細胞機能探索技術開発チーム

Laboratory for Cell Function Dynamics

チームリーダー　**宮　脇　敦　史**
MIYAWAKI, Atsushi

生きた細胞が見せる様々な事象を，リアルタイムで可視化する技術を開発することが我々の研究課題である。これらは，主に蛍光（標識）分子などで作製した機能プローブを細胞に送り込み，受け取った情報，すなわち蛍光シグナルを画像化することで達成される。GFP（Green Fluorescent Protein）は自ら発色団を形成して蛍光を発するタンパク質である。遺伝子工学的手法により，蛍光分子を自由自在に細胞内外に創り出すことが可能である。GFP の物理化学的特性を利用すれば，微小環境プローブが開発できる。また異なる色の GFP を組み合わせて蛍光エネルギー移動（FRET）を実現すれば，タンパク質-タンパク質相互作用や，タンパク質構造変化を生きた細胞でリアルタイムで追跡することができる。蛍光タンパク質において起こる光反応を活用すれば，光による細胞，分子マーキングを行うことができる。このような蛍光プローブを用いたイメージングに関わる諸技術をすべて開発の対象とする。たとえば，高効率で細胞選択的な遺伝子導入技術，超短パルスレーザーの位相制御による多光子励起技術，形態をリアルタイムにイメージングするための光干渉技術などである。当研究チームは，現象を記述するための同時観測可能なパラメータを増やすことによって，生物現象をより多角的に理解すること，細胞内外の情報伝達機構を，より局所的に，より個体に近い生理的状況で解析することを目標とする。

1.　cameleon, pericam による Ca^{2+} イメージング

（1）cameleon（永井 *1，水野，濱，宮脇）

従来，cameleon のシグナル変化（dynamic range）が小さいことが問題となっていた。本年度においては，circular-permutation 技術を組み合わせることによって，cameleon の dynamic range を飛躍的に向上させることに成功した。Transgenic mice 由来の海馬スライスを用いて，電気刺激で誘発される活動を可視化することができた。

（2）pericam（永井 *1，深野，下薗，宮脇）

我々は，GFP の β-can 構造にメスを入れた柔らかい GFP に，Ca^{2+} センサーとしてのカルモデュリンとその標的ペプチドを組み込み，Ca^{2+} 濃度に従って蛍光特性を変える Ca^{2+} 指示薬を創り出した（“pericam”）。我々は，pericam のバリエーションを増やし，個々についても明るさなどの向上を図った。1 波長励起 1 波長測光型のものとして，Ca^{2+} によって蛍光強度が増大する “flash-pericam”，蛍光強度が減少する “inverse-pericam”，Ca^{2+} によって色が変わる 2 波長励起 1 波長測光型の “ratiometric-pericam” がある。

本年度においては，cameleona dynamic range を数倍以上に向上させる改善に成功した。これによって S/N 比の高い Ca^{2+} イメージングが可能となった。

2.　蛍光タンパク質の改良，および新規蛍光タンパク質の遺伝子のクローニング（唐澤 *1，安藤，水野，筒井 *2，小暮，片山 *3，荒木 *1，永井 *1，鈴木 *1，宮脇）

沖縄の海，あるいは都会のサンゴショップなどから，蛍光性の海洋動物を調達し，新規の蛍光タンパク質の遺伝子をクローニングするプロジェクトを行っている。

昨年度において，当研究チームは，ヒユサンゴからクローニングした蛍光タンパク質カエデの，紫（外）光によって色が緑から赤に変換する特性を利用して，光で細胞をマーキングする技術を開発した。神経回路における神経細胞一個一個の全体像を浮かび上がらせたり，発生における細胞の系譜を追跡することに応用できることを証明した。

