

杉山 弘

京都大学大学院理学研究科・教授

生体分子情報－構造－機能統合ナノシステムの構築

§1. 研究実施の概要

本研究では、DNAの持つ塩基配列による分子集合と形成される構造を活用し、プログラム可能で多次元に拡張可能なDNAナノ組織体の構築方法の開発とそれを基にした高密度に集積した生体分子ナノアレイの構築方法の検討、生体分子複合体形成の制御と相互作用の操作、さらに超高密度・高感度センサーデバイスの開発を行う。

これらの目的に対して本年度は、以下の7項目の研究を実施し成果を得た。①2次元に拡張可能なDNAナノ構造体を塩基配列のプログラムで配列できる系の構築を行った。②設計したDNAナノ構造体内で生体分子の1分子解析を高速AFMによって行った。③DNAナノ構造体上に構築した経路上を動く分子の設計とその挙動を観察した。④ATP結合性リボヌクレオペプチドセンサーの認識メカニズムの詳細な解析を行った。⑤DNAナノ構造体上への機能性分子固定化技術の開発を行った。⑥受容体・イオンチャネル人工複合体によるセンサー高機能化とイオンチャネル複合体のDNAナノ構造体への集積化を行った。⑦Ca²⁺チャネルTRPC3の形成するシグナル複合体の解明を行った。

今年度は、DNAナノ構造体の構築では、新規なDNAナノ構造体の設計と構築ができ、これらのDNAナノ構造体をプログラムどおりに2次元に配列できる系の構築ができた。設計したDNAナノ構造体を足場として、酵素反応の制御やDNAの構造変化の1分子の動的な解析に成功した。DNAナノ構造体上で分子の動きをナノスケール制御して長距離移動できる系の構築とその分子運動の解析にも成功した。分子の検出では、GTPやドーパミンなど様々な生体内重要物質を検出可能な蛍光性RNPセンサーの構築に成功した。また、高効率にシグナルを伝達する改変型イオンチャネル、改変型Gタンパク質の最適化に成功し、生体物質リガンドを高精度、高感度、かつ高出力で検出できる細胞システムを得ることができた。さらには、数個の人工受容体・イオンチャネル複合体を含む形で細胞膜の一部を切り取り、生体物質リガンドを高精度、高感度、かつ高出力で検出することに成功した。今後も、生体分子の持つプログラム性・精密な構造を利用し、人工的に設計・構築することで、そこから生み出される新奇な機能性や反応性を探索し、ナノスケールでの精密な分子の組み立てと組織化によって高度な機能性を発現できる系

の構築を行う。

§ 2. 研究実施体制

(1) 杉山グループ

① 研究分担グループ長: 杉山 弘 (京都大学大学院理学研究科、教授)

② 研究項目

新規DNAナノ構造体の設計と構築、DNAナノ構造体の選択的な配列と機能化、DNAナノ構造体上での生体分子の1分子解析、DNA認識技術の精密化に向けたポリアミドの開発

(2) 森井グループ

① 研究分担グループ長: 森井 孝 (京都大学エネルギー理工学研究所、教授)

② 研究項目

機能性RNPの構築、人工光合成デバイスの構築と機能評価、機能性タンパク質の構築、タンパク質センサーの構築、機能性ペプチド組織体の構築と評価

(3) 森グループ

① 研究分担グループ長: 森 泰生 (京都大学大学院工学研究科、教授)

② 研究項目

レセプター・イオンチャネル複合体の高機能化、イオンチャネルの高度集積化の解析、高度集積化ナノデバイスの構築

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

1. 塩基配列のプログラムにより2次元DNAナノ集合体の設計と構築 (A-2)(A-3)

2次元に拡張可能なDNAナノ構造体を使ってプログラム可能な集合体の設計と構築を検討した。2次元ナノ構造体は塩基配列の相補性、形状の相補性、 π 相互作用を組み合わせ、1次元方向(2重らせん軸方向)と2次元方向(2重らせん軸に直交方向)に配列できるように設計した(図1A)。9種類の異なる2次元構造体ユニットを設計し、自己集合させた。その結果、塩基配列のプログラムどおりに異なるユニットが1次元方向と2次元方向に配列され、目的とする3x3集合体を構築することに成功した(図1BC)。また、4方向に2重らせん軸を向けたDNA構造体を用いることで、自己集合によって十字型と中空な四角形(口の字型)構造を構築することに成功した。これら方法により、機能化した分子のプログラムに従った2次元上での自由な配置が可能である。

