

平成23年 5 月 31 日現在

機関番号： 82401
 研究種目： 基盤研究(B)
 研究期間： 2008～2010
 課題番号： 20370054
 研究課題名(和文)
 細胞内カルシウム濃度変動の時空間パターン形成の分子機構の解析
 研究課題名(英文) Molecular basis underlying the generation of spatiotemporal patterns of cytosolic calcium dynamics
 研究代表者
 道川 貴章 (MICHIKAWA TAKAYUKI)
 独立行政法人理化学研究所・発生神経生物研究チーム・副チームリーダー
 研究者番号： 90282516

研究成果の概要(和文)：

蛍光共鳴エネルギー移動を利用して細胞内 Ca^{2+} 放出チャネルであるイノシトール三リン酸 (IP_3) 受容体の開口機構、および Ca^{2+} 振動中の Ca^{2+} ポンプ活性を明らかにし、ホスホリパーゼ C $\beta 1$ および $\beta 4$ の Ca^{2+} 振動形成における役割を明らかにした。これらの結果に基づき構築した数理モデルにより、 IP_3 受容体の不活性化を誘導する Ca^{2+} 結合が IP_3 結合と拮抗する事が Ca^{2+} 振動形成の本質的メカニズムであることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

The gating mechanism of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (IP_3R)/ Ca^{2+} release channels and the Ca^{2+} pump activity of sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase during Ca^{2+} oscillations were investigated by using the fluorescent resonance energy transfer technique. Phospholipase C $\beta 1$ and $\beta 4$ were identified to be crucial for the generation of Ca^{2+} oscillations in HeLa cells stimulated with histamine. We constructed a mathematical model to reproduce Ca^{2+} and IP_3 dynamics observed and found that a dual-ligand competition of IP_3R is a fundamental mechanism for the generation of Ca^{2+} oscillations.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2009年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2010年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
年度			
年度			
総計	15,900,000	4,770,000	20,670,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：カルシウムシグナル、細胞内情報伝達、セカンドメッセンジャー、イノシトール三リン酸、カルシウム放出チャネル、カルシウムポンプ、ホスホリパーゼ C、カルシウム振動

1. 研究開始当初の背景

Ca²⁺シグナリングの研究において、神経細胞の活動電位にも似た Ca²⁺スパイク（細胞質 Ca²⁺濃度の急峻な一過性の上昇）の周期的な生成や Ca²⁺波の伝搬は、生きた細胞でリアルタイムに Ca²⁺濃度を計測できるようになって以来、現象自身の面白さのみならず情報をコードするという生物学的重要性から多くの研究者の興味を集めてきた。細胞外刺激により生じる細胞内 Ca²⁺濃度変動は、Ca²⁺放出を誘導するセカンドメッセンジャーであるイノシトール 1,4,5 トリリン酸 (IP₃) の産生および代謝、細胞内貯蔵器官からの Ca²⁺放出、貯蔵器官や細胞外への濃度勾配に逆らった Ca²⁺輸送、細胞膜上の Ca²⁺チャンネルによる細胞外からの Ca²⁺流入、細胞質および細胞内 Ca²⁺貯蔵器官における Ca²⁺受容タンパク質による Ca²⁺のキレート効果などの多くの要素が相互に関連し、フィードバック制御を含めた分子ネットワークを形成することで細胞質という 3次元空間で実現される極めて複雑な生命現象である。このことから、細胞内 Ca²⁺動態形成の分子メカニズムを解明するためには、個々の分子の働きだけでなく全体をシステムとして理解することが重要となる。しかし、実験によって個々の分子の動作を解析する研究と、理論をもとにシステム全体の挙動を解析する研究は多くの場合独立に行われ、例えばシミュレーションに必須な情報である速度定数は多くの反応について未知であるなど十分な連携が取られていなかった。

2. 研究の目的

本研究は、神経細胞で生じる活動電位が Hodgkin-Huxley 方程式で表され、神経細胞の膜電位の興奮性を生み出す分子メカニズムが明らかにされたように、細胞内 Ca²⁺スパイクを実験結果に基づいたリアリスティックかつ単純な数理モデルで書き表すことで、細胞外刺激を受けた細胞の Ca²⁺に関する細胞質の興奮性を生み出す分子メカニズムを

