

令和 2 年 7 月 1 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：2017～2019  
 課題番号：16KK0156  
 研究課題名（和文）タンパク質恒常性による運動機能および寿命制御機構の解明（国際共同研究強化）  
  
 研究課題名（英文）Elucidation for the regulation of motility and lifespan by proteostasis  
 (Fostering Joint International Research)  
  
 研究代表者  
 北村 朗 (Kitamura, Akira)  
  
 北海道大学・先端生命科学研究院・講師  
  
 研究者番号：10580152  
  
 交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,700,000円  
 渡航期間： 7ヶ月

研究成果の概要（和文）：細胞内タンパク質恒常性の破綻に伴い形成されるミスフォールドタンパク質の蓄積は、細胞内においてしばしば凝集体を形成する。本研究では、筋萎縮性側索硬化症（ALS）の原因タンパク質であるTDP25を発現する線虫株を樹立し、その運動能および寿命解析を行い、実際の個体に対して与える影響を明らかにした。また、凝集性タンパク質と結合するRNAについて、生細胞内における構造を読み出す新規蛍光分光手法の確立と構造を読み出す系を確立した。さらに、凝集形成に関与すると考えられる細胞内高分子クラウディングの状態をGFPの蛍光寿命を用いて読み出す方法も確立できた。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

線虫は成虫で全長1ミリメートルほどの大きさの虫であるが、神経系・筋肉組織を有し、神経変性疾患のようなヒト疾患のモデル生物として広く用いられている。本研究では、筋萎縮性側索硬化症（ALS）の原因と考えられる凝集性タンパク質を線虫で発現する系を確立し、その運動能と寿命が低下することを実証した。本成果は、ALSをはじめとする神経変性疾患の原因究明のために重要な基盤手法となり得る。また他に二件の国際共同研究体制を組織することができ、どちらも生細胞内の分子構造を読み出すための重要な手法を確立することができた。

研究成果の概要（英文）：The accumulation of misfolded proteins formed upon disruption of intracellular proteostasis often results in the formation of aggregates in the cell. Such protein aggregates are thought to be toxic and cause death of neurons. However, the mechanism of reducing the toxicity of the aggregates formed in the cells at the individual level has not been elucidated, and its application to the treatment of specific neurodegenerative diseases has not been possible. In this study, we established a nematode strain expressing TDP25, a causative protein of amyotrophic lateral sclerosis (ALS), and analyzed its motility and lifespan. We further established a novel fluorescence spectroscopy method and a system to read out the structure of RNAs that bind to aggregate proteins in living cells. We also established a method to read out the status of intracellular macromolecular crowding, which is thought to be involved in aggregation formation, using the fluorescence lifetime of GFP.

研究分野：細胞生物学・生物物理学

キーワード：タンパク質恒常性 タンパク質凝集体 神経変性疾患 筋萎縮性側索硬化症 線虫 TRAST分光法 蛍光寿命イメージング顕微鏡

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。

## 1. 研究開始当初の背景

ポリペプチドが正しく折りたたまれないことにより生ずるミスフォールドタンパク質の蓄積は、細胞の生存にとってさまざまな悪影響を与えると考えられている。このように蓄積したミスフォールドタンパク質は、細胞内タンパク質恒常性（プロテオスタシス）の破たんを引き起こすと考えられている。具体的に「神経変性疾患」はタンパク質恒常性の破綻により引き起こされる疾患の一つである。細胞内でミスフォールドしたタンパク質が分解・除去されれば、細胞に毒性を与えないと考えられているが、分解されず細胞内に蓄積した場合、ミスフォールディングしたタンパク質同士が会合し、凝集する。凝集という分子状態は細胞内のある場所における分子会合の一形態であり、可溶性の閾値を超えると、細胞内封入体を形成すると考えられてきた。神経変性疾患患者の脳内にはこのような封入体が高頻度で観察されることから、封入体形成が神経変性の原因であるという仮説が提唱されている。