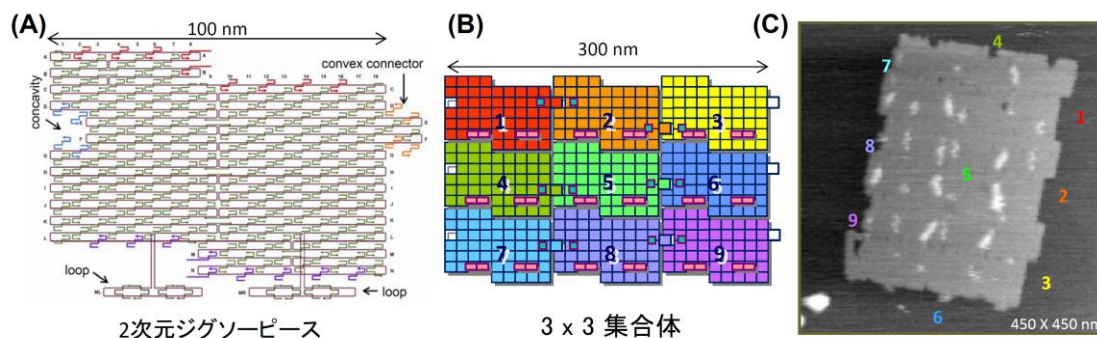


図 1 2次元DNA構造体の設計とプログラムに従った自己集合による2次元方向への配列の形成。DNA構造体ジグソーピース構造(A)と9種類のユニットからの3x3集合体(B)とそのAFM像(C)。

2. 設計したDNAナノ構造体内での酵素反応とDNA構造変化の1分子解析 (A-8)(A-9)

基質となる2本鎖DNAを導入できる2次元DNAナノ構造体を生設計し、その中で酵素反応とDNA構造の変化を1分子解析した(図2A)。DNA修復酵素(8-oxoguanine glycosylase, pyrimidine dimer glycosylase)はDNA鎖を折り曲げることで修復反応を行うため、張った状態の64塩基対と緩んだ状態の74塩基対の2本鎖DNAをDNAナノ構造体中に導入し、反応の制御と修復酵素の反応の挙動を高速AFMによって解析した。還元による酵素の捕捉と切断反応(図2B)の反応効率を解析した結果、74塩基対の配列がより反応しやすく、ナノ構造体によって酵素反応を制御できることが示された。また、高速AFMによって、酵素1分子の運動と反応の解析も可能となった。

DNAの動的な構造変化を1分子レベルで実時間観察する系の構築を目指し、グアニン4重鎖構造の形成で誘導されるナノスケールの構造変化を検出する系を構築した。分割した[3+1]グアニン4重鎖の配列をそれぞれ含む2本の2本鎖DNAを中空なDNAナノ構造体内に固定した(図2C)。DNAが並んだDNAナノ構造体に K^+ を添加すると2本鎖DNAが中心で結合したX型のナノ構造が観察された(図2C右)。次に、グアニン4重鎖構造の形成を高速AFMによって実時間で観察した。 K^+ を含む観察用の溶液中でAFMを走査すると、走査中にX型構造を形成するものが観察された。以上のように、DNAナノ構造体を用いて、2本鎖DNAの構造変化からグアニン4重鎖の形成を動的に1分子で観察する系の構築に成功した。

