

## 平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究状況報告書

◆ 記入に当たっては、「平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究状況報告書記入要領」を参照してください。

ローマ字		YONEDA YOSHIHIRO					
① 研究代表者氏名		米田 悦啓		② 所属研究機関・部局・職		大阪大学・生命機能研究科・教授	
③ 研究課題名	和文	核一細胞質間蛋白質輸送制御と細胞核ストレス応答					
	英文	Regulation of nucleocytoplasmic protein transport and nuclear stress response					
④ 研究経費		平成16年度	平成17年度	平成18年度	平成19年度	平成20年度	総合計
18年度以降は内約額 金額単位：千円		16,400	16,000	16,000	16,000	16,000	80,400
⑤ 研究組織（研究代表者及び研究分担者） *平成18年3月31日現在							
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門		役割分担（研究実施計画に対する分担事項）			
米田 悦啓	大阪大学・生命機能研究科・教授	細胞生物学		研究の総括. マイクロインジェクションなどの細胞生物学的解析			
関元 敏博	大阪大学・医学系研究科・助手	分子生物学		遺伝子工学的研究ならびに生化学的研究全般			
⑥ 当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）							
<p>核一細胞質間蛋白質輸送機構に関する研究は、輸送担体である importin <math>\beta</math> ファミリー分子、importin <math>\alpha</math> ファミリー分子、低分子量 GTPase Ran やそのサイクルに関する因子群の発見ならびに性状解析が精力的に進められ、輸送機構に関する基本的な分子メカニズムが理解される段階にまで研究は進展した。しかし、核一細胞質間蛋白質輸送が、個体発生、細胞分化・増殖、細胞周期といった様々な生命現象とどのように深く関連しているのか、単に必要な因子を輸送しているだけなのかという疑問についてはほとんど研究が進んでいない。一方、われわれは、これまでの研究から、それ自身では核に入らないと考えられていた importin <math>\alpha</math> が、importin <math>\beta</math> に結合することなく単独で核内に移行する能力を有することを初めて発見した。この importin <math>\alpha</math> が単独で核内に移行するという活性の生理的意義を解明する目的で解析を進める過程で、細胞が紫外線照射や熱ショック、酸化ストレスなどの様々なストレスを受けた時に、そのストレスに応答して速やかに importin <math>\alpha</math> が核内に集積するという興味深い現象を見出した。さらに、ストレス条件下において、他の核一細胞質間蛋白質輸送に関わる因子の細胞内局在を解析した結果、Ran の局在も変化していることが明らかとなった。これらの解析結果を踏まえ、importin <math>\alpha</math> や Ran のストレス依存性細胞内局在変化の分子メカニズムを明らかにするとともに、細胞核がストレスに応答してどのように反応し、ストレスに対処するのかを、核一細胞質間蛋白質輸送制御の観点から解明することを目的とする。本研究は、「核一細胞質間蛋白質輸送」と「ストレス応答」という、これまでに関連付けて解析されたことがない2つの研究対象を統合的に解析するという学術的特色を持つ。本研究の成果は、核一細胞質間蛋白質輸送の理解に「ストレス制御」という新しい局面を提唱することができるとともに、「細胞核ストレス応答」という全く新しい学問分野の構築となり、細胞機能を包括的に理解する上で意義深い。</p>							

⑦これまでの研究経過 (研究の進捗状況について、必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。)

