

令和 4 年 4 月 24 日現在

機関番号：63905

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22439

研究課題名（和文）シナプスにおける時・空間近接分子群の同定手法の開発

研究課題名（英文）Proteomic analysis with high spatiotemporal resolution at the synapse

研究代表者

深田 優子（Fukata, Yuko）

生理学研究所・分子細胞生理研究領域・准教授

研究者番号：40416186

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：生体タンパク質は時々刻々と多様な分子群と相互作用することにより、生理機能を発揮することができる。これらの相互作用が破綻するとタンパク質はその機能を果たせず、時には疾患の要因となる。したがって、生体タンパク質の相互作用分子を時・空間的解像度を上げて同定することは、極めて重要である。本研究では、てんかん関連タンパク質や、さらにはタンパク質の膜局在に重要な役割を担う酵素をモデルタンパク質として、これまで困難とされていたシナプス不溶性画分や一過的なタンパク質相互作用を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シナプス不溶性画分からタンパク質複合体を可溶化、精製可能な実験条件（界面活性剤の種類と濃度）を確立し、脳シナプス膜画分におけるてんかん関連タンパク質ADAM22を含む複合体を網羅的、特異的に同定することに成功した。また、リン酸化修飾に関連した一過的なタンパク質相互作用を明らかにすることに成功した。このように、新たなタンパク質複合体の精製技術を開発することにより、これまで見過されてきたタンパク質相互作用を明らかにして、シナプス制御機構やてんかん病態の理解につながる成果を得た。

研究成果の概要（英文）：Biological proteins do not function alone, but interact with a variety of proteins to perform their physiological functions. Disruption of these protein-protein interactions could cause dysfunction of the protein, sometimes causing diseases. Therefore, identifying the true protein-protein interactions with high spatiotemporal resolution is extremely important. In this study, we selected the epilepsy-related proteins, ADAM22 and LGI1, and the enzymes that regulate protein localization as model proteins. We succeeded to identify novel protein-protein interactions which occur in the insoluble synaptic fraction and transiently occur in cells.

研究分野：神経科学

キーワード：プロテオミクス シナプス タンパク質相互作用 界面活性剤

1. 研究開始当初の背景

生体タンパク質は時々刻々と多様な分子群と相互作用することにより、成熟、輸送を経て適所に局在化することで、生理機能を発揮する。これらいずれの過程が障害されてもタンパク質はその機能を果たせず、時には疾患の要因となる。したがって、生体タンパク質、とりわけ疾患関連タンパク質の相互作用分子を時・空間的解像度を上げて同定することは、極めて重要である。近年のプロテオミクス解析技術は大きく進歩したが、(1)不溶性が高い細胞膜やオルガネラ特異的に起こるタンパク質相互作用、(2)細胞種特異的なタンパク質相互作用や(3)酵素と基質間結合のような一過的なタンパク質相互作用の全容に関しては未だ十分に解明されていない。たとえば、脳機能の分子基盤や脳病態機構を理解するためには、シナプス局所のタンパク質相互作用の理解が必要不可欠である。しかし、これらシナプスタンパク質の生化学的可溶性は極めて低く、シナプスにおけるタンパク質ネットワーク研究については、わずかに可溶化した成分に依存した解析にとどまっているのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、シナプス伝達制御に関わる「てんかん関連リガンド LGI1-受容体 ADAM22」と「パルミトイル化脂質修飾関連酵素」をモデルタンパク質として、超解像プロテオミクス法の開発に挑戦する。これまで見過されてきたタンパク質相互作用を明らかにして、シナプス制御機構やシナプス病態機構の理解につながる成果を得ることを目指す。

3. 研究の方法

(1) シナプス不溶性画分からのタンパク質相互作用の同定

タンパク質相互作用を保持した状態で、シナプス不溶性画分からタンパク質複合体を可溶化、精製する実験条件を検討し、最適化した。次に、アフィニティタグを挿入した ADAM22 ノックインマウス脳のシナプス膜画分における ADAM22 タンパク質複合体を効率良く、網羅的、特異的に精製し、ラベルフリー定量質量分析法にて相互作用分子を同定した。

