

posttraumatic stress disorder.

GENERAL CITATIONS

- Bito H. 1998. The role of calcium in activity-dependent neuronal gene regulation. *Cell Calcium*, 23: 43-150.
- Bito H, Takemoto-Kimura S. 2003. Ca^{2+} /CREB/CBP-dependent gene regulation: a shared mechanism critical in long-term synaptic plasticity and neuronal survival. *Cell Calcium*, 34:425-430.
- Kandel ER. 2001. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, 294:1030-1038.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG. 2000. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci*, 23:649-711.
- Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S. 1998. CREB and memory. *Annu Rev Neurosci*, 21:127-148.

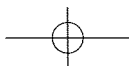
DISCOVERY CITATIONS

- Barco A, Alarcon JM, Kandel ER. 2002. Expression of constitutively active CREB protein facilitates the late phase of long-term potentiation by enhancing synaptic capture. *Cell*, 108:689-703.
- Bartsch D, Ghirardi M, Skehel PA, Karl KA, Herder SP, Chen M, *et al.* 1995. Aplysia CREB2 represses long-term facilitation: relief of repression converts transient facilitation into long-term functional and structural change. *Cell*, 83:979-992.
- Bito H, Deisseroth K, Tsien RW. 1996. CREB phosphorylation and dephosphorylation: a Ca^{2+} - and stimulus duration-dependent switch for hippocampal gene expression. *Cell*, 87:1203-1214.
- Blendy JA, Kaestner KH, Schmid W, Gass P, Schutz G. 1996. Targeting of the CREB gene leads to up-regulation of a novel CREB mRNA isoform. *Embo J*, 15:1098-1106.
- Bourtchuladze R, Frenguelli B, Blendy J, Cioffi D, Schutz G, Silva AJ. 1994. Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell*,

79:59-68.

- Chrivia JC, Kwok RP, Lamb N, Hagiwara M, Montminy MR, Goodman RH. 1993. Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP. *Nature*, 365:855-859.
- Conkright MD, Canettieri G, Sreaton R, Guzman E, Miraglia L, Hogenesch JB, *et al.* 2003. TORCs: transducers of regulated CREB activity. *Mol Cell*, 12:413-423.
- Dash PK, Hochner B, Kandel ER. 1990. Injection of the cAMP-responsive element into the nucleus of *Aplysia* sensory neurons blocks long-term facilitation. *Nature*, 345:718-721.
- Deisseroth K, Heist EK, Tsien RW. 1998. Translocation of calmodulin to the nucleus supports CREB phosphorylation in hippocampal neurons. *Nature*, 392:198-202.
- Ferreri K, Gill G, Montminy M. 1994. The cAMP-regulated transcription factor CREB interacts with a component of the TFIID complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91:1210-1213.
- Ginty DD, Kornhauser JM, Thompson MA, Bading H, Mayo KE, Takahashi JS, *et al.* 1993. Regulation of CREB phosphorylation in the suprachiasmatic nucleus by light and a circadian clock. *Science*, 260:238-241.
- Gonzalez GA, Montminy MR. 1989. Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133. *Cell*, 59:675-680.
- Hagiwara M, Alberts A, Brindle P, Meinkoth J, Feramisco J, Deng T, *et al.* 1992. Transcriptional attenuation following cAMP induction requires PP-1-mediated dephosphorylation of CREB. *Cell*, 70:105-113.
- Herzig S, Hedrick S, Morante I, Koo SH, Galimi F, Montminy M. 2003. CREB controls hepatic lipid metabolism through nuclear hormone receptor PPAR-gamma. *Nature*, 426:190-193.
- Herzig S, Long F, Jhala US, Hedrick S, Quinn R, Bauer A, *et al.* 2001. CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1. *Nature*, 413:179-183.
- Impey S, McCorkle SR, Cha-Molstad H, Dwyer JM, Yochum GS, Boss JM, *et al.* 2004. Defining the

- CREB regulon: a genome-wide analysis of transcription factor regulatory regions. *Cell*, 119: 1041-1054.
- Kida S, Josselyn SA, de Ortiz SP, Kogan JH, Chevere I, Masushige S, *et al.*. 2002. CREB required for the stability of new and reactivated fear memories. *Nat Neurosci*, 5:348-355.
- Lonze BE, Riccio A, Cohen S, Ginty DD. 2002. Apoptosis, axonal growth defects, and degeneration of peripheral neurons in mice lacking CREB. *Neuron*, 34:371-385.
- Mantamadiotis T, Lemberger T, Bleckmann SC, Kern H, Kretz O, Martin Villalba A, *et al.*. 2002. Disruption of CREB function in brain leads to neurodegeneration. *Nat Genet*, 31:47-54.
- Mayr B, Montminy M. 2001. Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2:599-609.
- Montminy MR, Bilezikjian LM. 1987. Binding of a nuclear protein to the cyclic-AMP response element of the somatostatin gene. *Nature*, 328:175-178.
- Ramanan N, Shen Y, Sarsfield S, Lemberger T, Schutz G, Linden DJ, *et al.*. 2005. SRF mediates activity-induced gene expression and synaptic plasticity but not neuronal viability. *Nat Neurosci*, 8:759-767.
- Rudolph D, Tafuri A, Gass P, Hammerling GJ, Arnold B, Schutz G. 1998. Impaired fetal T cell development and perinatal lethality in mice lacking the cAMP response element binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95:4481-4486.
- Sée V, Boutiller AL, Bito H, Loeffler JP. 2001. Calcium-calmodulin dependent protein kinase type IV (CaMKIV) inhibits apoptosis induced by potassium deprivation in cerebellar granule cells. *FASEB J*, 15: 134-144.
- Screaton RA, Conkright MD, Katoh Y, Best JL, Cannettieri G, Jeffries S, *et al.*. 2004 The CREB coactivator TORC2 functions as a calcium-and cAMP-sensitive coincidence detector. *Cell*, 119:61-74.
- Shaywitz AJ, Greenberg ME. 1999. CREB: a stimulus-induced transcription factor activated by a diverse array of extracellular signals. *Annu Rev Biochem*, 68:821-861.
- Yin JC, Wallach JS, Del Vecchio M, Wilder EL, Zhou H, Quinn WG, *et al.*. 1994. Induction of a dominant negative CREB transgene specifically blocks long-term memory in *Drosophila*. *Cell*, 79:49-58.
- Zhang X, Odom DT, Koo SH, Conkright MD, Cannettieri G, Best J, *et al.*. 2005. Genome-wide analysis of cAMP-response element binding protein occupancy, phosphorylation, and target gene activation in human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102:4459-4464



3-2 情報素子としてのシナプス

構造・機能ならびに新たな疾患制御標的としての意義

奥野浩行 東京大学大学院医学系研究科 脳神経医学専攻 神経生化学分野
 藤井 哉 東京大学大学院医学系研究科 脳神経医学専攻 神経生化学分野
 尾藤晴彦 東京大学大学院医学系研究科 脳神経医学専攻 神経生化学分野

1 はじめに

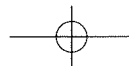
脳は、人間が人間たる所以の臓器である。脳の機能により、人間は社会活動を円滑に行い、文化的な生活を営むことができる。少子化と高齢化が急速に進行しつつある超成熟型社会の日本では、①脳の機能発達を助け、②脳高次機能を維持し続け、③脳高次機能低下を予防し、さらに、④一度障害された場合でも可能な限り再建する、というチャレンジが21世紀医療の中核課題の1つであることは間違いない。

