

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	両親媒性ペプチドを用いた革新的細胞核内物質導入技術の開発
研究機関・ 部局・職名	京都大学・生命科学研究科・准教授
氏名	吉村 成弘

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	86,000,000	86,000,000	0	86,000,000	86,000,000	0	0
間接経費	25,800,000	25,800,000	0	25,800,000	25,800,000	0	0
合計	111,800,000	111,800,000	0	111,800,000	111,800,000	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	0	32,279,166	13,334,563	16,333,995	61,947,724
旅費	0	1,217,783	1,467,088	2,587,385	5,272,256
謝金・人件費等	0	1,082,379	4,957,999	8,220,880	14,261,258
その他	0	1,920,672	600,249	1,997,841	4,518,762
直接経費計	0	36,500,000	20,359,899	29,140,101	86,000,000
間接経費計	75,000	0	0	25,725,000	25,800,000
合計	75,000	36,500,000	20,359,899	54,865,101	111,800,000

4. 主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
ワークステーション	TYPE GLXA3 VC85690X- GLXS3	1	584,010	584,010	H23.4.28	京都大学
高速液体クロマトグラフ	米国Waters社製 ACQUITY UPLC H-Class Bioシステム	1	8,610,000	8,610,000	H23.6.1	京都大学
円二色分散計	日本分光株式 会社製 J-805 型	1	8,908,935	8,908,935	H23.6.13	京都大学
ファイバーカップリングレ ザーシステム	エドモンド・オプティク ス・ジャパン株式会社 55879-L	1	653,100	653,100	H23.7.6	京都大学
光ファイバー出力型レーザー 発生装置	昭和方トロンクス株式会社 製 J035LS-1G-11-11-12	1	1,392,300	1,392,300	H23.8.1	京都大学
サーバー	NextIO vCORE Express Lite 2090	1	991,725	991,725	H24.1.11	京都大学
ストレージサーバ	Type 4U-XPJ2 VC95690- 4UXPJ2K	1	893,025	893,025	H24.1.12	京都大学
サーバー	NextIO vCORE Express 2090	1	1,703,625	1,703,625	H24.5.23	京都大学
ストレージサーバ	Type 4U-XPJ2 VC95690- 4UXPJ2K	1	999,600	999,600	H24.5.23	京都大学

様式20

光散乱検出器	米国Waters社製 ACQUITY UPLC ELSD w/Nebulizer	1	3,239,250	3,239,250	H24.5.30	京都大学
分光蛍光光度計	日本分光株式 会社製 FP- 8300ST	1	2,657,865	2,657,865	H25.1.22	京都大学
蛍光寿命測定装置	株式会社堀場 製作所製 DeltaFlex-01- NL-YS	1	8,198,400	8,198,400	H25.12.27	京都大学
ガス混合装置	株式会社トッケ ン製 TK- 0003MIGM- S001	1	822,150	822,150	H26.2.14	京都大学

5. 研究成果の概要

研究項目I: 両親媒性ペプチドの最適化
 これまでに、両親媒性構造モチーフの中でも特にleucine-rich repeat (LRR)モチーフ(右図)に焦点を絞って核移行能の検証を行い、より性能の高い配列を見つけ出すことに成功した。しかしながら、運ぶ分子(粒子)のサイズが大きくなると(70 kDa以上)、急激に核移行能が低下することが判明した(分子量1.5倍で、通過能が約1/5)ため、今年度はさらに二次構造(α ヘリクスと β シート)を再検討し、モチーフの構造的安定性と核移行能とを両立させる構造を見出すことに成功した。

研究項目II: 細胞膜通過モジュールおよび細胞選択性モジュールの付加・検討
 昨年に引き続き、膜透過性tatペプチド(RKKRRQRRR)を両親媒性モジュールに結合する試みを行った。まず、両親媒性モチーフのアミノ末端に上記アミノ酸配列を付加し、蛍光標識した粒子に結合させた際の細胞外から細胞内部への取り込みを蛍光顕微鏡で観察した。また、核内部への取り込みを、蛍光タンパク質をコードするDNAを用いて検証した。両親媒性モチーフと膜透過性ペプチドと間に、機能的干渉が見られたため、それらを繋ぐスペーサ配列の長さや性質を検討し、電荷を持たないnon-bulkyなアミノ酸が適していることを明らかにした。

