

生命システムの動的理解を可能にする分子性プローブの開発

●古田 寿昭^{1),2)} ◆渡辺 直子¹⁾

1) 東邦大学理学部生物分子科学科 2) 東邦大学複合物性研究センター

<研究の目的と進め方>

システムとしての生命現象を理解するには、生理的に意味のある細胞応答を観測することが肝要である。ケージド化合物の化学を活用して、時期および細胞(組織)特異的に細胞現象を制御する技術の開発を目指して研究を続けてきた。本申請課題では、生きた細胞の生理機能を光で操作可能にする光応答性分子を開発し、領域内の共同研究も活用しながら、生理機能をシステムとして理解するための新しい実験手法として提供することを目標にする。次の2項目を重点的に推進する。(1) ケージド化合物を用いる光制御を要素技術として確立する。(2) システムを理解するためのモデルを提供できる実験系を提案する。ケージド化合物の光照射による生理機能の制御技術をイメージング等の解析と組み合わせれば、時間と空間に関わるすべての細胞生物学分野において、生理的条件における細胞応答を制御して解析する革新的な方法論を創出できる。

<研究開始時の研究計画>

ケージド化合物を用いた光制御法を要素技術として確立することを目指し、以下の項目の実現を図る。

(1) 遺伝子の機能を光制御する技術の開発

ペプチド核酸のケージド化合物を用いて、転写誘導と翻訳阻害をそれぞれ光制御する可能性を探る。転写誘導の光活性化は、DNAと3本鎖を形成し、人工転写因子として働くPNAの性質を利用する。すなわち、適当なレポーター遺伝子を持ち、発現プロモーターを欠いたプラスミドに、PNA結合配列を挿入する。PNA存在下では、PNA2/DNAの3本鎖形成によって、D-loopの生成が誘導される。ここに転写複合体が結合することで、下流のレポーター遺伝子の転写が誘導される。よって、PNAの機能をケージド化合物にして光制御すれば、転写を光で活性化できることになる。また、mRNAと相補的な2本鎖を形成するPNAをケージド化合物にすると、光照射した細胞で任意の遺伝子の翻訳を阻害することができる。つまり、同一の前駆体、同様の合成経路を適用して合成したケージドPNAを用いて、核酸塩基部分の配列を選ぶだけで、遺伝子のコンディショナルな機能活性化と抑制を達成できる。

(2) セカンドメッセンジャーの光照射による細胞の局所刺激

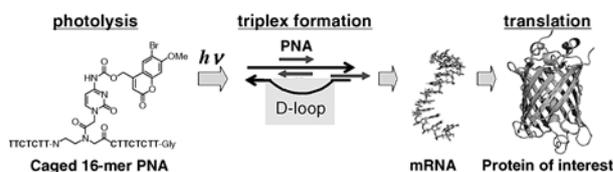
(3) 2光子励起に適したケージド化合物の開発

<研究期間の成果>

(1) 遺伝子の機能を光制御する技術の開発

3本鎖形成能を持つ16-mer PNA (H₂N-TTCTCTTCCTTCTCTT-COOH)のN末から8番目のシトシンにBmemoc基を導入し、Caged 16-mer PNAとした。Caged 16-mer PNAの相補鎖形成能は、Bmemoc基の導入により失われたことをPCR clampingにより確認した。次に、プロモーターを持たないプラスミドベクター(pZsGreen)に16-mer PNAの結合領域を含む50 bpのDNA断片を挿入し、D-loop形成による転写誘導を蛍光タンパク

質の発現で観察できるベクターを構築した。これをHeLa細胞にトランスフェクトし、16-mer PNAあるいはCaged 16-mer PNA存在下、紫外光照射の有無による転写誘導を観察した。その結果、16-mer PNAまたは光照射後のCaged 16-mer PNAを加えた細胞だけに、蛍光タンパク質の発現が観測された。以上より、Bmemoc基で保護したケージドPNAを用いて、光照射によって遺伝子の転写を誘導できることが明らかになった。



