

医学博士沼 正作君の「神経情報伝達の分子機構に関する

研究」に対する授賞審査要旨

沼 正作君は神経情報の伝達において最も基本的な役割を演ずる神経伝達物質受容体およびイオンチャンネルに関する卓越した研究業績を挙げ、分子神経生物学の進歩に顕著な貢献をした。以下にその大要を記し、他の研究業績についても簡単に触れる。

一、神経伝達物質受容体およびイオンチャンネルに関する研究

神経伝達物質受容体はシナプスにおける情報伝達を、一方電位依存性イオンチャンネルは神経繊維における情報伝達をつかさどる。したがってそれぞれの典型であるアセチルコリン受容体とNa⁺チャンネルに関して従来生理学的、薬理的、生化学的見地から膨大な研究がなされていたが、その分子構造は全く不明と言っても過言ではなかった。沼君はこの分野に組換え DNA の手法を導入することにより、これらの蛋白の全分子構造を初めて解明した。

すなわち先ず微量にしか存在しないメッセージンジャー RNA に相補的な DNA をクローン化する独自の方法を開発し、この cDNA の塩基配列から微量蛋白の一次構造を決定することを可能にした。この方法を用い、シビレエイの電気器官ならびに哺乳動物の骨格筋に存在するニコチン性アセチルコリン受容体の四種類のサブユニットの全一次構造を決定した。各サブユニットはアミノ酸配列においてのみならず hydrophobicity profile および推定二次構造に

においても類似しており、膜に対してほぼ対称的に配置して受容体分子を形成していると考えられる。また各サブユニット cDNA からそれぞれの mRNA を合成し、アフリカツメガエルの卵母細胞に注入することにより、電気生理学的に機能を有するニコチン性アセチルコリン受容体を発現させることに初めて成功した。さらにこの発現系を用いて、人工的に改変を加えた cDNA より変異を有するアセチルコリン受容体を合成し、その機能をしらべることにより、機能的に重要な部位、例えばイオンチャンネルに関与する膜貫通部位やアセチルコリンの結合に関与するシステイン残基を同定した。

沼君はまた電気ウナギの電気器官の Na チャンネルの全一次構造を決定し、この蛋白が四回の相同性を示す繰り返し構造を有することを発見した。これらの繰り返し単位は膜に対してほぼ対称的に配置していると考えられる。Na チャンネル分子内にはそれぞれ正および負の電荷を有するアミノ酸が密集した部位が四カ所ずつ存在するが、これらはおそらく脱分極に伴う電位の変化に応じて分子内を移動し、その結果ひき起こされる蛋白の conformation の変化によってイオンチャンネルが開くと推定される。この成果は、Hodgkin と Huxley が電気生理学的な実験に基づいて提唱した活動電位のナトリウム説に分子的基盤を与えるものである。

以上の研究は、神経情報の伝達をつかさどる神経伝達物質受容体および電位依存性イオンチャンネルの分子構造を解明し、さらに電気生理学的に機能を有する受容体を DNA の遺伝情報に基づいて合成する系を開発し、この発現系と DNA の人工的変異を併用して受容体機能の構造的基盤を明らかにしたものであり、神経情報伝達の分子機構の解明に本質的な貢献をする先駆的業績である。

二、神経ペプチドに関する研究

沼君はまた上記の手法を用い、cDNAの塩基配列から種々の神経ペプチド前駆体の全一次構造を決定し、現在知られているすべての内因性オピオイドペプチドやコルチコトロピン放出因子の起源を解明するとともに、DNAの遺伝情報から未知の活性ペプチドを発見する最初の例を作った。これらの神経ペプチドはシナプスにおける情報伝達の調節に関与すると考えられ、したがってこの業績も神経情報伝達の分子機構の解明に貢献するものである。

三、脂質代謝とその調節に関する研究

沼君は長年にわたり脂質合成とその調節に関する研究に従事し、特に脂肪酸合成の律速酵素であるアセチルコエンザイムAカルボキシラーゼの遺伝子発現の調節ならびに膜脂質の合成に関与する酵素について優れた独創的業績を挙げた。これらの研究は、神経情報伝達をつかさどる神経伝達物質受容体やイオンチャンネルが存在する場である細胞膜を構成する脂質二重層と関連するものである。

