

戦略的創造研究推進事業
発展研究（SORST）

研究課題

「1分子観察 / 操作による細胞膜の
動的情報変換システムの解明」

研究期間：平成15年10月1日～平成17年3月31日

研究代表者

楠見 明弘

名古屋大学理学部 教授

京都大学再生医科学研究所 教授

1 . 研究実施の概要

H15年9月にERATO研究期間が終了し、継続研究に移行してからの間、研究実施場所の縮小/改装や設備移動を行う必要があったが、関係各部署の協力のおかげにより、迅速に新しい研究体制に移行することができた。すなわち、継続研究の趣旨どおり、研究を切れ目なく継続することができた。実際に、この1年半の間に本研究課題において、いくつかの重要な知見を得ることができた。一つには、細胞膜の内外層における膜を貫通しない分子同士の情報のやりとりの仕組みが見えはじめきており、細胞が外界より受けとった情報を細胞内へと伝えていく上での基本的なシグナル伝達機構のひとつの理解につながると期待される(下の図1参照)。また、細胞膜におけるシグナル伝達システムに大きな影響を与えている膜骨格のフェンス/ピケット効果の理解も進んでおり(下の図2参照)膜骨格が動的に短時間脱重合した際に、細胞膜分子がその障壁を越えていく機構の存在も見出している。

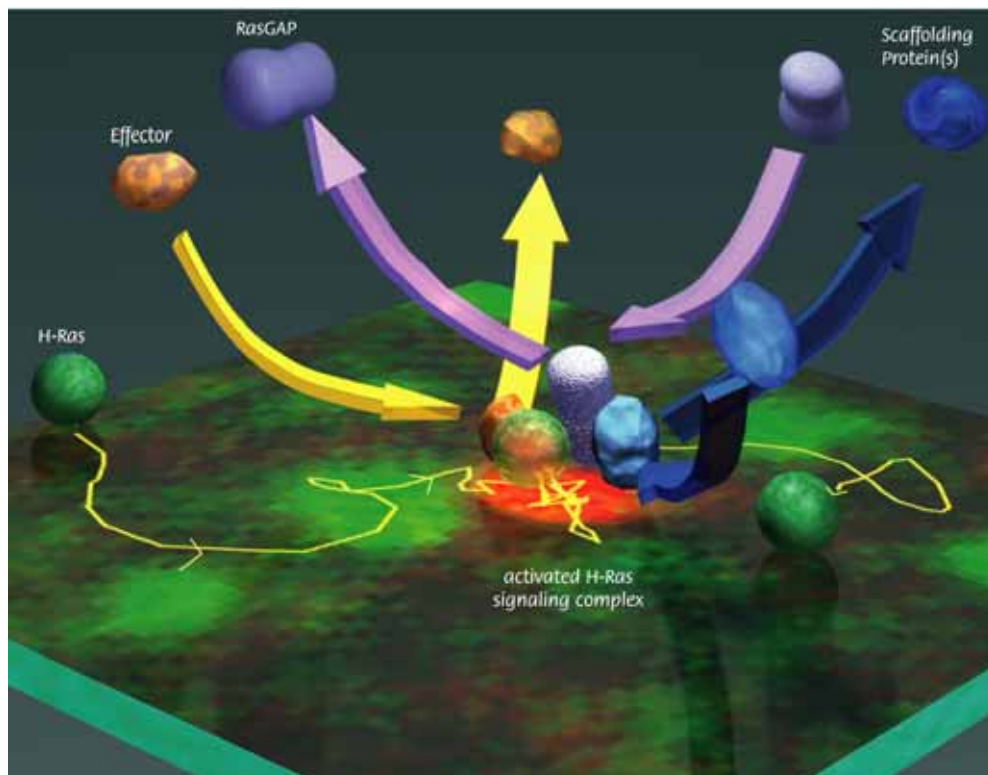


図1 細胞外からシグナルが来ると、多数の細胞内分子が、急速に、協同的に、シグナル複合体を作ることがわかった。さらに興味深いことに、この複合体は、1秒以内に分解されるつまり、細胞のシグナルはパルス的で、デジタル式のシグナリングをやっているようだ。このような発見は、普通の多数分子観察では不可能であり、1分子ナノ観察の独壇場である。この図は、実際に得られた1分子追跡画像に、様々な分子が集積するモデル図を重ね合わせたもの。

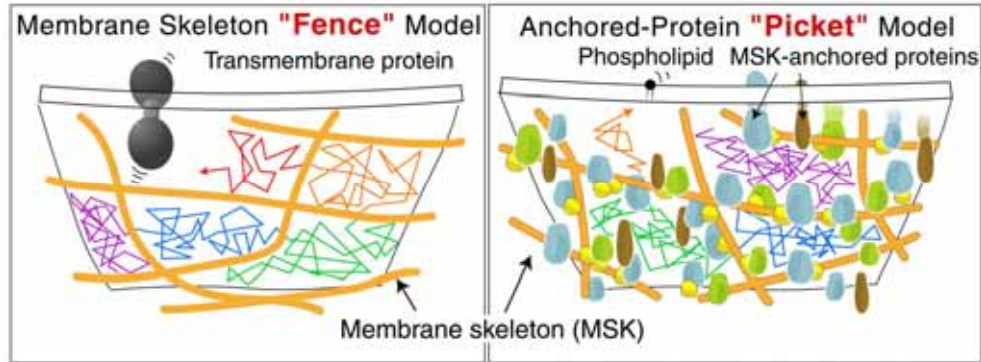


図2 細胞膜には膜骨格の仕切りが入っており、コンパートメントにわかれている。そのため、例えば、シグナル分子複合体が形成されると、そこでシグナルの閉じ込めが起こることが分かってきた。

