

2018年度 ExCELLSレポート

Exploratory Research Center on Life and Living Systems
National Institutes of Natural Sciences



2018 年度 ExCELLS リポート

自然科学研究機構
生命創成探究センター

2018 年度 ExCELLS リポートの刊行にあたって

生命創成探究センター (Exploratory Research Center on Life and Living Systems = ExCELLS) は、自然科学研究機構の更なる機能強化を目指すために、岡崎統合バイオサイエンスセンターを中核とし、新分野創成センターのブレインサイエンス研究分野とイメージングサイエンス研究分野を統合して 2018 年 4 月に設置された機構直轄の組織である。

本センターでは、「生きているとは何か？」という人類の根源的な問いの解明に向けて、生命の仕組みを観察する新たな技術を開発するとともに、蓄積されていく多様な情報の中に隠されている意味を読み解き、さらに合成・構成的アプローチを通じて生命の基本情報の重要性を検証する活動を行っている。こうした「みる・よむ・つくる」のアプローチを基軸に、極限環境生命の研究者とも協力しながら異分野融合型の研究を進め、生命の設計原理を探究している。この目的のもとに、国内外の大学・研究機関の連携によりコミュニティ横断型の共同利用・共同研究を推進している。

生命創成探究センターは創成研究領域と極限環境生命探査室から構成されている。創成研究領域は「みる・よむ・つくる」の 3 つのアプローチ法を開拓するとともに、それらを 1 つの流れとして捉え、生命のダイナミズムの本質に迫る研究を展開している。

「みる」アプローチでは、革新的な計測手法を開発し、複雑な生命システム全体の中における各構成要素のダイナミックな振る舞いをありのままに観測する。さらに、その背景にある物理化学的諸量の変化の可視化を行う。「よむ」アプローチでは、計測・観測を通じて蓄積されていく多様な生命情報の中に隠されている意味を解読し、理論体系化し、予測するための情報科学・理論科学・計算科学的アプローチを発展させる。

「つくる」アプローチでは、生命システムを実験的に構成すること、あるいは計算機上で構築することを通じて、外部環境の変動の中で秩序創発していくロバストな生命の本質を統合的に理解することを目指す。

すなわち、「みる」ことで学ぶ生物研究から「よむ」さらには「つくる」ことで学ぶ生命科学への流れを実現し、上記の 3 つのアプローチを一体として研究を進めていくことで、ダイナミックな生命の設計原理の解明を目指している。こうした研究の発展に資するため、多様な共同利用・共同研究が始動している。2018 年度は、一般共同利用研究・機器利用研究に加えて、内橋貴之客員教授らによるプロジェクトを実施する生命分子動態計測グループが ExCELLS 連携研究グループとして活動を開始した。これは、本センター以外の研究機関に所属する複数の研究者が研究グループを構成したうえで、新規な研究手法・測定手法の開発等を通じて分野横断的な研究を推進するものである。さらに、機構外の研究者がセンター内の複数のグループとともに分野融合的なアプローチを通じて取り組む ExCELLS 課題研究 (シーズ発掘) もスタートした。

一方、極限環境生命探査室では、深海、地下、極地、大気圏外などにおける生命体の活動を探査・解析することを目指して生命の始原形態と環境適応戦略を理解する研究を実施している。2018 年度は海洋研究開発機構と連携した深海・地下生命研究グループが高井 研客員教授を迎えて設置され、極限環境生命分子研究グループとともに活動を開始している。

こうした異分野融合研究を推進するためのセミナーや研究会も活発に行っており、特に海外の研究者との学際的交流を企図した Frontier Bioorganization Forum 2018 などを成功裡に実施した。また、若手の主体的な企画・運営による研究集会やプロジェクト提案の支援などにも力を注いできた。本センターは設立されまだ 1 年であるが、研究成果の発信も活発に行ってきた。

このように生命創成探究センターは順調に立ち上がり、「生きているとは何か？」という問いに向き合って様々な取り組みを始めた。今後の発展が実に楽しみである。

NINS

自然科学研究機構

National Institutes of
Natural Sciences

NINS

国立天文台

核融合科学研究所

基礎生物学研究所

生理学研究所

分子科学研究所

新分野創成センター

アストロバイオロジーセンター

生命創成探究センター



国際連携研究センター

ExCELLS

生命創成探究センター



Exploratory Research
Center on Life and
Living Systems

センター長

研究連携コーディネータ

創成研究領域

温度生物学研究グループ
金属生命科学研究グループ
神経ネットワーク創発研究グループ
神経分子動態生物学研究グループ
心循環ダイナミズム創発研究グループ
生物画像情報解析グループ
生命時空間制御研究グループ
生命分子創成研究グループ
生命分子動態シミュレーション研究グループ
生命分子動秩序創発研究グループ
定量生物学研究グループ
認知ゲノム研究グループ
発生シグナル創発研究グループ
植物発生理学研究グループ
生体分子相互作用計測グループ
核内ゲノム動態研究グループ
構成生物学研究グループ
生命システム構築研究グループ

連携研究グループ

生命分子動態計測グループ

極限環境生命探査室

深海・地下生命研究グループ
極限環境生命分子研究グループ

目 次

序 言

組 織 図

1	2018 年度 構成員一覧	7
2	研究領域の現状	
1.	創成研究領域	
1-1	温度生物学	11
1-2	金属生命科学	18
1-3	神経ネットワーク創発	21
1-4	神経分子動態生物学	24
1-5	心循環ダイナミズム創発	27
1-6	生物画像情報解析	33
1-7	生命時空間制御	35
1-8	生命分子創成	37
1-9	生命分子動態シミュレーション	41
1-10	生命分子動秩序創発	45
1-11	定量生物学	52
1-12	認知ゲノム	55
1-13	発生シグナル創発	58
1-14	植物発生生理	61
1-15	生体分子相互作用計測	65
1-16	核内ゲノム動態	67
1-17	構成生物学	69
1-18	生命システム構築	71
	連携研究グループ	
1-19	生命分子動態計測	73
2.	極限環境生命探査室	
2-1	深海・地下生命研究グループ	77
2-2	極限環境生命分子研究グループ	78
3	ExCELLS イベント	80
4	オリオンプロジェクト	84
5	共同利用研究	
1.	バイオネクスト共同利用研究	97
2.	ExCELLS 共同利用研究	103

1 構成員一覽

2018 年度 構成員一覧

加 藤 晃 一 (生 命 創 成 探 究 セ ン タ ー セ ン タ ー 長)
高 田 慎 治 (生 命 創 成 探 究 セ ン タ ー 副 セ ン タ ー 長)
富 永 真 琴 (生 命 創 成 探 究 セ ン タ ー 副 セ ン タ ー 長)

創成研究領域

温度生物学研究グループ

富永 真琴 (教授)
曾我部隆彰 (准教授)
鈴木 喜郎 (助教)
齋藤 茂 (助教)

高山 靖規 (特任助教)
福田 直美 (技術職員)

Derouiche Sandra (NIPS リサーチフェロー
→博士研究員)

宇治澤知代 (博士研究員)

Li Tianbang (総研大生→博士研究員)

Yari Kamrani Yousef (博士研究員)

齋藤くれあ (研究員)

山野井 遊 (総研大生)

Feng Xiaona (総研大生)

Nguyen Thi Hong Dung (総研大生)

Deng Xiangmei (総研大生)

Dong Mingyi (研究生)

福岡 慶子 (技術支援員)

橋本 照美 (技術支援員)

伊藤 嘉美 (事務支援員)

伊藤 浩子 (技術補佐員)

寺澤 洋子 (技術補佐員)

渡我部育子 (技術補佐員)

竹内 芳子 (事務補佐員)

神経分子動態生物学研究グループ

椎名 伸之 (准教授)

中山 啓 (助教)

大橋 りえ (総研大生)

片山 香織 (総研大生)

山下 映 (総研大生)

松田 知里 (技術補佐員)

心循環ダイナミズム創発研究グループ

西田 基宏 (教授)

富田 拓郎 (助教)

西村 明幸 (特任助教、2018 年 8 月まで)

田中 智弘 (新分野創成センター、特任助教)

小田紗矢香 (総研大大学院生、D1)

下田 翔 (総研大大学院生、M2)

石原 博美 (技術職員)

藤森 仁美 (技術支援員)

中西 綾乃 (事務支援員)

金属生命科学グループ

青野 重利 (教授)

吉岡 資郎 (助教) ～ 2018. 10.

村木 則文 (助教)

中根 香織 (事務支援員)

生物画像情報解析グループ

高田 慎治 (教授) [併任]

加藤 輝 (特任助教)

太田 裕作 (特任助教)

兵藤 美和 (技術補佐員)

神経ネットワーク創発研究グループ

東島 真一 (教授)

木村有希子 (助教)

島崎 宇史 (大学院生 (特別共同利用研究員))

植村 悠人 (大学院生 (特別共同利用研究員))

梶岡 拓己 (総研大生)

川野 幸平 (総研大生)

生命時空間制御研究グループ

野中 茂紀 (准教授)

谷口 篤史 (博士研究員)

石橋 知子 (技術補佐員)

生命分子創成研究グループ

古賀 信康（准教授）
小杉 貴洋（助教）
古賀 理恵（特任研究員）
近藤未菜子（特別協力研究員）
南 慎太郎（博士研究員）
小林 直也（特任研究員）
佐久間航也（総研大生）
山本 真実（総研大生）
三本 斉也（総研大生）
山田 寛子（総研大生）
鈴木 博子（事務補佐員）

生命分子動態シミュレーション研究グループ

奥村 久士（准教授）
伊藤 暁（助教）
石村 和也（博士研究員）
西澤 宏晃（博士研究員）
山内 仁喬（総研大生）
多知 裕平（大学院生（特別共同利用研究員））
宮澤 和久（大学院生（特別共同利用研究員））
川口 律子（事務補佐員）

生命分子動秩序創発研究グループ

加藤 晃一（教授）
矢木 真穂（助教）
谷中 冴子（助教）
鈴木 達哉（博士研究員）
Methanee Hiranyakorn（総研大生）
本田 怜奈（総研大生）
関口太一郎（総研大生）
松尾 宗征（大学院生（特別共同利用研究員））
與語 理那（大学院生（特別共同利用研究員））
柚木 康弘（大学院生（特別共同利用研究員））
小藤 加奈（大学院生（特別共同利用研究員））
齋藤 泰輝（大学院生（特別共同利用研究員））
Mesayamas Kongsema（インターンシップ生
（分子研アジア国際インターンシッププログラム））
磯野裕貴子（技術補佐員）
田中 景（事務補佐員）

定量生物学研究グループ

青木 一洋（教授）
近藤 洋平（助教）
小田 茂和（助教）
三浦 晴子（特任研究員）
後藤 祐平（博士研究員）
青木 玲奈（博士研究員）
宇田 耀一（大学院生（特別共同利用研究員））
眞流 玄武（大学院生（特別共同利用研究員））
谷猪 遼介（総研大生）
向井 正哉（総研大生）
海老根映美（技術支援員）
後藤 瑤子（技術支援員）
小野田香織（技術支援員）

認知ゲノム研究グループ

郷 康広（特任准教授）
辰本 将司（特任研究員）
臼井 千夏（技術補佐員）
石川 裕恵（技術補佐員）
木原まどか（事務補佐員）

発生シグナル創発研究グループ

高田 慎治（教授）
矢部泰二郎（助教）
三井 優輔（助教）
内海 秀子（技術職員）
高田 律子（博士研究員）
篠塚 琢磨（研究員）
畠山 宙大（総研大生）
Tran, Hong Nguyen（総研大生）
高代加代子（技術支援員）
伊藤由紀子（技術支援員）
野畑 竜子（事務支援員）

植物発生生理研究グループ

塚谷 裕一（客員教授）
川出 健介（特任准教授）
野崎 守（博士研究員）
友井 拓実（大学院生（特別共同利用研究員））
山口 千波（技術補佐員）

生体分子相互作用計測グループ

内山 進（客員教授）
石井健太郎（博士研究員）

核内ゲノム動態研究グループ

宮成 悠介（特任准教授）
栗原美寿々（博士研究員）
石井 智子（総研大生）
田川 綾子（専門員）
三宝 千秋（技術補佐員）

構成生物学研究グループ

栗原 顕輔（特任准教授）

生命システム構築グループ

佐藤 幸治（特任准教授）
住田明日香（技術支援員）

生命分子動態計測グループ

内橋 貴之（客員教授）
渡辺 大輝（特任助教）

その他

岡田 知（事務支援員）

極限環境生命探査室

深海・地下生命研究グループ

高井 研（客員教授）

極限環境生命分子研究グループ

加藤 晃一（教授）〔兼任〕
矢木 真穂（助教）〔兼任〕

他の構成員は、創成研究領域生命分子動秩序創発
研究グループを参照のこと。

その他

白瀧千夏子（特任助教（研究連携コーディネータ））
蜂須賀みどり（事務支援員）

2 研究領域の現状

1. 創成研究領域

1-1 温度生物学研究グループ

富永 真琴（教授）

曾我部隆彰（准教授）

鈴木 喜郎（助教）

齋藤 茂（助教）

高山 靖規（特任助教）

1) 専門領域：分子細胞生理学、神経科学

2) 研究課題：

a) 温度感受性 TRP チャネルに関する研究

b) 機械刺激感受性 Piezo チャネルに関する研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) **ヒアリ TRPA チャネルの遺伝子クローニングと機能解析**：ヒアリ TRPA チャネル遺伝子をクローニングして、Ca-imaging 法を用いて機能解析を行った。ヒアリ TRPA はヒアリのアンテナ、脚に強く発現していた。機能解析では、冷刺激では活性化せず、高温刺激で活性化し、以前に報告したミツバチ TRPA と同様に熱センサーとして機能することが明らかとなった。温度グレイディエントのある床上での温度嗜好性を見る実験を行った。15 度から 35 度の温度グレイディエントでキイロショウジョウバエは 25-28 度を好み、30 度以上の場所には滞在しない。TRPA1 を欠失したキイロショウジョウバエはより高い温度に滞在するようになり、TRPA1 をレスキューすると野生型と同じような温度嗜好性を示すようになる。TRPA1 を欠失したキイロショウジョウバエにヒアリ TRPA を発現させると、野生型キイロショウジョウバエと同じような温度嗜好性を示すようになることから、ヒアリ TRPA が個体レベルでも温度を感知して高温忌避行動をもたらすものと考えられた。Ca-imaging 法による解析で、cinnamaldehyde, β -citronellal, β -caryophyllene にヒアリ TRP 活性化能があることがわかり、行動実験でもヒアリがこれらの化合物を忌避することが確認された。新たなヒアリ忌避剤の開発につながるものと期待される (eNeuro, 2018)。

TRPV6 変異とヒト新生児一過性副甲状腺機能亢進症：新生児一過性副甲状腺機能亢進症の発症要因が複雑だが、一つに母親からの胎児への胎盤を介した Ca^{2+} 輸送不全が挙げられている。多くは生後数ヶ月で正常になる。上皮細胞で Ca^{2+} 選択性チャネルとして機能する TRPV6 変異が 6 症例（日本を含む数カ国の患児）に関わることを発見した。その変異は TRPV6 の様々なドメインで見いだされた。TRPV6 の形質膜発現に影響を与える例が複数あり、ヒト TRPV6 に発見された変異を導入した細胞でのパッチクランプ法による TRPV6 電流解析では、著しい電流の減少が観察された。よって、新生児一過性副甲状腺機能亢進症は、母親から胎児への Ca^{2+} 輸送を阻害する TRPV6 の変異で起こる常染色体劣性遺伝疾患であると推定された (Am. J. Hum. Genet., 2018)。

カンジダ感染症における不快情動を惹起する分子メカニズムの解明：真菌の一種である *Candida albicans* は、我々の皮膚や腔に生息する常在真菌であり、通常は人体に害を及ぼすことはないが、抗癌剤 / 抗菌薬 / ステロイドなどの投与によって免疫系と細菌叢の恒常性が攪乱されると、*Candida albicans* は病原性の高い状態に変化して増殖をはじめ、口腔粘膜・外耳道・陰部・手足の指間部にしつこい痛みとかゆみを

伴った発疹をひきおこす場合がある。しかし、*Candida albicans* による日和見感染で生じる不快情動のメカニズムは明らかにされていなかった。遺伝子改変マウスを駆使した行動生理学的手法を用いて、*Candida albicans* を構成する多糖類の一種である β -glucan により皮膚の上皮細胞が刺激されて ATP 分泌顆粒の放出が促され、そして放出された ATP が末梢の痛覚神経を刺激することで痛みやかゆみを発生させていることを見いだした。*Candida* 膺炎などによって惹起される不快情動を抑制するための新たな治療標的の可能性を見出した (iScience, 2018)。

抗アトピー薬タクロリムスによるヒト TRPA1 の活性化：タクロリムス (FK506) は抗アトピー薬として広く使われているが、一部の患者で皮膚への塗布によって灼熱感、ピリピリ感が生じることが知られている。表皮ケラチノサイトあるいは感覚神経で発現するヒト TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8, TRPA1 を培養細胞に発現させて Ca-imaging 法で FK506 の効果を解析したところ、TRPM8, TRPA1 を活性化することが分かった。パッチクランプ法を用いて解析すると、小さな TRPM8 電流と大きな TRPA1 電流が観察されて、FK506 の主な作用標的は TRPA1 と考えられた。単一チャンネル電流記録でも FK506 による TRPA1 の濃度依存的な活性化が観察された。マウス TRPA1 も FK506 で活性化された。そこで、野生型マウスと TRPA1 欠損マウスで FK506 による痛み関連行動を解析したところ、FK506 による痛み関連行動は TRPA1 欠損マウスでは観察されなかった。よって、タクロリムス (FK506) による痛み様感覚は TRPA1 の活性化によると結論された (J. Physiol. Sci., 2018)。

b) Myotube 形成と piezo1 チャンネル：筋芽細胞の融合と合包体の伸張は筋管形成に必須であるが、その分子メカニズムは明らかになっていない。筋管形成では形質膜 (脂質二重膜) の内側のフォスファチジルセリンが一過的に外側に動いて筋芽細胞の融合を促進する。Piezo1 を発現しない筋芽細胞は正常な融合と合包体の伸張を起こさなかった。また、Piezo1 を発現させた HEK293 細胞での機械刺激で活性化された電流が細胞外から投与したフォスファチジルセリンによって減弱した。さらに、ATP11A と CDC50A の膜リン脂質 flippase によるフォスファチジルセリンの内側への translocation に piezo1 活性化が必要なことが判明した。Piezo1 活性化によって流入した Ca^{2+} が RhoA/ROCK を活性化して actomyosin の重合を促進して極性をもった合包体の伸張過程を制御しているものと結論した。筋芽細胞膜でのフォスファチジルセリンの flip-flop が piezo1 活性化の分子スイッチとして機能して筋管形成をコントロールしていると考えられる (Nat. Commun., 2018)。

4) 学術論文

K. Matsumoto, R. Yamaba, K. Inoue, D. Utsumi, T. Tsukahara, K. Amagase, M. Tominaga, S. Kato, "TRPV4 regulates vascular endothelial permeability during colonic inflammation in dextran sulphate sodium-induced murine colitis." *Br. J. Pharmacol.* **157, 84-99 (2018).**

A. Majikina, K. Takahashi, S. Saito, M. Tominaga, T. Ohta, "Involvement of nociceptive transient receptor potential channels in repellent action of pulegone" *Biochem. Pharmacol.* **151, 89-95 (2018).**

X. Wang, T. Li, M. Kashio, Y. Xu, M. Tominaga, T. Kadowaki, "Hs TRPA of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, functions as a nocisensor and uncovers the evolutionary plasticity of HsTRPA channels" *eNeuro* **5, e0327 (2018).**

S. Derouiche, Y. Takayama, M. Murakami, M. Tominaga, "TRPV4 heats up ANO1-dependent exocrine gland fluid secretion" *FASEB J.* **32, 1841-1854 (2018).**

Y. Nishizawa, K. Takahashi, N. Oguma, M. Tominaga, T. Ohta, "Possible involvement of transient receptor potential ankyrin 1 in Ca^{2+} signaling via T-type Ca^{2+} channel in mouse sensory neurons" *J. Neurosci. Res.* **95, 900-910 (2018).**

D. Utsumi, K. Matsumoto, T. Tsukahara, K. Amagase, M. Tominaga, S. Kato, "Transient receptor potential

vanilloid 1 and transient receptor potential ankyrin 1 contribute to the progression of colonic inflammation in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice: Links to calcitonin gene-related peptide and substance P" *J Pharmacol Sci.* **136**, 121-132 (2018).

H. Wakabayashi, S. Wakisaka, T. Hiraga, K. Hata, R. Nishimura, M. Tominaga, T. Yoneda, "Decreased sensory nerve excitation and bone pain associated with mouse Lewis lung cancer in TRPV1-deficient mice" *J. Bone Miner. Metab.* **36**, 274-285 (2018).

HD. Akashi, S. Saito, AC. Diaz, T. Makino, M. Tominaga, M. Kawata, "Comparisons of behavioral and TRPA1 heat sensitivities in three sympatric Cuban Anolis lizards" *Mol. Eco.* **27**, 2234-2242 (2018).

M. Tsuchiya, Y. Hara, M. Okuda, K. Itoh, R. Nishioka, A. Shiomi, K. Nagao, M. Mori, Y. Mori, J. Ikenouchi, R. Suzuki, M. Tanaka, T. Ohwada, J. Aoki, M. Kanagawa, T. Toda, Y. Nagata, R. Matsuda, Y. Takayama, M. Tominaga, M. Umeda, "Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation" *Nat. Commun.* **9**, 2049 (2018).

Y. Suzuki, D. Chitayat, H. Sawada, MA. Deardorff, HM. McLaughlin, A. Begtrup, K. Millar, J. Harrington, K. Chong, M. Roifman, K. Grand, M. Tominaga, F. Takada, S. Shuster, M. Obara, H. Mutoh, R. Kushima, G. Nishimura, "TRPV6 variants interfere with maternal-fetal calcium transport through the placenta and cause transient neonatal hyperparathyroidism" *Am. J. Hum. Gent.* **102**, 1104-1114 (2018).

F. Fujita, K. Uchida, Y. Takayama, Y. Suzuki, M. Takaishi, M. Tominaga, "Hypotonicity-induced cell swelling activates TRPA1" *J. Physiol. Sci.* **68**, 431-440 (2018).

K. Maruyama, Y. Takayama, Y. Yamanoi, T. Yokawa, T. Kondo, K. Ishibashi, B. Ranjan Sahoo, N. Takemura, Y. Mori, H. Kanemaru, Y. Kumagai, MM. Martino, Y. Yoshioka, H. Nishijo, H. Tanaka, A. Sasaki, N. Ohno, Y. Iwakura, Y. Moriyama, M. Nomura, S. Akira, M. Tominaga, "The ATP transporter VNUT mediates induction of Dectin-1-triggered *Candida* nociception" *iScience* **6**, 306-318 (2018).

Y. Okada, T. Sumioka, K. Ichikawa, H. Sano, A. Nambu, K. Kobayashi, K. Uchida, Y. Suzuki, M. Tominaga, PS. Reinach, S. Hirai, JV. Jester, M. Miyajima, K. Shirai, H. Iwanishi, WW. Kao, C-Y. Liu, S. Saika, "Sensory nerve supports epithelial stem cell function in healing of corneal epithelium in mice: the role of trigeminal nerve transient receptor potential vanilloid 4" *Lab. Invest.* **99**, 210-230 (2019).

T. Kita, K. Uchida, K. Kato, Y. Suzuki, M. Tominaga, J. Yamazaki, "FK506 (tacrolimus) causes pain sensation through the activation of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) channels" *J. Physiol. Sci.* **69**, 305-316 (2019).

T. Shimada, K. Takahashi, M. Tominaga, T. Ohta, "Identification of molecular targets for toxic action by persulfate, an industrial sulfur compound" *Neurotoxicology* **72**: 29-37(2019).

Y. Hirata, Y. Suzuki, M. Tominaga, Y. Oku, "TRPM8 channel is involved in the ventilatory response to CO₂ mediating hypercapnic Ca²⁺ responses" *Respir Physiol. Neurobiol.* **263**, 20-25 (2019).

J. Nakato, YY. Ho, R. Omae, T. Mizushige, K. Uchida, M. Tominaga, M. Kim, T. Goto, N. Takahashi, T. Kawada, S. Akiduki, R. Kanamoto, K. Ohinata, "l-Ornithine and l-lysine stimulate gastrointestinal motility via transient receptor potential vanilloid 1" *Mol Nutr Food Res.* (in press)

HD. Akashi, PJ. Chen, T. Akiyama, Y. Terai, M. Wakakuwa, Y. Takayama, M. Tominaga, K. Arikawa, "Physiological responses of ionotropic histamine receptors, PxHCLA and PxHCLB, to neurotransmitter candidates in a butterfly" *Papilio xuthus. J. Exp. Biol.* (in press)

5) 著書, 総説

K. Uchida, W. Sun, YJ. amasaki, M. Tominaga M, "Role of thermo-sensitive transient receptor potential channels in brown adipose tissue" *Biol. Pharm. Bull.* **41**, 1135-1144 (2018).

J. Liu, T. Sokabe, C. Montell, "Temperature gradient assay to determine thermal preferences of *Drosophila* larvae" *J. Vis. Exp.* 136 (2018)

富永真琴：TRP チャネルと痒み 臨床免疫・アレルギー科 **69**, 362-369 (2018).

富永真琴：侵害受容器 日本医師会雑誌 147 特別号 (1) わかりやすい感覚器疾患 82-83 (2018).

山野井遊、富永真琴：痒みのメカニズム：分子機構と TRP チャネル 神経内科 **89**, 1-7 (2018)

6) 国際会議発表リスト

T. Sokabe, "A unique switch in thermal preference in *Drosophila* larvae depends on rhodopsins/lipases/TRPA1 signal pathway" 59th Annual *Drosophila* Research Conference, Philadelphia (USA), April, 2018.

S. Derouiche, "TRPV4 heats up ANO1 dependent exocrine gland fluid secretion" 7th Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channel World Congress, Alanya (Turkey), April, 2018.

M. Tominaga, "Functional Interaction between Ca²⁺-permeable TRP channels and Ca²⁺-activated chloride channel, anoctamin 1" WCP2018Kyoto (19th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology), Kyoto (Japan), July, 2018.

S. Derouiche, "TRPV4 heats up ANO1 dependent exocrine gland fluid secretion" WCP2018Kyoto (19th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology), Kyoto (Japan), July, 2018.

S. Saito, "Evolutionary changes in the thermosensory system contributed to the acquisition of heat tolerance in *Buergeria japonica* tadpoles inhabiting hot springs" SMBE2018, Yokohama (Japan), July, 2018.

T. Ujisawa, "Simultaneous measurement of thermosensitive TRP channels activity and intracellular temperature" 11th FENS Forum of Neuroscience, Berlin (Germany), July, 2018.

Y. Takayama, "Pain enhancing mechanism through TRPV1-ANO1 interaction and its pharmacological control" The 1st International Symposium on channelopathy and drug discovery, Beijing (China), July, 2018.

T. Sokabe, "Rhodopsins, lipases and trpA1 channel contribute to a unique switch in the thermal preference in *Drosophila melanogaster* larvae" The 13th *Drosophila* Research Conference (JDRC13), Kyoto (Japan), September, 2018.

Y. Takayama, "Interaction between TRP channels and ANO1/TMEM16A in acute and inflammatory pain conditions" WCP2018 (World Congress on Pain), Boston (USA), September, 2018.

Y. Yamanoi, "TRPV3-ANO1 interaction positively regulates wound healing in keratinocytes" WCP2018 (World Congress on Pain), Boston (USA), September, 2018.

Y. Suzuki, "TRPV6 is involved in the maternal-fetal calcium transport in human placenta" 日本薬物動態学会第 33 回年会 / 2018MD0 国際合同学会, Kanazawa (Japan), October, 2018.

M. Tominaga, "TRP channels and itch" 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases, Taipei (Taiwan), October, 2018.

T. Li, "TRP channels and itch" Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes, Taipei (Taiwan), October, 2018.

M. Tominaga, "Structure and Function of Thermosensitive TRP Channels" ICFD2018 (15th International Conference on Flow Dynamics), Sendai (Japan), November, 2018.

M. Tominaga, "TRP channels and evolution" ISMNTOP2018 (The 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception), Fukuoka (Japan), December, 2018.

M. Tominaga, "Physiological significance of thermosensitive TRP channels" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

Y. Suzuki, "TRPV6 mutation cause neonatal transient hyperparathyroidism" FAOPS2019, Kobe (Japan), March,

2019.

S. Saito, "Thermosensory changes in heat resistant tadpoles of Ryukyu kajika frogs inhabiting hot springs" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

Y. Takayama, "TRPV1 and ANO1/TMEM16A interaction in inflammatory pain conditions" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

S. Derouiche, "Involvement of thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

T. Ujisawa, "Simultaneous intracellular temperature imaging during patch-clamp recording of TRPV1 activity" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

T. Li, "Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

X. Feng, "TRPV4 is functionally expressed in cultured mouse Schwann cells" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

H.D.T. Nguyen, "Identification of amino acids involved in the 4-isopropylcyclohexanol action on TRP channels" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

M. Dong, "Functional interaction between TRPM8 and ANO1" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

C.T. Saito, "Characterization of splicing variants of frog TRPA1 revealed divergence in their thermal property" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

Y. Yamanoi, "Role of TRPV3-ANO1 interaction in keratinocyte wound healing" FAOPS2019, Kobe (Japan), March, 2019.

7) 招待講演

M. Tominaga, "Structure and Function of TRPA1" 7th Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channel World Congress, Alanya (Turkey), April, 2018.

