

200912004B

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

カルシウム恒常性破綻のナノイメージングに関する研究

平成19年度～平成21年度 総合研究報告書

研究代表者 尾藤 晴彦

平成22(2010)年 5月

目 次

I. 総合研究報告	
カルシウム恒常性破綻のナノイメージングに関する研究	1
尾藤晴彦	
(資料) 成果報告まとめ	23
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	25
III. 研究成果の刊行物・別刷	31

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

総合研究報告書

カルシウム恒常性破綻のナノイメージングに関する研究

研究代表者 尾藤 晴彦 東京大学大学院医学系研究科 准教授

研究要旨

本研究では、Ca<sup>2+</sup>恒常性破綻のナノイメージングを可能にする融合的学際的研究を実施した。新たな原理に基づき、Ca<sup>2+</sup>センサーの赤色化・局在化・選択的デリバリーに関する基礎検討を実施し、動物個体におけるカルシウム計測のための基盤技術を確立した。さらに FRET に基づく Ca<sup>2+</sup>センサーを効果的に high throughput で可視化する技術を開発した。脳神経系で極めて強い活性を有する Ca<sup>2+</sup>上昇感受性転写エレメントを発見したことを活用して、これを徹底的に強化するとともに、ルシフェラーゼ発光イメージングにより脳表近くの大脳皮質において、感覚入力特異的に生じる神経活動上昇を in vivo にて可視化することに成功した。また、生体深部の酵素活性を可視化するために新規 MRI 造影プローブ開発を推進し、脳実質におけるシグナル検出の条件整備を推進した。

研究組織

研究代表者

尾藤晴彦

東京大学大学院医学系研究科准教授

分担研究者

北潔

東京大学大学院医学系研究科 教授

分担研究者

菊地和也

大阪大学大学院工学研究科 教授

分担研究者

奥野浩行

東京大学大学院医学系研究科 助教

A. 研究目的

生体において細胞内カルシウム Ca<sup>2+</sup>イオンは、心筋収縮から神経可塑性に至るまで、種々の細胞機能を制御する重要なセカンドメッセンジャー活性を有する。一方 Ca<sup>2+</sup>恒常性破綻は、多くの疾患の病因であり、その是正のために、Ca<sup>2+</sup>拮抗剤が広く高血圧や不整脈・心筋収縮異常等の治療に適用されている。また、高齢人口に高い発症を示すアルツハイマー病やハンチントン病などの神経変性疾患においても細胞内 Ca<sup>2+</sup>恒常性の破綻が伴う

ことが最近示唆されている。さらに、骨粗鬆症のメカニズムの一部にも  $\text{Ca}^{2+}$  シグナル異常の関与が提唱されている。

にもかかわらず、これまで、生きた個体の疾患動物モデルにおいて、病態時の  $\text{Ca}^{2+}$  動態異常が計測されたことは皆無である。これは、これまで開発されてきた  $\text{Ca}^{2+}$  指示薬のほとんどが培養細胞でのみ有効な化学特性を有していたからであり、多くの疾患の病因病態を解明するためにも、生きた個体での  $\text{Ca}^{2+}$  測定を可能にする新規技術の開発が待たれるところである。

そこで、本研究では、 $\text{Ca}^{2+}$  シグナリングの様々なレベルでの破綻を可視化可能な新規プローブのデザイン、開発、応用のための基盤技術を実現するための基礎研究を行う。さらに、ミトコンドリア等細胞内オルガネラに  $\text{Ca}^{2+}$  ナノセンサーを発現する技術の開発、 $\text{Ca}^{2+}$  恒常性によって制御される認知活動に感受性の高い遺伝子プロモーターの同定と応用研究、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  シグナル活性化をMRIにより検出する新規技術に関する研究を実施する。

このような総合的研究の結果、 $\text{Ca}^{2+}$  動態を修飾する多くの薬剤の有効性スクリーニングが疾患動物モデルにて今後実施可能となり、また、培養細胞にて見過ごされた副作用の検出や、ドラッグデリバリーの改良の判定な

どが容易になることが期待される。

この実現のため、これまでに新規の  $\text{Ca}^{2+}$  センサー分子、 $\text{Ca}^{2+}$  感受性 FRET プローブ、 $\text{Ca}^{2+}$  感受性 MRI 造影剤、 $\text{Ca}^{2+}$  感受性遺伝子リポーター等の原理を確立し、新たなセンサー分子を作出していく。この成果に基づき、各  $\text{Ca}^{2+}$  センサーを検定し、動物個体におけるカルシウムシグナル計測の実践を試みる。またこれら成果を、生きた疾患動物モデルにおける  $\text{Ca}^{2+}$  恒常性破綻のナノイメージングに応用可能か検討する。得られた新規可視化技術に関する仕様はオリンパス社等国内光学機器メーカーに開示し、個体動物で  $\text{Ca}^{2+}$  動態を簡便に可視化・定量できる光学技術開発の可能性を具体化し始める。

## B. 研究方法

### B-1. $\text{Ca}^{2+}$ プローブ作成：

平成20年度までに作出した  $\text{Ca}^{2+}$  感受性領域をトロポニンから借りた赤色シフト FRET  $\text{Ca}^{2+}$  センサーをレンチウイルスベクターに導入し、*in vitro* ならびに *in vivo* 実験系における測定を実施する。また、分担研究者の奥野と共同で単離同定した  $\text{Ca}^{2+}$  感受性転写調節エレメントを利用した、新規レポーターの開発を続行する。

### B-2. オルガネラ局在 $\text{Ca}^{2+}$ シグナル

の意義解明と応用：

尾藤らの開発したカルシウムセンサーをオルガネラで発現させ解析する系の確立するため、細胞質で合成されたタンパク質をそれぞれのオルガネラに局在させるための特異的ペプチドの配列の同定をめざす。そのために、高純度のオルガネラの分離法を開発する。

B-3. 認知活動依存性プローブの作成と個体計測：

認知活動が盛んになると、神経細胞内で、活発なカルシウム活動が生じる。そのようなカルシウムシグナルの恒常性を検出可能なプローブを開発する。本研究で確立したプローブを、Tgマウスで発現し、そのレポーター性能の評価を行う。また妊娠マウスへの子宮内電気穿孔法、胎仔・成体マウスへのレンチウイルスベクターでの導入、遺伝子改変技術等により、個体へ導入し、*in vivo*イメージング実験を実施する。さらにAAVウイルスベクターによる神経系遺伝子導入の条件検討を実施する。

B-4. MRIプローブ技術開発：

Ca<sup>2+</sup>感受性リポーターの個体での可視化を視野に、β-ガラクトシダーゼ等の活性検出<sup>19</sup>F MRIプローブを用いて、カルシウム上昇感受性の細胞

