

戦略的創造研究推進事業
ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ

研究領域「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」

研究課題「遺伝子デリバリーシステムとしての人工細胞核の創製」

研究終了報告書

研究期間 平成14年11月～平成20年3月

研究代表者：原口 徳子
((独)情報通信研究機構、主任研究員)

1 研究実施の概要

真核生物の細胞核は、遺伝子 DNA を細胞から細胞へ、親から子へと伝える、確実で効率の良い天然の遺伝子デリバリーシステムである。高等動植物では、細胞核は、細胞分裂の染色体分離に先がけて崩壊し、染色体分離が完了すると染色体の周りに自律的・自己集合的に形成される。この仕組みを利用・操作することによって、特殊な機能を持つ細胞核を細胞内に造り出せるのではないかと考えた。そのためには、まず、天然の細胞核が形成される仕組みを知ることが重要である。本研究は、染色体の周りに核膜が自己集合的に形成され、正しく機能する細胞核が連鎖反動的に形成される仕組みを解明し、その仕組みを利用・操作することにより、特殊機能をもった人工的細胞核を細胞内に造りだし、正確で効率の良い遺伝子デリバリーを実現することを目標とした。本提案課題遂行のために、研究内容を、主に（1）生細胞での核膜形成機構の解明、（2）人工細胞核の形成、（3）遺伝子デリバリーシステムの構築、の3つに分けて研究を進めた。各項目の研究内容と成果の概要は以下のとおりである。

（1） 生細胞での核膜形成機構の解明

個別の細胞の分子ダイナミクスをナノメートルの解像度で見るイメージング法の開発

核膜形成機構を解明するためには、まず、核膜形成に働く因子の挙動を生きた細胞内で解析するためのイメージング法の開発が必要であった。タンパク質成分については、GFPなどの蛍光タンパク質との融合を用いて独自に開発した様々な蛍光イメージング法を用いて解析を行った。ここで開発した生細胞蛍光イメージング法は、すでに開発済みであったマルチカラータイムラプス法に加えて、生体分子の流動性を計測できる光退色後蛍光回復法（FRAP）と蛍光相関分光法（FCS）、生体分子間結合を計測できる蛍光共鳴エネルギー転移（FRET）と蛍光相互相関分光法（FCCS）である。これらの蛍光イメージング法は、個々の細胞の特定の分子だけを選択的に可視化できるという特長があり、時々刻々と変化する分子の細胞内局在や流動性を生きた細胞で解析できる点で優れた方法であり、プロジェクトの遂行に重要な貢献をした。しかし、その反面、見ている特定の分子しか観えないという欠点があり、特に、核膜などの脂質膜の有無やその変化をこの方法で調べることが困難という問題があった。その問題を克服するために、我々は、膜を可視化できる新規イメージング法として、新たに、生きた細胞での蛍光イメージングと電子顕微鏡イメージングとを組み合わせた **live CLEM (correlative light and electron microscopy)** 法を開発した。このイメージング法は、あらかじめ蛍光生細胞イメージングを行った特定の一個の細胞に対し、電子顕微鏡像を重ね合わせて、数 nm の解像度で細胞内構造を解析するものであり、ダイナミックな変化を追跡できる蛍光イメージング法の特長と、膜や微細構造を高分解能で視ることができ電子顕微鏡の特長を併せ持つものである。これらのイメージング法は、当プロジェクト全体の進展に不可欠で重要な貢献をし、大きな成果をもたらした。これらの方法を使って研究を行った結果、正常な細胞核が形成・維持される分子機構について、以下に示す3つの大きな進展があった。

BAF 依存的な核膜形成機構の発見

ヒト細胞の核膜は、細胞分裂期前期にいったん崩壊し、染色体分離の後に、2つに分かれた娘染色体の周りに再形成される。核膜は、核膜孔複合体や核ラミナ構造など、核膜特

異的に存在するタンパク質から成る。核膜再形成では、これらの核膜構造すべてが正常な構造に戻らなければならない。この核膜再形成の分子機構を理解するため、核膜形成に重要な働きをしている候補因子として種々の核膜関連タンパク質を選び出し、核膜構成因子が染色体の周りに集合する過程を、上述したイメージング法と遺伝子ノックダウンを使って詳細に検討した。その結果、核膜形成の仕組みは、スピンドル近傍の染色体領域（「コア」と命名）とスピンドル遠遍の染色体領域（「ノンコア」と命名）で異なっており、**barrier-to-autointegration factor (BAF)**と呼ばれる DNA 結合タンパク質が「コア」領域での核膜形成に重要な働きがあることを発見した。一方、核膜孔複合体と B タイプラミンはノンコア領域にアセンブリー（集合）することも発見した。コア領域にアセンブリーする核膜タンパク質には、核膜病の原因となる **emerin** とラミン A が含まれている。これらのタンパク質は、BAF が欠失すると、コア局在できなくなり、そしてついには間期の核膜にも局在できなくなることを発見した。コア領域は、ほんの短時間（5〜20 分程度）形成される一過的な構造であるが、この間、この場所で、**emerin** や **lamin A** が間期で核膜局在するのに必要な何かが起こることを示している。**Emerin** の欠失は **Emery-Dreifuss** 型進行性筋ジストロフィーの、また、**lamin A** タンパク質の異常は、プロジェリア（早老症）や **Emery-Dreifuss** 型進行性筋ジストロフィー、リポジストロフィーなど、多数の病気を引き起こすために、これらの発見は、細胞機能の理解に留まらず、一連の核膜病の理解にも貢献するものとなる。

細胞核・核膜の自己組織化における分子ダイナミクスの重要性（分子触媒としてのコア構造）

蛍光イメージングを用いて、生きた細胞内での分子動態を解析した結果、間期の細胞では **BAF** は核内を高速で動き回りながら、核膜内膜をゆっくり移動する **emerin** と結合解離を繰り返しつつ **emerin** との結合状態を維持することが発見した。ここで見られたダイナミックな分子間結合が、分裂期の核膜形成ではどのような役割を果たすかを検討してきた。核膜の再形成過程では、まったく既存構造がない状態から急速に核膜構造を構成しなければならない。そのために、多くの構成要素が動き回っている中で、いち早く **BAF** が染色体表面に動かない「足場」構造を作ることを見出した。その足場に、**lamin A** が集合し、さらに堅い足場となっていく。そこに、核膜前駆小胞が次々と時間差をつけながら段階的に集合していき、ついには核膜が完成するのである。そのプロセスと並行して、足場となったコア構造は、次々と崩れていく。**lamin A** は、核ラミナとして、核膜直下にメッシュ状のフィラメント構造を作ることが知られている。この構造を高速・高効率で形成するためには、コア構造への一過的な集合が必要である。この結果から、我々は、コア構造はメッシュ構造形成のための「触媒」作用があると推論した。バラバラだった **lamin A** 分子がメッシュ構造という特定の分子状態へと変化するためには、現在の分子状態あるいはコンフォメーションをいったんキャンセルすることが必要なのではないか（例えば、丸まった状態をまっすぐに延ばすなど）。コア構造は、このような反応を起こす「場」になっているのではないとのモデルを提唱したい。

核膜タンパク質の生物学的役割の発見

emerin や **lamin A** など核膜上のタンパク質成分の異常は、組織特異的な遺伝病や老化な

ど、多細胞動物特有の問題を引き起こす。従って、核膜タンパク質は多細胞生物特有の分化過程か分化後の細胞機能に必要と考えられる。それに対して、減数分裂は単細胞生物でも保存されている分化過程であり、核膜は、このような分化過程においても、真核生物に普遍的な役割をもっていることが考えられた。そこで、減数分裂という分化過程での核膜機能を、分裂酵母を用いて解析した。分裂酵母は遺伝的改変が容易であるために分子機能の解析が容易である。分裂酵母の核膜は、哺乳類の核膜と比べて、核ラミナ構造が存在せず分裂期の核膜崩壊が起こらないという違いがあるものの、2枚の膜構造と核膜孔複合体があるという点で動物細胞と類似している。減数分裂期に発現量が増加するタンパク質をDNAマイクロアレーの結果に基づいて検索し、核膜とテロメアに結合するタンパク質として **bqt1** と **bqt2** と名付けた新規タンパク質を同定した。遺伝学的方法とイメージングの手法を用いて、これらのタンパク質は、減数分裂期のテロメアの移動、相同染色体組み換え、孢子形成（高等動物では精子や卵子形成に相当）に直接間接的に必須であることを証明した。**Bqt1** と **bqt2** が揃うと、核膜タンパク質 **Sad1** と染色体末端テロメアの両方が **Bqt1/bqt2** を介してつながるようになる。それによって、核膜を介して、細胞質に存在する微小管上の動きがテロメアに伝わり、細胞質から核内の染色体テロメアを機械的に動かすことができることを証明した。我々の発見を契機として、出芽酵母やマウス、線虫でも類似研究が行われ、これらの真核生物でも同様の仕組みがあり、核膜タンパク質が減数分裂の初期反応に重要であることが次々と発見された。この研究は、ヒトでも、核膜機能が卵子や精子のような生殖細胞を作り出す過程に重要な役割を果たす可能性を示唆するものである。

（2）人工細胞核の形成

細胞に入れた微小ビーズはオートファジーを誘導する

細胞の中に細胞核の「タネ」となるものを入れると、連鎖的・自己組織的に新たな細胞核が形成できるのではないかの発想から、特殊な表面コートを施した直径1〜3マイクロメートル程度の微小ビーズを細胞内に導入し、細胞内でどのような反応が起こるか検討した。ビーズ表面にタンパク質をコートして細胞内に特殊な方法を用いて入れたところ、コートの有無に関わらずビーズのみによって細胞内のオートファジーが活性化されることを発見した。阻害剤を使った実験とイメージング法による観察から、ビーズはマクロピノサイトーシスと呼ばれる仕組みによって細胞内に入ることも発見した。オートファジーは、単なる飢餓時の栄養確保として働くだけでなく、神経変性の原因となる異常タンパク質の除去や歯周病菌などの病原菌に対する「免疫」として働くことなど、様々病気と密接に関連することが分かってきており、最近、特に注目されている。しかし、これまでに、特定の物質を刺激剤として使った人工的オートファジー誘導系が確立されておらず、そのためにオートファゴソーム形成の分子機構の解明が遅れていた。ビーズを細胞内に導入するだけで、生物試料を使わずオートファジーを効率よく誘導できるために、この実験系はオートファゴソーム形成機構の研究に有用なツールとなると期待される。オートファジー解明に道を開く成果である。

（3）遺伝子デリバリーシステムの構築

DNA ビーズの周りに形成される「核もどき」構造

上述したのと同様、細胞の中に細胞核の「タネ」となるものを入れることによって、自己集合的に核膜を集合させ、ついには新しい細胞核を細胞内に作り出すのを目標としている。ビーズ表面に DNA を結合させたビーズを特殊な方法で細胞内に導入すると、上述したようにほとんどのビーズはオートファジーを活性化し、ついには貪食されるが、一部のビーズはオートファジーを免れて、伸展した DNA の周辺部に核膜の特徴を持つ膜が集合した特殊な膜構造を形成することを発見した。この構造は、細胞分裂期前期で崩壊し、終期で再集合することから明らかに核膜の特徴を持っている。しかし、この構造には、核膜タンパク質のうち、BAF や emerlin など特定の核膜タンパク質は含まれるが、核膜孔複合体は含まれておらず、まだ完全な核膜とはいえないことも分かった。これらの結果は、この特殊な膜構造が、核膜または核膜前駆小胞体膜で構成され核膜孔複合体を持たない、いわば「核もどき」構造であることを示している。この「核もどき」構造は、時間経過に伴って、オートファジーにより分解経路に入ることも発見した。このことは、細胞には不完全な（または不要な）細胞核を排除するシステムがあることを示唆している。さらに、この発見は、細胞が必要な細胞核と不要な細胞核を見分ける仕組みを持っていることを強く示唆するものである。細胞内に人工細胞核を形成し安定に保持するためには、この仕組みを理解する必要がありと考へ、以下に示す新たな研究を行った。

（４） 新たなる展開

細胞核を認識・識別する仕組みの探求：to be or not to be

人工細胞核を安定に保持するためには、細胞内に形成した核を、オートファジーなどの分解系から守る仕組みが必要である。繊毛虫は、酵母より下等と分類される単細胞真核生物であり、ひとつの細胞の中に機能と構造の異なる2つの細胞核が存在している。小核はゲノム DNA を含んだ転写活性の低い核であり、大核は増幅された染色体が存在し転写活性が非常に高い核である。全く異なる機能を持つ細胞核が、ひとつの細胞の中になぜ共存できるのかということ自体大きな謎であるが、転写活性の高い核を安定に保持する機構が分かれば、それを利用して、より転写効率の良い人工細胞核が可能になると考えた。面白いことにテトラヒメナでは、減数分裂期では、複製された一見等価な4つの小核のうち1つだけが残し、3つは消失する。この核の要・不要を識別している仕組みを解くことによって、「核もどき」がオートファジーを免れる方法の開発が可能となる。繊毛虫では核膜を構成するタンパク質に関する報告はこれまでに一切なく、まず初めにテトラヒメナの核膜孔に焦点を合わせ、その構成因子の同定を行った。約30個の遺伝子を検討し、その内、これまでに17個の核膜孔タンパク質(ヌクレオポリン)を同定した。GFP融合を発現させ、これらのヌクレオポリには、大核にだけ、小核にだけ、大核と小核の両方に存在するものがあることを発見した。これは、大核と小核の核膜孔複合体が異なるセットのヌクレオポリンで構成されていることを示しており、「ひとつの生物の核膜孔複合体はすべて同じ」と考えてきたこれまでの常識を覆すものであった。さらに、減数分裂期で核が消失するのに先だって核膜孔複合体(または核膜そのもの)が消失すること、核の除去はオートファジーによってなされること、も発見した。消失する核と消失を免れる核との違いを詳しく解析することによって、今後、細胞核を安定に保持する技術開発に道が開けるものと確信する。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

本研究課題は、細胞の中で、染色体の周りに核膜が自己集合的に形成され、細胞核が連鎖反応的に形成される機構を解明し、それを操作することにより特殊機能をもった人工的細胞核を細胞内に造ることを最終目標として研究を行った。具体的な研究内容としては、主に（１）生細胞での核膜形成機構の解明、（２）人工細胞核の形成、（３）遺伝子デリバリーシステムの構築、の３つに分けて研究を進めてきた。

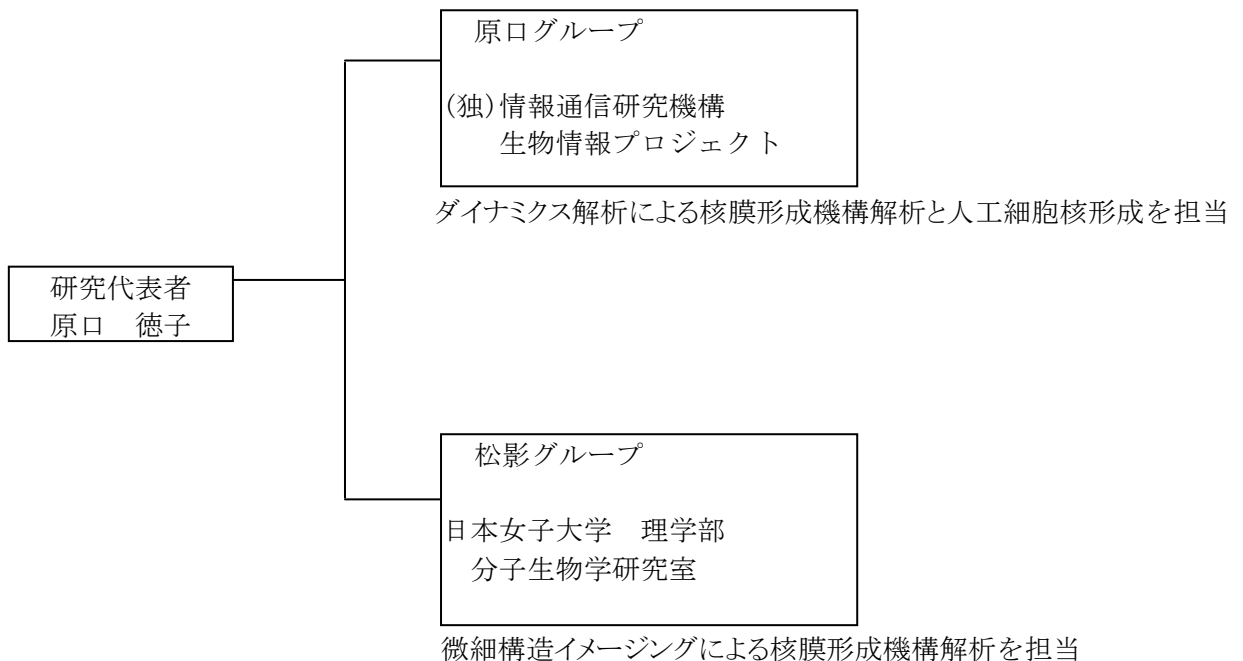
原口グループは、全期間に渡って当プロジェクトの全項目を担当し当研究を推進した。特に、「イメージング法の開発による核膜形成機構の解明」と「人工細胞核の形成」の研究項目に力を入れて研究を行ってきた。核膜形成機構を解明するために、主にヒト培養細胞を用いて、細胞分裂の終期で起こる核膜再形成過程に焦点を絞って解析を進めた。当グループは、生細胞イメージング技術には定評があり、研究開始当初から順調に研究を進めることができた。しかし、同時に進めてきたカエル卵抽出液での核膜形成因子の精製は成功しなかったため、この計画は３年目に中止した。一方、研究開始から３年目で **live CLEM** 法の開発に成功し、研究代表者が望んでいる解像度で膜構造などの細胞構造が解析可能となったので、人工細胞核形成の研究に本格的に着手することとした。生きた細胞内に人工細胞核を形成させる実験では、核の「タネ」となる材料の選択、導入法の選択、解析方法の選択など、設定すべきパラメータが多く、プロジェクトの推進は困難を極めた。突破口となったのは、細胞内に導入した微小ビーズはオートファジーを引き起こすことが分かったことである。このため、研究計画を大幅に変更し、まず初めに逆の発想で、オートファジーを効率よく誘導できる方法の開発を行った。その結果、非生物素材だけで効率よくオートファジーを誘導できる実験系を作製することに成功した。

次に、「遺伝子デリバリーシステムの構築」の研究項目では、人工細胞核の形成の延長として、ビーズに **DNA** を結合させたものを細胞核の「タネ」として用い、「タネ」となる **DNA** の周りで自己集合的に細胞核が形成するか検討した。この研究によって、細胞内に「核もどき」構造を作り出すのに成功した。しかし、これは天然の細胞核に近いものとはいえず、ここでも、この不完全な構造である「核もどき」はオートファジーによって除去されることを発見した。通常、天然の核は、オートファジーの対象とならず、分解系により除去されることはない。つまり、天然核はオートファジーを回避する能力を備えていることができる。これらの結果から、目的である人工細胞核を細胞内につくるためには、このオートファジーを回避する能力を持たせることが不可欠であると判断した。

そこで、天然の核はなぜオートファジーの対象にならないかということを考え、この問題に本格的に取り組むこととした。そのために、最後の１年間は、申請段階では計画していなかった「細胞核認識機構の解明」を新たな目標として研究を行った。その目的のために、テトラヒメナを用いることとした。その理由は、テトラヒメナは細胞内に機能と構造の異なる２種類の細胞核を持つために、その２つの細胞核を明確に区別している仕組みがあると考えられたからである。しかも、減数分裂の過程では、小核の選択的な消失が起こることが知られており、特定の核を認識し除去する仕組みを調べることができるため、この問題に対する答えが得られやすいと判断したからである。この研究では、２つの細胞核が核膜孔複合体の構造的な違いによって識別されうることを発見した。この発見は、今後の発展につながる大きな成果といえる。

松影グループは、電子顕微鏡によるイメージング法の開発を担当した。高い電子顕微鏡技術によって、当プロジェクトに重要な大きな貢献した。具体的には、電子顕微鏡法全般を担当したが、特に、光学顕微鏡と電子顕微鏡観察を合わせた **live CLEM** 法の電子顕微鏡画像取得を担当した。**Live CLEM** 法以外の電子顕微鏡観察としては、分裂酵母細胞やテトラヒメナ細胞の固定法の検討を行い、膜構造などの細胞内微細構造をきれいに保持する方法の開発を行い、一定の成果をあげた。当グループは、最後の2年間のみ参加であった。比較的短期間の参加であったためか、研究内容に関しては当初の計画を変更することなく遂行した。このグループの参加によって、当プロジェクトの計画を円滑に進めることができた。

(2) 実施体制



3 研究実施内容及び成果

3. 1 核膜形成機構の解明と人工細胞核の形成 ((独)情報通信研究機構 原口グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

(1)-1 生細胞蛍光イメージングによる核膜形成機構の解析

生細胞イメージング法の開発

細胞分裂周期における核膜の崩壊と再形成は、非常にダイナミックな現象であり、その仕組みを理解するためには、核膜が形成する際に、いつ・どこで・何が起こるかを正確に知る必要がある(図1)。また、核膜成分のほとんどが生化学的に高度に不溶性であることから、生化学的な手段を用いて核膜形成時に一過的に起こる現象を解析することは極めて困難である。特定の場所で、特定の時間に次々と連鎖反動的に起こる現象を正しく理解するためには、一つの細胞で生化学的な反応を可視化していくことが有効かつ唯一の方法といえる。

