

Multifaceted Proteins



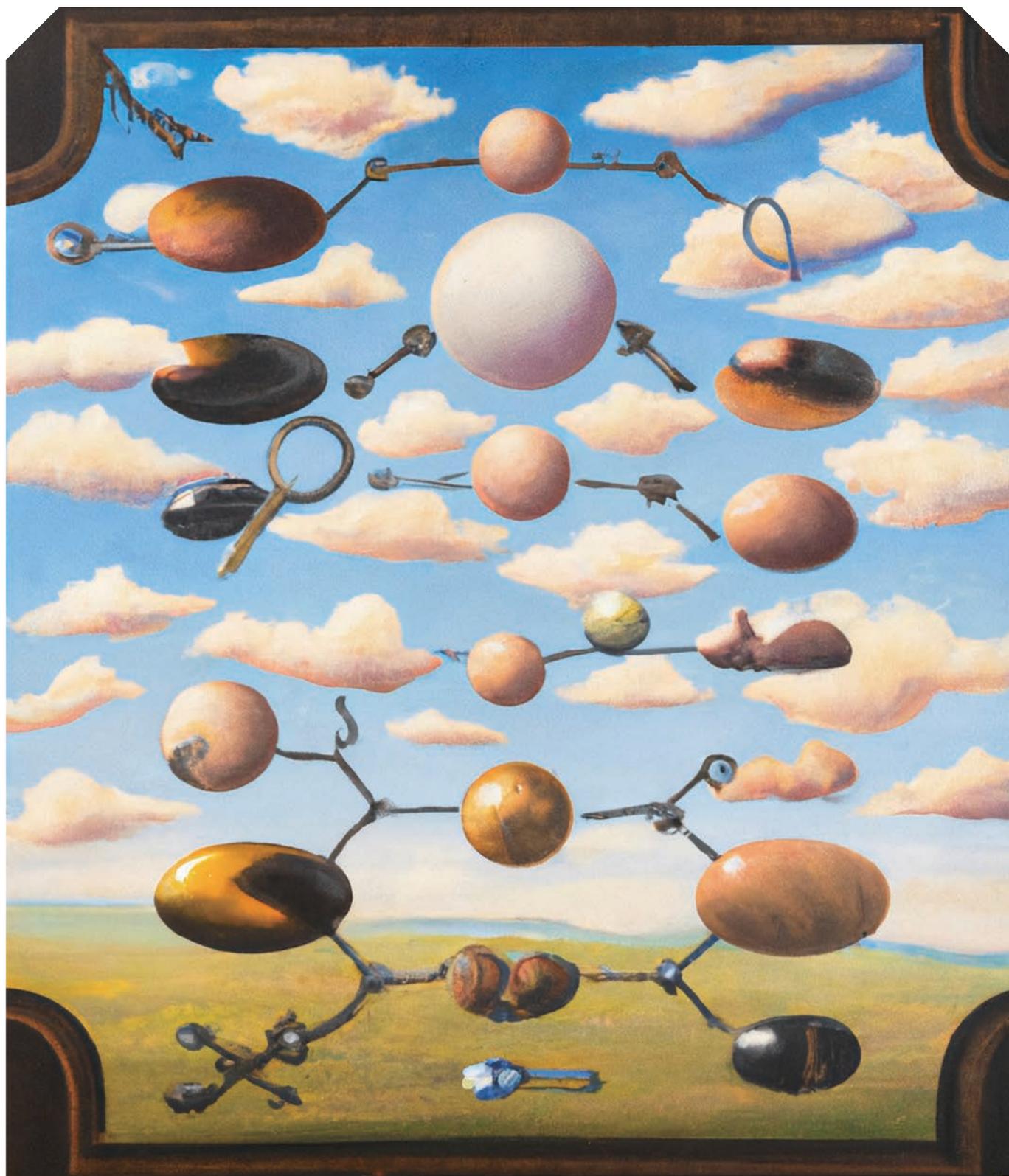
マルチファセット・プロテインズ
拡大し変容するタンパク質の世界

Newsletter

2020-24 年度 科研費学術変革領域研究 (A)
マルチファセット・プロテインズ：拡大し変容するタンパク質の世界
領域番号：20A304 略称：多面的蛋白質世界

02

2023.03



Multifaceted Proteins



マルチファセット・プロテインズ
拡大し変容するタンパク質の世界

Newsletter

02

2023.03

2020-24 年度 科研費学術変革領域研究 (A)
マルチファセット・プロテインズ：拡大し変容するタンパク質の世界
領域番号：20A304 略称：多面的蛋白質世界



表紙
DALL-E2という画像生成AIに、「A Magritte-like oil painting of Multifaceted Protein worlds: Expanding and Transformative Protein World.」というプロンプト（「呪文」）を投げて作成された図

C O N T E N T S

Announcement 巻頭言

AlphaFold2→chatGPT→? 1
田口 英樹 「マルチファセット・プロテインズ」領域代表

Research 公募班研究概要

足達 俊吾 産業技術総合研究所 主任研究員 3
市之瀬敏晴 東北大学 学際科学フロンティア研究所 助教 4
今見 考志 理化学研究所 上級研究員 5
岩川 弘宙 立教大学 理学部 生命理学科 准教授 6
門倉 広 東北大学 多元物質科学研究所 准教授 7
七野 悠一 理化学研究所 開拓研究本部 研究員 8
田中 良和 東北大学 生命科学研究科 教授 9
花田 耕介 九州工業大学 大学院情報工学研究院 教授 10
藤岡 優子 北海道大学 遺伝子病制御研究所 准教授 11
町田 幸大 兵庫県立大学 工学研究科 准教授 12
松尾 芳隆 東京大学 医科学研究所 准教授 13
山形 敦史 理化学研究所 上級研究員 14
山本 詠士 慶應義塾大学 理工学部 専任講師 15
横井 佐織 北海道大学大学院 薬学研究院 助教 16
吉久 徹 兵庫県立大学大学院 理学研究科 教授 17

Meeting Report ミーティングレポート

第22回日本蛋白質科学会年会ワークショップ 18
第60回日本生物物理学会年会シンポジウム 20
2022年度 マルチファセットプロテインズ・若手ワークショップ 22
第3回領域班会議 24

Schedule / Information 26

活動記録 / 今後の予定 / マルチファセットプロテインズ・ランチオンセミナー

Column コラム

画像生成AIでの「マルチファセットプロテインズ」など 27

Recent Publications 研究成果 28

受賞情報 / 編集後記 裏表紙

2020年度に本領域が発足してから折り返し点の3年目もう終わりである¹。学術変革 (A) 第一期に加えてコロナ禍にスタートということで、前例がない中を手探りで領域活動を進めている。公募班員が揃ったのも2年目の夏で、対面で会えたのは今から数ヶ月前の昨年12月の領域会議のみである。本ニュースレターも前号は公募班員が揃う前だったので、本号にて公募班員紹介の紹介に加えて成果報告 (と言っても領域での活動は実質1年少し!) となった。オンライン中心の活動とは言え、新たなコミュニティーが生まれているのは確かで、多くの共同研究が開始しただけでなく、隔月でのオンラインセミナーシリーズ、Journal of Biochemistry 誌での本領域に関する特集号 (印刷中) など爽りのある領域前半だったと自負できる。

AlphaFold2→ chatGPT → ?



画像生成AIのDALL・E2で「ピカソ的な分子シャペロン」というお題で出てきた画像

本領域の趣旨は、これまで知られざる「タンパク質の世界」を開拓していこうというものである。領域申請の段階でも液-液相分離や非典型的な翻訳による未開拓プロテオームの拡大などタンパク質科学における新たな概念が次々に出ていることを背景としたが、領域発足後の進展もすさまじい。2021年夏に公開されたAlphaFold2による衝撃はこの冊子の読者には説明がいらないうらだろうし、その後も複合体構造予測など進化を続けている。この革命的なタンパク質立体構造予測ツールで「配列→立体構造」が実現したことは生命科学におけるタンパク質の見方の一面を大きく変容したと断言できるが、機械学習はさらに先を進んでいる。昨年秋に構造予測のパイオニアのBakerらはAlphaFold2の逆、つまり「立体構造→配列」をも可能するProteinMPNNという機械学習ツールを発表した。これは、ある立体構造を取るの

にどのようなアミノ酸配列がありえるかを予測してくれる。この論文²を読んだ際に私が感じたのは、ProteinMPNNはデザインタンパク質創成のゲームチェンジャーになるだろう、ということである。従来のデザインタンパク質はデザイン後に大腸菌で発現させてもフォールディングするとは限らないことが知られていたが、ProteinMPNNで提案してきたタンパク質は全般にフォールディングが格段によくなるそう³。

と、ここまでは生命科学の話しだが、昨年末に公開された対話型AIツールのchatGPTは一般社会で世界的话题をさらっていて、日本でも今年になって急速に情報が発信されてきている。日本語での対話は今ひとつこなれていないような気もするが、欧米では既にchatGPTが相当に活用されていて、もう手放せない、という人が増えている一方で、懸念も多々出てきている⁴。私も少し使ってみて、その自然な回答に感心したが、自分が非常によく知っている事項についてchatGPTで問うてみると、全体に浅い内容で物足りなさを感じた。もちろん、AIは基本的に過去のビッグデータを学習して答えてくるので、真に新規のことは出てこないのだろうか⁵。ただ、例えば、英文校閲はもはやプロに頼まなくてもいいかもしれない、とか、身近で便利な局面はいくらでもあることも実感している。

chatGPTの衝撃は、生命科学におけるAlphaFold2よりも社会に及ぼす波及効果は大きいだろうし、いろいろと考えさせられる。今では誰もがスマートフォンを使うように、数年後には対話型AI（もしくはその発展型）に何でも頼るようになってしまうのは目に見えている。「Google先生」の場合はそれでも多くの選択肢を返してくれて、玉石混交の情報から判断するリテラシーが求められたが、chatGPTのようなツールはまともそうな回答を一つ返してくるので取捨選択して考える必要もない。思考能力、判断能力など衰えていった先に何が待っているのだろう。もはや、「2001年宇宙の旅」のHALによる人類の支配が現実に近いしているのかもしれない。その心配事をchatGPTに聞いてみたくなったがやめておくことにする。

「マルチファセット・プロテインズ」
領域代表

田口 英樹

東京工業大学
科学技術創成研究院
細胞制御工学研究センター
教授



1. 学術変革領域発足後の初年度ということもあって、いろいろと後ろ倒しになったため、採択になったのが2020年11月下旬、実質スタートは年を越してからだったので何か損をした気がする。

2. Dauparas J et al Science 378, 49-56, 2022

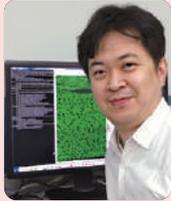
3. フォールディング研究者としては、細胞内フォールディングがどのような理屈で改善したのか興味深いところである。

4. 教育現場ではchatGPTで書かれたレポートをどう見破るか、研究現場ではchatGPTを著者に加えるケースがあったようだが、認められない、などなど。

5. 逆に、人間ができることが残されていると考えるのがよいかもしれないが。

01

刺激依存的に非典型読み枠で合成される タンパク質の同定及びその合成機構、機能の解析



研究代表者
足達 俊吾

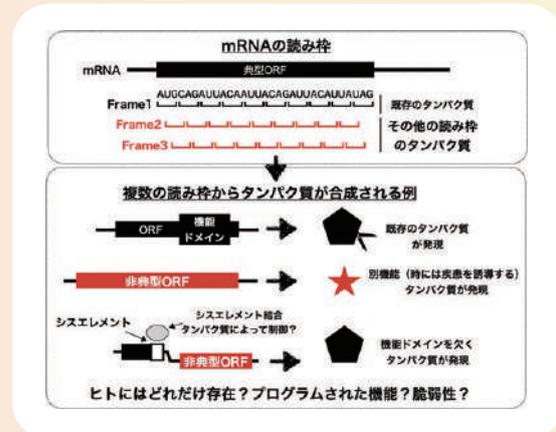
産業技術総合研究所
主任研究員



<https://unit.aist.go.jp/cmb5/group/8-9Group.html>

通常 mRNA は3種類の読み枠のうち1種類（フレーム1）を用いてタンパク質が合成されるが、大腸菌やウイルスなどの一部の mRNA において、非典型的な読み枠（フレーム2や3）を用いたタンパク質の合成例が知られている。一方、ヒトなどゲノムサイズの大きな生物においては、ごく少数の例が知られているのみであり、実際にどれほどの mRNA について複数の読み枠を用いたタンパク質合成が行われているのか、複数の読み枠が用いられる分子メカニズム、その意義についてはほとんど明らかにされていない。我々は、タンパク質のN末領域のペプチド濃縮する手法を用いた質量分析及び、mRNA の3種類の読み枠全てのアミノ酸配列が含まれたデータベースを用いた解析により、既存読み枠（フレーム1）だけでなく非典型的な読み枠（フレーム2や3）を用いて合成されるタンパク質を探索し、定常状態のヒト HEK293T 細胞や HeLa 細胞を用いた予備的な解析から10種を超える mRNA について、既存読み枠に加え、非典型的な読み枠でのタンパク質合成が行われていることを見出している。これまでに、新たに見出したタンパク質のうち少なくとも4種類については、既存の読み枠タンパク質とともに一つの細胞内に発現していること、非典型的な読み枠のタンパク質は、独自の機能を持っていることをタンパク質複合体解析や mRNA ノックダウンの実験から確認している。現在は、その発現メカニズム解明のために読み枠違いの2つのタンパク質を同時に発現する発現コンストラクトの作成に挑戦しているが苦勞しているところである。

