

領域略称名：蛍光生体イメージ
領域番号：3204

平成24年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る研究経過等の報告書

「細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体イメージング」

(領域設定期間)
平成22年～平成26年

平成24年6月

領域代表者 京都大学・大学院生命科学研究科・教授・松田 道行

2. 目次

3. 研究領域の目的及び概要	P. 3
4. 研究の進展状況	P. 4
5. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策	P. 5
6. 主な研究成果	P. 6
7. 研究成果の公表の状況	
(1) 主な論文等一覧	P.12
(2) ホームページ	P.15
(3) 公開発表等	P.16
(4) 「国民との科学・技術対話」について	P.20
(5) 主な受賞	P.21
(6) 若手研究者のプロモーション	P.21
8. 研究組織と各研究項目の連携状況	P.22
9. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	P.24
10. 今後の研究領域の推進方策	P.25
11. 総括班評価者による評価の状況	P.26

3. 研究領域の目的及び概要

研究領域 「細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体イメージング」
研究期間 平成 22 年～平成 26 年
領域代表者 京都大学・大学院生命科学研究科・教授 松田道行
補助金交付額 (千円)

平成 22 年度	平成 23 年度	平成 24 年度
248,000	255,800	243,300

目的： 蛍光生体イメージング技術の進歩には括目すべきものがある。様々な光学的特性をもつ蛍光タンパク質が出現し、新しい動作原理の蛍光分子プローブが開発され、細胞周期や情報伝達分子の活性状態など、これまで生化学的にしか知ることのできなかった分子や細胞の機能情報が可視化できるようになった。また、二光子励起顕微鏡の開発により、組織を三次元的に観察することが可能となっている。さらに、自動焦点補正や追尾装置を備えた顕微鏡の開発は数日間に渡る観察を可能とし、時間情報が飛躍的に増大した。このように、時間、空間、機能と多次元的に観察することが可能になった蛍光イメージングは、いま急速な展開期を迎えている。このような背景のもと、蛍光バイオセンサーの開発および高度な顕微鏡イメージングに実績のある研究者と、様々な研究分野において生体イメージングを駆使している新進気鋭の研究者とが分野横断的に合力し、多次元蛍光生体イメージングを基礎にするヴィヴィッドライフサイエンスの創成を図る。

概要：

- ①**研究項目 A01 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化：** 細胞周期、細胞死、幹細胞性などを可視化するバイオセンサーの新規開発、二光子励起顕微鏡で使用可能な高感度 FRET バイオセンサーの開発、分子機能を可視化する FRET バイオセンサーの網羅的開発、生体により少ない侵襲で深部を観察する新しいモダリティによる二光子励起顕微鏡法の開発等を行っている。
- ②**研究項目 A02 多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明：** リンパ組織における免疫細胞の相互作用、骨における血液系幹細胞、間葉系細胞、転移癌細胞の動態を、二光子励起顕微鏡を使って可視化する。また、血管新生における情報伝達分子の意義を、様々な蛍光バイオセンサーを用いて明らかにする。さらに公募研究において、幅広い分野の新進の研究者を習合し、蛍光生体イメージングによるブレークスルーを目指している。
- ③**総括班：** これら個々の研究者の成果を有機的に統合し、本邦の蛍光生体イメージング技術の発展を図るために、総括班ではいくつかの活動を行っている。まず、研究者間のネットワークを密にするために、Web ベースのフォーラムを立ち上げ、関連する論文の紹介や、技術上の情報交換やアドバイスの提供などを行っている。また、若手研究者の交流を深めるために、合宿形式の若手ワークショップを年 1 回開催している。一方、高度な顕微鏡技術の敷衍化を図るために、これも合宿形式の技術講習会を愛媛大学にて年 1 回開催している。さらに、二光子顕微鏡、FRET イメージングの講習会も京都大学で定期的で開催している。

4. 研究の進展状況

項目 A01 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化

蛍光バイオセンサーは、松田らの FRET バイオセンサー、宮脇らの細胞周期バイオセンサー Fucci がその中心である。まず、FRET バイオセンサーについては、その感度の上昇と、バイオセンサー作成のための骨格が完成した。さらに、長年の懸案であった、FRET バイオセンサーの安定発現法が確立したことで、FRET バイオセンサー発現トランスジェニックマウスができたことが一番の成果である。ERK の活性を測定する Eisuke マウス、PKA の活性を測定する PKAchu マウスがもっとも解析が進んでいるが、それ以外のマウスも多数できている。一方、細胞周期センサー Fucci は、すでに本邦で広く使われるに至っており、その技術の敷衍化は順調に進む一方、より使いやすいセンサーへと改良が進み、さまざまな色をもつ細胞周期センサーの作成行われている。さらに今村らは、Fucci 発現がん細胞を始め、各種イメージング用細胞を作製し、それらをマウスに移植し、蛍光ズーム顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡の両者を用いて生体サンプルを使った画像取得を行い、新規生体蛍光観察システムの設計を完了した。「生きたマウスで情報伝達研究」という本領域の当初の目的が着々と進みつつあるといえるだろう。

一方、二光子顕微鏡を用いた三次元イメージングでもいくつかのブレークスルーがあった。まず、宮脇らの組織透過性を向上させる技術 Scale の開発は、これまでの光学顕微鏡の常識を超え、数 mm の深さでの立体構築の可視化を可能とした。この技術開発を受け、光学顕微鏡メーカーでは大きな動作距離と高い開口度 (NA) を持つ二光子レーザー顕微鏡用対物レンズの開発競争が始まっている。さらに、根本らはダイクロイックミラーなどの導入光学系、新規レーザーや補償光学系を用いて、生体組織深部で「光」による観察と操作を実施可能とする in vivo 二光子顕微鏡の構築を行った。その結果、生きたマウスの世界最深部の生体脳断層イメージングに成功し、世界で初めて、海馬 CA1 ニューロンの in vivo 観察に成功した。これらの技術開発は、均一な培養細胞を使った研究から、三次元細胞社会での研究へという流れを大きく加速するものである。

項目 A02 多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明

本項目では、様々な臓器や組織でイメージングを使った生命現象の解明を目指した。

免疫系： 岡田らは新しい蛍光レポーターマウスと二光子イメージングの導入により、特殊なリンパ球や樹状細胞のサブセットのライブイメージングに成功しており、免疫組織や腫瘍組織で免疫応答を制御すると考えられる重要なイベントを見出しつつある。

骨・造血器系： 石井らは二光子励起顕微鏡を用いた生体骨イメージング系を改良して、骨髄内環境における種々の細胞動態を解析した。古い骨組織を破壊・吸収する破骨細胞の骨髄内へのリクルート機構や、骨表面上での骨吸収機構を実体的に解明した。さらに、骨転移性がんや白血病・骨髄腫などの骨髄内動態を生体骨内で観察する系を確立した。

循環器系： 福原らは血管新生における内皮細胞の“形態・運動”および“増殖”を制御する分子機構を、FRET バイオセンサーおよび細胞周期バイオセンサー Fucci を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを作成して研究を展開させている。

生殖器系： 伊川らは、トランスジェニックマウスを用いて受精のイメージングシステムを立ち上げた。

5. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策

- ① **班員の移動：** 申請時に研究項目 A02 の計画班員として予定していた西村智が内閣府の最先端研究に参画することになり当研究班から外れることとなった。また、同じく研究項目②の公募班員 1 名が 2 年目の研究を辞退した。これらの事案に対しては、計画班員の間で迅速かつ活発な審議を行うとともに、領域担当調査官等の意見を聞きながら対処し、研究の遂行には大きな影響を与えずに行うことができた。

- ② **技術の敷衍化：** 蛍光生体イメージング技術を発展させるためには、技術講習会が欠かせない。平成 23 年度に行われた愛媛大学で開催した技術講習会では、多くの研究者が集まって好評であったが、遠方であることや数日にわたることから参加を見送った研究者・学生も多かった。また、技術講習会という性質上、大人数を集めて行うということもできない。本年も応募者多数のために、選抜を行わなければいけない状況である。そこで、京都大学では、2 日あるいは 1 日の短期間の技術講習会を開催した。関西圏の研究者を対象と考えていたが、予想外にも東京からも多くの参加者があり、好評であった。3 日間の講習を年 1 回、愛媛大学で行い、短期の講習会を京都大学で数回開催するというスタイルを続けていくのがよいと考えている。本年度は、関東地区の大学の共用施設を使って、同様の技術講習会を行うべく準備中である。

- ③ **バーチャルイメージングセンター活動：** 多くの研究者の技術的問題点をみんなで解決しようという目的のもと、Web 上でのバーチャルイメージングセンター活動を行っている。特に最近では、公募班員からのアクセスが増え、それに計画班員が答える形で両者の連携が深まっている、しかし一方で、自分の問題点を公表するのをためらう研究者が多く、メールで個別に相談してくることが多い。結局、個別に受けた相談を、Q and A という形で公開する方がやりやすいように思われるが、今後、検討の余地がある。また、多くの研究者が何らかの形で光学機器メーカーと共同研究をしており、忌憚のない技術情報を公開するのが難しいという問題も明らかになってきた。Closed の情報交換会も必要かもしれないが、科研費の性質を考えると難しいとも思われ、現在、検討中である。

- ④ **動物実験室の問題：** 同じマウスを数週間にわたって、何度もイメージングすることが可能となり、新たな研究の可能性が広がってきた。ここで顕在化してきたのが、多くの研究施設では生体イメージング用蛍光顕微鏡は SPF 飼育施設外にあり、イメージングしたマウスを長期に維持することは不可能という問題である。京都大学では昨年度、準 SPF 施設を準備したので、この運用状況をみながら、各大学に同様の施設が設置されるよう働きかけていきたい。

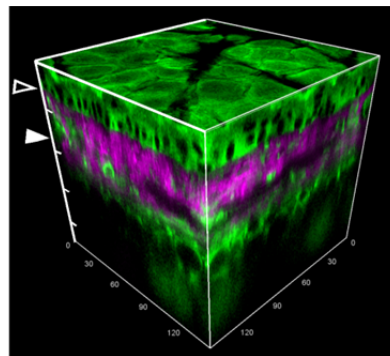
- ⑤ **トランスジェニック動物におけるバイオセンサーの毒性の問題：** ある種の蛍光バイオセンサーを発現するトランスジェニック動物では、発現量が高いとセンサーの毒性により異常をきたすという問題が生じている。この問題を解決するため、バイオセンサーの感度向上と Cre 誘導性のバイオセンサー発現系を、マウスおよびゼブラフィッシュで開発した。いくつかの実験動物系で問題点がクリアされてきたので、今後、様々なイメージング用の動物が開発されると期待している。

6. 主な研究成果

項目 A01 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化

①. 細胞内情報伝達系の多次元 FRET イメージング (松田道行・京都大学大学院生命科学 研究科)

