

# 研究報告書

## 「末梢入力に依存した神経回路形成のロジック」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 今井 猛

### 1. 研究のねらい

我々哺乳類の神経系においてどのようにして特異的な神経接続が保証されているのか、という問題は、神経科学における大きな問題の一つである。近年の研究により、遺伝学的なプログラムによって規定される決定論的な神経接続の分子機構はかなり解明されてきたが、より高次の神経回路、たとえば、大脳皮質で入力情報に応じて異なる情報処理がなされるための神経回路がつけられる仕組みは、依然としてよく分かっていない。哺乳類の中枢神経系の回路形成においては、しばしば末梢からの入力や神経活動が重要な役割を果たすと考えられている。本研究では、マウス嗅覚系をモデルとして、嗅覚受容体からの入力がどのようにして嗅神経細胞軸索投射を制御しているのか、さらにはどのようにして高次嗅覚回路の形成を制御しているのかを明らかにする。また、こうした研究を進める上では神経回路をカラム単位、感覚情報の入力・演算ユニット単位で遺伝学的に操作・可視化することが重要である。そこで本研究ではそのための新奇遺伝学ツールや可視化技術の開発も平行して進める。

### 2. 研究成果

#### (1) 概要

哺乳類中枢神経系においてどのようにして特異的な神経回路が作られるのかを研究する上で、マウス嗅覚系は極めて優れたモデル系である。嗅上皮において、個々の嗅神経細胞は約 1,000 種類ある嗅覚受容体遺伝子の中から 1 種類のみを選択的に発現し、同種の嗅覚受容体を発現する嗅神経細胞の軸索は嗅球において同一の糸球体へと収斂する。従って、匂い情報は嗅球において糸球体を素子とするマップへと展開される。一方、嗅球の糸球体において匂い情報は僧帽・房飾細胞へと受け渡されるが、僧帽・房飾細胞は単一の主樹状突起を単一の糸球体にのみ接続することで、匂い情報の混線が生じないようにしている。本研究課題においては、嗅神経細胞軸索が発現する嗅覚受容体の種類に応じて決まった糸球体に投射する際にどのようなパラメータを用いているのかについて研究を行い、嗅覚受容体からGsタンパク質を介して生じる basal activity が投射位置を規定することを明らかにした。また、僧帽・房飾細胞が生後発達の過程で単一の糸球体にのみ接続を確立する過程について研究を行い、生後の神経活動が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

また、回路形成の過程では神経活動が重要な役割を果たすことから、嗅球における自発神経活動の研究を行ったが、その過程で思いがけず、自発活動の匂い情報処理における役割を見出すことになった。嗅覚系では鼻腔の airflow 刺激によって神経活動が生じ、嗅球に活動のオシレーションを生じる。このオシレーションにもとづいて作られる神経活動の時間的パターンが匂い情報をコードしていることを明らかにした。

さらに、嗅球をはじめとする中枢神経系における 3 次元的な回路の研究を効率的に行う為、新しい回路可視化技術の開発にも取り組んだ。広範な回路可視化のための組織透明化試薬 SeeDB を開発し、嗅球における僧帽・房飾細胞の回路多様性を明らかにした。さらに、シナプスレベルでの高分解能 3D イメージングのための新しい透明化試薬の開発にも成功した。

## (2) 詳細

### 嗅神経細胞軸索投射を制御する cAMP シグナルの解析

嗅神経細胞軸索投射の過程で、嗅覚受容体は Type-I と Type-II という 2 種類の軸索ガイダンス・細胞接着分子の遺伝子発現を制御している。Type-I は幼若な嗅神経細胞に発現しており、嗅球前後軸に沿ったおおまかな軸索投射位置の規定に関わっている。一方、Type-II はより成熟した嗅神経細胞に発現し、軸索間で局所的に作用して嗅神経細胞軸索の選り分けを行っている。Type-II については鼻腔閉塞で発現が変化することから主に環境中からの刺激が関与していると考えられていた一方、Type-I についてはどのようなシグナルが発現制御しているのか不明であった。

