

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：16101

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2018～2022

課題番号：18H05415

研究課題名(和文)多細胞システムのパターン形成を駆動するシンギュラリティ細胞の同定と操作

研究課題名(英文) Analysis of the singularity cells controlling the pattern formation of multicellular system

研究代表者

堀川 一樹 (HORIKAWA, Kazuki)

徳島大学・先端研究推進センター・教授

研究者番号：70420247

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 99,200,000円

研究成果の概要(和文)：発生過程のパターン形成は、「システム全体の挙動がレア細胞に支配される」シンギュラリティ現象の優れたモデル系である。我々は、走化性集合流を形成する10万細胞の信号伝達動態を詳細に解析することで、信号開始に寄与するレアなリーダーやその増幅を担うフォロワーが存在することを初めて見出した。さらに観察事実を取り入れた我々のシミュレーション解析は、レア細胞の存在という細胞間ヘテロ性こそが、長く謎であった螺旋状集合流形成に必須であることを明らかにした。併せて開発したリーダー/フォロワーの光ラベルツールや半自動検出システムは様々なシンギュラリティ現象の研究を加速させる有用な基盤技術となることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究開始時には「システム全体の挙動がレア細胞に支配される」というシンギュラリティ現象は作業仮説でしかなかったが、本件研究によって細胞集団内に大事でレアな細胞の存在すること、こうしたレア細胞の挙動が細胞集団システム全体の挙動を大きく変えることが明らかになった点において大きな学術的意義がある。本研究により確かめられたシンギュラリティ現象は、正常発生における様々なパターン形成や、がんや神経変性などの疾患にも関与する可能性がある。様々なシンギュラリティ研究を加速させる様々な基盤技術を開発できたは大きな社会的な意義を有するといえる。

研究成果の概要(英文)：Developmental pattern formation is an excellent model of singularity phenomena. By using a newly developed transscale scope, we investigated the onset dynamics of collective signaling in the population of chemotacting cells at 1-cell resolution. A large-scale 1-cell tracking revealed that the cell population is highly heterogeneous in their signal-relaying ability where a small number of cells, called leaders and followers, functioned as a signal initiator and amplifier, respectively. Our mathematical simulation incorporating experimentally observed features demonstrated that such cellular heterogeneity is the key determinant to developing the spiral-shaped signaling pattern, whose initiation mechanisms have remained long elusive. Associated development of new technologies, such as a semi-automated detection of signaling cells and optical highlighters for leaders and followers, would benefit the analysis of other models for singularity phenomena in physiological and pathological cases.

研究分野：発生生物学

キーワード：自己組織化 生物物理 cAMP パターン形成 ゲノム編集

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心臓や脳など相互作用する細胞の集団では、しばしば個々の細胞単位では実現できない新たな機能が創発される。こうした協調現象では、稀で重要な細胞が出現し細胞集団全体の挙動を支配することが想定されるが、細胞集団を平均化して評価する従来の研究手法では稀な細胞の存在や重要性を明らかにすることはできない。また、一細胞単位で詳細解析が可能な場合でも、稀な細胞が千細胞あたり一個程度と極めて低頻度でしか出現しない場合も稀な細胞の検出と解析は技術的に困難となる。本研究では、稀で重要な細胞に駆動される現象をシンギュラリティ現象と名づけ、その存在と重要性を明らかにすることを試みた。

2. 研究の目的

稀な細胞の存在と機能を明らかにするため、本研究では走化性集合流を自己組織化する社会性アメーバの発生現象に注目した。社会性アメーバは栄養条件下では単細胞として盛んに増殖するが、飢餓条件下では数千細胞から構成される多細胞体を構築するため環状アデノシン酸(以下 cAMP)を走化性因子とする走化性集合流を自発的に形成する。過去の研究から、環境中の cAMP を受容した細胞は細胞内で cAMP を合成し遅れて環境中へと放出すること、こうした反応が数千細胞で連鎖的に繰り返されることで数 cm に及ぶ長距離信号伝達が可能になること、その典型的な時空間パターンとして mm 波長を有するらせん状信号が生じることが知られていた。しかしながら、こうしたパターン形成の最も初期過程で、信号リレーを開始するのが多数の細胞なのかそれとも少数個の細胞なのか不明であった。また、少数個の細胞は信号の開始だけでなく、集団全体の信号伝達パターンにどのような影響を及ぼすのか明らかではなかった。