(2) 遷移性の高いタンパク質相互作用の同定

アフィニティタグ付きパルミトイル化脂質修飾関連酵素のノックインマウス脳から、特異性を担保しつつ効率良く酵素タンパク質とその相互作用分子を精製し、ラベルフリー定量質量分析法にて相互作用分子を同定した。また、ADAM22 のリン酸化欠損変異マウス脳を用いて、リン酸化修飾依存的なタンパク質相互作用を調べた。

4. 研究成果

(1) シナプス不溶性画分からのタンパク質相互作用の同定

タンパク質相互作用を維持した状態で、シナプス不溶性画分からタンパク質を可溶化、精製することが可能な実験条件(界面活性剤の種類と濃度)を確立した。次に、アフィニティタグを挿入した ADAM22 ノックインマウスを作製し、野生型マウス脳をネガティブコントロールとすることで特異性を担保する実験条件を得た。図 1 に示すように ADAM22 を含むシナプスタンパク質複合体を非常に効率良く特異的に精製できた(図, High stringency)。シナプス画分の ADAM22 を含むタンパク質複合体には、NMDA 受容体(図では Grin と表記)、各種イオンチャネルや LRRTM4-Neurexin といった接着分子などが含まれていた。これらの結合特異性は、ADAM22 変異マウスを用いてさらに確かめられ、PSD-95(図では Dlg4)を代表とする MAGUK シナプス足場タンパク質ファミリーを介した結合であることを明らかにした(Fukata et al., PNAS 2021)。多くの結合は、頻用されてきた非イオン性界面活性剤(Low stringency)を用いた条件では検出されないものであり、本条件は、シナプスのタンパク質相互作用を同定するために有効であると考えられた。

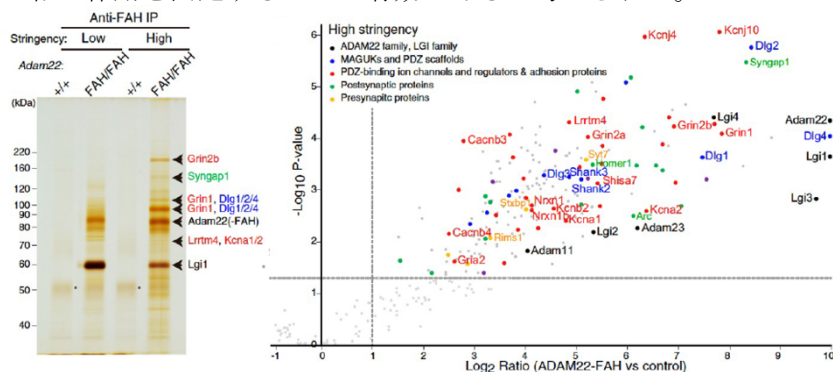


図 1. FAH タグを挿入した ADAM22 を発現するノックインマウス脳のシナプス画分より、ADAM22 タンパク質複合体を精製し、定量質量分析法にて網羅的に構成タンパク質を同定した (Fukata et al., PNAS 2021 より転載)。

さらに、MAGUK 足場タンパク質ファミリー分子群間(Dlg1-4)には、ADAM22 との脳内結合量に大きな差があり、ADAM22 を介するシナプス伝達制御機構と ADAM22 を介さない別の経路が存在することも明らかになった (Chen, Fukata et al., PNAS 2021)。さらに、これらの手法を他の LGI ファミリータンパク質にも応用した (未発表)。

