



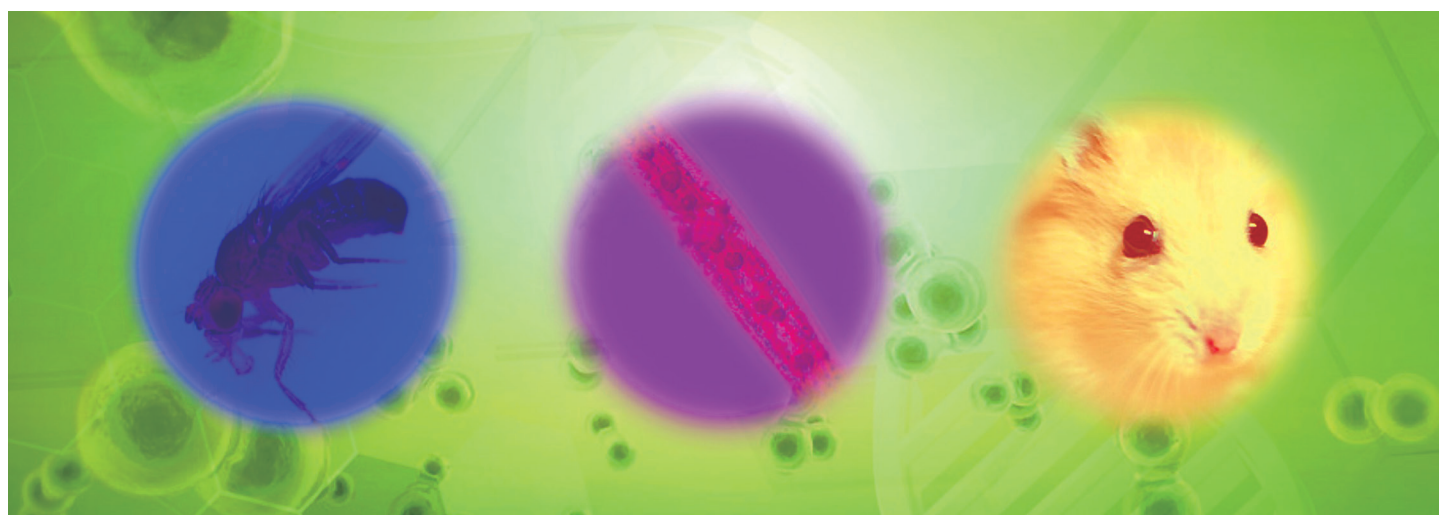
TARA

NEWSLETTER

No.5
October 2020

Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance (TARA)

University of Tsukuba



CONTENTS

◆ 夢の続きを追って

渋谷彰教授 2

◆ 活動報告

論文プレスリリース 4

TARAプロジェクト採択結果 16

学会等受賞報告 16

<https://www1.tara.tsukuba.ac.jp>

夢の続きを追って

— 新規の免疫受容体の同定から分子標的薬の開発へ —

生存ダイナミクス研究センター
渋谷プロジェクト(免疫ダイナミクス)
革新的創薬開発研究センター

渋谷 彰



はじめに

今年は、キャリアをスタートしてからちょうど40年を数える節目の年であった。最初の12年間は臨床医として過ごし、免疫学研究を開始したのは38歳になろうかという時だったから、研究者としては類を見ないほど遅いスタートであったと思う。大学教員生活も一旦定年を迎えるにあたって、ここに小文を記す機会を頂いた。個人史なことも含みご容赦願いたい、ご笑覧頂ければ幸いである。

大学を卒業して医師免許を取得し、東京にある三井記念病院で研修医生活が始まった。次から次へと新しい患者と出会い、新しい知識と技術を吸収し、刺激に満ちた充実した毎日であった。いつからか、アカデミアで専門領域を深く学びたいと思うようになった。縁を得て、筑波大学附属病院の血液内科レジデントとなった。専門領域の論文を勉強したりするうちに、自然の流れで世界に目を向けるようになった。当時、理化学研究所筑波ライフサイエンスセンターに在籍していた中内啓光先生(その後筑波大学教授、現東京大学、スタンフォード大学教授)の一言が背中を押してくれた。「教科書に書いていないことを見つけたら、すぐ世界でトップになれるよ」と。教科書に書いていないことを見つけるために、筑波大学臨床医学系の職を辞し、妻子と一緒に渡米した。辞職が先で、行き先が決まるのがその後だった。3ヶ月したら38歳になる1993年春のことだった。

DNAX分子細胞生物学研究所

DNAX分子細胞生物学研究所は、カリフォルニア州パロアルトにあるスタンフォードリサーチパーク内の2階建ての小さな建物にあった。分子生物学の開拓者であり、ともにノーベル賞受賞者でもあったArthur Kornberg博士やPaul Berg博士らが設立した免疫学研究施設であった。ここで、私の第2のキャリアは始まった。研究のイロハから学ぶスタートであった。

メンターは、当時その領域で日の出の勢いにあったLewis Lanier博士(現UCSF教授)であった。私に与えられたテーマは、ナチュラルキラー細胞の活性化を担う受容体分子を同定することだった。知識も経験もない初心者にはハードルがとてつもなく高かった。ただ、ひたすら働くことしかできなかった。3年経った1996年、目的とした免疫受容体として

DNAM-1を同定し、報告した(Shibuya A, et al, *Immunity* 1996)。この間、学んだ免疫学、細胞生物学、分子生物学、生化学の技術と知識は、その後の研究者としての私の基盤となり、財産となった。当初、この論文は、数えるくらいしか引用されなかった。ところが近年、年を追うごとに増え始め、昨年は過去最高を記録し、24年経た今年には、すでにそれを超えた。不思議なパターンである。その後、DNAM-1ががんの発症を抑制することを証明した(Iguchi-Manaka et al, *J Exp Med* 2008)。この研究成果は、1960年のノーベル医学生理学賞を受賞したバーネット博士の「がん免疫監視説」の実体を分子レベルで証明したものとなった。その後、DNAM-1のがんや炎症疾患の病態における機能等に関する論文を30編以上、発表した(Shibuya K. et al, *Immunity* 1999, Shibuya K, et al, *J Exp Med* 2003, Tahara-Hanaoka, et al, *Blood* 2006, Nabekura et al, *PNAS* 2010, Okumura et al, *J Exp Med* 2020, Nabekura et al, *Immunity* 2020, ほか)。現在、DNAM-1を標的とした炎症性疾患に対する抗体医薬の開発に取り組んでいる。順調に行っても、臨床試験を終了するまでに10年近い年月を要すると思われる。ライフワークとなってしまった。

新しい免疫受容体の発見 (図1, 2)

DNAM-1の同定に味を占めて、柳の下の一匹目のドジョウを狙った。一匹目のドジョウはいないとよく言われる。しかし、いた。それも二匹に止まらなかった。根拠のないセレンディピタスな戦略だった。単にこれまでに見つかっていない免疫受容体を様々な遺伝子クローニング法を用いて釣り上げた。重要な遺伝子かどうかは、この際問わない。調べてみなければ誰もわからないからである。抗体を作成し、リガンドを同定し、機能を解析した。さらに疾患モデルマウスを用いて、疾患病態との関連を探った。どれも面白い結果が得られた。運が良かったとしか言いようがない。

2000年には、IgM抗体の受容体であるFc α / μ 受容体(CD351)を初めて同定した(Shibuya A, et al, *Nature Immunol* 2000)。長い間、多くの研究者が探し求めていた分子であった。その後の研究

で、本受容体が肺炎球菌などの多糖類で構成される莢膜を有する細菌に対する免疫反応や(Honda et al, *PNAS* 2009), グラム陰性菌による敗血症を制御すること(Honda et al, *Nature Commun* 2016)を明らかにした。2003年には、MAIR-I (CD300a), MAIR-II (CD300c)を同定し(Yotsumoto et al, *J Exp Med* 2003)、これらが敗血症や炎症性腸疾患などを制御すること(Nakano et al, *J Exp Med* 2011, Nakahashi-Oda, et al, *J Exp Med* 2011, Nakahashi-Oda, et al, *J Exp Med* 2012, Totsuka et al, *Nature Commun* 2014, Nakahashi-Oda, et al, *Nature Immunol* 2016)を明らかにした。最近、MAIR-Iが脳梗塞などの虚血性疾患など、免疫疾患とは関連がなさそうな疾患にさえ重要な役割をなうことを見出した。高次生命統合機構としての免疫システムの奥深さに今更ながら驚いた。2010年には、Allergin-1を発見し、すべてのアレルギー性疾患の発症メカニズムに共通であるマスト細胞からのヒスタミンなどの化学物質の放出を強力に抑制することを見出した(Hitomi et al, *Nature Immunol* 2010)。2019年には、アトピー性皮膚炎の自然発症モデルマウスの原因遺伝子としてClec10aの遺伝子変異を同定した(Kanemaru et al, *Science Immunol* 2019)。Clec10aはダニによるアトピー発症に重要な役割を担うことを明らかにした。

疾患制御に向けて (図 3)

免疫は自己と自分以外の宇宙空間のすべてのものを非自己として識別し、自己から非自己を排除する生体防御システムである。“疫(病)から免れる”という意味を語源とする免疫は、ウイルスなどの病原体ばかりでなく、アレルギー抗原、がん抗原、移植臓器なども非自己として認識する。自己と非自己の識別機構に異常が生じれば、自己を攻撃する様々な自己免疫病も発症する。