研究項目III: 輸送物質の封入・放出技術の統合とシステム構築・実用化
 DNAおよび蛍光物質を含むアクリル酸溶液を攪拌しながら重合させることで、サブミクロンサイズの粒子を作成した。粒子はゲル濾過カラムで分画し、蛍光顕微鏡で確認した。さらに、このゲルにアミノ基を含むアクリル酸を混合することで、アミノ基を有するナノカプセルを作成し、両親媒性ペプチドが有するチオール基を結合させる試みを行った。その結果、効率は低いものの、この両者を共有結合することに成功した。

課題番号	LS076
------	-------

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	両親媒性ペプチドを用いた革新的細胞核内物質導入技術の開発
	Development of a novel nuclear-targeted drug-delivery system by using amphiphilic peptides
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	京都大学・大学院生命科学研究科・准教授
	Associate Professor, Graduate School of Biostudies, Kyoto University
氏名 (下段英語表記)	吉村 成弘
	Shigehiro Yoshimura

研究成果の概要

(和文): 核内への高い輸送能力を有するペプチドを探索するために、5種類のモチーフから合計50以上の配列をデザイン、合成し、核内への移行能力を検証した。また、細胞が有している内在性キャリアの構造的性質を詳細に解析することにより、両親媒性構造の柔軟性が重要な役割を果たしていることを突き止めた。これらの成果を統合し、5-10倍の核輸送能力を持つキャリアの開発に成功した。小型で高い輸送能力を有し、かつ調製・加工が容易なこのキャリアは、これまでに類を見ない新規性と独自性があり、ライフサイエンス、特にドラッグデリバリー分野において大きな貢献をするものである。

(英文): We examined the nuclear carrier activity of 5 different types of amphiphilic motifs, including more than 50 different polypeptide with amino acid variations. We also examined the molecular mechanism of how endogenous carrier proteins go through the nuclear pore, and found that their flexibility is very important. By combining these results, we finally developed carriers which have 5-10 times higher transport activity. These carriers are highly unique and novel (in its small size, high activity of nuclear transport, easy-to-prepare, and easy-to-modify) and can largely contribute for the development of life-innovation, especially the field of drug-delivery-system.

1. 執行金額 111,800,000 円
 (うち、直接経費 86,000,000 円、間接経費 25,800,000 円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成 26年 3月 31日

3. 研究目的

遺伝子発現の場である核内部は、核膜によって細胞質と隔てられており、細胞質と核との物質移動はすべて核膜上に存在する核膜孔複合体を通して行われる。非分裂細胞における遺伝子導入や核内タンパク質をターゲットとしたドラッグデリバリーでは、核膜のバリアをいかに越えるかがそのまま核内への導入効率と密接に関係している。細胞外から細胞内への物質導入技術はこれまでに盛んに研究がなされており、数多くの知見や技術が得られている一方で、核内へのルートにおける最後の障壁である核膜に関しては、多くの基礎研究が行われてきたにもかかわらず、実用化技術の確立にまでには至っておらず、今後の革新的技術が期待される分野である。

本研究者はこれまでに、1 分子イメージング・計測技術や、分子・細胞生物学、生化学等の技術を統合し、核膜孔を介した物質輸送機構の分子メカニズムを解明してきた。その結果、核膜孔の内部は疎水的環境であり、ある物質(タンパク質)が細胞質から核内へ移行するには、細胞質の「親水的環境」と核膜孔内部の「疎水的環境」の両方において安定に存在する性質(=両親媒性)が重要な役割を果たしていることを世界に先駆けて見出した。