- ①-1 二光子励起顕微鏡での使用に耐える高感度 FRET バイオセンサーの開発を行った。蛍光タンパク質およびリンカーの改良を行うことで、これまでの FRET バイオセンサーより、2-5 倍程度感度の高いバイオセンサーを作ること成功した。これらは、PKA、ERK、JNK、EGFR/Abl などの既存のもの感度を上昇させたもののほか、PKC、Akt、S6K、RSK などの新規のものも含む。



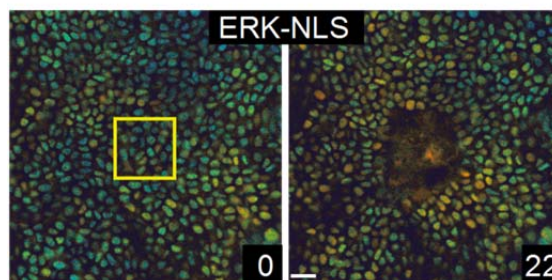
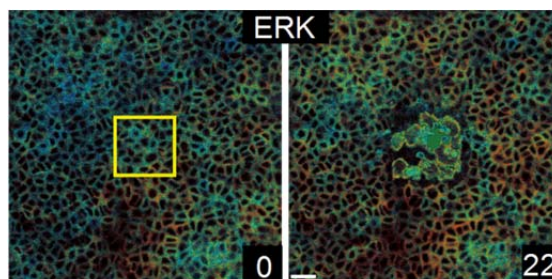
また、Ras や Rac1 を始めとする低分子量 GTP 結合タンパク質をターゲットとするバイオセンサーの感度も上昇させた。

- ①-2 FRET バイオセンサーを安定発現させる技術の開発を行った。FRET バイオセンサーの致命的欠点として、相同組み換えが起きやすく、培養細胞や哺乳動物に安定に高発現させる技術がないことがあった。松田らは、トランスポゾンを使うと、この欠点を克服できることを見出し、多数の FRET バイオセンサーを安定に発現する細胞株の樹立に成功した。これらの細胞株は、数日間

ERK の FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウス。(左上) 新生仔。(左下) 上記マウスをブルーライトで証明したもの。(右) 皮膚を二光子顕微鏡で観察した。膠原繊維は二次協調波画像で示している。表皮から軟骨まで観察できる。

にわたる活性変化の観察や、薬剤スクリーニングに威力を発揮している。

- ①-3 FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスを作成した。上記のように、トランスポゾンによる遺伝子導入法を用いると FRET バイオセンサーを安定に発現できることがわかったので、これをトランスジェニックマウスの作成に応用した。ERK、PKA、JNK、PI3K、Rac1、Cdc42 などの活性を測定できるトランスジェニックマウスの作成に成功した。これらのマウスを二光子顕微鏡で観察することにより、表皮の刺激により ERK および PKA の活性化が異なるタイムコースで起きることや、炎症を起こした際の好中球の皮下組織での活性化様式、さらには、ERK の活性と走化性とを同時に観察することで薬剤に対する好中球の反応性を多元的に解析することができた。



Eisuke マウスの表皮 (黄色部分) をレーザー焼却し、ERK 活性化の伝搬を可視化した。細胞質および核にバイオセンサーが発現する二種類のマウスを使い分けることができる。

②. ズームイン（高精細）とズームアウト（広視野・深部）観察を可能にする革新技術の開発（宮脇敦史・理化学研究所脳科学総合研究センター）

②-1 増殖中の培養細胞を追跡するソフトウェア TADOR を開発した。Fucci を発現する細胞について、半自動的に系譜を作成することができる。

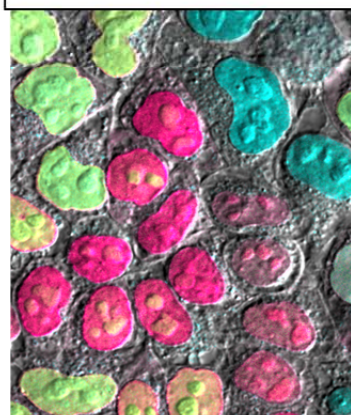
②-2 生体試料を透明化する水溶液 Scale 試薬を開発し、試料の表面から深部を観察する技術を開発した。3次元空間において構造間の距離を自動的に測定するソフトウェア RINZO を開発した。

②-3 オートファジー現象に伴う細胞内の pH 変化を利用して、サンゴ由来 pH 感受性蛍光タンパク質 Keima を用いた新規オートファジー検出系を開発した。また、この検出系を用い、新規のマクロオートファジーや、傷害ミトコンドリアがリソソームに運ばれて分解される現象（マイトファジー）を検出、可視化することに成功した。

②-4 細胞周期プローブ Fucci の第2世代（Fucci2）を作製した。Fucci2 プローブを発現する HeLa 細胞および NMuMG 細胞を作製し、抗がん剤の作用を再評価する実験系を確立した。特に、endoreplication cycle に入る細胞を高頻度に検出することができた。



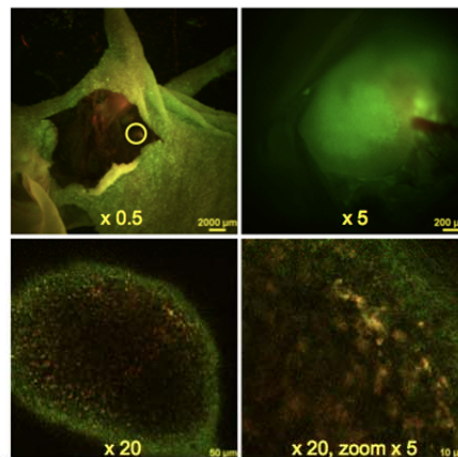
上：Scale により透過性を上げたマウス胎児（右）。下：次世代 Fucci は多色に細胞周期を分ける。



③. 新規 intravital 蛍光イメージングシステムの開発とがん微小環境の解析（今村健志・愛媛大学大学院医学系研究科）

③-1 蛍光ズーム顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡の両者を用い、蛍光タンパク質を発現する生体サンプルを使った同一領域の画像取得を行い、画像を比較し、至適光学条件を検討した。蛍光ズーム顕微鏡に共焦点レーザー顕微鏡のヘッドを組み合わせて、マウス全体から細胞レベルまでズームアップで観察できる新規生体蛍光観察システムの設計が完了した。

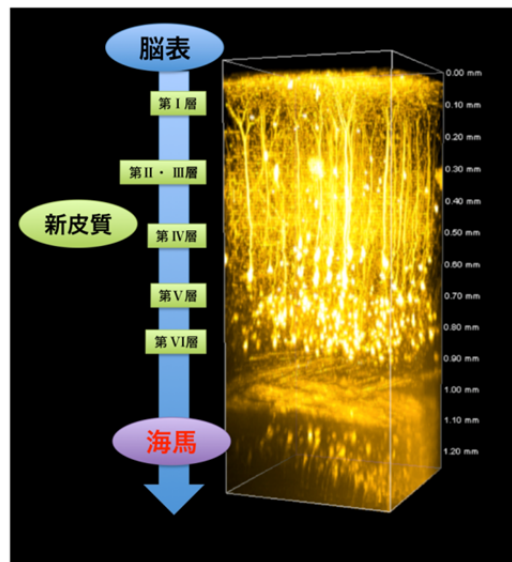
③-2 細胞周期を可視化する Fucci を導入した乳がん細胞株と線維肉腫細胞株を作製し、in vitro および in vivo で抗がん剤感受性などを含む細胞の機能解析をおこなった。in vivo で光学条件の検討を行うために、蛍光タンパク質を発現するマウスを用いて、生体骨髄、リンパ節、脳の in vivo イメージングを行うための動物固定器、麻酔器等を構築し、基礎データを取得した。アポトーシスイメージング Tg マウスに関しては、全身で SCAT3.1 を発現するマウスを用いた生体イメージングの基礎実験を終了した。



第一世代 Fucci 発現がん細胞を免疫不全マウスに移植し、蛍光ズーム顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡 A1 の両者を用い、0.5 倍から 100 倍までの倍率で同一領域の画像取得を行い、画像を比較した。

④. 生体深部の可視化と操作が同時に可能な個体用 *in vivo* 2光子顕微鏡の開発と応用 (根本知己・北海道大学電子科学研究所)

④-1 新たに設計したダイクロイックミラーなどの導入光学系や、新規レーザーや補償光学系を用いて、真の生体組織深部で「光」による観察と操作を実施可能とする *in vivo* 2光子顕微鏡の構築を行った。また、新規蛍光タンパク質や光機能性分子の導入より、神経伝達・開口放出の分子機構を解明する新規イメージング手法を検討した。具体的には、*in vivo* 生体脳観察のための麻酔等の保定システムの改善と共に、新型高感度蛍光検出器や新規光源の導入を行うことで、最深部の生体脳断層イメージングに成功し、世界で初めて海馬 CA1 ニューロンの *in vivo* イメージングに成功した。



生きたマウス脳における大脳新皮質全層と海馬の *in vivo* イメージング

④-2 生体深部観察における収差の問題を解決するため、まず光学ファントムにより、深部イメージングのための最適な光学条件を検索した。次に、実際に H-line マウス生体脳の *in vivo* イメージングにおいて、瞳充足率や球面収差補正量等の最適なレーザー光学条件をもとめた。一方で、マウス PFA 固定脳の深部観察の際、新規透徹剤として利用可能な新しい試薬を発見した。長波長系の tdTomato や最短波長のシリウスなどの新規蛍光タンパク質の発現・タグ化実験から、開口放出や小胞輸送に重要な分子の同時可視化を検討した。

⑤. 公募班員の主な研究成果

⑤-1 三輪らは、近赤外光を用いたマウス非侵襲蛍光イメージング技術の確立に向けて、特殊飼料の開発、プローブの応用に成功した。

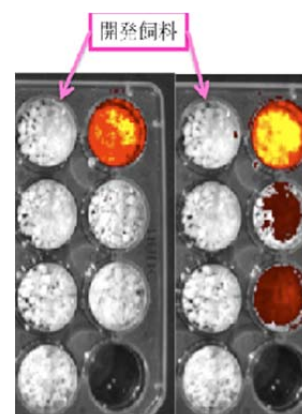
⑤-2 尾藤らは、CaMKII, CaMKI, CaMKK, CaMKIV などの活性測定プローブの最適化と改良を行い、活性化過程の実時間測定を行った。

⑤-3 神谷らは、超解像イメージングに適した分子内スピロ環化平衡特性を有する有機蛍光色素群を開発し、候補化合物の探索に成功した。

⑤-4 小澤らは、ゼブラフィッシュ個体のアポトーシス観察を可能にする新規蛍光プローブを開発した。

⑤-5 田邊らは、低酸素細胞内酸素濃度をレシオ測定により定量し得るルテニウム型発光プローブの開発に成功した

⑤-6 井上らは、AOD 素子によるランダムスキャン型 2光子励起顕微鏡を開発し、機能を付加・調整しつつ、多点 FCS 及び多点膜電位測定実験の条件設定を行っている。

