ミニレビュー

カチオン・カルシウムチャネルの農薬ターゲット としての実際と可能性[#]

黒川 竜紀¹, 森 泰生^{1,2,*}

¹ 京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻

² 京都大学大学院地球環境学堂

(2014年12月1日受理)

Current studies and possibilities of cation/Ca²⁺ channels as a target of pesticides

Tatsuki KUROKAWA¹ and Yasuo MORI^{1,2}

¹ Department of Synthetic Chemistry and Biological Chemistry, Graduate School of Engineering,
Kyoto University, Katsura Campus, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510, Japan

² Hall of Global Environmental Studies, Kyoto University, Yoshida Campus, Sakyo-ku, Kyoto 615-8501, Japan

Keywords: ryanodine receptor, flubendiamide, ion channel, insecticide, Ca²⁺.

はじめに

カルシウムイオン (Ca²⁺) は、セカンドメッセンジャーとしてさまざまな生理応答に関与しており、細胞内Ca²⁺濃度の調節は、生命維持において不可欠である。細胞外Ca²⁺濃度は1–2mMであるのに対して、定常状態の細胞内Ca²⁺濃度は数十nMと非常に低く保たれている。細胞にさまざまな刺激が加わると、細胞内Ca²⁺濃度は数百nM程度に増加し、これが引き金となって筋収縮、細胞分化、分泌、増殖、細胞死、神経伝達物質放出、シナプス可塑性、遺伝子発現などさまざまな生命応答が引き起こされる。この細胞内Ca²⁺濃度変化は、主に細胞外からの流入と細胞内Ca²⁺ストアである小胞体からの放出との2つの経路より起こり得る。これら細

胞内Ca²⁺濃度変化を担うタンパク質分子がCa²⁺チャネルである。Ca²⁺チャネルには、本稿で紹介するリアノジン受容体 (RyR) や Transient Receptor Potential (TRP) チャネルの他にも、電位依存性Ca²⁺チャネル、イノシトール三リン酸 (IP₃) 受容体、ニコチン性アセチルコリン受容体、イオンチャネル型グルタミン酸受容体、P2X受容体やCatSperなど多くの種類が存在する。Ca²⁺チャネルの機能異常は重篤な疾患に繋がることから、抗不整脈薬や降圧剤など多くのCa²⁺チャネル関連医薬品の創薬が行われ臨床応用がすすめられてきた。また、Flubendiamideを含むDiamide系殺虫剤のターゲット分子はRyRであることから、Ca²⁺チャネルは創薬のターゲットだけでなく農薬のターゲットとしても注目されつつある。

そこで本稿では、カチオン・カルシウムチャネルの農薬ターゲットの実際としてRyRを、また新たな農薬ターゲットの可能性としてTRPチャネルを例として紹介する。

[#] 第39回大会シンポジウムを取りまとめた解説。

* 〒615-8510 京都市西京区京都大学桂

E-mail: mori@sbchem.kyoto-u.ac.jp

© 日本農薬学会

図1. リアノジン受容体の模式図。FKBP, ApoCalmodulin, Ca^{2+} /Calmodulinの結合部位およびDivergent region1 (DR1)の予想位置を示した。

1. リアノジン受容体

中南米産の樹木 *Ryania speciosa* は、昔から殺虫作用があることが知られていた。この殺虫成分は有毒アルカロイドである Ryanodine であり、リアノジン受容体 (RyR) の名前は Ryanodine が結合することに由来する。RyR は小胞体膜に存在し、RyR により小胞体から Ca^{2+} が放出されることで、筋収縮の際に必要な細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が引き起こされる。哺乳動物では骨格筋型 (RyR1)、心筋型 (RyR2)、脳型 (RyR3) の3つのサブタイプが存在するのに対して、昆虫では1つのサブタイプしか存在しない。RyR は約5000アミノ酸残基から構成される膜タンパク質であり、ホモ4量体を形成することにより約2MDaという現在知られている中で最も大きなチャンネルとして機能する^{1,2)} (図1)。N末端側の約4000–4500アミノ酸残基は細胞質側に大きく張り出した領域を形成しており、この領域にそれぞれの活性調節因子が特定の領域に結合することでチャンネル活性を制御している。一方、C末端側の約500–1000アミノ酸残基は、イオン透過領域である膜貫通領域を形成する。膜貫通領域の数は4回、6回、10回のモデルが存在しているが、正確な膜貫通領域の数はまだ確定していない³⁾。RyRのサブタイプ間のアミノ酸配列の相同性は65%程度だが、細胞質領域にDivergent Region1–3 (DR1–3) と呼ばれる相同性が顕著に低い領域が存在しており、この領域がサブタイプ間の機能的な違いに寄与していると考えられている。RyRにおいて、X線結晶構造解析による詳細な全体構造は明らかになっていないが、低温電子顕微鏡により低解像度の全体構造が明らかになっている⁴⁾。RyRは多くの生理活性物質により制御されている。RyRを活性化させる活性調節因子には、細胞質内 Ca^{2+} 、Calmodulin⁵⁾、Cyclic ADP ribose、ATP、Caffeine、Ryanodineなどが含まれる。一方、活性を阻害する因子としては、高濃度の Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、FK506 binding protein 12 (FKBP12)、高濃

