

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

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：15H05949

研究課題名（和文）細胞間コミュニケーションのライブイメージング

研究課題名（英文）Live imaging of cell-to-cell communication

研究代表者

松田 道行（MATSUDA, MICHUYUKI）

京都大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：10199812

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 149,300,000円

研究成果の概要（和文）：ERK、PKA、ROCK、Tak1、AMPK等に代表されるタンパク質リン酸化酵素の活性を測定するFRETバイオセンサーを開発し、それらを発現する多数のトランスジェニックマウスを樹立した。これらのマウスの、皮膚、肺、血小板、筋肉、膀胱、小腸など様々な組織を多光子顕微鏡で観察することにより、細胞間コミュニケーションの可視化が可能となった。例えば、ERKの活性が皮膚および小腸上皮細胞で自発的に上昇することや、その活性化が周囲の細胞に伝搬する現象の発見などはこれらの新技術によってはじめて可能となったものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞を構成する多様な分子の活性変化が細胞の機能をそしてひいては個体の機能を制御していることはよく知られている。しかし、技術的な困難性のために、実際に生きた組織で分子活性を顕微鏡レベルの解像度で観察することは極めて難しい。本研究では分子活性を多光子顕微鏡下に観察することで、これまで知られていなかった細胞間コミュニケーションの実態を明らかにする技術基盤を確立した。この技術は、例えば薬剤がどうして効くのかといった健康に直結する問題等に関して、試験管内の知見と個体の反応との大きなギャップを埋める非常に有用な手段を提供する。

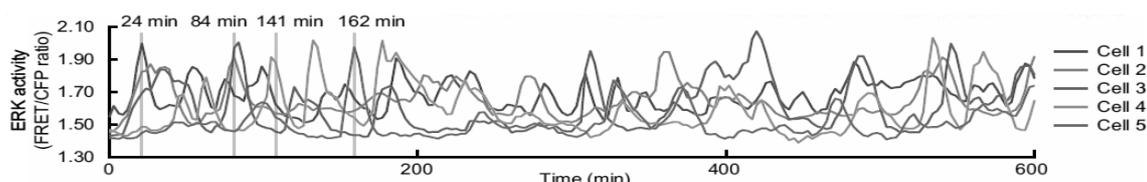
研究成果の概要（英文）：We have developed many FRET biosensors for protein kinases including ERK, PKA, ROCK, Tak1, AMPK, and so on. Furthermore, we developed transgenic mice expressing these FRET biosensors and observed many organs including skin, lung, platelet, muscle, bladder, and small intestine to visualize cell-to-cell communication. For example, we have shown for the first time that ERK activity in the skin and small intestine fluctuates and that such ERK activation can be propagated to the neighboring cells.

研究分野：実験病理学

キーワード：蛍光イメージング 蛍光顕微鏡 バイオセンサー 上皮細胞増殖因子

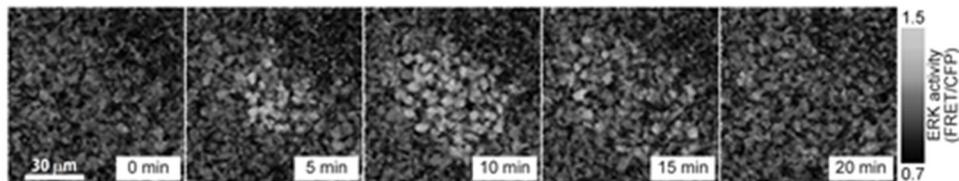
### 1. 研究開始当初の背景

Förster Resonance Energy Transfer (FRET)の原理に基づくバイオセンサーは、活性に応じて構造変化するドメインを二つの蛍光タンパク質が挟んだ基本構造をとり、遺伝子によりコードされる分子プローブである。これまでに開発された FRET バイオセンサーはカルシウムや ATP を始めとする低分子、タンパク質リン酸化酵素に代表される情報伝達分子、さらにはアクチンの張力まで、実に多様な分子活性や環境情報を可視化することができる。しかし、従来の技術では FRET バイオセンサーの安定発現が困難であり、研究手法としては予想したほどの広がりは見せなかった。申請者らは、平成 26 年度に終了する新学術領域研究「蛍光生体イメージ」において、FRET バイオセンサーを培養細胞やトランスジェニックマウスに安定して発現させる技術を報告した(Kamioka et al., 2012)。そして、この技術を用いてラット培養細胞では ERK が不規則なパルス状の活性化を起こすこと、この確率的 ERK 活性化が側方の細胞に伝搬することを見出した(下図 Aoki et al., 2013)。カルシウムについては同様の研究が多く行われているが、酵素活性を指標にした“ゆらぎ”の研究は FRET バイオセンサーを使って初めて可能となったものであ



