

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2004～2008

課題番号：16084202

研究課題名（和文） クロマチン構造構築とダイナミクスの分子制御機構

研究課題名（英文） Molecular mechanisms of chromatin formation and dynamics

研究代表者

木村 宏 (KIMURA HIROSHI)

大阪大学・生命機能研究科・准教授

研究者番号：30241392

研究成果の概要：

本研究は、細胞核内のクロマチンダイナミクスの意義と制御機構を明らかにすることを目的として行われた。膜透過化細胞やアフリカツメガエル卵抽出液を用いた再構成系を用いて、ヒストンの交換やアセンブリに働く因子の同定と解析を行い、ゲノムの恒常性維持や複製における各ヒストンシャペロンの機能を明らかにした。また、生きた細胞におけるヒストン修飾のダイナミクスの解析法を確立した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004 年度	33,600,000	0	33,600,000
2005 年度	24,300,000	0	24,300,000
2006 年度	24,300,000	0	24,300,000
2007 年度	24,300,000	0	24,300,000
2008 年度	23,500,000	0	23,500,000
総計	130,000,000	0	130,000,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：染色体構築・機能・分配、核構造、細胞構造・機能、細胞周期、クロマチン

## 1. 研究開始当初の背景

真核生物の遺伝子発現や DNA 複製・修復などの制御には、クロマチンレベルでの調節が重要な役割を果たしている。クロマチンの主要な蛋白質であるヒストンは、DNA と共にヌクレオソーム構造を形成する。我々は、これまでに、フォトブリーチ技術を用いて、生きた細胞内でヒストンの動態を解析した。その結果、ヒストン H2A-H2B は、H3-H4 に比べて流動的であり、H2A-H2B は転写伸長の際にクロマチンから遊離すること、及び、ユークロマチンの H2A-H2B の交換は転写や複製に関係な

くゆっくりと起こることが明らかとなった。しかし、これらのヒストンダイナミクスの意義と分子制御機構は不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、生細胞で見られるヒストンダイナミクスを、膜透過化細胞およびアフリカツメガエル卵抽出液を用いた再構成系において再現することで、高次クロマチン構造の構築やダイナミクスを制御する因子の同定とその分子作用機序、そして生理的意義を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 膜透過化細胞を用いた再構成系

HeLa 細胞を非イオン性界面活性剤 Triton X-100 で処理し、GFP 融合ヒストンを発現する細胞由来の細胞抽出液を添加し、30°C で 30 分インキュベートした。洗浄後、GFP 融合ヒストンのクロマチンへの取り込みを蛍光顕微鏡で観察した。

#### (2) ヒストン H2A-H2B 交換因子の精製

膜透過化細胞に、精製した GFP-H2A-H2B と細胞抽出液を添加し、GFP-H2A-H2B のクロマチンへの取り込みを蛍光顕微鏡で評価した。細胞抽出液をカラムクロマトグラフィーで分離し、GFP-H2A-H2B の取り込みを促進する活性を精製した。最終精製標品を SDS-PAGE で分離後、Coomassie 染色し、質量分析装置を用いて蛋白質を同定した。

#### (3) 組換え蛋白質の発現と精製

ヒストンシャペロン活性のある蛋白質をコードする cDNA をクローニングし、His6 タグなど融合した蛋白質を大腸菌で発現させた。タグを用いて精製し、活性の測定や抗体作製に使用した。

#### (4) モノクローナル抗体の作製と評価

修飾ペプチドを結合させたキャリアー (KLH) をマウスに免疫し、ハイブリドーマを樹立した。修飾ペプチドとコントロールの非修飾ペプチドを用いた ELISA により、特異性を検討した。さらに、ウェスタンブロッティング、クロマチン免疫沈降、蛍光免疫染色などを用いて、抗体の反応性を評価した。

#### (5) 生細胞内ヒストン修飾ダイナミクス

修飾特異的モノクローナル抗体から Fab を調製し、蛍光標識の後、ビーズローディング法を用いてガラスボトムディッシュ上の細胞に導入した。EM-CCD を装着した蛍光顕微鏡を用いてタイムラプス観察を行った。