細胞膜の様々な機能の多くは、その機能を発揮する分子複合体や膜ドメインの動的形成と分解によって調節されている（図3）。これを理解するには、膜特有の分子間相互作用の基本的理解が必要である。しかし、それらシグナル分子間の相互作用の多くは、安定ではなくミリ秒から秒の寿命であり、とても短時間に行われている。従って、本研究チームに特徴的な1分子解析において時間分解能をさらに向上することに注力し、きわめて動的な組織化によるシステム動作を解析してきた（図4）。それによって、基礎にある情報処理システムと膜分子の組織化の一般戦略の理解が進んだと考えている。

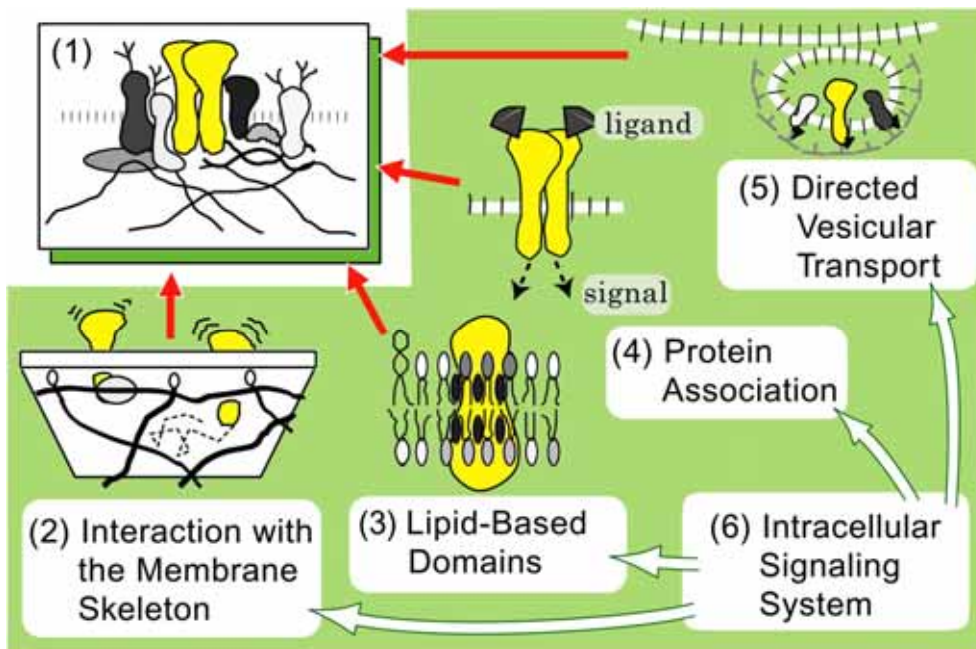


図3．細胞膜上の広義のドメイン。細胞膜は、互いに違った混合しやすさをもつ多種の分子が共存する非理想溶液である。このため、分子数が数個の分子複合体から大きさが数ミクロン程度の膜領域まで、さまざまなマイクロドメインが存在する。細胞膜は、このような物理的にきわめて面白い性質を利用して、細胞膜上でさまざまな機能を可能にしている。(1)ミクロンレベルの大きさを持ち数時間以上の寿命を持つ、細胞膜上の安定ドメイン（デスモソームなど）。(2)膜骨格とそれに結合した膜貫通型タンパク質による細胞膜の仕切り、および、それによる細胞膜のコンパートメント化。(3)疎水性脂質鎖の相互作用が重要な働きをするラフトドメイン。ラフト形成にはタンパク質間相互作用も同様に重要である。(4)タンパク質の会合体。(5)細胞内輸送小胞による、方向性を持った分子輸送。(6)ドメインではないが、以上のドメインをコーディネートするシグナル伝達系が重要であるので、備忘のため、追加してある。また、この図では、大きく安定な(1)のような膜ドメインが、(2)・(6)のようなドメインや過程を利用して形成され得ることを示している。



図4．生きている細胞中での1分子観察と操作の概念図

2 . 研究構想

我々の今までの研究から、様々なシグナル伝達システムに共通する作動原理に関する新しい作業仮説が得られつつある。本課題では様々なシグナル系を扱うが、それは、それらを 1 分子法を用いて直接に解くことだけが目的ではなく、それらに共通のシステム原理を明らかにしたい(さらに個別の特徴があればそれらを抽出したい)からである。これらの作業仮説と考えに基づき、本継続研究課題では以下の 3 項目を研究目標とした。