研究計画調書の研究計画に沿った形で研究を進め、以下のような成果を挙げてきた。

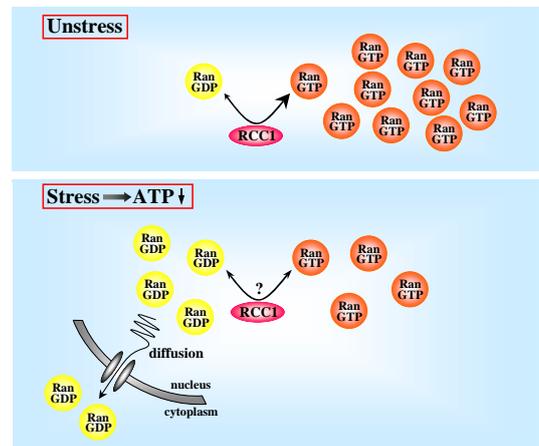
(1) ストレス依存性核一細胞質間蛋白質輸送制御機構の解明

さまざまなストレス(核への紫外線照射、過酸化水素処理、熱ショック)負荷を細胞が受けた場合に、importin  $\alpha$  が核内に集積することが明確となったが、その際に、核一細胞質間蛋白質輸送はどのように制御されるのかを知るため、ストレス負荷細胞の細胞質に、典型的な核蛋白質である SV40 T 抗原の核局在化シグナルを持つ輸送基質をインジェクションしたところ、その輸送効率が著しく低下していることが明らかとなった。この輸送効率の低下は、レコンビナント importin  $\alpha$  を同時にインジェクションすることで、かなりの程度回復することがわかり、importin  $\alpha$  の核内集積を通して、importin  $\alpha/\beta$  依存性核輸送経路を抑制する機構を細胞が持っていることをはじめて明らかにすることができた。一方、同じ条件下で、ストレスに応じて細胞質から核へ移行することが知られている分子シャペロンの hsc70 や MAP キナーゼファミリーの1つである ERK2 を細胞質へインジェクションしたところ、hsc70, ERK2 とともに核内へ速やかに移行することがわかった。これらの結果は、ストレスに対応して、細胞は、数多く存在すると思われる核輸送経路のうち、importin  $\alpha/\beta$  による通常の核輸送経路を抑制し、ストレス応答性の分子を効率よく核へ輸送できる状態に制御する機構があることを示唆しており、環境の変化に応じた核輸送装置そのものの制御機構に関する最初の発見と言える。

(2) Ran のストレス依存性細胞内局在変化の分子基盤の解明

低分子量 GTPase Ran は、正常状態では 80% 以上が核内に局在しており、そのほとんどは GTP 結合型であると考えられているが、ストレス負荷によって、Ran の局在が細胞質側に偏り、その局在変化が importin  $\alpha$  の局在変化に先立って起こることがわかった。そこで、その Ran の局在変化の分子基盤を解明

するため、細胞内 ATP 濃度に着目した。これまで、ある種のストレスで、細胞内 ATP 濃度が低下することが知られていたが、実際に、われわれの用いた3種類のストレスでも細胞内 ATP 濃度が低下することが明らかになった。そこで、Koningic acid など、複数の細胞内 ATP 濃度を低下させる薬剤を用いることにより、Ran の局在変化を誘導できることを明らかにした。逆に、ATP+ATP 再生系を導入した細胞では、ストレス条件下でも Ran の細胞内局在の変化は起こらないことがわかった。細胞内 ATP 低下は、細胞内 GTP 低下を誘導することが知られているので、ストレスによって GDP 結合型 Ran を GTP 結合型に効率よく変換できないことが予想された。そこで、ストレス条件下の Ran の性状解析を行なった結果、GDP 結合型 Ran が著しく増加していることがわかった。以上の結果を統合的に考察し、以下のようなモデルを提



図：ストレス条件下における Ran の局在変化モデル

唱することができる。つまり、細胞がストレスに晒されると、先ず細胞内 ATP 量が低下し、続いて GTP 量の低下が誘導される。細胞内 GTP 量が低下すると GDP 結合型 Ran から GTP 結合型 Ran への変換が効率よく行なえなくなり、核内に GDP 結合型 Ran が増加し、受動拡散により GDP 結合型 Ran が細胞質に漏出することにより、Ran の局在変化が起こる。核内の GTP 結合型 Ran が低下することにより、正常時には CAS と GTP 結合型 Ran の働きにより核外に運び出されていた importin  $\alpha$  が核から運びだされなくなり、importin  $\alpha$  の核内蓄積が進行するというモデルである。さらに、importin  $\alpha$  は、単独で Ran に依存せず核内に移行する能力を持つことも importin  $\alpha$  の核内蓄積を促進すると思われ、ストレス条件下における Ran ならびに importin  $\alpha$  の局在変化のメカニズムについて、1つの明解な仮説を提唱することができた。