内遺伝子発現の可視化を試みる。

また当年度の成果に基づき、国内光学機器メーカーと協議し、技術共同開発の可能性を検討する。

(倫理面への配慮)

DNA組換え実験ならびに動物実験に関しては、東京大学ならびに大阪大学の該当委員会に申請を行い、認められたプロトコールに基づいて実験を行った。

C. 研究結果

C-1. カルモデュリンおよびトロポニンのCa<sup>2+</sup>感受性領域を用いたCa<sup>2+</sup>FRETセンサーを、CyanからYellow領域へのFRETよりさらに長波長(赤色)側へシフトしたCa<sup>2+</sup>感受性プローブを作成し、これをそれぞれレンチウイルスベクターへ導入する条件を整えた。これらを*in vitro*実験条件下にて、海馬神経細胞にてカルシウム動態の可視化に有用であることを確認した。さらに、*in vivo*動物個体でのイメージング条件を具体的に検討した。この過程で、*In vitro*におけるカルシウムナノシグナルを特にhigh throughputにて検出するための光学検出系のプロトタイプを開発した。

新たにシナプス活動応答性転写エレメント SARE を単離同定し、さらにこれを改変して感受性を高めた人工プロモーターを作成し、カルシウムシグナル亢進の可視化に極めて有効であることを確認した (Kawashima et al. PNAS 2009)。予備的に、このように測定されたシグナルが、病態モデルで異常をきたすことを確認した。

また、SARE を中心に enhancerRNA という新たな種の non-coding RNA が転写されることをハーバード大学 Greenberg 研究室と共同で発見した (Kim et al. Nature 2010)。また、SARE 等の神経活動依存的遺伝子発現が記憶の長期に不可欠な分子メカニズムの一つであることを実証した (Redondo et al. J. Neurosci. 2010)。

C-2. マラリア原虫のミトコンドリアやアピコプラストはこの原虫の生存と増殖に必須のオルガネラである。その病態を規定しているカルシウム動態を解析するためには、赤色シフト型 FRET 型カルシウムセンサーの導入系が必要である。本研究では、オルガネラ特異的局在を規定するシグナル配列に関する情報を得る事が可能な高純度のオルガネラ分離法を確立し、さらにゲノム解析から酸化リン酸化に関わるミトコンドリアタンパク質の膜アンカー部分の候補を見出した。

この2種の情報および分離したオルガネラの実際のペプチド解析からオルガネラへの局在に関わる特異的配列を明らかにし、これを用いてカルシウムセンサーを導入する道筋を開く事ができた。

C-3. 認知活動応答性プロモーターを確立し、これを用いた Tg マウスを樹立した。これを用い、感覚入力特異的視覚野活性化を可視化した。さらに個体発光イメージング実験等によって、痙攣刺激などの非生理的な強い刺激にのみ応答する Tg マウスラインや、生理的刺激である感覚刺激や探索行動などの認知活動に応答する機能的イメージング手法の実現可能性を確認した。これらの Tg ラインは、カルシウムシグナル破綻の病態に応じて有効利用できる可能性があると考えられる。

カルシウムセンサー分子を脳実質へ導入するための方法論として、子宮内電気穿孔法を確立し、脳発達期におけるカルシウムシグナルの細胞移動に対する影響の可視化を試みた。この過程で、脳発達期におけるカルシウムシグナルが軸索伸展・回路形成に不可欠であることを発見した (Takemoto-Kimura et al. Neuron 2007; Ageta-Ishihara et al. J. Neurosci. 2009; Takemoto-Kimura et

al. Eur. J. Neurosci. 2010)。

成体脳でのカルシウムシグナル可視化のため、脳実質へのレンチウイルスベクターならびに、AAVベクターによるリポーター分子導入を試みた。特に、これらの実験の過程で、ルシフェラーゼ発光による *in vivo* イメージング技術を確立した。

これらの実験の過程で、蛍光・ルシフェラーゼ発光・透過光の3つのモダリティーを同時に検出可能な光学検出系の樹立を推進した。これを元に、現在国内光学メーカーとの連携を引き続き検討中である。

C-4. カスパーゼ検出プローブの<sup>19</sup>Fの緩和時間を測定したところ、正確に測定できないほどに、緩和時間が短縮されていることが示された。カスパーゼをプローブ試料に添加すると、プローブの<sup>19</sup>Fの横緩和時間が増大しシャープなNMRシグナルが観測された。さらに、<sup>19</sup>F-MRIを撮像したところ、プローブ試料にカスパーゼを添加した場合のみ、MRIコントラストの増大が観測された。

次に、β-ガラクトシダーゼ検出プローブについて、緩和時間ならびにNMRスペクトルを測定したところ、緩和時間が短縮し、NMRシグナルが消失することが分かった。β-ガラクトシダーゼの添加により、NMRシグナルが回復し、

<sup>19</sup>F-MRIのコントラストも増大することが示された。Gd-DFP-galの細胞膜透過性について検討した結果、細胞膜透過性を有していないことが明らかになった。そこで、細胞を固定化して、細胞膜透過性を高めプローブの導入を行ったところ、細胞内のβ-ガラクトシダーゼ活性すなわち遺伝子発現の<sup>19</sup>F MRIによる可視化に成功した。また、固定脳を用いた実験では、MRIシグナルの増大は観察されたものの、脳内遺伝子発現の部位の特定までは至っていない。

次に、β-ラクタマーゼ活性検出プローブGd-FC-lacを合成し、緩和時間測定を行ったところ、β-ラクタマーゼの存在下において、短縮していた緩和時間の増大が見られた。また、<sup>19</sup>F NMRスペクトルに関してもピークのシャープ化および強度増大が観察された。このプローブを用いて、細胞膜上に発現させたβ-ラクタマーゼ活性の<sup>19</sup>F NMRによる検出に成功した。

#### D. 考察

本研究課題では、各種細胞におけるカルシウム情報伝達経路に立脚した新たな原理に基づく新規Ca<sup>2+</sup>センサーの創出にすでに成功している。これらプローブを駆使し、蛍光・化学発光・MRIの各種イメージングモダリテ

ィーにおいて、37°Cでの生きた動物個体に適した実用性の高い新規計測技術とノウハウの開発蓄積を一層推進した。この成果により、Ca<sup>2+</sup>動態を修飾する多くの薬剤のスクリーニングを、疾患動物モデルにて直接実施することが今後可能となることが強く期待される。多重蛍光イメージング法については、さらなる改良が進めば、iPS等培養細胞によるスクリーニングのみでは見過ごされる副作用を未然に検出し、個体におけるドラッグデリバリーの改良の評価判定などにも応用可能で、high throughputな定量がきわめて容易になることが見込まれる。得られた新規可視化技術に関する仕様はオリンパス社等国内光学機器メーカーに開示しつつあり、今後共同で、個体動物でCa<sup>2+</sup>動態を簡便に可視化・定量できる光学技術開発を進めていく。

