられている。一方で、オプトジェネティクスツールとして見た ChR や HR は、必ずしも哺乳類細胞での発現や、チャネル特性といった部分で最適化されておらず、野生型のままではツールとして活用しにくい(できない)ものも多数ある。オプトジェネティクスをより使いやすい有用な技術にしていくためには、ツールである ChR や HR の最適化が必須である。そこで、本研究では、分子エンジニアリングによる様々な改変体の作出とその機能解析を通して、最適化されたツールの創出を目標とし、さらにこれらを培養型プレーナーパッチクランプ素子上のニューロンネットワークへの光情報入力ツールへの活用(宇理須グループ)、新たな改変型 ChR 作製のための詳細な構造解析(古谷・木村グループ)、ニューロンネットワーク機能解析への応用(深澤グループ)を目指した。

1. 緑色光で動作する改変型 ChR の創出

本 CREST 研究のスタートに先行して、私たちは ChR2 と比較して、膜発現に優れ、大きな光電流を生じ、脱感作が殆どなく、応答波長範囲が野生型の ChR2 よりもより広範囲に広がった改変型 ChR、チャネルロドプシン・ワイドレシーバー(ChRWR)の創出に成功していた。これは、非常によく似たアミノ酸配列を持つにもかかわらず性質の異なる 2 つの ChR(ChR1 と ChR2)の構造-機能に着目して、ChR2 の N 末端側の膜貫通ドメインを順次 ChR1 のものと置換したキメラ分子の作製と、それらの機能解析(構造-機能連関解析)によって得られた成果のひとつである。ChR の最適化の方向性のひとつに、最適波長の多様性、特に長波長側へシフトした改変型 ChR の開発が求められていた。この問題に対して、ChRWR にさらなる改変を加えることで、緑色光に応答し、実効コンダクタンスや脱感作などの特性などにおいてもニューロンの光刺激に最適な改変型チャネルロドプシン、チャネルロドプシン・グリーンレシーバー(ChRGR)の作出に世界に先駆けて成功した。青色光と比較して緑色光は光毒性が少なく、また組織への浸透でも優れているため、*in vivo* への応用も含めて野生型の ChR2 よりも信頼性高く、光パルス刺激に同期したニューロンの発火を引き起こすことが可能となった。実際、シンドビスウイルスベクターを用いて、ChRGR をマウス大脳皮質運動野ニューロンに発現させ、緑色 LED 光を 0.1-100 Hz の周波数を連続的に変化させながら振動するパターンで麻酔したマウスの脳表面に照射したところ、運動野の局所フィールド電位の 3-10Hz の周波数成分が増大したことなどから、緑色 LED 光で駆動された小数のニューロンの活動が再帰性ネットワークの創発的な活動レベルを亢進させたことが示唆された。この研究成果により、光を用いてニューロンを駆動する技術の精度が飛躍的に向上し、ニューロンの初代培養系や脳スライス培養といった *in vitro* ニューロンのみならず、生体の *in vivo* ニューロンにおいても目的とするニューロン選択的に固有の発火パターンで駆動させることで、外部からの信号を効率よく入力することが可能になった。

2. OFF-キネティクスにおいて多様な改変型 ChR の創出

ChR の構造-機能連関解析の成果として、チャネルロドプシン・ファストレシーバー(ChRFR)、チャネルロドプシン・ワイドレシーバー(ChRWR)、チャネルロドプシン・グリーンレシーバー(ChRGR)の3種類の高効率型チャネルロドプシンの作製に成功した。そのうちのひとつ、マウスコドン最適化 ChRFR (mChRFR) を用いて、いくつかの step-function opsin

(SFO) 型変異体を作製し、その特性を解析した。ChR2 の SFO 変異体-ChR2(C128T), ChR2(C128A), ChR2(C128S), ChR2(D159A)およびこれらの組み合わせによる点変異体は、中間体 P520 から P470 への移行が遅延し、光照射を終了しても数十 ms~数分のオーダーで光電流が流れ続ける特徴がある。同様のアミノ酸点変異をmChRFR にも導入し、ChRFR(C167A/S/T), ChRFR(D195A)およびこれらの組み合わせによる点変異体を作製し、その光電流特性を詳細に解析した。いずれの変異体も ChR2 と比べ、ほ乳類細胞での良好な発現が認められ、脱活性化時間(τ_{OFF})が 0.5-500 s に遷延した。このうち、mChRFR(C167A)は、 τ_{OFF} が約 20 s で光電流ピーク値も大きく、ツールとしての実用性に優れていることを明らかにした。これら SFO 型変異体は、パルス光によるパターン刺激とは異なる形で、ニューロンの活性化状態を長時間持続させるツールとしての活用が期待できる。

3. イオン透過メカニズムの解析(透過イオン選択性に優れた改変型 ChR の創出)

私たちの先行研究および ChR1 と ChR2 のキメラ ChR, C1C2 を用いた詳細な結晶構造解析の報告により、ChR2 の第2膜貫通領域にある E83, E90, E97, E101 (キメラのグルタミン酸残基 E122, E129, E136, E140) が、他の親水性アミノ酸残基と協働してチャンネルポアを形成することが示唆されている。これらのうち、ChR2 の E97 をアスパラギン酸残基 (E97D), グルタミン酸 (E97Q), アルギニン残基 (E97R) でそれぞれ置換した一アミノ酸変異体を作製し、その光電流を詳細に解析したところ、E97R 置換体で光電流が強く抑制された。E97R 置換により、チャンネルを透過する陽イオンとの相互作用が低下することでイオン流量が抑制されたと考えられる。さらに、機械受容チャンネルの阻害剤として用いられているガドリニウム(Gd^{3+})によって ChR2 の光電流は強く抑制されるが、E97Q/R 置換体では Gd^{3+} によるチャンネル阻害効果は有意に減少する。 Gd^{3+} はオープンチャンネルブロッカーとして働くことから、 Gd^{3+} が E97 に結合してチャンネルポアを塞ぐことで他の陽イオンの透過を阻害することが示唆された。この結果から、ChR2 のイオン透過において、E97 は重要なアミノ酸残基の一つであることを明らかにした。

〈ChR2, HR の遺伝子導入技術確立〉

〈疾患モデル素子として有用な核内反応制御物質の遺伝子導入技術確立〉

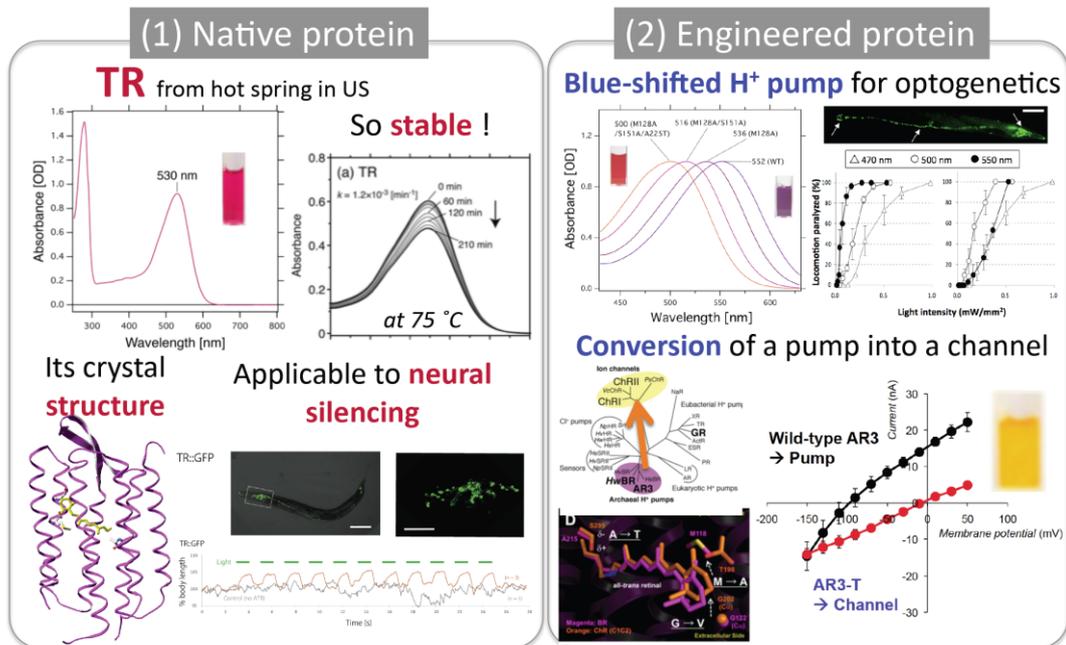
オプトジェネティクスツールを目的のニューロンに効率よく遺伝子導入するための手段として、新たに抗体掲示型 Sindbis ウイルスベクターを用いた細胞種特異的遺伝子導入法を開発した。バクテリア由来のプロテインAの IgG 結合ドメイン (Zドメイン) を、Sindbis ウイルスのエンベロープタンパク質に組み込んだ ZZ-Sindbis ウイルスと、標的細胞の形質膜タンパク質の細胞外ドメインを特異的に認識する抗体を用いることで、ウイルス固有の感染指向性ではなく、抗体のもつ抗原抗体反応の反応特異性と親和性に依存した遺伝子導入を可能にした。

3. 4 光受容分子の機能・構造解析

(分子科学研究所、古谷・木村グループ、岡山大学 須藤グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

光デバイス研究で用いる光受容分子について、その機能と構造を明らかにすることを第一義的な目的とした。すなわち、分子の性質を深く理解することで、分子の改変・改造に役立てることを企画し、モデル生物（大腸菌や線虫等）での実証実験も行った。これにより、様々な特性を持ち脳神経活動の可逆的制御が可能なタンパク質素子を開発し、他のグループへの情報・試料提供を行いながら、分子からデバイス開発にボトムアップ的な立ち位置での研究を行った。須藤グループは H25 および H26 の二年間の参画であったが、天然にも人工にも無い青色光感受性の過分極型分子の開発に成功し、これまで緑色光のみに限られていた波長範囲を青色（短波長）側へと広げること成功し、モデル生物・線虫における実証も行った (Sudo et al., 2013, *J. Biol. Chem.*)。また、これまでよりも 1,000 倍以上安定な新しいタイプの分子を発見し (TR と命名: Tsukamoto et al., 2013, *J. Biol. Chem.*)、線虫や大腸菌などのモデル生物中での実証も行った (未発表)。さらに、分子の結晶構造解析・理論計算による安定化部位の予測も行った (未発表)。天然光受容分子に 3 つのアミノ酸置換を導入することで、人工的な全く新しい光機能性イオンチャネルを創成し、神経興奮への応用を行った (投稿中)。以上、光による能動的神経ネットワーク制御系を確立し、その詳細な理解という基礎的な面から、本領域に貢献することができたと考えている。



*Sudo, et al., (2013) *J. Biol. Chem.*, 288, 20624-20632., Tsukamoto, Inoue, Kandori & *Sudo (2013) *J. Biol. Chem.*, 288, 21581-21592., Mori, Yagasaki, Homma, Reissig, & *Sudo (2013) *Chem. Phys.* 419, 23-29., *Furutani, Okitsu, Reissig, Mizuno, Homma, Wada, Mizutani, & *Sudo (2013) *J. Phys. Chem. B* 117, 3449-3458., Yomoda, Makino, Tomonaga, Hidaka, *Kawamura, Okitsu, Wada, *Sudo, & *Naito (2014) *Angew. Chem. Int. Ed.* 53, 6960-6964., *Sudo et al., (2014) *J. Phys. Chem. B* 118, 1510-1518. Tsukamoto, Demura, *Sudo (2014) *J. Phys. Chem. B* in press

§ 4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 64件)