このような考えから、我々は、核膜形成の分子機構を解明するために、以下で述べる様々な蛍光イメージング法を用いて解析を

行った。まず、細胞周期での局在変化を追跡するために生細胞でのタイムラプス蛍光顕微鏡法を行った。この方法は、すでに我々の研究グループが世界に先駆けて開発してきたものである。その方法に加えて、本研究課題として、以下に述べるいくつかの蛍光イメージング法を新たに確立し解析を行った。そのひとつは、細胞内分子の動きやすさ(mobility)を測定する方法としてのFRAP(消光後蛍光回復)とFCS(蛍光相関分光法)である。FRAPは、細胞内の特定領域の蛍光をレーザー光で消光して、その領域へ流れ込む蛍光量を測定し分子の動きやすさを解析する方法である。FCS法は、FRAPでは測定が困難なほど高速で動いている分子のmobilityを計測することができる。もうひとつは、特定の分子間におこる相互作用を検出するためのFRET(共鳴エネルギー転移)とFCCS(蛍光相互相関分光顕微鏡)である。これらの技術開発によって、生きた細胞内のいつ・どこで分子間相互作用が起こるのか、その時間変化をひとつの細胞で追跡できるようになった。さらに、これらのイメージング法他に、生細胞イメージング法と電子顕微鏡法とを組み合わせた新規のlive CLEM(correlative light and electron microscopy)法を開発した(図2)。このlive CLEM法は、あらかじめ生細胞イメージングを行った特定の一個の細胞に対し、電子顕微鏡を用いて数nmの解像度で超微細構造を解析するものである。これによって、光学顕微鏡が持つ「特定分子のダイナミクスを生きた細胞で観察できる」という利点と、電子顕微鏡が持つ「高い空間解像度」という利点の両方を兼ね備えたイメージングシステムが出来たこ

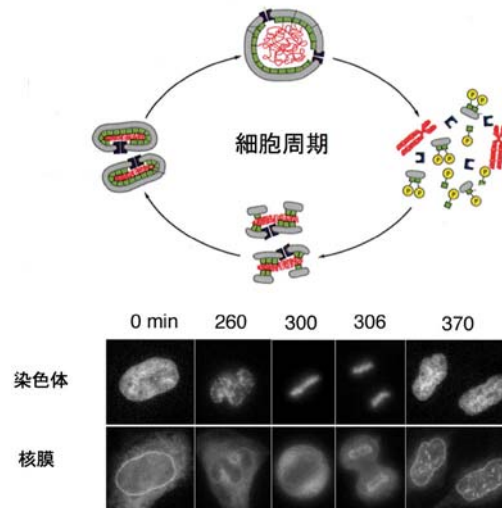


図1 細胞周期と核・核膜のダイナミクス

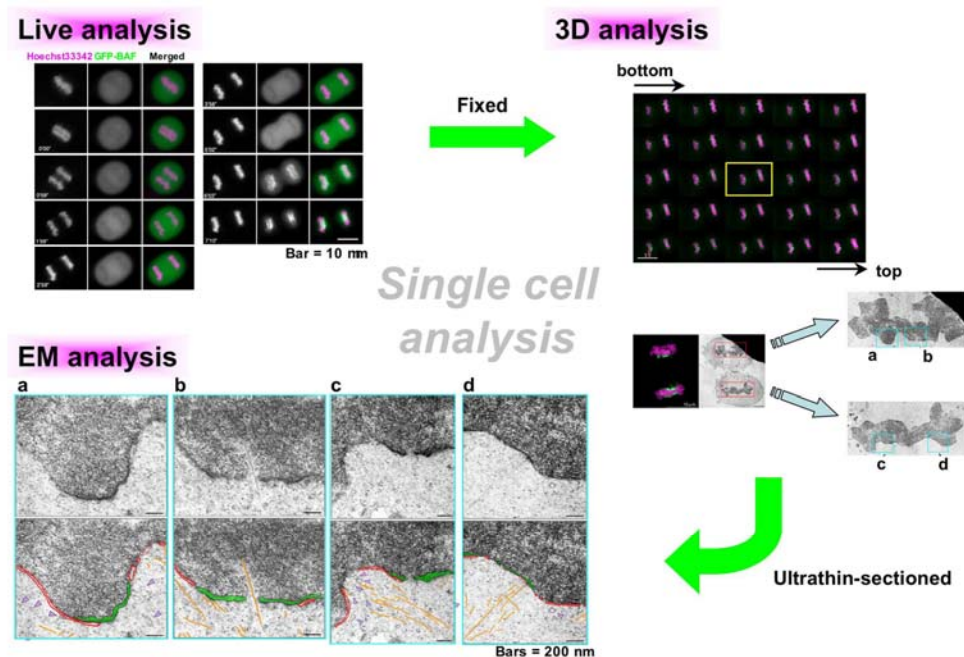


図2 ひとつの細胞でダイナミクスを高解像で解析できるLive CLEM法

とになる。このイメージング法は、当プロジェクトの全研究項目の推進に不可欠であり重要な貢献をした。現在、この方法を改良して、浮遊細胞での CLEM 法（特許出願準備中）や FRAP と組み合わせた電顕での分子特異的染色法を開発中である。これらのイメージング技術は世界的にも極めて高いものであり、今後、基礎生物学はむろんのこと、医学や薬学など広汎な生命科学分野に役立つ技術となるものである。

これらのイメージング法を用いて、核膜形成に重要なタンパク質である BAF, LAP2alpha, LAP2beta, emerin, MAN1, lamin A, lamin B, Nup40 の分子動態と核膜形成の関係を、それぞれの因子の GFP 融合遺伝子を安定（または一過的）に発現する細胞株を用いて解析した。その結果、以下に示す成果が得られた。

BAF 依存的な核膜形成機構の解明

生きた細胞のなかでの核膜形成の分子機構を理解するため、生細胞蛍光イメージング法により核膜分子が染色体の周りに集合する過程を詳細に調べた。核膜タンパク質を DNA 上に運んでくるタンパク質として、エメリン(emerin)と DNA の双方に結合するタンパク barrier-to-autointegration factor (BAF)に注目し解析を進めた。まず、FRAP 法を用いて間期での細胞内分子運動を測定したところ、BAF は 1 秒当たり $1 \sim 50 \mu\text{m}^2$ という自由拡散に近い速さで細胞内を動いていること、emerin や MAN1 などの膜タンパク質は核膜内を並進拡散で進むことが分かった。次に、このように動く速度が異なる成分が結合しているのかどうか、2つの蛍光分子間に起こる蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET)を蛍光スペクトル顕微鏡で測定したところ、エメリンと BAF が生きた細胞の核膜上で直接結合することを明らかになった。これらの結果から、BAF がエ

メリンを核膜に集合させる機構として、結合解離を繰り返しつつ emerin との結合状態を維持するという “tough-and-go” model を提唱した (Shimi et al, J. Struc. Biol. 2004) (図 3)。

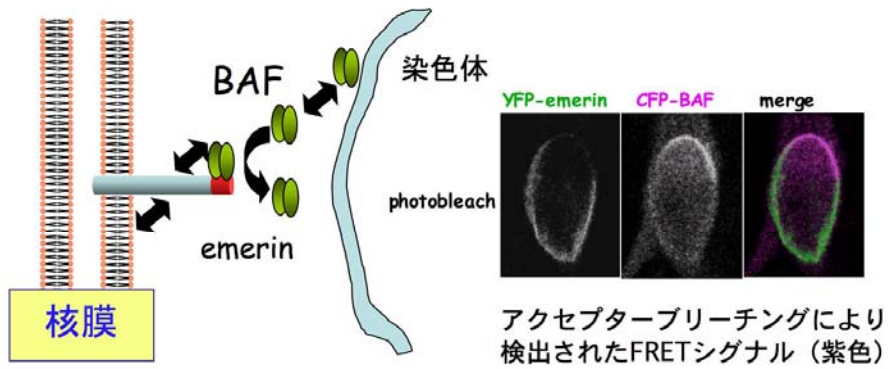


図 3 FRETによるBAFとemerinとの相互作用の解析

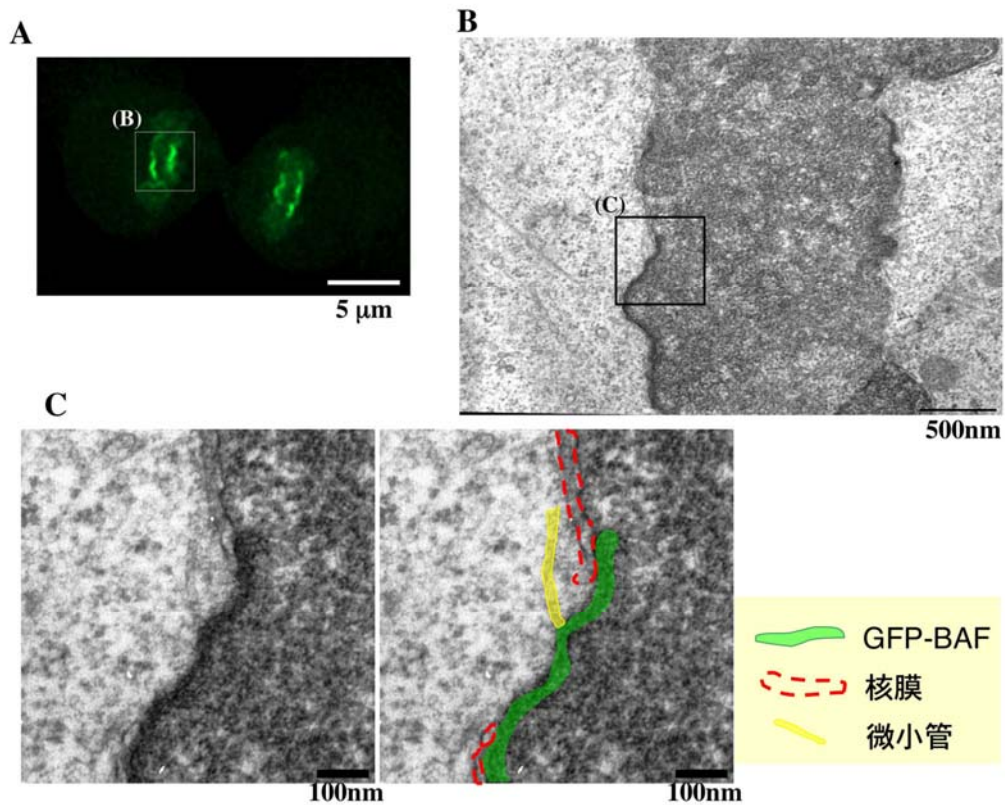


図 4 GFP-BAF が染色体表面につくるコア構造

これに対して、細胞分裂期終期で核膜が再形成される場合は、全く既成構造がない状態から短時間に核膜を作らなければならない、間期とは異なる仕組みで核膜が形成・維持されると考えられる。これを検討するために、細胞分裂終期における核膜タンパク質の挙動を解析した。染色体が娘細胞に分けられた終期には、BAFは多量体化し、ひとかたまりの染色体の両側のスピンドルに沿った領域の染色体構造(この特徴的な染色体領域を「コア」と命名; 図4)に結合し、動かない構造を作ることが分かった。タイムラプス観察とFRET計測により、そのコア構造に、順次、LAP2alpha, lamin A, emerin, LAP2beta, MAN1などの核膜タンパク質が自己集合的に次々に結合して核膜構造を形成していくことも示した。核膜孔複合体やlamin Bなど、BAFと結合しないタンパク質群はコア構造には集合できず、「ノンコア」と呼ぶ周辺部分に集合することも分かった。Live CLEM法により、核膜形成前にBAFの集積によって造られるコア構造は、染色体表面に24~60 nmの厚さで層状に形成されていることを示した(図4)。RNA interference (RNAi)の手法を用いて、BAFの量をほぼ9割程度減少させた細胞を、タイムラプス法とlive CLEM法を用いて解析し、BAFが核膜形成に果たしている役割を検討した。BAFの減少により分裂期終期での核膜再形成が遅れること、異常な細胞分裂に至る細胞が増加することが分かった。特筆すべき異常としては、細胞質の核膜前駆小胞が、染色体から離れた場所で核膜状の構造としてつながっているのが観察された(図5)。さらに、一見、核膜が正常な状態でアセンブリーされたように見える場合でも、細胞質部分を核内に取り込んでしまうという異常が見られた。これらの結果は、BAFが細胞分裂期の終期の核膜形成に役割があることを証明したものである(図6; 論文投稿中)。

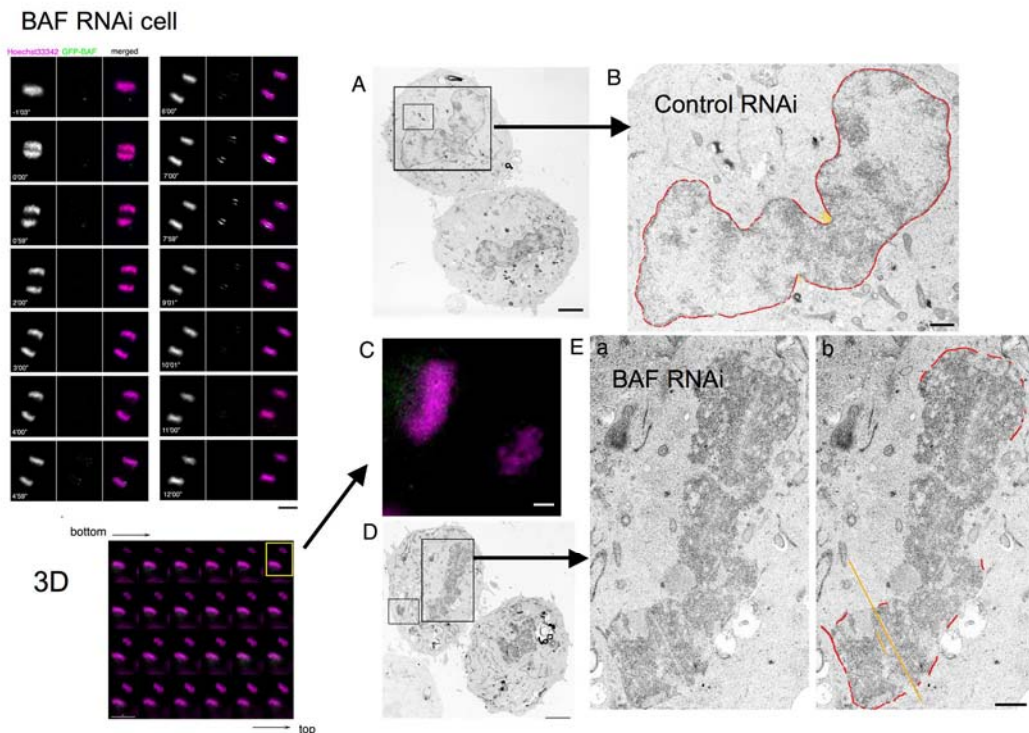


図5 BAFノックダウン細胞のLive CLEM解析

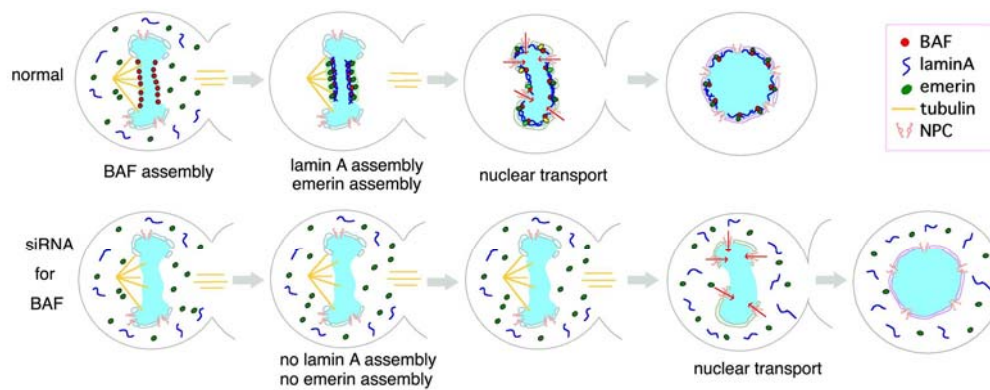


図6 核膜形成過程の模式図

核膜形成に働く因子の研究としては、カエル卵抽出液を使った試験管内実験がほとんどであり、細胞または個体レベルで証明したのは分裂酵母や線虫など下等な生物で報告があるだけである。高等生物の細胞で、核膜形成に関与する因子を明確に証明した例はこれまでになく、この成果は特筆されるものである。しかし、核膜孔複合体のアセンブリーや lamin B の核ラミナ形成に関しては未解決であり、今後の重要な研究課題といえることができる。

細胞核・核膜の自己組織化における分子触媒としてのコア構造

分裂期の核膜形成では、まったく既存構造がない状態から急速に核膜構造を構成しなければならない。そのために、分裂期終期での核膜形成では、間期での核膜維持とは全く異なる仕組みで核膜の再構築を行うことが予想された。ダイナミックな分子動態を調べるために、タイムラプス法と FRAP 法、FRET 法、live CLEM 法を用いて、分裂期後期の核膜構成分子の挙動を解析した。この結果、細胞分裂期中期から終期にかけて多くの構成要素が動き回っている中で、いち早く BAF は染色体表面に結合し、動かない「足場」構造を作ることを見出した。その足場構造には、その後 lamin A が集合し、さらに堅い足場を作ることを見出した。そこを足場に、さらに核膜前駆小胞が次々と時間差をつけながら段階的に集合していき、ついには核膜が完成することを見出した。そのプロセスと並行するように、「足場」となったコア構造は、次々とほどこけていくことも分かった。この過程には、emerin が必要であることも見出した。

lamin A は、核ラミナとして、核膜直下にメッシュ状のフィラメント構造を作ることが知られている。RNAi の手法を用いて BAF の量を減少させると、lamin A は核内にこのようなフィラメント構造を形成することができなくなることを見出した。この結果は、lamin A がメッシュ状フィラメント構造を高速・高効率で形成するためには、コア構造への一過的な集合が必要であることを示している。この結果から、我々は、コア構造はメッシュ構造形成のための「触媒」作用があると推論した。バラバラだった lamin A 分子がメッシュ構造という特定の分子状態へと変化するためには、現在の分子状態あるいはコンフォメーションをいったんキャンセルすることが必要なのではないかと考えられる（例えば、丸まった状態をまっすぐに延ばすなど）。コア構造

は、このような反応を起こす「場」になっているのではないとのモデルを提唱したい。このような考え方はこれまでは類がなく、今後、何らかの方法で実証される必要があるが、コア構造は、従来の細胞周期研究でよく検討されてきたリン酸化反応では理解できず、物理化学的にも面白い構造ということが出来る。

BAF と LAP2alpha 複合体の生物学的役割

LAP2alpha は、核膜タンパク質によく見られる LEM ドメインを持ったタンパク質の一つであり、BAF と協調的に働いて核膜形成に関与すると考えられている。LAP2alpha の細胞内の挙動を、タイムラプス法と FRAP 法により解析を行った。その結果、LAP2alpha は、細胞分裂終期の核膜形成期に、核膜形成に先立ち、テロメアの先端に結合してくることが分かった。このあと、核膜コア領域に局在し、immobile な複合体を形成することを示した。生化学的な実験から、分裂期には LAP2alpha は BAF と結合していることを示し、テロメアへの結合は、BAF と協調的に行っていると結論した(Dechat et al, J. Cell Sci., 2004)。この結果から、LAP2alpha と BAF は、間期核のテロメアへ結合し機能を持つ可能性が考えられたために、テロメア短縮が起こる系として、老化過程での BAF と LAP2alpha の挙動を解析したヒト胎児から確立された TIG-1 細胞などを使って解析した。老化が進行するにつれて BAF と LAP2alpha は核内から消失し、細胞質に局在していくことが分かった。老化によって増殖能を失った細胞では核膜構造が大きく変形して、様々な核膜タンパク質が核膜から脱落するという異常が出ていた。さらに、核内に BAF が蓄積することが、細胞周期 S 期 (DNA 合成期) の進行に必要なことを発見した (Haraguchi et al, J. Cell Sci., 2007)。今のところ、BAF/LAP2alpha 複合体とテロメアとの関係は明確ではないが、染色体と核膜因子が協調的に働いて核膜構造を維持する機構があるのではないかと推論している。

核移行タンパク質の生物学的役割

核輸送に関与する一群のタンパク質 (例えば Ran, importin alpha, importin beta など) は、カエル卵抽出液を用いた試験管内実験では核膜形成に重要と考えられている。これらの因子が、生きた細胞でも核膜形成に重要な役割を果たしているか検討するために、細胞内での挙動を生きた細胞でタイムラプス観察、FRAP 測定、FCS 測定により解析した。その結果、importin alpha は、通常、核と細胞質のどちらでも分子の mobility が高い状態で存在しているが、細胞が熱や UV、酸化など様々なストレスにさらされると核内に蓄積し、核内構造と結合し、mobility が低下することが分かった (Miyamoto et al, J. Cell Biol, 2004; Furuta et al, Genes Cells, 2004)。一方、importin beta は、alpha で見られた変動は見られず、細胞周期を通して mobility が非常に高いことが分かった。FCS での解析により、単体として存在するもの、核輸送複合体などの複合体として存在するもの、巨大複合体として存在するものがあることが分かった。驚くべきことに、核膜孔を通過する場合にも、速度の低下が少ないことも分かった。この事実は、核膜孔複合体と結合・解離を高速で繰り返すことができることを示している (論文準備中)。Importin beta の持つこの性質が、細胞分裂期終期で核膜が形成されるときにどのように調節されるのかが、重要な問題である。細胞分裂

の過程における importin beta の挙動を解析したところ、importin beta は、核膜孔複合体に集積して存在しており、核膜が崩壊すると disassembly し、核膜が再形成されると核膜(おそらく核膜孔複合体)上に assembly する。細胞分裂中期には、importin beta の一部はスピンドルと間接的に結合していると考えられているが、我々の結果は、importin beta の一部は、核膜孔複合体のタンパク質因子と結合して存在するのではないかと想像させるものである。もしそうであれば、importin beta が核膜孔複合体のアセンブリーに働く可能性を示すものと考えられ、今後の研究が必要である。