我々は幼若な嗅神経細胞では Gs が、成熟した嗅神経細胞では Golf が発現していることからこれらの G タンパク質に着目して解析を行い、嗅神経細胞特異的な Gs のノックアウトマウスでは Type-I 遺伝子の発現が影響を受け、Golf のノックアウトマウスでは Type-II 遺伝子の発現が影響を受けることを明らかにした。更に我々は、Gs と Golf が下流の cAMP シグナルを伝えるモードが異なる可能性を検討するため、嗅覚受容体を含むいくつかの GPCR と Gs/Golf の融合タンパク質を作製して、リガンドに対する応答特性を解析した。その結果、Gs はリガンド非依存性の basal activity を生じやすいのに対し、Golf では basal activity が低く、リガンド依存性の cAMP シグナルを伝達するのに適していることが判明した。本研究により、嗅神経細胞の投射位置特異性の源は嗅覚受容体の basal activity の違いにあることを明らかにすることができた (*Cell*, 2013; 論文 3)。

### 嗅球僧帽細胞の樹状突起刈り込みのメカニズム

嗅球の糸球体において、嗅神経細胞軸索から入力された匂い情報は 2 次神経細胞である僧帽・房飾細胞へと受け渡される。僧帽・房飾細胞は単一の主樹状突起を単一の糸球体へと伸ばして興奮性入力を受け取ると共に、複数の側方樹状突起を伸ばして顆粒細胞から抑制性入力を受ける。このような樹状突起の形態形成は生後数日の間に確立される。我々は僧帽細胞をまばらに蛍光タンパク質で標識することにより、樹状突起の発達過程を観察した。その結果、生後 2 日目までは僧帽細胞の複数の樹状突起が複数の糸球体に伸びているが、生後 3-4 日目に樹状突起の刈り込みが起こり、生後 6 日目までにほとんどの僧帽細胞が単一の主樹状突起を有するようになることが判明した。従って、僧帽細胞樹状突起の接続特異性は、ガイダンスプロセスではなく、刈り込み過程で制御されているということになる。このような刈り込みプロセスは、嗅球において匂い情報の”混線”を防ぐ上で極めて重要である。

これまでに、匂いを検出できない CNGA2 ノックアウトマウスの解析から、この刈り込みプロセスには感覚入力は必要ないことが示されていた。そのため、どのようなメカニズムで樹状突起の刈り込みが起こるのかは不明であった。我々は匂い刺激によらない、自発的な神経活動

が樹状突起の刈り込みに関与している可能性を考え、内向き整流性 K<sup>+</sup>チャネル Kir2.1 を過剰発現させ、神経活動を抑えたときの発達プロセスについて調べた。この結果、神経活動阻害をすることで僧帽細胞主樹状突起の刈り込みが阻害されること、側方樹状突起の伸長が阻害されることが明らかになった。

実際に嗅球で生後発達期に自発活動が生じているかどうかを確かめるため、新生仔マウス嗅球における2光子カルシウムイメージングを行った。僧帽・房飾細胞特異的に GCaMP3 を発現するトランスジェニックマウスを用いて嗅球の *in vivo* イメージングを行ったところ、ケタミン麻酔下ではほとんど自発活動が見られないが、覚醒下では観察することができた。自発活動は P2-3 では同期性の高いウェーブとして観察されるが、P10 では糸球体毎に異なるタイミングで活動する様子が観察された。同様の実験を、嗅神経細胞特異的に GCaMP3 を発現するトランスジェニックマウスでも行ったが、自発活動は認められなかった。以上のことから、嗅球の僧帽・房飾細胞では、生後発達期に感覚刺激に依存しない自発活動があることが明らかとなった。

同様の結果は嗅球スライスでも観察された。そこで嗅球スライスを用いて薬理学実験を行ったところ、NMDA 受容体と AMPA 受容体の両方が必要であること、ギャップ結合が必要であることなどが判明した。スライスでのカルシウムイメージングではより高速のイメージングも行い、自発活動の時間的なパターンについても詳細に解析した。相互相関解析を行ったところ、P2-3 においては自発活動が決まったパターンで糸球体間を伝播するのに対し、P10 においては伝播のパターンに明確な法則性がない(ランダム)ことが判明した。今後は自発活動生成のメカニズムについてさらに追求するとともに、活動の伝播パターンと樹状突起刈り込み特異性の間に何らかの法則性があるのかどうかについて研究を進める。

