



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

2020 ExCELLS リポート

2020 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

2020 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、2018 年 4 月に設置された機構直轄の組織です。

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ます。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ます。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ます。

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ます。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ます。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、生命の設計原理の解明を目指しています。こうした研究の発展に資するため、国内外の多様な分野の研究者による共同利用・共同研究が着実に進んでいます。生命分子ダイナミックな振る舞いの観測や人工タンパク質・人工核酸の設計・創成を通じた研究成果が次々と生み出されています。

2020 年度は、創成研究領域理論生物学研究グループに新たに齋藤稔特任准教授を迎えて ExCELLS 連携研究を推進しています。さらに、機構外の研究者のアイデアを ExCELLS の複数のグループとともに具現化する ExCELLS 課題研究も進展し、クマムシの乾眠の仕組みの解明などに向けた分野融合研究が活発に行われています。ExCELLS 計画研究、ExCELLS 特別共同研究、ExCELLS 若手奨励研究といった研究プロジェクトも活性化しています。

一方、極限環境生命探査室では、深海、地下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ます。2020 年度は物質-生命境界領域研究グループを立ち上げ、村田和義特任教授を中心としたプロジェクトが始動しています。宇宙航空研究開発機構と共同で微小重力環境でのアミロイド形成に関する研究も進んでいます。

こうした異分野融合研究を推進するために、2020 年度は東海国立大学機構糖鎖生命コア研究拠点 (iGCORE) 等と学術交流のための協定を締結するとともに、これまでの連携協定機関との学術交流も推進しています。

シンポジウムやセミナーやアウトリーチ活動もオンラインで活発に行っています。次代を担う若手が主体的に企画・運営した研究集会も盛況でした。

2020 年度も共同利用研究を基軸とした優れた研究成果が次々と生み出されており、各種メディアを通じた成果発信も順調です。本リポートを通じて ExCELLS の活動をご高覧いただければ幸いです。

第 2 期センター長 加藤晃一



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



アストロバイオロジーセンター



新分野創成センター



国際連携研究センター



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

センター長

研究連携推進室

創成研究領域

生物画像情報解析グループ
生命分子動態シミュレーション研究グループ
生体分子相互作用計測グループ
生命分子動秩序創発研究グループ
バイオフィotonics研究グループ
心循環ダイナミズム創発研究グループ
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
神経分子動態生物学研究グループ
金属生命科学グループ
神経ネットワーク創発研究グループ
生命分子創成研究グループ
定量生物学研究グループ
生命時空間制御研究グループ
温度生物学研究グループ

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
極限環境耐性研究グループ
物質-生命境界領域研究グループ

連携研究グループ

生命分子動態計測グループ
理論生物学研究グループ

目 次

序 言

組織図

1	2020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	生物画像情報解析グループ	11
1-2	生命分子動態シミュレーション研究グループ	13
1-3	生体分子相互作用計測グループ	15
1-4	生命分子動秩序創発研究グループ	17
1-5	バイオフィトニクス研究グループ	19
1-6	心循環ダイナミズム創発研究グループ	22
1-7	認知ゲノム研究グループ	24
1-8	発生シグナル創発研究グループ	26
1-9	神経分子動態生物学研究グループ	28
1-10	金属生命科学研究グループ	30
1-11	神経ネットワーク創発研究グループ	32
1-12	生命分子創成研究グループ	34
1-13	定量生物学研究グループ	37
1-14	生命時空間制御研究グループ	40
1-15	温度生物学研究グループ	41
	連携研究グループ	
1-16	生命分子動態計測グループ	45
1-17	理論生物学研究グループ	48
2.	極限環境生命探査室	
2-1	深海・地下生命研究グループ	52
2-2	極限環境生命分子研究グループ	53
2-3	極限環境耐性研究グループ	55
2-4	物質-生命境界領域研究グループ	56
3	ExCELLSイベント	59
4	共同利用研究	
	ExCELLS 計画研究	62
	ExCELLS 特別共同研究	65
	ExCELLS 課題研究（シーズ発掘）	72
	ExCELLS 一般共同利用研究	78
	ExCELLS 機器利用研究	106
	ExCELLS 課題研究（一般）	118

1 2020年度 構成員一覽

2020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）

青木一洋（生命創成探究センター 副センター長）

根本知己（生命創成探究センター 副センター長）

創成研究領域

生物画像情報解析グループ

青木 一洋（教授）[兼任]
加藤 輝（特任助教）
太田 裕作（特任助教）
兵藤 美和（技術支援員）

バイオフィotonics研究グループ

根本 知己（教授）
榎木 亮介（准教授）
大友 康平（助教）
堤 元佐（特任助教）
石井 宏和（特任助教）
渡我部ゆき（技術職員）
安宅 光倫（総研大生）
高橋 泰伽（総研大生）
山口 和志（特別共同利用研究員 ～2020.12.31）
（研究支援員 2021.1.1～）
中田 開人（特別共同利用研究員 ～2020.12.31）
（技術支援員 2021.1.1～）
廣 蒼太（特別共同利用研究員 ～2020.12.31）
（技術支援員 2021.1.1～）
張 菁圃（特別共同利用研究員 2020.8.1～）
李 明亮（特別共同利用研究員 2020.10.1～）
兵藤智栄美（技術支援員）
土屋 加奈（技術支援員）

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）
谷本 勝一（特任研究員）
山内 仁喬（総研大生）
宮澤 和久（総研大生）
福原 大輝（総研大生）
川口 律子（事務支援員）

生体分子相互作用計測グループ

内山 進（客員教授）
兒玉 篤治（博士研究員）

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）
SEETAHA, Supaphorn（特任研究員 2021.1.15～）
Methanee Hiranyakorn（総研大生）
関口太一郎（総研大生）
與語 理那（特別共同利用研究員）
柚木 康弘（特別共同利用研究員）
齋藤 泰輝（特別共同利用研究員）
梅澤芙美子（特別共同利用研究員）
佐々木雄大（特別共同利用研究員）
山田 梨乃（特別共同利用研究員）
磯野裕貴子（技術支援員）
福富 幸代（事務支援員）

心循環ダイナミズム創発研究グループ

西田 基宏（教授）
西村 明幸（特任准教授 2020.8.1～）
田中 智弘（特任助教）
石原 博美（技術職員）
小田紗矢香（総研大生）
下田 翔（総研大生）
藤森 仁美（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（技術支援員）
石川 裕恵（技術支援員）

野口 京子（技術支援員）
木原まどか（事務支援員）

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）
篠塚 琢磨（特任助教）
内海 秀子（技術職員）
高田 律子（特別協力研究員）
畠山 宙大（総研大生）
Tran,Hong Nguyen（総研大生）
鈴木美奈子（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）

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 ～2020.8.31）
大橋 りえ（助教 2021.1.1～）
中沢（片山）香織（総研大生 ～2020.6.30）
山下 映（総研大生）
堀尾 朋世（総研大生）
石倉 有唯（総研大生）
吉田 将（総研大生）

金属生命科学研究グループ

青野 重利（教授）
村木 則文（助教）
武田 康太（特任助教）
Nam Dayeon（特任研究員 2020.8.16～）
村木めぐみ（技術支援員）
中根 香織（事務支援員）

神経ネットワーク創発研究グループ

東島 眞一（教授）
木村有希子（助教）
谷本 昌志（助教）
竹内 靖（技術職員）
相岡 拓己（総研大生）
川野 幸平（総研大生）

植村 悠人（特別共同利用研究員）
片山 大成（特別実習生 2020.11.1～）
伊藤 浩子（技術支援員）
寺澤 洋子（技術支援員）
渡我部育子（技術支援員）
竹内 芳子（技術支援員）
瀬戸公美子（技術支援員）

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）
南 慎太郎（特任研究員 ～2020.6.20）
小林 直也（特任研究員）
近藤未菜子（特別協力研究員 ～2020.4.30）
佐久間航也（総研大生 ～2020.6.30）
三本 斉也（総研大生）
海田 新悟（総研大生）
鈴木 博子（事務支援員）

定量生物学研究グループ

青木 一洋（教授）
近藤 洋平（助教）
後藤 祐平（助教）
四宮 愛（特任助教）
尾納 隆大（技術職員）
中村 彰伸（博士研究員）
青木 玲奈（特別訪問研究員）
谷猪 遼介（総研大生）
向井 正哉（総研大生）
山本 啓（総研大生）
酒井啓一郎（総研大生）
鶴岡 樹（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）

生命時空間制御研究グループ

野中 茂紀（准教授）
餘家 博（特任助教）
谷口 篤史（博士研究員）
石橋 知子（技術支援員）

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）
齋藤 茂（助教）
Derouiche Sandra（特任助教 ～2021.1.31）
福田 直美（技術職員）
水藤 拓人（博士研究員 ～2020.4.30）
（特任研究員 2020.5.1～）
佐藤 翔馬（博士研究員）
齋藤くれあ（博士研究員）
Feng Xiaona（博士研究員 ～2020.9.30）
宇治澤知代（日本学術振興会特別研究員）
丸山 健太（特別協力研究員）
Nguyen Thi Hong Dung（総研大生 ～2020.9.30）

（博士研究員 2020.10.1～） **研究連携推進室**

Deng Xiangmei（総研大生）
Deveci Aykut（総研大生）
Lei Jing（総研大生）
笹島沙知子（特別共同利用研究員）
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）

田中 冨（特任助教）

物質-生命境界領域研究グループ 2021.1.1～

村田 和義（特任教授）
SONG, Chihong（特任助教）
BURTON SMITH, Raymond Nathaniel（博士研究員）
香山 容子（博士研究員）
渡邊 凌人（総研大生）
千原あかね（総研大生）
角田 潤（総研大生）
山田 幸子（技術支援員）
竹市 祐介（技術支援員）
河口 美江（事務支援員）

佐藤 匡史
（特任准教授（研究連携コーディネータ））
磯貝 知世（特任専門員）
蜂須賀みどり（事務支援員）

その他

岡田 知（事務支援員）

生命分子動態計測グループ

内橋 貴之（客員教授）
GANSER, Christian（特任助教）
西口 茂孝（特任研究員）

理論生物学研究グループ

本田 直樹（客員准教授）
斉藤 稔（特任准教授）

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）[併任]
矢木 真穂（助教）[併任]

極限環境耐性研究グループ

荒川 和晴（客員准教授）

2 研究領域の現状

1. 創成研究領域

1-1 生物画像情報解析グループ

青木 一洋（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) 生物画像データの定量的解析

b) 1細胞精度・全胚スケールでの全細胞機能解析を可能とするイメージング技術の開発

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 生物画像データの定量的解析

画像データとして得られた生命現象を客観的に記述・評価するためには、その現象を端的に表現する画像上の特徴を的確かつ確実に捉え計測する系が必要となる。このような視座の下、様々な生命現象を捉えた画像データについて解析を行なっている。

生体を構成する細胞群には、多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し、適用した。この処理系をマウス胚性幹細胞群を対象に多視点顕微観察を適用し、得られた多数の核染色像から核領域を抽出した後、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施した。

ゼブラフィッシュ幼魚の泳動様式を捉えた動画の個々のフレームから体幹の屈曲を曲線モデルとして記述する系を開発した。そして、屈曲が最大となる位置の時間発展について解析した。

主たる細胞骨格系の構成因子であるアクチンネットワークの形成過程の分子基盤を解明するため、培養細胞系において、表層アクチン束の状態を表現する特徴としてその密度並びに径を計測する系を開発し、野生型・変異型の比較においてこれら特徴量に統計的な差異を見出した。

ニワトリ初期胚の脳の形態形成において、脳原基を構成する個々の細胞が最終的に脳のどの位置を占めるかについての詳細を解析するため、原基細胞をランダムに蛍光標識し、タイムラプス観察した動画からそれらの位置を検出、移動の軌跡を収蔵したデータベースを構築した。これをもとに脳原基内の局所的移動パターンを求め、可視化する技法について開発、解析を行なった。

b) 1細胞精度・全胚スケールでの全細胞機能解析を可能とするイメージング技術の開発

本研究の目的は、ゼブラフィッシュ初期胚の原腸形成時の細胞内動態情報を1細胞精度・全胚スケールで解析することを可能にするイメージング・画像解析技術を開発することである。初期発生において生物をかたちづくる大きな現象として原腸形成がある。原腸形成のような大規模な細胞集団の3次元リモデ

リングは、個々の細胞の分化・移動・変形が時間・空間的に精妙に協調することで達成される。そのため、原腸形成メカニズムの全容解明には、1細胞精度・全胚スケールで細胞内動態情報を理解する必要がある。しかしながら、この理解には以下3つの問題がボトルネックとなっている。1つ目は、細胞トラッキング技術が未熟であることである。これによって、1細胞単位での長時間の定量が困難となっている。2つ目は、機能的蛍光指示薬の発現量の細胞間のばらつきである。これによって細胞間での細胞動態の比較が困難になっている。3つ目は、発生過程が3次元空間で進行することである。これによって、解析結果を感覚的に把握することが困難となっている。本研究では、この3つの問題を克服するイメージング・画像解析技術を開発している。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

青木一洋（教授）

Research Map: https://researchmap.jp/kazuhiro_aoki/

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7263-1555>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=q9S3S28AAAAJ&hl=en>

加藤輝（特任助教）

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4757-3773>

太田裕作（特任助教）

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8167-3332>

1-2 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： 理論生物物理学、理論タンパク質科学

2) 研究課題：

- a) 赤外自由電子レーザーによりA β アミロイド線維が破壊される際の水分子の役割
- b) アミロイド β (16-22)フラグメントに対するポリフェノールの結合
- c) COVID-19ウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼに対する薬剤作用の機構

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 赤外自由電子レーザーによりA β アミロイド線維が破壊される際の水分子の役割

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。我々は赤外自由電子レーザー(IR-FEL)を照射してA β のアミロイド線維を破壊する非平衡分子動力学シミュレーションを行った。その結果、水分子がタンパク質の凝集体を破壊する新たなメカニズムを発見した。アミロイド線維中のC=OとN-Hが形成する分子間水素結合は、レーザーのパルスが照射されるたびに切断される。しかし、これらの結合は多くの場合その照射後に自然に再形成される。だが、C=OとN-Hの間にたまたま水分子が入り込むと、水素結合の再形成が阻害されてしまう。そのような場所は規則的に並んだ水素結合の欠陥となり、そこから欠陥が広がるようにして分子間 β シートの全ての水素結合が切断されてしまう。このような水分子の役割は、他の既知のメカニズムとはまったく異なるものである。この新しいメカニズムは、乾燥した状態でレーザーを照射してもアミロイド線維が破壊されないという最近の実験結果を説明することができる。さらに、アミロイドが破壊されるとより多くの α ヘリックス構造が形成されることも発見し、それは α ヘリックス構造の共振周波数が β シート構造のそれとは異なることが原因であることを突き止めた。今回の結果は、IR-FELを応用したアミロイド症の治療法開発のための理論的根拠となるものである。

- b) アミロイド β (16-22)フラグメントに対するポリフェノールの結合

ポリフェノールにはA β ペプチドの凝集を阻害する効果があることが分かっており、アルツハイマー病に対する薬剤候補分子として注目されている。ポリフェノールにはいくつも種類があるが、最近の実験によるとA β の凝集する効果が高いポリフェノールとしてミリセチンやロスマリン酸が知られている。しかし、これらの化合物がA β の凝集を阻害する機構は良く分かっていない。そこで我々はA β ペプチドのフラグメントであるA β (16-22)ペプチドとこれらのポリフェノールを含む系のレプリカ置換分子動力学シミュレーションを行った。その結果、A β (16-22)ペプチドとポリフェノールが結合した構造が見られた。ミリセチンを含む系では22番目のグルタミン酸(Glu22)のカルボキシル基(-COO)がミリセチンのヒドロキシ基(-OH)とよく水素結合を形成していた。ロスマリン酸を含む系では同じくGlu22のカルボキシル基がロスマリン酸のヒドロキシ基と、また、16番目のリジン(Lys16)のアミン基(-NH₃)がロスマリン酸のカルボキシル基と水素結合をよく形成していた。A β (16-22)ペプチドは凝集する際にGlu22のカルボキシル基とLys16のアミノ基との間の静電引力により反平 β シートを形成することが分かっている。したがって、

このようにGlu22やLys16の側鎖にミリセチンやロスマリン酸が結合するとAβ(16-22)ペプチド同士で引き合うことができず、凝集が抑制されるのである。

c) COVID-19ウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼに対する薬剤作用の機構

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)に対する治療薬として現在レムデシビルやファビピラビル（商品名アビガン）が注目されている。これらはCOVID-19ウイルスのRNA依存RNAポリメラーゼに対するRNA複製阻害剤として機能することが期待されている。RNAポリメラーゼは通常アデノシン三リン酸(ATP)などのヌクレオチドを取り込んでRNAを複製する。レムデシビル、ファビピラビルは体内で三リン酸化されATPなどと競合してRNAポリメラーゼに取り込まれてRNAの複製を阻害すると考えられている。しかし、レムデシビル、ファビピラビルがRNAポリメラーゼに結合する過程はまだ明らかになっていない。そこで我々はRNAポリメラーゼの周りにレムデシビル三リン酸、ファビピラビル三リン酸、アデノシン三リン酸のいずれかのリガンド100個を配置した分子動力学シミュレーションを実行した。その結果、どのリガンドも三リン酸のマイナス電荷がRNAポリメラーゼの結合サイトにあるMg²⁺イオンに引き付けられて結合することが分かった。このようにリガンドが結合サイトに引き付けられる原因は静電相互作用による引力であることが分かった。またこれらのリガンドがRNAポリメラーゼの結合サイトにたどり着くまでの経路も特定した。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

奥村久士（准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0102273>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3912-5604>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=vXxddvAAAAAJ&hl=ja&oi=ao>

伊藤暁（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/sgitoh>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2638-663X>

1-3 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：

a) 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（超分子MS）はタンパク質複合体のような非共有性結合により形成された生体高分子複合体をその構造を維持したまま丸ごと分析可能とし、その質量を高い精度で決定できる分析手法である。また、その質量に基づいて複合体の化学量論を決定できることから、複合体の構造に化学量論からアプローチ可能である生体高分子の強力な分析手法として認識されつつある。生命創成探究センターには、超分子MSが可能な装置としてWaters社製のSYNAPT G2-Si HDMSが導入されており、共同利用研究での運用を本グループが担っている。本年度の超分子MSにおける成果として、二件の共同利用研究を紹介する。

まず、名古屋大学との共同利用研究「非環状骨格を持つ人工核酸の立体構造解明」では人工核酸と天然核酸の複合体を対象に超分子MSを行った。本研究では、セリンやトレオニン骨格をもつ人工核酸が、天然核酸であるRNAと三重鎖構造を形成しうることを示し、その要因が天然核酸の二重らせん構造で見られるワトソン・クリック塩基対とは異なる水素結合パターンにあることを明らかにした。超分子MSの測定においては、一般的な測定用緩衝液である酢酸アンモニウムではなく、酢酸トリエチルアミンの導入を行い、人工核酸／天然核酸、人工核酸／人工核酸の複合体の安定的な検出に成功した。このことにより、今後の研究の推進に繋がる人工核酸の測定系の構築に成功している。(Kamiya et al., *Commun. Chem.*, 3(156), 2020)

また、名古屋市立大学との共同利用研究「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」では、シアノバクテリアのKaiタンパク質複合体について、概日リズム発振機構の核心と言えるKaiタンパク質複合体のマクロ・ミクロ相関の解明を目指している。超分子MSにおいては、「ヘテロ系」Kaiタンパク質複合体形成と、その中のヌクレオチドの状態、リン酸化状態の相関に化学量論からアプローチを行っている。ヘテロ系の難しい点として、形成される複合体の分子種の多さからその化学量論がきわめて複雑になる傾向があり、測定データの解析、解釈が困難になることが挙げられる。しかし、本年度はスペクトルの解析手法としてByos（Protein Metrics社）によるデコンボリューションを導入し、研究が大きく前進した。このことにより、超分子MSによるヘテロ系タンパク質複合体へのアプローチ方法の確立に道筋が付きつつある。

来年度以降については、まさに超分子複合体といえるウイルスのような巨大な測定対象、また、装置のUPLCを本格的に運用することで共同利用研究における超分子MSの対象を大きく広げる計画である。最後に、今年度は装置の運用開始から初めてとなる大規模なメンテナンスを実施したことを併せて報告する。

4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など

以下のリンクを参照。

内山進（客員教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0090387>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5181-179X>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=RsoCa54AAAAJ&hl=en>

1-4 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) 人工生命分子の設計・創成に向けての構造基盤の構築