本研究課題は、両親媒性の天然タンパク質群が持つ核移行能力に着目し、その性質や構造をナノスケールで模倣・改変することで、これまでになく高い効率で核内へ物質を導入するためのナノキャリアを開発し、これを用いて“細胞外から核まで”の統合的物質導入システムを構築することを目的とする。この両親媒性ペプチドは、細胞内で核内外輸送を担うタンパク質群(インポーターやエクスポーター)が実際に用いているメカニズムに基づいてデザインされるものであり、その精巧性、柔軟性ならびに拡張性は、現在の遺伝子導入法やドラッグデリバリーシステムに利用されている高分子をはるかに凌ぐものである。よって、ここで得られる成果および確立される技術は、近い将来に組織や個体に応用され、革新的なナノ医療技術として発展する可能性をおおいに含んでいる。これまでのドラッグデリバリー分野で築き上げられてきた知見や技術に新たな革新的技術を統合して構築される本システムは、「多様な分野の科学的・技術的知見の「統合」によるブレークスルー技術の創出」に相当する点でライフ・イノベーションの推進に大きく貢献すると思われる。

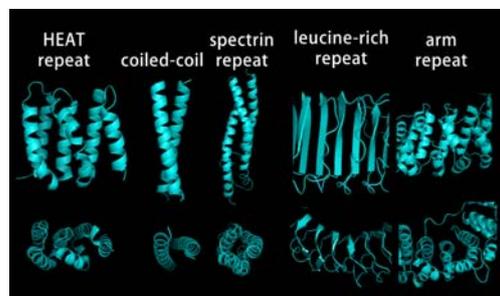


図1：タンパク質データベースに見られる両親媒性モチーフの構造。αヘリクスだけから構成されるものや、αヘリクスとβシートが混在しているものも存在する。

4. 研究計画・方法

本研究課題は下記の3つのテーマ(1),(2),(3)を遂行することにより、細胞外から核内まで、高い効率で物質を輸送する統合システムを構築する。

(1) 高い核移行能を有する両親媒性ペプチドの設計・最適化・通過原理の理解

・両親媒性ナノペプチドの設計・最適化 (平成 22, 23 年度)

天然に存在するタンパク質中に含まれるコイルドコイル領域や他の両親媒性モチーフが核膜孔通過に有効であることを見出している。ここでは、そのアミノ酸配列(30-50 残基)を側鎖の性質や3次元構造に基づいて改変したペプチドライブラリを構築し、より高い効率で核膜孔を通過するペプチドを探索する。また、非天然アミノ酸等を用いて側鎖を修飾し、構造および機能の多様化をめざす。

・核内移行原理の基本的理解 (平成 22, 23 年度)

両親媒性ペプチドが核膜孔を通過する原理を理解するために、ペプチドの高次構造変化をリアルタイムで検出する FRET システムを構築する。これには上述の非天然アミノ酸導入技術を用いる。

(2) 細胞膜通過および細胞選択性モジュールの付加および検討

・細胞膜通過モジュールの付加 (平成 23, 24 年度)

項目(1)で確立した核膜孔通過モジュールに加え、細胞外から細胞内への取り込みを促進させるためのモジュールを付加する。ここでは、これまでに研究が行われてきた膜透過性ペプチドを両親媒性ペプチドに付加し、核移行能を維持したまま、さらに細胞内への取り込み効率を上昇させる。

・細胞選択性モジュールの付加 (平成 23, 24 年度)

特定の細胞をターゲットとした物質導入技術確立のためのモジュール導入を検討する。特に、これまでに報告されている葉酸や EGF 等を両親媒性モジュールに結合させ、癌細胞等をターゲットとした技術の確立に取り組む。

(3) 輸送物質の封入・放出技術の統合とシステム構築、実用化

・輸送物質を封入したナノ粒子の作成とナノコンポジットカプセルの構築 (平成 25 年度)

核膜孔を通過する物質の物理的サイズの上限は約 40 nm 程度と考えられている。ここでは、様々なポリマー材料を用いて輸送物質を封入したナノ粒子を作成し、これを両親媒性ペプチドで外包することで多機能性ナノコンポジットカプセルを構築する。これまでに得られた様々な性質のハイドロゲルの作成に関する知見および技術を利用する。

・封入物質の核内徐放メカニズムの探索と実用化に向けたシステム統合 (平成 25 年度)

温度感受性高分子や光応答性物質を用いて封入物質をカプセルから徐放するためのメカニズムを探索し、統合する。また、これまでの項目で得られた成果を統合し、細胞外から核内までの統合的システムを構築すると共に、実用化にむけた検討を行う。