核膜タンパク質の生物学的役割

emerin や lamin A など核膜上のタンパク質成分の異常は、組織特異的な遺伝病や老化など、多細胞動物特有の問題を引き起こす。これらのタンパク質は多細胞動物にしか存在せず単細胞性真核生物には存在しないので、多細胞生物特有の分化過程か分化後の細胞機能に必要と考えられる。それに対して、減数分裂は単細胞生物でも保存されている分化過程であり、2つの性が融合して4個の生殖細胞を作る生命現象である(図7)。核膜は、このような分化過程においても、真核生物に普遍的な役割をもっていることが考えられた。そこで、減数分裂という分化過程での核膜機能を、分裂酵母を用いて解析した。分裂酵母は遺伝的改変が容易であるために分子機能の解析が容易である。分裂酵母の全ゲノムにある遺伝子約4500の約3分の1にあたる1500個に対し、ゲノム上の各遺伝子に直接GFP遺伝子を融合した細胞株を作製し、うち約800個の遺伝子に対してGFP遺伝子が融合した細胞株を作製することに成功した。この細胞株では、遺伝子発現は、本来のプロモータによって制御されるために、GFP融合遺伝子の過剰発現がなく、細胞内局在は現実を反映している可能性が高い。これらの細胞株に対して、各遺伝子産物(タンパク質)の細胞内局在を詳細に検討した。そのうち、正常な細胞核形成に必要と考えられるタンパク質を選択し、その分子動態や機能を検討した。核膜に局在するタンパク質(33個)について、細胞分裂周期(mitosis)と減数分裂期(meiosis)での核膜タンパク質の動的な挙動を解析した(投稿準備中)。セントロメアやテロメアなど、染色体の特殊領域に局在するものに関しては、その分子動態と機能の一端を明らかにした(Chikashige et al, Genes Cells, 2004; Ding et al, J. Cell Biol. 2006; Hayashi et al, Mol. Biol. Cell, 2006; Asakawa et al, Cell Div., 2007)。

分裂酵母は遺伝的改変が容易であるために分子機能の解析が容易である。分裂酵母の全ゲノムにある遺伝子約4500の約3分の1にあたる1500個に対し、ゲノム上の各遺伝子に直接GFP遺伝子を融合した細胞株を作製し、うち約800個の遺伝子に対してGFP遺伝子が融合した細胞株を作製することに成功した。この細胞株では、遺伝子発現は、本来のプロモータによって制御されるために、GFP融合遺伝子の過剰発現がなく、細胞内局在は現実を反映している可能性が高い。これらの細胞株に対して、各遺伝子産物(タンパク質)の細胞内局在を詳細に検討した。そのうち、正常な細胞核形成に必要と考えられるタンパク質を選択し、その分子動態や機能を検討した。核膜に局在するタンパク質(33個)について、細胞分裂周期(mitosis)と減数分裂期(meiosis)での核膜タンパク質の動的な挙動を解析した(投稿準備中)。

セントロメア

やテロメアなど、染色体の特殊領域に局在するものに関しては、その分子動態と機能の一端を明らかにした(Chikashige et al, Genes Cells, 2004; Ding et al, J. Cell Biol. 2006; Hayashi et al, Mol. Biol. Cell, 2006; Asakawa et al, Cell Div., 2007)。

分裂酵母の核膜は、哺乳類の核膜と比べて、核ラミナ構造が存在せず分裂期の核膜

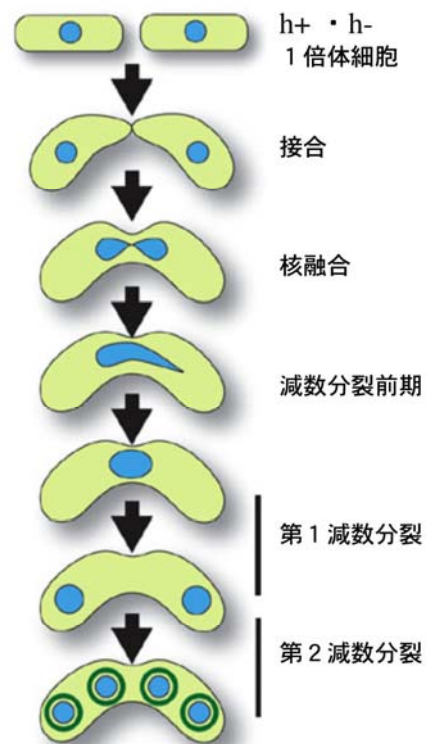


図7 分裂酵母の減数分裂過程

崩壊が起こらないという違いがあるものの、2枚の膜構造と核膜孔複合体があるという点で動物細胞と類似している。減数分裂期に発現量が増加するタンパク質を DNA マイクロアレーの結果に基づいて検索し、核膜とテロメアに結合するタンパク質として **bqt1** と **bqt2** と名付けた新規タンパク質を同定した。遺伝学的方法とイメージングの手法を用いて、これらのタンパク質は、減数分裂期のテロメアの移動、相同染色体組み換え、孢子形成（高等動物では精子や卵子形成に相当）に直接間接的に必須であることを証明した

(Chikashige et al, Cell, 2006)。Bqt1 と bqt2 が揃うと、核膜タンパク質 Sad1 と染色体末端テロメアの両方が Bqt1/bqt2 を介してつながるようになる。それによって、核膜を介して、細胞質に存在する微小管上の動きがテロメアに伝わり、細胞質から核内の染色体テロメアを機械的に動かすことができることを証明した(図 8, 9)。

我々の発見を契機として、出芽酵母やマウス、線虫でも類似研究が行われ、これらの真核生物でも同様の仕組みがあり、核膜タンパク質が減数分裂の初期反応に重要であることが次々と発見された

(Chikashige et al, Chromosoma, 2007)。この研究は、ヒトでも、核膜機能が卵子や精子のような生殖細胞を作り出す過程に重要な役割を果たす可能性を示唆するものである。

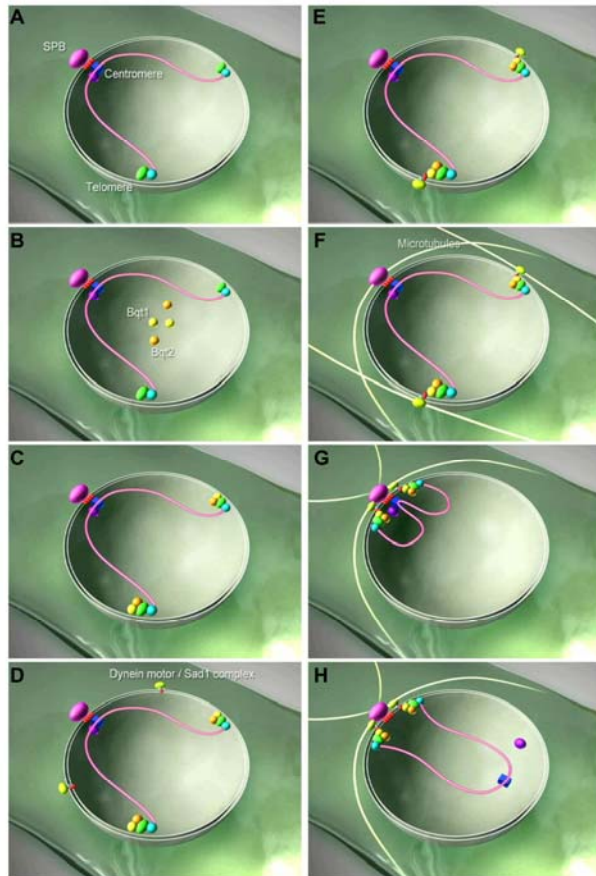


図 8 分裂酵母テロメアクラスターの形成

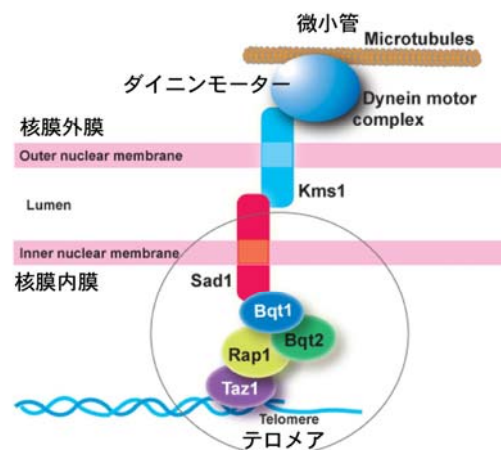


図 9 テロメアとダイニンモーターとの核膜を介した相互作用

(1)-2 人工細胞核の形成

細胞に入れた微小ビーズはオートファジーを誘導する

細胞内に人工的な細胞核（もしくは機能的空間）を作製することを目的とする。細胞の中に細胞核の「タネ」となるものを入れると、自律的・自己組織的に新たな細胞核が形成できるのではないかと考え、特殊な表面コートを施した直径1~3マイクロメートル程度の微小ビーズを細胞内に導入し、細胞内でどのような反応が起こるか検討した（図10）。ビーズ表面をコートして細胞内に特殊な方法を用いて入れたと

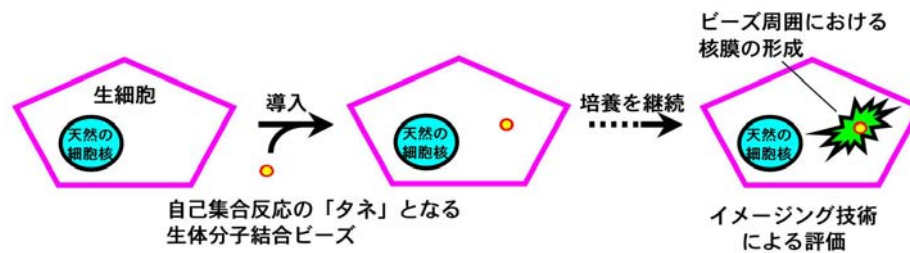
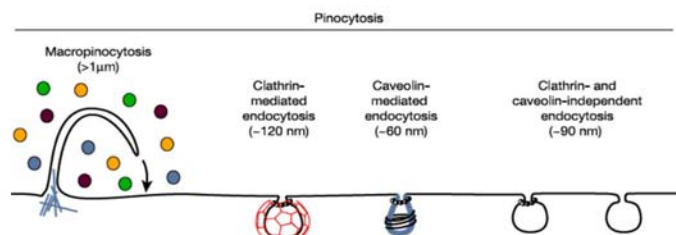


図10. 微小ビーズの導入による人工細胞核の形成

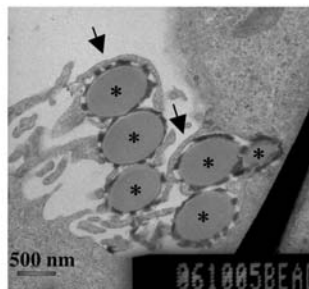
ころ、コートの有無、ビーズサイズの大小に関わらず、ビーズのみによって細胞内のオートファジーが活性化されることを発見した。オートファジーの経路にあると考えられる作用点に対する阻害剤を使った実験とイメージング法による観察から、ビーズはマクロピノサイトーシスと呼ばれる仕組みによって細胞内に入ることも発見した（図11；論文準備中）。連鎖球菌などの病原菌が細胞に侵入する際に、類似の仕組み

A. 哺乳類細胞（非貪食細胞）への物質取り込み経路



Conner, S. D. & Schmid, S. L. (2003) *Nature* 422, 37-44.

B. ビーズ導入初期のHeLa細胞表面の透過型電子顕微鏡像

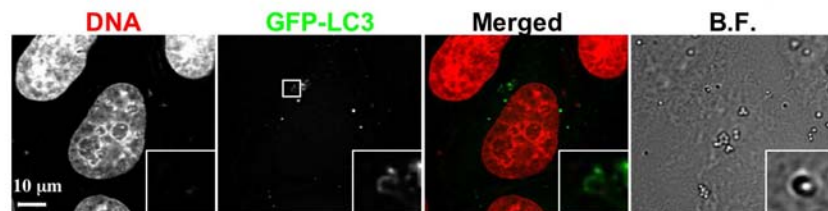


ビーズの直径は1 μm。ビーズ（*）の周囲に、マクロピノサイトーシスに典型的な膜突出（矢印）が見られる。

図11. 微小ビーズはマクロピノサイトーシスで細胞に取り込まれる

みで細胞内に入り、オートファジーによって排除されると考えられている。これまでに、特定の物質を刺激剤として使った人工的オートファジー誘導系が確立されており、そのためにオートファゴソーム形成の分子機構の解明が遅れていた。今回のビーズを使った実験系は、生体成分を使わずにオートファジーが活性化できる点で極めて優れたものとなる。そのため、オートファゴソーム形成機構の研究に有用なツールとなると期待されるものである(図12;特許出願済)。この方法は、オートファゴソーム形成機構の解明に道を開くものとして期待できる。オートファジー研究は、大隅良典教授(自然科学研究機構、基礎生物学研究所)によって研究が開始され、日本発の研究として大きな発展を遂げてきた分野である。従って、我が国には、世界のトップクラスの研究者が揃っており、日本がリーディングポジションをとれる位置にあり、将来大きな発展が期待できる。

A. オートファゴソームマーカー (GFP-LC3) のビーズ周囲への局在



B. Aのビーズの透過型電子顕微鏡像。典型的な膜構造が見られる。

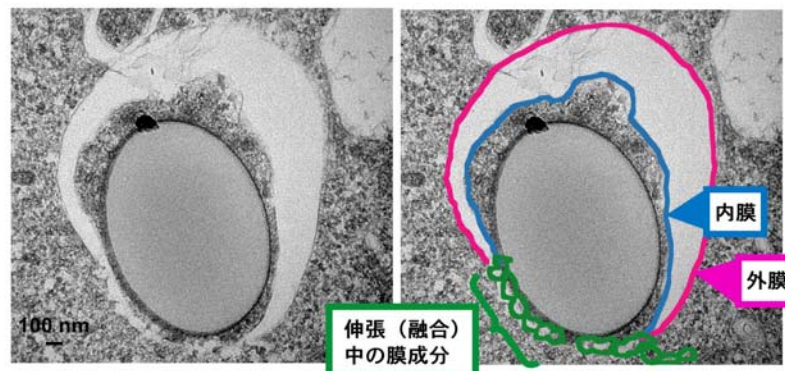


図12. 生細胞への微小ビーズの導入はオートファジーを誘導する

分裂酵母でのヒト核ラミナの形成

分裂酵母を試験管のように見立てて、ヒトの核膜構成タンパク質を発現させ、核膜とラミナ構造の生理的意義を検討した。これによって、分裂酵母では存在しない核ラミナを作り出し、その機能を調べることが可能となる。さらに、2つのヒト由来の核膜タンパク質を発現させれば、内在性の結合因子が存在しない細胞環境で2者の相互作用をより直接的に解析することができる。このような実験系の作製のためには、外来の遺伝子を分裂酵母のゲノムに組み込むためのベクターの開発が必要であった。まず初めに、2種類の異なる遺伝子をゲノムに導入するためのベクターを開発した(Chikashige et al, Genes Cells, 2004)。つぎに、(ヒト由来の) 外来タンパク質に CFP と GFP をそれぞれ融合した2種類のタンパク質を同時に発現することによって、2つの外来分子が相互作用するかどうか蛍光顕微鏡を用いて検討を行った。この実験系

を用いて核膜タンパク質 **emerin** と **BAF**、または **lamin A** を同時に発現する細胞株を作製し、**emerin** タンパク質を核膜に局在化させる機能の有無を検討した。その結果、**BAF** は **emerin** を核膜に局在させる機能を持つが、**lamin A** はその能力が **BAF** より低いことが分かった（投稿準備中）。**BAF** もエメリンも、ヒト細胞では、それぞれ多くの結合因子があるために、2者の結合の意義は必ずしもはっきりしないが、新たに開発したこの実験系では、発現させた2者以外に結合タンパク質がないために、その結合の意義をより直接に明らかにすることができる。

(1)-3 遺伝子デリバリーシステムの構築

DNA ビーズの周りに形成される「核もどき」構造

上述したのと同様、細胞の中に細胞核の「タネ」となるものを入れることによって、自己集合的に核膜を集合させ、ついには新しい細胞核を細胞内に作り出すことを目標とした。これまで、マクロファージにビーズを“食べさせて”ビーズの動態を調べた実験はあるものの、ビーズを細胞内に導入して機能空間を作りだそうという発想はなく、我々の研究は、特にユニークな試みとなっている。ビーズ表面に約 5 Kbp の DNA を結合させたビーズ（直径 1〜3 マイクロメートル）を特殊な方法で細胞内に導入すると、上述したようにほとんどのビーズはオートファジーを活性化し、ついには貪食されてしまう。しかし、細胞内に入ったビーズのうち数%はオートファジーを免れて、伸展した DNA の周辺部に核膜の特徴を持つ脂質膜が集合した特殊な膜構造を形成することを発見した（図 13, 14）。この構造には、さらに複数のパターンがみられ、中には、細胞分裂期前期で崩壊し、終期で再集合することから明らかな核膜の特徴を持っているものがあつた。この膜構造に含まれるタンパク質を蛍光抗体法によって調べると、核膜タンパク質のうち、**BAF**, **emerin**, **lamin A**, **lamin B** 受容体など特定の核

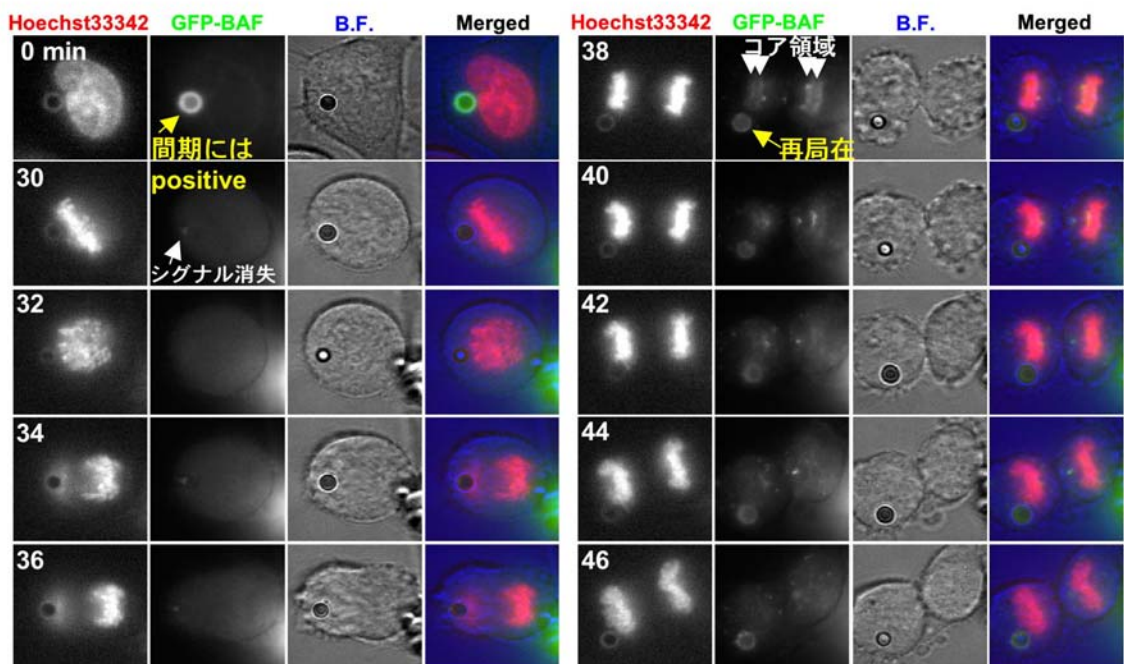


図13. DNAビーズ周囲におけるGFP-BAFのダイナミクス

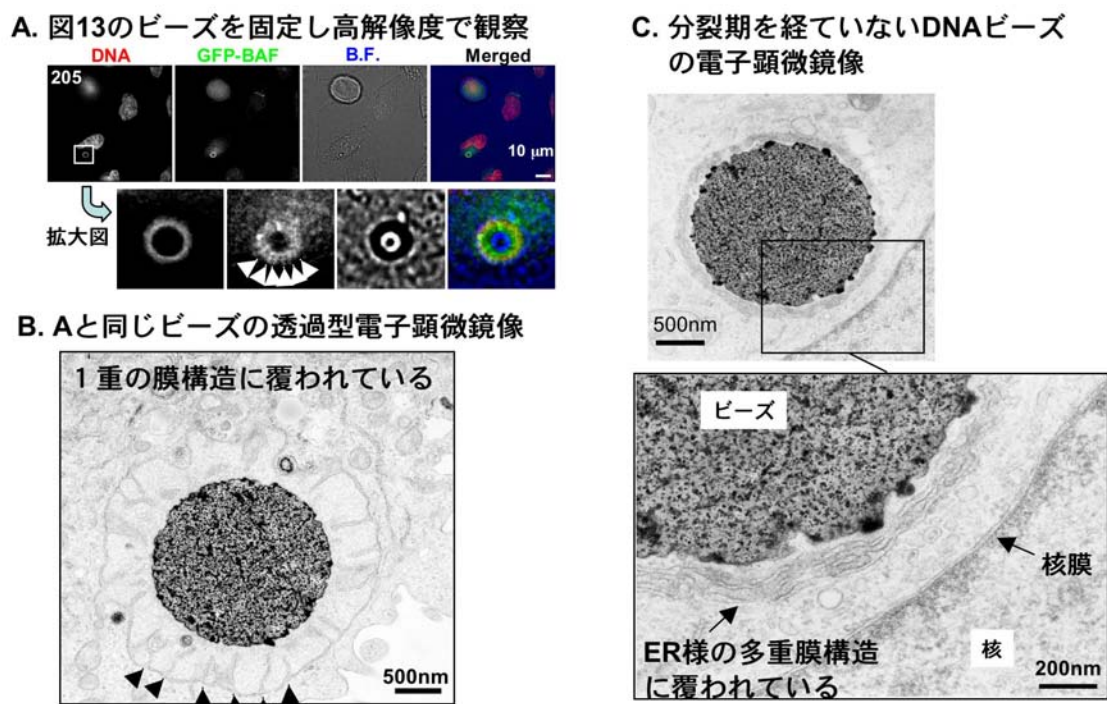


図14. DNAビーズ周囲に形成された「核（膜）もどき」構造

膜タンパク質は含まれているが、核膜孔複合体や lamin B は含まれていないことが分かった。この結果は、裸の DNA では、細胞内に完全な核膜を作ることができないことを示しており、完全な核を形成するためには別の要素が必要であることを示唆している。とはいうものの、DNA の周りに核膜様の膜構造が形成されたことも事実である。この膜構造は、核膜または核膜前駆小胞体膜で構成されるが、核膜孔複合体を持たない、いわば「核もどき」構造であると考えられた。この「核もどき」構造は、数日という時間経過に伴って、オートファジーにより分解経路に入ることが分かった。この結果は、細胞には不完全な（または不要な）細胞核を排除するシステムがあることを示唆している。これら一連の発見は、細胞が必要な細胞核と不要な細胞核を見分ける仕組みを持っていることを強く示唆するものである。細胞内に人工細胞核を形成し安定に保持するためには、この仕組みを理解する必要があると考え、以下に示す新たな研究を行った。

