

令和 元年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2016～2018

課題番号：15KK0290

研究課題名（和文）エンドサイトーシスと外来因子取込を制御する細胞内シグナル伝達マシナリー（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Intracellular signaling machinery that regulates endocytosis and uptake of exogenous factors(Fostering Joint International Research)

研究代表者

大場 雄介 (Ohba, Yusuke)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：30333503

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,000,000円

渡航期間： 5ヶ月

研究成果の概要（和文）：蛍光の偏光および異方性という特性を用いて、分子の「向き」を測定することで、生命現象における「角度」に関する情報を取得する技術を開発した。特に、細胞膜の角度（曲率）の変化を蛍光強度の変化として測定する手法を確立した。これにより、従前は電子顕微鏡でしか観察できなかった膜の曲率とその変化を、高い時間分解能（秒レベル）で光学的に観察し、エンドサイトーシスの超初期過程の細胞膜変形の光学的可視化に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、エンドサイトーシスの超初期過程の細胞膜変形の分子メカニズムを解明に資する技術革新といえる。細胞膜の変形は100 nm程度以下の領域で生じる現象で、現存する超解像顕微鏡でも時間分解能を伴うダイナミクスの観察は不可能であり、「向き」に着目することで従来技術の限界を超える観察が可能となった。今後は、本研究成果を基盤に、「角度」と「向き」に着目した新しい生物学の新領域の開拓を目指したい。

研究成果の概要（英文）：We have developed a technology to obtain information on "angle" in biological phenomena by measuring the "orientation" of molecules using the properties of polarization and anisotropy of fluorescence. In particular, we established a method to detect the changes in the angle (curvature) of cell membranes by translating it to changes in fluorescence intensity corresponding to alteration of the molecular orientation. With these advantages, the curvature of the plasma membrane and its change, which had been visible only observable with electron microscopy, can be optically observed at a high time resolution (second level), making possible to visualize cell membrane deformation in the very early stage of endocytosis.

研究分野：生理学、細胞生物学

キーワード：蛍光イメージング シグナル伝達 エンドサイトーシス

### 1. 研究開始当初の背景

「細胞膜」は細胞形質膜および細胞内小器官の膜からなり、教科書などに描かれている絵を見る限りは、常に同じ状態で静止している用な印象を受ける。しかし実際は、絶えず運動や新規合成の結果として、動的にその恒常性が維持されている。実際に、エンドサイトーシス経路などについては、メンブレントラフィックというキーワードで多くの知見が蓄積されつつ有る。このようなダイナミックな生命現象を理解するためには、空間情報 ( $x, y, z$  軸) と時間情報 ( $t$  軸) のすべてが必要である。しかし、技術的限界からこの4次元情報すべての高分解能計測は不可能であり、先人の研究者はそのどれかを捨てる「トレードオフ」と戦いながら、多くの成果を挙げて来た。技術革新によるトレードオフへの挑戦は我々研究者の好奇心の一つである。例えば2014年にノーベル化学賞を受賞した超解像顕微鏡は、光学顕微鏡の回折限界を超えた電子顕微鏡レベルの  $xy$  分解能観察を、ある程度の時間分解能で行うことを可能とした。実は生命を理解する上で  $xyzt$  に加えて重要にもかかわらず、これまであまり注目されてこなかった要素がある。それは「向き」あるいは「角度」といった情報である。実生活の簡単な例により角度の重要性は容易に理解できる。例えば、同時刻の同じ空間内に二人の人が居たとする。この両者がお互いに向かい合っているか背中を向けているかにより、両者の関係性は大きく異なる。しかし、従前の生物学等の研究においては、「同距離」「同濃度」という評価になり、等価に扱われてきた。

### 2. 研究の目的

本研究では、蛍光の偏光および異方性という特性を用いて、分子の「向き」を測定することで、生命現象における「角度」に関する情報を取得する技術を開発する。特に、細胞膜の角度(曲率)の変化を蛍光強度の変化として測定する手法を確立する。これにより、従前は電子顕微鏡でしか観察できなかった膜の曲率とその変化を、高い時間分解能(秒レベル)で光学的に観察し、エンドサイトーシスの超初期過程で生じる細胞膜変形の分子メカニズムを解明に資する技術革新をもたらす。細胞膜の変形は100 nm程度以下の領域で生じる現象で、現存する超解像顕微鏡でも観察は不可能であり、「向き」に着目することで従来技術の限界を超える観察が可能となる。また、本研究成果を基盤に、「角度」と「向き」に着目した新しい生物学の新領域の開拓を目指したい。