富永真琴「食品成分の物理化学センシングと生理機能」、第72回日本栄養・食糧学会大会、岡山、2018年5月。

富永真琴「温度感受性 TRP チャネルと生理機能」、第65回日本実験動物学会総会、富山、2018年5月。

富永真琴「カルシウム透過性の高い温度感受性 TRP チャネルの生理機能」、第63回低温生物工学会大会、さいたま、2018年6月。

富永真琴「温度感受性 TRP チャネルの生理機能 —マウスの行動解析を通して—」、第27回行動薬理若手研究者の集い、岡崎、2018年6月。

富永真琴「温度生物学 TRP チャネルの生理機能と構造」、日本ハイパーサーミア学会第35回大会、福井、2018年8月。

M. Tominaga, "TRP Channels and Nociception" WCP2018(World Congress on Pain), Kyoto(Japan), September, 2018.

富永真琴「TRP チャネルによるスパイス成分の感知」、第40回日本アーユルヴェーダ学会金沢研究総会、金沢、2018年10月。

高山靖規「メントールによる新規鎮痛作用機序の解明」、第9回加藤記念研究助成報告交流会、東京、2018年10月。

富永真琴「温度受容の分子メカニズム」、第71回日本自律神経学会総会、さいたま、2018年10月。

富永真琴「TRP チャネルによるスパイス成分の感知」、第40回日本アーユルヴェーダ学会金沢研究総会、金沢、2018年10月。

富永真琴「神経生理学から見た痒みの実態」、日本アレルギー学会 第5回総合アレルギー講習会、大阪、2018年12月。

富永真琴「温度感受性 TRP チャネルの生理機能」、第 40 回日本動物細胞工学会シンポジウム、東京、2019 年 3 月。

富永真琴「温度生物学 TRP チャネルの生理機能と創薬ターゲットとしての意義」、第 92 回日本薬理学会年会、大阪、2019 年 3 月。

8) 学会および社会的活動

日本生理学会理事 (富永真琴)

日本生理学会集会委員会委員 (富永真琴)

日本生理学会 FAOPS 組織委員会委員 (富永真琴)

日本生理学会 JPS 編集委員会委員 (富永真琴)

日本生理学会会員委員会委員 (富永真琴)

日本疼痛学会理事 (富永真琴)

The Journal of Physiological Sciences, Deputy editor (M. Tominaga)

Journal of Neurochemistry, Editorial board member (handling editor) (M. Tominaga)

Pflüger Archiv European Journal of Physiology, Editorial board member (M. Tominaga)

Molecular Pain, Editorial board member (M. Tominaga)

Chemical Senses, Editorial board member (M. Tominaga)

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

三重大学大学院医学研究科 非常勤講師 (富永真琴)

金沢大学医薬保健学域 非常勤講師 (富永真琴)

九州大学歯学研究院 非常勤講師 (富永真琴)

名古屋市立大学医学部 非常勤講師 (富永真琴)

神戸大学大学院理学研究科 非常勤講師 (富永真琴)

京都大学大学院薬学研究科 非常勤講師 (富永真琴)

順天堂大学環境医学研究所 客員教授 (富永真琴)

10) 受賞、表彰

T. Ujisawa, 11th FENS Forum of Neuroscience, Berlin (Germany), Travel Award (FENS-JNS 若手研究者交流支援プログラム), July, 2018.

11) 外部獲得資金

科学研究費 基盤研究 (A) 「TRP チャネルと anoctamin 連関の構造基盤、生理学的意義の解明と治療戦略」
富永真琴 (代表) (2015 年 -2018 年)

科学研究費 新学術領域研究 (計画) 「温度を基軸とした生命現象の統合的理解」 富永真琴 (代表) (2015 年 -2019 年)

科学研究費 新学術領域研究 (計画) 「TRP チャネルおよび膜脂質による温度センシング機構の解明」 富永真琴 (代表) (2015 年 -2019 年)

科学研究費 新学術領域研究 (国際共同研究加速基金) 「温度生物学の国際研究展開」 富永真琴 (代表) (2015 年 -2019 年)

科学研究費 基盤研究 (B) 「温度生物学を基盤とした新規神経治療パラダイムの創成」 富永真琴 (分担) (2016 年 -2018 年)

科学研究費 基盤研究 (B)「聴覚前庭系に発現するカルシウムチャネルの機能とその薬理学的制御に関する包括的解析」、富永真琴 (分担) (2015 年 -2018 年)

科学研究費 基盤研究 (C)「温度受容において膜タンパク質機能を制御する機能性脂質の同定と解析」曾我部隆彰 (代表) (2018 年 -2020 年)

科学研究費 基盤研究 (C)「古代温度センサーの復元と、ゲノム編集を用いた温度感覚の進化機構の解明」齋藤茂 (代表) (2016 年 -2018 年)

科学研究費 若手研究 (B)「新規 ANO1 阻害剤の発見とその鎮痛作用機序の解明」、高山靖規 (代表) (2017 年 -2019 年)

科学研究費 若手研究「細胞内温度と細胞膜活性化 TRP チャネル電流の同時計測」宇治澤知代 (代表) (2018 年 -2019 年)

科学研究費 基盤研究 (B)「ピエゾチャネルによる骨格筋機械的刺激受容とその活性化による新規骨格筋増強策の開発」鈴木喜郎 (分担) (2018 年 -2021 年)

1-2 金属生命科学研究グループ

青野 重利（教授）

吉岡 資郎（助教）～2018.10.

村木 則文（助教）

1) 専門領域：生物無機化学

2) 研究課題：

a) ヒドロゲナーゼ生成に関与するタンパク質の構造機能相関解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) ヒドロゲナーゼは、多くの原核生物や一部の真核生物に含まれる金属酵素であり、水素代謝反応の中心的な役割を担っている。ヒドロゲナーゼは、その活性中心を構成する金属種の違いにより、[FeFe]型ヒドロゲナーゼ、[NiFe]型ヒドロゲナーゼ、[Fe]型ヒドロゲナーゼの3種に大別される。これらのうち、[NiFe]型ヒドロゲナーゼ中には、2分子のCN⁻と1分子のCOが配位したFeと、2つのCys残基が配位したNiが、2つのCys残基により架橋されたNiFe二核クラスターが存在しており、この二核クラスターが[NiFe]型ヒドロゲナーゼの活性中心として機能している。活性中心であるNi-Fe二核金属錯体の形成を始めとし、Feに配位したCN⁻やCOの生合成にも一連のアクセサリタンパク質が関与しているが、それらの詳細な反応機構については、不明な点が多く残されている。[NiFe]型ヒドロゲナーゼの活性中心として機能するNi-Fe二核金属錯体の骨格構造の一部であるFe(CO)(CN)₂ユニットは、まず足場タンパク質（scaffold protein）として機能するHypCD複合体中で組み立てられ、ヒドロゲナーゼのlarge subunitへと輸送されると推定されている。本年度の研究では、Fe(CO)(CN)₂ユニットの構成要素であるCOの生合成に関与すると推定されるアクセサリタンパク質HypXの結晶構造解析に成功し、得られた構造情報を基に、CO生合成反応の分子機構を明らかにした。HypXは、10-formyltetrahydrofolate dehydrogenaseと相同性を示すN末ドメインと、enoyl-CoA hydratase/isomeraseと相同性を示すC末ドメインから構成されていることがわかった。N末ドメインは、リンカーで連結された二つのサブドメイン（サブドメインA：残基1～151、サブドメインB：残基182～270）から構成されていた。サブドメインAは、6本のβストランドと5本のαヘリックスから構成されており、6本のβストランドからなるmixed parallel β-sheetとそれを両側から挟む2本のαヘリックス2組が、Rossmann foldを形成していた。19残基からなるループで連結されたN末ドメインとC末ドメイン間には、極性アミノ酸同士による15個の水素結合と、水分子を介した17個の水素結合が存在していた。HypX内部には、N末ドメインからC末ドメインまで連続したキャビティーが存在しており、分子表面に開いた2つの開口部がキャビティーへの入口となっていた。本キャビティーのC末ドメイン領域には、CoA分子が結合していることがわかった。野生型HypXの結晶をテトラヒドロ葉酸（THF）にソーキングすることにより、N末ドメイン中のキャビティーにTHFが結合したTHF-CoA結合型HypXを調製し、その結晶構造の決定にも成功した。HypXのN末ドメインの構造は、N¹⁰-formyl-THFを基質とするホルミル基転移酵素と高い構造相同性を示すことから、HypXによるCO生成反応においてもN¹⁰-formyl-THFが基質となっているものと考えられる。HypXとホルミル基転移酵素との構造比較の結果、N¹⁰-formyl-THFを基質とするHypXの酵素反応においては、His74, Asp80, Asp109の3残基が触媒残基として機能していると考えられる。HypX変異体の構造解析、およびMDシミュレーションの結果、HypX中に結合しているCoAは、二つの異なるコンフォメーション(open

型および closed 型)を取り得ることがわかった。HypX による CO 生成反応では, まず open 型コンフォメーションをとった CoA と N 末ドメインに結合した N¹⁰-formyl-THF との間でホルミル基転位反応が進行する。その結果生成した formyl-CoA が open 型から closed 型へとコンフォメーション変化し, C 末ドメイン中で CO 生成反応が進行するものと考えられる。

4) 学術論文

A. Pavlou, H. Yoshimura, S. Aono and E. Pinakoulaki, "Protein Dynamics of the Sensor Protein HemAT as Probed by Time-Resolved Step-Scan FTIR Spectroscopy," *Biophys. J.* **114**, 584-591 (2018).

5) 著書

青野重利, "遷移金属含有型ガス分子センサータンパク質によるシグナルセンシング," *生化学*, **90**, 290-296 (2018).

S. Aono, "Overview of Gas-sensing Systems," in *Gas Sensing in Cells*, S. Aono, Ed., RSC Publishing; Cambridge, Chapter 1, pp. 1-14 (2018).

S. Aono, "Haem-based Sensors of Carbon Monoxide," in *Gas Sensing in Cells*, S. Aono, Ed., RSC Publishing; Cambridge, Chapter 4, pp. 84-135 (2018).

6) 国際会議発表リスト

S. Aono, "Structural Basis for Transcriptional Regulation of Heme Homeostasis in *Lactococcus lactis*," 2018 Korea-Taiwan-Japan Bioinorganic Chemistry Symposium, Daejeon (Korea), May 2018.

S. Aono, "Structural analyses of the heme uptake machinery in *Corynebacterium glutamicum*," 10th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-10), Munich (Germany), July 2018.

S. Aono, N. Muraki, "Structural Basis of the Regulation of Heme Acquisition in *Corynebacterium glutamicum*," 11th International Biometals Symposium, Ottawa, Canada, July 2018.

S. Aono, "Regulation of protein function by oxygen binding to heme in the heme-based sensor domain," EMBO Workshop, Enzymes, Biocatalysis and Chemical Biology, Pavia, Italy, September 2018.

S. Aono, "Structure and function of transcriptional regulator adopting heme as a signaling molecule," 9th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC-9), Singapore (Singapore), December 2018.

7) 招待講演

S. Aono, "Structural Basis for Transcriptional Regulation of Heme Homeostasis in *Lactococcus lactis*," 2018 Korea-Taiwan-Japan Bioinorganic Chemistry Symposium, Daejeon (Korea), May 2018.

S. Aono, "Structural analyses of the heme uptake machinery in *Corynebacterium glutamicum*," 10th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-10), Munich (Germany), July 2018.

S. Aono, "Structure and function of transcriptional regulator adopting heme as a signaling molecule," 9th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC-9), Singapore (Singapore), December 2018.

8) 学会および社会的活動

学会誌編集委員

Biosensors, Editorial Board (2010-2018). (青野重利)

Chemistry Letters, Section Editor (2013-). (青野重利)

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究 (B), 「新規な遷移金属含有型センサータンパク質の構造機能相関解明」, 青野重利 (2017 年 -2020 年).

1-3 神経ネットワーク創発研究グループ

東島 真一（教授）

木村有希子（助教）

1) 専門領域：神経科学

2) 研究課題：

a) ゼブラフィッシュを用いた、運動系神経回路の動作機構の解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

行動を作り出す際の中枢神経系神経回路の動作様式を、単一神経細胞レベルの解像度で明らかにすることは、神経科学の大きな目標の1つである。当研究部門は、シンプルな中枢神経系を持つ小型魚類ゼブラフィッシュ幼魚を用い、動物の行動が作り出される際の、脊髄・脳幹運動神経系の動作様式の解明を目指して研究を進めている。

シンプルなゼブラフィッシュ幼魚といえども、脊髄・脳幹には非常に多種多様の神経細胞が存在する。回路の動作様式を理解するためには神経細胞のタイプごとにその配線、および活動パターンを調べる必要がある。この目的のため、当部門は、特定の種類の神経細胞で蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを作製して、それら神経細胞を生きたまま可視化することを方法論の中心に据えて研究している。独自にCRISPR-Cas9による高効率ノックイン法を開発し、多数のトランスジェニックフィッシュを作製し、それらを用いて、神経回路の解析を進めてきた。2018年度は特に、(1) 転写因子En1を発現する神経細胞に関する解析；(2) 胸びれリズム運動を司る脊髄内神経回路の解析；(3) 左右非対称な逃避行動を可能にせしめる脳幹内相反抑制回路、の3つの課題を中心に研究を進めた。以下、それぞれの研究について記載する。

(1) 転写因子En1を発現する神経細胞に関する解析

脊髄En1ニューロンにジフテリア毒素を発現させることにより、神経回路中から除去した。得られた幼魚は、遊泳運動のスピードが全般的に遅くなっていることにより、En1ニューロンは、遊泳運動のスピード調節に関わっていることが明らかとなった。この表現型に加えて、運動の強弱を切り替える際に、活性化されるニューロン群の切り替えに重篤な異常をきたしていることが分かった。野生型では、強い（速い）運動を行う際に、遅い運動の際にもっぱら活性化されるニューロン群の活動は抑えられている。一方、En1ニューロンを除去した幼魚では、強い運動を行う際に、遅い運動の際に活性化されるニューロン群も同時に活性化してしまっていた。この結果は、En1ニューロンが、強い運動の際には、遅い運動に関わるニューロン群の活動を積極的に抑制して、ギアを切り替えるのに重要な役割を果たしていることを示している。

(2) 胸びれリズム運動を司る脊髄内神経回路の解析

ゼブラフィッシュ幼魚の胸びれ運動は外転筋と内転筋の二つの筋肉で制御され、非常に単純な構造だが、哺乳類の四肢などと共通の、屈筋と伸筋の協調、左右の運動器の協調という性質を示す。

外転筋運動ニューロン（Ab-MN）と内転筋運動ニューロン（Ad-MN）は異なるタイミングで発火すること、どちらも興奮性シナプス入力と抑制性シナプス入力を受けて、発火タイミングが限定されることが明らかになった。また転写因子dmrt3を発現するニューロン（dmrt3ニューロン）が直接Ab-MNに抑制性のシナ

プス入力をすることや、dmrt3 ニューロンを破壊すると Ab-MN の発火タイミングが変化することが分かった。このことから、dmrt3 ニューロンが Ab-MN の制御に関わる直接の上流ニューロンであると強く示唆された。

(3) 左右非対称な逃避行動を可能にせしめる脳幹内相反抑制回路

多くの動物は中枢神経系 (central nervous system, CNS) は基本的に左右対称であるが、多くの局面でその神経系を体の左右で非対称的に活動させて、書字や投球などの利き手の運動や遊泳や歩行などの移動運動を含む様々な左右非対称の運動を生み出している。このような CNS の左右非対称な活動を実現するには、左右間で相互に抑制する“相反抑制 (reciprocal inhibition)”が重要だと信じられている。しかし、一般的に脊椎動物の中枢神経系は複雑であるために、相反抑制の詳細な回路構成や行動への寄与は不明瞭であった。そこで、本研究ではゼブラフィッシュの後脳にあるマウスナー (M) 細胞が構成する相反抑制回路に着目した。M 細胞は硬骨魚類の後脳に左右一対あるニューロンで、音などの刺激を受けると、原則的にどちらか一方の M 細胞が発火し、逃避運動を駆動する。この逃避運動の初期位相は胴体を“C”の字に屈曲 (C-bend) する典型的な左右非対称運動が観察される。この運動は左右対称な構造を持った脳が左右非対称な活動を生み出す回路構成や相反抑制の機能を調べる上で有用なモデルである。本研究では左右の M 細胞間に存在する相反抑制回路の構成を単一細胞レベルで調べた。さらに電気生理学的解析、イメージングおよび行動学的な解析で、この相反抑制回路が左右非対称運動を生み出す上で重要であること、相反抑制回路は脳と脊髄で多重に存在し高度に運動制御をしていることを明らかにした。

4) 学術論文

T. Shimazaki, M. Tanimoto, Y. Oda, and S. Higashijima. "Behavioral role of the reciprocal inhibition between a pair of Mauthner cells during fast escapes in zebrafish" *Journal of Neuroscience* **39**, 1182-1194 (2019). doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1964-18.2018.

I. Watakabe, H. Hashimoto, Y. Kimura, S. Yokoi, K. Naruse, and S. Higashijima. "Highly efficient generation of knock-in transgenic medaka by CRISPR/Cas9-mediated genome engineering" *Zoological Letters* **4**, Article 3 (2018). doi: 10.1186/s40851-017-0086-3.

8) 学会および社会的活動

日本神経科学会会員 (東島眞一)

日本発生生物学会会員 (東島眞一)

日本分子生物学会会員 (東島眞一)

Society for Neuroscience (SfN) 会員 (東島眞一)

11) 外部獲得資金

科研費国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化 (B))、「ゼブラフィッシュを用いた脊椎動物の姿勢制御神経回路メカニズムの解析」、東島眞一 (代表) (2018 年 -2020 年)

科研費新学術領域研究、「ターゲット捕獲運動における、運動系神経回路動作様式の解明」、東島眞一 (代表) (2017 年 -2018 年)

公益財団法人豊秋奨学会研究助成、「脊髄運動系神経回路発達における、セロトニン作動性ニューロンの役割の解析」(代表) (2017 年 -2018 年)

科研費基盤研究 (C)、「後脳分節に基づいたモチーフ回路の形成過程」、東島眞一 (分担; 代表、小田洋一) (2016 年 -2018 年)

ナショナルバイオリソースプロジェクト、「ゼブラフィッシュの収集、保存、提供」、東島眞一 (分担; 代

表、岡本仁）（2017-2021 年）

科研費基盤研究 (C)、「ゼブラフィッシュを用いた、前庭脊髄路による脊髄運動系回路制御機構の解明」、
木村有希子（代表）（2016 年 -2018 年）

1-4 神経分子動態生物学研究グループ

椎名 伸之（准教授）

中山 啓（助教）

1) 専門領域：細胞生物学・神経科学

2) 研究課題：

- a) RNA 顆粒の液相・固相サブドメインの形成機構に関する研究
- b) シナプス形成に関与する Arf 制御因子 mRNA の樹状突起局在に関する研究
- c) 翻訳制御因子 NFAR2 の天然変性領域欠損マウスの網羅的行動解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) RNA 顆粒は膜で包まれていない RNA-タンパク質（RNP）複合体であり、動的な液相様の「シェル」の内部に不動性の高い固相様の「コア」を含んでいる。RNA 顆粒動態の異常は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）や前頭側頭葉変性症認知症（FTLD）などの神経変性疾患と関連しており、それら疾患では RNA 顆粒成分の固相化・凝集化がニューロンにおいて亢進している。しかしながら、これら液相様および固相様のサブドメインがどのように形成されるか、例えば、それらのサブドメインは異なるタンパク質から成るのか、また、異なる足場タンパク質が異なるサブドメインの形成を誘導するのか、といった点は不明であった。そこで RNA 顆粒形成の足場タンパク質 8 種類を GFP および RFP タグ化タンパク質として培養細胞に発現し、蛍光イメージングによる形態学的および分子動態学的解析を行うことにより、足場タンパク質がどのような物性の RNA 顆粒を形成するかを調べた。足場タンパク質は単独で培養細胞に発現した場合、液相様あるいは固相様顆粒の形成を誘導する 2 つの群、すなわち液相タイプ群と固相タイプ群に大別できることを見出した。液相様顆粒は RNG105（別名 Caprin1）、G3BP1、および TDP-43 によって誘導され、固相様顆粒は FUS、FMR1、Pumilio1、TIA-1、および TIAR によって誘導された。さらに、2 種類の足場タンパク質を同時に発現すると、液相タイプと固相タイプの足場タンパク質が同一の顆粒に集積して、顆粒内部にそれぞれ液相様および固相様のサブドメインを形成することがわかった。この集積によって、固相タイプの足場タンパク質が本来持つ不動的な性質および顆粒中での濃度依存的な翻訳阻害能は低下したが、液相タイプの足場タンパク質が持つ動的な性質および顆粒中での濃度依存的な翻訳活性化能はほとんど影響を受けなかった。これらの結果は、液相タイプと固相タイプの足場タンパク質が RNA 顆粒中で異なるサブドメイン構造を形成し、液相タイプの足場タンパク質は固相タイプの足場タンパク質の固相化・凝集化を抑制することを示唆した。以上により、RNA 顆粒中のコアおよびシェルのサブドメイン構造の集合機構ならびに異なる動態・機能に関する新たな知見を提示した。

b) 神経樹状突起における局所的タンパク質合成は、シナプス可塑性および長期記憶形成において重要な役割を果たす。樹状突起において局所的翻訳を起こすためには、mRNA が樹状突起に局在化することが必要である。RNG105 は RNA 顆粒に局在する主要な RNA 結合タンパク質であり、マウスにおける RNG105 の欠損は、長期記憶および社会性などの高次脳機能の障害をもたらす。我々は以前、RNG105 欠損マウスの海馬の樹状突起層において、多くの特異的 mRNA、特に ADP リボシル化因子（Arf）調節因子である Arf GEF および Arf GAP の mRNA の局在が減少することを見出した。

そこで、1) Arf GEF, GAP の mRNA が樹状突起に局在化する、2) Arf GEF, GAP が樹状突起上のシナプス（スパイン）の形成に関与する、の 2 点の仮説について検証を行った。まず、マウス大脳由来の初代培養ニュー

ロンにおける Arf 調節因子 mRNA 8 種類の樹状突起局在を MS2-GFP タグシステムを用いて可視化・定量化した。その結果、Arf GEF mRNA と Arf GAP mRNA は異なる様式で樹状突起に局在することがわかった。すなわち、2 種類の Arf GEF mRNA は KCl 刺激によるニューロン脱分極とは無関係に樹状突起に局在し、6 種類の Arf GAP mRNA は KCl 刺激依存的に樹状突起に局在した。次に、初代培養ニューロンにおける樹状突起スパインの形成に対する Arf 調節因子の shRNA ノックダウンによる効果を解析した。その結果、Arf GEF および GAP は 2 つの群に分類されることが示された。1 つのグループは、スパイン形成および成熟を正に調節し、他方のグループは未成熟スパイン形成を負に調節した。これらの結果は、Arf GEF と GAP の両方が、特定のタイミングで樹状突起に局在することにより、スパインの形成と成熟の調節に役割を果たすことを示唆した。

c) 三次元構造を形成しない天然変性領域 (IDR) を有する RNA 結合タンパク質は、RNP 複合体の集合および翻訳調節において重要な役割を果たすことが明らかにされている。しかし、IDR の生理的意義に関しては不明な点が多く、我々は IDR を有する RNA 結合タンパク質 NFAR2 に注目してその解明に取り組んだ。NFAR1 および NFAR2 は単一の *ILF3* 遺伝子から転写されるスプライシングバリエーションであり、結合 mRNA の翻訳をストレス (例えば酸化ストレス) 依存的に阻害する点で共通の活性を有する。しかし、NFAR2 のみが IDR を有し、RNA 顆粒に局在し得るという点で両者は異なる。NFAR2 の IDR のみを欠損させるために、*ILF3* 遺伝子の IDR をコードするエクソンに終止コドンを導入した NFAR2 Δ IDR マウスを作製した。網羅的行動解析により、NFAR2 Δ IDR マウスは体重減少、体温上昇、活動亢進、不安様行動の減少、および驚愕反応の減少といった表現型を示すことがわかった。学習および記憶に関しては、NFAR2 Δ IDR マウスは、恐怖条件付け学習において長期記憶の低下を示したが、空間学習においては記憶の異常は認められなかった。さらに、脳内に酸化ストレスを誘発することが知られている慢性的拘束水浸ストレスは、NFAR2 Δ IDR マウスの空間学習に影響を与えることなく、恐怖条件付け学習のみを悪化させた。これらの結果は、NFAR2 の IDR がストレス条件下での恐怖条件付け学習のような特定の脳機能に関与することを示唆した。

4) 学術論文

N. Shiina, "Liquid- and solid-like RNA granules form through specific scaffold proteins and combine into biphasic granules" *J. Biol. Chem.*, **294**, 3532–3548 (2019).

6) 国際会議発表リスト

R. Ohashi, Y. Shinoda, S. Shigenobu, Y. Kimori, T. Furuichi, N. Shiina, "Reduced dendritic mRNA localization and AMPAR surface expression by RNG105/caprin1 deficiency" Society for Neuroscience Annual Meeting 2018, San Diego (USA), November, 2018.

K. Nakayama, M. Abe, M. Yamazaki, A. Fujikawa, M. Noda, A. Futatsugi, K. Mikoshiba, K. Sakimura, N. Shiina, "RNG105/caprin1, an RNA granule protein, regulates structural spine plasticity and is required for long-term memory formation" Society for Neuroscience Annual Meeting 2018, San Diego (USA), November, 2018.

7) 招待講演

椎名伸之 "mRNA transport regulatory factor RNG105/caprin1 is essential for long-term memory" 第 41 回日本分子生物学会年会、横浜、2018 年 11 月。

椎名伸之「長期記憶形成を担う mRNA 輸送・局所的翻訳機構」、長寿研認知症先端医療開発センターセミナー、大府、2018 年 6 月。

椎名伸之「mRNA 輸送制御因子 RNG105/caprin1 による長期記憶形成メカニズム」、生理学研究所研究会、岡崎、

2018 年 9 月 .

8) 学会および社会的活動

日本分子生物学会会員、日本神経科学会会員、Society for Neuroscience 会員
Biomolecules 誌 Guest Editor (椎名)

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

名古屋市立大学大学院薬学研究科客員准教授 (椎名)

10) 受賞、表彰

山下映, ExCELLS Retreat for Young Scientists 2018, Best Poster Prize (2019 年 1 月)

大橋りえ, The School of Life Science Dean's Award, 総合研究大学院大学 (2019 年 3 月)

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究 (C)、「樹状突起 mRNA 輸送・局所的翻訳と記憶形成を繋ぐ分子メカニズムの解明」、椎名伸之 (代表) (2016 年 -2018 年) .

科研費基盤研究 (C)、「シナプス可塑的变化におけるタンパク質供給機構の解明」、中山啓 (代表) (2018 年 -2020 年) .

特別研究員奨励費、「神経樹状突起内 mRNA 輸送・局所的翻訳による学習・記憶の分子機構」大橋りえ (代表) (2016 年 -2018 年) .

岡崎統合バイオサイエンスセンター オリオン公募研究、「mRNA 輸送・局所的翻訳と学習・記憶を繋ぐ分子機構の解明」椎名伸之 (代表) (2016 年 -2018 年) .

1-5 心循環ダイナミズム創発研究グループ

西田 基宏（教授）

富田 拓郎（助教）

西村 明幸（特任助教）～2018.8

田中 智弘（特任助教）

1) 専門領域：生理学、薬理学

2) 研究課題：

a) ミトコンドリアの質管理における細胞内イオウ代謝の重要性の解明

b) 筋細胞リモデリングにおける非選択的カチオンチャネル TRPC の重要性の解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 環境化学物質曝露によるミトコンドリア過剰分裂と心疾患リスク増加の分子機構

普段、我々が口にする食事や大気中には微量の環境親電子物質が含まれており、環境親電子物質の累積が健康被害をもたらす可能性が指摘されている。水俣病の原因であるメチル水銀もマグロなどに含まれており、この微量メチル水銀を1週間曝露させ続けたマウスに大動脈狭窄を行ったところ、マウスの生存率が劇的に低下した。メチル水銀曝露マウス心臓では、ミトコンドリアが著しく分裂しており、これは Drp1-filamin 相互作用阻害剤であるシルニジピンを投与することで抑制された。メチル水銀は Drp1 の C 端側に存在する Cys624 のポリイオウ鎖からイオウを奪い取ることで filamin との相互作用を増強させることも明らかとなり、環境親電子センサーとしてのタンパク質ポリイオウ鎖の新たな役割が示された (Science Signal., in revision)。

b) (1) TRPC5-eNOS 共役による心肥大制御機構の解明

心筋細胞における Ca^{2+} 依存性転写因子 NFAT (nuclear factor of activated T cells) の活性化は心肥大を起こすことが知られている。ノルアドレナリン、アンジオテンシン II、エンドセリン 1 など様々なリガンド刺激で NFAT が活性化され、心肥大が誘発されることが報告されている一方で、NFAT を最も強く活性化するアデノシン 5' -三リン酸 (ATP) は心肥大を全く誘発しない。その機序として、プリン作動性 P2Y2 受容体の下流で TRPC5 チャネルの活性化を介した一酸化窒素 (NO) の産生増加が関与することを見出した。TRPC5 は内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) と機能共役することで、ATP 刺激による NFAT 依存的な心肥大誘導シグナルを負に制御することが明らかとなった。

(2) ドキソルビシン心筋症を仲介する TRPC3-Nox2 複合体を阻害する既承認薬の同定

ドキソルビシン (DOX) は様々な悪性腫瘍に有効な抗腫瘍薬である一方で、重篤な心毒性 (心筋萎縮) を誘発する。昨年、DOX 誘発性の心不全が TRPC3-Nox2 機能連関により仲介されることを報告した (JCI insight, 2017)。TRPC3 と Nox2 はマクロファージに多く発現していることから、Raw264.7 細胞株のドキソルビシン誘発性細胞死を指標に、1270 種類の既承認薬の中から TRPC3-Nox2 機能共役を抑制する化合物の探索を行ったところ、イブジラスト (商品名ケタス、適応疾患：気管支喘息) を新たに同定した。イブジラストはドキソルビシン投与によるマウスの体重および組織重量の低下や酸化ストレス障害を有意に抑制した。以上の結果は、TRPC3-Nox2 複合体が抗がん剤投与による筋組織萎縮の原因となり、薬理的にこれを抑制することが全身毒性を軽減する新たな治療戦略となる可能性を示している。

(3) 高濃度 ATP 曝露による心筋萎縮のメカニズム

筋萎縮はサルコペニアやフレイルに見られる主症状であり、その予防・治療戦略の構築が求められている。ラット新生児心筋細胞に高濃度の ATP 刺激を行うと心筋は萎縮する。その機構に TRPC3-Nox2 複合体の活性化が関与することを見出した。高濃度 ATP 曝露により P2Y2 受容体を介して TRPC3-Nox2 複合体が活性化され、活性酸素生成に依存して筋萎縮マーカータンパク質 MAFbx の発現が増加することを見出した。グルコース除去や栄養飢餓を施した際に起こる ATP 放出によっても、P2Y2 受容体-TRPC3-Nox2 複合体が活性化され、心筋萎縮が起こることも明らかとなった (Sci. Rep., in revision)。

4) 学術論文

K. Masuda, H. Tsutsuki, S. Kasamatsu, T. Ida, T. Takata, K. Sugiura, M. Nishida, Y. Watanabe, T. Sawa, T. Akaike, H. Ihara, “Involvement of nitric oxide/reactive oxygen species signaling via 8-nitro-cGMP formation in 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced neurotoxicity in PC12 cells and rat cerebellar granule neurons” *Biochem Biophys Res Commun.* **495**, 2165-2170 (2018).

C. Sunggip, K. Shimoda, S. Oda, T. Tanaka, K. Nishiyama, S. Mangmool, A. Nishimura, T. Numaga-Tomita, M. Nishida, “TRPC5-eNOS axis negatively regulates ATP-induced cardiomyocyte hypertrophy” *Front. Pharmacol.* **9**, 523 (2018).

A. Nishimura, T. Shimauchi, T. Tanaka, K. Shimoda, T. Toyama, N. Kitajima, T. Ishikawa, N. Shindo, T. Numaga-Tomita, S. Yasuda, Y. Sato, K. Kuwahara, Y. Kumagai, T. Akaike, T. Ide, A. Ojida, Y. Mori, M. Nishida, “Hypoxia-induced interaction of filamin with Drp1 causes mitochondrial hyperfission-associated myocardial senescence” *Science Signaling* **11**, 556 (2018).