(1)-4 新たなる展開

細胞核を認識・識別する仕組みの探求：人工核の安定保持を目指して

人工細胞核を安定に保持するためには、細胞内に形成した核を、オートファジーなどの分解系から守る仕組みが必要である。この研究を行うために、繊毛虫であるテトラヒメナを用いることとした。繊毛虫は、ひとつの細胞の中に機能と構造の異なる2つの細胞核が存在しているという特徴をもつ。小核はゲノム DNA を含んだ転写活性の低い核であり、大核は増幅された染色体が存在し転写活性が非常に高い核である。細胞増殖では、小核の DNA は有糸分裂 (mitotic division) で正確に2つに分けられるが、大核 DNA は無糸分裂 (amitotic division) によって分けられる (図 15)。このような全く異なる機能を持つ細胞核が、ひとつの細胞の中になぜ共存できるのかということは大きな謎である。ゲノム DNA を保持する細胞核とは別に、転写活性の高い核を安定に保持する仕組みが分かれば、それを利用して、より転写効率の良い人工細胞核が可能になると考えた。面白いことにテトラヒメナでは、減数分裂期では、複製された一見等価な4つの小核のうち1つだけを残し、3つは消失する。この核の要・不要を識別している仕組みを解くことによって、「核もどき」がオートファジーを免れる方法の開発が可能となる。

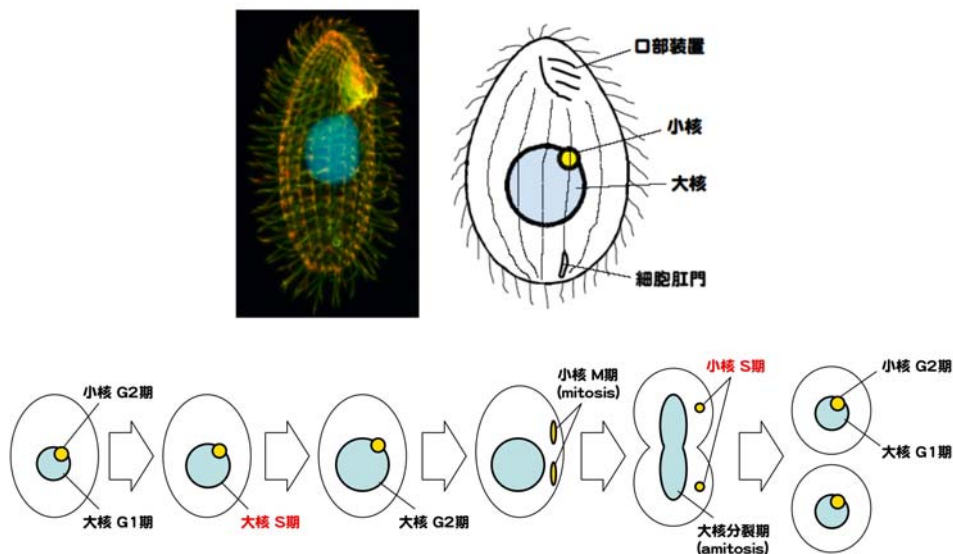


図15 テトラヒメナ (*T. thermophila*) の細胞周期

繊毛虫では核膜を構成するタンパク質に関する報告はこれまでに一切なく、まず初めにテトラヒメナの核膜孔に焦点を合わせ、その構成因子の同定を行うこととした。大核の DNA に対してゲノムプロジェクトが終了していたが、繊毛虫は、進化的に非常に早い段階で分岐したと考えられており、アミノ酸配列 (DNA 配列も) の相同性は、酵母類と比較しても極端に低く、相同性を頼りに遺伝子を見つけるのはかなり困難であった。しかし、その DNA 配列から、候補となる約 30 個の遺伝子を抽出し、RT-PCR したのち遺伝子クローニングを行った。DNA 塩基配列をシーケンサで

確認後、GFP との融合遺伝子を作製した。一部のものに対しては、予想されるアミノ酸配列を元にペプチド抗体も作製した。GFP 融合遺伝子の発現と蛍光抗体染色法を使って増殖期での局在を調べ、これまでに 17 個の核膜孔タンパク質（ヌクレオポリン）を同定した。GFP 融合を発現させると、これらのヌクレオポリンには、大核にだけ、小核にだけ、両方に存在するものに分かれることを見出した（図 16）。これ

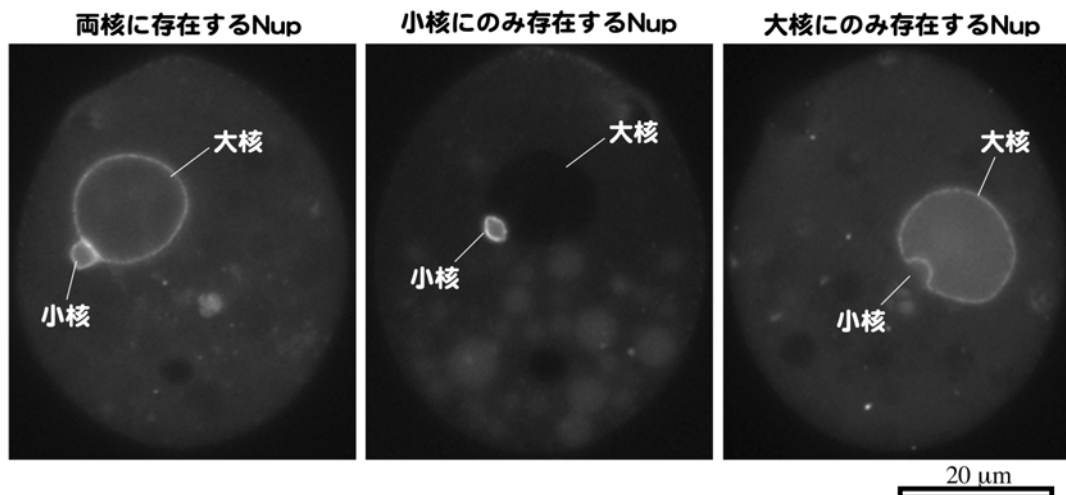


図 16 GFP-Nucleoporinを発現したテトラヒメナ

は、大核と小核の核膜孔複合体が異なるセットのヌクレオポリンで構成されていることを示しており、「ひとつの生物の核膜孔複合体はすべて同じ」と考えてきたこれまでの常識を覆すものであった（以上、論文準備中）。さらに、減数分裂期に発現するベクターに GFP 融合遺伝子を組み込みこんだものを作製し、減数分裂期の核膜孔複合体の挙動を解析した（図 17）。減数分裂期で核が消失する場合、消失に先立って核膜孔複合体（または核膜そのもの）が消失することを発見した（論文準備中）。CLEM 法を使った解析から、核の除去はオートファジーによってなされることも発見した（図 18；特許出願準備中）。消失する核と消失を免れる核との違いを詳しく解析することによって、今後、細胞核を安定に保持する技術開発を行っていくつもりである。

テトラヒメナに関しては、小核のゲノム DNA の一部が、いかにして大核の染色体を作っていくのか、そのゲノム再編成の仕組みが精力的に研究されている。その過程で、サイズの小さい RNA が重要な役割を果たすことが最近の研究で注目されている。この仕組みは、その RNA が、特定の時期に大核と小核のどちらかだけに選択的に移行することによって引き起こされると考えられているが、これまでに、そのような選択核移行を可能とする核構造の研究はなされていない。核膜孔や核膜を構成しているタンパク質も、未だひとつも発見されておらず、この核のインフラストラクチャーに注目した研究は全く行われていない。そのため、ここで報告した成果は、核機能やゲノム再編成の仕組みを解明する研究としても、まったく新しい概念を提出するものと考えられる。

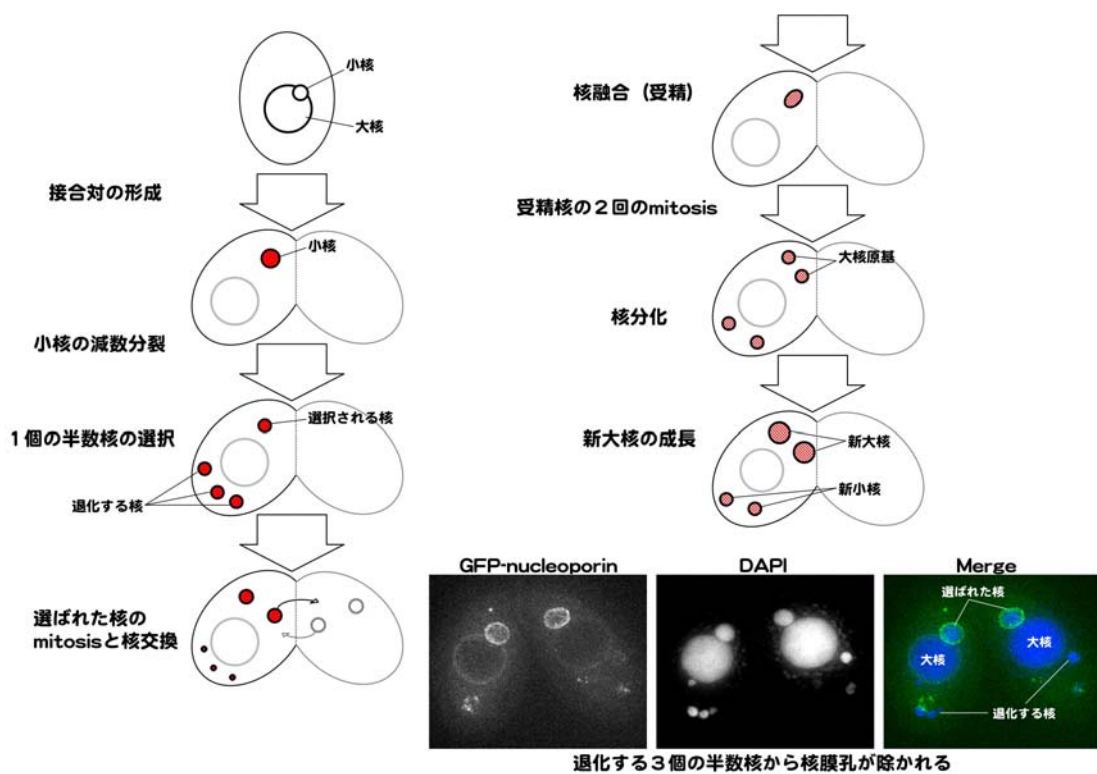


図17 テトラヒメナの接合過程 (減数分裂)

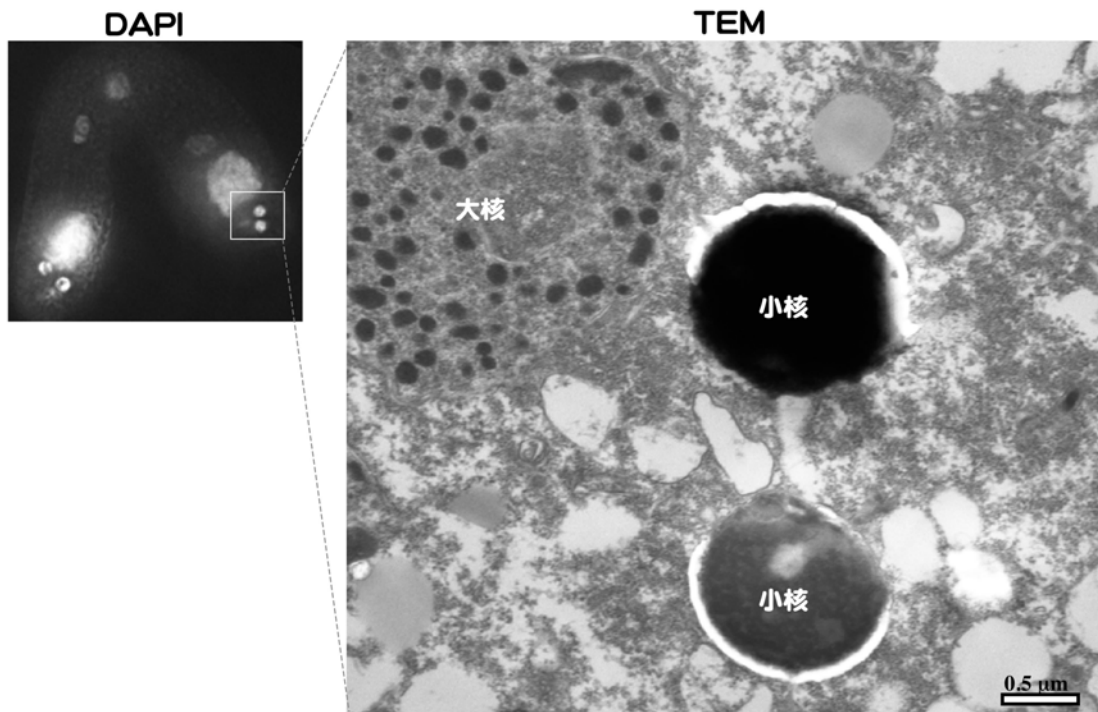


図18 オートファジーによって退化・吸収される小核

(2) 研究成果の今後期待される効果

遺伝子治療には、外来の DNA を細胞内に入れる操作が必要である。これまで高効率と言われているベクターはすべてウイルスベクターであり、安全上非ウイルス性のベクターや遺伝子導入方法の開発が待ち望まれている。しかるに、たとえウイルスベクターといえども、安定な遺伝子発現を継続することが困難なのが現状である。これまでの遺伝子デリバリー法の開発では、細胞内でおこることは全くのブラックボックスとしてしか扱われておらず、多くの研究者は全く目を向けてさえいなかった。その中で、我々は、ユニークな試みとして、外来の DNA から細胞核を形成させることで安定かつ安全な遺伝子発現システムをつくりことを目標に、細胞生物学的な視点で検討してきた。その研究成果として、細胞内に入れた外来の DNA (もしくは物体) は、導入方法によらず“異物”として扱われ、オートファジーによる分解を受ける可能性が高いことを明らかにした。この成果は、オートファジーを回避することにより、遺伝子発現の効率を高めることができるという新たな戦略を示したものであり、オートファジーを阻害(または促進)する薬剤の開発にもつながるものである。当プロジェクトで得られた成果は、医学への貢献が見込まれるものであり、人類の福祉に役立つ。

社会的な貢献に加えて、これまであまり研究が進んでいなかった高等動物(ヒト)での核膜形成の仕組みの一端を解いたことは、学問的貢献が高い。分裂酵母で発見された核膜タンパク質の機能は、ヒトを含む高等生物の減数分裂過程で核膜の機能が重要であることを示したものである。その後、多くの生物で類似の仕組みがあることが発見されたことは、この発見の学問的重要性を示している。テトラヒメナを用いた研究では、これまで真核生物にとって一律な構造であると考えられていた核膜孔複合体が、ひとつの生物内でも異なるセットのタンパク質で構成されうることが明らかにしたものである。ゲノム再編成を保證する核移行の制御を考える上で新規な学問的概念を導入したものであり、今後、学問的に著しい発展が期待できる。当プロジェクトで開発した生細胞蛍光イメージング法や live CLEM 法は、基礎生物学はもちろんのこと、医学、薬学など、広汎な生命科学分野で応用できる優れた方法である。現在開発を進めている分子特異的な電子顕微鏡観察が可能となれば、より一層普遍的で有用な基盤技術となり、極めて価値の高い技術に発展させることができる。

3. 2 核膜形成機構の解明（日本女子大学 松影グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

(1)-1 生細胞イメージング法の開発

特定の場所、特定の時間に起こる生命現象を正しく理解するためのひとつの方法として、見たいと特定の細胞の内部構造を、蛍光顕微鏡と電子顕微鏡の両方で可視化する方法を開発することを目標とした。当研究プロジェクト遂行には、脂質膜の有無、種類を見分けるイメージング法の開発が重要なカギとなっており、特に、電子顕微鏡観察は脂質膜可視化に不可欠である。そのために、あらかじめ生細胞イメージングを行った特定の一個の細胞に対し、電子顕微鏡を用いて数 nm の解像度で超微細構造を解析できる **live CLEM 法 (correlative light and electron microscopy)** を原口グループと共同で開発した。まず、グリッド付きのガラスボトムディッシュで細胞を培養し蛍光染色した後に、蛍光顕微鏡を用いてライブセルイメージングを行ったサンプルをグルタルアルデヒドとホルムアルデヒドの混液を用いて瞬間的に化学固定し、電子顕微鏡用の胞埋を行い、目的の細胞だけを切り出して切片を作製し、電子顕微鏡観察を行った。この方法は、考え方としては単純であるが、特定の分子局在が観察できる蛍光法と、膜構造や細胞内微細構造が見える電子顕微鏡法のどちらの利点も得られる点で、他の方法では得難い有用な情報を提供する点でパワフルである。この方法を用いて、生きた細胞内で核膜が形成される瞬間を解析し、**BAF** 依存的に核膜が形成されることを発見した。細胞内に導入した **DNA** ビーズの周りに「核もどき」構造が形成されることも発見した。分裂酵母の細胞微細構造の解析を行い、新規核膜タンパク質が核膜内膜に局在することを突き止めた。詳しい解析結果は、原口グループの成果としてまとめて 3. 1 に記載している。このイメージング技術のレベルは、世界的にも極めて高いものであり、今後、基礎生物学はむろんのこと、医学や薬学など広汎な生命科学分野に役立つ技術となると確信する。

(2) 研究成果の今後期待される効果

当研究プロジェクトで開発した **live CLEM 法** は、基礎生物学はもちろんのこと、医学、薬学など、広汎な生命科学の分野で応用可能な優れた方法である。現在開発を進めている分子特異的な電子顕微鏡観察が可能となれば、より有用な基盤技術となり、極めて価値の高いものに発展させることができる。

4 研究参加者

①原口グループ（ダイナミクス解析による核膜形成機構解析と人工細胞核形成の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
原口 徳子	(独)情報通信研究機構 バイオ ICT グループ 生物情報プロジェクト	主任研究員	全項目を統括	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
平岡 泰	〃	上席研究員	イメージングによる核 膜形成機構、人工核 膜	平成 17 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
近重 裕次	〃	主任研究員	イメージングによる核 膜形成機構	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
丁 大橋	〃	主任研究員	イメージングによる核 膜形成機構	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
林 亜紀	〃	専攻研究員	イメージングによる核 膜形成機構	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
岩本 政明	〃	CREST研究員 (現:専攻研究員)	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 16 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
浅川 東彦	〃	CREST研究員 (現:研究員)	イメージングによる核 膜形成機構	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
小林 昇平	〃	専攻研究員	人工核膜	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
荒神 尚子	〃	技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
森 知栄	〃	技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
小坂田 裕子	〃	技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 15 年 1 月～ 平成 20 年 3 月
堤 千尋	〃	技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
山根 美穂	〃	技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
岡正 華澄	〃	技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
大槻 千鶴	〃	技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
升田 裕久	〃	専攻研究員	人工核膜	平成 14 年 11 月～ 平成 19 年 10 月
濱田 浩幸	〃	専攻研究員	人工核膜	平成 18 年 4 月～ 平成 19 年 10 月
志見 剛	〃	CREST研究員	イメージングによる核 膜形成機構	平成 14 年 11 月～ 平成 18 年 3 月
伊佐治 麻実子	〃	CREST研究員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 16 年 6 月～ 平成 18 年 6 月

亀高 愛	〃	CREST研究員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 15 年 4 月～ 平成 15 年 6 月
橋口 典代	〃	CREST技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 14 年 11 月～ 平成 15 年 3 月
糞谷 知子	〃	CREST技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 15 年 4 月～ 平成 18 年 4 月 (松影グループへ移動)
由利 俊祐	〃	研究補助員 (大学院生)	イメージングによる核 膜形成機構	平成 15 年 4 月～ 平成 17 年 3 月
中新井 佑介	〃	研究補助員 (大学院生)	イメージングによる核 膜形成機構	平成 16 年 5 月～ 平成 18 年 3 月
川真田 健一	〃	研究補助員 (大学院生)	イメージングによる核 膜形成機構	平成 17 年 5 月～ 平成 19 年 3 月
樋口 美香	〃	研究補助員	技術支援、 チーム事務	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月

②松影グループ（微細構造イメージングによる核膜形成機構解析の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
松影 昭夫	日本女子大学 理学部	教授	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
糞谷 知子	〃	CREST 技術員	人工核膜 核膜形成機構形成	平成 18 年 5 月～ 平成 20 年 3 月
青沼 美樹	〃	大学院生	核膜形成機構	平成 18 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
佐藤 眞美子	日本女子大学 電子顕微鏡施設	助手	核膜形成機構	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
許斐 麻美	〃	非常勤助手	核膜形成機構	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月

5 招聘した研究者等

氏名（所属、役職）	招聘の目的	滞在先	滞在期間
Katherine L. Wilson (Johans Hopkins University School of Medicine、準教授)	研究打合せのため	(独)情報通信研究機構	H.16.4.13～14
Andreas Paul Gajewski (Vienna Biocenter, Medical University Vienna、博士研究 員)	共同研究のため	(独)情報通信研究機構	H.17.3.8～31

6 成果発表等

原口グループ

(1) 原著論文発表 (国内誌 0 件、国際誌 33 件)

1. Hashiguchi, N., Kojidani, T., Imanaka, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Baumgart, E., Yokota, S., Tsukamoto, T., and Osumi, T. (2002) Peroxisomes are formed from complex membrane structures in PEX6-deficient CHO cells upon genetic complementation. *Mol. Biol. Cell* 13: 711-722.
2. Nishihashi, A., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Ikemura, T., Regnier, V., Dodson, H., Earnshaw, W. C., and Fukagawa, T. (2002) CENP-I is essential for centromere function in vertebrate cells. *Developmental Cell* 2: 463-476.
3. Haraguchi, T., Shimi, T., Koujin, T., Hashiguchi, N., and Hiraoka, Y. (2002) Spectral imaging fluorescence microscopy. *Genes Cells* 7: 881-887.
4. Kametaka, A., Takagi, M., Hayakawa, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., and Yoneda, Y. (2002) Interaction of the chromatin compaction-inducing domain (LR domain) of Ki-67 antigen with HP1 proteins. *Genes Cells* 7: 1231-1242.
5. Haraguchi, T. (2002) Live cell imaging: approaches for studying protein dynamics in living cells. *Cell Struct. Funct.* 27: 333-334.
6. Hiraoka, Y., Shimi, T., and Haraguchi, T. (2002) Multispectral imaging fluorescence microscopy for living cells. *Cell Struct. Funct.* 27: 367-374.
7. Hayakawa, T., Haraguchi, T., Masumoto, H. and Hiraoka, Y. (2003) Cell cycle behavior of human HP1 subtypes: distinct molecular domains of HP1 are required for their centromeric localization during interphase and metaphase. *J. Cell Sci.* 116: 3327-3338.
8. Hori, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Kimura, H. and Fukagawa, T. (2003) Dynamic behavior of Nuf2-Hec1 complex that localizes to the centrosome and centromere and is essential for mitotic progression in vertebrate cells. *J. Cell Sci.* 116(16): 3347-3362.
9. Funakoshi, E., Hori, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Kudoh, J., Shimizu, N., Ito, F. (2003) Overexpression of the human MNB/DYRL1A gene induces formation of multinucleate cells through overduplication of the centrosome. *BMC Cell Biol.* 4: 12
10. Shimi, T., Koujin, T., Segura-Totten, M., Wilson, K. L., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2004) Dynamic interaction between BAF and emerin revealed by FRAP, FLIP and FRET analyses in living HeLa cells. *J Struct. Biol.* 147: 31-41.
11. Haraguchi, T., Holaska, J. M., Yamane, M., Koujin, T., Hashiguchi, N., Mori, C., Wilson, K. L. and Hiraoka, Y. (2004) Emerin binding to Btf, a death-promoting transcriptional repressor, is disrupted by a missense mutation that causes Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Eur. J. Biochem.* 271(5): 1035-1045.
12. Ding, D.-Q., Yamamoto, A., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2004) Dynamics of homologous chromosome pairing during meiotic prophase in fission yeast. *Dev Cell* 6: 329-341.
13. Furuta, M., Kose, S., Koike, M., Shimi, T., Hiraoka, Y., Yoneda, Y., Haraguchi, T., Imamoto, N. (2004) Heat-shock induced nuclear retention and recycling inhibition of importin α . *Genes cells* 9: 429-441.