本年度は，緑と赤の状態のカエデタンパク質の構造解析の結果，カエデタンパク質の発色団が，その近傍のペプチド鎖切断に伴う構造変化によって緑色から赤色に変化するように広がることを解明した。そのペプチド鎖切断は，紫（外）光を吸収したカエデタンパク質が触媒活性を発揮することによって実現するものと結論され，タンパク質内で起こる光化学の新しい様相を発見することとなった。

イシサンゴの一種，アザミサンゴより，明るく安定な緑色蛍光を発する蛍光タンパク質，アザミグリーンをクローニングした。

3.　新しい機能プローブの開発（濱，竹本 *3，宮内，宮脇）

我々は，FRET 効率を定量化する簡便な方法を確立した。ドナー，アクセプターとして CFP-YFP のペアを用い，アクセプターである YFP を光学的にブリーチングさせることによって起こる CFP の蛍光回復量から FRET 量を測定する方法である。本年度には，この定量法を実践できるカラー CCD カメラを，浜松ホトニクス社と共同で開発した。

4.　バイオイメージングのための顕微鏡光学システムの開発（深野，河野，水野，鈴木 *1，宮脇）

昨年度においては，Digital Micromirror Device（プロジェクターから取り出した）を通常の顕微鏡の視野絞りに設置することによって，自由な証明パターンを可能にする光学システムを開発した。さらに縞投影法を組み合わせることによって，蛍光シグナルの断層像が容易に取得できる顕微鏡を作製した。

本年度においては，超短パルスレーザーの位相を制御することによって，多光子励起法の新しい可能性を示した。すなわち，蛍光シグナルをかせぎながら，褪色をできる限り抑えるような励起方法を見いだした。

5.　細胞内シグナル伝達の時間的空間的拡がりに関する研究（沢野，濱，原，小暮，宮内，宮脇）

本年度においては,「成長因子の局所的な刺激によって生ずるチロシンリン酸化シグナルが，刺激部位にとどまるのか細胞全体に伝播するのか？」という細胞生物学分野における論争に対して，ひとつの包括的解答を提出した。流体力学と蛍光イメージングを駆使した実験系を組み，生理的状況下でのデータをもとに，細部膜上の成長因子受容体の密度が重要であることを証明。細胞の，ガン化にともなう，刺激応答の変化を説明した。

神経細胞のシナプス形成がグリア細胞の存在によって促進されることは以前から知られている。「この効果がグリア細胞の接着因子あるいは液性因子，どちらによってもたらされるのか?」が問題にされてきた。これまで未開拓だった接着効果をはじめて体系的に証明した。神経細胞の局所に，インテグリンを介してグリア細胞が接着することで，プロテインキナーゼ C 系の活性化の伝播が起こり，神経細胞全体にわたってシナプス形成の顕著な亢進が起こることが証明された。

---

*1 非常勤研究員，*2 基礎科学特別研究員，*3 ジュニア・リサーチ・アソシエイト

Our primary goal is to better understand how the molecules for life behave in space and time. Signal transduction cascades involve multiple molecular components and are orchestrated by specific interactions and regulations. Such dynamics is revealed by optical means such as fluorescence readout. The green fluorescent protein (GFP) of the jelly fish *Aequorea victoria* is spontaneously fluorescent, and has revolutionized our molecular and cell biology. Our projects mainly involve advancement of the GFP technologies, which include development of genetically-encodable indicators for specific cellular functions.

One approach is to use two GFPs of different colors to permit fluorescence resonance energy transfer (FRET), which is highly sensitive to the relative orientation and distance between the two fluorophores and alters the ratio of their emission intensities, an ideal readout for fast imaging and confocal microscopy. Another approach is to use circularly permuted GFP (cpGFP), in which the amino- and carboxy- portions have been interchanged and reconnected by a short spacer between the original termini. By exploiting these technologies, we have created not only calcium-sensitive proteins to obtain a better understanding of how intracellular calcium signals are generated and interpreted, but also new fluorescent indicators for visualization of signal transduction cascades that are currently assayed by grinding millions of cells.