度の Ryanodine、Dantrolene などが含まれている。また、一酸化窒素によるS-ニトロシル化がRyR1を活性化することも報告されている^{6–8)}。

1.1 Flubendiamideの昆虫種選択的殺虫活性

日本農薬株式会社が開発したDiamide系化合物Flubendiamideは、チョウ目昆虫に対して選択的かつ速効的な殺虫作用を示すことが特徴である⁹⁾。極めて低濃度でもFlubendiamideを処置された昆虫は、持続的な体収縮、嘔吐、脱糞等の症状を示し、摂食行動などの統制された行動が直ちに不可能になる⁹⁾。一方、ラット経口投与による毒性試験では、2000ppmの高い用量においても、明らかな影響は認められていない。³H-flubendiamideを用いたハンスモンヨトウ幼虫骨格筋膜画分に対する結合実験では、筋膜画分に対するFlubendiamideの結合解離定数が7nMと極めて高い親和性を示すことから、FlubendiamideがRyRに作用することが示唆された¹⁰⁾。FlubendiamideによるRyRへの作用を調べるために、チョウ目モデル昆虫であるカイコRyR (sRyR) をヒト胎児由来腎臓細胞株HEK293細胞に一過的に発現させ、小胞体から放出される Ca^{2+} を蛍光性指示薬Fura-2により評価した。すると、10nM以上のFlubendiamideの処置によりsRyRは活性化し、50%有効濃度 (EC_{50}) 値は17nMであった¹¹⁾。一方、sRyRを発現させていないHEK293細胞や、ウサギ心臓由来のRyR2 (rRyR2) を発現させたHEK293細胞では、Flubendiamideの処置による反応は見られなかった。以上のことから、Flubendiamideはチョウ目のRyRを選択的に活性化することが確認された。

1.2 Flubendiamideの結合部位の同定

次にFlubendiamideがsRyRに直接結合するかどうかを評価するために、光標識部位を有するFlubendiamide誘導体 (Flubendiamide photo-probe: Flubendiamide-PP) を作製し、光アフィニティーラベル化を行った¹¹⁾。sRyRを一過的に発現させたHEK293細胞にFlubendiamide-PPを加えた後光照射によりラベル化を行うと、Flubendiamide-PPのsRyRへの結合が確認された。また、Flubendiamideを前処置することにより、Flubendiamide-PPのsRyRへの結合が阻害されることから、Flubendiamide-PPとFlubendiamideの結合部位は同じであると考えられる。以上の結果より、FlubendiamideはsRyRへ直接結合することにより、作用することが証明された。

sRyRに対するFlubendiamideの結合領域を同定するために、Flubendiamide-PPおよびsRyR部分欠失変異体を用いて評価した。まず、sRyR部分欠失変異体を Ca^{2+} イメージング法を用いて評価すると、183番目から1065番目のアミノ酸残基を欠失した変異体 ($\Delta 183$ –1065)、 $\Delta 183$ –2233、 $\Delta 183$ –4110変異体を一過的に発現させたHEK293細胞では、

図2. sRyR部分欠失変異体によるFlubendiamide結合部位の推定.

CaffeineとFlubendiamideの両方に対する応答が減弱した(図2). 一方, $\Delta 183-290$ 変異体では, Flubendiamideに対する応答が失われていたが, Caffeineに対する応答は維持されていた. また, sRyRの膜貫通領域付近(4084-5084アミノ酸残基)をrRyR2の膜貫通領域付近(3936-4968アミノ酸残基)に置換した変異体(s-r2)では, Caffeineに対して応答するが, Flubendiamideに対する応答は大きく減弱した. 以上の結果より, N末端の183-290残基および膜貫通領域がFlubendiamideによるsRyRの活性化に重要であることが示された. 次に上述のFlubendiamide-PPを用いて, sRyR部分欠失変異体に対する光アファニティーラベル化を行ったところ, 細胞質領域をほぼすべて欠損させた $\Delta 183-4110$ を含むすべての部分欠失変異体においてFlubendiamide-PPの結合が確認された(図2). 一方, 膜貫通領域付近をrRyR2に置換したs-r2変異体では, Flubendiamide-PPが結合することができなかった. 以上の結果より, FlubendiamideはsRyRの膜貫通領域付近(4084-5084アミノ酸残基)に結合することが示された.

