

課題番号	LS128
------	-------

**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 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	形態形成における微小管細胞骨格の役割の解析
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人理化学研究所・発生・再生科学総合研究センター・光学イメージング解析ユニット・ユニットリーダー
氏名	清末 優子

1. 当該年度の研究目的

本研究プログラムでは、細胞機能の維持に必須な基盤構造「微小管」細胞骨格の配置を制御する分子群、“微小管プラス端集積因子(+TIPs)”の、発生や恒常性の維持、病態における生物学的な機能を明らかにする。微小管は物質輸送のレールであり、+TIPs はこのレールの配置の制御に関与することから、+TIPs に依存した物質輸送経路の存在を仮定し、生命機能に重要な被輸送物質を特定することで+TIPs の役割の解明を目指している。24年度には、最新の超解像顕微鏡技術を導入したり、in vivo イメージング装置を自ら開発したりするなどしながら、細胞モデルやマウスモデルを用いて、+TIPs に依存した微小管配置制御の新規メカニズムや物質輸送の研究を継続し、また、成果発表並びに成果の実用化に向けた取り組みを推進した。

2. 研究の実施状況

**1. 微小管プラス端を制御する新規分子機構の解析**

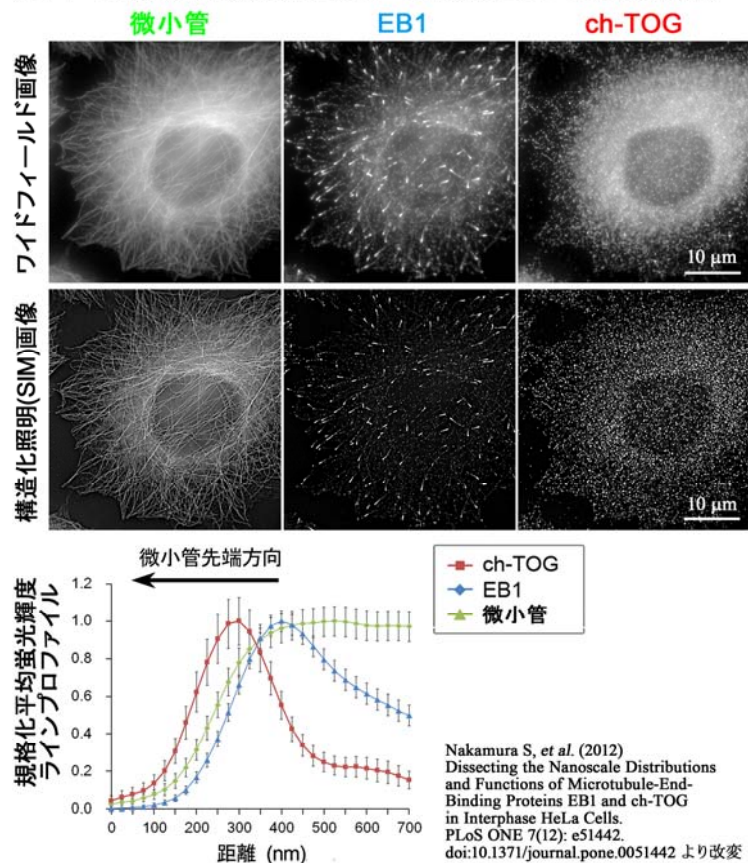
+TIP 分子群の中心的分子は End-Binding 1 (EB1) で、微小管先端の何らかの構造を認識して結合し、他の多くの微小管結合タンパク質と結合してそれらを微小管先端にリクルートする作用を持つ。Colonic-hepatic tumour-overexpressed gene (ch-TOG) は癌細胞で高発現することから同定された推定癌遺伝子で、この分子もまた微小管先端に直接作用して微小管動態制御に重要な役割を持つ分子であることが知られているが、EB1 と ch-TOG の局在や生物学的機能が直接比較されたことはない。そこで、最新の超解像顕微鏡法のひとつ“構造化照明法(SIM)”を利用して 25 nm 分解能での局在解析を行うなどして、両者の微小管結合は非依存的であり、最先端部に結合する ch-TOG に対して EB1 は 100nm 後方に結合することを明らかにした(図1)。また、EB1 は微小管先端を細胞表層に結合させて微小管配置パターンの安定化に寄与するが、ch-TOG はそのような機能を持たず逆に微小管のターンオーバーを促進することを明らかにした。これらの観察結果から、微小管最先端部位には EB1 が認識できない未知の構造領域が存在することが判明し、この微小管先端 100 nm の領域を住み分けることによってこれらの分子が微小管動態を精密に制御していることが明らかになった。これらの結果は論文公表し、プレス発表を行った。

