3-3　定量生物

青　木　一　洋（教授）

1）専門領域：細胞生物学

2）研究課題：

a）　細胞内シグナル伝達系の多重可視化法の開発

b）　蛍光イメージングによる内在性タンパク質の濃度と解離定数の測定法の開発

c）　細胞内シグナル伝達系の摂動技術の開発

3）研究活動の概略と主な成果：

哺乳類動物細胞の運命決定にかかわる細胞内シグナル伝達系を蛍光イメージングやコンピューターシミュレーションを用いて解析している。とくに．連続的（アナログ）な MAP キナーゼ活性が離散的（デジタル）で不可逆な細胞増殖．細胞分化．細胞死といった現象を引き起こす分子機構について解析を行っている。

a）　ERK MAP キナーゼの細胞集団運動への関与について解析を進めている。FRET イメージングにより ERK 活性の細胞間伝搬が集団運動の方向性を決めることを見出した。さらに光遺伝学的手法により ERK 活性の時空間的な伝播パターンを作り出すことで．細胞集団運動が制御できることを示した。本研究については現在．論文を投稿し．改訂作業中である。また ERK 活性．Akt 活性．細胞周期といった 3 つの情報を同時に生きた細胞で可視化する技術を開発．論文発表した。

b）　CRISPR/Cas9 を用いて蛍光タンパク質遺伝子を効率よくノックインするためのドナーベクターを開発した。さらに．*MAPK1* 遺伝子と *RSK2* 遺伝子にそれぞれ *GFP*．*HaloTag* 遺伝子をノックインし．蛍光相関分光法と蛍光相互相関法分光法を用いてそれぞれの遺伝子産物の内在性のタンパク質濃度と解離定数を測定することに成功した。本研究も現在論文としてまとめているところである。

c）　小化合物によりタンパク質の発現量を制御し．細胞の運動性を制御することに成功した。また光により細胞内シグナル伝達系を時空間的に制御する手法の開発に取り組んだ。青色光を使る CRY2 系と赤色 / 近赤外光をつかる PhyB の 2 つの系を利用し．ERK や Akt などのシグナル伝達系を制御できることを確認している。

4）学術論文

M. Yamao, K. Aoki, N. Yukinawa, S. Ishii, M. Matsuda, H. Naoki, “Two New FRET Imaging Measures: Linearly Proportional to and Highly Contrasting the Fraction of Active Molecules” *PLoS One* **11**, e0164254 (2016). doi:10.1371/journal.pone.0164254

A. Kamezaki, F. Sato, K. Aoki, K. Asakawa, K. Kawakami, F. Matsuzaki, A. Sehara-Fujiwara, “Visualization of Neuregulin 1 ectodomain shedding reveals its local processing in vitro and in vivo” *Scientific Reports* **6**, 28873 (2016). doi: 10.1038/srep28873

G. Maryu, M. Matsuda, K. Aoki, “Multiplexed fluorescence imaging of ERK and Akt activities and cell-cycle progression” *Cell Struct. Funct*. **41**, 81-92. (2016) doi: 10.1247/csf.16007

K. Inaba, K. Oda, K. Aoki, K. Sone, Y. Ikeda, A. Miyasaka, T. Kashiyama, T. Fukuda, C. Makii, T. Arimoto, O. Wada-Hiraike, K. Kawana, T. Yano, Y. Osuga, T. Fujii, “Synergistic antitumor effects of combination of PI3K/mTOR and MEK inhibition (SAR245409 and pimasertib) in mucinous ovarian carcinoma cells by fluorescence resonance energy transfer imaging” *Oncotarget* **7**, 29577-91 (2016). doi: 10.18632/oncotarget.8807

６）国際会議発表リスト

K. Aoki, “ERK MAP kinase signaling under molecular crowding” The 9th Korea-Japan Seminar “Experiments and Simulations”, 13-16 November, 2016, Gyeongju, Korea

７）招待講演

K. Aoki, “ERK activity propagation orients collective cell migration” Swiss-Kyoto Joingt Symposium on Life Science 2016, Kyoto (Japan), Jun 2016

K. Aoki, “Propagating wave of ERK activation orients collective cell migration” 第68回日本細胞生物学会大会. 京都. 2016年6月

青木一洋,「実験と数理・統計を組み合わせた癌研究」第1回肺癌バイオカンファレンス．東京．2016年9月

K. Aoki, “Intercellular propagation of ERK activity orients collective cell migration” 第54回日本生物物理学会年会. 茨城．2016年11月

K. Aoki, “Effects of cellular cytoplasm on kinetic reactions” 第39回日本分子生物学会年会．横浜．2016年12月

８）学会および社会的活動

日本細胞生物学会学会（会員．財政対策委員会．若手最優秀発表賞選考委員）．日本生物物理学会（会員．編集委員）．定量生物学の会（世話人）．日本生化学会（会員）．日本癌学会（会員）

９）他大学での非常勤講師，客員教授

京都大学大学院生命科学研究科（非常勤講師）．北海道大学（非常勤講師）

11）外部獲得資金

科研費基盤研究（B）特設分野.「癌細胞の脆弱性と頑強性の構成的理解」．青木一洋（代表）（2016年−2020年）

科研費基盤研究（B）.「KRas遺伝子．またはBRaf遺伝子変異癌細胞における薬剤抵抗性のシステム解析」．青木一洋（代表）（2014年−2016年）

科研費新学術領域公募研究.「ERK活性伝播による3次元形態形成制御の構成的理解公募研究」．青木一洋（代表）（2016年−2017年）

科研費新学術領域公募研究.「遺伝子にコードされたPhyB-PIF系を用いた細胞機能の光制御技術の開発」．青木一洋（代表）（2016年−2017年）

科学技術振興機構CREST「ミクロからマクロまでシームレスに細胞と会話する光技術の開発」．松田道行（代

表).「光による細胞内シグナル伝達系の摂動法の開発と応用」青木一洋（分担）(2016 年−2021 年)