最近の知見により、発育時における神経ネットワークの発達異常が、精神・認知活動などの機能的障害をもたらす根本原因の1つである、という考え方が有力視されている。また、正常な脳発達をとげた後でも、加齢とともに微小な神経回路の機能不良が徐々に蓄積し、ある閾値を超えると、意識、情動、記憶、意欲、注意などの脳高次機能に障害が発生するリスクが高くなる。神経ネットワークや局所神経回路を理解するためには、まず脳の情報処理の素過程を担い、神経回路のノードであるシナプスの基本的作動原理を解明することが重要である。

本稿では、このような視点からシナプスをとらえ、脳の基本情報素子の機能と構造について概説し、疾患制御標的としての意義について触れてみたい。

2 シナプスとは

シナプスの存在は、19世紀の脳神経科学者らにより予言されていた。たとえば、1906年にノーベル医学生理学賞を受賞したRamon y Cajalは、自身の提唱したニューロン説(neuron doctrine)において、「神経細胞(ニューロン)は互いに融合せず、接触している」と喝破しており、脳全体では1000億個以上ともいわれるニューロンが、互いの接触(=シナプス)を介して情報交



換を行い、入力に対する出力をリアルタイムに制御していることを、解剖学的知見により鋭く洞察した。

神経幹細胞から生じたニューロンは、分裂後の分化・熟成にしたがい、細胞極性の形成と同時に、軸索ならびに樹状突起と呼ばれる2種類の機能的に分化した突起を伸ばす。軸索の先端の神経終末には、神経伝達物質放出を司る分子装置が整備され、一方の樹状突起上にはシナプス後肥厚部 (postsynaptic density, PSD) と呼ばれる神経伝達物質を受け取り、細胞内へ情報を伝達する特殊な構造が作られ、これらが対をなして細胞間接着点であるシナプスを形成する。つまりシナプスとは、神経伝達物質の放出と受容を介して、情報をシナプス前細胞からシナプス後細胞へ方向的に伝達する装置である。ニューロンの成熟にともない、シナプスは1つのニューロンあたり、数百から数千個、多い場合では数万以上も形成される。すなわち1つのニューロンは、数百から数万にもおよぶ多数のほかのニューロンから情報を受け取っているのである。

シナプスが形成され、成熟な神経ネットワークが完成した後は、ニューロンの形態やシナプス結合は大きく変化せず、その構造を支える細胞骨格系は静的である、という考えが長らく主流であった。そのなか

で、たとえばDonald Hebbは彼の著書“ The organization of behavior” (1949) のシナプス可塑性に関する理論的考察の中で、シナプスの増減を説明しうる機構として、活動依存的な突起の動的な新生・消退をあげている。その後、半世紀以上経た現在、実際に、神経活動に伴いシナプスの形態の変化が起こることが、実験によって明らか

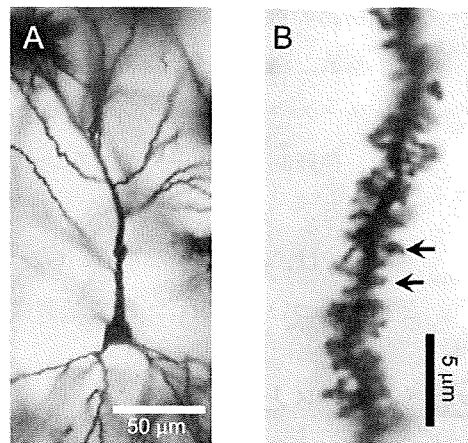
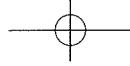


図3-2-1 神経細胞の形態

- (A) ラット海馬の錐体細胞のゴルジ染色像。細胞体から1本の尖頭樹状突起 (apical dendrite) および複数の基底樹状突起 (basal dendrites) が伸びる様子が見られる
- (B) 樹状突起の拡大写真。樹状突起に無数の棘=スパイン (矢印) が存在する



にされつつある。大脳皮質におけるもっとも主要な神経伝達物質は、グルタミン酸であるが、これを受け取る興奮性のシナプス後肥厚部の多くは、スパインと呼ばれる樹状突起上の微小な突起に形成されている（図3-2-1）。

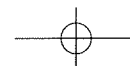
最近、長期増強（LTP）や長期抑圧（LTD）などのシナプス伝達の可塑的变化に伴い、スパイン、スパイン頸部、スパイン数などが変化することが相次いで報告され、シナプスおよびニューロンの形態は、成熟脳においてもダイナミックに変化しているという共通概念が定着してきた^[1]。発達期における軸索および樹状突起の形成・伸展やシナプス形成過程ならびに成熟期におけるシナプスの構造的変化には、アクチンや微小管などの細胞骨格の動的役割が不可欠と考えられている^[2, 3]。

3 シナプス構造

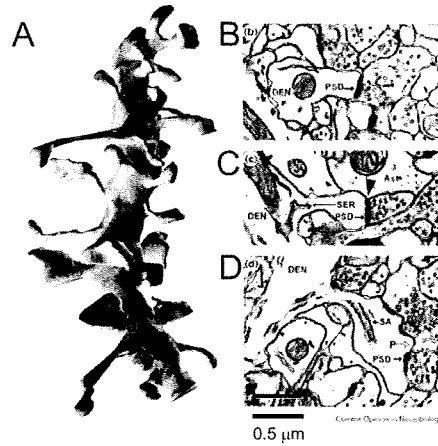
それでは、シナプスの構造と特徴とはいかなるものであるか。

ニューロン間で刻一刻と伝達される神経情報は、前述のとおり、シナプス前膜では神経伝達物質放出として表現され、シナプス後膜においては、神経伝達物質が膜表面に存在する受容体に捕らえられた後、電気的シグナルと化学的な細胞内シグナルに振り分けられる。電気的シグナルおよび化学的細胞内シグナルは、隣接する、または離れた場所に存在する複数のシナプス間で加算・引算などの演算が行われ、その結果は出力として次のニューロンに伝えられていく。これらの素過程が並列的に脳内の神経回路内で起こり、その総和として、人間の精神・認知・神経活動が起こると考えられている。すなわち、脳高次機能と呼ばれる意識、情動、記憶、意欲、注意などの機能は、シナプス後膜の神経伝達物質受容体の構造変化に伴うイオン透過・膜電位変化と、分子シグナリング（酵素反応およびタンパク-タンパク間相互作用、タンパク-脂質二重膜間相互作用や細胞骨格相互作用の総和）に還元できるといっても過言ではない。

ここで考慮に入れなければならないのが、この電気的および分子シグナリングの起こるフィールドの大きさである。興奮性シナプスが存在する樹状突起のスパインの容積は、1フェムトリットル以下である（図3-2-2）。このような局所空間では、通常の試験管内の反応とは異なり、反応に関与する分子の数が



3-2 情報素子としてのシナプス



電子顕微鏡写真像から再構成した海馬錐体細胞の樹状突起スパインの体積:
0.004-0.56 μm^3 (=fl)