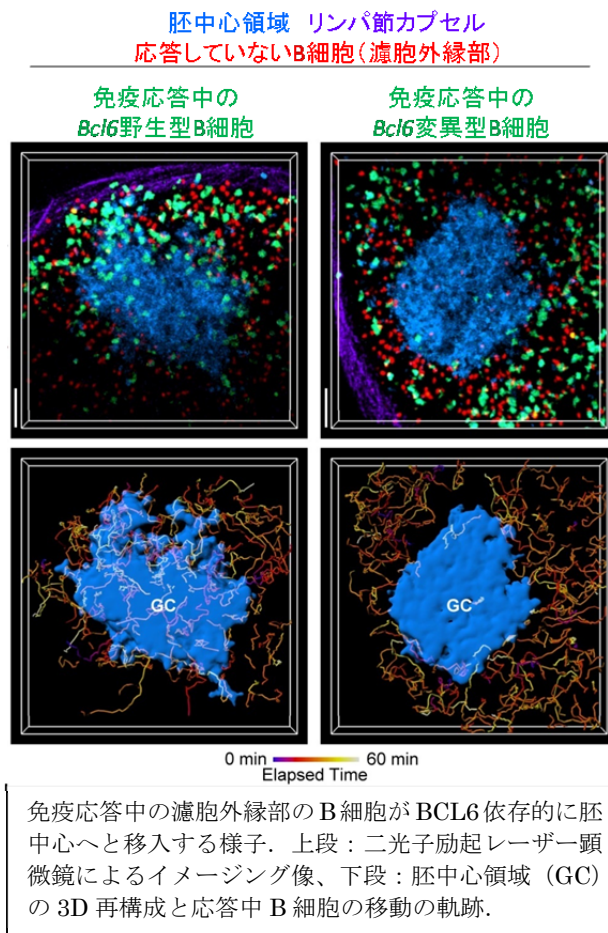


745nm(左)、675nm(右)で励起したマウス飼料の蛍光。左列が開発した飼料である。

項目 A02 多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明

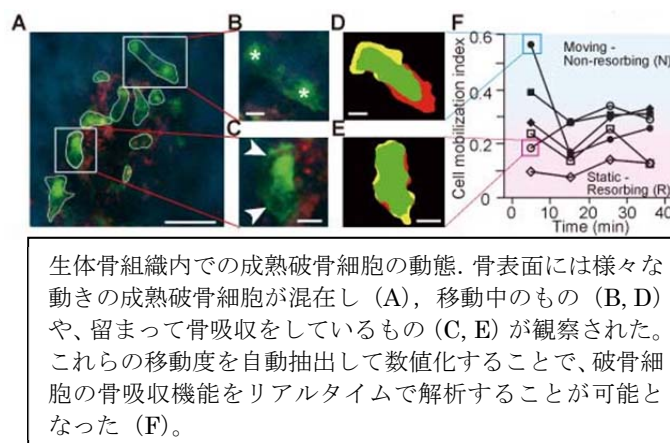
① 癌免疫応答と免疫病態の機能的二光子イメージング (岡田峰陽・理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター)

①-1 B リンパ球は、生体を脅かす細菌やウイルスなどの抗原に遭遇すると、これを根絶するために、自ら作り出す抗体を改良しながら長期的に産生する胚中心反応を起こす。ところが、B リンパ球が免疫組織のどこで胚中心反応のための細胞分化を開始し、その後どのように胚中心構造を形成するのか、これまで謎であった。今回、胚中心反応に必須の転写因子である *Bcl6* に注目し、*Bcl6* 発現の詳細な追跡と、*Bcl6* 機能が欠損した場合の B リンパ球の細胞移動のライブイメージング解析を行った。その結果、B リンパ球は胚中心が形成される場所の外側にある、濾胞外縁部と呼ばれる場所で *Bcl6* の発現を開始し、この *Bcl6* の発現によって胚中心の形成場所への細胞移動が可能になることを見出した。また、胚中心反応に必須のもう一種のリンパ球である、濾胞ヘルパー T 細胞と呼ばれる特殊な T リンパ球が、胚中心に滞在するために必須の受容体を、濾胞ヘルパー T 細胞のライブイメージングを用いた研究で明らかにした。これらの成果は、長期抗体産生や免疫記憶を促進する新しいワクチンの開発へとつながることが期待される。



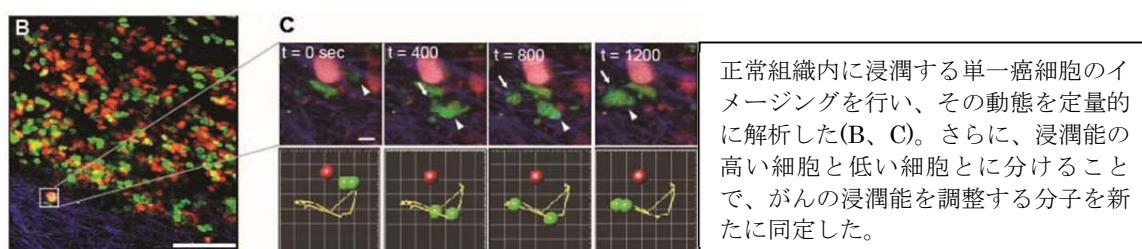
② 骨の生体イメージングによる骨髄細胞・骨転移癌の遊走・分化やニッチ環境の可視化 (石井優・大阪大学免疫学フロンティア研究センター)

②-1 これまで、従来極めて困難であると考えられていた生きた骨組織・骨髄腔の内部を二光子励起顕微鏡を用いて高い時空間分解能で観察することに成功してき



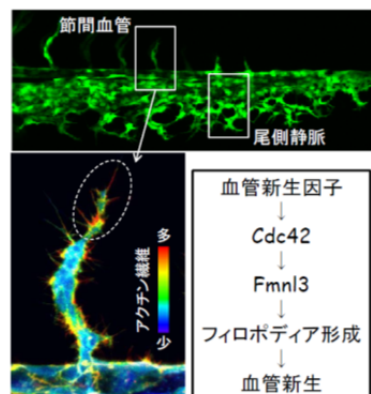
た。当該領域研究においては、本法をさらに改変・発展させ、古い骨を吸収して骨代謝を調節する破骨細胞の *in vivo* での活性制御機構をリアルタイムで解析することに成功した。さらには、慢性骨髄性白血病や多発性骨髄腫などの血液系悪性腫瘍や、骨転移性乳癌細胞の骨髄腔内での動態を生きた骨組織内で観察する系を構築した。すでに、蛍光標識した *bcr-abl* 発症白血病細胞を骨髄腔に定着させイメージングにより観察することに成功しており、平成24年度以降に抗がん剤耐性がん幹細胞の動態やそのニッチ環境の可視化にむけて研究を進める計画としている。

- ②-2 免疫不全マウスへのがん細胞移植（ゼノグラフト）系を用いて、ヒト大腸がん細胞の浸潤・転移の生体二光子励起イメージングについても解析を進めた。これにより、浸潤する細胞を1細胞レベルで同定し、それらで高発現する分子の同定にも成功した。

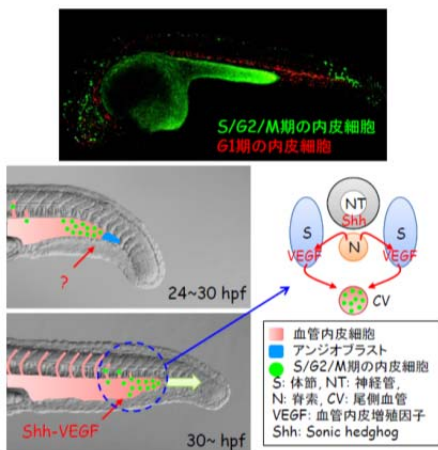


③ 生体イメージングによる血管新生シグナルの時空間制御機構の解明（福原茂朋・国立循環器センター研究所）

- ③-1 各種蛍光バイオセンサーを血管内皮細胞で発現するゼブラフィッシュを樹立し、血管新生における内皮細胞の“形態・運動”を制御するシグナル伝達系を生体イメージングにより解析した。伸長する血管の先端に位置する内皮細胞の先端端で、Cdc42 が活性化すること、さらにこの活性化 Cdc42 がフォルミンファミリーに属するアクチン制御因子 Formin-like 3 (Fmnl3) を介してフィロポディアを形成し、血管新生を制御していることを示した。



- ③-2 血管新生における“内皮細胞の細胞周期”を可視化し、その制御機構を解明するため、血管内皮細胞で特異的に細胞周期バイオセンサー



ゼブラフィッシュ胚における血管新生の観察 (上) 内皮細胞で GFP を発現するゼブラフィッシュの血管構造. (左下) 節間血管の形成過程における内皮細胞のアクチン細胞骨格.

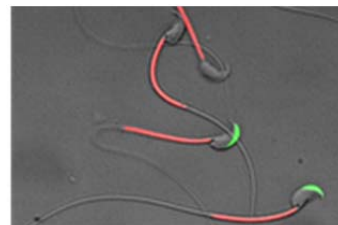
Fucci を発現するフィッシュを樹立し、解析した (図2)。①背側大動脈から細胞周期を回転させた内皮細胞が出芽し、背側に向かって遊走する過程で1回分裂をすることで、節間血管が形成されること、②尾側血管は、形成初期 (24~30 hpf) のアンジオブラストの発生と増殖、後期 (30~ hpf) の血管内皮細胞

血管で特異的に Fucci バイオセンサーを発現するゼブラフィッシュ

胞の増殖と後方への遊走により形成されることを示した。また、尾側血管形成後期の内皮細胞増殖は、Sonic hedgehog/Vegf-A シグナルに依存することが示された。