今後、より高い分解能を達成する超解像顕微鏡技術を利用するなどして微小管先端の構造を直接可視化し、今回発見した構造領域の性状を明らかにする必要がある。また、+TIPs 分子間の新たな相互作用を見出しており、引き続き研究を継続している。

## 2. +TIPs 依存的物質輸送の解析

微小管先端を捕捉する細胞内領域が物質輸送のプラットフォームとして機能するとの仮説を検証するために、本研究者が微小管捕捉因子として解析を行ってきた LL5 と APC 癌抑制因子による輸送制御の解析を行った。LL5 はアポリポタンパク質ファミリー分子などを含む小胞と結合することを見出し、APC 癌抑制因子も物質輸送に作用していることを確認し、マウス組織内で輸送小胞の分布に影響を与えることを見出した。さらに、APC の機能不全は初期発生における異常に起因すると考えられる形態異常を引き起こすことを見出した。これまでの成果の発表を進めるとともに、本課題における発見の生物学的な意義を新たなマウスモデルを用いてさらに検証していく必要性が生じたため、変異マウスやレポーターマウスの作製を継続している。

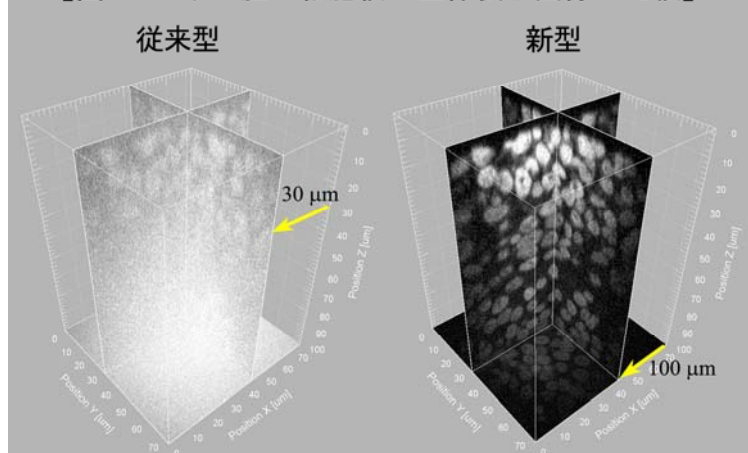
【図 1 超解像顕微鏡法を用いて観察した+TIPsの局在】



## 3. In vivo 高精細イメージングのための顕微鏡開発

概要は前年度に既に報告している。微小管のような微細構造を個体や組織の内部で観察するためのイメージング装置を開発し(図2)、論文発表、プレス発表を完了した。本研究では、この新装置の実用化のためには高出力レーザーの開発が必要であることを示したが、現在、レーザー開発を含む専門家チームにより実用化にむけた取り組みが進められており、近い将来に汎用化、製品化されて普及されることが期待される。