3) 研究活動の概略と主な成果：

生体内で働くタンパク質の多くは、進化の過程で獲得された複数のドメインから構成されており、これらのドメインが互いに協調して相乗効果を発揮することで、アロステリック制御に代表される高次機能を発現している。構造プロテオミクスとバイオインフォマティクスの進展により、タンパク質を構成する個々のドメインを球状構造単位として系統的に分類し、三次構造を予測することが可能になった。しかし、マルチドメインタンパク質の全体構造を決定・予測することは、その動的な特性のために依然として困難である。こうしたタンパク質では、球状ドメインが柔軟なリンカーを介して連結されているため、ドメインの空間配置が溶液条件の変化や分子間相互作用に応じて変動し得る。したがって、マルチドメインタンパク質の機能を解明するためには、ダイナミックなドメイン間の相互作用を計測するための手法の開発が必要となる。本年度は、プロテアソームによる分解の目印として機能するLys48連結型ユビキチン(Ub)鎖について、NMRを用いてコンフォメーション動態を定量評価する方法を確立した。これにより、Ub鎖の中で最も遠位のUbユニットが、Ub認識タンパク質との相互作用面を最も露出しており、その遠位端への変異導入が他のUbユニットの相互作用面の溶媒露出に遠隔的に影響を与えることを明らかにした。このことは、Ub鎖がアロステリックに制御可能なマルチドメインタンパク質を創成するためのユニークなデザインフレームワークとなり得ることを示している。一方、カイコの蛹を用いた抗体の安定同位体標識技術を開発するとともに、動物細胞発現系を用いて安定同位体標識を施した抗体のFc領域に結合した糖鎖のNMR信号を帰属し、糖鎖修飾を受けたマルチドメインタンパク質の分子内相互作用ネットワーク探索の基盤を構築した。また、重水素標識を利用した中性子小角散乱法を高度化し、溶液中における抗体の分子複合体の構造解析に応用した。さらに、共同研究を通じて、糖骨格を持たない人工核酸の結晶構造を決定し、非天然型二重らせんの安定化機構を明らかにするなど、人工生命分子の設計・創成に向けての構造基盤をもたらし研究成果を得た。

4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

加藤晃一（教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0150486>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7187-9612>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?hl=ja&user=ihNXEykAAAAJ>

矢木真穂（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/mahoyagi>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8144-740X>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?hl=ja&user=HO05AZcAAAAJ>

谷中冴子（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/yanaka>

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3513-5701>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?hl=ja&user=R2rx6NAAAAAJ>

1-5 バイオフィotonics研究グループ

根本 知己（教授）

榎木 亮介（准教授）

大友 康平（助教）

堤 元佐（特任助教）

石井 宏和（特任助教）

1) 専門領域： バイオイメーjing、神経科学、細胞生理学

2) 研究課題：

- a) 生体組織表面形状と屈折率差の補正による二光子顕微鏡の深部可視化能向上
- b) 高分子超薄膜の蛍光バイオイメーjing応用
- c) 二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用
- d) 概日リズム中枢を司る神経回路の光イメーjing
- e) 哺乳類冬眠の時間制御機構の解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 生体組織表面形状と屈折率差の補正による二光子顕微鏡の深部可視化能向上

光学素子や試料に由来する光学収差は理想的な結像からのズレを引き起こし、しばしば光学顕微鏡観察の妨げとなる。我々はこれまでに、独自の透過型液晶技術を基盤とした補償光学法を開発し、二光子顕微鏡観察時の球面収差、非点収差、コマ収差の補正を実現してきた。近年、更なる応用として、試料の表面形状と屈折率差に由来する収差を補正する新たな方法論を考案した。まず、予め測定した試料表面形状に対し、光線追跡法を適用し、集光スポットの乱れを予測する。この情報を基に、励起光光路に外挿した空間光変調器により、波面の位相分布にフィードバックをかけることで、集光スポットを改善する。複雑な表面形状を有する生体試料の深部観察に本法を適用した結果、有意な解像度改善効果が認められた (ACS Omega, 2021)。また一方で、光線追跡計算や波面制御を行わない簡便な方法についての検討も行っており、観察試料と対物レンズ浸液の屈折率差を解消するのみで試料の深部可視化能が向上することも見出した (Plos ONE, 2020)。またマウス生体脳の透明化に関する原著論文を出版した(iScience, 2020a)。また、深層学習を用いた新規の三次元細胞自動追跡法について共同研究を行い、三次元ガン細胞集団において約1000個の細胞の自動検出・追跡に成功した(eLife, 2021)。

- b) 高分子超薄膜の蛍光バイオイメーjing応用

“どこにでも貼れる”というユニークな性質を有する高分子超薄膜について、顕微鏡観察試料の作成・調製法への応用を試みている。固定組織等のin vitro試料の微細形態の観察には、しばしば高開口数の油浸対物レンズが用いられるが、これらのレンズは~0.2 mm厚のカバーガラス越しに良好な集光スポットを形成するように設計されている。今回、ガラスと同じ屈折率値に調整した透明化組織切片を約100 nm厚の高分子超薄膜ラッピングすることで、対物レンズの作動距離をカバーガラスの厚さの分だけ伸張さ

せることに成功した。これにより、本来は0.1 mm程度の油浸対物レンズの作動距離をおよそ3倍に伸張し、試料表層から0.3 mm深部における微細形態の観察を可能とした (PLoS ONE, 2020)。この技術を展開させ、PEOによる浸水表面化処理を行った高分子超薄膜を用いマウス脳のin vivoイメージング用の超広域の観察窓作成法を確立した (iScience, 2020b)。

c) 二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用

我々はこれまでにスピニングディスク共焦点スキャナを用いた高速二光子顕微鏡システムの開発に取り組んできた。二光子蛍光を観察する際、その励起領域は対物レンズの集光スポットに局限されるため、検出器に共焦点ピンホールを前置せずとも光学断層像を取得することが可能である。一方で本システムは、ニポウディスクに配したピンホールを通過した蛍光のみを二次元検出器に結像する。共焦点効果は二光子顕微鏡像にも有効であり、構築システムは通常の二光子顕微鏡より3割程度高い光軸方向分解能を実現する。本特徴は三次元イメージングにおいて有用性を発揮することから、本年度も共同研究・共同利用を通じ、線虫、ゼブラフィッシュ、シロイヌナズナ、マウス等の様々な生体試料中の微細形態の三次元動態観察に供された。また、本年度は複数励起光の高速切換照射、分光検出光学系、取得データへの線形スペクトル分離法の適用による高速多チャンネル観察を実現した。本法を哺乳類および植物培養細胞に適用し、細胞分裂の多色三次元タイムラプス観察を行った。その結果、正常な細胞分裂を止めることなく、個々の細胞内小器官の三次元的な挙動を可視化することに成功した。

また、植物は葉緑体を時に積極的に分解し栄養成分の体内再利用を促進することで、過酷な自然界を生き抜いている。真核生物の細胞内分解系「オートファジー」による葉緑体分解経路を世界に先駆けて明らかにした。葉緑体の一部をちぎり取り消化する部分分解と、丸ごと取り壊す全分解の2種からなる特徴的な経路であった。両オートファジー経路の詳細な仕組みを解き明かすため、その細胞内動態を直接的なイメージングを実施した(Plant Cell Physiol., 2020)。

d) 概日リズム中枢を司る神経回路の光イメージング

哺乳類の概日時計の中枢は視床下部領域にある視交叉上核に局在し、脳その他領域や全身の末梢臓器へリズム情報を伝え、睡眠覚醒サイクルやホルモン分泌、体温、行動リズムといった約24時間の生理機能を調節する。視交叉上核は約2万個の神経細胞とそれを取り巻くグリア細胞から構成され、ネットワーク全体としては正確でロバストな概日リズムを示す。我々はこれまでに長期間光イメージング計測法を確立し、視交叉上核の神経細胞における細胞内カルシウムや膜電位の概日リズムを報告してきた。現在は細胞内小器官のカルシウム動態や、細胞内塩素イオン等を長期可視化する研究プロジェクトが遂行中である。本年度は共同研究を通じて、視交叉上核のバソプレッシン産生細胞のGABA放出が視交叉上核からの出力と動物行動を制御することを報告した(Maejima et al., PNAS, 2021)。また低温条件でも継続する概日カルシウムリズムを発見し、細胞内カルシウムが進化的に保存された概日時計の温度補償機構に関与することを見いだした(Kon et al., Science Advances, 2021)。

e) 哺乳類冬眠の時間制御機構の解明

学術変革領域(B)「冬眠生物学」が採択されたことを受け、哺乳類動物の冬眠実験室と低温観察用タイムラプス顕微鏡を新たに設置した。今後は低温下における概日時計の分子機構を探索する計画である。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

根本知己（教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0096725>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6102-1495>

Google Scholar: https://scholar.google.com/citations?user=dN_rho4AAAAJ&hl=ja

榎木亮介（准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/enoki>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0546-0167>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=9oHiACUAAAAJ&hl=ja&oi=ao>

大友康平（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/kotomo1109/?lang=japanese>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5322-6295>

Google Scholar: https://scholar.google.com/citations?view_op=list_works&hl=ja&user=6AKfcToAAAAJ

堤元佐（特任助教）

Research Map: https://researchmap.jp/Motosuke_T

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5832-3828>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=qfiX6mAAAAAJ&hl=ja&oi=ao>

石井宏和（特任助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/hki>

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8391-194X>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=VINm7t0AAAAJ&hl=en>

1-6 心循環ダイナミズム創発研究グループ

西田 基宏（教授）

西村 明幸（特任准教授）

田中 智弘（新分野創成センター、特任助教）

1) 専門領域： 生理学、薬理学

2) 研究課題：

- a) 心臓の陽性変力作用におけるTRPC6チャネルの役割解明
- b) 心臓の圧ストレス応答におけるP2Y6受容体の役割解明
- c) 低温プラズマによる心筋保護機構の解明
- d) Covid-19重症化におけるTRPC3-Nox2複合体の役割解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 心臓の陽性変力作用におけるTRPC6チャネルの役割解明

交感神経終末から放出されるノルアドレナリンによって誘発される心臓の興奮（収縮力の増強と心拍数の増加）は心筋細胞膜表面に発現する β アドレナリン受容体を介して誘発されると考えられている。しかしながら、ノルアドレナリンは β アドレナリン受容体に対する親和性が α アドレナリン受容体と比べて100倍程度低い。我々は、心筋細胞の α アドレナリン受容体の下流で活性化される受容体作動性TRPC6チャネルが Zn^{2+} 流入を介して、 β アドレナリン受容体機能を増強することでノルアドレナリン刺激による心筋収縮力（陽性変力作用）を高めることを見出した。

- b) 心臓の圧ストレス応答におけるP2Y6受容体の役割解明

我々はこれまでにプリン作動性GPCRの1つであるP2Y6受容体(P2Y6R)が心臓線維化や加齢性高血圧に関与することを明らかにしてきた。今回、P2Y6R欠損マウスと心筋特異的P2Y6R過剰発現マウスを用いて圧負荷誘導性心不全に対するP2Y6Rの役割について解析を行った。その結果、P2Y6R欠損マウスもP2Y6R過剰発現マウスも圧負荷誘導性心不全を悪化させることを見出した。この原因として、心筋細胞のP2Y6Rは線維化誘導に関与するのに対して、非心筋細胞のP2Y6Rは心臓の圧負荷刺激に対して保護的に作用することが示唆された(Sci. Rep., 2020)。

- c) 低温プラズマによる心筋保護機構の解明

近年、活性硫黄分子種(RSS)のもつ心筋保護作用が注目されている。しかしながら、RSSの反応性は高く不安定なため、従来は H_2S ドナーの投与など、間接的な導入法に頼らざるをえなかった。我々は、生体内に豊富に存在する含硫アミノ酸であるシステイン溶液に低温プラズマを照射することによって、液相中にRSSが安定的に創出されることを見出した。さらにシステインのプラズマ照射液は心筋細胞のエネルギー代謝機構に影響を及ぼし、低酸素ストレスへの抵抗性を高めることなどから、心筋保護効果が示唆された。

d) Covid-19重症化におけるTRPC3-Nox2複合体の役割解明

抗がん剤やタバコ、高血糖、心血管病はCovid-19重症化のリスク要因であることが報告されている。これらのリスク要因を心筋細胞に曝露させたところ、SARS-CoV-2ウイルスの受容体であるACE2の発現が上昇すること、また、その作用機序に我々が過去に見出したTRPC3-Nox2複合体が関与することを明らかにした。さらに、昨年既承認薬からスクリーニングで同定したTRPC3-Nox2複合体形成阻害剤の中から、SARS-CoV-2ウイルス感染に伴うACE2内在化も抑制できる既承認薬を同定することに成功した。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

西田基宏（教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0057226>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2587-5458>

西村明幸（特任准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/nishi47>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2309-3994>

田中智弘（新分野創成センター、特任助教）

Research Map: https://researchmap.jp/tomo_tanaka

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7442-4912>

1-7 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。2020年度は、ヒト精神・神経疾患関連遺伝子（マカクザル503遺伝子、マーモセット1281遺伝子）を解析対象とし、マカクザル個体、マーモセット198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10遺伝子、マーモセットでは18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稀な（集団アリル頻度5%以下）LoF変異を持つ可能性のある個体を同定した。

また、自閉スペクトラム症の霊長類モデルを用いた単一細胞発現解析・クロマチン動態解析を行った。抗てんかん薬でありクロマチン脱アセチル化阻害剤であるバルプロ酸母体投与マーモセットの発達期の脳から単一細胞核を調整し、数千から1万細胞核を対象とした遺伝子発現解析を行い、30種類を超える細胞タイプを同定し、バルプロ酸投与による薬理学的摂動を加えた際の分子動態を定量化した。さらに、先行研究より明らかになっているヒト自閉症スペクトラム患者脳の単一細胞発現データと比較解析を行ったところ、多くの細胞タイプにおいて、遺伝子発現動態変化が類似していることを明らかにした。

また、認知ゲノミクス共同研究の一環としてマカクザルにおける高磁場MRIを用いた霊長類コネクトーム研究に関する論文(*NeuroImage*, 2020)、深層学習を用いた世界初のマカクザルのマーカーレスモーションキャプチャシステム構築に関する論文(*Front Behav Neurosci*, 2021)を発表した。

b) 「ヒトとは何か？」を明らかにする進化人類遺伝学的研究

「ヒトとは何か？」を明らかにするためにヒト以外の霊長類におけるゲノム・トランスクリプトーム解析を行った。ヒト以外で未だゲノム配列未決定の霊長類種の新規ゲノム解読によるゲノム情報の整備を行った。具体的には、チンパンジーの亜種であるヒガシチンパンジー、テナガザル3種、ニホンザル、スローロリスの新規ゲノム解読、遺伝子情報の整備を行うとともに、それら大規模情報を公共データベースに登録・公開した。特にニホンザルに関しては、異なる3種のライブラリから得られる情報を用いた染色体レベルの新規ゲノム解読を行った。

トランスクリプトーム解析としては、ヒトと非ヒト霊長類の死後脳を用いた複数脳領域における比較遺伝子発現解析を行った。具体的には、一分子長鎖シーケンサーを用いたアイソフォームレベルの完全長転写産物の種間（ヒト、チンパンジー、ゴリラ）比較を行い、論文投稿準備中である。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、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。

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。

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、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

郷康広（特任准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/yago>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4581-0325>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=7-Y0E0cAAAAJ&hl=ja>

1-8 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）

篠塚 琢磨（特任助教）

1) 専門領域： 発生生物学、分子生物学

2) 研究課題：

a) 細胞間シグナルによる組織形成の時空間的制御機構の研究

b) 体節形成をモデルにした時間周期性を空間周期性に変換する機構の研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 細胞間シグナルによる組織形成の時空間的制御機構の研究

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、細胞外空間におけるWntタンパク質のダイナミクスを理解するため、アフリカツメガエルやゼブラフィッシュ胚を用いて蛍光相関分光法による解析を進めるとともに、機能が異なる複数種のWntに着目してそれらの高次構造を分析超遠心により比較した。また、組織内におけるWntの空間分布の制御と意義を理解するため、マウスの神経管において局所的に集積するWntが細胞の形態変化を引き起こすことに注目し、その仕組みについて細胞骨格因子との関連から解析を進めるとともに、アフリカツメガエル胚組織の平面内極性がWntにより確立する過程で、極性形成に及ぼすWntの機能の詳細と、Wntの空間分布の制御機構についての解析を進めた。また、産生細胞から分泌されるWntの機能のうち、オートクリン機能のみを有するマウスを作成することに成功し、その表現型の解析を進めた。これらの研究と並行して、Wntの分泌並びに細胞内取り込みに関与する因子の探索を進めた。

b) 体節形成をモデルにした時間周期性を空間周期性に変換する機構の研究

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し構造であり、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がPSM前方部において体節の分節構造という空間情報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。我々はこの変換過程において中心的な役割を果たすRipplyというタンパク質を同定し、Ripplyを中心とする遺伝子ネットワークにより如何にして分節構造が形成されるかを解明しようとしている。

今年度は、ゲノム編集技術による遺伝子ノックインにより作出したRipplyタンパク質を可視化できるゼブラフィッシュを用いて、分節時計の時間情報とPSM内の位置情報によりRipplyタンパク質の時空間的な発現パターンが変動するプロセスを詳細に解析するとともに、分節時計のイメージングによりRipplyが分節時計を停止させる機構についての解析を進めた。

一方、体節形成に異常を呈するゼブラフィッシュの突然変異体をスクリーニングする過程で得られたある変異体において、細胞が組織から遊離しやすいという興味深い異常を呈することを発見したことから、発生期における組織の維持機構にも興味を持ち、タイムラプスイメージング等を駆使して変異体の解析を研究を進めた。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

高田慎治（教授）

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4125-6056>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=5xOluZ4AAAAJ&hl=ja&oi=ao>

矢部泰二郎（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/taijiro>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0843-7472>

三井優輔（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/miiy>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1907-5665>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=JxrF13IAAAAJ&hl=ja&oi=ao>

篠塚琢磨（特任助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/takumashinozuka>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1896-5180>

1-9 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 ～2020. 8. 31）

大橋 りえ（助教 2021. 1. 1～）

1) 専門領域：細胞生物学、神経科学

2) 研究課題：

- a) ILF3天然変性領域のスプライシングによる恐怖記憶におけるストレス耐性の出現
- b) 神経変性疾患原因タンパク質によるRNA顆粒構成因子のダイナミクス制御
- c) RNA顆粒構成タンパク質の天然変性領域によるRNA顆粒のダイナミクス制御

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) ILF3天然変性領域のスプライシングによる恐怖記憶におけるストレス耐性の出現

液-液相分離(LLPS)は、タンパク質の三次元構造をとらない天然変性領域(IDR)の弱い多価相互作用によって駆動される。神経細胞のRNA顆粒は、IDRを持つタンパク質のLLPSによって形成され、樹状突起へのmRNA輸送とシナプス入力依存的な局所翻訳を制御し、それによってシナプス増強と長期記憶形成を担う。*Ilf3*遺伝子産物のNFAR2はIDRを持ち、RNA顆粒に局在化する。一方、IDRを欠くスプライシングバリエーションNFAR1は局在化しない。NFAR1とNFAR2は、IDRの有無に関わらずストレス依存性の翻訳抑制機能を共有する。しかしIDRのスプライシングにより、RNA顆粒局在を介して分子間相互作用ネットワークや制御ネットワークを組みかえることで、新たな表現型の出現をもたらすと考えられる。

そこで我々は、IDRを欠損した*Ilf3*^{ΔIDR/ΔIDR}マウスの学習・記憶テストを行った。その結果、空間学習は影響を受けないものの、恐怖条件付け学習が低下し、その低下は身体的ストレスによってさらに低下することを明らかにした。ただし、*Ilf3*^{ΔIDR/ΔIDR}マウスでは、IDR欠損に加えて*Ilf3*遺伝子産物の総量の低下も認められ、その影響を調べる必要が生じた。そこで次に*Ilf3*ヘテロマウス (*Ilf3*^{+/-}マウス)を作成した。このマウスでは*Ilf3*遺伝子産物の総量が*Ilf3*^{ΔIDR/ΔIDR}マウスと同等に低下した。学習・記憶テストの結果、*Ilf3*^{+/-}マウスも恐怖条件付け学習が低下したが、身体的ストレスによるさらなる低下は認められなかった。以上の結果から、NFAR1、NFAR2はIDRの有無によらず恐怖条件付け学習に必要であるが、IDRの付加によって、学習時のストレス耐性が付与されることが示唆された。

- b) 神経変性疾患原因タンパク質によるRNA顆粒構成因子のダイナミクス制御

筋萎縮性側索硬化症(ALS)及び前頭側頭葉変性性認知症(FTLD)の神経変性疾患の原因遺伝子産物としてTDP-43とFUSが知られている。TDP-43及びFUSは通常は核内に存在するが、疾患においては細胞質に移行し、RNA顆粒に集積・凝集化する。この際、RNA顆粒の様々な構成因子の局在やダイナミクスに影響を与えることが、神経変性疾患におけるシナプス形成・増強の障害の原因になると考えられるが、その影響は不明な点が多い。

そこで、マウス大脳皮質由来神経培養細胞に疾患型TDP-43及びFUSを過剰発現し、RNA顆粒の主な構成因子RNG105、FMRP、staufen1、staufen2、pumilio2の局在解析及び光褪色後蛍光回復法(FRAP)によるダ

