

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292053

研究課題名(和文) 真核細胞におけるmRNA輸送基盤の解明とアプライドmRNAバイオテクノロジー

研究課題名(英文) Analysis of mRNA export mechanism and applied mRNA biotechnology in eukaryote.

研究代表者

増田 誠司 (Masada, Seiji)

京都大学・生命科学研究科・准教授

研究者番号：20260614

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)： mRNAの核から細胞質への輸送に関わる因子としてUAP56とそのパラログURH49が存在する。両者は90%以上の相同性を持つにもかかわらず、異なる複合体を形成し、異なるmRNAの選択的輸送に働く。ここでは複合体形成に関わる領域について分子生物学的手法を用いて、またその構造基盤として結晶構造解析を用いて明らかにした。その結果、複合体の形成を制御している領域はNドメインに存在すること、UAP56とURH49の構造はお互いによく似ているもののNドメインとCドメインの配位が異なり、またリンカー部分の構造が異なることを見出した。

研究成果の概要(英文)： UAP56, a DEAD box RNA helicase, functions to mRNA export from the nucleus to the cytoplasm. In higher eukaryote, there is a paralog of UAP56, named URH49. Although their amino acid homology is more than 90%, they form different complex and export specific set of mRNAs. In this study, I analyzed the region to regulate the complex formation using molecular biology technique and the structural basis using structural biology method. The results indicate that the region regulating the complex formation is within N domain of UAP56 and URH49 and that their structures are similar but the coordination of N and C domains were different between UAP56 and URH49 and the structure of linker region between N and C domains was also different.

研究分野： 細胞分子生物学

キーワード： mRNA export UAP56 URH49 structure complex formation

1. 研究開始当初の背景

(1)mRNA 輸送体と遺伝子発現

mRNA は、核内で RNA ポリメラーゼ II によって転写され、キャッピング、スプライシング、ポリアデニル化のプロセッシングを受ける(図1)。これらの mRNA プロセッシング間の受け渡しを効率的にしている因子は mRNA 輸送体と呼ばれる。mRNA 輸送体がないと、mRNA プロセッシング間の受け渡しが滞り、遺伝子発現に異常を生じる。したがって mRNA 輸送体は、遺伝子発現制御の統合的理解において鍵となる因子とされてきた(*Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 8, 761-73, 2007 等)。

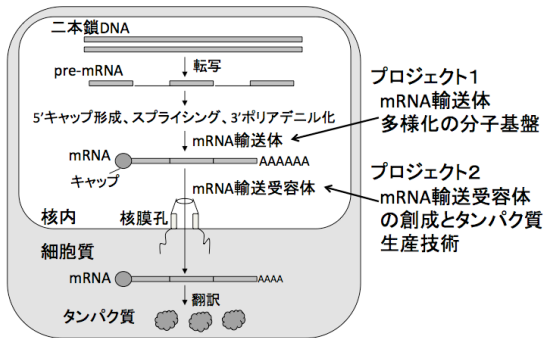


図1 真核細胞におけるmRNAプロセッシング・核外輸送・タンパク質発現過程と本研究のプロジェクト

申請者はこの研究をリードし、mRNA の転写と細胞質への輸送を共役する mRNA 輸送体 TREX (Transcription/Export)複合体を同定し、その機能解析を行った(Masuda et al. *Nature*, 417, 304-308, 2002, Masuda et al. *Genes Dev.*, 19, 1512-1517, 2005)。この解析から、TREX 複合体は酵母からヒトまで保存された mRNA 輸送体であることを示した。しかし mRNA 輸送体は、酵母では 1 種類であるが、ヒトなどの高等動物では2種類に多様化している。そこで多様化した mRNA 輸送体について TREX 複合体と対となる AREX (Alternative mRNA Export)複合体を見いだした。さらに、ヒトにおいて両者が補完しあって正常な mRNA 輸送、ひいてはタンパク質の発現が保証されていることを示した(図2、Yamazaki et al. *Mol. Biol. Cell*, 21, 2953-2965, 2010)。

