

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H05929

研究課題名(和文)細胞質・細胞核の温度センシング機構の解明

研究課題名(英文)temperature sensing of cell cytoplasm and cell nucleus

研究代表者

今本 尚子 (Imamoto, Naoko)

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

研究者番号：20202145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 79,600,000円

研究成果の概要(和文)：核-細胞質間輸送が環境温度で受ける影響を、精密に温度制御ができる実験系を樹立して解析できたことが重要な成果である。温度上昇に伴って活性化または抑制される輸送経路があるが、それが0.1の温度変化の精度で再現性よくおこる。また、多彩なImportin輸送経路では、活性抑制される温度が輸送経路によって異なることがわかった。一般にタンパク質が変性するよりも低い温度で活性化または活性抑制される輸送経路があり、温度で活性化変化する生理的重要性がはじめて示唆された。Hikeshiの機能喪失によって生体は大きな影響を受けるが、それは核内Hsp70の喪失によるものであると考えられる。新し重要な知見である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

熱ストレスで見つけたHikeshiは本申請者が発見した分子であり、公的な生命機能に関与するが、それが、これまで意識されてこなかったHsp70の核内機能によるものである。生命機能を理解するために、分子の核と細胞質の分配がいかに重要であるかわかる。申請者らが樹立した精密温度制御可能な実験系から核-細胞質間輸送が熱ストレスで多段階的に応答する。そのメカニズム解明によって遺伝子発現制御の要である核-細胞質間輸送が微妙な温度変化で活性変化し、そのことが生理的に重要であることをはじめて示すことができた。本研究は、「温度を基軸とした生命現象の統合的理解」に、新たな視座を与えることに寄与したと考える。

研究成果の概要(英文)：The most important our research result is development of precise temperature shift assay, and finding that individual transport pathways have different sensitivities to a rise in temperature. Hikeshi mediated nuclear transport of Hsp70 occur at much lower temperature than the inhibition of Ran dependent transport, and among Ran dependent transport pathway, importin / dependent import ceases at a lower temperature than other Ran-dependent transport, showing these two transport pathways are affected at fever-ranged mild heat shock condition instead of severe heat shock condition. The transport activity raises or drops in narrow temperature range, suggesting physiological importance of their regulation.

Dysfunction of Hikeshi influences various biological events irrespective of stress or normal condition, due to lack of nuclear Hsp70. We expect nuclear Hsp70 is essential for nuclear proteostasis, a process that have not been carefully investigated before.

研究分野：細胞生物学

キーワード：核-細胞質間輸送 熱ストレス Hikeshi Importin 温度制御実験 熱ショックタンパク質Hsp70

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

環境温度は、遺伝子発現制御の要となる核-細胞質間輸送を変化させることで、細胞の恒常性維持や外界の刺激応答に大きな影響を与える。私たちは、熱ストレスを受けると平常時の細胞で活発に働く核-細胞質間輸送システムの活性が低下すること (*Genes Cells* 2004)、それとは逆に熱ストレスを受けた細胞内では、平常時では働かない核-細胞質間輸送経路が新たに駆動することを世界に先駆けて見つけた (*Cell* 2012)。平常時では、Importin ファミリーと総称される輸送運搬体分子群が、多くのタンパク質や RNA を核内外に活発に輸送することが知られている。それに対して、熱ストレスに応答した細胞内では Importin 輸送が低下して、我々が Hikeshi (火消し) と名付けた輸送運搬体分子が、分子シャペロン Hsp70 を核に輸送することがわかった。

Hikeshi は酵母から高等動植物に至るまで、真核生物で広く保存されたタンパク質である。しかし、どの生物種においてもその機能は明らかにされていなかった。この領域がスタートした当初、ヒトやマウスなどの高等真核生物では、Hikeshi の変異や欠損が、個体に致命的な影響を与えることがわかりつつあった。しかし、Hikeshi の機能については具体的なことは何も明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

本領域では、核-細胞質間輸送に着目した細胞内の温度感知機構と、Hikeshi の生体機能を明らかにすることを目指す。具体的には以下の通り。

(1) これまでは、核-細胞質間輸送に関しては正常時と熱ストレス時といった、2つの状態変化の記述は多かったが、変化がどの温度でおこるのかはわかっていなかった。私たちは、輸送活性が変化する温度域値を同定することで、熱ストレスで核-細胞質間輸送経路の活性が切り替わるメカニズムを明らかにすることを目指す。

(2) Hikeshi の細胞機能として、細胞内温度感知分子と考えられる HSF1 (heat shock factor1) と Hikeshi の機能的関連を明らかにする。