イナミクス解析を行った。その結果、TDP-43及びFUSの過剰発現の有無によって、staufen1、staufen2、pumilio2には変化が見られなかった。一方、TDP-43及びFUSの過剰発現によって、RNG105及びFMRPのRNA顆粒における流動性（顆粒への出入り）が上昇した。特にRNG105は、流動性の上昇と共に顆粒への局在化も低下した。さらにそれに伴い、RNA顆粒に含まれる総mRNA量も低下した。RNG105はRNA顆粒へのmRNAの取り込み及び樹状突起へのmRNA輸送を担うと考えられている。従って、TDP-43及びFUSによるRNA顆粒におけるRNG105の流動性の上昇及び局在の低下が、mRNA輸送ひいては局所的翻訳の低下を介して神経機能・認知機能の障害につながる可能性が考えられた。

c) RNA顆粒構成タンパク質の天然変性領域によるRNA顆粒のダイナミクス制御

様々なタンパク質がLLPSを起こすが、それにはそのタンパク質が持つIDRが必要であることが知られている。しかし、LLPSによって形成されるコンデンセートのダイナミクス・物性は様々なタンパク質で多様であるものの、その多様性を生み出すメカニズムはほとんど知られていない。我々は、IDRのアミノ酸配列・組成・パターンの特徴の中にコンデンセートのダイナミクス・物性を制御する仕組みが存在すると考え、RNA顆粒の構成因子であるRNG105及びeIF3aを対象としてその検証に着手した。

RNG105のIDRは、アミノ酸組成の特徴から、E-rich領域、Q-rich領域、及びRG-rich領域に大別できる。その中でRG-rich領域はRNA顆粒形成に必須の領域であるが、E-rich及びQ-rich領域はRNA顆粒形成には必要なく、どのような影響を持つかは未知であった。そこで我々はE-rich及びQ-rich領域をそれぞれ欠損したRNG105を神経初代培養細胞に発現させ、FRAPによるダイナミクス解析を行った。その結果、E-rich領域は顆粒の流動性を高める役割を担い、Q-rich領域は流動性が顆粒ごとにばらつかないように品質を一定に保つ役割を担うことが示された。RNG105は極めて流動性の高いRNA顆粒を形成することが知られているが、それにはE-rich領域が重要であることがこの結果から示唆された。

翻訳開始因子eIF3aは真核生物に広く保存されているが、脊椎動物ではC末端のIDRが余分に伸長している(vertebrate IDR, vIDR)。vIDRはDDDRxxRRxxの10アミノ酸の繰り返しで主に構成されており、マウスでは21回の繰り返しになっている。vIDRを欠損したeIF3aのFRAP解析の結果、vIDRは顆粒の流動性を低下させる（固くする）役割を担うことが示された。RNG105とeIF3aの結果を考え合わせると、荷電アミノ酸の組成や配置パターンによって、RNA顆粒のダイナミクス・物性を柔らかくも固くも調節できる可能性が示唆された。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

椎名伸之（准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/nobuyukishiina>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1854-4239>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?hl=ja&user=njPkeyMAAAAJ>

大橋りえ（助教）

Research Map: https://researchmap.jp/_ro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4179-2599>

1-10 金属生命科学研究グループ

青野 重利（教授）

村木 則文（助教）

武田 康太（特任助教）

1) 専門領域： 生物無機化学、生態機能関連化学

2) 研究課題：

a) ヒドロゲナーゼ生合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：

水素ガスの酸化反応・プロトンの還元反応を触媒する酵素であるヒドロゲナーゼは、バクテリアなどによる水素代謝において中心的な役割を果たしている他、最近では燃料電池用触媒としての利用も期待されている金属酵素である。活性中心の構造の違いにより、[NiFe]型、[FeFe]型、[Fe]型の3種のヒドロゲナーゼが存在するが、いずれの場合も活性中心のFeには、COが配位している。このCOは、酵素反応により生合成されることが分かっているが、CO生成反応の分子機構は不明な状況であった。本研究では、[NiFe]型ヒドロゲナーゼが利用しているCOの生合成に関わる酵素(HypX)の結晶構造を決定し、HypXがこれまでに全く例の無い反応によりCOを合成していることを明らかにした。本年度は、HypXにより合成されたCOを利用し、ヒドロゲナーゼの活性中心の構成要素であるFe(CN)₂CO錯体の生合成に関与するアクセサリタンパク質HypC、HypDの結晶構造解明を行った。

HypCは分子量8,000程度の小さなタンパク質であり、HypDと安定な複合体を形成して鉄錯体構築の足場タンパク質として機能する。その際、HypCは高度に保存されたN末端Cys2を配位子として鉄錯体を保持して、ヒドロゲナーゼ本体へ輸送する役割を担うと考えられている。本研究では、2.2 M塩化カルシウム、0.1 M酢酸緩衝液 pH5.0を結晶化溶液とする条件で、蒸気拡散法により*Aquifex aeolicus*由来HypC(AaHypC)の結晶化に成功した。AaHypCは5本のβシートから構成されたβバレルと長いC末端αヘリックスから構成されていた。結晶中で、N末端のCys2は隣接する分子のCys2とジスルフィド結合を介した二量体を形成していた。*Thermococcus kodakarensis*由来のHypC(TkHypC)とAaHypCの構造を比較すると、両者は構造相同性を有しており、Cα間のRMSDは0.99 Åであった。しかしながら、分子中でのCys2の相対的な位置は互いに異なっていることから、HypCのN末端領域がフレキシブルであることが示唆された。HypCはHypD、HypE、HypXなどの複数のアクセサリタンパク質や生合成途中のヒドロゲナーゼと過渡的に複合体を形成する。N末端領域が柔軟な構造をとることによって、パートナーとなる複数のタンパク質との間で複合体形成が可能となっている可能性が示唆される。AaHypCとTkHypCの分子表面を比較すると、AaHypCのβバレルのN末端側は塩基性アミノ酸や主鎖のアミノ基が分子表面に集まり、正電荷に富んでいた。この領域はHypDと共に鉄錯体結合ポケットを形成することが示唆されており、ヒドロゲナーゼ生合成に関与する他のアクセサリタンパク質との相互作用に関与していると推定される。

HypDは[4Fe-4S]型鉄硫黄クラスターを有するタンパク質で、HypCと共にFe(CN)₂CO錯体構築の足場となる。分子内に複数のシステインをもち、それらがFe(CN)₂CO鉄錯体の配位子として機能すると考えられているが、その詳細については不明な点が多く残されている。本研究では、HypDの結晶構造を決定し、

Fe(CN)₂CO錯体構築の詳細な分子機構の解明を目指した。最初に、大腸菌発現系を用いてHis-tag融合タンパク質として*Aquifex aeolicus*由来HypD (AaHypD)を調製した。結晶化スクリーニングの結果、得られた結晶は非常に小さく、その結晶を用いたX線回折データ収集は困難だった。そこで、精製用タグを含まず、天然と同じ配列のHypDを発現、精製して結晶化スクリーニングを展開した。その結果、16% PEG3350、0.1 Mクエン酸緩衝液 pH5.6、1 mM DTTを結晶化溶液とする条件で、蒸気拡散法によりAaHypDの結晶化に成功した。AaHypDの結晶は空間群P212121に属し、格子定数は $a=60.7$ 、 $b=61.9$ 、 $c=96.8$ だった。すでに結晶構造が報告されている古細菌*Thermococcus kodakaraensis*由来のHypD (TkHypD) をサーチモデルとする分子置換法により、AaHypDの結晶構造を1.9 Å分解能で決定した。AaHypDは2つの $\alpha\beta$ ドメインとC末端の鉄硫黄クラスタードメインから構成されていた。AaHypDはTkHypDと構造相同性が高く、C α 間のRMSDは1.28 Åだった。TkHypDと比較するとAaHypDには、 $\alpha 8$ - $\beta 7$ 間のループに6~7残基程度の挿入領域(R194~E200)があった。この挿入領域はAaHypDだけでなく、HypXを有する好気性細菌由来のHypDに共通して保存されていることから、HypD-HypX間の相互作用に関わっている可能性が考えられる。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

青野重利（教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0096775>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2870-3694>

村木則文（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/murakinononononono>

武田康太（特任助教）

Research Map: https://researchmap.jp/kotakeda_ET

1-11 神経ネットワーク創発研究グループ

東島 眞一（教授）

木村有希子（助教）

谷本 昌志（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
- b) ゼブラフィッシュを用いた、平衡感覚受容、および姿勢制御機構の解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

- 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

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。CRISPR-Cas9による高効率ノックイン法を独自に開発し、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。2020年度は特に、遊泳運動における体幹の長軸方向の協調機構の解明を中心に研究を進めた。以下、この研究について記載する。

ゼブラフィッシュ幼魚が、頻繁に行うゆっくりとした遊泳運動（以下、ルーティーン遊泳運動と呼ぶ）においては、体幹がS字状に屈曲する。すなわち、屈曲している部分が体の左右双方に存在している。そして、この2つの屈曲部が後方に伝播していく。ルーティーン遊泳運動においては、頭部はヨー方向にはほとんど揺れ動かない。これは、体幹部に左右両方に活動を作ること、重心回りのヨー方向の力のモーメントを最小にしているからであると考えられる。このように、体幹で長軸方向に遠く離れた部分で左右の動きを協調させるためには、長軸方向に長い軸索をもつ交叉性のニューロンが関与していることが推察される。実際に上記の性質をもつMCoDとよばれる介在ニューロンが存在しており、ルーティーン遊泳運動中に活動することが知られている。このMCoDニューロンの機能を明らかにするために、MCoDニューロンが可視化されたトランスジェニック系統を用いてそれらをレーザー破壊し、得られた幼魚のルーティーン遊泳運動を高速度カメラで解析した。その結果、MCoD破壊幼魚では、ルーティーン遊泳運動のS字状屈曲パターンが乱れ、また、頭部が左右方向に顕著に揺れ動く表現型を示した。筋肉の活動パターンをより詳細に調べるために、遅筋の膜電位イメージングを行った。その結果、長軸方向の左右協調性が顕著に失われていることが明らかとなった。これらの結果、ルーティーン遊泳運動中にMCoDニューロンは、体の長軸方向に左右の筋肉の活動が緊密に制御し、遊泳中の頭部のぶれを最小限にする役割

を果たしていることが明らかとなった。

b) ゼブラフィッシュを用いた、平衡感覚受容、および姿勢制御機構の解明

姿勢を保つためには、内耳で受容される前庭（頭部の傾きや加速度）感覚入力適切な運動出力に変換することが極めて重要である。その神経回路は従来考えられていたよりも多様で複雑であることが報告されてきているが、個々の細胞を同定したうえで活動を生体内で記録することが難しく詳細な理解には及んでいない。本研究では、透明で生体イメージングに適したゼブラフィッシュ幼魚を対象として姿勢制御に関わる神経回路の構成と動作機構を調べた。特に、本年度は、平衡感覚受容の様式の解明に重点をおいて研究を進めた。

まず、頭部が傾いた際の神経細胞の活動を可視化するために、電動回転ステージ、共焦点スキャナ、sCMOSカメラやその他の光学パーツを組み合わせてカスタム顕微鏡を組み上げた。画像分割光学系を用いて緑色／赤色蛍光画像を同時取得し、蛍光強度比を算出することで傾斜刺激に伴って生じるアーティファクトを低減させた。この新規光学系を用いることにより、360度任意の傾斜刺激を与えながら任意の神経細胞の活動をCa²⁺イメージングで可視化することが可能となった。

頭部の傾きや振動を受容する内耳耳石器官の卵形嚢は、体平衡の保持に必要な不可欠であることがゼブラフィッシュ幼魚で報告されている。感覚受容細胞である有毛細胞は、その感覚毛の配向によってどの向きの刺激に応答するかが決まるが、生体内でその活動の様子を可視化した報告例はなく、個々の細胞の機能的差異について不明な点が残されている。そこで、卵形嚢の有毛細胞および前庭神経節ニューロンにカルシウム指示緑色蛍光タンパク質(jGCaMP7f)および赤色蛍光タンパク質(tdTomato)を発現する遺伝子組換え体を用いて、ロール（左右）方向、ピッチ（前後／吻尾）方向の傾斜および振動刺激に対する応答を調べ、毛の配向に応じた応答を初めて生体内で可視化することに成功した。さらに、有毛細胞や前庭神経節ニューロンの応答は一樣ではなく、細胞の場所に応じて異なる特徴の前庭情報をコードし伝達することが明らかになった。

4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

東島眞一（教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/shinichihigashijima>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6350-4992>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=xmJJaVwAAAAJ&hl=ja&oi=ao>

木村有希子（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0125106>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8381-8622>

谷本昌志（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/tanimoto>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7653-1081>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?hl=en&user=1EAB-RQAAAAJ>

1-12 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) $\alpha\beta$ 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) デザインタンパク質の安定化機構の解明
- d) 対称多量体タンパク質構造のデノボデザイン
- e) ATP結合タンパク質のデノボデザイン
- f) ヘム結合タンパク質のデノボデザイン
- g) 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
- h) 自然界に存在しないトポロジーのデザイン
- i) 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) $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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、加えてこ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18種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典型的な全てのループパターンを網羅した5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。これまでに、そのうちの3つに対して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。また、これら5つの異なる形状のデザインとは別に、計算機で長さ70残基、形状約800種類、配列約8000種類もの大量のデザイン配列を作り出すことに成功した。今後は、これら大量のデザイン配列を折りたたみ能や機能でスクリーニングする。

c) デザインタンパク質の安定化機構の解明

デザインしたタンパク質の多くは、100°Cでも変性しないという極めて興味深い特性を有する。この異常に高い安定性は、タンパク質の主鎖を局所的に制限することによって探索すべき構造空間を小さくしたことに起因するのか、あるいは、疎水性コアパッキングのような非局所相互作用によるものなのかを、疎水性コアのLeu, IleをValに変えてパッキングを損なうことにより調べた。その結果、全部で10残基のLeu, IleをValに変えても、タンパク質は同じトポロジーへと折りたたみ、かつ、まだ100°C以上の安定性を示したことから、タンパク質の主鎖を望みのトポロジーに折りたたみやすいように制限することがデザインタンパク質の極度な安定性を生み出していることが示唆された。

d) 対称多量体タンパク質構造のデノボデザイン

多くのタンパク質は多量体化して機能を発現する。本研究では、これまでにデザインした単量体のタンパク質構造をもとに、対称多量体タンパク質を設計するための手法を開発する。これまでに、設計した α ヘリカルタンパク質構造のひとつを用いて、6量体を形成するようなタンパク質の計算機設計を行い、デザインしたタンパク質の生化学実験を行ったところ、6量体形成を示唆する結果を得ている。

e) ATP結合タンパク質のデノボデザイン

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、b)でデザインした α ヘリカル構造を融合してアデニン環結合部位を作ることにより、高いATP結合親和性を示すタンパク質設計に取り組んでいる。

f) ヘム結合タンパク質のデノボデザイン

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。これまでにデノボデザインしたタンパク質構造を組み合わせることで、ドメイン間に大きなポケットを持つように計算機デザインで設計をおこなっている。

g) 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。

h) 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みつけ出していないだけなのか、これらの謎に迫る。網羅的なタンパク質立体構造データベース検索を行い、8つの新規トポロジーを同定した。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たところ、デザインしたタンパク質は安定な構造を形成していた。そこで、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。とりわけ、8つのうちの1つのトポロジーは、両端を引っ張ったときに結び目を形成するという極めて特異な構造であり、折りたたみが難しそうな自然界に現存しない新規トポロジーを持つタンパク質をも人工的に創り出すことに成功したという事実は、これら8つの新規トポロジーは偶然生物がみつけ出せなかった、あるいは、進化の過程で淘汰されたということを示唆している。

i) 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、PET製品のバイオリサイクルに重要なPET分解酵素、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。また、デザインタンパク質が極めて安定であることを利用して、デザインタンパク質そのものを融合する手法を使ってGPCRの耐熱化も行っている。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

古賀信康（准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/nykoga/?lang=english>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8457-0809>

Google Scholar: https://scholar.google.com/citations?user=1L_VYg8AAAAJ&hl=en

小杉貴洋（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/takahirokosugi>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6289-5319>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=wVbdz70AAAAJ&hl=en>

1-13 定量生物学研究グループ

青木 一洋（教授）

近藤 洋平（助教）

後藤 祐平（助教）

四宮 愛（特任助教）

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)。単色の蛍光バイオセンサーとして、赤色蛍光の輝度値が変化するタイプのドーパミンセンサーを開発した。これは、ドーパミン受容体DRD1の三番目の細胞内ループにmAppleの円順列変異体を導入することで、ドーパミンが結合した時の構造変化を蛍光輝度値の変化として変化するようなバイオセンサーである。現在、本論文はプレプリントサーバーにデポジットしている(Nakamoto C, bioRxiv, 2020)。

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）の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, 2019)。

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)。また、PCBの合成系をさらに最適化したベクターの開発とその応用にも成功している(Uda, ACS Chem Biol, 2020)。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。分裂酵母においてPhyB-PIF系を利用したG2/M期チェックポイントやM期チェックポイント（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、プレプリントサーバーに原稿をデポジットしている(Goto, bioRxiv, 2020)。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

青木一洋（教授）

Research Map: https://researchmap.jp/kazuhiro_aoki/

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7263-1555>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=q9S3S28AAAAJ&hl=en>

近藤洋平（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/7000009439>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2801-4522>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=Fb-4bVgAAAAJ&hl=en>

後藤祐平（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/yuheigoto>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5597-158X>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=dxp1Qt4AAAAJ&hl=en>

四宮愛（特任助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0146866>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3784-0532>

1-14 生命時空間制御研究グループ

野中 茂紀（准教授）

餘家 博（特任助教）

1) 専門領域： 発生生物学・バイオイメージング

2) 研究課題：

a) 発生における左右性の初期決定機構

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 発生における左右性の初期決定機構

椎動物の体は特に内臓配置に著しい左右非対称を有するが、その起源が興味を中心である。哺乳類の場合、発生の一時期、胚表面に現れる「ノード」と呼ばれる小さな凹みにおいて、回転運動する繊毛が胚体の左に向かう水流を作り、それが左右非対称な遺伝子発現のトリガーとなり、将来の形態形成の左右を決めることがわかっている。しかし左向きの水流と非対称な遺伝子発現の間をつなぐ機構はよくわかっていない。我々のグループは以前、この過程にノード内部での左右非対称な Ca^{2+} 上昇が関わることを見出し(Takao et al, Dev. Biol. 2013)、現在は水流がと Ca^{2+} 上昇の非対称を引き起こす機構として考えられうるいくつかの仮説を検証している。その中のひとつに、ノード繊毛の一部は非運動性であり、水流を検知するメカノセンサーとして働く、というものがある。この説が成り立つためにはノードの左側と右側の細胞は異なる刺激を受けねばならない。そこで、水流の流速分布が左右非対称でないか調べるため高速なライトシート顕微鏡を構築し、ノード水流の3次元的解析を行っている。あるいは繊毛自身に構造的な非対称が存在して水流の検知にも寄与している可能性が理論上は考えられ、超解像顕微鏡を用いてその検証を進めている。これに加えて、ライトシート顕微鏡での観察を中心としたイメージングの共同研究を所内外の研究者と進めている。

4) 学術論文，著書，招待講演，学会および社会的活動，獲得研究費，特許など
以下のリンクを参照。

野中茂紀（准教授）

Research Map: https://researchmap.jp/shigenori_nonaka

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8093-0325>

Google Scholar: https://scholar.google.co.jp/citations?user=_I9uIdAAAAAJ

餘家博（特任助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/h-yoke>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6036-4701>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=VWgu1RAAAAAAJ>

1-15 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）

齋藤 茂（助教）

DEROUICHE Sandra（特任助教 ～2021. 1. 31）

- 1) 専門領域： 分子細胞生理学
- 2) 研究課題：
 - a) 温度受容・侵害刺激受容の分子機構
- 3) 研究活動の概略と主な成果：

カプサイシン受容体TRPV1は初めて分子実体が明らかになった温度受容体であり、現在までにTRPイオンチャネルスーパーファミリーに属する11の温度受容体(TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM3, TRPM4, TRPM5, TRPM8, TRPA1, TRPC5)が知られている。TRPV1, TRPV2, TRPM3は熱刺激受容、TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, TRPM5は温刺激受容、TRPM8, TRPA1, TRPC5は冷刺激受容に関わる。これらは、「温度感受性TRPチャネル」と呼ばれている。43度以上、15度以下の温度は痛みを惹起すると考えられており、その温度域で活性化するTRPV1, TRPV2, TRPM3, TRPA1は侵害刺激受容体と捉えることもできる。TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, TRPM5は温かい温度で活性化して、感覚神経以外での発現が強く、皮膚を含む上皮細胞、味細胞、膵臓、中枢神経系等で体温近傍の温度を感知して、種々の生理機能に関わることが明らかになりつつある。つまり、感覚神経だけでなく、私たちの身体の中の様々な細胞が温度を感じており、普段ダイナミックな温度変化に曝露されることのない深部体温下にある細胞も細胞周囲の温度を感じながら生存していることが明らかになってきた。また、私たちは、感覚神経だけでなく皮膚の細胞の温度感受性TRPチャネルも環境温度を感知していることを明らかにしてきた。温度感受性TRPチャネルの異所性発現系を用いた機能解析（パッチクランプ法やカルシウムイメージング法）、変異体等を用いた構造機能解析、感覚神経細胞を用いた電気生理学的な機能解析、組織での発現解析、遺伝子欠損マウスを用いた行動解析などを通して温度受容・侵害刺激受容のメカニズムの全容解明とともに、細胞が温度を感知する意義の解明を目指している。また、生物は進化の過程で、温度感受性TRPチャネルの機能や発現を変化させて環境温度の変化に適応してきたと考えられ、温度感受性TRPチャネルの進化解析も進めている。