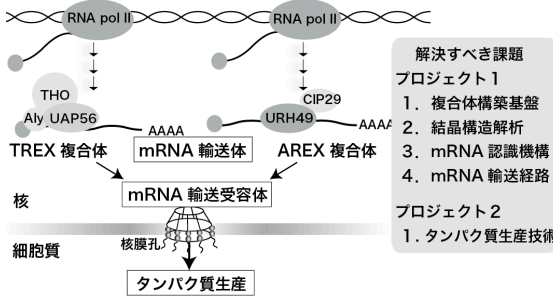


図2 これまでわかったこと、本研究で明らかにすること

(2)動物細胞におけるタンパク質生産

動物細胞によるタンパク質生産技術は、強力な

プロモータの発見(転写の促進)、翻訳の最適化(図1)と遺伝子導入技術の実用化により達成され、1990年代に新しいバイオ医薬品産業の育成へと結実した。その後 20 年間大きな技術革新はなかった。このため大腸菌や酵母などの微生物と比べて生産コストが高く、バイオ医薬品産業界から安価な生産法の開発が期待されている。

真核細胞におけるタンパク質発現には、原核細胞にはない mRNA のプロセッシングと核から細胞質への輸送(核外輸送)過程が存在する(図1)。この 10 年で、申請者の上述の成果を含め、核から細胞質への mRNA 輸送過程の理解が進んだ。その結果、従来全く考慮されなかった mRNA 輸送受容体による核外輸送過程が現在のタンパク質生産量の律速プロセスであることを見いだした(後述)。

(3)多様化した mRNA 輸送体 TREX 複合体と AREX 複合体の構築基盤

TREX 複合体は、UAP56、THO 複合体、Aly で、AREX 複合体は URH49 と CIP29 で構成され、それぞれ特異的な mRNA の輸送を制御している(図2)。これら複合体の中心となる UAP56 と URH49 は、95%以上の相同性を持つにもかかわらず異なる複合体を形成する。そこで、複合体形成を制御する領域について包括的に解析した。すると驚いたことに、AREX 複合体として機能すべき URH49C223V 点変異体は、UAP56 が形成する TREX 複合体の機能を示し、進化の過程で生じた遺伝子重複と突然変異により複合体形成が多様化したことを明らかにした(図2)。

(4)効率的 mRNA 輸送受容体の創成によるタンパク質生産

現在の動物細胞におけるタンパク質生産の律速段階は、転写や翻訳段階にあるのではなく、mRNA の細胞質への核外輸送過程にあることを見いだした(Aihara et al., *J. Biotechnol.*, 153, 86-91, 2011、バイオサイエンスとインダストリー、70, 373-375, 2012)。そこで mRNA 輸送受容体を模倣した第1世代の標的 mRNA 専用輸送系を創成した。これにより様々な細胞で従来法の 5 倍の効率でタンパク質を生産させることに成功した。mRNA の核外輸送過程を利用した動物細胞におけるタンパク質生産技術は、申請者が世界で初めて開発した新規技術である(特願 2012-165287)。

2. 研究の目的

本研究は、多様化した mRNA 輸送体が形成する mRNA 輸送経路について、機能解析と構造解析とインフォマティクスを駆使して包括的に解析し、動物細胞における mRNA 輸送経路の全貌を明らかにする。また、第2世代標的 mRNA 専用輸送系を創成し、従来法を超える生産性を持つ第2世代タンパク質生産系を開発する。

3. 研究の方法

(1) 動物細胞株と細胞培養法

培養細胞は、56°Cで 30 分間非働化した FETAL BOVINE SERUM を 10% 添加した DMEM (High Glucose) (Wako 社) を用いて 37°C、5% CO<sub>2</sub> で培養した。

ヒト培養細胞株として、ヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞、ヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞、ヒト胎児腎臓由来細胞株 HEK293 Flp-In T-REx 細胞 (invitrogen 社) を使用した。

#### (2) RNAi によるノックダウン

RNAi は Stealth RNAi siRNA (invitrogen 社) を用いて、Lipofectamine 2000 (invitrogen 社) により細胞導入した。導入後、48 時間 37°C で培養した。