明らかにすることを目的とする。

多くの細胞では、細胞膜上の受容体が活性化されるとセカンドメッセンジャーである IP₃ が産生され、IP₃ によって細胞内 Ca²⁺ 放出チャンネルである IP₃ 受容体が開口し、Ca²⁺ が細胞質に放出される。申請者は蛍光 IP₃ センサーを用いて周期的に Ca²⁺ スパイクが生じている際の細胞質における IP₃ 動態を観測し、IP₃ 濃度の急峻な上昇なしに Ca²⁺ スパイクが生じていることから、IP₃ 産生酵素であるホスホオリパーゼ C (PLC) ではなく、IP₃ 受容体チャンネル自身がスパイク発生器であることを明らかにした (Matsu-ura, T., et al., *J. Cell Biol.*, 173, 755-765, 2006)。IP₃ 受容体は低濃度の細胞質 Ca²⁺ によって活性化され、また高濃度 Ca²⁺ によって不活性化されるというように二相性の活性制御を受け、Ca²⁺ は IP₃ と共に IP₃ 受容体チャンネルの開口を引き起こすリガンドであると考えられている。特に、IP₃ 受容体自身が低濃度 Ca²⁺ によって活性化されることから、IP₃ 存在下で Ca²⁺ 放出が起きると正のフィードバック調節により IP₃ 受容体自身がさらに活性化され、自己増幅的に Ca²⁺ 放出が進行し Ca²⁺ スパイクの立ち上がり部分が形成されると考えられているが、IP₃ 結合による Ca²⁺ 結合親和性の変化等の IP₃ 結合と Ca²⁺ 結合の相互作用の詳細や、Ca²⁺ スパイクの減衰部分を生み出すと考えられている高濃度 Ca²⁺ によるチャンネルの不活性化の分子機構は明らかとなっていない。そこで本研究では、IP₃ 受容体のリガンド結合により誘起される構造変化を IP₃ 受容体サブユニット間 FRET を用いて可視化し、IP₃ 受容体チャンネルの開口メカニズム (特に遷移状態数とリガンド結合による状態間移行の全容) を明らかにする。この結果をもとに、IP₃ 受容体チャンネルのリアリスティックな数理モデルを構築し、IP₃ 受容体の単一チャンネル電流、細胞質の局所で観察される一過性の Ca²⁺ 上昇である Ca²⁺ パフ、および細胞質全体で生じる Ca²⁺ スパイクの 3 段階のレベルでの Ca²⁺ シグナルの数理モデルによる再現を試み、細胞外刺激を受けた細胞の Ca²⁺ に関する細胞質の興奮性の分子メカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

IP₃受容体 Ca²⁺放出チャネルの開口制御機構の解析および数理モデルの構築

四量体 IP₃ 受容体チャネルのリガンド結合による構造変化を分子間 FRET 効率の変化により可視化し、IP₃ および Ca²⁺ という 2 種類のリガンドにより活性が制御されている IP₃ 受容体チャネルの開口制御機構を明らかにする。このため、ECFP もしくは Venus をアミノ末端に融合した IP₃ 受容体および ECFP もしくは Venus をカルボキシ末端に融合した IP₃ 受容体を作成し、ECFP 融合タンパク質と Venus 融合タンパク質をそれぞれ 1 種類ずつ同一細胞に発現させる。ECFP および Venus の蛍光シグナルにより 2 種類の蛍光タンパク質/IP₃ 受容体融合タンパク質を同時に発現する細胞を同定し、細胞膜を beta-escin で処理し低分子の拡散が可能な状態にした後に Ca²⁺キレーターである HEDTA で遊離 Ca²⁺濃度を正確に制御した溶液 (Michikawa, T., et al., *Neuron*, 23, 799-808, 1999) を灌流させ、定常状態に達した ECFP および Venus の蛍光強度を蛍光倒立顕微鏡を用いて測定する。測定された ECFP および Venus の蛍光強度の比を取ることで、IP₃ 受容体チャネルのアミノ末端同士 (もしくはカルボキシ末端同士、もしくはアミノ末端とカルボキシ末端) に ECFP および Venus を融合させたサブユニットを含む四量体 IP₃ 受容体チャネルの FRET 効率を測定する。なお、細胞膜を beta-escin で処理することで小胞体膜上の IP₃ 受容体の移動が阻害されるため (Tateishi, Y., et al., *J. Biol. Chem.*, 280, 6816-6822, 2005)、FRET 効率は分子の凝集の程度ではなく個々の四量体チャネル分子の構造を反映すると考えられる。同様の実験をさまざまな濃度の Ca²⁺ および IP₃ 存在下で行い、IP₃ 受容体の構造変化に対する IP₃ 結合および Ca²⁺ 結合の効果、および両者の相互作用を明らかにする。

