



TARA

NEWSLETTER

No.8

April 2022

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

University of Tsukuba



2022年3月 クライオ電子顕微鏡施設の開設

CONTENTS

- ◆ センター長挨拶 2
- ◆ 活動報告
 - AMED難治性疾患実用化研究事業の採択 ... 3
 - AMED-CRESTの採択 4
 - 論文プレスリリース 5
 - 学会報告 10
 - 学会賞等受賞報告 11

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

センター長挨拶

2006年4月から2010年9月まで「先端学際領域研究センター」のセンター長を務め、「生命領域学際研究センター」への改組を手掛け、2018年3月まで副センター長として現『生存ダイナミクス研究センター (Life Science Center for Survival Dynamics) (2018年4月発足)』への改組に取り組んで参りました。2022年4月から、前任の林純一先生 (筑波大学名誉教授) から生存ダイナミクス研究センターのセンター長を引き継ぎました。本研究センターは、細胞・個体の遺伝情報やシグナル機能の解明を基盤として、環境変化へのダイナミックな応答を「生物の生存戦略」と捉えて研究を深化させ、生命動態科学の新たな道を切り拓くことを目指しています。



(深水 昭吉 センター長)

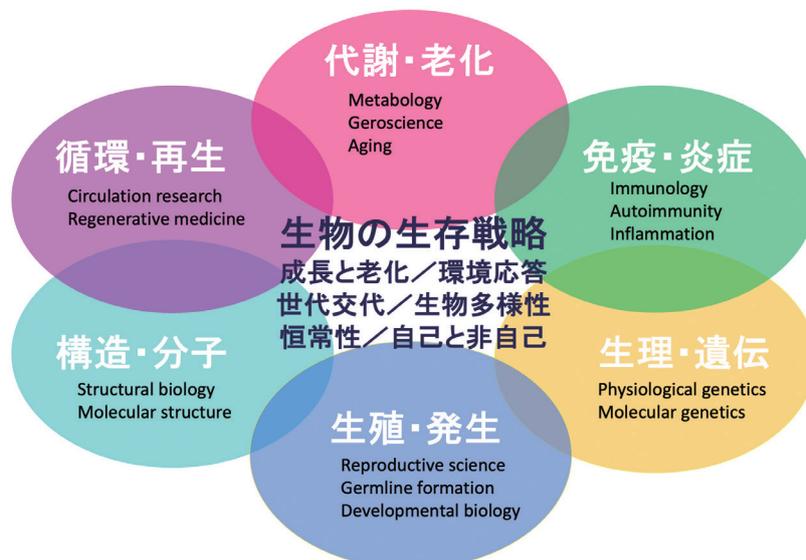
TARAセンターの代謝・生殖・循環・生理・構造・免疫等の各研究領域では、受容体、核内因子や情報分子などの三次元立体構造や、因子間相互作用、これらの制御機構を解析し、様々な生命現象をつかさどるタンパク質や調節因子 (高分子や低分子) の機能解析をさらに発展させていくことを目指します。このように、生物の生存戦略の理解は、基礎科学研究を展開して医療技術の開発を推進し、その成果を活用した健康寿命の延伸を目指す我が国の政策にも合致しています。さらに、基礎科学研究の探求を通じて、人類と環境が調和することで、持続的かつ再生可能な社会の創造に貢献したいと考えます。

ヒトの生活の基盤となる健康・食・医療は、地球温暖化、生物多様性、少子・高齢化や生殖医療等の諸課題と密接に関係し、地球規模の関心事として社会全般に広がっており、それらの問題を解く鍵は、我々ヒトを含む生物の生命情報に潜んでいます。細胞は、DNA、RNA、タンパク質、脂質や低分子などを利用する生命反応を介して、環境の変化に巧みに応答しています

が、生物を適応・順応させる未解明なコードが生命情報に書き込まれています。そこで本センターでは、環境への応答や防御あるいは進化といった生命反応の未知なる部分を解明し、生物の潜在的な生存戦略のコードを発掘・解読 (デコード) することを目的としています。

『生命情報新世紀』となる現在、生命科学のパラダイムが大きくシフトしようとしています。国際的な競争も激しくなる一方、世界の研究者が共同研究を発展させる好機にもなっています。生存ダイナミクス研究センターでは、これまでの医学、生物学、農学、薬学、健康科学という多様な領域の相互連携・共創を強化しつつ、大学生・大学院生はもとより、若い世代の研究者が没頭できる「内発 (興味追求) 型学術研究」を推進するとともに、新時代のニーズに応える「課題解決型学術研究」にも取り組み、国際共同研究を展開しながら、生命情報デコードにチャレンジして参ります。

生存ダイナミクス研究センターの研究分野



AMED難治性疾患実用化研究事業の採択

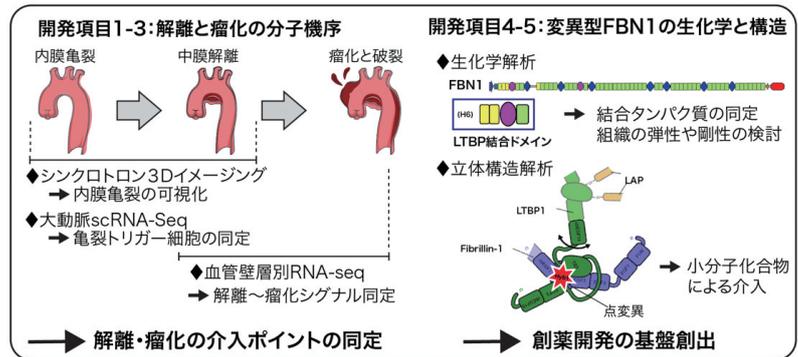
分野名「希少難治性疾患の病態解明研究」（AMED難治性疾患実用化研究事業 令和3年度採択）