### 嗅球における匂い情報の時間コーディングの仕組み

嗅球の僧帽・房飾細胞において、匂い情報は発火頻度だけでなく、発火のタイミングも変化させる。従来から、発火タイミングにも匂いの情報がコードされているのではないかと考えられてきたが(時間コーディング)、いったいどのような情報が発火パターンにコードされているのか、時間コーディングの意義は何か、時間コードがどのように作られるのかについては全く不明であった。本研究においては、自発神経活動の解析を行う中で思いがけずにこれらの問題に対する手がかりが得られたため、時間コーディングに関する以上の問題に取り組んだ。

我々は、嗅上皮および嗅球の *in vivo* GCaMP3 カルシウムイメージングを行い、嗅神経細胞が匂い分子だけでなく、airflow 刺激にも応答することを見出した。通常、匂い分子は極めて小数の種類のみを活動させるが、airflow 刺激は約半数程度の嗅神経細胞を活性化させる。嗅球においては、応答の程度は糸球体によって異なり、再現性もあることから、発現する嗅覚受容体の種類によって airflow 応答の程度が決まっていると考えられる。嗅球の僧帽・房飾細胞においては、より多くの糸球体において、抑制性応答も含めた広範な airflow 応答が観察される。通常マウスは 2-10Hz の範囲で呼吸をしながら匂いを嗅いでいるため、この airflow 応答は、嗅球僧帽・房飾細胞において、広範な神経活動オシレーション(シータオシレーション)を生み出す。僧帽・房飾細胞におけるオシレーションは鼻腔閉塞によって消失し、また人工吸気システムにおいて airflow の頻度を変えると、それに従ってオシレーションの周

期が変わることが確認された。さらに、各系球体におけるオシレーションの位相について詳しく解析したところ、その位相が系球体毎に異なっており固有であることが判明した。この固有の位相は、airflow の速度や頻度を変えても大きく変化しない一方で、匂い刺激を行うとしばしば位相シフトすることが判明した。このことから、位相コードは匂い刺激と airflow 変化とを区別する上で重要であると考えられる。

次に、匂い刺激によって生じる発火頻度の情報と位相シフトのどちらがより安定的に情報をコードできるのかについて検討を行った。GCaMP 蛍光シグナルは繰り返し匂いをかぎ続けるとダイナミックに変化し、相関が徐々に低下していくのに対し、位相シフトは繰り返し匂いを嗅いでも変化しにくいことが判明した。従って、匂い探索行動のような繰り返し匂いを嗅ぐ行動においては、位相コードの方がより安定した情報をコードしており、有利であると考えられる。

そもそも匂い分子は呼吸に伴って鼻腔に持ち込まれるため、airflow 応答がなくてもリズム的な匂い応答は達成できそうなものである。時間コーディングにおいて、airflow 応答は積極的な役割をもっているのであろうか？この問題に答えるため、我々は airflow 刺激と匂い分子の両方をリズム的に嗅神経細胞に提示した場合と、airflow 一定下で匂い分子のみをリズム的に提示した場合とで、嗅球における匂い情報コーディングに差があるのかについて検討した。その結果、airflow 応答があった方が、1) 匂い刺激に対する応答速度が速くなること、2) 匂い刺激に対する応答が大きくなること、3) 呼吸サイクル毎にリズム的な応答が可能になること、4) 時間コードがより安定になること、を明らかにした。これらのことから、嗅神経細胞の airflow に対する応答は、単に避けがたいノイズということではなく、嗅球においてよりロバスタな時間コーディングを可能とするための必須の性質であると考えられる。

オシレーションを基盤とした情報コーディングは嗅内皮質-海馬で既に知られていたものの、本研究を通して、嗅球においてもオシレーションが感覚情報処理の基盤となっていることが明らかとなった。(未発表)

### 神経回路の 3 次元解析を可能とする組織透明化試薬の開発

従来、神経回路の 3 次元的なつながりを明らかにするには、大量の連続切片を作製して再構成するという大変骨の折れる作業が必要であった。こうした問題を克服するため、しばしば有機溶媒を用いた組織透明化が行われてきたが、有機溶媒は蛍光タンパク質の蛍光を褪色させてしまうため、遺伝学的な回路標識と組み合わせて使用することは困難であった。