(3) ヒト遺伝性疾患白質ジストロフィーを誘発する Hikeshi 疾患変異タンパク質の構造と機能を明らかにする。

(4) 熱ストレスで Hikeshi 輸送が駆動するメカニズムを解析する。

3. 研究の方法

(1) 熱ストレスで切り替わる Hikeshi 輸送と Importin 輸送の温度閾値の同定
サーマルサイクラーを利用して、温度制御が可能な熱ストレス実験系を構築する。この実験系では、a) 高精度な温度制御が可能、b) 温度上昇勾配の制御が可能、c) 同時にさまざまな温度で実験ができる、d) 高い温度再現性があるなど、従来法にはない利点があると期待する。コンパクトなサーモロガー(多チャンネルメモリ機能付き温度計測器)を用いて、さまざまに温度設定したウェルの温度を実測して確認する。この実験系を使って、低分子量 GTPase Ran に依存した Importin ファミリーが担う核内外輸送や、Hikeshi に依存した分子シャペロン Hsp70 の核内輸送の温度依存性を調べる。調べた温度変化と時間内では、細胞が死なないことを確認した上で、内在性因子と複数の輸送プローブの細胞内局在を指標に、それぞれの輸送経路の輸送活性をさまざまな温度で調べる。細胞は、浮遊系の HeLa 細胞を用いる。各温度でインキュベーションした細胞は、MAS コートされた 24 ウェルスライドガラスに接着させて、免疫染色してコンフォーカル顕微鏡でイメージングして核と細胞質の局在比を定量する。

(2) Hikeshi の細胞機能の解析

HeLa 細胞(子宮頸がん細胞)、hTERT-RPE1 細胞(不死化網膜上皮細胞)並びに、MEF 細胞(マウス胚性繊維芽細胞)の Hikeshi をノックアウトして、それぞれの熱ストレス応答性を、野生型のそれと比較して解析する。HeLa 細胞と hTERT-RPE1 細胞は、CRISPR/Cas9 遺伝子編集システムを使って Hikeshi をノックアウトする。また、MEF 細胞は、Hikeshi ノックアウトマウスの胎生期 12.5~14.5 胚 (E14.5) から採取する。それぞれの細胞の熱ストレス応答性の遺伝子発現プロファイルを RNAseq で解析して、野生型細胞と比較する。また、正常時と熱ストレス時における細胞増殖能など、基本的な細胞の性質を調べる。Hikeshi ノックアウトで見られる遺伝子発現変動が、Hikeshi が担う Hsp70 の核内輸送阻害のために起こるかを調べる。また、Hikeshi ノックアウトで誘引される遺伝子変動メカニズムを明らかにすることを目指す。

(3) ヒト遺伝性疾患白質ジストロフィーを誘発する Hikeshi 疾患変異の解析

Hikeshi の類似アミノ酸点変異 (V54L) でヒト遺伝性疾患である白質ジストロフィー(ミエリン形成不全)が誘引されることがわかった。本領域が発足した時に、ヒト Hikeshi の結晶構造を解くことができた (Song, Kose 他, *Acta. Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 2015)。疾患点変異が Hikeshi タンパク質の構造、機能、動態に与える影響を、試験管内と正細胞内で解析をする。

(4) 熱ストレスで Hikeshi 輸送が駆動するメカニズムの解析

Hikeshi 輸送の活性化と Importin 輸送の抑制は、異なる温度で正確に制御されることが上記 1) の解析で分かった。“熱”で Hikeshi と Hsp70 の構造変化を CD スペクトルとサーマルシフトアッセイで解析し、構造変化による Hsp70-Hikeshi の複合体形成促進の可能を、蛍光相互相関分

光法などを用いて調べる。また、Hsp70 ファミリーの中に Hikeshi で輸送されない唯一の Hsp70 分子 (HSPA6: 核に輸送される他ファミリーとの相同性は 73.7%) を見つけた。輸送活性に関わる HSPA6 のアミノ領域を調べて、その領域が Hsp70 の構造変化に寄与する可能性と、領域内で相互作用を担うアミノ酸を同定する。

4. 研究成果

(1) 熱ストレスで切り替わる Hikeshi 輸送と Importin 輸送の温度閾値の同定

サーマルサイクラーを利用して樹立した実験系では、誤差 ± 0.2 以下の高精度に温度制御が実現できることがわかった。調べた温度変化と時間内では、系に加えた浮遊細胞が死なないことも確認した。内在性因子と複数の輸送プロープの細胞内局在を指標に、RanGTPase に依存した Importin β ファミリーが担う複数の核内外輸送経路や、Hikeshi が担う分子シャペロン Hsp70 の核内輸送など、異なる輸送経路の輸送活性をさまざまな温度で調べた。段階的に温度を上昇させて解析すると、輸送経路によって影響を受ける温度が異なることが明らかになった。分子シャペロン Hsp70 の核内輸送は 39.9 で駆動する。その一方で、低分子量 GTPase Ran に依存する Transportin が担う核内輸送の効率は 43 を超えると低下し、CRM1 が担う核外輸送の効率は温度が 44 に上昇するまで低下しない。