Caged PNA as a photo-mediated transcription activator

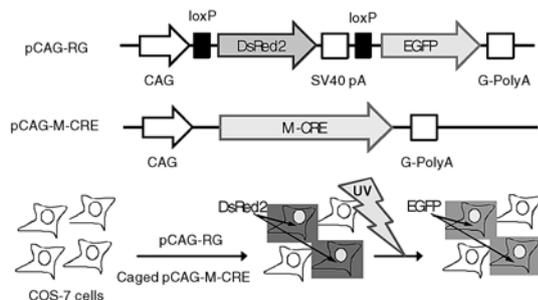
ケージドDNAを調製するには2つの方法が考えられる。全長DNAを適切なケージング試薬でランダムに修飾する方法と、化学合成したケージドプライマーから酵素的に伸長して全長のケージドDNAにする方法である。このうち、ランダム修飾による方法は、操作が簡単で試薬が手に入れば誰でも利用できる点と、適用できるDNAの配列に制限がないと考えられる点で優れている。しかし、これまでに報告されているランダム修飾によるケージドDNAは、光照射の前後で数倍程度の発現誘導の上昇しか実現できていなかった。そこで、EGFPおよびルシフェラーゼ発現プラスミドをモデル化合物に選び、Bhc-diazoによるDNAのケージングと、光照射によるアンケージング条件の最適化をはかったところ、光照射によって最高で10倍程度の発現上昇が観察できることを明らかにした。また、照射する光の量に応じて発現量も上昇すること、さらに、均一な細胞集団のうち、光照射細胞のみで発現誘導を引き起こせることも確認した。

しかし、ケージングに使用したプラスミドDNAの量を考慮すると、光照射後に発現するタンパク質の絶対量が少ないこと(未修飾のDNAに対して0.01%程度)、また、使用するDNAの量を増やしても発現するタンパク質の量が一定量以上は増えないことも明らかになった。次に、さらに効率よく発現上昇する系の構築を目指し、アンケージング後に生成したプラスミドDNAが細胞内で複製される系の効果を検討した。SV40 oriを持つルシフェラーゼ発現ベクターpRL-SV40をBhc-diazoでケージングし、COS-7細胞に導入後にUV光を照射すると、未照射細胞に比べて100倍以上の発現上昇が実現できた。また、発現の絶対量も未修飾のプラスミドによる発現量の数%程度まで増加できることを確認した。

今回開発したSV40oriを持つケージドプラスミドとSV40 large T抗原発現細胞の組み合わせによる方法を用いると、光照射によって最高で300倍以上の発現効率の上昇が達成できることも明らかにした。これは、従来の方法が、ケージングによってプラスミドDNAからmRNAへの転写を光制御するのに対し、large

T 抗原発現細胞では、1 細胞内のコピー数が複製により飛躍的に上昇したことによる。すなわち、ランダム修飾によるケーシングで DNA の複製を光制御可能なことを意味している。

これまでの研究で開発した Bhc-ケーシングプラスミド DNA を Cre-loxP の系に適用して、照射した細胞だけで遺伝子組み換えを引き起こす可能性を検討した。Bhc-diazo によって組換え酵素である Cre をコードするプラスミドをケーシングした。生成したケーシング Cre を哺乳動物培養細胞に導入したところ、光を照射しない細胞ではバックグラウンドレベルの組み換えしかおこらないこと、また、照射した細胞では Cre の生成による組み換えが起こることを確認した。



Photoactivated gene recombination using caged pCAG-M-CRE in mammalian cultured cells. COS-7 cells were transfected with pCAG-RG and caged pCAG-M-CRE. Red fluorescence from DsRed is observed in non-irradiated cells. Exposure to light produces Cre recombinase which catalyzes gene recombination to yield EGFP.