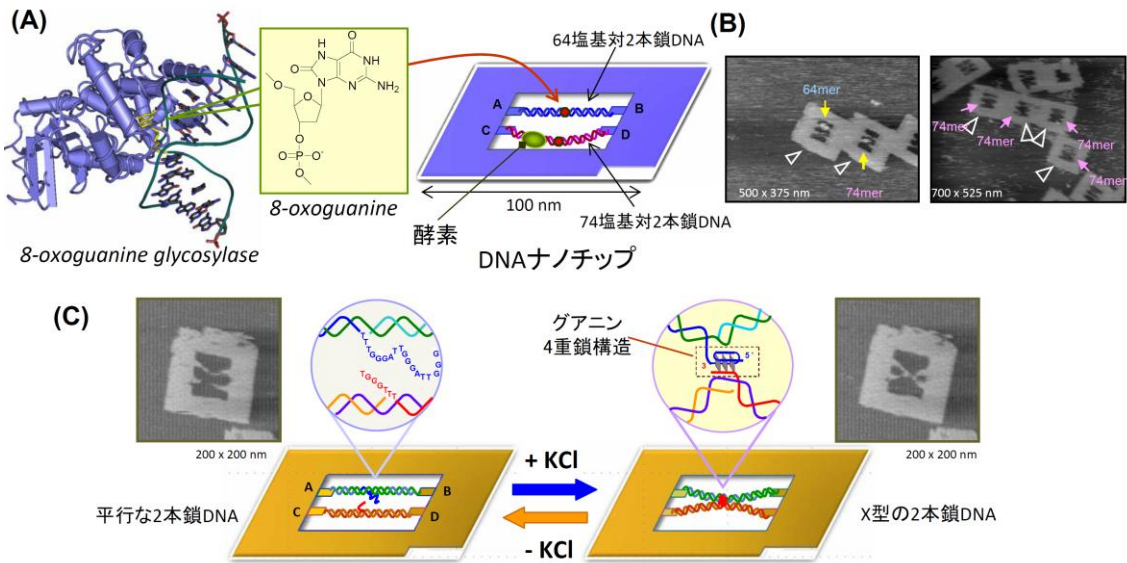


図2 ナノ構造体上での酵素反応の制御とDNAの構造変化の一分子解析。(A)中央に基質を持つ2本鎖DNA(64と74塩基対)を導入したDNAナノチップ。(B)還元による酵素の捕捉(左)と切断反応(右)のAFM像。(C)グアニン4重鎖構造形成に誘導された2本鎖DNAの構造変化とその可視化。

3. DNAナノ構造体上に構築した経路上を動く分子の設計とその挙動 (A-1)

ナノスケール下で分子の連続的な移動を精密に制御する技術はいまだ開発されていない。本研究ではDNAを用いた移動可能な分子機械(DNAモーター)をDNAナノ構造体上で制御して動かし、その運動を高速AFMによって可視化した。DNAモーターは1本鎖DNAが制限酵素の切断により、近接する相補鎖に移動する分岐移動の原理を用いた。17本の1本鎖DNAをDNAナノ構造体上に導入したトラック(経路)を作成し、その末端に移動するDNAモーターを導入した(図3A)。制限酵素を加えると、順次隣接するDNA鎖に移動し、トラック上を経時的に1方向に動くことが明らかとなった(図3B)。次に、DNAモーターがトラック上を移動する様子を高速AFMによって観察した。DNAモーターはAFMの走査時間内で動くところが直接観察でき、その運動を解析するとDNAモーター

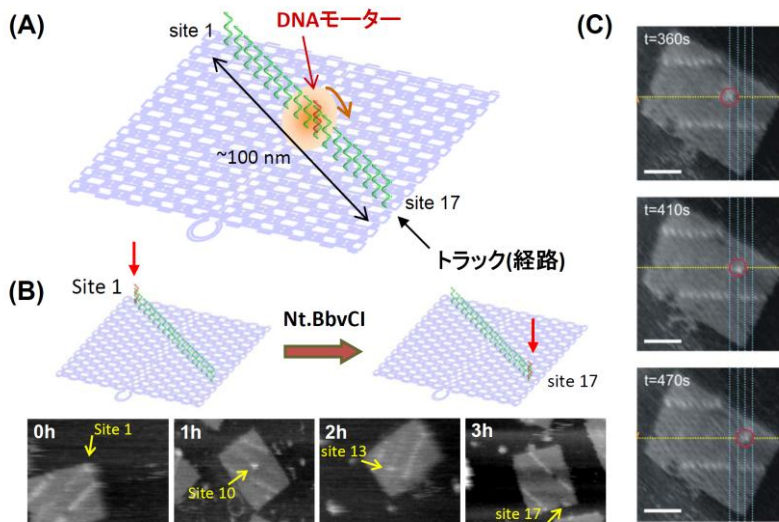


図3 に連続した1本鎖DNAでトラックを導入したDNAナノ構造体。相補鎖となるモーターDNAが酵素反応で1方向に運動する。(B)酵素反応後のモーターDNAの位置の経時変化とAFM像。(C)高速AFMによるモーターDNAの段階的な運動の実時間イメージング。