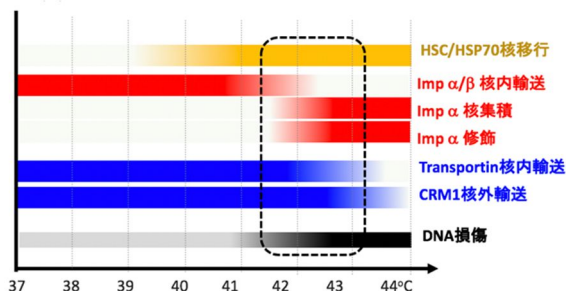


図1 温度上昇に伴った輸送の段階的活性変化

それに対して、Importin β ファミリーのなかで唯一アダプター分子 Importin α を使う Importin β の輸送は、41.5 で急激に低下する。このことから、Importin α/β が担う輸送は、Ran の GTP/GDP サイクルが低下するよりも低い温度で阻害されていると考えられる。また、Hikeshi が担う分子シャペロン Hsp70 の核内輸送は、Ran 依存的な輸送経路と完全に独立して制御されていることもわかった。ここで同定した温度域値は、0.1 も狂わずに再現する。これらの結果から、核-細胞質間輸送が熱ストレスの程度に従って多段階的に応答していることが明らかになった(図1)。輸送の制御メカニズムを考える上で温度が一つの素子になることが考えられる。

Importin α/β の輸送効率が 41.5 で低下するのは、Importin α が41.5 で、その NLS 結合活性を失うためであることがわかった。この温度では、他の核-細胞質間輸送因子は影響を受けない。核の中には NLS と NES の両方を持つ機能分子が多く存在するが、比較的緩い熱ストレス下では(図1の破線部) 主要な核内輸送経路である Importin α/β の輸送活性が抑制されるが、主要な核外輸送経路である CRM1 輸送は働く。このことから、この温度範囲では核内の機能分子の多くが失われていることがわかる。

本実験では、遺伝子発現制御の要である核-細胞質間輸送が、微妙な温度変化で活性変化することがはじめてわかり、そのことが生理的に重要な意味を持つと考えられる。

参考文献: Ogawa & Imamoto, *J. Cell Biol.*, 2018

(2) Importin ファミリーの基質大規模同定

ヒトには 23 種類の Importin β ファミリー運搬体群が存在し、それぞれが分担しながら、核と細胞質を往来する大部分のタンパク質を核内外に輸送すると考えられている。したがって、Importin β ファミリーが構成する輸送システムは、さまざまな核内の反応に関わるタンパク質グループを必要に応じて供給・除去する働きをもつと予想される。しかし、細胞内に存在する輸送経路の中には、運搬する輸送基質が限定的しかわかっていないものも少なくない。私たちは、安定同位体標識法、輸送再構築系、定量的質量分析法を組み合わせた独自の基質同定系を考案して、Importin ファミリーが構成するヒトの全核内輸送経路の基質候補の大規模同定を行った。私たちの方法の最大の特徴は、全ての運搬体の基質候補を同一条件で解析できる点にある。

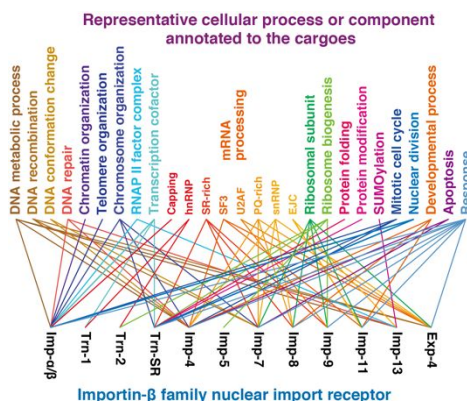


図2 Importin β ファミリーの役割分担

このため、運搬体それぞれの基質情報を互いに比較することができ、それによって各運搬体の特徴を捉えることができた。これは、はじめての試みである。

こうした解析の結果、それぞれの輸送経路で運ばれる輸送基質に特徴的な性質を調べることによって、輸送経路の機能が分担されていることがわかった(図2)。輸送経路の機能分担は、温度依存的な核-細胞質間輸送の活性変化による核内機能変化を考える上でも重要である。