研究課題名	研究者氏名
新規大動脈解離マウスモデルを用いたマルファン症候群等類縁疾患の大動脈解離発症機序の解明	柳沢 裕美

【研究概要】

大動脈解離は中膜の解離により大動脈破裂や臓器灌流不全を起こす疾患で、マルファン症候群（MFS）やMFS類縁疾患における若年突然死の原因です。しかし大動脈解離の発症や進行に係るシグナル経路や分子機序は未だ不明のため、それらをひとつひとつ理解することで、新しい治療法の開発につながる可能性が生まれます。私たちの研究グループは、家族性大動脈解離患者から同定された fibrillin-1 (FBN1) 遺伝子-血管壁を維持する細胞外マトリックス fibrillin-1 をコードする遺伝子-の新規ミスセンス変異をマウスに導入し、特定の時期に再現性よく解離を自然発症する大動脈解離（AD）マウスモデルを作製しました。この新規 AD マウスモデルを用いて、解離に至る経時的病態変化を詳細に解析することが初めて可能となりました。ミスセンス変異を有する FBN1 遺伝子 N-末端ドメインには、多数の FBN1 結合タンパク質が結合することが知られています。そのため、変異 FBN1 を介した結合タンパク質の機能障害や新たな結合タンパク質による異常シグナルの誘導などが考えられ、病因に関する新しい知見が得られる可能性が高いと思っています。

構造生物学～生化学～分子生物学～病理学からの多角的な解析アプローチによって、解離発症の共通原理と、解離から大動脈瘤化のメカニズムを探り、MFSとMFS類縁疾患の大動脈病変の治療戦略に結びつけることを目指します。



Modified from Robertson, 2017

【代表者インタビュー】（●: 質問者 ◆: 柳沢裕美先生（研究代表者））

- この度はご採択、おめでとうございます。本研究課題の特徴や特にアピールしたい点をお聞かせ頂けますか。
- ◆ ありがとうございます。私は長年、血管壁の構造維持に関わる細胞外マトリックスの研究を続けてきました。大動脈解離は、循環器疾患の中でも病院到着前死亡率が高く、生命を脅かす疾患です。今回私たちは、大動脈解離マウスの作成に成功し、ヒトの疾患の発症を再現することができるようになりました。1日も早く、大動脈解離の発症機序を明らかにしたいと思っています。
- 本研究課題の申請準備から採択に至るまでを振り返って、何か印象に残ったことがあればお聞かせ下さい。
- ◆ 本研究課題を進めていく過程で、臨床グループ（心臓血管外科）と基礎グループ（分子病理学、生化学、構造生物学）の共同研究者に加えて、海外の共同研究者にも参加していただき、初期の段階からZoomを通してディスカッションを進めてきたことは、大変ありがたかったです。
- 最後に、本研究を進める上での抱負などありましたらお聞かせ下さい。
- ◆ 今後研究を進めていく上で、ダイバーシティーが果たす役割は大きいと考えます。色々な観点から、多くのアイデアを出し合って研究していきたいと思っています。
- 有り難うございました。

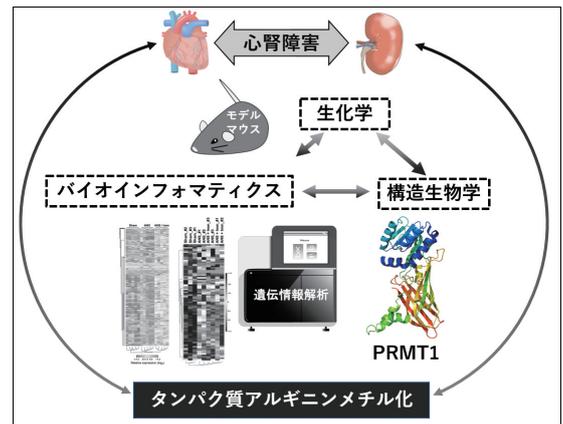
AMED-CRESTの採択

研究領域「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」(AMED-CREST 令和3年度採択)

研究課題名	研究者氏名
不可逆的タンパク質メチル化を介した進行性および加齢性心腎障害の分子基盤	深水 昭吉

【研究概要】

世界保健機関(WHO)のデータによりますと、心不全や腎不全などの心血管イベントは、世界の主な死因の一つとなっています。心血管疾患患者では高率に慢性腎臓病(CKD)を併発し、また、CKD患者は心血管疾患により死亡するリスクが高くなり、心臓と腎臓が互いに影響しあう「心腎障害(cardiorenal damages)」は、生活習慣病のハイリスク因子として Quality of Life(QOL)にも大きく影響することが知られています。心不全をはじめとする心血管疾患は、がんに次いで我が国の死亡原因の第2位ですが、そのリスクファクターの一つにCKDが知られています。CKDは自覚症状が乏しく、病態が進行していくと、血液透析などの腎代替療法を必要とする末期腎不全に至る可能性のある疾患です。2018年の日本透析医学会の統計では、透析導入患者の主要死因の第一位が心不全であり、CKDを有する患者は高率に心血管疾患を併発することから、その死因が末期腎不全から心血管疾患のリスクにシフトすることも明らかになってきました。心腎障害は、緩慢ではありますが若い世代から進行し、高齢になった際にQOLを著しく低下させることが判明しつつあります。そこで本研究課題では、進行性および加齢性の心腎障害の予防や改善方策を創出することを目指し、タンパク質分解の過程で除去されないアルギニン残基のメチル化修飾に着目して、その仕組みを理解することを目的としています。具体的には、生化学、バイオインフォマティクス、構造生物学のアプローチから、不可逆的なタンパク質メチル化を介した分子基盤の解明を目指します。