5. 研究成果・波及効果

(1) 高い核移行能を有する両親媒性ペプチドの設計・最適化・通過原理の理解

ヒトタンパク質データベースから、一次および二次構造をもとに両親媒性モジュールを探し出し、HEAT repeat, ARM repeat, Spectrin repeat, Leucine-rich repeat, coiled-coil(図1)の5種類のモチーフを対象に、リコンビナントタンパク質を大腸菌や昆虫細胞を用いて発現・精製し、HeLa細胞を用いてそれらの核膜通過能を測定した。その結果、i) 配列設計の自由度、ii) 調製のしやすさ(収量)、iii) 核移行効率、を考慮すると、Leucine-rich repeat (LRR)が最適であるという結果が得られた。そこで、このLRR配列の小型化、最適化を目的に、部分断片やアミノ酸残基置換をおこなってその機能を検証した。

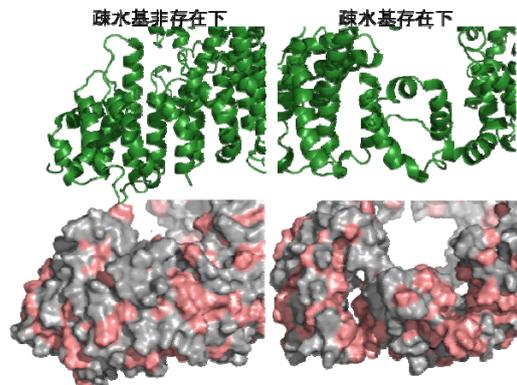


図2：核膜孔通過時の両親媒性モチーフの構造変化と表面の性質変化。細胞質を模した環境(左)と核膜孔内部を模した環境(右)における構造を分子動力学シミュレーションにより計算。両親媒性ヘリクス同士の配置(上)および、表面疎水性(下)の大きな変化が見られる。

一方、細胞内在性の核輸送体である importin β の HEAT repeat 構造に関して、トリプトファン蛍光、CD スペクトル、疎水性プローブ、分子動力学計算等を用いてその構造特性を詳細に解析したところ、HEATモチーフの構造的柔軟性が核膜孔の通過に重要な役割を果たしていることを明らかにした(現在論文投稿中)。核膜孔のような疎水的環境を通過する際の構造変化に関する知見は、世界で初めての発見であり、この結果は、DDSキャリアのデザインに重要な情報を提供すると共に、その開発・最適化に大きな貢献した。

これらの結果をもとに、LRRモチーフに i) 外側ヘリクスへのプロリン残基の導入、ii) プロリン残基の位置と数、iii) 疎水性残基の位置、iv) 疎水性残基側鎖の大きさ、等の項目を検討しながら、アミノ酸配列の最適化をおこなった。全部で40種類近くのモチーフ誘導体(図3)の核移行能力を検証し、その結果、現時点で、アルブミンやオバルブミンなどの、核膜孔を通過しにく

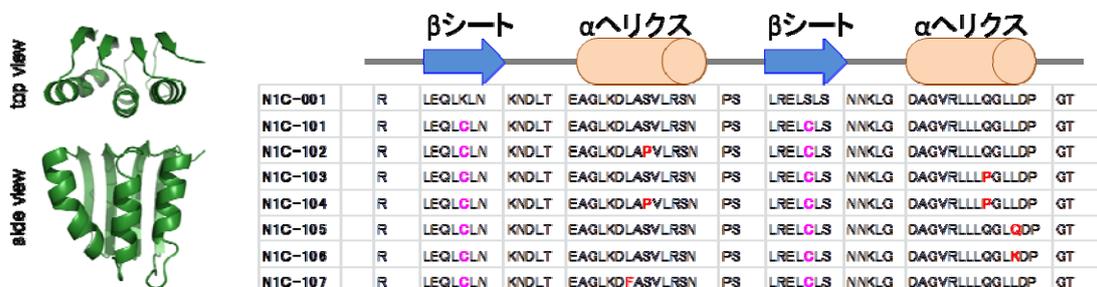


図3：本研究課題で作成したLRRモチーフをベースとした両親媒性モチーフの一部。核膜孔通過時の両親媒性モチーフの構造変化と表面の性質変化。細胞質を模した環境(左)と核膜孔内部を模した環境(右)における構造を分子動力学シミュレーションにより計算。両親媒性ヘリクス同士の配置(上)および、表面疎水性(下)の大きな変化が見られる。変異を導入したアミノ酸を赤で示した。