④. 公募班員の主な研究成果

- ④-1 伊川正人らは、緑色蛍光タンパク質で精子頭部の先体を、赤色蛍光タンパク質で精子ミトコンドリアを生体標識したトランスジェニックマウスを用いて受精のイメージングシステムを立ち上げた。
- ④-2 横須賀忠らは、負の補助刺激受容体 PD-1 の T 細胞受容体 (TCR) シグナルの制御メカニズムを、疑似抗原提示細胞膜「プレイナーメンブレン」を用いた全反射蛍光顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡による観察にて明らかにした。
- ④-3 齊藤健太らは、発光タンパク質 RLuc8 内の最適な分割位置の決定を行った。見出された RLuc8 の分割位置において、発光の回復・消失が起こることを確認した。
- ④-4 戸村道夫らは、用いる腫瘍株を作製し、腫瘍塊形成部位を決定した。腫瘍塊から所属リンパ節に移行した樹状細胞の生体内二光子顕微鏡での観察条件を設定した。
- ④-5 榊原明らは、マウス胚大脳スライスのライブ観察によりニューロン移動、極性化における細胞質微小管の動態を明らかにした。
- ④-6 天満敬らは、近赤外蛍光色素内包ラクトソームが MT1-MMP 認識アクチベータブルプローブとなり得る可能性を示した。
- ④-7 齋藤尚亮らは内耳に異常を呈する KO マウスの作製に成功し、松田らと共同でイメージングによる解析を行っている。
- ④-8 井上博文らは、Split GFP システムを導入した proHB-EGF および PLZF プロローブ発現する腫瘍細胞株に樹立した。
- ④-9 由井克之らは、DSRed 発現 OVA 特異的 T 細胞と gfp・OVA 融合タンパク質発現マラリア原虫感染肝細胞との相互作用の蛍光生体イメージング系を樹立した。
- ④-10 片貝智哉らは、二光子励起レーザー顕微鏡システムを用いたマウスのリンパ節生体イメージングの方法として、Intravital 法、Explant 法、Slice 法などを確立した。
- ④-11 上田陽一らは、下垂体後葉ホルモンを蛍光タンパク遺伝子の導入によって可視化したトランスジェニックラットを開発し、イメージングを行っている。
- ④-12 平野美奈子らは、イオンチャネルの構造状態の違いを 1 分子レベルで観察することに成功し、構造変化と機能変化を同時に計測する新しい測定法を開発した。
- ④-13 宮坂信彦らは、嗅覚神経回路を単一ニューロンレベルの解像度で可視化解析するためのトランスジェニックフィッシュシステムを樹立した。
- ④-14 実吉岳郎らは、Rac がシナプス構造可塑性へ関与する事を薬理的阻害および光活性化型 Rac により誘導できる事を証明した。
- ④-15 飯村忠浩らは、3 次元蛍光形態計測法による、骨細胞の形態および細胞間ネットワークの計測法を確立した。



頭部の先体を GFP、ミトコンドリアを RFP で標識したトランスジェニックマウス精子

7. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）

(1) 主な論文等一覧について

松田道行（英文原著論文 15 報、英文総説 2 報など）

Hirata E, Yukinaga H, Kamioka Y, Arakawa Y, Miyamoto S, Okada T, Sahai E, Matsuda M* (2012) In vivo fluorescence resonance energy transfer imaging reveals differential activation of Rho-family GTPases in glioblastoma cell invasion. *J. Cell Sci.* 125: 858-868

Kamioka Y, Sumiyama K, Mizuno R, Sakai Y, Hirata E, Kiyokawa E, Matsuda M* (2012) Live imaging of protein kinase activities in transgenic mice expressing FRET biosensors. *Cell Struct. Funct.* 37: 65-73

Yagi S, Matsuda M, Kiyokawa E* (2012) Suppression of Rac1 activity at the apical membrane of MDCK cells is essential for cyst structure maintenance. *EMBO Rep.* 13: 237-243

Aoki K*, Yamada M, Kunida K, Yasuda S, Matsuda M (2011) Processive phosphorylation of ERK MAP kinase in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 12675-12680

Goto A, Hoshino M, Matsuda M, Nakamura T* (2011) Phosphorylation of STEF/Tiam2 by protein kinase A is critical for Rac1 activation and neurite outgrowth in dibutyryl cAMP-treated PC12D cells. *Mol. Biol Cell* 22: 1780-1790

Komatsu N, Aoki K*, Yamada M, Yukinaga H, Fujita Y, Kamioka Y, Matsuda M (2011) Development of an optimized backbone of FRET biosensors for kinases and GTPases. *Mol. Biol. Cell* 22: 4647-4656

Nishioka T, Frohman MA, Matsuda M, Kiyokawa E* (2010) Heterogeneity of phosphatidic acid levels and distribution at the plasma membrane in living cells as visualized by a Foerster resonance energy transfer (FRET) biosensor. *J Biol Chem* 285: 35979-35987

宮脇敦史（英文原著論文 6 報、英文総説 2 報など）

Kurokawa H, Noda H, Sugiyama M, Sakaue-Sawano A, Fukami K, Miyawaki A*. (2012) Software for precise tracking of cell proliferation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 417 (3): 1080-1085.

Miyawaki A*. (2011) Proteins on the move: insights gained from fluorescent protein technologies. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 12 (10): 656-668.

Hama H, Kurokawa H, Kawano H, Ando R, Shimogori T, Noda H, Fukami K, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A*. (2011) *Scafe*: a chemical approach for fluorescence imaging and reconstruction of transparent mouse brain, *Nature Neuroscience*, 14 (11): 1481-1488.

Katayama H, Kogure T, Mizushima N, Yoshimori T, Miyawaki A*. (2011) A Sensitive and Quantitative Technique for Detecting Autophagic Events Based on Lysosomal Delivery. *Chemistry & Biology*, 18 (8): 1042-1052.

Sakaue-Sawano A, Kobayashi T, Ohtawa K, Miyawaki A*. (2011) Drug-induced cell

cycle modulation leading to cell-cycle arrest, nuclear mis-segregation, or endoreplication BMC Cell Biology, 12:2

今村健志 (英文原著論文 8 報、英文総説 1 報など)

Imamura T*, Hikita A, Inoue Y (2011) The roles of TGF- β signaling in carcinogenesis and breast cancer metastasis. Breast Cancer. [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s12282-011-0321-2

Inoue Y, Iemura S, Natsume T, Miyazawa K, Imamura T* (2011) Suppression of p53 Activity through the Cooperative Action of Ski and Histone Deacetylase SIRT1. J Biol Chem. 286: 6311-6320

根本知己 (英文原著論文 5 報など)

Ogata S, Miki T, Seino S, Tamai S, Kasai H, *Nemoto T. (2012) A Novel Function of Noc2 in Agonist-Induced Intracellular Ca²⁺ Increase during Zymogen-Granule Exocytosis in Pancreatic Acinar Cells. PLoS ONE 7(5): e37048.

Inada H, Watanabe M, Uchida T, Ishibashi H, Wake H, Nemoto T., Yanagawa Y, Fukuda A, *Nabekura J (2011) GABA regulates the multidirectional tangential migration of GABAergic interneurons in living neonatal mice, PLoS ONE, Vol. 6, No. 12, e27048

*Kozawa Y†, *Hibi T†, Sato A, Horanai H, Kurihara M, Hashimoto N, Yokoyama H, Nemoto T., Sato S(2011) Lateral resolution enhancement of laser scanning microscopy by higher-order radially polarized mode beam Optics Express, Vol. 19, Issue 17, pp. 15947-15954 (†: equally contributed)

岡田峰陽 (英文原著論文 5 報、英文総説 2 報など)

*Okada T., Moriyama S, Kitano M (2012) Differentiation of germinal center B cells and follicular helper T cells as viewed by tracking Bcl6 expression dynamics. Immunol Rev 247: 120-132

*Kitano M, *Okada T (2012) Four-dimensional tracking of lymphocyte migration and interactions in lymph nodes by two-photon microscopy. Methods Enzymol 506: 437-454

Kitano M, Moriyama S, Ando Y, Hikida M, Mori Y, Kurosaki T, *Okada T (2011) Bcl6 protein expression shapes pre-germinal center B cell dynamics and follicular helper T cell heterogeneity. Immunity 34: 961-972

石井優 (英文原著論文 7 報、英文総説 2 報など)

Ishii T, Kawamura S, Nishiyama I, Kikuta J, Ishii M* (2012) Use of intravital microscopy and in vitro chemotaxis assays to study the roles of sphingosine-1-phosphate in bone homeostasis. Methods Mol Biol 874: 129-1392

Ishii T, Shimazu Y, Nishiyama I, Kikuta J, Ishii M* (2011) The role of sphingosine 1-phosphate in migration of osteoclast precursors; an application of intravital two-photon microscopy. Mol Cells 31: 399-403

Kikuta J, Iwai K, Saeki Y, Ishii M* (2011) S1P-targeted therapy for elderly rheumatoid arthritis patients with osteoporosis. *Rheumatol Int* 31: 967-969

Ishii T, Kikuta J, Kubo A, Ishii M* (2010) Control of osteoclast precursor migration: A novel point of control for osteoclastogenesis and bone homeostasis. *IBMS BoneKey* 7: 279-286.

Ishii M*, Kikuta J, Shimazu Y, Meier-Schellersheim M, Germain RN. (2010) Chemorepulsion by blood S1P regulates osteoclast precursor mobilization and bone remodeling in vivo. *J Exp Med* 207: 2793 - 2798.

福原茂朋 (英文原著論文 7 報、英文総説 1 報など)

*Fukuhara S, Simmons S, Kawamura S, Inoue A, Orba Y, Tokudome T, Sunden Y, Arai Y, Moriwaki K, Ishida J, Uemura A, Kiyonari H, Abe T, Fukamizu A, Hirashima M, Sawa H, Aoki J, *Ishii M, *Mochizuki N (2012) The sphingosine-1-phosphate transporter Spns2 expressed on endothelial cells regulates lymphocyte trafficking in mice. *J Clin Invest* 122: 1416-1426

Minami M, Koyama T, Wakayama Y, *Fukuhara S, Mochizuki N (2011) EphrinA/EphA signal facilitates insulin-like growth factor-I-induced myogenic differentiation through suppression of the Ras/extracellular signal-regulated kinase 1/2 cascade in myoblast cell lines. *Mol Biol Cell* 22: 3508-3519

Zhang J, *Fukuhara S, Sako K, Takenouchi T, Kitani H, Kume T, Koh GY, *Mochizuki N (2011) Angiopoietin-1/Tie2 signal augments basal Notch signal controlling vascular quiescence by inducing delta-like 4 expression through AKT-mediated activation of β -catenin. *J Biol Chem* 286: 8055-8066

Noda K, Zhang J, *Fukuhara S, Kunimoto S, Yoshimura M, *Mochizuki N (2010) Vascular endothelial-cadherin stabilizes at cell-cell junctions by anchoring to circumferential actin bundles through α - and β -catenins in cyclic AMP-Epac-Rap1 signal-activated endothelial cells. *Mol Biol Cell* 21: 584-596

*Fukuhara S, Sako K, Noda K, Zhang J, Minami M, Mochizuki N (2010) Angiopoietin-1/Tie2 receptor signaling in vascular quiescence and angiogenesis. *Histol Histopathol* 25: 387-396

公募班員の主な論文

Yokosuka T*, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, Hashimoto-Tane A, Azuma M, Saito T* (2012) Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med* 209: 1201-1217

Tokuhiro K, *Ikawa M, Benham AM, Okabe M (2012) Protein disulfide isomerase homolog PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male infertility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 3850-3855

Kamiya M, Asanuma D, Kuranaga E, Takeishi A, Sakabe M, Miura M, Nagano T, Urano Y.* (2012) β -Galactosidase Fluorescence Probe with Improved Cellular Accumulation Based on a Spirocyclized Rhodol Scaffold. *J. Am. Chem. Soc.* 133:

12960-12963.

Yamada T, Yoshimura H, Inaguma , Ozawa T* (2011) Visualization of non-engineered single mRNAs in living cells using genetically encoded fluorescent probes. Anal. Chem. 83: 5708-5714.