心腎障害の生命情報のデコード研究

【代表者インタビュー】 (●: 質問者 ◆: 深水昭吉先生 (研究代表者))

- この度はご採択、おめでとうございます。本研究課題の特徴や特にアピールしたい点をお聞かせ頂けますか。
- ◆ このような機会をいただき、有難うございます。本研究課題で取り上げていますタンパク質アルギニンメチル化は、遺伝情報発現に必須なヒストンや転写因子などのタンパク質のアルギニン残基をメチル化して、その機能(活性、結合など)を調節する翻訳後修飾の一つです。この修飾反応は、タンパク質アルギニンメチル化酵素(PRMT)ファミリーが触媒します。このファミリーの中でも、細胞内のアルギニンメチル化反応の80%を担うと考えられているPRMT1の分子基盤の解明に焦点を当てているところが特徴の一つです。
- 本研究課題の申請準備から採択に至るまでを振り返って、何か印象に残ったことがあればお聞かせ下さい。
- ◆ タンパク質アルギニンメチル化のもう一つの特徴は、アルギニンメチル化タンパク質が分解されると遊離のメチルアルギニンが生成され、メチルアルギニンは血管の弛緩反応を阻害(=血圧上昇を引き起こす)することが知られています。つまり、アルギニンメチル化反応はタンパク質の機能を調節するだけでなく、分解生成物であるメチルアルギニンが生理活性を持つという、他のアミノ酸修飾には見られない性質を持っています。私たちの研究室は、高血圧治療の第一選択薬の阻害標的であるレニン-アンジオテンシン系の研究をしてきましたので、タンパク質メチル化修飾と心腎機能の研究が結びついたことがとてもエキサイティングに感じています。
- 最後に、本研究を進める上での抱負などありましたらお聞かせ下さい。
- ◆ プロジェクトを推進する上で重要なことは、私たちがマウスモデルの作製や病態生理的解析を含めた「生化学」的アプローチを担当しますが、投薬による改善機能や遺伝情報の変化のマルチオミクス解析を富山大学(和漢医薬学総合研究所複雑系解析分野)の金俊達先生に「バイオインフォマティクス」を、奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科の藤間-深井祥子先生に「構造生物学」をご担当いただき、綿密に連携をとりながら研究を進めています。特に、バイオインフォマティクスや構造生物学は生命情報を読み解く重要な研究分野ですので、プロフェッショナルと共同研究を進めていくことの重要性が益々増していると実感しています。
- 有り難うございました。

木村健一助教とFleischmann研究室との共同研究により骨修復において幹細胞が働くメカニズムを解明

間葉系幹細胞(MSCs)は、骨髄、脂肪細胞、歯髄などに存在しており、骨、軟骨、脂肪組織などの細胞に分化する組織幹細胞の一つです。その多分化能や組織再生能から、再生医療のツールとして注目されていますが、MSCsの生体内での動態や分化能については未だ不明な点が多く、治療の有効性や作用機序が不明確なまま、臨床応用が先行しているケースもあります。より安全で効果的な再生医療の実現のためには、組織修復・再生における生体内でのMSCsの動態の解明が望まれています。本研究グループは、これまでに、MSCsに強く発現する酵素分子CD73に着目し、CD73発現細胞を蛍光標識したマウスを作製しています。今回さらに、骨髄中で幹細胞を維持する微小環境(ニッチ)が再構築される際のメカニズムを明らかにしました。

このマウスからCD73陽性MSCsとCD73陰性MSCsを単離し、性質を比較したところ、CD73陽性MSCsは、生体外において高い増殖能と骨・軟骨細胞への分化能を持つことが分かりました。また、マウス大腿部に骨折を作製し、骨修復におけるCD73陽性MSCsの動態解析より、CD73陽性MSCsは骨折部位に遊走し、骨芽細胞や軟骨細胞に分化し、積極的に組織修復に関わっていることが判明しました。一方、CD73陽性血管内皮細胞は、骨修復中期に骨折部位に観察され、周囲には造血幹前駆細胞が集積し、ニッチの再構築に働いていました。以上のことから、CD73発現細胞はニッチの再構築に重要な役割を示すことが明らかとなりました。

本研究成果は、CD73陽性MSCsを標的とした骨疾患への新たな治療法の開発につながると期待されます。

参考図

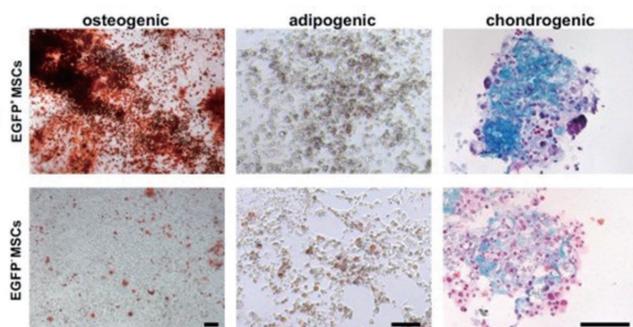


図1 CD73陽性・陰性MSCsの分化能の比較

CD73陽性MSCs(上段)はCD73陰性MSCs(下段)に比べ、脂肪細胞への分化能に差異は見られないが(中列)、骨分化能(左列、赤色が骨芽細胞)および軟骨分化能(右列、青色が軟骨細胞)が高い。(スケールバー:100 μ m)

【題名】 Bone marrow CD73+ mesenchymal stem cells display increased stemness in vitro and promote fracture healing in vivo(骨髄由来CD73陽性間葉系幹細胞は高い幹細胞性を有し、骨修復に寄与する)

Kenichi Kimura, Martin Breitbach, Frank A. Schildberg, Michael Hesse, Bernd K. Fleischmann
Bone Reports, 15: 101133(2021).