温度受容は全ての生物に備わった機能で、私たちはショウジョウバエを用いた感覚受容の研究も進めている。ハエの豊富な分子遺伝学ツールを活用した行動解析を中心に、膜タンパク質であるTRPチャネルとその周辺で働く脂質制御遺伝子の温度や光、機械刺激などの物理刺激受容における働きを明らかにしようとしている。さらに、TRPチャネルが侵害刺激受容体であることから、害虫のTRPチャネルに作用する新しい殺虫剤や忌避剤の開発、ならびにそれらの作用を修飾する脂質の同定にも取り組んでいる。

2020年度の主な研究成果：

1. マウス食道上皮細胞の損傷治癒におけるTRPV4の役割

マウス食道上皮細胞にTRPV4が強く発現し、機械刺激を感知して活性化して細胞外にATPを放出することを報告してきた。そこで、wound healingとTRPV4の関連を解析した。In vitro wound healing assayにおいて、マウスのTRPV4欠損食道上皮細胞は野生型食道上皮細胞に比べて移動と増殖が有意に促進しており、それは細胞周期の制御と関連性が認められた。TRPV4を強制発現させると移動と増殖は抑制された。また、マウス食道上皮細胞を機械刺激すると移動と増殖が抑制されたことから、TRPV4による機械刺激感知が移動と増殖の抑制を引き起こしていると考えられた。ATPのexocytosisを促進させるNPPBによって移動と増殖が抑制されたことから、TRPV4活性化の下流でのATP放出が移動と増殖につながっているものと推測された。ATPによる移動と増殖の抑制はATP濃度依存的に起こり、ATP加水分解酵素apyraseによって移動と増殖が促進されたことから、ATPの分解産物が関わっているものと思われた。移動と増殖はadenosineによって濃度依存的に抑制され、その抑制が選択的adenosine A_{2B}受容体阻害薬MRS1754で拮抗されたことから、ATPがadenosineに分解されてadenosine A_{2B}受容体を活性化して食道上皮細胞の移動と増殖を引き起こしていると結論した。TRPV4およびadenosine A_{2B}受容体は食道蠕動制御の新しい薬剤標的になると考えられた(Sci. Rep., 2020)。

2. 坐骨神経損傷からの回復過程におけるシュワン細胞TRPV4の意義

マウスSchwann細胞に温度感受性TRPV4チャネルの遺伝子、蛋白質が発現することを発見し、単離マウスSchwann細胞においてCa²⁺-imaging法、パッチクランプ法でその機能も確認した。ところが、野生型マウスとTRPV4欠損マウスのSchwann細胞の形態・機能に差はなく、電子顕微鏡解析による髄鞘形成も同様であったことから、Schwann細胞TRPV4は正常な髄鞘形成には関与しないと考えられた。一方、坐骨神経切断モデルでは、障害直後からTRPV4蛋白質の発現が著しく増大した。単離マウスSchwann細胞でTRPV4の発現が見られたのは、単離による障害のためと考えられた。正常マウスのSchwann細胞の免疫組織化学的解析で、TRPV4は髄鞘を形成しないSchwann細胞に特異的に発現することがわかり、in vivoパッチクランプでも神経損傷Schwann細胞でのみTRPV4による電流が感作された。坐骨神経損傷によってSchwann細胞のP0, MBP蛋白質の減少が遅れ、従って発現回復も遅れた。TRPV4欠損マウスで坐骨神経障害後の後肢の回復が遅れ、電子顕微鏡解析による髄鞘の回復も遅れた。Schwann細胞では、神経障害後の脱髄時にTRPV4の発現が増大し、それが再髄鞘化の促進に役立っているものと推定された。TRPV4の末梢局所での機能増強は神経障害の治療に役立つ可能性が考えられた(Commun. Biol. 2020)。

3. TRPVチャネルへのモノテルペン化合物の複雑な作用の構造基盤

mentholに代表されるモノテルペン化合物は小さく、低温電子顕微鏡でのチャネルとの相互作用の解析が難しい。mentholは、TRPM8のみならず、TRPV3, TRPA1を活性化し、TRPV1を抑制するという複雑な作用を示す。明らかになっているTRPV3, TRPA1の構造から第4,5膜貫通ドメインリンカーに着目し、mouse TRPV3でのR567, G573が保存されていることが分かった。G573S点変異体mTRPV3ではmenthol, camphorによる活性化が消失し、R567K点変異体mTRPV3ではmentholによる電流が著しく減弱したがcamphorでは活性化した。R567を、電荷をもたないアミノ酸に置換するとcamphorによる電流は減弱した。この2つのアミノ酸はTRPV1でも保存されていた。野生型rat TRPV1はmentholで活性化したが、その活性化はG563S, R555Kで消失した。CamphorによるrTRPV1の活性化も両点変異体で消失した。この2つのアミノ酸点変異体の温度による活性化解析で、TRPV1は全く活性化されず、TRPV3では活性化されるもののそのkineticsが変化していたことから、TRPV3, TRPV1で温度による活性化に異なる関与を示すことが分かった。mTRPV3の分子動力学解析によってR567にmentholが結合すること、G573はチャネル開口機構に関与することが明らかになった(Commun. Biol. 2021)。

4. ショウジョウバエ視細胞の光応答における脂質代謝物の役割

ハエの視細胞ではロドプシンが光刺激で活性化し、GqやホスホリパーゼC(PLC)を介してTRPチャネルを開口させることが知られている。しかし、未だにPLCの下流でどの因子がTRPチャネルの活性制御に直接関わるのか、はっきりした結論が出ていない。PLCはイノシトールリン脂質を代謝することから、視細胞内でおきる脂質代謝に着目し、光刺激を与えたハエの複眼を用いてリピドミクスを行った。その結果、内因性カンナビノイドである2-linoleoylglycerol(2LG)やlinoleoyl ethanoamide(LEA)、さらにlinoleoyl glycine(LinGly)などのリノール酸を抱合した代謝物がPLC活性依存的に産生されることを見いだした。これらのリノール酸抱合脂質は、S2培養細胞に発現させたTRPLチャネルを濃度依存的に活性化することが分かった。リノール酸もTRPLチャネルを活性化することが報告されているが、様々な脂質酵素阻害剤や代謝耐性を持つアナログを用いた解析から、リノール酸抱合脂質自身がリガンドとなることを示した。さらに、これらのリノール酸抱合脂質は単離したハエ視細胞も活性化し、その作用は光応答に関わるTRPチャネルおよびTRPLチャネルの変異体では顕著に減弱したことから、*in vivo*においてもTRPチャネルの活性制御に関わることを示した。これは、内因性カンナビノイドや新規の脂質代謝物が光応答に働くことを示した初めての例である（論文投稿中）。

5. ショウジョウバエの温度走性に寄与する脂質制御遺伝子の同定

ハエの温度嗜好性は、哺乳類などの脊椎動物と同様に温度感受性TRPチャネルが重要な働きを担っているが、我々はこれまでにGPCRやPLCが寄与することを明らかにしている。現在、1)脂質シグナリングに着目した脂質代謝遺伝子の機能解析と、2)感覚神経に発現する脂質制御遺伝子の網羅的解析の2つのアプローチで取り組んでいる。1)では、内因性カンナビノイドの代謝に関わる遺伝子群について、その変異がハエ幼虫の温度走性を大きく変化させることを見だしつつある。モノアシルグリセロール代謝酵素(MAGL)やモノアシルグリセロールアシル転移酵素(MOGAT)を変異させると、いずれも幼虫は低温に集積するようになった。MOGATは3つパラログがゲノム上でクラスターを形成しており、そのいずれを変異させても低温集積の表現型が現れる。これらの遺伝子の詳細な解析を進めている。2)では、ハエ幼虫の感覚神経をタイプ別に4種類単離し、RNA-seq解析により発現プロファイルを得た（認知ゲノム研究グループ 郷康弘先生との連携研究）。その中から脂質の制御に関わる約300遺伝子について解析し、55遺伝子について感覚神経で有意な発現上昇を認めた。現在、これらの候補遺伝子についてRNAiによるノックダウンを用いた行動解析を実施しており、これまでに報告のない新規遺伝子について温度走性のシフトを見だしつつある。今後、さらにスクリーニングを継続しつつ、異なる温度条件や機械刺激応答についても検討していく。

6. 昆虫TRPチャネルに作用する新規忌避剤や脂質による殺虫剤の増強作用

1) 感染症害虫TRPチャネルに作用する新規化合物： デング熱などを媒介するネッタイシマカから侵害刺激受容に関わるTRPチャネルPainlessをクローニングし、新規の活性化薬剤を検索するために5万種におよぶ化合物ライブラリーを用いて機能的スクリーニングを実施した。その結果、チャネル活性化を引き起こす複数の化合物を同定した。そこで、ネッタイシマカPainlessを異所性に発現するトランスジェニックショウジョウバエを作製し、これらの化合物が実際に個体レベルで忌避作用をもたらすかについて検討したところ、ある化合物に対して有意に摂取量が低下する結果を得た。同様の実験を、実際のネッタイシマカにおいて確認するため、UCSBのCraig Montell博士と連携し、Painlessを欠損したネッタイシマカの変異体を作製した。この変異体と野生型の化合物応答を比較したところ、野生型が化合物の摂取をより避ける傾向が得られた。現在、データ取得のための行動実験を進めており、論文投稿の準備を進めている。

2) 殺虫剤の作用を修飾する脂質の探索と同定： 殺虫剤の標的は多くが神経に発現するイオンチャネルである。それらのイオンチャネルは多くが内在性の脂質によって機能制御を受けることが知られていることから、殺虫剤の作用を増強する“共力剤”となるような脂質を探索している。ショウジョウバエ成虫に殺虫剤を作用させて死に至るまでを自動的に解析するシステムを構築し、殺虫剤の濃度依存的な効果を確認した。標的受容体の異なる殺虫剤と脂肪酸を混合して行動解析スクリーニングを実施しており、ある殺虫剤のグループにおいて生存率が低下する傾向が観察されている。今後、異なる脂肪酸や別種の脂質についてもスクリーニングを進めつつ、増強効果のあった組み合わせについて詳細な行動解析や分子作用解析を行っていく。

7. 高温耐性を持つ両生類幼生の温度受容機構

温度受容機構の進化と環境適応の関連性を調査するため、高温耐性を持つ両生類種の研究を進めている。リュウキュウカジカガエルは南西諸島に広く分布し、繁殖に多様な水場を利用する。一部の地域では水温が40℃を超える温泉が流れる沢にも幼生が成育する。本種の温度受容機構に特異性があるかを調べるため、リュウキュウカジカガエルと近縁種のカジカガエルの幼生の温度応答特性および高温受容体の機能特性を比較した。行動実験により幼生の忌避温度を調べたところ、室温(26℃)で飼育した場合に約36℃以上を忌避することが分かった。この忌避温度はカジカガエルと同程度であった。ところが、リュウキュウカジカガエルの幼生を36℃で1日だけ飼育すると忌避温度は42℃程度まで上昇した。この現象はカジカガエルでは認められないことから、リュウキュウカジカガエルにおいて獲得された生理機能であることが示唆された。次に、高温センサー分子であるTRPV1とTRPA1のチャネル特性を調べたところ、リュウキュウカジカガエルではどちらのチャネルも高温に対する活性をほぼ失っていた。それに対して、カジカガエルではTRPV1は高温に応答しないのに対して、TRPA1は約39℃以上の高温により明瞭に活性化された。TRPA1の高温の感受性が進化の過程で減弱することでリュウキュウカジカガエルの忌避温度が高くなったと考えられる。ところで、リュウキュウカジカガエルの幼生は一般的に高温耐性を有している。野外調査により幼生が生息する浅い水たまりの水温を経時的に測定したところ、晴天の日には日射により水温が40℃程度に達することがあった。本種の幼生は温泉以外の生息地でも高温に暴露されることが分かった。そのような環境に適応する過程で高温を忌避すべき危険な温度と感じないように進化したと推察される。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

富永真琴（教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/makototominaga>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3111-3772>

曾我部隆彰（准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/temperature>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1280-9424>

齋藤茂（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/SSaito>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6237-8979>

連携研究グループ

1-16 生命分子動態計測グループ

内橋 貴之（客員教授）

GANSER Christian（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) 生細胞の機械特性マッピング機能の開発
- d) 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：

a) 高速AFMを用いた生体分子の機能動態解析

高速AFMを用いたタンパク質の動態観察に関して、ExCELLS内外の研究グループと共同研究を推進している。以下、本年度の共同研究の成果概要を記す。

a-1) ガングリオシド脂質膜上でのIgG分子と補体成分C1qの動的挙動解析（ExCELLS・加藤グループ）

高速原子間力顕微鏡を用いて、ガングリオシド(GM1)を含んだ脂質二重膜にIgG分子が特異的に結合し、GM1の含有量に依存してIgG分子が六量体環構造を形成することを明らかにした。さらに、IgGの六量体環構造に補体成分C1qが0.5秒程度の時定数で結合解離を繰り返すことがわかった。また、C1qにC1rおよびC1sが結合した補体C1では、IgGへの結合寿命が大幅に伸びることもわかった。（論文発表済）

a-2) 巨大ウイルスにおけるカプシド表面構造のダイナミクス解析と機械特性評価（ExCELLS・加藤グループ）

巨大ウイルスであるミミウイルスは、宿主に感染する際にカプシドにあるスターゲート構造と呼ばれる特異な構造を開いてDNAを放出することが知られているが、スターゲート構造が開く条件やその過程の詳細なダイナミクスについては明らかになっていない。本課題では高速AFMを用いてミミウイルスのカプシド表面における構造ダイナミクスの観察とナノスケール機械特性評価を目標として研究を進めている。光学顕微鏡／高速AFM複合機を利用して、光学顕微鏡により数十マイクロメートルのスケールでウイルス粒子の位置を特定し、さらに、高速AFMでウイルスの表面構造を観察した。未処理のウイルス粒子では、ウイルスの外側を覆う繊維構造によって高解像観察が妨げられることがわかり、これを改善するために繊維を除去するためのいくつかの処理方法が加藤グループで検討された。その結果、100℃での処理と酵素によって繊維の除去に成功し、ウイルス表面の微細な構造だけでなく、スターゲート構造も可視化することができた。今後の実験によって、フォースマッピングを用いてウイルスの構造、特にスターゲートの強度や力学操作によりスターゲートを人為的に開くことを試みる予定である。さらに、光学顕微鏡と高速AFMの同時観察で、染色されたウイルスDNAのリリースとカプシド表面の構造ダイナミクスを明らかにしていく。

a-3) 微生物ロドプシンの多量体解析（東大・濡木研、名工大・神取研）

最近新たに発見された微生物ロドプシンの多量体構造の解析を高速AFMで行った。光に応答して環

状ヌクレオチドを分解するRh-PDEは二量体を形成しており、膜貫通領域にリンカーで繋がた酵素部位が膜上で揺動している様子を捉えることができた。また、真核生物の祖先に最も近縁なアスガルド古細菌が持つシジロドプシンは膜内で三量体を形成しており、この三量体は二次元結晶を形成していないことがわかった。(論文発表済)

a-4) フェリチンケージ分解過程の直接観察 (東工大・上野研)

鉄を貯蔵タンパク質フェリチンは自己集合によってかご状構造体を形成することが知られており、ナノ材料を調製するためのテンプレートとして広く使用されてきた。このかご状構造体は溶液のpHに依存して分解及び再構成されることが知られているが、それらの開始や中間状態に関与するダイナミクスは解明されていなかった。高速AFMで、溶液中の単一のフェリチンケージのpH依存的な分解過程を観察した結果、かご状構造体が断片に分解する前に穴が形成されることを明らかにした。MDシミュレーションの結果、穴はフェリチンタンパク質3個で構成される3回対称チャネルの開口形成でトリガーされることを明らかにした。(論文発表済)

a-5) ヒトDNA修復酵素MRE11/RAD50/NBS1(MRN)の構造解析 (阪大蛋白研・古郡准教授)

DNA修復酵素MRNは構造が不安定なことからX線結晶構造や電子顕微鏡による解析が困難なため、主にAFMによる解析が行われてきた。従来の解析では、MRNは主に球体から二本の腕を伸ばしたような形をしていると報告されており、伸ばした腕はMRNが放射線により切断されたDNAを修復する際にDNAを繋ぐために必要であると考えられてきた。一方、高速AFMでMRNを観察したところ、MRNは主にはリング状の構造をしており、球体部分が二つに別れてサクランボ状の構造になることでリング構造の開閉をしていることが明らかになった。また、従来のAFM解析ではイメージング速度が遅いため、分子を基板に強固に吸着させる必要があり、これにより柔軟なMRNの構造が大きく影響されること、一方、高速AFMでは分子を弱く吸着していることから全く違った構造で観察されることがわかった。(論文発表済)

a-6) カドヘリンの動的構造解析

細胞動物に必須の細胞間接着分子であるカドヘリンの構造は長年研究されているが、液中での結合構造および構造ダイナミクスはほとんど明らかになっておらず、カドヘリンの結合メカニズムは未だに不明な点が多い。高速AFMによるカドヘリンの観察の結果、カドヘリンダイマーが安定した複数の結合構造(ε形状、S形状、I形状)を呈し、また一部のS形状ダイマーではプロトマーがフレキシブルに動く動的な状態を呈することを発見した。X線結晶構造解析で示唆されるダイマー結合界面のアミノ酸変異体を観察した結果、ε形状の安定したダイマーがストランドスワップダイマーと呼ばれるダイマーであることを特定した。今後は複数種類の変異体の高速AFM観察およびMDシミュレーションの導入により、液中でのカドヘリンダイマーの結合メカニズムの解明を目指す。

b) 全反射蛍光顕微鏡／高速AFM複合機による一分子同時計測法の開発

全反射蛍光顕微鏡(TIRF)と高速AFMで単一分子の同視野観察に向けた様々な観察条件の検討を行った。高速AFMを用いた単一分子の観察を可能にするためのガラス表面の平坦化および洗浄処理の検討を行い、ガラスの表面粗さを1 nm程度まで低減させる処理方法を開発し、さらに脂質二重膜によりタンパク質の非特異吸着を抑えることができた。また、高速AFMとTIRFの測定の同期測定を可能にするためのソフトウェア開発も行った。現在、His-tag標識したαジストログリカンをNi-NTAを含む脂質二重膜に結合しmNeonGreenで蛍光標識した糖転移酵素LARGEとの結合過程をTIRFと高速AFMで同時観察するための条件検討を行っている。

c) 生細胞の機械特性マッピング機能の開発 (ExCELLS・加藤グループ)

本課題では、細胞の硬さや粘弾性等の機械特性の変化、細胞表面の形状変化、細胞内分子の局在等の変化を、同時に解析可能な高速AFMと蛍光顕微鏡の複合機の開発に取り組んでいる。本年度は、細胞骨格に由来すると考えられる細胞表面のメッシュ構造や細胞表面で生じるラッフル構造の形状変化の可視化、および過去に開発したin-line force計測法を応用した細胞表面の硬さマッピングに成功した。次年度は細胞骨格等の細胞内分子を蛍光標識した細胞株を作製し、高速AFMに搭載した蛍光顕微鏡による同時観察に取り組む予定である。

d) 高速AFMの高解像化に向けた基盤技術開発

高速AFMで時間分解能を低下せずに空間分解能を向上するためには、i) 振幅計測器の高速化・低ノイズ化とii) 探針の先鋭化が必須である。今年度は主にi) に関して、ハンガリーの電子回路技術企業と共同で、高速・低ノイズフーリエ計測器の開発を進めた。従来の検出器に比べて、カンチレバー振動の2周期分速く応答し、かつジッターノイズが半分以下の振幅計測器を開発した。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

内橋貴之（客員教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0201712>

ORCID: <https://researchmap.jp/read0201712>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=BoBqnIAAAAAJ&hl=ja>

GANSER Christian（特任助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/820321>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5558-3026>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?hl=ja&user=JuMz3TIAAAAAJ>