さらに詳細な結合部位を調べるために, 著者らはリガンド指向型アシルイミダゾール化学¹²⁾を導入した新たなラベル化剤Flubendiamide-AIを作製した. このラベル化剤では, Flubendiamideにより駆動された反応基とRyRのアミノ酸残基が隣接することで求核的アシル置換反応が進行し, リガンドが切り離された後ウレタンあるいは炭酸結合が形成される. まずsRyRを一過的に発現させたHEK293細胞において, Flubendiamide-AIを処置するとsRyRの活性化が見られたことから, このFlubendiamide-AIはFlubendiamideと同様にsRyRを活性化させることを確認した. さらに, sRyRもしくはrRyR2を一過的に発現させたHEK293細胞にFlubendiamide-AIを処置すると, sRyRのみFlubendiamide-AIの結合が確認された. 以上のことより, Flubendiamide-AIはsRyRに選択的に結合し, 活性化することが確認された. このFlubendiamide-AIを用いてsRyRをラベル化した後に, タンパク質分解酵素であるTrypsinによりRyRを断片化し, Pull-down法によりラベル化されたペプチド断片のみを回収した. その後, 液体クロマトグラフ-タンデム型質量分

図3. 各種RyRにおける系統樹およびsRyRに対する全長およびDR1の相対比較.

析計(LC/MS/MS)により, ペプチド断片のアミノ酸配列を解読したところ, 膜貫通領域付近に位置する10アミノ酸残基が同定された.

ここで著者らは, Flubendiamide-AIの結合領域付近に存在するDivergent-Region1(DR1)に注目した. DR1は昆虫種間のRyRでもアミノ酸配列の保存性が低い領域であり, DR1のアミノ酸変異はRyR1のCaffeineや Ca^{2+} の応答性に影響を与える¹³⁻¹⁵⁾. 実際にsRyRとFlubendiamide非感受性であるトビイロウンカRyRのアミノ酸配列を比較すると, RyR全長では相対性は81%に対してDR1では51%に減少する(図3). このDR1は前述したsRyRの膜貫通領域付近(4084-5084アミノ酸残基)に含まれていることから, 現在のところFlubendiamideはDR1に結合することが有力である.

2. Transient Receptor Potential (TRP) チャネル

TRPチャネルは, 1989年にショウジョウバエtrp遺伝子が光受容応答変異株の原因遺伝子として同定¹⁶⁾されて以来, 世界中で精力的な研究が行われている. 命名の由来は, trp変異株では光受容器電位変化が一過性(transient)であることが基になっている. これまでの遺伝子解析の結果, 脊椎動物において約30種類のコホログが同定されており, TRPC (canonical), TRPM (melastatin), TRPV (vanilloid), TRPML (mucolipin), TRPP (polycystin), TPRA (ankyrin) の6つのサブファミリーを構成している^{17,18)}. TRPCファミリーは, ショウジョウバエTRPと相対性が高いグループであり, チャネルの活性化は Ca^{2+} 貯蔵部位(ストア)枯渇やリン脂質の加水分解酵素Phospholipase Cの活性化と密接に関連しており, Ca^{2+} やDiacylglycerolが直接作用する活性化因子として考えられている¹⁹⁻²²⁾. また, TRPC5など一部のTRPCファミリーは, 一酸化窒素により活性化されることが報告されている²³⁾. TRPMファミリーは, 悪性黒色腫細胞に関連するチャネルとして初めて見出された²⁴⁾. TRPMファミリーは, 酸化ストレス, 細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇, 温度変化, pHの変化, 機械刺激, 浸透圧の変化等で活性化され, 細胞の代謝, 分化, 増殖, 細胞死の調節に重要な役割を果たしていると考えられている^{25,26)}. TRPVファミリーは, 唐辛子の辛味成分であるCapsaicinによって活性化するTRPV1が初めて見

出されたファミリーである。TRPVファミリーは、一酸化窒素などの化学物質、温度上昇、pHの変化、機械刺激、浸透圧の変化などの物理・化学的な刺激で活性化される^{18,27,28}。TRPMLファミリーは、ムコ多糖症IV型の原因遺伝子であるTRPML1をはじめとするファミリーであり、Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate、細胞内Ca²⁺濃度上昇、酸等で活性化され、細胞質内のリソソームの輸送やアポトーシス細胞のクリアランスに関わっている^{29–31}。TRPPファミリーは、常染色体優性遺伝性腎臓病の原因遺伝子の1つとして単離されたファミリーであり、電位変化、細胞内Ca²⁺濃度、浸透圧、機械刺激、pHの変化で活性化され、繊毛での機械感受や舌での酸感受に関わっている^{32–35}。TRPAファミリーは、N末端側に多くのアンキリンリピート構造を有する。哺乳類においては、現在のところTRPA1の1種類だけが同定されており、pH変化、温度変化、酸化ストレス、浸透圧、機械刺激等で活性化し、シグナル伝達や成長の制御に関わっていると考えられている³⁶。さらに、TRPA1は求電子性の刺激性化学物質やO₂分圧の変化により活性化されることも報告されている^{37,38}。

