



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

2021 EXCELLS リポート

2021 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

2021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。

2021年度は、創成研究領域に新たに香月康宏特任特任准教授を迎えて染色体工学研究グループを立ち上げ ExCELLS 連携研究の活動を開始しました。昨年度までに立ち上がった生命分子動態計測グループと理論生物学研究グループによる ExCELLS 連携研究をはじめ、ExCELLS 課題研究、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順調に進展しています。

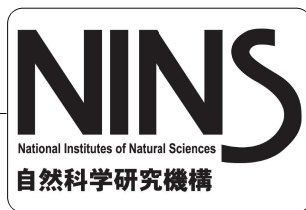
一方、極限環境生命探査室では、深海、地下などにおける生命体の活動を探査・解析することを目指して生命の始原形態と環境適応戦略を理解する研究を実施しています。こうした活動を通じて、クマムシの乾眠の仕組みや巨大ウイルスの形成過程の解明に向けた分野融合研究の成果が次々と発信されました。さらに2021年度は、超高解像度クライオ電子顕微鏡を導入し、運用を開始しました。

生命創成探究センターにおける異分野融合研究を推進するために、新たに東海国立大学機構並びに創価大学とともにヒューマングライコームプロジェクトの連携・協力に関する覚書を締結いたしました。コロナ禍により活動が制約を受けた状況ではありますが、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きました。若手が主体となって企画・運営する研究集会も回を重ねるごとに盛り上がりを見せており、次世代の躍進を頼もしく感じています。

設立からまる4年を迎えるにあたり、生命創成探究センターの一層の強化を目指して、研究体制、共同利用・共同研究体制や業務運営体制についての外部評価を実施しました。ExCELLS の活動と取り組みは、国内外の学識経験者の先生方から極めて高い評価をいただきました。

このように、生命創成探究センターの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います。本センターで開拓したアプローチ法は、新型コロナウイルスを標的とした創薬やバイオ医薬の高度化に資する研究においても威力を発揮しています。こうした成果は各種メディアを通じて次々と発信しております。本リポートを通じて ExCELLS の活動を是非ご高覧いただければ幸いです。

新分野創成センター
Center for Novel Science Initiatives (CNSI)
アストロバイオロジーセンター
Astrobiology Center (ABC)
国際連携研究センター
International Research
Collaboration Center (IRCC)



国立天文台
National Astronomical Observatory of Japan (NAOJ)
核融合科学研究所
National Institute for Fusion Science (NIFS)
基礎生物学研究所
National Institute for Basic Biology (NIBB)
生理学研究所
National Institute for Physiological Sciences (NIPS)
分子科学研究所
Institute for Molecular Science (IMS)



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

研究連携推進室
Collaborative Research Promotion Office

創成研究領域

Department of
Creative Research

生物画像情報解析グループ
Bioimage Informatics Group
生命分子動態シミュレーション研究グループ
Biomolecular Dynamics Simulation Group
生体分子相互作用計測グループ
Biomolecular Interaction Research Group
生命分子動秩序創発研究グループ
Biomolecular Organization Research Group
バイオフィotonics研究グループ
Biophotonics Research Group
心循環ダイナミズム創発研究グループ
Cardiocirculatory Dynamism Research Group
認知ゲノム研究グループ
Cognitive Genomics Research Group
発生シグナル創発研究グループ
Developmental Signaling Research Group
神経分子動態生物学研究グループ
Dynamic Molecular Neurobiology Group

金属生命科学研究グループ
Metallobiology Group
神経ネットワーク創発研究グループ
Neuronal Networks Research Group
生命分子創成研究グループ
Protein Design Group
定量生物学研究グループ
Quantitative Biology Group
生命時空間制御研究グループ
Spatiotemporal Regulations Group
温度生物学研究グループ
Thermal Biology Group

連携研究グループ

Collaborative
Research Group

生命分子動態計測グループ
Biomolecular Dynamics Observation Group
理論生物学研究グループ
Theoretical Biology Group
染色体工学研究グループ
Chromosome Engineering Research Group

極限環境生命探査室

Section for Exploration of
Life in Extreme Environments

深海・地下生命研究グループ
Deep-Sea and Deep Subsurface Life Research Group
極限環境生命分子研究グループ
Extreme Environmental Biomolecular Research Group

極限環境耐性研究グループ
Extremotolerance Research Group
物質-生命境界領域研究グループ
Material-Life Boundary Research Group

目 次

序 言

組織図

| | | |
|------|----------------------|-----|
| 1 | 2021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 | 16 |
| 1-5 | バイオフィotonクス研究グループ | 18 |
| 1-6 | 心循環ダイナミズム創発研究グループ | 21 |
| 1-7 | 認知ゲノム研究グループ | 23 |
| 1-8 | 発生シグナル創発研究グループ | 25 |
| 1-9 | 神経分子動態生物学研究グループ | 27 |
| 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 | 46 |
| 1-17 | 染色体工学研究グループ | 49 |
| 1-18 | 理論生物学研究グループ | 50 |
| 2. | 極限環境生命探査室 | |
| 2-1 | 深海・地下生命研究グループ | 54 |
| 2-2 | 極限環境生命分子研究グループ | 55 |
| 2-3 | 極限環境耐性研究グループ | 57 |
| 2-4 | 物質-生命境界領域研究グループ | 59 |
| 3 | ExCELLSイベント | 61 |
| 4 | 共同利用研究 | |
| | ExCELLS 計画研究 | 65 |
| | ExCELLS 特別共同研究 | 68 |
| | 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 2021年度 構成員一覽

2021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）[併任]
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 ～2021.9.30）
（准教授（兼任） 2021.10.1～）
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（日本学術振興会特別研究員）
中田 開人（総研大生）
廣 蒼太（総研大生）
張 菁圃（特別共同利用研究員）
李 明亮（日本学術振興会特別研究員 2021.10.1～）
兵藤智栄美（技術支援員）
土屋 加奈（技術支援員）
渡邊 真規（技術支援員 2021.5.10～）
河内 美輪（技術支援員 2021.6.1～）

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）
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 ～2021.6.30）
西 栄美子（研究員 2021.4.7～）
Methanee Hiranyakorn（総研大生 ～2021.9.30）
関口太一郎（総研大生）
西村 誠司（特別共同利用研究員）
沈 佳娜（特別共同利用研究員）
齋藤 泰輝（特別共同利用研究員）
梅澤英美子（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（特任専門員）
平峰 里菜（技術支援員 2021.11.1～）
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）
田中 智弘（特任助教 ～2022.2.15）
石原 博美（技術職員）
下田 翔（総研大生）
藤森 仁美（技術支援員）
大村 幸恵（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 ～2021.8.31）

渡我部育子（技術支援員）

竹内 芳子（技術支援員）

発生シグナル創発研究グループ

瀬戸公美子（技術支援員）

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 ～2021.12.31）

内海 秀子（技術職員）

高田 律子（特別協力研究員）

島山 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）

酒井貴美子（技術支援員 2022.2.16～）

野畑 竜子（事務支援員 ～2021.4.30、2021.12.1～）

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）

三本 齊也（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（研究員）

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）

伊藤 冬馬（総研大生）

海老根映美（研究員）

後藤 瑤子（研究員）

小野田香織（技術支援員）

神経分子動態生物学研究グループ

椎名 伸之（准教授）

大橋 りえ（助教）

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）

東田 怜（特任研究員）

Nam Dayeon（特任研究員）

中根 香織（事務支援員）

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）

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）

梶岡 拓己（総研大生）

川野 幸平（総研大生）

清水 彩杏（総研大生）

片山 大成（特別実習生）

伊藤 浩子（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）

加塩麻紀子（特任准教授）

丸山 健太（特別協力研究員 ～2021.9.15）

（特任准教授 2021.9.16～）

齋藤 茂 (助教)
福田 直美 (技術職員)
水藤 拓人 (特任研究員)
佐藤 翔馬 (博士研究員)
Nguyen Thi Hong Dung (研究員 ~2021.4.30)
(特任研究員 2021.5.1~)
齋藤くれあ (特任研究員)
宇治澤知代 (日本学術振興会特別研究員)
Deng Xiangmei (総研大生)
Deveci Aykut (総研大生)
Lei Jing (総研大生)
Aliyu Mudassir Magaji (総研大生 2021.10.1~)
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)

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)

染色体工学研究グループ 2022.3.1~

香月 康宏 (客員准教授)

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)
福山 達也 (特任研究員)

極限環境生命探査室

深海・地下生命研究グループ

高井 研 (客員教授)
中川 聡 (客員准教授)

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]
谷中 冴子 (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)

田中 冴 (特任助教)
Esraa Hassan Ahmed Youssef (技術支援員 2021.12.1~)

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)
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)
肥田 宗政 (技術支援員)
竹市 祐介 (技術支援員)
河口 美江 (事務支援員)

研究連携推進室

佐藤 匡史
(特任准教授(研究連携コーディネータ) ~2021.9.30)
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)

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。

研究対象となるモデル生物の行動を定量的に解析する技法は、生体の挙動を構成する基盤となる分子機構を解明する過程において表現型の評価を行うためには必須となると考えられる。

ゼブラフィッシュ幼魚の自由泳動を高フレームレートで撮影した動画の個々のフレームから魚体を抽出し、その頭から尾部に至るまでの形態を自由曲線モデルとして記述する系を開発した。これらの曲線モデルから、魚体の連続的な屈曲様式について少数のクラスとして一意に分類、単純化し、その発生頻度を用いて表現型の評価を行う系を開発し、諸々の実験条件下での解析を行なっている。

複雑な器官において、その形態形成初期における細胞群の初期位置が最終的な器官形態において占める位置を追跡することは発生のプログラムを解明する上で重要な解析法となる。

ここでは、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どのような経路を辿り、最終的に脳のどの位置を占めるかについての詳細について解析した。脳原基細胞群をランダムに蛍光標識した生体についてタイムラプス観察した一連の画像からそれらの位置を検出、移動の軌跡を収集したデータベースを構築した。これをもとに脳原基構成細胞群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）

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

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) レプリカ置換ソルトテンパリング法の開発とアミロイド β フラグメントへの応用
 - b) α シヌクレインフラグメントの凝集初期過程の解明
 - c) COVID-19ウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼにおける薬剤の輸送機構の解明
 - d) 新型コロナウイルスと重症急性呼吸器症候群ウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼの活性差
 - e) クマムシの乾眠に関わるタンパク質の動的性質の解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) レプリカ置換ソルトテンパリング法の開発とアミロイド β フラグメントへの応用

タンパク質などの生体分子は複雑な自由エネルギー地形を持っているので、分子動力学シミュレーションを素朴におこなうと、その極小状態にトラップされてしまい広い範囲の構造を探索できない。そのため十分な統計量を得るためのサンプリングが難しい。そこで近年、レプリカ交換（RE）法などの拡張アンサンブル法がよく用いられるようになってきた。我々は最近レプリカ交換法よりもサンプリング効率の高いレプリカ置換法を開発した。この方法では複数の系のコピー（レプリカと呼ぶ）を用意し、それぞれのレプリカに異なる温度を割り当て、シミュレーションの途中に3つ以上のレプリカの間で温度を置換する。こうすることで各レプリカの温度を上下させ、自由エネルギー極小状態から各系を脱出させる。この方法は構造を効率よく様々な構造をサンプルでき、二つのレプリカの間で温度を交換するレプリカ交換法よりも強力な方法である。一方、最近注目されている拡張アンサンブル法の一つにレプリカ交換ソルトテンパリング法がある。この方法ではレプリカ間で温度の交換を行うのではなく、溶質に関わるポテンシャルエネルギーにパラメータを導入し、そのパラメータを交換する。こうすることで実質的に溶質のみの温度を交換することになるため、計算コストを大幅に減らすことができる。そこで我々はレプリカ置換法とレプリカ交換ソルトテンパリング法を基に計算コストを大幅に減らすことのできるレプリカ置換ソルトテンパリング法を開発した。さらにこの手法を用いてアミロイド β フラグメントの凝集に伴う構造変化を明らかにした。

b) α シヌクレインフラグメントの凝集初期過程の解明

α シヌクレインは水溶液中で特定の構造を持たない、140残基のアミノ酸で構成される天然変性タンパク質である。凝集して繊維を形成することでパーキンソン病を引き起こすと言われている。 α シヌクレイン繊維形成の核となる領域のフラグメントに着目し、そのフラグメント2本に対して定温定圧レプリカ置換シミュレーションを実行した。その結果、A β ペプチドとは異なり、2次構造を形成せずに分子間 β シートを形成することが多いことを発見した。またその理由も明らかにした。

c) COVID-19ウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼにおける薬剤の輸送機構の解明

新型コロナウイルス感染症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。これらは新型コロナウイルスのRNA 依存性RNAポリメラーゼに対するRNA複製阻害剤として機能すると期待されている。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。我々は分子動力学シミュレーションを実行し、これらの薬剤やATPの持つ三リン酸の負電荷がRNAポリメラーゼの結合サイトにあるMg²⁺イオンに静電相互作用により引き寄せられて結合することを解明した。また、RNAポリメラーゼには結合サイトに向かって複数のリジンが一列に並んでおり、このリジンの正電荷が「バケツリレー」のように薬剤やATPを結合サイトに輸送していることも発見した。今回の発見によりRNAポリメラーゼによる効率的なリガンド認識の仕組みを解明した。この成果はNHKや各種インターネットニュースで報道された。特にマイナビニュースでは医療・バイオ分野の週間ニュースランキングで2位になった（2021年8月）。

d) 新型コロナウイルスと重症急性呼吸器症候群ウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼの活性差