がトラック上の 1 本鎖 DNA を順次移動することが明らかとなった。このように、ナノスケールでの制御された分子の移動する系を作り出し、分子運動を操作し、解析する技術の開発に成功した。

4. ATP 結合性リボヌクレオペプチドセンサーの認識メカニズムの詳細な解析

生命現象の制御に関わる細胞内シグナル伝達を詳細に解析するためには、それに関与する様々な生体内重要物質を網羅的に検出するための技術が必要である。我々はこれまでに RNA-ペプチド複合体(RNP)を基盤として、リガンドの認識に伴い蛍光変化をするような蛍光性 RNP センサーの構築に成功している。本年度は、本戦略を拡張し、GTP やドーパミンなど様々な生体内重要物質を検出可能な蛍光性 RNP センサーの構築に成功した。また、ATP 結合性 RNP センサーの認識様式を明らかとすることで、ATP 結合前後で RNP センサーがダイナミックな構造変化をしており、それが蛍光変化に直接関与している事を明らかとした。この知見は、蛍光性 RNP センサーの合理的設計において重要である。

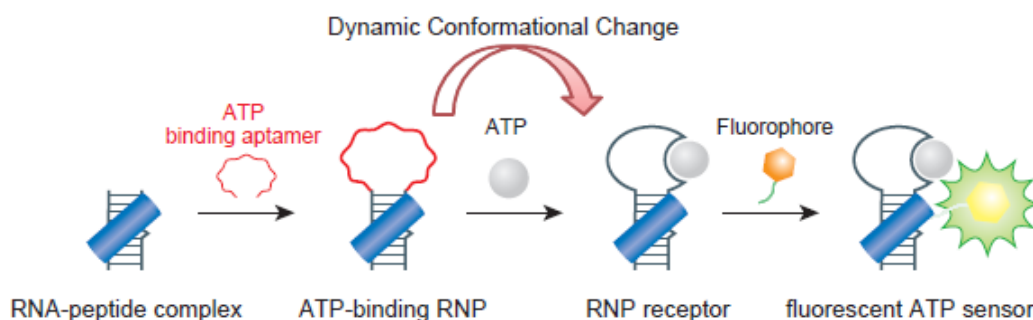


図4 ダイナミックな構造変化を伴う ATP 検出用蛍光性 RNP センサー

5. DNA ナノ構造体上への機能性分子固定化技術

DNA ナノ構造体を足場として様々な機能性分子を精微に配置することができれば、バルク中や膜上で混合するだけでは達成困難であったような、高効率な物質変換システムの構築や機能評価システムの構築が可能になると期待できる。しかしながら、これまでの報告例は核酸を用いたものがほとんどであり、自在に様々な機能性分子を配置可能とまではいかない。我々は、DNA ナノ構造体へ複数の機能性分子を配置するためのアダプターとして、Zinc Finger 蛋白質を選択した。Zinc Finger 蛋白質は、そのアミノ酸配列を変えることで、DNA 配列への選択性をテーラーメイドに設計することができる。本年度は異なる DNA 配列選択性を有する 2 種類の Zinc Finger 蛋白質(Zif268 と AZP4)を作成し、それらに蛍光色素などの機能性有機小分子や酵素などの機能性蛋白質を導入した誘導体も作成した。AFM により Zinc Finger 蛋白質が対応するアドレス(Zinc Finger 認識配列)に結合している事を示した。