る。

では同様の現象は実際の動物組織でも見えるのであろうか。下図は ERK 活性を測定する FRET バイオセンサーを核内に発現するトランスジェニックマウスの表皮基底細胞を経時観察したものである。直径 100  $\mu\text{m}$  程度の領域に約 30 分かけて ERK 活性が打ち上げ花火のように伝搬される様子が観察される。Spatial propagation of radial ERK activity distribution (SPREAD)と命名したこの現象は、細胞増殖シグナルが少数の活性化された細胞から周囲へ伝搬されることを示している(Hiratsuka et al., 2015)。この発見は、FRET マウスの観察がこれまでの培養細胞を用いた研究からは想像もできないような発見をもたらすことの証拠となる。今、平面培養系から 3 次元培養系へ、培養細胞から器官培養へ、そして生体へと生命科学の潮流は大きく変化しつつある。この研究の流れの中では、細胞間コミュニケーションをいかに可視化するかということがきわめて重要となってくる。FRET バイオセンサーはこの新しい研究の駆動力として期待されている。



### 2. 研究の目的

(1) FRET バイオセンサーの高度化： FRET バイオセンサーの高感度化、長波長化、多色化を進める。また、発光を利用した新規バイオセンサーの開発も並行して進める。

(2) 第二世代 FRET マウスの開発と多様な臓器でのイメージング技術の開発： 細胞間コミュニケーションを可視化するためにはすべての細胞が見えている必要がある。そこで、ROSA26 ロークラスの BAC クロントランスジェニックマウス等を利用して、可能な限りすべての細胞で FRET バイオセンサーが発現しているマウスを作製する。また、皮膚以外の臓器での細胞間コミュニケーションを可視化するための基本技術を開発する。

(3) 細胞間コミュニケーションを可視化する画像処理技術の開発： 3 次元画像タイムラプスデータから、細胞間コミュニケーションを抽出するプログラムを開発し、情報伝達のルールを解読する。

(4) 摂動実験のための低分子化合物の作成と新規光遺伝学ツールの開発： 組織での細胞間コミュニケーションの意義を解明するためには、阻害剤を用いた研究に加え、細胞間コミュニケーションを再現する摂動実験が必要である。しかし、汎用されている FRET バイオセンサーと光遺伝学のツールは、ほぼ同じ波長域を使うため、併用は難しい。そこで、新規低分子化合物によるシグナル伝達分子活性調節系を開発する。また、長波長域での光遺伝学ツールも開発する。

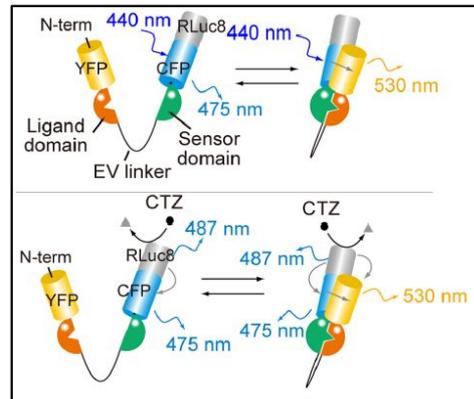
### 3. 研究の方法

- (1) FRET バイオセンサーの高度化： 高感度化、長波長化、多色化を進める。また、発光を利用した新規バイオセンサーの開発も並行して進める。
- (2) 第二世代 FRET マウスの開発と多様な臓器でのイメージング技術の開発： BAC クローントランスジェニックマウス等を利用して、可能な限りすべての細胞で FRET バイオセンサーが発現しているマウスを作製する。
- (3) 細胞間コミュニケーションを可視化する画像処理技術の開発： 3次元画像タイムラプスデータから、細胞間コミュニケーション情報を抽出するプログラムを開発し、情報伝達のルールを抽出する。
- (4) 摂動実験のための低分子化合物の作成と新規光遺伝学ツールの開発： 新規低分子化合物によるシグナル伝達分子活性調節系と、長波長域での光遺伝学ツールも開発する。画像処理は領域内の横田らと共同で進めるほか、多光子顕微鏡イメージングは根本らと情報を交換しながら進める。また、これまで行ってきたマウス生体イメージング講習会や Web での発信活動を通して、FRET イメージングの普及など、領域の活動を国内外へと広げる。