#### (6) アフリカツメガエル卵抽出液を用いた再構成系

アフリカツメガエル卵から細胞抽出液を調製し、精子核をその抽出液中でインキュベートすることにより、細胞周期を進行させた。各種ヒストンシャペロンに特異的な抗体を用いて抽出液中の蛋白質を除去し、各シャペロンの役割を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 膜透過化細胞と細胞抽出液を用いたヒストン交換・アセンブリの再構成系の確立とヒストン H2A-H2B 交換促進因子の精製

HeLa 細胞を非イオン性界面活性剤で処理して調製された膜透過化細胞を、GFP 融合ヒストンを発現する細胞由来の抽出液の存在下でインキュベートした。GFP 融合ヒストンのクロマチンへの取り込みを蛍光顕微鏡で解析した結果、GFP-H2A と H2B-GFP はほとんど

全ての細胞でユークロマチンに取り込まれたが、H3-GFP と H4-GFP は、S 期の細胞にのみ取り込まれた (図 1)。この結果は、生細胞で見られたヒストンの挙動と同一であり、膜透過化細胞と抽出液を用いて細胞核中のクロマチンにおけるヒストンダイナミクスが再構成できたことを示している。

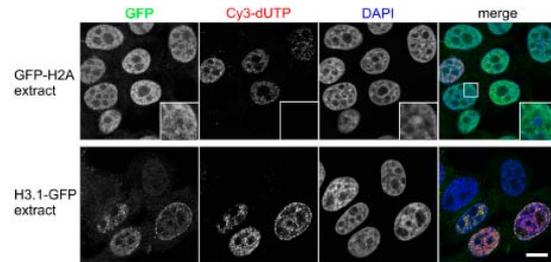


図 1. 膜透過化細胞を用いたヒストン交換・アセンブリの再構成

この系を利用して H2A-H2B の交換に働く活性を HeLa 細胞抽出液から精製したところ、Nap1 (nucleosome assembly protein-1)、Nap2、PP2C $\gamma$  (protein phosphatase 2C  $\gamma$ -subtype) の三種類の蛋白質が含まれていた。PP2C $\gamma$  は他の PP2C ファミリーには見られない酸性アミノ酸を多く含むドメインを持っており、免疫沈降や膜透過化細胞を用いたアッセイを行った結果、このドメインがヒストン H2A-H2B との結合や交換活性に必要であることが明らかとなった。また、PP2C $\gamma$  が実際にヒストンを脱リン酸化することも分かった。これらの結果から、ヒストンの交換と脱リン酸化がリンクしていることが示唆された。

(2) 新規ヒストン交換因子 PP2C $\gamma$  の機能再構成を用いて同定された PP2C $\gamma$  の細胞における役割を明らかにするため、PP2C $\gamma$  を欠損する DT40 を作製し、その生物学的機能の解析を行なった。PP2C $\gamma$  欠損細胞は正常に生育するものの、DNA 複製や損傷修復のチェックポイントの阻害に対して高い感受性を示した。また、PP2C $\gamma$  欠損細胞において、PP1 の阻害剤であるカリキュリン A の存在下では DNA 損傷やアポトーシスの際に誘導されるヒストン H2AX や H2B のリン酸化が上昇していた。

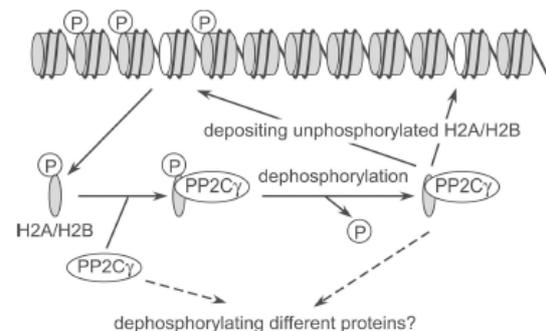


図 2. DNA 損傷修復における PP2C $\gamma$  の機能のモデル

これらの結果から、PP2C $\gamma$ は、DNA 損傷に伴いリン酸化された H2A (H2AX)-H2B を脱リン酸化させた後にヌクレオソームに取り込ませることで、損傷からの回復に関与すると考えられた (図 2)。