一方で、このように観察される封入体は様々な種類・分類が行われており、すべての封入体が高い毒性を持つものではない。研究実施者は、神経変性疾患の一つである筋萎縮性側索硬化症 (ALS)の原因とも考えられているタンパク質の TDP43 の凝集性について種々の報告を行っている。TDP43 のカルボキシル末端断片は、ALS 患者の運動ニューロン内における封入体の構成成分として知られており、その中でも凝集性および毒性が高い 25 kDa 断片である TDP25 の凝集形成は RNA により保護されている [Kitamura A. *et al.*, *Sci. Rep.*, 6, 19230 (2016)]. また、この TDP25 を核へ局在させると、核小体近傍で封入体様構造を形成するにもかかわらず、細胞質発現型と比較して細胞死率が低下することから、TDP25 は存在する細胞内区画により毒性が異なることが示唆された [Kitamura A. *et al.*, *Genes Cells*, 22, 521 (2017); Kitamura A. *et al.*, *Sci. Rep.*, 6, 19230 (2016)]. ただし、TDP25 凝集が個体内で運動機能や寿命に与える影響は未だ知られていない。

## 2. 研究の目的

本研究課題における目的は大きく三課題設定した。第一に、ALS の原因タンパク質である 25 kDa 断片である TDP25 の凝集形成に関与すると考えられる RNA の生細胞内構造を解析するための新規測定系を確立すること。第二に、TDP25 のような TDP43CTF が線虫の運動性および寿命に与える影響を解析すること。第三に、凝集形成につながる細胞内高分子クラウディング状態を *in situ* 観察できる手法を確立することである。

## 3. 研究の方法

### 細胞培養

培養細胞は、マウス神経芽細胞腫 Neuro2a (ATCC)および HeLa (RCB)を使用した。培地は、高濃度グルコース含有 DMEM に 10%ウシ胎児血清を添加したものを使用した。

### 蛍光標識 RNA 合成と調整

Alexa Fluor 647 を 5'側に標識した RNA は、ジーンデザインまたは IBA Lifesciences に合成・標識・精製を委託した。RNA のフォールディング状態を揃えるために、20 mM Tris-HCl (pH8.0)、100 mM KCl, NaCl, or LiCl に希釈し、95°C、2分処理した後、室温まで空冷したものを測定した。

### TRAST 分光法

TRAST 分光法の装置は、スウェーデン王立工科大学で自作されたものを使用した。励起光は 638 nm (Cobolt)、励起光パルスはレーザー変調により生成させた。対物レンズは Plympus UPLSAPO 60x/1.20W を用いた。検出器は sCMOS カメラ (浜松フォトニクス ORCA-Flash4.0 v2) を用いた。測定制御と解析は MATLAB コードで記述された自作ソフトウェアにて行った。測定された TRAST 曲線は一成分指数関数減衰モデルを用いて、振幅と時定数を得た。

### 線虫株の運動・寿命解析

線虫 (N2 株)は、NGM 寒天培地上で生育させた。筋肉組織で GFP, GFP-TDP25 または GFP-TDP43GRR を染色体外保持・発現する線虫株を樹立し、成虫を次亜塩素酸処理して溶解した後、卵を回収することで発生同期化させたのち、発生・生育させ、四日目と八日目の線虫個体を M9 緩衝液に一匹ずつ滴下し、実体顕微鏡下で線虫が曲がる頻度を定量した。また、同様に用意した線虫を NGM 寒天ブロー途上で長期間飼育し、咽頭部の筋肉が動かなくなる時を寿命として解析した。

### 多点蛍光寿命イメージング顕微鏡

多点蛍光寿命イメージング顕微鏡 (massively parallel FLIM) は、スウェーデン・カロリンスカ研究所にて構築された自作の装置を利用した。倒立顕微鏡は Axio Observer D1 (Carl Zeiss)、対物レンズは C-Apochromat 63x/1.2 W Korr. UV-VIS-IR、励起光は 488 nm (New Port Spectra Physics)を回折光学素子 (DOE)を用いて検出器であるアバランシェフォトダイオード (APD)の

アレイに合わせた 16 x 16 の多点照射とした。蛍光由来の光子が検出器に到達する時間を、時間ゲートを区切るにより取得した (タイムドメイン法)。得られた減衰関数は一成分指数関数モデルでカーブフィッティングし、蛍光寿命を得た。