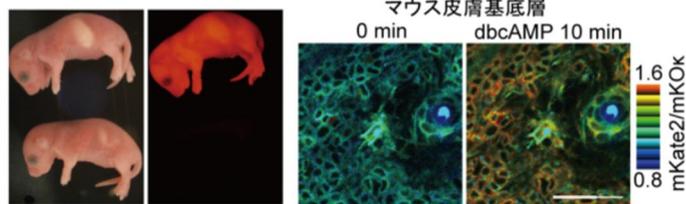
#### 4. 研究成果

##### (1) FRET バイオセンサーの高度化：

蛍光共鳴エネルギー移動と生物発光共鳴エネルギーの両方を同時に行うことができる hyBRET バイオセンサーを開発した(右図)。このバイオセンサーは、蛍光顕微鏡下でマイクロレベルの解像度を有する一方、基質であるセレンテラジン(CTZ)を加えると発光し、個体レベルでの分子活性の測定が可能となる。さらに、この hyBRET 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測定することで、薬剤活性のリアルタイムイメージングも可能となった (Komatsu et al., 2018)。



長波長で作動する FRET バイオセンサーを開発した。遠赤色蛍光タンパク質の中で最も量子収率が高く、ドナーから受け取ったエネルギーを高効率に光に変換することが期待できるとい理由で mKate2 をアクセプターとして決定した。次に、mKate2 をアクセプターとしたときに、最も FRET を起こしやすいドナー蛍光タンパク質をフェルスター距離から求め、mKO をドナーとして選定しました。様々な最適化を行い、従来の CFP/YFP を用いた AKAR3EV と同等の性能を持つ PKA バイオセンサーの作成に成功し、Booster-PKA と名付けた。さらに、Booster-PKA を全身発現するマウス (Booster-PKAchu) を作成し、皮膚基底細胞での PKA 活性の上昇を可視化することに成功した(右図)(Watabe et al., 2020)。



(2) 第二世代 FRET マウスの開発と多様な臓器でのイメージング技術の開発： 従来のトランスジェニックマウス作成法では組織ごとに発現量が異なり、目的とする臓器で分子活性が測定できないことがしばしばあった。そこで、D4Z4 insulator および WPRE (woodchuck hepatitis virus posttranscriptional regulatory element) を導入し、様々な細胞種でバイオセンサーが発現できるようにした。

(3) 細胞間コミュニケーションを可視化する画像処理技術の開発： 組織形態を蛍光顕微鏡下で観察するための新しい蛍光標識 NuCyM を開発した。この NuCyM を Bac クローンをを用いて発現させ、全身臓器の蛍光顕微鏡下での観察が可能なトランスジェニックマウスを作成した。このマウスにおいて、細胞を自動認識するための機械学習を用いたプログラムを作成した (Imanishi et al., 2018)。

(4) 摂動実験のための低分子化合物の作成と新規光遺伝学ツールの開発： 様々な細胞内分子が細胞膜移行によって活性化されることが知られている。そこで、様々な細胞内膜へ特異的に親和性を有する脂質タグを作成し、これをタンパク質に特異的に結合するタグと結合することで、細胞内分子を薬剤誘導性に活性化する self-localizing ligand-induced protein translocation (SLIPT) システムを開発した。この系を用いることで、Ras/ERK 経路および PI3K/Akt 経路を薬剤誘導性に活性化することができた (Nakamura et al., 2020)。

##### (5) 細胞間情報伝達の生物学的意義の解明：

生きたマウス体内の AMPK 活性を可視化： 細胞内エネルギーが不足すると活性化する AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase, AMPK) の活性を生体内でモニター