参考文献：Kimura et al., *ELife*, 2017

(3) Hikeshi の細胞機能の解析

細胞レベルで見られる Hikeshi の機能を、HeLa 細胞、hTERT RPE1 細胞、並びに、MEF 細胞の熱ストレス応答が Hikeshi 欠損有無によってどのように違うかを調べた。正常状態では、Hikeshi をノックアウトしても、細胞の形態変化や増殖に影響は見られなかった。それに対して、熱ストレスをかけると2つのはっきりとした反応が見られた。一つは、Hikeshi をノックアウトすると、どの細胞も、熱ストレスをかけると野生型細胞のように転写因子 HSF1 が活性化されるが、ストレスを解除すると、野生型細胞のように HSF1 の活性抑制が見られない。RNAseq の解析結果でも、Hikeshi をノックアウトすると、熱ストレス解除時に多くの HSF1 ターゲット遺伝子の発現が抑制されないことが確認された。この結果は、以前 HeLa 細胞で見られたように、Hikeshi をノックダウンしたときに、熱ストレスで出現する核内ストレス顆粒 (nuclear stress granule) の消失がストレス解除で消失せずに持続する現象と矛盾しない。核局在化シグナルを付加した Hsp70 を細胞に導入して、Hsp70 を人為的に核に送り込むこと、活性化した HSF1 の活性が抑制された。このことから、熱ストレス解除でおこる HSF1 の活性持続は、核内 Hsp70 が失われるためであると考えられる。

2 つめは、熱ストレスをかけたときに、Hikeshi ノックアウト HeLa 細胞と Hikeshi ノックアウト hTERT-RPE1 細胞や MEF 細胞のストレス耐性が逆になることを見つけたことである。Hikeshi ノックアウト HeLa 細胞は、熱ストレスを受けると生存率が下がってストレス感受性になる。それに対して、Hikeshi ノックアウト hTERT-RPE1 細胞や MEF 細胞は、熱ストレスを受けると生存率が

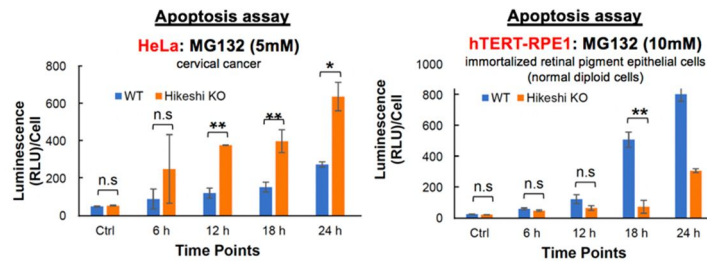


図3 ストレスをかけた時のアポトーシス活性

上がってストレス耐性になる。この生存率の結果は、アポトーシス活性とも一致した。熱などのタンパク質毒性ストレスをかけると HeLa 細胞では、Hikeshi をノックアウトすると、野生型に比べてアポトーシス活性が上昇するが、hTERT-RPE1 細胞では Hikeshi をノックアウトすると野生型に比べてアポトーシス活性が低下した (図3)。癌細胞と正常2倍体細胞で見られるこうした逆の現象は、Hikeshi 欠損で癌抑制遺伝子 p53 のタンパク質レベルが上昇するからだと考えられる。正常細胞で p53 の発現が上昇すると、p21 などの下流遺伝子の発現が上昇するが、癌細胞の p53 には transactivation 活性がなく、下流遺伝子の発現上昇が見られない。これも、Hikeshi の欠損で核内 Hsp70 が消失するからだと考えられる。

参考：Rahman et al., *Genes cells*, 2017、Imamoto. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2018

(4) ヒト遺伝性疾患白質ジストロフィーを誘発する Hikeshi 疾患変異の解析

ヒトやマウスなどの高等真核生物では、Hikeshi の変異や欠損が個体に致命的な影響を与えることがわかってきた。その一つの例が、Hikeshi の点変異でヒト遺伝性疾患である白質ジストロフィーが誘引されることである。イスラエルの研究グループが、遺伝性白質ジストロフィー疾患患者のエキソーム解析で、Hikeshi 点変異 (V54L) を見つけた。遺伝性アシュケナージ系ユダヤ人の創始者変異である。変異残基は Hikeshi タンパク質の N 末領域の jelly-roll/ β -sandwich 型構造にある疎水ポケットに折り畳まれており (図4)、種間で保存されている。類似アミノ酸の変異で、側鎖がタンパク質構造の内側を向いており、変異で疎水ポケット内部の hydrophobic な相互作用が失われると考えられる。試験管の中では、変異タンパク質は野生型タンパク質より Hsp70 の結合が強く、また、Hsp70 の輸送活性も強い。しかし、疾患患者の繊維芽細胞の中では、変異タンパク質の発現が弱く、熱ストレスで Hsp70 が核に集積しないことから、疾患細胞の中では Hikeshi の活性が殆どないと考えられる。

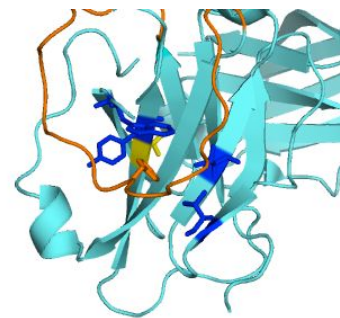


図4 白質ジストロフィーを誘引する Hikeshi の点変異 (黄色が V54L)