こうした問題を克服するため、我々は蛍光タンパク質や神経トレーサーの蛍光を保持したまま組織を透明化する方法の開発に取り組んだ。最近他のグループによって開発された方法では組織が膨張・収縮して形態変化を生じるという問題があったため、我々はこうした問題の克服も試みた。その結果、フルクトースを主成分とする透明化試薬 SeeDB によって、マウス脳を短時間で、蛍光を保持し、形態を保持したまま透明化できることを見出した。SeeDB は屈折率が高いため、十分に透明になっても従来の対物レンズでは球面収差のために深部まで観察することが難しい。そこで、最適な特注対物レンズを 2 光子励起顕微鏡に用いることで、マウス脳を背側から腹側までイメージングすることに成功した。この方法を用いて、例えばマウスの脳梁繊維を 1 本 1 本右脳から左脳までトレースすることが可能となった。また、この SeeDB 法を用いて、単一の系球体に接続する 20-50 個の”姉妹”僧帽・房飾細胞の接続様式の解析

を行った。単一の糸球体からデキストラン色素を注入することで姉妹僧帽・房飾細胞を標識し、その分布を解析したところ、それらの細胞体の位置は必ずしも糸球体の直下に集まっている訳ではなく、糸球体 20-30 個分の領域に広がって分布していることが判明した。さらに、姉妹僧帽細胞の側方樹状突起のパターンは互いに似ておらず、多様性に富んでいることも判明した。この結果は、姉妹僧帽細胞であっても異なる抑制性入力を受け、異なる応答特性を持っている可能性を示唆している。(Nat Neurosci, 2013; 文献 4)

### 3. 今後の展開

嗅神経細胞軸索投射の研究については、主要な問題についてはほぼ解明に至ったと考えている。現在は、これまでの知見を活かして、成体におけるマップ再生の問題に取り組んでいる。嗅神経細胞は生後でも再生および再投射を繰り返しているが、頭部損傷などの際に嗅神経細胞が一度に切断されてしまうとマップの再生が難しいことが知られている。これは異臭症をひきおこし、著しいQOLの低下につながるが、根本的治療法はない。成体における軸索再投射の過程が胎生期のマップ形成のプロセスとどのように異なるのかを明らかにすることで、正しいマップ再生の為の道筋を得たいと考えている。

嗅球僧帽細胞の樹状突起刈り込みの問題に関しては、今後自発活動のタイミングと刈り込み特異性の関係について研究を進展させたいと考えている。将来的には光遺伝学的手法によって自発活動のタイミングをコントロールし、刈り込み特異性を決めていくルールを証明したいと考えている。神経突起の刈り込みという現象は生後発達期の脳における普遍的な現象であるため、この研究を進展させることは生後脳発達の普遍的なルールの解明につながると期待している。

本研究を通して、嗅球の動作原理にかかわる研究にも踏み込むことができたのは予想以上の成果であった。オシレーションにもとづく外界情報の認識、記憶形成は中枢神経系における中心的な問題の一つであることから、今後はそうした問題意識で本研究を進展させたい。具体的には、比較的単純な回路からなる嗅球においてオシレーションが生成され、糸球体に固有の位相が作られる仕組みを、細胞レベル、回路レベルで解明することが今後 5 年程度での大きな目標である。

こうした問題に取り組む上で、引き続き技術開発も重要であると考えている。組織透明化法は、更に改良してシナプスレベルのコネクトーム研究に発展させる必要がある。また、in vivo イメージングや光遺伝学とコネクトームの橋渡しを可能とする透明化および 3 次元イメージングのパイプライン構築も今後必要である。

### 4. 評価

#### (1) 自己評価

(研究者)

本研究では、1) 嗅覚受容体からの入力に依存した嗅神経細胞軸索投射の分子機構の解析、2) 嗅覚受容体の種類に対応した僧帽・房飾細胞神経回路の形成過程の解析、3) 新奇遺伝学・可視化ツールの開発を目標とした。