(3) ヒストン修飾特異的モノクローナル抗体を用いた生細胞内ヒストン修飾ダイナミクスの可視化

PP2C $\gamma$ の研究から、ヒストンのダイナミクスと修飾が密接に関与することが明らかになった。そこで、ヒストン修飾のダイナミクスを解析するため、ヒストン修飾特異的モノクローナル抗体を作製した。モノクローナル抗体から Fab を調製し、蛍光標識したのち、培養細胞に導入することで、生細胞のヒストン修飾を可視化することに成功した。特に、ヒストン H3 Ser10 (H3S10) のリン酸化に着目し、蛍光標識抗体を用いて細胞周期に伴うヒストンリン酸化のダイナミクスを解析した。ヒストン H3S10 のリン酸化は分裂期の凝縮した染色体で見られることが分かっているが、生細胞解析の結果、がん細胞ではリン酸化が染色体凝縮の直前に起こるのに対して、正常細胞では G2 期の早い時期から起こることが明らかになった (図 3)。また、aurora B の阻害剤を添加すると G2 期のリン酸化が消失したことから、G2 期のリン酸化はリン酸化と脱リン酸化のダイナミックなバランスで維持されていると示唆された。さらに、G2 期においてリン酸化された染色体からヘテロクロマチンタンパク質 HP1 が解離していたことから、G2 期のリン酸化は高次クロマチンの再編成に関わると考えられた。

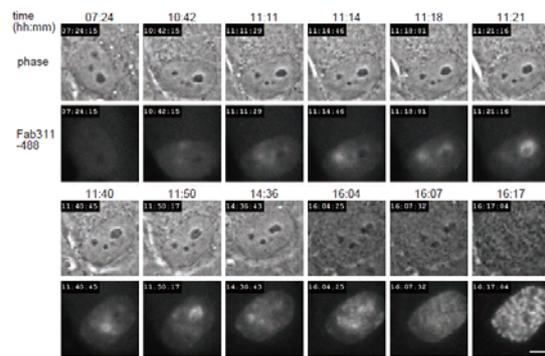


図 3. Alexa488 蛍光標識抗リン酸化 H3S10 抗体 Fab (Fab311-488) を用いた生細胞内ヒストンリン酸化の可視化

(4) クロマチン複製開始のための細胞周期制御

ツメガエル未受精卵の無細胞系はM期に停止した状態にあり、Ca<sup>2+</sup>添加によってS期へと移行させることができるうえ、分裂期の凝縮染色体、間期の核形成、染色体複製などのクロマチン現象を細胞内と同様に再現でき

るため、クロマチンのダイナミクス解析に幅広く用いられてきた。しかし、そのM期停止やCa<sup>2+</sup>添加によるS期移行の制御機構には不明な点が残されていた。そこで、まず、蛋白質キナーゼ Mos と分裂後期促進複合体 (APC/C) の抑制蛋白質 Erp1 の関連性に注目して、ツメガエル卵のM期停止機構を調べた。その結果、紡錘体形成チェックポイント制御とは異なる、Mos-Erp1 を中心とした制御システムによって未受精卵のM期停止がもたらされること、その解除によって引き起こされるS期移行には、Ca<sup>2+</sup>依存性のホスファターゼ、カルシニューリンの活性化が不可欠であることが明らかとなった (図 4)。

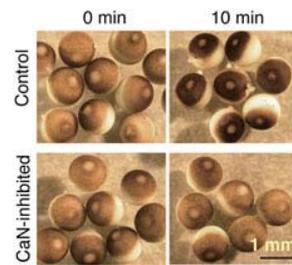


図 4. アフリカツメガエル卵の細胞周期進行におけるカルシニューリンの役割。アフリカツメガエルの受精卵では賦活収縮と呼ばれる表層のリモデリングが観察され、受精成立有無の指標となっているが (Control)、カルシニューリンの活性を阻害した卵ではこれが起こらない (CaN-inhibited)。