(2) 遷移性の高いタンパク質相互作用の同定

脱パルミトイル化酵素の基質や制御タンパク質を同定するために、アフィニティータグ付き脱パルミトイル化酵素を発現するノックインマウスを樹立し、特異性を担保して高効率に脳内の目的酵素タンパク質を精製した。上述の FAH タグとは別の GFP あるいは HA タグを挿入したマウス系統を用いることで、各種タグの長所と短所を使い分け、200 種類を越える特異的な相互作用分子を得ることに成功した (未発表)。次に、ADAM22 のリン酸化修飾依存的なタンパク質相互作用を明らかにするために、ADAM22 のリン酸化欠損変異マウスを利用した。野生型マウスとの比較から、ADAM22 は脳内で高度にリン酸化されていること、リン酸化 ADAM22 は定量的に 14-3-3 分子群と結合するが、リン酸化欠損変異型 ADAM22 は 14-3-3 から解離し、 α -adaptin と一過的に結合し、速やかにクラスリン依存的なエンドサイトーシス・分解経路へと導かれることを見出した (Yokoi, Fukata et al, Cell Reports 2021)。このように、リン酸化修飾に関連した一過的なタンパク質相互作用を明らかにすることに成功した。本知見は、てんかん発症に関わるタンパク質量の調節機構を考える上でも重要な情報をもたらした。さらに、神経細胞種特異的なシナプスタンパク質複合体を同定するための実験ツールを作成し、実験手法の改良を進めた (未発表)。