(2) セカンドメッセンジャーの照射による細胞の局所刺激

プロテインキナーゼC (PKC) の活性を、細胞内の局所で制御する手法の開発を目的として、PKCのサブタイプ特異的な活性化剤として働く、不飽和脂肪酸のケーシング化合物を合成した。合成したケーシングアラキドン酸 (Bhc-caged arachidonic acid) は紫外照射によってアラキドン酸を放出する。ε PKC-DsRed 融合タンパク質を発現させた CHO-K1 細胞に、ケーシングアラキドン酸を加えて照射すると、ε PKC のゴルジ体へのトランスロケーションを誘導できることを確認した。また、ケーシング化合物と光反応後の副生成物の細胞毒性を調べたところ、1 mM 以上の濃度を培地全体に加えると、細胞の増殖に影響を与えることもわかった。使用濃度に十分注意する必要があるが、生きた細胞内の PKC の活性をサブタイプ特異的に活性化する新手法になると考えている。

照射で機能制御可能なケーシングペプチドを合成する方法が確立できると、その有用性は高い。細胞の局所刺激を可能にするツールの開発を目指して、ε PKC のサブタイプ特異的な阻害ペプチドのケーシング化合物 EAVSLK(Bmcoc)PT、および、細胞接着阻害ペプチドのケーシング化合物 RGD(Bhc)S を合成した。合成したケーシングペプチドは、紫外照射によって元のペプチドを放出することを確認した。またその時の、1 光子および 2 光子励起条件下での光反応効率を定量した。あわせて、いくつかのアミノ酸および蛍光性機能分子のケーシング化合物の 2 光子励起効率を定量し比較したところ、いずれの化合物も生きた細胞での使用が可能なほどの uncaging cross-section を持つことがわかった。

ケーシング化合物を活用した光制御を、細胞生物学における要素技術の一つにするために、細胞内シグナル伝達を制御する分子のケーシング化合物の合成と機能評価をおこなった。リン酸化ペプチド、プロテインキナーゼの活性化剤と阻害剤、脂質性シグナル分

子等がその例である。中でも、我々が開発した caged DAG である Bhcoc-diC8 を用いる局所活性化によって、T 細胞における微小管形成中心 (MTOC) が極性を獲得するのに、DAG の細胞内濃度勾配が必要十分であることを直接証明することに成功した。

(3) 2光子励起に適したケーシング化合物の開発

光分解性保護基として、(6-bromo-7-hydroxycoumarin-4-yl) methyl 基 (Bhc 基)、nitroveratryloxycarbonyl 基 (NVOC 基)、4-methyl-7-nitroindolyl 基 (MNI 基) を選び、これらをグリシンに導入して、3 種類のケーシンググリシンを合成した。まず、紫外照射による 1 光子励起反応条件下での光化学的性質を調べた。その結果、Bhcoc-Gly の光反応効率が最も高く、350 nm 照射時の光反応の量子収率 (ϕ) は 0.074、そのときの反応率 $\phi \epsilon$ は 982 であった。NVOC-Gly と MNI-Gly は、それぞれ $\phi = 0.0013$, $\phi \epsilon = 8.5$ (NVOC-Gly), $\phi = 0.028$, $\phi \epsilon = 143$ (MNI-Gly) であり、Bhcoc-Gly の光反応効率は、他のケーシング化合物よりも約 10 倍高い。次に、2 光子励起条件下での反応効率を比較した。光反応は波長可変でフェムト秒パルスの Ti-サファイアレーザー (Tsunami, Spectra-Physics 社) を用いて行った。光反応効率として、2 光子励起の吸収断面積 (δ) と光反応の量子収率 (ϕ) の積を uncaging action cross-section ($\delta \phi$) と定義した。700 nm から 900 nm における吸収断面積既知のフルオレセインを標準物質とし、これに対する相対値として 3 種類のケーシンググリシンの $\delta \phi$ 値を求めた。720 nm 照射における $\delta \phi$ は Bhcoc-Gly では 1.11 GM、NVOC-Gly では 0.012 GM、MNI-Gly では 0.15 GM となり、MNI-Gly と比較すると約 7 倍、NVOC-Gly と比較すると約 100 倍効率が高いことが明らかとなった。