患者は、幼少時から、けいれん、眼振、視神経萎縮、てんかん、などのミエリン欠乏に伴う症状が見られるが、熱性疾患を誘発して子供のときに死にいたる。Hikeshi の機能が、ミエリン形成以外にも影響すると考えられる。Hikeshi の疎水ポケットに折り畳まれた別のアミノ酸の変異が類似の白質ジストロフィーを誘引することが、フィンランドの研究グループやイスラエルの別研究グループからも報告されており、それらの疾患点変異タンパク質の解析にも着手している。

参考文献：Edvardson, Kose 他, *J Med. Genet.* 2016

(5) Hikeshi 輸送が駆動するメカニズムの解析

初期の実験では、Hikeshi と Hsp70 の結合を解析するため、蛍光相関分光法/蛍光相互相関分光法 (FCS/FCCS) の分子イメージング技術を使って、Hikeshi と Hsp70 の分子間相互作用を計測した。In vitro では、Tag RFP で標識したリコンビナント Hikeshi と EGFP で標識したリコンビナント Hsp70 を反応させると、30 から 43 に温度を上昇させたときに両者が結合することがわかった。この結合には、細胞抽出液または精製 Hsp110 と ATP の存在が必須であり、Hikeshi は ATP 型 Hsp70 と温度依存的に結合することがわかった。In vitro 輸送再構築系で調べると、Hikeshi と Hsp70 を混合して熱前処理すると輸送活性が促進されることが判った。これらの結果から、熱そのものが、Hsp70 の核への輸送を活性化する重要な要素の一つであることが考えられる。