私ごとですが、2023年4月より産総研を離れ、国立がん研究センターの方に異動させていただくことになりました。今後ともどうぞよろしくお願ひいたします。



Publication

1. RNA-triggered protein cleavage and cell growth arrest by the type III-E CRISPR nuclease-protease. Kato K, Okazaki S, Schmitt-Ulms C, Jiang K, Zhou W, Ishikawa J, Isayama Y, Adachi S, Nishizawa T, Makarova KS, Koonin EV, Abudayyeh OO, Gootenberg JS, Nishimasu H. *Science*. 25;378(6622):882-889 (2022)
2. Sensing of individual stalled 80S ribosomes by Fap1 for nonfunctional rRNA turnover. Li S, Ikeuchi K, Kato M, Buschauer R, Sugiyama T, Adachi S, Kusano H, Natsume T, Berninghausen O, Matsuo Y, Becker T, Beckmann R, Inada T. *Mol Cell*. 15;82(18):3424-3437. (2022)
3. m6A-modification of HSATIII lncRNAs regulates temperature-dependent splicing. Ninomiya K, Iwakiri J, Aly MK, Sakaguchi Y, Adachi S, Natsume T, Terai G, Asai K, Suzuki T, Hirose T. *EMBO J*. e107976 (2021)
4. Failure to Degrade CAT-Tailed Proteins Disrupts Neuronal Morphogenesis and Cell Survival. Udagawa T, Seki M, Okuyama T, Adachi S, Natsume T, Noguchi T, Matsuzawa A, Inada T. *Cell Rep*. 34(1):108599 (2021)
5. lncRNA-dependent nuclear stress bodies promote intron retention through SR protein phosphorylation. Ninomiya K, Adachi S, Natsume T, Iwakiri J, Terai G, Asai K, Hirose T. *EMBO J*. 39(3):e102729 (2020)
6. Kato A (同等貢献), Adachi S (同等貢献), Kawano S, Takeshima K, Watanabe M, Kitazume S, Sato R, Kusano H, Koyanagi N, Maruzuru Y, Ariei J, Hatta T, Natsume T, Kawaguchi Y. Identification of a herpes simplex vir
7. Codon bias confers stability to human mRNAs. Hia F, Yang SF, Shichino Y, Yoshinaga M, Murakawa Y, Vandenbon A, Fukao A, Fujiwara T, Landthaler M, Natsume T, Adachi S, Iwasaki S, Takeuchi O. *EMBO Rep*. 20(11):e48220 (2019)
8. Nuclear RNA export factor variant initiates piRNA-guided co-transcriptional silencing. Murano K, Iwasaki YW, Ishizu H, Mashiko A, Shibuya A, Kondo S, Adachi S, Suzuki S, Saito K, Natsume T, Siomi MC, Siomi H. *EMBO J*. 38(17):e102870 (2019)
9. Post-transcriptional Stabilization of Ucp1 mRNA Protects Mice from Diet-Induced Obesity. Takahashi A, Adachi S, Morita M, Tokumasu M, Natsume T, Suzuki T, Yamamoto T. *Cell Rep*. 13(12):2756-67 (2015)
10. ZFP36L1 and ZFP36L2 control LDLR mRNA stability via the ERK-RSK pathway. Adachi S, Homoto M, Tanaka R, Hioki Y, Murakami H, Suga H, Matsumoto M, Nakayama KI, Hatta T, Iemura S, Natsume T. *Nucleic Acids Res*. 42(15):10037-49 (2014)



生体内ストップコドンリードスルー



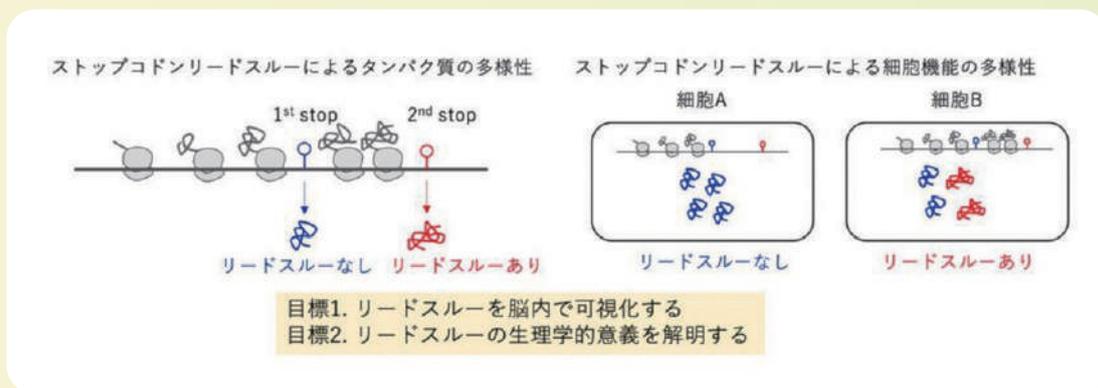
研究代表者
市之瀬 敏晴

東北大学
学際科学フロンティア研究所
助教



<https://www.fris.tohoku.ac.jp/researcher/creative/ichinosethosiharu.html>

本研究は、終始コドンを超えて3' UTRまで翻訳が継続するストップコドンリードスルーに着目する。この現象は、これまで翻訳のエラーであると考えられてきたが、終止コドン後のアミノ酸配列の進化的保存性から、機能的生命現象であることは確実で、未知のタンパク質機能ドメインの存在が想定されている。申請者はショウジョウバエの脳において細胞種特異的な翻訳モニタリングを行うことにより、リードスルー候補遺伝子を百数十個単離した。人工知能を使った構造予測により、リードスルー領域には特定の構造特性があることが判明した。さらにこれらの遺伝子に対し、リードスルー産物を特異的に蛍光ラベルするトランスジェニックレポーター系統を作製した。このレポーターにより、細胞種によってリードスルー効率が大きく異なること、リードスルーによってタンパク質の細胞内局在が変化するものがあることが判明した。今後はショウジョウバエのゲノム工学を活用し、一つ目の終止コドン周辺の塩基配列を操作することでリードスルーが全く起こらない系統と、逆に一つ目の終止コドンを変異させることで常にリードスルーが起こる系統を作製することを予定している。これらの系統を解剖学的・行動学的に解析することで、ストップコドンリードスルーの生理学的意義を解明する。以上本研究は、ストップコドンリードスルーという切り口からタンパク質世界の新たな一面を明らかにすることを目指している。



Publication

- Kanno M, Hiramatsu S, Kondo S, Tanimoto H, [*Ichinose T](#). Voluntary intake of psychoactive substances is regulated by the dopamine receptor Dop1R1 in *Drosophila*. *Sci Rep* 11(1), 3432 (2021) doi: 10.1038/s41598-021-82813-0.
- [*Ichinose T](#), Kanno M, Wu H, Yamagata N, Sun H, Abe A, [*Tanimoto H](#). Mushroom body output differentiates memory processes and distinct memory-guided behaviors. *Curr Biol* 31, 1-9(2021) doi: 10.1016/j.cub.2020.12.032.
- Sun H, Nishioka T, Hiramatsu S, Kondo S, Amano M, Kaibuchi K, [*Ichinose T](#), [*Tanimoto H](#). Dopamine receptor Dop1R2 stabilizes appetitive olfactory memory through the Raf/MAPK pathway in *Drosophila*. *J Neurosci* 40(14), 2935-2942 (2020) doi: 10.1523/JNEUROSCI.1572-19.2020.
- [Ichinose T](#), Tanimoto H, [*Yamagata N](#). Behavioral modulation by spontaneous activity of dopamine neurons. *Front Syst Neurosci* 11, 88 (2017) doi: 10.3389/fnys.2017.00088.
- [*Ichinose T](#), [*Tanimoto H](#). Dynamics of memory-guided choice behavior in *Drosophila*. *Proc Jpn Acad Ser B* 92(8), 346-357 (2016) doi: 10.2183/pjab.92.346.
- Vogt K, Aso Y, Hige T, Knapek S, [Ichinose T](#), Friedrich AB, Turner GC, [*Rubin GM](#), [*Tanimoto H](#). Direct neural pathways convey distinct visual information to *Drosophila* mushroom bodies. *eLife* 5, e14009 (2016) doi: 10.7554/eLife.14009.
- [Ichinose T](#), Aso Y, Yamagata N, Abe A, Rubin GM, [*Tanimoto H](#). Reward signal in a recurrent circuit drives appetitive long-term memory formation. *eLife* 4, e10719 (2015) doi: 10.7554/eLife.10719.
- [*Yamagata N](#), [Ichinose T](#), Aso Y, Plaças PY, Friedrich AB, Sima RJ, Preat T, [*Rubin GM](#), [*Tanimoto H](#). Distinct dopamine neurons mediate reward signals for short- and long-term memories. *Proc Natl Acad Sci USA* 112(2), 578-583 (2015) doi: 10.1073/pnas.1421930112.
- [*Aso Y](#), Sitaraman D, [Ichinose T](#), Kaun KR, Vogt K, Belliard-Guérin G, Plaças PY, Robie AA, Yamagata N, Schnaitmann C, Rowell WJ, Johnston RM, Ngo TT, Chen N, Korff W, Nitabach M, Heberlein U, Preat T, Branson K, Tanimoto H, [*Rubin GM](#). Mushroom body output neurons encode valence and guide memory-based action selection in *Drosophila*. *eLife* 3, e04580 (2014) doi: 10.7554/eLife.04580.

*: Corresponding author, :: Equal contribution.

03

タンパク質 N 末端コードの系統的解析

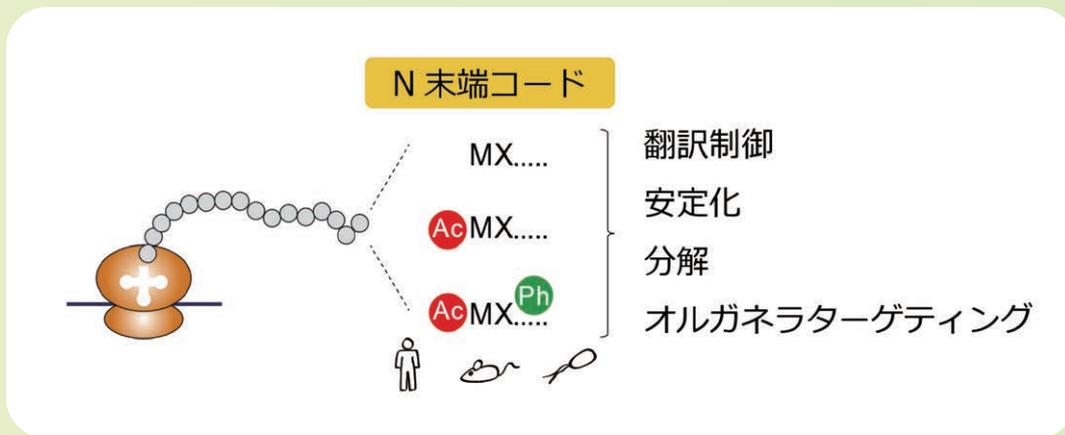


研究代表者
今見 考志
理化学研究所
上級研究員



<https://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/seizai/>

翻訳過程で真っ先に異世界に放り出された新生鎖 N 末端は、様々な反応場（フォールディングなど）を提供し、翻訳レベルでタンパク質の動態や量を制御していると考えられている。では、どのような原理に基づき個々の新生鎖が目的や機能に応じた制御を受け、誰によって一連の反応が制御されるのか？限定的な理解は進んでいるものの、全プロテオームを対象とした共通原理は依然わかっていない。本研究では、タンパク質 N 末端のアミノ酸種や修飾の組み合わせ「N 末端コード」に着目し、その配列・修飾に結合するタンパク質を系統的に調べることで、プロテオームの N 末端の意義を明らかにする。N 末端ペプチドを固定化したペプチドアレイと質量分析を用いることで、包括的かつハイスループットに結合タンパク質をプロファイルすることが可能となった。本研究からタンパク質 N 末端アセチル化は一般的にタンパク質を安定化する傾向があることや、N 末端の疾患関連変異がタンパク質を不安定化すること等がわかってきた。今後、細胞内でも「N 末端コード」の意義を明らかにし、その普遍的な共通原理を見出していきたい。