【図 2 マウス胚の細胞核の立体表示画像の比較】



様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計3件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Shimozawa T, Yamagata K, Kondo T, Hayashi S, Shitamukai A, Konno D, Matsuzaki F, Takayama J, Onami S, Nakayama H, Kosugi Y, Watanabe T.M, Fujita K, Mimori-Kiyosue Y. “Improving spinning disc confocal microscopy by preventing pinhole cross-talk for intravital imaging” <i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i> 2013 Feb 26;110(9):3399-404. doi: 10.1073/pnas.1216696110. <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23401517">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23401517</a> *プレス発表 (大阪大学と共同発表)</li> <li>Nakamura S, Grigoriev I, Nogi T, Hamaji T, Cassimeris L, Mimori-Kiyosue Y. “Dissecting the Nanoscale Distributions and Functions of Microtubule-End-Binding Proteins EB1 and ch-TOG in Interphase HeLa Cells” <i>PLoS ONE.</i> 2012;7(12):e51442. doi: 10.1371/journal.pone.0051442. <a href="http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0051442">http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0051442</a> *プレス発表</li> <li>Tran LD, Hino H, Quach H, Lim S, Shindo A, Mimori-Kiyosue Y, Mione M, Ueno N, Winkler C, Hibi M, Sampath K. “Dynamic microtubules at the vegetal cortex predict the embryonic axis in zebrafish” <i>Development.</i> 2012 Oct;139(19):3644-52. doi: 10.1242/dev.082362. <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22949618">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22949618</a></li> </ol> <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</p> <p>計2件</p>	<p>専門家向け 計2件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Togo Shimozawa, Kazuo Yamagata, Hiroshi Nakayama, Yasuhito Kosugi, Yuko Mimori-Kiyosue “Improving spinning disc confocal microscopy using two-photon excitation for live imaging of GFP-transgenic animals” ワークショップ『High-technology and Bioimaging』第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会, 2012年5月28-31日, 神戸.</li> <li>Satoko Nakamura, Ilya Grigoriev, Tomoko Hamaji, Lynne Cassimeris, Yuko Mimori-Kiyosue “Dissecting the nanoscale distributions and functions of microtubule-end-binding proteins EB1 and ch-TOG in interphase HeLa cells” ASCB Annual Meeting, Dec 15-19, 2012, San Francisco, USA.</li> </ol> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計2件</p>	<p><b>【会議抄録集】</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>会議発表1: 第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会 抄録集, 2012, 335 page.</li> <li>会議発表2: 2012 American Society for Cell Biology Annual Meeting プログラム, 2012, 280 page.</li> </ol>
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>

