

**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)  
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	ストレス応答時に機能する新規核-細胞質間輸送経路の解明によるシャペロン機能の発掘
研究機関・部局・職名	独立行政法人理化学研究所・基幹研究所・今本細胞核機能研究室・主任研究員
氏名	今本尚子

### 1. 当該年度の研究目的

ストレス応答時には定常時で働く importin  $\beta$  ファミリーで担われる核-細胞質間輸送経路が遮断され、これまで知られていなかった新規運搬体分子(Hikeshi と命名)で担われる核-細胞質間輸送が出現する。Hikeshi は分子シャペロン Hsp70s を核に輸送する。H22 年度は Hikeshi がコシャペロン Hsp110 で ATP 型に変換された Hsp70s を認識する一方で、コシャペロン Hsp40 で ADP 型に変換された Hsp70s から解離することを生化学的に証明し、輸送の駆動力が Hsp70 の ATPase サイクルであることを強く示唆した。H23 年度は、Hikeshi が Hsp70s を認識する構造基盤を理解するために、Hikeshi/Hsp70 結晶構造解析に取り組むとともに、Hikeshi が Hsp70 を認識する生理的条件を調べるため、Hikeshi と Hsp70 の複合体形成を蛍光イメージングで解析できる実験系のセットアップに着手した。また、Hikeshi 輸送経路の細胞機能における生理的重要性を細胞レベルで慎重に調べて明らかにし、Hsp70 の核内機能の重要性にも言及する。

### 2. 研究の実施状況

熱ショックストレス時に分子シャペロン Hsp70s は Hikeshi によって核に輸送される。Hikeshi の輸送には、コシャペロンで制御される Hsp70s の ATPase サイクルが関与するため、分子シャペロンシステム全体が関与することが明らかになってきた。一方で、Hsp70 がストレス時に核に移入する生理的重要性は明らかにされていなかった。RNA 干渉法で Hikeshi を除去した細胞では、熱ショック時においても Hsp70s の核内移行は促進されず、熱ストレス後の細胞生存率が顕著に低下する。詳細に調べてみると、正常の細胞ではストレス要因が取り除かれると速やかにストレス状態が解除されるのに対し、Hikeshi を除去した細胞はストレス要因を取り除いても、ストレス時に活性化された転写因子 HSF1 の活性が抑制されない、核内ストレス顆粒が消失しない、核小体タンパク質が核質へ流出したままもとに戻らないなど、核内ストレスダメージが維持されたままであることが判明した。このことから Hikeshi を除去した細胞が死滅するのは、ストレスが解除されないためと結論できた。また、Hikeshi 除去の影響は、Hsp70 を強制的に核に移入させることで軽減された。これらの結果から、熱ストレスからの細胞保護や回復に、Hikeshi が重要な役割を果たしていること、また、ストレス時に Hsp70s が核の中で機能することが細胞をストレス障害から守るために重要であることをはじめて明らかにすることができた。また、Hikeshi の結晶化を試みる過程で Hikeshi が2量体形成分子であることがわかり、Hsp70s との相互作用を検討する上で重要な情報が得られている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 5 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 4 件 Clever, T., Funakoshi, T., Mimura, Y., Takagi M., Imamoto, N. (2012). The nucleoporin ELYS/Mel28 regulates nuclear envelope subdomain formation in HeLa cells. <i>Nucleus</i> 3:2, 1-13. PMID: 22555603</p> <p>Nishino, Y., Eltsov, M., Joti, Y., Ito K., Takata, H., Takahashi, Y., Hihara, S., Frangakis, A.S., Imamoto, N., Ishikawa, T., Maeshima, K. (2012). Human mitotic chromosomes consist predominantly of irregularly folded nucleosome fibres without a 30-nm chromatin structure. <i>EMBO J.</i> 17, 1644-1653. PMID: 22343941</p> <p>Maeshima, K., Iino, H., Hihara, S., Imamoto, N. (2011). Nuclear size, nuclear pore number, and cell cycle. <i>Nucleus</i> 2:2, 113-118. PMID: 21738834</p> <p>Funakoshi, T., Clever, M., Watanabe, A., Imamoto, N. (2011). Localization of Pom121 to the inner nuclear membrane is required for an early step of interphase nuclear pore complex assembly. <i>Mol. Biol. Cell</i> 22, 1058-1069. PMID: 21289085</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計1件</p> <p>Kose, S., Furuta, M., Imamoto, N. (2012). Hikeshi, a nuclear import carrier for Hsp70s, protects cells from heat-shock induced nuclear damage. <i>Cell</i> 149, 578-589. PMID: 22541429</p>
<p>会議発表 計 6 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件 (招待講演) N. Imamoto, "Novel nuclear transport pathway operates during heat-shock-stress response", EMBO Workshop on Mechanism of Nucleocytoplasmic Trafficking, Jerusalem Hills, Israel, November (2011).</p> <p>N. Imamoto, "Three-dimensional micro-irradiation of living cells" Frontier in Science-a symposium supported by HFSP MBSJ2011, Yokohama, Japan, Dec (2011).</p> <p>N. Imamoto, "Function and mechanism of novel nuclear import pathway that operates during thermal stress" MBSJ2011 Workshop on <i>The nuclear pore complex and the nuclear transport system acting as a molecular switch to regulate nuclear functions</i>, Yokohama, Japan, Dec (2011).</p> <p>N. Imamoto, "Diversity of nucleocytoplasmic transport pathways: its physiological significances" JST Vinnova Japan-Sweden Joint Workshop, BIWO 2011, CBRC, Tokyo, Japan, January (2012).</p> <p>N. Imamoto, "A Novel Nuclear Import Pathway is Required During Stress to Protect Cells from Nuclear Damage", SALK-USCD Seminar, Salk Institute, San Diego, CA, USA, March (2012).</p> <p>一般向け 計 1 件 今本尚子 「細胞が生きる仕組み」 平成 23 年 12 月 3 日 和光市民大学講座 於 : 和光市公民館</p>
<p>図 書 計 4 件</p>	<p>今本尚子、三村恭弘、船越智子「核膜孔複合体の形成機構」<i>生体の科学</i>, 62, 378-379 (2011)</p> <p>船越智子、今本尚子「Pom121 の構造と核膜孔形成における役割」<i>生体の科学</i>, 62, 388-389 (2011)</p> <p>三村恭弘、今本尚子 「Nup107-133 complex がつくる核膜孔複合体の基礎構造」<i>生体の科学 細胞核-構造と機能</i> 62, 390-391 (2011).</p>