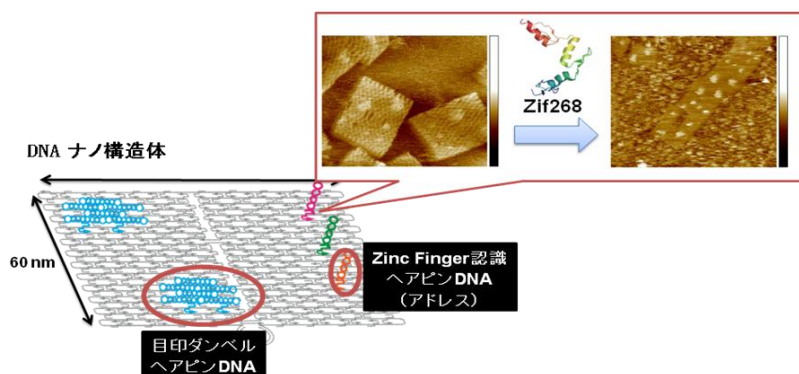


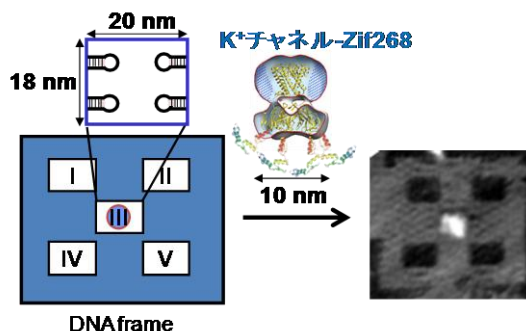
図5 Zinc Finger 蛋白質を用いた DNA ナノ構造体上への機能性分子の固定化

6. 受容体・イオンチャネル人工複合体によるセンサー高機能化

受容体とイオンチャネルの複合体形成を人工的に制御して、高い感受性を有しながら高感度な検出を可能とする生体物質センサーナノシステムの構築を目指した。受容体の応答をイオンチャネルの活性を基に直接電気応答として読み出すシステムの構築を行い、高効率にシグナルを伝達する改変型イオンチャネル、改変型 G タンパク質の最適化に成功した。また、これらのタンパク質を恒常的に発現する安定発現細胞を構築し、生体物質リガンドを高精度、高感度、かつ高出力で検出できる細胞システムを得ることができた。さらには、数個の人工受容体・イオンチャネル複合体を含む形で細胞膜の一部を切り取り、生体物質リガンドを高精度、高感度、かつ高出力で検出することにも成功した。

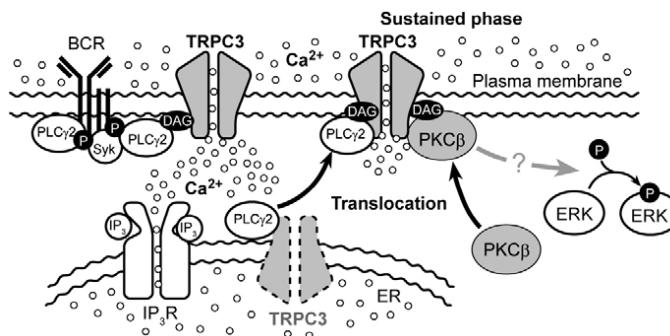
7. イオンチャネル複合体の DNA origami への集積化

上記の成果を人工的な高度集積化ナノデバイス構築に転じるためには、リガンド応答を受け取る受容体とその情報を電気応答として読み出すイオンチャネルを、細胞の力に頼らずナノメートルレベルで適切に配置することが必須である。DNA origami がその足場として機能するのではないかと着想し、DNA origami 上へのイオンチャネルの配置を行った。特異的な DNA 配列を認識できる Zn^{2+} finger タンパク質を用い、 Zn^{2+} finger タンパク質 Zif268 と K^+ チャネルの融合タンパク質を作成した。 K^+ チャネルは 4 量体を形成するが、4つのイオンチャネル- Zn^{2+} finger タンパク質結合部位を DNA origami 上の決められた位置に配置させることができた。



8. Ca²⁺チャネル TRPC3 の形成するシグナル複合体の解明 (C-2)

ホスホリパーゼ C によって仲介される細胞内の Ca²⁺応答は、セカンドメッセンジャーとして産生されるイノシトール3リン酸 (IP₃) とジアシルグリセロール (DAG) によって仲介される。IP₃ を介した Ca²⁺ 応答に関しては詳細な解析が進められているが、DAG を介した Ca²⁺ 応答の解析は進んでいない。今回、Ca²⁺チャネル TRPC3 が DAG で直接活性化されることで、細胞外からの Ca²⁺流入を引き起こすだけでなく、プロテインキナーゼ C β (PKCβ) と直接相互作用し、細胞膜上でタンパク質複合体を形成することによりシグナル伝達を高効率的に制御していることを明らかにした。



§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

- ① 発行済論文数 (国内 (和文) 0 件、国際 (欧文) 34 件):
 - ② 未発行論文数 (“accepted”、“in press”等) (国内 (和文) 0 件、国際 (欧文) 4 件)
- 論文詳細情報

A. 杉山グループ

A-1. Wickham, S.; Endo, M.; Katsuda, Y.; Hidaka, K.; Bath, J.; Sugiyama, H.; Turberfield, A. J.