(5) クロマチン複製におけるヌクレオソーム構築の制御機構

複製 DNA のヌクレオソーム形成におけるヒストン H3・H4 シャペロンの動態と役割を解析した。ツメガエル卵のヒストン H3・H4 シャペロン、N1、CAF-1、Asf1 およびHIRA に対する特異抗体を作製し、クロマチン複製における各シャペロンの動態を、DNA 複製の進行状況との関連で調べた。その結果、CAF-1 は PCNA と同様に DNA 複製時に限ってクロマチンに局在し、Asf1 は間期のクロマチンに局在することが判明した。また、N1、CAF-1、Asf1 のいずれを免疫除去してゲノム DNA の複製には影響がないことが示された。しかし、ヌクレアーゼ処理 DNA 断片の解析によって複製された DNA のヌクレオソーム形成について調べたところ、CAF-1 の免疫除去により、ヌクレオソームの規則的な配列に乱れが生じること、Asf1 を免疫除去すると新規のヌクレオソーム形成が起こらなくなることが示された。一方、N1 除去はヌクレオソームに影響を与えなかった。従って、CAF-1 および Asf1 は複製されたゲノム DNA のヌクレオソーム形成に重要な役割をはたしていることが示唆された (図 5)。

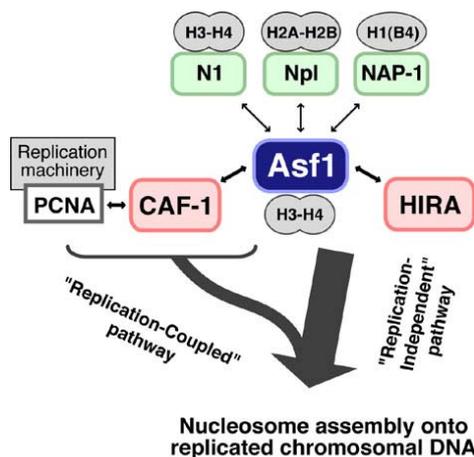


図5. アフリカツメガエル卵における各ヒストンシャペロンを介したクロマチン複製のモデル

(6) 領域内共同研究の促進と異分野融合  
特定領域内での連携を深め、共同研究や技術、材料の提供を幅広く行い、研究を発展させた。具体的には、FRAP 解析技術を他の研究班員（深川、田代、胡桃坂ら）と共有した。また、ヒストン交換の分子機構に関する研究を他の研究班員（胡桃坂、小布施ら）と共同で行った。さらに、新規に作成した修飾ヒストンに対するモノクローナル抗体を多くの研究班員に供与した。

#### 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 30 件)

- (1) Tachibana, M., Matsumura, Y., Fukuda, M., Kimura, H. and Shinkai, Y. (2008). G9a/GLP complexes independently mediate H3K9 and DNA methylation to silence transcription. *EMBO J.* 27, 2681-2690. 査読有
- (2) Kim, J.-M., Kim To, T., Ishida, J., Morosawa, T., Kawashima, M., Matsui, A., Toyoda, T., Kimura, H., Shinozaki, K. and Seki, M. (2008). Alterations of lysine modifications on histone H3 N-tail under drought stress conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 49, 1580-1588. 査読有
- (3) Tachiwana, H., Osakabe, A., Kimura, H. and Kurumizaka, H. (2008). Nucleosome formation with the testis-specific histone H3 variant, H3t, by human nucleosome assembly proteins in vitro. *Nucl. Acids Res.* 36, 2208-2218. 査読有
- (4) Kimura, H., Hayashi-Takanaka, Y., Goto,

Y., Takizawa, N. and Nozaki, N. (2008). Organization of histone H3 modifications revealed by a panel of specific monoclonal antibodies. *Cell Struct. Funct.* 33, 61-73. 査読有

(5) Hirayama, S., Yamazaki, Y., Kitamura, A., Oda, Y., Morito, D., Okawa, K., Kimura, H., Cyr, D.M., Kubota, H. and Nagata, K. (2008). MKKS is a centrosome-shuttling protein degraded by disease-causing mutations via CHIP-mediated ubiquitination. *Mol. Biol. Cell* 19, 899-911. 査読有