Publication

- Harnett D, Ambrozkiwicz MC, Zinnall U, Rusanova A, Borisova E, Drescher AN, Couce-Iglesias M, Villamil G, Dannenberg R, Imami K, Münster-Wandowski A, Fauler B, Mielke T, Selbach M, Landthaler M, Spahn CMT, Tarabykin V, Ohler U, Kraushar ML. A critical period of translational control during brain development at codon resolution. *Nature Structural & Molecular Biology*, DOI: 10.1038/s41594-022-00882-9 (2022)
- Uchiyama J, Roy R, Wang DO, Morikawa K, Kawahara Y, Iwasaki M, Yoshino C, Mishima Y, Ishihama Y, Imami K. pSNAP: Proteome-wide analysis of elongating nascent polypeptide chains. *iScience*, 25, 1-18 (2022)
- Imami K, Selbach M, Ishihama Y. Monitoring mitochondrial translation by pulse SILAC. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.31.428997v2> *bioRxiv* (2021)
- Ichihara K, Matsumoto A, Nishida H, Kito Y, Shimizu H, Shichino Y, Iwasaki S, Imami K, Ishihama Y, Nakayama K. Combinatorial analysis of translation dynamics reveals eIF2 dependence of translation initiation at near-cognate codons. *Nucleic Acids Research*, 49, 7298-7317 (2021)
- Kraushar ML, Krupp F, Harnett D, Turko P, Ambrozkiwicz MC, Sprink T, Imami K, Günningmann M, Zinnall U, Vieira-Vieira CH, Schaub T, Münster-Wandowski A, Bürger J, Borisova E, Yamamoto H, Rasin MR, Ohler U, Beule D, Mielke T, Tarabykin V, Landthaler M, Kramer G, Vida I, Selbach M, Spahn CMT. Protein Synthesis in the Developing Neocortex at Near-Atomic Resolution Reveals Ebp1-Mediated Neuronal Proteostasis at the 60S Tunnel Exit. *Molecular Cell*, 81, 304-322 (2021)
- Uchiyama J, Ishihama Y, Imami K. Quantitative nascent proteome profiling by pulse labeling of O-propargyl-puromycin and stable isotope labeled amino acids. *Journal of Biochemistry*, 1969, 227-236 (2020)
- Theil K, Imami K, Rajewsky N. Identification of proteins and miRNAs that specifically bind an mRNA in vivo. *Nature Communications*, 10, 4205 (2019)
- Imami K, Yasuda T. Measuring protein synthesis during cell cycle by azidohomoalanine (AHA) labeling and flow cytometric analysis. *Bio-Protocol*, 19 (2019)
- Imami K, Milek M, Bogdanow B, Yasuda Y, Kastelic N, Zauber H, Ishihama Y, Landthaler M, Selbach M. Phosphorylation of the ribosomal protein RPL12/uL11 affects translation during mitosis. *Molecular Cell*, 72, 84-98, (2018)
- Wessel H, Imami K (co-first author), Baltz A, Kolinksy M, Beldovskaya A, Selbach M, Small S, Ohler U, Landthaler M. The mRNA-bound proteome of the early fly embryo. *Genome Research*, 26, 1000-1009, (2016)

04

小分子RNA 依存的リボソーム停滞機構の
統合的理解

研究代表者
岩川 弘宙
立教大学
理学部 生命理学科
准教授



<https://sites.google.com/rikkyo.ac.jp/iwakawalab/home>

近年、20-30塩基程度の小分子RNAが、これまでタンパク質をコードしていないと考えられていた非コードmRNA上で、リボソームの進行を止めることが分かってきました。最近、私達は、植物の二本鎖RNA結合タンパク質SGS3が小分子RNA依存的リボソーム停滞に必要であること、そしてリボソーム停滞には潜在的に小分子RNAの生産を促進する機能があることを明らかにしました(*Cell Rep.* 2021)。しかしながらSGS3と小分子RNAがリボソームを停滞させる「しくみ」と、リボソーム停滞の生理学的な役割は不明でした。本課題では、植物科学、生化学、生命情報科学、そして構造生物学を駆使することにより、小分子RNA依存的なリボソーム停滞機構を統合的に理解します。現在、ダイソーム(2つのリボソームが連なった複合体)の蓄積部位と小分子RNA結合部位との関係や、SGS3と小分子RNAによって停滞しているリボソームの構造を解析しています。これらの研究を通して、非コードRNAにコードされたペプチドが、リボソーム内に留まることで、植物の生物学的プロセスを調節するという、タンパク質の新しいファセットに光を当てます(図1)。

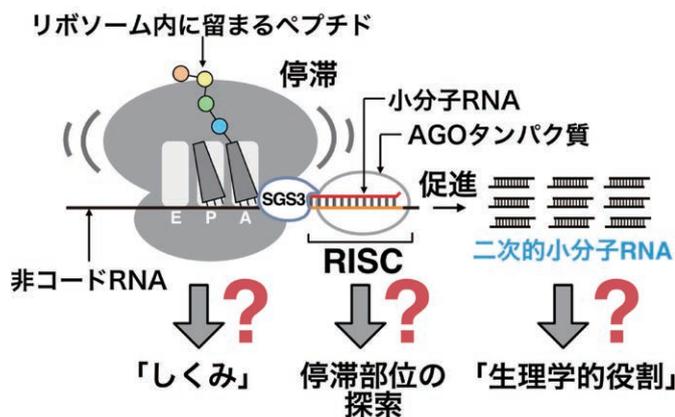


図1. 小分子RNA依存的リボソーム停滞機構の統合的理解

Publication

1. *Iwakawa HO, *Tomari Y. Life of RISC: Formation, action, and degradation of RNA-induced silencing complex. *Mol Cell*, Vol. 82(1), 30-43, (2022).
2. Sakurai Y, Baeg K, Lam AYW, Shoji K, *Tomari Y, *Iwakawa HO. Cell-free reconstitution reveals the molecular mechanisms for the initiation of secondary siRNA biogenesis in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118(31), e2102889118, (2021).
3. *Iwakawa HO, Lam AYW, Mine A, Fujita T, Kiyokawa K, Yoshikawa M, Takeda A, Iwasaki S, Tomari Y. Ribosome stalling caused by the Argonaute-microRNA-SGS3 complex regulates the production of secondary siRNAs in plants. *Cell Reports*, 35(13), 109300, (2021).
4. # Wu H, # Li B, Iwakawa HO, Pan Y, Tang X, Ling-hu Q, Liu Y, Sheng S, Feng L, Zhang H, Zhang X, Tang Z, Xia X, Zhai J, * Guo H. Plant 22-nt siRNAs mediate translational repression and stress adaptation. *Nature*, 581, 89-93, (2020).
5. *Iwakawa HO, *Tomari Y. Silencing messages in a unique way. *Nature Plants*. Vol. 3(10), 769-770, (2017).
6. Baeg K, *Iwakawa HO, *Tomari Y. The poly(A) tail blocks RDR6 from converting self mRNAs into substrates for gene silencing. *Nature Plants*, Vol. 3 | Article number: 17036, (2017).
7. Iwakawa HO, *Tomari Y. The Functions of MicroRNAs: mRNA Decay and Translational Repression. *Trends in Cell Biology*, Vol. 25 (11), 651-665, (2015).
8. #Fukaya T, #Iwakawa HO, *Tomari Y. MicroRNAs block assembly of eIF4F translation initiation complex in *Drosophila*. *Mol Cell*, Vol. 56, 67-78, (2014).
9. Iwakawa HO, *Tomari Y. Molecular insights into microRNA-mediated translational repression in plants. *Mol Cell*, Vol. 52(4), 591-601, (2013).
10. Endo Y, *Iwakawa HO, *Tomari Y. Arabidopsis ARGONAUTE7 selects miR390 through multiple checkpoints during RISC assembly. *EMBO Reports*, Vol. 14(7), 652-658, (2013).

05

翻訳途上の新生鎖に隠された新しい仕組みによって 促進されるタンパク質の折り畳み機構



研究代表者
門倉 広

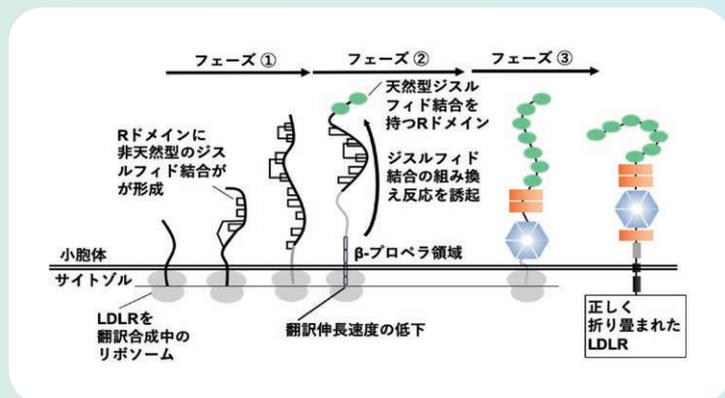
東北大学
多元物質科学研究所
准教授



<https://www.lifesci.tohoku.ac.jp/research/teacher/detail---id-19734.html>

ヒト細胞が作るタンパク質の約半数以上は複数のドメイン（タンパク質の構造の一部で他の部分とは独立した3次元構造をとる）からなるマルチドメインタンパク質である。試験管内の折り畳み実験ではこのようなタンパク質はドメイン間の相互作用によって凝集しやすい。しかし、細胞内ではこれらのタンパク質の多くは翻訳と共役して効率よく折り畳まれる。従って、その新生鎖上には、翻訳装置の活性を制御するなど、未同定の様々な仕組みが隠されていると予想される。我々は、ヒト培養細胞の小胞体に送り込まれてくる翻訳途上のマルチドメインタンパク質 LDL 受容体 (LDLR) にジスルフィド結合が導入され、正しい立体構造へと折り畳まれていく過程を、これまでにない詳細なレベルで可視化する系を構築した。この系を利用した解析から、LDLRは、自身の上流ドメインの折り畳みを「一過的に」促進できる配列を自身の下流領域上に、進化の過程で獲得してきたことが判明した (Kadokura et al., *PNAS* 117, 16401-16408 (2020))。

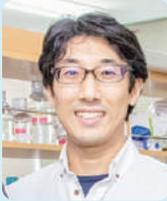
本研究では、まず、その仕組みを詳しく解析することで、マルチドメインタンパク質の新生鎖を効率よく折り畳む方法を解明することを目的に研究を進めた。その結果、その仕組みを理解する上で鍵となる下流領域の特質について幾つかの重要な知見を得ることに成功した。現在、これらの知見をもとに考えた折り畳み促進のモデルの検証を進めている。この実験から、マルチドメインタンパク質の折り畳みについて、新しい概念を提示できると期待している。また、マルチドメインタンパク質を効率良く生産するためには、タンパク質の折り畳み状態を監視し、翻訳速度の最適化を図る仕組みが必要であると予想されるが、そのような仕組みを網羅的に検出する上での課題を克服することに成功した。今後は、マルチドメインタンパク質の折り畳みを促進するために、新生鎖の配列中に隠された様々な仕組みを調べることによって、誕生前のタンパク質のもつ新たな世界やその意義を明らかにする。



Publication

1. Cryo-EM analysis provides new mechanistic insight into ATP binding to Ca^{2+} -ATPase SERCA2b. Zhang Y, Watanabe S, Tsutsumi A, Kadokura H, Kikkawa M, *Inaba K. *EMBO J* 40, e108482 (2021)
2. *Kadokura H, Dazai Y, Fukuda Y, Hirai N, Nakamura O, Inaba K. Observing the nonvectorial yet cotranslational folding of a multidomain protein, LDL receptor, in the ER of mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 117, 16401-16408 (2020)
3. Fujimoto T, Inaba K, *Kadokura H. Methods to identify the substrates of thiol-disulfide oxidoreductases. *Protein Sci*. 28, 30-40 (2019) (Invited Review)
4. Fujimoto T, Nakamura O, Saito M, Tsuru A, Matsumoto M, Kohno K, Inaba K, *Kadokura H. Identification of the physiological substrates of PDIp, a pancreas-specific protein disulfide isomerase family member. *J. Biol. Chem.* 293, 18421-18433 (2018)
5. Tsuchiya Y, Saito M, Kadokura H, Miyazaki J-I, Tashiro F, Imagawa Y, Iwawaki T, *Kohno K. IRE1-XBP1 pathway regulates oxidative proinsulin folding in pancreatic β cells. *J. Cell Biol.* 217, 1287-1301 (2018)
6. *Kadokura H, Saito M, Tsuru A, Hosoda A, Iwawaki T, Inaba K, *Kohno K. Identification of the redox partners of ERdj5 /JPD1, a PDI family member, from an animal tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 440, 245-250 (2013)
7. Yanagitani K, Kimata Y, Kadokura H, *Kohno K. Translational pausing ensures membrane targeting and cytoplasmic splicing of XBP1u mRNA. *Science* 331, 586-589 (2011)
8. *Kadokura H, *Beckwith J. Mechanisms of oxidative protein folding in the bacterial cell envelope. *Antioxid. Redox Signal.* 13, 1231-1246 (2010)
9. *Kadokura H, *Beckwith J. Detecting folding intermediates of a protein as it passes through the bacterial translocation channel. *Cell* 138, 1164-1173 (2009)
10. Kadokura H, Tian H, Zander T, Bardwell JCA, *Beckwith J. Snapshots of DsbA in action: Detection of proteins in the process of oxidative folding. *Science* 303, 534-537 (2004)