(1)主に以下のシグナル系の作動機構を 1 分子法で徹底的に調べる。作動機構の異同、共通のシステム機構を明らかにする。バルクのアッセイやイメージング法ではわからないシステムの作動機構を明らかにする(それらの方法も併用することは言うまでもない)。

SCF 受容体の活性化、 活性化 Ras 複合体、 シグナル伝達ラフト(CD59 を主に)

(2)(1)において、特に、以下の 6 つの作業仮説の正否を検討する(図 5 参照)。

デジタル的 / パルス的なシグナル伝達機構がシグナリングの基本様式の一つである。1 分子の中の特定部位のリン酸化というようなシグナルも、実は、キナーゼとホスファターゼの両方が働いて、高速に ON-OFF が繰り返されている。

短寿命のシグナル分子複合体の形成と分解 (ラフトの場合には短寿命のシグナル伝達ラフトの形成と分解) が、パルス状のシグナルの基本である。

短寿命シグナル複合体の形成 / 分解にはスキャッフールド (足場) タンパク質が極めて重要である。脂質間、及び、脂質-タンパク質間相互作用に基づくスキャッフールドがラフトである。

シグナル分子を ON にする仕組み (シグナル複合体) には OFF にする分子の組込みが準備されていて、OFF 分子がシグナルを切ると、シグナル複合体は分解する。すなわち、シグナル分子複合体の形成 / 分解は協同的に生起する。

シグナルの空間制御には、6 つの素過程、(1) 膜骨格のピケットフェンス効果 / 結合効果、(2) 分子複合体や(3) ラフトの形成、(4) エンドサイトシス / エクソサイトシス、(5) スキャッフールドタンパク質、(6) 他のシグナル分子のリクルート、が総合的に働く。特に、膜骨格は重要である。空間制御の機構を明らかにするため、シグナル分子のリクルートのタイミング、デュレーション、ロケーションに特に留意して研究を進める。

シグナル経路の選択機構と可塑性には、細胞の部位とスキャッフールドタンパク質による制御が特に重要である。ラフトは、脂質を基礎とする構造のため、経路の可塑性が大きい。

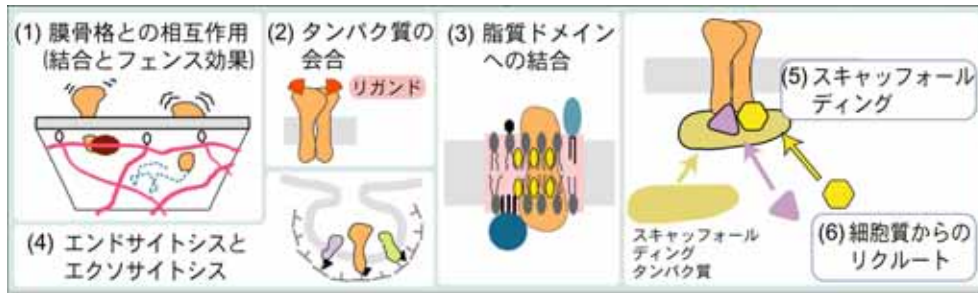


図5 細胞膜分子の組織化の6つの素過程（既課題で得られた作業仮説）。これらが複合的に働いて、シグナル複合体（or シグナル伝達ラフト）の形成や運動停止、シグナル拡散の空間制御、細胞間接着構造や被覆ピットの形成が起こる。膜機能の発現や機能ドメインの形成に、これら素過程がどのように協同的に働くかを明らかにするのが、継続研究の主要な課題の一つである。

（3）以上の研究に必要な、高速1分子観察法（今の10倍）、高速解析法（今の100倍）を開発する。

3 . 研究内容

(1)実施の内容

A . 1分子観察法 / 解析法のさらなる開発

(A · 1) 1分子観察法における時間分解能の大幅改善 : 細胞内のシグナル伝達分子の活性化や分子間相互作用は、一様に、ミリ秒のオーダーのとても短い時間内で起こっていることがわかってきた。従って、シグナル伝達の基本的様式の一つであるデジタル的 / パルスの分子の活性化の理解には、ビデオレート (33 ミリ秒分解能) の観察では時間分解能が不十分なことが多い。そこでファイバカップル型のICCDカメラをセットアップし、1分子蛍光観察における時間分解能を現在の2~8まで向上させた。また、AOM (Acoustic Optical Modulator; 音響光学変調器)を用いて、励起レーザー光照射をミリ秒のレベルで矩形制御し、タイムラプス観察する装置を開発した (藤原、本田、中田、リッチー) 。

(A · 2) 光ピンセット力顕微鏡 (OFM) の開発による細胞膜ドメインの解析 : これまでに、走査型光ピンセット力顕微鏡を開発し、生きている細胞において膜受容体分子を光ピンセットで牽引し、細胞膜の内側表面上の膜骨格を生細胞内で画像化することに世界で初めて成功した (鈴木、坪井、平野、リッチー) 。

(A · 3) 1分子画像の高速自動解析法開発の推進 : 画面上の1分子蛍光輝点の多点自動検出 / 追跡において、2色同時共局在の自動検出、非ブラウン運動の検出と特徴抽出の自動化と高速化を図る。自動解析ソフトウェアをさらに改良した (藤原、近藤、笠井) 。

