

平成 22 年 4 月 5 日現在

研究種目：特定領域研究  
 研究期間：2004～2008  
 課題番号：16084101  
 研究課題名（和文） 細胞核ダイナミクス

研究課題名（英文） Nuclear dynamics

## 研究代表者

米田 悦啓 (YONEDA YOSHIHIRO)  
 大阪大学・大学院生命機能研究科・教授  
 研究者番号：80191667

## 研究成果の概要：

本研究領域は、真核細胞の遺伝情報を保持し、発現させる基本構造体である細胞核を研究対象とし、その機能を構造構築のダイナミクスに立脚して統合的に理解することを目的としている。このため、本総括班では、領域内での研究の有機的な融合のため、定期的開催する班会議を最も重要視し、班会議での発表、討論に基づいて、内部評価を厳密に行なうとともに、活発な意見交換、情報交換を促すことにより、各研究者が相互に影響を及ぼし合い、学際的な相互交流が進展することを目指している。この目的に沿って、領域班会議を5回にわたって開催し、計画班・公募班を問わず、班員すべてが研究成果や計画を発表し、他の班員、総括班評価担当委員からの評価を受けた。また、総括班会議を8回にわたって開催し、主として本研究領域の活動をどのように総括し、次のステップにつなげていくかについて話し合ってきた。一方、本特定領域のキーワードの1つである「可視化」技術は、日進月歩で開発が進んでおり、それらの技術を用いたデータが蓄積してきているため、本研究領域独自のデータベース作成を行った。また、ホームページ、ニュースレターを通して情報発信に努めた。また、国際シンポジウムを3回、公開シンポジウムを2回主催し、国内外への情報発信と情報交換を行った。これら以外にも、技術講習会支援、ワークショップ等の後援など、積極的に本研究分野全体の発展に努めた。

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004年度	4,500,000	0	4,500,000
2005年度	2,700,000	0	2,700,000
2006年度	14,300,000	0	14,300,000
2007年度	2,700,000	0	2,700,000
2008年度	2,700,000	0	2,700,000
総計	26,900,000	0	26,900,000

## 研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：細胞核、分子イメージング、ゲノム、細胞核内構造体、可視化技術、核-細胞質間輸送、染色体、クロマチン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 研究開始当初は、遺伝子の転写、DNA複製、修復、組換え、RNA プロセッシングなど、核内の個々の事象に関する研究が精力的に行われていた。生化学、分子生物学、遺伝学的手法を使った研究により、個々の生命機能の素過程に關与する生体因子が多数発見され、その分子基盤、分子メカニズムが解析されてきていた。しかし、これらの研究の多くは試験管内の反応に基づいており、実際に、核という機能発現の場で、個々の反応が時間的・空間的にどのように制御されているかに関しては、その重要性に反して、ほとんど研究されていなかった。

(2) 様々な生物のゲノム塩基配列が解明され、タンパク質をコードする遺伝子が網羅的に分かり、このようなゲノム情報から、新規の核タンパク質の存在と機能が推定・検索され得るようになってきた。それに加えて、プロテオミクス技術の開発により、核小体など、核内の様々な構造体のタンパク質構成が包括的に理解されるようになってきた。このような状況の中で、種々の蛍光タンパク質の開発や分子イメージング技術が大きな発展を見せ、生きた細胞内での分子動態の1分子解析や分子間結合の可視化も可能となってきた。蛍光タンパク質と融合した目的タンパク質を細胞内に発現させることにより、生きた細胞で動的な挙動が解析できるようになった。このように蓄積されてきたゲノム情報を下敷きに、生化学的・分子細胞生物学的・分子遺伝学的解析手法と分子イメージング技術を組み合わせることにより、個々のタンパク質の動態を、細胞という3次元構造の中に時間を追ってマップすることが可能となってきた。