(3) ストレス応答時における細胞核内での importin  $\alpha$  の生理的役割の解析

ストレスに応じて核内に集積した importin  $\alpha$  は、核を DNase I で処理することにより遊離してくる分画に多く含まれていることがわかったので、核内で何らかの遺伝子の発現に変化を及ぼしたり、DNA 複製に影響を与えたりするのではないかと考え、先ず、DNA マイクロアレイを利用し、importin  $\alpha$  を過剰発現させ、importin  $\alpha$  が核内に集積した状態をミミックした条件下で発現の変化する遺伝子を網羅的に解析した。その結果、大きな特徴として、コアヒストンである histone H2A/H2B サブタイプの発現が著しく低下することがわかった。また、発現が上昇する遺伝子もいくつか同定できたが、中でも Serine-Threonine Kinase 35 (STK35) は、ストレス条件下で発現が上昇する遺伝子としても報告されており、この分子に着目した研究を開始している。STK35 の機能はほとんどわかっていないので、RNAi 法を用いて発現上昇を抑制した場合にストレス応答性に変化が見られるのかどうかといった解析を進めている。一方、DNA 複製に関与するキナーゼである CDC7 に importin  $\alpha$  が結合するという報告が最近なされたので、CDC7 と importin  $\alpha$  の機能的相互作用をアフリカツメガエル卵細胞抽出液を用いた系で解析を始めている。

⑧特記事項 (これまでの研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。)

(1) 細胞核のストレス応答における最初期反応過程の分子メカニズムの理解：本研究により、細胞がストレスを受けた際に起こる最初期反応としての、細胞内 ATP 量の低下から importin  $\alpha$  の核内集積までの過程を分子レベルで明確にすることができたが、これは、細胞核のストレス応答を理解する上で学問的にインパクトの高い研究成果である。

(2) 核-細胞質間蛋白質輸送制御機構の存在の証明：核-細胞質間蛋白質輸送において、輸送される分子がリン酸化などの修飾によって輸送される効率が変化したり、細胞内外の環境変化に呼応して、その細胞内局在を変化させる例はいくつか既に報告されてきたが、輸送装置そのものが制御を受けるかどうかについて、多くの研究者が興味を持っていたにも関わらず、明確にはされていなかった。本研究で、ストレスに呼応して importin  $\alpha$  が核内に集積することにより、importin  $\alpha/\beta$  を介した蛋白質輸送経路が抑制されるにも関わらず、hsc70 や ERK2 といったストレス関連分子の核内移行は抑制されないことがわかり、細胞は環境変化に対応して多様な輸送装置を適切に変化させ、それぞれの輸送効率を調節する機構を確かに持っていることを初めて示すことができた。これは、核-細胞質間物質輸送研究分野において新規性の高い研究成果であり、他の研究領域へのインパクトも大きい。また、以上の結果は、hsc70 が importin  $\alpha/\beta$  以外の因子によって核内輸送されることを意味しており、hsc70 独自の新規輸送因子を同定する必要性をも明確にした、発展性のある研究成果である。

(3) importin  $\alpha$  の核内標的分子の同定：現時点で、最も独創性・新規性をさらに発展させる可能性を持った研究成果として、importin  $\alpha$  の核内標的有力候補分子としての STK35 と CDC7 の同定がある。細胞がストレスを受けた場合に importin  $\alpha$  が核内に集積することはこれまでの研究で明確であるが、核内で何らかの機能（核輸送以外の機能）を果たし、ストレス応答に寄与しているかどうかは全く不明である。細胞核ストレス応答という、本研究の主要課題に深く研究を進めていくためにも、importin  $\alpha$  の核内標的分子を見つけることが鍵となるが、その候補分子として STK35 という機能未知のキナーゼと CDC7 という DNA 複製に重要な役割を果たす分子が見つかったことは大きな意義がある。つまり、STK35 は、importin  $\alpha$  による発現上昇を通して活性化され、様々な核内因子をリン酸化し、核内でのストレス応答をコントロールしている可能性が考えられる。また、細胞はストレスを受けた際に、ストレスから回避するため、細胞周期の進行を一旦止め、ストレスを回避するための反応を優先して行い、その後、細胞周期を再開させるという過程を経ることが考えられ、その際に核内集積した importin  $\alpha$  が CDC7 に結合することにより、DNA 複製を停止させ、ストレス回避に備えるという仮説が考えられる。このような新しい概念による研究はこれまでに全く見られず、本研究の独創性を最も端的に示す成果であり、この成果をさらに発展させることができれば、学術的インパクトの極めて高い研究へと発展するであろう。