### 3. 研究の方法

「偏光」という光の特性と蛍光タンパク質の異方性を用いて、「角度レポーター」分子を開発する。蛍光タンパク質の発色団は分子の長軸方向に対してほぼ直行しており、これに平行な偏光で励起され、発する蛍光偏光も同じ向きになる。したがって、細胞膜に対して一定の相対角度で蛍光タンパク質を固定することで、細胞膜から生じる蛍光に異方性をもたせ、その角度を計測することが可能になる。この角度レポーターを発現する細胞膜は、ある方向の偏光にのみ特異的に励起され、それと直行する偏光からなる励起光では励起されない。また、このレポーターを用いて角度を検出するための光学系を構築する。全反射照明を応用して励起光の偏光成分を制御することで、上記角度レポーターを用いて細胞膜の向きに応じて蛍光強度が変化する観察系を構築し、曲率変化の分子基盤を解明する。

### 4. 研究成果

細胞膜の曲率(細胞膜の変形)を計測するための「角度レポーター」のプロトタイプを作製した。蛍光タンパク質の発色団は  $\beta$ -barrel の長軸にほぼ直行する向きに配置している。すなわち、蛍光タンパク質の双極子モーメントはこれと同一方向になり、結果として発色団の向きに平行な偏光成分の励起光に特異的に励起される異方性を示す(図1)。また、発する

蛍光の偏光も同一の方向に限定される異方性を示す。したがって、蛍光タンパク質の相対的な向きを細胞膜に対して固定することで、細胞膜に偏光異方性を持たせることができる。我々は、緑色蛍光タンパク質(enhanced green fluorescent protein, EGFP)の171-174アミノ酸の位置にパルミチン酸化モチーフを、C末端にイソプレニル化配列を付加し、ニヶ所で細胞膜にアンカーされるEGFP変異体(EGFPpal-CAAX)を作製し、細胞膜の向きにより異方性を示す「角度レポーター」を開発した(図1)。

EGFPpal-CAAXを発現するCOS-1細胞を、蛍光顕微鏡で観察した(次ページ図2)。この観察系では、一次結像面の像をレンズでコリメートし、再度結像レンズで2次結像面に配置したcharge-coupled deviceチップに像を形成するようにした。また、この2枚のレンズ間の平行光路中で、2組の偏光ビームスプリッター(polarized beam splitter, PBS)と1枚の半波長板(half wavelength plate)を用いて0°、45°、90°、135°の偏光成分を持つ4つの光に分光し、画像素子上に4つの光を同時に結像させた。これにより、EGFPpal-CAAXが期待通りの向き固定され、

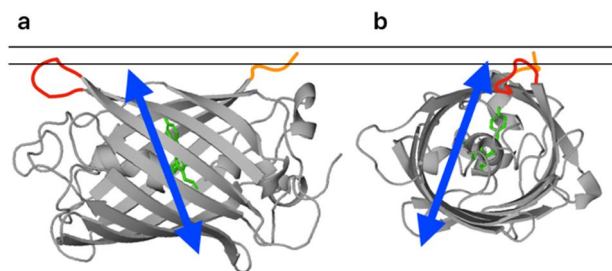


図1 EGFPpal-CAAXの模式図 緑は発色団、青矢印はdipoleの向き、赤はパルミチン酸化配列、オレンジはイソプレニル化配列

膜が偏光異方性を示すことが確認できた(図2)。

次に、異方性の変化により細胞膜の変形を観察するための偏光全反射照明系を構築した。光が屈折率の高い媒質から低い媒質(ガラスから水がこれに当たる)に臨界角を超える角度で入射すると、媒質の界面で全反射する。この全反射面近傍ではエネルギーのしみ出しによりエバネセント場が形成される。これが全反射蛍光照明法(total internal reflection fluorescence, TIRF)である。全反射顕微鏡はエバネセント場(ガラスと培地の境界面)に存在する蛍光分子のみを特異的に励起して、背景光を低く抑えた高いシグナルノイズ比を実現する観察手法である(図3)。