## 2. 研究の目的

真核細胞は細胞核を獲得することにより、核を持たない原核細胞に比べはるかに多い遺伝情報を確実に保持伝達し、多様な細胞機能を発揮することが可能となり、高次機能を有する高等多細胞生物をも生み出すに至った。本領域は、真核細胞の遺伝情報を保持し、発現させる基本構造体である細胞核を研究対象とし、その機能を構造構築のダイナミクスに立脚して統合的に理解することを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 「細胞核」と「機能的アーキテクチャーの可視化」をキーワードに、研究班全体として多角的に研究が推進できるようなメンバーを配置し、互いの知見や技術などをいち早く有機的に共有することにより、これまでに類のない新しい研究領域を創成する。

(2) 細胞核の構築と機能に関する研究は、細胞の増殖・分化、個体の発生や老化はもちろん、環境応答や進化の問題にまで影響を及ぼす学際的領域となることが期待されることから、境界領域の研究者を含め、様々な角度から独自のアプローチで核機能解析に挑戦しようとする若手研究者育成を目指した公募研究を設け、可視化技術の画期的革新を期待できるような発想の研究も大いに取り込んでいく。

(3) 総括班には、領域代表者と複数の計画研究代表者、研究分担者が参加するとともに、関連分野で既に傑出した業績を持つ研究者を加え、本領域進展のための評価、助言が適切に行なわれる体制を整える。総括班では、定期的開催する班会議を最も重要視し、班会議での発表、討論に基づいて、内部評価を厳密に行なうとともに、活発な意見交換、情報交

換を促すことにより、各研究者が相互に影響を及ぼし合うことで、学際的な相互交流を進展させる。

(4)本特定領域のキーワードの1つである「可視化」技術は、日進月歩で開発が進むことが予想され、それらの技術を班員全体が共有できるような技術支援、情報交換が大切であり、総括班は、最新技術のノウハウを集約する窓口としての役割を果たす。

(5)公開シンポジウムや研究会を定期的に行い、本領域の研究活動から得られた成果の領域外の研究者への情報発信に努めるとともに、領域外の研究者からの批評、助言などを積極的に受け入れる。また、本領域のウェブサイトを設置して情報の発信と、可能なものについては具体的な研究成果を公開し、班員相互の連携を促進するとともに領域外の研究者との交流を図る。

#### 4. 研究成果

(1) 班員相互の情報交換ならびに領域外研究者への情報発信のため、ホームページ <http://www.nuclear-dynamics.jp> を開設し、随時更新を行ってきた。また、領域ニュースレター「Nuclear Dynamics」を毎年一巻を目途に発行してきた。

(2)研究成果の積極的な公表と国内外の研究者との情報交換のため、以下の要領で国際シンポジウムを開催した。

“International Symposium on Ran and the Cell Cycle”

日時:平成17年10月2日(日)~4日(火)

場所:兵庫県淡路夢舞台国際会議場

海外からの参加者7名を含む、111名の研究者が参加した。参加者が執筆したミーティングレポートが複数の海外の一流国際誌(Traffic誌, Developmental Cell誌)に掲載されたことからわかるように、本シンポジウムは国内外から注目を浴び、国際的情報発信

という目的は十分に達成できた。また、参加者間の意見交換が活発に行われ、いくつかの共同研究も始まったことから、本シンポジウムを実施した効果は非常に大きかった。

“International Symposium on Functional Organization of the Nucleus”

日時:平成19年1月9日~11日

場所:兵庫県淡路夢舞台国際会議場

海外からの参加者14名を含む、131名の研究者が参加した。ミーティングレポートが参加者によって執筆され、Developmental Cell誌に掲載され、大きな反響が得られた。

“International Symposium on Chromosome Dynamics in Ise”

日時:平成20年5月28日~30日

場所:三重県ホテル近鉄アクアヴィラ会議場

特定領域「染色体サイクル」と合同で開催し、海外からの参加者11名を含む、100名が参加した。2つの特定領域の班員が集結することにより、研究者間の新しい交流が始まるなど、活気のある国際シンポジウムとなった。

(3)研究活動の積極的な公開と異分野交流を目指して、2つの特定領域研究班が合同で公開シンポジウムを以下の要領で開催した。「細胞内のダイナミックネットワーク:前進するオルガネラ研究」