① 宇理須グループ

1. Senthilkumar Obuliraj, Noriko Takada, Zhi-hong Wang, Kei Kobayashi, Yasutaka Nagaoka, Jongduk Kim, Mineharu Suzuki, Yoshito Hirose, Yuichi Utsumi, Tsuneo Urisu, "Surface characteristics and electrical properties of PMMA chips for an incubation-type planar-patch-clamp biosensor", *Colloid & Surface B*, 116 (2014) 193-200. (DOI 10.1016/j.colsurfb.2013.12.055)
2. Hidetaka Uno, Zhi-hong Wang, Yasutaka Nagaoka, Noriko Takada, Senthilkumar Obuliraj, Kei Kobayashi, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, Yukio Komatsu, Tsuneo Urisu, "Improvement of performances in incubation-type planar patch clamp biosensor by using salt bridge electrode and plastic (PMMA) substrates" *Sensors & Actuators B: Chemical*, 193 (2014) 660-668. (DOI 10.1016/j.snb.2013.12.019)
3. Noriko Takada, Masaki Aoyama, Mitsukazu Suzui, Yosuke Hachisu, Hitoshi Ohmori, Zhi-Hong Wang, Senthil Kumar Obuliraju, Yasutaka Nagaoka, Miho Saito-Goto, Tsuneo Urisu, "Microfabrication of PMMA sensor chips for an incubation type planar patch clamp", *Int. J. Nanomanufacturing*, 10 (2014) 281-294.
4. Ayumi Ando, Hidetaka Uno, Tsuneo Urisu, Satoshi Hamaguchi, "Grid-pattern formation of extracellular matrix on silicon by low-temperature atmospheric-pressure plasma jets for neural network biochip fabrication" *Appl. Surf. Sci.* 276 (2013) 1-6. (DOI 10.1016/j.apsusc.2013.02.001)
5. Noriko Takada, Masaki Aoyama, Mitsukazu Suzui, Yosuke Hachisu, Hitoshi Ohmori, Zhi-Hong Wang, Senthil Kumar Obuliraju, Yasutaka Nagaoka, Miho Saito-Goto, Tsuneo Urisu, "Microfabrication of PMMA sensor chip for neural network device based on incubation type planar patch clamp", *nanoMan2012*, (2012) 286-289.
6. H. Uno, Z. Wang, N. Takada, T. Ishizuka, H. Yawo and T. Urisu, "Channelrhodopsin as a Noble Biomaterial Useful for the Operation and Performance Test of the Ionchannel Devices", *Materials Transactions*, 5 (2012) 1305-1309.
7. Zhi-hong Wang, Noriko Takada, Hidetaka Uno, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, Tsuneo Urisu, "Positioning of the sensor cell on the sensing area using cell trapping pattern in incubation type planar patch clamp biosensor" *Colloid and Surface B* 96 (2012) 44-49.
8. Ayumi Ando, Hidetaka Uno, Toshifumi Asanao, Tsuneo Urisu, Satoshi Hamaguchi, "Arrangement of PC12 cells on a silicon chip via extracellular matrix (ECM) layer patterning by atmospheric pressure plasmas" *Plasma and Fusion Research: Letters* 6 (2011) 1306155(4pp)..
9. Ayumi Ando, Toshifumi Asano, Tsuneo Urisu, Satoshi Hamaguchi, "Micro-pattern formation of extracellular matrix (ECM) layers by atmospheric-pressure plasmas and cell culture on the patterned ECMs" *J. Phys. D: Appl. Phys.* 44 (2011) 482002 (5pp).
10. Ryugo Tero, Gen Sasaki, Toru Ujihara, Tsuneo Urisu, "Anomalous Diffusion in Supported Lipid Bilayers Induced by Oxide Surface Nanostructures", *Langmuir* 27 (2011) 9662-9665.
11. Ayumi Sumino, Takehisa Dewa, Toshikazu Takeuchi, Ryuta Sugiura, Nobuaki Sasaki, Nobuo Misawa, Ryugo Tero, Tsuneo Urisu, Alastair T. Gardiner, Richard J. Cogdell, Hideki Hashimoto and Mamoru Nango, "Construction and Structural Analysis of Tethered Lipid Bulayer Containing Photosynthetic Antenna Proteins for Functional Analysis", *Biomacromolecules* 12 (2011), 2850-2858.
12. Zhiguo Shang, Yanli Mao, Ryugo Tero, Tyuji Hoshino, Motohiko Tanaka, Tsuneo Urisu, "Clustering effects of GM1 and formation mechanisms of interdigitated liquid disordered domains in GM1/SM/CHOL -supported planar bilayers on mica surface", *Chem. Phys. Lett.* 497 (2010) 108-114.
13. Yanli Mao, Zhiguo Shang, Yosuke Imai, Tyuji Hoshino, Ryugo Tero, Motohiko Tanaka, Naoki Yamamoto, Katsuhiko Yanagisawa, Tsuneo Urisu, "Surface-induced phase separation of a sphingomyelin/cholesterol/ ganglioside GM1-planar bilayer on mica surfaces and microdomain molecular conformation that accelerate A β oligomerization", *BBA Biomembranes*, 1798 (2010)

1090-1099.

14. Tingchao He, Changshun Wang, Tsuneo Urisu, Takeshi Nagahiro, Ryugo Tero, Rong Xia, "The PDMS-based microfluidic channel fabricated by synchrotron radiation stimulated etching", *Optics Express*, 18 (2010) 9733 – 9738.
15. T.Y. Chiang, T. Makimura, T.C. He, S. Torii, T. Yoshida, R. Tero, C.S. Wang and T. Urisu, "Synchrotron-radiation-stimulated etching of polydimethylsiloxane (PDMS) using XeF₂ as a reaction gas" *J. Synchrotron Rad.* 17 (2010) 69-74.

② 深澤グループ

1. Mansouri* M, Kasugai* Y, Fukazawa Y, Bertaso F, Raynaud F, Perroy J, Fagni L, Kaufmann WA, Watanabe M, Shigemoto R Ferraguti F. (2014) Distinct subsynaptic localization of type 1 metabotropic glutamate (mGlu1) receptors at glutamatergic and GABAergic synapses in the rodent cerebellar cortex. *Eur J Neurosci.* 41, 157-167. doi: 10.1111/ejn.12779.
2. Garcia-Negredo G, Soto D, Llorente J, Morato X, Galenkamp KMO, Gomez-Soler M, Fernandez-Dunas V, Watanabe M, Adelman JP, Shigemoto R, Fukazawa Y, Lujan R, Ciruela F. (2014) Coassembly and Coupling of SK2 Channels and mGlu5 Receptors. *J Neurosci* 34 14793-14802. Doi. 10 1523/JNEUROSCI 2038-14.2014..
3. Rubio ME, Fukazawa Y, Kamasawa N, Clarkson C, Molnar E, Shigemoto R (2014) Target- and input-dependent organization of AMPA and NMDA receptors in synaptic connections of the cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 522, 4023-4042, doi:10.1002/cne.23654
4. Hernandez VH, Reuter K, Jing Z, Schulz AM, Hoch G, Bartels M, Yawo H, Fukazawa Y, Augustine GJ, Bamberg E, Kügler S, Salditt T, Strenzke N, Moser T. (2014.2) Optogenetic stimulation of the auditory pathway. *J Clin Invest* 124: 1114-1129. doi:10.1172/JCI69050.
5. Ballesteros-Merino C, Watanabe M, Shigemoto R, Fukazawa Y, Adelman JP Luján R. (2014.1) Differential subcellular localization of SK3-containing channels in the hippocampus. *Eur J Neurosci* 39: 883-892. doi: 10.1111/ejn.12474
6. Beppu K, Sasaki T, Tanaka K, Yamanaka A, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K. (2014.1) Optogenetic countering of glial acidosis suppresses glial glutamate release and ischemic brain damage. *Neuron* 81: 314-320. doi: 10.1016/j.neuron.2013.11.011
7. Aziz W, Wang W, Kesaf S, Mohamed AA, Fukazawa Y#, Shigemoto R. (2014.1) Distinct kinetics of synaptic structural plasticity, memory formation and memory decay in massed and spaced learning. *PNAS* 111: E194-202. doi: 10.1073/pnas.1303317110 #Corresponding author.
8. Wang W, Nakadate K, Masugi-Tokita M, Shutoh F, Aziz W, Tarusawa E, Lorincz A, Aziz W, Molnar E, Kesaf S, Li Y-Q, Fukazawa Y, Nagao S, Shigemoto R. (2014.1) Distinct cerebellar engrams in short-term and long-term motor learning. *PNAS* 111: E188-193. doi: 10.1073/pnas.1315541111
9. Kuki T, Ohshiro T, Ito S, Ji Z-G, Fukazawa Y, Matsuzaka Y, Yawo H, Mushiake H (2013.11) Frequency-dependent entrainment of neocortical slow oscillation to repeated optogenetic stimulation in the anesthetized rat. *Neurosci Res* 75: 35-45. doi: 10.1016/j.neures.2012.10.007.
10. Ohta H, Sakai S, Ito S, Ishizuka T, Fukazawa Y, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Mushiake H, Sato Y, Yawo H, Nishida Y. (2013.2) Paired stimulation between CA3 and CA1 alters excitability of CA3 in the rat hippocampus. *Neurosci Letters* 534: 182-187. doi: 10.1016/j.neulet.2012.11.058.
11. Budreck EC, Kwon O-B, Jung JH, Baudouin S, Thommen A, Kim H-S, Fukazawa Y, Harada H, Tabuchi K, Shigemoto R, Scheiffele P, Kim J-H. (2013.1) Neuroligin-1 controls synaptic abundance of NMDA-type glutamate receptors through extracellular coupling. *PNAS* 110: 725-730. doi: 10.1073/pnas.1214718110.
12. Budisantoso T, Harada H, Kamasawa N, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K. (2013.1) Evaluation of glutamate concentration transient in the synaptic cleft. *J Physiol* 591: 219-239. doi: 10.1113/jphysiol.2012.241398.
13. Abe Y, Sekino M, Terazono Y, Ohsaki H, Fukazawa Y, Yawo H, Hisatsune T. (2012.12) Opt-fMRI analysis for exploring the neuronal connectivity of the hippocampal formation in rats. *Neurosci Res* 74: 248-255. doi: 10.1016/j.neures.2012.08.007.
14. Sasaki T, Beppu K, Tanaka K, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K (2012.12) Application of an optogenetic byway for perturbing neuronal activity via glial photostimulation. *PNAS* 109: 20720-20725. doi: 10.1073/pnas.1213458109.

15. Parajuli LK, Nakajima C, Kulik A#, Matsui K, Schneider S, Shigemoto R, Fukazawa Y#. (2012.9) Quantitative regional and ultrastructural localization of Ca_v2.3 subunit of R-type calcium channel in mouse brain. *J Neurosci* 32: 13555-13567. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1142-12.2012. #, Corresponding authors
16. Ji Z-G, Ito S, Ohta H, Ishizuka T, Fukazawa Y, Yawo H. (2012.9) Light-evoked somatosensory perception of transgenic rats which express channelrhodopsin-2 in dorsal root ganglion cells. *PLoS ONE*: 7: e32699. doi: 10.1371/journal.pone.0032699.
17. Ballesteros-Merino C, Lin M, Wu WW, Ferrandiz-Huertas C, Cabañero MJ, Watanabe M, Fukazawa Y, Shigemoto R, Maylie J, Adelman JP, Luján R. (2012.6) Developmental profile of SK2 channel expression and function in CA1 neurons. *Hippocampus* 22: 1467-1480. doi: 10.1002/hipo.20986.
18. Sumegi M, Fukazawa Y, Matsui K, Lorincz A, Eyre MD, Nusser Z, Shigemoto R (2012) “Virus-mediated swapping of zolpidem-insensitive with zolpidem-sensitive GABA_A receptors in cortical pyramidal cells”. *J Physiol* 590: 2181-2182.
19. Fukazawa Y, Shigemoto R. (2012) Intra-synapse-type and inter-synapse-type relationships between synaptic size and AMPAR expression. *Current Opinion Neurobiology* 22: 1-7..
20. Budisantoso T, Matsui K, Kamasawa N, Fukazawa Y, Shigemoto R. (2012) “Mechanisms underlying signal filtering at a multi-synapse contact”. *J Neurosci* 32: 2357-2376..
21. Ballesteros-Merino C, Lin M, Wu WW, Ferrandiz-Huertas C, Cabañero MJ, Watanabe M, Fukazawa Y, Shigemoto R, Maylie J, Adelman JP, Luján R. (2011) “Developmental profile of SK2 channel expression and function in CA1 neurons”. *Hippocampus* 22: 1467-1480.
22. Szabadits E, Cserép C, Szőnyi A, Fukazawa Y, Shigemoto R, Watanabe M, Itohara S, Freund T, Nyiri G (2011) NMDA receptors in hippocampal GABAergic synapses and their role in nitric oxide signaling. *J Neurosci* 31: 5893-5904.
23. Kasugai Y, Swinny JD, Roberts JDB, Dalezios Y, Fukazawa Y, Sieghart W, Shigemoto R, Somogyi P (2010) “Quantitative localization of synaptic and extrasynaptic GABA_A receptor subunits on hippocampal pyramidal cells by freeze-fracture replica immunolabelling”. *Eu J Neurosci* 32: 1868-1888.
24. Dong Y-L, Fukazawa Y, Wang W, Kamasawa N, Shigemoto R (2010) “Differential postsynaptic compartments in the laterocapsular division of the central nucleus of amygdale for afferents from the parabrachial nucleus and the basolateral nucleus in the rat”. *J Comp Neurol* 518: 4771-4791.
25. Parajuli KL, Fukazawa Y, Watanabe M, Shigemoto R (2010) “Subcellular distribution of α 1G subunit of T-type calcium channel in the mouse dorsal lateral geniculate nucleus”. *J Comp Neurol* 518: 4362-4374.
26. Yamanaka A, Tabuchi S, Tsunematsu T, Fukazawa Y, Tominaga M (2010) “Direct interaction between orexin neurons activates these neurons through the orexin 2 receptor”. *J Neurosci* 30: 12642-12652.
27. Matsuda K, Miura E, Miyazaki T, Kakegawa W, Emi K, Narumi S, Fukazawa Y, Ito-Ishida A, Kondo T, Shigemoto R, Watanabe M, Yuzaki M (2010) “Cbln1 is a ligand for an orphan glutamate receptor 2, bidirectional synapse organizer”. *Science* 328: 363-368.