1)については、特に嗅覚受容体から入力されるシグナルの実体の解明を目指し、おおまかな軸索投射位置を決める Type-I 遺伝子と、局所的な軸索の選別を制御する Type-II 遺伝子の制御機構を解析した。Type-I 遺伝子については、嗅覚受容体 Gs を介し、リガンド非依存性の

シグナルを伝えるという結論にたどり着くことが出来た。

一方、Type-II 遺伝子の制御機構について示唆を得ようと始めた in vivo 2 光子カルシウムイメージングによる airflow 応答イメージングの研究が、思いがけず嗅覚情報処理の研究に発展した。本さがけ研究の開始に当たっては、「予想外の研究に発展することが最大の目標である」と書いたが、その通りになったという意味で成功であった。神経回路機能において活動のオシレーションが重要であるという今回の成果は、中枢神経系における普遍的な問題を含んでおり、今後さらに「機能的」回路の動作・形成原理を研究する上で、重要な足がかりになったと評価している。

2)については、特に僧帽細胞樹状突起の接続特異性が生後発達の過程でどのように決まるのかに着目して研究を進め、一定の成果を得ることができた。生後の自発活動が重要であるという結果は、過去の研究からは予想外の結論であり、嗅覚神経回路形成の理解に大きく貢献する成果であると考えられる。一方で、神経活動がどのようにして回路特異性を規定しているのかという中心的な問題は依然として残されたままである。自発活動の時空間的パターンの解析によって手がかりは得られつつあるものの、光遺伝学などを用いた最終的な証明はこれからである。神経回路の刈り込みは普遍的な現象であり、様々な系で記述されているが、刈り込みの特異性(即ちどの枝を選ぶか)に関するメカニズムは全く未知である。本研究によってその足がかりが得られつつあることは大きな成果であると考えている。

3)に関しては、新技術の開発することで新しいアプローチの研究を優位に展開できるという考えのもと、当初、回路標識と回路解析の両方を想定して研究に取り組んできた。回路解析に関しては、新しい透明化法の開発など、十分な成果を収めることが出来た。一方、自在に回路標識する手法の研究については、いくつか進展はあったものの、実用化して論文発表する段階には至らなかった。今後回路標識の手法についても可視化技術の進展を踏まえて取り組みたい。

本研究課題では、脳神経回路の動作原理、形成原理に迫る研究を展開することができた。また神経回路の全容解明をめざす世界的な機運の中で、新しい技術の開発でも貢献することができた。本課題の成果は、今後も続く神経回路解明の研究に資するとともに、特に生後発達期および成体における神経回路制御の技術に発展するものと期待している。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

神経回路が形成されるためには特異的で正確な神経結合が前提となるがそのメカニズムは依然として良く分かっていない。本研究は解析対象として優れたモデル系であるマウス嗅覚系に着目して、感覚入力に神経投射に果たす役割に迫ったものであり、嗅覚受容体から Gs タンパク質を介して生じる basal activity が投射位置を規定することを明らかにし、また嗅球の出力細胞である僧帽・房飾細胞が生後発達の過程で単一の糸球体にのみ接続を確立する過程を解析して、生後の神経活動が重要な役割を果たしていることを明らかにしたこと、さらに鼻腔の呼吸気流刺激によって生じる神経活動の周期振動が匂い情報のコーディングに重要な役割を果たしているという予期せぬ発見に至ったことはいずれも大きな成果である。またこれらの研究課程で必要となり開発した脳組織の画期的な透視化技術 SeeDB 法については速やかに発表

し、大きな反響を呼んだ。これらの成果に基づき、今後は発見した嗅球の自発活動の生理的意義、および僧帽細胞の樹状突起刈り込みの特異性のメカニズム、さらに嗅球の活動振動の生成メカニズムとその意義の解明などが大きく展開することが十分に期待できる。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1)論文(原著論文)発表