B . 短寿命分子複合体の形成と、それが担う、パルスの / デジタル的なシグナル伝達の発見と解明

まず、この項の主な結果を、図にまとめておく (図 6) 。

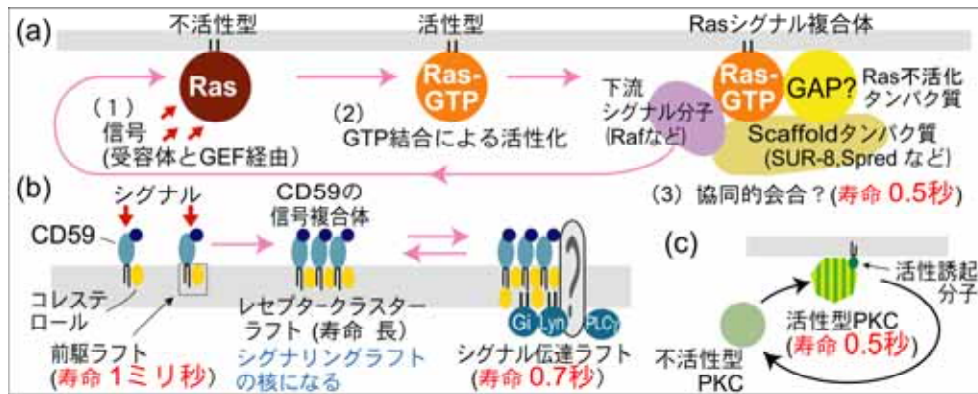


図6 多くのシグナル分子の活性化は、1分子レベル、1ナノ領域レベルで見ると1秒以下（パルス的にONにされる）である。これは、短寿命シグナル伝達ナノドメインによって担われているという作業仮説。(a)Rasの場合。(b)CD59から入力した信号が誘導するシグナル伝達ラフトの場合。シグナルが来る前の前駆ラフトは小さく、ミリ秒程度の寿命しかない（界面活性剤添加で集合体を作らしない）。シグナルによって受容体が会合すると、安定なCD59クラスターラフトが形成され(中)、それが時々、短寿命のシグナル伝達ラフトを形成して、下流分子に信号を伝達する。(c)PKCの場合。

(B・1)シグナル分子のデジタル的なシグナル複合体形成/分解の解析：これまでに、活性化した幹細胞因子受容体が、今まで考えられてきたクラスリン被覆小胞を経由せずに、新規な経路で細胞内に取込まれることを見出してきた。この経路は、受容体が、細胞内に取込まれた後においても活性化を維持し、下流へシグナル伝達を行うのに重要な役割を果たしていると考えられる。さらに、この結果を補足する生化学的な解析を行うとともに、細胞内における受容体の活性化維持とそのシグナル伝達に関わる機構を解析した。Rasを含む系では、スキヤフォールドタンパク質の役割をそのシグナル複合体形成機構に注目し、RNAi法などにより解析を進めた。また、RasGAPなどのシグナル分子を不活化する分子の働きを1分子可視化することに成功した（中田、村瀬、武田、村上、小林、村越）。

(B・2)シグナル分子のパルスの可塑的相互作用の場であるシグナル伝達ラフトの解析：シグナル伝達ラフトという情報伝達プラットフォームの形成と、そこでの情報変換までをすべて1分子可視化し、ラフトでのシグナル伝達をGPIアンカー型タンパク質CD59の系で完全に解き、混乱を極めて重要な研究分野であるラフトでの情報変換に基本的なパラダイムを与えることを目指した。そのため、生細胞中でCD59とPLC γ やLynなどを時間分解能を上げて異種2分子同時観察し、生化学的な解析ともあわせてLynの上流の3量体Gタンパク質の相互作用をあきらかにした（鈴木、岩沢、梶川、渡辺、山下）。

これらの結果のまとめを、図7に示す。

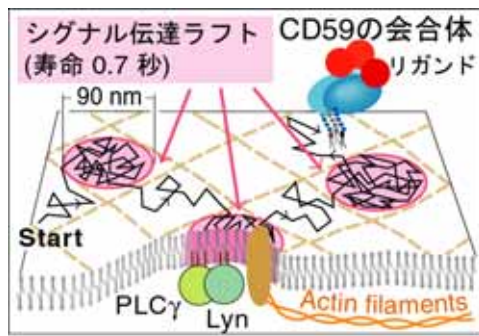


図7：図6 b左に示したように、シグナルが来る前のラフトは数分子から成り、ミリ秒程度の寿命しかない（界面活性剤で集合体を作ると考えられる）。シグナルによって受容体が会合すると、安定なレセプタークラスターラフトが形成される（図6 b中）。本図のように、このCD59 会合体安定ラフトは膜上を動き回り、短寿命のシグナル伝達ラフトを形成して、そこで下流分子に信号を伝達する。

(B・ 3) コレステロール可視化解析：コレステロールは全てのラフトの構成成分であるが、細胞膜中のコレステロールを可視化・定量化する方法はなく、ラフト研究のみならず医学上の大きな問題になっていた。我々は、この方法を開発しラフトの可視化法の開発を進めた（坪井、諸根）。