例えば体積0.16 μm^3 のスパインに含まれる分子の数は、

濃度1 μM では

$$1 \times 10^{-6} \text{ (M)} \times 0.16 \times 10^{-15} \text{ (L)} \times 6.02 \times 10^{23} = 1 \times 10^2 \text{ 分子}$$

濃度10 nMでは

$$10 \times 10^{-9} \text{ (M)} \times 0.16 \times 10^{-15} \text{ (L)} \times 6.02 \times 10^{23} = 1 \text{ 分子}$$

である。

図3-2-2 海馬錐体細胞シナプスの微細構造

- (A) 連続電子顕微鏡写真から再構成した樹状突起の三次元構造
- (B~D) 個々の電子顕微鏡写真. 前シナプス部位(20~40nmほどの小胞=シナプス小胞が多数含まれる部位)や後シナプス部位(PSDを含む部位)が示されている(文献14より許可を得て転載). 電子顕微鏡写真による再構成から計算されたスパインの体積は、かなり幅のある分布を示す. この極微小体積においては、シナプスタンパク質などの分子は数分子~数百分子程度の数にしかない

非常に少ないため、効率よく化学反応を起こすための特殊な機構が存在すると考えられている^[4]。すなわち、自由拡散により酵素と基質が衝突するのではなく、数十nm四方の「ナノドメイン」に濃縮された関連分子の間で、効率よくシグナルが共役・伝達されていると考えられる。詳しくは後に述べるが、実際、シナプス後肥厚部にはシグナル伝達に関わる分子が高密度に存在している。このようなナノドメイン内における代謝反応論・酵素学の実体は、これまでほとんど明らかにされていない。

一方、樹状突起スパインの構造に柔軟性があることは前項で述べたが、このことは、少なくとも大脳皮質の興奮性伝達を担うシナプスにおいては、ナノドメインの大きさ自体が、神経ネットワークの活動自体によって変化する性質を有していることを示す。このナノドメインの変化は、そこに存在するシグナル伝達関連分子の組成のダイナミックな再編成を引き起こし、それに伴い、ナノドメインでの化学反応過程も大きく変化すると考えられる。

4 シナプスの発達と神経精神疾患

シナプスが精神・認知活動の素子であり，その形態・機能はダイナミックに変化するが，シナプスの形態と脳機能にはどのような関係が知られているのであろうか．大脳における興奮性シナプス構造の形成の場である樹状突起スパインは，脳の発達と共にその密度や形態が大きく変化する（図3-2-3 A）．胎児期においては，スパインは細長く，樹状突起の単位長さあたりの密度も低いですが，生後，より短く太いスパインが増え，密度も飛躍的に高くなる．

このような形態の変化が脳機能の発達に重要であることは，精神遅滞や神経精神疾患において，顕著なシナプス構造の変化が数多く報告されていることから強く示唆される（図3-2-3 B）．精神遅延症状を示す患者の大きな割合を占める脆弱性X症候群やダウン症候群では，スパイン密度の低下やスパイン形態が細長くなる，といった共通した所見が報告されている^[5]．発育時におけるシナプスの発達異常が，精神・認知障害をもたらす根本原因の1つであるという考えに基づき，これら障害の克服のためにはシナプス形成とシナプス構造の安定性と動的変化を支配する，分子細胞生物学的基盤を明らかにする必要がある．

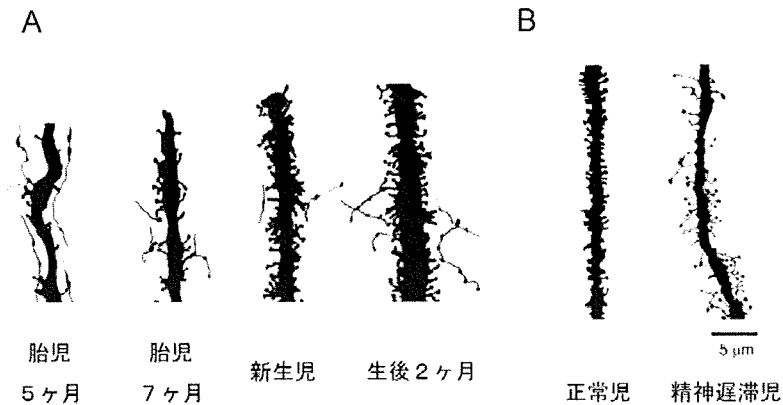


図3-2-3 樹状突起スパインの発達と形態異常

- (A) 大脳の発達とスパインの形態変化．大脳新皮質錐体細胞のゴルジ染色像を示す．発達とともに樹状突起単位長さあたりのスパインの数が増加している（文献15より許可を得て転載）
- (B) 正常児（6ヶ月）および精神遅滞児（10ヶ月）の大脳新皮質の錐体細胞のゴルジ染色像．精神遅滞児の脳では，正常児脳と比べ，細長いスパインが数多く存在し，スパイン密度も低い（文献16より許可を得て転載）

5 シナプス伝達を担うシナプス後肥厚部分分子複合体

シナプス前終末からの神経伝達放出は、軸索を伝わる活動電位が神経終末に到着してから1ミリ秒程度のきわめて短い時間内に、シナプス小胞 (synaptic vesicles) がシナプス前膜へ膜融合することによって引き起こされる。このような、きわめて高い時間的信頼性をもつ神経伝達物質放出を保証するための、電位依存性カルシウムチャネル開口とシナプス小胞の間の距離が最適化されることや、小胞放出機構の高いカルシウム協調性が存在するなどの機構が明らかにされつつある^[6]。

一方、シナプス後肥厚部におけるシグナルは、神経伝達物質受容体が伝達物質を結合し、構造変化を起こすことに始まる。NMDA型やAMPA型のグルタミン酸受容体のように、リガンド結合型イオンチャネルを形成している場合、リガンド結合後、やはり1ミリ秒以内にチャネルのゲートが開き、イオン透過が起こり、数ミリ秒以内に電流が不活性化する。一方、mGluRのような代謝型受容体の場合は、三量体Gタンパク質の活性化によるシグナル増幅を介するため、シグナル伝達の活性化は秒のオーダーとなり、チャネル型受容体と比べてかなり遅れるが、複数の特異的な下流エフェクター分子の活性制御を行うことにより、多彩な細胞内シグナル伝達経路の平行制御が可能となる^[4, 7]。

シナプス前部・後部にかかわらず、ナノドメインに濃縮されたシグナル伝達分子の間で協調的なシグナル伝達を再現性よく伝達し、同時にその制御を可能にする機構を実現しているのが足場タンパクの存在である。多くの足場タンパクは、多量体化する性質とマルチドメイン構造を併せ持ち、これにより限られた空間内で複雑な分子ネットワークが形成されている (図3-2-4)。この分子ネットワークにおいて、足場タンパクは特異的なシグナリング分子との複合体を形成してシグナル伝達のを提供し、シグナル伝達の特異性、正確性、そして感受性を制御すると考えられているが、その全体像はいまだ明らかではない。生きたニューロンのシナプス構造の中で、分子複合体の動態を実測し、同時に細胞内シグナル伝達の開始・持続・終了を測定することが技術的に困難だからである。筆者らは、この技術的困難のブレークスルーを見いだすことが、現在のナノ技術の向かうべき方向の1つであると考えている。