TRPの基本構造は、6回膜貫通領域を有しており、ホモあるいはヘテロ4量体を形成することによりイオンチャネルを形成している。また、細胞質領域であるN末端およびC末端側それぞれに特徴的な構造が存在しており、チャネル活性に重要な機能を与えている。現在までに、X線結晶構造解析による詳細なTRPチャネルの立体構造は明らかになっていないが、いくつかのTRPチャネルで電子顕微鏡により低解像度の立体構造が報告されている^{39–41}。また、近年開発された電子線直接検出カメラと電子顕微鏡を組み合わせた単粒子解析により、高解像度のTRPV1チャネルの立体構造が報告された⁴²。

2.1 TRPA1チャネル

TRPA1チャネルにおける生体内の役割は、喫煙や炎症による気管における痛み⁴³やProstaglandinなどの炎症メディエーターや細胞内アルカリ化による痛み^{44,45}など、痛みに関する研究が多く報告されている。痛みに関する報告に加えて、TRPA1が呼吸制御に関わるという報告⁴⁶がなされており、TRPA1は感覚神経・交感神経のみならず副交感神経においても重要な役割を担っていることが明らかになってきている。TRPA1チャネルは、さまざまな化合物（汚染物質のAcrolein⁴⁴、解熱鎮痛薬のAcetaminophen^{47,48}、Formaldehyde⁴⁹など）や辛味食品に含まれる刺激物（ワサビに含まれるAllyl isothiocyanate: AITC^{50,51}、ニンニクの成分であるAllicin^{52,53}、シナモンに含まれるCinnamaldehyde⁵⁰、Caffeine⁵⁴、Menthol⁵⁵など）や酸化ストレス（H₂O₂⁵⁶、15-deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J₂⁵⁶など）、または脱分極、細胞内Ca²⁺濃度上昇、機械刺激^{57–59}、冷感⁶⁰などによって

活性化される。これら活性剤によるTRPA1チャネルの活性化機構は解明されていないものも多いが、AITC, Cinnamaldehyde, Allicin, Acrolein, Formaldehydeにおいては、いずれもシステイン残基への求電子反応によることが明らかになっている。

2.2 TRPA1チャネルによるO₂分圧センシング

著者らは、近年TRPA1チャネルが呼吸気におけるO₂の過不足を感知するO₂センサーとして機能していることをつきとめた³⁷。上述のとおり、TRPA1チャネルはシステイン残基の酸化的な修飾反応により活性化することが明らかになっている^{38,61,62}。著者らは、異なった酸化力を示す活性ジスルフィド化合物を合成し、各TRPチャネルの酸化感受性を定量化した。その結果、TRPA1は酸化力の弱いDiallyl disulfide（酸化還元電位：−2,950 mV）などにも反応するほど高い酸化感受性を示したため、TRPA1のO₂に対する応答性が予想された。実際にTRPA1を発現させた細胞に高濃度O₂溶液を添加したところ、TRPA1を介したカチオン電流が観察された。高O₂による活性化機構を解明するため、ヒトTRPA1に存在する29個のシステイン残基をそれぞれセリン残基に置換した変異体を作製後、高濃度O₂に対する応答を評価すると、633番目（アンキリンリピート内）と856番目（第4番目の膜貫通領域後の細胞内領域）のシステイン残基が重要であることを見出した。これらのシステイン残基の側鎖であるスルフヒドリル基（−SH）がO₂により酸化されると、まずスルフェン酸（−SOH）へ変換され、そののちジスルフィド結合（S–S）を形成するものと考えられた。

次に、低濃度O₂に対する応答を評価するために、TRPA1を発現させた細胞にN₂を通気させた低濃度O₂溶液を添加すると、TRPA1を介したカチオンの流入が確認された。TRPA1のO₂に対する容量・反応曲線は逆ベル型を示し、TRPA1の活性化の最も低いO₂分圧は137 mmHgと通常の大気圧におけるO₂分圧（152 mmHg）より低い結果が得られた。低濃度O₂による活性化機構は、プロリン水酸化酵素の関与が考えられる。プロリン水酸化酵素はO₂を基質としてプロリン残基を水酸化する酸素添加酵素であり、低O₂状態に対する生体応答の制御に最も重要な転写因子HIF-1αの活性制御を担っている⁶³。TRPA1のアミノ酸配列を調べると、アンキリンリピート領域にプロリン水酸化モチーフが存在することがわかった。実際に通常のO₂濃度では、このモチーフ内に存在する394番目のプロリン残基がプロリン水酸化酵素により水酸化されることによりTRPA1の活性は抑制された。一方、低O₂濃度ではプロリン水酸化酵素による反応が進行せず、TRPA1チャネルが活性化することがわかった。

TRPA1は感覚神経細胞や迷走神経細胞などに発現しているが、これらを単離して高濃度もしくは低濃度のO₂溶液で処理するとカチオン電流が確認された。しかし、*trpa1*遺伝

子を欠損させたマウス (TRPA1KO マウス) から単離した場合では, それぞれのニューロンにおけるイオン電流は有意に減弱していた. また, TRPA1KO マウスでは, 高濃度 O_2 および低濃度 O_2 の吸入に伴う迷走神経の活動の増強がともに抑制された. 以上の結果から, TRPA1 が生体内の O_2 センサーとして機能し, O_2 の体内供給を厳密に制御することが示された.