#### (3) ヒト培養細胞からの核タンパク質抽出法

15cm dish 5 枚に培養したヒト培養細胞を PBS で洗浄した後回収し、遠心後に上清を除いた。細胞量の 2 倍量の hypotonic buffer (10mM HEPES / 1.5mM MgCl<sub>2</sub> / 10mM KCl / 0.2mM PMSF / 0.5mM DTT) で洗浄し、buffer 置換をおこない、氷上で 10 分間おくことで細胞を膨張させた。次にホモジナイザー (WHEATON 社) を用いてホモジナイズして遠心し、上清を細胞質抽出物として回収した。沈殿物を半量の low salt buffer で懸濁し、その後半量の high salt buffer をゆっくりと添加し、更に 4°C で 30 分攪拌した。この溶液を 14000rpm で 15 分間遠心し、得られた上清を核抽出物として回収した。また残りのペレットをソニケーションにかけ、同様に遠心し、得られた上清も核抽出物に加えた。得られた核抽出物は、dialysis buffer (20mM HEPES / 100mM KCl / 0.2mM EDTA / 20% Glycerol / 0.2mM PMSF / 0.5mM DTT) を用い、4°C で 90 分攪拌し、透析を 2 回行った。以上の操作は全て氷上または 4°C で行った。

#### (4) Western blotting 法

抽出したタンパク質は 10% SDS-PAGE gel で電気泳動後、polyvinylidene difluoride (PVDF) メンブレン (Immobilon TM-P) (Milipore 社) にセミドライ式ブロッティング装置 (Bio-Rad 社) を用いてブロッティングした。メンブレンを 5% スキムミルク / 0.1% Tween20 / PBS を用いて 1~2 時間ブロッキング後、0.1% Tween20 / PBS で軽くリンスし、0.1% / PBS で希釈した一次抗体を 4°C で一晩反応させた。次にメンブレンを 0.1% Tween20 / PBS で 10 分 3 回洗浄し、0.1% Tween20 / PBS で希釈した HRP 融合二次抗体を常温で 1-3 時間反応させた。メンブレンを 0.1% Tween20 / PBS で 10 分 3 回洗浄した後、Immobilon Western (MILLIPOLE 社) を用いて化学発光させ、LAS-4000 mini (GE Healthcare 社) を用いて撮影した。

#### (5) SDS-PAGE

SDS-PAGE ゲルは自作し、精製過程のチェックには 9% のポリアクリルアミドゲル、limited proteolysis には 12% のポリアクリルアミドゲルを用いた。分子量マーカーとして WIDE-VIEW

Prestained Protein Size Marker (Wako) を用いた。電気泳動後のバンドの検出には Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB-R250) を用いてゲルを染色した。

#### (6) 大腸菌からのタンパク質精製法

ヒト由来 UAP56 ΔN および URH49 ΔN の遺伝子を pGEX-6p2 発現ベクターに組み込み、BL21-CodonPlus(DE3)-RIL-X 菌株に導入した。終濃度 50 μg/ml のアンピシリンを添加した LB 培地を用い、37°C で一晩培養した。この前培養液に 4 倍希釈になるよう新しい培地を添加して培地の温度を 18°C まで下げ、タンパク質発現誘導試薬 IPTG を終濃度 0.05 mM になるよう添加し、引き続き 18°C で 3 日間培養した。遠心し回収した菌体をバッファーで懸濁し、氷上で冷やしながらか超音波で破碎した。高速遠心で可溶性画分と不溶性画分に分離した。可溶性画分に対し Glutathione Sepharose 4B (GE healthcare) にてアフィニティー精製を行った。アフィニティー担体に Pre-scission Protease を添加し、GST タグを切断した。遠心で担体を除去し、ゲルろ過クロマトグラフィーで精製を行った。目的のタンパク質を含むフラクションを回収し、限外濾過にて濃縮し、最終精製物とした。SDS-PAGE にて純度を確認し、微量分光光度計を用いて 280 nm の吸光度よりタンパク質濃度を測定した。

#### (7) 結晶化

精製結晶化条件のスクリーニングは 20°C または 4°C でシッティングドロップ蒸気拡散法により行った。96 穴プレート Intelli-Plate 96 (Art Robbins Instruments) の小さいウェルに結晶化用タンパク質 1 μl とスクリーニング試薬 1 μl を混合した液滴を入れた。大きいウェルに 100 μl のスクリーニング試薬を満たし、プレートシールを貼り付け封入した。スクリーニングには、Crystal Screen I, Crystal Screen II, PEG/ION (Hampton Research) を用いた。さらに、沈殿剤の濃度、緩衝液の pH、結晶化温度、ハンギングドロップ蒸気拡散法を試すなど結晶化条件の改良を行った。