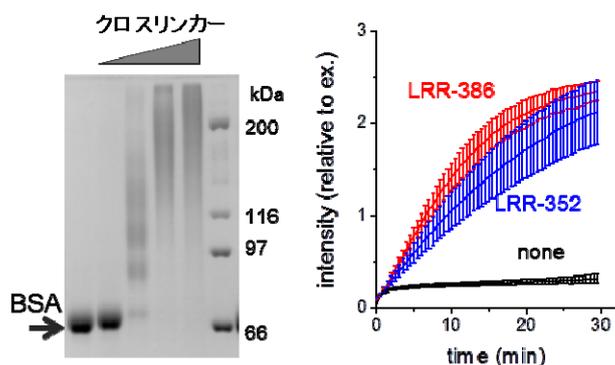


図4：ウシアルブミンタンパク質（BSA）に本研究課題で作成した両親媒性モチーフ（LRR）を結合させた時の核移行能の検証。（左）BSA にLRR を共有結合させたときのゲル電気泳動。クロスリンカーを増やすに従って BSA のバンドが上方に移動している。（右）培養細胞を用いた核移行能の測定結果。蛍光標識した BSA に LRR モチーフを結合させると（赤と青のライン）、結合させないときに比べ、著しい核内移行の上昇が見られた。

いタンパク質の核移行性を、3-10 倍高めることに成功した(図4)。分子量の低いペプチドを用いた核移行の促進はこれまでに前例がなく、安全性の高い技術開発および実用化に向けた基盤技術が整ったといえる。

(2) 細胞膜通過および細胞選択性モジュールの付加および検討

これまでに報告されている膜透過性ペプチド(HIV の tat ペプチド)を、項目(1)で作成した両親媒性モジュールに結合し、細胞外から細胞質への取り込みを促進させる。まず、Tat タンパク質由来の膜透過性ペプチド(RKKRRQRRR)をLRRモチーフのアミノ末端もしくはカルボキシル末端に共有結合させたところ、核膜孔透過能力が著しく低下した。これは、膜透過性ペプチドが有する荷電アミノ酸(アルギニンやリジン)が原因と考えられるため、両モチーフ間のスペーサ長さを検討したが、核移行能の低下を完全におさえることはできなかった。

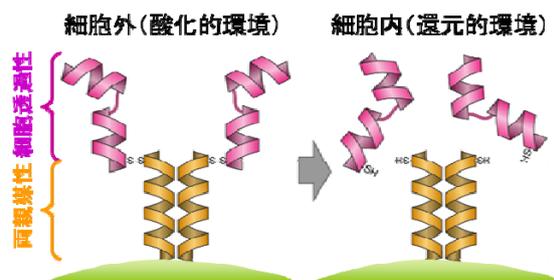


図4：ジスルフィド結合を用いた膜透過性ペプチドと両親媒性ペプチドとの結合。細胞内の還元的環境によりジスルフィド結合が切断され、両親媒性モチーフが露出する。

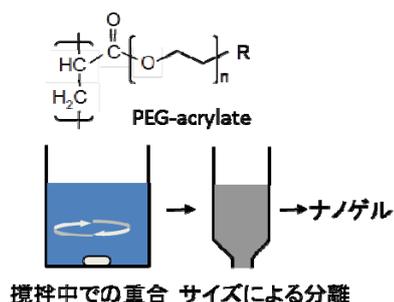
そこで、膜透過性ペプチドと両親媒性ペプチドとをジスルフィド結合を用いて結合する方法を試みた。これにより、細胞外から細胞膜を通過して細胞質に到達すると、その還元的環境により、ジスルフィド結合が切断され、両親媒性モチーフと運搬物質の複合体が、膜透過性ペプチドから解離する。現在、試験管内でのジスルフィド結合の形成には成功しており、引き続き、生細胞を用いた検証実験が進行中である。作成のプロセスが複雑になるため、一本のポリペプチドとして合成する場合と比較して、最終生成物の収量が低下するという問題の解決にも取り組んでいる。