06

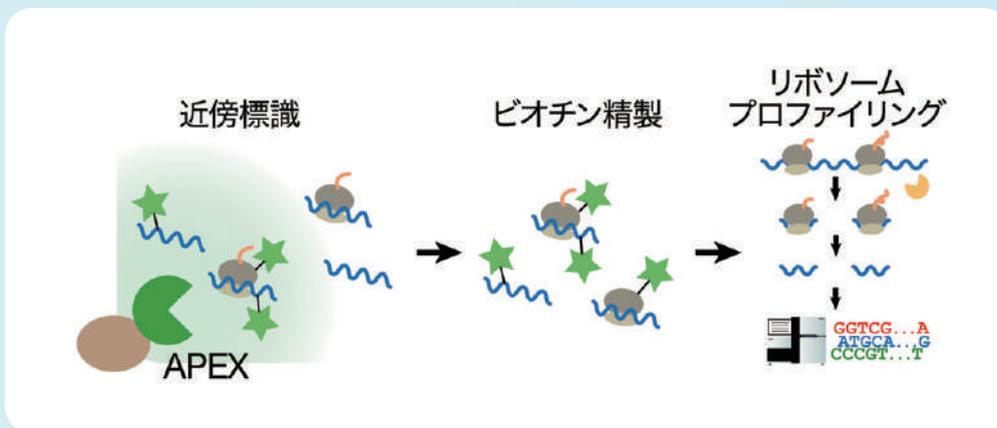
APEX-Ribo-Seq: 近傍標識による
非典型局所翻訳の網羅解析

研究代表者
七野 悠一
理化学研究所
開拓研究本部
研究員



<http://iwasakirna.com>

次世代シーケンサーを用いて細胞内の翻訳状況を解析する手法であるリボソームプロファイリング (Ribo-Seq) の登場により、ノンコーディングRNAからの翻訳や特異的な伸長停止など、従来のイメージを覆す非典型的な翻訳制御が次々と明らかになってきた。細胞内の特定の箇所に局在化したmRNAとリボソームにより行われる局所的な翻訳も、非典型的翻訳の一例である。局所翻訳はタンパク質の局在を制御し、正しく機能させるための重要な制御であると考えられているものの、その分子機構には不明な点が多い。本研究では、APEX2による近傍標識を利用することで簡便かつ汎用的に局所翻訳を網羅的に解析する新規手法APEX-Ribo-Seqを確立し、様々な局所翻訳の分子機構の解明を目指す。現在、標識、精製およびRibo-Seqのライブラリ合成の各過程について最適化を進め、APEX-Ribo-Seqを多様な局所翻訳に適用できる手法として確立すべく研究を進めている。



Publication

- *Wu Q, Shichino Y, Abe T, Suetsugu T, Omori A, Kiyonari H, Iwasaki S, Matsuzaki F. "Selective translation of epigenetic modifiers affects the temporal pattern and differentiation of neural stem cells" *Nat Commun.*, 13, 470 (2022)
- † Kashiwagi K, † Shichino Y, † Osaki T, Sakamoto A, Nishimoto M, Takahashi M, Mito M, Weber F, † Ikeuchi Y, † Iwasaki S, † Ito T. "eIF2B-capturing viral protein NS5 suppresses the integrated stress response" *Nat Commun.*, 12, 7102 (2021)
- Chen M, † Asanuma M, † Takahashi M, Shichino Y, Mito M, Fujiwara K, Saito H, Floor SN, Ingolia NT, Sodeoka M, Dodo K, Ito T, † Iwasaki S. Dual targeting of DDX3 and eIF4A by the translation inhibitor rocaglamide A. *Cell Chem Biol* 28, 475-486.e8 (2021)
- Han P, Shichino Y, Schneider-Poetsch T, Mito M, Hashimoto S, Udagawa T, Kohno K, Yoshida M, Mishima Y, Inada T, † Iwasaki S. Genome-wide survey of ribosome collision. *Cell Rep* 31, 107610 (2020)
- † Shichino Y, † Otsubo Y, Yamamoto M, † Yamashita A. Meiotic gene silencing complex MTREC/NURS recruits the nuclear exosome to YTH-RNA-binding protein Mmi1. *PLOS Gen.*, 16, e1008598 (2020)
- Hia F, Yang SF, Shichino Y, Yoshinaga M, Murakawa Y, Vandenbon A, Fukao A, Fujiwara T, Landthaler M, Natsume T, Adachi S, Iwasaki S, † Takeuchi O. Codon Bias Confers Stability to mRNAs via ILF2 in Humans. *EMBO Rep* 20, e48220 (2019)
- † Iwasaki S, † Iwasaki W, † Takahashi M, Sakamoto A, Watanabe C, Shichino Y, Floor SN, Fujiwara K, Mito M, Dodo K, Sodeoka M, Imataka H, Honma T, Fukuzawa K, † Ito T, † Ingolia NT. The Translation Inhibitor Rocaglamide Targets a Bimolecular Cavity between eIF4A and Polypurine RNA. *Mol Cell*, 73, 738-748 (2019)
- † Akichika S, † Hirano S, Shichino Y, Suzuki T, Nishimasu H, Ishitani R, Sugita A, Hirose Y, Iwasaki S, † Nureki O, † Suzuki T. Cap-specific terminal N⁶-methylation of RNA by an RNA polymerase II-associated methyltransferase *Science* 363, eaav0080 (2019)
- Shichino Y, Otsubo Y, Kimori Y, Yamamoto M, † Yamashita A. YTH-RNA-binding protein prevents deleterious expression of meiotic proteins by tethering their mRNAs to nuclear foci. *eLife* 7, e32155 (2018)
- Shichino Y, Yamashita A, † Yamamoto M. Meiotic long non-coding meirRNA accumulates as a dot at its genetic locus facilitated by Mmi1 and plays as a decoy to lure Mmi1. *Open Biol* 4, 140022 (2014)

(†: contributed equally; *: corresponding author)



クライオ電顕単粒子解析による 終止コドンのリードスルーの活写



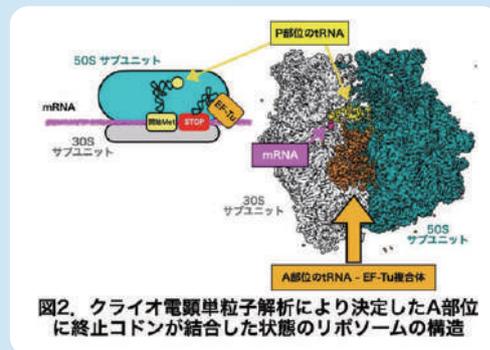
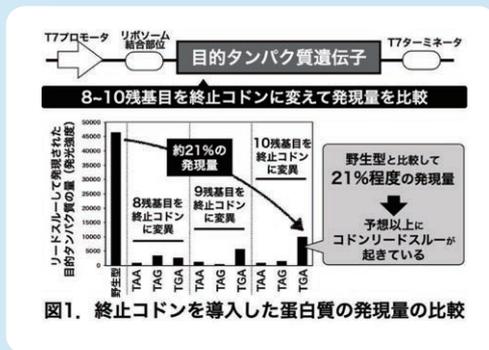
研究代表者
田中 良和
東北大学
生命科学研究科
教授



[http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/
labmos/publish/publish.html](http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/labmos/publish/publish.html)

リボソームはmRNAの開始コドンから終止コドンまでの遺伝情報をアミノ酸へと翻訳する。しかし、必ずしも終止コドンで翻訳反応が終結しない場合があることがわかってきた（これをリードスルーとよぶ）。リードスルーは翻訳エラーの一つであるだけでなく、生体内では非典型的な翻訳機構として巧妙に利用されており、また、一部の抗生物質はリードスルーを引き起こすことにより菌を殺傷する。加えて、遺伝性疾患のうち10~15%程度が未成熟終止コドンに起因することから、リードスルーの機構を理解し、未成熟終止コドンのリードスルーの頻度を上げることができれば、遺伝性疾患の解決につながる可能性がある。このように、リードスルーは生物学的にも医学的にも意義深い生命現象である。本研究では、クライオ電顕単粒子解析によりリードスルーを活写し、詳細に分子機構を解明することを目指している。

レポーター遺伝子中に終止コドンを導入してリードスルーの効率を確認したところ、終止コドンがない場合に比較して20%程度の全長のタンパク質が発現していることがわかった。これは、我々が思っている以上に高頻度で終止コドンのリードスルーが起きていることを示唆する（図1）。さらに我々は、終止コドンにアミノ酸が運搬される瞬間を捉えるべく、クライオ電顕単粒子解析に取り組んだ。リボソームのA部位に終止コドンが結合した状態のリボソームの構造を決定し、AサイトにtRNA-EF-TU複合体がアクセスしている様子を捉えることに成功した（図2）。



Publication

1. Watari H, Kageyama H, Masubuchi N, Nakajima H, Onodera K, Focia PJ, Oshiro T, Matsui T, Kodera Y, Ogawa T, Yokoyama T, Hirayama M, Hori K, Freymann DM, Komatsu N, *Araki M, *Tanaka Y, *Sakai R. A marine sponge-derived lectin reveals hidden pathway for thrombopoietin receptor activation. *Nat. Commun.* 13, 7262-7262 (2022)
2. Kodama K, Rich MK, Yoda A, Shimazaki S, Xie S, Akiyama K, Mizuno Y, Komatsu A, Luo Y, Suzuki H, Kameoka H, Libourel C, Keller J, Sakakibara K, Nishiyama T, Nakagawa T, Mashiguchi K, Uchida K, Yoneyama K, Tanaka Y, Yamaguchi S, Shimamura M, Delaux P-M, Nomura T, *Kyojuka J. An Ancestral Function of Strigolactones as Symbiotic Rhizosphere Signals. *Nat. Commun.* 13, 3974-3974 (2022)
3. Tsugita A, Uehara S, Matsui T, Yokoyama T, Ostash I, Deneka M, Yalamanchili S, Bennett C S, *Tanaka Y, and *Ostash B. The carbohydrate tail of landomycin A is responsible for its interaction with the repressor protein LanK. *The FEBS J.* 289, 6038-6057 (2022)
4. Ghanem N, Kanagami N, Matsui T, Takeda K, Kaneko J, Shiraiishi Y, Choe C A, Uchikubo-Kamo T, Shirouzu M, Hashimoto T, Ogawa T, Matsuura T, Po-Ssu H, Yokoyama T, and *Tanaka Y. Chimeric mutants of staphylococcal hemolysin, which act as both one-component and two-component hemolysin, created by grafting the stem domain. *The FEBS J.* 289, 3505-3520 (2022)
5. Chen M, Ishizaka M, Narai S, Horitani M, Shigi N, Yao M, *Tanaka Y. The [4Fe-4S] cluster of sulfurtransferase TtuA desulfurizes TtuB during tRNA modification in *Thermus thermophilus*. *Commun. Biol.* 3, 168 (2020)
6. Chen M, Kato K, Kubo Y, Tanaka Y, Liu Y, Long F, Whitman W, Lill P, Gatsogiannis C, Raunser S, Shimizu N, Shinoda A, Nakamura A, Tanaka I, *Yao M. Structural basis for tRNA-dependent cysteine biosynthesis. *Nat. Commun.* 8, 1521 (2017)
7. Chen M, Asai S, Narai S, Nambu S, Omura N, Sakaguchi Y, Suzuki T, Ikeda-Saito M, Watanabe K, Yao M, *Shigi N, *Tanaka Y. Biochemical and structural characterization of oxygen-sensitive 2-thiouridine synthesis catalyzed by the iron-sulfur protein TtuA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114, 4954-4959 (2017)
8. Yamashita D, Sugawara T, Takeshita M, Kaneko J, Kamio Y, Tanaka I, *Tanaka Y, Yao M. Molecular basis of transmembrane beta-barrel formation of staphylococcal pore-forming toxins. *Nat. Commun.* 5, 4897 (2014)
9. #Yu F, #Tanaka Y, Yamashita K, Suzuki T, Nakamura A, Hirano N, Suzuki T, Yao M, *Tanaka I. Molecular basis of dihydrouridine formation on tRNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 19593-19598 (2011)
10. Yamashita K, Kawai Y, *Tanaka Y, Hirano N, Kaneko J, Tomita N, Ohta M, Kamio Y, Yao M, *Tanaka I. Crystal Structure of the Octameric Pore of Staphylococcal γ -hemolysin Reveals the β -barrel Pore Formation Mechanism by Two Components. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 17314-17319 (2011)

