

- micromanipulation of gametes, "Comparative spermatology 20 years after", Serono Symposia Publications, Raven Press, 75, 853-859 (1991).
5. A. Irtani: Micromanipulation of gametes for in vitro assisted fertilization, Mol. Reprod. Dev., 28, 199-207 (1991).
 6. A. Irtani, K. Utsumi and Y. Hosoi: Fertilization by assisted micromanipulation of gametes, "Embryonic development and manipulation in animal reproduction", Proc. 1st Cong. Italian Soc. ET and Int. Sympo. Embryonic Tech., Milan, pp. 51-57 (1992).
 7. A. Irtani, Y. Hosoi and C. Polge: In vitro fertilization by assisted microinjection of sperm head or dead sperm in domestic and non-domestic animals, Reproduction and Animal Breeding-Advances and Strategy-, Elsevier, 197-202 (1995).
 8. A. Irtani, Y. Hosoi and R. Torri: Application of ICSI in domestic and/or zoo animals, Proc. I.C.A.R. Special Anniversary Conference, Gametes: Development and Function, Milan, pp. 393-464 (1998).

医学博士廣川信隆氏の「細胞骨格の分子細胞生物学的研究」に対する授賞審査要旨

廣川信隆氏の業績は、(1)卓越した方法の確立、(2)神経細胞における細胞骨格分子の構造と機能解明、(3)微小管をレールとするモーター分子群の構造と機能解明の三つに分けることができます。

I 急速凍結電子顕微鏡法の確立とそれによる新しい細胞骨格構造の解明

従来の化学固定を基本とする電子顕微鏡法とは全く異なり液体窒素と液体ヘリウムを用いて試料を物理的に固定する急速凍結電子顕微鏡法を独自に開発し、この方法と免疫細胞化学を併用して新しい細胞骨格線維の存在とその物質組成を明らかにしました。これらの研究はさらに後述する新しいモーター分子の発見とその機能解明という独自の研究へと発展しました。

II 神経細胞の細胞骨格構造の急速凍結電顕法及び分子細胞生物学的的方法による解析と細胞の形作りの分子機構の解明

廣川氏は前述のように急速凍結電顕法を用いて神経細胞の微小管及びニューロフィラメントに結合する新しい一群の線維構造を発見

しました。

さらに主要な微小管関連蛋白MAPsのcDNAクローニング、一次構造の決定を行い、これら神経細胞特異的なMAPsを本来それを発現しない線維芽細胞や球型のS9細胞等の非神経細胞に導入すると微小管が伸張し束を作って神経細胞様の突起構造が出来ることを見出し、さらに軸索に多く発現されるTauとMAP2Cの遺伝子を導入して軸索様の構造を、また樹状突起に特異に局在するMAP2の遺伝子を導入することにより樹状突起様構造を形成させることに成功しています。このように微小管に結合した新しい線維構造を構成する異ったMAPsの発現が細胞の形作りを基本的に制御していることを世界に先駆けて明らかにした業績は高く評価されます。

Ⅲ 微小管をレールとする新しいモーター分子群KIFs (Kinesin Superfamily Proteins) の発見と細胞内物質輸送の分子機構の解明

廣川氏はさらに微小管と膜小器官の間に新しい繊維構造を発見し、この物質組成と機能の解明をめざす過程で新しいモーター分子群KIFsを発見し、細胞内の物質輸送の分子機構を明らかにしました。まずキネシン (Kinesin) の分子構造を *in vivo* での結晶実験による局在解析を通してキネシンが神経軸索内の順行性輸送 (細胞体からシナプス方向) のモーター分子であることを証明しました。また脳ダイニンについても局在解析及び全アミノ酸配列の決定を行