To increase the performance of fluorescence imaging, furthermore, we develop new and unique optical technologies, by which fluorescent signals can be efficiently detected with better spatial and temporal resolution. We have established Digital Micromirror Device-based microscopy and 2-photon excitation microscopy with the adaptive control using shaped femtosecond laser pulses.

We are now expanding the repertoire of fluorescent proteins by cDNA cloning from cnidarian animals in the sea, like corals. For example, we have recently cloned a novel fluorescent protein from a stony coral *Trachyphyllia geoffroyi*. The protein, named "Kaede", includes a tripeptide, His-Tyr-Gly, that acts as a green chromophore which can be converted to red. The color conversion is highly sensitive to irradiation with UV or violet light. The color-changing properties provide a simple and powerful technique for regional optical marking. We also present the structural basis for the green-to-red photoconversion. UV irradiation causes an unconventional cleavage within Kaede protein between the amide nitrogen and the a carbon (Cα) at His^{62} via a formal β-elimination reaction, which requires the whole, intact protein for its catalysis. The subsequent formation of a double bond between His^{62}-Cα and -Cβ extends the π-conjugation to the imidazole ring of His^{62}, creating a new red-emitting chromophore. The study adds a new dimension to post-translational modification mechanisms.

Research Subjects and Members of Laboratory for Cell Function Dynamics

1. Ca^{2+} imaging using cameleons and pericams
2. Improvement of fluorescent proteins and cDNA cloning for novel fluorescent proteins
3. Development of indicators for various cellular events
4. Development of novel microscopy for fluorescence imaging
5. Understanding of spatio-temporal patterns of intracellular signaling

Laboratory Head

Dr. Atsushi MIYAWAKI

Research Scientists

Dr. Hiroshi HAMA
Dr. Hideaki MIZUNO
Dr. Takashi FUKANO
Dr. Hiroyuki KAWANO
Dr. Satoshi SHIMOZONO

Research Associates

Mr. Takayuki MIYAUCHI

Technical Staffs

Ms. Ryoko ANDO
Ms. Takako KOGURE
Ms. Asako SAWANO
Ms. Chikako HARA

Assistants

Ms. Mizuka HAGA

Special Postdoctoral Reserchers

Dr. Hidekazu TSUTSUI

Junior Research Associates

Mr. Hiroyuki KATAYAMA (Hokkaido Univ.)
Mr. Kiwamu TAKEMOTO (Tokyo Univ.)

Visiting Members

Mr. Toshio ARAKI (Amalgaam Co., Ltd., Med. Biol. Lab. Co., Ltd.)

Mr. Satoshi KARASAWA (Amalgaam Co., Ltd., Med. Biol. Lab. Co., Ltd.)

Dr. Takeharu NAGAI (JST)

Dr. Hirobumi SUZUKI (Olympus Optical Co., Ltd.)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) ＊印は査読制度がある論文

Fukano T. and Miyawaki A.: "Whole-field fluorescence microscope with digital micromirror device: imaging of biological samples", Appl. Opt. **42**, 4119–4124 (2003). ＊

Kawano H., Nabekawa Y., Suda A., Ohishi Y., Mizuno H., Miyawaki A., and Midorikawa K.: "Attenuation of photobleaching in two-photon excitation fluorescence from green fluorescent protein with shaped excitation pulses", Biochem. Biophys. Res. Commun. **311**, 592–596 (2003). ＊

Hino J., Nishimatsu S., Nagai T., Matsuo H., Kangawa K., and Nohno T.: "Coodination of BMP-3b and cerberus is required for head formation of *Xenopus* embryos", Dev. Biol. **260**, 138–157 (2003). ＊

Karasawa S., Araki T., Yamamoto M., and Miyawaki A.: "A green-emitting fluorescent protein from *Galaxeidae* coral and its monomeric version for use in fluorescent labeling", J. Biol. Chem. **278**, 34167–34171 (2003). ＊