## E. 結論

E-1. 長波長シフトの新規蛍光Ca<sup>2+</sup>センサー分子を2種類作出し、このセンサー遺伝子のデリバリー技術を完成させた。さらに、新たなCa<sup>2+</sup>感受性遺伝子リポーターの原理を確立し、動物個体におけるカルシウムシグナリング計測のための基礎イメージング法を樹立した。また、カルシウム

ナノイメージングのための光学検出系のプロトタイプを開発完了した。

E-2. マラリア原虫のミトコンドリアとアピコプラストに関し、それぞれのオルガネラのみを含む画分を得る事ができた。これにより、各オルガネラに含まれるタンパク質のアミノ酸配列の詳細な解析が可能となり、各オルガネラへの局在に必要なシグナル配列の性質に関する最終的結論を得る事ができると考えられる。

## E-3.

本研究によって樹立された神経活動依存な遺伝子発現の可視化法は、カルシウムシグナル破綻を生きた脳または神経細胞において可視化し、非・低侵襲的に調べることが可能な技術であり、このような測定法の確立は認知症をはじめとする神経疾患の病態の解明のための極めて有効なツールとなる可能性が高い。

E-4. Gd<sup>3+</sup>錯体による常磁性相互作用を利用することで、酵素反応を<sup>19</sup>F-MRIにより検出する原理を構築した。さらに、リポーター遺伝子産物である・ガラクトシダーゼおよびβ-ラクタマーゼの活性を検出するプローブGd-DFP-galおよびGd-FC-lacの開発に成功した。これらのプローブを用いる

ことで細胞レベルにおいて遺伝子発現を<sup>19</sup>F MRIによって可視化することに成功した。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

平成 19 年度 :

1. Takemoto-Kimura S, Ageta-Ishihara N, Nonaka M, Adachi-Morishima A, Mano T, Okamura M, Fujii H, Fuse T, Hoshino M, Suzuki S, Kojima M, Mishina M, **Okuno H**, **Bito H**. Regulation of dendritogenesis via a lipid-raft-associated Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase CLICK-III/CaMKI gamma. **Neuron** 54: 755-770, 2007.
2. Kiyonaka S, Wakamori M, Miki T, Urie Y, Nonaka M, **Bito H**, Beedle AM, Mori E, Hara Y, De Waard M, Kanagawa M, Itakura M, Takahashi M, Campbell KP, Mori, Y. RIM1 confers sustained activity and neurotransmitter vesicle anchoring to presynaptic Ca<sup>2+</sup> channels. **Nature Neurosci.** 10: 691-701, 2007
3. Fuse T, Ohmae S, Takemoto-Kimura S, **Bito H**. DCLK1. **UCSD/Nature Molecule Pages**, doi:10.1038/mp.a003011.01, 2007.
4. 尾藤晴彦、野中美応、布施俊光、藤井哉、竹本-木村さやか、奥野浩行。シナプス機能

と PSD 構築を制御する分子機構。蛋白質核酸酵素 53: 418-423, 2008

5. Kobayashi T., Sato, S., Takamiya, S., Komaki-Yasuda, K., Yano, K., Hirata, A., Onitsuka, I., Hata, M., Mi-ichi, F., Tanaka, T., Hase, T., Miyajima, A., Kawazu, S., Watanabe, Y., **Kita, K.** Mitochondria and apicoplast of *Plasmodium falciparum*: behaviour on subcellular fractionation and the implication. *Mitochondrion* 7, 125-132 (2007)
6. Mita, T., Tanabe, K., Takahashi, N., Tsukahara, T., Eto, H., Dysoley, L., Ohmae, H., **Kita, K.**, Krudsood, S., Looareesuwan, S., Kaneko, A., Bjokman, A., and Kobayakawa, T. Independent evolution of pyrimethamine resistance in *Plasmodium falciparum* in Melanesia. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 51, 1071-1077 (2007)
7. **Kita, K.**, Shiomi K., and Omura, S. Parasitology in Japan: Advances in drug discovery and biochemical studies. *Trends in Parasitol.* 23, 223-229 (2007)
8. Shinjyo N., and **Kita K.** Relationship between reactive oxygen species and heme metabolism during the differentiation of Neuro2a cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 358, 130-135 (2007)
9. Shiomi K., Hatano H., Morimoto H., Ui H., Sakamoto K., **Kita K.**, Tomoda H., Lee E. W., Heo T. W., Kawagishi H., and Omura S. Decursin and decursinol angelate selectively inhibits NADH-fumarate reductase of *Ascaris suum*. *Planta Medica* 73, 1748-1481 (2007)

10. Iwata F., Shinjyo N., Amino H., Sakamoto K., Islam M. K., Tsuji N. and **Kita K.** Change of subunit composition of mitochondrial complex II (Succinate-ubiquinone reductase/Quinol-fumarate reductase) in *Ascaris suum* during the migration in the experimental host. *Parasitol. Int.* 57, 54-61 (2008)
11. Matsumoto J., Sakamoto K., Shinjyo N., Kido Y., Yamamoto N., Yagi K., Miyoshi H., Nonaka N., Katakura K., **Kita K.** and Oku Y. Anaerobic NADH-Fumarate Reductase System Is Predominant in the Respiratory Chain of *Echinococcus multilocularis*, Providing a Novel Target for the Chemotherapy of Alveolar Echinococcosis. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 52, 164-170 (2008)
12. Siregar J. E., Syafruddin D., Matsuoka H., **Kita K.**, and Marzuki S. Mutation underlying resistance of *Plasmodium berghei* to atovaquone in the quinone binding domain 2 (Qo<sub>2</sub>) of the cytochrome *b* gene. *Parasitol. Int.* 57, 229-232 (2008).
13. K. Hanaoaka, **K. Kikuchi**, S. Kobayashi, T. Nagano, A Time-resolved Long-lived Luminescence Imaging Method Employing Luminescent Lanthanide Probes with a New Microscopy System, *J. Am. Chem. Soc.* 129: 13502-13509, 2007.
14. K. Hanaoaka, **K. Kikuchi**, T. Terai, T. Komatsu, T. Nagano, A Gd<sup>3+</sup>-Based Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent Sensitive to beta-Galactosidase Activity Utilizing a Receptor-Induced Magnetization Enhancement (RIME) Phenomenon. *Chem. Eur. J.*,14: 987-995, 2008.
15. T. Yogo, Y. Urano, A. Mizushima, H. Sunahara, T. Inoue, K. Hirose, M. Iino, **K. Kikuchi**, T. Nagano, Selective Photoinactivation of Protein Function through Environment-sensitive Switching of Singlet Oxygen Generation by Photosensitizer. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 105: 28-32, 2008.
16. R.A. Colvin, A.L. Bush, I Volitakis, C.P. Fontaine, D. Thomas, **K. Kikuchi**, W.R.Holmes, Insights into Zn<sup>2+</sup> Homeostasis in Neurons from Experimental and Modeling Studies. *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* 294: C726-C742, 2008.
17. S. Mizukami, R. Takikawa, F. Sugihara, Y. Hori, H. Tochio, M. Wälchli, M. Shirakawa, **K. Kikuchi**, Paramagnetic Relaxation-based <sup>19</sup>F MRI Probe to Detect Protease Activity. *J. Am. Chem. Soc.* 130: 794-795, 2008
- 平成20年度
1. Kawashima T, **Okuno H.**, Nonaka M, Adachi-Morishima A, Kyo N, Okamura M, Takemoto-Kimura S, Worley PF and **Bito H.** (2009) A synaptic activity-responsive element in the Arc/Arg3.1 promoter essential for synapse-to-nucleus signaling in activated neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 316-321.