14. Miyamoto, Y., Saiwaki, T., Yamashita, J., Yasuda, Y., Kotera, I., Shibata, S., Shigeta, M., Hiraoka, Y., Haraguchi, T., and Yoneda, Y. (2004) Cellular stresses induce the nuclear accumulation of importin- α and cause a conventional nuclear import block. *J. Cell Biol.* 165: 617-623.
15. Ogawa, H., Yu, R.T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Nakatani, Y., Morohashi, K. and Umesono, K. (2004) Nuclear structure-associated TIF2 recruits glucocorticoid receptor and its target DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320: 218-225.
16. Chikashige, Y., Kurokawa, R., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2004) Meiosis induced by inactivation of Pat1 kinase proceeds with aberrant nuclear positioning of centromeres in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Genes Cells* 9: 671-684.
17. Dechat, T., Gajewski, A., Korbei, B., Gerlich, D., Daigle, N., Haraguchi, T., Furukawa, K., Ellenberg, J. and Foisner, R. (2004) LAP2 α and BAF transiently localize to telomeres and to specific regions on chromatin during nuclear assembly. *J. Cell Sci.* 17: 6117-6128.
18. Ocegüera-Yanez, F., Kimura, K., Yasuda, S., Higashida, C., Kitamura, T., Hiraoka, Y., Haraguchi, T. and Narumiya, S. (2005) Ect2 and MgcRacGAP regulate the activation and function of Cdc42 in mitosis. *J. Cell Biol.* 168: 221-232.
19. Asakawa H, Hayashi A, Haraguchi T, Hiraoka Y. (2005) Dissociation of the Nuf2-Ndc80 Complex Releases Centromeres from the Spindle-Pole Body during Meiotic Prophase in Fission Yeast. *Mol. Biol. Cell* 16: 2325-2338.
20. Minoshima, Y., Hori, T., Okada, M., Kimura, H., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Bao, Y.-C., Kawashima, T., Kitamura, T., and Fukagawa, T. (2005) The constitutive centromere component CENP-50 is required for recovery from spindle damage. *Mol. Cell. Biol.* 25: 10315-10328.
21. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2006) Meiotic proteins Bqt1 and Bqt2 tether telomeres to promote the bouquet arrangement of chromosomes in fission yeast. *Cell* 125(1): 59-69.
22. Masuda, H., Toda, T., Miyamoto, R., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2006) Modulation of Alp4 function in *Schizosaccharomyces pombe* induces novel phenotypes that imply distinct functions for the nuclear and cytoplasmic γ -tubulin complexes. *Genes Cells* 11(4): 319-336.
23. Masuda, H., Miyamoto, R., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2006). The carboxy-terminus of Alp4 alters microtubule dynamics to induce oscillatory nuclear movement led by the spindle pole body in *Schizosaccharomyces pombe*. *Genes Cells* 11(4): 337-352.
24. Wang, F., Koyama, N., Nishida, H., Haraguchi, T., Reith, W., Tsukamoto, T. (2006) The Assembly and Maintenance of Heterochromatin Initiated by Transgene Repeats are Independent of the RNA Interference Pathway in Mammalian Cells. *Mol. Cell. Biol.* 26: 4028-4040.
25. Ding, D.-Q., Sakurai, N., Katou, Y., Itoh, T., Shirahige, K., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (2006) Meiotic cohesins modulate chromosome compaction during meiotic prophase in fission yeast. *J Cell Biol.* 174(4): 499-508.
26. Hayashi, A., Asakawa, H., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (2006) Reconstruction of the kinetochore during meiosis in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol. Biol. Cell* 17(12): 5173-84.
27. Haraguchi, T, Koujin, T., Osakada, H., Kojidani, T., Mori, C., Masuda, H., and Hiraoka, Y. (2007) Nuclear localization of barrier-to-autointegration factor is correlated with progression of

S-phase in human cells. J. Cell Sci. 120(12): 1967-1977.

28. Asakawa, H., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2007) Reconstruction of the kinetochore: a prelude to meiosis. Cell Division, 2, Article17. (online journal)
29. Kato, M., Kato, Y., Nishida, M., Hayakawa, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Inoue, Y. H., Yamaguchi, M. (2007) Functional domain analysis of human HP1 isoforms in Drosophila melanogaster. Cell Struct. Funct. 32: 57-67.
30. Chikashige, Y., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2007) Another way to move chromosomes. Chromosoma 116(6): 497-505.
31. Leach, N., Bjerke, S. L., Christenson, D. K., Bouchard, J. M., Mou, F., Park, R., Baines, J., Haraguchi, T. and Roller, R. J. (2007) Emerin is hyperphosphorylated and redistributed in herpes simplex virus type 1-infected cells in a manner dependent upon both UL34 and US3. Journal of Virology 81(19):10792-803.
32. Hotta, T., Haraguchi, T. and Mizuno, K. (2007) A Novel Function of Plant Histone H1: Microtubule Nucleation and Continuous Plus End Association. Cell Struct. Funct. 32(2): 79-87.
33. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Okamasa, K., Yamane, M., Nakayama, J., Niwa, O., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2007) Gene Expression and Distribution of Swi6 in Partial Aneuploids of the Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Cell Structure and Function 32(2):149-161.

(2) その他の著作物 (総説、書籍など)

(国内)

1. 原口徳子 (分担執筆) (2002) 病気と細胞小器官ー細胞から病気のしくみを理解するー (単行本) pp121-134.
2. 原口徳子、平岡泰 (分担執筆) (2002) 生細胞蛍光イメージング クローズアップ実験法 総集編(単行本) pp156-161.
3. 原口徳子 (分担執筆) (2002) 細胞内分子動態のイメージング わかる実験医学シリーズ「細胞内輸送がわかる」 pp116-119.
4. 原口徳子、平岡泰 (2002) 細胞核のダイナミクス 実験医学 8月「ゲノム機能」特集号 20(11): 131-136.
5. 平岡泰、原口徳子 (2002) 核膜の構造とそのダイナミクス 細胞工学 10月号 21(10): 1143-1146.
6. 原口徳子、志見剛、平岡泰 (2003) 核膜と病気 実験医学 21(14): 173-179.
7. 平岡泰、志見剛、原口徳子 (2003) 蛍光スペクトル顕微鏡 生体の科学 54(6): 562-569.
8. 原口徳子 (2003) 生きた細胞の動きを立体的に可視化 DNA やたんぱく質をその場で観察 DDS の評価や遠隔医療に道 ナノテク専門ニューズレター 日経 先端技術 vol.48:1-3 日本経済新聞社・日経産業消費研究所
9. 原口徳子 (2003) 細胞の中を行く夢の機能探索機 CRL NEWS (331)
10. 原口徳子 (分担執筆) (2004) 核膜を構築する分子のダイナミクス 細胞核のダイナミクス (竹安邦夫/米田悦啓編) 43-52. シュプリンガー・フェアラーク社

11. 原口徳子 (2004) 細胞分裂終期での核膜再形成過程のイメージング：イメージングで解き明かす生命機能 実験医学 22(10): 1434-1435.
12. 原口徳子、荒神尚子、平岡泰 (2004) 生細胞マルチカラー蛍光イメージング 「クロマチン・染色体 実験プロトコール」 実験医学別冊 105-114
13. 原口徳子、丁大橋、近重裕次、山本歩、平岡泰 (2004) 蛍光顕微鏡による生細胞イメージング 情報通信研究機構季報 50(3/4): 25-29.
14. 近重裕次、丁大橋、山本歩、林亜紀、浅川東彦、升田裕久、原口徳子、平岡泰 (2004) 遺伝子機能のゲノムワイド解析 情報通信研究機構季報 50(3/4): 31-35.
15. 平岡泰、原口徳子 (分担執筆) (2005) タイムラプスイメージングの基本「バイオイメージングがわかる」(高松哲朗編) 羊土社 76-82.
16. 原口徳子、平岡泰 (2006) 分子動態解析のための蛍光イメージング 蛋白質 核酸 酵素 51(14): 1972-1977.
17. 小林昇平、原口徳子 (2006) 細胞周期における核膜のダイナミクス 蛋白質 核酸 酵素 51(14): 2165-2171.
18. 原口徳子、平岡泰 (2006) 電子顕微鏡画像に動きを与えるイメージング法 細胞工学 25(10): 1188-1189.
19. 原口徳子、平岡泰 共著 (2006) 「ビジュアルバイオロジー：細胞の蛍光イメージング」サイエンス社
20. 原口徳子 (2007) 国際シンポジウム「Functional Organization of the Nucleus」 淡路夢舞台国際会議場 広報季刊誌「アジェンダ」 Vol. 28
21. 小林昇平、原口徳子 (2007) 蛍光分子イメージングと電子顕微鏡観察との融合 化学と生物 45(7): 482-487.
22. 岩本政明、原口徳子 (2007) 細胞核構造を染め分ける蛍光プローブ 「実験がうまくいく 蛍光・発光試薬の選び方と使い方」(三輪佳宏編) 羊土社 pp 71-76.
23. 原口徳子 (2007) 蛍光顕微鏡を使いこなす 「実験がうまくいく 蛍光・発光試薬の選び方と使い方」(三輪佳宏編) 羊土社 pp76.
24. 原口徳子・木村宏・平岡泰編 (2007) 生細胞蛍光イメージング —講義と実習—阪大・北大 顕微鏡コースブック 共立出版
25. 原口徳子 (2008) 生細胞イメージング 新手法開発と人工細胞核の創製に挑む 化学 vol61, no.1, pp30-31.

(国際)

1. Haraguchi, T., Ding, D-Q., Chikashige, Y., Yamamoto, A., Hiraoka, Y. (2004) Fluorescence Microscopy for Live Cell Imaging. Journal of The National Institute of Information and Communications Technology. 51(3/4): 29-33.
2. Chikashige, Y., Ding, D-Q., Yamamoto, A., Hayashi, A., Asakawa, H., Masuda, H., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (2004) Genome-wide Analysis of Gene Functions. Journal of The National Institute of Information and Communications Technology. 51(3/4): 35-39.

3. Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (分担執筆) (2004) Imaging Hoechst 33342-labeled chromosomes and fluorescent proteins during the cell cycle. *In* "Live cell imaging: A Laboratory Manual" (David Spector, ed.) Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp. 503-511.
4. Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (分担執筆) (2007) Breakdown and reformation of the nuclear envelope in human cells. *In* Nuclear Dynamics: Molecular Biology and Visualization of Nucleus. (K. Nagata, K. Takeyasu) Springer Verlag. pp. 89-106.

(3) 学会発表 (国際学会発表及び主要な国内学会発表)

① 招待講演 (国内会議 20 件、国際会議 7 件)

(国内)

1. Tokuko Haraguchi (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
Dynamic organization of the nuclear envelope
理研セミナー (2002 年 12 月 5 日) 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター、神戸市
2. 平岡泰、原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
顕微鏡：生細胞蛍光イメージングのノウハウ
理研セミナー (2002 年 12 月 5 日) 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター、神戸市
3. 原口徳子、志見剛、平岡泰 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
蛍光スペクトル顕微鏡法を用いた核膜タンパク質と BAF の細胞内相互作用の解析
日本顕微鏡学会第 59 回学術講演会 (2003 年 6 月 7 日) 札幌コンベンションセンター、札幌市
4. 原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
蛍光顕微鏡による生細胞 FRET 測定
第 3 2 回千里ライフサイエンス技術講習会 (2003 年 6 月 26 日) 千里ライフサイエンスセンター、吹田市
5. 原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
Multi-Spectral Imaging
薬理学会主催 薬理学サマーセミナー(2003 年 8 月 27 日)カールツアイス大阪営業所、吹田市
6. Haraguchi, T.¹, Holaska, J.², Yamane, M.¹, Koujin, T.¹, Wilson, K. L.², and Hiraoka, Y.¹
(¹CREST/ JST & 関西先端研究センター、²Johns Hopkins University)
Nuclear membrane protein emerin interacts with Btf, a death-promoting transcription repressor
第 76 回日本生化学会大会 (2003 年 10 月 16 日) パシフィコ横浜、横浜市
7. 原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
Live Cell Imaging を成功させるために
北大 21 世紀 COE 細胞生物学ワークショップ(2003 年 11 月 24 日)研究成果活用プラザ
北海道、札幌市
8. Haraguchi, T., Koujin, T., Shimi, T., Kojidani, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy Reveals Importance of the Nuclear Envelope as a Cellular Infrastructure
繊維学会主催、みらいせらい展イベントシンポジウム (2004 年 7 月 14 日)、日本未来科学館、東京都

9. Haraguchi, T.^{1,2}, Shimi, T.^{1,2}, Koujin, T.¹, Mori, C.¹, Kinjo, M.³, Hiraoka, Y.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Osaka University, Graduate School of Science, ³Hokkaido University, Research Institute for Electronic Science)
Single cell biochemistry: Direct visualization of molecular interaction between the nuclear envelope proteins and BAF in living cells
第77回日本生化学会大会 (2004年10月15日) パシフィコ横浜、横浜市
10. 原口徳子^{1,2}, 荒神尚子¹, 糀谷知子¹, 志見剛^{1,2}, 平岡泰^{1,2} (¹情報通信研究機構 関西先端研究センター, ²大阪大学大学院 理学研究科)
スペクトル共焦点顕微鏡を用いたライブセルイメージング
日本顕微鏡学会第61回学術講演会 (2005年6月3日) つくば国際会議場、茨城県
11. 原口徳子 (情報通信研究機構 関西先端研究センター)
生きた細胞で生体分子間相互作用を見るための顕微鏡法
バイオ・高分子研究会 (2005年9月23日) 一の坊、宮城県
12. 原口徳子 (情報通信研究機構 関西先端研究センター)
時間軸から見た細胞構造の自己組織化
分子情報ワークショップ (2005年9月30日) 東レ総合研修センター、静岡県
13. Chikashige, Y.^{1,2}, Tsutsumi, C.¹, Yamane, M.¹, Okamasa, K.¹, Haraguchi, T.^{1,2}, and Hiraoka, Y.^{1,2} (¹Cell Biology Group, Kansai Advanced Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, ²Department of Biology, Graduate School of Science, Osaka University)
Bouquet arrangement of chromosomes in fission yeast meiosis
第28回日本分子生物学会年会 (2005年12月8日) ヤフードーム他、福岡県
14. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
Live Cell Imagingを成功させるために
第6回細胞生物学ワークショップ (2006年1月15日) 北海道大学 電子科学研究所
15. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
遺伝子デリバリーシステムとしての細胞核の自己組織化
遺伝子・デリバリー研究会第6回夏期セミナー (2006年9月7日) みのお山荘風の杜、箕面市
16. 原口徳子¹, 糀谷知子¹, 荒神尚子¹, 小坂田裕子¹, 山本章嗣², 平岡泰¹ (¹情報通信研・未来ICT, ²長浜バイオ大学)
単一細胞での「ライブ+超構造」イメージング
日本化学会第87回春期年会 (2007年3月28日) 関西大学千里山キャンパス、大阪府
17. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構・未来ICT研究センター)
Live CLEMを使った核膜形成ダイナミクスの解析
平成19年度生理研研究会「位相差断層電子顕から見た顕微鏡染色体構造とダイナミクス」 (2007年7月19日) 岡崎統合バイオサイエンスセンター、愛知県
18. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構・未来ICT研究センター)
細胞核の機能構造：核膜が染色体に出会うとき
フロンティアバイオサイエンスコロキウム 生命機能研究科 第33回研究交流会
(2007年10月9日) 大阪大学、大阪府
19. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構・未来ICT研究センター)
核膜と核膜孔複合体ダイナミクス
遺伝研セミナー (2008年1月23日) 国立遺伝学研究所、静岡県

20. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター)
 Live Cell Imaging を成功させるために
 第 10 回細胞生物学ワークショップ (平成 20 年 1 月 28 日) 北海道大学、札幌市
 (国際)
1. Haraguchi, T.^{1,2}, Shimi, T.^{1,2}, Koujin, T.¹, Wilson, K. L.³, Hiraoka, Y.^{1,2} (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Osaka University, Graduate School of Science, ³Johns Hopkins University, School of Medicine)
 Dynamic behavior of BAF and nuclear envelope proteins in animal cells
 Communication and Gene Regulation at the Nuclear Envelope, Durham, UK (Jul. 17, 2003)
 2. Hiraoka, Y. and Haraguchi, T. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, Osaka University, Graduate School of Science)
 Fluorescence Imaging of Chromosomes and Nuclear Envelope Structures in Living Cells
 The First International Symposium "Cellular Responses to Genome Damage and Chromatin Dynamics" (Feb. 13, 2004) Hiroshima, Japan
 3. Haraguchi, T.^{1,2}, Shimi, T.^{1,2}, Koujin, T.¹, Kinjo, M.³, Hiraoka, Y.^{1,2} (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Osaka University, Graduate School of Science, ³Hokkaido University, Research Institute for Electronic Science)
 Direct visualization of molecular interaction between the nuclear envelope proteins and BAF, a DNA binding protein, in living cells
 The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science (Apr. 17, 2004) Kanagawa, Japan
 4. Haraguchi, T. (Kansai Advanced Research Center)
 Dynamics and Assembly of the Nuclear Envelope in Living Hela Cells
 International Symposium on Ran and Cell Cycle (Oct. 3, 2005) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
 5. Haraguchi, T.¹, Kojidani, T.¹, Koujin, T.¹, Shimi, T.¹, Yamamoto, A.², Hiraoka, Y.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Nagahama Institute of Bio-Science and Technology, Japan)
 LIVE-CELL AND ULTRASTRUCTURAL ANALYSES OF BARRIER-TO-AUTOINTEGRATION FACTOR-DEPENDENT NUCLEAR ENVELOPE ASSEMBLY IN HUMAN CELLS
 International Symposium on Functional Organization Of The Nucleus (Jan. 9, 2007) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
 6. Chikashige, Y., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (Kansai Advanced Research Center, NICT, Kobe, Japan)
 A WAY TO MOVE CHROMOSOMES ACROSS THE NUCLEAR ENVELOPE
 International Symposium on Functional Organization Of The Nucleus (Jan. 10, 2007) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
 7. Hiraoka, Y., Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Kojidani, T., Haraguchi, T. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
 Four Bqt proteins required for telomere bouquet formation in fission yeast
 8th European Meiosis Meeting (Sep. 17, 2007) Shonan Kokusaimura Center, Japan

② 口頭発表 (国内会議 39 件、国際会議 7 件)

(国内)

1. 平岡泰、志見剛、原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)

細胞核ダイナミクスの蛍光顕微鏡法による解析

第 25 回日本分子生物学会年会(2002 年 12 月 12 日)パシフィコ横浜、横浜市

2. 古田満衣子^{1,2}、小瀬真吾¹、志見剛³、平岡泰³、米田悦啓²、原口徳子³、今本尚子¹ (¹理研・細胞核機能,² 阪大・院・生命機能,³ CREST/JST&関西先端研究センター)
熱ショック時における importin α のリサイクリングの抑制
第 56 回日本細胞生物学会大会、ピアザ淡海、滋賀県 (2003 年 5 月 14 日)
3. 平岡泰、志見剛、原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
細胞核ダイナミクスの蛍光顕微鏡計測-FRAP, FLIP, FRET
第 56 回日本細胞生物学会大会(2003 年 5 月 15 日)ピアザ淡海、滋賀県
4. 原口徳子¹、山根美穂¹、荒神尚子¹、James Holaska²、Kathy Wilson²、平岡泰¹ (¹CREST/JST&関西先端研究センター、²Johns Hopkins University)
核膜タンパク質 emerin に結合するタンパク質 Btf の動態
第 3 回細胞核ダイナミクス研究会、清稜山倶楽部、福島県 (2003 年 5 月 22-23 日)
5. 古田満衣子^{1,2}、小瀬真吾¹、志見剛³、平岡泰³、米田悦啓²、原口徳子³、今本尚子¹ (¹理研・細胞核機能,² 阪大・院・生命機能,³ CREST/JST&関西先端研究センター)
熱ショック時における importin α のリサイクリングの抑制
第 3 回細胞核ダイナミクス研究会、清稜山倶楽部、福島県 (2003 年 5 月 22-23 日)
6. 原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
Live Cell Imaging を成功させる秘訣
阪大 21 世紀 COE 細胞生物学ワークショップ(2003 年 8 月 12 日)関西先端研究センター、神戸市
7. 原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
遺伝子デリバリーシステムとしての人工細胞核の創製
「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」第 1 回領域会議、名古屋ガーデンパレス、名古屋市 (2003 年 9 月 3 日)
8. 原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
核膜形成に必要な因子 BAF と増殖の関係
細胞核班会議、ヴェルデの森、神奈川県 (2003 年 9 月 5 日)
9. 志見剛、平岡泰、原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
FRAP, FLIP, FRET を用いた BAF の細胞内動態の解析
細胞核班会議、ヴェルデの森、神奈川県 (2003 年 9 月 5 日)
10. 平岡泰、志見剛、原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
細胞核構造ダイナミクスの蛍光画像化
第 62 回日本癌学会総会(2003 年 9 月 25 日)名古屋国際会議場、名古屋市
11. 原口徳子^{1,2}、荒神尚子¹、糀谷知子¹、小坂田裕子¹、平岡泰^{1,2} (¹CREST/JST&関西先端研究センター、² 大阪大学大学院理学研究科)
細胞増殖に関連する Barrier-to-autointegration factor (BAF) の核局在
第 21 回染色体ワークショップ、ウエルシティ湯河原、熱海市 (2004 年 1 月 31 日)
12. 原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
遺伝子デリバリーシステムとしての人工細胞核の創製