(6) Yomoda, J., Muraki, M., Kataoka, N., Hosoya, T., Suzuki, M., Hagiwara, M. and Kimura, H. (2008). Combination of Clk family kinase and SRp75 modulates alternative splicing of Adenovirus E1A. *Genes Cells* 13, 233-244. 査読有

(7) 木村 宏. (2008). ビフォー&アフター フォトブリーチ. *蛋白質核酸酵素* 53, 1992-1999. 査読無

(8) Ikura, T., Tashiro, S., Kakino, A., Shima, H., Jacob, N., Amunugama, R., Yoder, K., Izumi, S., Kuraoka, I., Tanaka, K., Kimura, H., Ikura, M., Nishikubo, S., Ito, T., Muto, A., Miyagawa, K., Takeda, S., Fishel, R., Igarashi, K. and \*Kamiya, K. (2007). DNA damage-dependent acetylation and ubiquitination of H2AX enhances chromatin dynamics. *Mol. Cell. Biol.* 27, 7028-7040. 査読有

(9) Murakawa, Y., Sonoda, E., Barber, L. J., Zeng, W., Yokomori, K., Kimura, H., Niimi, A., Lehmann, A., Zhao, G.U., Hochegger, H., Boulton, S.J. and Takeda, S. (2007). Inhibitors of the proteasome suppress homologous DNA recombination in mammalian cells. *Cancer Res.* 67, 8536-8543. 査読有

(10) Nishiyama, T., Ohsumi, K., and Kishimoto, T. (2007). Phosphorylation of Erp1 by p90rsk is required for cytoskeletal factor arrest in *Xenopus laevis* eggs. *Nature* 446, 1096-1099. 査読有

(11) Nishiyama, T., Yoshizaki, N., Kishimoto, T. and Ohsumi, K. (2007). Transient activation of calcineurin is essential to initiate embryonic development in *Xenopus laevis*. *Nature* 449, 341-345. 査読有

(12) 木村 宏. (2007). 光退色と光刺激による細胞内分子動態の解析. *化学と生物* 45, 798-804. 査読無

(13) 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. (2006). A novel

histone-exchange factor, protein phosphatase 2C $\gamma$ , mediates the exchange and dephosphorylation of H2A-H2B. *J. Cell Biol.* 175, 389-400. 査読有

(14) Kitamura, A., Kubota, H., Pack, C.G., Matsumoto, G., Hirayama, S., Takahashi, Y., Kimura, H., Kinjo, M., Morimoto, R.I. and Nagata, K. (2006). Cytosolic chaperonin prevents polyglutamine toxicity with altering aggregation state. *Nature Cell Biol.* 8, 1163-1169. 査読有

(15) Ohsumi, K., Yamamoto, T. M. and Iwabuchi M. (2006). Oocyte extracts for the study of meiotic M-M transition. *Methods Mol. Biol.* 322, 445-458. 査読無

(16) 木村 宏. (2006). 細胞周期と細胞分裂のダイナミクス: オーバービュー. *蛋白質核酸酵素* 51, 2115-2116. 査読無

(17) 木村 宏. (2006). 細胞核の解析技術: オーバービュー. *蛋白質核酸酵素* 51, 1970-1971. 査読無

(18) 木村 宏. (2006). クロマチン機能の頑強性と可塑性を支える細胞核構造. *蛋白質核酸酵素* 51, 293-300. 査読無

(19) Minoshima, Y., Hori, T., Okada, M., Kimura, H., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Bao, Y.C., Kawashima, T., Kitamura, T. and Fukagawa, T. (2005). The constitutive centromere component CENP-50 is required for recovery from spindle damage. *Mol. Cell. Biol.* 25, 10315-10328. 査読有

(20) Mikami, Y., Hori, T., Kimura, H. and Fukagawa, T. (2005). The functional region of CENP-H interacts with the Nuf2 complex that localizes to centromere during mitosis. *Mol. Cell. Biol.* 25, 1958-1970. 査読有

(21) Kimura, H. (2005). Histone dynamics in living cells revealed by photobleaching. *DNA Repair* 4, 939-950. 査読有

