

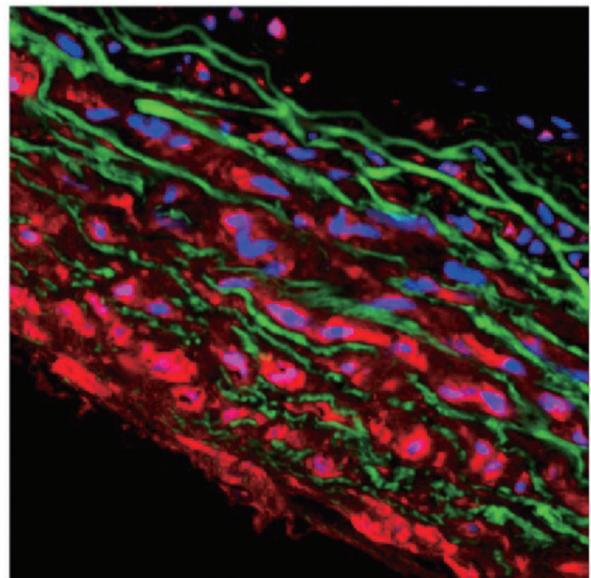
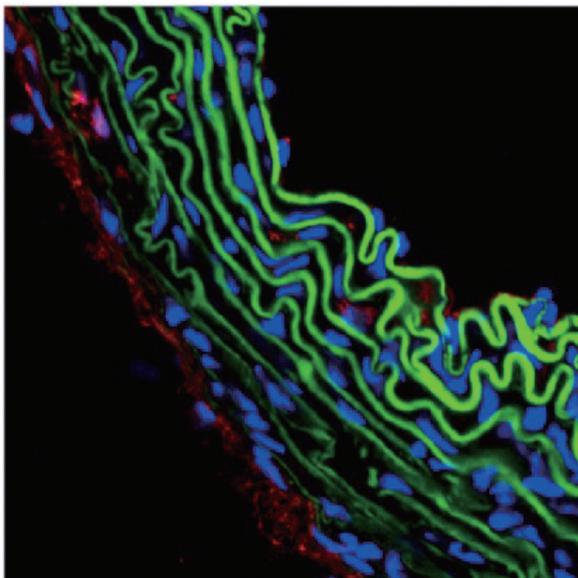
# TARA

## NEWSLETTER

No.9  
October 2022

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

University of Tsukuba



Cell Rep Med. 2021 Apr 28;2(5):100261 より抜粋・改変

### CONTENTS

#### ◆ 活動報告

文部科学省科学研究費助成事業の採択	2
論文プレスリリース	3
筑波大学開学50周年記念TARAシンポジウム開催	7
学会賞等受賞報告	7
その他報告事項	8

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

## 文部科学省科学研究費助成事業の採択

科学研究費助成事業(科研費) 基盤研究(A)〔日本学術振興会(JSPS) 令和4年度採択〕

研究課題名	研究者氏名
幹細胞の挙動を制御する神経内分泌システムの包括的理解	丹羽隆介

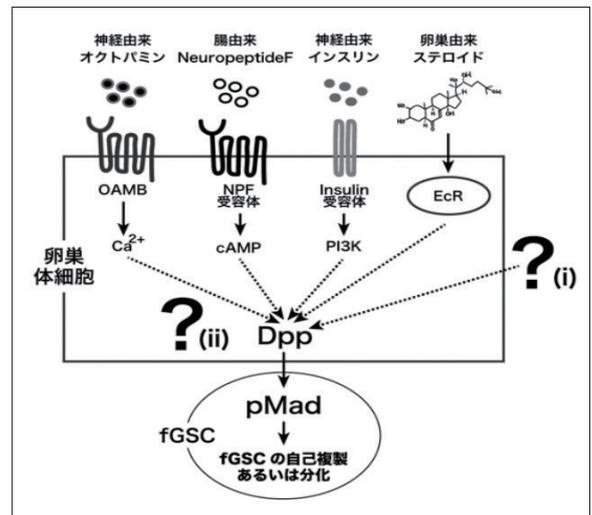
### 【研究概要】

本研究の目的は、幹細胞の自己複製と分化に影響を与える神経内分泌システムを包括的に解明することです。従来の幹細胞研究では、幹細胞の周囲の細胞によって構成される微小環境(ニッチ)と、そこから発するニッチングナルの作用に、生物種を問わず大きな関心が寄せられてきました。一方で幹細胞は、個体を取り巻く外環境(光周期、温度変動、栄養条件、他の個体との相互作用など)や個体の内部生理状態(老化、病態など)に応じて、神経内分泌システムを介して自己複製や分化を柔軟に変化するポテンシャルを有しています。しかし、以下に挙げる本質的な問いにはまだ十分に答えられていません。