(3) 輸送物質の封入・放出技術の統合とシステム構築、実用化

DNA および蛍光物質を含むアクリル酸溶液を攪拌しながら重合させることで、サブミクロンサイズの蛍光粒子を作成した(図5)。粒子はゲル濾過カラムで分画し、それぞれの画分を蛍光顕微

様式21

鏡で確認した。さらに、このゲルにアミノ基を含むアクリル酸を混合することで、アミノ基を有するナノカプセルを作成した。上記項目(2)で作成した tat ペプチドと LRR モチーフとの複合体をナノカプセルに結合させ、HeLa 細胞の培養液に添加し、遺伝子の発現量を検証した。ここでは蛍光タンパク質 GFP をコードする遺伝子を用いて、GFP の発現量を指標に、核移行能の定量化をおこなった。これまでのところ、遺伝子発現量に僅かな上昇がみられており、膜透過性ペプチドの結合条件、および DNA を梱包したナノカプセルの性質に関して検討を重ねて行く予定である。



攪拌中での重合 サイズによる分離

図5：アクリル酸樹脂によるナノカプセルの作成。

6. 研究発表等

雑誌論文 計 15 件	(掲載済み一査読有り) 計 15 件 <ol style="list-style-type: none"> 1. M. Asally, Y. Yasuda, M. Oka, S. Otsuka, <u>S.H. Yoshimura</u>, K. Takeyasu and Y. Yoneda (2011) Nup358, a nucleoporin, functions as a key determinant of the nuclear pore complex structure remodeling during skeletal myogenesis. <i>FEBS J.</i> 278(4): 610-621. 2. H. Ohno, T. Kobayashi, R. Kabata, K. Endo, T. Iwasa, <u>S.H. Yoshimura</u>, K. Takeyasu, T. Inoue and H. Saito (2011) Synthetic RNA-protein complex shaped like an equilateral triangle. <i>Nat. Nanotechnol.</i>, 6(2):116-120. 3. H. Maruyama, M. Shin, T. Oda, R. Matsumi, R.L. Ohniwa, T. Ito, K. Shirahige, T. Imanaka, H. Atomi, <u>S.H. Yoshimura</u> and K. Takeyasu (2011) Histone and TK0471/TrmBL2 form a novel heterogeneous genome architecture in the hyperthermophilic archaeon <i>Thermococcus kodakarensis</i>. <i>Mol. Biol. Cell</i>, 22(3): 386-398. 4. <u>S.H. Yoshimura</u>, S. Khan, H. Maruyama, Y. Nakayama and K. Takeyasu (2011) Fluorescence labeling of carbon nanotubes and visualization of a nanotube-protein hybrid under fluorescence microscope. <i>Biomacromolecules</i> 12(4):1200-1204. 5. Y. Akai, Y. Kurokawa, N. Nakazawa, Y. Tonami-Murakami, Y. Suzuki, <u>S.H. Yoshimura</u>, H. Iwasaki, Y. Shiroyiwa, T. Nakamura, E. Shibata and M. Yanagida (2011) Opposing role of condensin hinge against replication protein A in mitosis and interphase through promoting DNA annealing. <i>Open Biology</i> 1(4): 110023. 6. Y. Suzuki, J.L. Gilmore, <u>S.H. Yoshimura</u>, R.M. Henderson, Y.L. Lyubchenko and K. Takeyasu (2011) Visual analysis of concerted cleavage by type IIF restriction enzyme SfiI in subsecond time region. <i>Biophys. J.</i> 101(12): 2992-2998. 7. S. Sekiguchi, K. Niikura, Y. Mastuo, <u>S.H. Yoshimura</u>, K. Ijiro (2012) Nuclear transport facilitated by the interaction between nuclear pores and carbohydrates. <i>RSC Advances</i> 2: 1656-1662. 8. H. Maruyama, <u>S.H. Yoshimura</u>, S. Ohno, K. Nishikawa and Y. Nakayama (2012) Covalent attachment of a specific site of a protein molecule on a carbon nanotube tip. <i>J. Appl. Phys.</i> 111, 074701. 9. <u>S.H. Yoshimura</u>, S. Khan, S. Ohno, T. Yokogawa, K. Nishikawa, T. Hosoya, H. Maruyama, Y. Nakayama and K. Takeyasu (2012) Site-specific attachment of a protein to the end of carbon nanotube without loss of protein function. <i>Bioconj. Chem.</i> 23(7):1488-1493. 10. M. Kumeta, H. Yamaguchi, <u>S.H. Yoshimura</u>, and K. Takeyasu (2012) Karyopherin-independent spontaneous transport of amphiphilic proteins through the nuclear pore. <i>J. Cell Sci.</i> 125(Pt 21): 4979-4984. 11. Y. Suzuki, M. Shin, A. Yoshida, <u>S.H. Yoshimura</u> and K. Takeyasu (2012) Fast microscopical dissection of action scenes played by <i>Escherichia coli</i> RNA polymerase. <i>FEBS Lett.</i> 586(19):3187-3192. 12. E. Prieto, T. Kobori, <u>S.H. Yoshimura</u>, K. Takeyasu, K. Hizume (2012) Core histone charge and linker histone H1 effects on the chromatin structure of <i>Schizosaccharomyces pombe</i>. <i>Biosci. Biotech. Biochem.</i> 76(12): 2261-2266. 13. Y. Suzuki, T.A. Goetze, D. Stroebel, D. Balasuriya, <u>S.H. Yoshimura</u>, R.M. Henderson, P. Paoletti, K. Takeyasu, J.M. Edwardson (2013) Visualization of structural changes accompanying activation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors using fast-scan atomic force microscopy imaging. <i>J. Biol. Chem.</i> 288(2):778-784.
----------------	--