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) のRNAポリメラーゼと重症急性呼吸器症候群ウイルス (SARS-CoV) のRNAポリメラーゼのアミノ酸配列および立体構造はほぼ同じである。しかし、SARS-CoVのRNAポリメラーゼはSARS-CoV-2のRNAポリメラーゼよりもRNA合成活性の高いことが知られている。我々は分子動力学シミュレーションを行い、両者の動的特性に違いがあることを発見した。具体的にはSARS-CoVのRNAポリメラーゼでは活性部位を形成するモチーフA-Gが最大63%接近していること、またSARS-CoVのRNAポリメラーゼではドメイン間の協調的な動きを示すことを発見した。このような動的な性質の違いが2つのRNAポリメラーゼの活性差の原因と考えられる。

e) クマムシの乾眠に関わるタンパク質の動的性質の解明

SAHSタンパク質は、クマムシ特有の熱可溶性タンパク質であり、クマムシの乾眠に必須の役割を果たしていると考えられている。SAHSタンパク質の分子動力学MDシミュレーションを行い、その動的特性を明らかにした。具体的には(1)SAHSタンパク質の入口領域はヒトのL型脂肪酸結合タンパク質に比べて柔軟性があること、(2)N末側の天然変性領域は大きく変動し、両親媒性の α -ヘリックス構造を形成することがあること、(3)脱水に伴って入口領域のサイズは小さくなるものの、 β バレル構造は維持されることを明らかにした。本研究はクマムシの乾眠機構に関わるタンパク質のダイナミクスを初めて明らかにしたものであり、今後、乾眠機構の解明に貢献すると考えられる。

- 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。

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：

ネイティブ質量分析（Native-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、Native-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。また、本装置にはUPLCが接続されており、LC-MS/MSによるタンパク質の翻訳後修飾の同定なども可能である。

本年度は、共同利用研究「超分子質量分析による時計タンパク質の相互作用解析」の一環として、デコンボリューション解析ソフト「UniDec」の運用を開始した。デコンボリューション自体は装置に付属している解析ソフト「MassLynx」にて可能であり、一般的な最大エントロピー法によるデコンボリューションが可能である。しかし、特にKaiタンパク質複合体のような複雑な化学量論をもつ系に対しては、「MassLynx」によるデコンボリューションでは歯が立たないケースがほとんどであった。一方、「UniDec」はそのスペクトル推定法にベイズ推定法を用いており、Kaiタンパク質複合体のような複雑な系に対しても非常に有効であることが分かった。今後、大阪大学側の「Byos」とともに、化学量論が複雑になりがちなヘテロ系の解析への大きな貢献を期待できる。

また、本年度は大阪大学側との連携を行う機会に恵まれた。特に、タンパク質複合体のクロスリンクMS（XL-MS）や巨大ウイルスのグライコプロテオミクスは研究室間の連携の成果である。

一方、最近はプロテオミクスの手法が求められる機会が明らかに増えており、本グループとしてこのような共同研究にいかに対応していくかが来年度以降の課題である。すなわち、Native-MSからプロテオミクスという非常に幅の広い需要に対応するため、装置の充実と知見の蓄積が求められている。

- 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。

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：

タンパク質や糖鎖をはじめとする生体分子の立体構造は、様々な時空間スケールで揺動しており、特異的な分子間相互作用を介した超分子装置を構築することを通じて、精緻な生体機能を発動している。本年度は、生体分子、特に糖鎖や糖タンパク質の動的構造と相互作用を調べる手法を大きく進歩させた。糖鎖はさまざまな生物学的システムにおいて多様な役割を果たしているが、内部運動の自由度が極めて高いため、立体構造を特徴づけることが難しい。糖鎖の動的構造を明らかにする目的で分子動力学シミュレーションが広く用いられているが、得られた糖鎖のコンフォメーションアンサンブルを包括的に評価する方法は、これまでほとんど存在しなかった。我々は、再生核ヒルベルト空間を介することで、自由エネルギーランド地形にコンフォーマーを割り当てる理論的アプローチを開発した。この方法は、糖鎖のコンフォメーション空間、さらには高い運動自由度を持つ分子のコンフォメーション空間探索の可能性を広げるものである。

一方、ExCELLS内外との共同研究を展開し、人工生命分子の設計・創成に向けての構造基盤をもたらす研究成果を得た。具体的には、プロテアソームの $\alpha 7$ サブユニットが自己組織化して形成された七員環が2層になったホモ14量体の構造を低温電子顕微鏡で観察した（物質-生命境界領域研究グループとの共同研究）。その結果、 $\alpha 7$ の二重リング構造は、これまでに報告されている結晶学的モデルとは大きく異なり、溶液中で大きく揺らいでいることが示された。また、球状の自己組織化錯体に酵素を内包して安定化することで有機溶媒中においても酵素活性を保持できることを見出し（東京大学/分子研 藤田 誠博士との共同研究）、配位結合を介して集合する人工脂質の膜表面における相分離挙動を捉える（九州大学 大谷 亮博士との共同研究）など、超分子化学と生命分子科学の融合研究を展開した。さらに、免疫系で機能する糖タンパク質である免疫グロブリンGと補体第1成分を対象に高速原子間力顕微鏡を用いた相互作用解析を行い、分子の構造の柔軟性が相互作用に及ぼす効果を定量的に可視化した（生命分子動態計測グループとの共同研究）。

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 バイオフォトンクス研究グループ

根本 知己（教授）

榎木 亮介（准教授）

大友 康平（准教授（兼任））2021年10月～

大友 康平（助教）～2021年9月

堤 元佐（特任助教）

石井 宏和（特任助教）

1) 専門領域： バイオイメージング、神経科学、細胞生理学

2) 研究課題：

- a) 高分子超薄膜の蛍光バイオイメージング応用
- b) 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
- c) 深層学習を用いた3次元時系列画像からの細胞自動検出・追跡
- d) 概日リズム中枢を司る神経回路の光イメージング
- 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) 高分子超薄膜の蛍光バイオイメージング応用

“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。本年度は本技術を展開させ、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、その方法論を公開した (Takahashi T. et al. STAR Protocols, 2021)。

b) 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限局されるため、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、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。

本年度は複数の励起光の拘束切換照射、分光検出光学系、取得データへの線形スペクトル分解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分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(Kamada T. et al., Sci. Rep. 2022)。

c) 深層学習を用いた3次元時系列画像からの細胞自動検出・追跡

近年、顕微鏡技術の向上により細胞集団の活動を三次元で経時的に観察できるようになった。しかし、多数の細胞の検出・追跡の自動化は依然として困難であった。名古屋市立大学・Wen博士、木村博士らは、細胞検出・追跡の双方に深層学習を適用するソフトウェアパイプライン「3DecCellTracker」を開発した。我々は両博士らとの共同研究で、ヒト癌由来細胞の三次元培養サンプル観察への3DecCellTracker適用を試みた。直径約200マイクロメートルのHeLa細胞スフェロイドを作製し、二光子顕微鏡にて約1000個の細胞の三次元経時観察を行った。取得した初期画像から訓練・検証データを作成して学習させた結果、実際の観察データにおいて約97%の精度で個々の細胞の自動追跡に成功した。3DecCellTrackerは線虫の脳神経細胞活動やゼブラフィッシュの心筋細胞拍動など種々の観察対象にも適用可能であることが示されており、これまで解析困難であった細胞活動ビッグデータの解析に貢献すると期待される。本研究の成果は2020年度に出版され（Wen C. et al., eLife, 2021）、生理研、生命創成探究センターおよび名古屋市立大学からプレスリリースが発表された。

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、脳のお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進行中である。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」の採択を受け、山手キャンパス8Fに冬眠実験室を設置し、シリアンハムスターの冬眠を誘導できる実験系を確立した。また冬眠様状態を惹起できる遺伝子改変マウスを導入して、マウスにおいても実験を開始した。さらに多チャンネル光ファイバー計測システムを設置し、頭部装着型の小型顕微鏡を構築して、生体内の神経活動をリアルタイム計測できる実験系を確立した。並行して、低温観察用タイムラプス顕微鏡を構築し、厳密な温度制御下で組織レベルの概日リズムを計測できる実験系を確立した。

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。

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（准教授（兼任））

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) GPCRの新奇内在化機構（REDAI）の同定とその病態生理学的意義の解明
- b) 心筋の交感神経刺激応答におけるTRPC6チャネルの役割
- c) 低温プラズマ照射システイン溶液の虚血心筋保護の作用機序の解明

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

G蛋白質共役型受容体（GPCR）はリガンド刺激後にGPCRキナーゼ（GRK）によりリン酸化され、 β アレスチン依存的に内在化することでシグナル強度を負に制御すると考えられている。しかし、一部のGPCRはGRKによるリン酸化を受けにくいことが知られておりこのようなGPCRがどのような機序で内在化するかについては不明であった。本研究では、プリン作動性GPCRの1種であるP2Y6Rの内在化機構について検証を行った。多くのP2Y family受容体はリガンド刺激後数分で内在化するのに対してP2Y6Rはリガンド刺激後数時間で内在化が誘導される。我々は、親電子物質や機能性食品成分イソチオシアネートがP2Y6Rの細胞内第3ループにあるCys220のSH基修飾および第2ループにあるLys137のユビキチン化を介して内在化を誘導することを見出し、この β アレスチン非依存性の新奇内在化機構をRedox-dependent alternative internalization (REDAI) と命名した。ブロッコリーなどに含まれるイソチオシアネートはREDAIを介してP2Y6Rの内在化を誘導することで抗炎症作用を誘導することを明らかにした。加えて、REDAIは、P2Y6R以外のGPCRでも保存されていることも明らかにした。

b) 心筋の交感神経刺激応答におけるTRPC6チャネルの役割

心臓の循環反射は血液循環恒常性を維持するうえで極めて重要な役割を果たしている。血圧が低下した際、交感神経系が活性化することで代償的に心機能が亢進することは教科書的にも知られているが、その一方で、交感神経終末から放出されるノルアドレナリンを感知するGPCRが親和性の高い α 受容体ではなく β 受容体である理由については良く理解されていなかった。我々は、TRPC6欠損マウスを用いた解析から、心筋細胞の β 受容体がノルアドレナリン刺激によって効率よく収縮力をあげるために、 α 受容体を介するTRPC6チャネルの活性化が必要であることを新たに見出した。TRPC6チャネルは亜鉛イオン (Zn^{2+}) を動員させることでノルアドレナリン刺激に対する β 受容体/Gsシグナリングを増強し、強心作用、特に陽性変力作用を増強させ、急性心不全を改善させることをマウスレベルで示した。

c) 低温プラズマ照射システイン溶液の虚血心筋保護の作用機序の解明

求核性の高い硫黄鎖をもつシステインを含む溶液に低温プラズマを照射し、低酸素ストレス下に曝露

した心筋細胞やマウス虚血心臓に処置したところ、再灌流（再酸素化）後の心筋細胞障害が著しく改善させた。この溶液中にはシステインよりも化学反応性の高い超硫黄分子種が生成されており、プラズマ照射システイン溶液を心筋細胞に処置することで心筋細胞内の超硫黄分子量が維持され、その結果、虚血／再灌流時に生じる超硫黄分子の分解と代謝硫化物の蓄積が軽減されることがわかった。その機序として、プラズマ照射システインが超硫黄化酵素sulfide:quinone oxide reductase (SQOR)の発現量を増加させる効果を持つことも新たに示された。

- 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。

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。2021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435個体、マーモセット687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7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（集団アレル頻度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種類の超える細胞タイプを同定し、バルプロ酸投与による薬理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、特に自閉症関連遺伝子において類似傾向が高いことを明らかにした。このことは、遺伝子・細胞タイプ特異的な疾患克服のための遺伝子治療に向け、本動物モデルの有用性の高さを示している。

また、認知ゲノミクス共同研究の一環としてiPS細胞由来神経細胞を用いたシングルセル遺伝子発現解析に関する論文(*Sci Rep*, 2021)、ニコチン作動性アセチルコリン受容体の鳴禽類の脳内でのシングルセル遺伝子発現解析に関する論文(*J Comp Neurol*, 2022)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。ヒト、チンパンジー、ゴリラの死後脳から数万の単一細胞の遺伝子発現情報を解析したところ、ヒト特異的な細胞タイプの存在を示唆する結果を得た（論文投稿準備中）。

c) ゲノム・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アフリカツメガエルを用いた蛍光相関分光法(FCS)やFRAP等の定量的な解析により測定し、それをもとにWntの空間分布形成を説明するモデルを提唱した。さらに、ゼブラフィッシュ胚を用いて内在性のWntタンパク質に蛍光タンパク質を付加し、胚体内における内在性Wntタンパク質の可視化を行うとともに、定量的な解析により細胞外空間におけるダイナミクスを測定した。また、組織内におけるWntの細胞間コミュニケーションの意義を明らかにするため、内在性Wntタンパク質を非分泌型に置換したマウス胚を作成し、解析を行った。さらに、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。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、分節時計の時間的周期性を体節の空間周期性に変換する上でのコアとなる遺伝子ネットワーク解明した。

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異常と細胞分裂期との関連性を解析した。

- 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。

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=JxrF13IAAAAAJ&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）

大橋 りえ（助教）

1) 専門領域：細胞生物学、神経科学

2) 研究課題：

- a) ILF3のプリオン様ドメインによる慢性ストレス下での遺伝子発現・恐怖記憶の制御
- b) 神経変性疾患原因タンパク質によるRNA顆粒ダイナミクスを介したシナプス形成への影響
- c) 低分子量Gタンパク質Arfの制御因子をコードするmRNAの神経樹状突起への輸送・局所的翻訳制御
- d) 翻訳開始因子eIF3aの天然変性領域の多様性が生み出すRNA顆粒ダイナミクス・翻訳制御

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) ILF3のプリオン様ドメインによる慢性ストレス下での遺伝子発現・恐怖記憶の制御