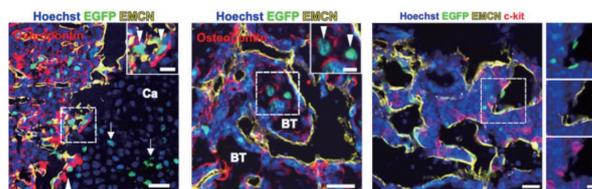


図2 マウス骨折モデルを用いたCD73発現細胞の骨修復への寄与の評価

術後7日目の骨折部位の様子(左図)。CD73陽性MSCsは骨折部位の新生軟骨(Ca)周囲に遊走し(左図、矢頭)、一部の細胞は軟骨細胞へと分化し、新生軟骨形成に寄与している(左図、矢印)。術後14日目の骨折部位の様子(中図)。CD73陽性MSCsは骨修復中期に見られる海綿骨(BT)の形成に寄与している(中図、矢頭)。一方、術後14日目の仮骨の一部には新生骨髄が形成されており(右図)、新生骨髄内にはCD73を発現する血管が観察され(右図、緑色)、周囲には造血幹前駆細胞が集積し(右図、赤色)、骨髄ニッチの再構築が行われている。(スケールバー:25 μ m、拡大図:10 μ m)

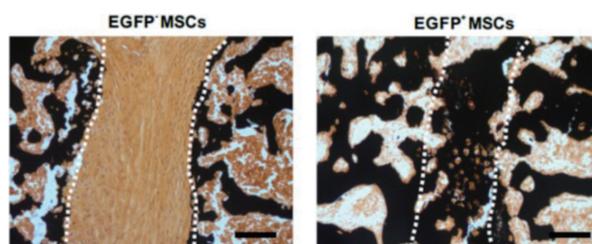


図3 移植されたCD73陽性MSCsの骨修復能の評価

細胞移植後28日目の骨折部位(点線に挟まれた部分)の様子。骨折部位に移植されたCD73陽性MSCs群(右図)はCD73陰性MSCs群(左図)に比べ、骨折部位における新生骨の形成が進んでいる(黒色部分)。(スケールバー:100 μ m)

今後の展開

今回の研究成果に基づき、今後は、MSCsや類洞血管内皮細胞において、どのような機序でCD73発現が細胞の生理機能に影響を与えているかについて調べていく予定です。また、CD73はヒトMSCsにも発現しており、今後、ヒトCD73陽性MSCsを用いた骨疾患への新たな治療法の開発が期待されます。

ショウジョウバエ系統の凍結保存法を開発

ショウジョウバエは、生命科学研究におけるモデル生物として、多くの突然変異系統が作出され、さまざまな生命現象における遺伝子機能の解明に役立っています。また、ヒト疾病モデルとして、医学や創薬の分野においても頻繁に利用されています。しかし、ショウジョウバエ系統は継代飼育によって維持されており、時間と共にゲノムに変異が蓄積し、系統が変化してしまうため、研究に使えなくなることがありました。このリスクを回避するため、系統を長期間保存できる凍結保存法の確立が待ち望まれていました。

本研究では、卵や精子の元となる始原生殖細胞を、保存したい系統の卵(胚)から、ガラス針を用いて集め、液体窒素中で凍結保存する方法を開発し、ショウジョウバエ系統を凍結保存することに世界で初めて成功しました。凍結保存した始原生殖細胞は、融解した後、妊性のない別の胚に移植すると正常な卵や精子に分化し、それらを受精させると、もとの系統と全く同じ子が得られます。この技術は、京都ショウジョウバエストックセンターに技術移転され、ショウジョウバエ系統の凍結保存の実用化が、世界に先駆けて開始されています。この技術開発により、生命科学および医療・創薬分野の研究の持続的な発展を担保することができるようになると期待されます。