③ 石塚グループ

1. Inaguma A, Tsukamoto H, Kato H, E, Kimura T, Ishizuka T, Oishi S, Yawo H, Nureki O, Furutani Y. Chimeras of Channelrhodopsin-1 and -2 from *Chlamydomonas reinhardtii* Exhibit Distinctive Light-induced Structural Changes from Channelrhodopsin-2, *J. Biol. Chem.* In press (2015).
2. Teh DB, Ishizuka T, Yawo H. Regulation of later neurogenic stages of adult-derived neural stem/progenitor cells by L-type Ca²⁺ channels. *Dev Growth Differ.* 56, 583-594 (2014).
3. Honjoh T, Ji ZG, Yokoyama Y, Sumiyoshi A, Shibuya Y, Matsuzaka Y, Kawashima R, Mushiake H, Ishizuka T, Yawo H. Optogenetic patterning of whisker-barrel cortical system in transgenic rat expressing channelrhodopsin-2. *PLoS One.* 9(4): e93706 (2014)
4. Kimura Y, Satou C, Fujioka S, Shoji W, Umeda K, Ishizuka T, Yawo H, Higashijima S. Hindbrain V2a neurons in the excitation of spinal locomotor circuits during zebrafish

- swimming. *Curr Biol.* 23 (10): 843-849 (2013)
5. Osawa S, Iwasaki M, Hosaka R, Matsuzaka Y, Tomita H, Ishizuka T, Sugano E, Okumura E, Yawo H, Nakasato N, Tominaga T, Mushiake H. Optogenetically induced seizure and the longitudinal hippocampal network dynamics. *PLoS One.* 8 (4): e60928 (2013)
 6. Egawa R, Hososhima S, Hou X, Katow H, Ishizuka T, Nakamura H, Yawo H. Optogenetic probing and manipulation of the calyx-type presynaptic terminal in the embryonic chick ciliary ganglion. *PLoS One.* 8 (3): e59179 (2013)
 7. Ohta H, Sakai S, Ito S, Ishizuka T, Fukazawa Y, Kemuriyama T, Tandai-Hiruma M, Mushiake H, Sato Y, Yawo H, Nishida Y. Paired stimulation between CA3 and CA1 alters excitability of CA3 in the rat hippocampus. *Neurosci Lett.* 534: 182-187 (2013)
 8. Umeda K, Shoji W, Sakai S, Muto A, Kawakami K, Ishizuka T, Yawo H. Targeted expression of a chimeric channelrhodopsin in zebrafish under regulation of Gal4-UAS system. *Neurosci Res.* 75 (1): 69-75 (2013)
 9. Sakai S, Ueno K, Ishizuka T, Yawo H. Parallel and patterned optogenetic manipulation of neurons in the brain slice using a DMD-based projector. *Neurosci Res.* 75 (1): 59-64 (2013)
 10. Tanimoto S, Sugiyama Y, Takahashi T, Ishizuka T, Yawo H. Involvement of glutamate 97 in ion influx through photo-activated channelrhodopsin-2. *Neurosci Res.* 75 (1): 13-22 (2013)
 11. Ito S, Ishizuka T, Yawo H. Remodeling of hippocampal network in pilocarpine-treated mice expressing synaptotagmin in the mossy fiber terminals. *Neurosci Res.* 74 (1): 25-31 (2012)
 12. Zhi-Gang Ji, Shin Ito, Tatsuya Honjoh, Hiroyuki Ohta, Toru Ishizuka, Yugo Fukazawa, Hiromu Yawo, "Light-evoked somatosensory perception of transgenic rats which express channelrhodopsin-2 in dorsal root ganglion cells", *PLoS ONE* 7 (3) (2012) e32699.
 13. Toshifumi Asano, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, "Optically controlled contraction of photosensitive skeletal muscle cells", *Biotechnol. Bioeng.* 109 (1) (2012) 199-204
 14. Jun Yokose, Toru Ishizuka, Takeshi Yoshida, Jun Aoki, Yoshio Koyanagi and Hiromu Yawo, "Lineage analysis of newly generated neurons in organotypic culture of rat hippocampus", *Neurosci. Res.* 69 (3) (2011): 223-233.
 15. Ayumu Konno, Tatsuya Honjo, Atsushi Uchida, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, "Evaluation of Sindbis virus vector displaying immunoglobulin-binding domain - antibody-dependent infection to neurons in living mice", *Neurosci. Res.* 71(4) (2011) 328-334.
 16. Lei Wen, Hongxia Wang, Saki Tanimoto, Ryo Egawa, Yoshiya Matsuzaka, Hajime Mushiake, Toru Ishizuka and Hiromu Yawo, "Opto-current-clamp actuation of cortical neurons using a strategically designed channelrhodopsin", *PLoS ONE* 5 (9) (2010) e12893

④ 須藤グループ

1. Tsukamoto, T., Demura, M., *Sudo, Y. "Irreversible trimer to monomer transition of thermophilic rhodopsin upon thermal stimulation" *J. Phys. Chem. B*, 118, 12383-12394 (2014)
2. Yomoda, H., Makino, Y., Tomonaga, Y., Hidaka, T., Kawamura, I., Okitsu, T., Wada, A., *Sudo, Y., & *Naito, A. "Color discriminating retinal configurations of sensory rhodopsin I by photo-irradiation solid state NMR spectroscopy" *Angew. Chem. Int. Ed.* 53, 6960-6964. (2014)
3. *Sudo, Y., Mizuno, M., Wei, Z., Takeuchi, S., *Tahara, T., & *Mizutani, Y. "The early steps in the photocycle of a photosensor protein sensory rhodopsin I from *Salinibacter ruber*" *J. Phys. Chem. B* 118, 1510-1518. (2014)
4. *Sudo, Y., Okazaki, A., Ono, H., Yagasaki, J., Sugo, S., Kamiya, M., Reissig, L., Inoue, K., Ihara, K., Kandori, H., Takagi, S., & Hayashi, S. "A blue-shifted light-driven proton pump for neural silencing" *J. Biol. Chem.* 288, 20624-20632. (2013)
5. Mori, A., Yagasaki, J., Homma, M., Reissig, L., & *Sudo, Y. "Investigation of the chromophore binding cavity in the 11-*cis* acceptable microbial rhodopsin MR" *Chem. Phys.* 419, 23-29. (2013)
6. *Furutani, Y., Okitsu, T., Reissig, L., Mizuno, M., Homma, M., Wada, A., Mizutani, Y., &

- *Sudo, Y. "Large spectral change due to amide modes of a β -sheet upon the formation of an early photointermediate of middle rhodopsin" *J. Phys. Chem. B* 117, 3449-3458. (2013)
7. Abe-Yoshizumi R., Kobayashi, S., Gohara, M., Hayashi, K., Kojima, C., Kojima, S., Sudo, Y., Asami, Y., & *Homma, M. "Expression, purification and biochemical characterization of the cytoplasmic loop of PomA, a stator component of the Na^+ driven flagellar motor" *Biophysics* 9, 21-29. (2013)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

① 宇理須グループ

1. 宇野秀隆、王志宏、宇理須恒雄、“神経回路ハイスルーブツスクリーニング素子開発におけるチャンネルロドプシンの利用” オプトジェネティクス～光工学と遺伝学による行動制御技術の最前線～, 第3章1節, pp.258-268, 2013。
2. 高田紀子、王志宏、宇理須恒雄「培養型イオンチャンネルバイオセンサー」 先端バイオマテリアルハンドブック」 秋吉一成、石原一彦、山岡哲二 監修、(株)エヌ・ティー・エス、(2012) 450-453.
3. 高田紀子、水谷伸雄、青山正樹、鈴木光一、宇理須恒雄 「多チャンネル神経細胞ネットワーク素子の開発」, *Molecular Electronics and Bioelectronics*, 21 (2010) 243-246.

② 深澤グループ

1. Fujimoto T, Fukazawa Y (2012) Electron microscopy of biological membrane. *Encyclopedia of Biophysics*, in press. Oxford: Academic Press.

③ 石塚グループ

1. Yawo H, Asano T, Sakai S, Ishizuka T. Optogenetic manipulation of neural and non-neural functions. *Dev Growth Differ.* 55 (4): 474-490 (2013)
2. Asano T, Ishizuka T, Yawo H. Muscular Optogenetics: Controlling muscle function with light. *Muscle Cells: Development, Disorders and Regeneration* (Ed, Benigno Pezzo), pp. 127-135, Nova Science Publishers Inc., Hauppauge NY, USA. (2013)
3. Ji ZG, Ishizuka T, Yawo H. Channelrhodopsins—Their potential in gene therapy for neurological disorders. *Neurosci Res.* 75 (1): 6-12 (2013)
4. 八尾寛, 酒井誠一郎, 上野賢一, 石塚徹, オプトジェネティクスのための多点並列光刺激システム, *実験医学*, vol. 30, No. 16, pp. 2584-2585 (2012).
5. 八尾寛, 谷本早希, 石塚徹, 高橋哲郎, 光電変換タンパク質チャンネルロドプシンの動作メカニズム, *生物物理*, vol 52, No. 5, pp. 227-229 (2012).
6. 石塚徹, 八尾寛, 「光を媒体とする脳・神経系への情報入力」, *一般社団法人レーザー学会誌レーザー研究*, 40 (4): 254-258, 2012

④ 須藤グループ

1. 須藤雄気、神取秀樹 “オプトジェネティクス (光遺伝学) の原理と基礎” *アルマシア* 50, 958-962. (2014)
2. 須藤雄気、塚本卓 “膜タンパク質の可溶化 (抽出) (2)” *蛋白質科学会・アーカイブ*, 7, e079. (2014)
3. Inoue, K., Tsukamoto, T., & *Sudo, Y. “Molecular and evolutionary aspects of microbial sensory rhodopsins” *Biochim. Biophys. Acta* 1837, 562-577. (2014)
4. Tsukamoto, T., & *Sudo, Y. “Sensory rhodopsins” *In: eLS.* John Wiley & Sons, Ltd: Chichester., a0022838 (2014)
5. 須藤雄気 “ロドプシンの波長制御と光情報変換機構” オプトジェネティクス～光工学と遺

6. 伝による行動制御技術の最前線～, 第2章4節, pp.79-91. (2013)

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 26件、国際会議 19件)

(1) 宇理須グループ

<国内>

1. 宇理須恒雄「神経細胞播種・ネットワーク形成装置の紹介」新学術領域・ナノメダイシン分子科学研究会・革新的分子イメージング、2014年4月22日、東京工業大学。
2. 宇理須恒雄「神経細胞ネットワーク素子の開発—ナノメダイシンからの発想—」、第60回高分子討論会、岡山、2011年9月28日—30日。
3. 宇理須恒雄「ナノメダイシン、ナノテクの医療応用」S-匠ナノメダイシンプロジェクト終了報告会、くびきメッセ国際会議場、2011年3月10日。
4. Tsuneo Urisu, “Development of in vitro Neural Network Device with Photo-Stimulations and Precise Nanofabrication Technologies” 先端ナノバイオフォーラム、姫路キャスパールホール、2010年11月15日。
5. 宇理須恒雄「チャンネルロドプシンを組み込んだ神経細胞ネットワーク素子の開発と応用—光受容体チャンネルが新しい脳神経科学研究手法をもたらす—」岡崎コンファレンスセンター、岡崎、2010年3月23, 24日。

<国際>

1. Tsuneo Urisu, Zhi-hong Wang, Hidetaka Uno, Yasutaka Nagaoka, Kei Kobayashi, Miho Goto-Saito, Yoshinori Suzuki, Yoko Urabe “Development of disease model neuron-network and its analyzing method” Joint Meeting of the 1st Africa International Biotechnology & Biomedical Conference and the 8th International Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis September, Nairobi Kenya.
2. Zhi-Hong Wang, Tsuneo Urisu “Development of neural network high-throughput screening devices using human iPS cells” The 2nd Japan-China Symposium on Nanomedicine, May 16-18, 2014
3. Tsuneo Urisu, “Development of homogeneous neural network and multichannel incubation-type planar patch clamp-aiming high performance disease model chip-“, The first China-Japan Symposium on Nanomedicine, October 26-28, 2013 Southeast University Nanjing, China.
4. Tsuneo Urisu “Development of homogeneous neural network and multichannel incubation-type planar patch clamp-aiming high performance disease model chip-“, 7th International Symposium on Nanomedicine (7th ISNM2013), November 7-9, 2013, Kyushu Institute of Technology, Kitakyushu, Japan.
5. Tsuneo Urisu “Microfabrication of PMMA Sensor Chip for Neural Network Device Based on Incubation Type Planar Patch Clamp”, The International State-of-the-art in nanoManufacturing (nanoMan2012), July 26-27 (2012), RIKEN Saitama, Japan.
6. Tsuneo Urisu, “Development of incubation type planar patch clamp and application to neural network dynamic analysis”, 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences- Experiments and Simulations, Jan. 9-11, 2012, Nara, Japan.
7. Tsuneo Urisu, “Fabrication of incubation type planar patch clamp biosensor and characterization by laser-gated ion-channel protein”, The 3rd Japan-Taiwan Symposium on Nanomedicine, March 8-9, 2012, Kyoto, Japan.
8. Tsuneo Urisu, “Development of Neural Network Functional Analysis Device based on the Multi-Channel Planar Patch Clamp Method”, 4th International Symposium of Nanomedicine, Okazaki, Japan, November 29-December 1, 2010.
9. Tsune Urisu, “An in vitro neural network device as a useful research platform of neuro science and nanomedicine” The 2nd Taiwan-Japan Symposium on Nanomedicine” Academia Sinica, Taipei, Feb. 24-25, 2011.
10. T. Urisu, "Development of planar patch-clamp type photostimulation neural cell network

device", Japan-Taiwan Symposium on Nano-Medicine Research and Education, Kyoto, 25 January, (2010).

11. T. Urisu, "Development of neural network devices as a new methodology for physical chemistry investigation of neuroscience and neurodegenerative diseases", 2nd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences – Experiments and Simulations, Nagoya, 22-23 December, (2009).