これまで、免疫受容体に焦点を絞った研究を行ってきた。免疫受容体は、細胞外からの刺激(情報)をキャッチして細胞内に伝達し、免疫反応の起点となる。この免疫受容体の働きを制御できれば、革新的な疾患治療法の開発に繋がる可能性があると考えてきた。研究成果を社会に役立てるために、2018年に大学発ベンチャーTNAX Biopharma株式会社を創業した。同定した免疫受容体を標的とした抗体医薬を開発するものである。名称はTsukuba Express to Nobel Antibodiesに由来する。第2のキャリアをスタートしたDNAXにもかかり、気に入っている。当時の仲間たちが、笑って喜んでくれるのもうれしい。ちなみにTsukuba Express (TX)は、2000年ごろから研究室で樹立したモノクローナル抗体のLogナンバーに使用していたものである。現在まで111の抗体クローンを樹立し、TX111に至っている(図1)。2005年開業の電車の名称より古く、こちらが本家である。2019年、国際産学連携本部に革新的創業開発研究センターを設置した。企業との共同研究を推進することを目的としている。これで、シーズを探索する基礎研究(大学研究室)からシーズを育成する産学共同研究(革新的創業開発研究センター)、さらに創業開発研究(TNAX Biopharma)へと連結させる体制を築くことができた。

教科書にないことを見つけることに、大いなる興奮と大きな喜びを覚える。一方で、臨床医としてキャリアをスタートした原点に立ち戻ることのできたことは、この上なく幸せなことでもあると思う。もう少し、夢の続きを追っていかうと思っている。

図 1

～新規の免疫受容体の同定から革新的分子標的薬の開発へ～

根拠のない、しかしセレンディピタスな、開発戦略

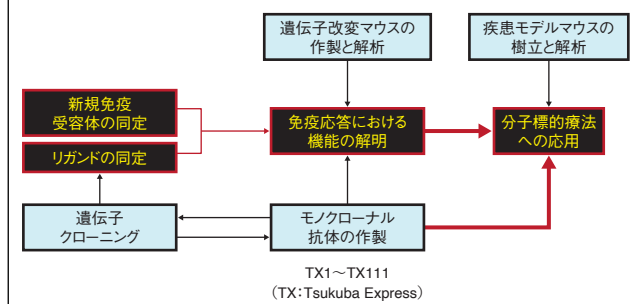


図 2

免疫システムの解明から新しい医学医療の開拓へ

1) 基礎研究

世界に先駆けて重要な免疫受容体を発見、トップジャーナルに発表
がん、アレルギー、炎症疾患、感染症病態における機能の解明

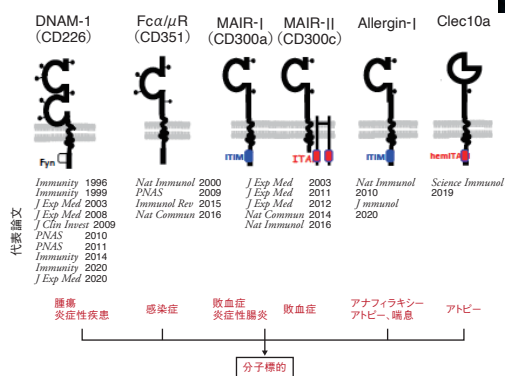


図 3

基礎研究から 開発研究へ

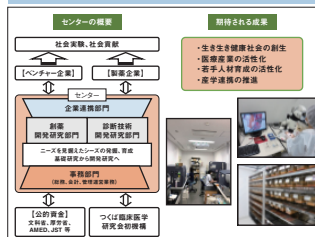
革新的創業開発研究センター



2019年10月設立



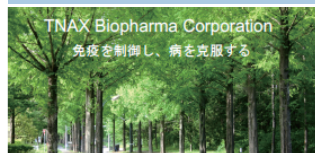
新薬、新技術で、活力ある100年の人生を



2018年3月企業



新薬、新技術を1日も早くベッドサイドへ



細菌毒素タンパク質の膜透過機構の一端を解明

- ・細菌毒素タンパク質が三次元構造をアンフォールディングさせ、膜透過するメカニズムを原子レベルで解明。
- ・毒素タンパク質と透過装置(膜孔)の複合体構造は構造が不安定で結晶化が難しかったが、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析を用いることで、高分解能で複合体構造の構造解析に成功した。
- ・本成果より、細菌毒素の膜透過を阻害する新規創薬の開発につながることが期待される。

■ 概要

タンパク質は20種類のアミノ酸からなる1本の紐ですが、これが規則的に α ヘリックス、 β シートと呼ばれる二次構造を取り、さらに折れ畳んで立体的な三次構造を形成することで初めて機能します。そのため、通常一度折れ畳んだ(フォールディングした)タンパク質は構造を失って、機能を持たない1本の紐にもどる(アンフォールディングする)必要はありません。しかし、ある種の細菌は、タンパク質毒素をアンフォールディングさせ、さらに膜透過をさせてホストの細胞内に入れる装置を持っています。

ウェルシュ菌などの細菌が産生する二成分毒素は毒素タンパク質(酵素成分)とこれを宿主の細胞に入れるための透過装置(膜孔)から構成されています。透過装置(膜孔)によって形成される膜孔口径はとても小さいため、酵素成分がこのトンネルを通過する際には、一度形成された三次構造が解かれなければいけません。しかしながら、それがどのようにして起きるのかは明らかにされてきませんでした。

今回、本研究グループはウェルシュ菌タイプEが産生する、アクチンをADPリボシル化する酵素Iaと、Iaを細胞内へ輸送するIb膜孔で構成されるイオタ毒素の複合体の構造を明らかにすることに成功しました。クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子構造解析によって、Ib膜孔とIaが結合したIb膜孔の複合体を2.8~2.9オングストロームという高い分解能で構造決定をしました。

添付資料

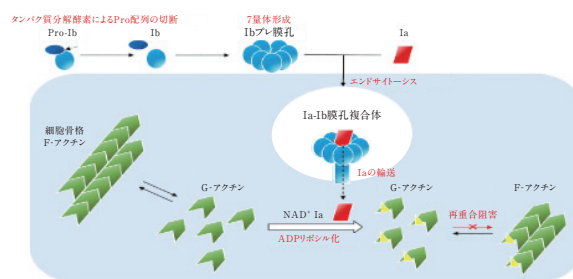


図1 イオタ毒素の細胞侵入機構ウェルシュ菌から産生された膜結合成分Ibは膜孔を形成し、酵素成分Iaを細胞内に輸送する。Iaは細胞内に侵入すると細胞骨格を形成するアクチンをADPリボシル化し、アクチンの再重合を阻害する。

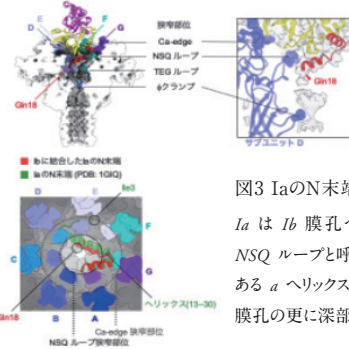


図3 IaのN末端の構造変化

IaはIb膜孔への結合によって膜孔内部のNSQループと呼ばれる狭窄部位で二次構造である α ヘリックスが失われる。解けたN末端は膜孔の更に深部にある β クランプへ続いている。

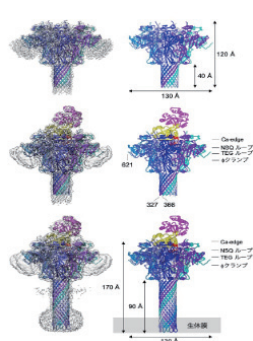


図2 本研究によって明らかにしたイオタ毒素の構造電子顕微鏡によって得られた密度マップおよび、これをもとに作成したモデルを表示している。

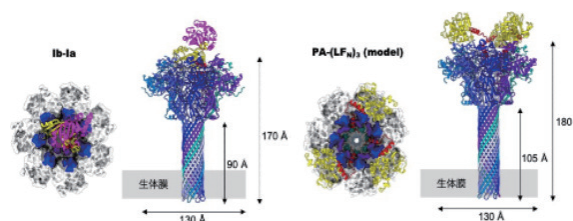


図4 ウェルシュ菌毒素と炭疽菌毒素の比較

ウェルシュ菌二成分毒素複合体(Ib-Ia)と炭疽菌二成分毒素複合体(PA-3LFN)の構造の比較。炭疽菌は先行研究をもとに予想したモデルである。両者でIaとLFNの結合の仕方が大きく異なることがわかる。

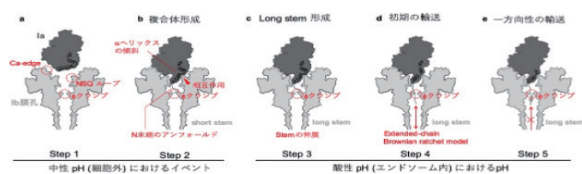


図5 本研究をもとに提唱する輸送モデル

a. 一つのIaがIb膜孔に結合する(short stem)。 b. IaはIb膜孔への結合によってN末端の構造が失われる。エンドソーム中での酸性pHによって c. Ib膜孔の β バレルが完全に形成される(long stem)。 d. 構造を失ったIaのN末端が狭い β クランプを透過する。 e. IaのN末端が再び構造を取り戻し、狭い β クランプによって逆行輸送が制限される。

著者(1:筆頭者、2:責任者) 山田等仁1、吉田徹1、津下英明2(京都産業大学)、川本晃大1、光岡薫(大阪大学)、岩崎憲治(筑波大学)

【題名】 Cryo-EM structures reveal translocational unfolding in the clostridial binary iota toxin complex (クライオ電子顕微鏡により明らかにした細菌毒素タンパク質の膜透過機構)

生殖細胞が作られる過程で細胞分裂サイクルが停止する機構を解明

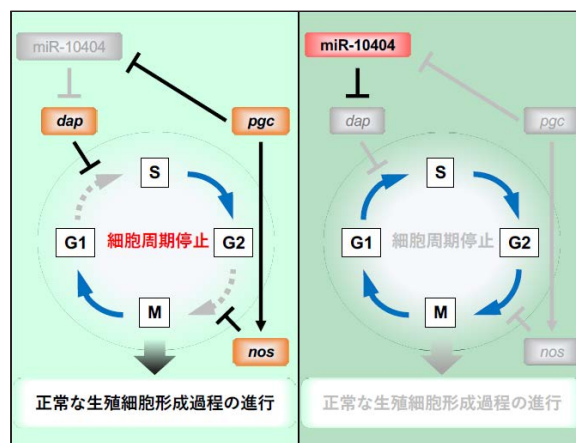
1. 生殖細胞(卵や精子)が形成される過程において、細胞分裂サイクルの進行を停止させる機構を明らかにしました。
2. この停止機構を解除すると、生殖細胞形成が正常に進行しないことを発見しました。
3. 細胞分裂サイクルの停止は多くの動物の生殖細胞形成過程で観察されることから、本研究成果は、他の動物における同様の機構や、その意義を明らかにする研究の基盤になると考えられます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA) 森田俊平 研究員(研究当時、現 米国ブラウン大学・博士研究員)、太田龍馬 研究員、林 誠 助教および小林 悟 教授は、生殖細胞の形成過程において細胞分裂サイクルを停止させる機構を明らかにしました。