(2)ホームページについて

蛍光生体イメージ領域のホームページ情報 (<http://www.lif.kyoto-u.ac.jp/imaging/>)

文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究「蛍光生体イメージ」

細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体イメージング

Multi-dimensional fluorescence live imaging of cellular functions and molecular activities

ホーム 研究概要 研究組織 活動状況 研究成果> リンク

ホーム > 新着情報・更新履歴

新着情報・更新履歴

- ・平成24年度イメージング講習会 応募締切延長のお知らせ (2012.06.04)
本日6月4日の応募締切になっていましたが、6月11日まで延長します。引き続き奮ってご応募ください。
応募方法等は [こちら](#)
- ・平成24年度イメージング講習会開催のお知らせ (2012.05.25)
「蛍光生体イメージ」総括班では、昨年引き続き、来る2012年7月24日(火)～27日(金)に愛媛大学医学部において、平成24年度イメージング講習会を開催します。奮ってご応募ください。
- ・平野美奈子班員の所属を変更しました。(2012.05.21)
- ・研究成果を更新しました。(2012.05.14)
- ・レクチャーコースのご案内(2012.05.14)
来る2012年7月9日(月)～12日(木)に理研CDBIにおいて、教理生物学サマーレクチャーコース 第1回 教理モデリングの基礎とその応用が開催されます。
基礎的な概念の導入レクチャーから実際の研究例を用いた各論の理解まで下記の要領でカバーする4日間です。「自分の実験系を教理モデル化して解析したい」「時系列データや画像データの定量解析から面白い発見をしたい」けど、教理生物学の専門家と議論を深める基礎知識が不足している...そんな実験研究者のためのサマーコースです。
対象者:1)実験系(細胞や動物)をモデル化して解析したい(PhD)の方

copyright© 細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体イメージング all rights reserved 2012.06.04 Updated

- ▶ **バーチャルイメージングセンター**
蛍光生体イメージングに興味のある研究者をサポートする活動です。
- ▶ **フォーラム**
蛍光生体イメージングの技術から応用に関するまでの論文を紹介、評論するサイトです。参加自由ですので、奮ってご参加ください。
- ▶ **DNA配布サービス**
蛍光タンパク質等のhumanized cDNAを配布しています。
- ▶ **実験プロトコルなど**
蛍光生体イメージング実験に関するプロトコルからイメージング機器に関する情報まで幅広く技術を紹介しています。奮ってご利用ください。
- ▶ **オンライン総説**
同じ化学とのタイアップによる本領域計画班員のオンラインの総説です。
- ▶ **動画ギャラリー**
「百聞は一見に如かず」班員の自信作をご覧ください。

- ① 研究概要、研究組織、活動状況、研究成果を公開している。
- ② バーチャルイメージングセンターでは、技術的問題点に対する質問等に答えている。一般からの質問が少ない場合は、問題提起を行って班員間での意見交換を行うことにより、情報公開を計っている。
- ③ フォーラムでは、関連する論文、および班員の論文を紹介し、この分野での研究の進歩を発信している。
- ④ DNA 配布サービスは、新規蛍光タンパク質の cDNA をヒト化して合成し、配布している。
- ⑤ 実験プロトコルは、各研究室のプロトコルを公開している。intravital imaging については、今後、より充実させる予定である。
- ⑥ オンライン総説は、DO J I N社とタイアップして、総説を班員に書いてもらい、それをオンラインで公開している。
- ⑦ 動画ギャラリーは、各班員の自信作の動画を発表することで、この領域の研究状況を公開している。

(3) 公開発表について

① 領域主催のシンポジウム

- ①-1 『生体の生理や病理の統合的解明を目指す「光」を用いた可視化・操作法の展開』第 63 回日本細胞生物学会大会 サテライトシンポジウム、北海道大学、札幌市、2011 年 6 月 29 日。本領域が主催するシンポジウムを、細胞生物学会の前日に行った。松田道行、根本知己がオーガナイズし、国内の研究者に活動をアピールした。参加者は約 300 名。
- ①-2 第 1 回 Vivid Workshop、アートルンドホテル蓼科、茅野市、2011 年 3 月 10-12 日。若手研究者を対象とする少人数制のワークショップで、合宿形式で研究発表と意見交換を行うものである。参加者は 30 名であった。活発な意見交換が行われた。領域代表者および計画班員が出席し、若手のアクチベーションを行った。
- ①-3 第 2 回 Vivid Workshop、瑠璃光、石川県加賀市、2012 年 3 月 1-3 日。第 1 回とほぼ同様の形式で行った。

② 領域共催のシンポジウム

- ②-1 “Casting light on life. Multidimensional approaches for imaging the molecules of life.” The 16th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience, シェラトン都ホテル東京、東京、2010 年 12 月 1-2 日。本領域のキックオフシンポジウムと位置づけた本シンポジウムは宮脇敦史、松田道行、渡辺恭良の 3 名がオーガナイズした。海外からの著名な研究者を招き、計画班員が全員出席し、その研究内容を海外の研究者と討論した。参加者は 200 名。
- ②-2 「がんの蛍光生体イメージング」 公開シンポジウム、千里ライフサイエンスセンタービル、大阪府豊中市、2011 年 8 月 11 日。新学術領域「がん研究支援分野の特性等を踏まえた支援活動」との共催による公開シンポジウム。参加者は約 200 名。
- ②-3 「新規光源を駆使した生体光イメージングと光操作の新展開」第 34 回日本分子生物学会年会・ワークショップ。パシフィコ横浜、横浜、2011 年 12 月 13-16 日。今村健志と根本知己がオーガナイズした。
- ②-4 「多細胞動態の力学的制御とそのモデル化」 第 1 回多細胞動態研究のためのブレインストーミング・ワークショップ 理化学研究所 CDB、神戸、2012 年 6 月 26-27 日。関連する新学術領域が共催するシンポジウムで、当研究室からも発表を行った。

③ 領域主催の技術講習会

- ③-1 「平成 23 年度イメージング講習会」、愛媛大学医学部、愛媛県東温市、2011 年 7 月 19-21 日。3 日間にわたる講義と実習を行った。15 名の参加者と 10 名の講師が参加した。二光子顕微鏡をつかった intravital imaging から超解像顕微鏡まで、最新技術の講習会となった。具体的には、初日の講義は、細胞の心を読み解く蛍光ライブイメージング(松田道行/京都大学)、二光子イメージングの基礎と応用(根本知己/北海道大学)と構造化照明法による超解像顕微鏡の理論と実際(及川義朗/ニコンインステック)で、第二・三日目の実習は、実習 1: 超解像イメージング(及川義朗/ニコンインステック)、実習 2: 蛍光顕微鏡と共焦点顕微鏡の基礎(井上博文/愛媛大学、今村健志/愛媛大学)、

実習 3 : 二光子イメージング (本蔵直樹 / 愛媛大学、根本知己 / 北海道大学) と実習 4 : 画像処理と画像解析 (塩田良 / パーキンエルマージャパン) をおこなった。今回、全国からの受講生に総括班で旅費を負担して専門的技術を教育する画期的企画を成功させ、我が国のイメージング研究の啓蒙に役立ったと考えている。

- ③-2 「第 1 回 画像解析講習会」、京都大学医学部、京都市、2012 年 3 月 6-7 日。2 日間にわたる講義と実習を行った。10 名の参加者と 3 名の講師 (1 名の米国からの講師を含む) が参加した。MetaMorphNX を使った技術講習会である。
- ③-3 「バイオセンサー発現マウスを使った二光子顕微鏡技術講習会」、京都大学医学部、京都市、2012 年 3 月 21-22 日。2 日間にわたる講義と実習を行った。10 名の参加者と 4 名の講師が参加した。二光子顕微鏡をつかった *intravital imaging* の技術講習会である。
- ③-4 「3D タイムラプス講習会～三次元世界で細胞を観察する」、京都大学医学部、京都市、2012 年 5 月 8 日。10 名の参加者と 2 名の講師が参加した。共焦点レーザー顕微鏡をつかった長時間タイムラプスイメージングの技術講習会である。
- ③-5 「3D タイムラプス講習会～三次元世界で細胞を観察する」、京都大学医学部、京都市、2012 年 6 月 19 日。10 名の参加者と 2 名の講師が参加した。上記講習会が定員オーバーのため、追加で行った。

④計画班員の招待講演

松田道行 (国外 4 回、国内多数)

Michiyuki Matsuda: Stable expression of FRET biosensors warrants new applications. 2012 Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology, Annual Meeting, COEX, Seoul, Korea, May 30 - June 1, 2012

Michiyuki Matsuda: Live cell imaging of oncogene signaling. International Scientific Coordination Network (ISCN), Groupement de Recherche (GDRI) "FRANCE - JAPAN". Mercure Hotel. Montpellier, France, November 22-25, 2011

Michiyuki Matsuda: Three-dimensional imaging of signaling molecules with FRET biosensors. Cell Signaling Networks, 13th International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) Conference, 1st Panamerican Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB) Conference and 3rd Meetings of the Signal Transduction & Oxidative Stress Branches of Sociedad Mexicana de Bioquímica, Mérida, Yucatán, México, October 22-27, 2011

Michiyuki Matsuda: Illuminating Ras Activation in Space and Time 10th FASEB Summer Research Conference on Regulation and Function of Small GTPases. Saxtons River, Vermont, USA. June 05 -10, 2011

宮脇敦史 (国外 4 回、国内多数)

Atsushi Miyawaki: New Fluorescent Probes and New Perspectives in Bioscience, 1st POSTECH International symposium on Bio-Imaging, Pohang, Korea, September 29, 2011.

Atsushi Miyawaki: New Fluorescent Probes and New Perspectives in Bioscience, 2011
Champalimaud Neuroscience Symposium, Lisbon, Portugal, September 19, 2011.

Atsushi Miyawaki: New Fluorescent Probes and New Perspectives in Bioscience, Cold
Spring Harbor Asia Conference on New Advances in Optical Imaging of Live Cells
and Organisms, Suzhou, China, May 9, 2011.

Atsushi Miyawaki: 3D quantifying the association of proliferative neural stem cell
nuclei with blood vessels in the SGZ, Light-based approaches to neural circuit
reconstruction, Janelia Farm, USA., October 25, 2010.