タンパク質の三次元構造を持たない天然変性領域（intrinsically disordered region, IDR）は、様々なタンパク質やRNAと相互作用することにより、複合体形成、液-液相分離、細胞内局在等を調節する。IDRの一種として知られるプリオン様ドメイン（PrLD）は、哺乳類では神経変性疾患の原因タンパク質であるTDP-43やFUSを始めとする約140種類のタンパク質に存在する。PrLDによるTDP-43やFUSの凝集化及び神経変性疾患に関する研究が、現在世界的に進められている。しかし、PrLDを持つ多くのタンパク質は健康な状態では凝集化せず、その生理的意義は多くが未解明である。Ilf3遺伝子は、選択的スプライシングにより、PrLDを持たないNFAR1及びPrLDを持つNFAR2を産生する。NFAR1及びNFAR2は共にRNA結合タンパク質であり、PrLDの有無に関わらず共通の転写・翻訳調節に関与することが報告されている。しかし、NFAR2へのPrLDの挿入により、複合体形成、液-液相分離、細胞内局在等にどのような相違が生じ、どのような表現型をもたらしているかは未知である。本研究ではそれをマウスを用いて解くことで、PrLDの生理的意義の解明に迫った。

感情と恐怖に関連する脳の扁桃体の細胞において、NFAR1及びNFAR2は通常核内に存在するが、マウスが身体的慢性ストレスを受けると細胞質へ移行した。PrLD欠損マウス（NFAR2特異的エクソンのナンセンス変異）はNFAR1のみを発現するが、このマウスの扁桃体ではNFAR1は通常でも核から細胞質へと移行してしまい、慢性ストレスによる核から細胞質への移行はもはや起こらなかった。このような細胞内局在の異常に伴い、mRNAの発現と翻訳のゲノムワイドなプロファイルも影響を受けた。すなわち、通常時でも既に慢性ストレスを受けたかのようなmRNA発現・翻訳プロファイルになっており、慢性ストレス誘発性のプロファイルの変化パターンは、野生型とは全く相関しなかった。さらに行動レベルでは、野生型マウスは慢性ストレスを受けても恐怖記憶を正常に形成したのに対し、PrLD欠損マウスは慢性ストレスへの耐性が低下し、恐怖記憶の形成が低下した。これらの結果は、PrLDがNFAR2及びそれに付随したNFAR1の核-細胞質局在を調節し、恐怖記憶形成における遺伝子発現調節及びストレス耐性を担うという生理的役割を明らかにした。

- b) 神経変性疾患原因タンパク質によるRNA顆粒ダイナミクスを介したシナプス形成への影響

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や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。RNA顆粒は、神経樹状突起上のシナプス近傍へのmRNA輸送、及びシナプス入力に応じた局所的翻訳制御を担い、シナプス長期増強及び長期記憶形成に関与する。RNA顆粒は液-液相分離によって形成されるが、その構成因子のダイナミクスや局在がTDP-43及びFUSの集積・凝集化によって影響を受けることにより、シナプス形成・増強が障害され、それが神経変性疾患の病態の原因になると考えられる。しかし、そのようなダイナミクス・局在への影響は不明な点が多い。

本研究では、マウス大脳皮質由来神経初代培養細胞に疾患型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の過剰発現によって、*staufen1*、*staufen2*、*pumilio2*には変化が見られなかった。一方、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量が低下し、RNA顆粒における局所的翻訳も低下した。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輸送につ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) 低分子量Gタンパク質Arfの制御因子をコードするmRNAの神経樹状突起への輸送・局所的翻訳制御

RNG105ノックアウトマウスにおいて樹状突起へのmRNA輸送が低下し、それに伴ってシナプス長期増強及び長期記憶形成が顕著に低下することを我々は既に報告した (Nakayama et al., eLife, 2017)。輸送が低下するmRNAの遺伝子オンロジー濃縮解析により、低分子量Gタンパク質Arfの制御因子 (Arf GAP, GEF) をコードするmRNA群の輸送低下が顕著であることを見出している。その中でも特に、Arf GEFであるPsdのmRNA輸送低下は顕著であり、その輸送を人為的にコントロール可能なマウスの作製を我々は目指している。

本研究では、Psd mRNAの輸送を担うcis責任領域が3'UTRであることを見出した。そこで3'UTRを欠損させたPsd mRNAをマウス神経初代培養細胞に発現させたところ、確かにmRNAの樹状突起への輸送は低下したが、同時にそのmRNAからの翻訳も低下してしまうことが分かった。つまり、3'UTRは輸送のみならず、翻訳活性化も担っていた。そこで、3'UTR上の輸送責任領域と翻訳活性化責任領域の絞り込みを行った結果、3'UTRの5'末端側と3'末端側がそれぞれ輸送と翻訳活性化を担うことが明らかになった。この結果に基づき、Psd mRNAの3'UTRの5'末端側のみを欠損させることで、mRNA輸送のみを低下させたマウスの作製と解析を進めている。

d) 翻訳開始因子eIF3aの天然変性領域の多様性が生み出すRNA顆粒ダイナミクス・翻訳制御

タンパク質の液-液相分離によって形成される凝縮体（コンデンセート）のダイナミクス・物性は、それぞれの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及びその生理的意義は不明な点が多い。我々は、液-液相分離を担う天然変性領域（IDR）のアミノ酸配列・組成・パターンの特徴の中にそれらを解く手がかりが存在すると考え、RNA顆粒の構成因子である翻訳開始因子eIF3aを対象として解析を進めた。

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が酵母に比べ約400アミノ酸も長く伸長している(vertebrate IDR, vIDR)。vIDRあり、なしのeIF3aをマウス神経初代培養細胞に発現させ、FRAP解析を行った。その結果、vIDRは静止状態の神経において、RNA顆粒におけるeIF3aの流動性を低下させるために必要であることを明らかにした。この流動性の低下は、RNA顆粒における局所的翻訳を抑制した。一方、神経が活動状態に移行した場合、vIDRはeIF3aの流動性の上昇に必要であった。以上の

結果は、eIF3aのvIDRは、神経静止状態におけるRNA顆粒の低い流動性及び局所的翻訳の抑制、一方、活動状態における流動性の上昇及び局所的翻訳活性化というスイッチングの役割を担うことを示唆した。vIDRは全長に渡って荷電アミノ酸が豊富で脂肪属アミノ酸が少ないという特徴を持ち、一定以上の長さがスイッチング機能に必要であった。生物の複雑化に伴って伸長したeIF3aのIDRが、神経活動依存的なeIF3aのRNA顆粒における流動性ひいては局所的翻訳の制御を介して、シナプス可塑性及び学習・記憶制御の多様性を生み出した可能性が示唆される。

- 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。

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）

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
- b) バクテリアの走化性制御系における酸素センサーシステムの構造機能相関解明
- c) 鉄イオンセンサータンパク質の構造機能相関解明

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 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活性部位を構成する金属中心の構造から[FeFe]型, [NiFe]型, [1Fe]型の3種類に分類される。本研究では、[NiFe]型ヒドロゲナーゼの活性中心生合成における、複数のアクセサリタンパク質やシャペロンタンパク質間での複合体形成や、反応中間体として形成される金属錯体のタンパク質間輸送反応の詳細を明らかにすることを目的として研究を進めている。これまでに、ヒドロゲナーゼ活性中心の構築に必須なCOの生合成反応に関与するHypXの結晶構造を決定し、HypXが補酵素A (CoA)を補因子として結合していることを明らかにした。得られた構造を基に、下記に述べるようなHypXによるCO生合成反応の反応スキームを提案した。CO生合成反応ではまず、HypXのN末ドメイン中でN¹⁰-formyl-tetrahydrofolateからCoAへのホルミル基転移反応が進行し、formyl-CoAが生成する。生成したformyl-CoAは、ホルミル基がC末ドメインに位置するよう、大きくそのコンフォメーションが変化する。その後、C末ドメイン中でformyl-CoAの脱カルボニル反応が進行し、COが生成する。formyl-CoAのコンフォメーション変化の過程は、MDシミュレーションによっても検討した。生成したCOを効率よく利用するため、活性中心の構成ユニットであるFe(CO)(CN)₂錯体生合成反応に関与するアクセサリタンパク質HypC/HypDとHypXが三者複合体を形成することを明らかにした。

b) 酸素センサータンパク質HemATとシグナル伝達タンパク質であるCheA、CheWから構成される、酸素に対する走化性制御システムにおける酸素センシングならびに酸素に依存したシグナル伝達反応の分子機構解明を目的として研究を行っている。好熱性*Bacillus*属細菌である*Bacillus smithii*由来のHemAT、CheA、CheWを単離精製し、CheA/CheWの二者複合体、HemAT/CheA/CheWの三者複合体が溶液中で安定に生成することを明らかにした。クライオ電顕によるこれら複合体の立体構造決定の予備実験として、ネガティブ染色した複合体サンプルの電子顕微鏡像の観測を行ったところ、直径が220~310 Åのサイズが異なるリング状構造が観測された。分子サイズから考えると、CheA、CheA/CheW、およびHemAT/CheA/CheWそれぞれのtrimer of dimerが形成されていると考えられる。本酸素センサーシステムにおいては、CheAとCheWがシグナル伝達の足場となるリング状構造を形成し、そこにセンサータンパク質であるHemATが付加した超分子複合体を形成するものと推定される。現在、この仮説を検証するための実験を進めている。

c) イネの細胞内鉄イオンセンサーとして機能すると考えられているユビキチンリガーゼHRZによる鉄イオンセンシング機構、および鉄イオンによるHRZの機能制御機構の解明を目的として研究を進めて

いる。HRZ の全長タンパク質、および HRZ 中に存在するヘムエリスリン様ドメイン、亜鉛フィンガードメインを大腸菌で発現させた場合、封入体を形成し、可溶性画分には発現しなかった。一方、タンパク質のフォールディングシャペロンとして機能するトリガーファクターとの融合タンパク質として発現させると、可溶性画分に発現することが分かった。現在、結晶構造解析に適用可能な状態の試料調製法確立に向けて検討を進めている。

- 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。

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>

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仔魚を用い、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仔魚といえども、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。2021年度は、胸びれリズム運動を司る脊髄内神経回路の解析を中心に研究を進めた。以下、この研究について記載する。

ゼブラフィッシュ仔魚の胸びれは外転筋と内転筋の二種類の筋肉で運動が制御される単純な構造を持つ。それにも関わらず、胸びれリズム運動は、複雑な構造を持つ哺乳類の四肢を用いた歩行運動と共通した特徴を持つ。例えば、左右の運動器の協調や、四肢の屈筋と伸筋に類似する外転筋と内転筋の交替制活動などである。これらの運動パターンを作り出す神経回路は、複雑な四肢を持つ哺乳類では詳細な解析が難しく、解明が遅れている。我々は単純なゼブラフィッシュ仔魚の胸びれを用いて、その制御神経回路の解明を目指している。

これまでの研究で、ゼブラフィッシュ仔魚の外転筋と内転筋をそれぞれ制御する二種類の胸びれ運動ニューロンの発火タイミングと、その発火タイミングを作るシナプス入力のパターンを明らかにした。これらの情報を元に、本年度はこれらのシナプス入力のソースである胸びれ運動ニューロンの直接の上流ニューロンとなる介在ニューロンの同定に取り組んだ。胸びれ運動ニューロンの上流ニューロンは多種類あるが、その中で、転写因子En1を発現する同側下行性の軸索を持つ抑制性介在ニューロン(En1ニューロン)の解析を詳しく行った。En1ニューロンの発火タイミングを調べると、外転筋運動ニューロンが受ける抑制性入力のタイミングに一致した。またEn1ニューロンが直接外転筋運動ニューロンに抑制性のシナプス入力をすることや、En1ニューロンを破壊すると外転筋運動ニューロンの受ける抑制性入力が減

少することを明らかにした。このことから、En1ニューロンが外転筋運動ニューロンの制御に関わる直接の上流ニューロンのひとつであることが強く示唆された。胸びれは四肢の相同器官であり、哺乳類のEn1ニューロンも歩行制御回路中で類似の役割を担っていることが期待される。

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）感覚入力を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仔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不可欠であることがゼブラフィッシュ仔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様ではなく、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) 回転対称多量体タンパク質のデザイン
- c) ヘム結合タンパク質のデザイン
- d) ATP結合タンパク質のゼロからのデザイン
- e) 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
- f) タンパク質構造の合理安定化法の開発
- g) α ヘリカルタンパク質構造のゼロからのデザイン
- h) 自然界に存在しないトポロジーのデザイン

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、5本あるいは6本ストランドから成る100残基以上のサイズの $\alpha\beta$ 型タンパク質構造のデザインに取り組んだ。しかし、NMRにより決定された構造では、内部のストランドの順番が入れ替わってしまっていた。計算機モデルとNMRによる実験構造を比較・解析することにより、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次構造パターンー3次構造モチーフー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。これらを考慮して新たにデザインし、NMRにより構造を決定したところ、設計した通りのストランドの並びを有しており、発見したデザイン原理の有効性が示された。

b) 回転対称多量体タンパク質のデザイン

多くのタンパク質は3次構造を形成した後に4次構造を形成することで機能を発現する。これまでにデザインしたタンパク質をビルディングブロックとして組み合わせることで、多様な形状の新規回転対称多量体をデザインする技術を開発する。これまでに開発した技術を用いてデザインしたタンパク質のひとつが、6量体を形成していることを示唆する結果を得ている。

c) ヘム結合タンパク質のデザイン

これまでにデザインしたタンパク質をビルディングブロックとして組み合わせることで、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う。特に、ヘム結合タンパク質を例として研究を行っている。これまでにデザインしたタンパク質を、3量体のコイルドコイルを形成する α ヘリッ