また、共同研究者らが開発した、新しいケーシング一酸化窒素分子から、2 光子励起によって NO が産生することを明らかにした。

<国内外での成果の位置づけ>

我々のグループで開発したケーシング化合物は、他のグループのものに比べて、(光) 化学的性質が優れていることは明らかである。ペプチド核酸のケーシング化合物は、これまでに報告例はない。また、核酸塩基部分の配列を選ぶことで、機能の活性化と抑制をそれぞれ光制御可能にするというコンセプトは、他にないものである。

新規ケーシング化合物の開発を進めているグループは、国内外で年々増加しているが、実際に生きた細胞を用いて、遺伝子発現を光制御出来ている例は非常に少ない。また、ケーシングプラスミド DNA の照射によって、100 倍以上の発現上昇を達成した例はない。しかし、RNAi の光制御については、他のグループにやや先を越された面もある。我々のグループで開発したケーシング化合物の光反応性の高さ等の、化学的性質の優位性が活かせるような応用例を示して独自性をアピールしていきたい。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

- ・ shRNA 産生プラスミドのケーシングによって、標的遺伝子の光機能抑制の達成。
- ・ 光解離性クロスリンカーでケーシングした siRNA を用いた、内因性遺伝子の光機能抑制条件の検討。
- ・ ケーシング PNA を用いた光転写活性化と光翻訳阻害のアクセシ系の構築。

<今後の課題、展望>

高次の生命現象を理解するためには、システムを壊さずに解析

して理解する研究手法が必須である。光の持つ非侵襲性と言う特徴は大きなアドバンテージになる。中でも、リアルタイムで解析する手法は分子イメージングとして発展を続けている。通常イメージングの実験では、静止状態の生体を刺激することで定常状態に摂動を与え、その後の応答を観察することで有用な情報が得られる。しかし刺激の与え方によっては、生理的な条件から掛け離れてしまうため、観察された応答の解釈には注意を要する。できるだけ生理的条件を再現したやり方で生理機能を制御し、応答を解析する実験手法が望まれている。光を吸収する分子のみが光反応を起こすという基本に立ち返って考えれば、光刺激は、生体内で化学反応を制御するのに非常に都合である。他の内因性分子には影響を与えずに機能制御することができるからである。このような性質を生体直交性 (Bio-orthogonality) といい、近年大きな注目を集めている。一方、熱反応の場合は、系内にあるものすべてが熱的な励起状態に達してしまうので、選択的に刺激することはできない。

我々の今回の研究課題も含めて、現在実用的に用いられているケージド化合物は、光励起に続く共有結合の切断を利用している。この方法の利点は、完全に活性がオフの状態から始めて、光照射で活性がオンの状態を作れる点にある。結合の切断や発光特性の他にも、生命科学への応用が期待される光機能性は多い。たとえば結合の異性化を伴う変化は、フォトクロミズムを示すことから、2種類の刺激で可逆的に機能制御する系へと展開することも可能である。細胞をフラスコに見立てれば、光機能性の利用価値はさらに拡がるであろう。

<研究期間の全成果公表リスト>

1) 論文/プロシーディング

1.

Hishikawa, K., Nakagawa, H., Furuta, T., Fukuhara, K., Tsumoto, H., Suzuki, T., Miyata, N. Multiple bond-conjugated photoinduced nitric oxide releaser working with two-photon excitation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009 in press

2. 0912042137

Tsutsui, H., Shimizu, H., Mizuno, H., Nukina, N., Furuta, T., Miyawaki, A. The E1 mechanism in photo-induced β -elimination reactions for green-to-red conversion of fluorescent proteins, *Chem. & Biol.* 16, 1140-1147 (2009)

3. 0912042124

Hishikawa, K., Nakagawa, H., Furuta, T., Fukuhara, K., Tsumoto, H., Suzuki, T., Miyata, N., Photoinduced nitric oxide release from a hindered nitrobenzene derivative by two-photon excitation., *J. Am. Chem. Soc.* 131, 7488-7489 (2009)

4. 0912042103

Quann, E. J., Merino, E., Furuta, T., Huse, M. Localized diacylglycerol drives the polarization of the microtubule-organizing center in T cells, *Nature Immunol.* 10, 627-635 (2009).