#Co-first author, *Corresponding author



病害菌の感染防御に関与する非AUGを開始コドンに持つ短い遺伝子の探索



研究代表者
花田 耕介

九州工業大学
大学院情報工学研究院
教授



<http://labo.bio.kyutech.ac.jp/~kohanada/>

今まで、タンパク質をコードする遺伝子領域の多くは、生物進化の初期に作り出されていると考えられてきた。しかし、近年のゲノム解析の進展で、様々な生物種の系統において、遺伝子領域とされていなかった領域（非遺伝子領域）から新規に遺伝子（de-novo 遺伝子）が出現していることが明らかにされている。これらの遺伝子の多くは短い遺伝子であり、保存領域もないので、遺伝子として登録されていないものが多かった。そこで申請者は、シロイヌナズナ（植物のモデル生物）の非遺伝子領域から、AUGを開始コドンに持つ短い遺伝子（100 aa以内）を網羅的に探索した。その結果、シロイヌナズナの系統で特異的に出現した短い遺伝子には、病害菌からの感染防御を上昇させる機能を持つものが多いことを発見した。しかしながら、非AUGを開始コドンに持つ短い遺伝子が見落とされていると考えられている。そこで、本研究では、Ribo-seq解析を駆使し（図1）、新たに推定した免疫活性時に発現する非AUGを開始コドンに持つ未知の短い遺伝子を見出している（図2）。この中から、病害菌からの感染防御を上昇させる候補を目指しています。

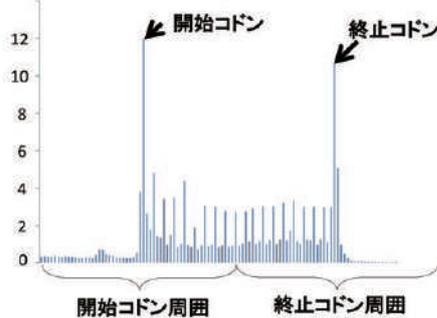


図1. 開始・終止コドン周辺(90塩基)にマッピングされたRibo-seqのReads

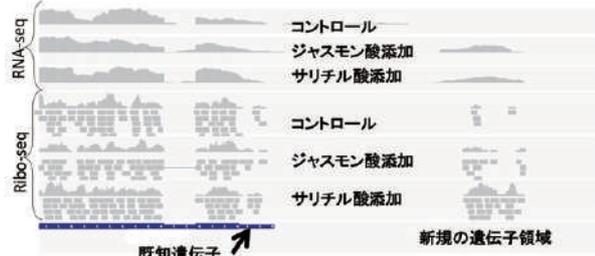


図2. 新規の翻訳領域を出した例 (RNA-seqとRibo-seqのReadsをゲノムにマッピング)

Publication

- Shirai K, Sato MP, Nishi R, Seki M, Suzuki Y, and *Hanada K. (2021) Positive selective sweeps of epigenetic mutations regulating specialized metabolites in plants. *Genome Research* 31, 1060-1068. (2020)
- Ezoe A, Shirai K, *Hanada K. (2021) Degree of functional divergence in duplicates is associated with distinct roles in plant evolution. *Mol Bio Evo* 38 (4), 1447-1459. (2021)
- Nakaminami K., Okamoto M., Higuchi-Takeuchi M., Yoshizum T., Yamaguchi Y., Fukao Y., Shimizu M., Ohashi C., Tanaka M., Matsui M., Shinozaki K., Seki M. *Hanada K. AtPep3 is a hormone-like peptide that plays a role in the salinity stress tolerance of plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 15, 5810-5815. (2018)
- Ushijima T[†], Hanada K[†], Gotoh E, Yamori W, Kodama Y, Tanaka H, Kusano M, Fukushima A, Tokizawa M, Yamamoto YY, Tada Y, Suzuki S, *Matsushita T. Light controls protein localization through phytochrome-mediated alternative promoter selection. *Cell* 171, 1316-1325. (2017)
- Shirai K., Matsuda F., Nakabayashi R., Okamoto M., Tanaka M., Fujimoto A., Shimizu M., Shinozaki K., Seki M., Saito K., *Hanada K. A Highly Specific Genome-Wide Association Study Integrated with Transcriptome Data Reveals the Contribution of Copy Number Variations to Specialized Metabolites in Arabidopsis thaliana Accessions. *Mol Bio Evo* 34, 3111-3122.
- Shikata H[†], Hanada K[†], Ushijima T, Nakashima M, Suzuki Y, *Matsushita T. Phytochrome controls alternative splicing to mediate light responses in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* 111 (52), 18781-18786. (2014)
- *Hanada K, Higuchi-Takeuchi M, Okamoto M, Yoshizumi T, Shimizu M, Nakaminami K, Nishi R, Ohashi C, Iida K, Tanaka M, Horii Y, Kawashima M, Matsui K, Toyoda T, Shinozaki K, Seki M, Matsui M. Small open reading frames associated with morphogenesis are hidden in plant genomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 110, 2395-2400. (2013)
- *Hanada K, Akiyama K, Sakurai T, Toyoda T, Shinozaki K, Shiu SH. sORF finder: a program package to identify small open reading frames (sORFs) with high coding potential. *Bioinformatics*. 26, 399-400. (2010)
- *Hanada K, Kuromori T, Myouga F, Toyoda T, Shinozaki K. Increased expression and protein divergence in duplicate genes is associated with morphological diversification. *PLoS Genetics*. 5 (12), e1000781. (2009)
- Hanada K, Zhang, X, Borevitz, J. O., Li, W.-H., and *Shiu, S.-H. A large number of novel coding small open reading frames in the intergenic regions of the Arabidopsis thaliana Genome are transcribed and/or under purifying selection. *Genome Research*. 17 (5), 632-640. (2007)



09

液-液相分離による膜コンタクトの構築基盤の解明



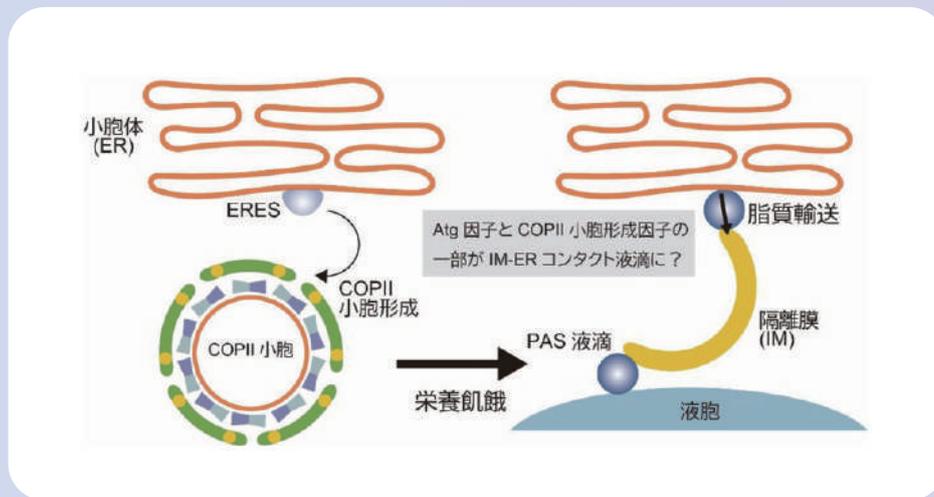
研究代表者
藤岡 優子

北海道大学
遺伝子病制御研究所
准教授



<https://mechanism.igm.hokudai.ac.jp/>

膜コンタクトはオルガネラ間の機能連携や分子交換に重要な働きを担っている。細胞内分解システムのひとつとして知られるオートファジーにおいては、小胞体から隔離膜への脂質のバルク輸送の場として機能している。COPII 小胞形成因子群は、通常では小胞体からのタンパク質輸送を行っている COPII 小胞の形成に働いているが、栄養飢餓時には構造の変換を経て Atg 因子群とともに隔離膜-小胞体コンタクトを形成する。本研究ではこれらタンパク質群および脂質膜を用いて *in vitro* で隔離膜-小胞体コンタクトを再構成し、その物性および構造的な特徴、コンタクトを構築する相互作用基盤、そして膜間の脂質輸送を支える分子基盤の解明を進めている。そしてオートファジーにおける重要課題である隔離膜伸展機構、さらには相分離が膜コンタクト構築および脂質輸送に果たす普遍的役割の解明を目指す。



Publication

- Cui J, Ogasawara Y, Kurata I, Matoba K, Fujioka Y, Noda NN, Shibasaki M and Watanabe M. Targeting the ATG5-ATG16L1 protein-protein interaction with a hydrocarbon-stapled peptide derived from ATG16L1 for autophagy inhibition. *J. Am. Chem. Soc.* 144, 17671-17679 (2022)
- Fujioka Y, and Noda NN. Biomolecular condensates in autophagy regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 69, 23-29 (2021)
- Kodera N, Noshiro D, Dora SK, Mori T, Habchi J, Blocquel D, Gruet A, Dosnon M, Salladini E, Bignon C, Fujioka Y, Oda T, Noda NN, Sato M, Lotti M, Mizuguchi M, Longhi S and Ando T. Structural and dynamics analysis of intrinsically disordered proteins by high speed atomic force microscopy. *Nat. Nanotech.* 16, 181-189 (2021)
- Fujioka Y, Alam JM, Noshiro D, Mouri K, Ando T, Okada Y, May AI, Knorr RL, Suzuki K, Ohsumi Y and Noda NN. Phase separation organizes the site of autophagosome formation. *Nature* 578, 301-305 (2020)
- Yamasaki A, Alam JM, Noshiro D, Hirata E, Fujioka Y, Suzuki K, Ohsumi Y and Noda NN. Liquidity is a critical determinant for selective autophagy of protein condensates. *Mol. Cell* 77, 1163-1175 (2020)
- Suzuki H, Ohsawa T, Fujioka Y, Noda NN. Structural biology of the core autophagy machinery. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 43, 10-17 (2017)
- #Yamamoto H, #Fujioka Y (#co-first), #Suzuki SW, Noshiro D, Suzuki H, Kondo-Kakuta C, Kimura Y, Hirano H, Ando T, Noda NN, Ohsumi Y. The intrinsically disordered protein Atg13 mediates supramolecular assembly of autophagy initiation complexes. *Dev. Cell* 38, 86-99 (2016)
- Wu F, Watanabe Y, Guo XY, Qi X, Wang P, Zhao HY, Wang Z, Fujioka Y, Zhang H, Ren JQ, Fang TC, Shen YX, Feng W, Hu JJ, Noda NN and Zhang H. Structural basis of the differential function of the two *C. elegans* Atg8 homologs, LGG-1 and LGG-2, in autophagy. *Mol. Cell* 60, 914-929 (2015)
- #Fujioka Y, #Suzuki SW, #Yamamoto H, Kondo-Kakuta C, Kimura Y, Hirano H, Akada R, Inagaki F, Ohsumi Y, Noda NN. Structural basis of starvation-induced assembly of the autophagy initiation complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 21, 513-521 (2014)
- Noda NN, Fujioka Y, Hanada T, Ohsumi Y and Inagaki F. Structure of the Atg12-Atg5 conjugate reveals a platform for stimulating Atg8-PE conjugation. *EMBO Rep.* 14, 206-211 (2013)



非典型翻訳の試験管内再構成と そのメカニズムの解明



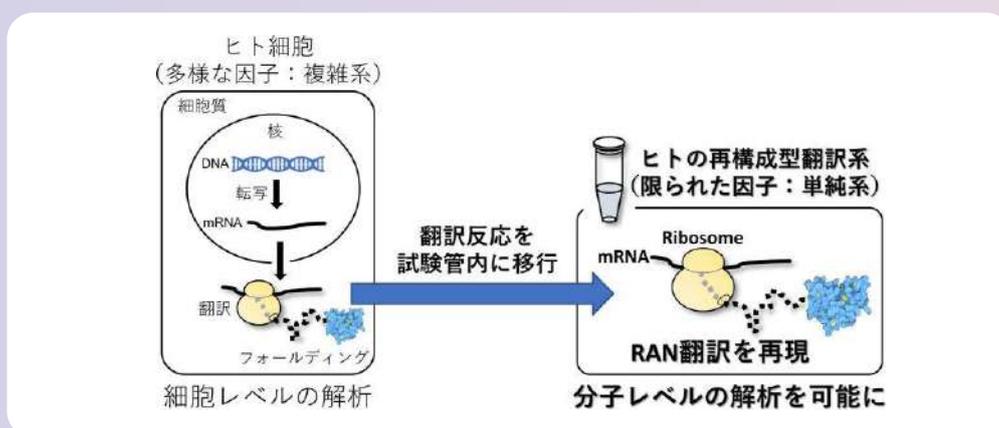
研究代表者
町田 幸大

兵庫県立大学
工学研究科
准教授



[http://www.eng.u-hyogo.ac.jp/
group/group37/](http://www.eng.u-hyogo.ac.jp/group/group37/)