以上の成果はいずれも世界で最初に達成されたものであり、分子神経生物学の分野に新しい方法論を導入して画期的な進歩をもたらしたものとして国際的に高く評価されている。沼君は国際生化学会（一九八二年）、国際内分泌学会（一九八四年）における総会講演、国際薬理学会（一九八四年）における“Invited Lecture”など現在まで三〇余りの国際学会において招待講演を行った他、脂質分野の国際賞である Heinrich-Wieland-Preis（一九七三年）、ドイツ連邦共和国大統領よりの第一回 Philipp-Franz-von-Siebold-Preis（一九七九年）、朝日賞（一九八三年）、Freiburger Medizinische Gesellschaft からの Ludwig-Aschoff-Medaille（一九八四年）などを授与されている。

№ 0 邦立 Bayerische Akademie der Wissenschaften の Korrespondierendes Mitglied, Wissenschaftskolleg zu Berlin の Wissenschaftlicher Beirat 終職以職迄 邦 米 國 National Institutes of Health の Fogarty Scholar-in-Residence ヲ 以テ 研究 補助 受ケテ 居ル

中 國 文 獻 目 録

1 邦 立 研 究 院 研 究 員 兼 邦 立 大 学 助 教 員 兼 邦 立 大 学 医 学 部 助 教 員

1. Noda, M., Takahashi, H., Tanabe, T., Toyosato, M., Furutani, Y., Hirose, T., Asai, M., Inayama, S., Miyata, T. & Numa, S. (1982) Primary structure of α -subunit precursor of *Torpedo californica* acetylcholine receptor deduced from cDNA sequence, Nature 299, 793-797.
2. Noda, M., Takahashi, H., Tanabe, T., Toyosato, M., Kikuyotani, S., Hirose, T., Asai, M., Takashima, H., Inayama, S., Miyata, T. & Numa, S. (1983) Primary structures of β - and δ -subunit precursors of *Torpedo californica* acetylcholine receptor deduced from cDNA sequences, Nature 301, 251-255.
3. Noda, M., Takahashi, H., Tanabe, T., Toyosato, M., Kikuyotani, S., Furutani, Y., Hirose, T., Takashima, H., Inayama, S., Miyata, T. & Numa, S. (1983) Structural homology of *Torpedo californica* acetylcholine receptor subunits, Nature 302, 528-532.
4. Noda, M., Furutani, Y., Takahashi, H., Toyosato, M., Tanabe, T., Shimizu, S., Kikuyotani, S., Kanyano, T., Hirose, T., Inayama, S. & Numa, S. (1983) Cloning and sequence analysis of calf cDNA and human genomic DNA encoding α -subunit precursor of muscle acetylcholine receptor, Nature

305, 818-823.

5. Numa, S., Noda, M., Takahashi, H., Tanabe, T., Toyosato, M., Furutani, Y. & Kikuyotani, S. (1983) Molecular structure of the nicotinic acetylcholine receptor, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **48**, 57-69.
6. Mishina, M., Kurosaki, T., Tobimatsu, T., Morimoto, Y., Noda, M., Yamamoto, T., Terao, M., Lindstrom, J., Takahashi, T., Kuno, M. & Numa, S. (1984) Expression of functional acetylcholine receptor from cloned cDNAs, Nature **307**, 604-608.
7. Takai, T., Noda, M., Furutani, Y., Takahashi, H., Notake, M., Shimizu, S., Kayano, T., Tanabe, T., Tanaka, K., Hirose, T., Inayama, S. & Numa, S. (1984) Primary structure of γ subunit precursor of calf-muscle acetylcholine receptor deduced from the cDNA sequence, Eur. J. Biochem. **143**, 109-115.
8. Tanabe, T., Noda, M., Furutani, Y., Takai, T., Takahashi, H., Tanaka, K., Hirose, T., Inayama, S. & Numa, S. (1984) Primary structure of β subunit precursor of calf muscle acetylcholine receptor deduced from cDNA sequence, Eur. J. Biochem. **144**, 11-17.
9. Noda, M., Shimizu, S., Tanabe, T., Takai, T., Kayano, T., Ikeda, T., Takahashi, H., Nakayama, H., Kanaoka, Y., Minamino, N., Kangawa, K., Matsuo, H., Raftery, M.A., Hirose, T., Inayama, S., Hayashida, H., Miyata, T. & Numa, S. (1984) Primary structure of *Electrophorus electricus* sodium channel deduced from cDNA sequence, Nature **312**, 121-127.
10. Numa, S., Structural homology of nicotinic acetylcholine receptor subunits, Biochem. Soc. Symp. **49**, in press.