2. Matsuzaki M., Kuroiwa H., Kuroiwa T., **Kita K.**, Nozaki H. (2008) A cryptic algal group unveiled: a plastid biosynthesis pathway in the oyster parasite *Perkinsus marinus*. *Mol. Biol. Evolution* 25, 1167-1179
3. Hirai M., Arai M., Mori T., Kawai S., **Kita K.**, Kuroiwa T. and Matsuoka H. (2008) Malaria parasites reproduce with the same manner as flowering plants. *Curr. Biol.* 18, 607-613
4. Niikura M., Kamiya S., **Kita K.** and Kobayashi F. (2008) Coinfection with nonlethal murine malaria parasites suppresses pathogenesis caused by *Plasmodium berghei* NK65. *J. Immunol.* 180, 6877-6884
5. Inaoka, D. K., Sakamoto, K., Shimizu, H., Shiba T., Kurisu, G., Nara, T., Aoki, T., **Kita, K.** and Harada, S. (2008) Structures of *Trypanosoma cruzi* dihydroorotate dehydrogenase complexed with substrates and products: Atomic resolution insights into mechanisms of dihydroorotate oxidation and fumarate reduction. *Biochemistry* 47, 10881-10891
6. Shimizu, H., Nihei, C., Inaoka, D. K., Mogi, T., **Kita, K.** and Harada, S. (2008) Screening of detergents for solubilization, purification and crystallization of membrane proteins: a case study on succinate:ubiquinone oxidoreductase from *Escherichia coli*. *Acta Crystallographica* F64, 858-862
7. Mogi, T., Matsushita, K., Murase, Y., Kawahara, Miyoshi, H., Ui, H., Shiomi, K., Ōmura, S. and **Kita, K.** (2009) Identification of New Inhibitors for Alternative NADH Dehydrogenase (NDH-II). *FEMS Microbiol. Lett.* 291, 157-161
8. Kawahara, K., Mogi, T., Tanaka, Q. T., Hata, M., Miyoshi, H. and **Kita K.** (2009) Mitochondrial Dehydrogenases in the Aerobic Respiratory Chain of the Rodent Malaria Parasite *Plasmodium yoelii yoelii*. *J. Biochem.* 145, 229-237
9. Mogi, T., Ui H., Shiomi, K., Ōmura, S., Miyoshi, H. and **Kita, K.** (2009) Antibiotics LL-Z1272 identified as novel inhibitors discriminating bacterial and mitochondrial quinol oxidases. *Biochim Biophys. Acta* (Bioenergetics) 1787, 129-133
10. Sakakibara, I., Fujino, T., Ishii, M., Tanaka, T., Shimosawa, T., Miura, S., Zhang, W., Tokutake, Y., Yamamoto, J., Awano, M., Iwasaki, S., Motoike, T., Okumura, M., Inagaki, T., **Kita, K.**, Ezaki, O., Naito, M., Kuwaki, T., Chohnan, S., Yamamoto, T., Hammer, R. E., Kodama, T., Yanagisawa, M. and Sakai, J. (2009) Fasting induced hypothermia and reduced energy production in mice lacking Acetyl-CoA Synthetase 2. *Cell Metabolism* 9, 191-202
11. Morales, J., Mogi, T., Mineki, S., Takashima, E., Mineki, R., Hirawake, H., Sakamoto, K., Ōmura, S. and **Kita, K.** (2009) Novel Mitochondrial Complex II Isolated from *Trypanosoma cruzi* is Composed of Twelve

Peptides Including a Heterodimeric Ip Subunit.

*J. Biol. Chem.* 284, 7255-7263

12. Mizukami, S., Tonai, K., Kaneko, M.,

**Kikuchi, K.** (2008) Lanthanide-Based Protease Activity Sensors for Time-Resolved Fluorescence Measurements. *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 14376-14377.

平成21年度 :

1. Ageta-Ishihara N, Takemoto-Kimura S, Nonaka M, Adachi-Morishima A, Suzuki K, Kamijo S, Fujii H, Mano T, Blaeser F, Chatila TA, Mizuno H, Hirano T, Tagawa Y, Okuno H, **Bito H.** Control of cortical axon elongation by a GABA-driven Ca<sup>2+</sup>/calmodulin- dependent protein kinase cascade. *J. Neurosci.*

29:13720-13729, 2009.

2. Redondo, R., **Okuno, H.**, Spooner, PA., Frenguelli, BG., **Bito, H.**, and Morris, RGM. Synaptic tagging and capture: differential role of distinct calcium/calmodulin kinases in protein synthesis-dependent long-term potentiation. *J. Neurosci.* 30: 4981-4989, 2010.

3. Kim TK, Hemberg M, Gray JM, Costa AM, Bear DM, Wu J, Harmin DA, Laptewicz M, Barbara-Haley K, Kuersten S, Markenscoff-Papadimitriou E, Kuhl D, **Bito H.** Worley PF, Kreiman G, Greenberg ME. Widespread transcription at neuronal activity-regulated enhancers. *Nature.* 465: 182-187, 2010.

4. Inoue, M., Yagishita-Kyo, N., Nonaka, M., Kawashima, T., **Okuno, H.**, and **Bito, H.** Synaptic Activity Responsive Element (SARE):

a unique genomic structure with an unusual sensitivity to neuronal activity. *Commun.*

*Integr. Biol.* in press.

5. Takemoto-Kimura S, Suzuki K, Kamijo S, Ageta-Ishihara N, Fujii H, Okuno H, **Bito H.** Differential roles for CaM kinases in mediating excitation- morphogenesis coupling during formation and maturation of neuronal circuits. *Eur. J. Neurosci.* in press.