参考図

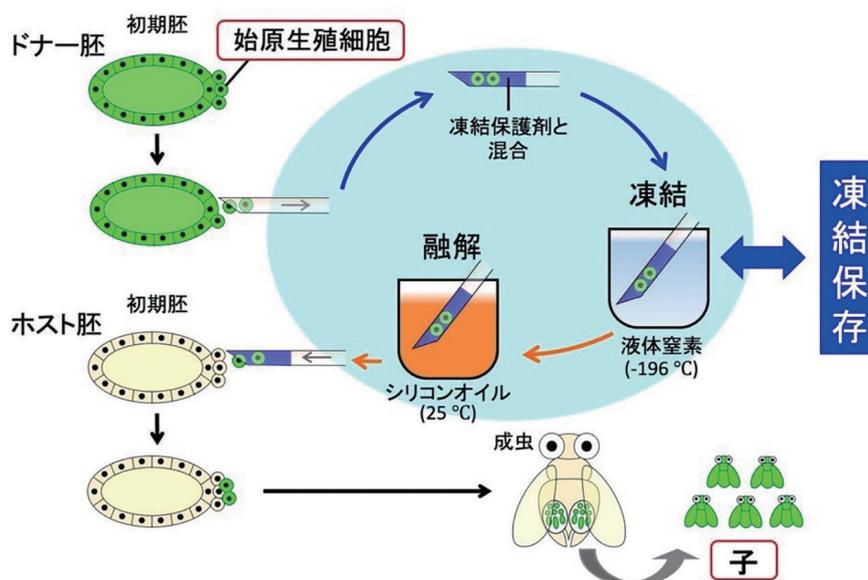


図 本研究で開発したショウジョウバエ系統の凍結保存法

保存したい系統の初期胚(緑)の後極からガラス針を用いて始原生殖細胞を吸い出し、水晶の形成を抑え、細胞が破壊されるのを防ぐための凍結保護剤と混合して、ガラス針ごと液体窒素に浸けて凍結し、そのまま液体窒素中で保存する。系統を復活させるには、室温程度に温めたシリコンオイル中で始原生殖細胞を融解し、ホスト胚の後極に移植する。移植した胚を親まで育て、雄と雌を交配して子を得る。ホスト胚に、ホストの始原生殖細胞(淡黄色)が致死となる不妊の胚を用いると、成虫が形成する卵や精子は全て移植した始原生殖細胞(緑)由来となり、生まれる子は全てとドナーと同じ遺伝型(緑)になる。

今後の展開

本研究で開発した始原生殖細胞の凍結保存の方法および移植により系統を復活させる技術は、世界にあるショウジョウバエの3大ストックセンターの一つである京都ストックセンターに技術移転され、実用化されつつあります。これは、世界で初めての試みであり、生命科学および医療・創薬分野の研究の持続的な発展を担保することができるようになると期待されます。今後、凍結保存された細胞が10年、20年後も変わらず同じ能力を持ち続けているか、保存期間中にゲノムが損傷を受けないか、について詳細に調べ、この技術の安全性を示していくことが必要です。

【題名】 Offspring production from cryopreserved primordial germ cells in *Drosophila*

(ショウジョウバエにおける凍結保存した始原生殖細胞からの子孫の産出)

Miho Asaoka, Yurina Sakamaki, Tatsuya Fukumoto, Kaori Nishimura, Masatoshi Tomaru,
Toshiyuki Takano-Shimizu, Daisuke Tanaka and Satoru Kobayashi
Communications Biology 4: 1159 (2021)

ショウジョウバエ始原生殖細胞におけるタンパク質の合成活性の性差を発見

有性生殖を行う生物には、メスとオスの二つの性があり、それぞれ生殖細胞である卵と精子をつくります。ショウジョウバエでは、始原生殖細胞(生殖細胞のもとになる細胞)の性は、受精した卵(胚)の発生過程で決まり、卵や精子への性分化を開始します。しかし、始原生殖細胞の性が決まり性分化する機構の詳細は未だ明らかにはなっていません。本研究グループは、これを明らかにするために、メスとオスの始原生殖細胞の間で差異を示す現象の探索を行ってきました。

その結果、ショウジョウバエの始原生殖細胞が、卵や精子への性分化を開始する時期(孵化間近の後期胚)において、①蛍光タンパク質を発現させると、発現したタンパク質の量がメスに比べてオスの始原生殖細胞で高くなること、②メスと比較してオスの始原生殖細胞で発現量が多い遺伝子には、翻訳活性の制御に関わる遺伝子が多く含まれること、③メスと比較してオスの始原生殖細胞でタンパク質の合成活性が高いこと、を見いだしました。これらのことから、性分化を開始している始原生殖細胞において、タンパク質合成活性、すなわちメッセンジャー RNA (mRNA) の翻訳活性が、メスに比べてオスの始原生殖細胞で高いことが明らかになりました。この翻訳活性の差異により、始原生殖細胞において発現する遺伝子に差異が生じ、異なる性分化が引き起こされると考えられます。

タンパク質を合成する活性がメスとオスの始原生殖細胞で異なるという報告はこれまでになく、本研究成果は、性分化機構を明らかにする上で重要な発見です。

参考図

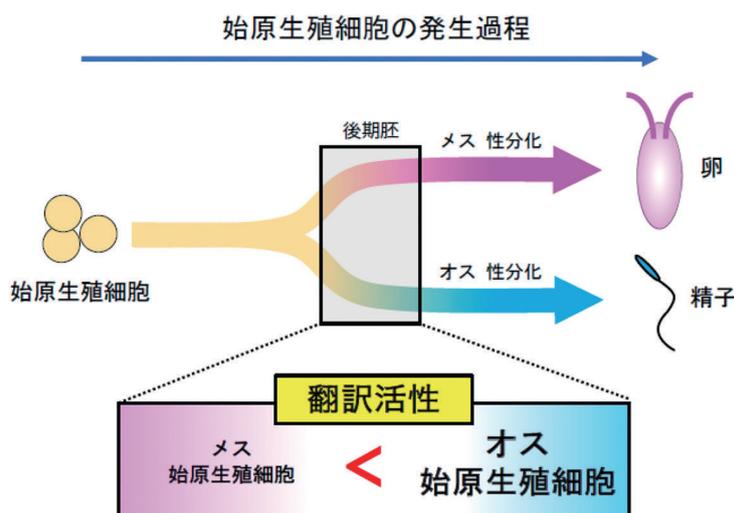


図 ショウジョウバエ始原生殖細胞における翻訳活性の性差

用語解説

注1) 性分化

決定された性に基づき、メスあるいはオスに特化した機能を持つ細胞へ分化する現象。ショウジョウバエの始原生殖細胞では、決定した性に基づいて卵や精子へと分化する。

注2) Gal4-UAS システム

酵母由来の転写を促進する Gal4 タンパク質を、特定の細胞で人為的に発現させ、UAS と呼ばれる DNA 配列を有する融合遺伝子を発現させる方法。ショウジョウバエの研究において広く用いられている。