今村健志 (国外 0 回、国内多数)

根本知己 (国外 4 回、国内多数)

Ryosuke Kawakami, Terumasa Hibi, Tomomi Nemoto: Development of "in vivo"
multi-photon and super-resolution microscopy for elucidation of neural activity ,
The France-Japan workshop "Bio-inspired approaches : Micro- and Nano-
Architectures, Materials & Imaging", the Institut Européen de Chimie et Biology
(IECB), Bordeaux, France, October 11-12, 2011

Nemoto Tomomi: "in vivo" functional imaging of cell physiology by using multi-photon
excitation process, ETH seminar, Die Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich,
Switzerland, April 21, 2011

Ipponjima Sari, Terumasa Hibi, Kozawa Yuichi, Horanai Hibiki, Sato Ayano, Kurihara
Makoto, Hashimoto Nobuyuki, Yokoyama Hiroyuki, Sato Shunichi, Nemoto
Tomomi,: Improvement of the spatial resolution in two-photon microscopy with a
vector beam generated by liquid crystal devices, Focus On Microscopy 2012, Republic
of Singapore , Singapore , April 1-4, 2012,

石井 優 (国外 7 回、国内多数)

Masaru Ishii: Roles of S1P in osteoclast regulation and bone physiology, Gordon
Research Conference "Glycolipid & Sphingolipid Biology", Il Ciocco, Barga, Italy,
April 22-27, 2012

Masaru Ishii: Roles of S1P in osteoclast regulation and bone remodeling, 2011 FASEB
Summer Research Conference "Lysophospholipid Mediators in Health & Disease, Il
Ciocco, Barga, Italy, August 14-19, 2011

Masaru Ishii: Osteoclast Migration, Differentiation and Function visualized by
Multiphoton Imaging. Advances in Targeted Therapies Meeting 2011, Dubrovnik,
Croatia, April 6-10, 2011

Masaru Ishii: Dynamic live imaging of bone marrow cells by using intravital 2-photon
microscopy. The CSI-IFReC Joint Symposium on Immunology, Hangzhou, China,
November 4-6, 2010

Masaru Ishii: Imaging the Mechanisms of Osteoclast Migration, Differentiation and Function. 2010 Annual Meeting of American Society for Bone and Mineral Research, Toronto Convention Center, Toronto, October 15-19, 2010

Masaru Ishii: Visualization of bone marrow cavity by using intravital two-photon microscopy, 22nd Annual Meeting of the Korean Society of Molecular and Cellular Biology, COEX Center, Seoul, October 7-8, 2010

Masaru Ishii: Chemokine-mediated migration control of osteoclast precursors visualized by live bone imaging. 3rd International Conference of Osteoimmunology, Santorini, Greece, June 20-25, 2010

岡田 峰陽 (国外 2 回、国内 6 回)

Takaharu Okada: Imaging of lymphocyte dynamics during the germinal center formation in the lymph node, Invited Seminar at School of Biological Sciences, University of Auckland, Auckland, New Zealand, February 20, 2012

Takaharu Okada: Imaging of lymphocyte dynamics during the germinal center formation in the lymph node, Invited Seminar at Mallaghan Institute of Medical Research, Wellington, New Zealand, February 27, 2012

福原茂朋 (国外 1 回、国内 5 回)

Shigetomo Fukuhara: Visualization of endothelial cell dynamics during vascular network formation by in vivo bioimaging. Cell Signaling Network 2011, Merida, Mexico, October 26, 2011

(4)「国民との科学・技術対話」について

共催・後援によるシンポジウム：

第 27 回日本微生物生態学会公開シンポジウム「サイエンスイラストをセンスよく美しく描く法則」(2011 年 10 月 10 日)： プロのサイエンスイラストレーター、科学者であるが自分でもイラストを描ける研究者、描くことが必ずしも得意でない研究者、にそれぞれの立場からのサイエンスイラストレーションに関する講演を実施した。

第 34 回日本分子生物学会 フォーラム企画「お悩み解決！サイエンスイラスト！ 描く？頼む？」(2011 年 12 月 15 日)： プロのサイエンスイラストレーター、イラストに定評のある科学者、出版関係者に登壇していただき、それぞれの立場から、研究紹介において図の使い方で気をつけるべき点を取りあげて講演していただいた。

班員による講演など：

愛媛県立松山南高等学校の平成 22 年度指定スーパーサイエンスハイスクール (SSH) の高大連携授業： 今村健志が先端医療を担当し、「オワンクラゲと医学の不思議な関係」のタイトルで 35 名の高校生と引率教員に向けて講義をおこなった。蛍光タンパク質の発見者である下村脩博士のノーベル賞にまつわる話題から、本研究班で行っている蛍光タンパク質を利用したがん研究までを動画を使いながらわかりやすく説明した結果、多くの高校生が熱心に聴講してくれ、授業を通して当該研究分野に興味・関心を待たせることに成功した。

第 16, 18 回「細胞生物学ワークショップ」(北海道大学、2010 年、2011 年)： 根本知己が講師として、2 光子顕微鏡を中心とした光学顕微鏡技術に関して、大学院生や若手研究者に対して教育を実施した。

電子科学研究所一般公開・サイエンストーク「脳の不思議・心の謎」(2012 年 6 月)： 根本知己が研究成果を市民に解説した。

(独) 理化学研究所横浜研究所の一般公開イベント (2011 年 10 月 8 日)： 岡田峰陽および横須賀忠が本研究費の研究をポスターや動画を用いて紹介。

サイエンスアゴラ “はばたけ理系女子！未来の科学技術の世界で活躍しよう” (2011 年 11 月 19 日)： 神谷真子が講演を行った。

北海道大学・電子科学研究所・オープンラボ (2011 年 6 月)： 齋藤健太が、市民に対して自身やラボの研究内容を紹介した。発光・蛍光を実際に持つ生物として「オワンクラゲ」を新潟県加茂水族館よりお借りして展示した。多くの小、中、高校生や親子連れが訪れた (~500 名)。

名古屋大学鶴舞祭 (2011 年 6 月 11, 12 日)： 榊原明が研究室公開をした。25 名の参加者があり好評であった。

画像提供など：

NHK (E テレ) の高校講座 生物「体液と生体防御 ～体を守る細胞のネットワーク～」： 2011 年 12 月 9 日 (金) 14:40~15:00 に放送された内容のために、岡田峰陽の研究成果を紹介する免疫細胞イメージング動画の提供した。

iGEM Hokkaido U 主催「サイエンスアートギャラリー」(2011年7月): 根本知己の
蛍光顕微鏡像を提供した。

NHK (E テレ) 名医に Q 「骨粗鬆症の治療」(2011年11月放送) 中の「カラハシ未来
研究所: 破骨細胞の動きを撮れ!」にて、石井優の研究が紹介され、この放送のために
動画の提供を行った。

今後の予定:

文科省後援、日本免疫学会主催「免疫ふしぎ未来 2012」2012年8月19日予定:、横須
賀忠がショートトークにて「目で見える免疫の仕組み」と題し、イメージングの免疫学へ
の応用を講演する。また同イベントにて、岡田峰陽が蛍光顕微鏡を用いて、本研究費の
研究を紹介するためのアトラクションを行う。

東北地方太平洋沖地震被災研究者支援:

総括班から「試料供給」を行った。具体的には、細胞株、抗体、プラスミド等を中心に試
料を供給した。

(5) 主な受賞

松田道行

平成 23 年 10 月 28 日 平成 23 年度持田記念学術賞

石井優

平成 22 年 4 月 13 日 科学技術分野の文部科学大臣表彰・若手科学者賞

平成 22 年 11 月 18 日 第 41 回アステラス病態代謝研究会・最優秀理事長賞

平成 23 年 12 月 6 日 長寿科学振興財団若手研究者表彰事業・会長賞

(6) 若手研究者のプロモーション

石井優 (計画研究・代表研究者): 大阪大学准教授⇒同・教授

中村岳史 (計画研究・分担研究者): 京都大学講師⇒東京理科大学教授

清川悦子 (計画研究・分担研究者): 京都大学講師⇒金沢医科大学教授

戸村道夫 (公募研究・代表研究者): 東京大学助教⇒京都大学准教授

平野美奈子 (公募研究・代表研究者): 理化学研究所研究員⇒光産業創成大学院大学講師

8. 研究組織と各研究項目の連携状況

研究組織

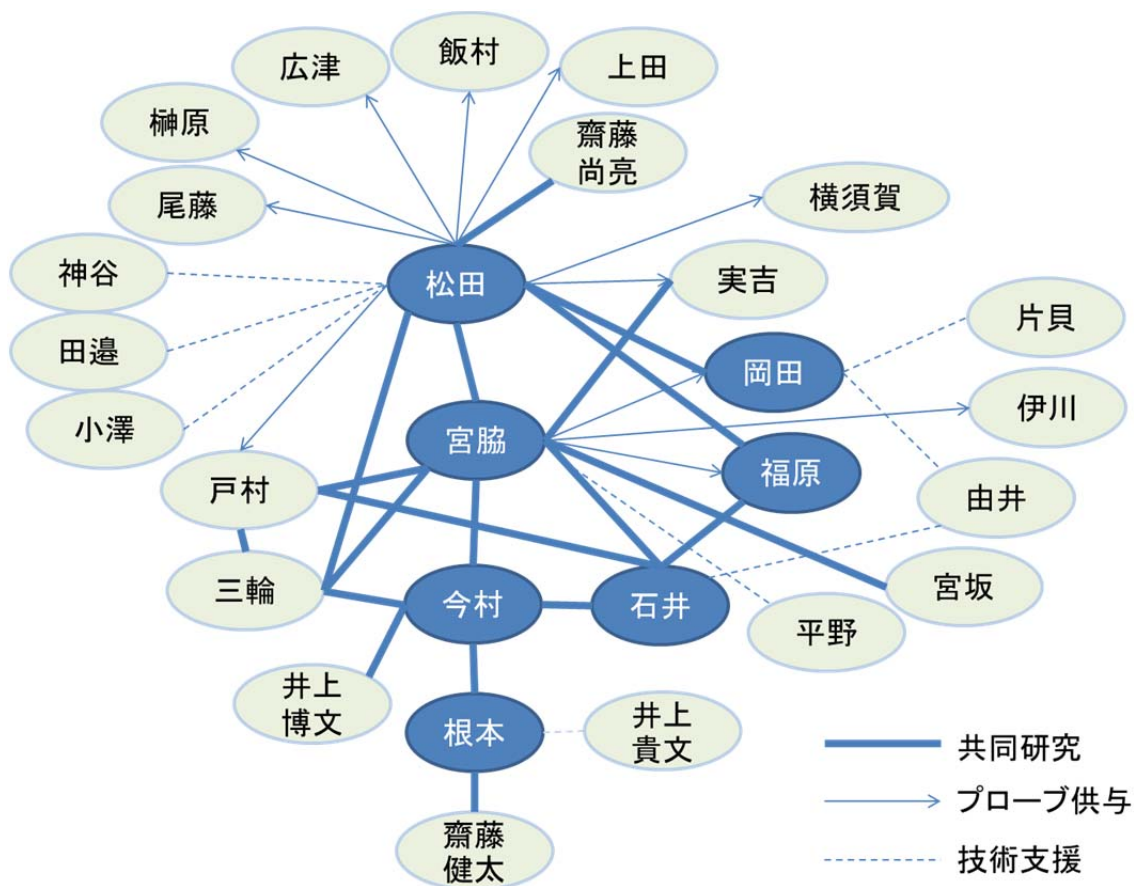
研究課題名	機関・所属・職名	研究者
A01 計画班		
細胞内情報伝達系の多次元 FRET イメージング	京都大学・生命科学研究所・教授	松田 道行
ズームイン（高精細）とズームアウト（広視野・深部）観察を可能にする革新技術の開発	独立行政法人理化学研究所・研究員	宮脇 敦史
新規 i n t r a v i t a l 蛍光イメージングシステムの開発とがん微小環境の解析	愛媛大学・医学系研・教授	今村 健志
生体深部の可視化と操作が同時に可能な個体用 i n v i v o 2 光子顕微鏡の開発と応用	北海道大学・電子科学研究所・教授	根本 知己
A01 公募班		
近赤外 T e t デグラトプローブによる新規時空間分解イメージング手法の開発	筑波大学・人間総合・講師	三輪 佳宏
神経情報書込の分子機構解明を目指した C a M キナーゼ活性プローブ開発と多重可視化	東京大学・医学系研・准教授	尾藤 晴彦
超解像イメージングに資する新規多色・多機能蛍光色素群の開発	東京大学・医学系研・助教	神谷 真子
分割蛍光タンパク質再構成法を用いた生理機能イメージング技術の開発	東京大学・理学系・教授	小澤 岳昌
病的細胞の選択的可視化を指向した低酸素応答性蛍光プローブの開発	京都大学・工学系研・准教授	田邊 一仁
ランダムスキャン 2 光子励起顕微鏡による神経細胞機能の可視化	早稲田大学・理工学術院・教授	井上 貴文
A02 計画班		
骨の生体イメージングによる骨髄細胞・骨転移癌の遊走・分化やニッチ環境の可視化	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授	石井 優
癌免疫応答と免疫病態の機能的二光子イメージング	独立行政法人理化学研究所・研究員	岡田 峰陽
生体イメージングによる血管新生シグナルの時空間制御機構の解明	独立行政法人国立循環セ・室長	福原 茂朋
A02 公募班		
分割 R l u c e r V e n u s を用いたシナプス形成・消失のリアルタイムイメージング	大阪大学・産業科学研究所・助教	齊藤 健太
樹状細胞による末梢組織由来抗原の C D 8 T 細胞に対する提示経路の可視化による解明	京都大学・医学研・准教授	戸村 道夫
三次元脳組織内イメージングによるニューロン極性化メカニズムの解明	名古屋大学・医学系研・助教	榊原 明
がんの生命現象解明のためのナノキャリア型近赤外蛍光アクチベータブルプローブの開発	京都大学・薬学研・助教	天満 敬