3. 研究の方法

走化性信号を可視化するため、cAMP 応答性を有する蛍光プローブ(Flamindo2)を発現する社会性アメーバ株を樹立した。栄養環境では全ての細胞が cAMP 信号を生じないが、飢餓処理後 3.5 時間から一部の細胞で信号伝達が始まり、飢餓処理後 10 時間後までに全ての細胞が cAMP 信号を細胞間リレーするようになる。細胞集団全体としては、6-10 分間隔で周期的に cAMP 信号を生じることで数千個を超える細胞集団あたり一つものらせん状回転波を自己組織化する。従って、cAMP 信号を開始する一細胞が、数千細胞の集団ダイナミクスをどう制御しているかを明らかにするためには、数万個以上の多数の細胞の信号伝達動態を高速・高精細に長時間撮影し、集団全体の信号伝達動態を一細胞単位で詳細に解析することが有効となる。しかしながら既存の研究手法では、こうした大規模な観察と解析は困難であったため新たな研究手法を開発する必要があった。

4. 研究成果

(1) cAMP 信号動態解析とシンギュラリティ細胞の発見。

cAMP 信号波の出現/成長過程を計測するため、総括班と共同で大規模かつ高精細な観察を可能にする新たな計測デバイスを開発し、AMATERAS(Aspired Multimodal/Multifunctional Analytical Tools for Every Rare Activities in Singularity)を命名した。サンプルへの光毒性を最小化するなど観察条件を最適化し、最終的には従来比で13 倍の広視野(13 万細胞/cm²)かつ2倍の時間分解能(毎 30 秒)で10時間以上にわたって細胞粒度で計測することに成功した。巨大データを対象にパルス細胞をハイスループット検出することが困難であったが、機械学習法を導入することで解析の一部を自動化するなどの改善を行った。この結果、機能的なリーダー細胞の存在頻度が稀(500-1000 細胞あたり 1 個)であること、数百細胞を含む局所の信号伝達は爆発的な成長(臨界)を示すこと、こうした臨界成長には集団の 10%を占めるフォロワー細胞による局所増幅が必須であること、などが明らかになった(図 1)。

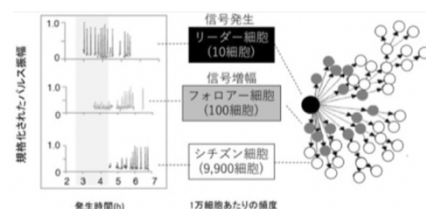


図1. シンギュラリティ細胞

(2) シンギュラリティ細胞の重要性。

信号成長の初期に見出されるリーダー細胞やフォロワー細胞が、システム全体の信号動態をどのように制御しているか明らかにするため、4000 細胞を含む領域の信号動態を一細胞単位で詳細に解析した。最も初期には、リーダー細胞から生じた cAMP 信号が数百細胞を単位とする局所領域で発生と崩壊を繰り返し信号伝達領域を空間成長させた。典型的には 4000 細胞あたり、3-4 個の信号伝達領域(クラスター)が生み出されたが、興味深いことに約 15 回目の信号発生時を境に信号波は複数のクラスターを足場とする巡回波へと切り替わることが観察された(図 2)。この巡回波はらせん信号の核となるリエントリーと呼ばれる特殊な信号動態であり、長く謎であったらせん信号波の形成機構を解

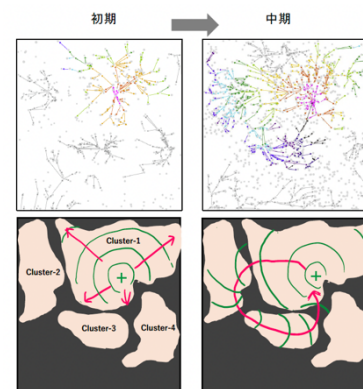


図2. 4000細胞の信号動態変化

き明かす鍵となる可能性があった。そこで少数個のリーダー/フォロワー細胞の存在を考慮した数値シミュレーションを行ったところ、リーダー/フォロワーを少数個だけ含むヘテロシステムでのみらせん波の核の形成が起こることが初めて明らかになった。また、発生中の細胞集団でリーダー細胞やフォロワー細胞をリアルタイム検出しこれらを除去すると、局所信号の成長と旋回波形成がなくなったことから、全体の10%以下を占めるに過ぎないこれらシンギュラリティ細胞がシステム全体の信号動態を制御することが明らかになった。

(3) シンギュラリティ細胞の検出技術の開発.