Mizuno H., Mal T. K., Tong K. I., Ando R., Furuta T., Ikura M., and Miyawaki A.: "Photo-induced peptide cleavage in the green-to-red conversion of a fluorescent protein", Mol. Cell **12**, 1051–1058 (2003). ＊

Kawano H., Nabekawa Y., Suda A., Ohishi Y., Mizuno H., Miyawaki A., and Midorikawa K.: "Adaptive control of two-photon fluorescence from green fluorescent protein by shaped femtosecond excitation pulses", Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng. **5143**, 10–17 (2003). ＊

Kasai H., Yao A., Oyama T., Hasegawa H., Akazawa H., Toko H., Nagai T., Kinugawa K., Kohmoto O., Maruyama K., Takahashi T., Nagai R., Miyawaki A., and Komuro I.: "Direct measurement of Ca^{2+} concentration in the SR of living cardiac myocytes", Biochem. Biophys. Res. Commun. **314**, 1014–1020 (2004). ＊

Hama H., Hara C., Yamaguchi K., and Miyawaki A.: "PKC signaling mediates global enhancement of excitatory synaptogenesis in neurons triggered by local contact with astrocytes", Neuron **41**, 405–415 (2004). ＊

(総 説)

Miyawaki A.: "Fluorescence imaging of physiological activity in complex systems using GFP-based probes", Curr. Opin. Neurobiol. **13**, 591–596 (2003).

Miyawaki A., Nagai T., and Mizuno H.: "Mechanisms of protein fluorophore formation and engineering", Curr. Opn. Chem. Biol. **7**, 557–562 (2003).

Miyawaki A., Sakaue A., and Kogure T.: "Lighting up cells: labelling proteins with fluorophores", Nat. Cell Biol. **5**, S1–S7 (2003).

永井健治, 宮脇敦史: "GFP を使ってできること：その物理化学的特性を利用した様々な応用", Cytometry Res. **13**, No. 1, pp. 1–10 (2003).

永井健治, 宮脇敦史: "運動器のダイナミクスに迫るには：蛍光タンパク質を用いたバイオイメージング", 医学のあゆみ **205**, 193–196 (2003).

宮脇敦史: "蛍光イメージング革命序論", 細胞工学 **22**, 1215–1217 (2003).

宮脇敦史: "干渉フィルタ再認識", 細胞工学 **22**, 1355–1359 (2003).

宮脇敦史: "刺胞動物と蛍光蛋白質", 蛋白質 核酸 酵素 **48**, 1568–1572 (2003).

宮脇敦史: "10 歳からの 2 光子吸収", 細胞工学 **23**, 81–83 (2004).

宮脇敦史: "FRET とアメフト", 細胞工学 **23**, 227–230 (2004).

(その他)

深野天: "えっ？ LED1 個で細胞が光るの？: LED 励起蛍光顕微鏡", 光学 **32**, 510–512 (2003).

深野天, 山口一郎: "半導体レーザーを用いた波長走査型ヘテロダイン干渉法と屈折率・厚さ分離測定への応用", 光技術コンタクト **41**, 408–417 (2003).

深野天, 宮脇敦史: "理化学研究所脳科学総合研究センター細胞機能探索技術開発チームの研究開発", 光技術コンタクト **41**, 684–688 (2003).

[単行本・Proc.]

(総 説)

宮脇敦史: "蛍光蛋白質が面白い理由", わかる実験医学シリーズ：タンパク質がわかる, 竹縄忠臣 (編), 羊土社, 東京, pp. 123–128 (2003).

口 頭 発 表 Oral Presentations

(国際会議等)

Wang T., Nakajima K., Yokokawa S., Kogure T., Miyawaki A., and Hara M.: "Single molecule force microscopy of circularly permuted green fluorescent protein", 1st Int. Congr. on Bio-Nanointerface (ICBN 2003), (The Science Council of Japan and The Institute for Interface Science and Technology), Tokyo, May (2003).