Direct observation of stepwise movement of a synthetic molecular transporter. *Nature Nanotechnology*, **2011**, *6*, 166-169. (DOI: 10.1038/NNANO.2010.284)

A-2. Rajendran, A.; Endo, M.; Katsuda, Y.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. Programmed

Two-Dimensional Self-Assembly of Multiple DNA Origami Jigsaw Pieces. *ACS Nano*, **2011**, *5*, 665-671. (DOI: 10.1021/nn1031627)

A-3. Endo, M.; Sugita, T.; Rajendran, A.; Katsuda, Y.; Emura, T.; Hidaka, K.; Sugiyama, H.

Programmed Two-Dimensional Self-Assembly of Multiple DNA Origami Jigsaw Pieces. *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 3213-3215. (DOI: 10.1039/c0cc05306f)

A-4. Endo, M.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. Direct AFM Observation of an Opening Event of a DNA Cuboid Constructed via a Prism Structure. *Org. Biomol. Chem.*, **9**, 2075-2077. (DOI: 10.1039/c0ob01093f)

- A-5. Endo, M.; Sugiyama, H. Recent Progress in DNA origami technology. *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.*, *in press*. (DOI: 10.1002/0471142700.nc1208s45)
- A-6. Park, S.; Bando, T.; Shinohara, K.; Sugiyama, H. Photo controllable Sequence-Specific DNA Alkylation by Pyrrole-Imidazole Polyamide *seco*-CBI Conjugate. *H. Biocojugate Chem.*, **2011**, *22*, 120-124. (DOI: 10.1021/bc100352y)
- A-7. Matsuda, H.; Fukuda, N.; Ueno, T.; Katakawa, M.; Wang, X.; Watanabe, T.; Matsui, S.; Aoyama, T.; Saito, K.; Bando, T.; Matsumoto, Y.; Nagase, H.; Matsumoto, K.; Sugiyama, H. Transcriptional Regulation of Progressive Renal Disease by the Gene Silencing Pyrrole-Imidazole polyamide Targeted to the TGF- β 1 Promoter. *Kidney International*, **2011**, *79*, 46-56. (DOI: 10.1038/ki.2010.330)
- A-8. Endo, M.; Katsuda, Y.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. A versatile DNA nanochip for direct analysis of DNA base-excision repair. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 9412-9416. (DOI: 10.1002/anie.201003604)
- A-9. Sannohe, Y.; Endo, M.; Katsuda, Y.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. Visualization of Dynamic Conformation Switching of the G-Quadruplex in a DNA Nanostructure. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 16311-16313. (DOI: 10.1021/ja1058907)
- A-10. Hori, M.; Yonekura, S.I.; Nohmi, T.; Grz, P.; Sugiyama, H.; Yonei, S.; Zhang-Akiyama Q.M. Error-prone translesion DNA synthesis by Escherichia coli DNA polymerase IV (DinB) templates containing 1,2-dihydro-2-oxoadenine. *J. Nucleic Acids*. **2010**, 807579-807588. (DOI:10.4061/2010/807579)
- A-11. Mashimo, T.; Yagi, H.; Sannohe, Y.; Rajendran, A.; Sugiyama, H. Folding Pathways of Human Telomeric Type-1 and Type-2 G-Quadruplex Structures. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 14910-14918. (DOI: 10.1021/ja105806u)
- A-12. Tashiro, R.; Ohtsuki, A.; Sugiyama, H. The Distance between Donor and Acceptor Affects the Proportion of C1' and C2' Oxidation Products of DNA in a BrU-containing Excess Electron Transfer System. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 14361-14363. (DOI: 10.1021/ja106184w)
- A-13. Tanaka, H.; Tanaka, Y.; Minoshima, M.; Yamaguchi, S.; Takahashi, H.; Fuse, S.; Doi, T.; Kusumi, T.; Kawauchi, S.; Sugiyama, H.; Takahashi, T. Synthesis of Bicyclic Eneidyne That Possess a Photosensitive Triggering Device and Exhibit strong DNA Cleaving Activity. *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 5942-5944. (DOI: 10.1039/c0cc01286f)