・1つの幹細胞の挙動に影響を与える液性因子は、いったいどれほどの種類が存在するのか?(図(i))

・複数の液性因子シグナリングがいかに相互作用することで、幹細胞に影響を与えるのか?(図(ii))。

これまでに研究代表者は、キョウジョウバエのメス生殖幹細胞を用いた研究により、幹細胞の自己複製と分化にニッチ(卵巣体細胞)に由来しない多数の遠距離シグナル(神経伝達物質オクトパミン、腸由来ニューロペプチドF、卵巣由来ステロイドホルモンなど)が重要な役割を果たすことを見出してきました。本研究では、メス生殖幹細胞に影響を与える神経内分泌システムの全容を追及し、以下の問いに答えます。



### 【代表者インタビュー】〔●: 質問者 ◆: 丹羽隆介先生(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。生理遺伝学研究プロジェクトでは、ショウジョウバエの生殖幹細胞をモデル系として、幹細胞の挙動が個体内外の環境変動に応じてどのように変化するか、そしてこれに関与する神経内分泌システムは何かを追及し、業績を挙げてきました。今回の研究提案は、我々のこれまでの実績を土台として、幹細胞の増殖や維持を動物生理学と幹細胞生物学を横断した学際研究により解明していき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。
- ◆ 今回の申請準備にあたっては、本学のリサーチ・アドミニストレーター(URA)研究戦略室の方々に非常にお世話になりました。研究内容そのものにはある程度の自信があったつもりですが、分野外の審査員に分かりやすくするための申請書のブラッシュアップをしていただき、大変に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。
- ◆ 今回解析対象とするリガンドの多くは、ショウジョウバエだけでなく脊椎動物にも保存されています。本研究によって解明される神経内分泌システムの知見が、脊椎動物の研究者にも参照してもらえるよう、質の高い研究を心がけたいと思います。
- 有り難うございました。

## 巧みな生存戦略を持つ寄生蜂の全ゲノム配列解読に成功

寄生蜂とは、宿主（主に他種昆虫）の栄養やエネルギーを利用して生活するハチ目昆虫の総称です。その種数は、昆虫類約100万種の中の約20%をも占めると推定されており、地球上で最も成功した戦略を持つ動物群の一つといっても過言ではありません。寄生蜂の巧みな生存戦略を解明することは、生物の進化を理解する上でも重要です。

本研究グループは、キロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* を宿主とする寄生蜂ニホンアソバラコマユバチ *Asobara japonica* を用いて、寄生蜂の生存戦略を支えている分子生物学的基盤を明らかにすることを目指しており、今回、その全ゲノム配列の決定と全遺伝子予測、さらに、遺伝子ノックダウン法の開発に成功しました。

ニホンアソバラコマユバチは、キロショウジョウバエのみならず、多くのショウジョウバエ属昆虫を宿主とすることが知られています。その中には、現在ヨーロッパを中心に果物の害虫として深刻な問題となっているオウトウショウジョウバエ *Drosophila suzukii* も含まれます。本研究成果は、ショウジョウバエの害虫種に対する農薬の開発シーズの創出にもつながると考えられます。