5. 901161407

Katayama, K., Tsukiji, S., Furuta, T., Nagamune, T., A bromocoumarin-based linker for synthesis of photocleavable peptidoconjugates with high photosensitivity, *Chem. Commun.*, 5399-5401 (2008)

6. 806260010

Kawakami, T., Cheng, H., Hashiro, S., Nomura, Y., Tsukiji, S., Furuta, T., Nagamune, T., A Caged Phosphopeptide-Based Approach for Photochemical Activation of Kinases in Living Cells, *ChemBioChem*, 9, 1583-1586 (2008)

7. 801300927

Orang, C., A. Specht, A., Puliti, D., Sakr, E., Furuta, T., Winsor, B., Goeldner, M., Synthesis and Photochemical Properties of a Light-activated Fluorophore to label His-tagged Proteins, *Chem. Commun.*, 1217-1219 (2008)

8. 801300915

Furuta, T., Watanabe, T., Tanabe, S., Sakyō, J., Matsuba, C., Phototriggers for Nucleobases with Improved Photochemical Properties, *Org. Lett.*, 9 (23), 4717-4720 (2007)

9. 702142337

Specht, A., Thomann, J. S., Alarcon, K., Wittayanan, W., Ogden, D., Furuta, T., Kurakawa, Y., Goeldner, M., New Photoremovable Protecting Groups for Carboxylic Acids with High Photolytic Efficiencies at Near-UV Irradiation. Application to the Photocontrolled Release of L-Glutamate., *ChemBioChem*, 7, 1690-1695 (2006)

10. 601311522

Wood, C. D., Nishigaki, T., Furuta, T., Baba, S. A., Darszon, A., Real-time analysis of the role of Ca(2+) in flagellar movement and motility in single sea urchin sperm, *J. Cell. Biol.*, 169(5), 725-731(2005)

11. 601311504

Furuta, T., Caged compounds in photoregulation of cellular functions, *Bioimaging*, 14, 79-80 (2005)

12. 601311450

Ando, H., Kobayashi, M., Tsubokawa, T., Uyemura, K., Furuta, T., Okamoto, H., Lhx2 mediates the activity of Six3 in zebrafish forebrain growth, *Dev. Biol.*, 287 (2), 456-468 (2005)

2) 学会発表

1. T. Furuta, Designing New Caged Probes for Photomanipulation, Neuroscience 2009 (The 32nd Annual Meeting, the Japan Neuroscience Society), Nagoya, Sep. 16-18, 2009 (Invited)

2. 大越優樹, 山口哲志, 築地真也, 古田寿昭, 長棟輝行, 機能性分子修飾を可能とする光分解性リンカーを用いたケージド核酸の開発, 日本化学会第89春季年会, 千葉, 2009.3

3. 陳燕傑, 山口哲志, 築地真也, 古田寿昭, 長棟輝行, プラスミドの部位特異的ケージングによる遺伝子発現制御, 日本化学会第89春季年会, 千葉, 2009.3

4. 古田寿昭, 大室純子, 中田真紀子, 佐京 隼, Bmcmoc-ケージドペプチド核酸を用いた遺伝子の機能制御, 日本化学会第89春季年会, 千葉, 2009.3

5. Furuta T, Shimizu M, Arai H, Anoyama Y, Kawamoto M, Kaneko C, Fukamauchi K, Spatio-temporal control of cellular chemistry using caged compounds, BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会, 第81回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 2008.12