(B・ 4) ラフトの脂質鎖による、表側ラフトと裏側ラフトのカップリング：細胞膜外層の糖脂質やGPIアンカー型膜分子を会合させると、内層に脂質を介して結合しているSrc-familyキナーゼの活性化が起こることを見いだした。これは細胞膜外層に安定化ラフトができると、内層にも安定化ラフトを誘導し、そこでSrc-familyキナーゼが集合して活性化される、という機構の存在を示唆する。この機構解析のために、ラフトの表側分子と裏側分子を高時間分解能で1分子同時観察し、協同的なカップリングの時空間的な解析を行った（本田、鈴木、梶川、笠井）。

(B・ 5) 膜骨格の効果による、受容体の会合体やシグナル複合体、シグナル伝達ラフトの空間制御の理解：膜分子に対してはたらく、膜骨格のフェンス効果、膜骨格に結合した膜貫通型タンパク質のピケット効果、膜骨格の結合効果は、活性化されたシグナル分子の集合体が形成されると、その集合体に対して劇的に増加して働き、その集合体から伝わるシグナルの空間情報の維持に関与すると考えられる。CD59分子とSCF受容体に関して、この仮説の成否を検討中である（鈴木、武田、村上、小林、村越）。

(B・ 6) 膜裏打ち構造の電顕3次元再構築と定量的解析：細胞膜全体にわたって膜の裏打ち構造を急速凍結ディープエッチ免疫電顕法で見る方法を確立し、さらに、コンピュータトモグラフィー法により3次元再構成像を得ることに成功

した。さらに、胞膜裏打ち構造、特に膜骨格の定量的解析とその構造中にある分子の同定を進めた（諸根、武田、笠井）。

（B・7）膜骨格を越えるときのホップメカニズムの解明：光ピンセットを用いて膜骨格の動的な重合／脱重合の影響を調べた結果、膜骨格や膜の揺らぎによってホップする以外に、膜骨格が部分的に短時間脱重合して、その瞬間にホップする機構の存在が明らかになった（村瀬、岩沢、中田、平野、リッチー、山下）。

（B・8）エンドサイトシス／エクソサイトシス過程の解析：エンドサイトシス／エクソサイトシスと膜骨格による拡散の遅延によって、細胞表面上の受容体の不均等密度が誘起される過程、クラスリン被覆ピットが形成される過程、受容体がピットに取り込まれる機構などが、1分子法によって明らかになってきた（藤原、池、近藤、村上、小林）。

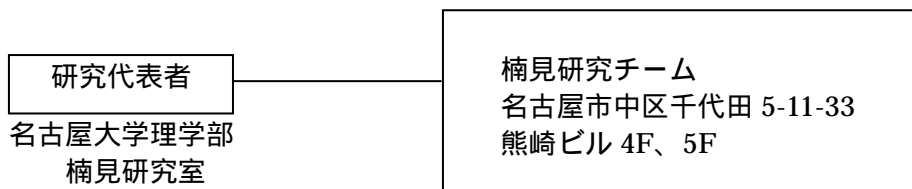
（2）得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

これらの研究結果は、細胞のシグナル伝達の基本的な機構に迫るものであり、従来の考え方にパラダイムシフトを迫るものである。したがって、医学・生物学分野の研究に重要な影響を与えるものだと言える。将来的には、新しい薬剤の開発にも、重要な影響を与えるであろう。

さらに、1分子法の開発の進展は、基礎研究に新しい方法論を提供するのみならず、光学的検出法全体の技術の底上げにつながるものである。したがってこれらも、将来的には、新しい薬剤の開発にも、重要な影響を与えるであろう。

4 . 研究実施体制

(1)体制



	所 属	役 職	研究項目	参加時期
楠見 明弘	名大	研究代表者	研究総括	平成15年10月～ 平成17年3月
藤原 敬宏	JST	SORST 研究員	時間分解能、自動解析法、超拡散、エンド	平成15年10月～ 平成17年3月
鈴木 健一	JST	SORST 研究員	シグナル伝達ラフト、カップリング、空間制御、OFM	平成15年10月～ 平成17年3月
諸根 信弘	JST	SORST 研究員	電顕、コレステロール可視化	平成15年10月～ 平成16年5月
池 博司	JST	SORST 研究員	エンド	平成15年10月～ 平成16年9月
岩沢 こころ	JST	SORST 研究員	シグナル伝達ラフト、超拡散、ホップ	平成15年10月～ 平成17年3月
本田 郁子	JST	SORST 研究員	カップリング、時間分解能	平成15年10月～ 平成17年3月
村瀬 琴乃	JST	SORST 研究員	シグナル複合体、ホップ	平成15年10月～ 平成17年3月
坪井 久恵	JST	SORST 技術員	OFM、コレステロール可視化	平成15年10月～ 平成17年3月
近藤 順子	JST	SORST 技術員	自動解析法、エンド	平成15年10月～ 平成17年3月