IP₃ 産生酵素の Ca²⁺ 振動形成における役割の解析

IP₃ 産生酵素である PLC は Ca²⁺ によって活性化されるため、細胞内 Ca²⁺ 動態形成において正のフィードバック調節を受けシステムの非線形性に寄与していると考えられる。PLC はサブタイプによって Ca²⁺ に対する感受性や活性化機構が異なるため、Ca²⁺ 動態形成の分子機構を理解するためには、研究対象とする細胞で実際に発現し作用しているサブタイプの同定が必須である。申請者はこれまでに蛍光 IP₃ センサーを用いた解析により、HeLa 細胞には細胞質 Ca²⁺ 濃度の上昇のみでゆっくりと IP₃ を産生する成分と、細胞外刺激であるヒスタミン刺激のみで速やかに IP₃ 産生を起こす成分があり、ヒスタミン刺激と細胞質 Ca²⁺ 濃度上昇の両者が同時に細胞に与えられると、それぞれの成分の線形和を越えた一過性の IP₃ 濃度上昇 (および IP₃ 濃度の減少) が起きることを明らかにしており (Matsu-ura, T., et al., *J. Cell Biol.*, 173, 755-765, 2006)、複数の PLC サブタイプが IP₃ 動態形成に関与していると考えられる。本研究では、siRNA を用いて各 PLC サブタイプをノックダウンさせた HeLa 細胞の IP₃ 動態を蛍光 IP₃ センサーを用いて測定し、HeLa 細胞で IP₃ 動態形成に関与している PLC サブタイプの同定を試みる。

Ca²⁺ポンプ活性のリアルタイム測定と数理モデルの構築

細胞膜や細胞内 Ca²⁺ 貯蔵器官上に存在する Ca²⁺ポンプは ATP の加水分解エネルギーを用いて Ca²⁺濃度勾配に逆らって膜を隔てて Ca²⁺を輸送し、静止状態の細胞質 Ca²⁺濃度を規定し、さらに刺激により上昇した細胞質 Ca²⁺濃度を下げようとしており、細胞内 Ca²⁺動態形成において欠くことのできない重要な分子である。本研究では、これまでに測定されたことのない生きた細胞内での Ca²⁺ポンプの活性化状態を明らかにするために、蛍光タンパク質と低分子蛍光色素を組み合わせることでポンプ活性に依存した FRET 効率の変化を示す分子を作成し、Ca²⁺振動中のポンプ活性の変化を測定する。

Ca²⁺パフを生み出す分子機構の解析

弱い細胞外刺激により、細胞質の局所で数百ミリ秒という短い時間間隔で一過性に Ca²⁺濃度が上昇する Ca²⁺パフが観察される。Ca²⁺パフは IP₃

受容体チャネルを通して放出された Ca^{2+} が近傍の IP_3 受容体チャネルを活性化し協同的な Ca^{2+} 放出が起きることで生じ、細胞全体に広がる Ca^{2+} シグナルを構成する機能単位であると考えられている。しかし、観察された Ca^{2+} パフの持続時間や空間的広がりを正確に再現するようなモデルはこれまでに作られておらず、このため Ca^{2+} パフを生み出す分子機構の詳細はわかっていない。本研究では、これまで Ca^{2+} パフの観察の際に主に用いられてきたラインスキャンに代わり、全反射顕微鏡によって蛍光 Ca^{2+} 感受性色素の 2 次元蛍光イメージを数十ミリ秒というフレーム速度で取得し、空間情報を保持した状態で Ca^{2+} パフの観察を行う。得られた Ca^{2+} パフの経時的な画像データを 2 次元ガウス分布でフィッティングすることにより、 Ca^{2+} パフが広がる速度や重心の位置および Ca^{2+} パフの各部位における Ca^{2+} 濃度変動の時間パターン等を定量的に解析する。これらのデータをもとに、新たに構築した IP_3 受容体チャネルの開口制御モデルから Ca^{2+} パフの再現を試み、 Ca^{2+} パフを生み出す分子機構を解析する。