Miyawaki A.: "Visualizing cellular functions", 60th Ann. Spring Meet. Korean Soc. for Biochemistry and Molecular Biology, Seoul, Korea, May (2003).

Nagai T.: "Dynamic and quantitative imaging of cell functions", Blue Seminar at EMBL, Heidelberg, Germany, May (2003).

Kawano H., Nabekawa Y., Suda A., Ohishi Y., Mizuno H., Miyawaki A., and Midorikawa K.: "Adaptive control of two-photon fluorescence from green fluorescent protein by shaped femtosecond excitation pulses", European Conf. on Biomedical Optics, (SPIE), Munich, Germany, June (2003).

Nagai T.: "Dynamic and quantitative imaging of cellular

functions", Seminars at the Hutchison/MRC Research Centre, Cambridge, UK, June (2003).

Kawano H., Nabekawa Y., Suda A., Ohishi Y., Midorikawa K., Mizuno H., and Miyawaki A.: "Adaptive control of two-photon excitation of green fluorescent protein with shaped femtosecond pulses", 4th Int. Ultrafast Optics Conf., (Vienna University of Technology and others), Vienna, Austria, June–July (2003).

Nagai T. and Miyawaki A.: "Mitochondrial role in regulation of cytosolic Ca^{2+} dynamics", Gordon Research Conf. on Calcium Signalling, South Hadley , USA, July (2003).

Mizuno H. and Miyawaki A.: "Regulation of TCA cycle by mitochondrial Ca^{2+} in DRG neuron", Gordon Research Conf. on Calcium Signalling, South Hadley, USA, July (2003).

Nagai T.: "Opening new windows for future biology by using GFP technologies", Blue Seminar at EMBL, Heidelberg, Germany, Aug. (2003).

Takemoto K., Nagai T., Miyawaki A., and Miura M.: "Spatio-temporal dynamics of caspase activation in living cells", Cold Spring Harbor Laboratory 5th Meet. on Programmed Cell Death, Cold Spring Harbor, USA, Sept. (2003).

Miyawaki A.: "Cruising inside cells - dynamic imaging of cellular function", ELSO 2003, (European Life Scientist Organization), Dresden, Germany, Sept. (2003).

Miyawaki A.: "Spatio-temporal dynamics of cellular functions", RIKEN Exchange Lecture at UCSF, (UCSF Neuroscience Program), San Francisco, USA, Sept. (2003).

Wang T., Nakajima K., Sakai Y., Miyawaki A., and Hara M.: "Mechanical and optical measurement on individual green fluorescnet protein", 10th Int. Conf. on Organized Molecular Films (LB10 2003), Beijing, China, Oct. (2003).

Kazuno A., Munakata K., Nagai T., Tanaka M., Yoneda M., Kato N., Miyawaki A., and Kato T.: "Measurements of intramitochondrial calcium levels in cybrids of containing mitochondrial DNA derived from patients with bipolar disorder", 11th World Congr. of Psychiatric Genetics, (The International Society of Psychiatric Genetics), Quebec City, Canada, Oct. (2003).

Nagai T. and Miyawaki A.: "Development of FRET-based biosensors with expanded dynamic range", Int. Symp. on New Horizons in Molecular Science and Systems: An Integrated Approach, (Cabinet Office, The Government of Japan), Nago, Oct. (2003).

Miyawaki A.: "Visualization in cellular functions", 6th Conf. of the Asia-Pacific Int. Molecular Biology Network (A-IMBN) on Dramatic Movement of Life Science: Now to Future, Tokyo, Nov. (2003).

Miyawaki A.: "Cruising inside cells", 3rd Japan-America Frontiers of Engineering Symp., (National Academy of Engineering and others), Irvine, USA, Nov. (2003).