最近になって、Hikeshi は、39.9 という生理的温度で分子シャペロン Hsp70 を核に運ぶことがわかってきた。この温度に着目して Hikeshi と Hsp70 の相互作用を試験管内で改めて解析した。まず、Hikeshi と Hsp70 の構造変化を、シプロオレンジを用いたサーマルシフトアッセイで解析したところ、Hikeshi と Hsp70 の T_m 値はそれぞれ 58.1 と 61.0 であることがわかり、一般的な熱ストレス温度 (39-45) では Hsp70 と Hikeshi はどちらもタンパク質の構造が安定であることがわかった。精製 Hsp70 と Hikeshi タンパク質を用いて pull down assay を行った結果、他タンパク質を加えなくても、25 から 45 にかけて温度上昇に伴って結合が強くなることがわかった。結合温度は生細胞で見られた Hikeshi 輸送が活性する温度とほぼ一致する。つまり、温度に依存した Hikeshi と Hsp70 の結合が、Hikeshi 輸送の活性化に直接寄与すると考えられる。また、入手した HSPA6 遺伝子に、点変異が入っていることが見つかり、その変異を戻すと、HSPA6 タンパク質は、熱ストレスに应答にして Hikeshi に依存して核に集積することがわかった。そのため、HSPA6 の解析を中止した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Ogawa Yutaka, Imamoto Naoko	4. 巻 217
2. 論文標題 Nuclear transport adapts to varying heat stress in a multistep mechanism	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 2341 ~ 2352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.201712042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsumoto Ken, Kose Shingo, Kuwahara Iku, Yoshimura Mami, Imamoto Naoko, Yoshida Minoru	4. 巻 8
2. 論文標題 Y-box protein-associated acidic protein (YBAP1/C1QBPA) affects the localization and cytoplasmic functions of YB-1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-24401-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takagi Masatoshi, Ono Takao, Natsume Toyoaki, Sakamoto Chiyomi, Nakao Mitsuyoshi, Saitoh Noriko, Kanemaki Masato T., Hirano Tatsuya, Imamoto Naoko	4. 巻 131
2. 論文標題 Ki-67 and condensins support the integrity of mitotic chromosomes through distinct mechanisms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 212092-212092
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.212092	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Imamoto Naoko	4. 巻 52
2. 論文標題 Heat stress-induced nuclear transport mediated by Hikeshi confers nuclear function of Hsp70s	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Opinion in Cell Biology	6. 最初と最後の頁 82 ~ 87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ceb.2018.02.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Imamoto Naoko	4. 巻 44
2. 論文標題 Regulating -Catenin Nuclear Import with the Small GTPase Rap	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 135 ~ 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2018.01.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mimura Yasuhiro, Takemoto Satoko, Tachibana Taro, Ogawa Yutaka, Nishimura Masaomi, Yokota Hideo, Imamoto Naoko	4. 巻 7
2. 論文標題 A statistical image analysis framework for pore-free islands derived from heterogeneity distribution of nuclear pore complexes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-16386-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Rahman Khondoker Md Zulfiker, Kose Shingo, Imamoto Naoko	4. 巻 33
2. 論文標題 Effect of an inhibitor of HSP70, YM-1 on Hikeshi knockout cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Thermal Medicine	6. 最初と最後の頁 129-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Rahman Khondoker Md Zulfiker, Mamada Hiroshi, Takagi Masatoshi, Kose Shingo, Imamoto Naoko	4. 巻 22
2. 論文標題 Hikeshi modulates the proteotoxic stress response in human cells: Implication for the importance of the nuclear function of HSP70s	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 968 ~ 976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12536	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Izumi Masako, Mizuno Takeshi, Yanagi Ken-ichiro, Sugimura Kazuto, Okumura Katsuzumi, Imamoto Naoko, Abe Tomoko, Hanaoka Fumio	4. 巻 292
2. 論文標題 The Mcm2-7-interacting domain of human mini-chromosome maintenance 10 (Mcm10) protein is important for stable chromatin association and origin firing	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 13008 ~ 13021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.779371	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura, M., Morinaka, Y., Imai, K., Kose, S, Horton, P, Imamoto, N	4. 巻 6
2. 論文標題 Extensive cargo identification reveals distinct biological roles of the 12 Importin pathways	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e21184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.21184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mimura, Y., Takagi, M., Clever, M., Imamoto, N.	4. 巻 129
2. 論文標題 ELYS regulates the localization of LBR by modulating its phosphorylation state	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Cell Sci.	6. 最初と最後の頁 4200-4212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 27802161	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takagi, M., Natsume, T., Kanemaki, M.T., Imamoto, N.	4. 巻 21
2. 論文標題 Perichromosomal protein Ki67 supports mitotic chromosome architecture	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Genes Cells	6. 最初と最後の頁 1113-1124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 27610954	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Edvardson, S., Kose, S., Jalas, C., Fattal-Valevski, A., Watanabe, A., Ogawa, Y., Mamada, H., Fedick, A.M., Ben-Shachar, S., Treff, N.R., Shaag, A., Bale, S., Gartner, J., Imamoto, N., Elpeleg, O.	4. 巻 53
2. 論文標題 Leukoencephalopathy and early death associated with an Ashkenazi-Jewish founder mutation in the Hikeshi gene.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Med Genet	6. 最初と最後の頁 132-137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 26545878	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shrestha, R., Tatsukawa, H., Shrestha, R., Ishibashi, N., Matsuura, T., Kagechika, H., Kose, S., Hitomi, K., Imamoto, N., Kojima, S.	4. 巻 6