全反射照明の励起光源として使用するレーザーは直線偏光を有しており、これをガルバノミラーで円形に偏位させて全反射照明系を構築した。この時焦点面(標本位置)においては、水平方向において、ある一定の偏光をもつ励起光となり試料を照明する。一方で、軸対称偏光素子(segmented wave plate, SWP)という特殊な光学素子を介して偏光をコントロールすることで、焦点面において、水平(s-pol)ないし鉛直(p-pol)な偏光成分のみからなる励起光を得ることができる(図4a,b)。

先に開発したEGFPpal-CAAX発現細胞を観察したところ、励起光の偏光によって細胞膜の蛍光強度を変化させることに成功した(図4c,d)。すなわちp-pol励起(縦方向の矢印)で蛍光強度が最大となり、s-pol励起(横方向)で最小となる(図4c)。s-pol励起の際には細胞膜の曲率変化が生じている部位で蛍光強度が増加していることがわかる(図4d)。これによりエンドサイトーシスの初期で細胞膜が貫入する様子を可視化することが可能になる(図5)。実際、この細胞に蛍光標識した上皮成長因子(epidermal growth factor, EGF)で刺激したところ、細胞膜の陥凹部にEGFが集まり、やがて取り込まれることに矛盾ない画像が検出できた。今後は、本研究で開発した手法を用いて、エンドサイトーシス超初期過程をさらに可視化し、解析していきたい。

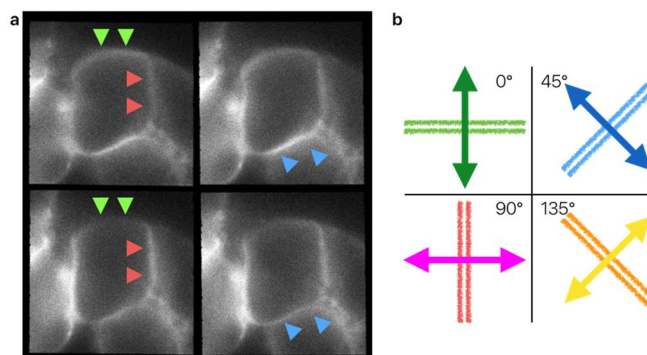


図2 GFPpal-CAAXの異方性による細胞膜の向きを検出  
(a) GFPpal-CAAXを発現する293T細胞から発する蛍光を、偏光ビームスプリッターおよび1/2波長板で0°(左上)、45°(右上)、90°(左下)、135°(右下)方向の偏光成分に分光し検出した。横方向の膜(緑矢頭)は左下に比し左上で、縦方向の細胞膜(赤矢頭)は左上に比し左下で強く検出される。また、斜めの膜は右側上下でシグナルの強度が変わる。  
(b) 細胞膜(二重線)と双極子の向き(矢印)の模式図