シンギュラリティ細胞のように稀な細胞の性質を理解するには、全細胞集団からシンギュラリティ細胞のみを回収し分析することが有効となる。我々は、シンギュラリティ細胞をその信号伝達活動依存的に光ラベルしうるツールの開発を試みた。CaMPARIは光変換型蛍光タンパク質 EOS を骨格とする Ca^{2+} 指示薬で、 Ca^{2+} 信号発生時に 405nm の刺激光を照射された場合のみその蛍光が緑から赤に不可逆的に変化させる。社会性アメーバは cAMP 信号発生時に Ca^{2+} 信号を生じるが、その濃度変動レンジが極低濃度域にあるため既存のツールが使えないという問題があった。そこで、CaMPARI の Ca^{2+} 親和性を向上させるため、円順列変異体ならびにランダム変異の組み合わせにより、 $K_d = 20 \text{ nM}$ という超高親和性型の CaMPARI-nano を作成した。この結果、従来は不可能であったシンギュラリティ細胞の Ca^{2+} 信号動態を可視化すること、時空間特異的にシンギュラリティ細胞を光ラベルできることが可能となった (図 3)。

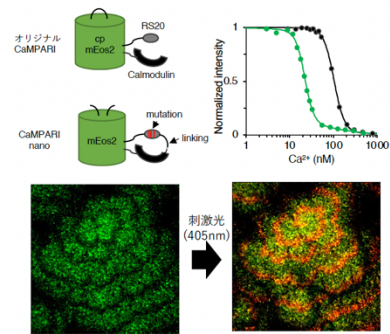


図3. 超高親和性 Ca^{2+} プロブ CaMPARI-nano

(4) シンギュラリティ細胞の一細胞分析.

シンギュラリティ細胞は、周囲の細胞に比べ信号発生のタイミングが極めて早いという特徴を有する。こうした機能的特徴を支える遺伝子発現状態を理解するため信号開始の初期段階で、リーダー/フォロワー/その他の細胞を同定し細胞 RNAseq 解析を行なった。cAMP 信号の発生に関与する重要な遺伝子群 (つまり cAMP 受容体/合成酵素/分解酵素などをコードする遺伝子) を重点的に解析したところ、その発現レベルがリーダー/フォロワー細胞では有意に高いこと、その他の細胞ではこれらの発現開始が時間的に遅れることが明らかになった。これらの結果は、本システムが基本的には等価な細胞から構成される集団であり、cAMP 信号伝達をもたらす遺伝子発現の開始タイミングが大きく異なるというヘテロ性を有することが明らかになった。

(5) シンギュラリティ細胞の起源.

リーダー/フォロワーというシンギュラリティ細胞の起源を理解することは、本研究において最も重要な問いである。細胞ごとに異なるタイミングで cAMP 信号を開始させる機構としては、遺伝子発現の確率的変動や飢餓処理前に決定された細胞状態の違いが関与する可能性があった。確率的もしくは決定論的いずれの機構が関与するか区別するため双子アッセイを行なった。双子アッセイとは、栄養環境中で分裂した細胞のペアを制御された飢餓環境下に配置し、そのパルス開始のタイミングをペア間で評価する方法である。パルス開始のタイミングが娘細胞間で一致しなければ確率的機構が関与することになるし、娘細胞間で揃っていれば決定論的機構が関与することになる。栄養条件下で分裂細胞をリアルタイム同定し娘細胞ペアを飢餓環境に配置したところ、全ての細胞がフォロワーになることがわかった。興味深いことに、配置する飢餓環境の場所を大きく変えても同様の結果になることに加え、栄養条件下で分裂後一定時間が経過した細胞を用いるとリーダーのみを選択的に生じることも可能であった。これらの結果から、パルス開始タイミングは飢餓処理後の遺伝子発現の確率的な変動ではなく、飢餓処理時において既に決定されていることが明らかになった。過去の研究から、栄養環境下で個々の細胞は約8時間周期で分裂/増殖するが、集団としては細胞周期上の位相がランダムな組成となっていることが知られている。本研究結果と考え合わせると、社会性アメーバシステムは飢餓処理への応答の仕方が飢餓処理時の細胞周期に依存してばらついていることを意味する。こうした結果は、らせん信号波の成長には cAMP 信号伝達能力の細胞間ヘテロ性が必須であるという数値シミュレーションによる予測とも見事に一致する。