日時:平成18年6月2日(金)

会場:千里ライフサイエンスセンター サイエンスホール(大阪府、豊中市)

「クロマチンシグナリングの分子機構」

日時:平成20年1月8日(火)

場所:東京ステーションコンファレンス

(4)本特定領域の研究代表者 原口、木村、金城、研究分担者 平岡の4名が主な講師となって、イメージング技術講習会を開催し、領域内外の研究者に対するイメージング技術の普及に努めた。

第3回細胞生物学ワークショップ (独)  
情報通信研究機構 関西先端研究センター  
平成16年8月9日～14日 参加者33名

第4回細胞生物学ワークショップ 北海道大学 創成科学研究機構 平成16年1月15日～20日 参加者20名

第5回細胞生物学ワークショップ (独)  
情報通信研究機構 関西先端研究センター  
平成17年8月22日～27日 参加者30名

第6回細胞生物学ワークショップ 北海道大学 創成科学研究機構 平成18年1月15日～20日 参加者20名

第7回細胞生物学ワークショップ (独)  
情報通信研究機構 関西先端研究センター  
平成18年8月7日～12日 参加者30名

第8回細胞生物学ワークショップ 北海道大学 電子科学研究所 平成19年1月21日～26日 参加者20名

第9回細胞生物学ワークショップ (独)  
情報通信研究機構 未来ICT研究センター  
平成19年10月22日～27日 参加者22名

第10回細胞生物学ワークショップ 北海道大学 電子科学研究所 平成20年1月28日～2月2日 参加者20名

(5)平成17年1月27日～29日に仙台で開催された第22回染色体ワークショップ、平成18年1月26日～28日に広島で開催された第23回染色体ワークショップ、平成19年1月31日～2月2日に唐津で開催された第24回染色体ワークショップ、平成20年1月30日～2月1日に湯河原で開催された第25回染色体ワークショップ、平成21年1月26日～28日に神戸で開催された第26回染色体ワークショップを、また、平

成17年6月18日～20日に箱根で開催された第5回細胞核ダイナミクス研究会、平成18年5月17日～19日に熊本で開催された第6回細胞核ダイナミクス研究会、平成19年9月25日～27日に札幌で開催された第7回細胞核ダイナミクス研究会を後援し、多くの班員が発表を行なった。

なお、各年度ごとの研究成果の概要は以下の通りである。

#### 平成16年度

第1回総括班会議を7月20日に大阪大学で開催し、中長期的活動方針を決定するとともに、異分野からアドバイザーを選出し、評価を受けることとした。さらに、第1回領域班会議を10月21日、22日に神戸の関西先端研究センターで開催した。同会議では、計画班員すべてが研究成果や今後の計画を発表し、班員、総括班評価担当委員ならびにアドバイザーからの評価を受けた。同時に、第2回総括班会議も開催し、主として来年度の活動計画について話し合った。また、本特定領域のキーワードの1つである「可視化」技術は、日進月歩で開発が進むことが予想され、それらの技術を班員全体が共有できるような技術支援、情報交換が大切であり、総括班は、最新技術のノウハウを集約する窓口としての役割を果たすよう努めることを目的として、12月に、研究領域のホームページを立ち上げた。また、ほぼ同時期にニュースレターを発行し、班員はもとより、関係する多くの研究者に郵送し、領域外研究者への情報発信にも努めた。

#### 平成17年度

10月2日～4日に、本総括班が主催する国際会議「細胞核機能の分子スイッチ Ran と細胞周期」を淡路夢舞台国際会議場で開催し、国内外の第一線の研究者を招聘して活発な発表、討論を行なった。また、第2回領域班