## 参考図

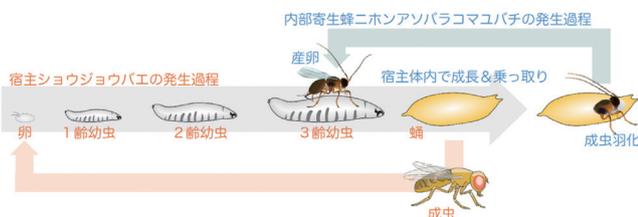


図1：内部寄生蜂ニホンアソバラコマユバチと宿主ショウジョウバエの生活環

ニホンアソバラコマユバチはショウジョウバエの幼虫に産卵する。寄生蜂の幼虫は、宿主幼虫体内で成長し、宿主が蛹化した後で殺して食べ、蛹殻から羽化する。



図2：内部寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの産卵

寄生蜂が宿主であるショウジョウバエ幼虫の上に乗って、茶色の産卵管を突き立てている。寄生蜂は、毒成分を注入して宿主幼虫を麻酔した後に、産卵する。

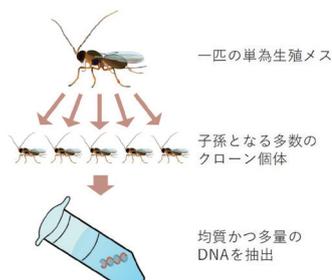


図3：内部寄生バチからのゲノム DNA 採取方法

ニホンアソバラコマユバチの単為生殖系統のメス1匹から200匹のクローン個体を増殖させることで、均質かつ多量の DNA を抽出した。

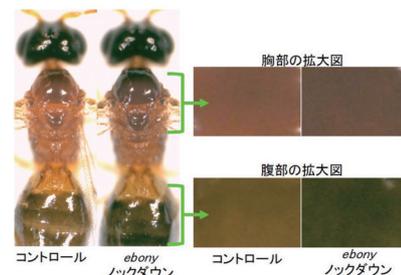


図4：寄生蜂 *ebony* 遺伝子ノックダウンによる体色変化

体色の黄色みを司る遺伝子である *ebony* をノックダウンした個体は、コントロール (*ebony*) が正常に機能している個体と比べて、やや濃い体色になった。

## 今後の展開

本研究成果により、寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの生存戦略を遺伝子レベルで研究するための重要な基盤が整備されました。これまでの研究から、ニホンアソバラコマユバチが宿主に麻酔をかけたり、宿主の組織に細胞死を誘導したりする際に、さまざまな種類の毒を用いていることが実験的に示唆されています。今後、ニホンアソバラコマユバチのゲノム情報や RNAi 法を駆使することで、寄生蜂の毒遺伝子の機能を解析することにより、毒成分の実体と寄生の分子機構が解明できると期待されます。

【題名】 Whole-genome sequencing analysis and protocol for RNA interference of the endoparasitoid wasp *Asobara japonica* (内部寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの全ゲノム配列解析と RNA 干渉法プロトコル)

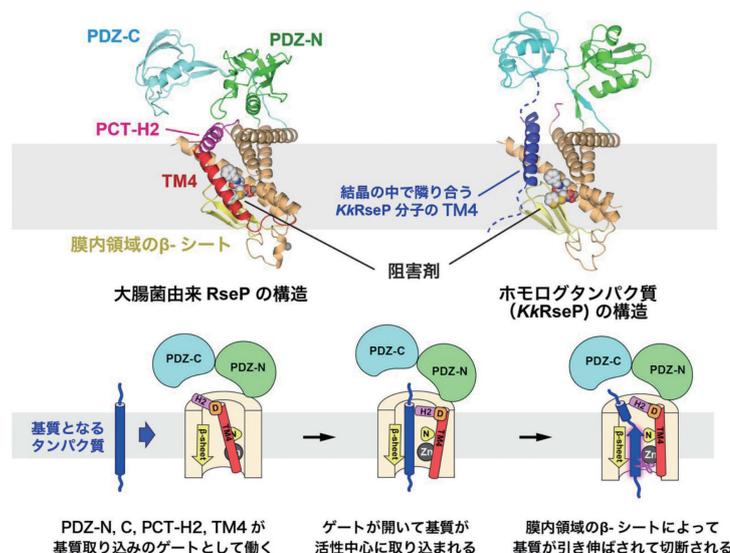
Kamiyama, Takumi, Shimada-Niwa, Yuko, Tanaka, Hiroyuki, Katayama, Minami, Kuwabara, Takayoshi, Mori, Hitoha, Kunihisa, Akari, Itoh, Takehiko, Toyoda, Atsushi, Niwa, Ryusuke  
DNA Research, 29, dsac019 (2022)