#### 4. 研究成果

##### (1) RNA の生細胞内構造を解析する新手法の確立

生細胞内において RNA の立体構造を識別する新規手法として、Transient state (TRAST) monitoring 法に着目した。本法は、スウェーデン王立工科大学 Jerker Widengren 教授が世界で初めて確立した手法である [Sandén T., *et al.*, *Anal. Chem.*, 80, 9589 (2008)]。そもそも TRAST 法は、蛍光分子の光物理過程における動的消光の時定数とその割合を求められる手法である。時定数が求まることから、異なる時間領域で起こるイベントを識別することも可能である。一方、蛍光分子の光物理過程における動的消光過程が生ずる原因は種々存在する。例えば、励起状態における酸化還元分子との反応、分子内の異性化などがこれら当たる。本研究課題では、スウェーデン王立工科大学に滞在し研究を行った。具体的には、RNA の構造変化を識別できる蛍光分子の候補として、ATTO655, Alexa Fluor 647 を検討した。ATTO655 はグアニン塩基との間で酸化還元反応を起こすことで、光物理過程が変化すると考えられている。また Alexa Fluor 647 は *cis-trans* の光異性化を起こすが、周辺環境の変化によりこの異性化反応速度が変化することが知られているものである。RNA として、溶液内の構造変化条件がよくわかっているグアニン四重鎖 (Gq) 構造を利用することにした。Gq 構造は、100 mM 以上のカリウムイオンまたはナトリウムイオン存在下で、Gq 構造を形成することが知られている。一方で、リチウムイオンではそのような構造は形成しない。Gq 構造を取る配列として、GGGGCC リピートを利用した。

まず、ATTO655 または Alexa Fluor 647 標識した GGGGCC の四回リピート(G4) RNA をカリウム、ナトリウム、またはリチウムイオン存在下で、Gq 構造を形成させた。どちらの場合も、Gq 構造の形成に伴い、光物理化学反応速度定数とその割合は変化したことから、Gq 構造を形成しているかどうかを TRAST 法により読み出すことができることを実証できた。ただし、ATTO655 ではきわめて強い励起光を用いないと消光状態の変化を誘導できなかったことから、褪色等起こりやすい生細胞内での観察には不向きであると判断し、現実的な励起光強度でイメージング可能な Alexa Fluor 647 標識 RNA を用いて、生細胞内における Gq 構造の識別が可能か検討した。その結果、G4-RNA を標識した Alexa Fluor 647 は生細胞内で遅い異性化速度状態になったものの、内在性分子との結合が起こっているため、単純な時定数のみから構造を読み出すことは困難であることが分かった。そこで、Fluorescence recover after photobleaching (FRAP) 法により実測された生細胞内の RNA 動的割合を用いて TRAST 法による測定された「消光割合」を補正したところ、動的分子については、消光が起こりにくくなっていることが分かった。そこでこの割合を用いて補正をし、生細胞内において Gq 構造を識別できることを実証できた。本研究成果は投稿済であり、現在改訂中である。

##### (2) TDP43CTF 発現線虫の運動・寿命解析

GFP-TDP25 または GFP 単独を筋肉において発現する線虫株を樹立した。この株樹立と線虫を用いた手法一般の習得のために、米国ノースウェスタン大学 Richard Morimoto 教授の研究室に滞在した。株樹立後帰国し、日本の研究室において当該線虫株の運動能および寿命解析を行った。その結果、GFP-TDP25 発現株は、野生型 N2 株または GFP 単独発現株と比べて、運動能が低下することが分かった。さらに、N2 株および GFP 単独発現株では成長に伴い運動能が向上したのに対し、GFP-TDP25 発現株では逆に運動能が低下した。さらに、GFP-TDP25 株は寿命が短縮した (図)。従って、TDP25 は線虫筋肉組織内のタンパク質恒常性を乱すことで、運動能を低下させ、寿命が短くなることが実証された。本成果は、国内において実施した他科研究による成果と合わせて投稿準備中である。