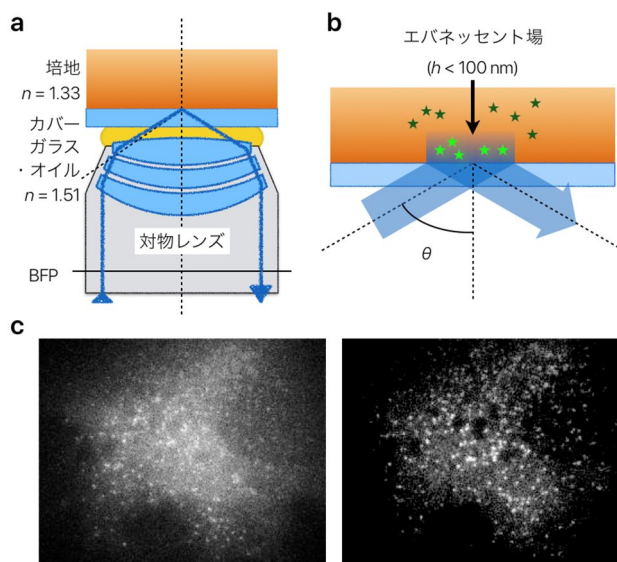


図3 TIRFの原理と撮像例

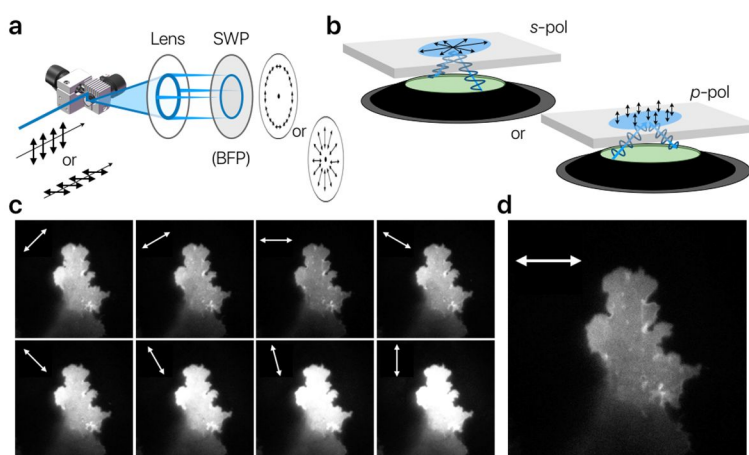


図4 pol-TIRFの原理 (a, b) と撮像例 (c, d) 各図の矢印は励起光の偏光方向

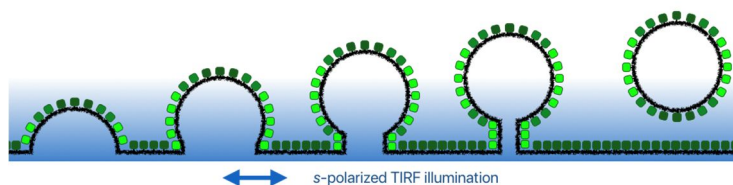


図5 EGFPpal-CAAXとpol-TIRFによる膜ダイナミクスの可視化原理  
明るい緑がs-pol励起光により蛍光を発するEGFP



5 . 主な発表論文等  
( 研究代表者は下線 )