W. Parichatikanond, A. Nishimura, M. Nishida, S. Mangmool, “Prolonged stimulation of β 2-adrenergic receptor with β 2-agonists impairs insulin actions in H9c2 cells” *J. Pharmacol. Sci.* **138**, 184-191 (2018).

H. Ihara, Y. Kakihana, A. Yamakage, K. Kai, T. Shibata, M. Nishida, K.I. Yamada, K. Uchida, “2-Oxo-histidine-containing dipeptides are functional oxidation products” *J. Biol. Chem.* **30**, pii: jbc.RA118.006111 (2018).

5) 著書, 総説

英文総説

T. Sawa, K. Ono, H. Tsutsuki, T. Zhang, T. Ida, M. Nishida, T. Akaike, “Reactive Cysteine Persulphides: Occurrence, Biosynthesis, Antioxidant Activity, Methodologies, and Bacterial Persulphide Signalling” *Adv Microb Physiol.* **72**, 1-28 (2018).

T. Numaga-Tomita, S. Oda, K. Nishiyama, T. Tanaka, A. Nishimura, M. Nishida, “TRPC channels in exercise-mimetic therapy” *Pflügers Archiv – Eur. J. Physiol.* (2018). 471(3):507-517

T. Tanaka, A. Nishimura, K. Nishiyama, T. Goto, T. Numaga-Tomita, M. Nishida. “Mitochondrial dynamics in exercise physiology” *Pflügers Archiv – Eur. J. Physiol.* (2019). In press.[Epub ahead of print]

和文総説

西村明幸、西田基宏、 活性イオウによる心筋早期老化制御 DOJIN NEWS **165**, 1-5, (2018) .

西田基宏、西村明幸、西山和宏、田中智弘 (2018) 活性イオウによるミトコンドリア品質管理と心疾患リスク制御 硫酸と工業 **71**, 65-72, (2018).

小田紗矢香、下田翔、富田拓郎、西田基宏 (2018) アントラサイクリンによる心筋傷害のメカニズム UPDATE 循環器内科 **83**, 554-559, (2018).

西田基宏、西村明幸、下田翔 (2018) 活性イオウによるミトコンドリア機能制御 実験医学 **36**, 663-668, (2018).

小田紗矢香、富田拓郎、西田基宏 (2018) 運動模倣薬の新たなストラテジー YAKUGAKU ZASSHI **138**,

1257-1262, (2018).

西田基宏、西村明幸、西山和宏 (2018) 心臓リモデリングを制御する G タンパク質／受容体シグナリング 日本臨牀増刊「心不全 (第 2 版) 上巻－最新の基礎・臨床研究の進歩－」 76, (2018).

6) 国際会議発表リスト

M. Nishida, “Cardiovascular Aging Regulated by Heterodimerization of Angiotensin AT1 Receptor with Purinergic P2Y6 Receptor” Angiotensin Gordon Research Conference 2018, Ventura (CA, USA), February 2018.

M. Nishida, “TRPC channels in cardiac plasticity” 2018 Annual Spring Scientific Conference of the Korean Society of Cardiology (Daejeon, Korea), April 2018.

M. Nishida, “Mitochondrial metabolic regulation by reactive sulfide species” IUBMB (Seoul, Korea), June 2018.

M. Nishida, “TRPC3 channels as a key regulator of cardiac plasticity” The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018, Kyoto), July 2018.

M. Nishida, “Mitochondrial quality control and its metabolic regulation by reactive persulfide species” the International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology (KSMCB2018, Seoul, Korea), Sep 2018.

M. Nishida, “New strategies of drug repositioning for the maintenance of mitochondrial quality” Symposium in Inje University ‘Interactions. Dynamic rescue of affected mitochondria (Dream)’ (Inje University, Busan, Korea), Dec 2018.

T. Numaga-Tomita, Inhibition of TRPC6 promotes capillary arterIALIZATION during post-ischemic blood flow recovery” The 49th NIPS International Symposium (Aichi), December 2018.

T. Numaga-Tomita, “Physiological and pathophysiological significance of TRPC3-Nox2 coupling in the heart” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS, Kobe), March 2019.

T. Numaga-Tomita, “Importance of receptor-activated Ca^{2+} influx in wound healing” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS, Kobe), March 2019.

A. Nishimura, “Age-dependent dimer formation of AT1R and P2Y6R promotes angiotensin II-induced” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS, Kobe), March 2019.

T. Tanaka, “Pathology-dependent mitochondria-cytoskeleton interaction in amyotrophic lateral sclerosis” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS, Kobe), March 2019.

S. Oda, “Physiological role of TRPC6 upregulation in hyperglycemic rodent heart” The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018, Kyoto), July 2018.

S. Oda, “Physiological role of TRPC6 upregulation in hyperglycemic rodent hearts” The 49th NIPS International Symposium (Aichi), December 2018.

S. Oda, “Physiological role of TRPC6 upregulation in hyperglycemia-exposed mice hearts” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS, Kobe), March 2019.

K. Shimoda, “P2Y6 receptor exacerbates pressure overload-induced heart failure in mice” The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018, Kyoto), July 2018.

K. Shimoda, “P2Y6 receptor antagonist MRS2578 induces atypical signaling” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS, Kobe), March 2019.

7) 招待講演

西田基宏 心筋恒常性のレドックス制御. 第 15 回レドックス・ライフイノベーションシンポジウム、東京、2018 年 3 月

西田基宏 Ca^{2+} チャネル研究から見てきたドラッグ・リポジショニング. 第 17 回九州脳・高血圧・循環

制御研究会， 福岡、2018 年 7 月

西田基宏 GPCR/G タンパク質のレドックス修飾に着目した創薬．レドックス・ライフイノベーション第 170 委員会 / 日本におけるケミカルバイオロジーの新展開第 189 委員会合同シンポジウム、東京、2018 年 10 月

M. Nishida, “Cardiovascular Aging Regulated by Heterodimerization of Angiotensin AT1 Receptor with Purinergic P2Y6 Receptor” Angiotensin Gordon Research Conference 2018, Ventura (CA, USA), February 2018.

M. Nishida, “TRPC channels in cardiac plasticity” 2018 Annual Spring Scientific Conference of the Korean Society of Cardiology (Daejeon, Korea), April 2018.

M. Nishida, “Mitochondrial metabolic regulation by reactive sulfide species” IUBMB (Seoul, Korea), June 2018.

M. Nishida, “TRPC3 channels as a key regulator of cardiac plasticity” The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018, Kyoto), July 2018.

M. Nishida, “Mitochondrial quality control and its metabolic regulation by reactive persulfide species” the International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology (KSMCB2018, Seoul, Korea), Sep 2018.

M. Nishida, “New strategies of drug repositioning for the maintenance of mitochondrial quality” Symposium in Inje University ‘Interactions. Dynamic rescue of affected mitochondria (Dream)’ (Inje University, Busan, Korea), Dec 2018.

8) 学会および社会的活動

西田基宏

日本薬理学会評議員、日本循環薬理学会幹事、日本生理学会評議員、日本薬学会会員（ファルマシア編集委員・Biol. Pharm. Bull. 誌 Editor・九州支部会幹事）、日本 NO 学会（理事）、日本酸化ストレス学会（評議員・東海支部会幹事）、日本毒性学会評議員、心脈管作動物質学会評議員、国際心臓研究学会（ISHR）日本部会評議員、日本生化学会会員

出前講義；

岡崎市立翔南中学校「ミクロの世界から心臓を知る」、西田基宏（2018 年 11 月）

市民公開講座；

岡崎市国研セミナー「心臓の働きから健康長寿を考える」、西田基宏（2018 年 11 月）

第 71 回日本薬理学会西南部会・市民公開講座「薬物治療の疑問に答える 4 つの話」（福岡、福岡朝日ビル）

「心臓にコミットする：心臓を鍛えるのに、いい薬はありませんか？」、西田基宏（2018 年 11 月）

第 34 回生理研市民講座「脳の不思議とサイエンス」（岡崎、げんき館）「いくつ知ってる？トリビアからひも解く心臓のすごさ」、富田拓郎（2018 年 7 月）

プレス発表；

降圧剤を心不全治療薬に応用「ミトコンドリアの過剰分裂抑制」、科学新聞 1 面（2018 年 11 月）

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

西田基宏；

名古屋市立大学大学院薬学系研究科・客員教授

タイ・マヒドール大学大学院薬学系研究科・客員教授

10) 受賞、表彰

西田基宏 平成 30 年 5 月 第 71 回 日本酸化ストレス学会 2018 年度学術賞受賞「心臓の可塑性を制御するレドックスシグナル伝達機構」

西村明幸 平成 30 年 5 月 18 日 第 18 回日本 NO 学会学術集会 Young Investigation Awards 最優秀賞

「Drp1-Filamin A 相互作用による心筋ミトコンドリアの品質管理機構」

小田紗矢香 平成 30 年 9 月 1 日 第 17 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム 2018 優秀発表賞 「心臓における脂質活性化型 TRPC6 チャンネルの生理的役割」

小田紗矢香 平成 30 年 9 月 22 日 第 2 回日本循環器学会基礎研究フォーラム Poster Award

「Physiological role of TRPC6 upregulation in hyperglycemic rodent hearts」

小田紗矢香 平成 31 年 3 月 14 日 第 92 回日本薬理学会年会 学生優秀発表賞 「TRPC3-Nox2 複合体が ATP 刺激によるラット心筋細胞萎縮を仲介する」

富田拓郎 平成 31 年 3 月 28 日 第 96 回日本生理学会大会 第 9 回入澤宏・彩記念若手研究奨励賞

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究 (B) 「メカノ作動性分子による生体恒常性維持機構の解明と運動模倣薬のストラテジー構築」、西田基宏 (代表) (2016-2018 年度)

科研費基盤研究 (B) 特設分野「ネオ・ジェロントロジー」「環境因子によるミトコンドリア機能変化を介する新しい老化モデル」、西田基宏 (代表) (2016-2018 年度)

新学術領域 (酸素生物学) 「酸素受容・活性化に伴うリガンドシグナルの生成と制御 (代表 内田浩二)」、西田基宏 (分担) (2014-2018 年度)

新学術領域 (酸素生物学、国際共同研究加速基金 (国際活動支援班) 「国際ネットワークを基盤とする酸素生物学の推進 (代表：森泰生)」、西田基宏 (分担) (2014-2018 年度)

科研費基盤研究 (S) 「環境中親電子物質エクスポソームとそれを制御する活性イオウ分子 (代表 熊谷嘉人)」、西田基宏 (分担) (2018 - 2022 年度)

科研費基盤研究 (S) 「イオウ依存型エネルギー代謝：イオウ呼吸の発見と生理機能の解明 (代表 赤池孝章)」、西田基宏 (分担) (2018 - 2022 年度)

AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 「グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進 (代表 大戸茂弘)」、西田基宏 (分担) (2017-2021 年度)

上原記念生命科学財団研究助成金 「病態特異的タンパク質間相互作用を標的とした創薬戦略」、西田基宏 (代表) (2018 年度)

喫煙財団助成金 「喫煙による筋肉の品質管理制御と心血管病リスク軽減への応用」、西田基宏 (代表) (2018-2020 年度)

内藤記念科学振興財団研究助成金 「GPCR の新規シグナル伝達制御機構とその創薬応用」、西田基宏 (代表) (2018 年度)

小野医学研究助成金 「脂質作動性 TRPC チャンネルに着目した筋硬化のメカニズム解明と創薬応用」、西田基宏 (代表) (2018 年度)

鈴木謙三記念医科学応用研究財団調査研究助成金 「親電子感受性 G タンパク質共役型受容体を標的とした新規慢性炎症治療薬の開発」、西田基宏 (代表) (2018 年度)

細胞科学研究財団 「ミトコンドリア品質管理に着目した新規心不全治療戦略の構築」、西田基宏 (代表) (2018 年度)

新学術領域 (「宇宙に生きる」)、「骨格筋および末梢循環における力学的負荷の重要性の解明」、富田拓郎 (代表) (2018 年 -2019 年度)

12) 特許

発明の名称：ベンゾイソオキサゾール化合物

発明者：永田龍、森泰生、西田基宏、森誠之、富田拓郎

出願人：大阪大学、京都大学、自然科学研究機構

出願日：2018 年 4 月 27 日

1-6 生物画像情報解析グループ

高田 慎治（教授）〔兼任〕

加藤 輝（特任助教）

太田 裕作（特任助教）

1) 専門領域：発生生物学

2) 研究課題：

- a) 器官表面および細胞核の定量的動態解析（加藤輝）
- b) 樹木・草本の根の定量的形態解析（太田裕作）

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 器官表面の定量的動態解析（加藤）

生物の器官は、胚発生期において平面状の細胞群が巧みに折れ込む過程を経る事により、立体的かつ複雑な構造として構築される。このような劇的な細胞集団の形態変化は、器官原基細胞群のそれぞれの領域に特異的な運動が、適切な時点で誘起される一連の制御過程を経た結果によるものであると考えられる。これら細胞運動を記録した時系列顕微観察画像から、個別の細胞の動態を抽出し解析する事で、器官形成の過程を担う個々の細胞の挙動へと還元し、理解する事が可能となる。細胞の形態変化について解析を行う上で、器官表面、特に上皮のアピカル領域を特異的に標識した標本の立体観察像から、細胞輪郭の細線化骨格モデルを構築、器官表面を構成する個別の細胞の立体的配置並びに動態を網羅的かつ定量的に解析可能とするシステムの開発を行っている。この系では、マウス卵管やショウジョウバエ上皮といった、観察面から完全に隠れた面を持つ標本からも細胞の外形を認識することが可能である。また、マウス脳原基細胞群のタイムラプス観察画像から細胞外径を抽出し、その表面の平面性についての解析を行った。

生体を構成する細胞群には、多重層を成し空間中に高い密度で存在する場合も多く、個別の細胞を峻別することが困難となる。そのような対象において、細胞核を選択的に標識し、識別することによりその立体的な配置について定量的な分析を施すことが可能となる。大量の画像を対象とし、分離が困難な核の位置・形状について比較的高速に抽出する系を開発・運用している。この系を適用することにより、マウス上皮細胞の *in vivo* 4D time-lapse 観察像から、核の形態が細胞の位置依存的に変化するパターンを捉えた。また、この処理系を MDCK 細胞塊を撮影した大量のデータに適用し、細胞数計数ならびに形状的特徴の解析を行った。さらに、培養細胞系において多視点顕微観察を適用した結果得られた多数の画像から個別の核領域を抽出し、それぞれの核内における核内分子の相互配置の関係について統計的解析を行う系についても開発している。

b) 樹木・草本の根の定量的形態解析（太田）

重力屈性は重要な環境応答の一つで、植物が重力の方向に対し、自身の体の傾きを知覚し、根を水分や栄養分が豊富な地中へ、地上部を光合成や生殖に有利な上方へと各器官を配置している。重力感受細胞についての研究や器官の偏差成長に関わる研究は進んでいる一方で、その両者をつなぐ、重力感受細胞内シグナル変換及び伝達、並びに伸長領域の細胞への細胞間シグナル伝達については、その分子メカニズムに関する知見は極めて乏しい。重力応答を制御する遺伝子を同定し、その機能を細胞内イメージングと分子遺伝学とを組み合わせることによって多角的な理解が可能となる。しかしながら、同一変異体でも様な応答が見られないことや表現系の定量化が困難であることが、研究の進捗の律速要因となっていた。そこ

で、重力応答に関与する候補遺伝子について、その変異体の根の様々な形質に注目し、コンピュータを利用した画像解析によって、根系評価の自動化を可能にするソフトウェアの開発をおこなった。本ソフトウェアによって、デジタルカメラで撮影したカラー画像ファイルから、根の形状を自動抽出し、長さ、根端の数、屈曲性などの自動測定を可能にした。また、結果をレポート形式で表示、Excel、R などに簡単に出力可能にした。さらに、幅広い研究者への利用を想定し、Windows、Mac OSX、Linux のマルチプラットフォームで動作、かつフリーの画像解析ソフトウェア ImageJ で利用可能とした。今後さらに、解析パラメタをチューニングすることでさまざまな画質・植物種に対応することを目指している。

4) 学術論文

Shinoda, T., Nagasaka A., Inoue Y., Higuchi R., Minami Y., **Kato K.**, Suzuki M., Kondo T., Kawaue T., Saito K., Ueno N., Fukazawa Y., Nagayama M., Miura T., Adtachi T., and Miyata T. (2018). Elasticity-based boosting of neuroepithelial nucleokinesis via indirect energy transfer from mother to daughter. PLoS Biol. 16. e2004426.
Nishimura R., **Kato K.**, Fujiwara S., Ohashi K., and Mizuno K. (2018) Solo and Keratin Filaments Regulate Epithelial Tubule Morphology. Cell Struct. Funct. 43, 95-105.

5) 著書、総説

クローズアップ実験法「生物画像処理・解析を加速する ImageJ マクロプログラミング」実験医学 2018 Jun; 36(9):1513-20, 羊土社 (加藤)

8) 学会および社会的活動

生物画像データ解析トレーニングコース 2018 代表, 2018 年 12 月 GBI-ABiS International Training Course for Bioimage Analysis TA, 2018 年 11 月 (加藤)

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

理化学研究所・生命機能科学研究センター: Image Processing and Analysis Courses for Beginners - A Course for Advanced ImageJ/Fiji 講師, 2018 年 7 月 (加藤)

11) 外部獲得資金

日本学術振興会 科研費・基盤 (C), 「生物画像の定量的解析のためのソフトウェアの開発」, 加藤輝 (代表) (2018-2020 年)

日本学術振興会 科研費・挑戦的研究 (萌芽), 「脳内シナプス結合の構造情報データベースの基盤形成」, 加藤輝 (分担) (2017-2018 年)

1-7 生命時空間制御研究グループ

野中 茂紀（准教授）

1) 専門領域：発生学・顕微鏡学

2) 研究課題：

a) 哺乳類発生における左右性の初期決定機構の解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 哺乳類の発生においては、原腸陥入期の胚表面に一時的に現れる構造「ノード」表面において、運動する繊毛が胚体の左に向かう水流を作り、それが将来の左右非対称を決定することがわかっている。しかし、水流が組織に非対称な情報を与える具体的な機構はわかっていない。ひとつの有力な仮説は、自身は非運動性でありメカノセンサーとして働くタイプの繊毛が水流を検知して細胞内 Ca^{2+} 上昇を引き起こす、水流の分布が左右非対称であるためにノードの左側と右側で異なる応答を引き起こすというものであり、その妥当性の検証を試みている。この目的のために、共焦点顕微鏡を改造して自作したライトシート顕微鏡に電気的可変焦点レンズ（ETL）を組み込み、最高で 10 volume/sec の高速な画像取得できる、かつ試料に振動をまったく与えず観察可能な顕微鏡セットを構築した。このセットを用いて、マウス胚のノードにおける水流分布の 3 次元的解析を試みている。もうひとつの有力な仮説とされているのは、シグナル分子を含む膜小胞が分泌され水流によって左側に運ばれるというモデルであるが、同じ顕微鏡を使いそのようなものが存在するかという検証を試みている。また、これらどちらとも違う物理的メカニズムの可能性も検討している。

4) 学術論文

Y. Nishigami, T. Ohmura, A. Taniguchi, S. Nonaka, J. Manabe, T. Ishikawa, and M. Ichikawa, "Influence of cellular shape on sliding behavior of ciliates" *Commun. Integr. Biol.*, **11**, e1506666. (2018).

T. Ohmura, Y. Nishigami, A. Taniguchi, S. Nonaka, J. Manabe, T. Ishikawa, and M. Ichikawa, "Simple mechanosense and response of cilia motion reveal the intrinsic habits of ciliates" *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **115**, 3231-3236 (2018).

C. Okimura, A. Taniguchi, S. Nonaka, and Y. Iwadate, "Rotation of stress fibers as a single wheel in migrating fish keratocytes" *Sci. Rep.* **8**, 10615 (2018).

5) 著書、総説

野中茂紀：実験医学増刊 **Vol.36 No.20** 「イメージングの選び方・使い方 100 +」，羊土社 **3457-3459 (2018)**

6) 国際会議発表リスト

S. Nonaka, "Initial determination of left-right asymmetry in mammalian development" ExCELLS Frontier Bioorganization Forum (Okazaki, Japan) July 2018.

7) 招待講演

野中茂紀「Analysis of initial determination of left-right asymmetry in development using fast light-sheet

microscopy」、新学術領域レジナンスバイオ国際支援共催セミナー、愛媛大学医学部、2018 年 8 月。

野中茂紀「高速ライトシート顕微鏡の開発及びそれを用いた発生の左右初期決定機構の解析」、第 25 回医用近赤外線分光法研究会・2018 年度分光学会生細胞分光部会・第 7 回レーザー学会ニューロフォトニクス研究会 合同研究会 “Medical Optics & Spectroscopy 2018”、浜松市、2018 年 9 月。

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

名古屋大学医学部 非常勤講師（野中茂紀）

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究 (C)、「水流が生体に位置情報を伝える機構の解明」、野中茂紀（代表）（2017 年 -2019 年）。
新学術領域研究・学術研究支援基盤形成、「先端バイオイメージング支援プラットフォーム (ABiS)」、野中茂紀（分担）（2016 年 -2021 年）。

1-8 生命分子創成研究グループ

古賀 信康（准教授）

小杉 貴洋（助教）

1) 専門領域：生物物理学、タンパク質分子デザイン

2) 研究課題：

- a) α β 型タンパク質構造のデザイン
- b) α ヘリカルタンパク質構造のゼロからのデザイン
- c) 折り畳みに必須なアミノ酸の種類の探索
- d) ATP 結合タンパク質のゼロからのデザイン
- e) 自然界のタンパク質構造を改造して創るヘム結合タンパク質
- f) 動的機能を発現する自然界のタンパク質 F-ATPase および V-ATPase の改造
- g) 自然界に存在しないトポロジーのデザイン
- h) タンパク質構造の合理安定化法の開発

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 「 α β 型タンパク質構造のデザイン」これまでに 2 次構造パターンと 3 次構造モチーフの整合性に関するルールを発見し、これらのルールを用いることで 100 残基以下の様々な形状の α β 型タンパク質構造のデザインに成功してきた。これらのルールがより大きなサイズのタンパク質デザインにも適用可能かどうか検証するため、100 残基以上のサイズのタンパク質構造のデザインに取り組んだ。その結果、これらルールに加えて、ルールを用いて描いた主鎖構造設計図と、実際に主鎖構造を組み立てたときの全体構造との整合性、すなわち、2 次構造パターン - 3 次構造モチーフ - 全体構造の間の整合性が重要であることを明らかにした。これらを考慮して 5 本ストランドの α β 型タンパク質を新たにデザインし、大腸菌に組み込み発現・精製し、生化学実験により折り畳み能を調べたところ、デザインは安定な構造を形成し、NMR により決定された構造は、計算機モデルとよく一致していた。現在は、6 本ストランドの α β 型タンパク質をデザインすることで、発見したデザイン原理の有効性を検証中である。
- b) 「 α ヘリカルタンパク質構造のゼロからのデザイン」複数の α ヘリックスが集まった α ヘリカル構造は、極めて多様な構造を生み出すことができ、加えてそれらの構造は柔軟であるため、機能発現に重要な役割を果たす。そこで様々な α ヘリカル構造を自在にデザインするための手法の開発を行った。まず自然界のタンパク質構造を解析することで、ヘリックス同士をつなぐループに典型的なループパターンが存在することを明らかにした。次に、これらのループパターンを組み合わせることで、計算機上で多様な形状の α ヘリカル構造の構築に成功した。計算機でデザインした 3 つの異なる形状の α ヘリカルタンパク質について、折り畳み能を生化学実験により調べたところ、これらデザインしたタンパク質は安定な構造を形成していた。さらに、NMR 構造解析を行ったところ、計算機モデルは NMR 構造とよく一致していた。今後は、多様な α ヘリカル構造を用いることで、機能性タンパク質のデザインを行う。
- c) 「折り畳みに必須なアミノ酸の種類の探索」自然界のタンパク質は 20 種類のアミノ酸からなる。タンパク質が自発的に特定の構造に折り畳むためには、これら 20 種類のアミノ酸全てが必要なのかどうか明らかにすることを目的として、タンパク質の疎水性コアパッキングに重要とされる ILE および LEU を全く含まない、疎水性コア残基が VAL のみからなるタンパク質分子のデザインを行った。デザインしたタ

ンパク質の折り畳み能を生化学実験により調べ、NMRにより立体構造を解析したところ、デザインは変性温度が 100℃以上の安定な立体構造を形成していた。本研究成果は、タンパク質の折り畳みには 20 種類のアミノ酸が必ずしも必要でないことを示すものである。

d) 「ATP 結合タンパク質のゼロからのデザイン」自然界には ATP を加水分解して動的機能を発現するタンパク質が存在する。タンパク質が ATP を加水分解するためのミニマムな装置を明らかにすることを目的とし、まず ATP を結合するタンパク質のゼロからのデザインを行った。これまでに発見した 3 つのルールとヌクレオチド結合に重要とされる P-loop モチーフを用いることで、計算機上で ATP 結合タンパク質のデザインを行った。続いて、生化学実験によりデザインタンパク質の ATP 結合親和性の測定を行ったが、ATP に対して高い結合親和性を示さなかった。現在は、高い ATP 結合親和性を示すタンパク質のデザインに向けて、b) でデザインした α -ヘリカル構造を用いるなど様々な方面から研究を行っている。

e) 「自然界のタンパク質構造を改造して創るヘム結合タンパク質」ヘムを例としてこれに結合するタンパク質をデザインすることで、望みの小分子に結合するタンパク質分子をデザインする手法の開発を行った。自然界のタンパク質をベースとして、その構造に大きなポケットを持つように計算機デザインで改造し、生化学実験によりデザインタンパク質のヘム結合能を調べた。その結果、デザインはヘムに結合していることが明らかになった。現在は、結合の親和性を向上させるべく再設計を行っている。

f) 「動的機能を発現する自然界のタンパク質 F-ATPase および V-ATPase の改造」自然界には、ATP 加水分解のエネルギーを利用して構造変化することで機能を発現するタンパク質が存在する。このようなタンパク質がどのようにして動的機能を発現しているのか、回転モータータンパク質である F-ATPase および V-ATPase を改造することで、そのメカニズムに迫った。分子動力学シミュレーション、1 分子観測、結晶構造解析等あらゆる手法を駆使して、構造変化のメカニズムに迫ったところ、F-ATPase の構造変化に重要な部位を特定し、V-ATPase の動的機能発現における非触媒部位のアロステリックな役割を明らかにした。

g) 「自然界に存在しないトポロジーのデザイン」簡単な理論計算では考えることができるが、自然界には現存しないトポロジーが多数あることが示唆されている。本研究では、自然界に現存しない新規トポロジーを持つタンパク質分子を創ることで、新規トポロジーは物理化学的に立体構造形成することが困難なために存在していないのか、それとも偶然生物が見つけれ出していないだけなのか、これらの謎に迫る。これまでに、網羅的なタンパク質立体構造データベース検索を行い、いくつかの新規トポロジーの同定に成功した。現在は、これら新規トポロジーの計算機デザイン及び生化学実験による折りたたみ能の検証を行っている。

h) 「タンパク質構造の合理安定化法の開発」タンパク質の耐熱性を向上させることは、タンパク質を産業利用する上で重要である。タンパク質をゼロからデザインする技術を応用して、自然界のタンパク質を合理的に安定化する手法の開発を行った。開発した手法を用いて、バイオマス糖化に重要な β グルコシダーゼおよび創薬ターゲットの一つである GPCR の耐熱化を行っている。

4) 学術論文

S. Basak, R. P. Nobrega, D. Tavella, L. M. Deveau, N. Koga, R. Koga, D. Baker, F. Massi, C. *R. Matthews, Networks of electrostatic and hydrophobic interactions modulate the complex folding free energy surface of a designed $\beta\alpha$ protein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2019, doi: 10.1023/pnas.1818744116

6) 国際会議発表リスト

N. Koga, De novo protein design & Application to design thermostable proteins, International Symposium on “Artificial Cell Reactor Science & Technology”, Univ. of Tokyo (Tokyo), April 2018

S. Minami, N. Koga, Sequence profile for protein design based on database analysis of backbone environment, International Symposium on “Artificial Cell Reactor Science & Technology”, Univ. of Tokyo (Tokyo), April 2018

N. Kobayashi, S. Minami, T. Uchiyama, N. Sunagawa, K. Igarashi, N. Koga, Toward design of thermostable beta-glucosidase with structure-based sequence profile, International Symposium on “Artificial Cell Reactor Science & Technology”, Univ. of Tokyo (Tokyo), April 2018

T. Kosugi, Rational Design of ATP Binding Site to Understand Rotary Molecular Motor, The 79th Okazaki Conference: Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines, Okazaki (Aichi), September 2018

R. Koga, H. Ueno, T. Masaike, H. Noji and N. Koga, Impact of the sequence difference of P-loop on the conformational changes of F1-ATPase, The 79th Okazaki Conference: Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines, Okazaki (Aichi), September 2018

7) 招待講演

N. Koga, De novo protein design & Application to design thermostable proteins, International Symposium on “Artificial Cell Reactor Science & Technology”, 東京大学伊藤謝恩ホール, 2018 年 4 月 5-6 日

古賀信康, 生命現象を生み出す分子「タンパク質」をゼロから創る, 生命創成探究センター開所記念講演会, 2018 年 5 月 28 日

古賀信康, 整合性原理のまわりをぐるぐると, 理論生物物理研究会～理論生物物理の今後を考える～, 京都大学大学院理学研究科, 2018 年 6 月 2 日

古賀信康, 設計図通りに折りたたまないデザインタンパク質, 第 18 回蛋白質科学会年会 ワークショップ「拡大する蛋白質の世界: Anfinsen のドグマを超えて」, 新潟朱鷺メッセ, 2018 年 6 月 28 日

古賀信康, Toward generation of de novo designed protein structure library, 生命創成探究センター Frontier Bio-organization forum, 2018 年 7 月 8-11 日

古賀信康, Explore vast sequence space by de novo design, ImPACT 野地プログラムセミナー, 東京大学工学部, 2018 年 9 月 28 日

古賀信康, タンパク質の合理設計: ゼロからの創成と天然物の改造, 生命創成探究センター 第 1 回シンポジウム, 2018 年 10 月 16 日

古賀信康, 合理デザインで拓く新規タンパク質配列空間, 169 委員会第 57 研究会, 東京大学大学院農学生命科学研究科 フードサイエンス棟 中島薫一郎記念ホール, 2018 年 10 月 22 日

古賀信康, DBTL in protein design, Trends in Computational Molecular Biology, 金沢石川四高記念文化交流館, 2018 年 11 月 3 日

古賀信康, 超安定な理想タンパク質の合理設計と天然タンパク質の累積的耐熱化, Biothermology Workshop, 岡崎カンファレンスセンター, 2018 年 12 月 25-26 日

古賀信康, タンパク質構造の合理的耐熱化法の開発, ImPACT 野地プログラム「豊かで安全な社会と新しいバイオものづくりを実現する人工細胞リアクタ」最終成果報告会 ～人工細胞リアクタが拓くイノベーション～, 東京大学小柴ホール, 2019 年 3 月 5 日

T. Kosugi, Rational Design of ATP Binding Site to Understand Rotary Molecular Motor, The 79th Okazaki Conference: Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines, Okazaki (Aichi), September 2018

T. KOSUGI, "Rational Design of ATP Binding Site; An Attempt to Understand Molecular Motor" 第 56 回日本生物物理学会「創って知る生物物理: 生命現象の再構成と理解」, 岡山, 2018 年 9 月

小杉貴洋, 「V1-ATPase の非触媒界面に ATP 結合部位を作ることによってその役割を明らかにする」, 第 8 回分子モーター討論会, 東京, 2018 年 11 月.