会議を11月7日～9日に京都ガーデンパレスで開催した。同会議では、公募班員を含むすべての班員が研究成果や今後の計画を発表し、班員、総括班評価担当委員ならびにアドバイザーからの評価を受けた。同時に、第3回総括班会議も開催し、主として次年度の活動計画について話し合った。また、様々な最先端技術を班員全体が共有できるような技術支援、情報交換を可能にする目的で12月に立ち上げた研究領域のホームページの更新を随時行い、アクセス数も順調に伸びてきていることを確認した。また、12月には、ニュースレター第3号を発行し、公募班員の研究紹介など幅広い情報を掲載し、班員はもとより、関係する多くの研究者に郵送して、領域外研究者への情報発信にも努めた。さらに、第5回細胞核ダイナミクス研究会、第23回染色体ワークショップを後援することにより、本領域の幅広い発展に努めた。

#### 平成18年度

第3回領域班会議を7月24日～26日にホテル阪急エキスポパークで開催した。同会議では、公募班員を含むすべての班員が研究成果や今後の計画を発表し、班員、総括班評価担当委員ならびにアドバイザーからの評価を受けた。同時に、総括班会議も開催し、主として今後の活動方針について話し合った。また、1月8日～11日に、本総括班が主催する国際シンポジウム“Functional Organization of the Nucleus”を淡路夢舞台国際会議場で開催し、15名の海外からの招待者を含む、国内外の第一線の研究者が参加して活発な発表、討論を行なった。また、様々な最先端技術を班員全体が共有できるような技術支援、情報交換を可能にする目的で立ち上げた研究領域のホームページの更新を随時行った。また、中間評価結果に基づく追加配分を取得できたので、それを利用して、

これまでの本特定領域の班員が得てきた膨大な遺伝子、タンパク質の情報やイメージング情報などをデータベース化し、本特定領域の研究者はもとより、国内外の研究者が利用可能にするプロジェクトに着手した。さらに、1月に開催された第24回染色体ワークショップを後援することにより、本領域の幅広い発展に努めた。

#### 平成19年度

第4回領域班会議を7月1日～3日に新潟県越後湯沢ナスパニューオータニで開催した。同会議では、班員すべてが研究成果や今後の計画を発表し、班員、総括班評価担当委員ならびにアドバイザーからの評価を受けた。同時に、7月2日に、第7回総括班会議も開催し、主として次年度の活動計画について話し合った。また、本特定領域のキーワードの1つである「可視化」技術を用いたデータが蓄積してきているので、データベース作成に着手し、骨格となる部分を完成させた。また、ホームページを全面的に刷新するとともに、10月にニュースレターVol. 4を刊行し、班員間の情報交換に務めるとともに、班員外への情報発信を行った。1月には、東京ステーションコンファレンスにおいて、特定領域研究「遺伝情報デコード」との合同公開シンポジウム「クロマチンシグナリングの分子機構」を開催し、異分野融合に向けた取組を行うとともに、一般情報公開を進めた。一方、第7回細胞核ダイナミクス研究会、第25回染色体ワークショップを後援した。

#### 平成20年度

第5回領域班会議を10月27日～29日の3日間、京都ガーデンパレスで開催した。同会議では、計画班・公募班を問わず、班員すべてが研究成果や今後の計画を発表し、他の班員、総括班評価担当委員からの評価を受けた。同時に、10月26日に、第8回総括

班会議を開催し、主として本研究領域の活動をどのように総括し、次のステップにつなげていくかについて話し合った。一方、本特定領域のキーワードの1つである「可視化」技術を駆使したデータがさらに蓄積してきているため、昨年度から着手した、本研究領域独自のデータベースのさらなるバージョンアップを図った。また、ホームページを随時更新するとともに、3月にニュースレターVol. 5を刊行し、班員間の情報交換に努めるとともに、本研究領域の総括を行った。また、第26回染色体ワークショップを後援した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計128件)(すべて査読有)

Okada, C., Yamashita, E., \*Lee, S. J., Shibata, S., Katahira, J., Nakagawa, A., Yoneda, Y. and Tsukihara, T. A high-resolution structure of the pre-microRNA nuclear export machinery. *Science*, 326: 1275-1279 (2009)

Hayashi-Takanaka, Y., Yamagata, K., Nozaki, N., and Kimura, H. Visualizing histone modifications in living cells: spatiotemporal dynamics of H3 phosphorylation during interphase. *J. Cell Biol.*, 187: 781-790 (2009)