興奮性シナプスを形成するスパイン内には、アクチン細胞骨格 (F-actin)

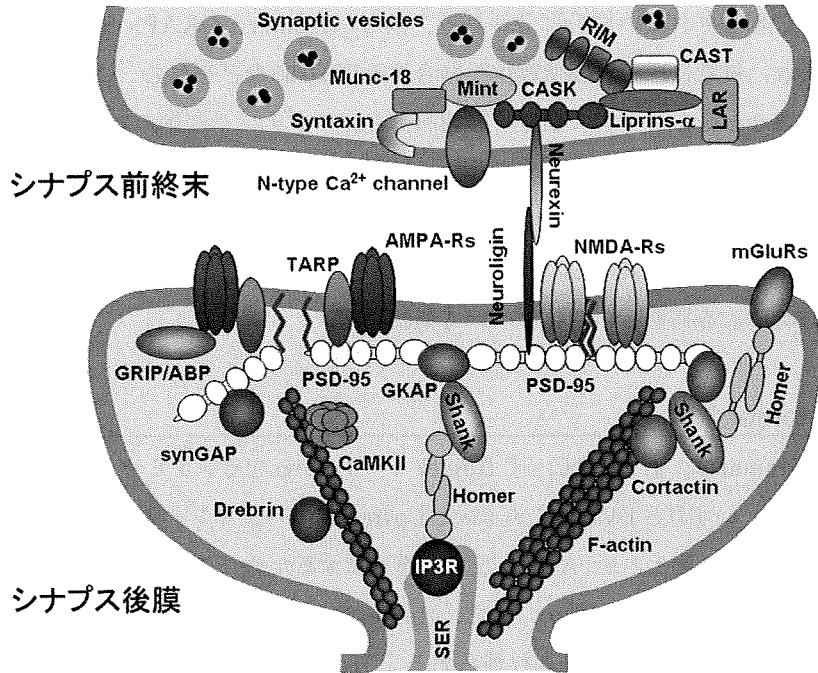


図3-2-4 興奮性シナプスの構成タンパク群

中枢神経の興奮性シナプスにおけるシナプス前終末、およびシナプス後膜に存在するタンパク、およびそれらの相互作用のごく一部を模式的に示した。シナプス前終末では、活動電位によりシナプス小胞 (synaptic vesicles) を膜に融合し、神経伝達物質を放出するために必要な複合体がタンパク相互作用により形成されている。また、シナプス後膜では興奮性シナプス伝達の主要な担い手である膜タンパク AMPA 型受容体 (AMPA-Rs) や NMDA 型受容体 (NMDA-Rs)、また、代謝型グルタミン酸受容体 (mGluRs)、およびそれらを支える細胞内の足場タンパク質 (scaffolding proteins)、さらに、それらに結合するさまざまなタンパク質が高密度で存在している

が高度に集積しており、アクチン分子の重合・脱重合を制御することにより、スパイン形態の動的な変化が制御されていると考えられている。実際、アクチン細胞骨格 (F-actin) を調節する低分子量Gタンパク質 Rhoファミリー GTPaseの関連分子である CitronやCollibistin, Kalirinなどは、スパイン内に局在しており、これらが足場タンパクに結合することにより分子ネットワークを構成していることが報告されている^[8]。これらの分子の活性を神経活動依存的に制御する機構は現在のところ明らかになっていない。

シナプス後肥厚部における複雑な分子ネットワークは、アクチン細胞骨格とシナプス後肥厚部タンパクの複合体によって形成されているが、シナプス後肥厚部タンパクはアクチン重合阻害により動態が著しく影響を受ける成分と、大

大きく影響されない成分に分かれる。前者はHomer, GKAP, Shankなどが含まれ、後者には膜表面受容体と結合するPSD-95などを含む。これらの分子群はおそらく、シナプス動態・形態制御とシグナリング制御の2つの事象に、それぞれ互いに相互作用を及ぼしながら関わっていると考えられている。各構成分子の機能異常は、シナプスの機能に多様で広範な障害を及ぼす。以下に、HomerおよびPSD-95の2つの分子を例として、構造と機能、およびその機能破綻による病態との関係について概説する。

5-1 Homerタンパク

Homerは、3つの遺伝子(Homer 1~3)からなるファミリータンパクであり^[9]、いずれもEVH 1ドメインとCoiled-coilドメインの2つのドメイン構造を有する(図3-2-5 A)。ここでは簡単にするため、これらのファミリーをまとめてHomerとして扱う。また、Homer遺伝子からはCoiled-coilドメインを欠損したアイソフォームも作られる。Homerはシナプス後肥厚部においてEVH 1およびCoiled-coilドメインを介して、多数のタンパクと相互作用し、

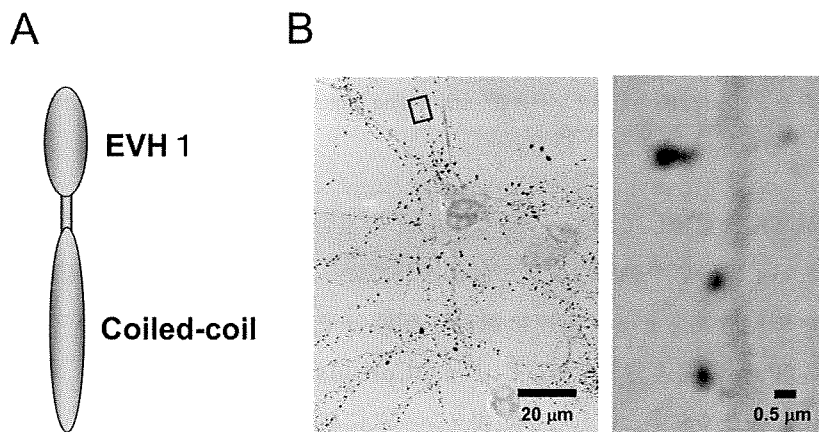


図3-2-5 Homerタンパクの分子構造とシナプス集積

- (A) Homerのドメイン構造。Homerはタンパク-タンパク相互作用モチーフであるEVH 1ドメインを持ち、さらに複合体形成に必要なCoiled-coilドメインをもつ。またCoiled-coilドメインを欠損するshort-form型も存在する
- (B) Homerのシナプス局在。(左) 海馬培養細胞の透過像に、抗Homer抗体による免疫染色像(黒色表示)を重ね合わせて示した。1つの培養神経細胞あたり数百以上の黒いスポットが観察される。(右) 樹状突起の拡大図。左パネルのボックス部を拡大した。個々のHomerのスポットは、樹状突起の幹部から少し離れたスパインの頭部に見られる

これらのタンパクの足場の構成成分として機能していると考えられている(図3-2-5 B)。EVH 1ドメインと結合するタンパクには、代謝型グルタミン酸受容体mGluR1/5やIP3レセプター、TRP-Cチャンネルなどが知られる。

これらのタンパクは点いずれもカルシウムシグナルと密接な関わりがあるものであることから、Homerタンパクが細胞内のカルシウムシグナルの制御に重要な役割を果たしていることが示唆される。またEVH 1ドメインには、NMDA受容体複合体の構成成分Shankも結合するが、このShankはさらにCortactinというアクチン細胞骨格結合タンパクと結合する。このタンパク複合体により、Homerはアクチン細胞骨格との間接的な相互作用を持っていると考えられる。一方、Coiled-coilドメインは、Homerタンパク同士の結合に必要であり、この部分を介してHomer-Homer複合体を形成することにより、EVH 1ドメイン結合タンパクとともに巨大な複合体を形成すると考えられている。