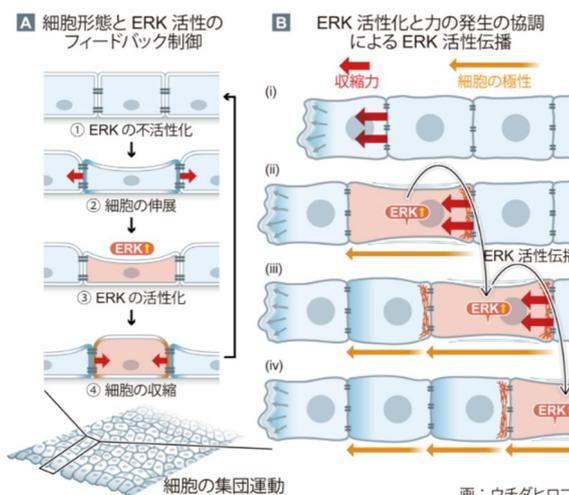
するため、AMPK の FRET バイオセンサーを発現する遺伝子改変マウスを開発した。その結果、生きたマウス体内で糖尿病薬や運動による AMPK の活性化を捉えることに成功した (Konagaya et al., 2017)。

胸腺細胞の運動動態を制御する仕組み： ERK の活性を生体内のリンパ球においてリアルタイムに観察することは技術的に困難であった。そこで ERK の活性を検出することができる FRET バイオセンサーを T 細胞特異的に発現するようにした遺伝子改変マウスを開発した。このマウス由来の胸腺細胞を二光子励起顕微鏡という特殊な顕微鏡で観察し、胸腺組織内を自由に動き回る胸腺細胞一つ一つでの ERK の活性変化をリアルタイムに観察することができる研究手法を開発した。そして、ERK の活性化により胸腺での細胞運動が抑制されること、ならびにその抑制様式が機能の異なる T 細胞間で異なることを明らかにした (Konishi et al., 2018)。

集団運動における機械的な力を介した細胞間情報伝達機構： 細胞が生み出す機械的な力に着目し、分子活性の可視化・操作技術、力の測定、数理モデルを組み合わせ、ERK 活性波が伝搬するメカニズムを解析した。その結果、個々の細胞は引張力を受けると伸展

ERK 活性化 収縮という応答を示すことがわかった(右図)。また、細胞間の物理的な相互作用を考え、ERK 活性化により細胞が収縮すると隣の細胞に引張力を負荷させ、ERK 活性伝播が起こることも見出した)。すなわち、機械的刺激と細胞内のシグナル伝達とが協調的に作用し、遠くまで持続的な情報伝達が起こることを明らかにした (Hino et al., 2020)。