Ca²⁺スパイクを生み出す分子機構の解析

ある特定の強度で細胞を刺激すると、細胞質全体に広がる一過性の Ca^{2+} 上昇が周期的に繰り返される Ca^{2+} 振動が生じる。この時に細胞質全体もしくは一部の Ca^{2+} 濃度の経時変化に着目すると、ペースメーカーと呼ばれる小さく緩やかな Ca^{2+} 濃度上昇に続いて急峻に Ca^{2+} 濃度が立ち上がり、ピークに達した後緩やかに静止状態に戻る Ca^{2+} 濃度変動が繰り返し起こっており、それぞれの Ca^{2+} 濃度上昇は Ca^{2+} スパイクと呼ばれている。高い時間及び空間解像度で蛍光 Ca^{2+} 感受性色素および蛍光 IP_3 センサーの 2 次元蛍光イメージを取得し、得られた Ca^{2+} スパイクおよび IP_3 動態の時空間特性を再現できる数理モデルの構築を試みる。

4. 研究成果

IP₃ 受容体 Ca²⁺ 放出チャネルの開口制御機

構の解析および数理モデルの構築

分子間 FRET を用いてリガンド結合による IP_3 受容体の構造変化を検出したところ、 IP_3 結合により FRET 効率は上昇し、一方 Ca^{2+} 結合によっては FRET 効率が減少するという相反する効果が生じることがわかった。さらに両リガンドを同時に添加すると、FRET 効率はそれぞれのリガンドによる効果の線形和ではなく、 IP_3 が見かけ上 Ca^{2+} による構造変化の効果を打ち消すように働くことがわかった。また、 IP_3 非存在下の Ca^{2+} による FRET 変化を IP_3 存在下での Ca^{2+} による FRET 変化から差し引くと、 IP_3 受容体のチャネル活性とよく似た二相性の Ca^{2+} 依存曲線が再現できることがわかった。これらの結果をもとに IP_3 受容体の構造変化モデルを作成し、 IP_3 受容体のリガンドによる構造変化は 5 状態できよく近似することができ、 IP_3 による構造変化と不活性化を誘導する Ca^{2+} 結合が拮抗するというメカニズムを導入することで、それぞれのリガンド結合親和性の複雑な制御機構を考慮することなくリガンドによる構造変化を説明しうることを見いだした (Shinohara, T., Michikawa, T., et al. 投稿中)。

IP_3 受容体の IP_3 結合部位はアミノ末端側およそ 350 アミノ酸部分により構成されており、そのさらにアミノ末端側のおよそ 220 アミノ酸部分は IP_3 結合親和性を 10 倍以上低下させ、さらに IP_3 結合とチャネル開口を取り持つカップリング領域として働くことがわかっていた。そこでこの領域に存在するアミノ酸を詳細に調べ、167 番目のチロシン残基がチャネルを形成する膜貫通領域と直接結合し、カップリングに必須であることを見いだした (Yamazaki, H., et al., J. Biol. Chem., 2010; Chan, J., et al., J. Biol. Chem., 2010)。

IP₃ 産生酵素の Ca²⁺ 振動形成における役割の解析

siRNA を用いて、HeLa 細胞で発現しヒスタミン刺激による Ca^{2+} 振動形成に関与している PLC サブタイプとして PLC β 1 および β 4 を同定した。PLC β 1 を選択的にノックダウンした細胞では、 Ca^{2+} 振動を示す細胞が著明に減少しており、一方 PLC β 4 を選択的にノックダウンした細胞では Ca^{2+} 振動の周波数が有意に減少するという異なる表現型を示すことがわかった。以上の結果は、