Miyawaki A.: "Visualization of the spatial and temporal dynamics of intracellular signaling", 19th Int. Symp. in Conjunction with Award of the International Prize for Biology, (Osaka University), Nara, Dec. (2003).

Miyawaki A.: "Fluorescence imaging of signaling processes", Seminar at Stanford University: Signaling Pathways and Networks Series, Stanford, USA, Jan. (2004).

Miyawaki A.: "Fluorescence imaging technologies for visualizing cellular functions", The Conf. for the Korean Soc. for Cell Biology, Togo, Korea, Feb. (2004).

（国内会議）

永井健治: "新技術融合が拓く Dynamical Biology", 国立遺伝学研究所セミナー, 三島, 1 月 (2003).

宮脇敦史: "蛍光の Live Cell Imaging：遊び心のイメージングを目指して", 日本農芸化学会 2003 年度大会, 横浜，藤沢, 3–4 月 (2003).

宮脇敦史, 深野天, 阪上朝子, 日野美紀, 河野弘幸: "10 年後の細胞イメージング技術", 第 56 回日本細胞生物学会大会, 大津, 5 月 (2003).

永井健治: "多点走査型共焦点顕微鏡を用いたマルチカラーイメージング", 第 56 回日本細胞生物学会大会, 大津, 5 月 (2003).

宮脇敦史: "Real-time and single-cell imaging", 第 46 回日本腎臓学会学術総会, 東京, 5 月 (2003).

宮脇敦史: "蛍光蛋白質とイメージング", 第 3 回日本蛋白質科学会年会, 札幌, 6 月 (2003).

宮脇敦史: "蛍光タンパク質", 第 13 回日本サイトメトリー学会学術集会, 東京, 6 月 (2003).

永井健治: "Dynamic and quantitative imaging of cell functions using GFP-based biosensors", 第 32 回千里ライフサイエンス技術講習会「蛍光顕微鏡による生細胞 FRET 測定」, 豊中, 6 月 (2003).

宮脇敦史: "蛍光のバイオイメージング技術", 理研シンポジウム「次世代の生命科学を拓くオングストローム X 線レーザー」, 和光, 6–7 月 (2003).

武藤哲司, 永井健治, 宮田卓樹, 柏木佐織, 宮脇敦史, 小川正晴: "Differential visualization of paired daughter cells produced from a Kaede-induced single progenitor cell by selective photoconversion in live cortical slices", 第 26 回日本神経科学大会, 名古屋, 7 月 (2003).

永井健治, 宮脇敦史: "ミトコンドリアにおける遊離 Ca^{2+} 動態", 第 26 回日本神経科学大会, 名古屋, 7 月 (2003).

宮脇敦史: "蛍光タンパク質を用いた神経機能のイメージング", 第 26 回日本神経科学大会, 名古屋, 7 月 (2003).

宮脇敦史: "細胞機能の可視化技術としての蛍光タンパク質とレーザー顕微鏡", レーザー顕微鏡研究会第 29 回講演会ならびにワークショップ（SLM29）, 和光, 7 月 (2003).

宮脇敦史: "蛍光タンパク質技術の粋を集める", 第 13 回バイオ・高分子シンポジウム, 東京, 7–8 月 (2003).

宮脇敦史: "細胞内シグナル伝達の時空間制御", 第 30 回岡山脳研究セミナー, (岡山大学), 岡山, 7–8 月 (2003).

永井健治: "GFP の基礎と種類", 第 12 回浜松医科大学メディカルホトニクスコース, 浜松, 8 月 (2003).

宮脇敦史: "刺胞動物の光感受性色素「Kaede」：単一細胞の標識化への応用", 第 12 回浜松医科大学メディカルホトニクスコース, 浜松, 8 月 (2003).

永井健治: “FRET の基礎”, 第 1 回細胞生物学ワークショップ「大学院トレーニングコース：基礎から中級」, (大阪大学大学院理学研究科生物学専攻・タンパク質研究所 21 世紀 COE プログラム), 神戸, 8 月 (2003).