(2) 深澤グループ

<国内>

1. 「SDS 処理凍結切断レプリカ標識法を用いた神経科学研究」 日本顕微鏡学会 第70回記念学術講演会 東京, 2014年5月13日
2. 「AMPA 型グルタミン酸受容体の微小空間配置とその生理的意義」 日本解剖学会・第119回全国学術集会, 宇都宮, 2014年3月27日
3. 「凍結切断レプリカを用いた分子局在解析の現状と今後の展開: 脳内シナプスにおける AMPA 受容体発現の共通性と特異性」 日本顕微鏡学会 第68回学術講演会, つくば, 2012年5月15日
4. 「急速凍結試料の凍結切断レプリカを用いた神経細胞の膜脂質局在解析」 第117回日本解剖学会全国学術集会, 甲府, 2012年3月28日
5. 「定量的分子局在解析と計算論的手法によるシナプス構造-機能関連の解析」 日本顕微鏡学会 第67回学術講演会 福岡, 2011年5月16日
6. 「水平性視機能性眼球反応適応時の小脳回路変化とそのメカニズム」 第115回日本解剖学会 全国学術集会 盛岡, 2010年3月30日
7. 深澤有吾(名古屋大学)、「凍結切断レプリカを用いた分子局在解析の現状と今後の展開: 脳内シナプスにおける AMPA 受容体発現の共通性と特異性」 日本顕微鏡学会 第68回学術講演会, つくば, 2012年5月15日
8. 深澤有吾(名古屋大学)、「急速凍結試料の凍結切断レプリカを用いた神経細胞の膜脂質局在解析」 第117回 日本解剖学会 全国学術集会, 甲府, 2012年3月28日
9. 深澤有吾(生理学研究所)、「定量的分子局在解析と計算論的手法によるシナプス構造-機能関連の解析」 日本顕微鏡学会 第67回学術講演会 福岡, 2011年5月16日
10. 深澤有吾(生理学研究所)、「水平性視機能性眼球反応適応時の小脳回路変化とそのメカニズム」 第115回日本解剖学会 全国学術集会 盛岡, 2010年3月30日

(3) 石塚グループ

<国内>

1. 八尾寛(東北大学大学院生命科学研究科), 中枢神経ネットワークモデルのオプトジェネティクス(光遺伝学), 日本薬理学会第132年会企画シンポジウム「光が切り開く新しい薬理学」, 札幌, 2012年3月30日
2. 八尾寛(東北大学大学院生命科学研究科), 神経細胞活動の光制御, 電子情報通信学会技術研究報告「MEとバイオサイバネティクス」, 仙台, 2011年11月24日
3. 八尾寛(東北大学大学院生命科学研究科), Resonant rhythms generated by neurons and network -opto-current-clamp with optimized channelrhodopsins, 第84回日本生化学会大会, 京都, 2011年9月21日
4. 石塚徹(東北大学大学院生命科学研究科), チャネルロドプシンの構造-機能関連解析とオプトジェネティクスへの応用, 第37回薬物活性シンポジウム, 仙台, 2009年10月10日

(4) 木村グループ

<国内>

1. 木村哲就『生体分子反応の実時間観察を可能にする溶液混合装置の開発と応用例』、分子科学研究所技術課セミナー「フォトリソグラフィ技術の基礎と応用」、岡崎カンファレンスセンター、2012年3月26日

- 古谷祐詞、木村哲就、「急速溶液混合全反射赤外分光法によるイオン輸送蛋白質の構造変化ダイナミクス計測への挑戦 (Development of Stopped-flow Attenuated Total Reflection FTIR Spectroscopy for Detecting Dynamic Structural Changes in Ion-transporting Proteins)」、日本生物物理学会第49回年会 シンポジウム「膜タンパク質の構造変化を研究するための新しい実験ツール」、兵庫県立大学姫路書写キャンパス (兵庫)、2011年9月16-18日
- 古谷祐詞(分子研)、「X-H, X-D伸縮振動領域の赤外分光法から何が分かるか?」、分子研研究会「拡がるロドプシンの仲間から“何が分かるか”“何をもらすか”」、岡崎コンファレンスセンター、岡崎、2010年3月23, 24日

<国際>

- Tetsunari Kimura, Shintaro Douki, Ryuichiro Ishitani, Osamu Nureki, and Yuji Furutani, “Ion-selective mechanism of Mg^{2+} transporter MgtE studied by ATR-FTIR spectroscopy.” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences -Experiments and Simulations, Cultural Center of Todaiji-Temple, Nara, Japan, Jan. 9-11, 2012.
- Tetsunari Kimura, Hideki Kandori, and Yuji Furutani, “Time-resolved infrared study on the light-driven chloride ion pump protein.” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences -Experiments and Simulations, Cultural Center of Todaiji-Temple, Nara, Japan, Jan. 9-11, 2012.
- Yuji Furutani, “Stimulus-Induced Difference Infrared Spectroscopy for Membrane Proteins; Visual and Archaeal-type Rhodopsins, and Flagella Motor Protein”, Indo-Japan Joint Workshop on “New Frontiers of Molecular Spectroscopy; from Gas Phase to Proteins”, Hotel Kitano Plaza Rokkoso, Kobe, Japan, Sept. 26-29, 2010.
- Yuji Furutani, “Interaction between Membrane Proteins and Ions Studied by ATR-FTIR Spectroscopy: A Potential Tool for Drug Screening”, BIT's 1st Annual International Conference of Medicchem-2010, Beijing International Convention Center, Beijing, China, May. 18-20, 2010.
- Yuji Furutani, “Stimulus-Induced Difference FTIR Spectroscopy for Archaeal-Type Rhodopsins”, 2nd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences – Experiments and Simulations, Symposion Hall, Nagoya University, Nagoya, Japan, Dec. 22-23, 2009.

(5) 須藤グループ

<国内>

- 須藤雄気 (岡山大学) “光駆動型イオンポンプから光開閉型イオンチャンネルへの変換” (2014) 第52回日本生物物理学会年会, 札幌, 9, 26.
- 須藤雄気 (名古屋大学) “微生物型レチナルタンパク質の非常識で未来を拓く” (2013) 分子科学研究所研究会「ロドプシン研究の故きを温ねて新しきを知る」, 岡崎, 11, 19.
- 須藤雄気 (名古屋大学) “光受容レチナルタンパク質の常識と非常識” (2013) 東京工業大学第1回生体分子専攻・若手コロキウム, 横浜, 8, 29.
- 須藤雄気 (名古屋大学) “ロドプシンの、ロドプシンによる、ロドプシンのための蛋白質科学” (2013) 大阪大学蛋白研セミナー, 吹田, 4, 20.
-

<国際>

- Sudo, Y. (Okayama University) “Molecular-based rational design and engineering of microbial retinal proteins for optogenetics” (2014) 16th International Conference on Retinal Proteins, Oct 9, Nagahama, Japan.
- Sudo, Y. (Okayama University) “Rational Design and Engineering of Photoactive Retinal Proteins” (2014) The 2nd Awaji International Workshop on “Electron Spin Science & Technology: Biological and Materials Science Oriented Applications” (2nd AWEST 2014), June 17, Awaji, Japan.
- Sudo, Y. (Nagoya University) “Photobiophysical chemistry: What should we learn from retinal proteins?” (2014) iCeMS Symposium on Mesoscopic Chemical Biology: Integrated Chemical-Physical Systems Towards Cell Control, Feb 2, Kyoto, Japan.

② 口頭発表 (国内会議 39 件、国際会議 5 件)

(1) 宇理須グループ

<国内>

1. 王志宏、長岡靖崇、宇野秀隆、小林啓、皆藤孝、鍋澤浩文、人母岳、宇理須恒雄 “培養型プレーナーパッチクランプによる神経細胞ネットワークからの多点イオンチャンネル電流計測” 第 75 回応用物理学会秋季学術講演会、北海道大学、札幌、2014 年 9 月 19 日。
2. 小林 啓、長岡 靖崇、王 志宏、小松 由紀夫、宇理須 恒雄 “セルケージパターンを有する培養基板上の神経細胞のカルシウムイメージングに用いる灌流装置の開発” 第 75 回応用物理学会秋季学術講演会、北海道大学、札幌、2014 年 9 月 19 日
3. 長岡靖崇, Wang Zhi-hong, 小松由紀夫、宇理須恒雄 “セルケージ構造を用いた基板上で規則的に配置された In vitro 神経細胞ネットワークのカルシウムイメージング” 北海道大学、札幌、2014 年 9 月 19 日
4. Zhi-Hong Wang, Yasutaka Nagaoka, Hidetaka Uno, Kei Kobayashi, Akira Kodaira, Satoshi Oku, Tsuneo Urisu, “New Seeding and Culturing Cell Technique for Neural Network Formation of High Throughput Screening Device” 第 61 回応用物理学会春季学術講演会、青山学院大学相模原キャンパス、2014 年 3 月 19 日。
5. 小林啓、村上真菜、長岡靖崇、王志宏、宇野秀隆、宇理須恒雄、“疾患モデル素子製作をめざしたヒト iPS 細胞の運動ニューロンへの分化誘導” 第 61 回応用物理学会春季学術講演会、青山学院大学相模原キャンパス、2014 年 3 月 19 日。
6. 宇野 秀隆, 王 志宏, 小林 啓, 長岡 靖崇, 西藤 美穂, 鈴木 好則, 佐藤 嗣紀, 藪谷 誠, 宇理須 恒雄, “神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング装置の開発と疾患モデルチップ計測への応用” 第 61 回応用物理学会春季学術講演会、青山学院大学相模原キャンパス、2014 年 3 月 19 日。
7. 西藤(後藤) 美穂, 村上 真菜, 王 志宏, 長岡 靖崇, 宇野 秀隆, 鈴木 好則, 宇理須 恒雄, “神経細胞遊走制御のためのセルケージパターンを有する培養基板の作製とその性能評価”、ナノメディシン分子科学第 2 回若手の会、京都大学、京都 2013 年 6 月 1 日。
8. 西藤(後藤) 美穂, 王 志宏, 高田 紀子, 村上 真菜, 長岡 靖崇, 鈴木 好則, 宇野 秀隆, 宇理須 恒雄, “セルケージパターンを有する培養基板を用いた神経細胞の運動制御,” 第 74 回応用物理学会秋季学術講演会、同志社大学、京都 2013 年 9 月 17 日
9. Zhi-Hong Wang, Yasutaka Nagaoka, Hidetaka Uno, Shohei Kaneda, Teruo Fujii, Tsuneo Urisu, “2D Neural Network Formation Using Cell Cage Pattern—Microfluidic cell seeding” 第 74 回応用物理学会秋季学術講演会、同志社大学、京都 2013 年 9 月 17 日。
10. 宇野秀隆, 小林敬, 王志宏, 長岡靖崇, 西藤美穂, 鈴木好則, 村上真菜, 宇理須恒雄, “神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング素子のマイクロ流路制御系”、第 74 回応用物理学会秋季学術講演会同志社大学、京都 2013 年 9 月 17 日。
11. 宇理須恒雄 “神経細胞ネットワークのハイスループットスクリーニング素子開発—iPS 細胞技術の利用—”、第 7 回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋大学 2013 年 9 月 28 日。
12. 王志宏, 高田紀子, 宇野秀隆, 宇理須恒雄 「培養型プレーナーパッチクランプバイオセンサーにおける単一細胞マニピュレーションと電流測定」、第 72 回応用物理学会学術講演会、山形、2011 年 8 月 29 日～9 月 2 日
13. 高田紀子, 水谷伸雄, 青山正樹, 鈴木光一, 廣瀬義人, 王志宏, 宇理須恒雄 「両面エンボスと DXL による多チャンネル培養型プレーナーパッチクランプバイオセ

ンサー基板の製作」、第 72 回応用物理学会学術講演会、山形、2011 年 8 月 29 日～9 月 2 日

14. Obuliraju-Senthyl Kumar, 王志宏, 高田紀子, 鈴木光一, 宇理須恒雄 「PMMA 基板を用いた培養形プレーナーパッチクランプバイオセンサーによるイオンチャンネル電流の計測」、第 72 回応用物理学会学術講演会、山形、2011 年 8 月 29 日～9 月 2 日
15. 安藤あゆみ, 浅野豪文, 手老龍吾, 北野勝久, 宇理須恒雄, 浜口智志, 「大気圧プラズマによる神経細胞ネットワークチップ用細胞外マトリックス(ECM)パターニング」、第 27 回プラズマ核融合学会、北海道大学、2010 年 11 月 30 日-12 月 3 日。
16. 浅野豪文, 柴崎貢志, 宇野秀隆, 富永真琴, 宇理須恒雄 「培養プレーナーパッチクランプ法を用いた TRPV1 の再活性化のタイムラプス計測」、第 57 回応用物理学関係連合講演会、東海大学、2010 年 3 月 17 日。
17. 王志宏, 高田紀子, 矢野隆行, 鈴木光一, 宇野秀隆, 永廣武士, 浅野豪文, 宇理須恒雄 「多チャンネル培養型プレーナーパッチクランプバイオセンサーにおける細胞外マトリックスの自己整合印刷」第 57 回応用物理学関係連合講演会、東海大学、2010 年 3 月 17 日。
18. Z-G. Shang, Y-L. Mao, R. Tero, T. Hoshino, M. Tanaka, T. Urisu, "The mechanism of surface-induced phase separation in SPBs composed of GM1/SM/CHL on mica surface", 第 57 回応用物理学関係連合講演会、東海大学、2010 年 3 月 18 日。

<国際>

1. Tsuneo Urisu, "Development of Neural Network High Throughput Screening Device a human neurodegenerative disease model chip-", TNT Japan 2014, January 31, Tokyo.
2. Ayumi Ando, Toshifumi Asano, Hidetaka Uno, Ryugo Tero, Katsuhisa Kitano, Tsuneo Urisu and Satoshi Hamaguchi "Patterning of an extracellular matrix (ECM) layer on silicon by atmospheric-pressure plasmas for living neuron network chip fabrication" The 20th International Symposium on Plasma Chemistry (ISPC) , July 24-29, 2011, Philadelphia USA.
3. Tsuneo Urisu, "Incubation type planar patch clamp biosensor-Basic performances", 5th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies (BIOSTEC2012), Feb. 1-4, 2012. Algarve, Portugal.
4. T. Asano, Y. Fukazawa, R. Shigemoto, T. Ishizuka, H. Yawo and T.Urisu, "Planar Ion channel biosensor for neural network function analysis", 19th Academic Symposium of Materials Research Society of Japan (MRS-J), Kanagawa, Japan , 7-9 December (2009).