生殖細胞(卵や精子)は、発生初期に形成される始原生殖細胞に由来します。ショウジョウバエの始原生殖細胞は、その細胞分裂サイクルを停止していることが知られていますが、その詳細な機構はわかっていませんでした。本研究では、形成直後の始原生殖細胞において、miR-10404と呼ばれるマイクロRNA(注1)の合成が抑えられ、それにより、始原生殖細胞の細胞分裂サイクルを停止させる働きを持つ、dacapo(dap)と呼ばれる遺伝子が活性化していることを明らかにしました。さらに、始原生殖細胞の細胞分裂サイクルを強制的に開始させると、生殖細胞形成過程が正常に進行できなくなることも発見しました。このことは、細胞分裂サイクルの停止が、ショウジョウバエの生殖細胞形成過程において重要な役割を果たしていることを示しています。細胞分裂サイクル停止は多くの動物に共通する生殖細胞形成過程の特徴の1つであり、本研究の成果は、他の動物においても同様の機構を明らかにする糸口となることが期待されます。

本研究の成果は、2020年2月28日付「iScience」でオンライン先行公開されました。

参考図



始原生殖細胞の細胞分裂サイクルにおけるpgc遺伝子の働き

(左図) pgc遺伝子が働いていると、nos遺伝子の活性化と、miR-10404合成抑制に伴うdap遺伝子の活性化により、細胞分裂サイクルのうち、G2期からM期、およびG1期からS期への移行が阻害され、細胞分裂サイクルが停止する。

(右図) pgc遺伝子の機能を欠くと、nos遺伝子が働かず、また、miR-10404が合成されてdap遺伝子を抑制するため、細胞分裂サイクルが停止せず、生殖細胞形成に異常が生じる。

用語解説

(注1) マイクロRNA
20～25塩基長の極小RNAであり、他の遺伝子の働きを抑制することができる。

【研究の背景】

ショウジョウバエの生殖細胞(卵や精子)は、卵の後端に形成される始原生殖細胞に由来します。始原生殖細胞は、卵の後端から卵巣や精巣(生殖巣)へ移動し、生殖巣中で卵や精子を生み出します。この生殖巣への移動過程において、始原生殖細胞の細胞分裂サイクルは停止しています。

細胞分裂サイクルは、以下の4つのステップから成っています。それらは、①DNA(デオキシリボ核酸)に書き込まれている遺伝子情報のセットをコピー(複製)する「DNA複製期」(S期)、②分裂準備期(G2期)、③遺伝情報をそれぞれ1セット持つ2つの細胞を分裂により生み出す「細胞分裂期」(M期)、④複製準備期(G1期)です(参考図)。始原生殖細胞では、G2期からM期への移行とG1期からS期への移行が抑制されています。このうちG2期からM期への移行は、始原生殖細胞に取り込まれるnanos(nos)と呼ばれる遺伝子の産物(Nanosタンパク質)により抑制されていることが明らかになっていました(参考文献1)。さらに、この抑制を解除しても、細胞分裂サイクルはG1期で停止してしまうことから、Nanosタンパク質は、G1期からS期への移行も抑制していると考えられてきました。しかし、その制御機構は長い間不明でした。そこで本研究では、このG1期からS期への移行を抑える機構を明らかにし、細胞分裂サイクルの停止が生殖細胞形成過程に果たす役割の解明を目指しました。

【題名】 Repression of G1/S transition by transient inhibition of miR-10404 expression in *Drosophila* primordial germ cells
(ショウジョウバエ始原生殖細胞における一過的なmiR-10404の発現抑制によるG1/S移行の停止)

ナノサイズの細胞外膜小胞の物性イメージングに成功 ～細菌は不均一な性質の膜小胞を放出する～

金沢大学理工研究域生命理工学系／ナノ生命科学研究所の田岡東准教授らと筑波大学生命環境系および微生物サステナビリティ研究センターの野村暢彦教授らの共同研究グループは、細菌が環境中に放出する微小な袋状の膜構造体（メンブレンベシクル：MV（注1））の物理的性質を原子間力顕微鏡（注2）と呼ばれる顕微鏡技術を用いて調べる方法を開発しました。近年の国内外の研究で、MVは、細菌間の情報伝達やタンパク質の輸送、遺伝子の水平伝播に関与し、抗生物質やファージ（注3）への「おとり」として働いて細菌の生存を助けるなど、細菌の生存戦略に深く関わる重要な因子であることが報告されています。しかし、細菌が放出するMVの大きさは直径20～400ナノメートル（nm、注4）程度と極めて小さいだけでなく、リン脂質膜（注5）という非常に柔らかくもろい構造でつくられていることから、MV粒子一つ一つの性質を個別に調べる方法は開発されておらず、MVの詳しい実態はこれまで明らかにされていませんでした。

本共同研究グループは、溶液中でMV1粒子の物理的性質を定量的に調べる方法を開発し、4種類の細菌が放出したMVの性質を比較しました。その結果、1種類の細菌が物理的性質の異なる多様な性質のMVを放出すること、また細菌種ごとに放出するMVに種特異的な性質の違いがあることを見いだしました。

MV1粒子の解析を可能にした本手法は、MVの実態解明や、MVを介した生命現象のメカニズムの解明に貢献することが期待されます。

本研究の成果は、2020年3月23日に国際学術雑誌『Nanoscale』のオンライン版に掲載されました。

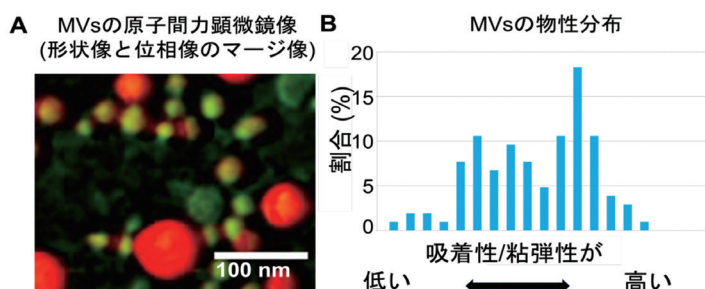


図3 高速原子間力顕微鏡によるMV粒子の位相イメージング結果

高速原子間力顕微鏡の位相イメージングによって見える化された1種類の細菌から放出されたMV粒子の表面物性（A）。位相イメージングでは、MV粒子ごとの物理的性質の違いが色で示される。赤いMV粒子は吸着性や粘弾性が低く、MV粒子の色がオレンジから黄色、緑となるにつれて吸着性や粘弾性が高いことを表す。このような高速原子間力顕微鏡像から、MVの物性分布を定量的に解析した（B）。その結果、1種類の細菌が分泌したMVは、物理的な性質が異なる粒子の集団であることが明らかになった。

参考図

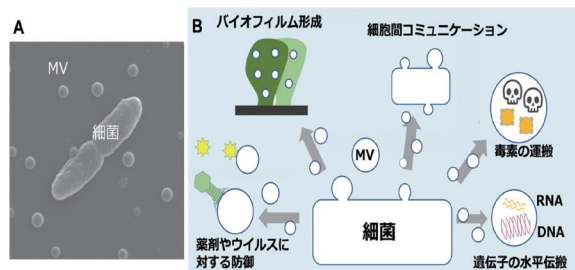


図1 メンブレンベシクル (MV) の多様な役割

MVは、細菌が細胞外に放出する細胞膜で構成された膜小胞である（A）。細菌が放出するMVにはさまざまな役割がある（B）。例えば、MVは、細菌をターゲットとする薬剤やウイルスから細菌を防御するおとりとしての役割や、バイオフィームと呼ばれる細菌集団が作るスライム状の構造体の材料を提供する。また、シグナル分子を介した細胞間コミュニケーション、毒素の運搬、さらに新しい形質を獲得するための遺伝子の水平伝播など物質の運び手として働く。

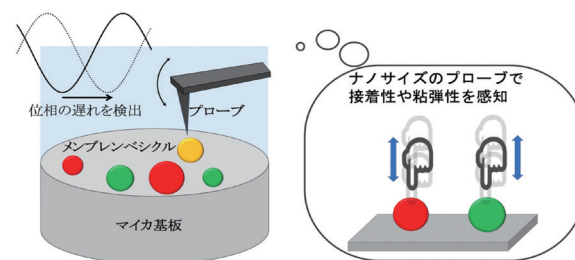


図2 高速原子間力顕微鏡による位相イメージングの概要図

高速原子間力顕微鏡は、マイカ基板の上に固定された試料のイメージングを行う。プローブと呼ばれる非常に鋭い針が、振動しながら試料の上をなぞることで、試料の形を画像化する。このイメージング中に位相の遅れと呼ばれるプローブ振動の変化を検出し、位相遅れを画像化するのが位相イメージングである。この位相の遅れは、プローブがなぞっている試料表面の接着性や粘弾性などの物理的性質に依存する。本研究グループは、個々のMV粒子の物理的性質を、位相イメージングによって見える化した。

用語解説

（注1）メンブレンベシクル：MV

細菌が環境中に放出する細胞膜によって構成される直径20～400nmの微小粒子のこと。ほとんどの細菌がMVを形成し、環境中の物質循環や生態系に大きな影響を及ぼすと考えられている。