1-17 理論生物学研究グループ

本田 直樹（客員准教授）

斉藤 稔（特任准教授）

1) 専門領域： 理論生物学、データ駆動生物学

2) 研究課題：

- a) 多細胞動態の階層的モデリング
- b) 免疫システムの有害・無害の識別
- c) 複数戦略の逆強化学習～線虫行動への応用～
- d) scRNA-seqデータから空間的遺伝子発現の解読
- e) フェイズフィールド法によるアメーバ細胞シミュレーション
- f) 細胞輪郭のフーリエ級数展開を基礎とした多細胞数理モデルの開発
- g) 代謝物漏出を介した微生物共生の数理モデル
- h) レアイベントサンプリングを用いた遺伝暗号の適応度地形解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 多細胞動態の階層的モデリング

集団的な細胞移動は、胚発生や組織恒常性にとっての基本的なプロセスである。この現象は、ミクロな細胞間相互作用から階層を越えて創発するマクロな集団レベルの現象である。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逆問題のためには、二つの階層をシームレスにつなぐ新しいアプローチが求められる。そこで本研究では、細胞レベルと多細胞組織レベルをつなぐ「階層的モデリング」を提案し、巨視的な組織レベルの現象と微視的な細胞レベルの現象の間の因果関係を明らかにするための新しい理論的基盤を確立した(Asakura et al., Sci Rep 2021)。この階層的モデリングによって導出される連続体モデルは、細胞の移動とメカノケミカル変数（ERK活性勾配、細胞密度、速度場）との関係を記述しており、ライブセルイメージングデータによる検証が容易となる。また、細胞レベルおよび組織レベルのシミュレーションにより、創傷治癒においてERK活性化波により誘導される集団的な細胞移動が再現されることを確認し、階層的モデリングの妥当性を示した。この研究はExCELLS青木教授グループとの共同研究である。

b) 免疫システムの有害・無害の識別

免疫系は、体内に存在するあらゆる異物（タンパク質など）を抗原として認識し、適切な免疫応答を誘導する。具体的には、病原体などの宿主にとって有害な抗原に対しては強い免疫応答を誘導することでそれを除去し、一方で、食物などの無害な抗原に対しては強い免疫応答を誘導しない（抑制する）ことで不必要な炎症を防ぐ。また、アレルギーの発症においては無害な抗原に対して突然強い応答が誘導されることや、少量の抗原を投与するアレルゲン免疫療法によってその応答が弱まることから、この抗原の有害／無害識別は抗原経験依存的に変化することが知られている。しかしながら、免疫系がどのようにして有害な抗原と無害な抗原を識別しているのか、そして、この識別が抗原経験依存的に変化するメカニズムは未だ明らかとなっていない。そこで本研究は、細胞集団レベルで実現される抗原の有害／

無害識別メカニズムを明らかにするために、T細胞の集団動態を記述する数理モデルを構築した。さらに、免疫系を抗原経験に基づきその識別を更新する学習システムと捉え、この数理モデルにPredictive codingに基づく記憶形成を導入した。その結果、抗原濃度の絶対値および変動率依存的な有害－無害判別や、抗原の履歴依存的な有害－無害判別の変化を統一的に説明した。

c) 複数戦略の逆強化学習

動物は行動戦略を展開することで環境に適応し、複数の戦略を文脈に依存して柔軟に切り替える。動物がどのように複数の戦略を制御しているかを理解することは、意思決定の全過程を解明する上で重要である。しかし、動物の行動は複雑であるため、複数戦略を検討することは困難であった。そこで本研究では、隠れマルコフモデルを用いて複数戦略の切り替えをモデル化することで、行動データから複数戦略を解読し、その切り替えを検出する逆強化学習法を開発した。この手法を線虫の温度走性に適用したところ、線虫は特定温度への移動と等温移動の2つの独立した戦略を同定し、それらの戦略を積極的に切り替えていることを明らかにした。この研究は名古屋大学の森郁恵教授グループとの共同研究である。

d) scRNA-seqデータから空間的遺伝子発現の再構成

1細胞RNAシーケンシング(scRNA-seq)データから空間的な遺伝子発現パターンを計算論的に再構成することは、多細胞システムを理解するための基本的な技術となっている。しかし、既存の手法はデータ構造に制約のないモデルフリーの手法であったため、低い再構成精度や生物学的解釈の欠如といった問題があった。そこで本研究では、scRNA-seqおよびin situハイブリダイゼーション(ISH)のデータ間の違いを校正し、二種のデータを統合する手法であるPerlerを開発した(Okochi et al., bioRxiv, 2020)。Perlerにより、ハエ胚、ゼブラフィッシュ胚、マウス肝臓、マウス視覚野におけるscRNA-seqデータから空間的遺伝子発現パターンが高精度に再構成された。さらに、再構成された遺伝子発現パターンはISHデータに過適合せず、scRNA-seqデータのタイミング情報を保持していた。以上のように、Perlerは高い再構成精度および汎化性能を示す。この研究は京都大学の近藤武史助教グループとの共同研究である。

e) フェイズフィールド法によるアメーバ細胞シミュレーション

一細胞の形状ダイナミクスのモデリングに取り組んでいる。遊走する細胞は様々な複雑な形状を取り時に動的に変形しながら重要な生体機能を担う。細胞性粘菌が示すアメーバ運動では、細胞前端部のダイナミックな仮足の形成・消滅により運動が駆動されている。一方、魚の上皮細胞であるケラトサイトでは、葉状仮足と呼ばれるアクチン繊維のネットワーク状構造が細胞前端部分で現れ、全体の形状を保ったまま遊走運動を行う。これらの多様な運動形態の二次元的形状ダイナミクスを記述できる数理モデルを開発した[Imoto, et al, bioRxiv2020]。また、深層学習を応用し、遊走細胞の形状を定量する特徴量を抽出し、実験とシミュレーション間のシステムティックな比較を行った。このようなモデリングとデータ駆動解析を融合する事で、細胞種や変異による細胞形状の違いがどの物理化学的なパラメータの違いによるものか推定することが可能となる。また三次元的な細胞変形のモデリングも行った。マクロピノサイトーシスと呼ばれるアクチン依存的なエンドサイトーシスや凹凸のある基質上を這い回るアメーバ細胞の3Dシミュレーションなどを行った[Saito and Sawai, bioRxiv2020; Honda et al, bioRxiv2020]。これらの研究は東京大学澤井哲教授との共同研究である。

f) 細胞輪郭のフーリエ級数展開を基礎とした多細胞数理モデルの開発

アクティブマター物理学における研究では、鳥や魚の運動を極めて単純化し「群れ」の集団的秩序現象がどのように自己組織化するかを明らかにしてきた。しかし細胞の集団運動の場合は、個々の細胞の

形が変形するという点で従来のアクティブマター研究とは大きく異なる。特に、細胞集団による組織の形成・恒常性・破綻などの現象の普遍的法則を理解するためには、細胞の運動を極めて単純化しつつも変形を許す「ソフト」なアクティブマターの研究が非常に重要となるが、こういった研究は発展途上である。そこで、細胞輪郭のフーリエ級数展開を基礎として、千〜万オーダーの細胞数を同時に計算可能な多細胞数理モデルの開発を行った。これを、ソフトアクティブマター分野の基礎となるモデルと位置づけ、変形可能であることで初めて顕れる集団的秩序現象を探っている。現状では、個々の細胞の変形しやすさを変化させると細胞集団全体がガラス的に振る舞う現象を発見しており、その解析を行っている。

g) 代謝物漏出を介した微生物共生の数理モデル

微生物の作る生態系は非常に高い多様性を示し、時には1つのニッチ（例えば供給される栄養素が一つ）しかない場合でも多種の微生物種が共存できる。近年様々な観察・実験から、代謝物の漏洩を介した栄養共生（cross-feeding: 細胞がある代謝物を漏らすと同時に、他の細胞から漏らされた別の代謝物を利用する現象）が複雑な生態系の形成に重要であると盛んに議論されてきた。しかしそもそもなぜ細胞が代謝物を外に分泌するかは不明である。不必要な老廃物を排出するのなら道理だが、時には細胞は成長に必須であるはずの代謝物さえも分泌する。本研究では、細胞内部の触媒反応と必須成分の漏出を考慮した数理モデルを用い、必須代謝物の漏出が成長を促進しうることを見出し、漏出と成長率変化を関係付ける方程式を導出した。この漏出による成長率促進は他の細胞が存在しない孤立環境でも実現し、また驚くことに栄養供給が少ない状況でも起こる[Yamagishi et al, 2020 PRL]。さらに興味深いことに複数種の細胞が存在する場合、各々の細胞が競い合うように代謝成分を漏出し合い、単一栄養下でも多種共生が実現されるということを数値計算により示した[Yamagishi et al, 2020 bioRxiv]。この研究により、細胞はそもそもなぜ必須代謝物を漏らすのかに答えることができ、また漏出が“得”になるための条件なども議論することができる。この研究は東京大学金子邦彦教授と金子研の学生である山岸純平氏との共同研究である。

h) レアイベントサンプリングを用いた遺伝暗号の適応度地形解析

現在確認されているほぼ全ての生物は同じ遺伝暗号を共有しており、これを標準遺伝暗号という。標準遺伝暗号は翻訳エラーに対する頑健性が高くなるように進化してきたことが様々な理論研究から示唆されてきた。これらの研究ではランダムな遺伝暗号をシミュレーション上で構築し、標準遺伝暗号と比較する事で、標準暗号の翻訳エラーに対する頑健性を議論した。しかし、これらの従来研究では、計算時間の制約により、標準遺伝暗号と構造が似通ったランダム遺伝暗号のみを扱っていた。そこで本研究ではマルチカノニカル法という効率的なレアイベントサンプリング手法を用いることで、標準遺伝暗号に構造を縛られない母集団を比較対象とし、網羅的にランダムな遺伝暗号のサンプリングを行った。その結果、このような母集団の中では標準遺伝暗号よりも頑健な遺伝暗号の割合は僅か約10の20乗分の1であり、従来議論されてきたよりも遥かに標準暗号が最適化されていることがわかった。また、標準遺伝暗号と同程度に頑健な遺伝暗号の構造は4種類あることなど、遺伝暗号の適応度地形の構造を明らかにした。この研究は東京大学古澤力教授と古澤研の学生である大町祐史氏との共同研究であり、現在論文投稿準備中である。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

本田直樹（客員准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/n-honda>

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6816-9126>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=UjYkg3AAAAAJ&hl=en>

斉藤稔（特任准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/nen>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8317-9389>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=PTRVS7sAAAAJ&hl=ja>

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：

今年度は、海洋研究開発機構の超先鋭研究開発部門の研究として、過去数年にわたる深海熱水域(Mino et al., 2021; Motoki et al., 2020; Fukushi et al., 2020; Miyazaki et al., 2020, Sun et al., 2020)の極限環境の探査を通じて、それぞれの環境条件に依存したウイルスを含む微生物生態系の組成・機能多様性についての成果を研究論文として発表した。なかでも、15年以上の歳月をかけて詳細な生息地の物理・化学条件の検討、形態観察や現場実験、およびオミクス解析を組み合わせ、インド洋の熱水域に生息するスケーリーフットやアルビンガイの化学合成共生の進化や機能の理解を大きく前進させた研究は特筆すべき成果といえる。

その他、極限環境生命探査室 深海・地下生命研究グループは、自然科学研究機構分野融合共同研究「深海生態系を織りなす生物間分子コミュニケーション：微生物生態学と生命分子構造学の融合」の終了後も同様の研究を継続して進めており、深海底熱水活動域に生息する共生微生物が有する糖鎖の特異な構造の決定や、海底下に生息する難培養性アーキアについて、生物進化学上の示唆に富む糖鎖を発見するなど、画期的な成果を得つつある。

4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

高井研（客員教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/kentakai>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4043-376X>

Google Scholar:

https://scholar.google.co.jp/citations?hl=ja&user=sO00XHoAAAAJ&view_op=list_works&authuser=1&sortby=pubdate

2-2 極限環境生命分子研究グループ

加藤 晃一（教授）

矢木 真穂（助教）

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：

極限環境生命分子研究グループは、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。2020年度は、微小重力環境下で形成されたアミロイド線維の構造解析の成果を論文発表するに至った。アミロイド線維はタンパク質が規則正しく凝集した超分子複合体であり、アルツハイマー病などの原因となることが知られている。線維形成機構を理解することは、これら疾患の治療や予防において重要となるが、詳細な線維形成機構は未だ解明されていない。本研究では、宇宙航空研究開発機構との共同研究により、国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟の微小重力環境を活かして、アルツハイマー病発症に関わるアミロイド β のアミロイド線維形成機構を調べる実験を実施した。微小重力下におけるアミロイド線維の形成速度を調べた結果、線維形成の速度は、地上に比べて微小重力空間の方が遅いことがわかった。さらに、物質-生命境界領域研究グループと共同で、クライオ電子顕微鏡を用いて、アミロイド線維の形態を解析した結果、微小重力下で形成したアミロイド線維は大きく分けて2つの構造をとっていることが判明した。そのうちの1つは地上で形成したアミロイド線維に類似していたが、もう1つは地上ではみとめられなかった特徴的な構造であることが明らかとなった。微小重力環境においては、アミロイド線維は対流や沈殿の影響を受けずにゆっくりと伸長して地上とは異なる構造になると考えられる。一方、プラズマ照射がアミロイド β の線維形成に与える影響を解析し、メチオニン残基の酸化により線維化が抑制されることが明らかとなった。さらに、クマムシの乾眠の分子機構の解析（極限環境耐性研究グループとの共同研究）、深海微生物の糖鎖構造解析（深海・地下生命研究グループとの共同研究）も順調に進展している。特に、ヨコヅナクマムシが発現する機能未知タンパク質g12777がペルオキシダーゼ活性を有することを明らかとし、その結晶構造を決定するとともに、トゲクマムシ由来の新規タンパク質EtAHSが天然変性タンパク質であることを明らかにした。

4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

加藤晃一（教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0150486>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7187-9612>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?hl=ja&user=ihNXEykAAAAJ>

矢木真穂（助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/mahoyagi>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8144-740X>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?hl=ja&user=HO05AZcAAAAJ>

2-3 極限環境耐性研究グループ

荒川 和晴（客員准教授）

田中 冨（特任助教）

1) 専門領域： システム生物学、極限環境生物学

2) 研究課題：

- a) マルチオミクス解析による極限環境生物の耐性機構の解明
- b) クマムシの極限環境適応及び耐性機構の解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) マルチオミクス解析による極限環境生物の耐性機構の解明

深海熱水噴出孔付近から単離された微生物3種のゲノムを決定し、論文として報告した(Takeyama et al. 2020, Murai et al. 2020, Takahashi et al. 2020)。また、常に乾燥にさらされる環境であるクマムシが生息するコケの内部生態系を網羅的に検出する手法を真核生物・原核生物を同時に検出可能なメタバーコーディングによって実現し、報告した(Arakawa 2020)。加えて、南極クマムシ *Acutuncus antarcticus* LSW系統と、30年の凍結を経て蘇生したSB1,SB3株のゲノムをナノポアシーケンスとIlluminaシーケンスを組み合わせた手法により決定し、比較ゲノム解析からこれまで欠失していると考えられていたDsup遺伝子が本種において多くの変異を蓄積しながらも保存されていることが明らかとなった。複数の低温条件におけるRNA-Seq解析を進めており、今後低温耐性に関連する遺伝子のスクリーニングを進めていく。

- b) クマムシの極限環境適応及び耐性機構の解明

クマムシにおける乾眠のセンシングとシグナリングについて、昨年度の研究でPP1/PP2AからAMPKを介す経路の重要性が明らかになったが、この結果を元に、AMPK activatorを用いて乾眠の準備期間を代替することを試みた。結果、D942というAMPK activatorが、クマムシではactivatorとして作用しないながらも、乾燥処理と同様の動態を実現しうること示した(Kondo et al. 2020)。これにより、乾眠準備プロセスを薬剤誘導する技術が確立できた。

4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

荒川和晴（客員准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0137330>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2893-4919>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=01j3jnIAAAJ&hl=en>

田中冨（特任助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/tanakasae>

2-4 物質-生命境界領域研究グループ

村田 和義（特任教授）

ソンチホン（特任助教）

- 1) 専門領域： 構造生物学・電子顕微鏡学
- 2) 研究課題：
 - a) 巨大ウイルスの構造研究
 - b) 極限環境におけるウイルス表面タンパク質の構造解析
 - c) 極限環境における線維性タンパク質の構造解析
 - d) 巨大膜タンパク質複合体の構造解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

我々の研究グループは、同機構生理学研究所形態情報解析室からの異動により、2021年1月に発足した。本グループでは、巨大タンパク質複合体や極限環境におけるタンパク質複合体について、クライオ電子顕微鏡を中心とした構造生物学研究を推進する。そして、物質と生命との境界を明らかにして行きたいと考えている。

本グループはまだ発足して間がないため、これまでの成果も含めて今後の研究の進展について報告する。

a) 巨大ウイルスの構造研究

巨大ウイルスの中でも正二十面体の殻（キャプシド）を持つトーキョーウイルス(TkV)とメドゥーサウイルス(MedV)について、その構造基盤と形態形成機構を、クライオ電子顕微鏡、および従来の電子顕微鏡を用いて解析した。TkVにおいては、ウイルス表面が約9種類の構造タンパク質によって形成されていることがわかった。MedVにおいては、宿主細胞内外における粒子をそれぞれ、従来の電子顕微鏡、クライオ電子顕微鏡を用いて構造観察した結果、新規な巨大粒子形成過程を持つことが示唆された。

b) ウイルス表面タンパク質の構造解析

ノロウイルスはpHが激しく変化する動物の消化器官を移動し、目的の小腸上皮細胞に到達して感染する。我々は、マウスのノロウイルスで、キャプシドタンパク質が周囲の溶液条件に応答して回転・伸縮することで、小腸上皮細胞に感染可能になることを見出した(Song et al. 2020)。さらに、同様の構造変化がヒトのノロウイルスにおいても見られることを発見し、その分子メカニズムの解明を行なっている。

c) 極限環境における線維性タンパク質の構造解析

我々グループは、同センターの加藤グループと共同で、低重力化で形成させたアミロイド線維のクライオ電子顕微鏡による構造解析を行なっている。結果、低重力化では非常に多くの多形線維が形成されることを見出した。さらにこれらの繊維は、一本の繊維中においても多くのディスオーダーが見られた。現在、さらに詳細な構造解析を進めている。

d) 巨大膜タンパク質複合体の構造解析

我々のグループでは、巨大膜タンパク質複合体である回転式ATPアーゼ、光合成タンパク質複合体について構造解析を進めている。回転式ATPアーゼでは、分子研飯野グループとの共同研究で、一分子計測に対応したいくつかの反応素過程における構造を捉えることに成功した。光合成タンパク質複合体では、基生研皆川グループとの共同研究で、光順応における光合成タンパク質複合体の再編成構造を捉えることができた。現在、さらに詳細な構造解析を進めている。

- 4) 学術論文、著書、招待講演、学会および社会的活動、獲得研究費、特許など
以下のリンクを参照。

村田和義（特任教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/KazuyoshiMurata>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9446-3652>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=Aehf3z0AAAAJ&hl=ja&oi=ao>

ソンチホン（特任助教）

Research Map: <https://researchmap.jp/chsong>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8628-4267>

Google Scholar: https://scholar.google.com/citations?view_op=list_works&hl=ja&user=SK8uSd4AAAAJ

3 ExCELLS イベント

2020 年度 シンポジウム

1) 第3回ExCELLSシンポジウム

開催日：2020年12月21日

開催形態：オンライン開催 (Zoom)

主催：自然科学研究機構 生命創成探究センター (ExCELLS)

世話人：青木一洋、榎木亮介、野中茂紀、古賀信康、郷康広

口頭講演者：東島眞一・谷本昌志、洲崎悦生、内橋貴之、井町寛之、延優、荒川和晴、郷康広、入江直樹、
斉藤稔・本田直樹、椎名伸之、松田充弘・戎家美紀、香月康宏

2) 第3回 ExCELLS 若手リトリート

開催日：2021年2月4日

開催形態：オンライン開催 (Zoom)

世話人：石井宏和、小杉貴洋、谷本昌志、高橋泰伽、山本啓、福原大輝、曾我部隆彰、野中茂紀、郷康広、
佐藤匡史、磯貝知世

招待講演者：米原圭祐、中村哲也、廣田佳久、Daniel-Adriano Silva、望月建爾、宮崎牧人、平松弘嗣

※2) は若手啓発事業

2020 年度 セミナー

1) 第1回 ExCELLS セミナー

「顕微鏡画像における多細胞トラッキング技術とその発展課題」

演者：備瀬竜馬 (九州大学)

日時：2020年7月8日 15:00～

開催形態：オンライン開催 (Zoom)

2) 第2回 ExCELLS セミナー

「定常流れ場における細胞サイズのリポソームへの非生物的分子濃縮」

演者：杉山博紀 (東京大学)

日時：2020年11月11日 12:00～13:00

開催形態：オンライン開催 (Zoom)