⑨研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会等における発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

#### 英文原著

- 1) Furuta, M., Kose, S., Koike, M., Shimi, T., Hiraoka, Y., Yoneda, Y., Haraguchi, T., and Imamoto, N. Heat-shock induced nuclear retention and recycling inhibition of importin  $\alpha$ . *Genes Cells*, 9: 429-441 (2004)
- 2) Yasuhara, N., Takeda, E., Inoue, H., Kotera, I., and Yoneda, Y. Importin  $\alpha/\beta$ -mediated nuclear protein import is regulated in a cell cycle-dependent manner. *Exp. Cell Res.*, 297: 285-293 (2004)
- 3) Sekimoto, T., Fukumoto, M., and Yoneda, Y. 14-3-3 suppresses the nuclear localization of threonine 157-phosphorylated p27<sup>Kip1</sup>. *EMBO J.*, 23: 1934-1942 (2004)
- ④ Miyamoto, Y., Saiwaki, T., Yamashita, J., Yasuda, Y., Kotera, I., Shibata, S., Shigeta, M., Hiraoka, Y., Haraguchi, T., and Yoneda, Y. Cellular stresses induce the nuclear accumulation of importin  $\alpha$  and cause a conventional nuclear import block. *J. Cell Biol.*, 165: 617-623 (2004)
- 5) Koike, M., Kose, S., Furuta, M., Taniguchi, N., Yokoya, F., Yoneda, Y., and Imamoto, N.  $\beta$ -Catenin shows an overlapping sequence requirement but distinct molecular interactions for its bi-directional passage through nuclear pores. *J. Biol. Chem.*, 279: 34038-34047 (2004)
- 6) Yamada, M., Mattaj, I. and Yoneda, Y. An ATP-dependent activity that releases RanGDP from NTF2. *J. Biol. Chem.*, 279: 36228-36234 (2004)
- 7) Kamikubo, Y., Sakaguchi, N., Shikata, K., Furuta, M., Miyamoto, Y., Imamoto, N., Yoneda, Y., Ogino, K. and Tachibana, T. Specific monoclonal antibody against nuclear import factor, importin alpha1/Rch1. *Hybridoma and Hybridomics*, 23: 301-304 (2004)
- 8) Miki, T. and Yoneda, Y. Alternative splicing of Staufen2 creates the nuclear export signal for CRM1 (exportin 1). *J. Biol. Chem.*, 279: 47473-47479 (2004)
- 9) Kamata, M., Nitahara-Kasahara, Y., Miyamoto, Y., Yoneda, Y. and Aida, Y. Importin- $\alpha$  promotes passage through the nuclear pore complex of human immunodeficiency virus type 1 Vpr. *J. Virol.*, 79: 3557-3564 (2005)
- 10) Yoshizaki, T., Enomoto, T., Nakashima, R., Ueda, Y., Kanao, H., Yoshino, K., Fukumoto, M., Yoneda, Y., Buzard, G. S. and Murata, Y. Altered protein expression in endometrial carcinogenesis. *Cancer Lett.*, 226: 101-106 (2005)
- 11) Sasaki, M., Takeda, E., Takano, K., Yomogida, K., Katahira, J. and Yoneda, Y. Molecular cloning and functional characterization of mouse NXF family gene products. *Genomics*, 85: 641-653 (2005)
- ⑫ Kotera, I., Sekimoto, T., Miyamoto, Y., Saiwaki, T., Nagoshi, E., Sakagami, H., Kondo, H. and Yoneda, Y. Importin  $\alpha$  transports Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase type IV (CaMKIV) to the nucleus without utilizing importin  $\beta$ . *EMBO J.*, 24: 942-951 (2005)
- 13) Yamasaki, H., Sekimoto, T., Ohkubo, T., Douchi, T., Nagata, Y., Ozawa, M. and Yoneda, Y. Zinc finger domain of Snail functions as a nuclear localization signal for importin  $\beta$ -mediated nuclear import pathway. *Genes Cells*, 10: 455-464 (2005)
- 14) Sakakida, Y., Miyamoto, Y., Nagoshi, E., Akashi, M., Nakamura, T. J., Mamme, T., Kasahara, M., Minami, Y., Yoneda, Y. and Takumi, T. Importin  $\alpha/\beta$  mediates nuclear transport of a mammalian circadian clock component, mCRY2, together with mPER2, through a bipartite nuclear localization signal. *J. Biol. Chem.*, 280: 13272-13278 (2005)
- 15) Ushijima, R., Sakaguchi, N., Kano, A., Maruyama, A., Miyamoto, Y., Sekimoto, T., Yoneda, Y., Ogino, K. and Tachibana, T. Extracellular signal-dependent nuclear import of STAT3 is mediated by various importin  $\alpha$ . *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 330: 880-886 (2005)
- 16) Saiwaki, T., Kotera, I., Sasaki, M., Takagi, M. and Yoneda, Y. In vivo dynamics and kinetics of pKi-67: transition from a mobile to an immobile form at the onset of anaphase. *Exp. Cell Res.*, 308: 123-134 (2005)
- 17) Tatematsu, K., Yoshimoto, N., Koyanagi, T., Tokunaga, C., Tachibana, T., Yoneda, Y., Yoshida, M., Okajima, T., Tanizawa, K. and Kuroda, S. Nuclear-cytoplasmic shuttling of a RING-IBR protein RBCK1 and its functional interaction with nuclear body proteins. *J. Biol. Chem.*, 280: 22937-22944 (2005)
- 18) Asally, M. and Yoneda, Y.  $\beta$ -Catenin can act as a nuclear import receptor for its partner transcription factor, lef-1. *Exp. Cell Res.*, 308: 357-363 (2005)
- 19) Kose, S., Furuta, M., Koike, M., Yoneda, Y. and Imamoto, N. The 70 kDa heat shock cognate protein (hsc70) facilitates the nuclear export of the import receptors. *J. Cell Biol.*, 171: 19-25 (2005)
- 20) Miki, T., Takano, K. and Yoneda, Y. The role of mammalian staufen on mRNA traffic: a view from its nucleocytoplasmic shuttling function. *Cell Struct. Funct.*, 30: 51-56 (2005)
- 21) Fukuhara, T., Ozaki, T., Shikata, K., Katahira, J., Yoneda, Y., Ogino, K. and Tachibana, T. Specific monoclonal antibody against the nuclear pore complex protein, Nup98. *Hybridoma*, 24: 244-247 (2005)