Homerの生理的機能の解析は、主にノックアウトマウスを用いて進められてきた。Homerノックアウトマウスは、学習・記憶障害のほか、新規オブジェクトに対する関心の低下やプレパルス抑制の障害、また多動性を示すなど、多くの神経精神疾患様の症状を示す^[9]。また、Homerノックアウトマウスでは、コカインやアンファタミンなどの薬剤に対する感受性が上昇しており、向精神薬中毒の分子メカニズムの解明の糸口として注目を集めている。さらにHomerを欠損させると、アルコールに対する行動レベルでの感受性が低下し、逆にHomerを強制的に発現させると、アルコールに対する感受性が上昇する。また興味深いことに、ヒトにおいてHomer1遺伝子の一塩基多型(SNP)がある群の統合失調症患者においては有意に認められたという報告もある^[10]。これらの知見を統合すると、Homerは神経機能を正常に保つために必須であり、シナプスにおけるHomerの機能、局在、動態などの異常は、広範な神経精神疾患様症状を引き起こす原因となっている可能性を強く示唆している。

5-2 PSD-95タンパク

PSD-95は、中枢神経系の興奮性シナプスのシナプス後肥厚部にもっとも豊富に存在する分子の1つである。PSD-95を中心的な足場として集積した複合

3-2 情報素子としてのシナプス

体には、シナプス可塑性やアクチン動態にも大きく影響を与えるNMDA受容体が含まれる。PSD-95は、3つのPDZドメイン、SH3ドメインならびにGKドメインの、5つのタンパク-タンパク結合ドメインを有し、それぞれを介したタンパク-タンパク相互作用により複合体形成に寄与すると考えられている(図3-2-6)。各ドメインは、特にきわめて相同性の高い3つのPDZドメインは、特異的なリガンドと独立に結合して、それぞれ特異性の異なるシグナルの橋渡しをするのだろうか? このような問いに対する解を得るためには、PSD-95全長の分子構造を保持しつつ、特定PDZドメインの結合能のみ欠落している全長変異体を用いる工夫が必要である。

野中らは、PDZ1, 2とPDZ3との結晶構造・NMR構造比較をもとに、結合活性を有する機能的なPDZドメインの数が0, 1, 2, 3となるようなさまざまなPSD-95変異体を作成し、これらをマウス海馬の神経初代培養細胞に遺伝子

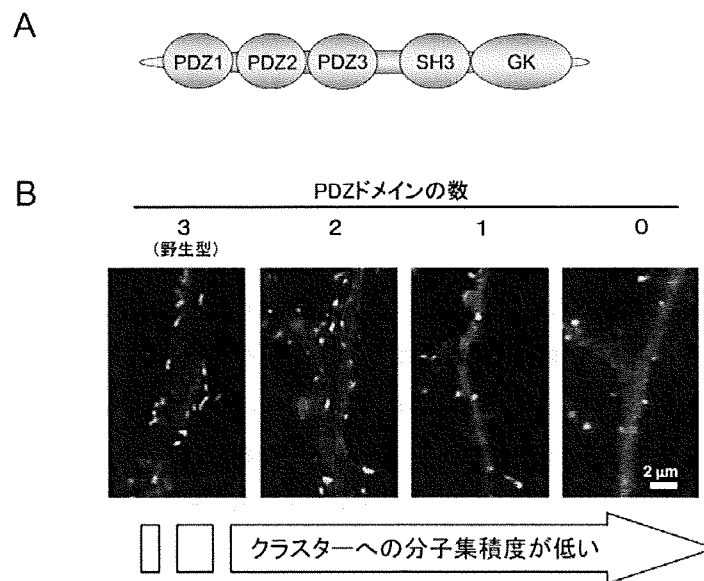


図3-2-6 PSD-95の分子構造とシナプス集積

- (A) PSD-95のドメイン構造. タンパク-タンパク相互作用モチーフであるPDZドメインが3つ存在し、そのC末側には別のタンパク-タンパク相互作用モチーフであるSH3ドメインおよびGuanylate kinase様(GK)ドメインが存在する
- (B) PDZ変異体を用いたPSD-95の機能解析. 3つのPDZドメインに段階的に変異を加えることにより、徐々にPSD-95のシナプスへの集積度が低下し、また、スパインの長さが長くなるなどのシナプスの形態の異常が見られた(東京大学・野中美応博士のご厚意による)

導入して表現型解析を行った^[11]。各PSD-95変異体はシナプスに集積したが、クラスター形成効率は、変異PDZドメインの数が1, 2, 3と増すにつれて徐々に低下した。また、変異PSD-95を発現している神経細胞では、細長く伸展している幼弱な形状のスパインが数多く見られ、変異PDZドメインの数が1, 2, 3と増すほどスパインが長くなる傾向が見られた。スパイン長の伸展は、前述した精神遅滞や、脆弱性X染色体症候群などの疾患で見られる長いスパインを思い起こさせる。これまでPSD-95の3つのPDZドメインは、リガンド特異性が異なることから、独立した機能を受け持つと考えられてきた。しかし上記の実験から、3つのPDZドメインは、高密度クラスター形成とスパイン形態成熟に対して相加的な作用を示すことが明らかになった。

PSD-95は、PDZ結合タンパクの1つであるSynGAPなどの細胞骨格制御分子との結合を通して、シグナル伝達をスパイン形態に反映させる機能を持つことが示唆されており^[11]、また、ほかのPDZ結合タンパクであるStargazinを介して、AMPA型グルタミン酸受容体のシナプス集積にも関与している。このようにNMDA型受容体、AMPA型受容体、細胞骨格制御分子などの、多様かつシナプス後膜の中心的シグナリング分子群を結びつける核として機能するPSD-95は、シナプス伝達・シナプス可塑性に重要な役割を果たしていることが、ロックアウトマウスやRNA干渉によるロックダウン実験の結果から明らかにされている^[12]。これまでのところ、PSD-95単独の欠損による神経精神症状は報告されていないが、これはPSD-95同様に、シナプス後肥厚部に数多く存在するSAP102やPSD-93などのPSD-95関連タンパクが、その機能を代償するためと考えられている。このような冗長性は、逆に、正常なシナプスにおけるPSD-95の役割の重要性を示唆している。興味深いことに、PSD-95結合タンパクであるneurologinは、統合失調症や自閉症の原因遺伝子の候補の1つとして最近とくに注目を集めている^[13]。

6 ナノメディシンの新たな標的: シナプス機能制御 破綻修復から疾患の克服まで

本稿では、シナプスの両側にあるサブフェムトリットルのシグナル伝達空間において、シナプス伝達とそこから派生する細胞内シグナル伝達が正しく作動することが、脳の高次機能発現に必須であることを述べてきた。紙面の関係上