6. Osanai, A., Harada, S., Sakamoto, K., Shimizu, H., Inaoka, D. K., and **Kita, K.** Crystallization of mitochondrial rhodoquinol-fumarate reductase from the parasitic nematode *Ascaris suum* with specific inhibitor, flutolanil. (2009) *Acta*

*Crystallographica*, F65, 941-944

7. Mogi, T. and **Kita, K.** Identification of mitochondrial Complex II subunits SDH3 and SDH4 and ATP synthase subunits *a* and *b* in *Plasmodium* spp. (2009) *Mitochondrion*, 9, 443-453

8. Matoba, K., Nara, T., Aoki, T., Honma, T., Tanaka, A., Inoue, M., Matsuoka, S., Inaoka, D.K., **Kita, K.** and Harada, S. Crystallization and preliminary X-ray analysis of aspartate transcarbamoylase from the parasitic protist *Trypanosoma cruzi*. (2009) *Acta*

*Crystallographica*, F65, 933-936

9. Maréchal, A., Kido, Y., **Kita, K.** Moore, A. and Rich, P. Three redox states of *Trypanosoma brucei* alternative oxidase identified by infrared spectroscopy and electrochemistry. (2009) *J. Biol. Chem.* 284, 31827-31833

10. Sasaki, N., Hirai, M., Maeda, K., Yui, R., Itoh, K., Namiki, S., Morita, T., Hata, M., Murakami-Murofushi, K., Matsuoka, H., **Kita, K.**, Sato, S. The *Plasmodium* HU homolog, which binds the plastid DNA sequence-independent manner, is essential for the parasite's survival. (2009) **FEBS Lett.** 583, 1446-1450
11. Kido, Y., Shiba, T., Inaoka, D. K., Sakamoto, K., Nara, K., Aoki, T., Honma, T., Tanaka, A., Inoue, M., Matsuoka, S., Moore, A., Harada, S. and **Kita, K.** Crystallization and preliminary crystallographic analysis of cyanide-insensitive alternative oxidase from *Trypanosoma brucei brucei*. (2010) **Acta Crystallographica** F66, 275-278
12. Balogun, O. E., Inaoka, D. K., Kido, Y., Shiba, T., Nara, T., Aoki, T., Honma, T., Tanaka, A., Inoue, M., Matsuoka, S., Michels, P. AM., Harada, S. and **Kita, K.** Overproduction, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of *Trypanosoma brucei gambiense* glycerol kinase. (2010) **Acta Crystallographica** F66, 304-308
13. Kido, Y., Sakamoto, K., Nakamura, K., Harada, M., Suzuki, T., Yabu, Y., Saimoto, H., Yamakura, F., Ohmori, D., Moore, A., Harada, S. and **Kita, K.** Purification and kinetic characterization of recombinant alternative oxidase from *Trypanosoma brucei brucei*. (2010) **Biochim Biophys. Acta (Bioenergetics)** 1797, 443-450
14. Paranagama, M. P., Sakamoto, K., Amino, H., Awano, M., Miyoshi, H. and **Kita, K.** Contribution of the FAD and quinone binding sites to the production of reactive oxygen species (ROS) from *Ascaris suum* mitochondrial complex II. (2010) **Mitochondrion**, 10, 158-165
15. Mogi, T. and **Kita, K.** Diversity in mitochondrial metabolic pathways in parasitic protists *Plasmodium* and *Cryptosporidium*. **Parasitol. Int.** in press
16. Mizukami, S., Watanabe, S., Hori, Y., **Kikuchi, K.** Covalent protein labeling based on noncatalytic  $\beta$ -lactamase and a designed FRET substrate. **J. Am. Chem. Soc.**, 131, 5016-5017, 2009.
17. Mizukami, S., Takikawa, R., Sugihara, F., Shirakawa, M., **Kikuchi, K.** Dual-function probe to detect protease activity for fluorescence measurement and  $^{19}\text{F}$  MRI. **Angew. Chem. Int. Ed.**, 48, 3641-3643, 2009.
18. Mizukami, S., Watanabe, S., **Kikuchi, K.** Development of ratiometric fluorescent probes for phosphatases by using a  $\text{pK}_a$  switching mechanism. **Chembiochem.**, 10, 1465-1468, 2009.
19. Yamaguchi, S., Miura, C., **Kikuchi, K.**, Celino, F. T., Agusa, T., Tanabe, S., Miura, T. Zinc is an Essential Trace Element for Spermatogenesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, 106, 10859-10864, 2009.
20. **Kikuchi, K.**, Hashimoto, S., Mizukami, S., Nagano, T. Anion sensor-based ratiometric

peptide probe for protein kinase activity. **Org. Lett.**, 11, 2732-2735, 2009.

21. Mizukami, S., Okada, S., Kimura, S., **Kikuchi, K.** Design and synthesis of coumarin-based Zn<sup>2+</sup> probes for ratiometric fluorescence imaging. **Inorg. Chem.**, 48, 7630-7638, 2009.

22. Hori, Y., Ueno, H., Mizukami, S., **Kikuchi, K.** Photoactive yellow protein-based protein labeling system with turn-on fluorescence intensity. **J. Am. Chem. Soc.**, 131, 16610-16611, 2009.

23. Hori, Y., Egashira, Y., Kamiura, R., **Kikuchi, K.** Noncovalent- Interaction-Promoted Ligation for Protein Labeling. **ChemBiochem.**, 11, 646-648, 2010.

24. 竹本-木村さやか、上田(石原)奈津実、布施俊光、上條諭志、**尾藤晴彦**。神経疾患と細胞骨格。 **分子細胞治療**。 8: 243-248, 2009.

25. **奥野浩行**、川島尚之、野中美応、**尾藤晴彦**。シナプスから核へのシグナリング: シナプス可塑性を長期化する分子機構。 **細胞工学** 28, 894-899, 2009.

26. 井上昌俊、川島尚之、野中美応、竹本-木村さやか、**奥野浩行**、**尾藤晴彦**。シナプス長期可塑性の分子基盤。 **Cognition and Dementia**, 8, 117-182, 2009.

27. **奥野浩行**。シナプスから核へのシグナリングとシナプス活動依存的遺伝子発現: 前初期遺伝子 *Arc* の発現制御メカニズムを中心に。 **生化学**, *in press*, 2010.

## 書籍

1. **尾藤晴彦**、野中美応、布施俊光、藤井哉、竹本-木村さやか、**奥野浩行** (2008) シナプス機能と PSD 構築を制御する分子機構。 **蛋白質核酸酵素** 53, 418-423.

2. **尾藤晴彦**、有賀純 (2008) 神経細胞内ではたらくシグナル伝達。 In 「**分子・細胞・シナプスからみる脳**」(シリーズ脳科学第5巻、東京大学出版会刊、甘利俊一監修、古市貞一編) pp. 131-180.

3. **Bito H.**, Takemoto-Kimura S, **Okuno H.** Activity-dependent gene regulation: How do synapses talk to the nucleus and fine-tune neuronal outputs? in “**Molecular Pain**”(M. Zhuo ed. Springer), pp.207-217

4. **奥野浩行**、藤井哉、**尾藤晴彦**: 情報素子としてのシナプス-構造・機能ならびに新たな疾患制御標的としての意義。 p220-233, in **ナノメディシン** 宇理須恒雄 編、オーム社、東京 (2008).