クスのNC末端それぞれに連結させることで、連結したドメイン間に小分子結合サイトが形成されるか計算機シミュレーションを行い調べている。

d) ATP結合タンパク質のゼロからのデザイン

自然界にはATPを加水分解して動的機能を発現するタンパク質が存在する。タンパク質がATPを加水分解するためのミニマムな装置を明らかにすることを目的とし、まずATPを結合するタンパク質のゼロからのデザインを行った。これまでに発見した3つのルールとヌクレオチド結合に重要とされるP-loopモチーフを用いることで、計算機上でATP結合タンパク質のデザインを行った。生化学実験により、デザインしたタンパク質は安定な構造を形成し、ATPに対して800 μ Mくらいの結合親和性を示した。今後は、結晶化して構造を解くことにより、ATPが設計した通りに結合しているのかを確認する。

e) 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た。また、V-ATPaseの非触媒活性部位に、ヌクレオチド結合サイトを設計することで、V-ATPaseに新規アロステリック機構を付与し、V-ATPaseの回転を加速することに成功した。

f) 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、重要な創薬ターゲットであるGPCRのうちアデノシンA_{2A}受容体について、状態選択的に安定化することに成功した。また、PET製品のバイオリサイクルに重要なPET分解酵素の安定化に成功した。

g) α ヘリカルタンパク質構造のゼロからのデザイン

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し、ヘリックス同士をつなぐ典型的なループパターン18種を明らかにした。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。これらのうち5つの異なる形状の α ヘリカルタンパク質をデザインしたところ、NMRで決定された構造は計算機モデルとよく一致していた。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300種類、配列7350種類の大量のデザイン配列を作り出した。

h) 自然界に存在しないトポロジーのデザイン

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を形成することが困難なために存在していないのか、それとも偶然生物が見つけないだけなのか、これらの謎に迫った。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。次に、これら新規トポロジーを持つタンパク質のデザインを行ったところ、8個全てのトポロジーについてデザインに成功した。これらの結果は、8個の新規トポロジーは偶然生物が見つけないことを示す。

- 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。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が、この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; Miura, Cell Rep, 2018)。さらに、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。この赤色蛍光ドーパミンセンサーR-GenGAR-DAと緑色蛍光ノルアドレナリンセンサーGRAB-NAを併用することで、ドーパミンとノルアドレナリンの同時可視化に成功した (Nakamoto, Goto, Mol Brain, 2021)。

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)。青色光に応答するCRY2-CIBやiLID-SspBといった光二量体化系を用いて、アクトミオシンの収縮力を下げることができる光遺伝学ツールOptoMYPTの開発に成功した。このツールを用いて細胞質分裂時における細胞表層と収縮環の間につき合いを定量的に見積もることができた (Yamamoto, Nat Comm, 2021)。さらに、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)。またこのPCB合成系を用いることで、近赤外蛍光タンパク質iRFPの蛍光輝度をこれまでに比べて数倍明るくすることに成功している (Sakai, JCS, 2021)。

- 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

脊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がどうやって非対称な遺伝子発現につながるかについては諸説あり、現在いくつかの作業仮説を検証している。

また、ノード繊毛の回転運動はその回転軸が胚体の尾側に傾いていることが左向きの水流発生に重要であることがわかっているが、傾き以外に異方性を持たない回転であるかどうかについては議論がある。ノード繊毛は構造的には中心対微小管を欠く9+0構造であり特段構造的な異方性はみつかっていないため、その基部にある基底小体を兼ねた中心体の構造に着目し解析したところ、ノード形成時には中心体が各細胞でばらばらな向きに分布しているのが、左向きの水流ができる時期に左右非対称な分布をとることがわかった。現在、変異体等を用いてこの現象の意義を解析している。

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）

加塩麻紀子（特任准教授）

丸山 健太（特任准教授）

齋藤 茂（助教）

- 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。

2021年度の主な研究成果：

1. マウス脳ミクログリアの温度依存的運動増強へのTRPV4の関与

マウス脳から調整したミクログリアの移動を 33 度 (低温)、37 度 (正常体温)、40 度 (発熱時の体温) で観察すると、温度が高くなるほどミクログリアの移動距離が長くなることが分かった。マウスの脳内ミクログリアに温度感受性 TRPV4, TRPM2 の遺伝子発現および機能的発現が観察された。TRPV4 欠損マウスの脳ミクログリアでは温度上昇に伴うミクログリア移動距離の増大が消失していた。マウス脳で *in vivo* で観察し (37 度と 32 度)、ミクログリアの突起の運動に温度依存性が観察され、その変化は TRPV4 欠損マウスでは消失していた。よって、マウスの脳内のミクログリアは温度感受性 TRPV4 チャンネルを使って脳内の温度を感知して運動し、神経の機能を監視・調節していると考えられた (P.N.A.S. 2021)。

2. 蚊唾液による TRPV1, TRPA1 の機能阻害

蚊の無痛性穿刺に関する唾液の関与を検討した。蚊の唾液は濃度依存的にヒト TRPV1, TRPA1 の機能を抑制した。また、マウスの唾液もマウス TRPV1, TRPA1 の機能を抑制したことから、唾液の TRPV1, TRPA1 に対する効果は普遍的であろうと考えられた。シアロルフィンが濃度依存的にヒト TRPV1, TRPA1 の機能を抑制した。マウスにカプサイシンやワサビ成分アリルイソチオシアネートを投与しての痛み関連行動が蚊唾液やシアロルフィンで抑制された。よって、蚊やマウスの唾液が痛みセンサーの TRPV1, TRPA1 の機能を阻害して鎮痛をもたらしていると結論された。ヒトを含む多くの動物がけがをしたときに傷口を舐めるが、その理由の一つは唾液による鎮痛かもしれない (Pain 2022)。

3. Thermal Gradient Ring によるマウスの温度依存性行動の解析

マウスの温度依存性行動はこれまで、後肢の下からレーザー熱刺激を与えるプランターテストや高温のプレート上での逃避行動を観察するホットプレートテストで行われてきた。また、温度グレイディエントがある装置でも、直線型のものが使われ、マウスが端を好む性質の影響を除外できなかった。プランターテストやホットプレートテストは痛み熱刺激への逃避行動を観察するがマウスの温度嗜好性は解析できなかった。そこで、ドーナツ型のプレートで自在に温度勾配をもたせる Thermal Gradient Ring を用い、滞在時間、移動スピード等の複数のパラメータを解析することで温度マウスの温度忌避行動と温度嗜好性を詳細に解析した。野生型マウスと TRP チャンネルの欠損マウス (TRPV1, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM8, TRPA1) を用いた (論文リバイス中)。

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チャン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チャン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脂質分析を行った。その結果、内因性カンナビノイドである2-linoleoylglycerol(2LG)やlinoleoyl ethanoamide(LEA)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チャン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チャン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チャンネルおよびTRPLチャン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チャンネルの活性制御に関わることを示した。TRPおよびTRPLチャンネルは光刺激の下流で膜変形による機械的刺激で活性化するモデルが提唱されて

いる。2LGで活性化した視細胞は低浸透圧による機械刺激でさらなる活性上昇が観察されたことから、両者は共同的にTRPチャンネルの活性を制御する可能性が示された。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となる（論文リバイス中）。

5. ショウジョウバエの物理刺激応答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チャンネルが重要な働きを担っているが、我々はこれまでにGPCR-PLC経路が温度感受性TRPチャンネルの制御に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) 脂質代謝遺伝子が温度走性に果たす役割の解析： 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)あるいは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、幼虫はそれぞれ高温あるいは低温に集積する真逆の表現型が得られた。MOGATは3つのパラログがゲノム上でクラスターを形成しており、このうち2つについて変異させると低温集積の表現型が現れる。さらに、TRPA1陽性神経でこれらの遺伝子をノックダウンすると、同様の低温選好性が見られた。これらの遺伝子の発現や機能などの詳細な解析を進めている。

2) 物理刺激応答に関わる脂質制御遺伝子の網羅的探索： 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 郷康広博士との内部連携）。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、これまで生理機能がほとんど明らかになっていない脂質の合成遺伝子について温度走性や機械刺激応答への寄与を見だしつつある。また培養細胞においてこの特殊な脂質の合成能を失った系統などを作製し、TRPチャンネルの応答性が脂質の有無で変化する予備的データを得た。今後、さらなる個体レベルおよび細胞レベルでの作用を検討しつつ、その他の候補遺伝子についてもスクリーニングを継続する。

上記と並行して、ショウジョウバエ近縁種間で異なる温度走性を示すものについて基本的な温度走性の表現型を解析すると同時に、上記で得られた温度走性に関わる脂質代謝遺伝子についてオルソログをクローニングし、分子機能と生理機能への寄与について解析を開始している。

6. 昆虫TRPチャン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チャン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チャンネル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、チャン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、機能欠損体を用いた行動実験を進めており、データが整った段階で論文投稿を予定している。

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ンネルである。それらのイオンチャン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定量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質を混合して行動解析スクリーニングを実施しており、神経イオンチャンネルを標的とする殺虫成分においてハエの生存率が低下する脂質の組み合わせを同定した。この処方 は農業害虫であるオウトウショウジョウバエにおいても有効であることを確認した。既存の共力剤との組み合わせでは相乗的な殺虫効果をもたらすことも明らかにした。今後は殺虫成分抵抗性を持つショウジョウバエや感染症媒介昆虫、その他の農業害虫などへの効果を評価しつつ、脂質がどのように増強作用をもたらすのかについて、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°C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°C)で飼育した場合に約36°C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°Cで1日だけ飼育すると忌避温度は42°C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のチャン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ン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°C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°C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>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=fgY1Yj0AAAAJ&hl=ja>

加塩麻紀子（特任准教授）

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

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6404-2339>

丸山健太（特任准教授）

Research Map: <https://researchmap.jp/read0133961>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5781-7930>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=T7E22NwAAAAJ&hl=en>

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) IgG分子と補体成分C1複合体/C1qの動的挙動解析（ExCELLS・加藤研）

高速AFMを用いて、C1複合体/C1qの構造ダイナミクスを解析した結果、C1qはIgG分子に対する相互作用ドメインが動的であることに対して、C1複合体では静的であることがわかった。C1複合体/C1qのIgG分子に対する結合特性を定量的に解析した結果、C1複合体がC1qよりもIgG分子に長時間結合することを見出し、C1複合体の静的特徴がIgG分子に対する長時間の結合に重要であることが示唆された。（論文発表済）

a-2) 微小管の屈曲によるキネシンの運動活性変調（北大・角五准教授）

高速AFMを用いて屈曲した微小管に沿って移動するキネシンの運動性を解析したところ、微小管の屈曲部位では直線状部位に比べてキネシンの移動速度が低下することがわかった。また、速度の低下は微小管屈曲部位におけるプロトフィラメントの位置に依存しないこともわかった。全原子分子動力学シミュレーションによって、運動速度を変化させる分子機構を調べたところ、屈曲部位置でのチューブリンダイマー間の距離変化によってキネシンと微小管の結合親和性が変化していることが明らかになり、この親和性の変化がキネシンの運動速度を現長していることがわかった。これらの結果は、微小管が力学ストレスを感知しモータータンパク質の運動性を変調するメカノセンサーとして機能することを示唆している。（論文発表済）

a-3) 針状タンパク質の自己組織化構造の制御とダイナミクス（東工大・上野教授）

β -helix, foldonおよび His-tagからなる構成される異方的な針状タンパク質タンパク質ニードル(PN)の先端間相互作用を制御することで、タンパク質集合体の2次元的なパターンを制御することに成功した。His-tagとfoldonを削除し、タンパク質間相互作用を変化させた3種類の先端修飾型PNを設計し、高速AFMでそれらの集合体を観察したところ、PN、His-tag欠失PN、His-tagおよびfoldon欠失PNはそれぞれ三角格子、ネマティック秩序を持つ単量体状態、繊維集合体をマイカ表面上で形成することが明らか

かになった。さらに、集合体形成のダイナミクスをHS-AFMにより観察し、モンテカルロシミュレーションにより解析したところ、マイカ-PN相互作用と柔軟で多点なHis-tag相互作用が、三角格子の形成を協調的に誘導していることがわかった。(論文発表済)

a-4) カドヘリンの動的構造解析

多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。カドヘリンの高速AFM観察、ダイマー変異体の網羅的解析、構造シミュレーションの結果、カドヘリンダイマーが、過去にX線結晶構造解析で報告されているストランドスワップダイマー、Xダイマーと、これまでに報告されていない新規のS形状ダイマーの3種類の状態で共存していることがわかった。さらに、カドヘリンのダイマー形成過程の直接観察により、S形状ダイマー、Xダイマー、ストランドスワップダイマーの順に、ダイマー構造を変形することで、安定状態に移移することがわかった。(論文投稿中)

a-5) 接着GPCR Celsrの動的構造解析 (岐阜大・笠井特任准教授)

接着GPCRであるCelsr (セルサー) は、細胞外領域に9個の細胞外カドヘリンドメインを有し、平面内細胞極性等のシグナル伝達に関与する。Celsrの細胞外領域全長の精製と高速AFM観察手法を確立し、Celsrがフレキシブルに屈曲する細胞外カドヘリンドメインを介して、ダイマーを形成することを発見した。Celsrのフレキシブルな構造的特徴は、これまで精力的に研究されてきた5個の細胞外カドヘリンドメインを有するクラシカルカドヘリンの静的な棒状構造と大きく異なっており、カドヘリンのドメイン構成の多様化に伴い、機械的特徴も多様化していることが示唆された。

a-6) 天然クモ糸の構造解析 (慶応大学・河野特任講師)

生体材料としての応用を目的として、人工クモ糸の物性や構造解析が精力的に行われているが、天然クモ糸の微細構造に関しては知見が限られている。天然クモ糸の表面構造を高速AFMで観察した結果、数十ナノメートルの球状の構造体で覆われていることがわかった。天然クモ糸は層構造から成ることが報告されていることから、天然クモ糸内部の微細構造解析を行うために、高速AFM観察用のクモ糸切片の作製方法の開発に取り組んでいる。