### 細胞は引っ張る力で情報を伝える



### <引用文献>

- Kamioka, Y., K. Sumiyama, R. Mizuno, Y. Sakai, E. Hirata, E. Kiyokawa, and M. Matsuda. 2012. Live imaging of protein kinase activities in transgenic mice expressing FRET biosensors. *Cell Struct. Funct.* 37:65-73.
- Aoki, K., Y. Kumagai, A. Sakurai, N. Komatsu, Y. Fujita, C. Shionyu, and M. Matsuda. 2013. Stochastic ERK activation induced by noise and cell-to-cell propagation regulates cell density-dependent proliferation. *Mol. Cell.* 52:529-540.
- Hiratsuka, T., Y. Fujita, H. Naoki, K. Aoki, Y. Kamioka, and M. Matsuda. 2015. Intercellular propagation of extracellular signal-regulated kinase activation revealed by in vivo imaging of mouse skin. *eLife.* 4:e05178.
- Komatsu, N., K. Terai, A. Imanishi, Y. Kamioka, K. Sumiyama, T. Jin, Y. Okada, T. Nagai, and M. Matsuda. 2018. A platform of BRET-FRET hybrid biosensors for optogenetics, chemical screening, and in vivo imaging. *Sci Rep.* 8:8984.
- Watabe, T., K. Terai, K. Sumiyama, and M. Matsuda. 2020. Booster, a red-shifted genetically encoded Förster resonance energy transfer (FRET) biosensor compatible with cyan fluorescent protein/yellow fluorescent protein-based FRET biosensors and blue light-responsive optogenetic tools. *ACS Sens.* 5:719-730.
- Imanishi, A., T. Murata, M. Sato, K. Hotta, I. Imayoshi, M. Matsuda, and K. Terai. 2018. A novel morphological marker for the analysis of molecular activities at the single-cell level. *Cell Struct. Funct.* 43:129-140.
- Nakamura, A., C. Oki, K. Kato, S. Fujinuma, G. Maryu, K. Kuwata, T. Yoshii, M. Matsuda, K. Aoki, and S. Tsukiji. 2020. Engineering orthogonal, plasma membrane-specific SLIPT systems for multiplexed chemical control of signaling pathways in living single cells. *ACS chemical biology.* 15:1004-1015.
- Konagaya, Y., K. Terai, Y. Hirao, K. Takakura, M. Imajo, Y. Kamioka, N. Sasaoka, A. Kakizuka, K. Sumiyama, T. Asano, and M. Matsuda. 2017. A Highly Sensitive FRET Biosensor for AMPK Exhibits Heterogeneous AMPK Responses among Cells and Organs. *Cell Rep.* 21:2628-2638.
- Konishi, Y., K. Terai, Y. Furuta, H. Kiyonari, T. Abe, Y. Ueda, T. Kinashi, Y. Hamazaki, A. Takaori-Kondo, and M. Matsuda. 2018. Live-Cell FRET Imaging Reveals a Role of Extracellular Signal-Regulated Kinase Activity Dynamics in Thymocyte Motility. *iScience.* 10:98-113.
- Hino, N., L. Rossetti, A. Marín-Llauradó, K. Aoki, X. Trepas, M. Matsuda, and T. Hirashima. 2020. ERK-mediated mechanochemical waves direct collective cell polarization. *Dev Cell.* 53:646-660.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Konishi Yoshinobu, Terai Kenta, Furuta Yasuhide, Kiyonari Hiroshi, Abe Takaya, Ueda Yoshihiro, Kinashi Tatsuo, Hamazaki Yoko, Takaori-Kondo Akifumi, Matsuda Michiyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Live-Cell FRET Imaging Reveals a Role of Extracellular Signal-Regulated Kinase Activity Dynamics in Thymocyte Motility	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 98 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2018.11.025	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 Sano Takeshi, Kobayashi Takashi, Ogawa Osamu, Matsuda Michiyuki	4. 巻 188
2. 論文標題 Gliding Basal Cell Migration of the Urothelium during Wound Healing	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 2564 ~ 2573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2018.07.010	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 Terai Kenta, Imanishi Ayako, Li Chunjie, Matsuda Michiyuki	4. 巻 44
2. 論文標題 Two Decades of Genetically Encoded Biosensors Based on Förster Resonance Energy Transfer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 153 ~ 169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.18035	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 Imanishi Ayako, Murata Tomokazu, Sato Masaya, Hotta Kazuhiro, Imayoshi Itaru, Matsuda Michiyuki, Terai Kenta	4. 巻 43
2. 論文標題 A Novel Morphological Marker for the Analysis of Molecular Activities at the Single-cell Level	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 129 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.18013	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 Ihermann-Hella Anneliis, Hirashima Tsuyoshi, Kupari Jussi, Kurtzeborn Kristen, Li Hao, Kwon Hyuk Nam, Cebrian Cristina, Soofi Abdul, Dapkunas Arvydas, Miinalainen Ilkka, Dressler Gregory R., Matsuda Michiyuki, Kuure Satu	4. 巻 11
2. 論文標題 Dynamic MAPK/ERK Activity Sustains Nephron Progenitors through Niche Regulation and Primes Precursors for Differentiation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 912 ~ 928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2018.08.012	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 Komatsu Naoki, Terai Kenta, Imanishi Ayako, Kamioka Yuji, Sumiyama Kenta, Jin Takashi, Okada Yasushi, Nagai Takeharu, Matsuda Michiyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 A platform of BRET-FRET hybrid biosensors for optogenetics, chemical screening, and in vivo imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8984
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-27174-x	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 Konishi Yoshinobu, Terai Kenta, Furuta Yasuhide, Kiyonari Hiroshi, Abe Takaya, Ueda Yoshihiro, Kinashi Tatsuo, Hamazaki Yoko, Takaori-Kondo Akifumi, Matsuda Michiyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Live-Cell FRET Imaging Reveals a Role of Extracellular Signal-Regulated Kinase Activity Dynamics in Thymocyte Motility	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 98 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2018.11.025	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 Sano Takeshi, Kobayashi Takashi, Ogawa Osamu, Matsuda Michiyuki	4. 巻 188