#### (8) タンパク質の限定分解

Chazin Lab Protocol for Limited Proteolysis (Melissa Stauffer) を参考に行った。トリプシン (Promega) とタンパク質を重量比 1:30 または 1:100 の割合で混合し、50 mM Tris-HCl, pH 7.0, 150 mM NaCl, 10% グリセロール, 1 mM DTT 中、25°C で反応させた。経時的にサンプリングし、その都度 4×SDS サンプル化バッファーを加え加熱し、SDS サンプル化することで反応を止めた。12% のポリアクリルアミドゲルを用いて SDS-PAGE を行い分解バンドを確認した。

#### 4. 研究成果

まずプロジェクト 1 についての結果を記述する。真核生物において mRNA は DNA を鋳型として転写された後、これらの修飾を経て成熟したもののだけが核外に輸送される。この機構に

働いているのが UAP56 である。UAP56 は TREX という複合体を形成し、スプライシングに伴って mRNA 上にリクルートされることで、成熟 mRNA の核外輸送に働く。ヒトを含む高等生物においては UAP56 のパラログとして URH49 が存在も存在している。UAP56 と URH49 は 90%もの相同性を持つにもかかわらず、URH49 は AREX という TREX とは異なる複合体を形成する。両者の輸送する mRNA も異なっており、UAP56 は主に cell maintenance に必要な mRNA の輸送、URH49 は主に細胞分裂に必要な mRNA 輸送に関与する。このように生物は UAP56 と URH49 の 2 つの mRNA 輸送経路をもつことで遺伝子発現を制御していると考えられている。

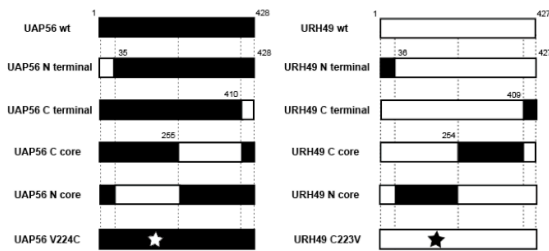


図3 UAP56とURH49のキメラ変異体

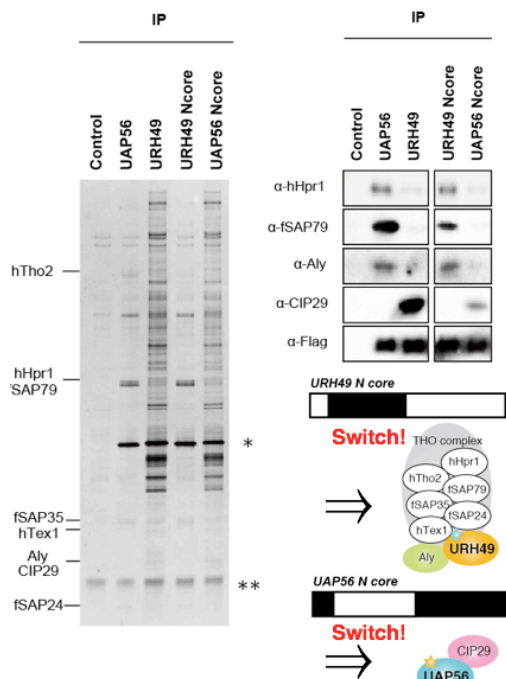


図4 キメラ変異体の複合体形成

最初に TREX 並びに AREX 複合体形成の形成メカニズムについて記載する。複合体形成の違いを決める領域を決定するためにキメラ体を用いた解析を行った。UAP56 と URH49 のアミノ酸配列を基準として UAP56 あるいは URH49 の様々な領域をキメラ化タンパク質 (図3) の複合体形成領域の同定を目的に、変異体を Flag 融合タンパク質として、細胞に導入し安定発現株を作成し、核抽出液を用いて免疫沈降を行った。図4に銀染色とウエスタン

解析の結果を示している。UAP56 と URH49 は共沈物のプロファイルが大きく異なっている。ウエスタン解析でも UAP56 には TREX 構成因子、URH49 には AREX 構成因子の CIP29 が観察される。次に変異体の結果を示す。図3で作成したキメラ体のうち、複合体形成能が代わったものを示している。この結果、いずれの場合にもNコア部分を換えた変異体は複合体の形成能が変わった。一方他のキメラ変異体では形成能の変化はなかった。このことから複合体の形成を制御する領域は、Nドメインのコア部分である事が示された。以前取得した複合体形成能が変化する点変異体はこの領域内に含まれている。