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(TIRFM)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。まず、 $\alpha 6$ と $\alpha 7$ ヘプタマーとの結合の高速AFMとTIRFMによる同時計測を試みた。アミノシラン処理したガラス表面に $\alpha 7$ の7量体単リングを吸着させることで、高速AFMによりガラス表面上の $\alpha 7$ 単リングの均一な単分子膜を観察することができた。さらに、高濃度の $\alpha 6$ を添加することにより、 $\alpha 6$ と $\alpha 7$ の結合を高速AFMで観察することができたが、蛍光標識 $\alpha 6$ が高濃度なためTIRFMによる一分子イメージングはできなかった。これは、 $\alpha 6$ と $\alpha 7$ の結合時間が通常1秒以下と比較的に短いために、高濃度条件でないと高速AFM測定が困難で、一方、蛍光顕微鏡ではこのような高濃度では一分子蛍光観察が困難なためである。そこで、長時間の結合時間を持つIgGとC1qとの結合観察に移行し、数秒の結合時間が観察されるようになった。現在、C1qを固定化するための最適な表面条件を見出し、蛍光標識IgGの非特異吸着を防止または激減させるためにガラス表面の不動態化を行っている。TIRFMはHS-AFMと比較して分解能が低いことから、非特異的吸着は高速AFM像とTIRFM蛍光シグナルの共局在観察を不可能にするため、基板表面の不動態化処理は特に重要である。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

TIRFM 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TIRFM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。本年度は探針の作成条件を最適化することで高速AFMの表面形状イメージングの分解能を向上させ、COS7細胞表面を高解像度で長時間イメージングと、細胞膜表面でのピット形成などの動的過程を観察することに成功した。さらに、高速AFMとエピ蛍光で細胞の細胞骨格を同時に観察することもできた。次のステップとして、表面構造イメージングと蛍光イメージング、さらにフォースマッピングを組み合わせる予定である。

光学顕微鏡の同時撮影画像を利用して枯草菌の位置を特定し、高速AFMを用いたバクテリア表面構造イメージングを行い、さらに、リゾチーム添加時の枯草菌のフォースマッピングとの同時計測にも成功した。リゾチームを添加するとバクテリアの表面が柔らかくなり、16秒の時間分解能で、硬さの劇的な変化を計測することができた。本手法を用いて、バクテリアの力細胞分裂の過程における力学的性質の解析に取り組んでいく予定である。

- 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。

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=JuMz3TIAAAAJ>

1-17 染色体工学研究グループ

香月 康宏（客員准教授）

1) 専門領域： 染色体工学

2) 研究課題：

生命システム理解に向けたネオ生命体創成を可能とする染色体工学技術の開発

3) 研究活動の概略と主な成果：

本研究の目的は、染色体スケールで異種ゲノムを導入したトランスクロモソミック（Tc）細胞・動物モデルの作製など、染色体工学基盤技術の確立により、生命システムを統合的に理解するためのプラットフォームを確立することである。具体的には①様々な生物種のゲノムおよび染色体を自在に目的細胞・動物に導入することで、デザイン細胞・動物作製を実現する基盤技術を確立する。これを活用し、全生命現象に関わる「時間」を理解する目的で、②マウスとヒトの発生時間の解明、③ゾウとマウスの寿命の違いの解明を実施する。④また、種々の生物機能をマウスに賦与することで、ネオ生命体設計原理を解明する。2021年度は①の中の染色体工学基盤技術の確立を進め、効率的な染色体導入のための基盤を整備した。今後も①を中心に支援に活用できる基盤整備を構築するとともに②③の研究を進める予定である。

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。

香月康宏（客員准教授）

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

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4818-4710>

1-18 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., Nature Communications, 2021)。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, Saito et al, plos comp. biol. 2021]。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, iScience 2021; Honda Saito, et al, P.N.A.S 2021]。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発見し、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, 2021 plos comp. biol. 2021]。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=PTRVS7sAAAAAJ&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）

中川 聡（客員准教授）

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、深海熱水域(Hashimoto et al., 2021)や蛇紋岩海山海底下(Menzie et al., 2021)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微生物生態系の生活スタイルや生物地球化学的機能についての成果を研究論文として発表した。なかでも、10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、沖縄トラフの熱水域に生息するシンカイヒバリガイの化学合成共生菌の遺伝的・機能多様性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」の終了後も発展的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

中川聡（客員准教授）

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

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0215-8154>

Google Scholar: <https://scholar.google.co.jp/citations?user=y13YnUUAAAAJ&hl=ja&oi=ao>

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）

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) 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。2021年度は、クマムシの乾眠の分子機構の解析に関して成果論文を発表した。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、生命分子動態計測研究グループ、および定量生物学研究グループとの共同研究により、高速原子間力顕微鏡、電子顕微鏡、NMRといった様々な先端計測技術を統合的に用いることにより、クマムシの細胞内に豊富に存在するタンパク質CAHS1 (cytosolic-abundant heat-soluble protein 1)の性質を調べた。その結果、乾燥を模倣した条件下では、このタンパク質同士が自然に集まってファイバーをつくることが明らかとなった。細胞に脱水ストレスがかかるとこのタンパク質のファイバーがゲルのような集合体をつくり、ストレスがなくなるとタンパク質の集合体は消失して元に戻る様子を捉えることに成功した。一方、同じくクマムシの細胞内に豊富に存在するタンパク質SAHS (Secretory-abundant heat-soluble protein) についても、極限環境耐性研究グループ、生命分子動態シミュレーション研究グループ、および生命分子動態計測研究グループとの共同研究を実施し、脱水に伴うSAHSタンパク質の構造ダイナミクスを原子レベルで記述することができた。さらに、極限環境耐性研究グループとの共同研究として、トゲクマムシ由来の新規タンパク質EtAHSを見出し、本タンパク質はCAHS1と同様に、水溶液中では一定の3次元構造を形成していないことを明らかにした。こうした発見は、水のない過酷な環境に対する生命体の適応戦略の理解につながると考えられる。一方、微小重力環境下で形成されたアミロイド線維の構造研究においては、物質-生命境界領域研究グループと共同で、野生型に加えて家族性変異型アミロイドβについてもクライオ電子顕微鏡を用いた形態解析を行っている。また、深海・地下生命研究グループとの共同研究として、深海微生物の糖鎖構造解析も順調に進行している。

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。

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>

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 冴（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

ヒ素汚染土壌や海水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(Warashina et al. 2021, Watanabe et al. 2021)。また、ヨコヅナクマムシに500 Gyのガンマ線を照射した後の復帰動態のトランスクリプトーム解析を行い、乾眠によって誘導される遺伝子との共通項を調べることによって、抗酸化・DNA修復に関わる遺伝子を多数明らかにした (Yoshida et al. 2021)。さらに、異クマムシ綱で初となる*Echiniscus testudo*のゲノム解析を行い、この種ではこれまでに発見してきた真クマムシの乾眠関連遺伝子が一つも保存されていないこと、ただし、常時高発現で、熱可溶性・天然変性性、脱水に伴うアルファヘリックス構造の顕現などの性質を同じくする新規タンパクEtAHSを同定し、クマムシが属する緩歩動物門においては二度独立して乾眠防御関連のタンパクが収斂的に獲得された可能性が示唆された (Murai et al. 2021)。

- b) クマムシの極限環境適応及び耐性機構の解明

乾眠関連遺伝子として我々が発見した CAHS 遺伝子が、乾燥によって可逆的に繊維化によるポリマライゼーションを経てゲル化することを明らかにした。これは膜やタンパクなどの細胞内容物を乾燥時においても保持する機構を示唆するものであり(Yagi et al. 2021)、これまでに提唱されてきたガラス化仮説を覆すものである(Arakawa and Numata, 2021)。また、分子動力学シミュレーションと AFM による単分子解析により、SAHS タンパクが明確な脂肪酸結合タンパク(FBP)様構造を持ち、ただし FBP とは異なる分子を内部にトラップすることが示唆された (Miyazawa et al. 2021)。未発表だが、この SAHS がヘムと脂肪酸をトラップすること、さらに SAHS がクマムシ固有の貯蔵細胞に局在することが明らかとなり、本タンパクが必ずしも乾眠に関わるわけではない可能性が見えてきた。これらの発見を含めクマムシ乾眠の分子機構について *Annual Review of Animal Biosciences* に最新の総説を出版した(Arakawa 2022)。

- c) クマムシ内発現ベクターの開発

クマムシ内で任意の遺伝子を発現することを可能にするベクター発現系の開発に成功し、クマムシ内で我々が発見してきた乾眠関連遺伝子の挙動を観察することが可能になった他、有用なタンパクマーカーをツールとして活用できるようになった。これまで RNAi しか使えなかったクマムシにおいて蛍光タンパクを用いた *in vivo* での観察が可能になり、クマムシ学において革命的な技術である。当初の最終目的である CRISPR/Cas9 系のゲノム編集はさまざまな困難があり継続して取り組んでいくが、本技術はそれ

を補完しさらに異なる応用性を持つものである。

- 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。

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=01j3jnIAAAAJ&hl=en>

田中冴（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：

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）を持つマルセイユウイルス(MalV)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。MalVにおいては、MalVに特徴的な5回軸直下の核膜の隆起がマイナーキャプシドタンパク質の特殊な配列により形成されていることを突き止めた。MedVにおいては、宿主細胞内外における粒子をそれぞれ構造観察した結果、MedVが他の巨大ウイルスとは異なる粒子成熟過程を持つことを明らかにした（Watanabe et al. J Virol 2022）。

b) ウイルス表面タンパク質の構造解析

新型コロナウイルスを中和するVHH抗体（K-874A）がどのようにウイルス粒子に作用しているかを、そのスパイク（S）タンパク質とK-874Aとの複合体を作製して、これをクライオ電子顕微鏡単粒子解析により構造解析した。結果、K-874AはSタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）とN末ドメイン（NTD）の間に結合し、ウイルスが細胞受容体に結合したに起こる膜融合過程を阻害することが明らかになった（Haga et al. PLoS Path 2021）。

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、地上では凝集して解析できなかったアミロイド繊維の分散を改善することができ、サブナノメートルでのクライオ電子顕微鏡構造解析が可能になった。

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、メジャーな3

つの構造状態に加えてその間の中間状態の構造を確認することができた。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、緑藻の光化学系I状態遷移超複合体(PSI-LHCI-LHCII超複合体)の構造を明らかにすることができた (Pan et al. Nat Plants 2021)。

- 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

2021年度 シンポジウム

1) 第4回ExCELLSシンポジウム

- ・ 開催日：2021年12月20日（月）
- ・ 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、斉藤 稔、椎名 伸之、西村 明幸
- ・ 口頭講演者：青木 一洋、若本 祐一、谷内江 望、古賀 信康、山口 良文、海津 一成、高田 慎治、吉川 雅英、加藤 晃一、柳澤 実穂、武村 政春

2) 第4回 ExCELLS 若手リトリート ※若手啓発事業

- ・ 開催日：2022年2月1日（火）、2日（水）
- ・ 開催形態：オンライン開催（Zoom）
- ・ 世話人：村木 則文、石井 宏和、近藤 洋平、中村 凜子、廣 蒼太、福原 大輝（スーパーバイザー）曾我部 隆彰、古賀 信康
- ・ 招待講演者：藤田 郁尚、西ヶ谷 有輝、服部 素之、本城 咲季子、横田 亮

2021年度 セミナー

1) 第1回 ExCELLS セミナー

- ・ 題目：分子集合体の触媒作用で探る生命の創成
- ・ 演者：松尾 宗征（広島大学）
- ・ 日時：2021年12月14日（火） 16:00～17:00
- ・ 開催形態：対面（山手3号館2階 大会議室）とオンライン（Zoom）のハイブリッド

2) 第2回 ExCELLS セミナー

- ・ 題目：細胞間シグナル伝搬と細胞集団運動：連続体力学モデルの理論解析と実験検証
- ・ 演者：福山 達也（創成研究領域 理論生物学研究グループ）
- ・ 日時：2021年12月15日（水） 12:00～13:00
- ・ 開催形態：オンライン（Zoom）

3) 第3回 ExCELLS セミナー

- ・ 題目：次世代ナノドラッグデリバリーを目指した研究の紹介
- ・ 演者：笠井 均（東北大学 多元物質科学研究所）
- ・ 日時：2022年3月4日（水） 12:00～13:00
- ・ 開催形態：オンライン（Zoom）

4) 第4回 ExCELLS セミナー

- ・ 題目：高速原子間力顕微鏡で明らかになった細胞間接着分子 E-cadherin のダイマー形成過程
From the nanoscale to the microscale: Multimodal observations with high-speed atomic force microscopy
- ・ 演者：西口 茂孝（創成研究領域 生命分子動態計測グループ）
GANSER, Christian Project Assistant Professor（創成研究領域 生命分子動態計測グループ）

- ・ 日時：2022年3月8日（火） 12:00～13:00
- ・ 開催形態：オンライン（Zoom）

5) 第5回 ExCELLS セミナー

- ・ 題目：自己複製 RNA を長期進化させると生命らしさが生まれるか？
- ・ 演者：市橋 伯一（東京大学総合文化研究科）
- ・ 日時：2022年3月29日（水） 12:00～13:00
- ・ 開催形態：オンライン（Zoom）

2021年度外部評価

- ・ 実施日：2022年1月28日（金）
- ・ 開催形態：オンライン開催（Zoom）
- ・ 外部評価委員：原田 慶恵（大阪大学 蛋白質研究所）、増原 宏（国立陽明交通大学（台湾））、Griesinger, Christian（Max Planck Institute for biophysical chemistry）

クライオ電子顕微鏡施設開所式

- ・ 開催日：2022年3月2日（水）
- ・ 開催形態：オンライン開催（Zoom Webinar）

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 |
| Supaphorn Saeetah | 生命分子動秩序創発研究グループ | 研究員 |
| 西 栄美子 | 生命分子動秩序創発研究グループ | 研究員 |

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を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、糖転移酵素の細胞内局在を指標に 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 | バイオフィトニクス研究グループ | 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 | 心循環ダイナミクス創発研究グループ | 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otonクス研究グループ | 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otonクス研究グループ | 教授 |
| 山口 良文 | 北海道大学 | 教授 |
| 砂川玄志郎 | 理化学研究所 | チームリーダー |
| 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を利用し、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する。特に研究課題では、低温環境下における概日リズム振動体の解析、およびTRPチャンネルによる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。