（注2）原子間力顕微鏡

走査型プローブ顕微鏡の一種であり、先端が極めて鋭い探針が試料表面を走査しながら試料の表面の凹凸の計測を行う。

（注3）ファージ

細菌に感染するウイルスの総称。ファージが細胞膜に結合することで細菌は感染する。

（注4）ナノメートル（nm）

長さの単位で100万分の1ミリメートル。

（注5）リン脂質膜

親水性と親油性を併せ持つリン脂質が二層になった膜。生物の細胞膜を構成する基本構造として利用されている。

【題名】 Diversity of physical properties of bacterial extracellular membrane vesicles revealed through atomic force microscopy phase imaging（原子間力顕微鏡の位相イメージングによって明らかになった細菌の細胞外膜小胞の物性多様性）

次世代を生み出す生殖細胞の品質を保つ仕組みを解明

1. 生殖細胞（卵と精子）が作られる過程で、品質の悪い細胞を選択的に排除する仕組みが存在することを、ショウジョウバエにおいて、明らかにしました。
2. この仕組みに、Mycと呼ばれる遺伝子が関わることを発見しました。
3. 本研究成果は、他の動物における生殖細胞の品質管理機構を明らかにするための基盤になると考えられます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター（TARA）太田龍馬 研究員と小林 悟 教授は、生殖細胞（卵と精子）が作られる過程で品質の良い生殖細胞を選び出す仕組みを、ショウジョウバエを用いて明らかにしました。

有性生殖を行う動物は、生殖細胞（卵と精子）を作り、それらが受精することで次世代が生み出されます。従って、DNAに損傷を受けた異常な生殖細胞が作られてしまうと、正常な次世代を生み出すことができなくなってしまいます。これを防ぐために、生殖細胞が作られる過程で、異常な細胞を排除し、品質の良い生殖細胞のみを選び出す仕組みがあると考えられてきました。本研究では、この仕組みにMycと呼ばれる遺伝子が関わることを見出しました。

生殖細胞に分化することのできる細胞は、生殖系列細胞と呼ばれています。生殖系列細胞は、Myc遺伝子から合成されるMycタンパク質を発現していますが、異常が生じた生殖系列細胞は、Mycタンパク質の発現が低下し、それにより排除されることを発見しました。このことは、Mycタンパク質の発現の低下により、異常を起した生殖系列細胞が選択的に排除され、品質の良い生殖系列細胞から次世代が生み出されることを示しています。有性生殖を行う動物において、正常な次世代を生み出すことは種を存続するために必要不可欠であり、本研究は、それを保証する生殖細胞の品質管理機構を明らかにするための第一歩になると期待されます。

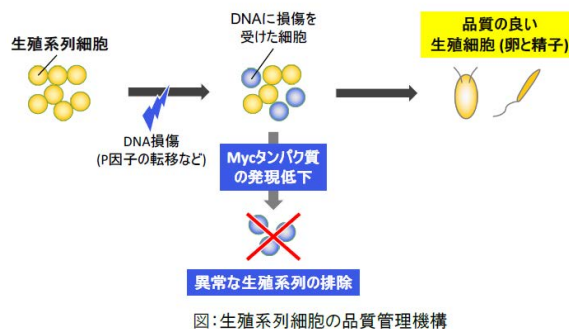
本研究の成果は、2020年4月22日付「Communications Biology」で公開されました。

【今後の展開】

有性生殖を行う動物において、正常な次世代を生み出すことは、種を存続させるために必要不可欠です。本研究では、それを保証する生殖細胞の品質管理の仕組みを、ショウジョウバエにおいて明らかにすることができました。このことは、他の動物における生殖細胞の品質管理機構を理解するための重要な基盤になると期待されます。

今後、Mycタンパク質の発現低下が誘導されるメカニズムや、Mycタンパク質の発現低下により生殖系列細胞が消失する理由などを解明し、生殖細胞の品質管理機構の全貌を明らかにする予定です。

参考図



【研究内容と成果】

本研究では以下の点を明らかにしました。

生殖系列細胞では、Mycと呼ばれる遺伝子から合成されるMycタンパク質が発現しています。しかし、P因子の転移により、このMycタンパク質の発現が低下することを発見しました。

生殖系列細胞で強制的にMycタンパク質を発現させると（Mycタンパク質の発現が低下しないようにすると）、P因子の転移により引き起こされる生殖系列細胞の消失が抑制されることがわかりました。さらに、そのようにして生み出される生殖細胞には、DNAに損傷を持った細胞が多く含まれ、それらの生殖細胞に由来する次世代では致死率が増加することを見出しました。この結果は、Mycタンパク質の過剰発現により、DNAに損傷を受けた生殖系列細胞が排除されなくなることを示しています。

以上のことから、Mycタンパク質の発現低下により、DNAに損傷を受けた異常な生殖系列細胞が排除されることが明らかになりました。このような排除機構により、品質の良い生殖系列細胞のみを選び出し、その細胞から卵や精子を作らせることができます（図参照）。すなわち、生殖細胞の品質管理機構の一端が解明できたわけです。

【題名】 Myc plays an important role in *Drosophila* PM-hybrid dysgenesis to eliminate germline cells with genetic damage (Myc はショウジョウバエ PM 雑種不稔により誘導される遺伝的損傷を有する生殖系列の排除に重要な役割を果たす)

細胞外マトリクスを介した新しいメカトランスダクション機構を発見 ～血管疾患への新たな治療法開発への期待～

1. 血管平滑筋細胞は、心拍出に伴う周期的伸展刺激¹を常に受けています。本研究では、マトリセルラータンパク質² Thrombospondin-1 (Thbs1)が、周期的伸展刺激によって誘導されるシグナル伝達経路(メカトランスダクション³ 機構)の重要因子であることを明らかにしました。
2. 周期的伸展刺激により分泌されたThbs1が、細胞膜上の細胞接着分子integrin $\alpha\beta1$ に結合して細胞接着斑分子⁴を活性化し、細胞骨格であるアクチンフィラメントの張力を制御することがわかりました。さらに、低分子量Gタンパク質Rap2を介して、転写調節制御因子YAP⁵の核内移行(活性化)を制御することを明らかにしました。
3. Thbs1/integrin/YAPのシグナル伝達経路は、マウスの大動脈圧負荷応答や頸動脈狭窄による新生内膜形成といった血管リモデリング⁶時に重要な働きを担うことを明らかにしました。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA)の柳沢裕美教授、山城義人助教、国立大学法人熊本大学 大学院生命科学研究部 微生物薬学分野の大槻純男教授、国立大学法人茨城大学大学院理工学研究科マイクロナノバイオメカニクス研究室の長山和亮教授らの研究グループは、メカニカルストレス応答の中心を担う、転写調節因子YAP (Yes-associated protein)の核内移行(活性化)を、細胞外マトリクスThbs1が制御し、血管のメカトランスダクション機構において、重要な働きを担うことを明らかにしました。

血管壁は絶えず血圧や血流による血行力学的応力にさらされており、その制御機構の破綻が血管疾患の根本原因ではないかと注目されていますが、その制御メカニズムの詳細は明らかになっていないのが現状です。本研究グループはまず、ラット血管平滑筋細胞を用いて、周期的伸展刺激によって分泌されるタンパク質を網羅的に解析し、Thbs1を同定しました。分泌されたThbs1は細胞膜上のintegrin $\alpha\beta1$ に結合し、接着斑の活性化やアクチンフィラメントの配向といった伸展刺激応答を制御することを見出しました。加えて、伸展刺激におけるYAPの核内移行は、Thbs1/integrinに依存し、Rap2の不活性化を伴って制御されていること、さらに、Thbs1/integrin/YAPのシグナル伝達経路は、血管圧負荷や狭窄に伴う新生内膜形成時の血管リモデリングに重要な働きを示すことを明らかにしました。本研究は、メカニカルストレス応答に関与する細胞外マトリクスの役割とその制御が、様々な血管疾患の根本原因である可能性を示唆するものであり、今後、細胞外マトリクスを標的とした新たな治療法開発の展開が期待されます。

本研究成果は、2020年4月22日付*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*誌で先行公開されました。

図3 Thbs1を介したYAP制御の概略

分泌されたThbs1はintegrin $\alpha\beta1$ へ結合し、細胞接着斑を活性化する。Thbs1/integrin $\alpha\beta1$ の結合は、Rap2の不活性化とHippo経路のLATS1/2の脱リン酸化を伴って、YAPの核内移行を制御する(左図)。Thbs1/integrin/YAPのシグナル伝達経路は、血管圧負荷における応答と、狭窄に伴う新生内膜形成時の血管リモデリングにおける役割を担う(右図)。

参考図

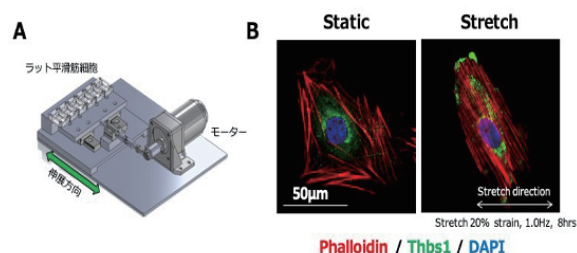


図1 周期的伸展刺激後のThbs1の局在

(A) 細胞伸展装置(筑波大学医学工作室制作)

(B) Static(伸展なし)条件下では、核の周辺部に局在するのに対して、Stretch後は、細胞辺縁部へ局在が変化する。

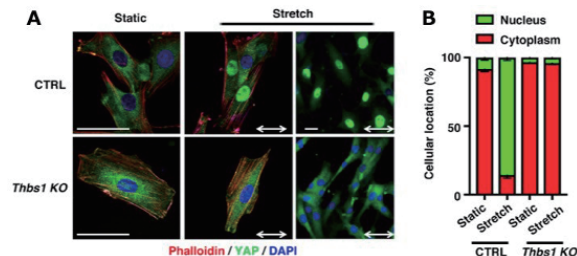
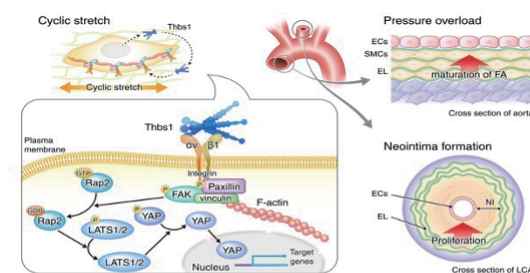