次いで、UAP56 と URH49 による複合体形成能の違いが、両者のタンパク質の構造の違いに起因するかについて解析を行うこととした。そのために UAP56 と URH49 を大腸菌を用いて生産し、組替えタンパク質として精製した。それぞれの精製タンパク質に対してトリプシンを用いて限定分解を行った。トリプシン認識部位は UAP56 と URH49 で保存されているので、構造が同じであれば同じ分解パターンを示す。しかし UAP56 と URH49 では両者の精製タンパクの分解パターンは異なる結果となった。すなわち UAP56 と URH49 の構造は異なることが示唆された。UAP56 と同じ TREX を形成する URH49 点変異体は UAP56 とほぼ同様のパターンを示すことが分かった。さらに構造的な知見を得るために CD スペクトル解析を行った。この CD スペクトル解析ではタンパク質中の  $\alpha$  ヘリックス含量を知ることができる。ここでも UAP56 と URH49 は異なる  $\alpha$  ヘリックス含量を示した。さらに UAP56 と同じ TREX を形成する URH49 点変異体は UAP56 と同様のパターンを示した。

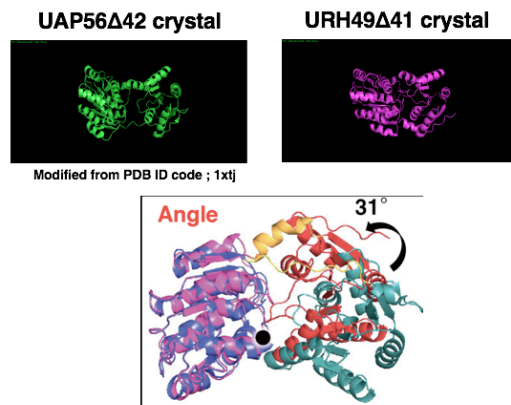


図5 UAP56とURH49の構造

次に結晶を作成し両者の構造を比較することとした。UAP56 は構造が報告されているので、URH49 の結晶構造の解析を行った。今回分解能 2.0 オングストロームで結晶解析を行うことができた (図5)。両者の構造はよく似ていたが、NドメインとCドメインを繋ぐリンカー部分が、UAP56 では構造を取っていなかったのに

対して URH49 では  $\alpha$ ヘリックスを形成していた。これは CD スペクトル解析で URH49 のほうが UAP56 よりも  $\alpha$ ヘリックス含量が多いことと良く符合した。また N ドメインを基準にそろえた場合、UAP56 と URH49 は 31 度ずれていた。これらの違いが複合体の形成に影響をしていたと考えられた。

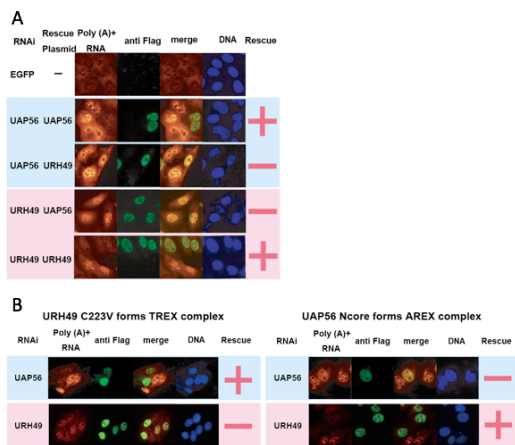


図6 UAP56、URH49によるmRNA輸送能の評価

異なる複合体形成によって、異なる mRNA の輸送に機能するかを観察した。方法は bulk polyA<sup>+</sup> RNA の観察を行うことで評価した。まず UAP56 あるいは URH49 による mRNA 選択性を観察するために rescue 実験系を構築した。コントロールの細胞では主に細胞質に mRNA のシグナルが観察される。この細胞で UAP56 あるいは URH49 を特異的にノックダウンすると、それぞれが運ぶ mRNA が核内に蓄積する。その結果、核内のシグナルが強く観察される。これらの細胞に Flag でタグを入れた UAP56 あるいは URH49 を発現させた。発現細胞は緑に染色される。UAP56 が発現している細胞では UAP56 のノックダウンがレスキューされ、一方で URH49 のノックダウンによる mRNA の核内蓄積はレスキューされなかった(図6)。逆に URH49 を発現させると URH49 のノックダウンのみがレスキューされた。これらの結果から、UAP56 は UAP56 が輸送する mRNA を、URH49 は URH49 が輸送する mRNA をレスキューできることが示された。次に解析した変異体のうち代表的な2例を示す。URH49C223V は TREX 複合体を、UAP56N コアは AREX 複合体を形成する。URH49C223V が発現している細胞は、UAP56 のノックダウンはレスキューするが、URH49 ノックダウンはレスキューしない。一方で UAP56N コアは UAP56 のノックダウンはレスキューせず、URH49 ノックダウンはレスキューした。このことは TREX を形成するものは UAP56 特異的な標的 mRNA を、AREX を形成するものは URH49 特異的な標的 mRNA の輸送することを意味する。すなわち TREX あるいは AREX の複合体形成能の違いが mRNA の輸送選択性を決定することを明らかにした。