Naoya Kobayashi, Cumulative thermostabilization of beta-glucosidase with structure-based sequence profile

information, 分子研研究会「New Frontier in Protein Design & Engineering」, 岡崎, 2019年3月15日
Shintaro Minami, Design of new fold proteins yet-unexplored in nature, 分子研研究会「New Frontier in Protein Design & Engineering」, 岡崎, 2019年3月15日

8) 学会および社会的活動

日本生物物理学会 平成 27-31 年度分野別専門委員:タンパク質設計・ドラッグデザイン (2015-2019). (古賀信康)

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

京都大学理学部化学科 化学特別講義 2 2018 年 12 月 10-12 日 (古賀信康)

10) 受賞、表彰

古賀信康, 分子科学研究奨励森野基金 (2018).

11) 外部獲得資金

自然科学研究機構アストロバイオロジーセンタープロジェクト, 「地球上に存在しないトポロジーを持つタンパク質分子の合理設計」, 古賀信康 (代表) (2017 年 -2019 年)

自然科学研究機構オリオン公募研究, 「創って理解するモータータンパク質の動作原理」, 古賀信康 (代表) (2016 年 -2019 年)

内閣府 ImPACT, 「タンパク質構造の合理的安定化手法の開発: β グルコシダーゼの耐熱化」, 古賀信康 (代表) (2018 年 -2019 年)

科研費 若手研究 A, 「改造して理解するモータータンパク質 F1-ATPase の動作原理」, 古賀信康 (代表) (2015 年 -2019 年)

科研費 新学術領域研究 (研究領域提案型), 「発動分子科学: エネルギー変換が拓く自律的機能の設計」, 古賀信康, 小杉貴洋 (分担) (2018 年 -2023 年)

自然科学研究機構若手研究者による分野間連携研究プロジェクト, 「世界最小蛍光タンパク質の創生—計算機科学と生体イメージングを繋ぐ—」, 小杉貴洋 (代表) (2018 年 -2019 年).

自然科学研究機構若手研究者による分野間連携研究プロジェクト, 「全身性代謝制御機構解明のための in vivo 微量必須栄養素イメージング法の開発」, 古賀信康 (分担) (2018 年 -2019 年).

12) 特許

古賀信康、小林直也、南慎太郎、耐熱性 β グルコシダーゼ 出願番号 2018-172810 手続日 平成 30 年 10 月 18 日

1-9 生命分子動態シミュレーション研究グループ

奥村 久士（准教授）

伊藤 暁（助教）

1) 専門領域：理論生物物理、理論タンパク質科学

2) 研究課題：

- a) 親水性 / 疎水性界面におけるアミロイド β フラグメントの凝集シミュレーション
- b) 親水性 / 疎水性界面における全長アミロイド β の β ヘアピン構造の形成過程の解明
- c) 抗原依存蛍光反応の分子動力学シミュレーション
- d) レプリカ部分置換法の開発

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) アルツハイマー病はアミロイド β (A β) ペプチドが球状に凝集してできたオリゴマーあるいは線維状に凝集してできたアミロイド線維が原因で引き起こされると言われている。A β ペプチドは細胞膜表面のように親水性 / 疎水性界面で凝集が促進される。そこで A β ペプチドの一部分である A β (16-22) を親水性 / 疎水性界面で凝集させる分子動力学シミュレーションを行った。その結果、分子間 β シート構造の比較的少ないオリゴマーは界面に沿って存在するのに対し、多くの分子間 β シート構造を持つオリゴマーは界面から水中に解き出ようとして存在していることが分かった。これは分子間 β シート構造を多くすると親水性残基が縁を覆うためであることを解明した。この現象はアミロイド線維の形成初期過程において親水性 / 疎水性界面からオリゴマーが芽のように伸びてくる現象 (budding) に似ており、分子間 β シート構造形成による親水性残基の配置により解釈できることを発見した。
- b) 親水性 / 疎水性界面に全長の A β ペプチドを配置した分子動力学シミュレーションも行った。昨年度までに親水性 / 疎水性界面では β 1 領域と β 2 領域に相当する部分で β ヘアピン構造を形成することが多く、これが A β の凝集を促進させていることを明らかにしてきた。今年度は引き続き解析を行い、この β ヘアピン構造が形成される過程を明らかにした。まず β 1 および β 2 領域でヘリックス構造が形成され、これらのヘリックス構造が界面上を移動して接近した。その後 β 1 領域のヘリックス構造が破壊され、伸長した β 1 領域と β 2 領域の間に β ブリッジが形成された。さらに各アミノ酸残基の界面からの距離および α ヘリックス形成率が NMR 実験の結果と一致することも見出した。
- c) N 末端領域に蛍光標識された抗体は抗原に依存した蛍光を発することが報告されている。非天然アミノ酸導入技術を用いて N 末端領域に蛍光標識アミノ酸を導入した抗体 scFv は、抗原が存在しない場合には弱い蛍光を示し、抗原が結合すると蛍光を増大させる。この現象の機構はこれまで次のように説明されていた。抗原が存在しない場合には V_H ドメインと V_L ドメインの界面で部分的に露出した Trp 残基が蛍光基に結合し消光する。一方、抗原が存在すると Trp 残基が V_H ドメインと V_L ドメインの界面に埋まり、消光が解除される。この機構を検証するためにメタダイナミクス分子動力学シミュレーションを行った。まず、抗体が存在する時だけ V_H ドメインと V_L ドメインが互いに結合することを示した。さらにこの蛍光基は Trp 残基と最も安定に結合することも明らかにした。これらのシミュレーション結果はこれまでに提案されてきた抗体依存蛍光反応の機構を支持するものであることが分かった。
- d) これまでにレプリカ交換法を発展させてより効率的なシミュレーション手法であるレプリカ置換法を開発してきた。これまでのレプリカ置換法では、パラメータの遷移確率を計算する際にレプリカ数の階乗

個の置換候補を考える必要があり、使用するレプリカの数が多くなると置換のための計算コストが高くなっていった。そこでサブグループを導入して一度に置換するレプリカ数を制限することで計算コストを削減していたが、サブグループの導入はパラメータの遷移確率を低下させるなどの問題点が残っていた。そこで今年度は、隣の温度への遷移だけを許す新たなレプリカ置換法を考案し、レプリカ部分置換法と名付けた。本手法を用いることで、遷移確率を犠牲にすることなく置換の際に考えるべき候補の数を大幅に減少させることができた。また、サブグループを導入しないので多くのレプリカを含むシミュレーションの場合でも、パラメータの遷移確率の低下を招くことなく効率の良いシミュレーションを実現できた。

4) 学術論文

S. G. Itoh, M. Yagi-Utsumi, K. Kato, and H. Okumura, “Effects of a hydrophilic/ hydrophobic interface on amyloid- β peptides studied by molecular dynamics simulations and NMR experiments”, *J. Phys. Chem. B* **123**, 160-169 (2019).

K. Kerdpol, J. Kicuntod, P. Wolschann, S. Mori, C. Rungrim, M. Kunaseth, H. Okumura, N. Kungwan, and T. Rungrotmongkol, “Cavity closure of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: Replica exchange molecular dynamics simulations”, *Polymers* **11**, 145 (15pages) (2019).

Y. Tachi, Y. Okamoto, and H. Okumura, “Conformational properties of an artificial GM1 glycan cluster based on a metal-ligand complex”, *J. Chem. Phys.* **149**, 135101 (8 pages) (2018).

Y. Mori, H. Okumura, T. Watanabe, and T. Hohsaka, “Antigen-dependent fluorescence response of anti-c-Myc Quenchbody studied by molecular dynamics simulations”, *Chem. Phys. Lett.* **698**, 223-226 (2018).

6) 国際会議発表リスト

H. Okumura, S. G. Itoh, “Structural and fluctuation difference between two ends of A β amyloid fibril revealed by molecular dynamics simulations” Asian Biophysics Association Symposium in conjunction with the Australian Society for Biophysics, Royal Melbourne Institute of Technology University, Melbourne (Australia), December 2018.

S. G. Itoh, H. Okumura, “Oligomer formation of Abeta(29-42) by Coulomb replica- permutation molecular dynamics simulations” Asian Biophysics Association Symposium in conjunction with the Australian Society for Biophysics, Royal Melbourne Institute of Technology University, Melbourne (Australia), December 2018.

K. Miyazawa, S. G. Itoh, H. Okumura, “Stability of Fatty Acid Binding Protein by Molecular Simulation” Asian Biophysics Association Symposium in conjunction with the Australian Society for Biophysics, Royal Melbourne Institute of Technology University, Melbourne (Australia), December 2018.

M. Yamauchi, H. Okumura, “Development of isothermal-isobaric replica-permutation method and its application to the β -hairpin mini protein” Asian Biophysics Association Symposium in conjunction with the Australian Society for Biophysics, Royal Melbourne Institute of Technology University, Melbourne (Australia), December 2018.

7) 招待講演

H. Okumura, “Molecular dynamics simulations of aggregates of amyloid- β peptides,” Institute of Biological Chemistry Seminar, Taipei (Taiwan), November 2018.

H. Okumura, “Molecular dynamics study of amyloid- β aggregates,” Seminar at Department of Chemistry, Tamkang University, New Taipei City (Taiwan), November 2018.

H. Okumura, “Molecular dynamics study of amyloid- β aggregates,” 14th Rencontres du Vietnam Computational

Biophysics at the Molecular and Meso Scales, Quy Nhon (Vietnam), October 2018.

H. Okumura, “Simulational studies of A β amyloid fibrils by molecular dynamics method,” 22nd International Annual Symposium on Computational Science and Engineering, Bangkok (Thailand), August 2018.

H. Okumura, “Aggregation and disaggregation of amyloid- β peptides studied by molecular dynamics simulations,” Frontier Bioorganization Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

H. Okumura, “Molecular dynamics simulations to study aggregated amyloid β peptides,” Statphys-Taiwan-2018: Workshop on Developments in Statistical, Nonlinear, and Biological Physics, Taipei (Taiwan), June 2018.

H. Okumura, “Molecular dynamics simulations of A β amyloid fibrils,” 7th Japan-Czech- Slovakia Symposium on Theoretical Chemistry, Prague (Czech), May 2018.

S. G. Itoh, “Molecular dynamics simulations of a full-length amyloid- β peptide at a hydrophobic/hydrophilic interface”, The 22st International Annual Symposium on Computational Science and Engineering, Bangkok (Thailand), August, 2018.

奥村久士「コンピューターシミュレーションで見るアルツハイマー病原因物質」，第4回 DoIK シンポジウム，大阪，2019年3月．

奥村久士「アミロイド β ペプチドのオリゴマーとアミロイド線維の分子動力学シミュレーション」，スーパーコンピュータワークショップ2018，愛知，2019年1月．

奥村久士「レプリカ置換分子動力学法の開発とアミロイド β ペプチドへの応用」，学習院大学計算機センター特別研究プロジェクト「結晶成長の数理」第13回研究会 結晶成長とモンテカルロシミュレーション，東京，2018年12月．

奥村久士「分子動力学シミュレーションで探るタンパク質凝集体の構造変化」，第1回 ExCELLS シンポジウム，愛知，2018年10月．

奥村久士「アミロイド線維を形成するタンパク質の分子動力学シミュレーション」，化学研究会セミナー，福井，2018年9月．

奥村久士「各種統計アンサンブルの生成法」，第11回分子シミュレーションスクール—基礎から応用まで—，岡崎，2018年9月．

奥村久士「生体分子動力学シミュレーションの基礎」，第58回生物物理若手の会夏の学校，岐阜，2018年8月．

奥村久士「アミロイドペプチドの凝集の分子動力学シミュレーション」，東京大学物性研究所スパコン共同利用・CCMS 合同研究会，千葉，2018年4月．

伊藤暁「アミロイド β ペプチドの全原子分子動力学シミュレーション」，第1回松山道後・分子論セミナー，松山，2018年12月．

8) 学会および社会的活動

分子シミュレーション学会 幹事（奥村久士）

日本物理学会 名古屋支部役員（奥村久士）

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

福井大学大学院工学研究科 非常勤講師（奥村久士）

11) 外部獲得資金

ポスト「京」重点課題5、「エネルギーの高効率な創出，変換・貯蔵，利用の新規基盤技術の開発」、奥村久士（分担）（2015年-2019年）．

科研費若手 (B)、「新たな pH 一定のシミュレーションによるアミロイド β のオリゴマー形成機構の解明」、
伊藤暁 (代表) (2016 年 -2018 年).

1-10 生命分子動秩序創発研究グループ

加藤 晃一（教授）

矢木 真穂（助教）

谷中 冴子（助教）

1) 専門領域：生物物理学、生命分子科学

2) 研究課題：

- a) 生命体を構成する多様な分子素子がダイナミックに秩序形成する仕組みの探究
- b) 生命分子ネットワークが創発する高次機能のメカニズム探査と設計と制御

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) タンパク質をはじめとする生命分子素子を対象に、それらの分子構造と分子間相互作用を詳細に「みる」ためのアプローチ法を開拓した。具体的には、核磁気共鳴（NMR）法やX線結晶構造解析法などの構造生物学的手法を基軸に、生命創成探究センター内外の共同研究ネットワークを通じて、X線および中性子溶液散乱法、超分子質量分析、電子顕微鏡解析、高速原子間力顕微鏡解析、計算科学的手法を統合したアプローチを構築した。これらの手法を駆使して、ユビキチン-プロテアソーム系のタンパク質動態、神経変性疾患に関わるアミロイド形成、概日リズムを司る時計タンパク質の離合集散などの計測・観測に応用した様々な共同研究を展開した。とりわけ、体液性免疫の主役である抗体を対象にしたプロジェクトにおいては、安定同位体標識を利用した NMR 分光法の方法論的高度化をはかることにより、血清中などの夾雑不均一環境における抗体間の相互作用を観測することに成功した。さらに、上記の統合的アプローチを活用することによって膜上における抗体の分子集合を「みる」ための糸口をつかみ、免疫システムが作動する本来の生体環境に条件下での分子動態を観測する可能性を切り拓くことができた。
- b) 我々のグループでは“第3の生命鎖”ともよばれる糖鎖を対象に、その構造・機能を解明することに取り組んできている。糖鎖はゲノムに直接コードされていないためにその構造は予測不可能な不均一性をはらみ、しかも内部運動の自由度に富んでいるために水溶液中で糖鎖のコンフォメーションは絶え間なく揺らいでいる。我々はこれまでに、常磁性効果を利用した NMR 法と分子動力学計算を組み合わせることで糖鎖のコンフォメーション空間を探索する方法論を確立しているが、最近はこのさらに発展させて、コンフォメーション空間の化学改変を通じて糖鎖の機能を向上することを試みている。例えば、神経系で細胞間コミュニケーションを媒介する Lewis X 糖鎖の分子内相互作用を減弱させることにより、その動的コンフォメーションアンサンブルを変調させ、標的タンパク質に対する親和性を向上した糖鎖を創ることに取り組んでいる。一方、細胞内における糖タンパク質糖鎖の形成は、糖タンパク質が小胞体からゴルジ体を経て細胞外へと輸送される過程で、糖転移酵素をはじめとする様々なタンパク質と相互作用することを通じて実現されている。我々は分泌糖タンパク質のアミノ酸配列の中に糖鎖修飾を規定する制御コードが秘められている可能性を見出し、その解明に向けた研究に着手している。

4) 学術論文

K. Kato, T. Furuhashi, K. Kato, A. Oda and E. Kurimoto, “The assembly mechanism of coiled-coil domains of the yeast cargo receptors Emp46p/47p and the mutational alteration of pH-dependency of complex formation,” *J. Biochem.*, **163, 441-446 (2018).**

- R. Yogo, S. Yanaka and K. Kato**, “Backbone ^1H , ^{13}C , and ^{15}N assignments of the extracellular region of human Fc γ receptor IIIb,” *Biomol. NMR Assign.*, **12**, 201-204 (2018).
- K. Mukaigasa, T. Tsujita, V.T. Nguyen, L. Li, H. Yagi, Y. Fuse, Y. Nakajima-Takagi, K. Kato, M. Yamamoto and M. Kobayashi**, “Nrf2 activation attenuates genetic endoplasmic reticulum stress induced by a mutation in the phosphomannomutase 2 gene in zebrafish,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 2758-2763 (2018).
- N. Sriwilaijaroen, S. Nakakita, S. Kondo, H. Yagi, K. Kato, T. Murata, H. Hiramatsu, T. Kawahara, Y. Watanabe, Y. Kanai, T. Ono, J. Hirabayashi, K. Matsumoto and Y. Suzuki**, “N-glycan structures of human alveoli provide insight into influenza A virus infection and pathogenesis,” *FEBS J.*, **285**, 1611-1634 (2018).
- S. Yanaka, H. Yagi, R. Yogo, M. Yagi-Utsumi and K. Kato**, “Stable isotope labeling approaches for NMR characterization of glycoproteins using eukaryotic expression systems,” *J. Biomol. NMR*, **71**, 193-202 (2018).
- K. Morita, Y.Y. Yamamoto, A. Hori, T. Obata, Y. Uno, K. Shinohara, K. Noguchi, K. Noi, T. Ogura, K. Ishii, K. Kato, M. Kikumoto, R. Arranz, J.M. Valpuesta and M. Yohda**, “Expression, functional characterization, and preliminary crystallization of the cochaperone prefoldin from the thermophilic fungus *Chaetomium thermophilum*,” *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2452 (2018).
- Y. Hisamatsu, N. Umezawa, H. Yagi, K. Kato and T. Higuchi**, “Design and synthesis of a 4-aminoquinoline-based molecular tweezer that recognizes protoporphyrin IX and iron(III) protoporphyrin IX and its application as a supramolecular photosensitizer,” *Chem. Sci.* **9**, 7455-7467 (2018).
- Y. Sakata, K. Yabunaka, Y. Kobayashi, H. Omiya, N. Umezawa, H.-S. Kim, Y. Wataya, Y. Tomita, Y. Hisamatsu, N. Kato, H. Yagi, T. Satoh, K. Kato, H. Ishikawa and T. Higuchi**, “Potent antimalarial activity of two arenes linked with triamine, designed to have multiple interactions with heme,” *ACS Med. Chem. Lett.* **9**, 980-985 (2018).
- M. Ota, K. Ishiuchi, X. Xu, M. Minami, Y. Nagachi, M. Yagi-Utsumi, Y. Tabuchi, S.Q. Cai and T. Makino**, “The immunostimulatory effects and chemical characteristics of heated honey,” *J. Ethnopharmacol.* **228**, 11-17 (2019).
- S.G. Itoh, M. Yagi-Utsumi, K. Kato and H. Okumura**, “Effects of a hydrophilic/hydrophobic interface on amyloid- β peptides studied by molecular dynamics simulations and NMR experiments,” *J. Phys. Chem. B* **123**, 160-169 (2019).
- R.G. Brinson, J.P. Marino, F. Delaglio, L.W. Arbogast, R.M. Evans, A. Kearsley, G. Gingras, H. Ghasriani, Y. Aubin, G.K. Pierens, X. Jia, M. Mobli, H.G. Grant, D.W. Keizer, K. Schweimer, J. Stähle, G. Widmalm, E.R. Zartler, C.W. Lawrence, P.N. Reardon, J.R. Cort, P. Xu, F. Ni, S. Yanaka, K. Kato, S.R. Parnham, D. Tsao, A. Blomgren, T. Rundlöf, N. Trieloff, P. Schmieder, A. Ross, K. Skidmore, K. Chen, D. Keire, D.I. Freedberg, T. Suter-Stahel, G. Wider, G. Ilc, J. Plavec, S.A. Bradley, D.M. Baldisseri, M.I. Sforça, A.C.M. Zeri, J.Y. Wei, C.M. Szabo, C.A. Amezcua, J.B. Jordan and M. Wikström**, “Enabling adoption of 2D-NMR for the higher order structure assessment of monoclonal antibody therapeutics,” *mAbs* **11**, 94-105 (2019).
- Y. Harada, T. Suzuki, T. Fukushige, Y. Kizuka, H. Yagi, M. Yamamoto, K. Kondo, H. Inoue, K. Kato, N. Taniguchi, T. Kanekura, N. Dohmae and I. Maruyama**, “Generation of the heterogeneity of extracellular vesicles by membrane organization and sorting machineries,” *Biochim. Biophys. Acta –General Subjects*, **1863**, 681-691 (2019).
- T. Matsui, S. Kamata, K. Ishii, T. Maruno, N. Ghanem, S. Uchiyama, K. Kato, A. Suzuki, N. Oda-Ueda, T. Ogawa and Y. Tanaka**, “SDS-induced oligomerization of Lys49-phospholipase A2 from snake venom,” *Sci. Rep.* **9**, Article number: 2330 (2019).
- Narentuya, Y. Takeda-Uchimura, T. Foyez, Z. Zhang, T.O. Akama, H. Yagi, K. Kato, Y. Komatsu, K. Kadomatsu and K. Uchimura**, “GlcNAc6ST3 is a keratan sulfate sulfotransferase for the protein-tyrosine

phosphatase PTPRZ in the adult brain,” *Sci. Rep.* **9**, Article number: 4387 (2019).

5) 著書, 総説

K. Matsuzaki, K. Kato and K. Yanagisawa, “Ganglioside-mediated assembly of amyloid β -protein: Roles in Alzheimer's disease,” *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, **156**, 413-434 (2018).

K. Kato, S. Yanaka and H. Yagi, “Technical basis for nuclear magnetic resonance approach for glycoproteins,” *Experimental Approaches of NMR Spectroscopy*, The Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan Ed., Springer Nature Singapore, pp. 415-438 (2018).

K. Kato and T. Satoh, “Structural insights on the dynamics of proteasome formation,” *Biophys. Rev.*, **10**, 597-604 (2018).

山口拓実, 渡邊東紀男, 矢木宏和, 加藤晃一, “分子動力学計算と NMR 計測を用いた糖鎖の配座空間探索,” *J. Comput. Chem. Jpn.*, **17**, 1-7 (2018).

矢木宏和, 加藤晃一, “常磁性 NMR 法と計算科学を組み合わせた糖鎖の動的コンホメーション解析,” *生化学*, **90**, 198-202 (2018).

加藤晃一, “糖鎖のコンフォメーション解析 (1), ” 未来を創るグライコサイエンス -我が国のロードマップ- (日本糖鎖科学コンソーシアム (JCGG) 編), pp. 172-174 (2018).

T. Yamaguchi and K. Kato, “Molecular Dynamics of Gangliosides,” *Gangliosides*, S. Sonnino and A. Prinetti Eds., *Methods in Molecular Biology*, Humana Press (New York), **1804**, pp. 411-417 (2018).

K. Kato, H. Yagi and T. Yamaguchi, “NMR characterization of the dynamic conformations of oligosaccharides,” *Modern Magnetic Resonance, 2nd Edition*, G.A. Webb Ed., Springer International Publishing, pp. 737-754 (2018).

加藤晃一, 谷中冴子, “抗体の NMR 研究の傾向と展望,” *SAR News*, **35**, 1-7 (2018).

H. Yagi, S. Yanaka and K. Kato, “Structure and dynamics of immunoglobulin G glycoproteins,” *Advances in experimental medicine and biology*, **1104**, 219-235 (2018).

T. Satoh and K. Kato, “Structural aspects of ER glycoprotein quality-control system mediated by glucose tagging,” *Advances in experimental medicine and biology*, **1104**, 149-169 (2018).

加藤晃一, 谷中冴子, 矢木宏和, “バイオ医薬品への構造生物学的アプローチ,” *薬学雑誌*, **138**, 1495-1502 (2018).

佐藤匡史, 加藤晃一, “集合シャペロンを介したプロテアソーム形成機構,” *医学のあゆみ*, **276**, 949-953 (2018).

佐藤匡史, 加藤晃一, “糖タンパク質品質管理システムの構造基盤,” *日本結晶成長学会誌*, **45**, 45-4-04 (2018).

M. Yagi-Utsumi, “NMR characterization of conformational dynamics and molecular assemblies of proteins,” *Biol. Pharm. Bull.* in press (2019).

6) 国際会議発表リスト

K. Kato, “What is life? What is ExCELLS?,” Frontier Bioorganization Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

M. Yagi-Utsumi, K. Kato, “NMR characterization of conformational dynamics and molecular assemblies of proteins,” ExCELLS Young Scientists Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

Y. Yunoki, H. Yagi, M. Yagi-Utsumi, K. Ishii, R. Murakami, S. Uchiyama, K. Kato, “KaiC ATP hydrolysis regulates KaiA-KaiC interaction through the conformational changes in its C-terminal segments in the cyanobacterial circadian clock system,” ExCELLS Young Scientists Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

T. Saito, H. Yagi, S. Tsuge, C.W. Kuo, K.H. Khoo, K. Kato, “FUT9-dependent Lewis X modification is mediated

through the specific amino acid sequence of LAMP-1,” ExCELLS Young Scientists Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

T. Suzuki, S. Yanaka, T. Watanabe, G. Yan, T. Satoh, H. Yagi, T. Yamaguchi, K. Kato, “Development of high binding affinity oligosaccharide for lectin by reshaping of its conformational space,” ExCELLS Young Scientists Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

R. Yogo, S. Yanaka, H. Yagi, R. Inoue, M. Sugiyama, K. Kato, “Characterization of interaction between IgG-Fc and Fc receptor glycoproteins using nuclear magnetic resonance and small-angle neutron scattering,” ExCELLS Young Scientists Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

K. Ishii, K. Kato, S. Uchiyama, “Native mass spectrometry: mass spectrometry for molecular complex assembled by weak interaction,” ExCELLS Young Scientists Forum 2018, Okazaki (Japan), July 2018.

加藤晃一, 山口拓実, “Application of coordination chemistry approach to structural analysis of carbohydrate chains of biological interest,” 43rd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018), Sendai (Japan), August 2018.

K. Kato, “An integrative structural study of antibody,” The 6th International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR, Yokohama (Japan), November 2018.

K. Kato, “In situ structural characterization of antibody interactions,” The 18th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Seoul (Korea), November 2018.

T. Suzuki, S. Yanaka, T. Watanabe, G. Yan, T. Satoh, H. Yagi, T. Yamaguchi, K. Kato, “Development of high-affinity glycan for lectin by reshaping of its structural dynamics,” 2018 Japan&Korea Joint Seminars on Biomolecular Sciences, Seoul (Korea), November 2018.

R. Yogo, S. Yanaka, H. Yagi, R. Inoue, M. Sugiyama, K. Kato, “Characterization of dynamics and functions of antibodies,” 2018 Japan&Korea Joint Seminars on Biomolecular Sciences, Seoul (Korea), November 2018.

M. Hiranyakorn, S. Yanaka, M. Yagi-Utsumi, K. Kato, “NMR analysis of conformational dynamics of linear Lys48-linked ubiquitin chains,” 2018 Japan&Korea Joint Seminars on Biomolecular Sciences, Seoul (Korea), November 2018.

M. Yagi-Utsumi, K. Kato, “NMR analyses of conformational dynamics and molecular assemblies of amyloid- β ,” 2018 Japan&Korea Joint Seminars on Biomolecular Sciences, Seoul (Korea), November 2018.

M. Yagi-Utsumi, “NMR structural analyses of molecular assembly of amyloid- β ,” The 2nd IMS-NANOTEC Joint Research Meeting, Okazaki (Japan), November 2018.

K. Mesayamasa, S. Yanaka, R. Yogo, K. Kato, “Lanthanide-Binding tag for Protein Interaction Observation by NMR Spectroscopy,” SOKENDAI Asian Winter School 2018 "Challenges for New Frontiers in Molecular Science: From Basics to Advanced Researches", Okazaki (Japan), December 2018.

M. Hiranyakorn, S. Yanaka, M. Yagi-Utsumi, K. Kato, “Conformational dynamics of linear Lys48-linked ubiquitin chains studied by NMR,” SOKENDAI Asian Winter School 2018 "Challenges for New Frontiers in Molecular Science: From Basics to Advanced Researches", Okazaki (Japan), December 2018.

K. Kato, T. Sato, “Mechanistic insights on the dynamics of proteasome formation,” 2019 EWU-NCU joint symposium (第3回 名古屋市立大学 - 梨花女子大学ジョイントシンポジウム), Nagoya (Japan), February 2019.

R. Yogo, S. Yanaka, H. Watanabe, H. Yagi, T. Uchihashi, K. Kato, “Biophysical characterization of antibody interactions *in situ*,” Nagoya Immunology Network in ICU / The 1st international Symposium, Nagoya (Japan), March 2019.

7) 招待講演

谷中冴子, 與語理那, 矢木宏和, 加藤晃一, “血清環境下における抗体の相互作用解析,” 第18回日本蛋白質科学会年会, 新潟, 2018年6月.

K. Kato, “What is life? What is ExCELLS?,” Frontier Bioorganization Forum 2018, 岡崎, 2018年7月.

K. Kato, T. Yamaguchi, “Application of coordination chemistry approach to structural analysis of carbohydrate chains of biological interest,” 43rd International Conference on Coordination Chemistry, 仙台, 2018年8月.

谷中冴子, “部位選択的重水素化を活用した抗体の血清中での相互作用解析,” 第19回若手NMR研究会, 呉, 2018年8月.

加藤晃一, 深瀬浩一, 秋吉一成, 千葉靖典, 門松健治, “シンポジウム:糖鎖関連大型研究の現状と将来展望,” 第37回日本糖質学会年会, 仙台, 2018年8月.

加藤晃一, “糖タンパク質の構造計測,” バイオ計測サイエンス研究部会第1回シンポジウム, 大阪, 2018年9月.

S. Yanaka, H. Watanabe, R. Yogo, H. Yagi, T. Uchihashi and K. Kato, “Structural characterization of antibody interactions in situ,” 第56回日本生物物理学会年会, 岡山, 2018年9月.

谷中冴子, “抗体研究から学ぶこと,” 第91回日本生化学会大会 生化学若い研究者の会創立60周年記念シンポジウム「生命科学の来し方行く末」, 京都, 2018年9月.

加藤晃一, “生命分子の動秩序形成と機能創発,” 第1回ExCELLSシンポジウム, 岡崎, 2018年10月.

加藤晃一, “アルツハイマー病発症メカニズムを知る鍵、「アミロイド線維」を宇宙実験でつくる,” “未来へのバイオ技術”勉強会「宇宙と健康医療研究～抗加齢を中心に」, 東京, 2018年11月.