## 細胞膜の中ではたらく特殊なタンパク質分解酵素の構造を解明 ～細菌感染症の新たな治療法の開発へ期待～

RseP は変性しやすく精製が困難なタンパク質であるため、長年構造解析が進んでいませんでしたが、本研究では、独自に開発した抗体アフィニティー精製システム (PA タグシステム)\*1 を利用することで、高純度で切断活性を保った RseP を精製することに成功しました。そして、基質と類似した構造をもち、阻害剤としてはたらくことが報告されていた化合物 Batimastat を添加することで良質の結晶を作りました。また、本研究では、海洋性細菌 *Kangiella koreensis* 由来の RseP のホモログタンパク質 (KkRseP) についても Batimastat を添加して結晶を作り、これら 2 つのタンパク質の立体構造を X 線結晶解析\*2 によって決定しました。RseP や KkRseP の結晶は、膜タンパク質特有の微小結晶であったことから、大型放射光施設 SPring-8 の理研ターゲットタンパクビームライン BL32XU\*3 を利用して高精度な X 線回折データを取得しました。

今回の構造解析では、RseP や KkRseP の全体構造が明らかになっただけでなく、基質となる膜タンパク質が RseP にどのように結合するのかについても重要な手がかりが得られました。ペプチドと類似した化合物である Batimastat は、引き伸ばされた状態で RseP の膜内領域にある  $\beta$ -シートと相互作用していました。また、RseP やホモログタンパク質が共通にもっているアスパラギン残基 (大腸菌 RseP では 394 番目のアスパラギン残基) が Batimastat を留め金のように固定していることも分かりました。このアスパラギン残基を変異させることで基質の切断効率が大きく低下したことから、基質となる膜タンパク質も RseP の  $\beta$ -シートによって引き伸ばされ、アスパラギン残基によって固定された状態で切断される可能性が高いことが分かりました。

### 参考図



(図)大腸菌由来 RsePと海洋性細菌由来のホモログタンパク質 (KkRseP) の X 線結晶構造解析から推定される基質の取り込みと切断のモデル。

### 用語解説

- \*1) 抗体アフィニティー精製システム (PA タグシステム) : ヒト由来ポドプラニンの部分配列である PA タグとラット由来のモノクローナル NZ-1 抗体を利用した精製システム。12 アミノ酸残基からなる PA タグを融合したタンパク質を、NZ-1 抗体との非常に高い親和性を利用して高純度に精製する。PA タグはループ状の構造で NZ-1 抗体と結合する特性があることから、目的のタンパク質の末端に融合するだけでなく、ループ領域などに挿入することも可能である。
- \*2) X 線結晶解析 : 結晶化した物質に X 線を照射して回折パターンを解析し、立体構造を決定する研究手法。電子密度マップに基づいて分子モデルを構築することで、原子間の結合距離や結合角に関する精密な情報が得られる。タンパク質のような巨大な分子やその複合体にも適用可能な研究手法である。
- \*3) 大型放射光施設 SPring-8 の理研ターゲットタンパクビームライン BL32XU : 大型放射光施設 SPring-8 に設置された生体高分子 X 線結晶構造解析用ビームラインの一つ。10  $\mu\text{m}$  以下の微小結晶からの X 線回折データの収集を可能にするために、高フラックスの X 線ビームを 1  $\mu\text{m}$  以下に集光できるように設計されている。2010 年にユーザー利用が開始されて以降、受容体やトランスポーターなど、数多くの膜タンパク質の結晶構造が決定されてきた。

### 【題名】 Mechanistic insights into intramembrane proteolysis by *E. coli* site-2 protease homolog RseP

Imaizumi Y, Takanuki K, Miyake T, Takemoto M, Hirata K, Hirose M, Oi R, Kobayashi T, Miyoshi K, Aruga R, Yokoyama T, Katagiri S, Matsuura H, Iwasaki K, Kato T, Kaneko MK, Kato Y, Tajiri M, Akashi S, Nureki O, Hizukuri Y, Akiyama Y, Nogi T.  
Science Advances, 8: eabp9011 (2022)