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。

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TORC1活性測定法の開発と真核細胞における応用

2) 共同研究者

| | | |
|-------|--------------|-------|
| 青木 一洋 | 定量生物学研究グループ | 教授 |
| 古賀 信康 | 生命分子創成研究グループ | 准教授 |
| 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 2 種類の複合体を構成し、細胞外界の環境変化に対応して、増殖に関わる様々な機構を制御している。我々は、分裂酵母と出芽酵母の 2 種類の酵母で、栄養応答シグナル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 活性を測定するために、これまで、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って検出してきた。この際、細胞集団は均一の状態であると考えられてきたが、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 の活性状態が異なる可能性もある。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 バイオセンサーや KTR 型バイオセンサーの開発を試み、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。

小山 宏史（基礎生物学研究所・助教）

1) 研究課題：細胞間相互作用のポテンシャルを規定するタンパク質の同定

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 |
| 大谷 哲久 | 生理学研究所 細胞構造研究部門 | 助教 |
| 中村 和幸 | 明治大学 総合数理学部 現象数理学科 | 教授 |
| 近藤 洋平 | 定量生物学研究グループ | 助教 |

3) 研究概要

物理学や化学において、物体間の相互作用の特性は系の性質を決める基本的な要素である。例えば、分子やコロイドにおいては、粒子間の引力や斥力といった力（ポテンシャルエネルギー）が系のダイナミクスや安定性を規定する。多細胞系においても細胞を粒子とみなした数理的な研究が行われてきたが、ポテンシャルを計測した事例はなかった。我々は多細胞系において細胞間のポテンシャルを推定する数理的方法を構築してきた。本方法をマウス初期胚に適用した。細胞間相互作用に関わる各種のタンパク質（カドヘリンなど）を阻害した場合にポテンシャルのプロファイルに変化が生じるかを検証したところ、定量的な相違が検出された。さらに、この相違が細胞集団の挙動を説明できることをシミュレーションによって明らかにした。以上から、多細胞系の挙動の理解において、ポテンシャルが有効であることがわかった。

上原 日和（核融合科学研究所・助教）

1) 研究課題： 褪色フリーな生体イメージングによる侵襲性評価に基づいた赤外レーザーメスの開発

2) 共同研究者

| | | |
|-------|--------------------|------|
| 大友 康平 | 順天堂大学 | 准教授 |
| 古瀬 裕章 | 北見工業大学 | 准教授 |
| 石井 宏和 | バイオフィotonics研究グループ | 特任助教 |
| 堤 元佐 | バイオフィotonics研究グループ | 特任助教 |
| 根本 知己 | バイオフィotonics研究グループ | 教授 |

3) 研究概要

本研究では、動物手術、並びに生体イメージングの効率化・高精度化に資する、中赤外レーザーメスを開発する。同時に、当該メスの侵襲性評価のため、褪色性に優れた無機ナノ蛍光体を開発し、これを用いた超解像生体イメージング技術を確立する。

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。この際に、細胞の内部状態に依存して、増殖速度の pH 依存性が異なることを見出し、より詳細な条件設定が可能となった。

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行うことを可能にしている。細胞状態や時間依存的にオルガネラの形態が大きく変化することが報告されており、こうした変化は、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ものと想定される。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。

一方で、細胞内における遺伝子発現は、上流に位置するプロモータ領域、さらにはイントロンも含めたゲノム情報により制御されている。こうしたことから制御領域も含めたターゲット遺伝子を細胞内にインストールすることで、ターゲット遺伝子の発現が内在性の遺伝子と同様の制御を受けるものと想定される。

本研究では、制御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し、オルガネラの形態を捉える技術基盤を整えた。本技術基盤を利用することで、ゴルジ体やミトコンドリアにおけるオルガネラダイナミクスを可視化・制御する研究がより一層推進することが期待できる。

黒川 洵子 (静岡県立大学・教授)

1) 研究課題： 興奮性細胞創成に向けた膜電荷による組織分化誘導技術の分子的基盤

2) センター内研究者

| | | |
|-------|-------------------|----|
| 西田 基宏 | 心循環ダイナミズム創発研究グループ | 教授 |
| 青木 一洋 | 定量生物学研究グループ | 教授 |

3) 研究概要

生物の個体発生では、非興奮性細胞である受精卵に始まり、分化・成熟を経て、筋肉・神経・内分泌腺等の一部の細胞が興奮性を獲得し、細胞間の刺激伝達ネットワークが形成される。本研究では、生体組織ネットワークの創成を目標とし、興奮性細胞の活動に必要となる膜電荷を人工的に供給することによって、刺激入力に応答する興奮性細胞を人工的に創成することを研究目的とした。具体的には、ヒト iPS 細胞からの心筋分化誘導や骨格筋成熟化を対象に、細胞に対して人工的に膜電荷を供給し、受動的興奮を示す興奮性細胞としての特性を獲得する分子メカニズムを調べた。その結果、活動電位を形成するイオンチャネルの発現のみではなく、細胞内ナトリウムイオン動態が興奮性の形成に重要であることを wet 実験とシミュレーションを組み合わせることにより示した。

山口 良文 (北海道大学・教授)

1) 研究課題: 極端な低体温時に体熱を保持・産生する機構の解析

2) センター内研究者

榎木 亮介

バイオフィotonics研究グループ

准教授

富永 真琴

温度生物学研究グループ

教授

3) 研究概要

恒温動物である哺乳類の中には、季節性あるいは急性の食料枯渇を乗り切る戦略として、体熱産生を能動的に減弱した低代謝状態となり、体温を低下させる冬眠を行うものが存在する。なかでも小型冬眠哺乳類は、深部体温が 10°C 以下まで低下した「深冬眠」と呼ばれる不動状態での生存が可能である。興味深いことに、深冬眠時でも心拍数は大幅に減少しつつも完全に停止するわけではなく、その深部体温も外気温より 1-2°C ほど高く保たれる。本研究では「深冬眠時に最低限の体熱を保持・感知する仕組みは何か?」という問題に、低温での温度イメージングと動物の長期活動量計測を可能とするシステムを構築することでアプローチする。本年度は、これらシステムの構築に着手し、一部計測が可能となった。

武村 政春 (東京理科大学・教授)

1) 研究課題: 巨大ウイルスの複製・感染メカニズムならびに極限環境における生態的役割の解明

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 |
| 村田 和義 | 物質-生命境界領域研究グループ | 特任教授 |
| 谷中 冴子 | 生命分子動秩序創発研究グループ | 特任助教 |
| 宋 致弘 | 物質-生命境界領域研究グループ | 特任助教 |

3) 研究概要

Phylum *Nucleocytoviricota* (核細胞質性ウイルス門) に属する大型の二本鎖 DNA ウイルスのうち、近年世界中の水や土壌から分離されている「巨大ウイルス」の多くは水環境、とりわけ水底に溜まった底質泥などから分離されることが多く、そうした環境における生態系の一員として重要な役割を果たしていることが示唆されている。そこで本研究では、メドゥーサウイルス、ミミウイルス・シラコマエ、ならびに *Vermamoeba vermiformis* に感染する新規巨大ウイルスに関する感染、複製メカニズムを解明することなどを目的とした。本年度においては、メドゥーサウイルス感染ならびに非感染アcantamoeba (*Acanthamoeba castellanii*) 細胞の細胞核内構造に関する細胞生物学的解析、ならびにメドゥーサウイルス遺伝子の発現ベクター pGAPDH-EGFP-Neo への導入と、発現効率の検討を行った。その結果、メドゥーサウイルス感染細胞の細胞核が有意に増大することが明らかとなり、またメドゥーサウイルスヒストン H1 のアcantamoeba での安定発現に成功した。

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

| | | |
|-------|--------------------|------|
| 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 |
| 加藤 晃一 | 生命分子動秩序創発研究グループ | 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。

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 LC-MS/MS-based glycoproteomic workflow that would enable high sensitivity detection and precise sequencing of affinity-captured glycoproteins/glycopeptides carrying laminin-binding, Lewis X and/or sulfated glycans. In this year, we have succeeded in mapping the specific N-glycosylation sites on LAMP-1 prepared from the FUT9-expressing CHO-K1 cells that carries Lewis X.

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。

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抑制する化合物を用いた慢性疾患治療への応募研究

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 |
| 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

エネルギー産生場として知られるミトコンドリアは、常に分裂と融合を繰り返し、恒常性を維持している。このバランスが崩れることにより様々な疾患が引き起こされることが知られており、我々は心筋梗塞初期に起こる心筋ミトコンドリアの過剰分裂が早期老化（機能低下）の原因となることを見いだした。さらにミトコンドリアの過剰分裂抑制薬として既承認薬のシルニジピンを同定した。ミトコンドリアの過剰分裂は心筋梗塞部位だけではなく、神経変性疾患をはじめとする難治性疾患の発症にも影響することが知られている。慢性疾患モデルマウスにてシルニジピンにおける薬理作用を評価することで、組織恒常性を維持する上でのミトコンドリア品質管理の重要性を明らかにすることを本研究の目的とした。さらに、品質保護効果をさらに高めたシルニジピン誘導体を合成し、より最適な化合物の同定を試みた。これらのことを通して、ミトコンドリア品質管理を標的とした、新たな創薬ストラテジーの構築を目指す。

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

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、急速静脈注射による容量負荷環境での TRPC6 又は TRPC3 の各遺伝子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し、その変化を評価する。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。

鈴木 達哉（青森大学・助教）

1) 研究課題：糖転移酵素のタンパク質特異的な糖鎖修飾メカニズムの解明

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

3) 研究概要

細胞内輸送に関わるタンパク質の一つである MCFD2 は積荷となる糖タンパク質のアミノ酸配列を認識しゴルジ体から小胞体への輸送を行う。近年、細胞内輸送経路の違いによりタンパク質の糖鎖修飾様式が変化することが知られており輸送体と積荷基質との認識・輸送プロセスの機構の解明について関心が高まっている。本研究では新たな分子プローブを開発し、MCFD2 が認識する潜在的な基質を同定する技術を確立することを目指した。

蜷川 暁（神戸大学・助教）

1) 研究課題： N型糖鎖のマンノース切除酵素の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

小胞体におけるタンパク質の分解は、N 型糖鎖を持つタンパク質を処分する糖鎖依存分解経路と、糖鎖の構造に依存せずタンパク質を処分する糖鎖非依存分解経路の2つに大別される。糖鎖依存分解経路では、糖鎖に含まれるマンノースが2段階で刈り込みされることによって、最終的に分解シグナルが露出する。本研究グループは、このマンノース刈り込みの第一段階に関わる酵素 EDEM2 の in vitro 活性を明らかにしていた。そこで今回、マンノース刈り込みの第二段階に関わる酵素 EDEM1 と EDEM3 の in vitro 活性を示すことに成功した(George, Ninagawa et al., 2021 eLife)。EDEM2 が TXNDC11 と複合体を形成しないと酵素活性が検出できないことに対して、EDEM3、EDEM1 は、それぞれ単独で酵素活性を発揮し、N型糖鎖の分解シグナルを露出させることを明らかにした。

矢木 宏和（名古屋市立大学・准教授）

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、免疫グロブリン G (IgG) を対象として、C1 補体複合体との相互作用を高速 AFM により定量的に明らかにした。さらに、グルタミンを含まない培地で安定同位体標識した IgG を発現させる技術を開発し、糖タンパク質の NMR 構造解析を行うための技術基盤を確立した。

神谷 由紀子 (名古屋大学・准教授)

1) 研究課題：非環状骨格型人工核酸の高次構造解析

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 |
| 内山 進 | 生体分子相互作用計測グループ | 客員教授 |
| 兒玉 篤治 | 生命分子動秩序創発研究グループ | 博士研究員 |

3) 研究概要

申請者らのグループで開発された SNA、L-*a*TNA 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。2020 年度の共同研究において、L-*a*TNA/RNA および SNA/RNA の、二種類のヘテロ二重鎖の立体構造を決定した。その際に、予期せず SNA および L-*a*TNA が RNA と、三重鎖形成することを見出した。そこで 2021 年度は、溶液中における本三重鎖の形成能の評価を行った。一般共同研究利用における超分子質量分析をはじめとした解析により、SNA および L-*a*TNA がともに RNA の三重鎖を形成することを見出した。さらに、三重鎖形成の主鎖構造依存性を解析したところ、非環状型人工核酸のホモ三重鎖を形成することを示唆するデータが得られたが、一方、RNA 二重鎖と非環状型人工核酸の三重鎖は形成しないことを明らかとした。

課題番号 21-310 ExCELLS 一般共同利用研究

武村 政春（東京理科大学・教授）

1) 研究課題： 巨大ウイルス粒子ならびに巨大ウイルス感染宿主細胞表面糖鎖と、巨大ウイルスがもつ糖転移酵素に関する研究

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 |
| 村田 和義 | 物質-生命境界領域研究グループ | 特任教授 |
| 谷中 冴子 | 生命分子動秩序創発研究グループ | 特任助教 |
| 宋 致弘 | 物質-生命境界領域研究グループ | 特任助教 |

3) 研究概要

課題番号 21-206 と同じ

佐藤 匡史（名古屋市立大学・研究員）

1) 研究課題：細胞内輸送システムに着目した糖タンパク質生産法の開発

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。こうしたパスポート配列をモデル糖タンパク質であるエリスロポエチンに組み込みこんだところ、その糖鎖の発現パターンに通常とは異なる明確な変化 (α 2,3 シアリル化の亢進) が認められた。本研究では、パスポート配列に依存した糖タンパク質の細胞内輸送に着目し、本配列が糖鎖修飾を規定する分子メカニズムの解明を目指した。

山口 拓実（北陸先端科学技術大学・准教授）

1) 研究課題：糖鎖の動的相互作用プロセスの解明

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 |
| 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

糖鎖は内部運動の自由度が高く、溶液中では一定の 3 次元構造を取らずに多数のコンフォマーの間を揺らいでいる。糖鎖の動的な構造を理解することは、レクチンとの相互作用プロセスを解明する上で重要である。本研究では、小胞体レクチンの相互作用標的となる 3 本鎖高マンノース糖鎖 M9 および M8B をモデル分子とし、大規模分子シミュレーションから得られた構造アンサンブルに対し、カーネル法を用いた非線形的なデータ解析を行う方法を開発した。これにより、構造アンサンブル中の種々のコンフォマーをその類似性に基づいて分類することに成功し、立体構造の揺らぎの情報を抽出することができた。さらに、M9 と M8B においてそれぞれの糖鎖に特徴的なコンフォマーをあぶり出すことで、各糖鎖の動きの違いを明らかにすることができた。

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

1) 研究課題 : Structural and dynamic study on ATPases involved in nucleosome dynamics

2) センター内対応者

KATO, Koichi

Biomolecular Organization Research Group

Professor

3) 研究概要

The ATAD2 family of histone chaperones are AAA+ ATPases that are involved in nucleosome assembly and disassembly. Although it is well established that ATAD2 chaperones impact gene regulation and cell cycle progression by modifying chromatin architecture, the molecular mechanism of these chaperones are unknown. Moreover, ATAD2 assumes different functions depending on model organism or cellular context, thus leaving a gap in our understanding of these motors. In this work, we aim to understand the mechanism of the ATAD2 family by observing the single-molecule dynamics of ATAD2 by high-speed atomic force microscopy (HS-AFM). Specifically, we dissect dynamic structural changes associated with the addition of histone H3H4 substrate, and understand the different structural mechanisms of ATAD2 orthologs.