1. Imai T. Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb. *Semin Cell DevBiol.* (2014) 35:180–188.
2. Ke M–T, Imai T. Optical clearing of fixed brain samples using SeeDB. *Curr Protoc Neurosci.* (2014) 66:2.22.1–19
3. Nakashima A\*, Takeuchi H\*, Imai T\*, Saito H, Kiyonari H, Abe T, Chen M, Weinstein LS, Ron Yu C, Storm DR, Nishizumi H, Sakano H. (\*equally contributed) Agonist–Independent GPCR Activity Regulates Anterior–Posterior Targeting of Olfactory Sensory Neurons. *Cell* (2013) 154:1314–1325.
4. Ke M–T, Fujimoto S, Imai T. SeeDB: a simple and morphology–preserving optical clearing agent for neuronal circuit reconstruction. *Nat Neurosci.* (2013) 16:1154–1161.
5. Tsuboi A\*, Imai T\*, Kato HK, Matsumoto H, Igarashi KM, Suzuki M, Mori K, Sakano H. (\*equally contributed) Two highly homologous mouse odorant receptors encoded by tandemly–linked MOR29A and MOR29B genes respond differently to phenyl ethers. *Eur J Neurosci.* (2010) 33:205–13.

### (2)特許出願

研究期間累積件数:2 件

1.

発 明 者: 今井 猛、 柯 孟岑

発明の名称: 生物材料を透明化する方法および生物材料用透明化処理キット

出 願 人: 理化学研究所

出 願 日: 2012/6/22

出 願 番 号: 2012–141488

### (3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

#### 海外学会発表

1) Ryo Iwata, Takeshi Imai.

Nasal airflow entrains glomerulus–specific oscillations for phase odor coding

Society for Neuroscience 2014

2014. 11. 15–19, Washington DC, USA



- 2) Meng-Tsen Ke, Takeshi Imai.  
Correlative histochemistry: a quick and simple method for whole-mount immunohistochemistry and optical clearing of in vivo-imaged neurons  
Society for Neuroscience 2014  
2014. 11. 15–19, Washington DC, USA
- 3) Ryo Iwata, Takeshi Imai.  
Nasal airflow entrains glomerulus-specific theta oscillations for robust phase odor coding.  
Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Neuronal Circuits  
2013. 7. 18–22, NY, USA
- 4) Ryo Iwata, Takeshi Imai.  
Widespread glomerular responses to nasal airflow in the mouse olfactory system.  
Society for Neuroscience 2013  
2013. 11. 9–13, San Diego, CA, USA.
- 5) Meng-Tsen Ke, Satoshi Fujimoto, Takeshi Imai.  
SeeDB: a simple and morphology-preserving optical clearing agent for neuronal circuit reconstruction  
Society for Neuroscience 2013  
2013. 11. 9–13, San Diego, CA, USA.
- 6) Meng-Tsen Ke, Satoshi Fujimoto, Takeshi Imai.  
SeeDB: a simple and morphology-preserving optical clearing agent for neuronal circuit reconstruction  
ECRO2013  
2013. 8. 26–29, Leuven, Belgium.
- 7) Meng-Tsen Ke, Satoshi Fujimoto, Takeshi Imai.  
SeeDB-A simple and morphology-preserving optical clearing agent for neuronal circuit reconstruction  
Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Wiring the Brain  
2013. 7. 18–22, NY, USA
- 8) Meng-Tsen Ke, Takeshi Imai.  
Differential wiring of sister mitral cells revealed by a novel optical clearing agent  
Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Axon Guidance, Synapse Formation and Regeneration  
2012. 9. 18–22, NY, USA
- 9) Takeshi Imai  
Wiring specificity of mitral/tufted cells in the mouse olfactory bulb  
ISOT 2012  
2012. 6. 23–27 Stockholm, Sweden
- 10) Takeshi Imai  
Odorant receptor-instructed neuronal wiring in the mouse olfactory system  
EMBO Workshop, Frontiers in Sensory Development  
2011. 5. 3–6. Barcelona, Spain



## プレスリリース

1) 刺激によらない GPCR 基礎活性の機能を初めて解明

—嗅覚受容体の基礎活性による嗅神経回路の形成—

平成 25 年 9 月 13 日

<http://news.ad.u-fukui.ac.jp/wp-content/uploads/20130912.pdf>

2) 簡便で生体試料にやさしい組織透明化試薬「SeeDB」を開発

—神経細胞の微細な形状や接続の様子を脳丸ごと3D解析—

平成 25 年 6 月 24 日

[http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130624\\_1/](http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130624_1/)