## TSUKUBA FRONTIER #038:タンパク質の構造解析を創薬につなぐ



生存ダイナミクス研究センター  
岩崎 憲治(いわさき けんじ)教授

1992年京都大学理学部卒。1994年に京都大学大学院修士課程を修了した後、大阪大学柳田敏雄研に所属し、松下電器中央研究所に学生身分として入所。このときに初めてクライオ電子顕微鏡というものに触る。1998年に博士号を取得し、アメリカ国立衛生研究所にポスドクとして勤めた後、理化学研究所、大阪大学などを経て、2018年10月より現職。これまでに8台の大型電子顕微鏡の導入に携わってきた。モットーは、「人のやっていないことをやる」。

### クライオ電子顕微鏡で探る生体分子のカタチ

私たちの体を作っているタンパク質。それぞれが持つ機能が複雑に絡み合っ生命活動が営まれています。それらを構成しているのは、わずか20種類のアミノ酸です。タンパク質の多様な機能は、それらの並び方や空間構造に応じて生み出されており、これに不具合が生じると病気を引き起こしたりします。

最先端のクライオ電子顕微鏡を駆使して、これまで見ることでできなかったタンパク質の構造を立体的に解析し、その機能の仕組みに迫ります。

### 解析が難しい生体分子

物質の細かい構造を観察するには、顕微鏡を使うのが一般的です。光学顕微鏡では、試料の表面に可視光を当てて像を拡大しますが、光の代わりに電子線を使い、より高倍率で観察できるのが電子顕微鏡です。電子が周囲の気体分子に邪魔されないようにするために、電子顕微鏡の内部は真空になっています。ところがこれが、生体分子にとっては厄介。分子内に含まれる水分は、真空中ではどんどん蒸発してしまい、試料が変質してしまいます。かといって、水分を凍らせても、電子は氷の結晶中でぶつかり合い、試料にまで到達できません。そのため長い間、タンパク質などの生体分子を電子顕微鏡で観察することはできない、とされてきました。

そこで使われるのが X 線を使った構造解析です。結晶に X 線を当て、その散乱から構造を求めますが、ここで使う試料は結晶でなくてはなりません。タンパク質も結晶化させることはできますが容易ではなく、観察用の試料を作る段階で高いハードルがあります。

そんなわけで、生体分子の構造解析は、生命現象の理解や創薬につながる大きなニーズがありながら、決め手となる解析手法がなかなか見つからないという、もどかしい状況が続いていました。



### 可能性を拓いたクライオ電子顕微鏡

そんな中で登場したのがクライオ電子顕微鏡です。「クライオ」は「冷やす、低温」という意味。基本的な構造は従来の電子顕微鏡のままですが、その名の通り、装置内が液体窒素で冷やされています。この冷えた装置に、液体に近い状態のまま凍らせた試料を挿入します。試料を冷却していることで電子線による試料の損傷も抑えられます。これによって、電子顕微鏡による生体分子の構造解析の可能性が一気に拓けました。

一見、単純そうに思われるアイデアですが、この技術は 2017 年にノーベル化学賞を受賞しています。生体分子の構造解析は、それほど重要な課題だったのです。とりわけ画期的だったのは、カメラと解析技術の進展です。今どきの構造解析は、装置そのものの性能だけでは不十分で、精密な画像を撮影できるカメラと、そのデータを処理して立体的な画像を構築するためのアルゴリズムがなければ成立しません。動画撮影による膨大なデータを扱うことのできるクラウド技術やパワフルなコンピュータも不可欠です。これらの技術がちょうどよいタイミングで開発され、組み合わせられて、クライオ電子顕微鏡は力を発揮できるようになりました。

コロナウイルスのスパイク部分の構造解析にも、クライオ電子顕微鏡が活躍しています。スパイクの先端部分の構造は、感染の前後で変化します。感染前の状態に固定化する抗体医薬ができれば、有効な対策になります。発生間もない時期に、こういった構造解析がタイムリーにできたのは、クライオ電子顕微鏡の優れた性能と扱いやすさによるところが大きいのです。