い、この二種類のモーターによる膜小器官の順行性及び逆行性輸送の機構をはじめて明らかにしました。

さらにマウス脳cDNAライブラリーからキネシンのとは遺伝子が異なる新しい微小管結合モーター分子群 (KIF1A, KIF1B, KIF2, KIF3A/3B, KIF5A, KIF5C, KIF6L, KIFC2, KIFC3等) を発見しました。その遺伝子クローニング、分子構造の電顕による解析、局在及び運動性の解析、運ばれるオルガネラの同定、遺伝子欠失マウスの作製と解析により神経細胞を初めすべての細胞がこれらのモーター分子を巧妙に使い分けてミトコンドリア、シナプス小胞、ライゾームなど多種類の膜小器官を運ぶべき所に運び分けていることを明らかにしました。またこれらの遺伝子を欠損するマウスによる機能解析の過程で、KIF3複合体がマウス胎児で左右非対称性を決定することに関与すること、およびその分子機構を解明し、学会に大きなインパクトを与えました。またKIF1Aのモノマー型 (1本足) モーターが従来のダイマー型モーターと異なり、単一分子で微小管上を一定方向に動くことを発見し、モーター分子の作動機構解明に大きな貢献を行いました。

このように廣川氏は急速凍結電顕法の国際的パイオニアとして新しい一群の細胞骨格構造を発見し、その物質組成を同定して、細胞生物学の新しい地平を切り開いたのみならず、形態学を基盤とし分

子細胞生物学的アプローチによる新しいモーター分子群 (KIFs) の発見、さらに gene targeting 法等の分子遺伝学的アプローチを通じて構造、物質、機能を一体のものとして細胞の形作りと物質輸送の分子機構を世界に先駆けて明らかにしました。これらの研究は細胞骨格、モーター分子研究の分野で国際的に極めて高い評価を受けつおりです。

publication list

1. Hirokawa, N. and T. Kirino. An ultrastructural study of nerve and glia cells by freeze-substitution. *J. Neurocyt.*, 9: 243-254, 1980.
2. Hirokawa, N. The crosslinker system between neurofilaments, microtubules and membranous organelles in frog axons revealed by quick freeze, freeze fracture, deep etching method. *J. Cell Biol.*, 94: 129-142, 1982.
3. Hirokawa, N. and J. E. Heuser. The inside and outside of gap junction membranes visualized by deep etching. *Cell*, 30: 395-406, 1982.
4. Hirokawa, N., R. Cheney, and M. B. Willard. Location of a protein of the fodrin-spectrin-TW 260/240 family in the mouse intestinal brush border. *Cell*, 32: 953-965, 1983.
5. Hirokawa, N., M. A. Glicksman, and M. B. Willard. Organization of mammalian neurofilament polypeptides within the neuronal cytoskeleton. *J. Cell Biol.*, 98: 1523-1536, 1984.
6. Hirokawa, N. Quick-freeze, deep-etch visualization of the axonal cytoskeleton. *Trends in Neurosci.*, 9: 67-70, 1986.
7. Shiomura Y. and N. Hirokawa. The molecular structure of microtubule-associated protein 1A (MAP1A) in vivo and in vitro. An immunoelectron microscopy and quick-freeze, deep-etch study. *J. Neurosci.*, 7: 1461-1469, 1987.
8. Hirokawa, N., S. Hisanaga and Y. Shiomura. MAP2 is a component of crossbridges between microtubules and neurofilaments in vivo and in vitro. Quick-freeze, deep etch immunoelectron microscopy and reconstitution studies. *J. Neurosci.*, 8: 2769-2779, 1988.
9. Hirokawa, N., Y. Shiomura and S. Okabe. Tau proteins: The molecular and mode of binding on microtubules. *J. Cell Biol.*, 107: 1449-1461, 1988.
10. Hirokawa, N., K. K. Pfister, H. Yorifuji, M. C. Wiegner, S. T. Brady and G. S. Bloom. Submolecular domains of bovine brain kinesin identified by electron microscopy and monoclonal antibody decoration. *Cell*, 56: 867-878, 1989.
11. Kanai, Y., R. Takemura, T. Ohshima, H. Mori, Y. Ihara, M. Yanagisawa, T. Masaki and N. Hirokawa. Expression of multiple tau isoforms and microtubule bundle formation in fibroblasts transfected with a single tau cDNA. *J. Cell Biol.*, 109: 1173-1184, 1989.
12. Sato-Yoshitake, R., Y. Shiomura, H. Miyasaka and N. Hirokawa. Microtubule-associated protein 1B: Molecular structure, localization, and its phosphorylation- dependent expression in developing neurons. *Neuron*, 3: 229-238, 1989.
13. Okabe, S. and N. Hirokawa. Turnover of fluorescently labeled tubulin and actin in the axon. *Nature*, 343: 479-482, 1990.
14. Hirokawa, N., T. Yoshida, R. Sato-Yoshitake, and T. Kawashima. Brain dynein (MAP1C) localizes on both anterogradely and retrogradely transported membranous organelles. *J. Cell Biol.*, 111: 1027-1037, 1990.
15. Hirokawa, N., R. Sato-Yoshitake, N. Kobayashi, K. K. Pfister, G. H. Bloom, and S. T. Brady. Kinesin associates with anterogradely transported