注3) 翻訳活性

遺伝子発現の過程において、mRNA をタンパク質へ翻訳する活性のこと。翻訳活性が高くなると、翻訳が活発に行われ、タンパク質の合成量が多くなる。

【題名】 Male-biased protein expression in primordial germ cells, identified through a comparative study of UAS vectors in *Drosophila*. (UAS ベクターの比較解析において見出されたショウジョウバエ始原生殖細胞におけるオスに偏ったタンパク質発現)

Masaki Masukawa, Yuki Ishizaki, Hiroki Miura, Makoto Hayashi, Ryoma Ota and Satoru Kobayashi
Scientific Reports11: 4890 (2021) (1)

昆虫ホルモンの生合成を攪乱する蚊の発育阻害剤の発見 ～環境に優しい農薬の開発に向けて～

地球上で最も多くのヒトを殺す生物は、蚊です。現在、マラリアやデング熱など、蚊が媒介する重篤な感染症による死者は、世界中で年間70万人にも上ります。これらの感染症に対する防衛策として、蚊を殺したり、あるいは蚊の成長を阻害する薬剤の使用は欠かせません。しかしながら、既存の殺蚊剤に対して抵抗性を示す蚊の出現が確認されています。そのため、単一の薬剤に過剰に頼るのではなく、作用機序の異なる複数の薬剤をローテーションして使用することで、薬剤抵抗性の出現を回避する戦略が不可欠です。

害虫に対する高い殺虫能や成長阻害能を示しながら、昆虫以外の生物に対する作用がない薬剤として、昆虫特有の生命現象を攪乱する「昆虫成長制御剤」があります。その一つとして、昆虫の脱皮と変態を司る昆虫ステロイドホルモン「エクジステロイド」の働きを攪乱する薬剤が注目されています。本研究チームは、エクジステロイド生合成に必要な酵素「Noppera-bo」に焦点を当て、デング熱、黄熱、ジカウイルス感染症を媒介するネッタイシマカ由来の Noppera-bo の活性を阻害する薬剤を探索しました。その結果、植物の二次代謝物としてよく知られるフラボノイド化合物であるデスメチルグリシテインが極めて有効であることを発見し、さらにX線結晶構造解析によって分子レベルでの作用機序の解明に成功しました。加えて、デスメチルグリシテインが、ネッタイシマカ幼虫の発育を阻害することも見いだしました。

今回の研究成果により、環境負荷が少なく効果の高い殺蚊剤の開発が期待されます。

参考図

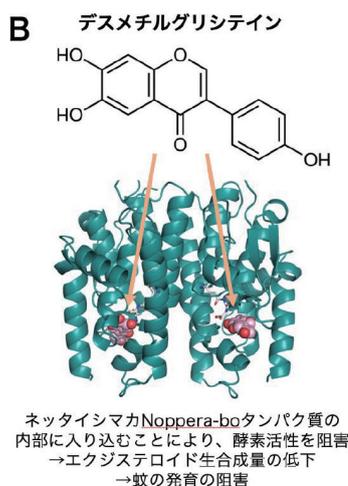
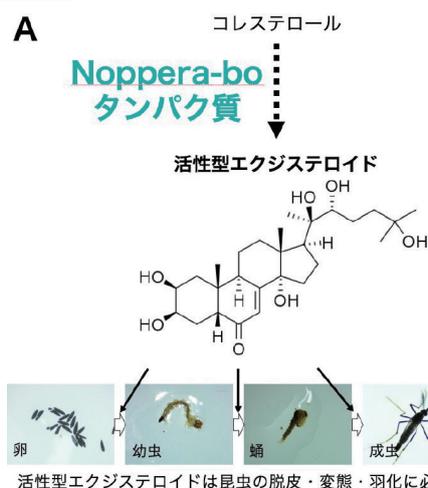


図 Noppera-bo の機能とデスメチルグリシテインの作用の模式図

- (A) Noppera-boは、食餌から摂取したコレステロールからエクジステロイドを生合成する過程に関与する。活性型のエクジステロイドや、昆虫の脱皮や変態、そして羽化に必須である。
- (B) 本研究で見出したデスメチルグリシテインというフラボノイド化合物は、ネッタイシマカNoppera-boタンパク質の内部に入り込み、酵素活性を阻害する。その結果、エクジステロイド生成量が低下し、蚊の発育が阻害されると考えられる。

用語解説

注1) 生合成酵素

生物が、その構成成分となる生体分子を、食物などから得た原材料を元に作り出す過程を「生合成」といい、生合成酵素は、生合成に必要な化学反応を触媒するタンパク質を指す。コレステロールから活性型エクジステロイドを生合成するためには、少なくとも9種類の酵素が必要であると考えられている。