## 2. 学会発表

### 国際学会

平成 19 年度

1. **Bito H.** Elucidating the critical role of CaMKK/CaMKI pathways in neuronal morphogenesis. US-Japan Brain Research Collaborative Program “Workshop on Receptor Trafficking and Cell Biology of Neurons:

- Physiology and Disease" February 24-27, 2008, Asilomar Conference Center, Pacific Grove, California, USA.
2. Takemoto-Kimura S, Ageta-Ishihara N, Nonaka M, **Okuno H**, **Bito H**. Regulation of dendritogenesis via a lipid raft-associated  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase CLICK-III/CaMKI $\gamma$  2<sup>nd</sup> International Conference of Neurons and Brain Disease, 2007.8.29-8.31, Toronto, Canada.
  3. Takemoto-Kimura S, Ageta-Ishihara N, Fujii H, Okamura M, **Okuno H**, **Bito H**. Molecular biology and neuronal functions of CaMK family genes. International Symposium on Advanced Functional Genomics. 2007.10.11-10.12, Kazusa, Chiba, Japan.
  4. Ageta-Ishihara N, Takemoto-Kimura S, Nonaka M, Fujii H, **Okuno H**, **Bito H**. Differential control of cortical axonogenesis and dendritogenesis by alternate activation of CaMKI $\alpha$  and  $\gamma$ . Soc. Neurosci. Abstr. 114.3, 2007. 第 37 回北米神経科学学会年会、2007.11.3-11.7, San Diego, USA. Oral.
  5. **Okuno H**, Naruse H, Kawashima T, Fujii H, Nonaka M, Chowdhury S., Worley P, **Bito H**. Synaptic targeting of Arc via high affinity interaction with  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II beta. Soc. Neurosci. Abstr. 221.3. 第 37 回北米神経科学学会年会、2007.11.3-11.7, San Diego, USA. Oral.
  6. Kiyonaka S, Wakamori M, Miki T, Uriu Y, Nonaka M, **Bito H**, Beedle AM, Mori E, Hara Y, De Waard M, Kanagawa M, Itakura M, Takahashi M, Campbell KP, Mori Y. The active zone protein RIM1 confers sustained activity and neurotransmitter vesicle anchoring to presynaptic  $Ca^{2+}$  channels. Soc. Neurosci. Abstr. 853.5. 第 37 回北米神経科学学会年会、2007.11.3-11.7, San Diego, USA. Oral.
  7. Fuse T, **Bito H**. Actin-dependent regulation of Shank dynamics in Purkinje cell dendrites. Soc. Neurosci. Abstr. 45.8, 2007. 第 37 回北米神経科学学会年会、2007.11.3-11.7, San Diego, USA. poster
  8. Takemoto-Kimura S, Ageta-Ishihara N, Nonaka M, **Okuno H**, **Bito H**. Requirement for palmitoylation and raft insertion of  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase CLICK-III/CaMKI $\gamma$  during cortical dendritogenesis. Soc. Neurosci. Abstr. 240.13. 第 37 回北米神経科学学会年会、2007.11.3-11.7, San Diego, USA. poster
  9. Morinobu S, Takahashi T, Iwamoto Y, Kawano K-I, Yamawaki S, **Okuno H**, **Bito H**. Neonatal isolation induces susceptibility to learned helplessness through the decrease in LIMK1 in the adult rat hippocampus. Soc. Neurosci. Abstr. 501.2. 第 37 回北米神経科学学会年会、2007.11.3-11.7, San Diego, USA. poster
  10. Suematsu A, Sato K, Nakashima T, Takemoto-Kimura S, Aoki K, Yamaguchi A, Chatila TA, **Bito H**, Takayanagi H. The CaMK-CREB pathway regulates osteoclast differentiation and function J. Bone Min. Res. 22: S98-S99, 2007. 第 29 回アメリカ骨代謝学

- 会年会、2007.9.16-9.19, Honolulu, Hawaii, USA.
11. **Okuno H**, Fujii H, Naruse H, Kawashima T, Worley P, **Bito H**. Regulation of Arc/Arg3.1 localization in dendritic spines via interaction with Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent kinase II. 7<sup>th</sup> HFSP Awardee Meeting. 2007. 7.18-7.21, Brisbane, Australia. poster
12. **Okuno H**, Naruse H, **Bito H**. Optical analysis of activity-dependent protein synthesis in dendritic regions of neurons. 2<sup>nd</sup> International workshop on Approaches to Single-Cell Analysis, 2007.9.6-9.7, Tokyo, Japan. Poster.
13. **Kita, K**. Parasite mitochondria as a target of chemotherapy VIII Central American and Caribbean Congress of Parasitology and Tropical Medicine 2007 Dec, Habana, Cuba
14. **Kita, K**. Diversity of parasite mitochondria: as a target of chemotherapy 10 IUBMB Conference and 36a. Annual Meeting of SBBq 2007 June Salvador, Brazil.
15. **Kikuchi K**. Fluorescent Sensor Molecules with Tunable Fluorescence Switches for Cellular Imaging. The 6th JSPS Forum in France : "Chemical and physical nanobiology for medicine" JSPS-University of Strasbourg, 2007 November.
16. **Okuno, H**. Visualization of activity-dependent protein synthesis in dendritic regions of neurons. ISNM2007/MB-ITR2007, 2007.4.20-22, Okazaki, Japan. シンポジウム、口頭発表
- 平成 20 年度
1. **Bito H**. Regulation of excitation-morphogenesis coupling by CaMKK/CaMKI cascades. The 3<sup>rd</sup> International Conference on Neurons and Brain Diseases. 2008.8.5-8.7., Seoul, Korea.招待講演
- 2.**Okuno, H**, Kawashima, T., Adachi-Morishima, A., Okamura, M., Worley, P., **Bito, H**. Critical genomic sequences for synaptic activity-dependent expression of the Arc gene. *Soc. Neurosci. Abstr.* 38.12, 第38回北米神経科学学会年会、2008.11.15-11.19, Washington DC, USA. Poster.
- 3.Ageta-Ishihara, N., Takemoto-Kimura, S., Adachi-Morishima, A., Nonaka, M., **Okuno, H**, **Bito H**. Distinct regulation of cortical axonal and dendritic development by two Ca<sup>2+</sup>-CaMKI pathways. *Soc. Neurosci. Abstr.* 38.12, 第 38 回北米神経科学学会年会、2008.11.15-11.19, Washington DC, USA, 口頭発表
- 4.**Okuno H**, Kawashima T, Nonaka M., Takemoto-Kimura S, Fujii H., Chowdhury S., Worley P.F., **Bito H**. Regulation of synaptic localization of Arc protein through interaction with Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II beta. 6th FENS Forum 2008, 2008.7.12-7.16, Geneva, Switzerland, Poster.
5. Kido, K. Sakamoto, S. Fujioka, M. Harada, D. Ohmori, F. Yamakura, H. Saimoto, Y. Yabu, T. Suzuki, S. Harada, **K. Kita**. Purification and crystallization of drug target trypanosome alternative oxidase (TAO) from *Trypanosoma*