- membranous organelles in vivo. *J. Cell Biol.*, 114: 295-302, 1991.
16. Aizawa, H., Y. Sekine, R. Takemura, Z. Zhang, M. Nangaku, and N. Hirokawa. Kinesin family in murine central nervous system. *J. Cell Biol.*, 119: 1287-1296, 1992.
17. Chen, J., Y. Kanai, N. J. Cowan, and N. Hirokawa. Projection domains of MAP2 and tau determine spacings between microtubules in dendrites and axons. *Nature*, 360: 674-677, 1992.
18. Zhang, Z., Y. Tanaka, S. Nonaka, H. Kawasaki, H. Aizawa, T. Nakata and N. Hirokawa. The primary structure of rat brain dynein heavy chain, a cytoplasmic motor enzyme. *PNAS*, 90: 7928-7932, 1993.
19. Harada, A., K. Oguchi, S. Okabe, J. Kuno, S. Terada, T. Ohshima, R. Sato-Yoshihake, Y. Takei, T. Noda and N. Hirokawa. Altered microtubule organization in small-calibre axons of mice lacking tau protein. *Nature*, 369: 488-491, 1994.
20. Kondo, S., R. Sato-Yoshihake, Y. Noda, H. Aizawa, T. Nakata, Y. Matsuura and N. Hirokawa. KIF3A is a new microtubule-based anterograde motor in the nerve axon. *J. Cell Biol.*, 125: 1095-1107, 1994.
21. Sekine, Y., Y. Okada, S. Kondo, H. Aizawa, R. Takemura, and N. Hirokawa. A novel microtubule-based motor protein (KIF4) for organelle transports, whose expression is regulated developmentally. *J. Cell Biol.*, 127: 187-202, 1994.
22. Nangaku, M., R. Sato-Yoshihake, Y. Okada, Y. Noda, R. Takemura, H. Yamazaki and N. Hirokawa. KIF1B: A novel microtubule plus end-directed monomeric motor protein for transport of mitochondria. *Cell*, 79: 1209-1220, 1994.
23. Noda, Y., R. Sato-Yoshihake, S. Kondo, M. Nangaku, and N. Hirokawa. KIF2 is a new microtubule-based anterograde motor that transports membranous organelles distinct from those carried by kinesin heavy chain or KIF3A/B. *J. Cell Biol.*, 129: 157-167, 1995.
24. Okada, Y., H. Yamazaki, Y. Sekine, and N. Hirokawa. The neuron-specific kinesin superfamily protein KIF1A is a unique monomeric motor for anterograde axonal transport of synaptic vesicle precursors. *Cell*, 81: 763-780, 1995.
25. Kikkawa, M., T. Ishikawa, T. Wakabayashi, and N. Hirokawa. Three-dimensional structure of the kinesin head-microtubule complex. *Nature*, 376: 274-276, 1995.
26. Yamazaki, H., T. Nakata, Y. Okada, and N. Hirokawa. KIF3A/B: A heterodimeric kinesin superfamily protein that works as a microtubule plus end-directed motor for membrane organelle transport. *J. Cell Biol.*, 130: 1387-1399, 1995.
27. Terada, S., T. Nakata, A. Peterson, and N. Hirokawa. Visualization of slow axonal transport in vivo. *Science*, 273: 784-788, 1996.
28. Yamazaki, H., T. Nakata, Y. Okada, and N. Hirokawa. Cloning and characterization of KAP3: a novel kinesin superfamily associated protein of KIF3A/3B. *PNAS*, 93: 8443-8448, 1996.
29. Saito, N., Y. Okada, Y. Noda, Y. Kinoshita, S. Kondo, and N. Hirokawa. KIF2 is a novel neuron-specific C-terminal type kinesin superfamily motor for dendritic transport of multivesicular body-like organelles. *Neuron*, 18: 425-438, 1997.
30. Nakagawa, T., Y. Tanaka, E. Matsuoka, S. Kondo, Y. Okada, Y. Noda, Y. Kanai, and N. Hirokawa. Identification and classification of sixteen new kinesin superfamily (KIF) proteins in mouse genome. *PNAS*, 94: 9654-9659, 1997.
31. Hirokawa, N. Kinesin and dynein superfamily proteins and the mechanism of organelle transport. *Science*, 279: 519-526, 1998.
32. Harada, A., Y. Takei, Y. Kanai, Y. Tanaka, S. Nonaka, and N. Hirokawa.