結論

本研究から社会性アメーバの自己組織的信号波形成には、①稀な存在であるシンギュラリティ細胞が存在すること、②これを核とした局所的な信号成長は、細胞集団の信号挙動を旋回波へと変化させることでシステム全体の挙動を大きく変容させること、③こうした信号成長は、細胞分裂周期というシステムに内在するヘテロ性に駆動される極めてロバストな現象であることが明らかになった。稀な細胞によりシステム全体の動態が大きく変容するシステムは、疾患を含むさまざまなモデル現象に見出されると考えられる。本研究で開発された複数の解析技術が様々なシンギュラリティ現象の研究を加速させると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 27件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Sakane Ayuko, Yano Taka-aki, Uchihashi Takayuki, Horikawa Kazuki, Hara Yusuke, Imoto Issei, Kurisu Shusaku, Yamada Hiroshi, Takei Kohji, Sasaki Takuya	4. 巻 4
2. 論文標題 JRAB/MICAL-L2 undergoes liquid-liquid phase separation to form tubular recycling endosomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02080-7	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 Sarca Anamaria D., Sardo Luca, Fukuda Hirofumi, Matsui Hiroyuki, Shirakawa Kotaro, Horikawa Kazuki, Takaori-Kondo Akifumi, Izumi Taisuke	4. 巻 12
2. 論文標題 FRET-Based Detection and Quantification of HIV-1 Virion Maturation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2021.647452	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 Suzuki Akinobu Z., Sakano Taichi, Sasaki Hirona, Watahiki Rei, Sone Masaki, Horikawa Kazuki, Furuta Toshiaki	4. 巻 57
2. 論文標題 Design and synthesis of gene-directed caged cyclic nucleotides exhibiting cell type selectivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 5630 ~ 5633
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d1cc01405f	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 Ichimura T., Kakizuka T., Horikawa K., Seiriki K., Kasai A., Hashimoto H., Fujita K., Watanabe T. M., Nagai T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Exploring rare cellular activity in more than one million cells by a transscale scope	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-95930-7	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 Mitsuhashi Atsushi, Kondoh Kensuke, Horikawa Kazuki, Koyama Kazuya, Nguyen Na Thi, Afroj Tania, Yoneda Hiroto, Otsuka Kenji, Ogino Hirokazu, Nokihara Hiroshi, Shinohara Tsutomu, Nishioka Yasuhiko	4. 巻 112
2. 論文標題 Programmed death (PD) 1/PD ligand 1 blockade mediates antiangiogenic effects by tumor derived CXCL10/11 as a potential predictive biomarker	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4853 ~ 4866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15161	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 Hirota Keisho, Hirashima Tsuyoshi, Horikawa Kazuki, Yasoda Akihiro, Matsuda Michiyuki	4. 巻 163
2. 論文標題 C-type Natriuretic Peptide-induced PKA Activation Promotes Endochondral Bone Formation in Hypertrophic Chondrocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/endo/bqac005	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 Beppu Kana, Tsutsumi Rie, Ansai Satoshi, Ochiai Nana, Terakawa Mai, Mori Marie, Kuroda Masashi, Horikawa Kazuki, Tomoi Takumi, Sakamoto Joe, Kamei Yasuhiro, Naruse Kiyoshi, Sakaue Hiroshi	4. 巻 601
2. 論文標題 Development of a screening system for agents that modulate taste receptor expression with the CRISPR-Cas9 system in medaka	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 65 ~ 72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.02.082	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 Shimizu Kenji, Sugiura Daisuke, Okazaki II-mi, Maruhashi Takumi, Takemoto Tatsuya, Okazaki Taku	4. 巻 118
2. 論文標題 PD-1 preferentially inhibits the activation of low-affinity T cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2107141118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2107141118	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 Hayashi Shinichi, Suzuki Hitomi, Takemoto Tatsuya	4. 巻 478
2. 論文標題 The nephric mesenchyme lineage of intermediate mesoderm is derived from Tbx6-expressing derivatives of neuro-mesodermal progenitors via BMP-dependent Osr1 function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 155 ~ 162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2021.07.006	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 Sugiura Daisuke, Okazaki II-mi, Maeda Takeo K., Maruhashi Takumi, Shimizu Kenji, Arakaki Rieko, Takemoto Tatsuya, Ishimaru Naozumi, Okazaki Taku	4. 巻 23
2. 論文標題 PD-1 agonism by anti-CD80 inhibits T cell activation and alleviates autoimmunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 399 ~ 410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-021-01125-7	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 Basak Udoy S., Sattari Sulimon, Horikawa Kazuki, Komatsuzaki Tamiki	4. 巻 102
2. 論文標題 Inferring domain of interactions among particles from ensemble of trajectories	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/physreve.102.012404	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 Basak Udoy S., Sattari Sulimon, Hossain Md. Motalieb, Horikawa Kazuki, Komatsuzaki Tamiki	4. 巻 154
2. 論文標題 An information-theoretic approach to infer the underlying interaction domain among elements from finite length trajectories in a noisy environment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0034467	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 Basak Udoy S., Sattari Sulimon, Hossain Motaleb, Horikawa Kazuki, Komatsuzaki Tamiki	4. 巻 18
2. 論文標題 Transfer entropy dependent on distance among agents in quantifying leader-follower relationships	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 131 ~ 144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v18.015	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 Iida Hideaki, Furukawa Yoko, Teramoto Machiko, Suzuki Hitomi, Takemoto Tatsuya, Uchikawa Masanori, Kondoh Hisato	4. 巻 25