加藤晃一, “ExCELLS,” 教育研究評議会(第58回)における研究発表, 東京, 2018年11月.

K. Kato, “An integrative structural study of antibody,” The 6th International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR, 横浜, 2018年11月.

K. Kato, “In situ structural characterization of antibody interactions,” The 18th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Seoul (Korea), November 2018.

M. Yagi-Utsumi, “NMR structural analyses of molecular assembly of amyloid- β ,” The 2nd IMS-NANOTEC Joint Research Meeting, 岡崎, 2018年11月.

谷中冴子, “NMRを用いた抗体の動的構造解析,” 産業技術研究所 研究部門セミナー, つくば, 2019年1月.

K. Kato, T. Satoh, “Mechanistic insights on the dynamics of proteasome formation,” 2019 EWU-NCU joint symposium (第3回 名古屋市立大学-梨花女子大学ジョイントシンポジウム), Nagoya (Japan), February 2019.

矢木真穂, “神経変性疾患の解明を目指した構造生物学研究,” サントリー生命科学財団セミナー, 京都, 2019年3月.

加藤晃一, “極限環境生命探査: ExCELLSの挑戦,” 宇宙科学談話会, 相模原, 2019年3月.

加藤晃一, “生命分子システムの動秩序形成機構の探究,” 第3回名古屋リズム研究会, 名古屋, 2019年3月.

8) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本生化学会 代議員 (2005-). (加藤晃一)

日本糖質学会 理事 (2013-). (加藤晃一)

日本核磁気共鳴学会評議員 (2016-) 理事 (2014-) 会長 (2018-). (加藤晃一)

日本蛋白質科学会 理事 (2015-) 副会長 (2016-2018). (加藤晃一)

日本糖鎖科学コンソーシアム 幹事 (2012-) 常任幹事 (2016-). (加藤晃一)

学会の組織委員等

国際磁気共鳴学会 2021 (ISMAR2021) 実行委員 (2018-). (加藤晃一)

文部科学省、学術振興会、大学共同利用機関等の委員等 (加藤晃一)

日本学術振興会 科学研究費委員会専門委員 (2009-). (加藤晃一)

大阪大学蛋白質研究所専門委員会委員 (2014-). (加藤晃一)

大阪大学蛋白質研究所「共同利用・共同研究」委員会超高磁場 NMR 共同利用・共同研究専門部会委員 (2012-). (加藤晃一)

公益財団法人水谷糖質科学振興財団 選考委員 (2016-). (加藤晃一)

公益財団法人薬学研究奨励財団 選考委員 (2016-2018). (加藤晃一)

日本学術会議 連携会員 (2017-). (加藤晃一)

先端科学 (FoS) シンポジウム事業委員会委員 (2018-). (加藤晃一)

学会誌編集委員

Open Glycoscience, Editorial board member (2008-). (加藤晃一)

Glycoconjugate Journal, Editorial board member (2009-). (加藤晃一)

World Journal of Biological Chemistry, Editorial board member (2010-). (加藤晃一)

Glycobiology, Editorial board member (2011-). (加藤晃一)

Scientific Reports, Editorial board member (2015-). (加藤晃一)

International Journal of Molecular Sciences, Editorial board member (2017-). (加藤晃一)

産学連携

産業技術総合研究所, 「酵母発現系での糖タンパク質の生産法」, 加藤晃一 (2018-).

太陽日酸株式会社, 「タンパク質の安定同位体標識技術の開発」, 加藤晃一 (2018-).

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

名古屋市立大学薬学部, 大学院薬学研究科, 特任教授, 2008 年 4 月-. (加藤晃一)

国立長寿医療研究センター認知症先進医療開発センター, 客員研究員, 2011 年 4 月-. (加藤晃一)

10) 受賞、表彰

齋藤泰輝, Poster Presentation Award, ExCELLS Young Scientists Forum 2018 (2018 年 7 月).

本田怜奈, 平成 30 年度糖鎖科学中部拠点奨励賞 (2018 年 9 月).

小藤加奈, 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会 2018 ベストプレゼン賞 (2018 年 11 月).

齋藤泰輝, 第 6 回将来を見据えた生体分子の構造・機能解析から分子設計に関する研究会最優秀賞 (2019 年 1 月).

本田怜奈, 日本化学会東海支部長賞 (2019 年 3 月).

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究 (A), 「多元的構造生物学アプローチによるプロテアソーム形成機構の解明と創薬への展開」, 加藤晃一 (代表) (2015 年 -2018 年).

科研費新学術領域研究「生命分子システムにおける動的秩序形成と高次機能発現の研究推進のための国際活動支援」, 加藤晃一 (代表) (2015 年 - 2018 年).

科研費若手研究 (B), 「アミロイド線維の伸長末端の 3 次元構造情報に基づく重合機構の理解および創薬展開」, 矢木真穂 (代表) (2017 年 -2018 年).

科研費新学術領域研究「動的構造生命科学を拓く新発想測定技術ータンパク質が動作する姿を活写するー」(公募研究), 「抗体の分子認識を契機とする補体系の活性化を活写する」, 谷中冴子 (代表) (2017 年 -2018 年).

科研費若手研究, 「抗体と Fc 受容体の新規相互作用様式の解明と抗体工学への展開」, 谷中冴子 (代表) (2018 年 -).

科研費基盤研究 (A), 「細胞再現系での蛋白質の構造・ダイナミクスの解明」, 矢木真穂 (分担) (2018 年).

科研費基盤研究 (S), 「新世代中性子構造生物学の開拓」, 矢木真穂 (分担) (2018 年 -).

1-11 定量生物学研究グループ

青木 一洋（教授）

近藤 洋平（助教）

小田 茂和（助教）

1) 専門領域：細胞生物学、分子生物学、生化学、システム生物学、非平衡物理学

2) 研究課題：

- a) 細胞内シグナル伝達系の可視化法の開発
- b) 細胞内シグナル伝達系の定量法の開発
- 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：

細胞は、細胞外からの刺激を感知し、「細胞内シグナル伝達系」と呼ばれるシステムによって情報処理し、適応的な表現型を出力することで恒常性を維持している。我々の研究グループは、細胞内シグナル伝達系を定量的に理解することを目的として研究している。哺乳類培養細胞や分裂酵母、線虫の細胞内シグナル伝達系を蛍光イメージングにより可視化、定量化、操作することで、細胞内シグナル伝達系の情報処理特性を理解し、悪性腫瘍といった病態を制御したいと考えている。

a) 【細胞内シグナル伝達系の可視化法の開発】

我々は蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の原理に基づくバイオセンサーを開発し（Komatsu, MBoC, 2011; Miura, Cell Struct Funct, 2014）、細胞内シグナル伝達系を可視化してきた。しかしながら、FRET バイオセンサーを用いた場合、2種類以上の分子の活性を可視化することは技術的に難しい。このような問題に対処するために、我々は単色でキナーゼ活性を測定することができるバイオセンサー、Kinase translocation reporter（KTR）と呼ばれるキナーゼバイオセンサーを開発してきた（Regot, Cell, 2014; Maryu, Cell Struct Funct, 2018）。これは、標的とするキナーゼによってリン酸化される配列に NES（核外移行シグナル）と NLS（核内移行シグナル）を付与し、リン酸化によって NES と NLS の活性のバランスが変化することで KTR センサーの核内核外移行からキナーゼ活性を測定するという原理である。これを利用して、当研究グループの三浦は、ストレス活性化型 MAP キナーゼである p38 と JNK の活性を多重可視化するシステムを開発した。これは、p38-KTR の開発に加えて既報の JNK-KTR を組み合わせ、1細胞レベルで p38 から JNK への強い負のフィードバックがあることを定量的に示した。さらに UV 刺激による細胞死誘導の際、p38 から JNK のフィードバックが強い細胞はアポトーシスから回避すること、このフィードバック反応が細胞の生死を決めるスイッチの役割をしていることを発見した（Miura, Cell Reports, 2018）。

b) 【細胞内シグナル伝達系の定量法の開発】

細胞内シグナル伝達系のシミュレーションモデルを作る上で、定量的な反応パラメーター（タンパク質濃度、解離定数、酵素反応速度など）を用いることは予測可能性を上げるためには必須である。しかしながら、シグナル伝達系の反応パラメーターは現状ではほとんど測定されていない。そこで、CRISPR/Cas9 を用いて蛍光タンパク質遺伝子をノックインし、内在性のタンパク質濃度や解離定数を測定するための手法を開発した。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 (FCS) と蛍光相互相関法分光法 (FCCS) 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 (Komatsubara, JBC, in press)。

c) 【細胞内シグナル伝達系の摂動技術の開発】

細胞内シグナル伝達系の動態と表現型の因果関係を直接的に検証するためには、シグナル伝達系の操作や摂動技術が必要不可欠である。我々は化合物や光遺伝学の手法を用いてシグナル伝達系の操作・摂動技術の開発とその応用を行ってきた (Aoki, JCB, 2007; Aoki, Mol Cell, 2013)。とくに、赤色 / 近赤外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でいる。赤色 / 近赤外光に応答し、結合 / 乖離する Phytochrome B (PhyB) - PIF 二量体化系は、Phycocyanobilin (PCB) などの発色団が必要であるが、光合成生物以外に PCB は細胞内に存在しないため、外部から添加する必要があった。最近、当研究グループでは、シアノバクテリア由来の PCB 合成にかかわる 4 遺伝子を哺乳類培養細胞のミトコンドリア内に発現させると、PCB が合成できることを報告した (Uda, PNAS, 2017)。そこでこの PCB 合成系を PCB が容易に浸透しない分裂酵母や線虫に適用した。どちらにおいても PCB 合成酵素遺伝子の導入により PCB 合成を確認している。また、分裂酵母において PhyB-PIF 系を利用したスピンドルアセンブリチェックポイントの光操作に成功している。線虫では、塩感受性神経においてシグナル伝達系を光操作し、可塑性を作り出すことができるか検討している。

4) 学術論文

A.T. Komatsubara, Y. Goto, Y. Kondo, M. Matsuda, K. Aoki, Single-cell quantification of the concentrations and dissociation constants of endogenous proteins. *J. Biol. Chem.*, (2019), in press

H. Miura, Y. Kondo, M. Matsuda, K. Aoki, Cell-to-cell heterogeneity in p38-mediated cross-inhibition of JNK causes stochastic cell death. *Cell Reports* **24**, 2658-2668 (2018).

Y. Muta, Y. Fujita, K. Sumiyama, A. Sakurai, M.M. Taketo, T. Chiba, H. Seno, K. Aoki, M. Matsuda, M. Imajo, Composite regulation of ERK activity dynamics underlying tumour-specific traits in the intestine. *Nat Commun.*, **9**, 2174 (2018).

Y. Kondo, K. Aoki, S. Ishii, Inverse tissue mechanics of cell monolayer expansion. *PLoS Comput Biol.*, **14**, e1006029 (2018)

S. Hori, S. Oda, Y. Suehiro, Y. Iino, S. Mitani, OFF-responses of interneurons optimize avoidance behaviors depending on stimulus strength via electrical synapses. *PLoS genetics*, **14**, e1007477 (2018)

5) 著書、総説

S. Oda, Y. Uda, Y. Goto, H. Miura, K. Aoki, Optogenetic Tools for Quantitative Biology: The Genetically Encoded PhyB-PIF Light-inducible Dimerization System and Its Application for Controlling Signal Transduction. *Optogenetics*, 137-148 (2018)

G. Maryu, H. Miura, Y. Uda, A.T. Komatsubara, M. Matsuda, K. Aoki, Live-cell imaging with genetically encoded protein kinase activity reporters. *Cell Struct Funct*, **43**, 61-74 (2018).

6) 国際会議発表リスト

K. Aoki, "Live-cell FRET imaging reveals propagating wave of ERK activation and its function in collective cell migration" International Meeting on Optical Biosensors, Ghent (Belgium), November, 2018.

7) 招待講演

青木一洋「細胞内シグナル伝達系の可視化と光操作」、第 18 回蛋白質科学会年会、新潟、2018 年 6 月

青木一洋「実験と数理モデルによる細胞内の情報処理機構の解析」、第15回生物数学の理論とその応用 - 次世代の数理科学への展開 -, 京都、2018年9月

青木一洋「生細胞イメージングによる細胞内シグナル伝達系の可視化と光操作」、第77回日本癌学会学術総会、大阪、2018年9月

青木一洋「細胞間のERK活性伝搬による細胞集団運動の制御と光操作」、細胞を創る会11.0、宮城、2018年10月

青木一洋「細胞集団運動と非平衡輸送現象の接点」、第九会定量生物学の会年会、大阪、2019年1月

8) 学会および社会的活動

日本細胞生物学会（理事）（青木一洋）

日本生物物理学会（編集員）（青木一洋）

定量生物学の会（世話人）（青木一洋）

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

慶応大学 非常勤講師（青木一洋）

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究(B)、「ERKシグナルによるG1-S期チェックポイントの閾値決定機構の定量的な理解」、青木一洋（代表）（2018年-2020年）

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-2019年)
新学術領域公募研究、「遺伝子にコードされたPhyB-PIF系による細胞・個体機能の光制御と新展開」、青木一洋（代表）（2018年-2019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」、青木一洋（分担）（2016年-2020年）

1-12 認知ゲノム研究グループ

郷 康広（特任准教授）

1) 専門領域：ゲノム科学，神経科学

2) 研究課題：

- a) 医学研究に資する霊長類モデル動物開発にむけた実験動物学的研究
- b) 「ヒトとは何か？」を明らかにする進化人類遺伝学的研究
- c) ゲノムや細胞の「個性」を定量化する技術開発

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 医学研究に資する霊長類モデル動物開発にむけた実験動物学的研究

ヒト精神・神経疾患の霊長類モデル動物の開発のために，マカクザルとマーモセットを対象とした実験的認知ゲノミクス研究を行った．ヒト精神・神経疾患関連遺伝子（約 500 遺伝子）を解析対象とし，マカクザル 831 個体，マーモセット 1,328 個体を対象とした遺伝子機能喪失（Loss-of-Function: 以下 LoF）変異保有個体の同定を行った．その結果，マカクザルでは 53 遺伝子，マーモセットでは 142 遺伝子において，精神・神経疾患との関連性が非常に高い遺伝子において希な（集団アليل頻度 5% 以下）LoF 変異を持つ可能性のある個体を同定した．

また，霊長類脳の構造・機能をささえる分子基盤解明にむけたマーモセットミクロレベルの全脳遺伝子発現動態解析を行った．マーモセット新鮮凍結脳試料を用い，クライオスタットによる冠状面組織切片を作製し，レーザーキャプチャーマイクロダイセクション法により微小領域からの細胞の回収を行った．神経核として，大脳基底核，海馬体，扁桃体領域，皮質として，前頭前野背外側部，前帯状皮質，中側頭回，一次運動野，一次体性感覚野，一次視覚野の 6 領域を回収対象領域とし，1 層から 6 層，および白質層を含む領域を層構造に平行に 12 分割した領域の回収を行った．次世代シーケンサーによる配列情報の取得と配列情報解析を行い，各神経核領域における全遺伝子の発現量の定量化，差次的発現遺伝子（Differentially Expressed Gene: DEG）の同定および遺伝子共発現行列を指標としたネットワーク解析を行い発現パターンの分類を行った．得られた結果の妥当性を示すために，理化学研究所脳科学研究総合センターにおいて公開されているマーモセット遺伝子アトラスの in situ hybridization (ISH) の情報を用いて，その評価を行ったところ，今回のトランスクリプトーム解析の結果得られた DEG と ISH の相関が非常に高いことが明らかにした．

b) 「ヒトとは何か？」を明らかにする進化人類遺伝学的研究

ヒトを特徴付ける最も大きな特徴である脳の発達・進化を「ヒトとは何か？」という問いに対するひとつの切り口として捉え，ヒトと非ヒト類人猿（チンパンジー・ゴリラ・テナガザル）を対象とした死後脳（8 領域: 運動前野，前頭前野背外側部，前頭前野腹外側部，一次視覚野，前帯状皮質，線条体，視床，小脳）における比較トランスクリプトーム研究を行った．種間，領域間において遺伝子発現が共に変動している共発現遺伝子の類似性をもとにクラスター解析を行ったところ，24 のモジュールが発見され，そのうち 4 つがヒトに特異的，1 つがチンパンジーに特異的なモジュールであることを明らかにした．240 個の遺伝子がチンパンジーの系統でのみ変動したのに対し，ヒト特異的な発現変動を示す遺伝子は 1851 個にも及ぶことも明らかとなった．さらに，ヒト特異的な遺伝子の半数以上が，ヒト海馬のニューロンおよびアストロサイトにおいて遺伝子発現が上昇していた．また，遺伝子発現の制御に重要なエピジェネティック変

動, 特に転写を促進すると考えられているヒストンのアセチル化状態の変動を解析したところ, 種間において遺伝子発現の差を生み出す主な要因は転写因子の発現状態・結合状態に起因するものであり, 一方で, 脳の領域間の差には, プロモーター領域におけるクロマチンのアセチル化の状態の違いが主に関与していることを明らかにした (Genome Research, 2018).

c) ゲノムや細胞の「個性」を定量化する技術開発

生物の個性や多様性創出のみなもとであるゲノムや細胞の差 (個性) を定量化する技術開発を行った. 具体的には, ヒト以外の霊長類, 哺乳類, 脊椎動物でゲノム情報が整備されていない非モデル生物に関して, 新規ゲノム解読によるゲノム情報の整備を行った. これまでにニホンザル, チンパンジー, テナガザル (3種), ロリス, ハムスター (2種), ウサギ, ウズラ, トカゲ (2種), ウミヘビの全ゲノム解読を行い, ゲノム構造, 遺伝子情報を整備した.

また, 細胞の個性を単一細胞ごとに定量化するための技術開発を行った. 数万の単一細胞の遺伝子発現情報を網羅的に取得できる技術開発を推進した. 対象とする細胞種として, 免疫系, 神経系などを中心としてヒト, 霊長類, マウス, 鳥類などの動物を対象として, 単一細胞レベルでの遺伝子発現情報を取得する実験および解析系を構築することに成功した.

4) 学術論文

C. Xu, Q. Li, O. Efimova, L. He, S. Tatsumoto, V. Stepanova, T. Oishi, T. Udono, K. Yamaguchi, S. Shigenobu, A. Kakita, H. Nawa, P. Khaitovich and Y. Go, "Human-specific features of spatial gene expression and regulation in eight brain regions" *Genome Res.*, **28, 1097-1110 (2018).**

K. Matsumura, H. Imai, Y. Go, M. Kusuhara, K. Yamaguchi, T. Shirai and K. Ohshima, "Transcriptional activation of a chimeric retrogene PIPSL in a hominoid ancestor" *Gene* **678, 318-323 (2018).**

S. Iritani, Y. Torii, C. Habuchi, H. Sekiguchi, H. Fujishiro, M. Yoshida, Y. Go, A. Iriki, M. Isoda and N. Ozaki N, "The neuropathological investigation of the brain in a monkey model of autism spectrum disorder with ABCA13 deletion" *Int J Dev Neurosci.* **71, 130-139 (2018).**

S. Ishishita, M. Takahashi, K. Yamaguchi, K. Kinoshita, M. Nakano, M. Nunome, S. Kitahara, S. Tatsumoto, Y. Go, S. Shigenobu and Y. Matsuda, "Nonsense mutation in PMEL is associated with yellowish plumage colour phenotype in Japanese quail" *Sci Rep.*, **8, 16732 (2018)**

H. Hirai, Y. Go, Y. Hirai, G. Rakotoarisoa, J. Pamungkas, S. Baicharoen, I. Jahan, D. Sajuthi and A. Tosi, "Considerable synteny and sequence similarity of primate chromosomal region VIIq31" *Cytogenet Genome Res.*, in press.

5) 著書, 総説

郷康広, “ヒトとチンパンジーの脳の違いを発見” 科学 (岩波書店) **11**, 1084-1085 (2018).

郷康広, “第 18 章ゲノムの進化” ゲノム第 4 版 (メディカルサイエンスインターナショナル, 石川冬木 (監訳), 中山潤一 (監訳)) 443-477 (2018).

6) 国際会議発表リスト

Y. Go, " The evolutionary trajectory of spatial transcriptome and epigenome in primate brains" Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE) 2018, Yokohama (Japan), July 2018.

Y. Go, " The evolutionary trajectory of spatial transcriptome and epigenome in primate brains" The 46th Naito Conference on Mechanisms of Evolution and Biodiversity, Sapporo (Japan), October 2018.

Y. Go, "Dissecting the genetic diversity of Japanese's marmoset colonies" Care, use and welfare of marmosets as

animal models for gene editing-based biomedical research, A Roundtable of Science and Welfare in Laboratory Animal Use Workshop, National Academy of Science, Washington DC (USA), November 2018.

T. Hayakawa, S Tatsumoto, T Kishida, H Suzuki, H Ishikawa, M Nikaido and Y Go, "Life slowly, life in the dark – insight from slow loris genome" The 11th International Symposium on Primatology and Wildlife Science, Kyoto (Japan), March 2019.

7) 招待講演

Y. Go, "The evolutionary trajectory of spatial transcriptome and epigenome in primate brains" Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE) 2019, Yokohama (Japan), July 2018.

郷康広「ゲノムを通して我が身を知る—ヒトとサルの間にあるもの—」, 第34回日本霊長類学会大会公開シンポジウム, 東京, 2018年7月.

郷康広「10X Genomics 社 Chromium を用いたゲノム・トランスクリプトーム解析」, 第213回農林交流センターワークショップ, 次世代シーケンサーのデータ解析技術公開講座, つくば, 2018年9月.

Y. Go, "Dissecting the genetic diversity of Japanese's marmoset colonies" Care, use and welfare of marmosets as animal models for gene editing-based biomedical research, A Roundtable of Science and Welfare in Laboratory Animal Use Workshop, National Academy of Science, Washington DC (USA), November 2018.

郷康広「マーモセットにおける遺伝的多様性解析および精神・神経疾患関連遺伝子解析」, 第8回日本マーモセット研究会, 東京, 2019年2月.

郷康広「脳・こころの個性・多様性理解にむけた比較認知ゲノム研究」, 平成30年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会, 犬山, 2019年3月.

8) 学会および社会的活動

日本神経科学学会将来計画委員 (郷康広)

日本霊長類学会会計監査 (郷康広)

11) 外部獲得資金

科学研究費 新学術領域研究 (計画研究), 「イメージングゲノミクス解析による個性創発機構の解明と細胞・脳の個性計測技術開発」, 郷康広 (代表) (2016年-2020年).

科学研究費 新学術領域研究 (総括班), 「多様な「個性」を創発する脳システムの統合的理解」, 郷康広 (分担) (2016年-2020年).

科学研究費 新学術領域研究 (国際活動支援班), 「「個性」創発脳システムの統合的理解を拓く国際的データシェアプラットフォームの構築」, 郷康広 (分担) (2016年-2020年).

科学研究費 基盤研究 (B), 「ヒトとチンパンジーの選択的スプライシングの多様性解析とその脳内表現」, 郷康広 (代表) (2016年-2018年).

日本医療研究開発機構, 「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」, 郷康広 (分担) (2018年-2022年).

国立精神・神経疾患研究開発費, 「発達障害の治療法の確立をめざすトランスレーショナルリサーチ」, 郷康広 (分担) (2017年-2019年).

1-13 発生シグナル創発研究グループ

高田 慎治（教授）

矢部泰二郎（助教）

三井 優輔（助教）

1) 専門領域：発生生物学、分子生物学

2) 研究課題：

a) 脊椎動物の形態形成を司る細胞間シグナルの空間制御に関する研究

b) 反復構造形成に着目した脊椎動物の形態形成の時空間的制御に関する研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 脊椎動物の組織や器官は特有の形や大きさを有する。そのような構造が秩序正しくできあがる上では、細胞間シグナルによる協調的な細胞間コミュニケーションが重要であると考えられる。組織の発生過程においては、細胞間シグナルが産生細胞から分泌され、周囲の細胞に対して働きかけるが、シグナルの拡散が如何にコントロールされるのか、またその制御機構の特性が組織や器官の形態形成にどのように反映されているのかといったことは興味深い問題であるが、未だに十分な理解が得られていない。

我々は、脊椎動物の形態形成に関わる代表的なシグナルの一つである Wnt に着目し、Wnt タンパク質の空間動態の解析と、それを制御する分子的要因について研究を進めている。今年度は Wnt 8 以外の Wnt についての空間分布を解析し、その制御機構に多様性があることが示唆された。また、マウスの神経管においては、Wnt を産生する細胞の形態が変化することにより、シグナルの到達範囲が大きく変化することを発見し、その結果神経前駆細胞の増殖が亢進することを明らかにした。これらの結果から、Wnt タンパク質の空間分布は細胞そのものの構造変化によっても規定されることが初めて明らかになった。

一方、このような Wnt タンパク質の空間動態には、Wnt タンパク質側の要因、特にその高次構造の多様性、が寄与すると考え、細胞外に分泌された Wnt タンパク質の高次構造についての研究も平行して進めた。ExCELLS の内山進客員教授らとの共同研究により、細胞外に分泌された Wnt タンパク質の構造を蛍光検出器による分析超遠心法により解析し、Wnt タンパク質がホモ 3 量体を最小ユニットとする集合体を形成して分泌されることを明らかにした。

b) 脊椎動物の発生過程の初期においては、特徴的な反復構造が複数出現し、それらの持つ反復性はその後の器官形成に大きな影響を与えることが知られている。体節、鰓（咽頭弓）、脳の反復構造が代表的なものであり、本グループにおいては特に体節の反復構造の形成機構に着目して研究を進めている。

体節は動物の発生過程において中軸組織の側方部に一過的に形成される繰り返す構造であり、上皮細胞に包まれた細胞塊が数珠状に連なった構造をしている。個々の体節ユニットは、その前駆細胞である未分節中胚葉（PSM）が一定周期で区分されることにより逐次的に形成される。このような体節形成の周期性は PSM の個々の細胞が持つ分節時計により作り出される時間情報により制御されており、その分子実態としてネガティブフィードバックにより作り出される Notch シグナルや転写抑制因子 Hes の発現振動が同定されている分節時計により作り出される時間情報は、PSM 前方部において体節の分節構造へと変換されることが知られているが、その変換機構の詳細については不明な点が多い。本グループではゼブラフィッシュを用いてこの問題に挑戦しており、変換機構を司る遺伝子ネットワークの全貌を明らかにしつつある。

4) 学術論文

Shinozuka T, Takada R, Yoshida S, Yonemura S, Takada S. “Wnt produced by stretched roof-plate cells is required for the promotion of cell proliferation around the central canal of the spinal cord.” *Development* 146. pii: dev159343. 2019

Kikuchi M, Nishimura T, Saito D, Shigenobu S, Takada R, Gutierrez-Triana JA, Cerdán JLM, Takada S, Wittbrodt J, Suyama M, Tanaka M. “Novel components of germline sex determination acting downstream of foxl3 in medaka.” *Dev Biol.* 445, 80-89, 2019

Takada, R., Mii, Y., Krayukhina, E., Maruyama, Y., Mio, K., Sasaki, Y., Shinkawa, T., Pack, C.-G., Sako, Y., Sato, C., Uchiyama, S., Takada, S. “Assembly of protein complexes restricts diffusion of Wnt3a proteins” *Communications Biology* 1, 165, 2018

Kinoshita H, Ohgane N, Fujino Y, Yabe T, Ovara H, Yokota D, Izuka A, Kage D, Yamasu K, Takada S, Kawamura A. “Functional roles of the Ripply-mediated suppression of segmentation gene expression at the anterior presomitic mesoderm in zebrafish.” *Mech Dev.* 152, 21-31, 2018

Tsuchiya, Y., Mii, Y., Okada, K., Furuse, M., Okubo, T., Takada, S. “*Ripply3* is required for the maintenance of epithelial sheets in the morphogenesis of pharyngeal pouches” *Dev. Growth Diff.* 60, 87-96, 2018

5) 著書、総説

矢部泰二郎、高田慎治「体節由来の組織の発生」動物学の百科事典、日本動物学会編、丸善出版，2018

6) 国際会議発表リスト

Taijiro Yabe & Shinji Takada “The molecular mechanism for the termination of segmentation clock during zebrafish somitogenesis” 13th International Zebrafish Conference (Madison、米国、2018年6月20-24日)

Shinji Takada “Oligomerization-based assembly restricts Wnt protein diffusion”: Frontier Bioorganization Forum 2018 (岡崎、2018年7月8-11日) Oral presentation

Yusuke Mii, Ritsuko Takada, Makoto Matsuyama, & Shinji Takada “How do Wnt proteins regulate planar cell polarity?”: 17th International Xenopus Conference (Seattle、米国、2018年8月12-16日), Oral presentation

Shinji Takada, Ritsuko Takada, Makoto Matsuyama, & Yusuke Mii “Visualization of Wnt11 proteins reveals that Wnt acts not by forming global gradient, but as a local signal to progressively propagate planar cell polarity”: European Wnt Meeting 2018, (Heidelberg、ドイツ、2018年9月12-14日)

Shinji Takada, Ritsuko Takada, Makoto Matsuyama, & Yusuke Mii “Extracellular Dynamics and Diffusion Range of Wnt Protein in Xenopus Embryos”: Keystone Symposia "Signal Dynamics and Signal Integration in Development and Disease" (Keystone、米国、2019年1月27-31日), Oral presentation

Yusuke Mii “How does Wnt11 direct the planar cell polarity?”: 119th International Titisee Conference (Titisee、ドイツ、2019年3月27-31日), Oral presentation

7) 招待講演

三井優輔、高田律子、松山誠、高田慎治 “Local and mutual regulations between Wnt and planar cell polarity propagate global coordination of cell polarity throughout the tissue.” : 第70回日本細胞生物学会・第51回日本発生生物学会合同大会 (東京、2018年6月5日-6月8日)

高田慎治 “Wnt シグナルによる空間制御: タンパク質にこだわりモルフォゲンを識る” 信州夏季セミナー 2018 (松本 2018年8月5日-8月7日)

Yusuke Mii “Understanding mechanisms around Wnt signaling by visualizing Wnt ligands” Seminar at Univ. Basel

(Basel, スイス、2018 年 9 月 10 日)

Yusuke Mii “How does Wnt11 direct the planar cell polarity?” : 119th International Titisee Conference (Titisee, ドイツ、2019 年 3 月 27 日 -3 月 31 日)

8) 学会および社会的活動

日本発生生物学会・運営委員 (高田)、ナショナルバイオリソースプロジェクト「メダカ」運営委員 (高田) など

1-14 植物発生生理研究グループ

塚谷 裕一（客員教授）

川出 健介（特任准教授）

1) 専門領域：植物発生学，植物生理学

2) 研究課題：

- a) 植物発生シグナルによる一次代謝制御機構の解明
- b) 脂肪酸修飾による植物胚の発生制御機構の解明
- c) 発生現象の研究にメタボローム解析を積極的に活用する共同研究活動
- d) 細胞サイズの制御機構の解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 植物発生シグナルによる一次代謝制御機構の解明