- Golgi vesiculation and lysosome dispersion in cells lacking cytoplasmic dynein. *J. Cell Biol.*, 141: 51-59, 1998.
33. Yonekawa, Y., A. Harada, Y. Okada, Y. Kanai, Y. Takei, T. Funakoshi, S. Terada, T. Noda, and N. Hirokawa. Defect in synaptic vesicle precursor transport and neuronal cell death in KIF1A motor protein-deficient mice. *J. Cell Biol.*, 141: 431-441, 1998.
34. Tanaka, Y., Y. Kanai, Y. Okada, S. Nonaka, S. Takeda, A. Harada, and N. Hirokawa. Targeted disruption of mouse conventional kinesin heavy chain, KIF5B, results in abnormal perinuclear clustering of mitochondria. *Cell*, 93: 1147-1158, 1998.
35. Nonaka, S., Y. Tanaka, Y. Okada, S. Takeda, A. Harada, Y. Kanai, M. Kido, and N. Hirokawa. Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell*, 95: 829-837, 1998.
36. Okada, Y. and N. Hirokawa. A processive single-headed motor: kinesin superfamily protein, KIF1A. *Science*, 283: 1152-1157, 1999.

医学博士上代淑人氏の「GTP結合タンパク質の反応機構ならびに生理機能に関する研究」に対する授賞審査要旨

GTP結合タンパク質はGTP/GDPと結合し、GTP水解放性をもつ一群のタンパク質の総称である。タンパク質生合成の開始、伸長、および終結の各過程にそれぞれ特異的なGTP結合タンパク質が関与している。また、細胞内シグナル伝達系においては、ホルモン、神経伝達物質、および感覚刺激などに対するレセプターと共役している多数の三量体GTP結合タンパク質（Gタンパク質）が存在している。一方、Rasタンパク質で代表される低分子単量体GTP結合タンパク質（Rasスーパーファミリー）には、五〇種以上の分子種の存在が知られているが、それらは細胞の増殖と分化、運動と形態の維持、およびタンパク質の細胞内輸送などの多彩な生理機能を担っている。したがって、GTP結合タンパク質の研究は、生体の基本的な機能とその病態の理解のために極めて重要である。上代淑人氏は一貫してGTP結合タンパク質の研究を行い、左記に述べるような特筆すべき研究成果を収めている。

まず第一に、上代氏はタンパク質生合成反応の分子機構を明らか