(22) Saeki, H., Ohsumi, K., Aihara, H., Ito, T., Hirose, S., Ura, K. and Kaneda, Y. (2005). Linker histone variants control chromatin dynamics during early embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 5697-57. 査読有

(23) Shintomi, K., Iwabuchi, M., Saeki, H., Ura, K., Kishimoto, T. and Ohsumi, K. (2005). Nucleosome assembly protein-1 is a linker histone chaperone in *Xenopus* eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 8210-8215. 査読有

(24) 木村 宏. (2004). フォトブリーチング法による蛍光標識蛋白質の細胞内動態解析法②: 生細胞における測定と定量的解析のためのアプローチ. *実験医学* 13, 1851-1856. 査読無

(25) 木村 宏. (2004). フォトブリーチング法による蛍光標識蛋白質の細胞内動態解析法①: 固定細胞を用いた条件設定. *実験医学* 13, 1739-1745. 査読無

(26) 木村 宏. (2004). 時間軸にわたる染色体機能の変化. *医学のあゆみ* 208, 890-894. 査読無

(27) Muraki, M., Ohkawara, B., Hosoya, T., Onogi, H., Koizumi, J., Koizumi, T., Sumi, K., Yomoda, J., Murray, M.V., Kimura H., Furuichi, K., Shibuya, H., Krainer, A.R., Suzuki, M., and Hagiwara, M. (2004). Manipulation of alternative splicing by a newly developed inhibitor of Clks. *J. Biol. Chem.* 279, 24246-24254. 査読有

(28) Iborra, F.J., Kimura H. and Cook P.R. (2004). The functional organization of mitochondrial genomes in human cells. *BMC Biol.* 2, 9. 査読有

(29) Inoue, K., Zama, T., Kamimoto, T., Aoki, R., Ikeda, Y., Kimura, H. and Hagiwara, M. (2004). TNF $\alpha$ -induced ATF3 expression is bidirectionally regulated by the JNK and ERK pathways in vascular endothelial cells. *Genes Cells* 9, 59-70. 査読有

30. Kimura, H., Hieda, M. and Cook, P.R. (2004). Measuring histone and polymerase dynamics in living cells. *Methods Enzymol.* 375, 381-93. 査読無

[学会発表] (計 17 件)

(1) Y. Hayashi-Takanaka, N. Nozaki, and H. Kimura: Live-cell imaging of histone H3 phosphorylation in G2/M phase. *Mitosis and Cancer Symposium (February 26-27, 2009, Amsterdam, The Netherlands)*

(2) 木村 宏、林 (高中) 陽子、野崎直仁: 細胞周期と転写の活性化に伴うヒストン修飾のダイナミクス. *BMB2008 (December 9-12, 2008, 神戸)*

(3) H. Kimura, Y. Hayashi-Takanaka, Y. Goto and N. Nozaki: Histone modifications associated with transcription activation and silencing as revealed by a panel of specific monoclonal antibodies. *Benzon Symposium No. 55. Transcription, Chromatin and Disease (August 18-21, 2008, Copenhagen, Denmark)*

(4) H. Kimura, Y. Hayashi-Takanaka, and N. Nozaki: The modification and dynamics of histones in human cells as revealed by a panel of specific monoclonal antibodies. *ICH2008: 13th Congress of the International Federation of Societies for Histochemistry and Cytochemistry (August 23-28, 2008, Gdansk, Poland)*