図2 周期的伸展刺激後のYAPの局在

(A) 野生型の細胞では、伸展後(Stretch)にYAPが核内移行するのに対して、Thbs1欠損細胞(Thbs1KO)では、YAPは細胞質に留まったままである。

(B) 細胞質(Cytoplasm)と核内(Nucleus)のYAPの割合。



【題名】 Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP in the vascular remodeling
(トロンボスポンジン 1 を介した血管のメカトランスダクション機構の解明)

生物の個体サイズを決定するステロイドホルモン生合成の制御メカニズムを発見 ～成長を調節する神経内分泌メカニズム～

1. 個体サイズを決定する神経内分泌メカニズムを、キイロショウジョウバエにおいて、新たに発見しました。
2. コラゾニンというペプチドホルモンを産生する神経が、ステロイドホルモン生合成を制御し、個体の成長を調節することを明らかにしました。
3. 成長を調節する昆虫ステロイドホルモンの生合成を、発生段階特異的に制御する神経経路を同定した、初めての成果です。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 丹羽隆介教授、島田裕子助教、同大学院生命環境科学研究科 博士後期課程3年(日本学術振興会特別研究員、現同大博士研究員)井村英輔らの研究グループは、個体サイズを決定する神経内分泌メカニズムを、モデル生物であるキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* で新たに発見しました。

生物は、生育環境に応じて成長と成熟を調節し、体を適切なサイズにして繁殖を成功させます。こうした成長と成熟のバランスを調節する生体分子の一つが、ステロイドホルモンです。しかし、その生合成の分子機構には不明な点が多く残されています。本研究グループは、キイロショウジョウバエにおいて、コラゾニンというペプチドホルモンを産生する神経が、ステロイドホルモン生合成を制御し、個体の成長を調節することを明らかにしました。本研究は、昆虫ステロイドホルモン生合成を、発生段階特異的に制御する神経経路を同定した、初めての成果です。コラゾニンの働きは、進化的に幅広く保存されたものであると考えられていることから、今回の成果は、動物に共通したステロイドホルモン生合成の制御メカニズムの解明に貢献することが期待されます。

本研究は、理化学研究所生命機能科学研究センター西村隆史博士、静岡県立大学食品栄養科学部食品生命科学科 大原裕也助教、大学共同利用機関法人情報システム研究機構国立遺伝学研究所近藤周助教、および国立大学法人東北大学大学院生命科学研究科 谷本拓教授、ハワードヒューズ医学研究所(米国) Albert Cardona 博士(現ケンブリッジ大学)、ボン大学(ドイツ) Mike J. Pankratz らの研究グループとの国際的な共同研究によって行われました。

本研究の成果は、2020年5月7日付「*Current Biology*」で公開されました。

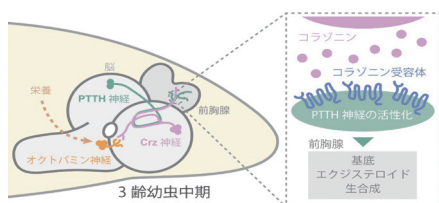


図3 基底エクジステロイド生合成を制御する神経内分泌メカニズムのモデル図

個体サイズを決定づける3齢幼虫中期に、Crz神経はオクトパミン神経を介して栄養シグナルを受け取る。Crz神経から放出されるコラゾニンは、コラゾニン受容体に受け取られてPTTH神経を活性化し、前胸腺での基底エクジステロイド生合成を制御する。

参考図

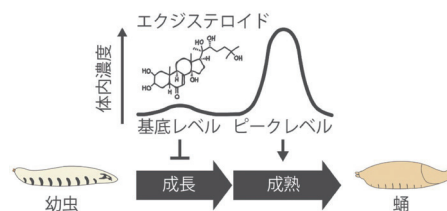


図1 エクジステロイドによる成長と成熟の制御

ショウジョウバエでは、幼虫期においてエクジステロイドの体内濃度が上昇と下降を繰り返しており、基底レベルのエクジステロイドが成長を抑制的に、ピークレベルのエクジステロイドが成熟を促進的に制御している。

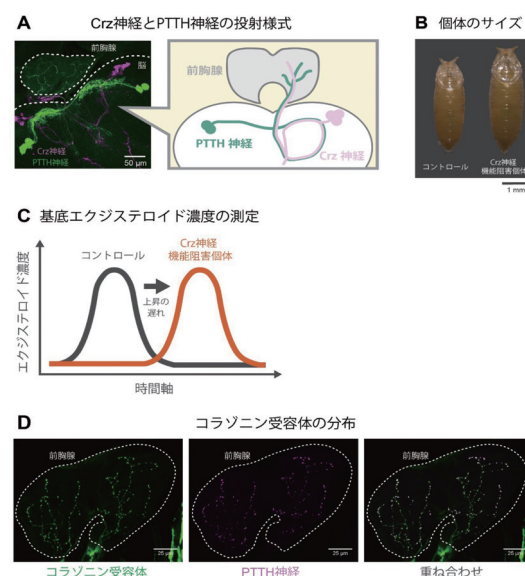


図2 コラゾニン産生神経による基底エクジステロイド生合成を介した体サイズの調節

(A) コラゾニン産生神経(Crz神経、紫)と前胸腺刺激ホルモン産生神経(PTTH神経、緑)の投射様式の観察。Crz神経は前胸腺とPTTH神経の両方に神経連絡を持つ。

(B) ショウジョウバエの体サイズの比較。Crz神経の機能阻害個体ではコントロール個体に比べて体サイズが増大した。

(C) 体サイズを決定づける3齢幼虫中期のエクジステロイド濃度の測定。Crz神経の機能阻害個体では、コントロール個体に比べて基底エクジステロイド濃度の上昇が遅れた。

(D) コラゾニン受容体の分布の観察。コラゾニン受容体のシグナル(緑)はPTTH神経のシグナル(紫)と重なった。

【題名】 The Corazonin-PTTH Neuronal Axis Controls Systemic Body Growth by Regulating Basal Ecdysteroid Biosynthesis in *Drosophila melanogaster*
(キイロショウジョウバエの Crz-PTTH 神経経路が基底エクジステロイド生合成を介して体成長を調節する)

進化すると色素タンパク質が増える？

珪藻の光化学系 I-集光性色素タンパク質複合体の立体構造解明

1. 光合成生物の特徴の一つである見た目の色の違いが存在する理由を解き明かすため、褐色を呈する海洋珪藻由来の光化学系 I-集光性色素タンパク質の立体構造をクライオ電子顕微鏡(注1)により決定しました。
2. 珪藻の光化学系 Iの周りに16個の集光性色素タンパク質(注2)が結合していることが判明しました。紅藻の光化学系 I-集光性色素タンパク質構造と比較すると、珪藻では集光性タンパク質の増加および独特な結合様式であることがわかりました。
3. 光合成生物の進化において、集光性色素タンパク質の数の調節が環境応答や生存戦略として重要である可能性が示唆されました。

岡山大学異分野基礎科学研究所の長尾遼特任講師、加藤公兎特任准教授、秋田総理准教授、沈建仁教授、筑波大学生存ダイナミクス研究センターの宮崎直幸助教らの共同研究グループは、理化学研究所堂前直ユニットリーダー、京都大学伊福健太郎准教授、兵庫県立大学菓子野康浩准教授、基礎生物学研究所内山郁夫准教授、神戸大学秋本誠志准教授との共同研究により、クライオ電子顕微鏡を用いて、海産性珪藻の光化学系 I-集光性色素タンパク質複合体の立体構造解析に成功しました。この結果から、光合成生物が多様な光環境に適応するために、集光性色素タンパク質の数の調節を調整することを明らかにしました。本研究成果は、日本時間5月18日(月)18:00

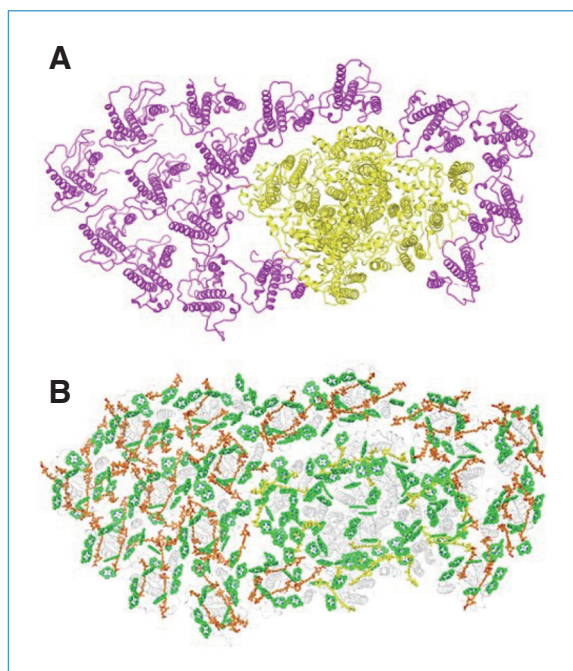
(英国時間:18日 10:00)、英国の科学雑誌「*Nature Communications*」に掲載されます。

本研究成果は、光合成生物がなぜ多様な色を持ち、生育の場所を拡大してきたのか?という問いに対する知見を与えるものです。色の多様性は光合成生物の生存戦略の一環です。生育の場所を拡大できたのは、珪藻が褐色を呈することで、水中を透過する限られた光エネルギーを効率よく利用しているからです。また、珪藻の光化学系 I タンパク質に結合する集光性色素タンパク質が比較的深い海中に生息する紅藻や陸上に生息する緑色植物と大きく異なることがわかりました。この成果は、光合成生物の集光性色素タンパク質の多様性を紐解く知見となり、なぜ光合成生物は見た目の色が異なるのか?という進化的な知見を提供するものです。