Iwamoto, M., Mori, C., Kojidani, T., Bunai, F., Hori, T., Fukagawa, T., Hiraoka, Y. and Haraguchi, T. Nup98 nucleoporins bearing different types of repeat sequence characterize nucleus-specific nuclear pore complexes in the ciliate Tetrahymena. *Current Biol.*, 19: 843-847 (2009)

Otsuka, S., Iwasaka, S., Yoneda, Y., Takeyasu, K. and Yoshimura, S. H. Individual binding pockets of importin  $\beta$  for FG-nucleoporins are differently regulated by RanGTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105: 16101-16106 (2008)

Haraguchi, T., Kojidani, T., Koujin, T., Shimi, T., Osakada, H., Mori, C., Yamamoto, A. and Hiraoka, Y. Live cell imaging and electron microscopy revealed dynamic processes of BAF-directing nuclear envelope assembly. *J. Cell Sci.*, 121: 2540-2554 (2008)

Yasuhara, N., Shibasaki, N., Tanaka, S., Nagai, M., Kamikawa, Y., Oe, S., Kamachi, Y., Kondoh, H. and Yoneda, Y. Triggering neural differentiation of ES cells by subtype switching of importin- $\alpha$ . *Nature Cell Biol.*, 9: 72-79

(2007)

Haraguchi, T., Koujin, T., Osakada, H., Kojidani, T., Mori, C., Masuda, H. and Hiraoka, Y. Nuclear localization of barrier-to-autointegration factor is correlated with progression of S-phase in human cells. *J. Cell Sci.*, 120: 1967-1977 (2007)

Kimura, H., Takizawa, N., Allemand, N., Hori, T., Iborra, F.J., Nozaki, N., Muraki, M., Hagiwara, M., Krainer, A.R., Fukagawa, T. and Okawa, K. A novel histone-exchange factor, protein phosphatase 2C $\gamma$ , mediates the exchange and dephosphorylation of H2A-H2B. *J. Cell Biol.*, 175: 389-400 (2006)

Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. Meiotic proteins Bqt1 and Bqt2 tether telomeres to form the bouquet arrangement of chromosomes. *Cell*, 125: 59-69 (2006)

M. Yokokawa, C. Wada, T. Ando, N. Sakai, A. Yagi & Takeyasu, K. Single-molecule reaction analysis reveals the ATP-ADP-dependent conformational changes of chaperonin GroEL. *EMBO J.*, 25: 4567-4576 (2006).

Kotera, I., Sekimoto, T., Miyamoto, Y., Saiwaki, T., Nagoshi, E., Sakagami, H., Kondo, H. and Yoneda, Y. Importin  $\alpha$  transports Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase type IV (CaMKIV) to the nucleus without utilizing importin  $\beta$ . *EMBO J.*, 24: 942-951 (2005)

Hizume, K., Yoshimura, S. H. and Takeyasu, K. Linker histone H1 per se can induce three-dimensional folding of chromatin fiber. *Biochemistry*, 44: 12978-12989 (2005)

Kose, S., Furuta, M., Koike, M., Yoneda, Y. and Imamoto, N. The 70 kDa heat shock cognate protein (hsc70) facilitates the nuclear export of the import receptors. *J. Cell Biol.*, 171: 19-25 (2005)

Miyamoto, Y., Saiwaki, T., Yamashita, J., Yasuda, Y., Kotera, I., Shibata, S., Shigeta, M., Hiraoka, Y., Haraguchi, T. and Yoneda, Y. Cellular stresses induce the nuclear accumulation of importin-alpha and cause a conventional nuclear import block. *J. Cell Biol.*, 165: 617-623 (2004)

他114件

[学会発表](国際学会招待講演計46件)

Yoneda, Y. Nuclear protein transport and cell function. (Plenary talk) 7<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of ARC Centre of Excellence in Biotechnology and Development: Kalorama, Victoria, Australia, September 7-8, 2009.