様式19 別紙1

	今本尚子 (2011)「核膜と核膜孔複合体の形成機構」細胞工学 (特集 オルガネラ・モデリング: ベールを脱ぐ分子設計図) Vol. 30, N0.11, 1135-1141
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件  (出願中) 計0件
Webページ (URL)	<a href="http://www.riken.go.jp/r-world/research/lab/wako/cell-dyna/">http://www.riken.go.jp/r-world/research/lab/wako/cell-dyna/</a> <a href="http://www.asi.riken.jp/jp/laboratories/chief labs/cell-dyna/index.html">http://www.asi.riken.jp/jp/laboratories/chief labs/cell-dyna/index.html</a> <a href="http://www.riken.jp/celldynamics/index.html">http://www.riken.jp/celldynamics/index.html</a>
国民との科学・技術対話の実施状況	ホームページを充実させて国民に研究内容を説明していくとともに、平成24年度も一般に向けた講演を行う予定。また平成23年度は T-BERRY プロジェクトの理科王選手権のクイズ出題に協力した。平成24年度は、引き続き、出題した問題を高校生向け「someone」に掲載する。 「someone」HP: <a href="http://someone.jp/">http://someone.jp/</a>
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	H24年度にプレス発表予定
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	109,000,000	48,650,000	0	60,350,000	0
間接経費	32,700,000	14,595,000	0	18,105,000	0
合計	141,700,000	63,245,000	0	78,455,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	48,461,000	0	0	48,461,000	42,068,833	6,392,167	0
間接経費	14,595,000	0	0	14,595,000	14,595,000	0	0
合計	63,056,000	0	0	63,056,000	56,663,833	6,392,167	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	33,350,823	生体分子精製用クロマトグラフィーシステム等
旅費	1,502,259	海外渡航費等
謝金・人件費等	7,065,961	研究者月例給与等
その他	149,790	研究室ホームページ更新作業等
直接経費計	42,068,833	
間接経費計	14,595,000	
合計	56,663,833	

## 4. 当該年度の主な購入物品(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
顕微鏡培養装置	MI-IBC-IF	1	945,000	945,000	2011/6/2	独立行政法人 理化学研究所
生体分子精製用 クロマトグラ フィーシステム	AKTA avant25	1	10,389,750	10,389,750	2011/7/22	独立行政法人 理化学研究所
高精度三次元画 像解析装置の高 速化アップグレード		1	8,418,458	8,418,458	2011/8/30	独立行政法人 理化学研究所
蛍光光源 7波 長半導体光源	SSI7-I	1	3,885,442	3,885,442	2011/8/30	独立行政法人 理化学研究所
Delta Vision用 冷却CCDカメラ	CoolSNAPHQ2	1	3,822,000	3,822,000	2011/9/16	独立行政法人 理化学研究所