2. 論文標題 Sox2 gene regulation via the D1 enhancer in embryonic neural tube and neural crest by the combined action of SOX2 and ZIC2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 242 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12753	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 Nakatani Taichi, Iwasaki Mitsuhiro, Yamamichi Atsuhiko, Yoshioka Yuta, Uesaka Toshihiro, Bitoh Yuku, Maeda Kosaku, Fukumoto Takumi, Takemoto Tatsuya, Enomoto Hideki	4. 巻 62
2. 論文標題 Point mutagenesis in mouse reveals contrasting pathogenetic effects between MEN2B and Hirschsprung disease associated missense mutations of the RET gene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 214 ~ 222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12664	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 Teramoto Machiko, Sugawara Ryo, Minegishi Katsura, Uchikawa Masanori, Takemoto Tatsuya, Kuroiwa Atsushi, Ishii Yasuo, Kondoh Hisato	4. 巻 9
2. 論文標題 The absence of SOX2 in the anterior foregut alters the esophagus into trachea and bronchi in both epithelial and mesenchymal components	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology Open	6. 最初と最後の頁 558-566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/bio.048728	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 Sugiura Daisuke, Maruhashi Takumi, Okazaki Hi-mi, Shimizu Kenji, Maeda Takeo K., Takemoto Tatsuya, Okazaki Taku	4. 巻 364
2. 論文標題 Restriction of PD-1 function by cis-PD-L1/CD80 interactions is required for optimal T cell responses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 558 ~ 566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aav7062	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 Yamamoto Shiori, Uchida Yuji, Ohtani Tomomi, Nozaki Erina, Yin Chunyang, Gotoh Yoshihiro, Yakushiji Kaminatsui Nayuta, Higashiyama Tetsuya, Suzuki Takamasa, Takemoto Tatsuya, Shiraishi Yo ichi, Kuroiwa Atsushi	4. 巻 61
2. 論文標題 Hoxa13 regulates expression of common Hox target genes involved in cartilage development to coordinate the expansion of the autopodal anlage	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 228 ~ 251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12601	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 Morishima Masaki, Horikawa Kazuki, Funaki Makoto	4. 巻 13
2. 論文標題 Cardiomyocytes cultured on mechanically compliant substrates, but not on conventional culture devices, exhibit prominent mitochondrial dysfunction due to reactive oxygen species and insulin resistance under high glucose	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0201891	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 Tanihara Fuminori, Hirata Maki, Nguyen Nhien T., Le Quynh A., Hirano Takayuki, Takemoto Tatsuya, Nakai Michiko, Fuchimoto Dai ichiro, Otoi Takeshige	4. 巻 90
2. 論文標題 Generation of PDX 1 mutant porcine blastocysts by introducing CRISPR/Cas9 system into porcine zygotes via electroporation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 55 ~ 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/asj.13129	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 Tanihara Fuminori, Hirata Maki, Nguyen Nhien Thi, Le Quynh Anh, Hirano Takayuki, Takemoto Tatsuya, Nakai Michiko, Fuchimoto Dai-ichiro, Otoi Takeshige	4. 巻 13
2. 論文標題 Generation of a TP53-modified porcine cancer model by CRISPR/Cas9-mediated gene modification in porcine zygotes via electroporation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0206360	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 Harada Akihito, Maehara Kazumitsu, Ono Yusuke, Taguchi Hiroyuki, Yoshioka Kiyoshi, Kitajima Yasuo, Xie Yan, Sato Yuko, Iwasaki Takeshi, Nogami Jumpei, Okada Seiji, Komatsu Tetsuro, Semba Yuichiro, Takemoto Tatsuya, Kimura Hiroshi, Kurumizaka Hitoshi, Ohkawa Yasuyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1400-1400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-03845-1	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 Nishio K, Tanihara F, Nguyen T V, Kunihara T, Nii M, Hirata M, Takemoto T, Otoi T	4. 巻 53
2. 論文標題 Effects of voltage strength during electroporation on the development and quality of in vitro produced porcine embryos	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Reproduction in Domestic Animals	6. 最初と最後の頁 313 ~ 318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/rda.13106	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 Maruhashi Takumi, Sugiura Daisuke, Okazaki Hi-mi, Shimizu Kenji, Maeda Takeo K., Ikubo Jun, Yoshikawa Harunori, Maenaka Katsumi, Ishimaru Naozumi, Kosako Hidetaka, Takemoto Tatsuya, Okazaki Taku	4. 巻 55
2. 論文標題 Binding of LAG-3 to stable peptide-MHC class II limits T cell function and suppresses autoimmunity and anti-cancer immunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Immunity	6. 最初と最後の頁 912 ~ 924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.immuni.2022.03.013	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 Yudai Hatakeyama, Nen Saito, Yusuke Mii, Ritsuko Takada, Takuma Shinozuka, Tatsuya Takemoto, Honda Naoki, Shinji Takada	4. 巻 14
2. 論文標題 Intercellular exchange of Wnt ligands reduces cell population heterogeneity during embryogenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-16
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 -