2.3 昆虫の TRPA1 チャネル

昆虫の TRP チャネルにおいても, 遺伝子クローニングとその機能解析から, さまざまな生理応答に寄与していることがわかってきている. 例えば, ミツバチの TRPA チャネルは 34°C 付近で活性化し, AITC や Cinnamaldehyde など植物由来の昆虫忌避物質で活性化することが明らかになっている⁶⁴⁾. また, カイコの TRPA1 チャネルは温度感受性イオンチャネルであり, カイコの卵の休眠性を決定している⁶⁵⁾. 哺乳類の TRP チャネルは約 30 種類のホモログが存在しているが, ショウジョウバエの TRP チャネルの種類は, TRPC (3 種類), TRPM (1 種類), TRPV (2 種類), TRPA (4 種類), TRPP (1 種類), TRPML (1 種類), そして哺乳動物にはない TRPN (1 種類) の合計 13 種類が報告されている⁶⁶⁾. また, 哺乳類では主に TRPV チャネルと TRPM チャネルを使って環境温度を感知しているが, ショウジョウバエやハチでは TRPA チャネルを使って感知しており, 哺乳類と昆虫の TRP チャネルでは種類や機能が若干違っている. 哺乳類では TRPA1 の 1 種類のみが存在するのに対して, ショウジョウバエでは TRPA1, Painless, Pyrexia, Water witch の 4 種類の TRPA チャネルホモログが存在している. 現在までのところ, ショウジョウバエの TRPA1 が O_2 センサーかどうかや, ショウジョウバエ TRPA ホモログ間で O_2 感受性に違いがあるかなどはわかっていない. また, ショウジョウバエでは, 哺乳類で酸化感受性を示す TRPM, TRPV, TRPC のホモログの種類が少ない. 一方, TRPA ホモログは 4 種類あることから, これら 4 種類の TRPA ホモログが酸素や酸化感受機能を担う分子であると期待できる.

おわりに

本稿では, 農薬ターゲットとしてのカチオン・カルシウムチャネルの「実際」として RyR を, 「可能性」として TRP チャネルを紹介した. 今後, 詳細な Flubendiamide 結合領域の同定や活性化機構が解明されることにより, 新たな昆虫種選択的殺虫剤の開発や, 現在問題となっている Diamide 剤抵抗性昆虫の解決に繋がると期待される.

TRP チャネルについては, 本稿では TRPA1 を中心に解説したが, その他の TRP チャネルも生体内でさまざまなセンサーとして働いており, 生理的に重要なタンパク質である. 昆虫種選択的な殺虫活性を示す化合物を作製するためには,

選択的にターゲット分子を活性化もしくは阻害する必要がある. 例えば, 著者らは Pyrazole 構造を有する Pyr3 が動物細胞の形質膜に発現する TRPC3 チャネルを選択的に阻害することや⁶⁷⁾, トランスニトロシル化反応を介して S-ニトロシル化修飾できる新規化合物を用いることで, TRPA1 を選択的に活性化されることを見出している⁶⁸⁾. これらの知見は, TRP チャネルをターゲットとする農薬開発に有益であると考えられる.

薬剤抵抗性害虫の発生を防ぐ 1 つの手段として, 作用点が違う薬剤のローテーションが考えられることから, 将来的により多くの農薬ターゲット分子の出現が望まれる. Ca^{2+} チャネルは, その生理機能の重要性や, 多くの種類の Ca^{2+} チャネルが存在することから, 農薬ターゲットとして大きな可能性を秘めている.