【社会的な意義】

太陽光を利用したクリーンエネルギーの活用は、エネルギー問題や環境問題の解決につながる、非常に重要な事柄です。光化学系 I-FCP 複合体は、植物とは異なる太陽光エネルギーの成分を効率よく吸収・利用しています。今回、我々が解明した構造は、太陽光エネルギーの成分を利用した電気エネルギーへの変換に必要な分子配置の設計に指針を提供することが期待されます。将来的には、得られた構造やこれまで解析された他の光合成装置の構造の知見を利用することで、太陽光エネルギーの成分の選択的利用に基づいたエネルギー利用デバイスの創出が期待されます。

参考図



【補足・説明】

注1：クライオ電子顕微鏡

液体窒素温度でタンパク質粒子を観察する電子顕微鏡のことです。サンプルへの電子線ダメージを軽減するために液体窒素温度での測定を行います。多数のタンパク質粒子の形状を計測して平均化することで、当該タンパク質の立体構造を解析します。2017年にはノーベル化学賞を受賞した技術です。

注2：集光性色素タンパク質

クロロフィルやカロテノイドなどの色素を結合した、太陽光エネルギーを集める役割を持つタンパク質です。光合成生物の種類に応じて異なる集光性色素タンパク質が存在します。本報告で明らかにした、フコキサンチン-クロロフィル a/c 結合タンパク質 (FCP) は珪藻や褐藻に特有であり、その名の通りクロロフィル a、クロロフィル c、フコキサンチンを結合しています。

【題名】 “Structural basis for assembly and function of a diatom photosystem I-light harvesting supercomplex”
「珪藻光化学系 I-FCP の分子集合と機能に関する構造基盤」

耐性菌を防ぎつつ人体や環境に有害な微生物集団を除去する方法を発見 ～生物由来の界面活性剤を組み合わせると除去効率が向上～

1. 酵母由来の界面活性剤(注1)であるソホロ脂質が、細菌を死滅させることなく、細菌が形成する微生物集団(バイオフィーム)を除去できることを発見しました。
2. また、ソホロ脂質と一般的な界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウムを組み合わせることによって、その除去効率が100倍以上向上することも見いだしました。
3. 環境負荷の低い生物由来の界面活性剤と、石油化学製品である従来の界面活性剤との組み合わせによる相乗効果の発見は、人体や環境に有害なバイオフィーム除去におけるコストおよび界面活性剤使用量の削減に貢献することが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 Utada S. Andrew 准教授、野村暢彦教授らの研究グループは、細菌がバイオフィームを形成しやすい環境を模倣したマイクロ流路デバイス(注2)を用いて、環境に優しい生物由来の界面活性剤と、バイオフィーム除去に一般的に使用されている石油化学製品の界面活性剤を組み合わせることで、除去効果が劇的に向上することを発見しました。細菌はバイオフィームを形成して生存していますが、人間にとってはさまざまな疾患をもたらす可能性があり、これを除去することが重要です。しかしながら、細菌を死滅させてしまうと、耐性菌の出現が問題になります。そのため、細菌を殺さずに、バイオフィームを除去することが必要です。バイオフィームを除去する方法の一つとして、界面活性剤の利用がありますが、ドデシル硫酸ナトリウム(sodium dodecyl sulfate, SDS)などの一般的な界面活性剤は人工的に合成された石油化学製品であり、多量に使用すると環境に影響を及ぼします。そこで本研究グループは、環境に優しい生物由来界面活性剤として、酵母由来のソホロ脂質(SLx)の抗バイオフィーム活性に着目し、その緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)に対するバイオフィーム除去効果を調べました。その結果、SDSなどと比較して、SLxは優れたバイオフィーム除去効果を持つことを見いだしました。しかも、SLxは細菌を死滅させませんでした。そのメカニズムを詳細に解析したところ、SLxは、細胞とガラス表面との接着およびバイオフィーム内部の凝集性を減弱させることがわかりました。さらに、SLxとSDSを組み合わせた相乗効果によって、それぞれを個別に作用させた場合に比べて、100倍以上も向上することを発見しました。これらのことから、生物由来界面活性剤と石油化学製品の界面活性剤を併用することで、バイオフィームを除去するためのコストおよび界面活性剤の使用量を削減できることが示唆されました。本研究の成果は、2020年6月1日付「Langmuir」でオンライン先行公開されました。

用語解説

(注1) 界面活性剤

異なる物質が接する界面に集まりやすく、少量で界面張力を小さくする作用を持つ物質。例えば、石鹸(せっけん) 水は水よりも界面張力が小さいが、これは石鹸の分子中に疎水基と親水基があるため分子が界面に吸着され、界面を広げようとする作用が界面張力を弱めることによる。洗剤・乳化剤・帯電防止剤・起泡剤などに用いられる。表面活性剤という。

(注2) マイクロ流路デバイス

フォトリソグラフィという技術を用いて基板を作り、微細切削加工、成形などの方法で作製した流路を持つデバイス。本研究では、細菌が接着し、バイオフィーム形成可能な多孔質環境を模倣したマイクロ流路デバイスを作製し、バイオフィームの挙動を観察した。

参考図

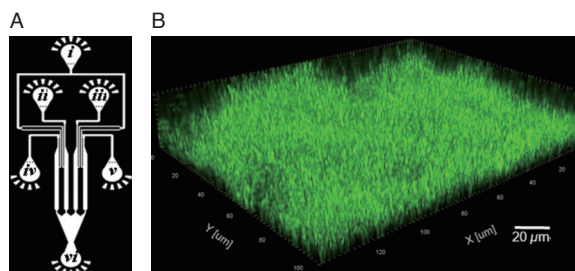


図1 マイクロ流路におけるバイオフィーム形成

(A) マイクロ流路のモデル図。(i)は細菌の植菌、(ii-v)は異なる濃度の界面活性剤の挿入口、(vi)は排出口を示す。

(B) 培養開始から12時間後のバイオフィームの共焦点顕微鏡画像。蛍光染色したDNAを緑で表示。

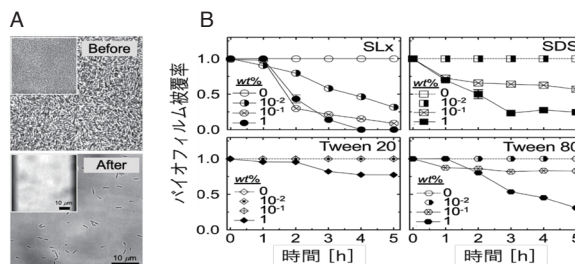


図2 界面活性剤添加によるバイオフィームの変化

(A) SLx添加前後のバイオフィーム画像。

(B) 各界面活性剤の添加量と添加後のバイオフィーム表面積の時間変化。

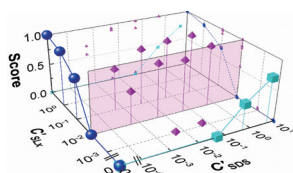


図3 SLx と SDS の組み合わせによるバイオフィーム除去効果。紫で表示した部分が高い相乗効果を示す。CMCで標準化した界面活性剤の濃度(X軸:SLx, Y軸:SDS)、バイオフィーム除去のスコア(Z軸)を示す。青・水色・紫のプロットは、それぞれSLx単独、SDS単独、SLxとSDS混合(組み合わせ)で処理した結果を示す。

【題名】 Synergy between Sophorolipid Biosurfactant and SDS Increases Efficiency of *P. aeruginosa* Biofilm Disruption
(界面活性剤ソホロ脂質と SDS との相乗効果による緑膿菌バイオフィームの効率的な破壊)

ネオニコチノイド系殺虫剤に対するハナバチ類の感受性を解明 環境に優しい農薬や昆虫制御材の開発に期待

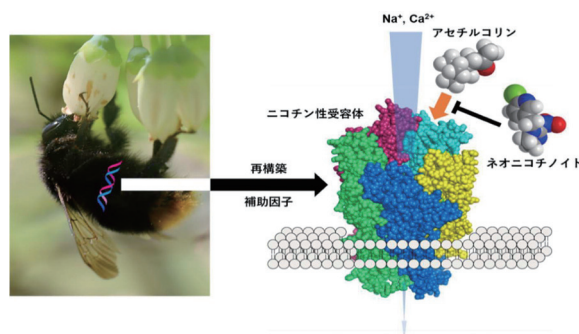
1. 昆虫のニコチン性受容体を昆虫体外で再構築することに世界で初めて成功
2. ハナバチ類のニコチン性受容体が極めて高いネオニコチノイド感受性を示すことを発見
3. 環境に優しい農薬の開発や、ニコチン性受容体を対象とする基礎科学の進展への貢献に期待

近畿大学農学部応用生命化学科・アグリ技術革新研究所（奈良県奈良市）教授の松田一彦らの研究グループは、筑波大学（丹羽隆介教授）、東北大学（谷本拓教授）、国立遺伝学研究所（近藤周博士）、ロンドン大学（David B. Sattelle教授）との共同研究により、昆虫の中枢神経に存在し、殺虫剤の標的にもなっているニコチン性アセチルコリン受容体（注1）（以下、ニコチン性受容）を体外で神経細胞に存在したときと同様のはたらきを示すように組み立てなおすこと（再構築）に成功しました。また、その方法を用いて、ミツバチなどのハナバチ類のニコチン性受容体に対してどれくらい低い濃度からネオニコチノイド系殺虫剤が作用し始めるのかということも明らかにしました。

本研究成果は、ハチなどの訪花昆虫には作用させずに害虫だけを駆除する環境に優しい農薬の開発や、世界の食料供給を脅かす農業害虫のみならず、マラリアやデング熱などの感染症を媒介する蚊にも応用でき、人体等には影響のない安全性に優れた昆虫制御剤で防除する技術の開発にも役立つと考えられます。

本研究に関する論文は、令和2年（2020年）7月2日（木）4:00（日本時間）に米国科学アカデミー紀要Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America誌で公表されました。