1. 著者名 Horikawa Kazuki, Nagai Takeharu	4. 巻 2483
2. 論文標題 Live Imaging of cAMP Signaling in D. discoideum Based on a Bioluminescent Indicator, Nano-lantern (cAMP)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 231 ~ 240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2245-2_14	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 Takemoto Tatsuya	4. 巻 2050
2. 論文標題 Zygote Electroporation for CRISPR/Cas9 Delivery to Generate Genetically Modified Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 121 ~ 126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9740-4_13	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 堀川一樹
2. 発表標題 多細胞システムのパターン形成を駆使するシンギュラリティ細胞の同定と操作
3. 学会等名 新学術領域「シンギュラリティ生物学」成果報告シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀川一樹
2. 発表標題 10万細胞の集団に生じる細胞間信号波の形成機構
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀川一樹
2. 発表標題 興奮性多細胞システムのトランススケールイメージングで明らかになったらせん状信号波の形成機構
3. 学会等名 第60回日本生体医工学会・第36回日本生体磁気学会 合同大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuki Horikawa
2. 発表標題 Onset of the signaling wave at 10,000 cell population
3. 学会等名 PacifiChem2021（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀川一樹
2. 発表標題 大規模イメージングで明らかになった、cAMP信号波の螺旋コア形成機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuki Horikawa
2. 発表標題 "Singularity Biology : small elements change the function of the systems"
3. 学会等名 ICSB2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuki Horikawa
2. 発表標題 Red fluorescent cAMP indicator with increased affinity and expanded dynamic range
3. 学会等名 The 18th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀川一樹
2. 発表標題 円順列変異体化による 1 蛍光型プローブの機能改良
3. 学会等名 物質・デバイス領域キックオフシンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Tatsuya Takemoto	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Humana Press	5. 総ページ数 6
3. 書名 "Zygote Electroporation for CRISPR/Cas9 Delivery to Generate Genetically Modified Mice" in Electroporation Protocols (Methods in Molecular Biology)	

1. 著者名 Kazuki Horikawa	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 7
3. 書名 How Low Can You Go? The Numbers of Cells That Make Up Bodies: Large Numbers and Small Numbers, Minorities and Small Numbers from Molecules to Organisms in Biology-Toward a New Understanding of Biological Phenomena	

1. 著者名 堀川一樹	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 2
3. 書名 蛍光タンパク質 . cAMPプローブ, 生きてるものは全部観る! イメージングの選び方・使い方100+実験 医学増刊 36 No.20	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	竹本 龍也 (TAKEMOTO Tatsuya) (30443899)	徳島大学・先端酵素学研究所・教授 (16101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------