梶川 絵里子	JST	SORST 技術員	カップリング、シグナル伝達ラフト	平成15年10月～平成17年3月
武田 美江	JST	SORST 技術員	シグナル複合体、空間制御、電顕	平成15年10月～平成17年3月
平野 秀美	JST	SORST 技術員	OFM、ホップ	平成15年10月～平成17年3月
小林 剛	JST	SORST 研究員	シグナル複合体、空間制御、エンド	平成16年4月～平成17年3月
山下 誠二	JST	SORST 研究員	シグナル伝達ラフト、ホップ	平成16年4月～平成16年4月
村越 秀治	JST	SORST 研究員	シグナル複合体、空間制御	平成16年4月～平成17年3月
リッチー・ケンズ	名大	助手	時間分解能、OFM、ホップ	平成15年10月～平成17年3月
中田 千枝子	JST 学振	SORST 研究員 PD	時間分解能、シグナル複合体、超拡散	平成15年10月～平成16年3月 平成16年4月～平成17年3月
笠井 倫志	名大	大学院生	自動解析法、カップリング、電顕	平成15年10月～平成17年3月
渡辺 紀信	名大	大学院生	シグナル伝達ラフト	平成15年10月～平成17年3月
村上 瑞奈	名大	大学院生	シグナル複合体、空間制御、エンド	平成15年10月～平成17年3月
横山 育子	JST	チーム事務員		平成16年4月～平成17年3月

5 . 研究期間中の主な活動

(1)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
H16.11.23 ~11.26	第8回細胞膜研究フォーラム	名古屋ガーデンパレス	150人	

(2)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
Sarah Keller (University of Washington、 助教授)	セミナー実施及び 研究打ち合わせ	名古屋大学	H15.12.11 ~ 12.12
Gerrit van Meer (Institute of Biomembranes、 教授)	研究打ち合わせ	名古屋大学	H16.7.30 ~ 7.31
Jitu Mayor(National Centre for Biological Sciences、研 究員)	研究打ち合わせ	名古屋大学	H15.8.26 ~ 8.28
Robert Parton (University of Queensland、 教授)	研究打ち合わせ	名古屋大学	H15.8.26 ~ 8.27
Roger Morris (King's College London、教 授)	第8回細胞膜研 究フォーラム招 待講演及び研究 打ち合わせ	名古屋大学	H16.11.21 ~ 11.28
Gerhard Shutz (Johannes Kepler University Linz、講師)	第8回細胞膜研 究フォーラム招 待講演及び研究 打ち合わせ	名古屋大学	H16.11.22 ~ 11.27
John Hancock (University of Queensland、 教授)	第8回細胞膜研 究フォーラム招 待講演及び研究 打ち合わせ	名古屋大学	H16.11.22 ~ 11.27
Paul van Bergen en Henegouwen (Utrecht University、教授)	第8回細胞膜研 究フォーラム招 待講演及び研究 打ち合わせ	名古屋大学	H16.11.21 ~ 11.24

6 . 主な研究成果

(1)論文発表 (国内 0 件、海外 5 件)

H. Murakoshi, R. Iino, T. Kobayashi, T. Fujiwara, C. Ohshima, A. Yoshimura, and A. Kusumi. Single-molecule imaging analysis of Ras activation in living cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A. 101, 7317-7322 (2004).

K. Murase, T. Fujiwara, Y. Umemura, K. Suzuki, R. Iino, H. Yamashita, M. Saito, H. Murakoshi, K. Ritchie, and A. Kusumi. Ultrafine membrane compartments for molecular diffusion as revealed by single molecule techniques. Biophys. J. 86, 4075-4093 (2004).

K. Ritchie, X.-Y. Shan, J. Kondo, K. Iwasawa, T. Fujiwara, and A. Kusumi. Detection of non-Brownian diffusion in the cell membrane in single molecule tracking. Biophys. J. 88, 2266-2277(2005) .

I. Koyama-Honda, K. Ritchie, T. Fujiwara, R. Iino, H. Murakoshi, R. S. Kasai, and A. Kusumi. Fluorescence imaging for monitoring the colocalization of two single molecules in living cells. Biophys. J. 88, 2126-2136 (2005).

K. Suzuki, K. Ritchie, E. Kajikawa, T. Fujiwara, and A. Kusumi. Rapid hop diffusion of a G-protein-coupled receptor in the plasma membrane as revealed by single-molecule techniques. Biophys. J (2005) in press.

(2)口頭発表

招待、口頭講演 (国内 15 件、海外 16 件)

C. Nakada, K. Ritchie, Y. Oba, M. Nakamura, Y. Hotta, R. Iino, R. S. Kasai, K. Yamaguchi, T. Fujiwara, A. Kusumi. Diffusion barrier in the initial segment membrane of neurons as revealed by single molecule nanotechnologies. The 4th East Asian Biophysics Symposium (EABS)

Akihiro Kusumi. Pulse-coded signaling in stabilized rafts as observed by single molecule techniques. 43rd Annual Meeting of the American Society for Cell Biology

N. Morone, R. Kasai, H. Ike, T. Fujiwara, K. Murase, Y. Hirata, Y. Kozuka, S. Yuasa, J. Usukura, A. Kusumi. The interface structure of the membrane skeleton at the cytoplasmic surface of the membrane as visualized by electron microscopic computed tomography: a further support for the plasma membrane compartmentalization by the membrane-skeleton based fences and picket lines. 43rd Annual Meeting of the American Society for Cell Biology

T. Fujiwara, H. Mizoguchi, E. Kajikawa, N. Morone, C. Ohshima, T. Kobayashi, J. H. Keen, A. Kusumi. Regulation mechanism for the assembly of adaptor protein AP2 molecules in clathrin-coated pits as studied by single fluorophore video microscopy. JSPS-DST Asia Academic Seminar, NCBS Japan Workshop on Single Molecule Biophysics.