[ 雑誌論文 ] ( 計 16 件 ) 全て査読有り

1. A peptide derived from phosphoinositide 3-kinase inhibits endocytosis and influenza virus infection. Y. Fujioka, A.O. Satoh, K. Horiuchi, M. Fujioka, K. Tsutsumi, J. Sasaki, P. Nepal, S. Kashiwagi, S. Paudel, S. Nishide, A. Nanbo, T. Sasaki and Y. Ohba. **Cell Struct. Funct.**, in press
2. Budding of Ebola Virus Particles Requires the Rab11-Dependent Endocytic Recycling Pathway. A. Nanbo and Y. Ohba. **J. Infect. Dis.** 218(suppl\_5): S388–S396, 2018
3. Infection of Epstein-Barr virus in type III latency modulates biogenesis of exosomes and the expression profile of exosomal miRNAs in the Burkitt lymphoma Mutu cell lines. A. Nanbo, H. Katano, M. Kataoka, S. Hoshina, T. Sekizuka, M. Kuroda and Y. Ohba. **Cancers** 10(7): 237, 2018
4. A sialylated voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel binds hemagglutinin and mediates influenza A virus entry into mammalian cells. Y. Fujioka, S. Nishide, T. Ose, T. Suzuki, I. Kato, H. Fukuhara, M. Fujioka, K. Horiuchi, A. O. Satoh, P. Nepal, S. Kashiwagi, J. Wang, M. Horiguchi, Y. Sato, S. Paudel, A. Nanbo, T. Miyazaki, H. Hasegawa, K. Maenaka and Y. Ohba. **Cell Host Microbe** 23(6): 809-818, 2018
5. The role of transforming growth factor  $\beta$  in cell-to-cell contact-mediated Epstein-Barr virus transmission. A. Nanbo, M. Ohashi, H. Yoshiyama and Y. Ohba. **Front. Microbiol.** 9: 984, 2018
6. Cell competition with normal epithelial cells promotes apical extrusion of transformed cells through metabolic changes. S. Kon, K. Ishibashi, H. Katoh, S. Kitamoto, T. Shirai, S. Tanaka, M. Kajita, S. Ishikawa, H. Yamauchi, Y. Yako, T. Kamasaki, T. Matsumoto, H. Watanabe, R. Egami, A. Sasaki, A. Nishikawa, I. Kameda, T. Maruyama, R. Narumi, T. Morita, Y. Sasaki, R. Enoki, S. Honma, H. Imamura, M. Oshima, T. Soga, J.I. Miyazaki, M.R. Duchon, J.M. Nam, Y. Onodera, S. Yoshioka, J. Kikuta, M. Ishii, M. Imajo, E. Nishida, Y. Fujioka, Y. Ohba, T. Sato and Y. Fujita. **Nat. Cell Biol.** 9(5): 530-541, 2017
7. Improved FRET biosensor for the measurement of BCR-ABL activity in chronic myeloid leukemia cells. M. Horiguchi, M. Fujioka, T. Kondo, Y. Fujioka, X. Li, K. Horiuchi, A.O. Satoh, P. Nepal, S. Nishide, A. Nanbo, T. Teshima and Y. Ohba. **Cell. Struct. Funct.** 42(1): 15-26, 2017
8. Rab5-regulated endocytosis plays a crucial role in apical extrusion of transformed cells. S. Saitoh, T. Maruyama, Y. Yako, M. Kajita, Y. Fujioka, Y. Ohba, N. Kasai, N. Sugama, S. Kon, S. Ishikawa, T. Hayashi, T. Yamazaki, M. Tada and Y. Fujita. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 114(12): E2327-E2336, 2017
9. A leukemogenic kinase, FIP1L1-PDGFR $\alpha$ , and a SUMO E3 ligase, PIAS1, form a positive crosstalk via their enzymatic activities. M. Ibata, J. Iwasaki, Y. Fujioka, K. Nakagawa, S. Darmanin, M. Onozawa, D. Hashimoto, Y. Ohba, S. Hatakeyama, T. Teshima and T. Kondo. **Cancer Sci.** 108(2): 200-207, 2017
10. Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand induces cell adhesion and integrin  $\alpha$ 2 expression via NF- $\kappa$ B in head and neck cancers. T. Yamada, M. Tsuda, T. Wagatsuma, Y. Fujioka, M. Fujioka, A.O. Satoh, K. Horiuchi, S. Nishide, A. Nanbo, Y. Totsuka, H. Haga, S. Tanaka, M. Shindoh and Y. Ohba. **Sci. Rep.** 6:23545, 2016
11. Attenuation of ligand-induced activation of angiotensin II type 1 receptor signaling by the type 2 receptor via protein kinase C. T. Inuzuka, Y. Fujioka, M. Tsuda, M. Fujioka, A.O. Satoh, K. Horiuchi, S. Nishide, A. Nanbo, S. Tanaka and Y. Ohba. **Sci. Rep.** 6: 21613, 2016
12. Fluorescence bioimaging of intracellular signaling and its clinical application. Y. Ohba and Y. Fujioka. **J. Oral Biosci.** 58(4): 113–119, 2016
13. Epstein-Barr virus exploits host endocytic machinery for cell-to-cell viral transmission rather than a virological synapse. A. Nanbo, K. Kachi, H. Yoshiyama and Y. Ohba. **J. Gen. Virol.** 97(11): 2989-3006, 2016
14. Tumour endothelial cells in high metastatic tumours promote metastasis via epigenetic dysregulation of biglycan. N. Maishi, Y. Ohba, K. Akiyama, N. Ohga, J.I. Hamada, H. Nagao-Kitamoto, M. Alam, K. Yamamoto, T. Kawamoto, N. Inoue, A. Taketomi, M. Shindoh, Y. Hida and K. Hida. **Sci. Rep.** 6: 28039, 2016
15. Lypd8 promotes the segregation of flagellated microbiota and colonic epithelia. R. Okumura, T. Kurakawa, T. Nakano, H. Kayama, M. Kinoshita, D. Motooka, K. Gotoh, T. Kimura, N. Kamiyama, T. Kusu, Y. Ueda, H. Wu, H. Iijima, S. Barman, H. Osawa, H. Matsuno, J. Nishimura, Y. Ohba, S. Nakamura, T. Iida, M. Yamamoto, E. Umemoto, K. Sano and K. Takeda. **Nature** 532(7597): 117-121, 2016
16. A role of the sphingosine-1-phosphate (S1P)-S1P receptor 2 pathway in Epithelial Defense Against Cancer (EDAC). S. Yamamoto, Y. Yako, Y. Fujioka, M. Kajita, T. Kameyama, S. Kon, S. Ishikawa, Y. Ohba, Y. Ohno, A. Kihara and Y. Fujita. **Mol. Biol. Cell** 27(3): 491-499, 2016