戦略的創造研究推進事業「ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ」全体発表会、日本科学未来館、東京都 (2004年2月18日)

13. 原口徳子^{1,2}、志見剛^{1,2}、荒神尚子¹、金城政孝³、平岡泰^{1,2} (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター、²大阪大学大学院理学研究科、³北海道大学・電子科学研究所)
生細胞における BAF の動態：核膜タンパク質との結合の可視化
第4回細胞核ダイナミクス研究会 (2004年5月21日) 新溪園敬徳堂、岡山県
14. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
核膜形成に重要な BAF 蛋白質の細胞内ダイナミクス
平成16年度「ソフトナノマシン」領域会議 (2004年10月7日) 住友生命名古屋ビル、名古屋市
15. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
核膜の構造と染色体相互作用のダイナミクス
「核ダイナミクス」班会議 (2004年10月21日) 情報通信研究機構関西先端研究センター、神戸市
16. 近重裕次、堤千尋、山根美穂、岡正華澄、原口徳子、平岡泰 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
分裂酵母減数分裂期細胞核における SPB-テロメアクラスター形成機構
第22回染色体ワークショップ (2005年1月27日) 一の坊、宮城県
17. 原口徳子、森知栄、荒神尚子、近重裕次、平岡泰 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
BAF はエメリンを核膜にリクルートする
第22回染色体ワークショップ (2005年1月28日) 一の坊、宮城県
18. 由利俊祐^{1,2}、糀谷知子¹、志見剛^{1,2}、山本章嗣³、今本尚子⁴、金城政孝⁵、平岡泰^{1,2}、原口徳子^{1,2} (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター、²阪大院理、³長浜バイオ大学、⁴理化学研究所、⁵北大電子分光研究所)
Importin β の細胞内動態と核膜孔通過の分子メカニズム
第5回細胞核ダイナミクス研究会 (2005年5月19日) 箱根パークス吉野、神奈川県
19. 原口徳子^{1,2}、荒神尚子¹、志見剛¹、糀谷知子¹、小坂田裕子¹、平岡泰^{1,2} (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター、²阪大院・理)
蛍光イメージングによる核膜ダイナミクスの解析
「細胞核ダイナミクス」班会議 (2005年11月8日) 京都ガーデンパレス、京都府
20. 林亜紀、浅川東彦、原口徳子、平岡泰 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
減数分裂前期でセントロメア局在減少を示す分裂酵母キネトコア蛋白質群の解析
第28回日本分子生物学会年会 (2005年12月10日) ヤフードーム他、福岡県
21. 林 亜紀、浅川東彦、原口徳子、平岡泰 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
減数分裂前期での分裂酵母セントロメア蛋白質の再構築
酵母遺伝学フォーラム (2006年7月15日) 東レ総合研修センター、静岡県
22. 山本歩^{1,2}、勝山聡¹、三木双葉³、岡崎孝映³、原口徳子²、丹羽修身³、平岡泰² (静岡大・理・化学科、²CREST of JST/情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター、³かずさ DNA 研究所)
分裂酵母の減数分裂期テロメア集合は細胞質ダイニンに依存する
酵母遺伝学フォーラム (2006年7月17日) 東レ総合研修センター、静岡県

23. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
Barrier-to-autointegration factor は S 期の進行に必要
特定領域研究「核ダイナミクス」第 3 回班会議 (2006 年 7 月 25 日) ホテル阪急エキス
ポパーク、吹田市
24. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
Live Cell Imaging のための蛍光染色と生細胞の扱い方
第 7 回細胞生物学ワークショップ (2006 年 8 月 8 日) 未来 ICT 研究センター、神戸市
25. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
time-lapse の復習
第 7 回細胞生物学ワークショップ (2006 年 8 月 9 日) 未来 ICT 研究センター、神戸市
26. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
Spectral Imaging
第 7 回細胞生物学ワークショップ (2006 年 8 月 10 日) 未来 ICT 研究センター、神戸市
27. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
核膜蛋白質の自己組織化と機能
CREST「ソフトナノマシン」領域会議 (2006 年 10 月 25 日) 住友生命名古屋ビル、名
古屋市
28. 林亜紀、浅川東彦、原口徳子、平岡泰 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究セ
ンター)
減数分裂前期での分裂酵母セントロメア蛋白質の再構築
2006 年分子生物学フォーラム (2006 年 12 月 7 日) 名古屋国際会議場、愛知県
29. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
Live Cell Imaging を成功させるために
第 8 回細胞生物学ワークショップ (2007 年 1 月 21 日)、北海道大学、札幌市
30. Hayashi A., Asakawa, H., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & KARC, NICT)
Kinetochore reorganization during meiosis in fission yeast
日本分子生物学会第 7 回春期シンポジウム (2007 年 4 月 23 日) 淡路夢舞台国際会議場、
兵庫県
31. Masuda, H.¹, Toda, T.², Ohtsuki, C.¹, Haraguchi, T.¹ and Hiraoka, Y.¹ (¹ CREST of JST & KARC,
NICT, Kobe, Japan, ² Cancer Research UK London Research Institute, Lincoln's Inn Fields
Laboratories, London, UK)
Role of Wee1 at the *S. pombe* spindle pole body
第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会 合同大会 (2007 年 5 月 29 日)
福岡国際会議場、福岡県
32. 原口徳子^{1,2}、荒神尚子¹、小坂田裕子¹、森知栄¹、梶谷知子¹、平岡泰^{1,2} (¹ CREST of JST/
情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター、² 阪大・院・理)
老化における核膜構造のダイナミクス
「細胞核ダイナミクス」班会議 (2007 年 7 月 1-3 日) ナスパ ニューオータニ、新潟県
33. 田村謙太郎¹、橋詰祥子¹、岩本政明²、原口徳子²、西村いくこ¹ (¹ 京大院・理・植物、
² 情報通信研究機構・未来 ICT 研究センターバイオ ICT グループ)
高等植物における細胞核の機能解析
第 7 回核ダイナミクス研究会 (2007 年 9 月 26 日) 北海道大学、北海道
34. 原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)

核膜孔複合体：構成蛋白質とダイナミクス

第7回核ダイナミクス研究会（2007年9月26日）北海道大学、北海道

35. 岩本政明、武内史英、平岡泰、原口徳子（CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター）
テトラヒメナの大核・小核は異なる核膜孔複合体をもつ第7回核ダイナミクス研究会
（2007年9月26日）北海道大学、北海道
36. 小林昇平¹、糀谷知子¹、山本章嗣²、小坂田裕子¹、吉森保³、平岡泰¹、原口徳子¹（¹（独）情報通信研究機構未来 ICT 研究センターバイオ ICT グループ、²長浜バイオ大学細胞生命科学コース、³大阪大学微生物病研究所環境応答部門細胞制御分野）
微小ビーズを用いた新しいオートファジー誘導方法
第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会（2007年12月13日）パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル
37. 原口徳子^{1,2}、浅川東彦¹、近重裕次^{1,2}、岩本政明¹、武内史英¹、糀谷知子¹、小坂田裕子¹、荒神尚子¹、山本章嗣³、平岡泰^{1,2}（¹CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター、²阪大・院・理、³長浜バイオ大学）
増殖分裂と生殖分裂における核膜と核膜孔複合体ダイナミクス
第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会（2007年12月13日）パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル
38. 岩本政明¹、森知栄¹、浅川東彦^{1,3}、武内史英¹、荒神尚子¹、小坂田裕子¹、糀谷知子¹、近重裕次^{1,2}、平岡泰^{1,2,3}、原口徳子^{1,2}（¹情報通信研究機構、²阪大院・理、³阪大院・生命機能）
テトラヒメナ大核と小核の機能分化に働く核膜孔複合体構造
第25回染色体ワークショップ（2008年1月30日）ウェルシティ湯河原、静岡県
39. 勝山聡¹、三木双葉²、岡崎孝映²、原口徳子³、丹羽修身²、平岡泰³、山本歩¹（¹静大・理・化、²かずさDNA研究所、³情通機構・バイオICT）
分裂酵母の減数分裂前期におけるテロメア集合は微小管およびアクチンモーターに依存する
第25回染色体ワークショップ（2008年1月31日）ウェルシティ湯河原、静岡県

(国際)

1. Asakawa, H., Hayashi, A., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
Dissociation of Nuf2 complex releases centromeres from the spindle-pole body during meiotic prophase
Gordon Research Conference “Meiosis” (June. 14, 2004) Coldby-Sawyer College, New Hampshire, USA
2. Masuda, H., Toda, T.^{*}, Miyamoto, R., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, ^{*}Cancer Research UK London Research Institute)
Distinct roles of the nuclear and cytoplasmic γ -tubulin complex during cell cycle progression in fission yeast
EMBO Workshop on Centrosomes and Spindle Pole Bodies (Sep. 25. 2005) EMBL Heidelberg, Germany
3. Haraguchi, T.¹, Kojidani, T.¹, Shimi, T.¹, Yamamoto, A.² and Hiraoka, Y.¹（¹CREST of JST & KARC, NICT, ²Nagahama-Bio University）
Live-cell and ultrastructural analyses of barrier-to-autointegration factor-dependent nuclear envelope assembly in human cells
Cold Spring Harbor Meeting: Dynamic Organization of Nuclear Function (Sep. 30. 2006) Cold

Spring Harbor, USA

4. Hiraoka, Y., Chikashige, Y., Haraguchi, T. (CREST of JST &KARC, NICT)
A mechanism for moving chromosomes by cytoskeletal driving forces across the nuclear envelope
Cold Spring Harbor Meeting: Dynamic Organization of Nuclear Function (Sep. 30. 2006) Cold Spring Harbor, USA
5. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST &KARC, NICT)
Cluster Formation of Telomeres and Spindle Pole Body in Fission Yeast Meiosis
International Symposium On Functional Organization Of The Nucleus (Jan. 10. 2007) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
6. Nakano, T.¹, Suda, T.¹, Koujin, T.², Haraguchi, T.², Hiraoka, Y.² (¹Department of Computer Science, Donald Bren School of Information and Computer Sciences University of California, Irvine, ²Kobe Advanced ICT Research Center, National Institute of Information and Communications Technology)
Molecular Communication through Gap Junction Channels: System Design, Experiments and Modeling
Bionetics 2007 (Dec. 11. 2007) Radisson SAS Beke Hotel, Budapest, Hungary
7. Nakano, T.¹, Hsu, Y.-H.², Tang, W. C., Suda, T.¹, Lin, D.⁴, Koujin, T.⁵, Haraguchi, T.⁵ and Hiraoka, Y.⁵ (¹Department of Computer Science, ²Department of Biomedical Engineering, ³Department of Electrical Engineering and Computer Science, ⁴Department of Developmental and Cell Biology, University of California, Irvine, USA, ⁵Kobe Advanced ICT Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, Japan)
Microplatform for Intercellular Communication
3rd IEEE International Conference of Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (Jan. 7. 2008) Sanya, Hainan Island, China

③ ポスター発表 (国内会議 41 件、国際会議 29 件)

(国内)

1. 亀高愛^{1,2}、高木昌俊¹、原口徳子²、平岡泰²、米田悦啓¹ (¹大阪大学大学院生命機能研究科、²CREST/JST&関西先端研究センター)
クマドリンは HP1 と相互作用して機能する
第 25 回日本分子生物学会年会(2002 年 12 月 11-14 日)パシフィコ横浜、横浜市
2. 加藤雅紀^{1,2}、西田美樹¹、早川智博³、原口徳子³、平岡泰³、井上喜博⁴、山口政光¹ (¹京都工繊大・応用生物、²京都工繊大院ベンチャーラボ、³CREST/JST&関西先端研究センター、⁴京都工繊大・ショウジョウバエセンター)
遺伝子導入ショウジョウバエを用いたヒト HP1 の局在と機能を定めるドメインの解析
第 25 回日本分子生物学会年会(2002 年 12 月 11-14 日)パシフィコ横浜、横浜市
3. 原口徳子^{1,2}、志見剛^{1,2}、荒神尚子^{1,2}、橋口典代^{1,2}、森知栄^{1,2}、Kathy Wilson³、平岡泰^{1,2} (¹CREST/JST&関西先端研究センター、²大阪大学大学院理学研究科、³Johns Hopkins University, School of Medicine)
染色体と核膜に結合するタンパク質 BAF のダイナミクスと機能
第 20 回染色体ワークショップ(2003 年 1 月 30 日)ウィルサンピア京都、京田辺市
4. 志見剛、平岡泰、原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
核膜と染色体に結合する BAF のダイナミクスの解析

第 56 回日本細胞生物学会大会、ピアザ淡海、滋賀県 (2003 年 5 月 14 日)

5. 志見剛、平岡泰、原口徳子 (CREST/JST&関西先端研究センター、大阪大学大学院理学研究科)
核膜と染色体に結合する BAF のダイナミクスの解析
第 41 回日本生物物理学会、朱鷺メッセコンベンションセンター、新潟市 (2003 年 9 月 26 日)
6. 原口徳子^{1,2}、荒神尚子¹、志見剛^{1,2}、平岡泰^{1,2} (¹CREST/JST&関西先端研究センター、²大阪大学大学院理学研究科)
染色体と核膜に結合する BAF タンパク質の細胞内ダイナミクス
第 26 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、神戸市 (2003 年 12 月 10 日)
7. Furuta, M.^{1,2}, Kose, S.¹, Koike, M.¹, Shimi, T.³, Hiraoka, Y.³, Yoneda, Y.², Haraguchi, T.³ and Imamoto, N.¹ (¹RIKEN, ²Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, ³CREST/JST and Kansai Advanced Research Center)
Heat-shock induced nuclear retention and recycling inhibition of importin α
第 21 回染色体ワークショップ、ウエルシティ湯河原、熱海市 (2004 年 1 月 30 日)
8. Masuda, H.¹, Miyamoto, R.¹, Toda, T.², Haraguchi, T.^{1,3}, and Hiraoka, Y.^{1,3} (¹Kansai Advanced Research Center, ²Cancer Research UK London Research Institute, ³CREST of JST)
Overproduction of alp4 carboxy-terminus reveals functions for the gamma-tubulin complex in nuclear positioning, cell polarity control, chromosome segregation, and cell cycle progression.
第 57 回日本細胞生物学会大会(2004 年 5 月 26 日)千里ライフサイエンスセンター、豊中市
9. Haraguchi, T.^{1,2}, Shimi, T.^{1,2}, Koujin, T.¹, Kinjo, M.³, Hiraoka, Y.^{1,2} (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Osaka University, Graduate School of Science, ³Hokkaido University, Research Institute for Electronic Science)
Direct visualization of molecular interaction between the nuclear envelope proteins and BAF, a DNA binding protein, in living cells
第 57 回日本細胞生物学会大会(2004 年 5 月 27 日)千里ライフサイエンスセンター、豊中市
10. Furuta, M.^{1,2}, Kose, S.¹, Koike, M.¹, Shimi, T.³, Hiraoka, Y.³, Yoneda, Y.², Haraguchi, T.³ and Imamoto, N.¹ (¹Cellular Dynamics Laboratory, RIKEN, ²Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, ³CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
Mechanism of stress-induced down regulation of importin α/β transport pathway
第 57 回日本細胞生物学会大会(2004 年 5 月 27 日)千里ライフサイエンスセンター、豊中市
11. Miyamoto, Y.¹, Saiwaki, T.¹, Yamashita, J.¹, Yasuda, Y.¹, Kotera, I.¹, Shibata, S.¹, Shigeta, M.², Hiraoka, Y.^{2,3}, Haraguchi, T.^{2,3} and Yoneda, Y.¹ (¹Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
Cellular stress-induced nuclear accumulation of importin alpha causes a classical nuclear import block
第 57 回日本細胞生物学会大会(2004 年 5 月 27 日)千里ライフサイエンスセンター、豊中市
12. Haraguchi, T., Mori, C., Koujin, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
BAF, but not lamin A, recruits emerlin to the nuclear envelope
第 27 回日本分子生物学会年会 (2004 年 12 月 8 日) 神戸ポートアイランド、神戸市

13. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
Interaction between telomeres and the spindle-pole body during bouquet formation in fission yeast meiosis.
第 27 回日本分子生物学会年会 (2004 年 12 月 8 日) 神戸ポートアイランド、神戸市
14. 林亜紀、辰見香織、原口徳子、平岡泰 (CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター)
新規 GFP ライブラリーを用いた分裂酵母セントロメア/キネトコア蛋白質の局在観察
第 27 回日本分子生物学会年会 (2004 年 12 月 8 日) 神戸ポートアイランド、神戸市
15. 由利俊祐^{1,2}、志見剛^{1,2}、金城政孝³、今本尚子⁴、平岡泰^{1,2}、原口徳子^{1,2} (¹ 阪大院・理・生, ² 情報通信研究機構・関西先端研, CREST/JST, ³ 北大・理・電子研, ⁴ 理研・細胞核機能)
核膜における importin β の動態の解析
第 27 回日本分子生物学会年会 (2004 年 12 月 8 日) 神戸ポートアイランド、神戸市
16. Shimi, T.^{1,2}, Koujin, T.¹, Kinjo, M.³, Hiraoka, Y.^{1,2}, Haraguchi, T.^{1,2} (¹ CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ² Osaka University, Graduate School of Science, ³ Hokkaido University, Research Institute for Electronic Science)
Direct visualization of molecular interaction between the nuclear envelope proteins and BAF, a DNA binding protein, in living cells
第 27 回日本分子生物学会年会 (2004 年 12 月 8 日) 神戸ポートアイランド、神戸市
17. 堀哲也^{1,2}、原口徳子³、平岡泰³、小布施力史⁴、深川竜郎^{1,2} (¹ 国立遺伝研・分子遺伝, ² JST さきがけ, ³ CREST of JST/情報通信研究機構、関西先端研究センター, ⁴ 京大・生命科学)
高等動物M期セントロメアに局在する必須因子 km23 の機能解析
第 27 回日本分子生物学会年会 (2004 年 12 月 8 日) 神戸ポートアイランド、神戸市
18. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
Cluster Formation of Telomeres and Spindle Pole Body in Fission Yeast Meiosis
第 58 回日本細胞生物学会大会 (2005 年 6 月 15 日) 大宮ソニックシティ、埼玉県
19. Asakawa, H., Hayashi, A., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center)
Dissociation of Nuf2-Ndc80 complex releases centromeres from the spindle-pole body during meiotic prophase in fission yeast
第 58 回日本細胞生物学会大会 (2005 年 6 月 15 日) 大宮ソニックシティ、埼玉県
20. Haraguchi, T.^{1,2}, Koujin, T.¹, Kojidani, T.¹, Osakada, H.¹, and Hiraoka, Y.^{1,2} (¹ CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ² Osaka University, Graduate School of Science)
Loss of barrier-to-autointegration factor (BAF) delays the progression of S-phase in HeLa cells
第 58 回日本細胞生物学会大会 (2005 年 6 月 15 日) 大宮ソニックシティ、埼玉県
21. Masuda, H., Toda, T.^{*}, Miyamoto, R., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ^{*} Laboratory of Cell Regulation, Cancer Research UK London Research Institute)
Modulation of Alp4 function by the carboxy-terminus of Alp4 in *Schizosaccharomyces pombe* induces novel phenotypes that imply distinct functions for the nuclear and cytoplasmic γ -tubulin complexes
第 58 回日本細胞生物学会大会 (2005 年 6 月 15 日) 大宮ソニックシティ、埼玉県