HeLa 細胞において PLC β 1 および PLC β 4 がそれぞれ協同して働き、ヒスタミン刺激による Ca²⁺動態形成においてそれぞれ固有の役割で寄与していることを示している (Ishida, S., et al., 投稿準備中)。

Ca²⁺ポンプ活性のリアルタイム測定と数理モデルの構築

筋小胞体や小胞体上に存在する Ca²⁺ポンプである SERCA2a のアミノ末端に ECFP を、577 番目のリジンと 578 番目のグルタミン酸の間に低分子蛍光色素 FAsH が結合する配列を挿入した分子を作成した。この分子は小胞体への Ca²⁺取り込みと相関して FRET 効率が変化し、よって FRET 効率を測定することでリアルタイムに SERCA のポンプ活性を測定できることがわかった。そこで細胞外刺激を加えた COS7 細胞で Ca²⁺振動が起きている時の SERCA ポンプ活性を測定したところ、Ca²⁺濃度と同期して活性が変化し、従来まで考えられていたよりもはるかに高い Ca²⁺に対して協同性を示すことが明らかとなった。この結果、生きた細胞内において、Ca²⁺ポンプ活性はヒル係数 5.7 を持つヒルの式で近似できることが明らかとなった (Satoh, K., et al., *J. Biol. Chem.*, 2011)。

Ca²⁺パフを生み出す分子機構の解析

ヒスタミンにより刺激を受けた HeLa 細胞における局所 Ca²⁺濃度変動を全反射顕微鏡を用いて測定した。観察されたシグナルを 2 次元ガウス分布でフィッティングすることにより、Ca²⁺濃度上昇の重心が、これまでに調べられていた IP₃ 受容体の小胞体膜上での拡散係数に比べ有意に早い速度で移動することがわかった。このことから、細胞内において局所 Ca²⁺濃度上昇は、従来考えられてきた単一部分からの Ca²⁺放出ではなく、複数の Ca²⁺放出部位からランダムに Ca²⁺が放出されることにより形成されていると考えられた (Nakamura, H., et al., 投稿中)。

Ca²⁺スパイクを生み出す分子機構の解析

上記の結果をもとに、Ca²⁺放出チャンネルであ

る IP₃ 受容体の新たなキネティクスモデル、PLC β 1 および β 4 による IP₃ 産生、および高い協同性を示す Ca²⁺ポンプ活性を取り入れた新たな数理モデルを構築した。このモデルは観察された Ca²⁺および IP₃ 動態を再現し、また Ca²⁺振動周波数のリガンド濃度依存性を再現することもできた。このことから、リズム発生器である IP₃ 受容体のチャンネル開口のリガンド依存性、特にチャンネルを活性化する IP₃ 結合とチャンネルを不活性化する Ca²⁺結合が互いに拮抗して働くことが、Ca²⁺振動形成において中心的なメカニズムを担っていることが明らかとなった (Matsu-ura, T., et al., 投稿準備中)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

①Satoh, K., Matsu-ura, T., Enomoto, M., Nakamura, H., Michikawa*, T., and Mikoshiba, K., "Highly cooperative dependence of sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase (SERCA) 2a pump activity on cytosolic calcium in living cells"

J. Biol. Chem., in press (2011)

*Corresponding author 【査読あり】

②Yamazaki, H., Nozaki, H., Onodera, O., Michikawa, T., Nishizawa, M. and Mikoshiba, K., "Functional characterization of the P1059L mutation in the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 identified in a Japanese SCA15 family."