11. Shibahara, S., Kubo, T., Perski, H.J., Takahashi, H., Noda, M. & Numa, S., Cloning and sequence analysis of human genomic DNA encoding γ subunit precursor of muscle acetylcholine receptor, *Eur. J. Biochem.*, in press.
12. Numa, S., Structures, expression and products of neuropeptide and receptor genes, in "Proceedings of the 7th International Congress of Endocrinology", Elsevier Science Publishers, Amsterdam, in press.
13. Numa, S., Neuropeptide precursors and acetylcholine receptor: Molecular structures and gene expression, in "Proceedings of the 9th International Congress of Pharmacology", Macmillan Press, London, in press.
14. Nakanishi, S., Taii, S., Hirata, Y., Matsukura, S., Imura, H. & Numa, S. (1976) A large product of cell-free translation of messenger RNA coding for corticotropin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**, 4319-4323.
15. Nakamura, M., Nakanishi, S., Sueoka, S., Imura, H. & Numa, S. (1978) Effects of steroid hormones on the level of corticotropin messenger RNA activity in cultured mouse-pituitary-tumor cells, *Eur. J. Biochem.* **86**, 61-66.
16. Taii, S., Nakanishi, S. & Numa, S. (1979) Distribution of the messenger RNA coding for the common precursor of corticotropin and β -lipotropin within the bovine pituitary, *Eur. J. Biochem.* **93**, 205-212.

17. Kita, T., Inoue, A., Nakanishi, S. & Numa, S. (1979) Purification and characterization of the messenger RNA coding for bovine corticotropin/ β -lipotropin precursor. *Eur. J. Biochem.* **93**, 213-220.
18. Nakanishi, S., Inoue, A., Kita, T., Nakamura, M., Chang, A.C.Y., Cohen, S.N. & Numa, S. (1979) Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin- β -lipotropin precursor. *Nature* **278**, 423-427.
19. Nakanishi, S., Teranishi, Y., Noda, M., Notake, M., Watanabe, Y., Kakidani, H., Jingami, H. & Numa, S. (1980) The protein-coding sequence of the bovine ACTH- β -LPH precursor gene is split near the signal peptide region. *Nature* **287**, 752-755.
20. Takahashi, H., Teranishi, Y., Nakanishi, S. & Numa, S. (1981) Isolation and structural organization of the human corticotropin- β -lipotropin precursor gene. *FEBS Lett.* **135**, 97-102.
21. Noda, M., Furutani, Y., Takahashi, H., Toyosato, M., Hirose, T., Inayama, S., Nakanishi, S. & Numa, S. (1982) Cloning and sequence analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature* **295**, 202-206.
22. Noda, M., Teranishi, Y., Takahashi, H., Toyosato, M., Notake, M., Nakanishi, S. & Numa, S. (1982) Isolation and structural organization of the human preproenkephalin gene. *Nature* **297**, 431-434.
23. Kakidani, H., Furutani, Y., Takahashi, H., Noda, M., Morimoto, Y., Hirose, T., Asai, M., Inayama, S., Nakanishi, S. & Numa, S. (1982) Cloning and sequence analysis of cDNA for porcine β -neoendorphin/dynorphin precursor. *Nature* **298**, 245-249.
24. Mishina, M., Kurosaki, T., Yamamoto, T., Notake, M., Masu, M. & Numa, S. (1982) DNA sequen-