述べることができなかつたが、神経細胞の発達段階、神経活動の頻度や持続時間、パターンによって、個々のシナプスで駆動されるシグナル伝達機構は異なることが明らかになってきている。特に、カルシウムシグナル、cAMPシグナル、脂質シグナルなどの、主要なセカンドメッセンジャーを介したシグナリングの時・空間的特異性、およびそれらシグナリングの相互作用の生理的意義は大きく、今後は、これらの系統的な解析が待たれるところである。最近の光技術の急速な進歩により、UVや多光子吸収による光融解を利用した単一シナプス反復刺激法が、培養ニューロン、脳スライスさらにインビボにおいても可能になってきた(図3-2-7)。このような新しい方法を用いることにより、近い将来、シナプス内およびシナプス間シグナルの、非線形的相互作用のルールが解明されることが予感される。さらにこれらをより深く理解するためには、シナプス後肥厚部や神経突起先端の成長円錐のような、限局した容積を持つナノドメインにおける酵素反応や、タンパク-タンパク間、タンパク-脂質二重膜間、タンパク-細胞骨格間の相互作用などを網羅的に、かつ定量的に叙述可能な数学的なフレームワークの構築が急務であろう。

ヒトにおける遺伝性精神神経疾患の患者や、そのモデル動物である関連遺伝子改変マウスの脳などでは、異常なスパイン形態の増加や、突起形成、細胞移

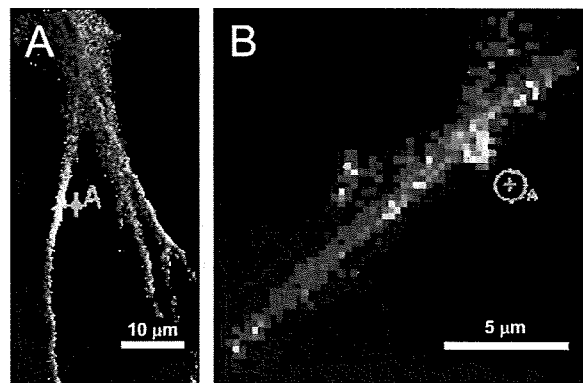


図3-2-7 UVレーザーフォトリシスによる光刺激

- (A) ケイゾドグルタミン酸を用いた光融解刺激。カルシウム指示薬を取り込ませた海馬培養細胞の樹状突起の一部にUVレーザーパルス照射し、局所での細胞の応答を記録した。A点がレーザー照射位置を示し、白黒表示で局所のカルシウム上昇を示している
- (B) レーザー強度をコントロールすることにより、さらに領域を限局させて単一シナプスの刺激が可能である



動による投射異常などが観察される。このような病態において、正常な脳高次機能を回復するためには、神経ネットワークがマクロ的およびミクロ的に正しく再形成され、神経細胞骨格修飾やシナプス形態制御を修復することが重要であろう。加えて、ナノドメイン空間におけるシグナル伝達共役の異常の克服が必要となる。シナプスシグナリングの定量的理解と、破綻メカニズムの理解をもとに、リン酸化酵素・脱リン酸化酵素・イオンチャンネルなどの機能モジュレーターの発見・開発や、遺伝子治療・ウイルス治療・光刺激法などの新しい技術を駆使することにより、遠くない将来、神経ネットワークの損傷・障害による脳高次機能低下からの回復法が確立されることを願ってやまない。

[執筆者プロフィール]

おくの ひろゆき

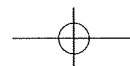
1990年東京大学理学部卒。大学院博士課程において東京大学医学部生理学教室にて大脳生理学を学び、東京大学医学部助手、ジョンズ・ホプキンス大学医学部博士研究員を経て、2003年より東京大学・大学院医学系研究科・尾藤研究室にて研究に従事。研究テーマは活動依存的シナプスシグナリングと長期神経可塑性について

ふじい はじめ

2004年京都大学大学院医学研究科修了。現在、東京大学・大学院医学系研究科（尾藤研究室）在学中、学術振興会特別研究員。蛍光分子イメージングを用いて、神経細胞間のシナプス伝達が細胞内シグナルへと変換される様子を明らかにしたい

びとう はるひこ

1990年東京大学医学部卒。同大学院にて学位取得後、スタンフォード大学医学系研究科博士研究員、京都大学医学部助手・講師を経て、2003年より東京大学・大学院医学系研究科・神経生化学にて教室主任を勤める。研究内容は<http://www.neurochem.m.u-tokyo.ac.jp>をご参照ください



[参考文献]

1. Yuste, R. & Bonhoeffer, T. Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 24 (2001) 1071-89
2. Arakawa, Y. et al. Control of axon elongation via an SDF-1alpha/Rho/mDia pathway in cultured cerebellar granule neurons. *J Cell Biol* 161 (2003) 381-91
3. Bito, H. et al. A critical role for a Rho-associated kinase, p160ROCK, in determining axon outgrowth in mammalian CNS neurons. *Neuron* 26 (2000) 431-41
4. Kennedy, M. B. Signal-processing machines at the postsynaptic density. *Science* 290 (2000) 750-4
5. Fiala, J. C., Spacek, J. & Harris, K. M. Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders? *Brain Res Brain Res Rev* 39 (2002) 29-54
6. Sudhof, T. C. The synaptic vesicle cycle. *Annu Rev Neurosci* 27 (2004) 509-47
7. Kim, E. & Sheng, M. PDZ domain proteins of synapses. *Nat Rev Neurosci* 5 (2004) 771-81
8. Furuyashiki, T. et al. Citron, a Rho-target, interacts with PSD-95/SAP-90 at glutamatergic synapses in the thalamus. *J Neurosci* 19 (1999) 109-18
9. Szumlanski, K. K., Kalivas, P. W. & Worley, P. F. Homer proteins: implications for neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Neurobiol* 16 (2006) 251-7
10. Norton, N. et al. Mutation screening of the Homer gene family and association analysis in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 120 (2003) 18-21
11. Nonaka, M., Doi, T., Fujiyoshi, Y., Takemoto-Kimura, S. & Bito, H. Essential contribution of the ligand-binding beta B/beta C loop of PDZ1 and PDZ2 in the regulation of postsynaptic clustering, scaffolding, and localization of postsynaptic density-95. *J Neurosci* 26 (2006) 763-74
12. Elias, G. M. & Nicoll, R. A. Synaptic trafficking of glutamate receptors by MAGUK scaffolding proteins. *Trends Cell Biol* 17 (2007) 343-52
13. Craig, A. M. & Kang, Y. Neurexin-neurologin signaling in synapse development. *Curr Opin Neurobiol* 17 (2007) 43-52
14. Harris, K. M. Structure, development, and plasticity of dendritic spines. *Curr Opin Neurobiol* 9 (1999) 343-8
15. Marin-Padilla, M. Structural abnormalities of the cerebral cortex in human chromosomal aberrations: a Golgi study. *Brain Res* 44 (1972) 625-9
16. Purpura, D. P. Dendritic spine " dysgenesis " and mental retardation. *Science* 186 (1974) 1126-8

科学

✉ kagaku@asahi.com

朝日新聞 6月15日付朝刊科学面
にて解説・紹介

LHC試運転、来春に延期

11月の予定だった欧州合同原子核研究機関(CERN)の大型ハドロン衝突型加速器(LHC)の試運転が来春になりそうだ。CERNの報道官がAFP通信などに、こうした見通しを認めた。LHCは重さの元になるヒッグス粒子の発見などが使命だ。陽子のビームを細く絞る最後の磁石が故障するなど、細かいつまずきが重なったことが延期の理由とされている。