- A-14. Park, S.; Sugiyama, H. DNA-Based Hybrid catalysts for an Asymmetric Organic Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 3870-3878. (DOI: 10.1002/anie.200905382)
- A-15. Endo, M.; Sugita, T.; Katsuda, Y.; Hidaka, K.; Sugiyama, H. Programmed-Assembly System Using DNA Jigsaw Pieces. *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 5362-5368. (DOI: 10.1002/chem.200903057)
- A-16. Kashiwazaki, G.; Bando, T.; Shinohara, K.; Mioshima, M.; Kumamoto, H.; Nishijima, S.; Sugiyama, H. Alkylation of a Human Telomere Sequence by Heterotrimeric Chlorambucil PI Polyamide Conjugates. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 2887-2893. (DOI:10.1016/j.bmc.2010.03.011)
- A-17. Overview of Formation of G-quadruplex Structure. Sannohe, Y.; Sugiyama, H. *Current Protocol Nucleic Acid Chem.*, **2010**, *40*, 2-11. (DOI: 10.1002/0471142700.nc1702s40)
- A-18. Shinohara, K.; Sannohe, Y.; Kaieda, S.; Tanaka, K.; Osuga, H.; Xu, Y.; Bando, T.; Sugiyama, H. Chiral Wedge Molecule inhibits Telomerase Activity. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 3778-3782. (DOI: 10.1021/ja908897j)
- A-19. Wang, X.; Nagase, H.; Watanabe, T.; Nobusue, H.; Suzuki, T.; Kimura, M.; Mishra, R.; Shinojima, Y.; Kawashima, H.; Takagi, K.; Igarashi, J.; Takayama, T.; Fukuda, N.; Sugiyama, H. Inhibition of MMP-9 Transcription and Suppression of Tumor Metastasis by Pyrrole-Imidazole Polyamide. *Cancer Science*, **2010**, *101*, 759-766. (DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01435.x)
- A-20. Endo, M.; Katsuda, Y.; Hidaka, k.; Sugiyama, H. Regulation of DNA Methylation using Different Tensions in the Double Strands constructed in a Defined DNA Nanostructure. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 1592-1597. (DOI: 10.1021/ja907649w)
- A-21. Minoshima, M.; Bando, T.; Shinohara, K.; Kashiwazaki, K.; Nishijima, S.; Sugiyama, H. Comparative Analysis of DNA Alkylation by Conjugates between Pyrrole-Imidazole Hairpin Polyamides and Chlorambucil or *seco*-CBI. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 1236-1243. (DOI:10.1016/j.bmc.2009.12.033)
- A-22. Shinohara, K.; Bando, T.; Sugiyama, H. Anticancer Activities of Alkylating Pyrrole-Imidazole Polyamides with Specific Sequence Recognition. *Anti-Cancer Drug*, **2010**, *21*, 228-242. (DOI: 10.1097/CAD.0b013e328334d8f9)

A-23. Nishijima, S; Shinohara, K.; Bando, T.; Minoshima, M.; Kashiwazaki, G.; Sugiyama, H. Cell Permeability of Py-Im Polyamide-Fluorescein Conjugates: Influence of Molecular Size and Py/Im Content. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 978-983. (DOI: 10.1016/j.bmc.2009.07.018)

A-24. Minoshima, M.; Chou, J. C.; Lefebvre, S.; Bando, T.; Shinohara, K.; Gottesfeld, J. M.; Sugiyama, H. Potent Activity against K562 Cells by Polyamide-seco-CBI Conjugates Targeting Histone H4 Genes. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, *18*, 168-174. (DOI: 10.1016/j.bmc.2009.11.005)

B. 森井グループ

B-1. Sakaguchi, R., Tainaka, K., Shimada, N., Nakano, S., Inoue, M., Kiyonaka, S., Mori, Y., Morii, T. An in vitro fluorescent sensor reveals intracellular Ins(1,3,4,5)P4 dynamics in single cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2150-2153.

B-2. Shinohara Y, Matsumoto K, Kugenuma K, Morii T, Saito Y, Saito I. Design of environmentally sensitive fluorescent 2'-deoxyguanosine containing arylethynyl moieties: distinction of thymine base by base-discriminating fluorescent (BDF) probe. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2817-20.