## 希少疾患の治療薬を探す

現在注力しているのは、滑膜肉腫という希少ながんの治療薬開発です。きっかけは、家族がこの病気に罹患したことでした。告知された時、即座に主治医に共同研究を申し入れ、遺伝子を提供してもらい、その解析から始めました。二つのタンパク質が融合することが原因となっていることは分かっているのですが、発症までのメカニズムはまだ謎です。この奇妙な融合タンパク質が本来の正常なタンパク質を追い出すことが、がん発症の引き金になるのではないかとされており、構造解析によって、その一端を捉えることに成功しました。ここで決定的な役割を果たしたのも、クライオ電子顕微鏡を使った精密な解析です。王道の医学的な研究ではなく、自分が得意な構造解析からアプローチすることで、病気に対する知見が多角的になるはず。それが功を奏し、もう少しで治療の手がかりが見つかりそうところまでできています。

こういった希少疾患の研究は、大手の製薬会社などではなかなか手をつけることができませんから、アカデミアでこそ取り組むべきことです。かなりチャレンジングなテーマですが、筑波大には、連携協力がしやすい環境があるのが、何よりの強み。いろいろな人の力も借りながら、比較的短期間で、想像以上の成果が得られているという手応えがあります。

## 不人気な分野が一躍最先端に

大学院生の頃はウイルスの研究をしていましたが、周りの研究者たちの実験スピードの速さに驚かされました。勝ち目がないと思い、少し分野を変えようと、相談した先生に勧められたのが電子顕微鏡の研究でした。何も分からない状態から、とにかく取り掛かってみました。何年もかけてデータを集めて一つの構造を導き出す、そんな地道な研究でしたが、この分野を専門にしている人は少なく、自分にもチャンスがありそうに思えました。

とはいえ、当時の構造解析の主流はやはり X 線。分解能もいまひとつで、目立った技術革新もなかった電子顕微鏡は不人気で、研究に見切りをつけて、X 線の分野へ移行する人もいたほどです。しかし、クライオ電子顕微鏡と出会って、光が見えてきました。

クライオ電子顕微鏡は、普通の電子顕微鏡とは異なり、国内でもごく限られた研究機関にしか設置されていません。その一つが筑波大です。2 台を導入し、企業も含めて他機関の研究者も使えるように運用体制を整えて、この 3 月から利用を開始しました。すでに、数ヶ月先まで予約が埋まっており、思うように自分の研究に使えないこともしばしば。しかし、それだけ期待の大きな装置だということがうかがわれます。ただ、自動化が進んでいるものの、質の高い解析結果を提供するためには、システムや試料についての専門的な知識とスキルを持ったオペレーターの力が重要で、そのための人材育成も急務です。

## 使えるものは何でも使って

研究の基本方針は「見たいものを見るためには何でも使う」。目的とする構造解析のためには、クライオ電子顕微鏡だけではなく、全国にあるさまざまな分析装置を利用します。だからこそ、筑波大の装置も、多くの研究者に使ってもらいたいと考えています。創薬の研究は、途中で頓挫してしまうものも少なくありませんが、社会全体にとって必要な研究です。臨床で使える薬剤の完成に向けて、最後まできちんとやり遂げる、その姿勢が崩れることはありません。

## 筑波大学生存ダイナミクス研究センター 岩崎プロジェクト(構造ダイナミクス)



定まった構造を形成しないタンパク質は数多く存在し、しかもそれらは病気の原因となることが多いが、構造が特定できなければその働きを予測することは困難である。希少疾患である滑膜肉腫の原因となるタンパク質もその一つで、このような難敵を相手に、さまざまな構造解析の手法を駆使して、このタンパク質ががんを引き起こすメカニズムの解明とそれに対する創薬に挑む。ライフサイエンスは、ビッグサイエンス。他分野の専門家とも積極的に協働して研究を進めている。

(研究室 URL: [https://r.goope.jp/tsukuiwaken/free/introduction\\_lab](https://r.goope.jp/tsukuiwaken/free/introduction_lab))