関連する発表論文

- 1) Yokoi N, [Fukata Y*](#), Okatsu K, Yamagata A, Liu Y, Sanbo M, Miyazaki Y, Goto T, Abe M, Kassai H, Sakimura K, Meijer D, Hirabayashi M, Fukai S, Fukata M*. 14-3-3 proteins stabilize LGI1-ADAM22 levels to regulate seizure thresholds in mice. **Cell Rep** 2021;37:110107. *corresponding author
- 2) Chen X, [Fukata Y](#), Fukata M, Nicoll R. MAGUKs are essential, but redundant, in long-term potentiation. **Proc Natl Acad Sci USA** 2021;118:e2107585118.
- 3) [Fukata Y](#), Chen X, Chiken S, Hirano Y, Yamagata A, Inahashi H, Sanbo M, Sano H, Goto T, Hirabayashi M, Kornau HC, Prüss H, Nambu A, Fukai S, Nicoll RA, Fukata M. LGI1-ADAM22-MAGUK configures trans-synaptic nanoalignment for synaptic transmission and epilepsy prevention **Proc Natl Acad Sci USA** 2021;118:e2022580118.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 9件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Yokoi Norihiko, Fukata Yuko, Okatsu Kei, Yamagata Atsushi, Liu Yan, Sanbo Makoto, Miyazaki Yuri, Goto Teppei, Abe Manabu, Kassai Hidetoshi, Sakimura Kenji, Meijer Dies, Hirabayashi Masumi, Fukai Shuya, Fukata Masaki	4. 巻 37
2. 論文標題 14-3-3 proteins stabilize LGI1-ADAM22 levels to regulate seizure thresholds in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 110107 ~ 110107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.110107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Chen Xiumin, Fukata Yuko, Fukata Masaki, Nicoll Roger A.	4. 巻 118
2. 論文標題 MAGUKs are essential, but redundant, in long-term potentiation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2107585118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fukata Yuko, Hirano Yoko, Miyazaki Yuri, Yokoi Norihiko, Fukata Masaki	4. 巻 194
2. 論文標題 Trans-synaptic LGI1-ADAM22-MAGUK in AMPA and NMDA receptor regulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 108628 ~ 108628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2021.108628	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakamoto Chihiro, Goto Yuhei, Tomizawa Yoko, Fukata Yuko, Fukata Masaki, Harpsoe Kasper, Gloriam David E., Aoki Kazuhiro, Takeuchi Tomonori	4. 巻 14
2. 論文標題 A novel red fluorescence dopamine biosensor selectively detects dopamine in the presence of norepinephrine in vitro	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00882-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kreye Jakob, Wright K Sukhvir, van Casteren Adriana, Stoffler Laura, Machule Marie-Luise, Reincke S Molsen, Nikolaus Marc, van Hoof Scott, Sanchez-Sendin Elisa, Homeyer A Marie, Cordero Gomez Cesar, Kornau Hans-Christian, -----12名-----, Wickel Jonathan, Geis Christian, Fukata Yuko, Fukata Masaki, Pruss Harald	4. 巻 218
2. 論文標題 Encephalitis patient-derived monoclonal GABA _A receptor antibodies cause epileptic seizures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20210012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 van der Knoop M Marieke M*, Maroofian Reza*, Fukata Yuko*, van Ierland Yvette, Karimiani G Ehsan, Lehesjoki Anna-Elina, Muona Mikko, Paetau Anders, Miyazaki Yuri, Hirano Yoko, Selim Laila, -----32名-----, Striano Pasquale, Severino Mariasavina, Fukata Masaki#, Hilhorst-Hofstee Yvonne#, Houlden Henry#	4. 巻 -
2. 論文標題 Biallelic ADAM22 pathogenic variants cause progressive encephalopathy and infantile-onset refractory epilepsy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2198/electroph.65.41	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fukata Yuko, Chen Xiumin, Chiken Satomi, Hirano Yoko, Yamagata Atsushi, Inahashi Hiroki, Sanbo Makoto, Sano Hiromi, Goto Teppei, Hirabayashi Masumi, Kornau Hans-Christian, Pruss Harald, Nambu Atsushi, Fukai Shuya, Nicoll Roger A., Fukata Masaki	4. 巻 118
2. 論文標題 LG11-ADAM22-MAGUK configures transsynaptic nanoalignment for synaptic transmission and epilepsy prevention	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2022580118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshida Tomoyuki, Yamagata Atsushi, Imai Ayako, Kim Juhyon, Izumi Hironori, Nakashima Shogo, Shiroshima Tomoko, Maeda Asami, Iwasawa-Okamoto Shiho, Azechi Kenji, Osaka Fumina, Saitoh Takashi, Maenaka Katsumi, Shimada Takashi, Fukata Yuko, Fukata Masaki, Matsumoto Jumpei, Nishijo Hisao, Takao Keizo, Tanaka Shinji, 他6名	4. 巻 12
2. 論文標題 Canonical versus non-canonical transsynaptic signaling of neuroligin 3 tunes development of sociality in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-22059-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Hidenori, Sano Hiromi, Chiken Satomi, Kobayashi Kenta, Fukata Yuko, Fukata Masaki, Mushiake Hajime, Nambu Atsushi	4. 巻 11
2. 論文標題 Forelimb movements evoked by optogenetic stimulation of the macaque motor cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-16883-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 深田正紀、横井紀彦、深田優子	4. 巻 65
2. 論文標題 APEGS法によるタンパク質パルミトイル化修飾の定量	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 電気泳動	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2198/electroph.65.41	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oda Yukako, Sugawara Taichi, Fukata Yuko, Izumi Yasushi, Otani Tetsuhisa, Higashi Tomohito, Fukata Masaki, Furuse Mikio	4. 巻 295