本領域の助成を受けて、CAGリピートを有するHtt exon-1遺伝子のmRNAを作成し、これをヒト因子由来再構成型無細胞翻訳系：ヒトPUREシステムで翻訳させると、細胞内で生じる『AUG開始コドンから始まるin-frame翻訳産物：ポリグルタミン』と『翻訳開始点不明の+1 frame：ポリセリン、+2 frame：ポリアラニンなどの非典型翻訳産物』がヒトPUREシステムでも再現されること、またこれら非典型翻訳産物の合成にも翻訳開始因子群に依存した翻訳開始フェーズが必要であることを明らかにした。さらに、非典型翻訳の原因となる因子を探索する中で、RNAに相互作用することでタンパク質合成を促進すると言われるポリアミンのいくつか、CAGリピート由来の非典型翻訳を顕著に促進することを新たに発見した。そこで現在は、各種ポリアミンがCAGリピート由来の非典型翻訳に与える影響とその分子機構を解明すると共に、各翻訳frameの開始点を決定するための解析を進めている。



Publication

- *Machida K, Miyawaki S, Kanzawa K, Hakushi T, Nakai T, Imataka H. An in Vitro Reconstitution System Defines the Defective Step in the Biogenesis of Mutated β -Actin Proteins. *ACS Synth Biol*. 2021 Nov 19;10(11):3158-3166.
- Hirayama C, Machida K, Noi K, Murakawa T, Okumura M, Ogura T, Imataka H, Inaba K. Distinct roles and actions of protein disulfide isomerase family enzymes in catalysis of nascent-chain disulfide bond formation. *iScience*. 2021 Mar 9;24(4):102296.
- Yokoyama T, Machida K, Iwasaki W, Shigeta T, Nishimoto M, Takahashi M, Sakamoto A, Yonemochi M, Harada Y, Shigematsu H, Shirouzu M, Tadakuma H, Imataka H, Ito T. HCV IRES Captures an Actively Translating 80S Ribosome. *Mol Cell*. 2019 Jun 20;74(6):1205-1214.e8.
- Machida K, Shigeta T, Yamamoto Y, Ito T, Svitkin Y, Sonenberg N, Imataka H. Dynamic interaction of poly(A)-binding protein with the ribosome. *Sci Rep*. 2018 Nov 28;8(1):17435.
- *Machida K, Kanzawa K, Shigeta T, Yamamoto Y, Tsumoto K, *Imataka H. Huntingtin Polyglutamine-Dependent Protein Aggregation in Reconstituted Cells. *ACS Synth Biol*. 2018 Feb 16;7(2):377-383.
- *Machida K, Shigeta T, Kobayashi A, Masumoto A, Hidaka Y, *Imataka H. Cell-free analysis of polyQ-dependent protein aggregation and its inhibition by chaperone proteins. *J Biotechnol*. 2016 Dec 10;239:1-8.
- Machida K, Imataka H. Production methods for viral particles. *Biotechnol Lett*. 2015 Apr;37(4):753-60.
- *Machida K, Mikami S, Masutani M, Mishima K, Kobayashi T, *Imataka H. A translation system reconstituted with human factors proves that processing of encephalomyocarditis virus proteins 2A and 2B occurs in the elongation phase of translation without eukaryotic release factors. *J Biol Chem*. 2014 Nov 14;289(46):31960-71.
- Kobayashi T, Machida K, Imataka H. Human cell extract-derived cell-free systems for virus synthesis. *Methods Mol Biol*. 2014;1118:149-56.
- Machida K, Masutani M, Kobayashi T, Mikami S, Nishino Y, Miyazawa A, Imataka H. Reconstitution of the human chaperonin CCT by co-expression of the eight distinct subunits in mammalian cells. *Protein Expr Purif*. 2012 Mar;82(1):61-9.



分泌系タンパク質の配送における非典型的な翻訳終結反応の分子機構と生理機能の解明



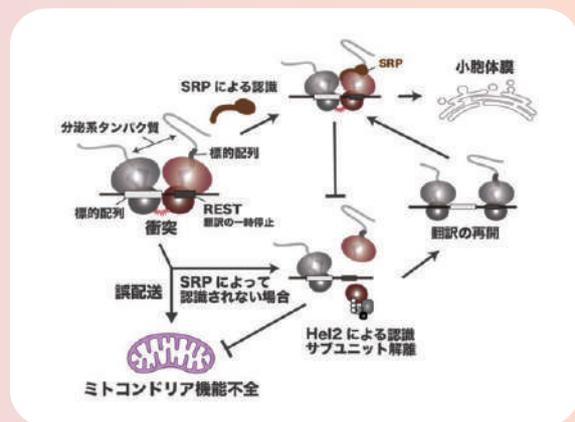
研究代表者
松尾 芳隆
東京大学
医科学研究所
准教授



<http://www.inada-lab.ims.u-tokyo.ac.jp>

翻訳の伸長反応は、ペプチド鎖のフォールディングや細胞内小器官への配送などと共役しており、その異常は不良タンパク質の産生に直結します。細胞はこれを回避するために、異常な翻訳伸長を感知し、強制的に翻訳を終結させる品質管理機構 (RQC: Ribosome-associated Quality Control) を備えています。細胞内では同一の mRNA を複数のリボソームが翻訳しているため、異常な翻訳停滞が生じると停滞したリボソームと後続のリボソームが衝突し“リボソームの交通渋滞”が形成されます。RQC のセンサータンパク質である Hel2 はこれを異常な翻訳と認識し、非典型的な翻訳終結反応によって停滞したリボソームを除去します。これにより、リボソームの交通渋滞が解消され、翻訳が再開されます。

最近、わたしたちは、SRP (Signal Recognition Particle) を介した分泌系タンパク質の共翻訳的な配送異常が RQC に識別されることを見いだしました (Matsuo and Inada., *Cell Rep.* 2021)。テイルアンカー型を除く分泌系タンパク質の大部分は、SRP を介して共翻訳的に小胞体膜へと配送されます。その際、配送の補助機構として、分泌系タンパク質をコードする mRNA には翻訳の一時停止を誘導するレアコドンクラスター (REST) がコードされており、この REST によってリボソームの交通渋滞が生じていることも報告されています。しかし、RQC によって識別される配送異常は、SRP による認識に欠損があるものに限られており、小胞体膜への配送中にリボソームの交通渋滞が生じても、SRP の結合によって RQC の誘導がキャンセルされる可能性が示唆されています。そこで、本研究では、その分子機構の解明を目指し解析を進めています。また、SRP の識別に欠損があり、かつ RQC による除去が失敗した分泌系タンパク質は、ミトコンドリアへと誤配送されることがわかっています。本研究では、このミトコンドリアへと誤配送された分泌系タンパク質の運命についても解析を進めています。



Publication

- Matsuo Y^{*}, Uchihashi T, Inada T^{*}. Decoding of the ubiquitin-code for clearance of colliding ribosomes by the RQT complex. *Nat Commun.* 14(1):79. (2023)
- Narita M[†], Denk T[†], Matsuo Y, Sugiyama T, Kikuguchi C, Ito S, Sato N, Suzuki T, Hashimoto S, Machova I, Tesina P, Beckmann R^{*}, Inada T^{*}. A distinct human disome collision interface harbors K63-linked polyubiquitination of uS10 to trigger hRQT-mediated subunit dissociation. *Nat Commun.* 13(1):6411. (2022)
- Li S[†], Ikeuchi K[†], Kato M, Buschauer R, Sugiyama T, Adachi S, Kusano H, Natsume T, Berninghausen O, Matsuo Y, Becker T, Beckmann R^{*}, Inada T^{*}. Sensing of individual stalled 80S ribosomes by Fap1 for non-functional rRNA turnover. *Mol Cell.* 82(18):3424-3437. (2022)
- Matsuo Y^{*} and Inada T. Ribosome collision sensor Hel2 recognizes mistargeting secretory ribosome-nascent chain complexes. *Cell Rep.* 34:108877. (2021)
- Buschauer R[†], Matsuo Y[†] (*Co-first Author), Sugiyama T, Chen YH, Alhusaini N, Sweet T, Ikeuchi K, Cheng J, Matsuki Y, Nobuta R, Gilmozzi A, Berninghausen O, Tesina P, Becker T, Collier J[†], Inada T^{*}, Beckmann R^{*}. The Ccr4-Not complex monitors the translating ribosome for codon optimality. *Science.* 368(6488):eaay6912 (2020)
- Matsuo Y[†], Tesina P[†], Nakajima S, Mizuno M, Endo A, Buschauer R, Cheng J, Shounai O, Ikeuchi K, Saeki Y, Becker T, Beckmann R^{*}, Inada T^{*}. RQT complex dissociates ribosomes collided on endogenous RQC substrate SDD1. *Nat Struct Mol Biol.* (4):323-332. (2020)
- Sugiyama T[†], Li S[†], Kato M[†], Ikeuchi K, Ichimura A, Matsuo Y, Inada T^{*}. Sequential Ubiquitination of Ribosomal Protein uS3 Triggers the Degradation of Non-functional 18S rRNA. *Cell Rep.* 26(12):3400-3415.e7. (2019)
- Ikeuchi K[†], Tesina P[†], Matsuo Y, Sugiyama T, Cheng J, Saeki Y, Tanaka K, Becker T, Beckmann R^{*}, Inada T^{*}. Collided ribosomes form a unique structural interface to induce Hel2-driven quality control pathways. *EMBO J.* 38(5):e100276. (2019)
- Matsuo Y[†], Ikeuchi K[†], Saeki Y, Iwasaki S, Schmidt C, Udagawa T, Sato F, Tsuchiya H, Becker T, Tanaka K, Ingolia NT, Beckmann R, Inada T^{*}. Ubiquitination of stalled ribosome triggers ribosome-associated quality control. *Nat Commun.* 8(1):159. (2017)
- Matsuo Y, Granneman S, Thoms M, Manikas RG, Tollervey D, Hurt E^{*}. Coupled GTPase and remodelling ATPase activities form a checkpoint for ribosome export. *Nature.* 505(7481):112-116. (2014)

[†]Co-first author, ^{*}Corresponding author



12

神経変性疾患に関わる凝集体の 形成・抑制の *in situ* 構造生物学



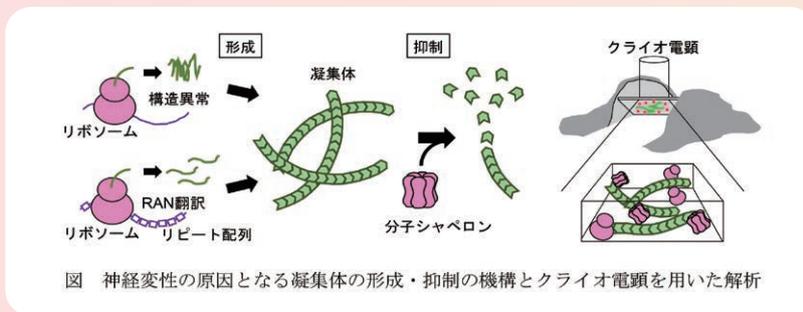
研究代表者
山形 敦史

理化学研究所
上級研究員



<https://www.bdr.riken.jp/jp/research/labs/shirouzu-m-protein/index.html>

筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病といった神経変性疾患は、細胞内で異常タンパク質が線維状の凝集体 (アミロイド) を形成し蓄積されることが原因と考えられている。近年、クライオ電子顕微鏡法の発展によりアミロイド線維の高分解能構造解析が可能となり、我々もアミロイドの高分解能構造解析に携わっている。一方、アミロイド研究においては、アミロイド線維の構造依存的な伝播、リピート関連性非ATG依存性 (RAN) 翻訳、分子シャペロンによるアミロイドの脱凝集といった従来のタンパク質科学の常識を超えたユニークな現象が注目を集めている。本研究ではクライオ電子線トモグラフィー法による *in situ* 構造生物解析を用いて、細胞内で形成される凝集体が細胞内微細構造やオルガノイドに及ぼす影響、リボソームや分子シャペロンといった形成・抑制に関わる因子との空間的配置関係を解析し、アミロイドがもたらすユニークな現象を構造の面から解明することを目的とする。現在、酵母プリオンやシードアミロイド依存的に培養細胞内で形成させた tau 線維を材料として研究を進めている。蛍光標識した凝集体を光・電子相関顕微鏡 (CLEM) によって同定した後、その標識箇所をクライオ集束イオンビーム加工 (cryo-FIB milling) による薄層 (ラメラ) 加工し、クライオ電子線トモグラフィー法による細胞内構造の解析に取り組んでいる。