(2) 深澤グループ

<国内>

1. Parajuli L, Kulik A, 重本隆一, 深澤有吾(名古屋大学) 「R型電位依存性カルシウムチャンネル(Ca_v2.3)のマウス脳内微細局在」第 71 回日本解剖学会中部支部学術集会、名古屋、2011.10.9

(3) 石塚グループ

<国内>

1. 石塚徹, 「光受容イオンチャンネル・チャンネルロドプシンの構造-機能解析～オプトジェネティクスツールとしての最適化を目指して～」, 平成 24 年度日本薬学会東北支部第 11 回生物化学若手研究者セミナー, 仙台, 2012 年 9 月 8 日
2. 伊藤信, 酒井誠一郎, 上野賢一, 深澤有吾, 太田宏之, 石塚徹, 虫明元, 八尾寛(東北大学大学院生命科学研究所), 「中枢神経ネットワークモデルのオプトジェネティクス(光遺伝学)」, 日本薬理学会第 132 年会企画シンポジウム「光が切り開く新しい薬理学」、札幌、2012 年 3 月 30 日
3. 浅野豪文, 石塚徹, 八尾寛, 「オプトジェネティクスを用いた培養骨格筋の光操作」、生体情

報インターフェース創生のためのフォトニクス研究-共同プロジェクト研究会、仙台、2011年12月13日

4. 八尾寛、石塚徹、「神経細胞活動の光制御」、電子情報通信学会技術研究報告「MEとバイオサイバネティクス」、仙台、2011年11月24日
5. 浅野豪文、石塚徹、八尾寛、「チャンネルロドプシンを用いた光刺激による筋収縮制御」、第1回オプトジェネティクス講習会、仙台、2011年9月23日
6. 八尾寛、温磊、酒井誠一郎、王紅霞、谷本早希、江川遼、石塚徹、「Resonant rhythms generated by neurons and network - opto-current-clamp with optimized channelrhodopsins」、第84回日本生化学会大会、京都、2011年9月21日
7. 石塚徹、「チャンネルロドプシン-構造機能連関解析に基づくオプトジェネティクスツールとしての最適化とその応用-」、第23回蔵王カンファレンス、山形、2011年1月28日
8. 八尾寛、王紅霞、温磊、酒井誠一郎、石塚徹、「チャンネルロドプシン構造-機能連関解析にもとづく次世代オプトジェネティクス」、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会、神戸、2010年12月8日
9. 八尾寛、王紅霞、温磊、酒井誠一郎、伊藤信、石塚徹、「最適化チャンネルロドプシンを用いたオプト・カレントクランプによる中枢神経ニューロンの動的応答特性」、第87回日本生理学会大会、盛岡、2010年5月21日
10. 石塚徹、「チャンネルロドプシンの構造-機能連関解析とオプトジェネティクスへの応用」、第37回薬物活性シンポジウム、仙台、2009年10月10日

<国際>

1. Ishizuka T (Tohoku Univ), Modification of ion selectivity in channelrhodopsins, Channelrhodopsins *et al.* Optogenetic Tools & Applications, 2014 Conference, Würzburg, Germany, September 28-October 1, 2014.

(4) 木村グループ

<国内>

1. 木村哲就、古谷祐詞「低収量生体分子の時間分解分光計測を目指した新規溶液交換・混合装置の開発」日本生物物理学会第50回年会、名古屋大学（愛知県）、2012年9月22-24日
2. Hao Guo, 木村哲就、古谷祐詞, “Orientation-controlled immobilization of *pharaonis* halorhodopsin onto gold revealed by SEIRAS.” 日本生物物理学会第50回年会、名古屋大学（愛知）、2012年9月22-24日
3. 木村哲就、道喜慎太郎、石谷隆一郎、濡木理、古谷祐詞「全反射赤外分光法によるMg²⁺輸送体MgtEのイオン選択およびゲーティング機構の解析」第39回生体分子科学討論会、東北大学（宮城県）、2012年6月8-9日
4. 稲熊あすみ、塚本寿夫、木村哲就、石塚徹、八尾寛、古谷祐詞、「ほ乳培養細胞におけるチャンネルロドプシントタンパク質の発現系の確立および全反射フーリエ変換赤外分光法による構造変化解析」、2011年度日本生物物理学会中部支部講演会、名古屋大学野依記念学術交流館（名古屋）、2012年3月19日
5. 木村哲就、道喜慎太郎、石谷隆一郎、濡木理、古谷祐詞「全反射赤外分光法によるMg²⁺輸送体MgtEのイオン選択機構の解析」生体エネルギー研究会第37回討論会、京都産業大学神山ホール（京都）、2011年12月20-22日
6. 木村哲就、道喜慎太郎、石谷隆一郎、濡木理、古谷祐詞「全反射赤外分光法によるMg²⁺輸送体MgtEのイオン選択機構の解析（Ion-selective mechanism of Mg²⁺ transporter MgtE studied by attenuated total reflection FTIR spectroscopy.）」日本生物物理学会第49回年会、兵庫県立大学姫路書写キャンパス（兵庫）、2011年9月16-18日
7. Hao Guo, 木村哲就、古谷祐詞「島状の金薄膜におけるハロロドプシン単分子層のSEIRA

分光法」日本生物物理学会第 49 回年会、兵庫県立大学姫路書写キャンパス（兵庫）、2011 年 9 月 16-18 日

8. 古谷祐詞, 村田武士, 神取秀樹「全反射型赤外分光法による V 型 ATPase の Na⁺および Li⁺イオンの結合解離に伴う構造変化解析」第 38 回生体分子科学討論会、筑波大学（茨城県）、2011 年 6 月 23-24 日
9. 木村哲就、神取秀樹、古谷祐詞、「時間分解 FTIR 差スペクトル計測によるファラオニスハロロドプシンの陰イオン輸送過程での構造変化解析」、第 36 回日本生体エネルギー研究会、2010 年 11 月 18-20 日、吹田（大阪大学銀杏会館）
10. Testunari Kimura, Hideki Kandori and Yuji Furutani, “Conformational Changes upon Chloride-ion Pumping During the *pharaonis* Halorhodopsin Photocycle Studied by Time-resolved FTIR Spectroscopy”, 日本生物物理学会第 48 回年会, 東北大学川内キャンパス(仙台)、2010 年 9 月 20-22 日

③ ポスター発表 (国内会議 87 件、国際会議 47 件)

(1) 宇理須グループ

<国内>

1. 宇野秀隆, 王志宏, 小林啓, 長岡靖崇, 西藤美穂, 鈴木好則, 佐藤嗣紀, 藪谷誠, 鈴井光一, 宇理須恒雄、「神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング装置の開発と疾患モデルチップへの応用」、ナノ学会第 12 回大会、京都大学 おおぼくプラザ、2014 年 5 月 22 日
2. 長岡靖崇、Wang Zhi-hong、西藤美穂、宇野秀隆、楠本康司、村上真菜、鈴木好則、深沢有吾、小松由紀夫、宇理須恒雄、「神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング素子の開発」ナノ学会第 11 回大会、東京工業大学大岡山キャンパス 2013 年 6 月 6 日。
3. 宇理須恒雄 「神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング装置—疾患モデルチップ—の開発」CREST 公開シンポジウム、東京国際展示場、2014 年 1 月 29 日
4. 宇理須恒雄 「iPS 細胞技術を利用した人疾患モデルチップの開発」、中部地区医療・バイオ系シーズ発表会、名古屋、2013 年 12 月 12 日。
5. 宇野秀隆, 石塚徹, 八尾寛, 宇理須恒雄, 「塩橋電極を用いた培養型平面パッチクランプバイオセンサのノイズ特性の改善」、ナノ学会第 10 回大会, 大阪大学, 2012 年 6 月 15 日。
6. 王志宏, 高田紀子, 宇野秀隆, 宇理須恒雄 「流路化培養型プレーナーパッチクランプバイオセンサーによるホールセルチャンネル電流測定」、ナノ学会第 9 回大会, 札幌、2011 年 6 月 2-4 日。
7. 高田紀子, 王志宏, 青山正樹, 水谷伸雄, 鈴井光一, 廣瀬義人, 内海裕一, 宇理須恒雄 「培養型多チャンネルプレーナーパッチクランプ素子用プラスチック (PMMA 基板) の開発」、ナノ学会第 9 回大会, 札幌、2011 年 6 月 2-4 日
8. 高田紀子、水谷伸雄、青山正樹、鈴井光一、内海裕一、宇理須恒雄、「多チャンネル神経細胞ネットワーク素子の開発」先端ナノバイオフィオーラム、姫路キャスパーホール、2010 年 11 月 15 日。
9. 王志宏, 宇野秀隆, 宇理須恒雄, “Cell positioning using microfluidics for multichannel incubation type planer patch clamp biosensor”, 先端ナノバイオフィオーラム、姫路キャスパーホール、2010 年 11 月 15 日。
10. 高田紀子, 青山正樹, 鈴井光一, 八須洋輔, 大森整, 銘苺春隆, 中尾聡, 宇理須恒雄、「多チャンネル培養型プレーナーパッチクランプバイオセンサーのプラスチック基板開発」、第 71 回応用物理学会学術講演会、長崎大学、2010 年 9 月 14 日-17 日。
11. 宇野秀隆、石塚徹、八尾寛、宇理須恒雄、「培養型プレーナーパッチクランプ素子内での

初代神経細胞培養と C hR 2 遺伝子導入」、第71回応用物理学会学術講演会、長崎大学、2010年9月14日-17日

12. 王志宏, 高田紀子, 矢野隆行, 鈴木光一, 宇野秀隆, 宇理須恒雄、「多チャンネル培養型プレーナーパッチクランプバイオセンサーにおけるマイクロ流路を用いた細胞外マトリックスパタン形成」、第71回応用物理学会学術講演会、長崎大学、2010年9月14日-17日。
13. 藤原邦代、深澤有吾、宇理須恒雄、「神経信号伝達機構インビトロ解析のための 神経細胞ネットワーク形成制御」、第71回応用物理学会学術講演会、長崎大学、2010年9月14日-17日
14. 高田紀子, 青山正樹, 鈴木光一, 八須洋輔, 大森整, 銘苺春隆, 中尾聡, 宇理須恒雄「多チャンネル培養型プレーナーパッチクランプバイオセンサーのプラスチック基板開発」、第8回ナノ学会大会、岡崎、2010年、5月13日-15日。
15. 浅野豪文, 深澤有吾, 重本隆一, 石塚徹, 八尾寛, 宇理須恒雄, 「タンパク質パターンニングによる神経回路網の形成と光刺激法の開発」, 第 29 回表面科学学術講演会, タワーホール船堀, 2009年10月27日-29日。
16. 高田紀子, 青山正樹, 鈴木光一、「ホットエンボス加工を用いたバイオセンサー用アクリル基板の製作」、高エネルギー加速器研究機構・技術セミナー、2010年3月18日。
17. 宇野秀隆、石塚徹、八尾寛、宇理須恒雄、「Channelrhodopsin-2 発現細胞を用いた培養型プレーナーイオンチャンネルバイオセンサー内の興奮誘発の光学制御」、岡崎コンファレンスセンター、岡崎、2010年3月23, 24日
18. 浅野豪文, 深澤有吾, 重本隆一, 石塚徹, 八尾寛, 宇理須恒雄、「ロドプシンを用いた光神経回路網解析デバイスの開発」岡崎コンファレンスセンター、岡崎、2010年3月23, 24日

<国際>

1. Zhi-Hong Wang, Noriko Takada, Hidetaka Uno, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, Tsuneo Urisu “Cell manipulation and current measurement using cell trapping pattern in incubation type planar patch clamp biosensor” International Symposium on Innovative Nano-biodevices, Nagoya University, Nagoya, Mar 21-22, 2012.
2. H. Uno, Z. Wang, O. Kumar, N. Takada, T. Ishizuka, H. Yawo and T. Urisu, “Improvement of noise properties in incubation-type planar patch clamp biosensor by using salt bridge electrodes”, International Symposium on Innovative Nanobiodevices (ISIN2012), Aichi, Japan, 21-22 March (2012).
3. Senthilkumar Obuliraj, Zhihong Wang, Noriko Takada, Masaki Aoyama, Mitsukazu Suzui, Yoshito Hirose, Yuichi Utsumi and Tsuneo Urisu, “Whole cell recording using an incubation type planar patch-clamp with PMMA chip formed by both-side embossing”, Int. Symp. On Innovative Nanobio devices, Nagoya Univ., Japan, Mar 21-22, 2012.
4. O. Senthilkumar, Z. Wang, N. Takada, M. Aoyama, M. Suzui, Y. Hirose, Y. Utsumi and T. Urisu, ‘Incubation Type Planar Patch Clamp Biosensor with PMMA Substrate for Ion Channel Current Measurement’, 5th Int. Symp. on Nanomedicine, Nagoya Univ., Japan March 15-17, 2012
5. Zhi-Hong Wang, Noriko Takada, Hidetaka Uno, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, Tsuneo Urisu “Positioning of the sensor cell on the sensing area using cell trapping pattern in incubation type planar patch clamp biosensor”, 5th International Symposium of Nanomedicine, March 15-17, 2012, Nagoya, Japan.
6. H. Uno, Z. Wang, O. Kumar, N. Takada, T. Ishizuka, H. Yawo and T. Urisu, “Improvement of noise properties in incubation-type planar patch clamp biosensor by using salt bridge electrodes”, 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2011), Aichi, Japan, March 15-17, 2012.
7. Ayumi Ando, Hidetaka Uno, Katsuhisa Kitano, Tsuneo Urisu, Satoshi Hamaguchi, “Arrangement of PC12 cells on extra cellular matrix (ECM) layer patterned by atmospheric pressure plasmas”, The 8th EU-Japan Joint Symposium on Plasma Processing (JSP2012), January 16-18, 2012, Nara, Japan. .