2. 論文標題 Molecular mechanism by which acyclic retinoid induces nuclear localization of transglutaminase 2 in human hepatocellular carcinoma cells.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Cell Death Disease	6. 最初と最後の頁 全10ページ
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 26633708	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Edvardson, S., Kose, S., Jalas, C., Fattal-Valevski, A., Watanabe, A., Ogawa, Y., Mamada, H., Fedick, A.M., Ben-Shachar, S., Treff, N.R., Shaag, A., Bale, S., Gartner, J., Imamoto, N., Elpeleg, O.	4. 巻 53
2. 論文標題 Leukoencephalopathy and early death associated with an Ashkenazi-Jewish founder mutation in the Hikeshi gene.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Med. Genet.	6. 最初と最後の頁 132-137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 26545878	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyake, N., Tsukaguchi, H., Koshimizu, E., Shono, A., Matsunaga, S., Shiina, M., Mimura, Y., Imamoto, N. (29人中25番目), Matsumoto, N.	4. 巻 97
2. 論文標題 Biallelic Mutations in Nuclear Pore Complex SubunitNUP107 Cause Early-Childhood-Onset Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Am. J. Hum. Genet	6. 最初と最後の頁 555-566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 6411495	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Song, J., Kose, S., Watanabe, A., Son, S.Y., Choi, S., Hong, H., Yamashita, E., Park, I.Y., Imamoto, N., Lee, S.J.	4. 巻 71
2. 論文標題 Structural and functional analysis of Hikeshi, a new nuclear transport receptor of Hsp70s.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.	6. 最初と最後の頁 473-483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 25760597	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamano Shotaro, Kimura Makoto, Chen Yu, Imamoto Naoko, Ohki Rieko	4. 巻 386
2. 論文標題 Nuclear import of IER5 is mediated by a classical bipartite nuclear localization signal and is required for HSF1 full activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Cell Research	6. 最初と最後の頁 111686 ~ 111686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yexcr.2019.111686	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Imamoto Naoko, Larson Daniel	4. 巻 58
2. 論文標題 Editorial overview: Cell nucleus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Cell Biology	6. 最初と最後の頁 iii ~ iv
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ceb.2019.06.004	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計50件 (うち招待講演 21件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾、小川泰、儘田博志
2. 発表標題 細胞質・温度センシング機構 (ImportinとHikehiが担う核-細胞質間輸送)
3. 学会等名 新学術領域研究「温度生物学」 2018年 夏の班会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 核内輸送運搬体 Hikeshiの機能解析から見えてきた Hsp70 の核内機能
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー「細胞核とクロマチン構造が操る高次生命現象」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 熱ショックタンパク質Hsp70の核内輸送を担う輸送運搬体Hikeshiの機能
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会 " ストレス応答によるプロテオスタシス制御の新展開 " シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 熱ショックタンパク質Hsp70の核内輸送を担う輸送運搬体Hikeshiの機能
3. 学会等名 新学術領域研究「温度生物学」 2018年 冬の班会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 核-細胞質間輸送：多様な輸送経路
3. 学会等名 新領域開拓課題「細胞進化」交流会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 核-細胞質間運搬体Hikeshiの機能
3. 学会等名 「エピゲノム解析を基盤とするがんと老化関連疾患の治療戦略」 山口大学（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 核-細胞質間輸送運搬体Hikeshi の機能
3. 学会等名 第4回 Integrated Lipidology領域会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoko Imamoto
2. 発表標題 Toward identification of proteins that alter nucleocytoplasmic distribution among young and old cells
3. 学会等名 Annual Meeting of Aging Project 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小瀬真吾、今本尚子
2. 発表標題 分子シャペロンHSP70の核内輸送運搬体Hikeshi：その輸送機構と生理機能について
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小川泰、今本尚子
2. 発表標題 核-細胞質間輸送の温度依存性
3. 学会等名 Biothermology Workshop 2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小川泰、今本尚子
2. 発表標題 Nuclear transport system responds in a multistep mechanism depending on temperature rises
3. 学会等名 第70回細胞生物第51回発生生物合同大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今本尚子、Rahman Khondoker MD Zulfiker、儘田博志、小瀬慎吾
2. 発表標題 熱ストレス時と正常時における分子シャペロンHsp70核内輸送運搬体Hikeshiの機能
3. 学会等名 生命科学系合同年次大会 “プロテオスタシス制御の新展開と疾患” ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 熱ストレス時における核-細胞質間輸送とHikeshiの機能
3. 学会等名 Biothermology Workshop 2017, 東京大学 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoko Imamoto
2. 発表標題 Mechanism of Hikeshi mediated nuclear transport and its physiological role
3. 学会等名 Nuclear Transport Meeting, Sant Felie de Guixols, Spain. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾、小川泰、儘田博志
2. 発表標題 細胞質・温度センシング機構の解析
3. 学会等名 新学術領域研究「温度生物学」 2017年 夏の班会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Rahman Khondoker MD Zulfiker、儘田博志、高木昌俊、小瀬真吾、今本尚子
2. 発表標題 「抗がん作用への貢献が示唆されるHikeshiの細胞機能」
3. 学会等名 第35回染色体ワークショップ・第16回 核ダイナミクス研究会 蒲郡 愛知県
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 「核膜孔複合体のダイナミクス」
3. 学会等名 平成29年度4D細胞計測全体会議理化学研究所 多細胞システム形成センター 兵庫県
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村誠、今本尚子
2. 発表標題 Importin ファミリーが構成するヒト細胞の核内輸送経路を網羅した基質蛋白質の解析
3. 学会等名 蛋白研セミナー大阪大学蛋白質研究所（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Imamoto N.
2. 発表標題 Analysis of stress-induced nucleocytoplasmic Carrier Hikeshi