3) 第3回 ExCELLS セミナー

「光スイッチの開発を目指したシアノバクテリアオクロムの分子基盤 Molecular Basis of Cyanobacteriochromes
for Developing Photoswitches」

演者：伏見圭司 (静岡大学)

日時：2020年12月9日 12:00～13:00

開催形態：オンライン開催 (Zoom)

4) 第4回 ExCELLS セミナー

「希少細胞のシングルセル遺伝子解析技術の開発と応用展開 ～血中循環腫瘍細胞から環境微生物の解析まで～」

演者：吉野知子（東京農工大学）

日時：2020年12月10日 15:00～

開催形態：オンライン開催（Zoom）

5) 第5回 ExCELLS セミナー

「「化学進化」と「生物進化」の谷間に橋を架ける」

演者：吉川研一（同志社大学）

日時：2021年1月29日 15:00～

開催形態：オンライン開催（Zoom）

6) 第6回 ExCELLS セミナー

「無細胞タンパク質合成系を用いてボトムアップに創る分子と分子システム」

演者：松浦友亮（東京工業大学）

日時：2021年2月25日 10:00～

開催形態：オンライン開催（Zoom）

7) 第7回 ExCELLS セミナー

「合成組織形成：細胞間コミュニケーションの設計による多細胞組織の人工形成」

演者：戸田聡（金沢大学）

日時：2021年3月10日 12:00～13:00

開催形態：オンライン開催（Zoom）

4 共同利用研究

ExCELLS 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： ゴルジアトラス：糖転移酵素の局在を指標としたゴルジ体の空間情報プログラムの解明

2) 共同研究者

高田 慎治	発生シグナル創発研究グループ	教授
青木 一洋	定量生物学研究グループ	教授
根本 知己	バイオフィotonics研究グループ	教授
後藤 聡	立教大学	教授
矢木 宏和	名古屋市立大学	講師
太田 裕作	生物画像情報解析グループ	特任助教

3) 研究概要

近年の細胞イメージング技術の進展により、これまで単一のオルガネラと考えられていた細胞内区画が実は異なる役割を担う場に細分化されており、オルガネラ機能はこれらの場のネットワークの総体として発揮されているという可能性が示唆されている。こうした新たなオルガネラ像が提唱されつつある状況をふまえて、オルガネラの空間配置やオルガネラの種類とネットワークがどのように決まっているかを解明することは、生命における空間情報のプログラムの設計原理の理解するうえで重要である。

ヒトではおよそ200種類の糖転移酵素がゴルジに局在しており、タンパク質の翻訳後修飾を担っている。本研究は、分子科学、細胞生物学、生化学を専門とする研究者に加えて、顕微鏡観察技術、画像解析技術を有する研究者が参画することで、糖転移酵素の局在を指標としたゴルジ体の空間情報プログラムの解明を目指すものである。

ExCELLS 計画研究

青木 一洋（生命創成探究センター・教授）

1) 研究課題： 生物リズムと情報：情報理論による生物リズムの時間情報コードの理解

2) 共同研究者

吉村 崇	名古屋大学	教授
成瀬 清	基礎生物学研究所	特任教授
澤井 哲	東京大学	教授
榎木 亮介	バイオフィotonics研究グループ	准教授
矢部泰二郎	発生シグナル創発研究グループ	助教
西田 基宏	心循環ダイナミズム創発研究グループ	教授
近藤 洋平	定量生物学研究グループ	助教

3) 研究概要

生物は、秒単位の心臓の拍動から年単位の季節性のリズムまで、 10^9 もの時間スケールの異なるリズム現象を示している。分子生物学の発展に伴い、生物リズムの分子実体や環境に対するリズムの応答機構といった生物リズム現象の個々の理解は進んできた。一方で、「生命とは何か」を考えるうえで、生物とリズム現象の間にやり取りされる情報量の定量的な理解は進んでいない。例えば、生物の示すリズム（概日時計など）はどれくらいの情報量を含んでいて、そこからどれだけの情報量が機能の創発や恒常性の維持に貢献しているのかといった問いに対して十分にこたえられていない。そこで、本計画研究は、異なる時間スケールの生物リズム現象を扱う実験系研究者と情報理論に精通する理論系研究者とチームを組み、情報理論による生物リズムの時間情報コードを理解することを目指す。

ExCELLS 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： 哺乳類の冬眠／休眠実行の分子ネットワークの解明

2) 共同研究者

榎木 亮介	バイオフィotonics研究グループ	准教授
高田 慎治	発生シグナル創発研究グループ	教授
根本 知己	バイオフィotonics研究グループ	教授
山口 良文	北海道大学	教授
砂川玄志郎	理化学研究所	基礎科学特別研究員
金 尚宏	名古屋大学	特任講師

3) 研究概要

哺乳類の冬眠は、未解明のまま21世紀の生命科学分野に残された大きな謎のひとつである。本研究課題では、哺乳類の冬眠の本質を構成する冬眠・休眠実行を担う分子ネットワークの作動原理を、最先端の光計測技術や遺伝子工学技術などを駆使して明らかにすることを目指す。実験は生命創成探究センター内に設置した冬眠実験室にて行い、冬眠動物（シリアンハムスター）を低温／短日条件で飼育して冬眠を誘導し、特に低温性概日リズム振動体および温度感知の分子機構を探索する。得られる研究成果は、長年の謎であった哺乳類の冬眠のメカニズム解明という大きな基礎生物学的価値を有するのみならず、医学・創薬・環境科学を始めとする幅広い研究分野への波及効果をもたらすものである。

小山 宏史（基礎生物学研究所・助教）

1) 研究課題： 生物の形態の多様性を創発する力学的基盤

2) 共同研究者

奥村 久士	生命分子動態シミュレーション研究グループ	准教授
加藤 輝	生物画像情報解析グループ	特任助教
中村 和幸	明治大学	教授

3) 研究概要

本研究では、細胞を粒子とみなして粒子間の相互作用のポテンシャルエネルギーを仮定することで、多細胞生物における胚発生における様々な形態・構造を記述可能か、検証することを目指した。すでに、生体における細胞の動きのデータからポテンシャルを統計数理的に推定する方法を構築していた。得られた知見を元に、単層の細胞シートにおいて細胞増殖が起きてもシートの構造を安定に維持できるポテンシャルを発見した。細胞シートは多細胞系において最も基盤的な構造の一つなので、本発見はポテンシャルに基づいたモデルの有用性を支持する。また、本モデルを実装したソフトウェアについて、細胞の成長、細胞分裂、細胞極性といった生物学的要素を新たに導入するとともに、分子科学の分野で利用される数値計算法を導入することで大規模計算への準備を進めた。

飯野 亮太（分子科学研究所・教授）

1) 研究課題：微生物が進化で生み出したプラスチック分解酵素の仕組みを理解し改善する

2) 共同研究者

古賀 信康	生命分子創成研究グループ	准教授
中村 彰彦	静岡大学	准教授
藤田 克昌	大阪大学	教授
Gregg T. Beckham	National Renewable Energy Laboratory	Senior Research Fellow
John McGeehan	University of Portsmouth	教授

3) 研究概要

PETaseによるポリエチレンテレフタレート(PET)分解の仕組みを理解し、天然型のPETaseよりも優れた耐熱性やPET分解活性をもつ改良型PETaseを創りだすことを目的とする。2020年度は、以下の結果を得た。

1. 共同研究者の古賀らが開発した合理設計法、及び構造モデルに基づく部位特異的変異導入を併用し、メタゲノムライブラリーから同定された新規PETaseであるPET2の耐熱性を改善して変性温度を75.7°Cまで引き上げることに成功した。この耐熱化 PET2の68°CでのPET分解速度は、天然型PET2の60°CでのPETの分解速度よりも6.8倍向上していた。
2. 耐熱化PET2のX線結晶構造を明らかにし、導入した変異による構造の変化を確認した。
3. 蛍光標識した天然型PET2と耐熱化 PET2を用いて、PET繊維に対する結合と解離の1分子蛍光イメージングを行った。その結果、耐熱化PET2は酵素表面に導入した塩基性残基により、PET表への結合速度定数が天然型よりも2.7倍高いことが明らかとなった。耐熱化 PET2のPET分解活性の向上は、PET表面への結合が促進されるためと考えられた。

新美 輝幸（基礎生物学研究所・教授）

1) 研究課題： カメノコテントウの翅色変化を生み出す低温馴化機構の解明

2) 共同研究者

富永 真琴	温度生物学研究グループ	教授
大場 裕一	中部大学	教授
水谷 健	基礎生物学研究所	技術職員

3) 研究概要

提案代表者は、カメノコテントウ *Aiolocaria hexaspilota* の鞘翅（甲虫の前翅）色は、羽化後ピンク色であるが、数ヶ月間の15℃冷蔵により摂食とは無関係に鞘翅色が濃赤色に変化することを発見した。本研究は、環境応答に関連した新規現象として、低温馴化によって翅の色が変化するカメノコテントウの休眠現象に着目する。全く未知の本現象を解明するため、分子昆虫学を専門とする提案代表者、温度応答研究や有機化学を専門とする共同研究者との異分野間の有機的な共同研究により、遺伝子レベルだけでなくタンパク質や色素のレベルでの多角的なアプローチから解析を行う。本研究では、長期低温という環境依存的な翅色変化の分子メカニズムとして、低温馴化シグナルの受容から鞘翅色の変化に至る過程を解明することを目指す。

村田 和義（生理学研究所・准教授）

1) 研究課題： 正二十面体巨大ウイルスの構造基盤と形態形成機構の解明

2) 共同研究者

武村 政春	東京理科大学	教授
加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
宋 致弘	生理学研究所	特任助教
谷中 冴子	分子科学研究所	助教

3) 研究概要

今世紀以降、地球上の多くの場所から光学顕微鏡でも確認できるサイズ（0.2 μ m以上）の巨大なウイルスが次々と報告されている。巨大ウイルスは、細胞性生物と同じ膜で覆われた二本鎖DNAをもち、その進化の痕跡とも言える自身以外の遺伝子も多く保存している。また複雑な内部構造や触手のような外部突起を持つものもあり、一見細胞性生物に近いような複雑な形態的特徴を示す。しかし、これら巨大ウイルスは、その大きさが光学顕微鏡と電子顕微鏡の観察範囲の境界に位置するため、詳細な形態学的研究が進んでいない。本研究では、巨大ウイルスの中でも正二十面体のキャプシド（殻）を持つトーキョーウイルスとメドゥーサウイルスに焦点を当て、その形成機構と構造基盤、宿主細胞との相互作用を、巨大ウイルス感染細胞の詳細な電子顕微鏡観察、およびウイルス粒子のクライオ電子顕微鏡単粒子解析により解明した。

高橋 俊一（基礎生物学研究所・准教授）

1) 研究課題： 共生による光合成能の獲得機構の解明

2) 共同研究者

郷 康広	認知ゲノム研究グループ	特任准教授
重信 秀治	基礎生物学研究所	教授
丸山真一郎	東北大学	助教

3) 研究概要

ファゴサイトーシスは真核生物で一般的に見られる生命維持に重要な生物現象である。生物の中には、このファゴサイトーシスを利用し、藻類の共生に利用するものがある。その一例が、造礁サンゴである。造礁サンゴ種は褐虫藻と呼ばれる渦鞭毛藻類をファゴサイトーシスにより細胞内に取り込み、消化せずに維持する。これにより、光合成能を獲得し、成育に必要な栄養の一部を光合成で補っている。こうした共生による光合成能の獲得は、祖先的真核生物が葉緑体を獲得した過程でも起こったとされ、生命の設計原理の根幹を成す重要な進化過程であると考えられている。ファゴサイトーシスそのものの研究は基礎研究から応用研究まで幅広く、多くの知見が得られているものの、ファゴサイトーシスから派生した共生機構に関しては多くが不明のままである。本研究では、モデル生物のイソギンチャク褐虫藻の共生系を用い、共生に関わる遺伝子の特定を目的に研究を行った。

大坪 瑤子（核融合科学研究所・特任助教）

1) 研究課題： FRETバイオセンサーを用いた酵母一細胞レベルでのTORC1活性測定

2) 共同研究者

青木 一洋	定量生物学研究グループ	教授
後藤 祐平	定量生物学研究グループ	助教
鎌田 芳彰	基礎生物学研究所	助教
前田 達哉	浜松医科大学	教授
山下 朗	新分野創成センター	特任准教授

3) 研究概要

真核生物に広く保存されたTORキナーゼは、TORC1とTORC2の二つの複合体を構成し、細胞外界の環境変化を感知して、増殖に関わる様々な機構を調節している。我々は、出芽酵母と分裂酵母の2種類の酵母で、栄養応答において中心的な働きをするTORC1の機能について解析を行ってきた。TORC1活性の測定は、細胞集団でTORC1の基質のリン酸化状態をウエスタンブロット法により検出するという方法が一般的である。この時、細胞集団は均一の状態であるとみなされているが、細胞体積や老化状態といった細胞の来歴によって、個々の細胞でTORC1の活性状態が大きく異なる可能性も考えられる。本研究では、この可能性を検討するために、TORC1活性測定用のFRETバイオセンサーの開発を行い、生きた酵母一細胞ごとに、TORC1活性を測定する系の確立を進めた。

重信 秀治（基礎生物学研究所・教授）

1) 研究課題：多細胞生命体の創成を可能にした遺伝子群の探索

2) 共同研究者

郷 康広	認知ゲノム研究グループ	特任准教授
阿形 清和	基礎生物学研究所	所長
牧野 能士	東北大学	教授
菅 裕	県立広島大学	准教授

3) 研究概要

生命創成には、単細胞生命体の創成と多細胞生命体の創成といった大きく2つのステップがある。多細胞生命体の特徴は、単なる細胞の集塊を作っただけではなく、機能に合わせた一定の形態を構築しながら進化していった点にある。本研究では、単細胞生命体から形態と機能を持った多細胞生命体の構築を可能にした遺伝子群の同定を目指す。具体的には、多細胞体の起源と考えられている単細胞体カプサスポラと多細胞体の多能性幹細胞としてプラナリア成体多能性幹細胞およびマウス胚性多能性幹細胞を用いて、プラナリアECM body（細胞外基質でのみ構成されるプラナリア体）内で細胞集塊を作った時の細胞の振る舞いの違いを単一細胞遺伝子発現解析によって明らかにし、多細胞体の特性をもたらした遺伝子候補を同定する。本研究によって、ECM bodyに細胞を移植・培養、単一細胞遺伝子発現解析を行うまでの一連の実験系について確立した。

井上 圭一（東京大学物性研究所・准教授）

1) 研究課題：理論と実験の融合による新規光遺伝学ツールの創成に向けたロドプシントタンパク質の膜内配向制御

2) センター内対応者

古賀 信康

生命分子創成研究グループ

准教授

西田 基宏

心循環ダイナミズム創発研究グループ

教授

3) 研究概要

微生物型ロドプシンは細菌などの微生物が持つ、光受容型の膜タンパク質である。微生物型ロドプシンは分子内部にレチナール発色団を結合し、光吸収に伴うレチナールの異性化反応をトリガーとして、 H^+ や Na^+ 、 Cl^- など様々なイオンの輸送を行う。そして、これら微生物型ロドプシンは近年オプトジェネティクス分野で神経の光操作に広く用いられている。

本研究では、提案代表者の井上らが発見した外向き Na^+ ポンプ型ロドプシンの表面の電荷分布を変え、膜内の配向を逆転させることで、新たに内向き Na^+ ポンプ型ロドプシンの構築を目指す。これにより、現在の主要なオプトジェネティクスツールであるChR2で問題となっている、非特異的な陽イオン輸送に伴う副次反応を示さない、 Na^+ 選択的なオプトジェネティクスツールの実現が期待される。

木賀 大介（早稲田大学・教授）

- 1) 研究課題：細胞間通信を介した細胞種多様化におけるフィードバックが空間パターン形成に及ぼす影響の解明

- 2) センター内研究者

青木 一洋

定量生物学研究グループ

教授

太田 裕作

生物画像情報解析グループ

特任助教

- 3) 研究概要

本研究の目的は、生存競争を勝ち抜くための有効な戦略である細胞間相互作用による集団形成を、原始的な単細胞生物がどのように制御できるか、という疑問を解決することにある。とくに、細胞間相互作用による空間パターンの形成について、反応ゆらぎに起因するコロニーごとのパターン形成の差異に注目して、生細胞の観察と数理モデルを組み合わせるアプローチを行った。このような組み合わせ実験については、種々のパラメタでのモデルと現実それぞれの動作の差異を検討することが重要である。そこで、DNA配列の差異よりもきめ細かに差異を設定できる、培地の条件を種々検討した。培地のpHは細胞間通信分子の分解速度と相関することに対応して、生細胞の分化の様子は予想通り変化した。さらに、コロニー形成に関する顕微鏡観察を行い、経時変化を詳細に記録した。

香月 康宏（鳥取大学・准教授）

1) 研究課題： 人工染色体の活用によるオルガネラダイナミクスの制御

2) センター内研究者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
西田 基宏	心循環ダイナミズム創発研究グループ	教授

3) 研究概要

多くのオルガネラは生体膜で囲まれた構造体を有しており、膜系オルガネラが内構造を区画することにより、様々な化学環境下での生反応を並行することを可能にしている。またごく最近では、1つのオルガネラの中に、異なる役割を担う場が存在しうること、こうした場合は、細胞の状態に応じて形態変化すること、などの新たなオルガネラ像が提示されつつある。時間依存的に形態が大きく変化するオルガネラは、分子集団の相互作用が逐次的に変化していくことによって制御維持されていることが想定される。人工細胞を創成するためには、こうしたオルガネラのダイナミクスの制御が重要となる。本申請研究では、オルガネラ形態に関わる遺伝子群やその構成因子を可視化するとともに、それらを大規模に改変するため、プロモーター領域やイントロン領域を含む遺伝子を複数搭載した人工染色体を有する細胞を樹立する。さらには、形態形成に関わるタンパク質の局在を変化させた細胞も創成することにより、オルガネラダイナミクスを制御することを目指す。

澤井 哲（東京大学・教授）

1) 研究課題：細胞遊走と極性操作による細胞集団の人工構築

2) センター内研究者

青木 一洋

定量生物学研究グループ

教授

野中 茂紀

生命時空間制御研究グループ

准教授

3) 研究概要

細胞性粘菌の細胞表面のタンパク質間相互作用を誘導することで、構成的に細胞間接着を操作する実験系の構築をおこなった。細胞膜貫通型タンパクのヘテロダイマー形成を応用し、粘菌のシグナルペプチドを付加し細胞外提示を行なった。このタグをそれぞれ発現した細胞を等比で混合し、二量体形成促進因子添加の有無で発生の表現型を比較した。液中条件下では細胞集合塊の形成が阻害され、寒天上での発生では12時間後に特徴的なリング状構造が形成された。細胞集団が回転運動を持続するという興味深い特徴があり、細胞接着シグナルへ摂動によって固有の集団運動形態が出現したと考えられる。この考察のため、細胞の運動形状モデルの定式化を進め、多細胞化シミュレーションのための条件出しをおこなった。これらの手法は、細胞選別や集団運動を構成的に操作するための手法として、今後の発展応用が期待できる。

広井 賀子（グローバルヘルスケア財団・客員教授）

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) センター内研究者

富永 真琴

温度生物学研究グループ

教授

野中 茂紀

生命時空間制御研究グループ

准教授

3) 研究概要

〔背景・目的〕 近年、生体内の微細な環境における温度差、温度勾配などが、生理的に意義のある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。本研究を通して、温度差・温度勾配をシグナルとして、細胞の動態を制御できるか明らかにする。またその背後で機能している分子機構を探索する。

〔計画〕 本研究を構成する柱は3つある。1) 時空間的に鋭い温度勾配を作り出し、細胞の動きを制御する制御系の構築、2) 生体内の様々な状況下での応用を視野に入れた3次元細胞培養下での細胞動態制御系の構築、3) 操作を受けている細胞内で作用する、センサ、プロセッサに当たる機能分子は何で、どのように細胞の動きの制御を実現しているのかを含めた、鍵となっている分子機構解明である。

〔方法〕 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、特定の温度条件下で機能を持つ温度感受性カルシウムチャネルの活性を相対的に強調する。その条件下でシグナルとして作用する鋭い温度勾配を作り、効果を調べる。