*brucei* Y. XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria 2008, Sept. Cheju, Korea

6. Morales, J., Sakamoto, K., **Kita, K.** Novel subunit organization of the respiratory Complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase) in *Trypanosoma cruzi* XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria 2008, Sept. Cheju, Korea

7. Harada, M., Fujimoto, Y., Nakamura, K., Kido, Y., Sakamoto, K., Yabu, Y., Suzuki, T., Yoshinari, S., **Kita, K.** Toward anti-cryptosporidial chemotherapy by ascofuranone, specific and potent inhibitor against alternative oxidase (AOX) XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria 2008, Sept. Cheju, Korea

8. **Kikuchi, K.** Chemical Sensor Molecules Which Convert Cellular Biological Responses to Chemical Output. (NIPS-JST International Workshop –From Photon to Mind–Advanced Nonlinear Imaging & Fluorescence-based Biosensors, 4.18-19, 2008, 岡崎) 招待講演

9. **Kikuchi, K.** Chemical Sensor Molecules Which Convert Cellular Biological Responses to Chemical Output. (内藤コンフェレンス(ケミカルバイオロジー), 9.9-12, 2008, 札幌) 招待講演

10. **Kikuchi, K.** Design, Synthesis and Application of Bio-imaging Probes Which Convert Biological Signals to Chemical Output. (ASBIC IV, 濟州島, 韓国, 11.10-13, 2008) 招待講演

11. **Kikuchi, K.** Design, Synthesis and Application of Chemical Sensor Molecules Which Convert Biological Signals to Chemical Output. (Osaka University Forum, San Francisco, U.S.A., 12.8-10, 2008) 招待講演

12. **Kikuchi, K.** Development of Visualization Probes with Tunable Switches for Biological Applications. (G-COE国際シンポジウム, 1.13-14, 2009, 名古屋) 招待講演

13. **Kikuchi, K.** Designed MRI Probes with Enzyme Dependent Relaxation Time Modulatory Switches. (膜インタフェース, 国際学会, 1.22-23, 2008, 豊中) 招待講演

14. **Kikuchi, K.** Design, Synthesis of Visualization Probes with Tunable Switches for Bio-imaging. (Gordon Research Conference, Metals in Biology, Ventura, U.S.A., 1.25-30, 2009) 招待講演

平成 21 年度

1. Morris RGM, **Bito H.**, Bonhoeffer T, Van Rossum M. Protein synthesis-dependent synaptic potentiation: a multidisciplinary analysis of the ‘synaptic tagging and capture’ theory Ninth HFSP Awardees Meeting and 20th Anniversary Celebration. Tokyo, Japan, 1-4 June 2009. (発表日 2009.6.3)

2. **Bito H.** Synaptic Activity-dependent Regulation of Plasticity-related Gene Arc. The 4th International conference of Neurons and Brain Diseases, 2009. 7.21-7.23, Toronto, Canada.(発表日 2009.7.23)

3. **Bito H.** CaM kinase signaling in neuronal microdomains. The 13th International Membrane Research Forum/ The 6th iCeMS International Symposium Featuring Nano-Meso Membrane Mechanisms. 2010. 1.27-1. 29, Kyoto, Japan(発表日 2010.1.27)
4. **Kikuchi, K.** Development of Imaging Probes with Tunable Switches for Biological Applications. (The 238<sup>th</sup> ACS National Meeting, Washington, DC, USA., 8.19, 2009 ) 招待講演
5. **Kikuchi, K.** Design, Synthesis of MRI Probes for in Vivo Imaging. (The 13<sup>th</sup> Asian Chemical Congress, Shanghai, China., 9.15, 2009) 招待講演
6. **Kikuchi, K.** Design, Synthesis of MRI Probes for *in vivo* Imaging. (International Symposium on Molecular Sensing and Fluorescent Imaging, Dalian, China., 9.18-20, 2009) 招待講演
7. **Kikuchi, K.** Design, Synthesis of MRI Probes for *in vivo* Imaging. (2<sup>nd</sup> Asian Conference on Coordination Chemistry, Nanjing, China., 11.1, 2009) 招待講演
8. **Kikuchi, K.** Design, Synthesis of MRI Probes for *in Vivo* Imaging. (Symposium on Advanced Biological Inorganic Chemistry(SABIC-2009) ., Mumbai, India, 11.6, 2009) 招待講演
9. **Okuno, H.** Activity-dependent gene regulation and nucleus-to-synapse signaling for synaptic plasticity. メキシコ国立自治大学神経生物研究所シンポジウム "Learning and Memory", 2009.11.12-13, Juriquilla, Mexico, 招待講演 (発表日 : 2009.11.12)
10. Fuse T, **Bito H.** Input-specific remodeling of postsynaptic density (PSD) proteins in Purkinje cell spines. Soc. Neurosci. Abstr. 697.5, 2009. 第 39 回北米神経科学学会年会, 2009.10.17-10.21, Chicago, USA. Nanosymposium speaker. (発表日 : 2009.10.21)
11. Takemoto-Kimura S, Adachi- Morishima A, Ageta-Ishihara N, Suzuki K, Nonaka M, Okamura M, Nishimura VY, Kawauchi T, Nakajima K, Okuno H, **Bito H.** A pivotal role of a CaMKK-Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase I cascade in the radial migration of layer 2/3 cortical pyramidal neurons. Soc. Neurosci. Abstr. 409.13, 2009. 第 39 回北米神経科学学会年会, 2009.10.17-10.21, Chicago, USA. Poster. (発表日 : 2009.10.19)
12. Mizukami, S., **Kikuchi, K.** Development of MRI Probes for Detecting Biological Signals. (Gordon Research Conference-Bioorganic Chemistry, Andover, NH, USA., 6.14-19, 2009) 口頭発表。
13. Tanaka, M., Tonai, K., Mizukami, S., **Kikuchi, K.** A LUMINESCENT LANTHANIDE PROBE FOR PROTEASE ACTIVITIES. (14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, 7.26-28, 2009, 名古屋) ポスター発表
14. Redondo, RL., **Okuno, H.**, Spooner, PA., Frenguelli, BG., **Bito, H.**, and Morris, RGM. Differential role of distinct calcium-calmodulin kinases in protein synthesis-dependent

long-term potentiation. *Soc. Neurosci. Abstr.* **235.3**, 2009. 第 39 回北米神経科学学会年会, 2009.10.17-10.21, Chicago, USA. Poster (発表日: 2009.10.18)