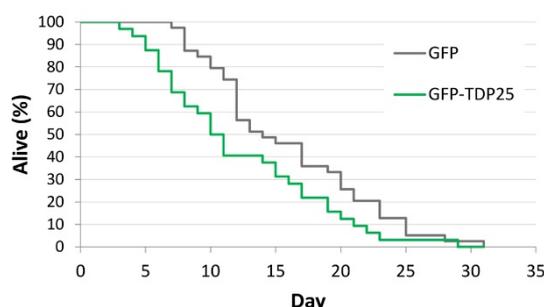


図. GFP-TDP25 発現線虫の寿命アッセイ

### (3) 蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた細胞内高分子クラウディング状態の *in situ* 観察

細胞内の封入体形成は、種々の要因により引き起こされると考えられているが、中でも高分子クラウディング (MMC) は重要な封入体形成に対する引き金の一つであると予想されている。そこでまず、MMC の状態変化を *in situ* 観察できる手法を確立するため、上述のスウェーデン王立工科大学滞在中に、カロリンスカ研究所臨床神経科学部門の Vladana Vukojevic 准教授が確立した多点蛍光寿命イメージング顕微鏡 (mpFLIM) を用いることで MMC が観察できるか、共同研究を開始した。

Neuro2a 細胞に対し、高浸透圧ストレス処理すると、細胞内でストレス顆粒と呼ばれる、ストレス時の翻訳抑制に働く細胞内封入体が形成されることを確認した上で、GFP 単量体を発現する Neuro2a に対し、同様に高浸透圧ストレスを与えると、GFP の蛍光寿命が短くなることが分かった。さらに、MMC センサーである GimRET [Morikawa T. J., *et al.*, *Sci. Rep.*, 6, 22342 (2016)] を用いたレシオイメージングを行うことにより、同様のストレスを与えた Neuro2a 細胞内で MMC の亢進が起こっていることを確かめた。さらに、細胞内 MMC を模倣化するために、250 mg/ml に調整したウシ血清アルブミン (BSA) 溶液内に精製 GFP 単量体を希釈し、蛍光寿命測定を行ったところ、蛍光寿命は短くなった。これらのことから、GFP の蛍光寿命測定により、生細胞内 MMC の亢進状態をモニターできる手法を確立することができた。本成果は現在投稿中である。

### (4) 本グラントによる国際共同研究のまとめ

以上のように、本科研費、国際共同研究強化を用いることで、アメリカ合衆国一件、スウェーデン二件の国際共同研究を立ち上げ、論文を投稿済または投稿準備中の段階まで研究を進めることができた。本科研費期間内に論文の受理にまで至れなかったことは残念であるが、投稿プロセスまで進んでいることから、近い将来、本研究成果を公開できるものと考えている。

