

岡崎令治メモリアルレクチャー

座長：杉野 明雄（大阪大学微生物病研究所）

2000 年 12 月 13 日（水） 12:10 ~ 13:00 C 会場

「神経伝達の分子メカニズム」

中西 重忠（京都大学大学院生命科学研究所）

脳神経機能あるいは機能異常のメカニズムを理解するためには、神経回路における神経伝達の制御メカニズムを明らかにすることが不可欠である。脳神経系の興奮を伝達するグルタミン酸受容体は、イオン・チャンネルを内在する NMDA 型と AMPA/カイン酸型の 2 種類のイオントロピック受容体と G 蛋白に共役するメタトロピック受容体 (mGluR) に大別される。我々は、遺伝子工学と電気生理学を組み合わせた新しいクローニング法を開発し、NMDA 受容体と mGluR を初めてクローン化し、両受容体は共に多種類のサブユニット (NR1、NR2A-2D)、あるいはサブタイプ (mGluR1-mGluR8) からなることを明らかにした。

mGluR は G 蛋白共役受容体 (GPCR) に属するが、他の典型的な GPCR と異なり、N 末側の細胞外構造がリガンド結合部位として働く。最近森川耿右と陣上久人のグループ（生物分子工学研究所）は本領域の結晶三次構造の解析に成功し、グルタミン酸の結合様式と本受容体の活性化機構を明らかにした。

一方、神経回路の伝達制御を明らかにする目的で、我々は mGluR2 プロモーターを用いてヒト IL-2 受容体 (IL2-R) を特定の神経細胞に発現するトランスジェニック・マウスを作製し、このマウスに IL2-R の抗体に毒素を融合したイムノトキシンを注入することによって、成熟マウスの脳から特定の神経細胞を選択的に欠失させる方法を開発した。我々は本方法を用い、小脳、基底核、網膜の神経回路の伝達制御の解析を進め、シナプス伝達の制御には興奮と抑制性の神経伝達物質の協調的な作用が必須であること、又、シナプス伝達の可塑的变化が神経伝達の制御に重要な役割を果たしていることを明らかにした。本会においては我々の最近の研究成果を紹介し、mGluR のリガンド結合と活性化機構及び神経回路の制御機構を議論したい。

2000 年 12 月 14 日（木） 12:10 ~ 13:00 C 会場

「岡崎フラグメントの発見から不連続複製機構の確立まで」

岡崎 恒子（藤田保健衛生大学総合医科学研究所）

岡崎フラグメントと不連続複製モデルは遺伝子複製の基本過程として定着しており、岡崎令治の名は若い方々にもなじみの深いものとなっております。しかし現在その研究の内容について紹介される機会は殆どありませんので、岡崎令治メモリアルレクチャーにおいて不連続複製機構に関する研究の軌道をたどる機会を与えられましたことを大変幸せに思います。不連続複製の研究は、1960 年代に大きな謎とされていた *in vivo* と *in vitro* の DNA 複製の方向に関する矛盾の謎を解く目的で始まりました。岡崎フラグメントが発見されるに至った研究プランや、岡崎フラグメントを複製中間体と位置づける不連続複製モデルを実証するために行われた実験を先ず紹介いたします。ついで 1970 年代に大きな謎となり、彼が最後まで力を注いだのに病魔が解決する時間を与えなかった、開始プライマーの問題を、残されたグループによる研究も含めて紹介し、岡崎フラグメントが不連続複製の中間体として不動のものとなってゆく過程を述べます。最後に他研究グループにより進められている *in vitro* 再構成系が示す岡崎フラグメントの生合成機構についてもふれます。

「Breakdown of chromosomal DNA in programmed cell death and other process」

長田 重一 (大阪大学大学院医学系研究科生体制御医学・遺伝学)

Programmed cell death or apoptosis, is the principal mechanism by which superfluous or potentially harmful cells are eliminated in metazoans. Signals that can induce apoptosis are relatively diverse, and include the ligation of cell death receptors by respective ligands, DNA damage, and oxidative stress. Regardless of the origin of the apoptotic stimulus, commitment to apoptosis occurs through the activation of caspases, a family of cysteine proteases. Cleavage of a select group of substrates by a caspases is responsible for the dismantling of essential cell components, which results in the morphological and biochemical changes that characterize apoptotic cell death. The degradation of nuclear DNA into nucleosomal units is one of the features of apoptotic cell death. Proliferating mammalian cells carry a DNase (CAD, caspase-activated DNase, or DFF-40, DNA fragmentation factor-40) that can be activated by a caspase. CAD is a DNase with a nuclear localization signal at the C-terminus. Its catalytic site is comprised of 4 histidine residues, and is active at neutral pH. The functional CAD polypeptide can not be synthesized without ICAD (inhibitor of CAD) that works as a specific chaperone to help correct folding of CAD. The generated CAD remains complexed with ICAD in proliferating cells. When apoptosis is induced by a variety of stimuli, caspase 3 specifically cleaves ICAD which dissociates the CAD:ICAD complex, and allows CAD to cleave chromosomal DNA. The cells expressing caspase-resistant mutant ICAD, or those lacking CAD or ICAD do not show the DNA fragmentation induced by diverse apoptotic stimuli, confirming that CAD is the major DNase responsible for the cell-autonomous nuclear DNA fragmentation. Homologs of CAD and ICAD have been identified in *Drosophila melanogaster*, indicating that the molecular mechanism for apoptotic DNA fragmentation is conserved in metazoans.

To examine the physiological role of the apoptotic DNA fragmentation, we have established a transgenic mouse line that expresses the caspase-resistant ICAD. Thymocytes from the transgenic mice did not show DNA fragmentation upon various apoptotic stimuli, confirming an indispensable role of the CAD/ICAD system in the cell-autonomous DNA fragmentation during apoptosis. In contrast, the DNA fragmentation *in vivo* was still observed in various tissues including the thymus and ovary of the transgenic mice, suggesting that there is another system to cause the apoptotic DNA fragmentation *in vivo*. Subsequent characterization indicated that the CAD-independent DNA fragmentation occurs in apoptotic cells after they were specifically phagocytosed by macrophages. These results indicate that apoptosis *in vivo* proceed not only by a cell-autonomous process, but also through the interaction of apoptotic cells with phagocytes.

References

1. Nagata, S., and Golstein, P. The Fas death factor. *Science* 267: 1449-1456, 1995.
2. Nagata, S. Apoptosis by death factor. *Cell* 88: 355-365, 1997.
3. Enari, M., Sakahira, H., Yokoyama, H., Okawa, K., Iwamatsu, A. and Nagata, S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis and its inhibitor ICAD. *Nature* 391: 43-50, 1998
4. Sakahira, H., Enari, M., and Nagata, S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature* 391: 96-99, 1998.
5. Nagata, S. Fas ligand-induced apoptosis. *Annu. Rev. Genetics* 33, 29-55, 1999.
6. McIlroy, D., Tanaka, M., Sakahira, H., Fukuyama, H., Suzuki, M., Yamamura, K.-i., Ohsawa, Y., Uchiyama, Y., and Nagata, S. An auxiliary mode of apoptotic DNA fragmentation provided by phagocytes. *Genes & Develop.* 14: 549-558, 2000.

全日軽食を準備しておりますので、会場の入口でお受取りのうえご入場ください。なお、数に限りがありますので、先着順とさせていただきます。

ご注意：通常、食物の持込みが許されていない会場であるところを、神戸国際会議場のご配慮で、軽食の持込みを特にお許しいたきました。食物の食べこぼしにご注意いただき、後始末にくれぐれもご配慮ください。