多細胞生物の発生は、体内の代謝生理状態と関連している。近年、アミノ酸代謝や TCA 回路といった一次代謝は細胞の基本的な機能を支えるだけでなく、転写調節などを介して発生運命を決めていることが分かってきた。このような進展がありながらも、一次代謝システムが特定の発生プロセスを制御する仕組みは、まだ十分に理解されていない。私たちは、モデル植物シロイヌナズナの葉の発生において、細胞増殖を促進する転写共役因子 *ANGUSTIFOLIA3* (*AN3*) に着目した研究をこれまで進めてきた。そして、*AN3* は細胞間を移動することでモルフォゲンのように濃度勾配をつくり、発生シグナルとして細胞増殖活性の時空間動態を制御していることを明らかにしてきた (Kawade *et al.*, 2017)。この研究をさらに発展させるため、*AN3* がどのような遺伝子発現制御に関与しているのかを RNA-seq 解析で調べたところ、分岐鎖アミノ酸代謝やレドックス調節に関わる遺伝子群が候補として挙げてきた。また、メタボローム解析により *an3* 変異株の代謝プロファイルを調べたところ、アミノ酸含量に加えて、TCA 回路の中間体である有機酸や、その近傍に連結している尿素回路の代謝産物量に変化があることが分かってきた。このトランスオミクス解析による網羅的なアプローチから浮かび上がってきた、*AN3* シグナルが細胞増殖を制御しつつ、体内のレドックス状態を調節しているという仮説は非常に興味深い。そこで現在、レドックス調節に関わる遺伝子の変異株を用いた分子遺伝学的な解析に加えて、活性酸素種の組織内分布や、レドックス状態と増殖活性の関係について調べているところである。

また、*AN3* シグナルのような 1 つの経路が、細胞増殖や一次代謝といった異なる細胞プロセスをあたかもバランスを取るように制御しているのは、シグナル経路の構築といった進化的な視点から考えても興味深い。そこで、基部陸上植物ヒメツリガネゴケの *AN3* 遺伝子破壊株を作出し、その形態観察に取り組んだ。その結果、ヒメツリガネゴケ *an3* 遺伝子破壊株の茎葉体では、細胞増殖のみならず細胞肥大を含めた成長全般に異常が見られた。これはヒメツリガネゴケ *AN3* による代謝制御が乱れた結果だという仮説のもと、現在は茎葉体を用いたメタボローム解析に取り組んでいる。今後は得られた結果を総合的に考察して、*AN3* シグナルの祖先的な機能について明らかにしたいと考えている。

b) 脂肪酸修飾による植物胚の発生制御機構の解明

未知の発生と代謝のつながりを明らかにするため、シトクロム P450 酵素遺伝子に変異をもつシロイヌナズナ系統を揃え、葉の大きさ、根の長さ、種子の大きさなどを含む 12 の発生に関連する形質を測定した。その結果、*CYP77A4* 遺伝子に変異をもつ系統では子葉が小さくなることを見いだした。より詳細な顕

微鏡観察から、この変異株では胚におけるパターン形成が乱れることで、子葉原基を適切に配置できないことが分かった。さらに、変異株の胚では、植物ホルモン・オーキシンの極性輸送が異常になっていることも明らかにした。リノール酸を含む不飽和脂肪酸は CYP77A4 によりエポキシ化された後に、ミクロソームにおいてさらに別のジオール化合物へと代謝されることが知られている (Sauveplane et al., 2009)。そこで、CYP77A4 の細胞内分布を調べたところ、たしかに液胞膜に局在していたので、上記のジオール化合物生成経路は生体内でも起こりうると考えられる。しかし、メタボローム解析に取り組んだところ、*cyp77a4* 変異株や *CYP77A4* 過剰発現株において顕著な代謝異常は見られなかった。この結果は、生体内における CYP77A4 の基質を同定するという点においては不十分であったが、その一方で、CYP77A4 が特異的な代謝経路に寄与しており、形態異常が全身的な体調不良で引き起こされているのでは無いことを示唆する重要な結果でもある。本年度はこれらの結果をまとめて論文として公刊した (Kawade et al., 2018)。

c) 発生現象の研究にメタボローム解析を積極的に活用する共同研究活動

代謝制御の視点から発生現象を解明する研究を促進するため、国内外の研究グループと活発に共同研究を進めている。それに関連した成果として、ピロリン酸の過剰蓄積により細胞機能が異常になるのは、主に UDP- グルコースを生成する代謝経路が停滞することによることを、世界で初めて明らかにしたことが挙げられる (Ferjani et al., 2018)。

d) 細胞サイズの制御機構の解明

植物の葉の細胞サイズの制御に関して、従来、核内倍加の役割が強調されてきたが、相関関係については多くの報告がある一方で、定量性のある分析はなされていない。そこで過去の原著論文 11 本についてメタデータ解析を行なった。その結果、核内倍加のレベルが変化したことで細胞サイズが変化したと報告されている事例のほぼ全てにおいて、観察されている程度の核内倍加のレベルの変動では、細胞サイズの変動は説明しきれないことが判明した。この齟齬について検討した結果、植物の葉の細胞は核内倍加を始める前の、細胞増殖期であっても野生株 - 変異系統間でサイズの違いを持つことが、その要因と判明した (Tsukaya, in press)。メタ解析の可能であった事例については、核内倍加前の細胞サイズの違いに、核内倍加から期待される効果を重ねることで、観察された細胞サイズの違いを完全に説明できた。従来の、核内倍加の影響とされてきた報告例は、見直しが必要である。

4) 学術論文

K. Kawade, Y. Li, H. Koga, Y. Sawada, M. Okamoto, A. Kuwahara, H. Tsukaya and M.Y. Hirai, "The cytochrome P450 CYP77A4 is involved in auxin-mediated patterning of the *Arabidopsis thaliana* embryo" *Development*, **145, dev168369 (2018).**

A. Ferjani, K. Kawade, M. Asaoka, A. Oikawa, T. Okada, A. Mochizuki, M. Maeshima, M.Y. Hirai, K. Saito and H. Tsukaya, "Pyrophosphate inhibits gluconeogenesis by restricting UDP-glucose formation *in vivo*" *Sci. Rep.*, **8, 14696 (2018).**

X. Yin and H. Tsukaya, "Morphogenesis of flattened unifacial leaves in *Juncus prismatocarpus* (Juncaceae)" *New Phytol.*, doi.org/10.1111/nph.15649 (2018).

T. Furuya, K. Hattori, Y. Kimori, S. Ishida, R. Nishihama, T. Kohchi and H. Tsukaya, "ANGUSTIFOLIA contributes to the regulation of three-dimensional morphogenesis and cortical microtubule orientations in the liverwort *Marchantia polymorpha*" *Development*, **145, dev161398 (2018).**

M. Suzuki, N. Shinozuka, T. Hirakata, M.T. Nakata, T. Demura, H. Tsukaya and G. Horiguchi, "OLIGOCELLULAI/HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES15 promotes cell proliferation with HISTONE DEACETYLASE9 and POWERDRESS during leaf development in *Arabidopsis thaliana*" *Front. Plant Sci.* **9, 580 (2018).**

K. Iwabuchi, H. Ohnishi, K. Tamura, Y. Fukao, T. Furuya, K. Hattori, H. Tsukaya and I. Hara-Nishimura, "ANGUSTIFOLIA regulates actin filament alignment for nuclear Positioning in leaves" *Plant Physiol.*, **179**(1), 233-247 (2019).

M. Asaoka, S. Inoue, S. Gunji, T. Kinoshita, M. Maeshima, H. Tsukaya and A. Ferjani, "Excess pyrophosphate within guard cells delays stomatal closure" *Plant Cell Physiol.*, pcz002 (2019).

6) 国際会議発表リスト

K. Kawade, Y. Li, H. Koga, Y. Sawada, A. Kuwahara, H. Tsukaya and M.Y. Hirai, "A cytochrome P450 CYP77A4 is required for auxin-mediated patterning of the *Arabidopsis thaliana* embryo" 29nd International Conference on Arabidopsis Research, Turku (Finland), June 2018.

J.-Y. Hwang, S.E. Jun, J.Y. Moon, J.-H. Kim, S. Shigenobu, H. Tsukaya and G.-T. Kim, "Specification of differential chloroplast-targeted magnesium transporter in the paraveinal regions of leaf blades" 29nd International Conference on Arabidopsis Research, Turku (Finland), June 2018.

7) 招待講演

川出健介「発生シグナルの時空間動態を解くための実験と理論」、日本植物学会第82回大会、広島、2018年9月。

H. Tsukaya, "Has the impact of endoreduplication on cell size not been overestimated?" 29nd International Conference on Arabidopsis Research, Turku (Finland), June 2018.

H. Tsukaya, "Reexamination of the impact of endoreduplication on cell size in leaves" International Plant Molecular Biology 2018, Montpellier (France), August 2018.

8) 学会および社会的活動

日本学術会議 連携会員（塚谷）

日本学術振興会 学術システム研究センター主任研究員（塚谷）

独立行政法人 大学評価・学位授与機構学位審査会 専門委員（塚谷）

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 AMED 課題評価委員（塚谷）

ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) 「アサガオ」運営委員（塚谷）

環境庁 希少野生動植物種保存推進員（塚谷）

日本植物学会 学会賞選考委員（塚谷）

日本植物生理学会 代議員（塚谷）

日本発生生物学会 運営委員（塚谷）

日本植物形態学会 3 賞選考委員会選考委員（塚谷）

松下幸之助花の万博記念賞 選考委員（塚谷）

PLOS ONE, Editorial Board (Academic Editor)（塚谷）

Frontiers in Plant Development 誌 Associate Editor（塚谷）

日本植物学会 *Journal of Plant Research* 誌 Advisory Board member（塚谷）

文部科学省科学技術政策研究所科学技術動向センター 専門調査員（川出）

NIBB Internship program 2018 タイからのインターンシップ生1名の受入れ

岡崎市立美川中学校での基生研出前授業（2018年11月30日）

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

放送大学 非常勤講師（塚谷）

理化学研究所 環境資源科学研究センター 代謝システム研究チーム 客員研究員（川出）

11) 外部獲得資金

科研費若手研究 (B)、「トランスオミクスに基づく一次代謝を介した芽生えの発生制御システムの解明」、川出健介（代表）（2017 年 -2019 年）.

市村清新技術財団 植物研究助成、「植物の成長と電場の関係を明らかにする計測・振動技術の開発」、川出健介（代表）（2018 年）

1-15 生体分子相互作用計測グループ

内山 進（客員教授）

1) 専門領域：生物物理化学（溶液物性、分子間相互作用）、構造生物学、蛋白質科学

2) 研究課題：

超分子質量分析によるタンパク質複合体の解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

超分子質量分析はタンパク質複合体のような弱い相互作用により形成された複合体の質量を正確に測ることができる手法であり、得られた複合体質量から化学量論を知ることができる。平成 26 年度 8 月の装置稼働以降、所内外の研究グループと様々な共同研究を進めてきた（表 1）。生命創成探究センターが始動した本年度、平成 30 年は 8 つの研究機関と合計 14 件の共同研究を実施した。内訳は 3 件が所内、11 件が所外となっている。

	共同研究（件）	所内	所外	海外	のべ利用日数（日）
H26	17	4	13	2	152
H27	24	4	20	3	183
H28	24	9	15	0	167
H29	21	4	17	0	167
H30	14	3	11	0	176
平成 31 年 3 月 17 日現在					

4) 学術論文

K. Morita, Y. Y. Yamamoto, A. Hori, T. Obata, Y. Uno, K. Shinohara, K. Noguchi, K. Noi, T. Ogura, K. Ishii, K. Kato, M. Kikumoto, R. Arranz, J. M. Valpuesta, M. Yohda, "Expression, Functional Characterization, and Preliminary Crystallization of the Cochaperone Prefoldin from the Thermophilic Fungus Chaetomium thermophilum," *Int. J. Mol. Sci.*, **19, (2018)**

N. Numoto, N. Kamiya, G. J. Bekker, Y. Yamagami, S. Inaba, K. Ishii, S. Uchiyama, F. Kawai, N. Ito, M. Oda, "Structural Dynamics of the PET-Degrading Cutinase-like Enzyme from *Saccharomonospora viridis* AHK190 in Substrate-Bound States Elucidates the Ca(2+)-Driven Catalytic Cycle," *Biochemistry*, **57, 5289-5300 (2018)**

T. Uchihashi, Y. H. Watanabe, Y. Nakazaki, T. Yamasaki, H. Watanabe, T. Maruno, K. Ishii, S. Uchiyama, C. Song, K. Murata, R. Iino, T. Ando, "Dynamic structural states of ClpB involved in its disaggregation function," *Nat. Commun.*, **9, 2147 (2018)**

T. Matsui, S. Kamata, K. Ishii, T. Maruno, N. Ghanem, S. Uchiyama, K. Kato, A. Suzuki, N. Oda-Ueda, T. Ogawa, Y. Tanaka, "SDS-induced oligomerization of Lys49-phospholipase A2 from snake venom," *Sci. Rep.* **9, 2330 (2019)**

M. Noda, K. Ishii, M. Yamauchi, H. Oyama, T. Tadokoro, K. Maenaka, T. Torisu, S. Uchiyama, "Identification of IgG1 Aggregation Initiation Region by Hydrogen/Deuterium Mass Spectrometry," *J. Pharm. Sci.*, (2019) in press

Y. Zhan, T. Kojima, K. Ishii, S. Takahashi, Y. Haketa, H. Maeda, S. Uchiyama, S. Hiraoka, "Temperature-controlled repeatable scrambling and induced-sorting of building blocks between cubic assemblies," *Nat. Commun.*, (2019) in press

5) 著書, 総説

K. Ishii, S. Uchiyama, “Native MS ionization process and non-covalent interactions of protein complex”, *J. Mass Spec. Soc. Japan.*, **66**, 222-225 (2018)

6) 国際会議発表リスト

K. Ishii, “Native MS: mass spectrometry for non-covalent molecular complexes” 2nd International BMS Symposium 2018 in Kyoto, Kyoto (Japan), October 2018.

7) 招待講演

K. Ishii, “Native MS: mass spectrometry for non-covalent molecular complexes” 2nd International BMS Symposium 2018 in Kyoto, Kyoto (Japan), October 2018.

8) 学会および社会的活動

日本蛋白質科学会, 理事, 編集委員 (2007 年～) (内山進)

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

日本蛋白質科学会, 監査, 編集委員 (内山進)

日本動物細胞工学会, 理事 (内山進)

Journal of Pharmaceutical Sciences, Editorial Associate Board (S. Uchiyama) Journal of Bioscience and Bioengineering, Associate Editor (S. Uchiyama)

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究 (B)、「抗体凝集体による免疫原性関連シグナル誘導の物理化学解析と数理モデル構築」、内山 進 (代表) (2017 年 -2019 年)。

新学術領域研究 (研究領域提案型)、「蛍光超遠心分析法による分子夾雑環境中での定量的相互作用解析」、内山 進 (代表) (2018 年 -2019 年)。

1-16 核内ゲノム動態研究グループ

宮成 悠介 (特任准教授)

- 1) 専門領域：クロマチン高次構造 転写制御 幹細胞
- 2) 研究課題：
 - a) マウス胚発生過程におけるクロマチン動態の解析
 - b) クロマチン高次構造を制御する因子の機能解析
- 3) 研究活動の概略と主な成果：
 - a) 精子と卵子が受精することによって、新たな生命が誕生する。生殖細胞から引き継いだゲノム DNA は機能的に同一ではなく、特に受精直後は、父方ゲノムからの遺伝子発現が活発である。その様なゲノム間の機能的な差異は、クロマチンの化学修飾や高次構造の違いによると考えられている。本研究室では、クロマチン高次構造を開発する独自の技術を開発してきた。現在、それらの技術を用いて、細胞運命決定時におけるクロマチン構造の変化を解析している。今年度は、オープンクロマチン構造を可視化する技術である in situ ATAC 法の開発、および核内構造体とクロマチンの相互作用を解析する技術である APEX-ChIP 法の開発をおこなってきた。
 - b) クロマチン高次構造は転写などのゲノム機能と制御する重要な因子であるが、その制御機構は明らかになっていない。本研究では、CRISPR ゲノムワイドスクリーニングをおこなうことによって、クロマチン高次構造を制御する因子の同定をおこなった。その結果、新規遺伝子を複数同定することに成功しており、その遺伝子群の機能解析を網羅的におこなっている。さらに、それらの因子の発現レベルを制御することによって、細胞内のクロマチン高次構造を自在に制御し、細胞の可塑性を操作する技術を開発している。
- 4) 学術論文
Marie Kijima; Hiroyuki Yamagishi; Yasushi Hara; Mai Kasai; Yasunari Takami; Hiroshi Takemura; Yusuke Miyanari; Yoichi Shinkai, "Histone H1 quantity determines the efficiency of chromatin condensation in both apoptotic and live cells" BBRC, 291X(19)30407-3 (2019)
- 5) 著書, 総説
宮成悠介: 実験医学増刊 Vol. 36 No. 17 教科書を書き換えろ! 染色体の新常識〜ポリマー・相分離から疾患・老化まで、羊土社、平野達也 胡桃坂仁志 編集、59(2897)、2018
- 6) 国際会議発表リスト
Y. Miyanari, "Genome-wide screening for regulators of chromatin accessibility", NIG International Symposium 2018, Mishima (JAPAN), July, 2018
Y. Miyanari "Interplay between PML bodies and chromatin regulates transcriptional activity of clustered genes", Cold Spring Harbor meeting, NY, (USA), May, 2018
Y. Miyanari, "APCLAP-seq uncovered transcriptional regulation of clustered genes by PML-bodies", EMBO | EMBL Symposium, Heidelberg (Germany), Sep, 2018

7) 招待講演

Y. Miyanari, "Genome-wide screening for regulators of chromatin accessibility", NIG International Symposium 2018, Mishima (JAPAN), July, 2018

宮成悠介、石井智子, Genome-wide screening for chromatin accessibility, 第 91 回日本生化学会大会, 京都, 2018 年 10 月

11) 外部獲得資金

新学術領域研究 (研究領域提案型) 「クロマチンアクセシビリティの制御機構の解析」、宮成悠介 (代表) (2018-2019 年)

若手研究 (A)、「PML ボディによる転写制御機構の解明」、宮成悠介 (代表) (2015-2018 年)

若手研究、「PML body による新規雄性遺伝子群の転写制御メカニズムと生物学的意義の解明」、栗原美寿々 (代表)、(2018-2019)

1-17 構成生物学研究グループ

栗原 顕輔（特任准教授）

1) 専門領域：ソフトマター科学

2) 研究課題：

- a) アミノ酸重合を伴う液-液相分離型液滴の自発的形成とその物性解明
- b) 粒子内包型ベシクルにみる偏在現象と自己再生産モデルの構築

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 原始細胞が成長し進化する過程において、その境界膜と内部の核酸やペプチドといった情報分子重合体は、互いにどのように協奏してきたのだろう。この課題に我々は一モデルとして、ペプチド形成をトリガーとする液滴生成システムの構築でアプローチしている。すでに我々は還元的雰囲気の水中で自発的にペプチドを重合しうる、ジスルフィドとチオエステル部位を有したモノマー前駆体を設計合成している。ペプチドが水中で自発的に形成されるとともに、反応進行にともない細胞サイズの液滴の形成が見出された。
- b) 細胞の内部の生体高分子は、自由に動ける領域を増大するよう自身や周囲の構造を変化させる。このエントロピックな作用は排除体積効果と呼ばれる。我々は、排除体積効果を示すモデルとして、コロイド粒子を稠密に内包するリン脂質ベシクルを調製した。粒子がベシクル内膜でサイズの違いに応じて偏在する現象を、枯渇効果および浸透圧平衡に基づくモデルを構築して解明した。このベシクルは膜分子となる両親媒性分子を取り込み肥大分裂したことから、単純な膜組成にもかかわらず膜増加が可能な自己再生産ベシクルの構築に成功したと言える。

4) 学術論文

Y. Natsume, K. Komori, K. Itoh and K. Kurihara, "Spontaneous localization of two kinds of hard spheres in giant vesicles," *Trans. Mat. Res. Soc. J.*, **43**, 333-338 (2018).

Y. Natsume, E. Noguchi and K. Kurihara, " Spontaneous localization of particles in giant vesicles owing to depletion forces," *J. Phys. Soc. Jpn.*, **88**, 033001-033005 (2019).

7) 招待講演

栗原顕輔，「柔らかい分子集合体からなる原始細胞モデルの研究」，公益財団法人クリタ水・環境科学振興財団研究優秀賞式典，東京，2018年8月．

栗原顕輔，「物理学および化学的原始細胞モデルの構築」，平成30年度アストロバイオロジーセンター若手ワークショップ，三鷹，2019年2月．

8) 学会および社会的活動

岡崎市立竜海中学校 職場体験学習（栗原顕輔）

岡崎市立福岡中学校 中学生のためのサイエンスセミナー「化学で生命を創る!？」（栗原顕輔）

10) 受賞、表彰

栗原顕輔，クリタ水・環境科学研究優秀賞

11) 外部獲得資金

科研費若手研究 (A)，「表現型と遺伝子型が連携する人工細胞モデルの創成」，栗原顕輔（代表）（2017 年 -2021 年）.

クリタ水環境科学振興財団水を究める研究助成，「分子システムから迫る細胞内の水の意義」，栗原顕輔（代表）（2018 年 -2019 年）.

油脂工業会館研究助成，「ペプチド合成系を内包する自己再生産ベシクルの構築」，栗原顕輔（代表）（2018 年 -2019 年）.

2018 年度生命創成探究センター一般共同利用研究，「人工複合糖質の合成と細胞モデルへの導入」，栗原顕輔（分担）（2018 年 -2019 年）.

1-18 生命システム構築研究グループ

佐藤 幸治（特任准教授）

1) 専門領域：感覚生理学、細胞計測工学

2) 研究課題：

- a) 匂い受容における分子機構と、嗅粘液構成成分の機能解明
- b) 幹細胞から誘導される腸管オルガノイドのイメージング法の確立

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 嗅覚器の表面に分布する嗅神経細胞には嗅覚受容体が発現しており、匂い物質と結合した嗅覚受容体はその下流のシグナル伝達系を活性化することで、匂いの情報が高次脳中枢へと送られる。哺乳類の嗅覚受容体はGタンパク質共役型受容体に属し、ゲノム中で最大の遺伝子ファミリーを構成している。これらの受容体遺伝子や関連遺伝子を培養細胞に発現させると、人工的に嗅覚機能を再現できる。しかし、このような再構成系では受容体のリガンド選択性や感度が生体とは異なっており、生体の嗅覚器が持つ超感受性を実現する分子基盤は不明であった。

そこで嗅覚器の持つ超感受性に関わる分子を明らかにし、その生理的機能を解明することを目指し、当研究部門では嗅粘液に着目し、気液界面を介した物質輸送と匂い応答に関与する物質を探索している。今年度は、粘液中に匂い応答を増大する物質を見出し、その効果を哺乳類培養細胞を利用した再構成系で、様々な物質と受容体の組み合わせを用いて検討した。その結果、複数の揮発性有機化合物に対する応答増強効果を確認できた。一方で、匂いとは認識されない不揮発性物質では増強効果は認められず、応答増強効果はリガンド依存的であると思われた。今後、気液界面を介した物質輸送にこの物質が関与しているか検討するため、培養細胞に気体状匂い刺激を行う装置の開発や、サイクリックボルタンメトリー法と光イオン化法による匂い物質の直接検出を試みている。

一方、水棲動物である魚類では揮発性有機化合物でなく、アミノ酸やステロイドなどの不揮発性物質が匂いとして嗅覚器で受容され、様々な生理・行動学的な反応を引き起こす。しかし魚類では嗅覚受容体の機能解析がほとんど行われていないため、匂い物質がどのように嗅神経細胞で受容されるのか、未解明な点が多い。そこで金属充填ガラス電極を用い、キンギョの嗅神経細胞の匂い応答を網羅的に探索したところ、嗅神経細胞が、匂い物質の持つ生物学的な機能によってチューニングされていることがわかった。さらに薬理的解析により、少なくともアデニル酸シクラーゼ、またはホスホリパーゼを介したシグナル伝達経路が別個の細胞で機能していることを明らかにした。

b) 細胞外マトリックスを用いた腸管幹細胞の三次元培養で得られる腸管オルガノイドは、生体の持つ腸管上皮細胞の機能を反映したモデル器官として注目されている。しかし細胞外マトリックスを介した薬物刺激が実現できていないため、その利用は分子生物学的な手法に留められていた。

オルガノイドを用いた細胞生理学的実験を行うためには、細胞外マトリックスを取り除いた状態で、細胞を維持しなければならない。今年度、オルガノイド培養の細胞外基質に用いるマトリゲルを取り除いた状態での細胞の生存を検討したところ、ポリマーを含んだ液体培地で生存率の改善が認められた。この培養条件下では蛍光色素による染色が可能であり、Fura2を用いたカルシウムイメージングに成功した。この方法により、オルガノイド外側に分布する受容体の反応を可視化できたが、小腸内腔に対応するオルガノイドの crypt 内腔側に分布する化学感覚受容体を介した反応は測定できなかった。現在、微小流路を用

いてオルガノイドの形態を制御する技術を開発し、オルガノイドが持つ管腔構造の内部に薬液還流を行う新規な3次元培養法の開発や、立体組織構築の制御に有用な細胞株の作製を試みている。

4) 学術論文

***K. Sato, K. and P. W. Sorensen,** "The chemical sensitivity and electrical activity of individual olfactory sensory neurons to a range of sex pheromones and food odors in the goldfish" *Chem. Senses*, **43**, 249-260 (2018).

5) 著書、総説

佐藤 幸治, "嗅覚の分子基盤とその生体外での再構築" *Agricultural Biotechnology* **2**:62-64 (2018).

6) 国際会議発表リスト

K. Iwatsuki, H. Imai, Y. Ninomiya, P. Jiang, K. Sato, T. Yamane, Y. Oishi, "Generation of a taste organoid from non-human primate" XXVIIIth Annual Meeting of the European Chemoreception Research Organization, Würzburg (Germany), September 2018.

K. Sato, "Microscale liquid layer on the olfactory receptors affects on the vapor chemical detection" 9th FAOPS Congress, Kobe (Japan), March 2019.

8) 学会および社会的活動

日本味と匂学会評議員 (佐藤幸治)

文部科学省科学技術・学術政策研究所専門調査員 (佐藤幸治)

11) 外部獲得資金

科学研究費補助金 (基盤研究 (B)): 「嗅覚器の細胞外構成成分を利用した、高感度生物模倣型匂いセンサーの基盤技術創出」、佐藤幸治 (代表) (2016-2020 年)

1-19 生命分子動態計測グループ

内橋 貴之（客員教授）

渡辺 大輝（特任助教）

1) 専門領域：生物物理学、原子間力顕微鏡、一分子計測

2) 研究課題：

- a) 高速 AFM を用いた生体分子の機能動態解析
- b) 高速 AFM/ 二色蛍光顕微鏡 複合計測システムの開発
- c) 生細胞観察プラットフォームの開発
- d) 生細胞の機械特性マッピング機能の開発
- e) 高速 AFM の高解像化に向けた基盤技術開発

3) 研究活動の概略と主な成果：

高速 AFM/ 一分子蛍光顕微鏡複合装置を基盤として、これをさらに高度化・高機能化した生体試料のマルチモード・マルチスケール動態解析技術の開発を進めている。同時に ExCELLS 内外の研究グループとの共同研究により、高速 AFM を用いた様々な生体試料系の機能動態観察も推進している。以下、項目ごとに個別に本年度の研究成果の概要を述べる。

a) ExCELLS 内外の研究グループと連携して、高速 AFM を利用した様々なタンパク質の機能動態解析を行っている。

a-1) 免疫複合体 C1q・抗体・抗原の複合体形成過程の観察（ExCELLS・加藤グループ）

補体の活性化経路の一つである古典経路は C1q と抗原・抗体の複合体の結合がトリガーとなっている。シアル酸を有する糖脂質であるガングリオシドをマイカ基板に展開し、観察溶液に抗体を加えたところそれらが自己集合し、多量体を形成する様子が高速 AFM によって初めて観察された。さらにその溶液中に C1q を加えると、形成された多量体上に C1q が結合する様子が観察され、その結合時間を解析したところ約 0.7 秒程度であることがわかった。

a-2) ヒストンシャペロン Abo1 の動態解析（KAIST・Ji-Joon Song グループ）

AAA+ ヒストンシャペロンとして知られている Abo1 はヌクレオソーム密度の調整に深く関わると考えられており、最近クライオ電子顕微鏡によってその構造が明らかとなりつつあるが、依然としてその機能発現機構の詳細は明らかとなっていない。ATP 存在下で Abo1 六量体を高速 AFM で観察し、基質が結合していない状態では六量体リング内のサブユニットで確率的に ATP を加水分解していることを示唆する結果が得られた（論文投稿準備中）。次のステップとしては基質を加えた状態での ATP 加水分解プロセスの可視化を実施する。

b) 高速 AFM 単独では数種類以上のタンパク質が関与する複雑な系では目的とするタンパク質を AFM 像から識別することは困難である。また、AFM では分子全体の構造をイメージングするが、実際に動いている部分が分子構造上のどの部位に該当し得るのか特定することが困難な場合がある。一方、2 種類の異なる蛍光色素でタンパク質内のアミノ酸残基を標識することで、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) により残基間の距離変化をリアルタイムで計測することが可能である。そこで、高速 AFM と一分子 FRET の同時計測が可能なシステムを構築し、タンパク質の構造変化の詳細を解析できる計測法を開発する。本年度は高速 AFM/ 一分子 FRET 複合機システムを構築し、その動作確認を行った。現在、i) 糖転移酵素 K4CP の糖鎖合

成におけるドメイン間距離の変化と ii) 核酸結合性タンパク質 TLS の非コード RNA の結合による構造変化の観察を進めている。

c) 現有の高速 AFM/ 蛍光顕微鏡複合機を用いた哺乳類細胞の観察では、スキャナーの可動範囲の制限や溶液温度・雰囲気等の測定環境に制約があるため、高活性な状態で生細胞を安定に観察は困難である。このため、細胞のサイズに対応できる広域スキャナーの開発と、溶液の温度や CO₂ 濃度の制御が可能な閉鎖系を導入した生細胞観察用プラットフォームを構築する。本年度は試料ステージ直下にシリコンヒーターを導入し、PC と接続することで AFM 測定中に自由に温度コントロールが可能なシステムを構築した。現段階では開放系のままであるので、閉鎖系のためのチャンバーと雰囲気制御システムの設計・試作を引き続き行っていく。

d) 細胞の機械特性は細胞の様々な機能に密接に関わっていると考えられる。例えば、細胞は周辺の細胞外マトリックスの硬さを感知し、自身の増殖・分化など挙動をコントロールしている。また、細胞内部の細胞骨格タンパク質の重合・脱重合により、周囲の環境に応じて時々刻々と形態および機械特性を変えている。細胞の形態ダイナミクスに加えて細胞膜の硬さや粘弾性などの機械特性の経時変化を同時に定量化しマッピングすることができれば、細胞の機械特性ダイナミクスに基づくナノメカノバイオロジーを開拓できる。本年度は、高速 AFM によって画像取得中に、任意の位置でフォースカーブを取得できる” in-line-force-curve mode” を開発し、微小管の機械特性計測に応用した（論文発表済）。今後、” in-line-force-curve mode” を高速 AFM/ 蛍光顕微鏡複合機の制御ソフトウェアに導入するとともに、ハードウェアに関してもより高速なフォースカーブ取得のための機構を設計中である。

e) 高速 AFM の水平空間分解能は探針形状に大きく依存し、現状では 1 ～ 2 nm 程度である。分解能を一桁向上させることができればタンパク質の二次構造のダイナミクスも観察でき、得られる情報の質が格段に向上することが期待される。高速 AFM 用の探針は電子顕微鏡チャンバー内にガスを導入し、電子線を 1 点照射することによる EBD 法で作成している。さらにプラズマエッチャーによるエッチングにより探針先端の先鋭化を行っている。現在フェロセンをガス源として使用しているが、その他金属錯体を模索中である。さらに金コロイド粒子を化学修飾することによって、より先鋭な構造を持たせたものを探針として使用することも検討中である。

上述の研究課題以外にも、ExCELLS 内外の研究グループと様々な共同研究を進めている。2018 年度は国内研究機関 2 件（京都大学・岡山大学）、国外研究機関 1 件（KAIST）との共同研究が共同利用研究課題として採択された。

4) 学術論文

E. Krayukhina, M. Yokoyama, K. Kakuhou Hayashihara, T. Maruno, M. Noda, H. Watanabe, T. Uchihashi and S. Uchiyama, "An assessment of the ability of submicron- and micron-size silicone oil droplets indropped pre-fillable syringes to invoke early- and late-stage immune responses", *J. Pharm. Sci.* (in press)

C. Ganser and T Uchihashi, "Microtubule self-healing and defect creation investigated by in-line force measurements during high-speed atomic force microscopy", *Nanoscale* **11, 125-135 (2019).**

5) 著書、総説

内橋貴之, 実験医学増刊 Vol. 36 No. 20, 「生きてるものは全部観る！ イメージングの選び方・使い方 100」（原田慶恵, 永井健治 編）：第 5 章 走査型プローブ顕微鏡「原子間力顕微鏡 i. 高速原子間力顕微鏡」, 羊土社, 2018 年 12 月 3 日

6) 国際会議発表リスト

C. Ganser and T. Uchihashi, "Defects in Microtubules Studied by High-Speed Atomic Force Microscopy", ACSIN-14 & ICSPM26, Sendai (Japan), October 2018. (Oral).