参考図



用語解説

（注1）ニコチン性アセチルコリン受容体
神経伝達物質の一つであるアセチルコリンが結合すると、自身もナトリウムやカルシウムイオンを選択的に通すチャネル（イオンが通過するトンネル）を開くことで神経細胞の膜電位を調節するタンパク質。タバコに含まれるニコチンはアセチルコリンと同様に本受容体のイオンチャネルを開き、興奮作用などを引き起こす。ネオニコチノイドは昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体に特異的に結合し、アセチルコリンやニコチンと同様な作用を示すことで、昆虫の神経伝達機構をかく乱する。

【本文の内容】

今日使われている殺虫剤は効果を現す方法で分けると、昆虫の神経系に作用して効果を現す薬剤、脱皮や変態を妨げるなど昆虫の成長を制御する薬剤、昆虫の筋細胞に作用し、筋収縮を起こして摂食行動を停止させ死亡させる剤などに分類されます。なかでも、神経に作用する薬剤が数多く開発され使われています。世界で最も広く使用されているネオニコチノイド系殺虫剤は、昆虫の中枢神経に存在するニコチン性受容体の機能を阻害することで、昆虫を死に至らしめたり、行動に影響を与えたりする効果があります。

本研究では、ショウジョウバエを用いて昆虫のニコチン性受容体の複雑な立体構造を組み立てるために必要なタンパク質を探索し、本受容体の再構築に必要な補助因子を究明しました。さらに、この因子がミツバチなどの花粉媒介昆虫のニコチン性受容体の再構築でも必要であることを明らかにし、ショウジョウバエ、ミツバチおよびマルハナバチのニコチン性受容体に対するネオニコチノイド系殺虫剤への影響を比較検討しました。その結果、同系統の一部の殺虫剤が花粉に残留しているとされる濃度（数ppb）よりも低い濃度で、ミツバチやマルハナバチのニコチン性受容体を阻害することが初めて明らかになりました。

【今後の展開】

今回報告した研究成果は、世界の食料供給を脅かす農業害虫のみならず、マラリアやデング熱などの感染症を媒介する蚊を安全性に優れた昆虫制御剤で防除する技術の開発にも役立つと考えられます。全世界には百万を超える種の昆虫が生息し、それぞれの昆虫種の神経系で多くの種類のニコチン性受容体が行動や学習に関与しています。したがって、本研究成果は昆虫科学、神経科学、農薬科学、環境科学などの分野の発展に大きく貢献すると期待されます。

【題名】 Cofactor-enabled functional expression of fruitfly, honeybee and bumblebee nicotinic receptors reveals picomolar neonicotinoid actions（補助因子を利用したショウジョウバエ、ミツバチ、マルハナバチのニコチン性アセチルコリン受容体の機能発現により picomolar の濃度でのネオニコチノイドの作用が明らかに）

皮膚が老化すると「幹細胞の顔」が変わる！ ～加齢に伴う皮膚幹細胞の糖鎖変化の解析に成功～

1. 糖鎖の特徴的な構造を解析する新しい糖鎖プロファイリング技術を用い、皮膚の老化に伴って幹細胞の糖鎖修飾パターンが変化することを発見しました。
2. 老化型の糖鎖パターンを持つ皮膚幹細胞では、細胞の増殖が顕著に低下しました。
3. 糖鎖を標的にした皮膚幹細胞の老化状態の検出や老化の制御へとつながることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センターの佐田亜衣子助教(研究当時、現 国立大学法人熊本大学 国際先端医学研究機構特任准教授)、柳沢裕美教授、国立研究開発法人産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門の館野浩章研究グループ長らの研究グループは、糖鎖プロファイリング技術を用いて、老化皮膚において、幹細胞表面の糖鎖構造(糖鎖修飾パターン)が変化することを見出しました。

細胞表面に存在する糖鎖は、「細胞の顔」とも呼ばれるように、細胞の種類や状態によって構造が劇的に変化することが知られています。血液型や腫瘍マーカーをはじめ、糖鎖の違いは優れたバイオマーカーとしても幅広く利用されてきました。しかし、細胞の中でも、分化細胞を生み出す組織幹細胞注1は、成体組織の全細胞の1パーセント以下に過ぎず、微量のサンプルしか得られないため、糖鎖解析を行うことは困難でした。本研究は、「レクチンアレイ法」という新しい技術を使うことで、糖鎖構造を高感度かつ迅速に検出し、加齢に伴って起こる皮膚幹細胞の糖鎖変化を捉えることに成功しました。本成果は、幹細胞の糖鎖を標的とした新たな老化対策やバイオマーカーの創出へとつながることが期待されます。

本研究の成果は、Aging Cell誌に2020年7月18日付でオンライン公開されました。

参考図



図1 レクチンアレイ法を用いた幹細胞の糖鎖プロファイリング

若齢・加齢マウスよりセルソーターを用いて皮膚幹細胞を単離し、レクチンアレイ法を用いた糖鎖解析を行う。糖結合タンパク質であるレクチンをスライドガラス上に固定化し、細胞から抽出、蛍光標識した膜タンパク質をガラス上のレクチンと相互作用させることで、細胞表面に存在する糖鎖構造を高感度かつ迅速に検出することができる。この技術により加齢した皮膚幹細胞で有意に結合が変化するレクチンを同定した。

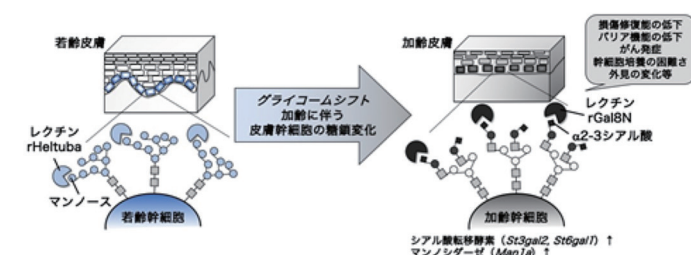


図2 皮膚幹細胞の加齢に伴う糖鎖変化に着目した老化の理解と制御

皮膚幹細胞の加齢に伴い、高マンノース型(図2左)からシアル酸に富んだ複合型(図2右)へと、糖鎖修飾パターンがダイナミックに変化する「グリコームシフト」が起こる。またシアル酸の付加に働く糖転移酵素(注5)(St3gal2、St6gal1)、およびマンノースの分解に働く酵素(Man1a)は、加齢した皮膚幹細胞では有意に発現が上昇する。若齢幹細胞に存在するマンノース、および加齢幹細胞に存在する α 2-3 シアル酸をそれぞれ認識する糖結合タンパク質としてレクチン(rHeltuba、rGal8N)を同定し、新たな老化バイオマーカーとしての可能性を見出した。

【題名】 Glycome profiling by lectin microarray reveals dynamic glycan alterations during epidermal stem cell aging
(糖鎖プロファイリング技術を用いた加齢に伴う皮膚幹細胞の糖鎖変化の解明)

温度に応答して自らを保護する食中毒細菌集団

1. 国内での患者数第3位の食中毒細菌であるウェルシュ菌が、宿主の体温より低い温度に応答して自らを繊維状タンパク質（細胞外マトリクス（注1））で覆い、酸素および抗生物質に対する耐性を向上させることで、強固な集団（バイオフィーム）を形成することを発見しました。
2. バイオフィーム中では、マトリクスを生成する細胞と生産しない細胞が役割分担して生存していることがわかりました。
3. バイオフィームマトリクスに着目したバイオフィーム除去法および食中毒や感染症の予防・治療法の開発が期待されます。

立大学法人筑波大学 医学医療系 尾花望助教と生命環境系 野村暢彦教授らの研究グループは、食中毒細菌であるウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) のバイオフィーム（集団）に抗生物質・酸素耐性をもたらす細胞外マトリクスタンパク質を発見しました。

細菌はバイオフィームを形成して生存しています。これは細菌にとっては環境中を生き抜く生存戦略の一つですが、環境中に残存した病原細菌が人間に感染して疾患を引き起こす可能性があるため、バイオフィームの性質を理解し排除することが重要です。本研究グループは、ウェルシュ菌が繊維状のタンパク質（マトリクス）を生産することによって、酸素や抗生物質に対する耐性を向上させ、強固なバイオフィームを形成することを発見しました。また、繊維状タンパク質が生産できないウェルシュ菌は酸素や抗生物質に対する耐性が低くなることがわかりました。

一般的に病原細菌は、宿主（ヒト、動物）の体内温度（約37℃）に応答して病原性を調節していることが知られています。しかしながらウェルシュ菌の場合、宿主体内よりも低い温度に応答して繊維状タンパク質を豊富に産生していることがわかりました。また、ウェルシュ菌のバイオフィーム中には、繊維状タンパク質を生産する細胞と生産しない細胞が共存していることを見いだしました。これらのことから、酸素があると生育できないウェルシュ菌は温度を介して、酸素が豊富な宿主の外部環境を認識し、バイオフィーム形成を調節していること、さらにバイオフィーム内で役割分担しつつ、集団として生存していることが示唆されました。

本研究の成果は、2020年7月31日付「npj Biofilms and Microbes」で公開されました。

参考図

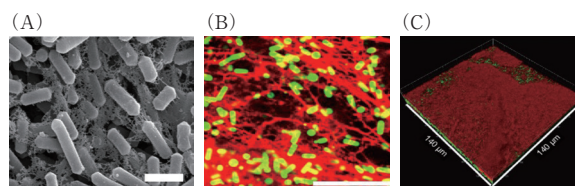


図1 ウェルシュ菌が生産する繊維状 EPS マトリクス (BsaAポリマー)。

(A) ウェルシュ菌が形成する膜状バイオフィームの走査型電子顕微鏡画像。スケールバーは2μmを示す。(B、C) ウェルシュ菌が形成する膜状バイオフィームの共焦点レーザー顕微鏡画像。2次元画像 (B) と3次元画像 (C) を示す。蛍光染色した細胞と BsaA タンパク質をそれぞれ緑と赤で表示。スケールバーは20μmを示す。