3. 学会等名 University of Strasbourg-RIKEN Workshop on Membrane Lipidology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木村誠、森中祐理子、今井賢一郎、小瀬真吾、Paul Horton、今本尚子
2. 発表標題 細胞質から核への蛋白質輸送を担う12種類にimportin ファミリー輸送因子の基質の大規模同定
3. 学会等名 第34回染色体ワークショップ・第15回 核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小川泰、今本尚子
2. 発表標題 温度依存的な核 細胞質間輸送の変化
3. 学会等名 第34回染色体ワークショップ・第15回 核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三村恭弘、竹本智子、横田秀夫、今本尚子
2. 発表標題 間期の核膜孔複合体形成と核膜サブドメインPore free island消失
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Imamoto N
2. 発表標題 Analysis of thermal-stress induced nucleocytoplasmic transport carrier Hikeshi ”
3. 学会等名 Frontiers in aging research toward healthy longevity（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 分子シャペロンHsp70核内輸送運搬体Hikeshiの機能
3. 学会等名 臨床ストレス応答学会大会 シンポジウム「核を介するストレス応答機構」（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小瀬真吾、今本尚子
2. 発表標題 核 細胞質タンパク質運搬体分子Hikeshi：熱ストレス時に活性化する分子シャペロンHsp70輸送機構とその生理機能
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会 シンポジウム「温度生物学の新展開」（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今本尚子、儘田博志、小瀬真吾
2. 発表標題 細胞質・細胞核の温度センシング機構の解明
3. 学会等名 第68回 日本細胞生物学会シンポジウム「温度生物学の展開を目指して」(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 Large Scale Identification of Nuclear Transport Receptor Substrates Using a Novel Approach
3. 学会等名 International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics, and Function (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Naoko Imamoto
2. 発表標題 Thermal stress-induced nucleocytoplasmic transport mediated by Hikeshi
3. 学会等名 第53回日本生物物理学会年会「温度生物学会の幕開け」(招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Naoko Imamoto
2. 発表標題 Thermal stress induced nuclear transport pathway mediated by Hikeshi
3. 学会等名 2015 Nuclear Transport Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 木村誠、小瀬真吾、今本尚子
2. 発表標題 SILAC法と蛋白質核輸送再構成系によるimportin-ファミリー輸送因子の輸送基質の大規模同定
3. 学会等名 第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会・合同大会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 儘田 博志、小林 健太郎、小瀬 真吾、今本 尚子
2. 発表標題 Analysis of a stress activated nuclear import carrier, Hikeshi, using knockout mice.
3. 学会等名 第33回染色体ワークショップ・第14回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾、小川泰、儘田博志
2. 発表標題 細胞質・温度センシング機構の解析
3. 学会等名 新学術領域研究「温度生物学」2017年 冬の班会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾、小川泰、儘田博志
2. 発表標題 細胞質・温度センシング機構の解析
3. 学会等名 新学術領域研究「温度生物学」2016年 冬の班会議
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 細胞質・温度センシング機構の解析
3. 学会等名 新学術領域研究「温度生物学」 2016年 夏の班会議
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Naoko Imamoto
2. 発表標題 Oxidative Stress and Nuclear Transport Analysis of the involvement of Hikeshi in proteotoxic and energy stress
3. 学会等名 Kick off workshop of Ageing Project
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 細胞の回復力
3. 学会等名 練馬区光が丘図書館サイエンスのIMA (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾、小川泰、儘田博志
2. 発表標題 細胞質・温度センシング機構の解析
3. 学会等名 第 1 回 温度生物学班会議
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 核-細胞質間輸送運搬体Hikeshiの機能
3. 学会等名 第67回日本細胞生物学会シンポジウム「核・クロマチンの構造と機能」
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 今本細胞核機能研究室
3. 学会等名 千葉大学見学会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Naoko Imamoto
2. 発表標題 Thermal stress induced nuclear transport mediated by Hikeshi ~ its mechanism and physiological significance ~
3. 学会等名 HIHA 4th Workshop Hiroshima University (招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 細胞の研究で見えてくるからだの仕組み
3. 学会等名 練馬区光が丘図書館サイエンスのIMA (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 Cargo spectrum of nuclear transport receptors
3. 学会等名 4D計測後継会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾
2. 発表標題 Hikeshiが担うHsp70の核内機能の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小川 泰、今本尚子
2. 発表標題 Importin ファミリーによる温度依存的な核-細胞質間輸送制御
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoko Imamoto
2. 発表標題 Analysis of Function of Hikeshi
3. 学会等名 NT Nucleocytoplasmic Transport “Airlie” meeting. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾、小川泰
2. 発表標題 細胞核・細胞質の温度センシング機構の解明
3. 学会等名 学術領域研究「温度生物学」 2019年 夏の班会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小瀬真吾
2. 発表標題 Hikeshiによる分子シャペロンHSP70核輸送とその機能
3. 学会等名 第14回日本臨床ストレス応答学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今本尚子、小瀬真吾、小川泰
2. 発表標題 熱ショックタンパク質Hsp70の核内輸送を担うHikeshiの機能 細胞質の温度センシング機構の解明
3. 学会等名 学術領域研究「温度生物学」 2019年 冬の班会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 今本細胞核機能研究室
3. 学会等名 埼玉大学彩の国女性研究者ネットワーク訪問セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今本尚子
2. 発表標題 今本細胞核機能研究室
3. 学会等名 埼玉県立総合教育センター（埼玉県高校理科教員研修研修）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Mimura, Y., Imamoto, N	4. 発行年 2015年
2. 出版社 ELSEVIER	5. 総ページ数 9ページ
3. 書名 Encyclopaedia of Cell Biology	

1. 著者名 Kose, S., Funakoshi, T., Imamoto, N	4. 発行年 2015年
2. 出版社 Springer Science	5. 総ページ数 12ページ
3. 書名 Methods Mol. Biol.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>今本細胞核機能研究室/理化学研究所 紹介ページ http://www.riken.jp/research/labs/chief/cell_dyn/ 今本細胞核機能研究室ホームページ http://www.riken.jp/celldynamics/ 「定量的画像解析による核膜動態の解明」 プレスリリース 2017/12/12 http://www.riken.jp/pr/press/2017/20171212_2/ 今本細胞核機能研究室/理化学研究所 http://www.riken.go.jp/en/research/labs/chief/cell_dyn/ 今本細胞核機能研究室 http://www.riken.jp/celldynamics/index.html 核タンパク質の輸送経路を大規模決定（プレスリリース） http://www.riken.jp/pr/press/2017/20170202_1/</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----