### 謝辞

線虫への遺伝子導入法、飼育法および解析法全般については、ノースウェスタン大 Morimoto 研究室の Ms. Renee Brielman に多大な協力をいただいた。また、同研究室の Laura Bott 博士には、線虫発現ベクターの構築や、線虫発現系の原理について丁寧な教授をいただいた。Morimoto 研究室マネージャーの Ms. Sue Fox には、滞在期間中、研究活動全般においてたいへん有益な後方支援をしていただいた。またスウェーデン王立工科大学 Widengren 研究室の Johan Tornmalm 博士には、TRAST 法の原理、光学系調整、実際の測定において多大な貢献をいただいた。カロリンスカ研究所 Vukojevic 研究グループの大浅翔博士には、蛍光寿命測定において一部測定を行っていただき、たいへん有益な本研究内容への貢献があった。最後に、所属研究室の金城政孝教授には、本グラント取得当時、助教としての研究室内教育担当・その他管理業務がある中、長期にわたる海外渡航を認めていただき感謝している。ここにて関係者全員に改めて感謝申し上げますと共に、国際共同のための本科研費は、自身の研究生活における世界観を広めるうえで、極めて重要な節目となる期間と機会を与えて頂いたことを記しておきたい。最後に改めて謝意を申し上げますと共に、引き続き基礎研究の進展に貢献したい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Akira Kitamura	4. 巻 13
2. 論文標題 TDP-43 depletion: mechanism of neuronal cell death in ALS	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Future Neurology	6. 最初と最後の頁 143-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2217/fnl-2018-0010	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 Akira Kitamura, Ai Shibasaki, Kayo Takeda, Ryoji Suno, Masataka Kinjo	4. 巻 14
2. 論文標題 Analysis of the substrate recognition state of TDP-43 to single-stranded DNA using fluorescence correlation spectroscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Reports	6. 最初と最後の頁 58-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2018.03.009	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 Akira Kitamura, Hiroki Shimizu, Masataka Kinjo	4. 巻 164
2. 論文標題 Determination of cytoplasmic optineurin foci sizes using image correlation spectroscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 223-229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy044	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 Akira Kitamura, Nodoka Iwasaki, Masataka Kinjo	4. 巻 23
2. 論文標題 Molecular chaperone HSP70 prevents formation of inclusion bodies of the 25-kDa C-terminal fragment of TDP-43 by preventing aggregate accumulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Stress and Chaperones	6. 最初と最後の頁 1177-1183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12192-018-0930-1	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 Maoko Tsukamoto Kyoko Chiba Yuriko Sobu Yuzuha Shiraki Yuka Okumura Saori Hata Akira Kitamura Tadashi Nakaya Seiichi Uchida Masataka Kinjo Hidenori Taru Toshiharu Suzuki	4. 巻 592
2. 論文標題 The cytoplasmic region of the amyloid protein precursor (APP) is necessary and sufficient for the enhanced fast velocity of APP transport by kinesin 1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 2716-2724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13204	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 Munehika Sugihara, Daisuke Morito, Shiori Ainuki, Yoshinobu Hirano, Kazutoyo Ogino, Akira Kitamura, Hiromi Hirata, Kazuhiro Nagata	4. 巻 218
2. 論文標題 The AAA+ ATPase/ubiquitin ligase mysterin stabilizes cytoplasmic lipid droplets	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 949-960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.201712120	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 Tsubasa Hashimoto, Yuxin Ye, Asuka Matsuno, Yuki Ohnishi, Akira Kitamura, Masataka Kinjo, Satoshi Abe, Takafumi Uenod, Min Yao, Tomohisa Ogawa, Takashi Matsuaia, Yoshikazu Tanaka	4. 巻 509
2. 論文標題 Encapsulation of biomacromolecules by soaking and co-crystallization into porous protein crystals of hemocyanin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 577-584
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.12.096	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 Shuntaro Takahashi, Johtaro Yamamoto, Akira Kitamura, Masataka Kinjo, Naoki Sugimoto	4. 巻 91
2. 論文標題 Characterization of intracellular crowding environments with topology-based DNA quadruplex sensors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 2586-2590
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b04177	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 山本糸太郎, 北村朗, 金城政孝	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 蛍光相関分光の発展と応用, その最新動向	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物物理	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) なし	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 Masao Yahara, Akira Kitamura, Masataka Kinjo	4. 巻 12
2. 論文標題 U6 snRNA expression prevents toxicity in TDP-43-knockdown cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0187813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0187813	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 Akira Kitamura, Masataka Kinjo	4. 巻 15