	<p>14. <u>S.H. Yoshimura</u>, S. Otsuka, M. Kumeta, M. Taga and K. Takeyasu (2013) Intermolecular disulfide bonds among nucleoporins regulate karyopherin-dependent nuclear transport. <i>J. Cell Sci.</i> 126 (pt14): 3141-3150.</p> <p>15. M. Kumeta, Y. Hirai, <u>S.H. Yoshimura</u>, T. Horigome and K. Takeyasu (2013) Antibody-based analysis reveals “filamentous vs. non-filamentous” and “cytoplasmic vs. nuclear” crosstalk of cytoskeletal proteins. <i>Exp. Cell Res.</i> 319(20): 3226-3237.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 16 件</p>	<p>専門家向け 計 16 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>吉村成弘</u> 「AFM で捉える DNA のかたちとうごき」株式会社 RIBM 主催 “超高速 (動画) AFM シンポジウム” (2011 年 7 月 29 日, 大阪府豊中市) 2. <u>吉村成弘</u> 「両親媒性タンパク質による核膜孔通過原理の理解と応用」第 84 回生化学会大会 企画ワークショップ (2011 年 9 月 22 日, 京都市) オーガナイザとしてワークショップを企画 3. <u>吉村成弘</u> 「核膜孔複合体を介した物資輸送機構の解明」第 10 回核ダイナミクス研究会 (2011 年 10 月 26 日, 札幌市) 4. <u>S.H. Yoshimura</u> “Flexible Amphiphilic Structure of Importin β is Critical for its Fast Passage through the NPC.” at EMBO Workshop on Mechanisms of Nucleocytoplasmic Trafficking (Nov. 7th, 2011, Jerusalem, Israel) 5. <u>S.H. Yoshimura</u> “How does importin beta/cargo complex overcome the NPC barrier?” 第 34 回日本分子生物学会年会ワークショップ(2011 年 12 月 15 日, 横浜市) 6. <u>吉村成弘</u> 「核-細胞質間物質輸送原理の理解と DDS への応用」第 28 回日本 DDS 学会年会ワークショップ (2012 年 7 月 4 日, 札幌) 7. <u>吉村成弘</u>, 桑田昌宏, 竹安邦夫 「高大連携生命科学教育における卓越性: 理科学目横断講義の実践」日本科学教育学会第 36 回年会 (2012 年 8 月 27 日, 東京) 8. <u>吉村成弘</u> 「核-細胞質間物質輸送の分子基盤の理解」第 35 回日本分子生物学会年会 (2012 年 12 月 11 日, 福岡) 9. <u>S.Y. Yoshimura</u> “Flexible amphiphilic proteins travel through the nuclear pore complex.” 第 31 回染色体ワークショップ・第 12 回核ダイナミクス研究会 (2012 年 12 月 20 日, 淡路) 10. <u>吉村成弘</u> 「細胞質-核間物質輸送の分子基盤の理解と応用」東北大学農学部セミナー (2013 年 5 月 14 日, 仙台) 11. <u>吉村成弘</u> 「細胞質-核間物質輸送の分子基盤の理解と応用」新学術領域研究 “感染症コンピテンシー” 若手交流会 招待講演 (2013 年 9 月 28 日, 湘南) 12. <u>S.H. Yoshimura</u> 「Importin β travels through the NPC via flexible amphiphilic structures」 International Meeting on Mechanism of Nuclear Transport (2013 年 10 月 20 日, Woods Hole) 13. 小西秀明, <u>吉村成弘</u> 「疎水性溶媒が蛍光タンパク質の蛍光特性に及ぼす影響」日本生物物理学会年会 (2013 年 10 月 30 日, 京都) 14. 浅井賢, <u>吉村成弘</u> 「蛍光タンパク質を用いた疎水性感受性プローブの作成と核膜孔複合体研究への応用」第 38 回染色体ワークショップ・第 15 回核ダイナミクス研究会 (2013 年 11 月 26 日, 箱根) オーガナイザとして会全体