引用文献

- 1) M. Inui, A. Saito and S. Fleischer: *J. Biol. Chem.* **262**, 1740–1747 (1987).
- 2) F. A. Lai, H. P. Erickson, E. Rousseau, Q. Y. Liu and G. Meissner: *Nature* **331**, 315–319 (1988).
- 3) G. G. Du, B. Sandhu, V. K. Khanna, X. H. Guo and D. H. MacLennan: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99**, 16725–16730 (2002).
- 4) F. Van Petegem: *J. Biol. Chem.* **287**, 31624–31632 (2012).
- 5) X. H. Wehrens, S. E. Lehnart, S. R. Reiken and A. R. Marks: *Circ. Res.* **94**, e61–e70 (2004).
- 6) A. M. Bellinger, S. Reiken, C. Carlson, M. Mongillo, X. Liu, L. Rothman, S. Matecki, A. Lacampagne and A. R. Marks: *Nat. Med.* **15**, 325–330 (2009).
- 7) J. P. Eu, J. Sun, L. Xu, J. S. Stamler and G. Meissner: *Cell* **102**, 499–509 (2000).
- 8) S. Kakizawa, T. Yamazawa, Y. Chen, A. Ito, T. Murayama, H. Oyama, N. Kurebayashi, O. Sato, M. Watanabe, N. Mori, K. Oguchi, T. Sakurai, H. Takeshima, N. Saito and M. Iino: *EMBO J.* **31**, 417–428 (2012).
- 9) M. Tohnishi, H. Nakao, T. Furuya, A. Seo, H. Kodama, K. Tsubata, S. Fujioka, H. Kodama, T. Hirooka and T. Nishimatsu: *J. Pestic. Sci.* **30**, 354–360 (2005).
- 10) U. Ebbinghaus-Kintscher, P. Luemmen, N. Lobitz, T. Schulte, C. Funke, R. Fischer, T. Masaki, N. Yasokawa and M. Tohnishi: *Cell Calcium* **39**, 21–33 (2006).
- 11) K. Kato, S. Kiyonaka, Y. Sawaguchi, M. Tohnishi, T. Masaki, N. Yasokawa, Y. Mizuno, E. Mori, K. Inoue, I. Hamachi, H. Takeshima and Y. Mori: *Biochemistry* **48**, 10342–10352 (2009).
- 12) S. H. Fujishima, R. Yasui, T. Miki, A. Ojida and I. Hamachi: *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 3961–3964 (2012).
- 13) M. B. Bhat, J. Zhao, S. Hayek, E. C. Freeman, H. Takeshima and J. Ma: *Biophys. J.* **73**, 1320–1328 (1997).
- 14) S. M. Hayek, J. Zhao, M. Bhat, X. Xu, R. Nagaraj, Z. Pan, H. Takeshima and J. Ma: *FEBS Lett.* **461**, 157–164 (1999).
- 15) S. M. Hayek, X. Zhu, M. B. Bhat, J. Zhao, H. Takeshima, H. H.