2. 論文標題 Determination of diffusion coefficients in live cells using fluorescence recovery after photobleaching with wide-field fluorescence microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.15.0_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 Ryuichi Ishida, Tomoya Okamoto, Fumihiro Motojima, Hiroshi Kubota, Hiroki Takahashi, Masako Tanabe, Toshihiko Oka, Akira Kitamura, Masataka Kinjo, Masasuke Yoshida, Michiro Otaka, Ewa Grave and Hideaki Itoh	4. 巻 19
2. 論文標題 Physicochemical properties of mammalian molecular chaperone HSP60	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19020489	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 Akira Kitamura, Masataka Kinjo	4. 巻 19
2. 論文標題 State-of-the-Art Fluorescence Fluctuation-Based Spectroscopic Techniques for the Study of Protein Aggregation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19040964	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 Akira Kitamura, Yoshihito Ishida, Hiroshi Kubota, Chan-Gi Pack, Takayuki Homma, Shinya Ito, Kazutaka Araki, Masataka Kinjo, Kazuhiro Nagata	4. 巻 497
2. 論文標題 Detection of substrate binding of a collagen-specific molecular chaperone HSP47 in solution using fluorescence correlation spectroscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 279-284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.02.069	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 Akira Kitamura, Ai Shibasaki, Kayo Takeda, Ryoji Suno, Masataka Kinjo	4. 巻 14
2. 論文標題 Analysis of the substrate recognition state of TDP-43 to single-stranded DNA using fluorescence correlation spectroscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 58-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2018.03.009	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 Akira Kitamura, Hiroki Shimizu, Masataka Kinjo	4. 巻 164
2. 論文標題 Determination of cytoplasmic optineurin foci sizes using image correlation spectroscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 223-229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy044	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 北村朗
2. 発表標題 蛍光ゆらぎを利用した生体分子構造変化の解析
3. 学会等名 第55回 日本生化学会北海道支部例会，日本生物物理学会北海道支部合同シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akira Kitamura
2. 発表標題 RNA prevents ALS-linked protein aggregation
3. 学会等名 QBP/OCS seminar（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北村朗
2. 発表標題 RNAは細胞内ヒドロトロープとして働くか？
3. 学会等名 第9回・光塾
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北村朗
2. 発表標題 Structural change of ALS-liked mutant of TDP-43
3. 学会等名 第55回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akira Kitamura
2. 発表標題 Reading out G-quadruplex RNA structure using transient state (TRAST) of photochemical reaction of fluorophores
3. 学会等名 第57回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北村朗
2. 発表標題 Transient state (TRAST) monitoringを用いた生細胞内RNAフォールドの解析
3. 学会等名 第二回 定量生物の会・北海道キャラバン (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北村朗, Johan Tormmalm, Jerker Widengren, 金城 政孝
2. 発表標題 蛍光ゆらぎを利用した光化学反応速度定数の算出とRNA構造変化の解析
3. 学会等名 第11回・光塾
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Kitamura, Kanami Moriya, Kazuho Takahashi, Rei Kawashima, Renee Brielman, Richard I. Morimoto, Masataka Kinjo
2. 発表標題 Aggregation process of carboxyl terminal fragments of TDP-43
3. 学会等名 APPS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Kitamura, Haruka Kawaguchi, Tsumugi Kurosaki, Masataka Kinjo
2. 発表標題 Elucidation for stress granule function using chromophore-assisted light inactivation (CALI)
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Kitamura
2. 発表標題 Aggregation process of carboxyl terminal fragments of TDP-43
3. 学会等名 QBP/OCS seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>[プレスリリース] もやもや病の責任遺伝子が脂肪代謝の制御因子であることを発見  <a href="https://www.hokudai.ac.jp/news/190201_pr2.pdf">https://www.hokudai.ac.jp/news/190201_pr2.pdf</a>          所属研究室メンバー紹介個人ページ  <a href="http://altair.sci.hokudai.ac.jp/infmcd/member/kitamura/Kitamura.htm">http://altair.sci.hokudai.ac.jp/infmcd/member/kitamura/Kitamura.htm</a>          Facebook  <a href="https://www.facebook.com/akira.kitamura.735">https://www.facebook.com/akira.kitamura.735</a>          北海道大学研究成果プレスリリース (英文)  <a href="https://www.global.hokudai.ac.jp/blog/understanding-the-molecular-mechanisms-of-als/">https://www.global.hokudai.ac.jp/blog/understanding-the-molecular-mechanisms-of-als/</a>          北海道大学研究成果プレスリリース (日本語)  <a href="https://www.hokudai.ac.jp/news/171115_se.pdf">https://www.hokudai.ac.jp/news/171115_se.pdf</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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	モリモト リチャード  (Morimoto Richard)	ノースウェスタン大学・Rice Institute・教授	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
その他の 研究協 力者	ワイデングレ ン ヤーケ ル  (Widengren Jerker)	スウェーデン 王立工科大 学・応用物 理学部・教 授	
その他の 研究協 力者	ヴ コジ ェビ ック ヴ ラダ ナ  (Vladana Vukojevic)	カロ リ ン ス カ 研 究 所 ・ 臨 床 神 經 科 学 部 門 ・ 准 教 授	