8. Ayumi Ando, Toshifumi Asano, Ryugo Tero, Katsuhisa Kitano, Tsuneo Urisu and Satoshi Hamaguchi "Extracellular matrix patterning by atmospheric pressure plasma jet", ICRP-7, Paris, France, October 4-8, 2010.
9. Noriko Takada, Nobuo Mizutani, Masaki Aoyama, Mitsukazu Suzui, Tsuneo Urisu, "Development of multi-channel incubation-type planer patch clamp biosensor using plastic substrate", 4th International Symposium of Nanomedicine, Okazaki, Japan, November 29-December 1, 2010.
10. Hidetaka Uno, "Cultivation of primary culture cells and gene transfer of ChR2 in the incubation type planar patch clamp device" 4th International Symposium of Nanomedicine, Okazaki, Japan, November 29-December 1, 2010.
11. Zhi-Hong Wang, "Cell positioning using microfluidics for multichannel incubation type planar patch clamp biosensor", 4th International Symposium of Nanomedicine, Okazaki, Japan, November 29-December 1, 2010.
12. Mashiur Rahman, "Excitation of ChRWR-Ve by optical fiber guided laser beam and detection of ion-channel current by the incubation type planar patch clamp system", 4th International Symposium of Nanomedicine, Okazaki, Japan, November 29-December 1, 2010.
13. Z-G. Shang, Y-L. Mao, R. Tero, T. Hoshino, M. Tanaka, T. Urisu, "Structural study of supported lipid bilayers composed of GM1/SM/Chol on mica surfaces with molecule dynamics". The annual meeting of Asian CORE Program, 28 February-2 March 2010, Taipei, Taiwan.
14. H. Uno, T. Ishizuka, H. Yawo, T. Urisu, "Optical Control of Excitable Cells Embedded on the Planer Type Ionchannel Biocensor Using Channelrhodopsin-2", 3rd International Symposium on Nanomedicine (ISNM2009-2), Okazaki, 4-6 November, 2009.
15. T. Asano, Y. Fukazawa, R. Shigemoto, T. Ishizuka, H. Yawo and T. Urisu, "Cell patterning by optimized extracellular matrix pattern on the micropore-electrode of planar ion channel biosensor" 3rd International Symposium on Nanomedicine (ISNM2009-2) and -Molecular Imaging and Systems Biology-, Aichi, Japan, 4-6 November, 2009.

(2) 深澤グループ

<国内>

1. 篠田友靖、長坂新、岡本麻友美、宮田卓樹、深澤有吾、樋口亮、長山雅晴、三浦岳(2014.10.10) 「神経系前駆細胞偽重層化構造の維持機構」 日本解剖学会第74回中部支部学術集会プログラム(金沢)
2. Yoshifumi Abe, Masaki Sekino, Ryota Imaoka, Hiroyuki Ohsaki, Yasushi Terazono, Shoji Oda, Hiroshi Mitani, Yugo Fukazawa, Hiromu Yowo, Tatsuhiro Hisatsune (2013.6.21) "The decrease in CA3 BOLD response after the optic stimulation of the dentate gyrus in ChR2-expressing rats suffered from the radiation exposure". 36th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Kyoto, Japan)
3. 深澤有吾、藤本豊士 (2013.3.30) 「急速凍結-凍結切断レプリカ標識法を用いた神経細胞膜上PIP2分布とその活動依存的再編」 第118回日本解剖学会全国学術集会(香川)
4. Fukazawa Y (2012.11.15-16) "In situ localization of various lipids in neuronal plasma membranes" Global COE 4th International Symposium on Neuro-Tumor Biology and Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan.
5. Fukazawa Y (2012.9.21) In situ localization of membrane lipids in neuronal plasma membrane. 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Nagoya, Japan)
6. Kuki T, Ohshiro T, Fukazawa Y, Matsuzaka K, Yawo h, Muchiake H (2012.9.20) Analysis of the high frequency activity during the up state of optogenetically entrained neocortical slow oscillation in the anesthetized rat cortex. 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Nagoya, Japan)
7. Ji Z, Honjoh T, Ishizaka T, Fukazawa Y Yawo H (2012.9.20) Optogenic actuation of trigeminal mechanoreceptive neurons from Thy1-ChR2 rat. 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Nagoya, Japan)
8. Matsui K, Sasaki T, Beppu K, Tanaka K, Fukazawa Y, Shigemoto R (2012.9.19) Neural activity and behavior driven by astrocytes. 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Nagoya, Japan)

9. Ahmed H, Kawakami R, Fukazawa Y, Shigemoto R “Right-hemispheric dominance of dentate granular cell c-fos expression after spatial exploration in split-brain mice”. 第 33 回日本神経科学大会、横浜、2011.9
10. Kurita H, Fukazawa Y, Ageta-Ishihara N, Shigemoto R, Kinoshita M “Ultrastructural localization analysis of septins in mammalian nervous system”. 第 33 回日本神経科学大会、横浜、2011.9
11. Kuki T, Matuzaka Y, Fukazawa Y, Yawo H, Muchiaki H “Analysis of functional connectivity among cortical layers during optogenetically induced perturbations”. 第 33 回日本神経科学大会、横浜、2011.9
12. Parajuli LK, Fukazawa Y, Shigemoto R “Presynaptic localization of R-type calcium channel in the interpeduncular nucleus”. 第 33 回日本神経科学大会、横浜、2011.9
13. Ageta-Ishihara N, Hagiwara A, Kurita H, Morita T, Tominaga T, Fukazawa Y, Shigemoto R, Kinoshita M “Exploring functions of the septin cytoskeleton in the formation and remodeling of neuroglial network”. 第 33 回日本神経科学大会、神戸、2010.9
14. Parajuli KP, Fukazawa Y, Kulik A, Shigemoto R “Regional and subcellular distribution of the $\alpha 1E$ subunit of voltage-gated calcium channel in the adult mouse brain”. 第 33 回日本神経科学大会、神戸、2010.9
15. Tabuchi S, Tsunematsu T, Tominaga M, Fukazawa Y, Yamanaka A “Orexin 2 receptor positively regulates the activity of orexin neurons”. 第 33 回日本神経科学大会、神戸、2010.9
16. Ji Z, Ishizuka T, Fukazawa Y, Shigemoto R, Yawo H Characterization of DRG neuron subpopulations selectively expressing Chr2 in Thy-1.2 transgenic rat”. 第 33 回日本”神経科学大会、神戸、2010.9
17. Matsui K, Budisantoso T, Kamasawa N, Fukazawa Y, Shigemoto R “Presynaptic, postsynaptic, and morphological determinants of signal transmission at the retinogeniculate synapse”. 第 33 回日本神経科学大会、神戸、2010.9

<国際>

1. Aziz W, Wang W, Fukazawa Y, Shigemoto R “Structural correlate of long-term motor memory formation in cerebellar cortex of mice”. 8th IBRO world congress of neuroscience、Florence, Italy、2011.7
2. Shigemoto R, Ahmed H, Kawakami H, Fukazawa Y, “Right hemisphere dominance of dentate granule cell activation after exploration of novel environment in wild-type and *iv* mutant mice”. 8th IBRO world congress of neuroscience、Florence, Italy、2011.7
3. Kulik A, Fukazawa Y, Shigemoto R, Frotscher M, Vida I. “GABA(B) receptor activity dynamically regulates surface expression of Kir3 channels”. FENS2010, Amsterdam, Netherland、2010.7
4. Prezeau L, Rives ML, Fukazawa Y, Tinel N, Trinquet E, Ayoub M, Shigemoto R, Pin JP “Cross-regulation between GABAB and mGlu1a receptors reveals new insight into signal integration between GPCRs”. FENS2010, Amsterdam, Netherland、2010.7
5. Kulik A, Fukazawa Y, Shigemoto R, Frotscher M, Vida I “GABA(B) receptor activity dynamically regulates expression of Kir3 channels”. Neuroscience2010、SanDiego, USA、2010.11
6. Szabadits E, Szónyi A, Cserep C, Fukazawa Y, Watanabe M, Shigemoto R, Freund TF, Nyiri G “NMDA receptors in hippocampal GABAergic synapses”. Neuroscience2010、SanDiego, USA、2010.11
7. Shigemoto R, Aziz W, Fukazawa Y, Wang W, Tarusawa E “Structural changes at parallel fiber-Purkinje cell synapses after long-term adaptation of horizontal optokinetic response in mice”. Neuroscience2010、SanDiego, USA、2010.11
8. Tabuchi S, Tsunematsu T, Fukazawa Y, Tominaga M, Yamanaka A “Orexin neurons are directly and indirectly activated by orexin through the orexin 2 receptor”. Neuroscience2010、SanDiego, USA、2010.11

(3) 石塚グループ

<国内>

1. Zamani A, Ishizuka T, Yawo H, Light-induced membrane depolarization by two-component optogenetics, 16th International Conference on Retinal Proteins, Nagahama, Japan, October 5-10, 2014.

2. Hososhima S, Ishizuka T, Yawo H, Bi-stable variants of chimeric channelrhodopsins: kinetics-dependent activation of neurons, 16th International Conference on Retinal Proteins, Nagahama, Japan, October 5-10, 2014.
3. 江川遼, 細島頌子, 石塚徹, 八尾 寛, ニワトリ胚毛様体神経節における軸索再編成の発達期コネクティブ研究, 第 37 回日本神経科学大会, 横浜, 2014 年 9 月 11-13 日
4. 加藤秀理, 江川遼, 細島頌子, 石塚徹, 八尾寛, ニワトリ胚毛様体神経節の発達期におけるカスパーゼ 6 依存的なシナプスモデリング, 第 37 回日本神経科学大会, 横浜, 2014 年 9 月 11-13 日
5. 五十嵐敬幸, 小泉協, 金子涼輔, 柳川右千夫, 村松慎一, 石塚徹, 八尾寛, 赤色蛍光タンパク質を Cre-loxP コンディショナルに発現するレポーターラット, 第 37 回日本神経科学大会, 横浜, 2014 年 9 月 11-13 日
6. 細島頌子, 石塚徹, 八尾寛, キメラチャネルロドプシンの双安定性, 第 91 回日本生理学会大会, 鹿児島, 2014 年 3 月 16-18 日
7. Daniel Teh Boon Loong, 石塚徹, 八尾寛, Involvement of Cav1.2 and Cav1.3, L-type Ca²⁺ channel subclasses in postnatal neurogenesis, 第 36 回日本神経科学大会・第 56 回日本神経化学学会大会・第 23 回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2013), 京都, 2013 年 6 月 20-23 日
8. 江川遼, 細島頌子, 侯旭濱, 加藤秀理, 石塚徹, 仲村春和, 八尾寛, ニワトリ胚毛様体神経節杯状シナプス前終末における光遺伝学的操作・計測, 第 36 回日本神経科学大会・第 56 回日本神経化学学会大会・第 23 回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2013), 京都, 2013 年 6 月 20-23 日
9. 三嶋孝知, 八尾寛, 石塚徹, 齒状回門苔状細胞のバースト活動を光で誘導する, 第 36 回日本神経科学大会・第 56 回日本神経化学学会大会・第 23 回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2013), 京都, 2013 年 6 月 20-23 日
10. 本城達也, 住吉晃, 横山超一, 姫志剛, 石塚徹, 川島隆太, 八尾寛, オプトジェネティクスを用いたウイスカ光触覚刺激とバレル野応答解析, 第 90 回日本生理学会大会, 東京, 2013 年 3 月 27-29 日
11. 江川遼, 細島頌子, 谷本早希, 石塚徹, 仲村春和, 八尾寛, フレキシブルな遺伝子操作が可能なプレシナプス研究プラットフォームの確立, 第 90 回日本生理学会大会, 東京, 2013 年 3 月 27-29 日
12. 細島頌子, 石塚徹, 八尾寛, Optogenetic manipulation of presynaptic activity in chick ciliary ganglion during synapse elimination, 第 90 回日本生理学会大会, 東京, 2013 年 3 月 27-29 日
13. 三嶋孝知, 石塚徹, 八尾寛, 苔状繊維におけるオプトジェネティクスを利用したバースト活動の誘導, 第 90 回日本生理学会大会, 東京, 2013 年 3 月 27-29 日
14. 浅野豪文, 石塚徹, 八尾寛, オプトジェネティクスを用いた筋細胞機能の光操作, 「細胞を創る」研究会 5.0, 横浜市, 2012 年 11 月 21-22 日
15. Hososhima S, Ishizuka T, Yawo H, Optogenetic manipulation of presynaptic activity in the ciliary ganglion of chick embryo, 7th International chick meeting, Nagoya, Japan, November 14-18, 2012.
16. 大沢伸一郎, 岩崎真樹, 保坂亮介, 松坂義哉, 富田浩史, 石塚徹, 菅野江里子, 奥村栄一, 八尾寛, 中里信和, 富永悌二, 虫明元, 光感受性イオンチャンネルを用いた新しい海馬てんかん発作モデル, 第 46 回日本てんかん学会, 東京, 2012 年 10 月 11-12 日
17. 本城達也, 姫志剛, 石塚徹, 八尾寛, オプトジェネティクスを用いた光によるウイスカへの触覚刺激, 第 50 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2012 年 9 月 22-24 日
18. 姫志剛, 本城達也, 石塚徹, 深澤有吾, 八尾寛, Optogenetic actuation of trigeminal mechanoreceptive neurons from the Thy1-ChR2V rat, 第 35 回日本神経科学大会, 名古屋, 2012 年 9 月 18-21 日
19. 本城達也, 姫志剛, 石塚徹, 八尾寛, Whisker photostimulation induces spike and LFP