- Valdivia and J. Ma: *Biochem. J.* **351**, 57–65 (2000).
- 16) C. Montell and G. M. Rubin: *Neuron* **2**, 1313–1323 (1989).
 - 17) D. E. Clapham: *Nature* **426**, 517–524 (2003).
 - 18) M. M. Moran, H. Xu and D. E. Clapham: *Curr. Opin. Neurobiol.* **14**, 362–369 (2004).
 - 19) B. Nilius: *Cell Calcium* **33**, 293–298 (2003).
 - 20) S. F. Pedersen, G. Owsianik and B. Nilius: *Cell Calcium* **38**, 233–252 (2005).
 - 21) G. Vazquez, B. J. Wedel, O. Aziz, M. Trebak and J. W. Putney Jr.: *Biochim. Biophys. Acta* **1742**, 21–36 (2004).
 - 22) P. F. Worley, W. Zeng, G. N. Huang, J. P. Yuan, J. Y. Kim, M. G. Lee and S. Muallem: *Cell Calcium* **42**, 205–211 (2007).
 - 23) T. Yoshida, R. Inoue, T. Morii, N. Takahashi, S. Yamamoto, Y. Hara, M. Tominaga, S. Shimizu, Y. Sato and Y. Mori: *Nat. Chem. Biol.* **2**, 596–607 (2006).
 - 24) L. M. Duncan, J. Deeds, J. Hunter, J. Shao, L. M. Holmgren, E. A. Woolf, R. I. Tepper and A. W. Shyjan: *Cancer Res.* **58**, 1515–1520 (1998).
 - 25) Y. Hara, M. Wakamori, M. Ishii, E. Maeno, M. Nishida, T. Yoshida, H. Yamada, S. Shimizu, E. Mori, J. Kudoh, N. Shimizu, H. Kurose, Y. Okada, K. Imoto and Y. Mori: *Mol. Cell* **9**, 163–173 (2002).
 - 26) S. Yamamoto, S. Shimizu, S. Kiyonaka, N. Takahashi, T. Wajima, Y. Hara, T. Negoro, T. Hiroi, Y. Kiuchi, T. Okada, S. Kaneko, I. Lange, A. Fleig, R. Penner, M. Nishi, H. Takeshima and Y. Mori: *Nat. Med.* **14**, 738–747 (2008).
 - 27) C. D. Benham, M. J. Gunthorpe and J. B. Davis: *Cell Calcium* **33**, 479–487 (2003).
 - 28) B. Nilius, J. Vriens, J. Prenen, G. Droogmans and T. Voets: *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **286**, C195–C205 (2004).
 - 29) H. F. Cantiello, N. Montalbetti, W. H. Goldmann, M. K. Raychowdhury, S. Gonzalez-Perrett, G. A. Timpanaro and B. Chasan: *Pflugers Arch.* **451**, 304–312 (2005).
 - 30) F. Qian and K. Noben-Trauth: *Pflugers Arch.* **451**, 277–285 (2005).
 - 31) D. A. Zeevi, A. Frumkin and G. Bach: *Biochim. Biophys. Acta* **1772**, 851–858 (2007).
 - 32) H. Inada, F. Kawabata, Y. Ishimaru, T. Fushiki, H. Matsunami and M. Tominaga: *EMBO Rep.* **9**, 690–697 (2008).
 - 33) M. Kottgen, B. Buchholz, M. A. Garcia-Gonzalez, F. Kotsis, X. Fu, M. Doerken, C. Boehlke, D. Steffl, R. Tauber, T. Wegierski, R. Nitschke, M. Suzuki, A. Kramer-Zucker, G. G. Germino, T. Watanick, J. Prenen, B. Nilius, E. W. Kuehn and G. Walz: *J. Cell Biol.* **182**, 437–447 (2008).
 - 34) S. M. Nauli, F. J. Alenghat, Y. Luo, E. Williams, P. Vassilev, X. Li, A. E. Elia, W. Lu, E. M. Brown, S. J. Quinn, D. E. Ingber and J. Zhou: *Nat. Genet.* **33**, 129–137 (2003).
 - 35) B. Nilius, G. Owsianik, T. Voets and J. A. Peters: *Physiol. Rev.* **87**, 165–217 (2007).
 - 36) D. Jaquemar, T. Schenker and B. Trueb: *J. Biol. Chem.* **274**, 7325–7333 (1999).
 - 37) N. Takahashi, T. Kuwaki, S. Kiyonaka, T. Numata, D. Kozai, Y. Mizuno, S. Yamamoto, S. Naito, E. Knevels, P. Carmeliet, T. Oga, S. Kaneko, S. Suga, T. Nokami, J. Yoshida and Y. Mori: *Nat. Chem. Biol.* **7**, 701–711 (2011).
 - 38) N. Takahashi, Y. Mizuno, D. Kozai, S. Yamamoto, S. Kiyonaka, T. Shibata, K. Uchida and Y. Mori: *Channels (Austin)* **2**, 287–298 (2008).
 - 39) Y. Maruyama, T. Ogura, K. Mio, S. Kiyonaka, K. Kato, Y. Mori and C. Sato: *J. Biol. Chem.* **282**, 36961–36970 (2007).
 - 40) K. Mio, T. Ogura, S. Kiyonaka, Y. Hiroaki, Y. Tanimura, Y. Fujiyoshi, Y. Mori and C. Sato: *J. Mol. Biol.* **367**, 373–383 (2007).
 - 41) V. Y. Moiseenkova-Bell, L. A. Stanciu, I. I. Serysheva, B. J. Tobe and T. G. Wensel: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **105**, 7451–7455 (2008).
 - 42) M. Liao, E. Cao, D. Julius and Y. Cheng: *Nature* **504**, 107–112 (2013).
 - 43) E. Andre, B. Campi, S. Materazzi, M. Trevisani, S. Amadesi, D. Massi, C. Creminon, N. Vaksman, R. Nassini, M. Civelli, P. G. Baraldi, D. P. Poole, N. W. Bunnett, P. Geppetti and R. Patacchini: *J. Clin. Invest.* **118**, 2574–2582 (2008).
 - 44) D. M. Bautista, S. E. Jordt, T. Nikai, P. R. Tsuruda, A. J. Read, J. Poblete, E. N. Yamoah, A. I. Basbaum and D. Julius: *Cell* **124**, 1269–1282 (2006).
 - 45) F. Fujita, K. Uchida, T. Moriyama, A. Shima, K. Shibasaki, H. Inada, T. Sokabe and M. Tominaga: *J. Clin. Invest.* **118**, 4049–4057 (2008).
 - 46) B. F. Bessac, M. Sivula, C. A. von Hehn, J. Escalera, L. Cohn and S. E. Jordt: *J. Clin. Invest.* **118**, 1899–1910 (2008).
 - 47) D. A. Andersson, C. Gentry, L. Alenmyr, D. Killander, S. E. Lewis, A. Andersson, B. Bucher, J. L. Galzi, O. Sterner, S. Bevan, E. D. Hogestatt and P. M. Zygmunt: *Nat. Commun.* **2**, 551 (2011).
 - 48) R. Nassini, S. Materazzi, E. Andre, L. Sartiani, G. Aldini, M. Trevisani, C. Carnini, D. Massi, P. Pedretti, M. Carini, E. Cerbai, D. Preti, G. Villetti, M. Civelli, G. Trevisan, C. Azzari, S. Stokesberry, L. Sadofsky, L. McGarvey, R. Patacchini and P. Geppetti: *FASEB J.* **24**, 4904–4916 (2010).
 - 49) C. R. McNamara, J. Mandel-Brehm, D. M. Bautista, J. Siemens, K. L. Deranian, M. Zhao, N. J. Hayward, J. A. Chong, D. Julius, M. M. Moran and C. M. Fanger: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 13525–13530 (2007).
 - 50) M. Bandell, G. M. Story, S. W. Hwang, V. Viswanath, S. R. Eid, M. J. Petrus, T. J. Earley and A. Patapoutian: *Neuron* **41**, 849–857 (2004).
 - 51) S. E. Jordt, D. M. Bautista, H. H. Chuang, D. D. McKemy, P. M. Zygmunt, E. D. Hogestatt, I. D. Meng and D. Julius: *Nature* **427**, 260–265 (2004).
 - 52) D. M. Bautista, P. Movahed, A. Hinman, H. E. Axelsson, O. Sterner, E. D. Hogestatt, D. Julius, S. E. Jordt and P. M. Zygmunt: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **102**, 12248–12252 (2005).
 - 53) L. J. Macpherson, B. H. Geierstanger, V. Viswanath, M. Bandell, S. R. Eid, S. Hwang and A. Patapoutian: *Curr. Biol.* **15**, 929–934 (2005).
 - 54) K. Nagatomo and Y. Kubo: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **105**, 17373–17378 (2008).
 - 55) Y. Karashima, N. Damann, J. Prenen, K. Talavera, A. Segal, T. Voets and B. Nilius: *J. Neurosci.* **27**, 9874–9884 (2007).
 - 56) D. A. Andersson, C. Gentry, S. Moss and S. Bevan: *J. Neurosci.* **28**, 2485–2494 (2008).
 - 57) D. P. Corey, J. García-Añoveros, J. R. Holt, K. Y. Kwan, S. Y. Lin,