2. 論文標題 Gliding Basal Cell Migration of the Urothelium during Wound Healing	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 2564 ~ 2573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2018.07.010	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 Muta Yu, Fujita Yoshihisa, Sumiyama Kenta, Sakurai Atsuro, Taketo M. Mark, Chiba Tsutomu, Seno Hiroshi, Aoki Kazuhiro, Matsuda Michiyuki, Imajo Masamichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Composite regulation of ERK activity dynamics underlying tumour-specific traits in the intestine	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-04527-8	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 Imanishi Ayako, Murata Tomokazu, Sato Masaya, Hotta Kazuhiro, Imayoshi Itaru, Matsuda Michiyuki, Terai Kenta	4. 巻 43
2. 論文標題 A Novel Morphological Marker for the Analysis of Molecular Activities at the Single-cell Level	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 129 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.18013	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 Muta Yu, Matsuda Michiyuki, Imajo Masamichi	4. 巻 5
2. 論文標題 Dynamic ERK signaling regulation in intestinal tumorigenesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular & Cellular Oncology	6. 最初と最後の頁 1506684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/23723556.2018.1506684	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 Yamauchi Fumio, Kamioka Yuji, Yano Tetsuya, Matsuda Michiyuki	4. 巻 76
2. 論文標題 In Vivo FRET Imaging of Tumor Endothelial Cells Highlights a Role of Low PKA Activity in Vascular Hyperpermeability	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Cancer Res	6. 最初と最後の頁 5266 ~ 5276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.can-15-3534	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 Sano Takeshi, Kobayashi Takashi, Negoro Hiromitsu, Sengiku Atsushi, Hiratsuka Takuya, Kamioka Yuji, Liou Louis S., Ogawa Osamu, Matsuda Michiyuki	4. 巻 4
2. 論文標題 Intravital imaging of mouse urothelium reveals activation of extracellular signal-regulated kinase by stretch-induced intravesical release of ATP	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Physiol Rep	6. 最初と最後の頁 e13033 ~ e13033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.13033	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 Okuchi Yoshihisa, Imajo Masamichi, Mizuno Rei, Kamioka Yuji, Miyoshi Hiroyuki, Taketo Makoto Mark, Nagayama Satoshi, Sakai Yoshiharu, Matsuda Michiyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of Aging-Associated Gene Expression Signatures That Precede Intestinal Tumorigenesis	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Plos One	6. 最初と最後の頁 e0162300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0162300	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 Kawabata Noriyuki, Matsuda Michiyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Cell Density-Dependent Increase in Tyrosine-Monophosphorylated ERK2 in MDCK Cells Expressing Active Ras or Raf	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Plos One	6. 最初と最後の頁 e0167940
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0167940	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 Candeias Marco M, Hagiwara Masatoshi, Matsuda Michiyuki	4. 巻 17
2. 論文標題 Cancer specific mutations in p53 induce the translation of 160p53 promoting tumorigenesis	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 EMBO Rep	6. 最初と最後の頁 1542 ~ 1551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201541956	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 Hiratsuka T, Fujita Y, Naoki H, Aoki K, Kamioka Y, Matsuda M.	4. 巻 4
2. 論文標題 Intercellular propagation of extracellular signal-regulated kinase activation revealed by in vivo imaging of mouse skin.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e05178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.05178	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 Hirata E, Girotti MR, Viros A, Hooper S, Spencer-Dene B, Matsuda M,	4. 巻 27
2. 論文標題 Intravital imaging reveals how BRAF inhibition generates drug-tolerant microenvironments with high integrin beta1/FAK signaling	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Cancer Cell	6. 最初と最後の頁 574-88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ccell.2015.03.008	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 Kumagai Y, Naoki H, Nakasyo E, Kamioka Y, Kiyokawa E, Matsuda M.	4. 巻 34
2. 論文標題 Heterogeneity in ERK activity as visualized by in vivo FRET imaging of mammary tumor cells developed in MMTV-Neu mice	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 1051-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/onc.2014.28	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 Konagaya Yumi, Takakura Kanako, Sogabe Maina, Bisaria Anjali, Liu Chad, Meyer Tobias, Sehera-Fujisawa Atsuko, Matsuda Michiyuki, Terai Kenta	4. 巻 19
2. 論文標題 Intravital imaging reveals cell cycle-dependent myogenic cell migration during muscle regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Cycle	6. 最初と最後の頁 3167 ~ 3181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15384101.2020.1838779	査読の有無 無
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