6. 古田寿昭. 細胞の生理機能を制御して解析するケージド化合物. 日本薬学会関東支部第22回シンポジウム. 東京, 2008年11月15日 (依頼講演)

7. 大橋南美, 芹澤雄樹, 野村 渉, 堤 浩, 松本洋典, 奥田善章, 田中智博, 古田寿昭, 玉村啓和, 蛍光標識PKCおよび光制御型ケージドジアシルグリセロール誘導体の合成と機能評価, 第45回ペプチド討論会. 東京, 2008年10月29-31日

8. 芹澤雄樹, 野村 渉, 大橋南美, 奥田善章, 松本洋典, 堤 浩, 古田寿昭, 玉村啓和, 光分解性保護基を用いたジアシルグリセロールラクトン誘導体の合成と機能評価, 第45回ペプチド討論会. 東

- 京, 2008年10月29-31日
9. T. Furuta, Illuminating caged compounds for remote control of living cells, 11th International Symposium on Natural Product Chemistry, Karachi, Pakistan, October 29-November 1, 2008 (Invited)
10. 古田寿昭, 生命システムの動的制御を可能にするケージド化合物の開発, 日本化学会第2回関東支部大会 (2008), 群馬, 平成20年9月19日 (招待講演)
11. T. Nishigaki, A. Guerrero, C. Wood, Y. Tatsu, T. Furuta, S. Baba, A. Darszon, Application of caged compounds and high speed fluorescence imaging to the study of sperm motility regulation, The 85th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Tokyo, 2008.3
12. 村越加奈子, 大坪亜衣, 古田寿昭, 機能モジュールを付加したケージドヌクレオチドの合成, 日本化学会第88春季年会, 東京, 2008.3
13. 大室純子, 古田寿昭, 哺乳動物培養細胞における遺伝子発現の光誘導, 日本化学会第88春季年会, 東京, 2008.3
14. 佐京 隼, 秋山真吾, 古田寿昭, 核酸塩基のケージド化合物の合成と光反応性, 日本化学会第88春季年会, 東京, 2008.3
15. 古田寿昭, 生理活性を光で操るケージド化合物, 日本分光学会 生細胞分光シンポジウム, 東京, 平成19年12月14日 (招待講演)
16. 高橋 洋, 古田寿昭, 藤崎真吾, 大腸菌のファルネシルニリン酸合成酵素遺伝子破壊株におけるファルネシルニリン酸の生成, BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会 合同大会), 横浜, 2007.12
17. 大室純子, 古田寿昭, 哺乳動物培養細胞における遺伝子発現の光制御, BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会 合同大会), 横浜, 2007.12
18. 佐京 隼, 古田寿昭, ケージドペプチド核酸の合成と光反応性, 日本化学会第1回関東支部大会, 東京, 2007.9
19. 村越加奈子, 古田寿昭, 機能性ケージド化合物の設計と合成, 日本化学会第1回関東支部大会, 東京, 2007.9
20. 片山健太郎, 築地真也, 古田寿昭, 長棟輝行, ペプチド型分子ツールの創製のための新規ケージドリinker, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007.3
21. 羽城周平, 小熊友一, 築地真也, 津本浩平, 古田寿昭, 長棟輝行, チロシンキナーゼシグナリングの光制御を目指したケージドホスホチロシンペプチド, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007.3
22. 阿野山夢佳, 坂本早苗, 倉川雄二, 古田寿昭, ケージドアラキドン酸によるキナーゼ活性の光制御, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007.3
23. 新井宏美, 小澤由桂, 清水美佳, 河本美香, 古田寿昭, 光応答性機能性分子によるプロテインキナーゼCの活性制御, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007.3
24. 戸部正一, 渡邊貴嘉, 古田寿昭, ケージドPNAによる遺伝子の転写活性化, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007.3