様式19 別紙1

<p>Webページ (URL)</p>	<p><b>【研究内容紹介ウェブサイト】</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ NEXT プログラム『微小管細胞骨格と形態形成』ウェブサイト <a href="http://www.cdb.riken.jp/oia/home_en.html">http://www.cdb.riken.jp/oia/home_en.html</a></li> <li>■ 細胞生物学会ホームページ（微小管細胞骨格に関する一般向け解説） <a href="http://www.jscb.gr.jp/glossary/">http://www.jscb.gr.jp/glossary/</a></li> </ul> <p><b>【研究成果プレスリリース】</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 理化学研究所 HP / 広報活動 / プレスリリース（研究成果） 2012年12月13日 「細胞の維持に必須な微小管の最先端構造が明らかに －光学顕微鏡の限界を超えたイメージング技術でとらえた新たな構造－」 <a href="http://www.riken.jp/pr/press/2012/20121213/">http://www.riken.jp/pr/press/2012/20121213/</a></li> <li>■ 理化学研究所 HP / 広報活動 / プレスリリース（研究成果） 2013年2月12日 「生物内部を高速・高精細にイメージングが可能に －多点共焦点顕微鏡法を二光子励起法の適用で生体観察向けに改良－」 <a href="http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130212_1/">http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130212_1/</a></li> <li>■ 大阪大学 HP / 最新情報 / 研究成果リリース 2013年2月12日 「生物内部を高速・高精細にイメージングが可能に －多点共焦点顕微鏡法を二光子励起法の適用で生体観察向けに改良－」 <a href="http://www.osaka-u.ac.jp/ja/news/ResearchRelease/2013/02/20130212_1">http://www.osaka-u.ac.jp/ja/news/ResearchRelease/2013/02/20130212_1</a></li> </ul> <p><b>【YouTube 理研チャンネルへの研究関連動画の掲載】</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ RIKEN Channel “Timelapse movie of EB1-GFP in a living myoblast cell” <a href="https://www.youtube.com/watch?v=FpIo6wRbkAM">https://www.youtube.com/watch?v=FpIo6wRbkAM</a></li> <li>■ RIKEN Channel “Timelapse movie of EB1-GFP in living fibroblasts” <a href="https://www.youtube.com/watch?v=vNhFKKeYpic">https://www.youtube.com/watch?v=vNhFKKeYpic</a></li> </ul> <p><b>【理研 発生・再生科学総合研究センターHP / ニュース】</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Recent News, 2012年12月28日 「超解像顕微鏡で明らかになった微小管の最先端構造」 <a href="http://www.cdb.riken.jp/jp/04_news/articles/12/121228_eb1chtog.html">http://www.cdb.riken.jp/jp/04_news/articles/12/121228_eb1chtog.html</a></li> <li>■ Recent News, 2013年2月25日 「生体試料深部の高速・高精細なイメージングを可能に」 <a href="http://www.cdb.riken.jp/jp/04_news/articles/13/130225_sdcmicroscopy.html">http://www.cdb.riken.jp/jp/04_news/articles/13/130225_sdcmicroscopy.html</a></li> </ul>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>■ 理化学研究所 神戸研究所「一般公開」における展示 表題：光る！動く！蛍光イメージングの世界。最先端の技術が詰まった、最新の顕微鏡をご紹介します。「最先端・次世代研究開発プログラム」公開企画 実施日：2012年10月20日、理研神戸研究所 発生・再生科学総合研究センター内 対象者：一般 参加者数：1530名（神戸研究所来場者総数として） 内容：本プログラム課題を紹介するポスター展示、細胞内動態を可視化したムービーの上映、関連資料の配布、GFP融合タンパク質を発現する細胞の蛍光顕微鏡観察の解説と実演を行った。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計11件</p>	<p><b>【新聞】</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 神戸新聞 2012年12月13日（木）夕刊8面 「細胞の微小管とがん関連物質 理研が結合の仕組み解明」</li> <li>2. 日経産業新聞 2013年2月13日（水）朝刊7面 「組織・細胞内部を詳細観察」</li> <li>3. 日刊工業新聞 2013年2月13日（水）朝刊21面 「30倍鮮明に観察」</li> <li>4. 神戸新聞 2013年2月16日（土）朝刊12面</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>「生きたまま深部を鮮明に」</p> <p>5. 読売新聞（大阪） 2013年2月18日（月）朝刊22面 「細胞内 精密に高速連続撮影」</p> <p>6. 化学工業日報 2013年2月21日（木） 「新イメージング装置 ―生物内部を高速・高精細描写―」</p> <p><b>【インターネット・ニュース】</b></p> <p>7. 神戸新聞 電子版 2012年12月13日（木）09時40分 「細胞の微小管とがん関連物質 理研が結合の仕組み解明」 <a href="http://www.kobe-np.co.jp/news/iryuu/201212/0005595548.shtml">http://www.kobe-np.co.jp/news/iryuu/201212/0005595548.shtml</a></p> <p>8. マイナビニュース 2012年12月14日（金）09時15分 「理研、「微小管」の先端に新しい構造領域とその機能を発見」 <a href="http://news.mynavi.jp/news/2012/12/14/030/index.html">http://news.mynavi.jp/news/2012/12/14/030/index.html</a></p> <p>9. マイナビニュース 2013年2月12日（火）18時40分 「理研など、厚みのある資料の高速・高精細に蛍光イメージング装置を開発」 <a href="http://news.mynavi.jp/news/2013/02/12/192/">http://news.mynavi.jp/news/2013/02/12/192/</a> *当サイトの複製を多数のサイトで掲載</p> <p>10. 日経新聞 電子版 2013年2月13日（水）11時03分 「理化学研究所と阪大、生物内部を高速・高精細にイメージング可能にする装置を開発」 <a href="http://release.nikkei.co.jp/detail.cfm?relID=330086&amp;lindID=5">http://release.nikkei.co.jp/detail.cfm?relID=330086&amp;lindID=5</a></p> <p><b>【雑誌】</b></p> <p>11. 理化学研究所発行広報誌『理研ニュース』 2013年2月5日, p.14. 「微小管の先端構造が明らかに」</p>
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	10,000,000	6,000,000	4,000,000	0	0
間接経費	3,000,000	1,800,000	1,200,000	0	0
合計	13,000,000	7,800,000	5,200,000	0	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	0	4,000,000	0	4,000,000	4,000,000	0	0
間接経費	0	1,200,000	0	1,200,000	1,200,000	0	0
合計	0	5,200,000	0	5,200,000	5,200,000	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	3,388,294	
旅費	297,250	
謝金・人件費等	0	
その他	314,456	
直接経費計	4,000,000	
間接経費計	1,200,000	
合計	5,200,000	

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
				0		
				0		
				0		