〔学会発表〕(計 22 件)

1. Yusuke Ohba, Fluorescence Imaging of membrane dynamics and intracellular signaling, The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) in conjunction with the 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2019 年、神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市)
2. 大場 雄介, 細胞内シグナル伝達とエンドサイトーシスの光による可視化と制御、第 36 回日本骨代謝学会学術集会、2018 年、長崎ブリックホール(長崎県長崎市)
3. Mari Fujioka, Yoichiro Fujioka, Aya O Satoh, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba, Development of FRET-based biosensors for measuring tyrosine kinase activity in living cells, 第 70 回日本細胞生物学会、2018 年、タワーホール船堀(東京都江戸川区)
4. Prabha Nepal, Yoichiro Fujioka, Aya O. Satoh, Kosui Horiuchi, Sarad Paudel, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Mari Fujioka, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba, Role of inner mitochondrial membrane proteins in the regulation of endocytosis mediated by Ras-PI3K signaling, 第 70 回日本細胞生物学会、2018 年、タワーホール船堀(東京都江戸川区)
5. Sarad Paudel, Yoichiro Fujioka, Aya O. Satoh, Mari Fujioka, Kosui Horiuchi, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba, The Role of tubulin in the regulation of endocytosis mediated by Ras-PI3K signaling, 第 70 回日本細胞生物学会、2018 年、タワーホール船堀(東京都江戸川区)
6. Sayaka Kashiwagi, Yoichiro Fujioka, Kosui Horiuchi, Aya O Satoh, Prabha Nepal, Aiko Yoshida, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba, The role of an Na,K-ATPase in spatiotemporal regulation of Ras- PI3K signaling and endocytosis, 第 70 回日本細胞生物学会、2018 年、タワーホール船堀(東京都江戸川区)
7. Aya O Satoh, Yoichiro Fujioka, Kosui Horiuchi, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Mari Fujioka, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba, A mitochondrial outer membrane protein is involved in the regulation of Ras-PI3K signaling-mediated endocytosis, 第 70 回日本細胞生物学会、2018 年、タワーホール船堀(東京都江戸川区)
8. Yoichiro Fujioka, Aya O Satoh, Kosui Horiuchi, Mari Fujioka, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba, A PI3K-derived peptide inhibits clathrin-independent endocytosis and influenza virus infection, 第 70 回日本細胞生物学会、2018 年、タワーホール船堀(東京都江戸川区)
9. Aiko Yoshida, Nobuaki Sakai, Yoshitsugu Uekusa, Shige H Yoshimura, Yusuke Ohba, Involvement of actin dynamics in the endocytic process revealed by fast-scanning atomic force microscopy, 第 70 回日本細胞生物学会、2018 年、タワーホール船堀(東京都江戸川区)
10. 藤岡 容一郎、西出 真也、尾瀬 農之、加藤 いづみ、福原 秀雄、藤岡 真理、堀内 浩水、佐藤 絢、Prabha Nepal、柏木 彩花、Jing Wang、堀口 美香、Sarad Paudel、南保 明日香、宮崎 忠昭、前仲 勝実、大場 雄介、インフルエンザウイルス細胞侵入において鍵となる宿主タンパク質の同定、第 69 回日本細胞生物学会大会、2017 年、仙台国際センター(宮城県仙台市)
11. 佐藤 絢、藤岡 容一郎、堀内 浩水、藤岡 真理、パウテデル サラド、西出 真也、南保 明日香、大場 雄介、PI3K 由来ペプチドによるインフルエンザウイルス感染の抑制、第 69 回日本細胞生物学会大会、2017 年、仙台国際センター(宮城県仙台市)
12. 堀内 浩水、藤岡 容一郎、佐藤 絢、Prabha Nepal、Jing Wang、堀口 美香、Sarad Paudel、西出 真也、南保 明日香、小布施 力史、大場 雄介、Ras-PI3K 複合体によるエンドサイトーシスの制御因子の探索と機能解析、第 69 回日本細胞生物学会大会、2017 年、仙台国際センター(宮城県仙台市)
13. 大場 雄介、藤岡 容一郎、蛍光イメージングを用いた細胞内シグナル伝達によるエンドサイトーシスの制御機構の解析、第 122 回解剖学会、2017 年、長崎大学坂本キャンパス(長崎県長崎市)招待
14. 大場 雄介、藤岡 容一郎、西出 真也、南保 明日香、蛍光イメージングで紐解くインフルエンザウイルス感染の分子基盤、第 54 回日本生物物理学会年会、2016 年、つくば国際会議場(茨城県つくば市)招待