石谷 太（大阪大学・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) センター内研究者

高田 慎治	発生シグナル創発研究グループ	教授
富永 真琴	温度生物学研究グループ	教授
加藤 輝	生物画像情報解析グループ	特任助教

3) 研究概要

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。

武村 政春（東京理科大学・教授）

1) 研究課題： 巨大ウイルス・宿主相互作用ならびに巨大ウイルス複製メカニズムの時空間ダイナミズムの解析

2) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

3) 研究概要

本研究では、マルセイユウイルス科ウイルスで筆者らが新潟から分離したホクトウイルスの宿主細胞凝集体形成能の解析を行った。ホクトウイルス感染時に、培養液にグルコース、マンノース、ガラクトース、ラクトースをそれぞれ添加し、細胞凝集体形成能を検討し、当研究室において開発した細胞動態解析プログラム(PKA3)により、それぞれの動態解析を行った。その結果、培養液にガラクトースを加えた場合にのみ生じる細胞凝集体形成遅延を定量的に明らかにすることに成功した。マルセイユウイルス科ウイルスのゲノムにはガラクトース結合タンパク質遺伝子が存在することが明らかとなっており、これらのことから、ホクトウイルスによる細胞凝集体形成には、ガラクトース結合タンパク質が関与していることが示唆されたが、細胞動態解析を行うことで、細胞凝集体阻害効果がないと考えられていたグルコースとマンノースにおいても、その添加によりもたらされる細胞動態に違いがあることが明らかとなった。2019年度に引き続き、2020年度においても、ウイルス感染時・非感染時におけるアカントアメーバ細胞表面糖鎖の網羅的解析を行っている。

森戸 大介（昭和大学・講師）

1) 研究課題： もやもや病責任遺伝子産物の構造解析

2) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

3) 研究概要

もやもや病は東アジア地域に多い脳血管疾患で、本邦で疾患概念が確立された後、ながらく原因不明とされてきた。2011年に責任遺伝子が同定され、提案代表者の手により分子クローニングを行った。さらに本遺伝子ミステリン（別名RNF213）にコードされる巨大タンパク質が運動性ATPアーゼ活性およびユビキチンリガーゼ活性を持つことを示し、またミステリンが脂質代謝に関わることを世界にさがけて解明した(*PLOS ONE*, 2011; *Sci Rep*, 2014, 2015, 2017; *J Cell Biol*, 2019)。ミステリンは脊椎動物を含む脊索動物に保存されるが、類似の酵素は他になく、これら酵素活性と生理・病態機能の関係は明らかでない。ミステリンの構造・活性・機能相関の解明を企図して、ミステリンの精製・構造解析に取り組んでいる。

神谷由紀子（名古屋大学・准教授）

1) 研究課題： 非環状骨格を持つ人工核酸の立体構造解明

2) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

3) 研究概要

申請者らのグループで開発されたSNA、L-aTNAはSerinolおよびL-Threoninolを骨格とする非環状型人工核酸であり、天然の核酸を認識する特徴をもつ。これまでに、これらの人工核酸を用いて、モレキュラービーコンやアンチセンス核酸などの機能性核酸の開発に成功してきた。一方で、人工核酸の立体構造に関する情報は未だに得られていなかった。そこで本研究では、結晶構造解析による三次元構造の決定をめざした。L-aTNAとRNAおよびSNAとRNAの、二種類のヘテロ二重鎖に関して、立体構造決定に成功した。非環状型人工核酸とRNAのヘテロ二重鎖の構造は、一般的なりボース型化学修飾核酸とRNAからなるヘテロ二重鎖のらせん構造と比較して、緩やかならせん構造を形成することが明らかとなった。また、結晶構造に基づき、本二重鎖らせん構造における非環状人工核酸の構造安定化の仕組みを解明した。

山口 拓実（北陸先端科学技術大学院大学・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) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

3) 研究概要

本課題は、有機化学的アプローチを基盤とし、分子生物学、分子分光学、計算科学などの方法論を統合することで、糖鎖の動的な構造や相互作用様式を明らかにし、糖鎖の生物機能が発露するメカニズムに関する理解を深めることを目指している。2020年度では、固体NMR技術を使った糖鎖の配座解析法の基盤を築いた。化学合成によって ^{17}O 安定同位体標識を施した*N*-アセチルグルコサミン塩酸塩を対象とする固体 ^{17}O NMR測定を実施し、量子化学計算を組み合わせることで、酸素原子に関する化学シフトテンソル並びに電場勾配テンソルを明らかにした。固体 ^{17}O 計測で得られるNMRパラメータは、僅かな二面角の変位に敏感に反応することが知られており、様々な化合物の詳細な構造情報取得に有効な手法となると期待される。

森 和俊（京都大学・教授）

1) 研究課題： 小胞体関連分解におけるEDEM2のin vitro活性解析

2) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

3) 研究概要

小胞体関連分解におけるN型糖鎖依存分解経路では、糖タンパク質のN型糖鎖構造が重要な役割を果たしている。N型糖鎖のマンノースのトリミングが進むと、マンノースの $\alpha 1, 6$ 結合が露出し、OS9などのレクチン分解因子に認識されることで分解に導かれる。

M9型からM8B型へ糖鎖構造をトリミングすることに中心的な役割を果たすEDEM2が、チオレドキシン様タンパク質TXNDC11と-S-S-結合依存的な複合体を形成し、細胞内においてマンノシダーゼ活性を発揮することがわかっている。そこで、この共同研究により、未だ検出されたことのないEDEM2のマンノシダーゼ活性をEDEM2-S-S-TXNDC11複合体において検出し、EDEM2のM9→M8Bへのマンノシダーゼ活性をin vitroにおいて測定する。

後藤 聡（立教大学・教授）

1) 研究課題：糖転移酵素をプローブとした哺乳動物細胞におけるゴルジ体ゾーンの解析

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
高田 慎治	発生シグナル創発研究グループ	教授
青木 一洋	定量生物学研究グループ	教授
太田 裕作	生物画像情報解析グループ	特任助教

3) 研究概要

申請者は、これまでにショウジョウバエの細胞内で分散して存在するミニゴルジ体には、それぞれ異なる翻訳後修飾に関与するタンパク質が局在することを見出し、ゴルジ体が機能的に異なる領域（ゾーン）から形成されていることを明らかにしてきた(PNAS, 2005)。こうした結果から、哺乳動物においてもゴルジ体が異なるゾーン形成をしていることが予想される。そこで本研究では、ゴルジ体に局在する糖転移酵素をプローブとすることで、哺乳動物細胞におけるゴルジ体ゾーンの同定を行うことを試みた。

佐藤 匡史（名古屋市立大学・准教授）

1) 研究課題： パスポート配列導入による糖タンパク質の細胞内輸送への影響

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
矢木 真穂	生命分子動秩序創発研究グループ	助教
青木 一洋	定量生物学研究グループ	教授
太田 裕作	生物画像情報解析グループ	特任助教

3) 研究概要

血液凝固因子欠損症の原因遺伝子産物であるERGIC-53とMCFD2は、ヘテロ複合体を形成することでカーゴレセプターとして働き、糖タンパク質である血液凝固第V因子(FV)および第VIII因子(FVIII)の分泌に関わっている。これまでに我々は、これらの血液凝固因子中における約10残基からなるMCFD2との結合領域を同定し、そのペプチド配列が血液凝固因子の分泌経路における細胞内輸送を効率化する“パスポート”として機能する可能性を示してきた。本研究ではこうした基盤の上に、構造生物学と細胞生物学の融合研究を実施し、本配列を組み込んだ糖タンパク質の細胞内輸送の実態解明を目指す。本年度は、結晶構造解析によりERGIC-53/MCFD2複合体のリガンド結合部位の構造揺らぎを解明し、その成果について論文発表を行った。この成果は、分子パスポートの設計を行う上で有用な指針を与える。

矢木 宏和（名古屋市立大学・講師）

1) 研究課題： マルチドメインタンパク質複合体の動的構造解析

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
内橋 貴之	生命分子動態計測グループ	客員教授
矢木 真穂	生命分子動秩序創発研究グループ	助教

3) 研究概要

タンパク質の中には、複数のドメインから構成されるタンパク質が多く存在している。こうしたタンパク質の立体構造を迅速に決定する手法の1つとしてX線結晶構造解析があるが、それによって得られる構造情報は結晶中における分子間パッキングによる影響を大きく受けるため、その解釈には十分な注意を要する。それゆえ、NMR、X線・中性子小角散乱、クライオEM、高速AFM解析など複数の物理化学的手法を組み合わせた相関構造解析は極めて有効なアプローチである。本研究では、K48結合型ポリユビキチン鎖と免疫グロブリンG (IgG)を対象として、それらの相関構造解析を行った。具体的には、トリユビキチン鎖およびテトラユビキチン鎖の溶液中における開状態と閉状態の動的平衡状態を定量的に明らかにした。さらに、カイコの蛹を用いて安定同位体標識した糖タンパク質を発現させる技術を開発し、IgGのNMR構造解析を行うための技術基盤を確立した。

山口 陽平（旭川医科大学・助教）

1) 研究課題： 心筋バイオメカニクス制御機構における機械受容チャネルTRPC6とTRPC3の役割の解明

2) センター内対応者

西田 基宏

心循環ダイナミズム創発研究グループ

教授

3) 研究概要

心臓は常に収縮・弛緩しており、それに伴う細胞伸展により心筋バイオメカニクスが制御されている。近年、申請者らは機械受容チャネルTRPC6が心筋バイオメカニクスの中で重要な働きをしていることを見出した。しかし、それは細胞レベルの知見であり、生体レベルの心収縮においてTRPC6が実際どのような役割を果たしているかは未だに明らかではない。そこで、本研究では4次元心機能計測機器(Vevo)を用いてリアルタイム3次元エコー図を取得することにより、容量負荷環境でのTRPC6又はTRPC3の欠損マウスの左室拡張末期容量と左室収縮末期容量、駆出率等の心機能パラメータを非侵襲的に記録する。よって、TRPC6とTRPC3が生体レベルの心筋バイオメカニクスをどのように制御しているかを解き明かすことを目指している。

和田 隆志（金沢大学・教授）

1) 研究課題： 腎細胞におけるミトコンドリア生合成・品質管理の制御機構とその生理的意義の解明

2) センター内対応者

西田 基宏

心循環ダイナミズム創発研究グループ

教授

3) 研究概要

超高齢社会において、急性腎障害(acute kidney injury: AKI)の臨床的な重要性が増している。腎予後、全身の臓器障害、生命予後とも密接に関連する。そのため、AKIの病態解明とともに、予防や予後改善が求められている。本研究では、AKIにおけるミトコンドリアの病態への意義と、それを制御する新規物質の同定を目的とする。ことに、腎由来の細胞株および組織におけるミトコンドリア代謝活性と細胞成熟化・ストレス抵抗性獲得の分子制御機構を明らかにする。そのうえで、恒常性維持に寄与する病態解明とそれに立脚した新たな戦略（創薬）の構築を目指す。これらの研究を通じて、AKIの予後改善にむけた取り組みを展開する。

細田 直（名古屋市立大学・准教授）

1) 研究課題： mRNA 代謝調節がもたらす多様な生命現象のメカニズム解明

2) センター内対応者

西田 基宏

心循環ダイナミズム創発研究グループ

教授

3) 研究概要

mRNAの3'末端に存在するポリA鎖はmRNAの代謝調節に機能し、多様な生命現象の分子基盤となることが明らかにされつつある。先に我々は、脊髄小脳変性症原因因子でありかつRNA結合蛋白質であるATX2が、その標的mRNAのポリA鎖伸長を促進することにより翻訳を活性化することを報告した。この細胞質ポリA鎖伸長において、細胞質ポリAポリメラーゼPAPD4が関与するものの、その詳細な分子機構については不明な点が多く残されていた。本研究では、ATX2がポリA鎖長を制御する複合体についてショットガンプロテオミクス解析により検討を加え、ポリA鎖結合タンパク質PABPC1およびRNAヘリカーゼDDX6が関与することを見出した。

加藤 百合（九州大学・助教）

1) 研究課題： ミトコンドリア過分裂を制御する化合物を用いた慢性疾患治療への応用研究

2) センター内対応者

西田 基宏

心循環ダイナミズム創発研究グループ

教授

3) 研究概要

ミトコンドリアは細胞内エネルギー代謝において極めて重要な役割を果たしており、ミトコンドリアの異常分裂（ダイナミクスの破綻）が様々な難治性疾患に関与していることが知られている。これまでに我々は、心不全の進行に伴ってミトコンドリアの過剰分裂が引き起こされることを見出した。さらに、高血圧治療薬シルニジピンが心筋ミトコンドリアの過剰分裂を抑制することで慢性心不全を軽減することを報告してきた。

本研究では様々な慢性疾患モデルマウスにおいてシルニジピンの薬理作用を評価し、組織恒常性を維持する上でミトコンドリアの重要性を明らかにするとともに、ミトコンドリア関連慢性疾患に対する新しい治療法・治療薬の提案を目指す。

荒田 晶子（兵庫医科大学・准教授）

1) 研究課題： 生命の原始運動である胎動性活動の生成メカニズムの解明－Ⅱ

2) センター内対応者

東島 眞一

神経ネットワーク創発研究グループ

教授

3) 研究概要

生命の原始運動である胎動が、どのようにして、何故起きるのか、そして、それが起きないとどのようなことが起こるのかについて探究する。げっ歯類や魚類においても、初期の運動として胎動が発生する。その胎動の生成メカニズムを解明し、その生成因子を操作する事で胎動が何と関連しているのかを発達過程を観察し、生命創成の原理の解明につなげる。ゼブラフィッシュの初期回転運動であるCoilingを抑制することにより、走行距離や刺激による遊泳運動の違いが見られ、特に、初期運動の時期の後半部を抑制すると遊泳運動に大きな変化が出てくることが分かった。一方、無麻酔ラット胎動性活動の超音波解析ではPoly ICにより胎動性活動の様式が変化することが分かってきた。

泉 正範（理化学研究所・上級研究員）

1) 研究課題：植物生体イメージングによる葉緑体オートファジー細胞内ダイナミクスの解明

2) センター内対応者

根本 知己	バイオフィotonics研究グループ	教授
大友 康平	バイオフィotonics研究グループ	助教

3) 研究概要

光エネルギーを利用して生きる植物は、太陽光に由来する障害（紫外線や強い可視光）に常にさらされている。特に、植物細胞内で光合成を担う細胞小器官（オルガネラ）である葉緑体は、光ストレスによる機能低下が起こりやすく、その障害は植物体そのものに損傷を及ぼす二次的なダメージにもつながるため、障害を受けた葉緑体成分は速やかに取り除かれる必要がある。また、葉緑体には大量の栄養素が投資されているため、植物は時に葉緑体を積極的に分解、その栄養成分を回収、再利用することで、一度吸収した栄養素を有効利用している。本研究では、真核生物の細胞内分解系「オートファジー」を中心に、植物細胞内でおこる分解経路の実体を生きた植物体で観察するイメージング系を構築すること、その実用により葉緑体を含む植物オルガネラ分解経路の詳細を明らかにすることに取り組んだ。

横井 佐織（北海道大学・助教）

1) 研究課題： クローズドコロニー系統メダカにおける行動形質の差を生み出す分子機構解析

2) センター内対応者

郷 康広

認知ゲノム研究グループ

特任准教授

3) 研究概要

ヒトを含めた社会性を営む多くの動物において、個性は集団や各個体における適応度上昇に関与すると考えられているが、その分子メカニズムの多くはいまだ明らかになっていない。本研究では、比較的遺伝的バックグラウンドの近い、新規クローズドコロニー系統メダカを複数種比較し、新奇環境において「臆病」な振る舞いと「大胆」な振る舞いという、対象的な行動様式を示す2つの系統を発見した。これら2系統の全ゲノム配列を明らかにし、比較することで、行動形質の差を生み出す遺伝子の同定、ひいてはその分子機構について解析することを目的とする。

澤 新一郎（九州大学・教授）

1) 研究課題： 新生児消化器疾患の病態形成に関わる免疫細胞の網羅的解析

2) センター内対応者

郷 康広

認知ゲノム研究グループ

特任准教授

3) 研究概要

近年、自然リンパ球(ILC)などの新規免疫細胞が同定され、腸管バリア機能の維持に果たす重要性が動物モデルで明らかになってきた。新生児壊死性腸炎は低出生体重児に発症する致死性腸炎の一つであるが、発症病因は明らかでない。本研究はヒト新生児期の免疫細胞の構成と機能を明らかにし、新生児腸炎の病態を免疫学的な側面から理解することを目的とする。対象患者は新生児壊死性腸炎および限局性腸穿孔とし、課題番号20B005（研究代表者；郷康広 博士）として令和2年2月26日に自然科学研究機構生理学研究所倫理委員会の承認を得ている。これまでの研究により、新生児腸炎のうち、炎症が著明な壊死性腸炎ではヘルパーT細胞におけるケモカイン受容体や接着因子発現が優位に亢進することが明らかとなっている。今年度は新たな解析ソフトを用いて患者腸管由来リンパ球について再解析を行った。

木下 豪太（京都大学・日本学術振興会特別研究員 PD）

1) 研究課題： 第四紀の気候変動に対応した哺乳類の季節性毛色変化に関する遺伝基盤と適応進化の解明

2) センター内対応者

郷 康広

認知ゲノム研究グループ

特任准教授

3) 研究概要

ニホンノウサギの冬季毛色二型の責任遺伝子を特定するため、本研究では始めにニホンノウサギの代表一頭について全ゲノム配列（リファレンスゲノム）をChromium system @10X genomicsの手法により決定した。それを参照配列として、毛色多型の混生集団を対象に、複数個体の全ゲノム配列の解読を行い、毛色と相関を示す遺伝子領域を特定することに成功した。ゲノムワイドおよび責任遺伝子領域の系統解析により、ニホンノウサギの毛色二型は種内で独自に獲得したものではなく、祖先多型か他種からの遺伝子浸透により獲得された可能性が示唆された。現在、特定された遺伝子の機能を確認するため、それぞれの毛色型において換毛期に毛根および表皮で発現している遺伝子群のRNA解析も進めている。

以上の解析のうち、リファレンスゲノムの作成の一連の工程および集団解析と遺伝子発現解析のためのライブラリー作成（抽出DNAとRNAの調整）を生命創成探究センターで実施した。

Ji-Joon Song (Korea Advanced Institute of Science and Technology・Professor)

1) 研究課題： Single-molecule Analysis of ATP-Dependent Polymerization of ATAD1 by Atomic Force Microscopy

2) センター内対応者

KATO, Koichi	Biomolecular Organization Research Group	Professor
UCHIHASHI, Takayuki	Biomolecular Dynamics Observation Group	Visiting Professor
GANSER, Christian	Biomolecular Dynamics Observation Group	Project Assistant Professor

3) 研究概要

Proteins self-assemble into higher-order structures to regulate enzyme activity. Although many supramolecular protein structures have been solved by cryo-electron microscopy (cryo-EM) or X-ray crystallography, such studies have captured only static snapshots of the fully assembled or unassembled states. In this study, we propose to observe the assembly process of protein oligomers in real-time by high speed atomic force microscopy (HS-AFM), thus providing insight into the dynamic assembly process of protein oligomers. We choose to study two proteins, ATAD1 and AdhE, as model systems. ATAD1 is a protein unfoldase that undergoes nucleotide-dependent dodecamer formation, while AdhE is a metabolic enzyme that oligomerizes into filaments that undergo co-factor-dependent structural transitions. By observing the structural transitions of these proteins, we hope to and uncover the process of self-assembly, and reveal new intermediate states that could not be observed with previous structural methods.

中村 彰彦（静岡大学・テニュアトラック准教授）

1) 研究課題： 合成高分子及び構造多糖分子を分解する酵素の1分子計測

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
内橋 貴之	生命分子動態計測グループ	客員教授

3) 研究概要

ヒアルロン酸は後口動物の主要細胞外マトリックス糖質であり、細胞同士の接着や保水のために重要である。しかしその分解様式は不明のままである。そこで動物由来のヒアルロン酸加水分解酵素の1分子計測による計測を試みた。今年度はまず基板にヒアルロン酸を固定する条件を検討した。その結果、疎水性基板にヒアルロン酸分子が配列したパターンを観測することができ、市販ウシ精巢由来ヒアルロニダーゼ(BTH)の添加によりそれが消滅することを確認した。また低濃度BTHの添加により、ヒアルロン酸分子鎖に沿ってBTH分子が移動する様子も計測できた。そこで運動と活性の関係を解析するために不活性化変異体が必要となるため、現在酵母を宿主としたヒアルロン酸加水分解酵素発現系の構築を進めている。

武田 洋幸（東京大学・教授）

1) 研究課題： FCSを用いたFibronectin及びNodalタンパク質の細胞外空間における拡散動態の定量的解析

2) センター内対応者

高田 慎治	発生シグナル創発研究グループ	教授
三井 優輔	発生シグナル創発研究グループ	助教
矢部泰二郎	発生シグナル創発研究グループ	助教

3) 研究概要

多機能超解像顕微鏡を用いた蛍光相関分光(FCS)法により、ゼブラフィッシュ胚における分泌性シグナルタンパク質Nodalの細胞外での挙動について、主に拡散係数の算出などを行い、定量的に解析する。Nodalタンパク質の可視化には、武田研究室で作出されたmVenus（緑黄色蛍光タンパク質）タグ付きNodalを発現するゼブラフィッシュ遺伝子組換え系統を用いる。この系統の体節形成期胚に対し、生命創成探究センターの共通利用機器である多機能超解像顕微鏡を用いた蛍光相関分光(FCS)法を適用し、Nodalの細胞外空間における拡散動態を解析する。また、膜結合型抗GFPナノボディの発現によるmVenus-Nodalの拡散阻害効果についてもFCS法により定量的に解析する。

Kay-Hooi Khoo (Academia Sinica • Distinguished Research Fellow)

1) 研究課題 : Development of glycoproteomics technologies aimed at obtaining a comprehensive structural information

2) センター内対応者

KATO, Koichi

Biomolecular Organization Research Group

Professor

3) 研究概要

Glycoproteomics by mass spectrometry is a large-scale comprehensive analysis aimed at identifying protein site-specific glycosylation and their respective glycan structures in cells and tissues. It is a very powerful approach to understanding the biological functions of glycans on specific membrane proteins. However, efficient implementation of this platform technology is often saddled by inability to identify minor components carrying target glycotopes of interests. In this study, we aim to develop innovative glycoproteomic workflow that would enable high sensitivity detection and precise sequencing of affinity-captured glycopeptides carrying laminin-binding, Lewis X and/or sulfated glycans. In this year, we conducted LC-MSMS analysis for the *O*-mannosyl glycosylation on α -Dystroglycan (α -DG) possessing glycerol phosphate modification and/or laminin binding structures.