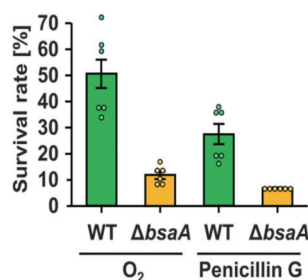


図2 繊維状EPS遺伝子のストレス耐性に対する影響。

酸素もしくは抗生物質（ペニシリン G）に20時間暴露した後の生存率の測定。BsaAポリマーを作れないウェルシュ菌は膜状のバイオフィームを形成できず、酸素と抗生物質に対する耐性が低下した。WT: 野生株。ΔbsaA: 繊維状EPS遺伝子欠損株。

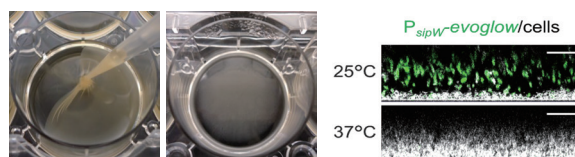


図3 バイオフィーム中の繊維状 EPS (BsaAポリマー) 生産細胞の空間分布。

(左図) 異なる温度で形成させたバイオフィーム。25℃では厚く弾性に富んだ膜状のバイオフィームを形成する。(右図) 異なる温度で形成したバイオフィームの共焦点レーザー顕微鏡観察結果。横から見た断面図を示す。繊維状EPS生産細胞を緑、全細胞を白で表示。スケールバーは20μmを示す。

用語解説

(注1) 細胞外マトリクス

バイオフィーム中の非細胞性の構成成分であり、細胞外高分子物質 (Extracellular polymeric substance: EPS) から成る。EPS は主にタンパク質、DNA および多糖から成り、バイオフィームの構造維持や機能に重要役割を果たす。

【題名】 Temperature-regulated heterogeneous extracellular matrix gene expression defines biofilm morphology in *Clostridium perfringens*
(温度によって調節される不均一な細胞外マトリクス遺伝子発現がウェルシュ菌バイオフィーム形態を決定する)

アルギニンメチル化酵素が正常な脳の発達を促す ～脳におけるタンパク質のメチル化の新しい意義を発見～

1. 脳の発達におけるタンパク質翻訳後修飾「アルギニンメチル化注1)」の役割を解明しました。
2. アルギニンメチル化の主要酵素 PRMT1 (注2)は脳の炎症誘導を抑え、正常な脳の発達を促している可能性が示されました。
3. 本研究グループが開発した PRMT1 の脳特異的欠損マウスが、脳の炎症と発達の関係を知る有用なモデルとなり得ることがわかりました。

国立大学法人筑波大学生存ダイナミクス研究センター(TARA)深水昭吉教授、同橋本美涼博士(現国立大学法人東海国立大学機構岐阜大学応用生物科学部助教)の研究グループは、マウスを使った解析により、発達中の脳において、生合成されたタンパク質に生じる様々な化学修飾(翻訳後修飾)の一つである「アルギニンメチル化」が炎症状態の誘導に関与することを見出しました。

発達期の脳の炎症は、損傷や胎児期の母体の感染等によって引き起こされ、脳の発達に深刻なダメージを与えます。アルギニンメチル化酵素PRMT1の脳特異的欠損マウス(KOマウス)では、ミエリン(神経細胞の髄鞘)(注3)がうまく作られないなど脳が正常に発達せず、生後約2週間まで致死となることがわかっていました。本研究では、その原因を調べるため、誕生直後のKOマウス脳の遺伝子発現パターンを網羅的に解析しました(図1)。その結果、KOマウスは炎症関連遺伝子の増加など、既存の脳内炎症モデルと類似したパターンを示しました。さらに、KOマウス脳ではグリア細胞(注4)のアストロサイトやミクログリアの異常増加も認められ(図2)、これらは炎症シグナルを介していることが示唆されました。今後、KOマウスが脳の炎症と発達の関係を知る有用なモデルとなることが期待されます。

本研究の成果は、2020年9月12日付「Journal of Neurochemistry」で公開されました。

*本研究は、筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA)、岐阜大学、英国エジンバラ大学医学研究評議会(MRC)再生医療センター、神戸大学による共同研究として行われました。

参考図

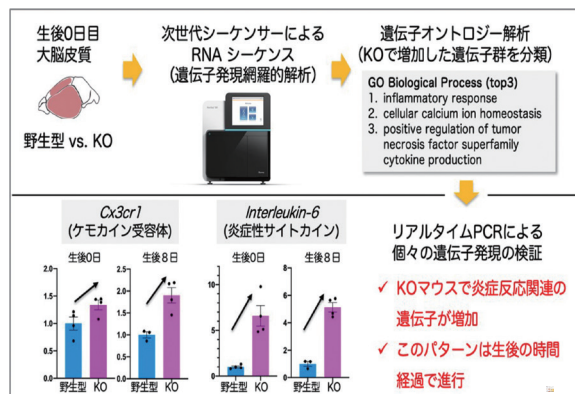


図1 PRMT1欠損脳における遺伝子発現網羅的解析の流れ

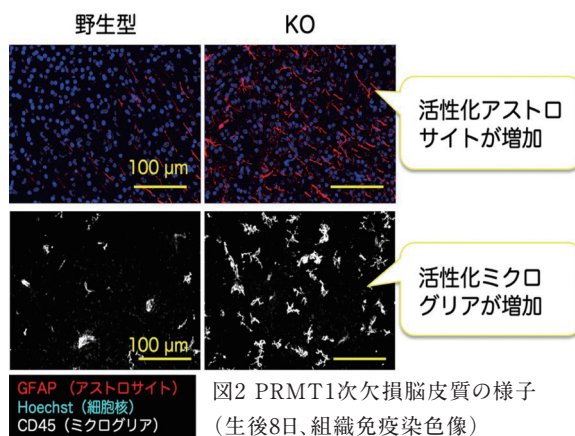


図2 PRMT1欠損脳皮質の様子(生後8日、組織免疫染色像)

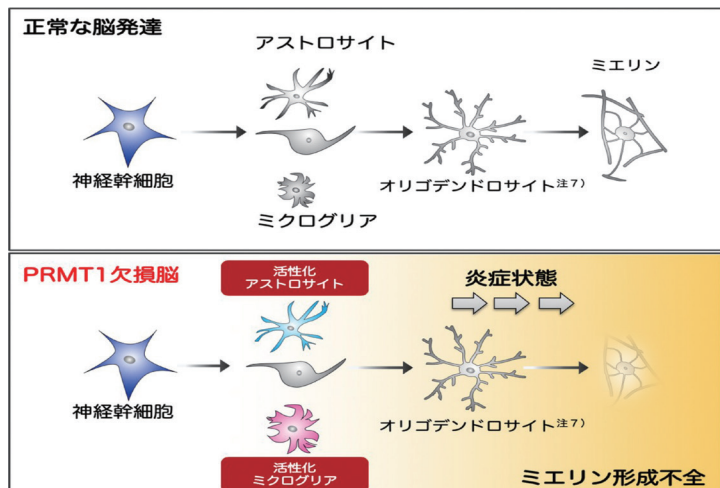


図3 PRMT1欠損による脳の発達への影響

【題名】 Loss of PRMT1 in the CNS induces reactive astrocytes and microglia during postnatal brain development
(中枢神経系における PRMT1 欠損は生後の脳発達においてアストロサイトとミクログリアの活性化を誘導する)

令和2年度TARA共同研究プロジェクトについて

生存ダイナミクス研究センターでは、当センターを拠点とする共同研究体制をさらに充実させる為、新たなTARAプロジェクト「公募型研究プロジェクト」を2018年度より開始しております。2020年度（令和2年度）は、筑波大学以外の機関に所属する研究者を対象とし、共同研究テーマの公募を行い、17件の研究課題が採択されました。

学会賞等受賞報告

■ 深水研究室

・室町直人氏（修士課程2年）が、2020年9月 第93回日本生化学会大会において、若手優秀発表賞を受賞しました。

■ 渋谷研究室

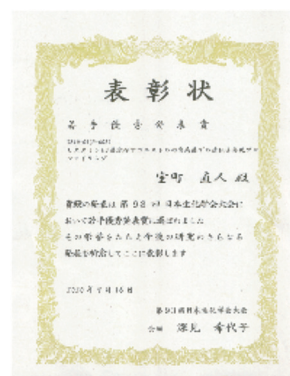
・渋谷彰教授が、2020年4月 令和2年度科学技術分野文部科学大臣表彰（研究部門）を受賞しました。
・渋谷和子准教授が、2020年4月 2019年度ベストティーチャー賞を受賞しました。

■ 柳沢研究室

・山城義人助教が、2020年8月 日本循環器学会 第37回YIA Basic Research部門優秀賞を受賞しました。
・Karina Ramirez氏（HBP5年）が、2020年9月 Tsukuba Global Science Week 2020 Best Poster Awardを受賞しました。

■ 野村研究室

・豊福雅典准教授が、2020年6月 日本微生物学連盟 第1回野本賞を受賞しました。
・田伏羲彦氏（修士課程2年）が、2020年9月 2020年度グラム陽性菌ゲノム機能会議 学生優秀ポスター発表賞（1位）を受賞しました。
・永沢亮氏（博士課程3年）が、2020年9月 2020年度グラム陽性菌ゲノム機能会議 学生優秀ポスター発表賞（2位）を受賞しました。
・曾根貴志氏（修士課程1年）が、2020年9月 2020年度グラム陽性菌ゲノム機能会議 学生優秀ポスター発表賞（3位）を受賞しました。



・第93回日本生化学会大会若手優秀発表賞表彰状



・2020年度グラム陽性菌ゲノム機能会議 学生優秀ポスター発表賞受賞にて

TARA NEWSLETTER No.5

【発行者】 筑波大学生存ダイナミクス研究センター

【連絡先】 〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1
TEL.029-853-6082 FAX.029-853-6074
E-mail : tara@tara.tsukuba.ac.jp

<https://www1.tara.tsukuba.ac.jp>

2020年10月発行