Takeyasu, K. Nano-biology of the nucleus. (Keynote Speech) The 10<sup>th</sup> AEARU Workshop on Molecular Biology and Biotechnology: National Taiwan Univ., Taiwan, November 11-14, 2009.

Kimura, H. The modification and dynamics of histones in human cells as revealed by a panel of specific monoclonal antibodies. ICHC2008: 13th Congress of the International Federation of Societies for Histochemistry and Cytochemistry, Symposium "Imaging of nuclear structure and dynamics": August 23-27, 2008, Gdansk, Poland

Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. Fission yeast genes involved in meiotic SPB-telomere cluster formation. Fourth International Fission Yeast Meeting: June 13, 2007, Institute of Public Health, Copenhagen, Denmark.

Yoneda, Y. Nucleocytoplasmic transport and its significance to nuclear function. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress: June 18-23, 2006, Kyoto

Hiraoka, Y. Chromatin structures and dynamics in fission yeast meiosis. Gordon Research Conference of Chromosome Dynamics: July 31, 2005, Colby-Sawyer College, USA.

他 4 0 件

〔図書〕(計 2 1 件)

Takeyasu, K., Maruyama, H., Suzuki, Y., Hizume, K. and Yoshimura, S.H. (2009) Modern Atomic Force Microscopy and Its Application to the Study of Genome Architecture. In "Applied Scanning Probe Methods, Vol. 14" ed. B. Bhushan. Springer-Verlag, Heidelberg

Kimura, H. and Cook, P.R. Structure and function of inner-nuclear architectures. *Nuclear Dynamics* (ed. K. Takeyasu and K. Nagata), Springer-Verlag, Tokyo, pp. 177-196 (2006)

Sekimoto, T., Katahira, J., and Yoneda, Y. Nuclear import and export signals. *Nuclear Import and Export in Plants and Animals* (eds. Tzifira Tzvi and Vitaly Citovsky) Landes Bioscience, pp. 50-60 (2005)

他 1 8 件

〔産業財産権〕

出願状況 (計 6 件)

名称: 超迅速に DNA 塩基配列を決定する方法

発明者: 小寺一平、永井健治、谷知巳、  
米田悦啓

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2006-034211

出願年月日: 平成 18 年 2 月 20 日

国内外の別: 国内

他 5 件

取得状況 (計 3 件)

名称: Method of Measuring Biological Sample with high Accuracy

発明者: Takeshi Shimi, Tokuko Haraguchi

権利者: National Institute of Information Communications Technology

種類: 特許

番号: 第 7,336,417 号

取得年月日: 2008 年 2 月 26 日

国内外の別: 国外 (米国)

名称: 生物試料を高精度に測定する方法

発明者: 志見剛、原口徳子

権利者: 独立行政法人情報通信研究機構

種類: 特許

番号: 特許第3879001号

取得年月日: 平成 18 年 11 月 17 日

国内外の別: 国内

他 1 件

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.anat3.med.osaka-u.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

米田 悦啓 (YONEDA YOSHIHIRO)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

研究者番号: 80191667

(2) 研究分担者

2004 年度 ~ 2007 年度

平岡 泰 (HIRAOKA YASUSHI)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

研究者番号: 10359078

原口 徳子 (HARAGUCHI TOKUKO)

独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT

研究センター・主任研究員

研究者番号: 20359079

竹安 邦夫 (TAKEYASU KUNIO)

京都大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号: 40135695

木村 宏 (KIMURA HIROSHI)

大阪大学・大学院生命機能研究科・准教授

研究者番号: 30241392

2008 年度

なし

(3) 連携研究者

2004 年度 ~ 2007 年度

なし

2008 年度

平岡 泰 (HIRAOKA YASUSHI)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

研究者番号: 10359078

原口 徳子 (HARAGUCHI TOKUKO)

独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT  
研究センター・主任研究員  
研究者番号：20359079  
竹安 邦夫 (TAKEYASU KUNIO)  
京都大学・大学院生命科学研究科・教授  
研究者番号：40135695  
木村 宏 (KIMURA HIROSHI )  
大阪大学・大学院生命機能研究科・准教授  
研究者番号：30241392