注2) Noppera-bo

ハエ目昆虫とチョウ目昆虫で必須の役割を果たすエクジステロイド生合成酵素の一つ、グルタチオン S-転移酵素と呼ばれる一群のタンパク質ファミリーに属する。Noppera-boの名前の由来は、このタンパク質の機能が完全に失われたショウジョウバエでは、本来胚で発達するべき表皮の構造が形成されずに「ツルツル」の見た目になるため。

注3) 二次代謝産物

生物の体に存在する物質は、さまざまな化学反応を経て多様な物質へと変化する。この変化の過程を代謝という。生体内の代謝された物質のうち、生物体を構成維持する上で必要な物質を一次代謝産物、生存に必ずしも必須ではない物質を二次代謝産物と呼ぶ。微生物や植物は多様な二次代謝産物を産生することが知られており、これらの中には医薬品をはじめ有益な物質が多くある。

【題名】 Molecular action of larvicidal flavonoids on ecdysteroidogenic glutathione S-transferase Noppera-bo in *Aedes aegypti* (ネッタイシマカのエクジステロイド生合成に関与するグルタチオン S-転移酵素 Noppera-bo に作用するフラボノイドの殺幼虫活性の分子作用)

Kazue Inaba, Kana Ebihara, Miki Senda, Ryunosuke Yoshino, Chisako Sakuma, Kotaro Koiwai, Daisuke Takaya, Chiduru Watanabe, Akira Watanabe, Yusuke Kawashima, Kaori Fukuzawa, Riyo Imamura, Hirotsu Kojima, Takayoshi Okabe, Nozomi Uemura, Shinji Kasai, Hirotsu Kanuka, Takashi Nishimura, Kodai Watanabe, Hideshi Inoue, Yuuta Fujikawa, Teruki Honma, Takatsugu Hirokawa, Toshiya Senda, Ryusuke Niwa
BMC Biology, 20: 43 (2022)

クライオ電子顕微鏡により ビフィズス菌酵素の微小構造を発見

ビフィズス菌では、ホスホケラーゼ(PKT)という酵素が、単糖類の発酵において重要な役割を担っています。酵素の能力はその形状(立体構造)に依存しており、産業利用などで酵素を高機能化するためには、立体構造情報は大変重要です。通常、酵素の立体構造は、X線結晶構造解析などを用いて解析しますが、今回、クライオ電子顕微鏡を用いて、ビフィズス菌 PKT の立体構造を決定しました。その結果、X線結晶構造解析では観測することができなかった、アミノ酸結合の微小な構造を捉えることに成功しました。

特に、基質結合ポケットの入り口に位置する QN ループと名付けた、四つのアミノ酸から構成されるループにおける微小構造の発見は、重要な知見です。この微小構造が、酵素の基質取り込みに関係していることが分かりました。QN ループには二つのコンフォメーションがあり、一つは基質のない状態で報告された X線結晶構造解析の結果と類似しており、もう一つはクライオ電子顕微鏡で初めて捉えられたものです。本研究では、これらを同時に観察することができました。このような QN ループの微細構造は、基質が結合した大腸菌の酵素と、対応するループのコンフォメーションがとても似ていることから、酵素の基質取り込みに関係していると考えられます。

参考図

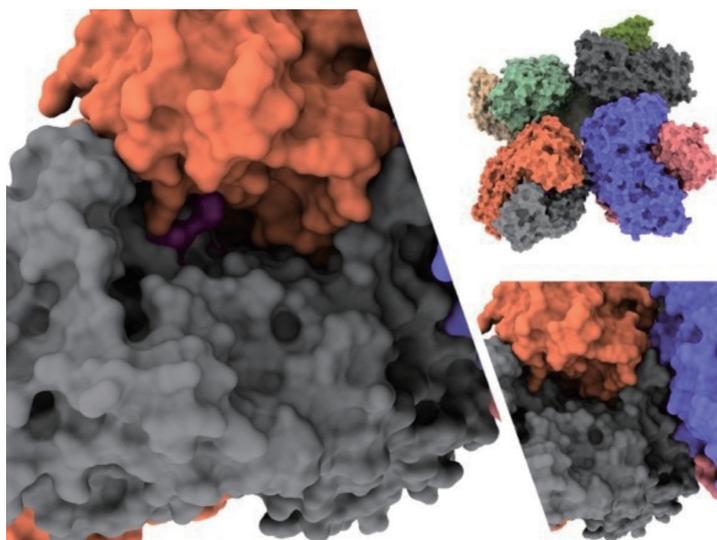


図 本研究で明らかになった PKT の立体構造

各色はすべて同一の分子であり、2分子が互いに密着してユニットを作り、これが連なってPKTを形成する。クライオ電子顕微鏡による解析では、四つのユニットが四つ葉のクローバー状の概形(右上)を持つことが分かった。また、XRD構造で観測された closed form (左)に加え、open form (右下)も観測された。

用語解説

注1) ホスホケラーゼ(PKT)

チアミン二リン酸を補酵素とする酵素。基質にリン酸を付加する。基質としては、フルクトース-6-リン酸とキシルロース-5-リン酸の二種類がある。

注2) クライオ電子顕微鏡

透過型電子顕微鏡の一種で、極低温下で試料を凍結して観察する。サンプルの結晶化が不要なため、タンパク質などの生体分子の構造解析に適している。

【題名】 High-resolution structure of phosphoketolase from *Bifidobacterium longum* determined by cryo-EM single-particle analysis.