# 「筑波大学開学50周年記念TARA シンポジウム」開催のお知らせ

筑波大学開学50周年記念TARA シンポジウム

『先端学際生命科学:CODE-DECODEの新たな展開』

〔開催日時:2023年6月30日 開催場所:筑波大学 大学会館 国際会議室〕

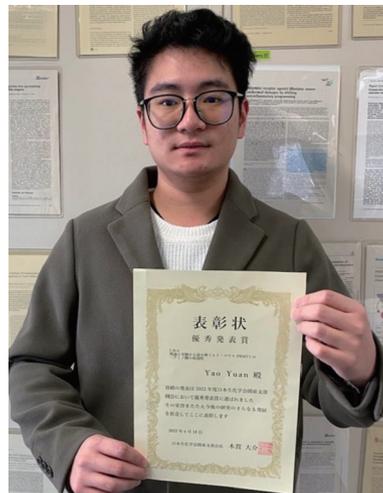
1994年に先端学際領域研究センターとして設置されたTARAセンターは、2010年の生命領域学際研究センターへの改組を経て、2018年に環境変化へのダイナミックな応答を「生物の生存戦略」として捉えて生命動態科学の新たな道を切り開くことを目指し「生存ダイナミクス研究センター」として生まれ変わりました。TARAセンターでは、過去29年間の活動を通じて様々な分野の先端研究を展開し、これまでに未来を担う数多くの研究者が巣立って行きました。このたび生存ダイナミクス研究センターでは、筑波大学の創基151年開学50周年を記念するシンポジウムとして「筑波大学50周年記念TARAシンポジウム」を開催することとなりました。

本シンポジウムでは、全国各地で活躍するTARAセンターや筑波大学ゆかりの研究者にもご参集いただき、近年TARAセンターが特に中心的テーマとしてきた学際生命科学研究の分野を中心に、最先端の研究発表を行ないます。次の30年間でTARAセンターが目指す「生物の生存戦略」解明への足掛かりとして、さまざまな生命現象をつかさどる遺伝情報、タンパク質や調節因子の制御機構など、多岐にわたる講演を計画しています。

## 学会賞等受賞報告

### ■ 深水研究室

- ・姚 遠 (Yao Yuan) 氏 (ヒューマンバイオロジー学位プログラム博士課程3年) が2022年6月18日に日本生化学会 関東支部例会 優秀発表賞を受賞 (写真)しました。



### ■ 柳沢研究室

- ・山城義人元准教授が、2022年10月に第4回中尾一和賞を受賞しました。

### ■ 岩崎研究室

- ・高橋 花南氏 (化学学位プログラム博士前期課程2) が、2022年9月30日に第7回日本生物物理学会学生発表賞を受賞しました。

### ■ 丹羽研究室

- ・Shi Duoduo氏 (生物学学位プログラム博士前期課程2年) が2022年9月30日にExcellent Speaker Award Tsukuba Global Science Week 2022を受賞しました。

## 野村研究室

- ・小野絵里香氏(生物資源科学学位プログラム博士前期課程2年)が2022年9月に第36回日本バイオフィルム学会学術集会にてトラベルアワード、若手優秀発表賞銀賞を受賞(写真)しました。
- ・川島花雪氏(生物資源科学学位プログラム博士前期課程2年)が2022年10月に第54回ビブリオンポジウムにて、若手研究奨励賞を受賞しました。
- ・川本大輝氏(生命農学学位プログラム博士後期課程2年)、佐野千佳歩氏(生物資源科学学位プログラム博士前期課程2年)、頓宮弘将氏(生物資源学類4年)が2022年10月に日本微生物生態学会35回大会にて優秀賞を受賞(写真)しました。
- ・サヴィジ トーマス氏(生物資源科学学位プログラム博士前期課程1年)が2022年11月に2022年度環境バイオテクノロジー学会にて優秀ポスター賞を受賞しました。
- ・宮川 大氏(生物資源科学学位プログラム博士前期課程2年)、趙 書峰(Zhao Shufeng)氏(生物資源科学学位プログラム博士前期課程2年)が2022年11月に2022年日本細菌学会関東支部インターラポセミナーにて優秀発表賞を受賞しました。



## その他報告事項

### ●令和4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。2022年度(令和4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、20件の研究課題が採択されました。

## TARA NEWSLETTER No.9

[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10月発行