Publication

1. *Yamagata A., Murata Y., Namba K., Terada T., Fukai S., Shirouzu M. Uptake mechanism of iron-phytosiderophore from the soil based on the structure of yellow stripe transporter. *Nat. Commun.* (2022) doi: 10.1038/s41467-022-34930-1.
2. *Cao P., *Bracun L., *Yamagata A., Christianson BM, Negami T., Zou B., Terada T., Canniffe DP, Shirouzu M., Li M., *Liu LN. Structural basis for the assembly and quinone transport mechanisms of the dimeric photosynthetic RC-LH1 supercomplex. *Nat. Commun.* (2022) doi: 10.1038/s41467-022-29563-3. (*equally contributed)
3. Bracun, L., *Yamagata A., *Christianson, B.M., Terada, T., Canniffe, D.P., Shirouzu, M. & *Liu, L.N. Cryo-EM structure of the photosynthetic RC-LH1-PufX supercomplex at 2.8-Å resolution. *Sci. Adv.*, 7, (2021) eabf8864
4. Yoshida T, Yamagata A, Imai A, Kim J, Izumi H, Nakashima S, Shiroshima T, Maeda A, Iwasawa-Okamoto S, Azechi K, Osaka F, Saitoh T, Maenaka K, Shimada T, Fukata Y, Fukata M, Matsumoto J, Nishijo H, Takao K, Tanaka S, Okabe S, Tabuchi K, Uemura T, Mishina M, Mori H, *Fukai S. Canonical versus non-canonical transsynaptic signaling of neuroligin 3 tunes development of sociality *Nat. Commun.* (2021) doi: 10.1038/s41467-021-22059-6
5. *Wakita M., *Yamagata A., Shiroshima T., Izumi H., Maeda A., Sendo M., Imai A., Kubota K., Goto-Ito S., Sato Y., Mori H., Yoshida T., *Fukai S. *equally contributed Structural insights into selective interaction between type IIa receptor protein tyrosine phosphatases and Liprin- α *Nat. Commun.* (2020) doi: 10.1038/s41467-020-14516-5
6. Yamagata A., Goto-Ito S., Sato Y., Shiroshima T., Maeda A., Watanabe M., Saitoh T., Maenaka K., Terada T., Yoshida T., *Uemura T., *Fukai S. Structural insights into modulation and selectivity of transsynaptic neuroligin-LRRTM interaction *Nat. Commun.* (2018) doi: 10.1038/s41467-018-06333-8.
7. Yamagata A., Miyazaki Y., Yokoi N., Shigematsu H., Sato Y., Goto-Ito S., Maeda A., Goto T., Sanbo M., Hirabayashi M., Shirouzu M., Fukata Y., *Fukata M., *Fukai S. Structural basis of epilepsy-related ligand-receptor complex LGI1-ADAM22 *Nat. Commun.* (2018) doi: 10.1038/s41467-018-03947-w.
8. Yamagata A., Yoshida T., Sato Y., Goto-Ito S., Uemura T., Maeda A., Shiroshima T., Iwasawa-Okamoto S., Mori H., Mishina M., *Fukai S. Mechanisms of splicing-dependent *trans*-synaptic adhesion by PTP δ - IL1RAPL1/IL-1RACp for synaptic differentiation. *Nat. Commun.* (2015) doi:10.1038/ncomms7926
9. *Kubota K., *Yamagata A., Sato Y., Goto-Ito S., *Fukai S. (*equally contributed) Get1 stabilizes an open dimer conformation of Get3 ATPase by the binding at two distinct interfaces *J. Mol. Biol.* (2012) 422, 366-375
10. Yamagata A., Mimura H, Sato Y, Yamashita M, Yoshikawa A, *Fukai S Structural insight into the membrane insertion of tail-anchored proteins by Get3 *Genes to Cells* (2010) 15, 29-41

13

非膜性構造体における蛋白質の 機能性構造ドメインと天然変性領域の協同的役割



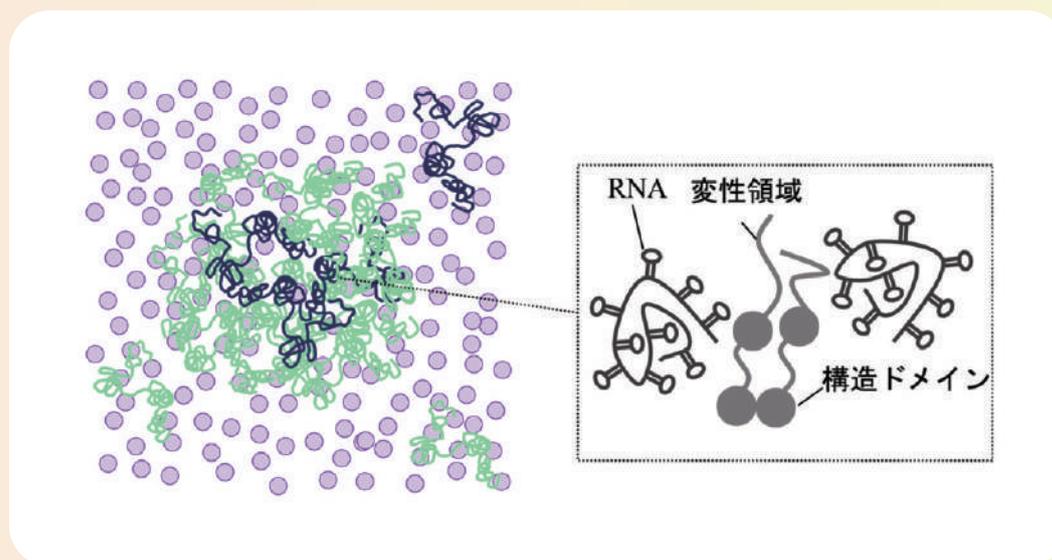
研究代表者
山本 詠士

慶應義塾大学
理工学部
専任講師



<https://yamamoto.sd.keio.ac.jp/>

近年、細胞内の液-液相分離現象によって、RNAと天然変性タンパク質が膜を有さない構造体（非膜性構造体）を形成することが明らかになってきている。非膜性構造体を形成する天然変性タンパク質は、構造ドメインと柔軟に構造が変化する天然変性領域を持つものが多いことが知られているが、それらの分子間相互作用や挙動は不明である。本研究では、分子動力学シミュレーションにより、非膜性構造体内部の分子間相互作用および分子挙動を解析した。非膜性構造体を構成している天然変性タンパク質（構造ドメインを含む場合と含まない場合）の違いが、構造体内部の分子密度の不均一性や分子拡散に与える影響を明らかにした。



Publication

1. Yasuda I, Endo K, Yamamoto E, Hirano Y, and *Yasuoka K, Ligand-induced protein dynamics differences correlate with protein-ligand binding affinities: An unsupervised deep learning approach. *Commun. Biol.* 5, 481 (2022)
2. *Yamamoto E, Akimoto T, Mitsutake A, Metzler R, Universal Relation between Instantaneous Diffusivity and Radius of Gyration of Proteins in Aqueous Solution. *Phys. Rev. Lett.* 126, 128101 (2021)
3. *Yamamoto E, Domariski J, Naughton FB, Best RB, Kalli AC, Stansfeld PJ, *Sansom MSP, Multiple Lipid Binding Sites Determine the Affinity of PH Domains for Phosphoinositide-Containing Membranes. *Science Adv.* 6, eaay5736 (2020)
4. Tomobe K, *Yamamoto E, Kojić D, Sato Y, Yasui M, *Yasuoka K, Origin of the blueshift of water molecules at interfaces of hydrophilic cyclic compounds. *Science Adv.* 3, e1701400 (2017)
5. *Yamamoto E, Akimoto T, Kalli AC, Yasuoka K, *Sansom MSP, Dynamic interactions between a membrane binding protein and lipids induce fluctuating diffusivity. *Science Adv.* 3, e1601871 (2017)
6. Yamamoto E, *Kalli AC, Yasuoka K, *Sansom MSP, Interactions of Pleckstrin Homology Domains with Membranes: Adding Back the Bilayer via High Throughput Molecular Dynamics. *Structure* 24, 1421 (2016)
7. Yamamoto E, Kalli AC, Akimoto T, Yasuoka K, *Sansom MSP, Anomalous dynamics of a lipid recognition protein on a membrane surface. *Sci. Rep.* 5, 18245 (2015)
8. Yamamoto E, Akimoto T, Yasui M, *Yasuoka K, Origin of 1/f noise in hydration dynamics on lipid membrane surfaces. *Sci. Rep.* 5, 8876 (2015)
9. Yamamoto E, Akimoto T, Yasui M, *Yasuoka K, Origin of subdiffusion of water molecules on cell membrane surfaces. *Sci. Rep.* 4, 4720 (2014)
10. Yamamoto E, Akimoto T, Hirano Y, Yasui M, *Yasuoka K, 1/f fluctuations of amino acids regulate water transportation in AQP1. *Phys. Rev. E* 89, 022718 (2014)

14

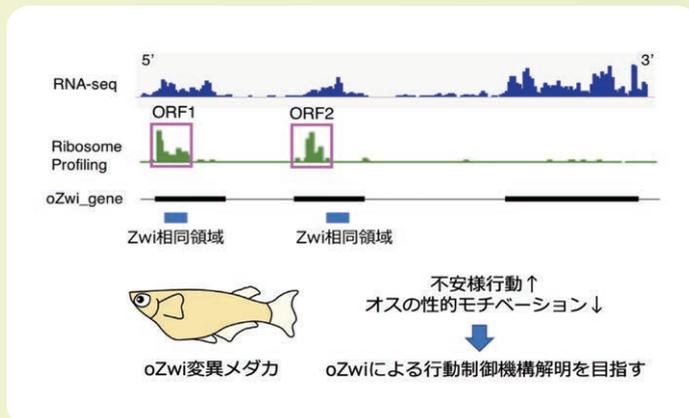
メダカノンコーディングRNA から翻訳される
ペプチドによる行動制御機構解析

研究代表者
横井 佐織
北海道大学大学院
薬学研究院
助教



<https://sites.google.com/rnabiol.com/home>

ポストゲノム時代に行われた大規模シーケンス解析によって、ヒトやマウスを含む脊椎動物のゲノムからは大量のノンコーディングRNAが転写されていることが明らかとなった。しかしながら過去数年の間に、従来ノンコーディングRNAと考えられていた転写産物から既知の機能ドメインを持たない新規ペプチドが翻訳されている例が、次々と報告されるようになってきた。私たちはメダカの神経系で特異的に発現する機能性ノンコーディングRNAを同定する過程で、*LOC105354516*と呼んでいたノンコーディング転写産物が、ゼブラフィッシュでZwilling (Zwi)として報告されていた機能未知ペプチドをコードしていること、また、Zwiと相同性を持たない新規ペプチドもコードしていることを見出した。ゼブラフィッシュのZwiは稚魚のミエリンで発現しているとの報告はあったが、その生理機能については全く明らかになっていなかった。これまでの解析により、メダカのZwi (oZwi) はゼブラフィッシュと同様にミエリンで発現する一方、終脳など報告のない領域でも発現することが明らかになった。また、oZwiの変異体は不安様行動の増大、性的モチベーションの低下といった行動異常を示すことが明らかとなっており、oZwiはメダカにおいて社会性行動の制御に関わっていることが予想される。本研究ではoZwiがコードする2種類のペプチドの発現パターンとそれらが形成する分子複合体を同定し、新規機能ペプチドによる動物の行動制御機構の解明を目指している。



Publication

- Saori Yokoi*, Shinichi Nakagawa. UPA-Seq-Based Search Method for Functional lncRNA Candidates. *Methods in Molecular Biology* 2509 269-278 (2022)
- Osamu Takahashi, Mayuko Tanahashi, Saori Yokoi, Mari Kaneko, Kaori Yanaka, Shinichi Nakagawa, Hiroshi Maita. The cell type-specific ER membrane protein UGS148 is not essential in mice. *Genes to Cells* 27(1) 43-60 (2022)
- Yuko Watanabe, Kazuho Okuya, Yuki Takada, Masato Kinoshita, Saori Yokoi, Shinichi Chisada, Yasuhiro Kamei, Hideki Tatsukawa, Naoyuki Yamamoto, Hideki Abe, Hisashi Hashimoto, Kiyotaka Hitomi. Gene disruption of medaka (*Oryzias latipes*) orthologue for mammalian tissue-type transglutaminase (TG2) causes movement retardation. *Journal of biochemistry* 168(3) 213-222 (2020)
- Saori Yokoi*, Kiyoshi Naruse, Yasuhiro Kamei, Satoshi Ansai, Masato Kinoshita, Mari Mito, Shintaro Iwasaki, Shuntaro Inoue, Teruhiro Okuyama, Shinichi Nakagawa, Larry J Young, Hideaki Takeuchi. Sexually dimorphic role of oxytocin in medaka mate choice. *PNAS* 117(9) 4802-4808 (2020)
- Taiwa Komatsu, Saori Yokoi, Koichi Fujii, Mari Mito, Yusuke Kimura, Shintaro Iwasaki, Shinichi Nakagawa. UPA-seq: prediction of functional lncRNAs using differential sensitivity to UV crosslinking. *RNA (New York, N.Y.)* 24(12) 1785-1802 (2018)
- Ikuko Watakabe, Hisashi Hashimoto, Yukiko Kimura, Saori Yokoi, Kiyoshi Naruse, Shin-ichi Higashijima. Highly efficient generation of knock-in transgenic medaka by CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Zoological Letters* 4(1) 3 (2018)
- Teruhiro Okuyama, Saori Yokoi*, Hideaki Takeuchi*. Molecular basis of social competence in medaka fish. *Development, growth & differentiation* 59(4) 211-218 (2017)
- Saori Yokoi, Satoshi Ansai, Masato Kinoshita, Kiyoshi Naruse, Yasuhiro Kamei, Larry J Young, Teruhiro Okuyama, Hideaki Takeuchi. Mate-guarding behavior enhances male reproductive success via familiarization with mating partners in medaka fish. *Frontiers in zoology* 13 21-21 (2016)
- Saori Yokoi, Teruhiro Okuyama, Yasuhiro Kamei, Kiyoshi Naruse, Yoshihito Taniguchi, Satoshi Ansai, Masato Kinoshita, Larry J Young, Nobuaki Takemori, Takeo Kubo, Hideaki Takeuchi. An essential role of the arginine vasotocin system in mate-guarding behaviors in triadic relationships of medaka fish (*Oryzias latipes*). *PLoS genetics* 11(2) e1005009 (2015)
- Teruhiro Okuyama, Saori Yokoi, Hideki Abe, Yasuko Isoe, Yuji Suehiro, Haruka Imada, Minoru Tanaka, Takashi Kawasaki, Shunsuke Yuba, Yoshihito Taniguchi, Yasuhiro Kamei, Kataaki Okubo, Atsuko Shimada, Kiyoshi Naruse, Hiroyuki Takeda, Yoshitaka Oka, Takeo Kubo, Hideaki Takeuchi. A neural mechanism underlying mating preferences for familiar individuals in medaka fish. *Science (New York, N.Y.)* 343(6166) 91-4 (2014)