T. Uchihashi, "In-situ observation of self-assembling fiber formation of biological and artificial molecules", ACSIN-14 & ICSPM26, Symposium: Nanobiology (Symposium Organizer & Chair), Sendai (Japan), October 2018. (Oral).

T. Uchihashi, "Image Processing and Quantitative Analysis of High-Speed-AFM Data for Studying Single-Molecule Dynamics", 第 56 回日本生物物理学会年会, Symposium on "Multiple Approaches for Analyses of Protein Complexes -Methods and Applications", 岡山 2018 年 9 月.

S. Sugiyama, T. Mori, M. Byne, T. Uchihashi, C. H. Johnson and T. Ando, "Dynamic Observation of Kai proteins by High-Speed AFM Reveals Mechanism of Robustness of Cyanobacterial Circadian Oscillation", The 79th Okazaki Conference "Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines", Okazaki (Japan), August 2018. (Poster)

H. Watanabe, S. Sivasankar and T. Uchihashi, "Direct observation of E-cadherin by high-speed AFM", The 79th Okazaki Conference "Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines", Okazaki (Japan), August 2018. (Poster)

C. Ganser and T. Uchihashi, "Kinesin movement around defects in the microtubule lattice monitored by high-speed atomic force microscopy", The 79th Okazaki Conference "Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines", Okazaki (Japan), August 2018. (Poster)

7) 招待講演

内橋貴之「高速原子間力顕微鏡で可視化する分子ダイナミクス」、日本学術振興会 情報科学用有機材料第 142 委員会 合同研究会、東京、2019 年 3 月.

内橋貴之，“Nanoscale Dynamic Imaging of Biological Molecules with High-Speed Atomic Force Microscopy”，第 5 回 Neuroscience Network in Kobe - 微細構造イメージングと神経科学との接点を探る -, 兵庫、2019 年 2 月.

T. Uchihashi，“Visualization of Single Molecule Dynamics at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy”，1st ITbM Frontier Seminar, Aichi (Japan), January 2019.

内橋貴之，“Dynamic Structural Analysis of Proteins at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy”，【応用物理学界 関西支部】支部セミナー「バイオフィotonics 研究の最前線」、大阪、2019 年 1 月.

内橋貴之「高速原子間力顕微鏡で可視化する生体・人工分子のダイナミクス」、奈良先端科学技術大学院大学 光ナノサイエンス特別講義、奈良、2018 年 11 月.

T. Uchihashi, "Connection between AFM data and computational simulation - image processing for quantitative analysis and demands from the experimental side - ", Trends in Computational Molecular Biophysics Workshop, Kanazawa (Japan), November 2018.

内橋貴之「高速 AFM で読み解く生体試料のマルチスケール動態」、第 1 回 ExCELLS シンポジウム、愛知、2018 年 10 月.

内橋貴之「原子間力顕微鏡でリアルタイム可視化する生体 / 人工超分子の重合ダイナミクス」、日本物理学会 2018 年秋季大会 領域 9, 5 合同シンポジウム「時間分解プローブを駆使した表面・界面科学及び結晶成長の進展と展望」、京都、2018 年 9 月.

内橋貴之「高速 AFM の開発とタンパク質の動態計測」、第 58 回生物物理若手の会、岐阜、2018 年 8 月.

T. Uchihashi, "High-speed atomic force microscopy for direct visualization of biological macromolecules at work", The 79th Okazaki Conference "Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines", Okazaki (Japan), August 2018.

T. Uchihashi, "High-Speed Atomic Force Microscopy for Visualization and Manipulation of Biological and Artificial

Molecules", SPMonSPM 2018, Leuven (Belgium), August 2018.

T. Uchihashi, "Imaging and Manipulation of Biological Molecules with High-Speed Atomic Force Microscopy", ICN-T 2018, Brno (Czech Republic), July 2018.

T. Uchihashi, "High-speed Atomic Force Microscopy: A tool for direct visualization of single-molecule dynamics", Minisymposium on "Advanced Atomic Force Microscopy", Leoben (Austria), July 2018.

8) 学会および社会的活動

International Journal of Molecular Sciences -Journal Editorial Board Member (Molecular Biophysics Section) (内橋貴之)

日本生物物理学会 理事 (内橋貴之)

日本生物物理学会中部支部 幹事 (内橋貴之)

日本表面真空科学会中部支部 幹事 (内橋貴之)

大阪大学蛋白質研究所 外部専門委員 (内橋貴之)

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

分子科学研究所 客員教授 (内橋貴之)

奈良先端科学技術大学院大学 非常勤講師 (内橋貴之)

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究 (B)、「高速原子間力顕微鏡で明らかにする微小管の構造欠陥によるキネシンの機能変調」、内橋貴之 (代表) (2018 年 -2021 年)。

新学術領域研究 公募研究、「高速 AFM を基盤としたソフトクリスタルの構造物性ダイナミクス評価技術の確立」、内橋貴之 (代表) (2018 年 -2019 年)。

挑戦的研究 (萌芽)、「糖鎖の合成と分解過程を可視化する高速 AFM/ 一分子 FRET 技術の確立」、内橋貴之 (代表) (2017 年 -2018 年)。

2. 極限環境生命探査室

2-1 深海・地下生命研究グループ

高井 研（客員教授）

1) 専門領域：地球生物学 宇宙生物学

2) 研究課題：

a) 深海や海底下といった極限環境における生命（圏）の限界探査およびその条件下での生命機能のメカニズム解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 西太平洋における海溝・前弧域の水塊－海底－海底下環境に広がる未到の微生物生態系の探査を行い、動的海溝環境と活動的微生物生態系の存在様式の具体例として、マリアナ海溝堆積物中の化学特性と微生物群集構造（Nunoura et al., M&E, 2018; Kawagucci et al., Royal Soc Open, 2018）、で現世の前弧域蛇紋岩海山での動的流体移動に伴う硫黄と窒素循環と微生物活動（Aoyama et al., EPSL, 2018）、同じ蛇紋岩海山での動的流体移動に伴う炭素循環と微生物代謝の関わり（Kawagucci et al., PEPS, 2018）に関する研究論文を発表した。加えて、これまでの超深海海溝微生物生態系の存在と特異性や普遍性についての総説論文を発表し（Takai et al., Deep-sea microbiology book chapter, 2019 予定）、さらに、超深海海溝における世界初のヨコエビ腸内マイクロバイオーームに対するメタゲノム解析（Zhang et al., AEM, 2018）を発表するなど、計画を上回る成果を創出することができた。また、多様な地理・地質学的背景を有する全球的な熱水環境と各極限環境生命圏の具体例については、マリアナ島弧－背弧熱水域における N_2O 生成微生物に関する初めてのメタゲノム解析（Mino et al., Front Microbiol, 2018）、インド洋におけるシンカイミョウガガイの新種発見と分散と種分化についての知見（Watanabe et al., Royal Soc Sci, 2018）、世界各地の深海熱水環境における微生物生態系の多様性や生態についての総説（Nakawagawa & Mino, Extremophiles book chapter, 2018）、地球生命（圏）の限界とその境界条件についての総説（Takai, Astrobiology book chapter, 2019）を発表した。

2-2 極限環境生命分子研究グループ

加藤 晃一（教授）〔兼任〕

矢木 真穂（助教）〔兼任〕

- 1) 専門領域：生物物理学、生命分子科学
- 2) 研究課題：
 - a) 極限環境において生命活動を司る分子集団の構造・動態・機能の解析
- 3) 研究活動の概略と主な成果：
 - a) 極限環境生命分子研究グループは2018年10月に発足した。本グループは、極限環境において生命活動を司る分子集団の構造・動態・機能の解析を通じて生命の環境適応の仕組みを理解するとともに、得られた知見に基づいた生物工学的な応用研究を展開することを目指している。2018年度は、宇宙航空研究開発機構との共同研究として国際宇宙ステーションきぼうを利用して実施した「微小重力環境下におけるアミロイド線維伸長実験」で得られたアミロイド線維の構造解析に取り組んだ。その結果、微小重力環境下におけるアミロイド β タンパク質の線維伸長の速度は地上に比べて遅いことが判明した。アミロイド線維化が遅くなることで、微小重力空間において地上では得られない構造均一性の高いアミロイド線維が得られる可能性が高まった。さらに、緩歩動物クマシの乾眠の分子機構の解明、および超好熱古細菌の超分子マシーナリーの構造解析などに着手した。一方、深海・地下生命研究グループとの共同研究として、深海微生物の糖鎖構造解析を実施した。今後、糖鎖が深海微生物の生存戦略および環境適応にどのように関わっているのか明らかにしていく計画である。

以下の各項については、創成研究領域 生命分子動秩序創発研究グループを参照のこと。

- 4) 学術論文
- 5) 著書、総説
- 6) 国際会議発表リスト
- 7) 招待講演
- 8) 学会および社会的活動
- 9) 他大学での非常勤講師、客員教授
- 10) 受賞、表彰
- 11) 外部獲得資金
- 12) 特許

3 ExCELLS イベント

ExCELLS イベント

2018 年度 シンポジウム

1) Frontier Bioorganization Forum 2018

Date: 8th July 2018 – 11th July 2018

Venue: Yamate Campus, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS), National Institutes of Natural Sciences, Okazaki, Japan

Organizing Committee: Koichi Kato, Shigetoshi Aono, Motohiro Nishida, Kazuhiro Aoki, Maho Yagi-Utsumi

Co-organizers: IMS Asian International Symposium, 10th Korea-Japan Seminar on Biomolecular Science

Joint partner: JSPS Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas “Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions”

Speakers: Shuji Akiyama, Kazuhiro Aoki, Shigetoshi Aono, Euiyoung Bae, Rita Pei-Yeh Chen, Art E. Cho, Sun Choi, Chia-Cheng Chou, Chin-Lin Guo, Shin-ichi Higashijima, Meng-Chiao Ho, Naoyuki Inagaki, Koichi Kato, Kay-Hooi Khoo, Nobuyasu Koga, Joon-Hwa Lee, Jooyoung Lee, Juyong Lee, Kung-Ta Lee, Weontae Lee, Hsiao-Ching Lin, Motohiro Nishida, Shigenori Nonaka, Hisashi Okumura, Kyoung-Seok Ryu, Hirohumi Sato, Nobuyuki Shiina, Jeong-Yong Suh, Shinji Takada, Makoto Tominaga, Ming-Daw Tsai, Takayuki Uchihashi, Susumu Uchiyama, Hyungsik Won, Chien-Chih Yang

2) ExCELLS Young Scientist Forum 2018

Date: 10th July 2018

Venue: Yamate Campus, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS), National Institutes of Natural Sciences, Okazaki, Japan

Organizing Committee: Maho Yagi-Utsumi, Saeko Yanaka, Tomohiro Tanaka, Yohei Kondo, Haruko Miura, Rina Yogo, Taichiro Sekiguchi

Co-organizer: Frontier Bioorganization Forum 2018

Speakers: Maho Yagi-Utsumi, Tomohiro Tanaka, Yohei Kondo

3) 第1回 ExCELLS シンポジウム

開催日：2018 年 10 月 15 日～16 日

会場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター

主催：自然科学研究機構 生命創成探究センター (ExCELLS)

世話人：西田基宏・東島眞一・奥村久士

口頭講演者：加藤晃一、稲垣直之、東島眞一、望月敦史、佐藤啓文、奥村久士、椎名伸之、内山進、本田直樹、黒川洵子、島田奈央、広井賀子、石谷太、西田基宏、富永真琴、野中茂紀、颯田葉子、内橋貴之、古賀信康、青木一洋、青野重利、高田慎治、郷康広

4) ExCELLS Retreat for Young Scientists

Date: 1st February 2019 – 2nd February 2019

Venue: Mikawa Onsen Kaiyutei

Organizers: Yusuke Mii, Saeko Yanaka, Tomohiro Tanaka, Tetsuhisa Otani, Yudai Hatakeyama, Kazuhisa Miyazawa, Kazuhiro Aoki

Speakers: Saeko Yanaka, Rikiya Watanabe, Yusuke Mii, Masakazu Yamazaki, Tomohiro Tanaka, Hitomi Tanaka,

Tetsuhisa Otani, Takuma Tsuji, Christian Ganser, Haruko Miura, Misuzu Kurihara, Taiki Saito, Shigekazu Oda, Hiroki Watanabe, Takuma Shinozuka

※ (2) と (4) は若手啓発事業

2018 年度 セミナー

1) 第 1 回 ExCELLS セミナー「Synthetic morphogenesis: Programming multi-cellular self-organization」

演者：戸田聡（University of California, San Francisco）

日時：2018 年 7 月 2 日 16:00 ～

場所：自然科学研究機構 生命創成探究センター 山手地区 3 号館 2 階 大会議室

2) 第 2 回 ExCELLS セミナー「分子でロボットを造る：人工設計ペプチドチャネルと DNA コンピューティングによる感覚器の構築」

演者：川野竜司（東京農工大学）

日時：2018 年 8 月 2 日 16:00 ～

場所：自然科学研究機構 生命創成探究センター 山手地区 3 号館 2 階 大会議室

3) 第 3 回 ExCELLS セミナー「ExCELLS 極限生命探査室の客員教授としての共同研究のご提案」

演者：高井研（海洋研究開発機構）

日時：2018 年 9 月 21 日 16:00 ～

場所：自然科学研究機構 生命創成探究センター 山手地区 3 号館 2 階 大会議室

4) ExCELLS 研究会「休眠と代謝研究会」

演者：山口良文（北海道大学）、砂川玄志郎（理化学研究所）、富永真琴（生理学研究所 / ExCELLS）、藤森俊彦（基礎生物学研究所）、荻沼政之 / 石谷太（群馬大学）、福山征光（東京大学）

日時：2018 年 11 月 15 日 13:00 ～ 17:40

場所：自然科学研究機構 生命創成探究センター 山手地区 3 号館 2 階 共通セミナー室

5) 第 4 回 ExCELLS セミナー「ショウジョウバエの求愛歌受容を担う神経メカニズム～聴覚系の構造、機能、そして可塑性まで～」

演者：上川内 あづさ（名古屋大学）

日時：2018 年 12 月 21 日 16:00 ～

場所：自然科学研究機構 生命創成探究センター 山手地区 3 号館 2 階 大会議室

6) アミロイド宇宙実験意見交換会

演者：金井宣茂（宇宙航空研究開発機構）、加藤晃一（自然科学研究機構 ExCELLS/ 分子科学研究所）

日時：2019 年 2 月 7 日 13:30 ～

場所：自然科学研究機構 生命創成探究センター 山手地区 3 号館 2 階 大会議室

2018 年度 アウトリーチ活動

1) 光る魚で生命科学

講師：東島真一、白瀧千夏子

日時：2018年7月21日 (1)10:30～12:00 (2)14:00～15:30

会場：蒲郡市生命の海科学館

対象：(1) 小学5年生以上，(2) 小学生以上（4年生以下は保護者同伴）

主催：蒲郡市生命の海科学館

2) DNA抽出にチャレンジ

提供：名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所(ITbM)・自然科学研究機構生命創成探究センター(ExCELLS)

日時：2018年9月22日 (1)14:00～14:40 (2)15:00～15:40 (3)16:00～14:40

会場：イオンモール長久手 4F イオンホール

対象：どなたでも（小学校低学年以下は保護者同伴）

主催：名古屋大学学術研究・産学官連携推進本部（あいちサイエンスフェスティバル2018「集まれ！未来の科学者たち」）

3) 体験！タンパク質のかたちと働きのひみつ

講師：谷中冴子、白瀧千夏子

日時：2018年11月10日 (1)10:30～12:00 (2)14:00～15:30

会場：蒲郡市生命の海科学館

対象：(1) 小学5年生以上，(2) 小学生以上（4年生以下は保護者同伴）

共催：自然科学研究機構生命創成探究センター・蒲郡市生命の海科学館

4) DNAとタンパク質をみてみよう～生体分子と顕微鏡～

講師：白瀧千夏子、渡辺大輝

日時：2019年3月10日 (1)10:00～12:00 (2)13:30～15:30

会場：とよた科学体験館

対象：(1) 小学5年生～高校生 (2) 教員・理科指導者等

主催：とよた科学体験館

4 オリオンプロジェクト

オリオンプロジェクト 計画研究

加藤 晃一（生命創成探究センター・教授）

1) 研究課題：生命分子アッセンブリーにおける分子間相互作用のダイナミクスの精密解析

2) 共同研究者

鈴木 達哉

ExCELLS・生命分子動秩序創発研究 G 博士研究員

3) 研究活動の概略

生命現象の特質は、システムを構成する多数の素子（個体を構成する細胞、あるいは細胞を構成する分子）がダイナミックな集合離散を通じて秩序構造を形成し、外的環境との相互作用を行いつつ、自律的に時間発展していくことにある。生命体を構成する素子が協奏的・自律的に柔軟かつロバストな高次秩序系を創発する仕組みを理解することは、これからの生命科学の重要な課題である。本研究では、生命分子集団の動秩序形成におけるミクロ-マクロ相関の探査を可能とする物理化学的計測法を開発・応用し、生命分子集合・離散系の動態観測を高精度で実現することを目指した研究を行った。これにより、生命分子集団の自己組織系に内在する精緻にデザインされた不安定性をあぶり出し、機能発現にいたる時空間的展開の原理を理解することを目指した。さらに、生命分子システムのデザインルールを取り入れた人工自己組織化システムの創生を目指した研究を展開した。

オリオンプロジェクト 計画研究

高田 慎治（生命創成探究センター・教授）

1) 研究課題：形態形成・細胞分化の場における時空間設計機構

2) 共同研究者

高田 律子	生命創成探究センター 研究員
三井 優輔	生命創成探究センター 助教

3) 研究活動の概略

多細胞生物の組織や個体が構築・維持されて行く上では、個々の細胞の分化や増殖が相互の空間的位置づけの中で規定される。そこでは、分泌性シグナル分子の空間分布が細胞相互の空間的位置づけを規定する主たる要因の一つであり、シグナル分子の空間分布の動態や特性が、上位の階層にある細胞や組織が持つ様々な特性に寄与するものと考えられる。本研究では、(1) 発生過程におけるマウス神経管やアフリカツメガエルの上皮組織を用いて分泌シグナル Wnt の空間分布の動態を組織の極性形成・領域形成との関連に着目しながら解明するとともに、(2) シグナルの空間分布が Wnt 自身の複合体形成や Wnt と親和性を有する細胞外基質成分の一つであるヘパラン硫酸のクラスター形成により規定されることを明らかにした。以上の成果から、シグナル分子の動態やシグナル分子の持つ特性が組織の極性形成や領域形成に如何に反映されるかについて考察した。

オリオンプロジェクト 計画研究

富永 真琴（生命創成探究センター・教授）

1) 研究課題：温度センシング：センサー解析から温度情報の統合、個体応答、進化解析まで

2) 共同研究者

門脇 辰彦	Jiaotong-Liverpool 大学（中国） 准教授
David Chitayat	トロント大学（カナダ）
澤田 浩武	宮崎大学
Matthew A. Deardorff	フィラデルフィア小児病院
高田 史男	北里大学
武藤 浩司	都立小児総合医療センター
九島 令子	都立墨東病院
西村 玄	埼玉医科大学
審良 静男	大阪大学免疫学フロンティア研究センター 教授
丸山 健太	大阪大学免疫学フロンティア研究センター 助教
山崎 純	福岡歯科大学 教授
内田 邦敏	福岡歯科大学 助手

3) 研究活動の概略

- ① ヒアリ TRPA チャンネル遺伝子をクローニングして、Ca-imaging 法を用いて機能解析を行った。ヒアリ TRPA が熱センサーとして機能することを明らかにし、新規刺激物質を同定した。
- ② 新生児一過性副甲状腺機能亢進症の発症要因が複雑だが、一つに母親からの胎児への胎盤を介した Ca^{2+} 輸送不全が挙げられている。上皮細胞で Ca^{2+} 選択性チャネルとして機能する TRPV6 変異が 6 症例に関わることを発見した。
- ③ 真菌の一種である *Candida albicans* は増殖してしつこい痛みとかゆみを伴った発疹をひきおこす場合がある。*Candida albicans* を構成する多糖類の一種である β -glucan により皮膚の上皮細胞が刺激されて ATP 分泌顆粒の放出が促され、そして放出された ATP が末梢の痛覚神経を刺激することで痛みやかゆみを発生させていることを見いだした。
- ④ タクロリムス（FK506）は抗アトピー薬として広く使われているが、一部の患者で皮膚への塗布によって灼熱感、ピリピリ感が生じることが知られている。タクロリムスによる痛み様感覚は TRPA1 の活性化によることが明らかになった。
- ⑤ TRPV4/anoctamin1 複合体が唾液腺、涙腺において唾液分泌、涙分泌に関わるということが明らかになった。

オリオンプロジェクト 特別研究

宮成 悠介（生命創成探究センター・特任准教授）

1) 研究課題：生命時空間設計の基盤となる分子機構の研究

2) 共同研究者

大川 恭行

九州大学生体防御医学研究所・トランスクリプトミクス分野 教授

淵上 剛志

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授

3) 研究活動の概略

私たちの生命は、たった1つの受精卵からスタートします。受精卵が細胞分裂を繰り返す過程で、個々の細胞の運命が決定され、最終的には生体内の様々な組織が形成されます。核の中でクロマチン繊維はじっとしていません。核内で転写や複製反応が起こる度に、クロマチンはダイナミックに動きます。また、細胞の性質が変化するのに伴って、クロマチンは動き、そして細胞特異的な核内クロマチン構造が構築されます。しかし、クロマチンの動きを生み出すメカニズムや、動きの役割は全く明らかになっていません。本プロジェクトでは、その細胞の運命決定のメカニズムを解き明かします。特に、運命決定が行われる過程で「クロマチン高次構造」がどのように変化し、クロマチンが「動く」ことがどのような役割を担っているのかを、マウスの初期胚やES細胞などをモデルとして研究をおこないます。

オリオンプロジェクト 特別研究

栗原 顕輔（生命創成探究センター・特任准教授）

1) 研究課題：構成生物学的アプローチによる原始細胞モデルの構築

2) 共同研究者

菅原 正	神奈川大学理学部 教授
豊田 太郎	東京大学大学院総合文化研究科 准教授
山口 拓実	北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科 准教授
夏目ゆうの	日本女子大学理学部 助教
松尾 宗征	東京大学大学院総合文化研究科 学生（博士課程後期）

3) 研究活動の概略

高度な機能を持つ触媒が存在しない前生物的環境において、情報分子重合体と分子集合体の協奏がどのように起きたのかは未解明の課題であり、この課題を解決するモデル原始細胞の構築が要請されている。自発的に生成した重合体が、分子集合体である原始細胞の自己再生産に影響を与えることがあれば、この重合体を原始細胞の情報分子と見なすことができ、我々はこのようなモデル原始細胞の構築を目的としている。

還元的雰囲気的水中で自発的にペプチドを重合しうる、ジスルフィドとチオエステル部位を有したモノマー前駆体を設計・合成し、微分干渉顕微鏡で反応溶液を観測した結果、細胞サイズの分子集合体の形成が見出された。この分子集合体の形成は、水中で自発的に重合したペプチドが、その反応の過程で脱離した疎水性分子と水との界面を安定化させるためであると結論づけた。

オリオンプロジェクト 特別研究

佐藤 幸治（生命創成探究センター・特任准教授）

1) 研究課題：化学感覚器を標的とした、生体高次機能の再構築

2) 共同研究者

岩槻 健	東京農業大学 准教授
川野 竜司	東京農工大学 特任准教授
尾上 弘晃	慶應義塾大学 准教授

3) 研究活動の概略

生命科学は、非生命の物質では実現できない生命独自の自律システムを、細胞、タンパク質などの構成要素から研究・理解することで発展した。しかしこれらの要素を統合させることで生命機能を再現し、生物を包括的に理解するには至っていない。本研究では質量分析器を凌駕する優れた分子認識能を持つ嗅覚器を主な対象とし、その機能を実現する分子機構を解明、再構築し、生命の階層的な構造が機能を創出する仕組みを理解することを目指す。現在、匂い認識に関わる分子機構はほとんど解明されているが、気相中の匂い物質が液相中の嗅覚受容体に認識されるまでの分子移動はほとんど研究されていない。そこで本研究では嗅粘液に着目し、気液界面を介した物質移動と匂い応答に関与する物質を標的に、匂い認識を調節する分子機構を解明するとともに、バイオミメティックな匂いセンサーの基盤技術開発を進めている。またオルガノイド技術を用いて腸管など、化学感覚器の機能を持つ器官の自己組織化についても研究を行っている。

オリオンプロジェクト 公募研究

古賀 信康（生命創成探究センター・准教授）

1) 研究課題：創って理解するタンパク質分子モーターの仕組み

2) 共同研究者

小杉 貴洋	生命創成探究センター 助教
近藤未菜子	生命創成探究センター 研究員
中村 彰彦	分子科学研究所 助教
安藤 潤	分子科学研究所 助教
飯田 龍也	総合研究大学院大学 大学院生
Akasit Visootsat	総合研究大学院大学 大学院生
山本真由子	分子科学研究所 技術支援員
大国 泰子	分子科学研究所 技術支援員

3) 研究活動の概略

生命は何十億年という長い年月をかけてタンパク質分子を進化させ、それらを生命システムにおけるパーツとして巧みに利用し様々な生命現象を生み出している。しかし、進化の結果としての産物である自然界のタンパク質をそのまま解析するのみでは、タンパク質の動作原理の本質に辿り着くことは難しい。そこで、立体構造形成や機能発現に関する様々な仮説を立てながら「計算機」を用いて合理的に、自然界のタンパク質を大きく改造した後に、それらが実際にどのように動作するのか「実験」により調べるというアプローチで研究を行う。すなわち、自然界が生み出したことのないタンパク質を創り出すことで、タンパク質の動作原理の本質に迫る。本研究は、これまでに開発したタンパク質分子をデザインする理論と技術を応用し、回転およびリニア型分子モーターを改造することで、その動作原理を明らかにする。

オリオンプロジェクト 公募研究

椎名 伸之（生命創成探究センター・准教授）

1) 研究課題：mRNA 輸送・局所的翻訳と学習・記憶を繋ぐ分子機構の解明

2) 共同研究者

大橋りえ	基礎生物学研究所（総研大） 大学院生
木森義隆	福井工業大学 准教授

3) 研究活動の概略

神経樹状突起への mRNA 輸送および局所的翻訳を担う「RNA 顆粒」は、シナプスの強化を介して長期記憶の形成に必須の役割を担うことが明らかにされてきた。しかし、どの mRNA の翻訳がどのようなシナプス制御に関わるのか、また、翻訳はどのように調節されるのかなどの分子機構は不明な点が多い。本研究では、1) RNA 顆粒の構成タンパク質で長期記憶に必須の RNG105 によって樹状突起へ輸送される mRNA 群（低分子量 G タンパク質 Arf の制御因子 GEF, GAP をコードする mRNA 群）が、シナプスの形成・機能をどのように制御するか、2) RNA 顆粒を構成するタンパク質群が RNA 顆粒のダイナミクスをどのように制御することによって翻訳活性を調節するか、の 2 つの問題の解明に取り組んだ。これにより、mRNA 輸送・局所的翻訳と学習・記憶とを繋ぐ分子機構を明らかにすることを目指した。

オリオンプロジェクト 公募研究

東島 真一（生命創成探究センター・教授）

1) 研究課題：脊髄内リズム運動生成回路の機能解析

2) 共同研究者

なし

3) 研究活動の概略

脊椎動物の高速運動時には、速筋の素早い筋収縮を可能にするために、遅筋の活動を低下させることがある。しかし、その神経制御機構は分かっていなかった。この機構を解明するために、本研究では、ゼブラフィッシュ幼魚を用いて、脊髄抑制性ニューロンの一種である V1 ニューロンを遺伝学的に除去してその機能を解析した。V1 ニューロン除去魚の電気生理学的解析により、V1 ニューロンは高速遊泳時に、遅筋に投射する運動ニューロンの活動を強く抑制していることが明らかになった。また、その結果として V1 ニューロンは、遅筋に投射する運動ニューロンにより制御される遅筋の活動を高速遊泳時に抑制することも明らかになった。本研究により、脊椎動物の高速運動時に遅筋の活動を抑制するための脊髄抑制性介在ニューロンによる神経制御機構が明らかにされた。