山本 聡（札幌医科大学・助教）

1) 研究課題：多剤耐性に関わる細菌タンパク質の構造機能解析

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

3) 研究概要

これまでの申請者の研究によって、ペニシリン結合タンパク質 2 (PBP2) に変異を示した多剤耐性淋菌に対してピペラシリン (PIP) が効果的であることや大腸菌の病原性に関わる因子をマウス全身感染モデルにて明らかにした。本研究では、PBP2 および未知タンパク質である hypothetical protein-1 (Hypo-1) および 3 (hypo-3) および EmrR の結晶構造を取得し、構造生物学・生化学的に解析を行うことで耐性化メカニズムを明らかにすることを目的とした。

本研究において全長鎖の PBP2, Hypo1, Hypo3 および EmrR を大腸菌に発現させ、精製することに成功した。その後、精製タンパク質を用いて結晶構造の解析を試みたが、分解能の高い結晶を得るには至らなかった。EmrR については等温滴定熱測定 (ITC) を行い、大腸菌の病原因子の発現を規定する薬剤との結合性と結合様式を明らかにした。高分解能の結晶を取得できなかったことから、これらタンパク質の全長鎖は構造の揺らぎから、均一な構造を有していないことが示唆される。そのため病原性に関わる領域に限定した構造解析や発現宿主の工夫が必要とされ、次年度以降継続して取り組んでいく予定である。

杉山 正明（京都大学・教授）

1) 研究課題： マルチスケール動態解析によるタンパク質の機能発現機構の解明

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 |
| 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、機能発現との関連を明らかにすることを目的とする。今年度はプロテアソームや時計タンパク質といった超分子タンパク質複合体を対象とした動的構造解析を実施した。中性子小角散乱計測を始めとする複数の実験手法と分子シミュレーションを組み合わせた統合アプローチ法を確立するとともに、それを時計タンパク質 KaiA-KaiB-KaiC 複合体の構造ダイナミクス解析に応用し成果を挙げた。

稲垣 佑都（名古屋市立大学・助教）

1) 研究課題：多様な生命現象を制御する mRNA 代謝複合体の解明

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 |
| 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

mRNA の 3' 末端に存在するポリ A 鎖は転写後の遺伝子発現制御において、重要な役割を果たしている。このポリ A 鎖は多様な生命現象に深く関与することが明らかになっている。これまでに私たちは、RNA 結合タンパク質 Ataxin-2 が Ataxin-2 を中心とした複合体を形成することで、標的 mRNA のポリ A 鎖伸長を誘導し、その翻訳を活性化することを明らかにしてきた。また、これまでに私たちは、RNA 結合タンパク質 LARP1 が mTOR シグナルを抑制することで、LARP1 の標的 mRNA である TOP mRNA のポリ A 鎖を伸長させることを明らかにしてきた。そこで、本研究では、LARP1 に着目し、LARP1 の IP-LC-MS/MS を行うことで、LARP1 と共にポリ A 鎖伸長を誘導する因子を同定し、複合体の全容の解明を試みた。

後藤 勝正（豊橋創造大学・副学長 研究科長 教授）

1) 研究課題： 骨格筋可塑性発現における Piezo チャネルの機能解析

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

骨格筋細胞における機械的刺激受容チャネルとしての Piezo チャネルに着目し、運動刺激に対する骨格筋の適応における機械的刺激受容機構を解明し、Piezo チャネル活性化による運動効果獲得増強法および加齢性筋肉減弱症（サルコペニア）に対する新規治療戦略確立のための知的基盤形成を目的に実施した。骨格筋組織幹細胞である筋衛星細胞を用いて、筋細胞の分化に伴い Piezo チャネル発現量は増加すること、Piezo チャネルの活性化により筋管成長が促進することが確認できた。筋管細胞に分化させた後に伸展刺激を加え、蛍光指示薬による細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を追究した。その結果、筋管細胞内 Ca^{2+} 濃度は伸展刺激に応じて増加すること、siRNA によるノックダウンによりこの細胞内 Ca^{2+} 応答は消失した。したがって、骨格筋細胞の機械的刺激受容機構として Piezo チャネルが機能していることが示唆され、詳細な解析を継続中である。

田中 大介（東京医科歯科大学・講師）

1) 研究課題： 快・不快情動を担う神経細胞のマウス全脳マッピング

2) センター内対応者

野中 茂紀

生命時空間制御グループ

准教授

3) 研究概要

快・不快の情動的体験は、意識的感觉を構成する重要な要素であり、その異常が種々の精神疾患でも報告されているが、その発動を担う神経基盤は未だ解明されていない。本研究では、マウス味覚反応テストにおける快・不快反応を快・不快の情動的体験の” readout” として用い、その反応時に活動している神経細胞の分布をマウス全脳において単細胞レベルで明らかにする。そのために、特定の時期に神経活動のあった神経細胞で特異的に tdTomato が発現する遺伝子改変マウスを用いる。この tdTomato の発現を神経活動の指標として、快および不快反応時に活動する神経細胞の分布を、脳全体を透明化したのち光シート顕微鏡を用いて全脳規模で網羅的に調べる。

古澤 力（東京大学・教授）

1) 研究課題： 機械学習を用いた生物形態の定量化とその応用

2) センター内対応者

斉藤 稔

理論生物学研究グループ

准教授

3) 研究概要

骨や器官の「形態」を計測する技術として頻繁に用いられるのが、解剖学的に特徴のある部位をランドマークとして用いるランドマーク法である。しかしこの手法はランドマーク位置の定義に恣意性があり、また、ランドマークを共有しない離れた種間の形態の比較ができないという問題もある。本研究では、機械学習を応用し、ランドマークフリーで画像データのみから形態の定量化を行う手法を開発した。提案手法を霊長類（ヒト科、オナガザル科、キツネザル科等）の下顎骨の画像データに応用し、異なる科のデータが見分けることができるような特徴量の抽出を行なった。さらに下顎骨の一部が欠損したような欠損データであっても、欠損部の復元や、科の分類が可能であることなどを示した。

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ミステリンの構造—活性—機能相関解明

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 |
| 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

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、なご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きがけて解明した (*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。

小川 覚之（獨協医科大学・講師）

1) 研究課題： 脳神経疾患・精神疾患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

Christian Ganser

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タンパク質—タンパク質間の分子認識機構、疾患に関与する分子病態に焦点を絞り、高速 AFM を用いて溶液中の動的な構造変化の解析を進め、リアルタイム計測を行った。AFM による溶液中構造変化について、クライオ電顕や小角散乱、質量分析等による測定データとの相関解析を行い、論文を投稿した。

坂口 怜子（産業医科大学・講師）

1) 研究課題： 受容体作動性Caチャンネル阻害剤の腎機能に関する研究

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 |
| 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 |
| 田中 智弘 | 心循環ダイナミズム創発研究グループ | 特任助教 |

3) 研究概要

Transient Receptor Potential canonical 6 (TRPC6)はTRPチャンネルファミリーの一つで、脳、血管や腎臓に多く発現している受容体作動性の非選択的カチオンチャンネルである。TRPC6はアミノ酸残基の点変異によりチャンネル活性が異常に亢進することで、タンパク尿を呈する腎疾患であるネフローゼ症候群に関与することが知られている。本研究において、申請者らはTRPC6のチャンネル活性を阻害する小分子化合物(L-862)を創出した。ネフローゼ症候群モデル動物にL-862を投与したところ、タンパク尿の軽減や腎腫大の著明な抑制が確認された。さらに、組織学的な解析を行ったところ、ネフローゼ症候群では腎臓におけるTRPC6の発現量が上昇したが、L-862を投与することでこの発現上昇が抑制されることを見出した。

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

四宮 愛

定量生物学研究グループ

特任助教

3) 研究概要

生物活動には、約1日周期の概日リズム、およそ1年周期の概年リズムなど、様々な周期のリズムが観察される。また生物は、明暗や日射量、温度などの1日の変動、1年の季節変化等、外部環境の周期的なリズムに晒されながら生活している。本研究では、環境情報が生物のリズム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、明瞭な年周リズムを示すメダカの繁殖をモデルとして、屋外自然環境が生殖腺サイズ(生殖腺指数, GSI)の変化に与える影響を統計・情報理論的に解析した。日射量、水温、日長、GSIのデータから、GSIの変化を予測する統計モデルが得られ、生殖腺サイズの変化には、生殖腺サイズそのものが最も寄与していることが示唆された。継続して取得している屋外環境における生物および環境データを用いて、得られた統計モデルの検証を実施中である。

中尾 新太郎 (国立病院機構・眼科医長)

1) 研究課題： シングルセル解析による眼内増殖組織の活動性バイオマーカー検索

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

網膜増殖性疾患は失明に直結する疾患である。外科的手術が唯一の治療法であるが、度重なる手術が必要となる場合がある。現在、有効な薬物治療の開発が困難な理由として、増殖組織が多様な細胞の集合体であり、細胞の相互作用と環境への反応が存在することが考えられる。本研究では黄斑上膜と増殖糖尿病網膜症の2疾患に絞って、増殖組織のシングルセル RNA シークエンスにより、増殖組織に含まれる細胞群とその遺伝子発現を同定することを目的とした。対象は審査承認を得た九州医療センター、及び九州大学病院にて上記疾患にて硝子体手術を行う患者に対し術前に十分な説明を行い、同意書を取得後、眼内増殖組織を硝子体手術時に回収、採取単細胞化する。細胞数をカウントした後、Recovery™ Cell Culture Freezing Medium を添加・懸濁し、液体窒素にて保管、目標細胞数に達した後、BD FACSAria セルソーターを用いて生細胞をソーティングし回収する。回収した生細胞を生命創成探究センターにて 10xGenomics 社 Chromium システムを用いて単一細胞発現解析用ライブラリの作製、シーケンス解析を行う。

河野 暢明（慶應義塾大学・特任准教授）

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。

小田 康祐 (広島大学・助教)

1) 研究課題： パラインフルエンザウイルスC蛋白質と新規標的因子が形成する複合体の化学量論解明

2) センター内対応者

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

ヒトパラインフルエンザウイルス (hPIV) は、RS ウイルスに次いでウイルス性風邪の主たる原因であり、クループ症候群を引き起こすなど、小児に重要なウイルスである。hPIV ではC蛋白質がウイルス病原性に重要であり、ウイルス生活環の様々な点で複数の異なる蛋白質と相互作用することで、様々な作用を感染細胞内に引き起こす。C蛋白質が関与すると推察される感染細胞内の事象は、C蛋白質の既知の標的蛋白質との結合だけでは説明できない。ごく最近当研究グループは、酵母 two hybrid 解析よりC蛋白質の新規標的蛋白質をいくつか同定した。そのうちのひとつは、免疫共沈降など分子生物学的手法では検出できず、高濃度に調製した場合にのみ、ゲルろ過分析でC蛋白質と複合体を形成することが検出できる。本研究では、この新規標的蛋白質とC蛋白質が形成する複合体の化学量論を Native MS 解析より明らかにすることを目的とした。

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が、生後の新機能についての知見は殆どない。そこで、我々は数種類のダウン症モデルマウスを用いて、生後の心機能について 4 次元組織イメージング装置により評価を行っている。

課題番号 21-402 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。

中澤 敬信（東京農業大学・教授）

1) 研究課題：精神疾患のシングルセルレベルの分子病態解析

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

自閉スペクトラム症は、社会的行動やコミュニケーション等に障がい認められる頻度の高い疾患です。病態や発症のメカニズムは不明な部分が多く残されており、多数の患者を説明できる明確な分子病態は同定されていません。本研究では、疾患との関連性が強く示唆されているヒト 3q29 領域に対応するゲノム領域の欠失や POGZ 遺伝子座の点変異を導入して開発した妥当性の高い疾患モデルマウスを用いた分子病態解析を実施しました。具体的には、活性化した神経細胞を標識する手法を用いて、社会性行動により活性化する神経細胞を分取し、その特性を単一細胞レベルの RNA 発現解析を用いて同定することにより、当該疾患モデルマウスの社会性行動異常の分子病態の一端を単一細胞レベルで明らかにする研究を推進しました。