- M. A. Vollrath, A. Amalfitano, E. L.-M. Cheung, B. H. Derfler, A. Duggan, G. S. G. Géléc, P. A. Gray, M. P. Hoffman, H. L. Rehm, D. Tamasauskas and D. S. Zhang: *Nature* **432**, 723–730 (2004).
- 58) K. Y. Kwan, A. J. Allchorne, M. A. Vollrath, A. P. Christensen, D. S. Zhang, C. J. Woolf and D. P. Corey: *Neuron* **50**, 277–289 (2006).
- 59) D. Vilceanu and C. L. Stucky: *PLoS ONE* **5**, e12177 (2010).
- 60) G. M. Story, A. M. Peier, A. J. Reeve, S. R. Eid, J. Mosbacher, T. R. Hricik, T. J. Earley, A. C. Hergarden, D. A. Andersson, S. W. Hwang, P. McIntyre, T. Jegla, S. Bevan and A. Patapoutian: *Cell* **112**, 819–829 (2003).
- 61) A. Hinman, H. H. Chuang, D. M. Bautista and D. Julius: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 19564–19568 (2006).
- 62) L. J. Macpherson, A. E. Dubin, M. J. Evans, F. Marr, P. G. Schultz, B. F. Cravatt and A. Patapoutian: *Nature* **445**, 541–545 (2007).
- 63) C. J. Schofield and P. J. Ratcliffe: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **5**, 343–354 (2004).
- 64) K. Kohno, T. Sokabe, M. Tominaga and T. Kadowaki: *J. Neurosci.* **30**, 12219–12229 (2010).
- 65) A. Sato, T. Sokabe, M. Kashio, Y. Yasukochi, M. Tominaga and K. Shiomi: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **111**, E1249–E1255 (2014).
- 66) M. A. Fowler and C. Montell: *Life Sci.* **92**, 394–403 (2013).
- 67) S. Kiyonaka, K. Kato, M. Nishida, K. Mio, T. Numaga, Y. Sawaguchi, T. Yoshida, M. Wakamori, E. Mori, T. Numata, M. Ishii, H. Takemoto, A. Ojida, K. Watanabe, A. Uemura, H. Kurose, T. Morii, T. Kobayashi, Y. Sato, C. Sato, I. Hamachi and Y. Mori: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**, 5400–5405 (2009).
- 68) D. Kozai, Y. Kabasawa, M. Ebert, S. Kiyonaka, Firman, Y. Otani, T. Numata, N. Takahashi, Y. Mori and T. Ohwada: *Mol. Pharmacol.* **85**, 175–185 (2014).

略 歴

森 泰生（もり やすお）

生年月日：1960年3月5日

最終学歴：京都大学大学院医学研究科博士課程（医学博士）

研究テーマ：カルシウムチャネルの分子生理学

趣味：仕事。気晴らしは3DCGや映画観賞など。