B-3. Tanaka N, Morimoto Y, Noguchi Y, Tada T, Waku T, Kunugi S, Morii T, Lee YF, Konno T, Takahashi N., The mechanism of fibril formation of a non-inhibitory serpin ovalbumin revealed by the identification of amyloidogenic core regions. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 5584-94..

B-4. Selective assembly of photosynthetic antenna proteins into a domain-structured lipid bilayer for the construction of artificial photosynthetic antenna systems: structural analysis of the assembly using surface plasmon resonance and atomic force microscopy. Sumino A, Dewa T, Kondo M, Morii T, Hashimoto H, Gardiner AT, Cogdell RJ, Nango M. *Langmuir* **2011**, *27*, 1092-9.

B-5. Structural Aspects for the Recognition of ATP by Ribonucleopeptide Receptors. Nakano, S., Mashima, T., Matsugami, A., Inoue, M., Katahira, M., Morii, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 4567-79.

C. 森グループ

C-1. TRPM1 is a component of the retinal ON bipolar cell transduction channel in the mGluR6 cascade. Koike C, Obara T, Uriu Y, Numata T, Sanuki R, Miyata K, Koyasu T, Ueno S, Funabiki K, Tani A, Ueda H, Kondo M, Mori Y, Tachibana M, Furukawa T. *Proc. Natl. Acad.*

Sci. USA, 107, 332-337 (2010).

- C-2. Numaga T, Nishida M, Kiyonaka S, Kato K, Katano K, Mori E, Kurosaki T, Inoue R, Hikida T, Putney Jr JW, Mori Y. Ca^{2+} influx and protein scaffolding via TRPC3 sustain PKC α and ERK activation in B cells. *J. Cell Sci.*, 123, 927-938 (2010).
- C-3. Bogeski I, Kummerow C, Al-Ansary D, Koehler R, Schwarz EC, Kozai D, Takahashi N, Peinelt C, Griesemer D, Bozem B, Mori Y, Hoth M, Niemeyer BA. Differential redox regulation of ORAI channels: a mechanism to tune cellular calcium responses. *Sci. Signal.*, 3, ra24 (2010).
- C-4. Kinoshita H, Kuwahara K, Nishida M, Jiang Z, Rong X, Kiyonaka S, Kuwabara Y, Kurose H, Inoue R, Mori Y, Li Y, Nakagawa Y, Usami S, Fujiwara M, Yamada Y, Minami T, Ueshima K, Nakao K. Inhibition of TRPC6 channel activity contributes to the anti-hypertrophic effects of natriuretic peptides-guanylyl cyclase-A signaling in the heart. *Circ. Res.*, 106, 1849-1860 (2010).
- C-5. Uriu Y, Kiyonaka S, Miki T, Yagi M, Akiyama S, Mori E, Nakao A, Beedle AM, Campbell KP, Wakamori M, Mori Y. RIM γ isoforms lacking the Rab3-binding domain induce long-lasting currents but block neurotransmitter vesicle-anchoring in voltage-dependent P/Q-type Ca^{2+} channels. *J. Biol. Chem.*, 285, 21750-21767 (2010).
- C-6. Yasuda T, Shibasaki T, Minami K, Takahashi H, Mizoguchi A, Uriu Y, Numata T, Mori Y, Miyazaki J, Miki T, Seino S. Rim2 α determines docking and priming states in insulin granule exocytosis. *Cell Metab.*, 12, 117-129 (2010).
- C-7. Kajimoto T, Sawamura S, Tohyama Y, Mori Y, Newton AC. Protein kinase C δ -specific activity reporter reveals agonist-evoked nuclear activity controlled by Src family of kinases. *J. Biol. Chem.*, in press.
- C-8. Aritomi S, Wagatsuma H, Numata T, Uriu Y, Nogi Y, Mitsui A, Konda T, Mori Y, Yoshimura M. Expression of N-type calcium channels in human adrenocortical cells and their contribution to corticosteroid synthesis. *Hypertens. Res.*, in press.
- C-9. Chen X, Numata T, Li M, Mori Y, Orser BA, Jackson MF, Xiong ZG, Macdonald JF. The modulation of TRPM7 currents by nafamostat mesilate depends directly upon extracellular concentrations of divalent cations. *Mol Brain*, in press.

(4-2) 知財出願

- ① 平成22年度特許出願件数(国内 2 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 4 件)