22. 中新井佑介^{1,2}、近重裕次^{1,2}、林亜紀²、原口徳子^{1,2}、平岡泰^{1,2} (¹大阪大・院・理、²CREST of JST & 情報通信研究機構 関西先端研究センター)
 分裂酵母における Tpr ホモログ Nup211 の機能解析
 第 28 回日本分子生物学会年会 (2005 年 12 月 7 日) ヤフードーム他、福岡県
23. 堀哲也¹、箕島幸範²、岡田聖裕¹、原口徳子³、平岡泰³、大川克也⁴、木村宏⁴、北村俊雄²、深川竜郎¹ (¹遺伝研・分子遺伝、²東大・医科研、³CREST of JST & 情報通信研究機構 関西先端研究センター、⁴京大・医)
 高等動物の新規構成的動原体タンパク質 CENP-50 は、スピンドルダメージからの復帰関与する
 第 28 回日本分子生物学会年会 (2005 年 12 月 7 日) ヤフードーム他、福岡県
24. 林亜紀、浅川東彦、原口徳子、平岡泰 (CREST of JST & 情報通信研究機構 関西先端研究センター)
 減数分裂前期での分裂酵母キネトコア蛋白質群の解析
 第 23 回染色体ワークショップ (2006 年 1 月 27 日) 安芸グランドホテル、広島県
25. 小林昇平、原口徳子 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
 生きた細胞での核膜形成機構の解明と人工細胞核形成へのアプローチ
 ナノバーチャルラボ成果報告会 (2006 年 7 月 15 日) 東京国際フォーラム、東京都
26. 原口徳子 (CREST of JST & 情報通信研・未来 ICT)
 セルが 2 倍になる様子を見てみよう
 「セルフエスタ 2006 in 大阪」、日本細胞生物学会主催 (2006 年 8 月 6~7 日) 千里ライフサイエンスセンター、豊中市
27. 近重裕次、堤 千尋、山根美穂、岡正華澄、原口徳子、平岡 泰 (情報通信研・未来 ICT)
 分裂酵母減数分裂期 SPB・テロメアクラスター形成に関する遺伝子群の解析
 2006 年分子生物学フォーラム (2006 年 12 月 7 日) 名古屋国際会議場、愛知県
28. 近重裕次、堤 千尋、山根美穂、岡正華澄、原口徳子、平岡 泰 (情報通信研・未来 ICT)
 分裂酵母減数分裂期 SPB・テロメアクラスター形成における核膜タンパク質の動態
 第 24 回染色体ワークショップ (2007 年 2 月 1 日) 信宿 汐湯旅館、佐賀県
29. Hayashi, A., Ding, D-Q., Chikashige, Y., Masuda, H., Asakawa, H., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y.
 ANALYSIS OF NUCLEAR ORGANIZATION BY MAKING A NEW GFP LIBRARY IN FISSION YEAST
 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会 合同大会 (2007 年 5 月 29 日) 福岡国際会議場、福岡県
30. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & KARC, NICT)
 Fission yeast genes involved in meiotic SPB-telomere cluster formation
 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会 合同大会 (2007 年 5 月 29 日) 福岡国際会議場、福岡県
31. Kawamata, K.^{1,2}, Chikashige, Y.^{1,2}, Haraguchi, T.^{1,2}, and Hiraoka, Y.^{1,2} (¹CREST of JST, Kansai Advanced Research Center, NICT, Kobe, ²Department of Biology, Graduate School of Science, Osaka University)
 Codon usage bias is correlated with an expression level of the gene in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*
 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会 合同大会 (2007 年 5 月 29 日) 福岡国際会議場、福岡県

32. Ding, D-Q. and Hiraoka, Y. (CREST of JST & KARC, NICT)
 Recombination-independent homologous chromosome pairing in meiosis of fission yeast
 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会 合同大会 (2007 年 5 月 29 日)
 福岡国際会議場、福岡県
33. Iwamoto, M., Kojidani, T., Hiraoka, Y. and Haraguchi, T. (CREST/JST, Kansai Advanced Research Center, NICT, Kobe)
 Nup155, a conserved nucleoporin is located in both the macro- and micronuclear envelope of a ciliate *Tetrahymena thermophila*.
 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会 合同大会 (2007 年 5 月 29 日)
 福岡国際会議場、福岡県
34. 岩本政明^{1,2}、武内史英^{1,2}、糀谷知子^{1,2}、小坂田裕子¹、山本章嗣³、平岡泰¹、原口徳子^{1,2} (¹情報通信研・未来 ICT ・バイオ, ²CREST/JST, ³長浜バイオ大・バイオサイエンス)
 繊毛虫テトラヒメナにおける核膜孔タンパク質の同定と核分裂および減数分裂過程における挙動
 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (2007 年 12 月 12 日) パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル、神奈川県
35. 勝山聡¹、三木双葉²、岡崎孝映²、原口徳子³、平岡泰³、山本歩¹ (¹ 静大・理・化, ² かずさ DNA 研究所, ³ 情通機構・バイオ ICT)
 分裂酵母の減数分裂前期におけるテロメア集合は微小管モーターに依存する
 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (2007 年 12 月 12 日) パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル、神奈川県
36. 田渕英莉^{1,2}、香川亘²、榎本りま²、横山茂之^{2,3,4}、近重裕次⁵、原口徳子⁵、平岡泰⁵、胡桃坂仁志^{1,2} (¹ 早稲田大院・先進理工, ² 理研・GSC, ³ 理研・播磨, ⁴ 東大・院理, ⁵ 情報通信研・未来 ICT)
 S. pombe Rap1 の S. pombe Bqt1-Bqt2 複合体との結合領域同定
 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (2007 年 12 月 13 日) パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル、神奈川県
37. 小林昇平、原口徳子、糀谷知子、小坂田裕子、森 知栄、平岡泰 (CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター)
 細胞の自己組織化能を利用した人工細胞核の構築
 ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ成果報告会 (2008 年 1 月 22 日) ベルサール九段、東京都
38. 原口徳子¹、松影昭夫²、小林昇平¹、武内史英¹、岩本政明¹、荒神尚子¹、小坂田裕子¹、糀谷知子^{1,2}、森 知栄¹、平岡泰¹ (¹CREST of JST/情報通信研究機構、²未来 ICT 研究センター、日本女子大学)
 細胞内分子ダイナミクス解析と超高分解能解析の融合を実現する Live CLEM 法の開発
 ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ成果報告会 (2008 年 1 月 22 日) ベルサール九段、東京都
39. 浅川東彦^{1,2}、林 亜紀²、平岡 泰^{1,2}、原口徳子² (¹大阪大・生命機能、²情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター&CREST/JST)
 分裂酵母の減数第二分裂で見られる核膜消失を伴わない核膜透過性の調節
 第 25 回染色体ワークショップ (2008 年 1 月 31 日) ウェルシティ湯河原、静岡県
40. 近重裕次¹、山根美穂¹、岡正華澄¹、堤千尋¹、大槻千鶴¹、原口徳子¹、平岡泰^{1,2} (¹情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター、²大阪大学大学院・生命機能)
 分裂酵母減数分裂期ブーケ形成における核内膜タンパク質 Bqt3, Bqt4 の機能
 第 25 回染色体ワークショップ (2008 年 1 月 31 日) ウェルシティ湯河原、静岡県

41. 林亜紀¹、原口徳子^{1,2}、平岡泰^{1,2} (¹情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター、²大阪大学大学院・生命機能)
分裂酵母の核内局在蛋白質に対する GFP タギングライブラリーの作製
第 25 回染色体ワークショップ (2008 年 1 月 31 日) ウェルシティ湯河原、静岡県

(国際)

1. Haraguchi, T.¹, Holaska, J.², Yamane, M.¹, Koujin, T.¹, Hashiguchi, N.¹, Wilson, K. L.² and Hiraoka, Y.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Johns Hopkins Univ.)
Nuclear membrane protein emerlin interacts with Btf, a death-promoting transcription repressor
American society for Cell Biology 42nd Annual Meeting (Dec. 14-18, 2002) San Francisco, USA
2. Shimi, T.¹, Hashiguchi, N.¹, Koujin, T.¹, Segura-Totten, M.², Wilson, K. L.², Hiraoka, Y.¹ and Haraguchi, T.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Johns Hopkins Univ.)
Barrier-to-autointegration factor (BAF) is dynamic and mobile in living HeLa cells
American society for Cell Biology 42nd Annual Meeting (Dec. 14-18, 2002) San Francisco, USA
3. Furuta, M.^{1,2}, Kose, S.¹, Shimi, T.³, Hiraoka, Y.³, Yoneda, Y.², Haraguchi, T.³, Imamoto, N.¹
(¹RIKEN, ²Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, ³CREST of JST and Kansai Advanced Research Center)
Repression of recycling of importin α under heat-shock condition
EMBO workshop on Mechanisms of Nuclear Transport (Nov. 1-5, 2003) Taormina, Italy
4. Shimi, T.^{1,2}, Koujin, T.¹, Wilson, K. L.³, Hiraoka, Y.^{1,2}, Haraguchi, T.^{1,2} (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Osaka University, Graduate School of Science, ³Johns Hopkins University, School of Medicine)
Dynamics and functions of Barrier-to-Autointegration Factor, BAF
The American Society for Cell Biology 43rd Annual Meeting (Dec. 17, 2003) San Francisco, USA
5. Masuda, H.¹, Toda, T.², Miyamoto, R.¹, Haraguchi, T.^{1,3} and Hiraoka, Y.^{1,3} (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Cancer Research UK London Research Institute, ³CREST, JST.)
Roles of the gamma-tubulin complex in nuclear positioning, cell polarity control, chromosome segregation, and cell cycle progression.
The Third International Fission Yeast Meeting Pombe 2004 (Aug. 27, 2004) San Diego, USA
6. Shimi, T.^{1,2}, Kinjo, M.³, Wilson, K.L.⁴, Hiraoka, Y.^{1,2} and Haraguchi, T.^{1,2} (¹CREST of JST, Kansai Advanced Research Center, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University, ⁴Department of Cell Biology, School of Medicine, Johns Hopkins University)
Direct visualization of dynamics of a BAF-BAF dimers in living cells
Cold Spring Harbor Laboratory Meeting "Dynamic Organization of Nuclear Function"
(Oct. 1, 2004) New York, USA
7. Haraguchi, T.¹, Mori, C.¹, Koujin, T.¹, Wilson, K. L.², Hiraoka, Y.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²School of Medicine, Johns Hopkins University)
BAF, but not lamin A, recruits emerlin to the nuclear envelope
Cold Spring Harbor Laboratory Meeting "Dynamic Organization of Nuclear Function"
(Oct. 3, 2004) New York, USA
8. Haraguchi, T.¹, Mori, C.¹, Koujin, T.¹, Wilson, K.L.², Hiraoka, Y.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²School of Medicine, Johns Hopkins University)

BAF, BUT NOT LAMIN A, RECRUITS EMERIN TO THE NUCLEAR ENVELOPE
The American Society for Cell Biology 44th Annual Meeting (Dec. 8.2004)

9. Chikashige, Y., Tsusumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (Kansai Advanced Research Center)
Cluster Formation of Telomeres and Spindle Pole Body in Fission Yeast Meiosis
国際学術シンポジウム「生命継承学の系譜とその未来」(2005年5月20日)ならまちセンター 市民ホール、奈良市
10. Haraguchi¹, T., Koujin, T.¹, Kojidani, T.¹, Osakada, H.¹, Mori, C.¹, Wilson, K. L.², and Hiraoka, Y.¹ (¹Kansai Advanced Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, ²Department of Cell Biology, School of Medicine, Johns Hopkins University, Baltimore, USA)
Barrier-to-Autointegration Factor (BAF) Accumulates in the Nucleus During S Phase and its Loss Delays Progression of S Phase in HeLa Cells
The American Society for Cell Biology 2005 Summer Meeting on Nuclear Architecture & Disease (Jul. 23.2005) Iowa State University, USA
11. Shimi, T.¹, Koujin, T.¹, Kojidani, T.¹, Yamamoto, A.², Hiraoka, Y.¹, and Haraguchi, T.¹ (¹Kansai Advanced Research Center, ²Nagahama-Bio University)
Dynamics and Ultrastructure of the Reforming Nuclear Envelope at Telophase as Revealed by Time-lapse, FRAP, FRET and EM Analyses
The American Society for Cell Biology 2005 Summer Meeting on Nuclear Architecture & Disease (Jul.23.2005) Iowa State University, USA
12. Shimi, T.¹, Koujin, T.¹, Kojidani, T.¹, Yamamoto, A.², Hiraoka, Y.¹, and Haraguchi, T.¹ (¹Kansai Advanced Research Center, ²Nagahama-Bio University)
DYNAMICS AND ULTRASTRUCTURE OF THE REFORMING NUCLEAR ENVELOPE AT TELOPHASE AS REVEALED BY TIME-LAPSE, FRAP, FRET AND EM ANALYSES
International Symposium on Ran and Cell Cycle (Oct. 3. 2005) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
13. Hiraoka, Y.¹, Mori, C.¹, Chikashige, Y.¹, Wilson, K. L.² and Haraguchi, T.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, ²Department of Cell Biology, School of Medicine, Johns Hopkins University, Baltimore, USA)
Fission yeast as a living test tube for nuclear lamina assembly
International Symposium on Ran and Cell Cycle (Oct. 3. 2005) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
14. McGhee, N. K.¹, Hardee, M. E.¹, Haraguchi, T.², Dewhirst, M. W.¹ (¹Duke University Medical Center, ²Kansai Advanced Research Center)
Bcl-2-associated transcription factor (Btf): A Potential Tumor Suppressor
The AACR Anti-Angiogenesis and Drug Delivery to Tumors Conference (Nov. 9-13. 2005) Waltham-Boston, Massachusetts, USA
15. Asakawa, H.¹, Hayashi, A.¹, Haraguchi, T.^{1,2}, Hiraoka, Y.^{1,2} (¹Kansai Advanced Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, ²Graduate School of Science, Osaka University)
Dissociation of the Nuf2-Ndc80 complex releases centromeres from the spindle-pole body under mating pheromone signaling in fission yeast meiosis
The American Society for Cell Biology 45th Annual Meeting (Dec. 14.2005) San Francisco, USA

16. Haraguchi, T.¹, Koujin, T.¹, Kojidani, T.¹, Osakada, H.¹, Mori, C.¹, Wilson, K. L.², Hiraoka, Y.¹
 (¹Kansai Advanced Research Center, ²Department of Cell Biology, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD)
 Barrier-to-Autointegration Factor (BAF) Accumulates in the Nucleus During S Phase and Its Loss Delays Progression of S Phase in HeLa Cells
 The American Society for Cell Biology 45th Annual Meeting (Dec. 14.2005) San Francisco, USA
17. Shimi, T.¹, Koujin, T.¹, Kojidani, T.¹, Yamamoto, A.², Hiraoka, Y.¹, Haraguchi, T.¹ (¹Kansai Advanced Research ²Nagahama-Bio University)
 Dynamics and Ultrastructure of the Reforming Nuclear Envelope at Telophase as Revealed by Time-lapse, FRAP, FRET and EM Analyses
 The American Society for Cell Biology 45th Annual Meeting (Dec. 14.2005) San Francisco, USA
18. Asakawa, H., Hayashi, A., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (Kansai Advanced Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, Kobe, Japan)
 Dissociation of the Nuf2-Ndc80 complex releases centromeres from the spindle-pole body under mating pheromone signaling in fission yeast meiosis
 第20回国際生化学会・分子生物学会議/第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 (Jun. 23. 2006) 国立京都国際会館、京都宝ヶ池プリンスホテル
19. Hori, T.¹, Minoshima, Y.², Okada, M.¹, Haraguchi, T.³, Hiraoka, Y.³, Okawa, K.⁴, Kimura, H.⁴, Kitamura, T.², Fukagawa, T.¹ (¹Natl. Inst. of Genet., ²Univ. of Tokyo, ³KARC, NICT, ⁴Kyoto Univ.)
 Analysis of the CENP-50 complex that required for the proper kinetochore functions
 第20回国際生化学会・分子生物学会議/第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 (Jun. 23. 2006) 国立京都国際会館、京都宝ヶ池プリンスホテル
20. Kishimoto, M.¹, Kora, N.¹, Koujin, T.², Kimura, H.³, Heinrich, J.⁴, Moelling, K.⁴, Haraguchi, T.², Hiraoka, Y.², Nakadai, T.⁵, Tamura, T.⁵, Owada, K.¹ (¹Kyoto Pharm. Univ., ²KARC, NICT, ³HMRO, Grad. Sch. of Med., Kyoto Univ., ⁴Inst. for Med. Virol., Zurich Univ., Zurich, Switzerland, ⁵Grad. Sch of Sci. and Tech, Chiba Univ.)
 CNep35 is a Dynamic Component of the Centrosome in Mammalian Cells
 第20回国際生化学会・分子生物学会議/第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 (Jun. 23. 2006) 国立京都国際会館、京都宝ヶ池プリンスホテル
21. Minoshima, Y.¹, Hori, T.², Okada, M.², Kimura, H.³, Haraguchi, T.⁴, Hiraoka, Y.⁴, Bao, Y.-C.¹, Kawashima, T.¹, Kitamura, T.¹, Fukagawa, T.² (¹Inst. of Med. Sci., Univ. of Tokyo, ²Natl. Inst. of Genet., ³HMRO, Grad. Sch. of Med., Kyoto Univ., ⁴KARC, NICT)
 CENP-50, a centromere component, is required for recovery from spindle damage
 第20回国際生化学会・分子生物学会議/第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 (Jun. 23. 2006) 国立京都国際会館、京都宝ヶ池プリンスホテル
22. Nakano, T.¹, Moore, M.¹, Enomoto, A.¹, Suda, T.¹, Koujin, T.², Haraguchi, T.², Hiraoka, Y.²
 (¹University of California, Irvine, CA, USA, ²KARC, NICT)
 A Cell-based Molecular Communication Network
 BIONETICS2006 (Dec. 11. 2006) Cavalese, Italy
23. Koujin, T., Osakada, H., Kojidani, T., Mori, C., Hiraoka, Y., Haraguchi, T. (Biological ICT Group, Kobe Advanced ICT Research Center, National Institute of Information and Communications Technology)
 NUCLEAR ACCUMULATION OF BARRIER-TO-AUTOINTEGRATION FACTOR IS REQUIRED FOR NORMAL PROGRESSION OF S-PHASE IN HUMAN CELLS
 International Symposium on Functional Organization Of The Nucleus (Jan. 10. 2007) Awaji

Yumebutai International Conference Center, Japan

24. Hori, T.¹, Hoki, Y.¹, Sado, T.¹, Hosoya, O.², Tsutsui, K.², Minoshima, Y.³, Kitamura, T.³, Okawa, K.⁴, Okada, M.¹, Kimura, H.⁴, Haraguchi, T.⁵, Hiraoka, Y.⁵, Fukagawa, T.¹ (¹Natl. Inst. of Genet., Mishima Japan, ²Okayama Univ., Okayama Japan, ³Univ. of Tokyo, Tokyo Japan, ⁴Kyoto Univ., Kyoto Japan, ⁵NICT)
The CENP-50 protein complex is required for proper kinetochore function and progression of early development in mice.
International Symposium on Functional Organization Of The Nucleus (Jan. 10. 2007) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
25. Masuda, H.¹, Toda, T.², Ohtsuki, C.¹, Haraguchi, T.¹, and Hiraoka, Y.¹ (CREST of JST &KARC, NICT, Japan, ²Cancer Research UK London Research Institute, Lincoln's Inn Fields Laboratories, UK)
ROLE OF WEE1 AT THE SPINDLE POLE BODY
Fourth International Fission Yeast Meeting (Jun. 12. 2007) Institute of Public Health, Copenhagen, Denmark
26. Asakawa, H., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST &Kansai Advanced Research Center, National Institute of Information and Communications Technology, ²Graduate School of Science, Osaka University)
Pheromone signal induces removal of centromere proteins in fission yeast
8th European Meiosis Meeting (Sep. 13. 2007) Shonan Kokusaimura Center, Japan
27. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & KARC, NICT)
Nuclear membrane proteins required for meiotic SPB-telomere cluster formation in *Schizosaccharomyces pombe*
8th European Meiosis Meeting (Sep. 15. 2007) Shonan Kokusaimura Center, Japan
28. Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Kojidani, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. (CREST of JST & KARC, NICT)
Nuclear Membrane Proteins for Anchoring Telomeres in Fission Yeast
The American Society for Cell Biology 47th Annual Meeting (Dec. 4.2007) Washington, DC, USA
29. Iwamoto, M.¹, Bunai, F.¹, Kojidani, T.¹, Osakada, H.¹, Yamamoto, A.², Hiraoka, Y.¹, Haraguchi, T.¹ (¹CREST of JST & KARC, NICT, ²Nagahama-Bio University, Nagahama)
Nup155, a Conserved Nucleoporin Is Located in Both the Macro- and Micronuclear Envelope of a Ciliate *Tetrahymena thermophila*
The American Society for Cell Biology 47th Annual Meeting (Dec. 3.2007) Washington, DC, USA

(4) 特許出願

①国内出願 (3件)

1. 発明者：志見剛、原口徳子
発明の名称：生物試料を高精度に測定する方法
出願人：独立行政法人通信総合研究所
出願日：平成15年11月6日
出願番号：特願2003-377522
2. 発明者：原口徳子、平岡泰
発明の名称：改良型HAタグ及び改良型HAタグを用いたスクリーニング方法

出願人：独立行政法人 情報通信研究機構
出願日：平成17年3月30日
出願番号：特願 2003-377522

3. 発明者：小林昇平、原口徳子
発明の名称：オートファジーの誘導方法、及び培養細胞への外来粒子導入方法
出願人：独立行政法人 情報通信研究機構
出願日：平成19年11月22日
出願番号：特願 2007-303366
4. 発明者：岩本政明、武内史英、糀谷知子、原口徳子
発明の名称：細胞内分子を超高分解能で視る方法
(申請準備中)

海外出願 (1件)

1. 発明者：Shimi, T., Haraguchi, T.
発明の名称：METHOD OF MEASURING BIOLOGICAL SAMPLE WITH HIGH ACCURACY
出願国：US
出願人：National Institute of Information and Communications Technology, Incorporated Administrative Agency
出願日：2004.11.1
出願番号：10/886,056号

(5)受賞等

受賞
なし

新聞報道

1. 2006年3月15日 女性研究者が探る いのちの不思議 「生きた細胞内の分子を視る・操る」 日刊工業新聞
2. 2006年4月7日 日経産業新聞、「生殖分裂」担うたんぱく質
3. 2006年4月10日 化学工業日報 朝刊、染色体を正確に配置 たん白質2種 発見 人工細胞核創製へ道

その他
なし

松影グループ

(1)原著論文発表 (国内誌0件、国際誌9件)

1. Osumi, M., Konomi, M., Sugawara, T., Takagi, T., Baba, M. (2006) High-pressure freezing is a powerful tool for visualization of *Schizosaccharomyces pombe* cells: ultra-low temperature and low voltage scanning electron microscopy and immunoelectron microscopy. J. Electron Microsc.: 55, 75-88.
2. Ishida, M., Miyamoto, M., Naitoh, S., Tatsuda, D., Hasegawa, T., Nemoto, T., Yokozeki, H., Nishioka, K., Matsukage, A., Tanaka, S., Ohki, M., and Ohta, T. (2007) The SYT-SSX fusion protein down-regulates the cell proliferation regulator COM1 in t(x;18) synovial sarcoma. Molecular and Cellular Biology. 27 (4):1348-1355. .