- (5) Y. Hayashi-Takanaka, N. Nozaki, and H. Kimura: Dynamics of histone modifications during the cell cycle and gene activation. *International Symposium on Chromosome Dynamics in Ise '08 (May 28-30, 2008, Shima, Japan)*
- (6) H. Kimura: Histone dynamics and modification in human cells. *Millipore Bio Forum 2008 (March 7, 2008, Tokyo, Japan)*
- (7) K. Ohsumi: Meiosis-II arrest and its cancellation in *Xenopus* eggs. *12th International Xenopus Conference (September 8-12, 2008, Leiwun, Germany)*
- (8) 木村 宏、林 (高中) 陽子、立和名博昭、越坂部晃永、胡桃坂仁志、野崎直仁: ヒストン交換と修飾のダイナミクス. *BMB2007 (December 11-14, 2007, 横浜)*
- (9) H. Kimura, N. Takizawa, E. Allemand, T. Hori, F. J. Iborra, N. Nozaki, M. Muraki, M. Hagiwara, A. R. Krainer, T. Fukagawa, and K. Okawa: A novel link between histone deposition and dephosphorylation through a protein phosphatase. *International Symposium on Functional Organization of the Nucleus (January 8-11, 2007, Awaji, Japan)*
- (10) T. Nishiyama, T. Kishimoto and K. Ohsumi: Transient activation of calcineurin is essential for MII exit in activated *Xenopus* eggs. *EMBO World Workshop: 8th European Meiosis Meeting in Japan, (September 13-18, 2007, Hayama, Japan)*
- (11) K. Ohsumi: Immobilization of importin alpha by annulate lamellae is required for survival of *Xenopus laevis* oocytes. *International Symposium on Functional Organization of the Nucleus (January 8-12, 2007, Awaji, Japan)*
- (12) H. Kimura, N. Takizawa, M. Muraki, and K. Okawa: Reconstitution of histone dynamics in vitro identifies a novel factor that mediates histone H2A/H2B exchange. 第 58 回日本細胞生物学会大会 (2005 年 6 月 15-17 日, 大宮)
- (13) 木村 宏: クロマチン構造変化: 可視化から再構成へ. 放射線影響学会シンポジウム「放射線照射直後におけるクロマチン構造変化」(2004 年 11 月 25-27 日, 長崎)
- (14) H. Kimura: Reconstitution of histone dynamics in vitro. *Cold Spring Harbor Laboratory meeting on Functional Organization of Nuclear Function. (September 22-25, 2004, Cold Spring Harbor, NY, USA)*
- (15) H. Kimura: Histone dynamics and gene expression in living cells. *16th*

*International Congress of International Federation of Associations of Anatomists (August 22-27, 2004, Kyoto, Japan)*

- (16) H. Kimura: Kinetics of histones in living human cells: Roles of H2A variants and factors that regulate histone exchange. *The 1st Pacific-rim International Conference on Protein Science (April 14-18, 2004, Yokohama, Japan)*
- (17) K. Ohsumi, T. Yamamoto and T. Kishimoto: Cdc2 activity is maintained at a constant level in CSF-arrested *Xenopus* eggs: Involvement of APC/C-Cdc20-mediated degradation of cyclin B but not Emil. *BSCB Autumn Meeting on Cell Cycle Regulation of Meiosis (September 13-15, 2004, Newcastle Upon Tyne, UK)*

〔図書〕 (計 5 件)

- (1) 林 (高中) 陽子、後藤友二、木村 宏. (2008). クロマチン免疫沈降 (ChIP) 法. 「エピジェネティクス実験プロトコール (牛島俊和・眞貝洋一/編)」(羊土社) p143-166.
- (2) 原口徳子、木村 宏、平岡 泰. (2007). 「講義と実習: 生細胞蛍光イメージング - 阪大・北大顕微鏡コースブッカー」(共立出版) 編集・執筆
- (3) Kimura, H. and Cook, P.R. (2006). Structure and function of inner-nuclear architectures. *Nuclear Dynamics (ed. K. Takeyasu and K. Nagata)*, Springer-Verlag Tokyo, Tokyo. p177-195.
- (4) 木村 宏. (2005). クロマチンタンパク質のFRAP解析: 結合・解離速度の測定. 「クロマチン・染色体実験プロトコール (押村光雄・平岡 泰/編)」(羊土社) p115-127.
- (5) 木村 宏. (2004). 転写の分子イメージング. 「細胞核のダイナミクス (竹安邦夫・米田悦啓/編)」(シュプリンガーフェアラーク東京) p23-32.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木村 宏 (KIMURA HIROSHI)  
大阪大学・生命機能研究科・准教授  
研究者番号: 30241392

### (2) 研究分担者

大隅 圭太 (OHSUMI KEITA)  
東京工業大学・生命理工学研究科  
・准教授  
研究者番号: 20221822

### (3) 連携研究者

なし