(クライオ電子顕微鏡単粒子解析によって決定されたビフィドバクテリウム・ロンガム由来ホスホケラーゼの高分解能構造)

Kunio Nakata, Naoyuki Miyazaki, Hiroki Yamaguchi, Mika Hirose, Tatsuki Kashiwagi,

Nidamarthi H.V. Kutumbarao, Osamu Miyashita, Florence Tama, Hiroshi Miyano, Toshimi Mizukoshi,

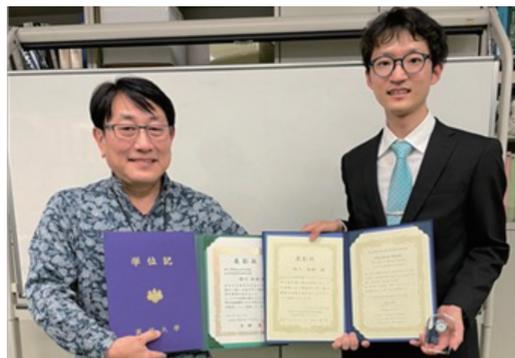
Kenji Iwasaki

Journal of Structural Biology, 214: 107842 (2022)

学会賞等受賞報告

小林研究室

- ・増川 柁樹氏(理工情報生命学術院 生命地球科学研究群生物学学位プログラム)が2021年3月25日に生命地球科学研究群長表彰、生物学学位プログラム長表彰及びつくばスカラシップ奨励奨学金を受賞しました。



柳沢研究室

- ・山城 義人准教授が2022年3月に日本血管生物医学会若手の会(第7回)優秀プレゼンテーション賞を受賞しました。
- ・山城 義人准教授が2021年10月に公益財団法人アステラス病態代謝研究会(第51回研究報告会)優秀発表賞を受賞しました。
- ・木村 健一助教が2021年12月に第29回日本血管生物医学会学術集会YIA優秀賞を受賞しました。

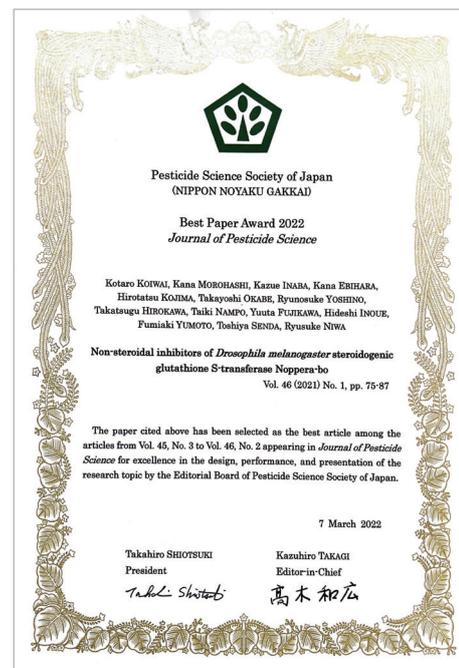
野村研究室

- ・豊福 雅典准教授が2021年11月に第20回 日本農学進歩賞を受賞しました。
- ・矢野 真弓氏(理工情報生命学術院 生命地球科学研究群 生物学学位プログラム)が2022年2月に第56回緑膿菌感染症研究会“みのるメモリアル”緑膿菌感染症研究会奨励賞を受賞(写真)しました。
- ・澁澤 薫氏(理工情報生命学術院 生命地球科学研究群 生物学学位プログラム)が2021年度 筑波大学生物資源科学学位プログラムリーダー賞を受賞しました。
- ・白倉 雄紀氏(理工情報生命学術院 生命地球科学研究群 生物学学位プログラム)が2021年度 筑波大学生物資源科学学位プログラムリーダー賞を受賞しました。
- ・矢野 真弓氏(理工情報生命学術院 生命地球科学研究群 生物学学位プログラム)が2021年度 筑波大学生物資源科学学位プログラムリーダー賞を受賞しました。
- ・豊福 雅典准教授が2022年3月に第31回つくば奨励賞を受賞(写真)しました。
- ・永久保 利紀助教、山本 達也研究員、豊福 雅典准教授、野村 暢彦教授が2022年3月に日本農芸化学会2022年度大会トピックス賞を受賞しました。



丹羽研究室

- ・丹羽 隆介教授が2022年3月15日に2021年度第19回農芸化学研究企画賞を受賞しました。
- ・丹羽 隆介教授が2022年2月7日にBEST FACULTY MEMBERを受賞(写真)しました。
- ・【論文賞】日本農薬学会Best Paper Award 2022 (J. Pestic. Sci. 46,75-87,2021) (写真)
Koiwai K, Morohashi K, Inaba K, Ebihara K, Kojima H, Okabe T, Yoshino R, Hirokawa T, Nampo T, Fujikawa Y, Inoue H, Yumoto F, Senda T, Niwa R: Non-steroidal inhibitors of *Drosophila melanogaster* steroidogenic glutathione S-transferase Noppera-bo.
- ・上山 拓己氏(生命環境科学研究科 博士後期課程生物科学専攻3年生)が2021年度 筑波大学 専攻長表彰を受賞しました。
- ・水野 陽介氏(理工情報生命学術院 生命地球科学研究群 生物学学位プログラム 修士課程2年生)が2021年度 筑波大学 学位プログラムリーダー表彰及びつくばスカラシップを受賞しました。
- ・森 一葉氏(生命環境学群 生物学類 4年生)が2021年度 筑波大学生物学類長表彰及びつくばスカラシップを受賞しました。



TARA NEWSLETTER No.8

[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>

2022年4月発行