Akihiro Kusumi. Hop diffusion of membrane molecules in the cell membrane is universally found in various celltypes: Single-molecule observations. NCBS Japan Workshop on Single Molecule Biophysics.

Akihiro Kusumi. Engagement a GPI-Anchored Protein Creates Signaling Rafts from Smaller, Transient, Lipid Rafts: A Single-Molecule Approach. The 2004 Keystone Symposium on Lymphocyte Activation and Signaling.

H. Ike, A. Kosugi, A. Kato, R. Iino, H. Hirano, T. Fujiwara, K. Ritchie, A. Kusumi. Mechanism of Lck recruitment to the T-cell receptor cluster as studied by single fluorescent molecule video imaging.第 48 回アメリカ生物物理学会

K. Suzuki, T. Fujiwara, K. Ritchie, F. Sanematsu, H. Hirano, M. Eididin, A. Kusumi.
Rapid diffusion of putative raft molecules indicative of the absence of large stable rafts in the resting-state cell membrane.第 48 回アメリカ生物物理学会

K. Murase, Y. Hirako, T. Fujiwara, R. Iino, K. Owaribe, K. Ritchie, A. Kusumi.
Single-molecule tracking/dragging revealed transient actin severing in the membrane skeleton as a mechanism for intercompartmental hop movement of membrane molecules. 第 48 回アメリカ生物物理学会

Takahiro FujiwaraContinuous rapid exchange of the adaptor protein AP2 by an antenna mechanism in clathrin-coated pit formation.Biology Department Seminar: Single molecule microscopy of plasma membrane dynamics, Johns Hopkins University

N. Morone, R. Kasai, H. Ike, T. Fujiwara, K. Murase, Y. Hirata, Y. Kozuka, S. Yuasa, J. Usukura, and A. Kusumi. Electron computed tomography of the actin-based membrane skeleton: direct support for the membrane-skeleton-based compartmentalization of the plasma membrane. The 29th Congress of the Federation of European Biochemical Societies

Akihiro Kusumi. Frequency-modulated signal transduction as revealed by single-molecule observations. The 3rd Korea-Japan Conference on Cellular Signaling for Young Scientists 2004

Akihiro Kusumi. Engagement of a GPI-anchored receptor creates signaling rafts from smaller transient rafts: observations by single molecules techniques. 2004 FASEB Summer Research Conferences × Lipid Lipidation, Signaling and Membrane Domains.

T. Kobayashi, M. Murakami, Y. Takeda, A. Yoshimura, A. Kusumi. Single molecule analysis of Ras-Raf signaling in living cells.12th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry

T. Fujiwara, N. Morone, H. Mizoguchi, E. Kajikawa, C. Ohshima, T. Kobayashi, J. H. Keen, A. Kusumi. Continuous Rapid In/Out 1 s of the Adaptor Protein AP2 by an Antenna Mechanism in Clathrin-Coated Pit Formation as Revealed by Single Fluorescent Molecule Video Microscopy. 第 44 回アメリカ細胞生物学会

Takahiro Fujiwara, Nobuhiro Morone, Hirokuni Mizoguchi, Eriko Kajikawa,

Chika Ohshima, Takeshi Kobayashi, James H. Keen, and Akihiro Kusumi. Regulation mechanism for the assembly of adaptor protein AP2 molecules in clathrin-coated pits as studied by single fluorescent molecule video imaging. 第 49 回アメリカ生物物理学会

楠見明弘 1 分子運動/反応のナノ観察から生細胞の膜機能システムをとく 第 12 回バイオイメーキング学会

諸根信弘 急速凍結・ディープエッチ・免疫レプリカの電顕 CT による細胞膜裏打ち構造の定量的解析 平成 15 年度生理研研究会「電子位相顕微鏡の医学的・生理学的応用」

楠見明弘 1 分子ナノバイオロジーが明らかにする細胞膜のデジタル式信号変換機構 第 26 回日本分子生物学会年会

諸根信弘 電子線コンピュータトモグラフィ法とアナグリフ法でみた細胞膜裏打ち構造 (独)産業技術総合研究所人間系特別研究体

藤原敬宏、楠見明弘 細胞膜上のリン脂質の拡散運動遅延メカニズム: アンカード膜タンパク質ピケットモデル 日本膜学会第 26 回年会 ミニシンポジウム「細胞膜脂質のマイクロドメイン構造とその機能」

楠見明弘 シグナル伝達の 1 分子イメージング第 81 回 日本生理学会大会

N. Morone, R. Kasai, H. Ike, T. Fujiwara, K. Murase, Y. Hirata, Y. Kozuka, S. Yuasa, J. Usukura, and A. Kusumi. Structure and Dynamics of the Actin-based Membrane Skeleton Network. 8th Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy

Akihiro Kusumi. Single molecule imaging of signal transmission in living cells. 第 8 回アジア・太平洋電子顕微鏡学会議 (8APEM)

Akihiro Kusumi. Single molecule imaging of signal transmission in living cells. オクスフォード神戸セミナー

鈴木健一、実松史幸、藤原敬宏、坪井久恵、Michael Edidin、楠見明弘 GPI-Anchored Proteins Reside in Small and Unstable Rafts at the Resting State. Gordon Research Conference on Glycolipid & Sphingolipid Biology

Takeshi Kobayashi, Yoshie Takeda, Mizuna Murakami, Takahiro Fujiwara, Akihiko Yoshimura, Akihiro Kusumi. Clathrin-independent pathway for internalizing c-Kit that remains active in endocytic vesicles. 第 77 回日本生化学会大会

小林 剛、村上-田中瑞奈、武田美江、吉村昭彦、楠見明弘 細胞膜上で一時的に形成される信号複合体における Ras シグナル伝達 第 27 回日本分子生物学会年会

小林 剛、武田美江、村上-田中瑞奈、吉村昭彦、楠見明弘 レセプター型チロシンキナーゼへの刺激に誘導される受容体取り込みラフトドメインの形成 日本生物物理学

会第 42 回年会

鈴木健一、藤原敬宏、Ken Ritchie、Michael Edidin、楠見明弘 GPI アンカー型タンパク質ダイマーより形成される定常状態ラフト 日本生物物理学会第 42 回年会

岩沢こころ、梶川絵理子、小山一本田郁子、笠井倫志、Ritchie Ken、三輪佳宏、楠見明弘 1 分子蛍光法による MARCKS の細胞膜近傍の挙動の研究 日本生物物理学会第 42 回年会

ポスター発表 (国内 2 件、海外 4 件)

H. Ike, A. Kosugi, A. Kato, H. Hirano, K. Ritchie, T. Fujiwara, and A. Kusumi. Mechanism of Lck recruitment to the T-cell receptor cluster as studied by single molecule fluorescence video imaging. 第 43 回アメリカ細胞生物学会

T. Fujiwara, H. Mizoguchi, E. Kajikawa, N. Morone, C. Ohshima, T. Kobayashi, J. H. Keen, and A. Kusumi. Regulation mechanism for the assembly of adaptor protein AP2 molecules in clathrin-coated pits as studied by single fluorophore video microscopy. International Symposium on Molecules

I. Koyama, R. Iino, M. Hideji, T. Fujiwara, E. Kajikawa, A. Yoshimura, T. Kobayashi, A. Kusumi. Simultaneous single-molecule observations revealed short-term coupling of rafts between outer and inner leaflets after crosslinking of raft molecules. 第 48 回アメリカ生物物理学会

R. Kasai, E. Prossnitz, A. Kusumi. Almost all formyl peptide receptor molecules in the plasma membrane are dimers: determination using a single fluorescent-molecule imaging. 第 48 回アメリカ生物物理学会

N. Morone, R. Kasai, H. Ike, T. Fujiwara, K. Murase, Y. Hirata, Y. Kozuka, S. Yuasa, J. Usukura, and A. Kusumi. Electron computed tomography of the actin-based membrane skeleton in the structure of cell membranes: direct support for the membrane-skeleton-based compartmentalization of the plasma membrane. 第 57 回日本細胞生物学会

K. Iwasawa, T. Fujiwara, J. Kondo, K. Murase, H. Ike, H. Murakoshi, K. Suzuki, K. Ritchie, and A. Kusumi. Plasma membrane compartmentalization for membrane proteins and lipids in universally found in various cell types: Single-Molecule observation. 第 57 回 日本細胞生物学会大会

(3)特許出願

なし

(4)新聞報道等

新聞報道

朝日新聞(H16.4.30) “たんぱく質「1個」の変化見えた”

受賞

- ・第 45 回科学技術映像祭、文部科学大臣賞（平成 16 年）
「細胞膜の働きを解く～1分子で見る情報システム～」
- ・TEPIA 優秀作品賞（平成 16 年）
細胞膜の働きを解く～1分子で見る情報システム～」

その他

なし

(5) その他特記事項

なし

7 . 結び

細胞膜の様々な機能の多くは、その機能を発揮する分子複合体や膜ドメインの動的形成と分解によって調節されていることがわかってきた。このようなことは、概念として提案されたことはあったが、具体的には、ほとんど何もわかっておらず、お話にすぎなかった。本研究で、1分子レベルでの高時間分解能観察が可能になった結果、これらが見え始めている。すなわち、それらシグナル分子間の相互作用やシグナル分子複合体の多くは、ミリ秒から秒の寿命しかない、すなわち、非常に短時間に行われているため、今まで捉えることが困難だったのである。本研究によって、シグナル伝達は、きわめて動的な分子組織化によるシステム動作によって生起することが明らかになってきた。このような研究をさらに進めることによって、細胞の情報処理システムと膜分子の組織化の一般戦略の理解が進むであろう。