25. 佐京 隼, 阿部清一郎, 古田寿昭, ケージドアンチセンスPNAの合成と光反応性, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007.3
26. 村越加奈子, 金澤由紀, 大室純子, 古田寿昭, 多機能性ケージド化合物の設計と合成日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007.3
27. T. Furuta, Controlling Cellular Chemistry using Caged Compounds, 10th membrane forum, Kyoto, February 27-March 1, 2007 (Invited)
28. 古田寿昭, 細胞機能を制御するケージド化合物の設計と合成, 第3回バイオオプティクス研究会, 東京, 平成18年10月13日 (招待講演)
29. 古田寿昭, 細胞機能を制御するケージド化合物の設計, 第12回 生化学会近畿支部テクニカルセミナー, 大阪, 平成18年9月11日 (招待講演)
30. 古田寿昭, ケージド化合物を用いた細胞のリモートコントロール, 第19回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 福岡, 平成18年8月1-3日 (招待講演)
31. 古田寿昭, 細胞機能を光で制御する, 第114回日本薬理学会関東支部シンポジウム, 船橋, 平成18年6月10日 (招待講演)
32. 渡邊貴嘉・古田寿昭・芳坂貴弘 新規ケージドアミノ酸のタンパク質への部位特異的導入, 日本化学会第86春季年会, 千葉, 2006.3
33. 戸部正一・田部泰章・渡邊貴嘉・古田寿昭 ケージドペプチド核酸によるアンチセンス効果の光制御, 日本化学会第86春季年会, 千葉, 2006.3
34. 倉川雄二, 古田寿昭 ケージドRGDペプチドの合成と光化学特性, 日本化学会第86春季年会, 千葉, 2006.3
35. Toshiaki Furuta, 2005 International chemical congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2005), December 14-19, 2005 (Honolulu, Hawaii) (Invited Lecture)
36. 渡邊貴嘉, 河本美香, 古田寿昭, 芳坂貴弘, Bhc-ケージドアミノ酸のタンパク質への部位特異的導入, 第28回分子生物学会年会, 福岡, 2005.12
37. 程煥, 築地真也, 川上隆史, 長棟輝行, 古田寿昭, ケージドリン酸化ペプチドプローブを用いた生細胞内PI3キナーゼの光活性化, 第28回分子生物学会年会, 福岡, 2005.12
38. H. Ando, M. Kobayashi, T. Tsubokawa, K. Uyemura, T. Furuta, H. Okamoto, Lhx2 mediates the activity of Six3 in zebrafish forebrain growth, International imaging symposium "From static spots to dynamic proteome visualization and beyond" Freiburg, Germany, Nov. 4-5, 2005
39. 古田寿昭, ケージド化合物による細胞機能の光制御, 第14回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京, 平成17年10月27日 (招待講演)
40. 古田寿昭, 細胞機能を光で制御する, 第46回日本組織細胞化学会総会・学術集会, 京都, 平成17年10月1日 (招待講演)
41. 古田寿昭, 細胞機能を光で操る, 平成17年度化学系協会東北地区大会, 有機化学コロキウム, 仙台, 平成17年9月25日 (招待講演)
- 3) 図書
1. 古田寿昭 (分担), 生理機能を光で制御して「見る」ケージド化合物, 「別冊化学 分子イメージング」化学同人編集部編, 化学同人, pp. 31-36 (2007)
2. 西垣卓也, 古田寿昭 (分担), ケージド化合物による細胞応答の観察, 「実験医学別冊 染色・バイオイメージング実験ハンドブック」高田邦昭, 斎藤尚亮, 川上速人編集, 羊土社, pp. 228-236 (2006年7月1日)
- 5) 研究成果による産業財産権の出願・取得状況
1. T. Furuta, N. Imaizumi, Preparation of coumarin derivatives as crosslinking agents for controlling gene expression. PCT Int. Appl. WO 2006093083 (2006)
2. 古田寿昭, 今泉奈津代, 「架橋剤, 架橋方法, 遺伝子発現調節法及び遺伝子機能調査法」特願2005-58924, PCT/JP2006/303586