Biochem. Biophys. Res. Commun., in press (2011)

【査読あり】

③Yamazaki, H., Chan, J., Ikura, M., Michikawa*, T., and Mikoshiba, K., "Tyr-167/Trp-168 in type 1/3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor mediates functional coupling between ligand binding and channel opening"

J. Biol. Chem., 285, 36081-36091 (2010)

*Corresponding author 【査読あり】

④Chan, J., Yamazaki, H., Ishiyama, N., Seo, M-D., Mal, T.K., Michikawa, T., K. Mikoshiba, and Ikura, M., "Structural studies of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor: coupling ligand binding to channel gating"

J. Biol. Chem., 285, 36092-36099 (2010) 【査読あり】

⑤Hirokawa, K., Yamada, Y., Matsuda, T., Kobayashi, K., Hashimoto, M., Matsu-ura, T., Miyawaki, A., Michikawa, T., Mikoshiba, K., and Nagai, T., "Spontaneous network activity visualized by

ultrasensitive Ca^{2+} indicator, yellow Cameleon-Nano”
Nat. Methods., 7, 729-732 (2010) 【査読あり】

⑥Betzenhauser, M.J., Wagner, L.E., Iwai, M., Michikawa, T., Mikoshiba, K., and Yule, D., “ATP modulation of Ca^{2+} release by type-2 and type-3 inositol (1,4,5)-trisphosphate receptors. Differing ATP sensitivities and molecular determinants of action”
J. Biol. Chem., 283, 21579-21587 (2008) 【査読あり】

〔学会発表〕(計 9 件)

① Toru Matsu-ura, Sachiko Ishida, Takayuki Michikawa, and Katsuhiko Mikoshiba "The relationship between IP_3 level and the frequency of Ca^{2+} oscillations." Biophysical Society 55th Annual Meeting, Baltimore, MD, USA 2011/3/5-9

② Kanayo Satoh, Toru Matsu-ura, Masahiro Enomoto, Takayuki Michikawa, and Katsuhiko Mikoshiba, "Highly cooperative dependence of SERCA2a calcium pump activity on cytosolic calcium" Biophysical Society 55th Annual Meeting, Baltimore, MD, USA 2011/3/5-9

③ Toru Matsu-ura, Sachiko Ishida, Takayuki Michikawa, and Katsuhiko Mikoshiba "Analysis of the regulatory mechanism of Ca^{2+} oscillations with a novel IP_3R model that reproduces cytosolic IP_3 dynamics." 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会 神戸 2010 年 12 月 7-10 日

④ Yoshiyuki Yamada, Takayuki Michikawa, Mitsuhiro Hashimoto, Atsushi Miyawaki, Michael Hausser, and Katsuhiko Mikoshiba. "Evaluation of the performance of genetically encoded calcium indicators expressed in mammalian neurons." Neuroscience2010, San Diego, CA USA 2010/11/13-17

⑤ Yoshiyuki Yamada, Takayuki Michikawa, Mitsuhiro hashimoto, Atsushi Miyawaki, and Katsuhiko Mikoshiba "Evaluating the performance of genetically encoded calcium indicators expressed in mammalian neurons" Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学会大会・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

⑥ Sachiko Ishida, Taru Matsu-ura, Takayuki Michikawa, and Katsuhiko Mikoshiba "Distinct roles of phospholipase C beta1 and beta4 in the

generation of Ca^{2+} oscillations"第 48 回生物物理学会、仙台 2010 年 9 月 20-22 日

⑦山崎美佳、道川貴章、御子柴克彦「イノシトール三リン酸受容体カルシウム放出チャネルの開口機構の解析」第 82 回日本生化学会年会、神戸、2009 年 10 月 21-24 日

⑧Yoshiyuki Yamada, Takayuki Michikawa, Mitsuhiro Hashimoto, Atsushi Miyawaki, and Katsuhiko Mikoshiba "An adenovirus-based novel experimental system for introduction of genetically encoded tools" 第 32 回日本神経科学会大会、名古屋、2009 年 9 月 16-18 日

⑨松浦徹、道川貴章、御子柴克彦「カルシウム振動の周期はどのように調節されているのか」第 81 回日本生化学会合同大会、第 31 回日本分子生物学会、神戸、2008 年 12 月 9-12 日

〔図書〕(計 1 件)

①Mizutani, A., Kawaai, K., Hisatsune, C., Ando, H., Michikawa, T., and Mikoshiba, K., "Isolation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor- associating proteins and selective knockdown using RNA interference”
Methods Mol. Biol., 645, 133-141 (2010)

〔産業財産権〕
なし

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

道川 貴章 (MICHIKAWA TAKAYUKI)
独立行政法人理化学研究所・発生神経生物研究チーム・副チームリーダー
90282516

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者