- responses in barrel cortex of ChR2 transgenic rat, 第35回日本神経科学大会, 名古屋, 2012年9月18-21日
20. Daniel Teh Boong Loong, 石塚徹, 八尾寛, Involvement of L-type Ca^{2+} channels in the postnatal neurogenesis, 第35回日本神経科学大会, 名古屋, 2012年9月18-21日.
 21. 浅野豪文, 石塚徹, 八尾寛, 「チャンネルロドプシンを発現した骨格筋管細胞における筋活動の光制御」、第50回日本生物物理学会年会、名古屋、2012年9月22-24日
 22. 酒井誠一郎, 上野賢一, 石塚徹, 八尾寛, 「多点光刺激システムによる海馬神経活動の光操作」, 2012年度包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ, 仙台, 2012年7月24-27日
 23. 江川遼, 細島頌子, 谷本早希, 石塚徹, 仲村春和, 八尾寛, 「プレシナプスの機能形態発達研究を加速させる次世代モデルシステムの確立」, 2012年度包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ, 仙台, 2012年7月24-27日
 24. 姫志剛, 本城達也, 石塚徹, 八尾寛, 「Optogenetic actuation of trigeminal mechanoreceptive neurons from the Thy1-ChR2V rat」, 2012年度包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ, 仙台, 2012年7月24-27日
 25. Daniel Teh Boon Loong, 石塚徹, 八尾寛, 「Involvement of L-type Ca^{2+} channels in the postnatal neurogenesis」, 2012年度包括型脳科学研究推進支援 ネットワーク夏のワークショップ, 仙台, 2012年7月24-27日
 26. 太田宏之, 酒井誠一郎, 伊藤信, 石塚徹, 深澤有吾, 煙山健仁, 晝間恵, 虫明元, 佐藤義明, 八尾寛, 西田育弘, 「海馬における逆行的可塑性」, 第89回日本生理学会大会, 松本, 2012年3月29-31日
 27. 大沢伸一郎, 岩崎真樹, 保坂亮介, 松坂義哉, 富田浩史, 石塚徹, 八尾寛, 中里信和, 虫明元, 富永悌二, 「オプトジェネティクスを用いた新たなけいれんモデル」, 第89回日本生理学会大会, 松本, 2012年3月29-31日
 28. 酒井誠一郎, 上野賢一, 石塚徹, 八尾寛, 「多点独立光刺激装置 MiLSS を用いたニューロン活動の双方向性パターン制御」, 第89回日本生理学会大会, 松本, 2012年3月29-31日
 29. 浅野豪文, 石塚徹, 八尾寛, 「光収縮制御可能な培養筋細胞の開発」, 第33回日本バイオマテリアル学会大会, 京都, 2011年11月21日
 30. Daniel Teh Boon Loong, 横瀬淳, 王紅霞, 酒井誠一郎, 石塚徹, 八尾寛, 「APACOP, a FRET apoptosis probe with manipulation of neuronal activity」, 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月14-17日
 31. 谷本早希, 杉山友香, 石塚徹, 八尾寛, 「チャンネルロドプシンのイオン透過に関与する分子の解析」, 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月14-17日
 32. 本城達也, 石塚徹, 八尾寛, 「オプトジェネティクスを用いたラット海馬の活動促進」, 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月14-17日
 33. 梅田圭子, 東海林互, 酒井誠一郎, 石塚徹, 八尾寛, 「Rohon-Beard ニューロン特異的に改変型チャンネルロドプシンを発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ: 光刺激で逃避行動を引き起こす」, 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月14-17日
 34. 横瀬淳, 石塚徹, 八尾寛, 「海馬スライス培養における新生ニューロンの活動依存的生存評価のための新規光遺伝学プローブ」, 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月14-17日
 35. 酒井誠一郎, 石塚徹, 八尾寛, 「海馬 CA3 錐体細胞樹状突起の周波数応答特性: チャンネルロドプシンによるオプト-カレントクランプ解析」, 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011年9月14-17日
 36. 姫志剛, 石塚徹, 深澤有吾, 重本隆一, 八尾寛, 「Thy1.2 プロモーター制御下にチャンネルロドプシン2を発現するトランスジェニックラットの後根神経節における発現解析」, 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会, 神戸, 2010年9月2-4日
 37. 江川遼, 谷本早希, 細島頌子, 侯旭濱, 酒井誠一郎, 石塚徹, 仲村春和, 八尾寛, 「ニワトリ

胚毛様体神経節杯状シナプス前終末への遺伝子導入手法の確立」、第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会合同大会、神戸、2010 年 9 月 2-4 日

38. 今野歩、本城達也、石塚徹、八尾寛、「抗体提示型シンドビスウイルスを用いたニューロン種特異的な膜タンパク質を介した遺伝子導入法」、第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会合同大会、神戸、2010 年 9 月 2-4 日
39. 今野歩、本城達也、石塚徹、八尾寛、「抗体提示型シンドビスウイルスを用いた特異的遺伝子導入法」、第 87 回日本生理学会大会、盛岡、2010 年 5 月 19-21 日
40. 江川遼、谷本早希、細島頌子、侯旭濱、酒井誠一郎、石塚徹、仲村春和、八尾寛、「新規開口放出プローブ VAMP-mOrange を用いたニワトリ毛様体神経節杯状シナプス前終末における開口放出の光学計測」、第 87 回日本生理学会大会、盛岡、2010 年 5 月 19-21 日
41. 谷本早希、石塚徹、八尾寛、「チャネルロドプシン2の Glu97 と Glu101 の変異は光電流を小さくする」、第 87 回日本生理学会大会、盛岡、2010 年 5 月 19-21 日
42. 梅田桂子、東海林互、石塚徹、八尾寛、「コンディショナルに改変型チャネルロドプシンを発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ: Rohon-Beard ニューロンのオプトジェネティクス」、第 87 回日本生理学会大会、盛岡、2010 年 5 月 19-21 日
43. 温磊、王紅霞、石塚徹、八尾寛、「改変型チャネルロドプシン (Channelrhodopsin Green Receiver)を用いたマウス運動野ニューロンの光刺激」、第 87 回日本生理学会大会、盛岡、2010 年 5 月 19-21 日

〈国際〉

1. Hososhima S, Ishizuka T, Yawo H, “Optogenetic manipulation of presynaptic activity in the chick ciliary ganglion during embryonic synaptogenesis”, NIH-Tohoku University-JSPS International Symposium on Cutting Edge Biomedical Research: The 2nd Year Anniversary of the Great East Japan Earthquake; Present and Future, Sendai, Japan, May 9-11, 2013.
2. Honjoh T, Sumiyoshi A, Yokoyama Y, Ji ZG, Ishizuka T, Kawashima R, Yawo H, “Optogenetic whisker stimulation induces electrophysiological and fMRI responses in rat barrel cortex”, NIH-Tohoku University-JSPS International Symposium on Cutting Edge Biomedical Research: The 2nd Year Anniversary of the Great East Japan Earthquake; Present and Future, Sendai, Japan, May 9-11, 2013.
3. Teh DB, Ishizuka T, Yawo H, Effect of L-type Ca^{2+} channel subclasses activity in adult postnatal neurogenesis, NIH-Tohoku University-JSPS International Symposium on Cutting Edge Biomedical Research: The 2nd Year Anniversary of the Great East Japan Earthquake; Present and Future, Sendai, Japan, May 9-11, 2013.
4. Sakai S, Ueno K, Ishizuka T, Yawo H, Parallel and patterned optogenetic manipulation of neurons in the brain slice using a DMD-based projector, 42nd annual meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2012), New Orleans, LA, USA, October 13-17, 2012.
5. Ji ZG, Ito S, Honjoh T, Ohta H, Ishizuka T, Fukazawa Y, Yawo H, Light-induced touch-pressure sense of transgenic rats that express channelrhodopsin-2 in dorsal root ganglion cells, 42nd annual meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2012), New Orleans, LA, USA, October 13-17, 2012.
6. Egawa R, Hososhima S, Tanimoto S, Ishizuka T, Nakamura H, Yawo H, An experimental platform for the study of presynaptic development, morphology and physiology - gene manipulation of the vertebrate model synapse, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting “Axon Guidance, Synapse Formation and Regeneration”, Cold Spring Harbor, NY, USA, September 18-22, 2012.
7. Tatsuya Honjoh, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “Optogenetic enhancement of synaptic network of rat hippocampus *in vivo*”, 8th IBRO World Congress of Neuroscience, July 14-18, 2011, Florence, Italy.
8. Saki Tanimoto, Hongxia Wang, Yuka Sugiyama, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “The molecular determinants involved in ion flux regulation of channelrhodopsins”, 8th IBRO World Congress

- of Neuroscience, July 14-18, 2011, Florence, Italy.
9. Seiichiro Sakai, Kenichi Ueno, Tatsuya Honjoh, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “Patterned optical activation of channelrhodopsin-expressing neurons and neural circuits: Multi-independent light stimulation system (MiLSS)”, 8th IBRO World Congress of Neuroscience, July 14-18, 2011, Florence, Italy.
 10. Jun Yokose, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “Simultaneous monitoring the caspase-activity under optogenetic actuation: a versatile probe for the study of activity-dependent neurogenesis”, 8th IBRO World Congress of Neuroscience, July 14-18, 2011, Florence, Italy
 11. Keiko Umeda, Wataru Shoji, Seiichiro Sakai, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “Optogenetic stimulation of transgenic zebrafish expressing an optimized channelrhodopsin variant”, 8th IBRO World Congress of Neuroscience, July 14-18, 2011, Florence, Italy.
 12. Jun Yokose, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “The fate-determinants of adult newborn neurons; monitoring the caspase activities and optogenetic control at single-cell level”, 1st Tohoku International Symposium on Multidisciplinary Neuroscience, Sendai, Japan, Jan. 21-23, 2011
 13. Saki Tanimoto, Honxia Wang, Yuka Sugiyama, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “The Glu-97 mutation of channelrhodopsin-2 attenuates its photocurrent”, 1st Tohoku International Symposium on Multidisciplinary Neuroscience, Sendai, Japan, Jan. 21-23, 2011
 14. Lei Wen, Hongxia Wang, Saki Tanimoto, Ryo Egawa, Yoshiya Matsuzaka, Hajime Mushiake, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “Opto-current-clamp actuation of cortical neurons using a strategically designed channelrhodopsin”, 1st Tohoku International Symposium on Multidisciplinary Neuroscience, Sendai, Japan, Jan. 21-23, 2011
 15. Seiichiro Sakai, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “Layer specific properties of hippocampal CA3 dendrites”, 1st Tohoku International Symposium on Multidisciplinary Neuroscience, Sendai, Japan, Jan. 21-23, 2011
 16. Ayumu Konno, Tatsuya Honjo, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo, “Antibody-directed gene delivery with Sindbis viral vectors displaying the IgG-binding domain of protein A”, 1st Tohoku International Symposium on Multidisciplinary Neuroscience, Sendai, Japan, Jan. 21-23, 2011
 17. Jun Yokose, Takeshi Yoshida, Jun Aoki, Toru Ishizuka, Yoshio Koyanagi, Hiromu Yawo, “Tracking the fate of a newly generated cell and lineage construction in organotypic hippocampal slice culture”, Adult Neurogenesis: Structure and Function, Frauenchiemsee, Germany, May 27-30, 2010

(4) 木村グループ

<国内>

1. 藤原邦代、木村哲就、菊川峰志、出村誠、神取秀樹、古谷祐詞、「時間分解赤外分光法によるファラオニスハロドロプシンの機能発現過程での水の水素結合ダイナミクス」、日本生物物理学会第50回年会、名古屋大学（愛知）、2012年9月22-24日
2. 稲熊あすみ、塚本寿夫、木村哲就、石塚徹、八尾寛、古谷祐詞、「全反射赤外分光法によるキメラチャネルロドプシンの構造変化解析」、日本生物物理学会第50回年会、名古屋大学（愛知）、2012年9月22-24日
3. 藤原邦代、木村哲就、菊川峰志、出村誠、神取秀樹、古谷祐詞、「pHRのイオン輸送過程で変化する水の時間分解赤外スペクトル解析」、2011年度日本生物物理学会中部支部講演会、名古屋大学野依記念学術交流館（名古屋）、2012年3月19日
4. 木村哲就、道喜慎太郎、石谷隆一郎、濡木理、古谷祐詞「全反射赤外分光法による Mg²⁺輸送体 MgtE のイオン選択機構の解析」2011年度日本生物物理学会中部支部講演会、名古屋大学野依記念学術交流館（名古屋）、2012年3月19日
5. 木村哲就、道喜慎太郎、石谷隆一郎、濡木理、古谷祐詞「全反射赤外分光法による Mg²⁺輸送体 MgtE のイオン選択機構の解析」第11回日本蛋白質科学会年会、ホテル阪急エキスポパーク（大阪）、2011年6月7-9日

<国際>

1. Tetsunari Kimura, Hideki Kandori, and Yuji Furutani, “Stepwise conformational changes upon anion pumping during the *pharaonis* halorhodopsin photocycle revealed by H/D