神経突起つくる酵素解明

神経細胞は突起を伸ばして互いにつながり、情報をやりとりする。その突起の形成に必要な酵素の遺伝子を東京大の尾藤晴彦准教授、竹本さやか助教らが突き止めた。

このリン酸化酵素がないと、情報の信号を受け取る樹状突起ができなくなり、あると樹状突起が伸びることがわかった。この酵素は脂質とくつつく性質をもち、脂質の膜付近にとどまる。狭い範囲にとどまり、突起の伸長にかかわるほかのたんぱく質をリン酸化させることが、突起づくりに必要だった。(ニューロン)

音聞き分ける ゾウの足

アフリカゾウ=写真は赤ちゃん、AFP時事=は遠くのゾウの声を足で「聞き分ける」ことが、米スタン



フォード大の研究でわかった。ゾウが出す人に聞こえない低周波の声は、その振動が地面の揺れとなって伝わり、ゾウの足で捕らえられる。

ライオンが近づいた時にゾウが出す「警報音」を収録して人工的に再生したら、近くの群れから出た警報を捕らえたゾウたちは子どもを群れの中心に移動させるなどの警戒反応を示した。遠くの群れの警報には、あまり反応しなかった。(ニューサイエンティスト)

「万能細胞」で論文訂正

米ミネソタ大グループは、ネズミの骨髄の幹細胞から多くの臓器になりうる「万能細胞」を作ったとする02年の論文について、データの一部が誤っていたと認め、14日付英科学誌ネイチャーに訂正を出した。グループは、論文の結論に影響が出るものではないとしている。

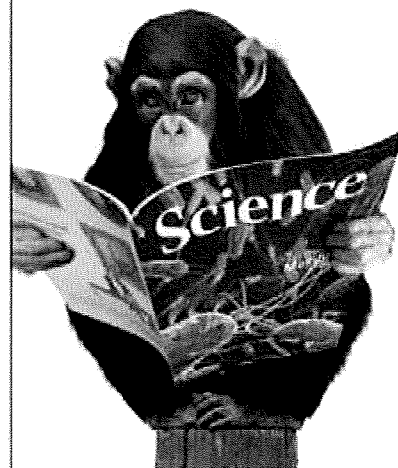
任 関 務 員 は 説 明 せ る。

「1」話「1」

Science 誌 2007 年 6 月 22 日号にて
Editors' Choice 論文として解説

From primates
to proteomics
research

For careers in science,
turn to *Science*



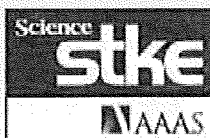
Don't get lost in the career jungle. At ScienceCareers.org we are committed to helping you find the right job, and delivering useful advice. Our knowledge is firmly founded on the expertise of *Science*, and the long experience of AAAS in advancing science around the world. ScienceCareers.org is the natural selection.

www.sciencecareers.org

Features include:

- Thousands of job postings
- Career tools from Next Wave
- Grant information
- Resume/CV Database
- Career Forum

ScienceCareers.org
We know science AAAS



www.stke.org

<< Dendrites Are Only a CLICK Away

From one side of the neuronal cell body an axon emerges; from the other, a branched dendritic tree. These processes are crucial for the ability of a neuron to receive and transmit electrochemical signals via synapses. Neuronal activity is important in driving dendrite outgrowth, but the intermediary players are not well understood. Because neuronal activity increases intracellular Ca^{2+} concentration, roles for members of the family of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinases (CaMKs) have been investigated. Takemoto-Kimura *et al.* have looked at CLICKIII (also known as CaMK γ or CL3). They found that CL3 undergoes sequential lipid modifications of its C-terminal tail: prenylation, which anchors CL3 to the plasma membrane, followed by palmitoylation. Lipid fractionation experiments then showed that prenylated and palmitoylated CL3 was predominantly associated with lipid raft microdomains in the plasma membrane, and most of the lipid raft-localized CL3 was found in the proximal dendrites. Studies of rat embryonic neurons revealed that total dendrite length was enhanced by overexpression of wild-type but not kinase-deficient CL3, and knockdown of CL3 resulted in fewer and shorter dendrites. Lipid raft-localized CL3 in dendrites activated the Rho GTPase family member Rac, leading to rearrangement of the actin cytoskeleton of the growing dendrite. Together these data suggest that CL3 is a key factor in transducing Ca^{2+} transients into signals responsible for dendrite outgrowth. — JFF

Neuron 54, 755 (2007)

Regulation of Dendritogenesis via a Lipid-Raft-Associated Ca^{2+} /Calmodulin-Dependent Protein Kinase CLICK-III/ $\text{CaMKI}\gamma$

Sayaka Takemoto-Kimura,^{1,7} Natsumi Ageta-Ishihara,^{1,2,7} Mio Nonaka,¹ Aki Adachi-Morishima,¹ Tatsuo Mano,¹ Michiko Okamura,¹ Hajime Fujii,¹ Toshimitsu Fuse,^{1,2} Mikio Hoshino,³ Shingo Suzuki,^{4,6} Masami Kojima,^{4,6} Masayoshi Mishina,^{5,6} Hiroyuki Okuno,¹ and Haruhiko Bito^{1,2,6,*}

¹Department of Neurochemistry

²The Center for Integrated Brain Medical Science

Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

³Department of Pathology and Tumor Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan

⁴Research Institute for Cell Engineering, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Ikeda, Osaka, 563-8577, Japan

⁵Department of Molecular Neurobiology and Pharmacology, Graduate School of Medicine, the University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

⁶SORST-JST, Kawaguchi 332-0012, Japan

⁷These authors contributed equally to this work.

*Correspondence: hbito@m.u-tokyo.ac.jp

DOI 10.1016/j.neuron.2007.05.021

SUMMARY

Ca^{2+} signaling plays a central role in activity-dependent regulation of dendritic arborization, but key molecular mechanisms downstream of calcium elevation remain poorly understood. Here we show that the C-terminal region of the Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase CLICK-III (CL3)/ $\text{CaMKI}\gamma$, a membrane-anchored CaMK, was uniquely modified by two sequential lipidification steps: prenylation followed by a kinase-activity-regulated palmitoylation. These modifications were essential for CL3 membrane anchoring and targeting into detergent-resistant lipid microdomains (or rafts) in the dendrites. We found that CL3 critically contributed to BDNF-stimulated dendritic growth. Raft insertion of CL3 specifically promoted dendritogenesis of cortical neurons by acting upstream of RacGEF STEF and Rac, both present in lipid rafts. Thus, CL3 may represent a key element in the Ca^{2+} -dependent and lipid-raft-delineated switch that turns on extrinsic activity-regulated dendrite formation in developing cortical neurons.

INTRODUCTION

Neurons grow two characteristic processes: axons and dendrites. The specification of these processes, their outgrowth, and their precise arborization are prerequisites for the formation of appropriate connections between neurons. These steps, which constitute the basis for the

establishment of neuronal circuits, represent central questions in neuroscience for which the molecular mechanisms still remain largely unsolved.