水野秀昭: “蛍光色素の特性”, 第 1 回細胞生物学ワークショップ「大学院トレーニングコース：基礎から中級」, (大阪大学大学院理学研究科生物学専攻・タンパク質研究所 21 世紀 COE プログラム), 神戸, 8 月 (2003).

永井健治: “GFP を使った方法の新たな発展”, 第 28 回組織細胞化学会講習会, (日本組織細胞化学会), 名古屋, 8 月 (2003).

河野弘幸, 鍋川康夫, 須田亮, 大石裕, 水野秀昭, 宮脇敦史, 緑川克美: “蛍光タンパク質の二光子励起におけるパルス整形による蛍光強度の増強と褪色化の軽減”, 第 64 回応用物理学会学術講演会, 福岡, 8–9 月 (2003).

水野秀昭: “蛍光タンパク質の基礎とバイオイメージングへの応用”, 2003 年 CBI 学会大会, 東京, 9 月 (2003).

宮脇敦史: “PKC signaling for global enhancement of excitatory synaptogenesis in neurons is triggered by local contact with astrocytes”, 第 46 回日本神経化学会年会・第 41 回日本生物物理学会年会合同年会, 新潟, 9 月 (2003).

深野天, 山口一郎: “半導体レーザーを用いた波長走査型ヘテロダイン干渉法と屈折率・厚さ分離測定への応用”, 日本オプトメカトロニクス協会光センシング技術部会セミナー, 東京, 9 月 (2003).

宮脇敦史: “Introduction of fluorescence real-time imaging”, 第 76 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (2003).

宮脇敦史: “蛍光イメージングで観る，細胞内シグナル伝達：Cruising inside cells”, 生物情報解析研究センター・シンポジウム, 東京, 10 月 (2003).

水野秀昭, 宮脇敦史: “Photo-induced peptide cleavage in the green-to-red conversion of a fluorescent protein”, 平成 15 年度生理学研究所研究会「細胞内シグナル伝達機構の多角的・包括的理解」, 岡崎, 10 月 (2003).

永井健治, 宮脇敦史: “蛍光エネルギー移動を利用した広範なダイナミックレンジを持つバイオセンサーの開発”, 平成 15 年度生理学研究所研究会「細胞内シグナル伝達機構の多角的・包括的理解」, 岡崎, 10 月 (2003).

宮脇敦史: “イメージングのための蛍光色素”, レーザー学会東京支部セミナー 第 5 回「先進レーザー応用技術セミナー」, 横浜, 11 月 (2003).

永井健治: “GFP 技術と FRET”, 第 2 回細胞生物学ワークショップ「大学院トレーニングコース：中級から上級」, (北海道大学 21 世紀 COE プログラム，大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻・タンパク質研究所 21 世紀 COE プログラム), 札幌, 11 月 (2003).

筒井秀和, 清水英明, 貫名信行, 宮脇敦史: “珊瑚由来新規蛍光蛋白質の結晶構造解析”, 日本結晶学会平成 15 年度年会, 熊本, 12 月 (2003).

水野秀昭, Mal T. K., Tong K. I., 安藤亮子, 古田寿昭, 伊倉光彦, 宮脇敦史: “蛍光タンパク質の光依存的 β 脱離反応による赤色化”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).

深野天, 下薗哲, 宮脇敦史: “直交 2 偏波を用いた 2 波長同時励起レシオメトリーによるラット心筋のカルシウムイメージング”, 日本光学会年次学術講演会 (OJ2003), 浜松, 12 月 (2003).

細井晴子, 田原太平, 水野秀昭, 宮脇敦史: “蛍光タンパク質 KAEDE のフェムト秒時間分解蛍光ダイナミクスの研究：紫外光で緑から赤に変色するタンパク質”, 日本化学会第 84 春季年会, 西宮, 3 月 (2004).