プロジェクト2について、紙面の関係で詳細な

結果は省略する。研究成果として、「核内から細胞質へのターゲット mRNA の輸送を促進する方法、タンパク質の発現方法および製造方法ならびにそれに用いるキット、特願 2012-165287、発明者:増田誠司、権利者:国立大学法人京都大学」として出願した特許について、拒絶応答の後「特許第 6099075 号、取得年月日:平成29年3月3日」として特許認定されたことを報告する。

## 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 6 件)

- ① Okamura, M, Inose, H. and Masuda, S. RNA export pathways in eukaryotes. *Genes*, **6**, 125-149, 2015, DOI: 10.3390/genes6010124
- ② Inose, H., Mukai, K., Ito, M. and Masuda, S. Gene Regulation through mRNA Expression. *Adv. Biol. Chem.*, **5**, 45-57, 2015, DOI: 10.4236/abc.2015.52005
- ③ Yasuda, Y., Fujita, M., Koike, E., Obata, K., Shiota, M., Kotani, Y., Musha, T., Tsuji-Kawahara, S., Satou, T., Masuda, S., Okano, J., Yamasaki, H., Okumoto, K., Uesugi, T., Nakao, S., Hoshiyai, H. and Mandai, M., Erythropoietin receptor antagonist suppressed ectopic hemoglobin synthesis in xenografts of HeLa cells to promote their destruction. *PLoS ONE*, **10**, e0122458, 2015, DOI: 10.1371/journal.pone.0122458
- ④ Fujimoto, S., Tsuji, T., Fujiwara, T., Takeda, TA., Merriman, C., Fukunaka, A., Nishito, Y., Fu, D., Hoch, E., Sekler, I., Fukue, K., Miyamae, Y., Masuda, S., Nagao, M., and Kambe, T. The PP-motif in luminal loop 2 of ZnT transporters plays a pivotal role in TNAP activation. *Biochem J.* 2016 Sep 1;473(17):2611-21. Doi: 10.1042/BCJ20160324.
- ⑤ Miyamae, Y., Nishito Y., Nakai, N., Nagumo, Y., Usui, T., Masuda, S., Kambe, T. and Nagao M. Tetrandrine induces lipid accumulation through blockade of autophagy in a hepatic stellate cell line. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016 Aug 12;477(1):40-6. Doi: 10.1016/j.bbrc.2016.06.018.
- ⑥ Kurata, M., Murata, Y., Momma, K., Mursi, I. F. A., Takahashi, T., Miyamae, M., Kambe, T., Nagao, M., Narita, H., Shibuya, Y. and Masuda, S. The isoflavone fraction from soybean presents mRNA maturation inhibition activity. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2017 Mar;81(3):551-554. Doi: 10.1080/09168451.2016.1249451.

[学会発表] (計 24 件)