3. Kohda, T. A., Tanaka, K., Konomi, M., Sato, M., Osumi, M., Yamamoto, M. (2007) Fission yeast autophagy induced by nitrogen starvation generates a nitrogen source that drives adaptation processes. *Genes Cells*. 12: 155-170.
4. Maitani, Y., Igarashi, S., Sato, M., Hattori, Y. (2007) Cationic liposome (DC-Chol/DOPE=1:2) and a modified ethanol injection method to prepare liposomes, increased gene expression *International Journal of Pharmaceutics* 342: 33-39.
5. Haraguchi, T., Koujin, T., Osakada, H., Kojidani, T., Mori, C., Masuda, H., and Hiraoka, Y. (2007) Nuclear localization of barrier-to-autointegration factor is correlated with progression of S-phase in human cells. *J. Cell Sci.* 120(12): 1967-1977.
6. Naito, T., Kiyasu, Y., Sugiyama, K., Kimura, A., Nakano, R., Matsukage, A., Nagata, K. (2007) A novel influenza virus replicon system in yeast identified Tat-SF1 as a stimulatory host factor for viral RNA synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 18235-18240.
7. Matsukage, A., Hirose, F., Yoo, M-A., Yamaguchi, M. (2008) DRE/DREF transcriptional regulatory system: a master key for cell proliferation. *Biochim Biophys Acta*. 1779(2):81-89.
8. Sugimoto, N., Kitabayashi, I., Osano, S., Tatsumi, Y., Yugawa, T., Narisawa-Saito, M., Matsukage, A., Kiyono, T. and Fujita, M. (2008) Identification of novel Cdt1-binding proteins by a proteomics approach: proteolytic regulation by APC/CCdh1. *Mol. Biol. Cell* 19: 1007-1021
9. Maruyama, M., Yoshida, H., Yamaguchi, M. and Matsukage, A. (2008) Genome-wide search of DRE-Containing *Drosophila melanogaster* genes. *J. Japan Women's University Faculty of Science* 16, 1 -11.

(2)その他の著作物 (総説、書籍など)
該当なし

(3)学会発表 (国際学会発表及び主要な国内学会発表)

招待講演 (国内会議 2件、国際会議 1件)

(国内)

1. 原口徳子¹、糴谷知子¹、荒神尚子¹、小坂田裕子¹、山本章嗣²、平岡泰¹(¹CREST of JST /情報通信研・未来 ICT、³長浜バイオ大学) 単一細胞での「ライブ+超構造」イメージング
日本化学会第87回春期年会(2007年3月28日)関西大学千里山キャンパス、大阪府
2. 松影昭夫(日本女子大学)
DREF: ショウジョウバエ細胞増殖のマスターキー転写因子
昆虫DNA研究会(2007年5月3日)信州大学、長野県

(国際)

1. Haraguchi, T.¹, Kojidani, T.¹, Koujin, T.¹, Shimi, T.¹, Yamamoto, A.², Hiraoka, Y.¹ (¹CREST of JST & Kansai Advanced Research Center, ²Nagahama Institute of Bio-Science and Technology, Japan) LIVE-CELL AND ULTRASTRUCTURAL ANALYSES OF BARRIER-TO-AUTOINTEGRATION FACTOR-DEPENDENT NUCLEAR ENVELOPE ASSEMBLY IN HUMAN CELLS
International Symposium on Functional Organization Of The Nucleus (Jan. 9. 2007) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan REST Research Project, Kansai Advanced Research Center, Japan

口頭発表

(国内会議 6件、国際会議 1件)

(国内)

1. 青沼美樹¹、釜澤尚美²、許斐麻美²、井上喜博³、松影昭夫¹ (¹日本女子大学、²日本女子大学電頭施設、³京都工芸繊維大学)
染色体分配に關与する微小管結合タンパク質 hOrbit の機能解析
第18回 DNA 複製・分配ワークショップ (2006年10月31日) 熱海
2. 原口徳子^{1,2}、荒神尚子¹、小坂田裕子¹、森知栄¹、糀谷知子¹、平岡泰^{1,2} (¹CREST of JST 情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター、²阪大・院・理)
老化における核膜構造のダイナミクス
「細胞核ダイナミクス」班会議 (2007年7月1日) ナスパ ニューオータニ、新潟県
3. 原口徳子^{1,2}、浅川東彦¹、近重裕次^{1,2}、岩本政明¹、武内史英¹、糀谷知子¹、小坂田裕子¹、荒神尚子¹、山本章嗣³、平岡泰^{1,2} (¹CREST of JST/情報通信研究機構、未来 ICT 研究センター、²阪大・院・理、³長浜バイオ大学)
増殖分裂と生殖分裂における核膜と核膜孔複合体ダイナミクス
第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会 (2007年12月13日) パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル、神奈川県
4. 杉本のぞみ¹、小佐野怜子¹、北林一生²、松影昭夫¹、清野透²、藤田雅俊² (¹日本女子大学、²国立がんセンター)
Cdt1 と相互作用し Pre-RC 形成に關与しているクロマチン修飾酵素群
2007年度組換え・染色体再編ワークショップ、第19回 DNA 複製・分配ワークショップ (2008年3月5日) 静岡県
5. 小佐野怜子¹、杉本のぞみ¹、北林一生²、吉田和真²、巽康年²、松影昭夫¹、清野透²、藤田雅俊² (¹日本女子大学、²国立がんセンター)
新規 Cdt1 結合蛋白質 GRWD1 はヒストン結合能を持ち、pre-RC 形成および M 期の制御に關与している
2007年度組換え・染色体再編ワークショップ、第19回 DNA 複製・分配ワークショップ (2008年3月6日) 静岡県
6. 土田麻衣、坂本悦子、大田和まどか、青沼美樹、松影昭夫 (日本女子大学)
微小管動態におけるヒト Orbit 1 と 2 の機能分担
2007年度組換え・染色体再編ワークショップ、第19回 DNA 複製・分配ワークショップ (2008年3月7日) 静岡県

(国際)

1. Haraguchi, T.¹, Kojidani, T.¹, Shimi, T.¹, Yamamoto, A.² and Hiraoka, Y.¹ (¹CREST of JST &KARC, NICT, ²Nagahama-Bio University)
Live-cell and ultrastructural analyses of barrier-to-autointegration factor-dependent nuclear envelope assembly in human cells
Cold Spring Harbor Meeting: Dynamic Organization of Nuclear Function (Sep. 30, 2006) Cold Spring Harbor, USA

ポスター発表

(国内会議 14件、国際会議 6件)

(国内)

1. Kojidani, T.^{1,2,3}, Koujin, T.^{1,2}, Hiraoka, Y.^{1,2}, Matsukage, A.^{1,3}, Yamamoto, A.⁴, and Haraguchi, T.^{1,2} (1CREST Research Project, 2Kansai Advanced Research Center, 3 Department of Chemical and Biological Sciences, Faculty of Science, Japan Women's University, 4Nagahama-Bio University)
Live-cell and ultrastructural analyses of barrier-to-autointegration factor-dependent nuclear envelope assembly in human cells
日本女子大学学術研究員研究発表会 (2006年10月22日) 日本女子大学、東京都

2. 宮本麻美子¹、石田三智子²、内藤沙友¹、飯島久美子³、小田川麗子²、中原泉¹、根本威志²、松影昭夫¹、太田力² (¹日本女子大学、²国立がんセンター、³東京医科歯科大)
滑膜肉腫における COM1 遺伝子の発現低下
日本分子生物学会 2006 フォーラム (2006 年 12 月 7 日) 名古屋国際会議場、愛知県
3. 内藤沙友¹、宮本麻美子¹、小田川麗子²、吉田輝彦²、松影昭夫¹、太田力² (¹日本女子大学、²国立がんセンター)
SYT-SSX 発現滑膜肉腫の治療法の探索
日本分子生物学会 2006 フォーラム (2006 年 12 月 7 日) 名古屋国際会議場、愛知県
4. 中原泉¹、宮本麻美子¹、内藤沙友¹、松影昭夫¹、太田力² (¹日本女子大学、²国立がんセンター)
乳がんで発現が亢進する因子の探索
日本分子生物学会 2006 フォーラム (2006 年 12 月 7 日) 名古屋国際会議場、愛知県
5. 幸田俊希¹、田仲加代子¹、許斐麻美²、佐藤眞美子²、大隅正子²、山本正幸¹ (¹東大・院理・生物化学、²日本女子大・電顕施設)
分裂酵母オートファジーが窒素源飢餓応答に果たす役割とその制御
日本分子生物学 2006 フォーラム (2006 年 12 月 7 日) 名古屋国際会議場、愛知県
6. 佐藤眞美子¹、田中裕子²、森田華子²、永井里佳³、山口政光³、松影昭夫² (¹日本女子大学・電子顕微鏡施設、²日本女子大学・理学部、³京都工芸繊維大学・応用生物学部門)
遺伝子導入ショウジョウバエの複眼形態異常の超微構造学的解析
日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会 (2007 年 5 月 21 日) 朱鷺メッセ、新潟県
7. 許斐麻美^{1,2}、幸田俊希³、田中加代子³、佐藤眞美子¹、馬場美鈴⁴、大隅正子^{1,5}、山本正幸³ (¹日本女子大・電顕/ORC、²日本女子大・理・物生、³東大・院理・生物化学、⁴基生研、⁵NPO・総合画像研究支援)
加圧凍結法を用いた分裂酵母のタンパク質分解に関わる細胞内構造の解析
日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会 (2007 年 5 月 21 日) 朱鷺メッセ、新潟県
8. Iwamoto, M., Kojidani, T., Hiraoka, Y. and Haraguchi, T. (CREST/JST, Kansai Advanced Research Center, NICT, Kobe)
Nup155, a conserved nucleoporin is located in both the macro- and micronuclear envelope of a ciliate *Tetrahymena thermophila*.
第 40 回日本発生物学会・第 59 回日本細胞生物学会 合同大会 (2007 年 5 月 29 日) 福岡国際会議場、福岡県
9. 牧久恵¹、ジョアン タフシラ²、佐藤眞美子³、金子堯子¹ (¹日本女子大・理・物生、²日本女子大・院・理、³日本女子大・電顕施設)
低温におけるポプラ培養細胞への影響
日本植物学会第 71 回大会 (2007 年 9 月 9 日) 東京理科大学野田キャンパス、千葉県
10. 小川京子¹、佐藤眞美子²、高橋雅江¹、金子堯子¹ (¹日本女子大、²日本女子大・電顕施設)
真正粘菌変形体における細胞壁物質の産生
日本植物学会第 71 回大会 (2007 年 9 月 9 日) 東京理科大学野田キャンパス、千葉県
11. 小佐野怜子¹、杉本のぞみ¹、北林一生²、巽康年²、松影昭夫¹、清野透²、藤田雅俊² (¹日本女子大学、²国立がんセンター)
GRWD1 identified as a novel Cdt1-binding protein is involved in the cell cycle control and over expressed in cancer cells.
第 66 回日本癌学会総会 (2007 年 10 月 3 日) 横浜市

12. 杉本のぞみ¹、北林一生²、小佐野怜子¹、松影昭夫¹、清野透²、藤田雅俊² (¹日本女子大学、²国立がんセンター)
新規結合蛋白質の同定によるヒト Cdt1 制御機構・機能の解析
第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (2007 年 12 月 12 日) パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル、神奈川県
13. 小佐野怜子¹、杉本のぞみ¹、北林一生²、巽康年²、松影昭夫¹、清野透²、藤田雅俊² (¹日本女子大学、²国立がんセンター)
新規 Cdt1 結合蛋白質 GRWD1 は細胞周期制御に関与しがん細胞で過剰発現している
第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (2007 年 12 月 12 日) パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル、神奈川県
14. 大田和まどか、青沼美樹、坂本悦子、土田麻衣、松影昭夫 (日本女子大学)
微小管動態におけるヒト Orbit 1 および 2 の役割
第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (2007 年 12 月 12 日) パシフィコ横浜、ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル、神奈川県

(国際)

1. Miyamoto, M.¹, Tatsuda, D.², Odagawa, R.², Matsukage, A.¹, Yoshida, T.², and Ohta, T.² (¹Japan Women's University, ²National Cancer Center)
Search for therapy of synovial sarcomas.
第 20 回国際生化学会・分子生物学会議/第 11 回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 (Jun. 21. 2006) 国立京都国際会館、京都宝ヶ池プリンスホテル
2. Aonuma-kikkawa, M.¹, Konomi, M.², Inoue, H.Y.³, Kamasawa, M.² and Matsukage, A.¹ (¹Japan Women's University, ²Laboratory of Electron Microscope, ³Japan Women's University, Kyoto Institute of Technology)
Role of hOrbit1 in microtubule formation
第 20 回国際生化学会・分子生物学会議/第 11 回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 (Jun. 23. 2006) 国立京都国際会館、京都宝ヶ池プリンスホテル
3. Aonuma-Kikkawa, M.¹, Konomi, M.², Inoue, H.Y.³, Kamasawa, N.², and Matsukage, A.¹ (¹Japan Women's University, ²Laboratory of Electron Microscope, ³Japan Women's University, Kyoto Institute of Technology)
Microtubule bundle formation induced by the human Orbit1 N-terminal fragment. The 16th International Microscopy Congress (Sep. 4. 2006) Sapporo, Japan
4. Morita H.¹, Ide E.¹, Sato M.², Takagi T.², Hashimoto R.³, Sugimoto T.³, Kato Y.³, Yamaguchi M.³, Matsukage A.¹ (¹Japan Women's University, ²Laboratory of Electron Microscope, ³Japan Women's University, Kyoto Institute of Technology)
Ultrastructure research of compound eyes of gene-targeted *Drosophila*
16th International Congress on Microscopy (Sep. 7. 2006) Sapporo, Japan
5. Koujin, T., Osakada, H., Kojidani, T., Mori, C., Hiraoka, Y., Haraguchi, T. (CREST of JST & KARC, NICT)
NUCLEAR ACCUMULATION OF BARRIER-TO-AUTOINTEGRATION FACTOR IS REQUIRED FOR NORMAL PROGRESSION OF S-PHASE IN HUMAN CELLS
International Symposium on Functional Organization Of The Nucleus (Jan. 10. 2007) Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan
6. Ogawa, K.¹, Sato, M.², Takahashi, M.¹, Kaneko, T.¹ (¹日本女子大、²日本女子大・電頭施設)
Construction of cell wall during spherule formation in *Physarum polycephalum*.
2nd International Cellulose Conference (Oct. 23. 2007) Tokyo

(4)特許出願
なし

(5)受賞等
なし

7 研究期間中の主な活動（ワークショップ・シンポジウム等）

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H16.8.9-14	第3回細胞生物学ワークショップ	(独)情報通信研究機構 関西先端研究センター	33名	蛍光顕微鏡の最先端の技術に関する実機講習
H16.8.26	研究打ち合わせ	長浜バイオ大学	3名	高解像度の蛍光イメージング法開発に関する打ち合わせ
H16.10.28 -29	研究打ち合わせ	長浜バイオ大学	2名	高解像度の蛍光イメージング法開発に関する打ち合わせ
H16.11.15 -20	第4回細胞生物学ワークショップ	北海道大学 創成科学研究機構	20名	最先端の蛍光顕微鏡技術に関する実機講習
H16.12.15	研究打ち合わせ	国立遺伝学研究所	2名	DT40細胞での遺伝子破壊の方法論に関する打ち合わせ
H17.3.14-18	研究打ち合わせ	国立国際医療センター 研究所	2名	ウイルス感染防止のための研究開発に関する打ち合わせ
H17.8.22-27	第5回細胞生物学ワークショップ	(独)情報通信研究機構 関西先端研究センター	約30名	最先端の蛍光顕微鏡技術に関する実機講習
H17.11.16	研究打ち合わせ	日本女子大学理学部 松影研究室	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H18.1.15-17	第6回細胞生物学ワークショップ	北海道大学 電子科学研究所	約20名	最先端の蛍光顕微鏡技術に関する実機講習
H18.3.2	研究打ち合わせ	国立遺伝学研究所	2名	DT40細胞での遺伝子破壊の方法論に関する打ち合わせ
H18.5.17-18	研究打ち合わせ	日本女子大学理学部 松影研究室	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H18.8.7-12	第7回細胞生物学ワークショップ	(独)情報通信研究機構 未来ICT研究センター	約30名	最先端の蛍光顕微鏡技術に関する実機講習
H18.9.26-27	研究打ち合わせ	(独)情報通信研究機構 未来ICT研究センター	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H18.10.9-13	研究打ち合わせ	(独)情報通信研究機構 未来ICT研究センター	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H18.10. 13-14	研究打ち合わせ	日本女子大学理学部 松影研究室	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H18.11. 16-28	研究打ち合わせ	(独)情報通信研究機構 未来ICT研究センター	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H19.1.9-11	International Symposium on Functional	兵庫県立淡路夢舞台国際会議場	約150名	細胞核の機能と構造についての世界最新の成果を発表、議論
H19.1.21-26	第8回細胞生物学ワークショップ	北海道大学 電子科学研究所	約20名	最先端の蛍光顕微鏡技術に関する実機講習

H19.2.21	研究打ち合わせ	日本女子大学理学部 松影研究室	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H19.3.4-7	研究打ち合わせ	(独)情報通信研究機構 未来 ICT 研究センター	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H19.4.25 -5.12	研究打ち合わせ	(独)情報通信研究機構 未来 ICT 研究センター	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H19.7.5-12	研究打ち合わせ	(独)情報通信研究機構 未来 ICT 研究センター	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H19.7.13	研究打ち合わせ	長浜バイオ大学	4名	高解像度の蛍光イメージング法開発に関する打ち合わせ
H19.8.2-3	日本女子大学理学部 サマースクール	日本女子大学	8名	蛍光顕微鏡及による細胞観察等の実習(女子中・高校生対象)
H19.8.8	日本女子大学理学部 サマースクール	日本女子大学	20名	電子顕微鏡の実習(女子中・高校生対象)
H19.8.27-9.5	研究打ち合わせ	(独)情報通信研究機構 未来 ICT 研究センター	6名	電子顕微鏡技術に関する打ち合わせ
H19.10.22 -29	第9回細胞生物学 ワークショップ	(独)情報通信研究機構 未来 ICT 研究センター	約 30 名	最先端の蛍光顕微鏡技術に関する実機講習

8 研究成果の展開

(1)他の研究事業への展開

本研究で開発した生細胞イメージング技術は、文部科学省特定領域研究「細胞核ダイナミクス」の研究代表者として資金提供を受けることにつながった。

(2)実用化に向けた展開

特許が認められた「生物試料を高精度に測定する方法」は、協同インタナショナル社への技術移転の話が進行している。

9 他チーム、他領域との活動とその効果

(1)領域内の活動とその効果

領域会議では、広汎な学問領域の研究者と議論する機会が多く、ブレインストーミングの良い機会となった。

(2)領域横断的活動とその効果

全体発表会や領域横断ワークショップでは、ドラッグデリバリーを目指す研究者やマテリアルサイエンス分野の研究者との交流ができ、大変刺激になった。共同研究の可能性も探ったが、共同研究のための人材の確保や、それを行うための技術開発のタイミングがあわず、実際の共同研究にまで至らなかった。しかし、異分野研究者との交流は長い目で見ると効果が出てくると思うので、今後とも、このような交流の機会が与えられることを望む。

10 研究成果の今後の貢献について

(1)科学技術の進歩が期待される成果

- ・ イメージング技術開発については、今回作られた live CLEM 法に電子顕微鏡で観察できる分子特異的染色法を加えることにより、大きなブレイクスルーとなると確信する。
- ・ 細胞内に導入したものが、細胞内でどのような扱いを受けるかという研究はこれまでにほとんど成されておらず、イメージング法の発達に伴って新しい学問分野となる可能性がある。
- ・ 繊毛虫テトラヒメナをモデル生物とした研究では、1核性の真核生物の研究成果を「常識」としてきたこれまでの結果を覆す結果が次々と得られる可能性が高い。2核性生物を用いた核分化の仕組みの研究は、極めて学問的な価値が高いものに発展すると予想する。

(2)社会・経済の発展が期待される成果

オートファジーは、今や、病原菌感染や神経疾患など、広い生命現象で重要な働きをすることが分かってきている。本研究では、非生物材料を用いて、オートファジーを効率良く誘導する方法を確立した。その方法は、オートファジーに作用点をもつ薬のスクリーニングにも応用できるものであり、これまでにない新規の作用点を持つ開発につながるものと思われる。

11 結び

原理の理解なくして応用はありません：これは、宝谷領域代表が CREST の募集内容に書かれておられた言葉である。研究期間中、最も心掛けてきたのは、この点である。

長期間安定に働く遺伝子デリバリーシステムは未だ実現されておらず、遺伝子治療のネックと

なっている。実際に、生物は、進化という長い歴史のなかで、外来の DNA や異物の進入を許さないシステムを多重に構築することによって、ウイルスやバクテリアから身を守ってきた。当研究プロジェクトは、これに真っ向から挑戦するいわばドンキホーテのような戦いをしかけたことになる。そのような戦いに立ち向かうための唯一の武器は、宝谷領域が言われた「原理の理解なくして応用はありません」という言葉であった。

最初に、核が作られる原理や条件を検討することから研究を始めた。それを調べるための手段がなかったので、イメージング法などを開発しながら進めた。それによって、核の性質を少しは持っている「核もどき」を細胞内に作りだすことに成功した。しかし、予想したとおり、その不完全な「核もどき」は、細胞のもつ巧妙な「免疫」機能によって「敵」と見なされ分解されることが分かった。ゲノム DNA(それを内包する細胞核)は自己複製する生物にとっては自分のアイデンティティーそのものである。敵と自分を見分ける仕組みを知るために、構造の違う2つの細胞核を識別する仕組みを研究している段階で、時間切れとなってしまった。最終目標を「細胞内に新たな細胞核を作り出すこと」においた点では、「核もどき」までしかできなかったのは 100%の達成度と言うことはできないが、細胞内に入れた DNA がどのような扱いを受けるのかについての十分な基礎データが得られた点では、大きな成果が上がったと自己評価している。比較的長期間でチャレンジできたので、困難な研究をじっくりと行うことができた。それによって、世界でも唯一といえるユニークな研究を行った点や、発展性の高い研究の基礎を構築できた点では、自分自身の達成感は大変高い。

リスクの大きい研究を5年間かけて行えたことは非常に良かった。大学と違って研究所に所属している研究者にとっては、優れた人材を確保することが難しく、研究を発展させるために人材の確保が重要である。幸いなことに、多くの優れた学友が集まってきて、高い個人技と素晴らしいチームワークで立ち向かい、十分に研究を楽しむことができた。

人は力： 当プロジェクトの最大の知的財産を写真に示した。