岸田 拓士（ふじのくに地球環境史ミュージアム・准教授）

1) 研究課題： 羊膜類ゲノムのデノボ解析に関する生態ゲノミクス研究

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

陸から海への適応進化は、形態や生理などの大幅な変革を伴う。また、この適応進化は羊膜類の複数の系統で独立に見られるため、複数の系統の海洋性羊膜類の比較は、同じ環境に適応するための収斂進化研究のモデルとして重要である。従来、海洋環境への適応進化の研究のために鯨類のゲノムが広く解析されてきた。本研究では、鯨類とは独立に海へと進出したウミヘビ類に着目して、ExCELLS の 10x Chromium を用いてイイジマウミヘビ *Emydocephalus ijimae* のデノボアセンブルを行った。今後、他のヘビ類ゲノムや鯨類ゲノムとの比較解析を行うことで、海洋環境への適応進化を解明する。

和多 和宏（北海道大学・教授）

1) 研究課題：種特異的な発声学習行動生成に関わるゲノム発現機能の解明

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

発声学習によって種特異的歌パターンを獲得する鳴禽類ソングバードを動物モデルとして、脳内歌神経核を構成する細胞タイプ別のオープンクロマチン領域・遺伝子発現情報を取得し、「種特異的」機能発現に関わると推定されるゲノム領域とそれによって制御される遺伝子群の抽出を行なった。また、当研究室で開発してきたアデノ随伴ウイルス(AAV)を用いた細胞タイプ特異的なゲノム・遺伝子改変システムを適用し、シングルセル RNA シークエンスによって選定されたゲノム領域・遺伝子群が、実際に個体レベルにおける「種特異的」発声学習行動の生成に関わっているのか、実験的検証を進めている。これらの一連の実験により、学習行動の種特異性・多様性の表出につながる神経ゲノム発現基盤を明らかにする研究を推進していく。

山口 真二（帝京大学・教授）

1) 研究課題： 器官再生の新規モデル確立に向けたヤマトヒメミズ研究基盤の開発

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 |

3) 研究概要

ヤマトヒメミズ (*Enchytraeus japonensis*) は、再生能の高い環形動物であり、身体をバラバラに切断し、大部分の器官を失った小断片となっても、5日程度で全ての器官系を備えた完全な個体を再生する。ヤマトヒメミズは、再生能の高い他の無脊椎動物のモデル生物と比べて、消化器系や心血管系などの器官系が発達しており、器官全体が再生されるメカニズムを明らかとする良いモデルとなると考えられる。環形動物の再生能は一般に高く、これまで生態学的な記載は多くなされてきたが、相応しい動物がなかったため細胞生物学的、分子生物学的に器官系の再生をとらえる研究はあまりされてこなかった。本研究では、ヤマトヒメミズを器官再生の新規モデル生物として開発し、マウス、ショウジョウバエ等との比較研究が可能なレベルにまで研究基盤を整備することを目指す。

守島 健（京都大学・助教）

1) 研究課題： 超分子質量分析による時計タンパク質の相互作用解析

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

兒玉 篤治

生体分子相互作用計測グループ

特任研究員

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。特にシアノバクテリアの生物時計は 3 種の時計タンパク質（KaiA・KaiB・KaiC）とアデノシン三リン酸（ATP）のみで構成され、KaiC のリン酸化状態や Kai タンパク質の結合・解離が 24 時間周期で繰り返されるというユニークな性質を有する。機能の中心を担う KaiC は 6 量体を形成しており、各サブユニットに 2 箇所のリン酸化部位が存在することから、KaiC 内のリン酸化状態は多様性を持つと考えられる。本研究では、超分子質量分析を利用し、KaiC6 量体のリン酸化状態を明らかにし、概日リズム制御に重要な KaiC6 量体間のサブユニット交換の分子科学的実体解明を行った。

関本 弘之（日本女子大学・教授）

1) 研究課題： シャジクモ藻類ヒメミカヅキモにおける蛍光タンパク質を利用した分子動態観察

2) センター内対応者

| | | |
|-------|-------------------|------|
| 根本 知己 | バイオフィotonクス研究グループ | 教授 |
| 大友 康平 | バイオフィotonクス研究グループ | 准教授 |
| 堤 元佐 | バイオフィotonクス研究グループ | 特任助教 |

3) 研究概要

単細胞接合藻類であるヒメミカヅキモは、陸上植物ともっとも近縁な藻類の一つである。これまでの研究により、逆遺伝学的解析のための形質転換系が確立され、植物の有性生殖の基本部分、そして植物が陸上進出を果たした背景を探るためのモデル生物と位置づけられている。ゲノム解読の結果、ヒメミカヅキモのゲノムサイズは0.34-0.36 Gbpと見積もられたが、染色体数についての知見は得られていなかった。本研究では染色体数を調べるために、セントロメアに特異的に存在するヒストンバリエントであるCenH3に着目した。CenH3遺伝子に蛍光タンパク質をコードする*mCitrine*遺伝子をインフレームで連結した複数のコンストラクトをヒメミカヅキモに形質転換し、蛍光を示した細胞について、2光子スピニングディスク共焦点顕微鏡を用いて観察した。生じた輝点を個々の染色体としてカウントしたところ、染色体数が約85本と見積もられた。

村田 隆（神奈川工科大学・教授）

1) 研究課題：植物紡錘体形成における液液相分離の関与の検討

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 |
| 堤 元佐 | バイオフィotonics研究グループ | 特任助教 |

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。我々は紡錘体形成過程の3Dライブイメージングを行った結果から、微小管は紡錘体領域で染色体とは独立に形成されることを見だし、紡錘体が形成される領域の環境が微小管重合に働くとの仮説を考えた。紡錘体領域の環境がどのように違うかを調べるため、核小体タンパク質フィブリラリンにmCitrineが結合した融合タンパク質が発現するタバコ培養細胞の安定形質転換体を作成し、細胞質と紡錘体領域における拡散速度を蛍光相関分光法（FCS）を用いて測定した。また、紡錘体形成の初期過程を超解像観察するためのmCitrine-チューブリン安定形質転換体を作成した。

篠原 恭介（東京農工大学・准教授）

1) 研究課題： 原発性繊毛運動不全症タンパク質Dpcdの分子動態の解析

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 | 准教授 |

3) 研究概要

繊毛は細胞表面から生えている毛状の構造であり、ヒトを始めとする哺乳類では気管・脳室・卵管・精巣などに存在する。繊毛の運動性が先天的に失われた患者では原発性繊毛運動不全症を発症し、呼吸器不全や不妊の症状を示す。提案代表者のグループでは、Dpcd (Deleted in Primary Ciliary Dyskinesia) という新規の原因遺伝子の性質を研究してきた。これまでの生化学的な解析において Dpcd は多量体がアクチンを束化する活性を有する事が示唆されている。本共同研究では動的光散乱法解析 (DLS) による Dpcd が持つ会合状態およびそのレドックス環境依存性を明らかにする事を目的とした。

河西 通（東京大学・特任助教）

1) 研究課題：FCSを用いたFibronectinおよび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

東大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において多機能超解像顕微鏡を用いた蛍光相関分光（FCS）法を適用することで、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 の細胞外での挙動を定量的に解析する。Nodal 可視化システム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、拡散係数や細胞外空間における濃度の算出などを行い、Nodal の細胞外空間における拡散動態を解析する。さらに、ゼブラフィッシュ胚における代表的な細胞外基質である Fibronectin についても同様の FCS 解析を行い、体節形成における Fibronectin の拡散の制御機構や意義を明らかにする。

笠井 倫志（岐阜大学・特任准教授）

1) 研究課題：探針走査型高速原子間力顕微鏡による、非クラシックカドヘリンの会合体形成の仕組みの解明

2) センター内対応者

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

探針走査型高速原子間力顕微鏡を用いて、非クラシックカドヘリン、CELSR のホモ・トランス会合体の分子構造の解明を目指した。そのため、培養細胞中で発現させた CELSR の細胞外ドメインを単離精製し、原子間力顕微鏡を用いて分子複合体の動態観察を行った。その結果、CELSR の細胞外ドメインのホモ・トランス会合体の観察に成功した。これは、一部が動的に結合解離していた。また、CELSR の細胞外ドメインは、領域の中央部で大きく折れ曲がり、これがホモ・トランス会合体の形成制御に関わる可能性が示唆された。さらに、CELSR の細胞外ドメインを構成する 8 つのカドヘリンモチーフを C 末側から順番に欠損したミュータントを作製し、それらのホモ・トランス会合体の観察を行うことで、結合様式とダイナミクスの分類および、ホモ・トランス会合体形成に重要な領域の同定を進めている。

篠崎 陽一（山梨大学・准教授）

1) 研究課題： 緑内障モデルマウス網膜の1細胞RNAシーケンス解析

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

認知ゲノム研究グループ(郷 康弘博士)との共同研究のもと、申請者が見出した緑内障モデルマウス (Shinozaki et al. JCI Insight 2017)の網膜1細胞 RNA シーケンス解析のための1細胞分離、ライブラリ作製を行った。本モデルマウスは、慢性高眼圧を示し、12カ月齢で視神経傷害を示す。網膜内の詳細な分子メカニズム解析のため、1細胞解析を計画した。事前検討で細胞分離条件を検討後、Cold Dissociation 法を用いて12カ月齢の野生型および緑内障モデルマウスより網膜から1サンプルあたり10,000細胞の分離に成功した。その後、ライブラリ作製、シーケンスを完了し、現在情報解析を進めている。

角五 彰（北海道大学・准教授）

1) 研究課題： Observation of kinesin driven swarming of microtubules using high-speed atomic force microscope

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

微小管は、細胞分裂や細胞遊走など真核細胞の様々な細胞内機能に極めて重要な役割を果たしている。微小管の剛性とキネシンのようなモータータンパク質との安定した相互作用から、微小管は分子ロボティクスへの応用に向けた興味深いシステムとして研究が進んでおり、キネシンで覆われた表面上での微小管の集団運動の形成についての研究が行われてきた。微小管はキネシン基板上で自己集合してリングを形成し、安定に回転して回転力を発生させることができる。本研究では、全反射顕微鏡と高速原子間力顕微鏡の複合システムを利用して、微小管集積リングの構造を調べ、リングを形成する多数の微小管のなかで、実際にどれほどの数の微小管が力発生に寄与しているかを理解することを目指した。

築地 真也（名古屋工業大学・教授）

1) 研究課題：細胞内シグナル操作技術の開発

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

細胞内の狙ったシグナル分子の活性を化合物で操作する技術は、細胞内シグナル伝達的作用機序を解析するための強力な基盤ツールとなる。特に、細胞膜インナーリーフレットへ任意のシグナルタンパク質を局在移行させる手法は、細胞膜が起点となる実にさまざまなシグナル伝達経路の人工制御（特に活性化）を可能にする。本研究では、研究代表者が独自に開発した「局在性リガンドによるタンパク質局在移行誘導技術（SLIPT）」を活用し、望みのシグナルタンパク質を細胞膜へ可逆的に移行誘導可能な汎用的ケモジェネティクスシステムを開発する。これにより、生きた細胞内の特定のシグナル分子の活性や時間動態を人為的かつ自在に操作する新規プラットフォームを創出する。

木下 豪太（国立遺伝学研究所・特任研究員）

1) 研究課題：天然記念物ニホンヤマネの全ゲノム解読

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

ニホンヤマネ *Glirulus japonicus* は本州・四国・九州の各地の山林に生息する日本固有種であり、天然記念物に指定されている。世界でも進化的に非常に珍しい哺乳類であり、ヤマネ属 (*Glirulus*) を構成する唯一の現生種として分類されている。ニホンヤマネの分子系統と集団構造を解析するため必要となる参照配列を得るため、全ゲノム配列を Chromium System の手法により決定する。合わせて複数の臓器由来のサンプルから RNA-seq も行い、ドラフトゲノムのアノテーションも行う。

塚本 健太郎（藤田医科大学・講師）

1) 研究課題： バルトネラ属細菌が産生する血管新生因子と宿主細胞受容体との相互作用解析

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 |
| 兒玉 篤治 | 生体分子相互作用計測グループ | 博士研究員 |

3) 研究概要

Bartonella (バルトネラ) 属細菌が産生する BafA タンパク質は、血管内皮細胞の増殖を促すとともに、血管新生を惹起する。そのメカニズムとして BafA は血管内皮の細胞膜に存在する血管内皮増殖因子 (VEGF) 受容体に作用し、下流の MAPK/ERK シグナルを活性化する。このことから、BafA は VEGF 受容体に直接結合することが示唆されていたが、それを捉えた実験結果は得られていなかった。そこで、本研究において、表面プラズモン共鳴装置 Biacore 8K を用いて、センサーチップ上にキャプチャーさせた VEGF 受容体と BafA の相互作用の検出を試みた結果、BafA は VEGF と同程度もしくはそれ以上の親和性で VEGF 受容体に結合することがわかった。また BafA ファミリーの中でも活性の低いホモログについては結合親和性も低いことも明らかにすることができた。本研究で得られた成果は 2022 年 4 月 mSphere 誌に掲載された。

荒川 和晴（慶應義塾大学・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 |
| 青木 一洋 | 定量生物学研究グループ | 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 |

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、これまでに探索してきた分子の機能解析を行い、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。まず、クマムシ内部での挙動を観察することを可能にするベクター発現系を確立した。これにより、任意のタンパクをクマムシ内で発現させることが可能となり、乾眠関連タンパクが必ずしも全ての細胞で発現するわけではなく、組織特異性が見られることが明らかとなった。また、CAHS タンパクが *in vitro* で濃度依存的に可逆的に集合離散することを見出し、この性質がヒト培養細胞では浸透圧耐性を向上させることを明らかにした。SAHS タンパクについても NMR やシミュレーション解析からいくつかのリガンドをトラップすることが示唆され、さらに発生時期によって発現タイミングが異なるパラログはそのキャビティー部分及び開口部の大きさが異なり、パラログごとに異なるリガンドに対応している可能性が示された。

2021 年度 ExCELLS リポート

2022 年 6 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>