2. 論文標題 The extracellular domain of angulin-1 and palmitoylation of its cytoplasmic region are required for angulin-1 assembly at tricellular contacts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 4289 ~ 4302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.010491	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kornau Hans Christian, Kreye Jakob, Stumpf Alexander, Fukata Yuko, Parthier Daniel, Sammons Rosanna P., Imbrosci Barbara, Kurpjuweit Sarah, Kowski Alexander B., Fukata Masaki, Pruss Harald, Schmitz Dietmar	4. 巻 87
2. 論文標題 Human Cerebrospinal Fluid Monoclonal LGI1 Autoantibodies Increase Neuronal Excitability	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Neurology	6. 最初と最後の頁 405 ~ 418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ana.25666	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sada Ryota, Kimura Hirokazu, Fukata Yuko, Fukata Masaki, Yamamoto Hideki, Kikuchi Akira	4. 巻 12
2. 論文標題 Dynamic palmitoylation controls the microdomain localization of the DKK1 receptors CKAP4 and LRP6	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aat9519	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Cao Yang, Qiu Tian, Kathayat Rahul S., Azizi Saara-Anne, Thorne Anneke K., Ahn Daniel, Fukata Yuko, Fukata Masaki, Rice Phoebe A., Dickinson Bryan C.	4. 巻 15
2. 論文標題 ABHD10 is an S-depalmitoylase affecting redox homeostasis through peroxiredoxin-5	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1232 ~ 1240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41589-019-0399-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Boncompain Gaele, Herit Floriane, Tessier Sarah, Lescure Aurianne, Del Nery Elaine, Gestraud Pierre, Staropoli Isabelle, Fukata Yuko, Fukata Masaki, BreLOT Anne, Niedergang Florence, Perez Franck	4. 巻 5
2. 論文標題 Targeting CCR5 trafficking to inhibit HIV-1 infection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aax0821	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kanadome Takashi, Yokoi Norihiko, Fukata Yuko, Fukata Masaki	4. 巻 -
2. 論文標題 Systematic Screening of Depalmitoylating Enzymes and Evaluation of Their Activities by the Acyl-PEGyl Exchange Gel-Shift (APEGS) Assay	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 83 ~ 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9532-5_7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa Daisuke, Ohnishi Yumi, Koyama Eiji, Matsunaga Satoru, Ohtani Shouhei, Nakanishi Akio, Shiga Takanori, Chambers James K., Uchida Kazuyuki, Yokoi Norihiko, Fukata Yuko, Fukata Masaki	4. 巻 33
2. 論文標題 Deleted in colorectal cancer (netrin 1 receptor) antibodies and limbic encephalitis in a cat with hippocampal necrosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 1440 ~ 1445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jvim.15492	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Fukata Masaki, Fukata Yuko
2. 発表標題 Trans-synaptic LGI1-ADAM22-MAGUK protein complex in synaptic functions and disorders
3. 学会等名 SYNABS Symposium (Germany, Virtual meeting) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fukata Masaki, Yokoi Norihiko, Fukata Yuko
2. 発表標題 Acyl-PEGyl exchange gel-shift (APEGS) assay for palmitoylation quantification
3. 学会等名 第71回 日本電気泳動学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukata Masaki, Yuri Miyazaki, Yokoi Norihiko, Fukata Yuko
2. 発表標題 Synaptic function regulated by palmitate cycling on PSD-95 and trans-synaptic LGI1 and ADAM22
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukata Yuko, Hirano Yoko, Inahashi Hiroki, Miyazaki Yuri, Yokoi Norihiko, Sanbo Makoto, Goto Teppei, Hirabayashi Masumi, Fukata Masaki
2. 発表標題 Physiological roles of trans-synaptic LGI1-ADAM22-MAGUK complex
3. 学会等名 Neuroscience Meeting SfN 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fukata Yuko
2. 発表標題 Functions of trans-synaptic protein complex of epilepsy-related ligand-receptor, LGI1 and ADAM22
3. 学会等名 McGill-NIPS Joint Workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 平野瑤子、宮崎裕理、横井紀彦、平田哲也、深田正紀、深田優子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 17
3. 書名 膜タンパク質工学ハンドブック	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究室ホームページ https://www.nips.ac.jp/fukata/ プレスリリース：新たなてんかん治療戦略を提案 https://www.nips.ac.jp/release/2021/12/_adam22.html プレスリリース：神経シナプス間の軸調整を担う分子群を発見 新たなてんかん病態を解明 https://www.nips.ac.jp/release/2021/01/post_426.html</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	深田 正紀 (Fukata Masaki)		
研究協力者	横井 紀彦 (Yokoi Norihiko)		
研究協力者	宮崎 裕理 (Miyazaki Yuri)		
研究協力者	稲橋 宏樹 (Inahashi Hiroki)		
研究協力者	平野 瑤子 (Hirano Yoko)		
研究協力者	江川 孝彦 (Egawa Tkahiko)		
研究協力者	鈴木 由美 (Suzuki Yumi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	The University of Edinburgh	UCL		
米国	UCSF			
ドイツ	DZNE	Charite-Universitätsmedizin		
オランダ	Erasmus University	Leiden University		
デンマーク	Aarhus University			
オーストリア	IST			
フィンランド	University of Helsinki			