15. 大場 雄介、近藤 健、豊嶋 崇徳、慢性骨髄性白血病分子標的治療薬薬効評価のための FRET バイオセンサーの開発と改良、第 75 回日本癌学会学術総会、2016 年、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
16. 大場 雄介、藤岡 真理、堀口 美香、近藤 健、豊嶋 崇徳、生きた白血病細胞で BCR-ABL 活性を精密測定するための FRET バイオセンサーの改良、第 89 回日本生化学会大会、2016 年、仙台国際センター 東北大学川内北キャンパス（宮城県仙台市）
17. 大場 雄介、インフルエンザウイルス粒子の取り込みを制御するシグナル伝達機構、第 6 回北海道探索病理学研究シンポジウム、2016 年、ニューオータニイン札幌（北海道札幌市）招待
18. 西出 真也、藤岡 容一郎、堀内 浩水、堀口 美香、佐藤 絢、Prabha Nepal、王 セイ、南保 明日香、大場 雄介、ライブセル蛍光イメージングの口腔疾患予防への応用、第 58 回歯科基礎医学会学術大会、2016 年、札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）
19. 佐藤 絢、藤岡 容一郎、堀内 浩水、西出 真也、Prabha Nepal、堀口 美香、Jing Wang、南保 明日香、大場 雄介、Ras-PI3K シグナルを介したエンドサイトーシス制御機構におけるミトコンドリアポアタンパク質の機能解析、第 68 回日本細胞生物学会、2016 年、京都テルサ（京都府京都市）
20. 堀内 浩水、藤岡 容一郎、佐藤 絢、Prabha Nepal、堀口 美香、Jing Wang、西出 真也、南保 明日香、小布施 力史、大場 雄介、Ras-PI3K 複合体の時空間制御を介したエンドサイトーシス調節因子の探索、第 68 回日本細胞生物学会、2016 年、京都テルサ（京都府京都市）
21. 藤岡 容一郎、西出 真也、佐藤 絢、堀内 浩水、Prabha Nepal、堀口 美香、Jing Wang、南保 明日香、大場 雄介、インフルエンザウイルス宿主細胞侵入を制御する宿主側因子の同定、第 68 回日本細胞生物学会、2016 年、京都テルサ（京都府京都市）
22. 西出 真也、藤岡 容一郎、堀内 浩水、堀口 美香、佐藤 絢、Prabha Nepal、Jing Wang、南保 明日香、大場 雄介、蛍光バイオセンサーを用いた時計タンパク質 BMAL1-CLOCK の細胞内動態の解析、第 68 回日本細胞生物学会、2016 年、京都テルサ（京都府京都市）

〔図書〕（計 1 件）

1. Fujioka M, Asano Y, Nakada S and Ohba Y. SH2 domain-based FRET biosensor for measuring BCR-ABL activity in living CML cells. **Methods in Molecular Biology. SH2 domains** Kazuya Machida K and Liu BA (ed.) Springer, New York, (p513-534), 2017 (ISBN: 978-1-4939-6760-5 [Print] 978-1-4939-6762-9 [Online])

## 6 . 研究組織

研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名：谷 知己

ローマ字氏名：Tomomi Tani

所属研究機関名：Marine Biological Laboratory

部局名：Eugene Bell Center for Regenerative Biology and Tissue Engineering

職名：Research Associate

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。