15. **Okuno, H.**, Kawashima, T., Nonaka, M., Kyo, N., **Bito, H.** A Critical genomic element for synaptic activity-dependent expression of *Arc/Arg3.1*. *J. Physiol. Sci.* **59 Suppl.1**, **182**. 第 36 回国際生理学会世界大会(IUPS2009), 2009.7.27-8.1, Kyoto, Japan. Poster (発表日: 2009. 7.28)

#### 国内学会

平成 19 年度

1. **Okuno H.**, Fujii H, Nonaka M, Ageta-Ishihara N, Fuse T, Takemoto-Kimura S, **Bito H.** Quantitative imaging for elucidating neuronal signal transduction mechanisms. 第 30 回日本分子生物学会・第 80 回日本生化学会大会・合同大会 BMB2007, 2007.12.11-15, 横浜. Zeiss Lunchon symposium
2. **Okuno H.**, Fujii H, Fuse T, Nonaka M, Takemoto-Kimura S, **Bito H.** Regulation of PSD complex by neuronal activity. 第 30 回日本分子生物学会・第 80 回日本生化学会大会・合同大会 BMB2007, 2007.12.11-15, 横浜. symposium.
3. Takemoto-Kimura S, Ishihara-Ageta N, Nonaka M, **Okuno H.**, **Bito, H.** Regulation of dendritogenesis via a lipid raft-associated  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase CLICK-III/CaMKI gamma. *Neurosci. Res.* **58 Suppl.1**: S20, 2007. 第 30 回日本神経科学大

会、2007.9.10-12, 横浜.symposium.

4. 竹本 さやか、上田 (石原) 奈津実、野中 美応、**奥野 浩行**、**尾藤 晴彦**. CaMキナーゼカスケードによる大脳皮質神経軸索・樹状突起の選択的制御. O2G3-3. 第81回日本薬理学会年会、2008.3.17-3.19, 横浜、口頭
5. 竹本-木村さやか、上田(石原)奈津実、野中美応、**奥野浩行**、**尾藤晴彦**。ラフト膜アンカー型 CaM キナーゼ CLICK-III による樹状突起形成制御. 第 117 回日本薬理学会関東部会、2007.10.6, 東京、口演
6. **Okuno H.**, Naruse H, Kawashima T, Fujii H, Chowdhury S, Worley P, **Bito, H.** Regulation of Arc localization at synapses via interaction with CaMKII beta. *Neurosci. Res.* **58 Suppl.1**: S43, 2007. 第 30 回日本神経科学大会、2007.9.10-12, 横浜. 口演
7. Fuse T, **Bito H.** Actin-dependent regulation of Shank1 dynamics in Purkinje cell dendrites. *Neurosci. Res.* **58 Suppl.1**: S129, 2007. 第 30 回日本神経科学大会、2007.9.10-12, 横浜. poster
8. Kiyonaka S, Miki T, Nonaka M, Uriu Y, Wakamori M, Mori E, Hara Y, De Waard M, Itakura M, Takahashi M, **Bito H.**, Campbell K, Mori Y. Active zone protein RIM1 functionally associates with presynaptic VDCCs. *Neurosci. Res.* **58 Suppl.1**: S188, 2007. 第 30 回日本神経科学大会、2007.9.10-12, 横浜. poster
9. Kiyonaka S, Miki T, Nonaka M, Uriu Y, Wakamori M, Mori E, Hara Y, De Waard M, Itakura M, Takahashi M, **Bito H.**, Campbell KP,

- Mori Y. An active zone scaffolding protein functionally associates with presynaptic calcium channels J. Pharmacol. Sci. 103 Suppl. 1: 128P, 2007. 第 80 回日本薬理学会年会、2007.3.14-3.16, 名古屋、poster
10. 城戸康年、坂元君年、藪 義貞, 鈴木高史, 齋本博之, 北 潔 薬剤標的としての Trypanosome Alternative Oxidase (TAO) の生化学的解析とその特異的阻害剤 Ascofuranone(AF)の実用化に向けて 第 80 回日本生化学会大会第・30 回日本分子生物学会年会 合同大会平成 19 年 12 月
11. 河原賢治、小林環、田中健、畑昌幸、北 潔 ネズミマラリア原虫ミトコンドリア調製法の検討 第 75 回日本寄生虫学会総会 第 80 回日本生化学会大会第・30 回日本分子生物学会年会 合同大会平成 19 年 12 月
12. 藤岡 直、中村公亮、城戸康年、坂元君年、藪 義貞, 鈴木高史, 齋本博之, 北 潔 アフリカトリパノソーマへのアスコフラノン/グリセロール in vitro 殺原虫併用効果におけるグリセロールの標的 第 80 回日本生化学会大会第・30 回日本分子生物学会年会 合同大会平成 19 年 12 月
13. 畑 昌幸、小林 環、田中 健、河原賢治、北 潔 熱帯熱マラリア原虫からのミトコンドリア調製法の検討 第 80 回日本生化学会大会第・30 回日本分子生物学会年会 合同大会 平成 19 年 12 月
14. 栗野 睦美、網野比左子、石井直明、北 潔 線虫短寿命変異株 *mev-1* コハク酸-ユビキノン還元酵素 複合体 II の生化学的解析 第 80 回日本生化学会大会第・30 回日本分子生物学会年会 合同大会平成 19 年 12 月
- 平成 20 年度
- 1.吉田敬一郎、三上太郎、尾野道男、尾藤 晴彦、澤田元. Src ファミリーキナーゼ阻害剤 SU6656 による細胞多核化の解析. 第 141 回日本解剖学会総会 2009.3.28-3.30、岡山、ポスター
- 2.Okuno H., Kawashima, T., Adachi-Morishima, A., Okamura, M., Bito, H. Synaptic activity-dependent regulation of neuronal immediate-early gene Arc/Arg3.1. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 (BMB2008), 2008.12.9-12.12、神戸、口頭発表およびポスター
- 3.Ageta-Ishihara, N., Takemoto-Kimura, S., Adachi-Morishima, A., Nonaka, M., Okuno, H., Bito H. Differential regulation of cortical dendritic and axonal development via distinct activation of CaMKK-CaMKI pathways. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 (BMB2008), 2008.12.9-12.12、神戸、口頭発表およびポスター
- 4.奥野 浩行、川島 尚之、安達—森島 亜希、岡村 理子、尾藤 晴彦. 可塑性関連遺伝子 Arc の活動依存的発現調節を担うゲノムエレメントの同定.. 第 51 回日本神経化学会大会, 2008.9.11-9.13, 富山、口頭発表
- 5.上田 (石原) 奈津実、竹本—木村 さ