A02 公募班 (続き)		
受精・着床の生体内蛍光イメージングと不妊・不育の病態解明	大阪大学・微生物病研究所・准教授	伊川 正人
聴・平衡覚器官のイメージング解析～1分子から個体レベルまで～	神戸大学・バイオシグナル研究セ・教授	齋藤 尚亮
HB-EGF前駆体切断機構を利用したSHEDDING活性可視化と腫瘍転移予測	愛媛大学・医学系研・講師	井上 博文
線虫におけるRasの活性化をモデルとしたタンパク質の活性の立体ライブイメージング	九州大学・理学系・助教	広津 崇亮
二光子顕微鏡によるマラリア肝細胞期免疫防御の生体イメージング	長崎大学・医歯薬・教授	由井 克之
T細胞のリンパ節間質高速遊走における細胞内動態と組織微小環境	関西医科大学・医学部・講師	片貝 智哉
多次元蛍光イメージングを応用した下垂体後葉ホルモンの新たな脳内生理機能の探索	産業医科大学・医学部・教授	上田 陽一
蛍光色素を利用したイオンチャネルの開閉機構の可視化	光産業創成大学院大学・光バイオ・講師	平野美奈子
多角的蛍光イメージングによる嗅覚神経回路の機能構築原理の解明	独立行政法人理化学研究所・研究員	宮坂 信彦
ユビキチン化と抑制性マイクロクラスターの分子イメージング解析	独立行政法人理化学研究所・研究員	横須賀 忠
光活性化蛋白質を用いた二光子機能イメージング法の開発とシナプス構造可塑性の解析	独立行政法人理化学研究所・研究員	実吉 岳郎
3次元蛍光イメージングによる骨の形態と機能のヘテロジェナイエティの網羅的可視化	東京医科歯科大学・gCOE 特任准教授	飯村 忠浩

各項目間の連携状況:

班員間で活発に共同研究が行われている。以下にいくつか例示するが、これ以外にも多数共同研究が進んでいる。特に、松田、宮脇が作成しているプローブは多くの班員が利用するところとなっている。また、公募班員の大学に納入する二光子顕微鏡の仕様等について、石井や岡田がアドバイスしている。次ページにはネットワークを図で示し、下記には代表例を記載する。

- ①宮脇と今村は、Fucci プローブの開発と、その *in vivo imaging* において共同研究を続けており、これは班を越えた共同研究チームを作っている。
- ②石井と福原は、脂質メディエーターS1Pの生体内動態制御機構について共同で研究を進め、論文を発表した (Fukuhara et al., *J Clin Invest*, 2012)。
- ③石井と戸村との共同研究により、戸村らが作成した蛍光リポーターマウスを用いて、単球系破骨前駆細胞の体内循環動態の可視化に成功した (現在論文投稿中)。
- ④福原は、松田および宮脇の作成した Rho ファミリー低分子量 G タンパク質 FRET バイオセンサーおよび Fucci 細胞周期バイオセンサーを用いて研究を進め、投稿準備中である。
- ⑤齋藤、戸村らを始め、複数の研究室が京都大学にて二光子顕微鏡技術を習得し、松田らとの共同研究へと発展させている。



9. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）

主な購入備品：

- ① 走査型顕微鏡（平成 22 年度、総括班）： 生体蛍光イメージング講習会実施のために、京都大学に導入した。動物実験施設の認可等により講習会の実施が遅れたが、平成 23 年度に第一回講習会を行った。また、なお、講習会とは別個に、要望があれば、技術指導を行っている。これまでに齋藤ら、戸村らの研究室と共同研究を行ってきた。
- ② 初年度には、計画班員の研究室ではさまざまな光学機器を導入した。たとえば宮脇らは、波長変換 OPO を導入し、超短パルスレーザーと組み合わせることにより、レーザーのチューニング領域を長波長側に拡張することが可能となった。宮脇らが開発する赤色の蛍光タンパク質を励起する手段として研究開発を進めている。とくに試料の深部観察がより容易になった。Scale 技術については、さらに抗体の組織深部への拡散を飛躍的に促進する試薬の開発を進めている。通常よりもはるかに大量の抗体が必要となり、調達のために、研究費を効果的に使用している。

ワークショップなど：

- ① 若手ワークショップ： 毎年 10 数名の若手研究者と、計画班員数名とで Closedかつ Intensive なディスカッションを行い、通常の学会では得られない情報の共有と、Science とは何かというメッセージを若手研究者に伝える努力をしている。参加費はすべて総括班で負担している。

- ② 技術講習会： 愛媛大学において4日間の集中技術講習会、および京都大学における短期間の技術講習会を行っている。参加者への旅費および講師への謝金等に充当している。
- ③ シンポジウム： 年1回のシンポジウムを行っており、講師の謝金および旅費に充当している。

10. 今後の研究領域の推進方策

項目 A01 多次元蛍光生体イメージング技術の高度化： 研究は順調に進んでいると考えている。宮脇らの Fucci マウスはもはや世界標準となりつつあり、日本でも多くの研究者が使い始めている。また、Scale の開発に引き続き、Zeiss 社や Olympus 社から長動作距離の対物レンズがこれに対応するべく発売された。この技術は組織立体構築の観察に革命をもたらすだろう。一方、松田らの FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスの開発は、今後、新しい研究の潮流を起こすと期待している。今後、期待されているのは、この成果を世界に発信するべく質の高い論文を書くことであると認識している。これは、残りの研究期間に全力を持って当たりたい。

項目 A02 多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明： さまざまな領域の研究者が蛍光生体イメージングを使って続々と成果を出している。また、既述のように、項目 A01 の研究者との共同研究も活発に行われており、今後もこの流れで研究を進めたい。しかし、公募班員の中にはまだ生体イメージングまで届いていない研究者もいるので、若手研究者を Vivid Workshop に招聘して、蛍光生体イメージング技術の啓蒙活動を行う。

技術支援： 二光子顕微鏡を使った intravital imaging をより活発化させる必要がある。この顕微鏡の値段や急速な進歩を考えると、各研究施設に共同研究施設を作って、そこで研究者が研究を行う体制を整える必要がある。京都大学では昨年度、領域代表者が管理責任者として「蛍光生体イメージング室」を開設した。学内および文部科学省の施設整備費などの予算を得て、二光子顕微鏡および生体イメージング用共焦点レーザー顕微鏡を複数台設置したい。ここを拠点に、1日で終了できる内容の intravital imaging の講習会を月1回程度行って、普及活動を進めるようにしたい。また、本領域の終了後もそのような活動を継続できるようにするための機構を設置する予定である。一方、愛媛大学で進めている講習会では数日にわたる講習会でより高度な技術の講習会を行うことで相補性を高める。

シンポジウム： 領域の方針として、シンポジウムは他の財団や学会と共催で行うことにしている。平成 22 年度のキックオフシンポジウム（武田財団との共催）、平成 23 年度の細胞生物学会のサテライトシンポジウムに続き、平成 24 年度は分子生物学会で松田、宮脇がシンポジストとして講演する予定であり、平成 25 年には千里ライフサイエンス財団との共催でシンポジウムを行うなど、聴衆を絞りやすい形での宣伝活動を行ってきた。今後もこの方針を継続するが、最終年度には、外国からのゲストやポスドクを招待する形での、成果の国外発信を目指すシンポジウムを実施したいと考えている。

11. 総括班評価委員による評価の状況

氏名	所属	職	専門
米田 悦啓	大阪大学医学研究科	研究科長	細胞生物学
服部 成介	北里大学薬学部	教授	生化学
竹安 邦夫	京都大学生命科学研究科	教授	生物物理・光学
小林 久隆	米国国立がん研究所	主任研究官	バイオイメージング

平成 23 年度の研究報告会並びに総括班会議には、小林、米田両氏に出席いただき、評価をいただいた。平成 24 年度には、中間評価書を送付し、書面にての評価をお願いした。

米田悦啓評価委員：

多次元蛍光生体イメージング技術の高度化を図り、その技術を駆使して様々な生命現象の理解を進めるという、本新学術領域研究の目的に沿い、領域代表のリーダーシップの下、Vivid Life Science の創成に向け、極めて順調に研究が進展していると思われる。FRET バイオセンサー発現トランスジェニックマウスの開発、組織透過性技術開発、細胞周期第 2 世代プローブの開発など、今後の活用により全く新しい知見が得られる可能性を予感させる、わくわくするような成果が得られている。また、シンポジウムや技術講習会などを実施し、技術の普及に積極的に取り組んでいる点も高く評価できる。バーチャルイメージングセンターの活用方法をさらに工夫することにより、領域全体の活性化がさらに進むと思われる。