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会等における発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

22) Miyauchi, Y., Michigami, T., Sakaguchi, N., Sekimoto, T., Yoneda, Y., Pike, J. W., Yamagata, M. and Ozono, K. Importin 4 is responsible for ligand-independent nuclear translocation of vitamin D receptor. *J. Biol. Chem.*, 280: 40901-40908 (2005)

23) Takeda, E., Hieda, M., Katahira, J. and Yoneda, Y. The phosphorylation of RanGAP1 stabilizes its interaction with Ran and RanBP1. *Cell Struct. Funct.*, 30: 69-80 (2005)

24) Aratani, S., Oishi, T., Fujita, H., Nakazawa, M., Fujii, R., Imamoto, N., Yoneda, Y., Fukamizu, A. and Nakajima, T. The nuclear import of RNA helicase A is mediated by importin- $\alpha 3$ . *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 340: 125-133 (2006)

25) Miura, K., Yoshinobu, K., Imaizumi, T., Haruna, K., Miyamoto, Y., Yoneda, Y., Nakagata, N., Araki, M., Miyakawa, T., Yamamura, K.-i. and Araki, K. Impaired expression of the importin/karyopherin  $\beta 1$  leads to post-implantation lethality. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 341: 132-138 (2006)

②⑥ Yasuda, Y., Miyamoto, Y., Saiwaki, T. and Yoneda, Y. Mechanism of the stress-induced collapse of the Ran distribution. *Exp. Cell Res.*, 312: 512-520 (2006)

27) Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yamagata, H., Masai, H., Yoneda, Y. and Yanagi, K. Nuclear import of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 mediated by NPI-1 (importin  $\alpha 5$ ) is up- and down regulated by phosphorylation of the nuclear localization signal for which 379Lys and Arg380 are essential. *J. Virol.*, 80: 1979-1991 (2006)

28) Kurisaki, A., Kurisaki, K., Kowanetz, M., Sugino, H., Yoneda, Y., Heldin, C.-H., and Moustakas, A. The mechanism of nuclear export of Smad3 involves exportin 4 and Ran. *Mol. Cell. Biol.*, 26: 1318-1332 (2006)

29) Fukuhara, T., Sakaguchi, N., Katahira, J., Yoneda, Y., Ogino, K. and Tachibana, T. Functional analysis of nuclear pore complex protein Nup62/p62 using monoclonal antibodies. *Hybridoma*, in press (2006)

#### 国際会議発表

1) Yoneda, Y., Miyamoto, Y., and Yasuda, Y. Regulation of nuclear protein import and cellular stresses. 16<sup>th</sup> International Congress of the International Federation of Associations of Anatomists (IFAA): August 22-27, 2004, Kyoto

2) Asally, M. and Yoneda, Y.  $\beta$ -Catenin can act as a nuclear import receptor for its partner transcription factor, Lef-1. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Dynamic Organization of Nuclear Function: September 29-October 3, 2004, New York

3) Koike, M., Kose, S., Furuta, M., Taniguchi, N., Yokoya, F., Yoneda, Y. and Imamoto, N.  $\beta$ -Catenin shows an overlapping sequence requirement but distinct molecular interactions for its bi-directional passage through nuclear pores. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Dynamic Organization of Nuclear Function: September 29-October 3, 2004, New York

4) Kotera, I., Sekimoto, T., Nagoshi, E. and Yoneda, Y. CaMKIV is transported into the nucleus by importin  $\alpha$  in an importin  $\beta$ - and Ran-independent manner. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Dynamic Organization of Nuclear Function: September 29-October 3, 2004, New York

5) Saiwaki, T. and Yoneda, Y. pKi-67 drives heterochromatin gathering to nucleolar periphery in G1 phase. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Dynamic Organization of Nuclear Function: September 29-October 3, 2004, New York

6) Yasuda, Y., Miyamoto, Y., Saiwaki, T. and Yoneda, Y. Stress-induced decrease of intracellular ATP causes a collapse of the Ran gradient. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Dynamic Organization of Nuclear Function: September 29-October 3, 2004, New York

7) Yoneda, Y. Nuclear protein import and cell regulation. COE International Symposium: "The Genetic and Cellular Basis of Life": December 13-14, 2004, Osaka

8) Yoneda, Y. Nuclear-cytoplasmic protein transport and its significance to cell function. The International Symposium on Study of Life Inheritance: May 20, 2005, Nara, Japan

9) Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yamagata, H., Yoneda, Y. and Yanagi, K. Ser-phosphorylation of the nuclear localization signal sequence of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 regulates nuclear import efficiency by modulating its affinity to NPI-1 (importin  $\alpha 5$ ). 30<sup>th</sup> International Herpesvirus Workshop: July 30-August 4, 2005, Turku, Finland

10) Yasuhara, N., Shibazaki, N., Tanaka, S., Nagai, M., Kamikawa, Y., Oe, S., Kamachi, Y., Kondoh, H. and Yoneda, Y. Importin  $\alpha$  and cell differentiation. International Symposium on Ran and Cell Cycle: October 2-4, 2005, Awaji, Japan

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会等における発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

11) Miyamoto, Y., Yasuda, Y., Oshiyama, T., Ogawa, Y. and Yoneda, Y. Role of importin  $\alpha$  in the nucleus under stress condition. International Symposium on Ran and Cell Cycle: October 2-4, 2005, Awaji, Japan

12) Yoneda, Y. Nucleocytoplasmic protein transport and its significance to cell function. 12<sup>th</sup> International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections: October 6-8, 2005, Osaka, Japan

13) Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yamagata, H., Yoneda, Y., and Yanagi, K. Ser-phosphorylation of the nuclear localization signal sequence of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 regulates nuclear import by modulating its affinity to NPI-1 (importin  $\alpha$ 5). 12<sup>th</sup> International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections: October 6-8, 2005, Osaka, Japan

14) Yoneda, Y. Nucleocytoplasmic protein transport and its significance to cell function. Collaboration Symposium, Osaka University and University of Groningen: October 25-26, 2005, Groningen, The Netherlands

#### 国内学会等発表

1) 佐々木光穂, 片平じゅん, 米田悦啓 「マウスNXH3 (Nuclear Export Factor 3)の機能解析」第6回RNAミーティング; 2004年8月, 熊本

2) 柴田理志, 佐々木光穂, 島本 顕, 古市泰宏, 片平じゅん, 米田悦啓 「Pre-miRNAはexportin-5により核外輸送される」第6回RNAミーティング; 2004年8月, 熊本

3) Yoneda, Y. Nucleocytoplasmic protein transport and cell function. 第77回日本生化学会大会; 2004年10月, 横浜

4) 阪口奈保子, 小瀬真吾, 今本尚子, 米田悦啓, 荻野健治, 立花太郎 「モノクローナル抗体を用いた importin  $\beta$ の細胞内動態の解析」第77回日本生化学会大会; 2004年10月, 横浜

5) 米田悦啓, 宮本洋一, 安田善也 「核蛋白質輸送因子importin  $\alpha$ のダイナミクス」第27回日本分子生物学会年会; 2004年12月, 神戸

6) Miki, T. and Yoneda, Y. Staufen2 isoforms use two different nuclear export pathways. 第27回日本分子生物学会年会; 2004年12月, 神戸

7) 安田善也, 宮本洋一, 才脇卓也, 米田悦啓 「酸化ストレスによるRanの局在変化の分子機構」第27回日本分子生物学会年会; 2004年12月, 神戸

8) 武田英理, 檜枝美紀, 片平じゅん, 米田悦啓 「RanGAP1の新規リン酸化部位の同定とその役割」第27回日本分子生物学会年会; 2004年12月, 神戸

9) Okochi, K., Dozono, R., Oe, S., Kojima, M. and Yoneda, Y. Synergistic regulation of activity-dependent stabilization of trkB FL mRNA in dendrite of cultured hippocampal neuron. 第27回日本分子生物学会年会; 2004年12月, 神戸

10) Yoneda, Y. Nucleocytoplasmic protein transport and importin alpha. 第58回日本細胞生物学会大会; 2005年6月, 大宮

11) Sekimoto, T., and Yoneda, Y. Nuclear import pathways for Notch1 intracellular domain. 第58回日本細胞生物学会大会; 2005年6月, 大宮

12) Sasaki, M., Katahira, J., and Yoneda, Y. Functional analysis of mouse Nuclear Export Factor 3 (mNXF3). 第58回日本細胞生物学会大会; 2005年6月, 大宮

13) Kose, S., Yoneda, Y., and Imamoto, N. The 70 kDa heat shock cognate protein (hsc70) facilitates the nuclear export of the import receptors, importin  $\beta$  and transportin. 第58回日本細胞生物学会大会; 2005年6月, 大宮

14) 米田悦啓, 宮本洋一, 小寺一平, 安田善也 「核-細胞質間蛋白質輸送と細胞機能」第5回日本蛋白質科学会年会; 2005年7月, 福岡

15) 小川 泰, 宮本洋一, 浅利宗弘, 宜保 諒, 米田悦啓 「核移行シグナル受容体分子Importin  $\alpha$ の核膜孔通過メカニズムの解析」第28回日本分子生物学会年会; 2005年12月, 福岡

16) 柴田理志, 佐々木光穂, 三木貴司, 島本 顕, 古市泰宏, 片平じゅん, 米田悦啓 「exportin-5 相同体の機能解析」第28回日本分子生物学会年会; 2005年12月, 福岡

17) 安原徳子, 柴崎典子, 田中真哉, 永井理博, 上川泰直, 大江総一, 蓮池雄介, 近藤寿人, 米田悦啓 「神経分化における importin  $\alpha$ の役割」第28回日本分子生物学会年会; 2005年12月, 福岡

(他 17演題)