	<p>を企画実行。</p> <p>15. <u>吉村成弘</u>「Importin β travels through the NPC via flexible amphiphilic structures」第36回日本分子生物学会年会 企画ワークショップ(2013年12月5日, 神戸)</p> <p>16. H. Konishi and <u>S.H. Yoshimura</u> 「Solvent-dependent shift of fluorescence properties of fluorescent proteins」(アメリカ生物物理学会年会 2014年2月19日, サンフランシスコ)</p> <p>一般向け 計0件</p>
図書	
計0件	
産業財産権 出願・取得 状況	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
計0件	
Webページ (URL)	<p>研究室 HP: http://www.lif.kyoto-u.ac.jp/labs/chrom/html</p> <p>YouTube で研究内容の紹介 https://www.youtube.com/watch?v=83z2wwgfIgo</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<ol style="list-style-type: none"> 2012年4月15日(滋賀県立膳所高等学校、特別講義)「ナノの目で見えるバイオの世界Ⅰ」参加者19名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行った。 2012年6月17日(滋賀県立膳所高等学校、特別講義)「ナノの目で見えるバイオの世界Ⅱ」参加者19名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行った。 2012年9月30日(滋賀県立膳所高等学校、特別実習)「ナノの目で見えるバイオの世界・実習」参加者14名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義および実習を行った。 2012年4月20日(滋賀県立膳所高等学校、特別講義)「ナノの目で見えるバイオの世界Ⅰ」参加者15名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行った。 2012年6月8日(滋賀県立膳所高等学校、特別講義)「ナノの目で見えるバイオの世界Ⅱ」参加者15名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行った。 2012年9月15日(大阪府立三国丘高等学校、特別講義)「ナノの目で見えるバイオの世界」参加者35名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行った。 2013年4月12日(滋賀県立膳所高等学校、特別講義)「ナノの目で見えるバイオの世界Ⅰ」参加者15名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行った。 2013年4月19日(滋賀県立膳所高等学校、特別講義)「ナノの目で見えるバイオの世界Ⅱ」参加者15名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行った。

様式21

	<p>る講義を行った。</p> <p>9. 2014年3月31日-4月4日(西大和学園、特別ラボステイ) 参加者10名 高校生を対象に、ナノテクノロジーやナノ医療に関する講義を行い、DNA やタンパク質を扱う実習を5日間にわたって行った。</p>
新聞・一般雑誌等掲載計0件	
その他	

7. その他特記事項