- ees required for transcription *in vivo* of the human corticotropin- β -lipotropin precursor gene, *EMBO J.* **1**, 1533-1538.
25. Furutani, Y., Morimoto, Y., Shibahara, S., Noda, M., Takahashi, H., Hirose, T., Asai, M., Inayama, S., Hayashida, H., Miyata, T. & Numa, S. (1983) Cloning and sequence analysis of cDNA for ovine corticotropin-releasing factor precursor, *Nature* **301**, 537-540.
 26. Shibahara, S., Morimoto, Y., Furutani, Y., Notake, M., Takahashi, H., Shimizu, S., Horikawa, S. & Numa, S. (1983) Isolation and sequence analysis of the human corticotropin-releasing factor precursor gene, *EMBO J.* **2**, 775-779.
 27. Takahashi, H., Hakamata, Y., Watanabe, Y., Kikuno, R., Miyata, T. & Numa, S. (1983) Complete nucleotide sequence of the human corticotropin- β -lipotropin precursor gene, *Nucleic Acids Res.* **11**, 6847-6858.
 28. Horikawa, S., Takai, T., Toyosato, M., Takahashi, H., Noda, M., Kakidani, H., Kubo, T., Hirose, T., Inayama, S., Hayashida, H., Miyata, T. & Numa, S. (1983) Isolation and structural organization of the human preproenkephalin B gene, *Nature* **306**, 611-614.
 29. Terao, M., Watanabe, Y., Mishina, M. & Numa, S. (1983) Sequence requirement for transcription *in vivo* of the human preproenkephalin A gene, *EMBO J.* **2**, 2223-2228.
 30. Numa, S., Opioid peptide precursors and their genes, in "The Peptides" (S. Udenfriend & J. Meienhofer, eds.), Vol. 6, Academic Press, New York, in press.

31. Numa, S. (1969) Acetyl-CoA carboxylase from chicken and rat liver, *Methods Enzymol.* **14**, 9-16.
32. Yamashita, S., Hosaka, K. & Numa, S. (1972) Resolution and reconstitution of the phosphatidate-synthesizing system of rat-liver microsomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **69**, 3490-3492.
33. Numa, S. & Yamashita, S. (1974) Regulation of lipogenesis in animal tissues, in "Current Topics in Cellular Regulation" (B.L. Horecker & E.R. Stadtman, eds.), Vol. 8, Academic Press, New York, pp. 197-246.
34. Tanabe, T., Wada, K., Okazaki, T. & Numa, S. (1975) Acetyl-coenzyme-A carboxylase from rat liver: Subunit structure and proteolytic modification, *Eur. J. Biochem.* **57**, 15-24.
35. Nakanishi, S., Tanabe, T., Horikawa, S. & Numa, S. (1976) Dietary and hormonal regulation of the content of acetyl coenzyme A carboxylase-synthesizing polysomes in rat liver, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**, 2304-2307.
36. Ogiwara, H., Tanabe, T., Nakawa, J. & Numa, S. (1978) Inhibition of rat-liver acetyl-coenzyme-A carboxylase by palmitoyl-coenzyme A: Formation of equimolar enzyme-inhibitor complex, *Eur. J. Biochem.* **89**, 33-41.
37. Kamiryo, T., Nishikawa, Y., Mishina, M., Terao, M. & Numa, S. (1979) Involvement of long-chain acyl coenzyme A for lipid synthesis in repression of acetyl-coenzyme A carboxylase in *Candida lipolytica*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 4390-4394.
38. Horikawa, S., Kamiryo, T., Nakanishi, S. & Numa, S. (1980) Cell-free translation and regulation of *Candida lipolytica* acetyl-coenzyme-A carboxylase messenger RNA, *Eur. J. Biochem.* **104**, 191-

198.

39. Numa, S. (1981) Two long-chain acyl coenzyme A synthetases: Their different roles in fatty acid metabolism and its regulation, *Trends Biochem. Sci.* 6, 113-115.
40. Numa, S. & Tanabe, T. (1984) Acetyl-coenzyme A carboxylase and its regulation, in "New Comprehensive Biochemistry", Vol. 7 (A. Neuburger, L.L.M. van Deenen & S. Numa, eds.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 1-27.