- unexchangeable amide-A vibrations.” 5th International Symposium on Nanomedicine, Nagoya University ES Hall, Nagoya, Japan, Mar. 15-17, 2012
2. Guo Hao, Tetsunari Kimura, and Yuji Furutani, “Surface-Enhanced ATR FTIR Difference Spectroscopy from a Halorhodopsin Monolayer on Gold: Dependence of Spectral Features on Film Properties.” 5th International Symposium on Nanomedicine, Nagoya University ES Hall, Nagoya, Japan, Mar. 15-17, 2012
 3. Hao Guo, Tetsunari Kimura, and Yuji Furutani, “SEIRA difference spectroscopy on a halorhodopsin monolayer tethered on gold surface.” 5th Asia and Oceania Conference on Photobiology, Nara Prefectural New Public Hall, Nara, Japan, Jul. 30-Aug. 1, 2011
 4. Tetsunari Kimura, Hideki Kandori, and Yuji Furutani “Time-resolved FTIR spectroscopy in the X-H stretching region reveals stepwise conformational changes of *pharaonis* halorhodopsin during the late photocycle.” 5th Asia and Oceania Conference on Photobiology, Nara Prefectural New Public Hall, Nara, Japan, Jul. 30-Aug. 1, 2011
 5. Tetsunari Kimura, Hideki Kandori, and Yuji Furutani “Conformational changes upon chloride-ion pumping during the *pharaonis* halorhodopsin photocycle studied by time-resolved FTIR difference spectroscopy.” 241th ACS Annual Meeting & Exposition, Anaheim Convention Center, Anaheim, California, U.S.A., Mar. 25-31, 2011
 6. Hao Guo, Tetsunari Kimura and Yuji Furutani, “Modification of Gold Thin Film Suitable for Surface-enhanced Vibrational Spectroscopy on Membrane Proteins”, 4th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2010), Okazaki Conference Center, Okazaki, Japan, Nov. 29-Dec. 1, 2010.
 7. Hao Guo, Tetsunari Kimura and Yuji Furutani, “Modification of Gold Thin Film Suitable for Surface-enhanced Vibrational Spectroscopy on Membrane Proteins”, The Overseas Sokendai Lecture in Bangkok 2010, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, Oct. 19-Oct. 21, 2010

(4)知財出願

①国内出願 (6件)

1. 「プレーナーパッチクランプ装置、該装置用電極部及び細胞イオンチャンネル電流計測方法」、発明者：宇理須恒雄、Wang Zhihong, 宇野秀隆、Obuliraju Senthil Kumar, 出願人：独立行政法人科学技術振興機構、出願日 2011年12月20日、特願2011-278445.
2. 「プレーナーパッチクランプ装置、該装置用電極部及び細胞イオンチャンネル電流計測方法」、発明者：宇理須恒雄、Wang Zhihong、宇野秀隆、Obuliraju Senthil Kumar、長岡靖崇、出願人：独立行政法人科学技術振興機構。出願日：2012年8月20日、特願2012-181786
3. 「神経細胞ネットワークの形成及びその利用」 特願2012-205561 (JST整理No. AF19P007). 出願日 2012年9月19日。発明者 宇理須恒雄、ワンツーホン、長岡靖崇、西藤美穂、権利者 独立行政法人科学技術振興機構。
4. 「プレーナーパッチクランプ装置及びプレーナーパッチクランプシステム」特願2013-180684、AF19P009 出願日2013年8月30日、発明者 宇理須恒雄、ワンツーホン、宇野秀隆、長岡靖崇、権利者 独立行政法人科学技術振興機構
5. 「マイクロバルブを有するマイクロ流路デバイス」、特願2013-228299、出願日2013年11月1日、発明者 佐藤嗣紀、宇理須恒雄、宇野秀隆、権利者 株式会社不二越、国立大学法人名古屋大学
6. 「細胞播種培養装置」、特願2014-011640、AF19P011 出願日平成26年1月24日、発明者 宇理須恒雄、ワンツーホン、宇野秀隆、長岡靖崇、権利者 独立行政法人科学技術振興機構。

②海外出願 (6件)

1. 「プレーナーパッチクランプ装置 (電極構造)」 出願日 平成 24、12、5 出願番号 PCT/JP2012/81556, 発明者：宇理須恒雄、ワンツーホン、宇野秀隆、オブリ ラジ センテイルクマール、長岡靖崇、権利者 独立行政法人科学技術振興機構。

2. 台湾出願 「プレーナーパッチクランプ装置（電極構造）出願日 2012、12、20 出願番号 Taiwan, 101148766
(ア)発明者：宇理須恒雄、ワンツーホン、宇野秀隆、 オブリ ラジ センテイルクマール、 長岡靖崇、権利者 独立行政法人科学技術振興機構
3. 「神経細胞ネットワークの形成およびその利用並びに神経細胞播種デバイス」
出願日 2013年3月21日。出願番号PCT/JP2013/57976, 発明者：宇理須恒雄、ワンツーホン、長岡靖崇、西藤美穂、権利者 独立行政法人科学技術振興機構
4. 台湾出願「神経細胞ネットワークの形成およびその利用,並びに神経細胞播種デバイス」出願日 AD2013年4月10日,出願番号、T a i w a n, 102112687
発明者：宇理須恒雄、ワンツーホン、長岡靖崇、西藤美穂、権利者：独立行政法人科学技術振興機構
5. 「プレーナーパッチクランプ装置及びプレーナーパッチクランプシステム」出願日 2014、8、29、出願番号PCT/JP2014/72808, 発明者：宇理須恒雄、ワンツーホン、宇野秀隆、長岡靖崇、小林啓、 権利者:独立行政法人科学技術振興機構
 6. 台湾出願 「プレーナーパッチクランプ装置及びプレーナーパッチクランプシステム」出願日2014、8、29、出願番号:103129925, 宇理須恒雄、ワンツーホン、宇野秀隆、長岡靖崇、小林啓、 権利者:独立行政法人科学技術振興機構。

③その他の知的財産権

(5)受賞・報道等

①受賞

1. Tetsunari Kimura, Excellent Poster Award (5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2011)) Mar. 16, 2012
2. Zhihong Wang Excellent Poster Award (5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2011)) Mar. 16, 2012
3. 江川遼、2012 年度包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ若手優秀発表賞、2012年7月24日-27日。
4. 温磊、東北大学藤野先生記念奨励賞、2011年10月31日
5. Toshifumi Asano, Award for Encouragement of Research, 19th Symposium of Materials Research Society of Japan, Kanagawa,7-9, December, 2009.

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 「光が照らす脳の迷宮 よみがえる記憶、病気治療も」、2012年7月1日、日本経済新聞(朝刊)
2. 「皮膚で光を感知、東北大グループがマウス使い発見 応用期待」、2012年3月9日、河北新報(朝刊)
3. 「緑色光で脳神経細胞を目覚めさせる技術の開発」について
2010年9月24日付河北新報(朝刊)にて報道。
4. 「アルツハイマー病謎解明に一步前進」について
2010年4月23日付科学新聞にて報道

④ その他

1. 「緑色光で脳神経細胞を目覚めさせる技術の開発(光による脳情報入力システムの実用化に向けて)」、2010年9月24日、東北大学プレスリリース
2. 「皮膚で光を知覚する！？(チャンネルロドプシン遺伝子組換えラットのスーパー感覚)」、2012年3月7日、東北大学プレスリリース

公開講座〔深澤〕

1. 「SDS 処理凍結割断レプリカ標識法を用いた神経科学研究」 日本顕微鏡学会 第 70 回記念学術講演会 東京, 2014 年 5 月 13 日
2. 「AMPA 型グルタミン酸受容体の微小空間配置とその生理的意義」 日本解剖学会・第 119 回全国学術集会, 宇都宮, 2014 年 3 月 27 日
3. 「凍結割断レプリカを用いた分子局在解析の現状と今後の展開: 脳内シナプスにおける AMPA 受容体発現の共通性と特異性」 日本顕微鏡学会 第 68 回学術講演会, つくば, 2012 年 5 月 15 日
4. 「急速凍結試料の凍結割断レプリカを用いた神経細胞の膜脂質局在解析」 第117回日本解剖学会全国学術集会, 甲府, 2012 年 3 月 28 日
5. 「定量的分子局在解析と計算論的手法によるシナプス構造-機能連関の解析」 日本顕微鏡学会 第 67 回学術講演会 福岡, 2011 年 5 月 16 日
6. 「水平性視機能性眼球反応適応時の小脳回路変化とそのメカニズム」 第 115 回日本解剖学会全国学術集会 盛岡, 2010 年 3 月 30 日

(6)成果展開事例

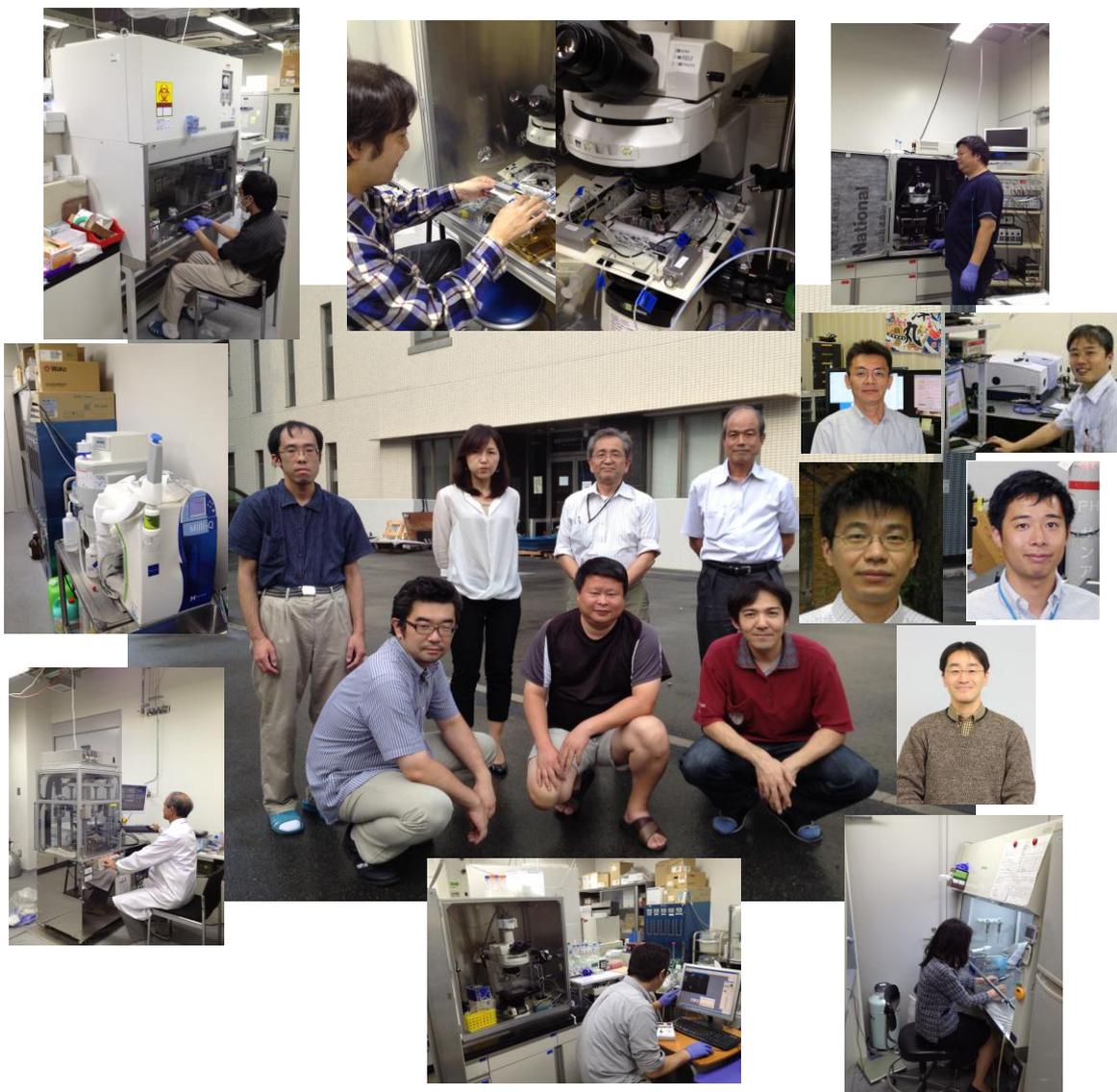
§ 5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2014 年 5 月 16, 17, 18 日	The 2 nd Japan-China Symposium on Nanomedicine	広島大学	50 人	ナノメディシン研究に関する 日本—中国学術交流
2013 年 11 月 7, 8, 9 日	7th International Symposium on Nanomedicine	九州工業大 学	150 人	ナノメディシン研究に関する 国際会議、
2013 年 10 月 26, 27, 28 日	The 1 st China-Japan Symposium on Nanomedicine	Southeast University , Nanjing, China	50 人	ナノメディシン研究に関する 日本—中国学術交流
2012 年 3 月 15-17 日	第 5 回ナノメディシン国 際シンポジウム	名古屋大学 ES ホール	100 人	神経細胞ネットワーク素子に ついて、国際的評価をうける こと、及び共同研究の国際 的ネットワーク形成をねらい として開催。
2011 年 5 月 31 日	名大医学部との交流会 セミナー	名古屋大学 医学部会議 室	30 人	神経細胞ネットワーク素子利 用の共同研究の意見交換

2010年11月 29日-12月 1日	第4回ナノメデイ シン国際シンポ ジウム	岡崎コンフ アレンスセン ター	150人	代表者の研究分野であるナ ノテクの医療応用について 討論。
2010年7月 16日-22日	岡崎西高等学校 JSTサイエンス・パート ナーシップ・プロジェクト	分子科学研 究所	27人	神経細胞への遺伝子導入 による光受容体タンパク質 の発現について実習
2010年3月 26日	最先端ナノ加工・ナノ エレクトロニクス技術開 発と応用	岡崎コンフ アレンスセン ター	約40名	多チャンネルプラスチック基 板素子製作に関連の深いナ ノ加工技術、およびアナログ 電子回路技術の最先端状 況をテーマとしてゼミナーを 開催。大森整(理研)、岩田 穆など9名が招待講演。
2010年3月 23-24日	拡がるロドプシンの仲間 から“何がわかるか”“何 をもたらすか”	岡崎コンフ アレンスセン ター	約100名	光神経電子回路素子製作 の重要な要素であるチャン ネルロドプシン関連の最近 のホットな話題を集めて討論 。角田聡(フンボルト大)など 25名が招待講演。

§6 最後に



宇理須グループメンバーと深澤、古谷、須藤、木村、石塚の各グループリーダー。