The dendrite formation, which is critical for proper integration of synaptic inputs, is believed to be determined by genetically encoded cell-intrinsic signals as well as environmental-extrinsic signals from neighboring cells. Recent works have shed light on the critical roles of semaphorin 3A, neurotrophins, Notch1, Slit-1, cadherin, BMP, and Wnt/ β -catenin in mediating signaling events regulating various stages of dendritogenesis in the developing cerebral cortex (reviewed in Ciani and Salinas, 2005; Higgins et al., 1997; Jan and Jan, 2003; Whitford et al., 2002). In addition, a wealth of work has shown that the formation of dendritic trees is shaped by neuronal activity (Cline, 2001; Konur and Ghosh, 2005). For example, surgical and pharmacological attenuation of sensory inputs impaired dendritic development in the visual cortex as well as in the barrel cortex (Fox and Wong, 2005), while in contrast, enriched environments promoted dendritic growth (Kozorovitskiy et al., 2005). However, how neural activity regulates dendrite arborization at the molecular and cellular level is not well understood.

Activity-dependent regulation of dendritic arbors is believed to be mediated, in large part, via increases in intracellular calcium concentration, which in turn activate several signaling cascades. How can neuronal activity influence dendrite formation downstream of calcium entry and mobilization? Several works have so far indicated a possible involvement of one or multiple members of the multifunctional Ca^{2+} /calmodulin (CaM)-dependent protein kinases (CaMKs) family in dendritic development. CaMKs represent major targets for an activated Ca^{2+} /CaM complex generated by intracellular calcium rise, and two subclasses (the CaMKI/IV subfamily [consisting

of five genes] and a CaMKII subfamily [consisting of four genes]) have been shown to be highly expressed in the central nervous system (CNS) (Soderling and Stull, 2001; Hook and Means, 2001; Hudmon and Schulman, 2002). The general CaMK inhibitor KN-62, which inhibited activation of members of both kinase subclasses, was shown to block neurite outgrowth in various cell lines (Zheng et al., 1994; Kuhn et al., 1998; Vaillant et al., 2002). The role of CaMKII in neurite outgrowth has been controversial, however, in part because of the contrasting effect observed between the α and β isoforms of CaMKII (Konur and Ghosh, 2005). CaMKIV, enriched in the nucleus, was shown to mediate dendrite formation via CREB phosphorylation and CREB-mediated transcription (Redmond et al., 2002). Additionally, CaMKI activity may participate in the regulation of growth cone motility and neurite extension (Wayman et al., 2004; Schmitt et al., 2004), but the underlying isoforms and critical mechanisms involved remained obscure.

Recently, a variety of Rho small GTPase family proteins were shown to contribute to dendritic morphogenesis through regulation of actin cytoskeletal remodeling (Luo, 2002; Van Aelst and Cline, 2004). How the small GTPase activity was turned on and off as a function of neuronal activity and multiple coexisting extracellular cues remained largely unknown. In some instances, the GDP-GTP exchange factor (GEF) for a Rho small GTPase family protein was shown to be activated downstream of Ca²⁺. Thus, a synaptically localized Rac-GEF Tiam1 was involved in the regulation of dendritic spines by linking NMDA-receptor activity to Rac1-dependent actin remodeling (Tolias et al., 2005). However, it was not known whether nor which specific CaMK activity may contribute to small GTPase-dependent dendritic actin remodeling during dendritogenesis.

Here, we show a unique function of a lipid-raft-associated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase, CLICK-III (CL3)/CaMKI γ , in dendritogenesis of developing cortical neurons. The C-terminal end of CL3 was the substrate for sequential lipidifications, i.e., prenylation and palmitoylation. Prenyl-palmitoyl-CL3, generated in a kinase-activity-dependent manner, efficiently accumulated into dendrite-enriched raft-like lipid microdomains. Intriguingly, knockdown or knockout of CL3 reduced the number and the total length of dendrites, but not those of axons. Furthermore, blockade of CL3 occluded BDNF-stimulated dendritic growth, and CL3 membrane anchoring appeared to play an important role in mediating this morphological effect. In keeping with the critical significance of raft insertion of CL3, Rac and its upstream regulator STEF, a Rac-specific GEF, acted downstream of CL3 in the molecular cascade linking Ca²⁺ to actin remodeling, and both were present in the lipid rafts. Consistent with these results, Rac activity was sufficient to rescue the dendritic phenotype associated with CL3 knockdown, while raft disruption abolished the dendritogenic effect of CL3 overexpression. Taken together, we thus uncovered a novel CaMK-Rac signaling pathway by

which lipid raft insertion and activation of a specific CaMKI isoform may couple extrinsic neuronal activity with dendrite-restricted cytoskeletal remodeling in developing cortical neurons.

RESULTS

Prenylated CL3 Is Palmitoylated in a Kinase-Activity-Dependent Manner and This Dual Lipidification Determines Golgi Membrane Anchoring and Dendrite-Enriched Lipid Raft Targeting

Prenylation was often reported to be accompanied by palmitoylation in many neuronal proteins (El-Husseini and Bredt, 2002). We directly tested the presence of multiple palmitoylation sites in the vicinity of the CAAX motif of CL3/CaMKI γ , a membrane-anchored CaMK (Takemoto-Kimura et al., 2003) (Figure 1A). Tritiated precursors for either prenyl or palmitoyl moieties, [³H]-mevalonate or [³H]-palmitate, were added in the culture medium of COS-7 cells expressing either wild-type (WT) CL3 or various C-to-S substitution mutants of CL3, and lipidification of CL3 was tested using SDS-PAGE and digital autoradiography. Either [³H]-mevalonate conjugation or [³H]-palmitate incorporation was significantly detected in WT-expressing cells (Figures 1B and 1C, WT). The former was absent in a C474S mutant (Figure 1B, C474S), consistent with a CAAX prenylation. In contrast, the latter was reduced to background levels in a quadruple mutation (4CS) of four cysteines (C417S, C419S, C420S, and C423S) (Figure 1C, 4CS), identifying these residues as potential palmitoylation sites.

We next tested whether there was a possible interaction between prenylation, palmitoylation, and kinase activity. Interestingly, the 4CS mutant was prenylated to a similar extent as the WT CL3 (Figure 1D), while palmitoylation was hardly detected in a prenylation-deficient C474S mutant (Figure 1E). Thus, prenylation and palmitoylation might take place in a series, with prenylation perhaps occurring prior to and as a prerequisite for palmitoylation. Furthermore, a K52A kinase-inactive mutant of CL3, in which the consensus ATP-binding lysine residue was replaced with an alanine, was prenylated as much as the WT (Figure 1D), but its palmitoylation was significantly impaired (Figure 1E). These lines of evidence suggested that kinase activation on a prenylated (and thus presumably membrane inserted) CL3 may perhaps trigger a robust conformational change near the membranes that is necessary for full palmitoylation.

Recently, 23 palmitoyl acyl transferases (PATs) have been identified (Fukata et al., 2004; Linder and Deschenes, 2004). The brain-specific localization and the Golgi enrichment of a PAT, originally identified as a Golgi-apparatus-specific protein with the DHHC zinc finger domain (GODZ) (Uemura et al., 2002), were reminiscent of the distribution of CL3. We therefore tested whether GODZ might palmitoylate CL3. GODZ coexpression with CL3 in heterologous cells yielded a 4.3-fold