オリオンプロジェクト 公募研究

青野 重利（生命創成探究センター・教授）

1) 研究課題：ビタミン B12 を感光素子とする新奇な光センサータンパク質の構造と機能

2) 共同研究者

村木則文

ExCELLS 助教

3) 研究活動の概略

最近、ビタミン B12（アデノシルコバラミン）が光センサーとして機能し、光に応答した遺伝子発現の制御に関与していることが報告され、ビタミン B12 の新規な生理機能として注目を集めている。*Thermus thermophilus* に含まれる CarH は、カロテノイド色素合成酵素の発現を光依存的に制御している転写調節因子であり、アデノシルコバラミンを光センサーとして利用していると考えられているが、その構造や機能については不明な点が多く残されている。我々は、暗所で調製したアデノシルコバラミン結合型 CarH（AdoCbl-CarH）は、四量体構造を有しているが、これに可視光を照射すると単量体へと解離することを明らかにした。光照射による四量体から単量体への高次構造変化は不可逆的な変化であり、光照後のサンプルを暗所に戻しても四量体へと戻ることはなかった。CarH による DNA 結合実験の結果、四量体構造を有している AdoCbl-CarH が DNA 結合能を有している一方で、単量体構造の CarH は DNA 結合能を示さないことが分かった。CarH による光センシング、および光による CarH の機能制御の分子機構を明らかにするためには、光感知前後での CarH の構造情報が必要不可欠である。そこで、CarH の結晶構造解析を行い、暗所で調製した AdoCbl-CarH の結晶構造解析に成功した。得られた結晶構造中で CarH は四量体を形成しており、光感知前の状態にある CarH の構造を反映していると考えられる。CarH プロトマーは三つのドメイン（N 末端側から順に DNA 結合ドメイン、helix-bundle ドメイン、Rossmann-fold ドメイン）から構成されていた。得られた構造を基に、CarH による光センシングの分子機構解明を進めている。

オリオンプロジェクト 公募研究

窪田 芳之（生理学研究所・准教授）

1) 研究課題：運動学習に伴う大脳皮質運動野の神経局所回路の可塑的变化

2) 共同研究者

孫 在隣	生理学研究所・大脳神経回路論	JSPS 特別研究員
川口 泰雄	生理学研究所・大脳神経回路論	教授
Alsayed Mohamed	生理学研究所・大脳神経回路論	研究員

3) 研究活動の概略

大脳皮質の局所神経回路は、多種類の神経細胞と他の領域からの入力線維から構成されており、それらが作る神経回路は非常に複雑である。我々の脳には百兆以上のシナプス結合があり、複雑な神経回路を作り、認知・感情・思考・記憶・意識など、科学的立場から未だに神秘的に見える機能を実現し、私たちの脳活動を支えている。これらの正常性が遺伝子の機能異常等の原因で崩れた場合、統合失調症、自閉症等の精神疾患になる事が報告されている事からも、局所神経回路機能構築が、私達の高次脳機能の鍵を握っている事は明らかである。本研究は、大脳皮質の動作原理を知る上で鍵となる局所神経回路構造のダイナミックな基本動作原理を、高次脳機能の中でも特に重要な運動学習という観点から解析研究を行った。その結果、大脳皮質運動野では、学習が進むに従い、神経回路ネットワーク結合がダイナミックに変化して、記憶学習の根幹を担っていることを突き止めた。

オリオンプロジェクト 公募研究

奥村 久士（生命創成探究センター・准教授）

1) 研究課題：アミロイド線維における動秩序形成機構を解明し阻害法を開発する計算分子科学

2) 共同研究者

伊藤 暁	分子科学研究所・生命創成探究センター 助教
西澤 宏晃	生命創成探究センター 学振 PD
山内 仁喬	総合研究大学院大学 大学院生（5 年一貫制 3 年）
多知 裕平	名古屋大学 博士課程 3 年

3) 研究活動の概略

アルツハイマー病はアミロイド β ($A\beta$) ペプチドが球状に凝集してできたオリゴマーあるいは線維状に凝集してできたアミロイド線維が原因で引き起こされる。 $A\beta$ ペプチドは細胞膜表面のように親水性 / 疎水性界面で凝集が促進される。そこで $A\beta$ ペプチドの一部である $A\beta$ (16-22) を親水性 / 疎水性界面で凝集させる分子動力学シミュレーションを行い、多くの分子間 β シート構造を持つオリゴマーが界面から水中に解き出るように存在していること発見し、その形成機構を解明した。さらに親水性 / 疎水性界面に全長の $A\beta$ ペプチドを配置した分子動力学シミュレーションも行った。親水性 / 疎水性界面では β 1 領域と β 2 領域に相当する部分で β ヘアピン構造を形成することが多く、これが $A\beta$ の凝集を促進させていることを明らかにした。この β ヘアピン構造が形成される過程も明らかにした。これらのシミュレーション結果は $A\beta$ ペプチドの凝集機構を解明するための新しい知見を与えるものであり、今後 $A\beta$ ペプチドの凝集阻害剤を開発するのに有用である。

5 共同利用研究

1. バイオネクスト共同利用研究

課題番号 101 特別共同利用研究

塚谷 裕一（東京大学大学院理学系研究科・教授）

1) 研究課題：メタボロミクスによる発生現象制御因子の解明

2) 共同研究者

高田 慎治	生命創成探究センター 教授
平井 優美	理化学研究所 環境資源科学研究センター チームリーダー
及川 彰	山形大学 農学部 准教授
川出 健介	生命創成探究センター 特任准教授
澤田 有司	理化学研究所 環境資源科学研究センター 研究員
Yimeng Li	理化学研究所 環境資源科学研究センター 研究員
Fredd Vergara	理化学研究所 環境資源科学研究センター 研究員
重信 秀治	基礎生物学的研究所 教授
長谷部光泰	基礎生物学的研究所 教授
林 良樹	筑波大学 生命領域学際研究センター 助教

3) 研究活動の概略

近年、代謝システムによる発生制御機構の重要性が着目され始めている。しかし、発生現象と代謝調節を連動させる仕組みは、思いのほか理解されていないのが現状である。これは、発生学と代謝生理学といった異分野をまたぐ課題へのアプローチが、これまで限定的だったことが一因として挙げられる。そこで私たちは、未知なる発生と代謝のつながりを同定し、さらに、生体内における機能的意義を明らかにすることで、この分野の積極的な開拓を目指している。そのために必要な、発生学分野の研究にメタボローム分析を適応するための新しい手法の開発にも取り組んでいる。また、これまでに計8件のメタボローム分析による共同研究を進めてきた（植物サンプルが3件；動物サンプルが5件）。その中には成果を論文として公刊させるものも出始めていることから、プロジェクトの着実な進行が見られている。

課題番号 201 次世代バイオ共同利用研究

岩槻 健（東京農業大学・准教授）

1) 研究課題：消化管オルガノイドを用いた消化管化学受容機構の解明

2) 共同研究者

佐藤 幸治	生命創成探究センター 特任准教授
稲葉 明彦	東京農業大学応用生物科学部食品安全健康学科 大学院生
中安 亜希	東京農業大学応用生物科学部食品安全健康学科 大学院生

3) 研究活動の概略

近年、消化管オルガノイド培養法が確立され、これまで困難であった *in vitro* 消化管上皮細胞の研究が容易になった。同培養法を用いた発生研究や癌研究が先行する一方、栄養素や味物質の受容研究はまだ進んでいない。そこで本研究は、消化管上皮に存在する栄養素受容細胞と味細胞に着目し、食品成分や呈味物質により反応する上皮細胞の種類と反応機構について明らかとすることを目的とした。具体的には、味蕾オルガノイドを用いたカルシウムアッセイ系の構築に向けた諸条件の検討を行う。

課題番号 301 次世代バイオ共同利用実験

養王田正文（東京農工大学・教授）

1) 研究課題：分子シャペロンオリゴマー構造の解析

2) 共同研究者

中村真奈美	東京農工大学 博士前期課程 1 年
安海 一優	東京農工大学 学部 4 年生
緑川 莉緒	東京農工大学 学部 4 年生
加藤 晃一	生命創成探究センター 教授
矢木 真穂	生命創成探究センター 助教
谷中 冴子	生命創成探究センター 助教
石井健太郎	生命創成探究センター 研究員

3) 研究活動の概略

Chinese Hamster (*Cricetulus griseus*) 由来の HspB1 (CgHspB1) のオリゴマー構造を解明するために、Native Mass Spectrometry による解析を行った。その結果、16 量体と 20 量体の 2 つのオリゴマー構造が存在することが明らかになり、アルギニンを含むバッファーで精製したところ、20 量体が主に存在することが示された。この結果から、HspB1 は異なる 2 つのオリゴマー構造で存在することが明らかになった。また、リン酸化模倣体 (CgHspB 1) のオリゴマー解析も試みたが、夾雑物により、オリゴマーに相当するスペクトルを得ることはできなかった。

課題番号 302 次世代バイオ共同利用実験

藤本ゆかり（慶應義塾大学理工学部・教授）

1) 研究課題：超分子質量分析装置を用いた免疫調節分子とその認識タンパク質の複合体解析

2) 共同研究者

加藤 晃一

創成研究領域・生命分子動秩序創発研究グループ 教授

3) 研究活動の概略

免疫機構は生体分子間の複雑なネットワークにより調整されているが、申請者は、免疫機能を制御する免疫調節性分子の探索、機能解析および創製研究を行っている。本研究では、超分子質量分析装置を用いて、免疫調整に関わる免疫調節性分子と認識タンパク質間の相互作用様式の詳細を解明し、それらタンパク質の機能解析と新規制御分子の創製へと応用することを目指した。本年度の研究においては、選択的な免疫調節機能を示す分子を見出すことに成功した。また、認識タンパク質—リガンド間の相互作用様式の解明を目指し、native-MS 解析測定条件の探索、測定を行った。今後、さらに検討を行い、活性分子の機能解析および新規制御分子の創製へ展開する予定である。

矢木 宏和（名古屋市立大学大学院薬学研究科・講師）

1) 研究課題：ヒトプロテアソームのアッセンブリー機構の解明

2) 共同研究者

佐藤 匡史	名古屋市立大学大学院薬学研究科 准教授
柚木 康弘	名古屋市立大学大学院薬学研究科 博士後期課程1年生
岡田 知	名古屋市立大学大学院薬学研究科 研究員
加藤 晃一	自然科学研究機構 生命創成探究センター 教授
内山 進	自然科学研究機構 生命創成探究センター 客員教授

3) 研究活動の概略

プロテアソームの触媒部位（CP）は7つの α サブユニットおよび7つの β サブユニットから構成される非対称なダブルリング状構造を有する。そのアッセンブリー過程には、複合体形成を介助するシャペロン分子が存在することが知られている。これまでに申請者らは、本共同利用研究によって、CPの構成サブユニットの1つである $\alpha 7$ が単独で14量体のダブルリング構造を形成すること、更には $\alpha 6$ サブユニットの添加に伴い、14量体が開裂し、 $\alpha 7$ が7つと $\alpha 6$ が1つからなる複合体が形成されることを見出してきた（Scientific Report, 2015）。しかしながら、CPの高次構造形成において、アッセンブリーシャペロンとともに他のサブユニットがどのように秩序だって集合していくプロセスは未だ不明な点が多い。そこで、本申請研究では、CPを構成する14個のサブユニットおよびアッセンブリーシャペロンを対象として、超分子質量装置を利用していた超分子複合体CPの形成中体をキャラクタライズすることを通じて、CPのアッセンブリー機構の解明を目指す。

課題番号 304 次世代バイオ共同利用実験

織田 昌幸（京都府立大学・教授）

1) 研究課題：タンパク質の金属イオン結合解析

2) 共同研究者

石井健太郎	自然科学研究機構 生命創成探究センター (ExCELLS)	博士研究員
内山 進	自然科学研究機構 生命創成探究センター (ExCELLS)	客員教授

3) 研究活動の概略

ポリエチレンテレフタレート (PET) を分解する酵素 Cut190 は、 Ca^{2+} 存在下で、その活性や熱安定性が上昇することが知られている。本研究では、Q-TOF 型質量分析計を用いて、複数の Ca^{2+} 結合が Cut190 に結合することを示し、Biochemistry 誌に論文発表した。さらに Cut190 の Ca^{2+} 結合部位に影響する部位を置換した変異体について、その Ca^{2+} 結合価を解析した。

His 残基のキレート反応を利用し、 Zn^{2+} などの金属イオン結合に伴い、ランダム構造からヘリックスバンドル構造に変化する人工蛋白質について、その Zn^{2+} 結合価を Q-TOF 型質量分析計を用いて解析した。

2. ExCELLS 共同利用研究

課題番号 18-101 ExCELLS 連携研究

内橋 貴之（名古屋大学・教授）

- 1) 研究課題：高速原子間力顕微鏡を基盤とした生命構成要素のマルチモーダル・マルチスケール動態解析技術の開発

- 2) 共同研究者

岡嶋 孝治	北海道大学大学院情報科学科 教授
阿部 真之	大阪大学大学院基礎工学研究科 教授
矢木 宏和	名古屋市立大学大学院薬学研究科 講師
渡辺 大輝	生命創成探究センター 特任助教

- 3) 研究活動の概略

生命は高度に階層化されたシステムであり、遺伝子やタンパク質、脂質などの生体高分子の要素から細胞が形成され、その階層の上に組織、臓器、そして個体という階層が存在する。生命活動は各階層の要素が創発する機能と階層内での相互作用、さらには階層間にわたるダイナミックで複雑な相互作用によって営まれる。生命の本質的理解において、分子から細胞、個体の間の各階層で織りなされる多様な生命現象を様々な観点から計測・解析することで、各要素の機能発現のメカニズムを明らかにし、さらに階層間の相互連関を解明することが必須である。本研究課題では、生体試料のダイナミクスを直接可視化できる高速原子間力顕微鏡 / 一分子蛍光顕微鏡複合装置の高度化と高機能化によって、生体試料のマルチモーダル・マルチスケール動態解析技術を開発する。同時に、本技術基盤を ExCELLS 全体で共有することによって、生命システムの本質理解に向けた共同研究を推進する。

本田 直樹（京都大学生命科学研究科・准教授）

1) 研究課題：生体イメージングで観測される時空間ダイナミクスの階層的モデリング

2) 共同研究者

西田 基宏	生命創成探究センター	教授
青木 一洋	生命創成探究センター	教授
近藤 洋平	生命創成探究センター	助教

3) 研究活動の概略

蛍光ライブイメージングにより、今や多細胞組織における細胞レベルの移動や分子活性等を生きたまま可視化できる時代となっている。イメージングによって観測される「細胞集団レベルの現象」は、寄り集まった一つ一つの細胞が相互作用する「細胞レベルの過程」から階層をまたいで創発されたものである。したがって、細胞集団レベルの観測結果から細胞レベルの原因を解読するためには、二つの階層をつなぐアプローチが必須である。そこで本研究では、細胞レベルと細胞集団レベルの階層をつなぐ数理的アプローチを提案し、多細胞組織のイメージングデータから細胞レベルのメカニズムの解読を目指す。

黒川 洵子（静岡県立大学・教授）

1) 研究課題：興奮性細胞創成に向けた膜電荷による組織分化誘導技術の開発

2) 共同研究者

西田 基宏	自然科学研究機構生命創成探究センター（生理学研究所） 教授
青木 一洋	自然科学研究機構生命創成探究センター（基礎生物学研究所） 教授
坂本 多穂	静岡県立大学薬学部 准教授
山口 賢彦	静岡県立大学薬学部 助教
諫田 泰成	国立医薬品食品衛生研究所薬理部 部長
岩崎菜々美	静岡県立大学薬学部 学部5年生
佐野 優介	静岡県立大学薬学部 学部5年生

3) 研究活動の概略

生物の個体発生は非興奮性細胞である受精卵に始まり、分化・成熟を経て、細胞同士の情報を伝達する興奮性細胞が形成され、生体組織ネットワークが創成されます。興奮性組織は潜在的に大量の電荷を保有し、刺激入力に対し、局所的に電荷が爆発的に増える現象（活動電位）によって応答することで、ネットワークを形成します。しかし、オンディッシュで化合物や小分子を添加して興奮性細胞を分化誘導しようとしても、保持電荷量が一定以上増えないので脆弱な活動電位しか持たず、刺激応答のネットワークを形成できません。

そこで、本研究では、いまだ未熟な性質を残す幹細胞由来興奮性細胞に対し、人工的に微弱電流を印加することで不足している膜電荷を補給し、刺激応答型の活動電位によって刺激応答ネットワークを形成することができる興奮性細胞を創成することを目指します。

澤井 哲（東京大学大学院総合文化研究科・教授）

1) 研究課題：細胞動態の可塑性操作による細胞集団の人工構築

2) 共同研究者

島田 奈央	東京大学大学院総合文化研究科 助教
青木 一洋	自然科学研究機構生命創成探究センター 教授
野中 茂紀	自然科学研究機構生命創成探究センター 准教授

3) 研究活動の概略

細胞の形状や運動は、細胞外基質や接着分子の分布、隣接する細胞からのシグナルなどの要因によって可塑的に決定づけられ、異なる細胞種、生物種の間においてもその動態に一定の共通性がみられる。細胞運動のモデル系である細胞性粘菌は、アメーバ細胞でありながら、運動性集団や上皮様組織を形成し、走化性と接着依存的な遊走によって、多細胞集団が自己組織化する。本研究では細胞性粘菌の細胞間接着依存的な遊走過程に着目し、時空間的に接着分子を細胞の内外から操作する系を開発し、これによる細胞の形状や運動変化の誘導、さらにはネットワーク構築を目指す。細胞の遊走と停止、その向きや極性という個別の細胞レベルの運動規則と、人工的に形成されたマクロなパターンとの関係について、その基礎的かつ一般的性質を構成的に理解する。

広井 賀子（山口東京理科大学薬学部・教授）

1) 研究課題：温度環境操作で細胞ネットワーク形成を制御する

2) 共同研究者

富永 真琴	生命創生探究センター
野中 茂紀	生命創生探究センター
亀井 保博	基礎生物学研究所
山中 龍	山口東京理科大学
中村 隆之	慶應義塾大学
齋藤 昂哉	慶應義塾大学
舟橋 啓	慶應義塾大学

3) 研究活動の概略

近年、生体に対する微細な環境での温度差、温度勾配などが、生体にとって重要な意味を持つシグナルとして作用している可能性に注目が集まっている。

本研究では、人為的に細胞集団が生育する環境の温度を二段階に制御することで、[1] 細胞間ネットワーク形成を制御し、かつ [2] 背景で温度シグナルを感受し、細胞の動きや形態変化に寄与している分子機構を突き止めることを目的とする。

培養環境全体の温度を制御することで、細胞内にあらかじめ用意される温度環境適応機能分子を制御する。一方で、シグナルとして機能を持たせるための温度変化を高い時間分解能で実現するために赤外線レーザーを用いる。

現在までに、細胞の温度感受性特性に関わる発現分子プロファイルを確認し、2次元培養系において、赤外線レーザーによって温度勾配を作り、勾配を与えられた時の細胞の変形、また勾配中の高温領域へ細胞重心が移動する現象を再現よく実現している。今後、制御における空間分解能について、詳しく検証を進める。

石谷 太（群馬大学生体調節研究所・教授）

1) 研究課題：生命活動休止システム「休眠」の分子基盤と意義の解明

2) 共同研究者

萩沼 政之	群馬大学、生体調節研究所 助教
高田 慎治	生命創成探究センター、発生シグナル創発研究グループ 教授
加藤 輝	生命創成探究センター、生物画像情報解析グループ 特任助教
川出 健介	生命創成探究センター、植物発生生理研究グループ 特任准教授
安齋 賢	基礎生物学研究所、バイオリソース研究室 助教

3) 研究活動の概略

生物の生命活動は受精から始まり、胚発生、成熟、老化、死に至るまで時間の流れに沿って不可逆的に進行する。一方で、一部の生物では、生命活動の時間の流れを一時的に休止し、状態を長期間安定に保存する現象、いわゆる「休眠（仮死）」が観察される。例えば、アカシカやアルマジロやネズミなどは、胚発生過程の胚盤胞の状態で発生を一旦休止し、出産時期が外部環境の良い春季になるタイミングで発生を再開する。このように、休眠は、生物が自身の生存に有利な環境で活動するための時間調節に利用されている。しかしながら、休眠がその後の生命活動にどのような影響を与えるのかなど、休眠の意義は未だ十分には理解されていない。また、休眠への移行にあたり全身の組織の活動を停止させるメカニズムや、休眠中に組織全体を低代謝状態のまま安定に保つシステム、生命活動を正常に再開させる仕組みは謎のままである。そこで本研究では、休眠を行う小型魚類ターコイズキリフィッシュをモデルとして休眠（仮死）の分子基盤と意義を解明する。

荒川 和晴（慶應義塾大学環境情報学部・准教授）

1) 研究課題：乾眠の分子機構の探索

2) 共同研究者

加藤 晃一	生命創成探究センター	教授
奥村 久士	生命創成探究センター	准教授
青木 一洋	生命創成探究センター	教授

3) 研究活動の概略

極限環境に耐性を持つクマムシの耐性メカニズムを明らかにするため、乾眠に関連する遺伝子群の探索や解析を行い、乾眠の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。その結果、クマムシ乾眠にかかわると想定される2種のタンパク質 CAHS および SAHS について、NMR 解析および高速原子間力顕微鏡観察を通じて水溶液中で高次構造が形成されるかを明らかにした。この結果は、少なくとも SAHS においては、分子動力学シミュレーションによる分子動態解析からも裏付けられている。また、異クマムシから類似のタンパクのスクリーニングを行ったところ、新規の高可溶性タンパクの候補を得た。これら遺伝子をヒト細胞に組み込んで耐性変化を観察する実験系についても基礎の構築が完了した。

山口 拓実（北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科・准教授）

1) 研究課題：合成化学的アプローチを用いた糖鎖配座空間の探査と制御

2) 共同研究者

龍岡 博亮	北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科 修士2年
加藤 晃一	生命創成探究センター 教授
谷中 冴子	生命創成探究センター 助教
鈴木 達哉	生命創成探究センター 博士研究員

3) 研究活動の概略

本課題では、有機化学的アプローチを基盤とし、分子生物学や分子分光学などの手技を統合することで、糖鎖の生物機能が発露するメカニズムを明らかにすることを目指した。糖鎖の生物機能の多くは、レクチンとの結合を通して発揮される。そこで、NMR解析と大規模分子シミュレーションを通して、糖鎖の化学構造がその立体構造に与える影響を考察した。遊離状態においてレクチン結合型コンフォマーを増加させることで糖鎖の高親和性化が実現できると考え、動的立体構造解析の結果を指針とした分子設計に基づいて、配座空間を化学的に改変した糖鎖を創出した。

山口 拓実（北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科・准教授）

1) 研究課題：人工複合糖質の合成と細胞モデルへの導入

2) 共同研究者

森 一樹	北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科 修士2年
稲葉 秋星	北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科 修士1年
栗原 顕輔	生命創成探究センター 特任准教授

3) 研究活動の概略

糖脂質は、細胞の認識や接着をはじめ、生体膜コミュニケーションにおいて重要な役割を担っている。本研究では、糖鎖機能を組み込んだ人工細胞モデルの創出を目指し、新規ネオ糖脂質の設計と合成を行った。

脂質膜上で人工糖脂質構造へと変換可能な糖鎖カートリッジの設計を行った。糖鎖部位としてスフィンゴ糖脂質に見られるラクトースや GM3 糖鎖構造を用い、調製した各種糖鎖カートリッジと脂質誘導体を反応させることでネオ糖脂質を合成した。化学反応によって生成したネオ糖脂質は速やかに集積化し、マイクロメートルサイズのリボソームを動的に形成することがわかった。

加塩麻紀子（愛知医大生理学・講師）

1) 研究課題：温度感受性 TRP チャンネルによる概日リズム調節の探索研究

2) 共同研究者

富永 真琴

温度生物学研究グループ 教授

3) 研究活動の概略

TRPM2 は温度感受性を有する非選択性カチオンチャンネルである。我々は、その体温化活性がレドックスシグナルにより調節されることを報告した。さらにその後、TRPM2 の体温調節における役割が報告され、TRPM2 と代謝との関連が強く示唆されている。昨年度に引き続き、概日リズムおよび代謝に重要な働きを持つサーチュインと TRPM2 の機能関連に注目して研究を遂行した。その結果、サーチュインの一つである SIRT1 活性により TRPM2 の活性化が起こることに加え、TRPM2 が SIRT1 の基質となる可能性を見出した。本研究結果は、概日リズムおよび代謝と TRPM2 との機能的関連の存在を強く示唆するものである。

内田 邦敏（福岡歯科大学細胞分子生物学講座分子機能制御学分野・講師）

1) 研究課題：人工再構成系を用いた温度センサー分子 TRPV1 の機能解析

2) 共同研究者

富永 真琴	温度生物学研究グループ 教授
内橋 貴之	生命分子動態計測グループ 客員教授
渡辺 大輝	生命分子動態計測グループ 特任助教

3) 研究活動の概略

TRPV1 タンパク質の解析を行うために、精製法の確立を行なった。His タグを付加したマウス TRPV1 チャネルはカプサイシン、熱ならびに酸に対する応答は維持されていた。この His タグを付加した TRPV 1 チャネルを Cobalt カラムを用いて精製し、脂質平面膜に再構成したのちに電気生理学的解析を行なった結果、精製した TRPV1 チャネルにおいてもカプサイシンに対する活性が観察された。

山田 浩司（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授）

1) 研究課題：膜制御因子のアクチン骨格制御と細胞膜－細胞骨格間のクロストーク

2) 共同研究者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究 G 教授
内橋 貴之	生命分子動態計測 G 教授

3) 研究活動の概略

ダイナミン関連分子は、エンドサイトーシスの小胞形成の際に膜切断に働く GTPase である。我々は、ダイナミンが、アクチン動態を直接制御する証拠を得、アクチン－ダイナミン複合体の構造解析を進めている。本研究は、アクチン重合からアクチン線維形成に至る過程に、ダイナミンがどのように関与するのかをリアルタイムで観察することによって、その分子基盤を明らかにする。

服部 光治（名古屋市立大学・教授）

1) 研究課題：リーリンが各種アミロイド β の凝集に及ぼす影響の解析

2) 共同研究者

加藤 晃一	生命創成探究センター 教授
矢木 真穂	生命創成探究センター 助教
加藤 由真	名古屋市立大学 学部生

3) 研究活動の概略

分泌タンパク質リーリンはアルツハイマー病の発症に拮抗すると報告されているが、そのメカニズムは不明である。本研究では、リーリンが直接アミロイド β の凝集を阻害するという他グループの結果を追試し、もしするなら、リーリンのどの領域がその効果をもつのかなどを解明を目指した。チオフラビンTアッセイにより、アミロイド β ペプチドの凝集への効果を検討した。まず実験条件の検討を行った結果、細胞培養上清をそのまま用いる方法では結果が安定しないことがわかった。ある程度リーリンを精製した上で添加することが必要であると考えられる。

樫田 啓（名古屋大学・准教授）

1) 研究課題：人工塩基導入核酸を利用した多重鎖構造の調製

2) 共同研究者

内山 進	生命創成探究センター 客員教授
加藤 晃一	生命創成探究センター 教授

3) 研究活動の概略

天然核酸塩基はプリン塩基の両面で水素結合することによって三重鎖や四重鎖構造を形成する。本研究では提案者らが開発した人工核酸である aTNA に両面で水素結合可能な人工塩基を導入することによって、天然では実現しえない六重鎖構造を調製することを目指す。これが実現すれば、新たな超分子モチーフとなるだけでなく、小分子検出プローブといった応用が期待できる。

矢木 宏和（名古屋市立大学大学院薬学研究科・講師）

1) 研究課題：概日リズム発信機構の解明に向けた Kai タンパク質複合体の構造基盤の解明

2) 共同研究者

佐藤 匡史	名古屋市立大学大学院薬学研究科 准教授
柚木 康弘	名古屋市立大学大学院薬学研究科 博士後期課程 1 年生
加藤 晃一	自然科学研究機構 生命創成探究センター 教授
内山 進	自然科学研究機構 生命創成探究センター 客員教授

3) 研究活動の概略

生体内の概日リズムは生物時計によって制御されている。シアノバクテリアの生物時計システムは、3 種類のタンパク質（KaiA、KaiB、KaiC）とアデノシン三リン酸（ATP）のみで KaiC のリン酸化状態が 24 時間周期を刻む系を構築できるというユニークな性質を有する。本研究では、超分子質量分析装置を利用することで、Kai タンパク質が形成する複合体をキャラクタライズすることにより、概日リズムの発振機構を解明することを目指す。

**Ji-Joon Song (Korea Advanced Institute of Science and Technology,
Associate Professor)**

- 1) 研究課題 :Single-molecule analysis of ATP-dependent Abo1 histone chaperone dynamics by atomic force microscopy

- 2) 共同研究者

Carol Soomin Cho	Korea Advanced Institute of Science and Technology, Research Assistant Professor
Hiroki Watanabe	ExCELLS, Assistant Professor

- 3) 研究活動の概略

AAA+ ATPases are motor proteins that hydrolyze ATP to perform work on various substrates. Although the hexameric ring structure of AAA+ ATPases is well characterized by X-ray crystallography and cryo-EM, the mechanism by which AAA+ subunits utilize ATP has been elusive due to the absence of dynamic real-time data on AAA+ ATPase activity. Here, using the yeast AAA+ histone chaperone Abo1 protein as a model system, we directly visualize the ATP-dependent structural changes of Abo1 by high-speed atomic force microscopy (HS-AFM). We find that Abo1 forms hexameric rings that undergo symmetry breaking in the presence of ATP, consistent with our recently solved cryo-EM structures. Furthermore, AAA+ subunits undergo ATP hydrolysis one subunit at a time with no apparent order by which subunits hydrolyze ATP. Thus, the Abo1 AAA+ ATPase utilizes a stochastic mode of AAA+ subunit activation where the AAA+ ring opens at random positions.

真嶋 司（京都大学エネルギー理工学研究所・助教）

1) 研究課題: 探針走査型高速 AFM/FRET システムを用いた核酸結合性タンパク質 TLS の構造ダイナミクス解析

2) 共同研究者

加藤 晃一 生命分子動秩序創発研究 G 教授

内橋 貴之 生命分子動態計測 G 客員教授

渡辺 大輝 生命分子動態計測 G 特任助教

3) 研究活動の概略

核酸結合性タンパク質 TLS は、非コード RNA との結合を介して Cyclin D1 遺伝子の発現を特異的に抑制する。この際に、非コード RNA との結合が TLS の構造変化を誘導し、N 末側と C 末側が分子内で相互作用したコンパクトな形状から、N 末側と C 末側が遠く離れた伸びた形状になると提唱されている。本課題では、高速原子間力顕微鏡 / 蛍光顕微鏡複合装置を活用し、TLS の構造変化の詳細を明らかにすることを目的としている。

2018 年度 ExCELLS リポート

2019 年 5 月発行

大学共同利用機関法人

自然科学研究機構

生命創成探究センター

愛知県岡崎市明大寺字東山 5-1

電話： 0564-59-5201

ホームページ： <http://www.excells.orion.ac.jp>

Exploratory Research Center on Life and Living Systems
National Institutes of Natural Sciences

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 生命創成探究センター



〒444-8787 愛知県岡崎市明大寺町字東山5-1

<http://www.excells.orion.ac.jp>