吉村 崇（名古屋大学・教授）

1) 研究課題： 環境情報と動物の年周リズムの発振に関する研究

2) センター内対応者

青木 一洋

定量生物学研究グループ

教授

3) 研究概要

生物は、約1日周期の「概日リズム」や、約1年周期の「概年リズム」など、様々な周期のリズムを示す。生物の外部環境は、昼夜の1日のリズム、1年の季節変化など周期的なリズムを生物に与えているが、環境情報量と生物リズムの関係についての理解は進んでいない。本研究では、日長、日射量、温度の環境情報が年周リズムの発振に与える影響を定量的に理解することを目的として、明瞭な1年のリズムを示すメダカの繁殖に着目し、統計・情報理論的な解析を行い、得られた統計モデルを検証した。また、屋外自然環境下で飼育されたメダカにおける遺伝子発現量の変化の解析から季節変動遺伝子を同定した。

山本 聡（札幌医科大学・助教）

1) 研究課題： *Neisseria gonorrhoeae* Penicillin-binding protein 2の構造機能解析

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
矢木 真穂	生命分子動秩序創発研究グループ	助教
谷中 冴子	生命分子動秩序創発研究グループ	助教

3) 研究概要

*Neisseria gonorrhoeae*は性感染症領域において問題となる細菌であり、複数の抗菌薬に耐性を示す多剤耐性菌の出現と拡散が問題となっている。Penicillin-binding protein 2 (PBP2)は細胞壁に局在しペプチドグリカンの合成に関与し、ペニシリン系抗菌薬の作用点となっている。特にペニシリン系抗菌薬ピペラシリン(PIP)は多剤耐性菌に対し有効であることが示されているが、PBP2とPIPの結合様式、反応様式については不明であった。本研究ではPBP2とPIP結合の詳細を構造的、生化学的に明らかにすることを目的とした。大腸菌を用いて遺伝子組換えPBP2の発現精製を行い、野生型(WT)、多剤耐性株の変異体を精製することに成功した。これらのタンパク質に対してペニシリン結合能を比較した結果、多剤耐性の変異では結合能が著しく低下するが、PIPでは両者の結合能に差が認められなかった。また本年度、WTとPIP複合体のX線結晶構造解析に向けて、その結晶化スクリーニングに着手した。

前田 恵（岡山大学・准教授）

1) 研究課題： 遊離糖鎖によるアミロイド繊維形成抑制活性の解析

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
矢木 真穂	生命分子動秩序創発研究グループ	助教

3) 研究概要

ハイマンノース型遊離糖鎖は糖タンパク質から脱グリコシル化酵素（ENGase・PNGase）の作用によって生成する。これまでに、ハイマンノース型遊離糖鎖が*in vitro*でタンパク質のフォールディング促進活性やアミロイド線維化抑制活性を有することを、モデルタンパク質を用いた実験で明らかにしている。本研究では、アルツハイマー病の原因となるアミロイド β タンパク質(A β)に注目し、ハイマンノース型遊離糖鎖によるアミロイド線維化抑制活性を解析することが目的である。今年度は、ExCELLS加藤教授・矢木助教と連携して大腸菌発現システムを用いたリコンビナントA β の調製に着手し、遊離糖鎖によるA β 線維形成抑制効果を検出するための準備を行った。

鈴木 達哉（青森大学・助教）

1) 研究課題：糖転位酵素の天然基質の探索

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
谷中 冴子	生命分子動秩序創発研究グループ	助教

3) 研究概要

糖転位酵素は細胞内の小胞体およびゴルジ体に局在し、基質となるタンパク質に糖残基を付加することで、タンパク質の機能の調節や品質管理を担う。糖転位酵素がしばしば特異的なタンパク質のみに糖残基を転移していることが認められることから、糖タンパク質の糖鎖部分だけでなくタンパク質部分も認識していることが想定されるようになってきている。しかしながら基質となるタンパク質群を網羅的に捕捉する技術がないため、存在する基質中の共通構造を見出すことは難しい。本研究では、糖転移酵素へ遺伝工学的に付加したHaloタグへ特異的に結合し、UV照射を発端として基質タンパク質と架橋化し捕縛を可能とする新しい光反応性化学プローブを開発することで、糖転位酵素の基質タンパク質群を同定する技術の確立を目指した。

杉山 正明（京都大学・教授）

1) 研究課題： タンパク質のマルチスケール動態解析法の開拓

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
矢木 真穂	生命分子動秩序創発研究グループ	助教
谷中 冴子	生命分子動秩序創発研究グループ	助教

3) 研究概要

タンパク質をはじめとする生体分子は、様々な時空間スケールでのダイナミズムを発揮しており、分子内もしくは分子間の協調的な相互作用や構造変化を通じて、精緻な生体機能を発動している。しかしながら、そのメカニズムの詳細は不明である。本研究では、タンパク質の複合体形成および多ドメインタンパク質におけるドメイン間相互作用に着目した動的構造解析を実施することで、機能発現との連関を明らかにすることを目的とする。今年度は、中性子小角散乱(SANS)を行う上で必須であるタンパク質の重水素化をシステムティックに行うための技術基盤を構築した。さらに、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)とSANS計測、ならびに重水素標識を応用した逆コントラストマッチング(iCM)法を組み合わせたSEC-iCM-SANS法を開発した。抗体とFc結合タンパク質の相互作用をモデル系として、多成分系中の標的タンパク質を選択的に可視化することに成功し、この方法の有用性を示した。

河野 暢明（慶應義塾大学・特任講師）

1) 研究課題： 多彩なクモ糸の生合成機構の全容解明

2) センター内対応者

内橋 貴之

生命分子動態計測グループ

客員教授

西口 茂孝

生命分子動態計測グループ

特任研究員

3) 研究概要

クモ糸タンパクの種類と糸物性の関係さえ理解できればクモ糸の産業・工業利用が実現すると考えられてきたが、最近になってクモ糸タンパク以外にもSpiCEと呼ばれる低分子タンパクがクモ糸には複数含まれている事が発見され、物性への関与が示唆されてきた。しかし依然としてクモ糸生合成機構の全容は未知の部分が多く、SpiCEがクモ糸タンパクの発現制御から紡糸・利用までの流れの中でどう関与しているのか、その役割は理解できていない。そこで本課題ではクモ糸におけるSpiCEの役割を明らかにすることで、クモ糸の生合成経路の全容解明を目指す。

小川 覚之（東京大学・助教）

1) 研究課題： 微小管関連タンパク質の溶液中動態解析

2) センター内対応者

内橋 貴之

生命分子動態計測グループ

客員教授

GANSER, Christian

生命分子動態計測グループ

特任助教

3) 研究概要

微小管関連タンパク質群の制御機構や疾患病態との関連に焦点を絞り、溶液中での動的な構造変化の解析を進めた。本研究では微小管関連モータータンパク質や微小管安定化タンパク質の疾患モデルを対象に、溶液中ダイナミクスを理解へと発展させることを目的とし、高速原子間力顕微鏡を用いてリアルタイム計測を行なった。

矢木 宏和（名古屋市立大学・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) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

内山 進

生体分子相互作用計測グループ

客員教授

3) 研究概要

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。KaiCは6量体を形成しており、各サブユニットに2箇所のリン酸化サイトと2箇所のヌクレオチド結合サイトを有している。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した。特にKaiBとKaiCの協同的な相互作用に焦点を当て、6量体を構成するKaiCサブユニットのリン酸化状態が本相互作用に与える影響を明らかにすることを試みた。

伊東 祐二（鹿児島大学・教授）

1) 研究課題： 部位特異的な化学修飾のための構造基盤の確立

2) センター内対応者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
内山 進	生体分子相互作用計測グループ	客員教授

3) 研究概要

抗体は標的分子に対する高い親和性を有することから、分子標的治療薬として利用されている。その中で、高機能化、次世代化のために、抗体に殺細胞効果のある低分子薬物をコンジュゲートした抗体薬物複合体(ADC)が開発されてきている。これまで開発されてきたADCは抗体に結合する薬物の数や位置が異なる複数の化学種から構成されていたため、薬物動態や抗体医薬としての品質管理の観点から、多くの問題を有していた。この問題を解消するべく、伊東グループは抗体への部位特異的な薬物連結方法の開発に取り組み、抗体のFc領域の特定の部位に低分子化合物を任意に修飾することが可能となってきた。本研究では抗体への部位特異的な薬物連結方法の高度化を目指し、連結反応の際には反応の足場となる、抗体特異的に結合する補助タンパク質の結合構造の解析を行い、その結果をもとに、薬物の導入部位のデザインやストイキオメトリー算出のための準備を行った。

Shang-Te Danny Hsu (Academia Sinica・Research Fellow & Deputy Director)

- 1) 研究課題 : Use of HS-AFM to study the structure and dynamics of the highly glycosylated ectodomain of receptor tyrosine phosphatase alpha (PTPRA)

- 2) センター内対応者

KATO, Koichi	Biomolecular Organization Research Group	Professor
UCHIHASHI, Takayuki	Biomolecular Dynamics Observation Group	Visiting Professor

- 3) 研究概要

We have applied high-speed AFM to realtime observation of an ectodomain (ECD) of human receptor-like protein tyrosine phosphatase alpha (PTPRA) fused with a dimeric fragment crystallizable (Fc) region of an antibody (Fc-PTPRA-ECD) and its variant in which all serines and threonines within PTPRA-ECD are mutated into alanines (STtoA). As a result, WT Fc-PTPRA-ECD was found to be highly dynamic and a variety of conformations were observed along the trajectory of a single Fc-PTPRA-ECD molecule. Reassuringly, some of the snapshots of WT Fc-PTPRA-ECD were very similar to the SAXS-derived molecular envelopes, demonstrating the consistency of the structural features derived from two orthogonal biophysical measurements. Likewise, the compactness and the rigidity of a variant STtoA observed by SAXS were also recapitulated in the real-time HS-AFM observation.

Rita P-Y Chen (Academia Sinica • Research Fellow & Deputy Director)

1) 研究課題 : Working mechanism of antimicrobial peptides on bacterial membrane

2) センター内対応者

KATO, Koichi	Biomolecular Organization Research Group	Professor
UCHIHASHI, Takayuki	Biomolecular Dynamics Observation Group	Visiting Professor

3) 研究概要

The emerging of multi-drug resistant bacteria and fungi is a severe threat to human health. In 2017, the WHO published a warning list of twelve antibiotic-resistant “priority bacteria families” that have an urgent need for new antibiotics. During the recent COVID-19 pandemic, the widespread use of broad-spectrum antimicrobials and corticosteroids to treat patients, the use of mechanical ventilation, and prolonged hospitalization might increase the risk for MDR pathogen infection. Echo to the pressing need for new antibiotics, antimicrobial peptides (AMPs) show promising prospects as their postulated working mechanism are different from conventional antibiotics and bring hope as potential alternatives to combat superbugs. We recently de novo designed several antimicrobial peptides that show excellent antibacterial and antifungal activities. We plan to use high-speed atomic force microscopy (HS-AFM) to examine the membrane-disruption mechanism of our AMPs.

The current data show that the working mechanism of our AMPs does not form holes in the membrane as the barrel-stave model or toroidal model. Our AMPs disrupt the membrane by removing lipid from the bilayer through solubilization.

村田 隆（神奈川工科大学・教授）

1) 研究課題： 植物紡錘体における液層分離の検討

2) センター内対応者

根本 知己

バイオフィotonics研究グループ

教授

3) 研究概要

陸上植物は進化の過程で中心体を失い、独自の微小管構築システムを獲得した。細胞分裂に必須の構造である紡錘体も中心体なしで形成されるが、その分子機構はわかっていない。これまでは、カエル卵での無細胞での紡錘体形成系との類似性から、染色体による微小管誘導とその後の微小管の自己組織化が考えられてきたが、実験的な検証はなされてこなかった。我々は紡錘体形成過程の3Dライブイメージングに取り組み、微小管は染色体とは独立に形成されることを示唆する結果を得た。そこで、微小管の新たな形成機構を調べるため、微小管構成タンパク質の液液相分離に着目して解析を行った。チューブリンの拡散速度が紡錘体の形成される領域と他の細胞質において異なるかどうかを蛍光相関分光法(FCS)を用いて解析を行った。

久富 理（山梨大学・特任助教）

1) 研究課題： 胸腺上皮細胞の一次繊毛の形態解析

2) センター内対応者

野中 茂紀

生命時空間制御研究グループ

准教授

3) 研究概要

提案代表者らは、細胞表面より突出する長さ数 μm の細胞小器官「一次繊毛」と免疫機能との関係を明らかにするため、T細胞の分化育成組織である胸腺に焦点を当てて研究を行った。具体的には胸腺支持組織の主成分である胸腺上皮細胞 (thymic epithelial cell, TEC) の一次繊毛を対象に、①構造と②機能に関する解析を進めた。本共同利用研究では、特に①に関してセンターに設置されている共焦点レーザー顕微鏡を使用し、TECの平面培養系における一次繊毛の形態を解析した。またT細胞・TEC間に形成される構造を胸腺シナプス (TS) と命名し、そこに発現する分子局在の詳細を明らかにした。さらに分子局在と機能の関係を知るために3次元再構築画像を作成した。これに関してはセンター内対応者との討論を経て最適化している。以上の成果をまとめ、現在論文投稿中である。

沼野 利佳（豊橋技術科学大学・准教授）

1) 研究課題： 給餌条件が概日リズムに与える影響の解析

2) センター内対応者

野中 茂紀	生命時空間制御研究グループ	准教授
餘家 博	生命時空間制御研究グループ	特任助教

3) 研究概要

マウスの概日リズムは、自由に餌にアプローチできる自由給餌に対し、休眠すべき時間帯に限定して餌を与える制限給餌条件においては給餌時刻の影響を受ける。摂餌行動は脳内の分泌物質ニューロペプチド Y(NPY) により制御されていることがわかっている。本研究では制限給餌による概日リズムの中核組織への影響を、NPY分泌の定量によって検討する。NPYに黄色蛍光タンパク質Venusにてマーキングし、可視化した。そのマウスの概日リズム中核組織を含む脳スライスを、灌流固定後、透明化する。これをサンプルとして生命創成探究センターに持ち込み、ExCELLS多機能超解像顕微鏡にて観察する。制限給餌を行ったマウスの、給餌タイミングに対するNPY分泌活動の変化を観察し、制限給餌による概日リズムの中核組織周辺への分泌の影響を観察した。その結果、制限給餌を始めた直後から、NPYの分泌は強く観察された。

内田 邦敏（静岡県立大学・准教授）

1) 研究課題： TRPチャネルの刺激依存的な膜局在変化の検討

2) センター内対応者

富永 真琴

温度生物学研究グループ

教授

3) 研究概要

イオンチャネルに代表される膜タンパク質は細胞膜に埋め込まれた状態でその機能を発揮する。その膜発現や局在の変化は、チャネル機能のみならず細胞や個体の機能に影響すると考えられる。本研究の目的は、非選択的陽イオンチャネルであり、辛み物質などの化学物質や温度などの物理刺激によって活性化されるTRPチャネルの細胞膜発現・局在並びに様々な活性化刺激に対する発現・局在の変化について全反射蛍光顕微鏡を用いて観察することである。そのために、EGFPタグをN末に付加した温度感受性TRPチャネルタンパク質を発現させるプラスミドを作製した。これらプラスミドをHEK293T細胞に強制発現させ、温度感受性TRPチャネルの局在並びに温度刺激に対する局在変化を観察している。

石原 慶一（京都薬科大学・准教授）

1) 研究課題： ダウン症モデルマウスの先天性心奇形の病態メカニズム解析

2) センター内対応者

西村 明幸

心循環ダイナミズム創発研究グループ

特任准教授

3) 研究概要

ヒト21番染色体がトリソミーとなり発症するダウン症では、心内膜症欠損などの心奇形の発症率が高いことが知られている。しかし、その分子メカニズムに関しては不明である。我々は、ダウン症モデルマウスの出生率が期待値より低いこと、また胎生期では期待値通りであることから、一部の胎仔の心形成不全による致死を考えるに至った。そこで、4次元組織イメージング装置により*in vivo*で胎仔の心機能を評価することで、本仮説の検証を行う。検証において、種々のヒト21番染色体の相同領域を3コピーもつモデルマウスを用いることで、その責任遺伝子の同定を試み、分子病態メカニズムの理解を目指す。

河内 孝之（京都大学・教授）

1) 研究課題：ゼニゴケ単一核トランスクリプトーム解析にむけた蛍光標識核分離法の開発

2) センター内対応者

青木 一洋

定量生物学研究グループ

教授

3) 研究概要

陸上植物進化の基部に位置するコケ植物苔類は、多様な二次代謝産物を蓄積する油体という特殊な細胞小器官を持っている。これまでに共同研究者の基礎生物学研究所上田貴志教授らの研究により、油体が細胞外方向から細胞内方向へと分泌経路の方向を転換することによって形成されることが明らかになった。さらに、油体の形成は油体を含む油体細胞の成長と並行して起こることから、油体細胞において分泌経路の方向性が、細胞の拡大成長に必要な細胞膜方向への輸送と、油体形成に必要な油体方向への輸送の間で周期的に転換していると考えられた。さらに共同研究により、油体形成のマスター制御転写因子を同定し、油体形成が転写レベルで制御されていることを見いだした。そこで申請者らは油体周期の実体をさらに明らかにするため油体周期の各相のトランスクリプトーム解析を計画し、油体細胞の単一核単離条件を検討した。

矢木 宏和（名古屋市立大学・講師）

1) 研究課題： 新規抗糖鎖抗体の認識特異性の解析

2) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

3) 研究概要

これまでに申請者はジストログリカン上にグリセロールリン酸を有する糖鎖が存在することを見出してきた(H. Yagi et. al. Mol. Cell Proteomics 2016, **15**, 3424-3434)。ごく最近、こうしたグリセロールリン酸を含有する糖鎖を認識するモノクローナル抗体を樹立することに成功している。本研究では、生体分子相互作用計測装置を利用して、本抗体の抗原に対する親和性と特異性を明らかにすることを試みた。

課題番号 20-412 ExCELLS 機器利用研究

加藤 薫（産業技術総合研究所・主任研究員）

1) 研究課題： 超解像度顕微鏡を利用した細胞小器官の観察

2) センター内対応者

加藤 晃一

生命分子動秩序創発研究グループ

教授

3) 研究概要

近年、分泌経路を構成するオルガネラの内部がこれまで思われていたよりもさらに区画化されていることが明らかになりつつある。本研究では、超解像顕微鏡システムを利用した、各細胞内小器官に存在するタンパク質を可視化することで、これまで見えていなかった新たなオルガネラ像を見出すことを目指した。特に、ゴルジ体に局在するタンパク質の局在をSTED（誘導放出抑制）法により観察することで、新たなゴルジ体の描像を捉えることを目指した。

荒川 和晴（慶應義塾大学・准教授）

1) 研究課題： 乾眠機構の解明を基軸とした生命の極限環境適応戦略の探究

2) 共同研究者

加藤 晃一	生命分子動秩序創発研究グループ	教授
奥村 久士	生命分子動態シミュレーション研究グループ	准教授
青木 一洋	定量生物学研究グループ	教授

3) 研究概要

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。これまでにクマムシの酸化ストレス応答・DNA損傷応答の交叉耐性のオミクス解析から見出された新規酸化ストレス耐性遺伝子AMNPの解析を進み、本遺伝子がヒト細胞への導入で酸化ストレス耐性を向上させること、立体構造解析や*in vitro*解析からMn依存のペルオキシダーゼ活性を持つことを明らかにした。本遺伝子はゴルジ体に局在することから、ゴルジ体の酸化ストレス応答が乾眠に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

また、同時に実際にクマムシで遺伝子工学的手法を用いるための系の開発を進めており、siRNAのインジェクションによって、ヨコヅナクマムシにおいてもRNAiによる遺伝子発現抑制が可能であることを確認できた。

2020 年度 ExCELLS リポート

2021 年 8 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>



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>