- ① 藤田賢一、伊藤慶紗、宮前友策、神戸大朋、永尾雅哉、増田誠司、mRNA 核外輸送因子 UAP56 ならびに URH49 の複合体形成の違いを制御する蛋白質領域の同定、日本農芸化学会関西支部 第484回講演会、京都府立大学、京都、2014年5月24日
- ② 猪瀬春子、松村嘉員、宮前友策、神戸大朋、永尾雅哉、増田誠司、動物培養細胞での組換え蛋白質高生産に向けたmRNA の効率的核外輸送機構の開発、日本農芸化学会関西支部 第484回講演会、京都府立大学、京都、2014年5月24日
- ③ 藤田賢一、伊藤慶紗、増田誠司、進化的観点から UAP56 と URH49 の複合体形成と選択的 mRNA 輸送能の分岐点を探る、第16回日本 RNA 学会年会、ウインクあいち、名古屋、2014年7月24日
- ④ 志岐拓哉、岡村真純、増田誠司、mRNA 輸送には DBP5 の核側からの核膜孔配位が必要だ、第16回日本 RNA 学会年会、ウインクあいち、名古屋、2014年7月24日
- ⑤ 向井琴美、南裕基、永尾雅哉、神戸大朋、宮前友策、増田誠司、核内因子 CHERP の機能解析、2014年度日本農芸化学会 関西支部大会、奈良先端科学技術大学院大学、奈良、2014年9月20日
- ⑥ 藤田賢一、伊藤慶紗、増田誠司、The identification of regions regulates different complex formations of UAP56 and URH49, which are essential for mRNA export. Joint Australia and Japan RNA Meeting、オーストラリア、シドニー、2014年11月4日
- ⑦ 藤田賢一、伊藤慶紗、増田誠司、The identification of regions regulates different complex formations of UAP56 and URH49, which are essential for mRNA export. KANSAI JSBBA 1<sup>st</sup> Student Forum、洛友会館、京都、2015年1月31日
- ⑧ 藤田賢一、伊藤慶紗、増田誠司、The identification of regions regulates different complex formations of UAP56 and URH49, which are essential for mRNA export. The 13th International Student Seminar、紫蘭会館、京都、2015年3月3日
- ⑨ 向井琴美、増田誠司、Involvement of nuclear factor CHERP in alternative splicing. the 13th international student seminar、紫蘭会館、京都、2015年3月3日
- ⑩ 猪瀬春子、増田誠司、人工的 mRNA 核外輸送システムによる組換えタンパク質高効率発現系の構築、日本動物細胞工学会、仙台市・東北大学、2015年7月9日、10日
- ⑪ 伊藤慶紗、藤田賢一、増田誠司、異なる複合体を形成する mRNA 輸送因子 UAP56 および URH49 の構造解析、日本 RNA 学会、札幌、ホテルライフオーツ札幌、2015年7月16日
- ⑫ 藤田賢一、伊藤慶紗、増田誠司、mRNA 核外輸送因子 UAP56 ならびに URH49 にお

ける複合体形成基盤と選択的 mRNA 輸送制御機構の解明、日本 RNA 学会、札幌、ホテルライフオーツ札幌、2015年7月17日

- ⑬ 伊藤慶紗、藤田賢一、増田誠司、異なる複合体を形成する mRNA 輸送因子 UAP56 および URH49 の三次元構造解析、日本分子生物学会・日本生化学会合同大会、神戸、神戸ポートアイランド、2015年12月3日
- ⑭ 藤田賢一、伊藤慶紗、増田誠司、mRNA 核外輸送共役因子 UAP56 ならびに URH49 における複合体形成と選択的 mRNA 輸送の制御基盤、日本分子生物学会・日本生化学会合同大会、神戸、神戸ポートアイランド、2015年2月3日

他11件

[図書] (計 1 件)

- ① 岡村真純、平山瑞季、猪瀬春子、増田誠司、効率的な mRNA 核外輸送系を用いたタンパク質生産法 「動物細胞の培養を成功させる条件設定集」技術情報協会編、pp447-450, 2014

[産業財産権]

○取得状況 (計 1 件)

名称：核内から細胞質へのターゲット mRNA の輸送を促進する方法、タンパク質の発現方法および製造方法ならびにそれに用いるキット、特願 2012-165287

発明者：増田誠司

権利者：国立大学法人京都大学

種類：特許

番号：特許第 6099075 号

取得年月日：平成 29 年 3 月 3 日

国内外の別：国内

[その他]

ホームページ

京都大学大学院生命科学研究科分子応答機構学教室

<http://www.bunshioutou.lif.kyoto-u.ac.jp>

[https://www.lif.kyoto-u.ac.jp/j/?post\\_type=labos&p=160&doing\\_wp\\_cron=1461128165.6797769069671630859375](https://www.lif.kyoto-u.ac.jp/j/?post_type=labos&p=160&doing_wp_cron=1461128165.6797769069671630859375)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

増田 誠司 (MASUDA, Seiji)

京都大学・大学院生命科学研究科・准教授

研究者番号：20260614

(2) 研究分担者

井沢 真吾 (IZAWA, Shingo)

京都工芸繊維大学・大学院工芸科学研究科・准教授

研究者番号：10273517