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Yoshinobu Konishi, Kenta Terai, Takaya Abe, Yoko Hamazaki, Akifumi Takaori-Kondo and Michiyuki Matsud
2. 発表標題 Live-cell FRET imaging reveals a role of ERK activity dynamics in thymocyte motility
3. 学会等名 The 60th American Society of Hematology Annual Meeting and Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Ichise, Kenta Terai, Michiyuki Matsuda
2. 発表標題 Timelapse FRET imaging reveals the correlation between the strength of ERK activation in NK cells and the fate of conjugated target cells.
3. 学会等名 The 17th Meeting of Society for natural immunity (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Michiyuki Matsuda
2. 発表標題 In vivo FRET imaging of tumor endothelial cells highlights a role of low PKA activity in vascular hyperpermeability
3. 学会等名 Lorne Cancer Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 松田道行
2. 発表標題 FRETマウスの多光子顕微鏡観察
3. 学会等名 第68回日本細胞生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今西彩子、小松直貴、隅山健太、松田道行
2. 発表標題 組織細胞間コミュニケーションのライブイメージングに資する細胞形態マーカー発現マウスの作成
3. 学会等名 第68回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ayako Imanishi; Masaya Sato; Kenta Terai; Kenta Sumiyama; Kazuhiro Hotta; Michiyuki Matsuda
2. 発表標題 Development of four dimensional histology for live imaging
3. 学会等名 The 1st ABiS Symposium
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshinobu Konishi; Yuji Kamioka and Michiyuki Matsuda
2. 発表標題 Two-photon-excited fluorescence excitation spectra of red fluorophores and fluorescent proteins.
3. 学会等名 第68回日本細胞生物学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yumi Konagaya; Yusuke Hirao; Masamichi Imajo; Yuji Kamioka; Michiyuki Matsuda
2. 発表標題 Visualization of AMPK activity by fluorescence resonance energy transfer-based biosensor in vivo.
3. 学会等名 日本細胞生物学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yumi Konagaya; Kenta Terai; Michiyuki Matsuda
2. 発表標題 高感度のAMPK FRETバイオセンサーを用いた生体内AMPK活性の不均一性
3. 学会等名 第4回発生における代謝を考える会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yumi Konagaya; Kenta Terai; Michiyuki Matsuda
2. 発表標題 A highly sensitive FRET biosensor for AMP-activated protein kinase (AMPK) reveals heterogeneous cellular responses in vitro and in vivo.
3. 学会等名 第1回ABiSシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 牟田優; 今城正道; 松田道行
2. 発表標題 マウス小腸オルガノイドにおけるシグナル伝達経路の解析
3. 学会等名 第68回日本細胞生物学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今城正道、松田道行
2. 発表標題 新規オルガノイド培養法を用いた肝芽腫発生機構の解析
3. 学会等名 第68回細胞生物学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 奥知慶久
2. 発表標題 二光子顕微鏡による腸管腫瘍発生の可視化は正常腸管細胞の不均一性を明らかにする
3. 学会等名 第74回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 河鱒憲幸
2. 発表標題 変異型ras、raf 導入細胞の細胞密集による抑制
3. 学会等名 第74回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Yoshihisa Okuchi
2. 発表標題 Age-related DNA methylation and altered gene expression precede loss of heterozygosity of the Apc gene in Apc 716 mice.
3. 学会等名 Tenth AACR-JCA Joint Conference on Breakthrough in Cancer Research: From Biology to Therapeutics (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究概要  <a href="http://www.fret.lif.kyoto-u.ac.jp/project.htm">http://www.fret.lif.kyoto-u.ac.jp/project.htm</a>          研究概要  <a href="http://www.fret.lif.kyoto-u.ac.jp/project.htm">http://www.fret.lif.kyoto-u.ac.jp/project.htm</a></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
研究分担者	隅山 健太 (Sumiyama Kenta) (00370114)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・ユニットリーダー (82401)	
研究分担者	平島 剛志 (Hirashima Tsuyoshi) (10620198)	京都大学・医学研究科・講師 (14301)	
研究分担者	築地 真也 (Tsukiji Shinya) (40359659)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (13903)	
研究分担者	平塚 拓也 (Hiratsuka Takuya) (90641639)	京都大学・医学研究科・特定講師 (14301)	

## 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		
米国	Stanford University		