竹安邦夫評価委員

計画研究の進捗状況、論文発表とも順調であると思われる。FRET バイオセンサー発現トランスジェニックマウスができたこと、細胞周期センサー Fucci の技術の敷衍化とより使いやすいセンサーへの改良が進んだことは、「生きたマウスで情報伝達研究」という本領域の当初の目的完遂の基礎となろう。また、真の生体組織深部で「光」による観察と操作を実施可能とする *in vivo* 二光子顕微鏡による「生きたマウスの世界最深部の生体脳断層イメージング」に成功したことも大きい。一方、公募班の研究は少々記述不足で曖昧であるし、研究成果も少ないように感じられる。今後、「多次元蛍光生体イメージングを基礎にするヴィヴィッドライフサイエンスの創成」にどこまで迫れるか、「蛍光生体イメージングによるブレークスルー」に期待がかかる。領域主催のシンポジウム、領域主催の技術講習会、計画班員の招待講演等は順調におこなわれているが、研究組織と各研究項目の連携状況はもっと活発であって欲しい（たとえば、共著の論文をもっと出版するとか）。

服部成介評価委員

本学術領域研究は、蛍光バイオセンサーや顕微鏡システムの開発に実績のある研究者と、この技術を生体内におけるシグナルの解析に応用している研究者が、ともに協力しつつ研究分野のレベルを高めることを指向している。過去2年間の研究においては、多様な細胞内シグナルに対応した多数のイメージングプローブや、多変数のシグナルを同時に計測するためのプローブの開発がなされた。特に、プローブを安定的に発現できるように改良し、世界で初めてトランスジェニックを作成したことは、生体内からのバイオシグナル測定の上で、極めて重要な意義をもつ。プローブの開発と平行して、二光子顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡などの測定システムの技術開発も進められた結果、骨髄内や脳内など広範囲にわたる生体内の現象がより深部まで解析可能となっている。これらの成果は、当初の目的に沿ったものであり、2年間の研究実績として十分なものである。

本研究班の特色として、次世代の研究者の育成に力を注いでいることが上げられる。蛍光イメージングは、特殊な装置を用いる研究分野であり、新規に参入した研究者には、適切な講習と指導が必要である。本研究班では、若手研究者を対象とした講習会を積極的に実施していること、ワークショップを通じて共同研究を推進する環境作りを進めている点などが高く評価できる。

残された研究期間の課題として、インパクトの高い研究成果が望まれる。他の先端研究分野で、最も重要な問題は何か、臨床の分野で最も緊急性の高い課題は何か。こうした問題を常に意識し、他分野の研究者の意見を積極的に取り入れながら研究を進めていく必要があるだろう。ゲノミクスもプロテオミクスも解析機器の飛躍的な進歩によって、研究分野の方法論そのものが劇的な変化を遂げた。本研究領域にも、そうした進歩を期待したい。

小林久隆評価委員：

新学術領域研究「蛍光生体イメージ」は、これまで日本では比較的個別に行われてきた光を用いた生体イメージングの研究を高度に連携して発展させる大きな役割を担い、かなりの成功を達成していると思われる。今後は、日本のやや弱い部分である光分野の生体分子イメージングの研究者との連携も強めて、更なる研究の発展をサポートしていくことが望まれる。

研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）

平成 22 年度に発足した新学術領域研究（研究領域提案型）としての研究成果の公表状況は以下のとおりであるので、一部修正して再掲する。

(1) 主な論文等一覧について

松田道行（英文原著論文 15 報、英文総説 2 報など）

Hirata E, Yukinaga H, Kamioka Y, Arakawa Y, Miyamoto S, Okada T, Sahai E, Matsuda M* (2012) In vivo fluorescence resonance energy transfer imaging reveals differential activation of Rho-family GTPases in glioblastoma cell invasion. *J. Cell Sci.* 125: 858-868

Kamioka Y, Sumiyama K, Mizuno R, Sakai Y, Hirata E, Kiyokawa E, Matsuda M* (2012) Live imaging of protein kinase activities in transgenic mice expressing FRET biosensors. *Cell Struct. Funct.* 37: 65-73

Yagi S, Matsuda M, Kiyokawa E* (2012) Suppression of Rac1 activity at the apical membrane of MDCK cells is essential for cyst structure maintenance. *EMBO Rep.* 13: 237-243

Aoki K*, Yamada M, Kunida K, Yasuda S, Matsuda M (2011) Processive phosphorylation of ERK MAP kinase in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 12675-12680

Goto A, Hoshino M, Matsuda M, Nakamura T* (2011) Phosphorylation of STEF/Tiam2 by protein kinase A is critical for Rac1 activation and neurite outgrowth in dibutyl cAMP-treated PC12D cells. *Mol. Biol Cell* 22: 1780-1790

Komatsu N, Aoki K*, Yamada M, Yukinaga H, Fujita Y, Kamioka Y, Matsuda M (2011) Development of an optimized backbone of FRET biosensors for kinases and GTPases. *Mol. Biol. Cell* 22: 4647-4656

宮脇敦史（英文原著論文 6 報、英文総説 2 報など）

Kurokawa H, Noda H, Sugiyama M, Sakaue-Sawano A, Fukami K, Miyawaki A*. (2012) Software for precise tracking of cell proliferation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 417 (3): 1080-1085.

Miyawaki A*. (2011) Proteins on the move: insights gained from fluorescent protein technologies. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 12 (10): 656-668.

Hama H, Kurokawa H, Kawano H, Ando R, Shimogori T, Noda H, Fukami K,

Sakaue-Sawano A, Miyawaki A*. (2011) Scale: a chemical approach for fluorescence imaging and reconstruction of transparent mouse brain, *Nature Neuroscience*, 14 (11): 1481-1488.

Katayama H, Kogure T, Mizushima N, Yoshimori T, Miyawaki A*. (2011) A Sensitive and Quantitative Technique for Detecting Autophagic Events Based on Lysosomal Delivery. *Chemistry & Biology*, 18 (8): 1042-1052.

Sakaue-Sawano A, Kobayashi T, Ohtawa K, Miyawaki A*. (2011) Drug-induced cell cycle modulation leading to cell-cycle arrest, nuclear mis-segregation, or endoreplication *BMC Cell Biology*, 12:2

今村健志（英文原著論文 8 報、英文総説 1 報など）

Imamura T*, Hikita A, Inoue Y (2011) The roles of TGF- β signaling in carcinogenesis and breast cancer metastasis. *Breast Cancer*. [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s12282-011-0321-2

Inoue Y, Iemura S, Natsume T, Miyazawa K, Imamura T* (2011) Suppression of p53 Activity through the Cooperative Action of Ski and Histone Deacetylase SIRT1. *J Biol Chem.* 286: 6311-6320

根本知己（英文原著論文 5 報など）

Ogata S, Miki T, Seino S, Tamai S, Kasai H, *Nemoto T. (2012) A Novel Function of Noc2 in Agonist-Induced Intracellular Ca²⁺ Increase during Zymogen-Granule Exocytosis in Pancreatic Acinar Cells. *PLoS ONE* 7(5): e37048.

Inada H, Watanabe M, Uchida T, Ishibashi H, Wake H, Nemoto T, Yanagawa Y, Fukuda A, *Nabekura J

(2011) GABA regulates the multidirectional tangential migration of GABAergic interneurons in living neonatal mice, PLoS ONE, Vol. 6, No. 12, e27048

*Kozawa Y†, *Hibi T†, Sato A, Horanai H, Kurihara M, Hashimoto N, Yokoyama H, Nemoto T, Sato S (2011) Lateral resolution enhancement of laser scanning microscopy by higher-order radially polarized mode beam Optics Express, Vol. 19, Issue 17, pp. 15947-15954 (†: equally contributed)

岡田峰陽 (英文原著論文 5 報、英文総説 2 報など)

*Okada T, Moriyama S, Kitano M (2012) Differentiation of germinal center B cells and follicular helper T cells as viewed by tracking Bcl6 expression dynamics. Immunol Rev 247: 120-132

*Kitano M, *Okada T (2012) Four-dimensional tracking of lymphocyte migration and interactions in lymph nodes by two-photon microscopy. Methods Enzymol 506: 437-454

Kitano M, Moriyama S, Ando Y, Hikida M, Mori Y, Kurosaki T, *Okada T (2011) Bcl6 protein expression shapes pre-germinal center B cell dynamics and follicular helper T cell heterogeneity. Immunity 34: 961-972

石井優 (英文原著論文 7 報、英文総説 2 報など)

Ishii T, Kawamura S, Nishiyama I, Kikuta J, Ishii M* (2012) Use of intravital microscopy and in vitro chemotaxis assays to study the roles of sphingosine-1-phosphate in bone homeostasis. Methods Mol Biol 874: 129-1392)

Ishii T, Shimazu Y, Nishiyama I, Kikuta J, Ishii M* (2011) The role of sphingosine 1-phosphate in migration of osteoclast precursors; an application of intravital two-photon microscopy. Mol Cells 31: 399-403

Kikuta J, Iwai K, Saeki Y, Ishii M* (2011) S1P-targeted therapy for elderly rheumatoid arthritis patients with osteoporosis. Rheumatol Int 31: 967-969

福原茂朋 (英文原著論文 7 報、英文総説 1 報など)

*Fukuhara S, Simmons S, Kawamura S, Inoue A, Orba Y, Tokudome T, Sunden Y, Arai Y, Moriwaki K, Ishida J, Uemura A, Kiyonari H, Abe T, Fukamizu A, Hirashima M, Sawa H, Aoki J, *Ishii M, *Mochizuki N (2012) The sphingosine-1-phosphate transporter Spns2 expressed on endothelial cells regulates lymphocyte trafficking in mice. *J Clin Invest* **122**: 1416-1426

Minami M, Koyama T, Wakayama Y, *Fukuhara S, Mochizuki N (2011) EphrinA/EphA signal facilitates insulin-like growth factor-I-induced myogenic differentiation through suppression of the Ras/extracellular signal-regulated kinase 1/2 cascade in myoblast cell lines. *Mol Biol Cell* **22**: 3508-3519

Zhang J, *Fukuhara S, Sako K, Takenouchi T, Kitani H, Kume T, Koh GY, *Mochizuki N (2011) Angiopoietin-1/Tie2 signal augments basal Notch signal controlling vascular quiescence by inducing delta-like 4 expression through AKT-mediated activation of β -catenin. *J Biol Chem* **286**: 8055-8066

公募班員の主な論文

Yokosuka T*, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, Hashimoto-Tane A, Azuma M, Saito T* (2012) Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med* **209**: 1201-1217

Tokuhiro K, *Ikawa M, Benham AM, Okabe M (2012) Protein disulfide isomerase homolog PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male infertility. Proc Natl Acad Sci U S A 109: 3850-3855

Kamiya, M., Asanuma, D., Kuranaga, E., Takeishi, A., Sakabe, M., Miura, M., Nagano, T., Urano, Y.*

(2012) β -Galactosidase Fluorescence Probe with Improved Cellular Accumulation Based on a Spirocyclized Rhodol Scaffold. *J. Am. Chem. Soc.* 133: 12960-12963.