15

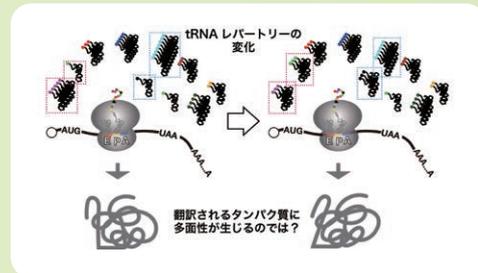
tRNA レポートリーの変化が与える
タンパク質の多面性研究代表者
吉久 徹兵庫県立大学大学院
理学研究科
教授
https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/life/biomecha/MolBioMech_Top/Welcome.html

タンパク質のあるアミノ酸残基が特定の同義コドンによってコードされることは、タンパク質の翻訳速度や精度の違いを介してフォルディングや細胞内局在など、翻訳以降の様々な面へ影響することが指摘されている。事実、アミノ酸置換を伴わない synonymous mutation にも、様々な遺伝病に至る変異があることが明らかとなっている。今までコドン選択はそのコドンをデコードする isoacceptor tRNA (アンチコドン配列で規定される tRNA 種) の量に対応すると考えられており、各 isoacceptor 量の総体 (tRNA レポートリー) はゲノム上の tRNA 遺伝子の数で決定されるため生物種で一定だと考えられてきた。しかし、近年、tRNA レポートリーが内的外的環境によって変化することが明らかとなり、この変化を利用した proteome 形成制御の可能性が示唆されている。

我々は強固な高次構造と多様な修飾によって網羅的解析法では定量の難しかった tRNA の新規絶対定量法—OTTER 法—を開発する中で、出芽酵母において minor isoacceptor が呼吸条件下では軒並み発酵条件の2倍程度に増え、major isoacceptor はこれを相殺するように減少することを見出した (Nagai *et al.*, *RNA*, 2021)。これによって tRNA 環境適合性指標である tAI が呼吸条件下で上昇するトップ100 ORF を調べると、オルガネラタンパク質や天然変性領域を持つタンパク質等が偏って含まれることが判った。生物は、こうした翻訳延長環境の変化によるタンパク質の量的調節だけでなく、局在化や機能化等の質的な違い、すなわち、タンパク質にマルチファセット性を積極的に利用しているのではないだろうか。こうした仮説を検証する目的で、本研究では出芽酵母を材料に下記の4項目の研究課題を進めている。

- [1] 発酵条件と呼吸条件の間での mRNA の翻訳状態の違いを ribosome profiling で検討する。特に、ER やミトコンドリア上で翻訳共役的に膜透過するタンパク質の翻訳状態に着目する。
- [2] 呼吸条件下で tAI が上昇したミトコンドリアに局在するタンパク質群を対象に、局在化効率や、翻訳共役型膜透過の割合等が、炭素源に左右されるかを検討する。
- [3] 呼吸条件下で tAI が上昇した天然変性領域を含むタンパク質、特に核膜孔複合体 (NPC) 構成タンパク質 (Nup) の NPC への組み込み等が炭素源でどう影響されるかを検討する。
- [4] 呼吸培地中で発現量の上昇する minor tRNA 群を発酵培地中並みに抑える、またはこの逆の状態を達成し、前2項で取り上げたタンパク質群の局在化や機能化への影響を検討する。特に、Nup が左右する核—細胞質間輸送担体の細胞内動態を詳しく解析し、tRNA レポートリーの制御がタンパク質の機能的な多面性を生み出すか検証する。

現在、[4] 項で必要となる tRNA レポートリー改変について一定の成果が得られている。その一つは複数の同義遺伝子でコードされる isoacceptor に関し、系統的に多重欠失変異を作製して tRNA の発現量を改変したことである。6つの完全に配列が同一の同義遺伝子でコードされる tRNA^{Trp}_{CCA} について可能な全ての欠失パターンを染色体上に構築したところ、残存遺伝子が2つの酵母株 (15種) はほぼ野生株並みの生育を示すが、tRNA 量はどれも野生株の1/3に減っており、全ての遺伝子が tRNA^{Trp}_{CCA} の供給にほぼ等価に働くことが判った (Hayashi *et al.*, *Biosci Biotechnol Biochem*, 2022)。これとは別に CRISPRi を用いた tRNA^{Leu}_{UAG} の発現抑制でも、野生株の1/3程度まで発現が落ちなければ生育や翻訳に異常が見られないことも明らかとなっている。これらのことから、出芽酵母では生理条件に応じたシステムティックな tRNA レポートリー制御が行われている一方で、かなりの安全係数をもって tRNA が生産されていることが明らかとなった。今後は、こうした点も考慮して tRNA レポートリーに基づく翻訳制御と、そこから生まれるタンパク質の多面性に関して解析を進めて行く。



Publication

1. *Hayashi S, Matsui M, Ikeda A, Yoshihisa T. Six identical tRNA^{Trp}_{CCA} genes express a similar amount of mature tRNA^{Trp}_{CCA} but unequally contribute to yeast cell growth. *Biosci Biotechnol Biochem*, 86, 1398-1404 (2022)
2. Nagai A, Mori K, Shiomi Y, *Yoshihisa T. OTTER, a new method quantifying absolute amounts of tRNAs. *RNA*, 27, 628-640 (2021)
3. Matsuki Y, Matsuo Y, Nakano Y, Iwasaki S, Yoko H, Udagawa T, Li S, Saeki Y, Yoshihisa T, Tanaka K, Ingolia NT, *Inada T. Ribosomal protein S7 ubiquitination during ER stress in yeast is associated with selective mRNA translation and stress outcome. *Sci Rep*, 12-e19669 (2020)
4. Hayashi S, Mori S, Suzuki T, Suzuki T, *Yoshihisa T. Impact of intron removal from tRNA genes on *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Res*, 47, 5936-5949 (2019)
5. *Yoshihisa T. Nucleocytoplasmic shuttling of tRNAs and implication of the cytosolic Hsp70 system in tRNA import. *Nucleus*, 6, 339-343 (2015)
6. Takano A, Kajita T, Mochizuki M, Endo T, *Yoshihisa T. Cytosolic Hsp70 and co-chaperones constitute a novel system for tRNA import into the nucleus. *eLife*, 4, e04659 (2015)
7. Song J, Tamura, Y, Yoshihisa T, *Endo T. A novel import route for an N-anchor mitochondrial outer membrane protein aided by the TIM23 complex. *EMBO Rep*, 15,670-677 (2014)
8. *Yoshihisa T. Handling tRNA introns, archaean way and eukaryotic way. *Front Genet*, 5, e00213 (2014)
9. Mori S, Kajita T, Endo T, *Yoshihisa T. The intron of tRNA-Trp_{CCA} is dispensable for growth and translation of *Saccharomyces cerevisiae*. *RNA*, 17, 1760-1769 (2011)
10. Takano A, Endo T, *Yoshihisa T. tRNA actively shuttles between the nucleus and cytosol in yeast. *Science*, 309, 140-142 (2005)



第22回日本蛋白質科学会年会ワークショップ 「細胞内タンパク質世界の新視点 - 翻訳から液 - 液相分離まで」

門倉 広

(東北大学 物質科学研究所 准教授)

2022年6月7日から9日にかけて、日本蛋白質科学会大会が「つくば国際会議場」で開かれ、本学術変革領域との共催で、表記ワークショップが開催された。まず、オーガナイザーであり、領域代表の田口さんが、本ワークショップの趣旨と概要について説明した。その後、公募班を中心とした、田口さん曰く、比較的若手の班員6名が発表をおこなった。

最初の講演者は田中良和さん(東北大・生命科学)。「ストップコドンリードスルーの分子機構解明」について講演した。一般的にはリボソームによって開始した翻訳は終止コドンで終結するが、終止コドンで翻訳が終結しない場合があることが分かってきた。これをリードスルーと呼ぶ。リードスルーを巧妙に利用した、翻訳制御や抗生物質の存在が明らかになりつつあり、リードスルーは生命現象としても興味深い。リードスルーの仕組みを解明するために、田中さん達はGFPのN末端領域に終止コドンを導入した。この系を利用すると、リードスルーは、GFPによる発光とタンパク質量の両方で確認できる。更に、リードスルー後のタンパク質を質量分析法で解析することによって、終止コドンに挿入されるアミノ酸を同定できる。田中さんたちは、このようなエレガントな系を開発し利用することによって、リードスルーが生じる条件について、これまで知られていなかった様々な知見を得ることに成功した。今後、これらの情報をもとに、リードスルーに関わる反応中間体の構造を明らかにすることによって、リードスルーの分子機構を理解する上で極めて多くの情報が得られるはずである。更に、このような解析から、将来的には、終止コドンの挿入に起因する遺伝子疾患の病態の改善に資する手法が見つかる可能性がある。

次に講演した茶谷悠平さん(東工大・生命理工)は、一つのゲノムから、発現できるタンパク質のレパートリーを、増やすための巧妙な仕組みについて、報告した。興味深いことに、T4バクテリオファージのgene 60の翻訳では、翻訳途上のリボソームが、途中のmRNAを読み飛ばし、下流のORFから翻訳を再開する。その結果、驚くべきことに2つのORFから一本のポリペプチド鎖が合成される。この事象はribosome hoppingと名付けられ、以前から知られていたが、そのメカニズムは不明であった。茶谷さんらは、ribosome hoppingに必要な条件を詳しく解析した。その結果、上流のORFのC末端近傍に存在する負電荷のクラスターによって、リボソームの複合体が不安定化することが重要で、その直後に存在するグリシンの位置でリボソームがtake offすることを見出した。更に、このような特徴を持つ配列は、T4バクテリオファージだけでなく、バクテリアのゲノムに多数存在することも明らかにした。よって、同様のメカニズムを用いたタンパク質の発現は、バクテリアに広く存在していることが強く示唆された。



ワークショップ会場にて(左から、藤岡さん、町田さん、著者、田中さん、松本さん、田口さん、茶谷さん)

この、現象についてはまだ多くのことが不明である。なぜ、通常の翻訳ではなく、このようなribosome hoppingを介してタンパク質をつくる必要があるのかなど、未知の重要な問題が残されており、今後、新しいタンパク質の発現制御の形が見えてくるのではないかと感じた。

3番目に、町田幸大さん(兵

兵庫県立大・工・応用化学)が「非典型翻訳の試験管内再構成とそのメカニズムの解明」について発表した。ポリグルタミン病は、遺伝子内のグルタミンをコードするCAGの繰り返し数が増加したために起こる神経変性疾患である。繰り返し回数が40回以上になると、タンパク質の構造が不安定になり凝集体を形成しやすくなる。その結果として神経毒性が生じる。近年、ポリグルタミン病の1つであるハンチントン病の患者の脳では、ポリグルタミンの他、ポリセリンやポリアラニンなどの凝集も認められることが分かってきた。なかでも、ポリアラニンの毒性が極めて高く、その生成メカニズムを理解することは、病態を改善するための方策を考える上でも重要である。さて、CAGリピートの読み枠が、1塩基ずれるとポリセリンが、2塩基ずれるとポリアラニンが生成する。よって、患者の脳内ではCAGリピートの翻訳時に読み枠がずれて読まれている可能性がある。町田さんらは、このような非典型的翻訳が実際に起こりうることを、独自に開発したヒト因子由来の試験管内再構成系で、示すことに成功した。更に、そのような誤翻訳を促進し得る生体物質を特定することにも成功した。このような解析から、毒性の高い翻訳産物が生成するメカニズムが見えてきた。

次に、著者(門倉)が、「小胞体におけるマルチドメインタンパク質の翻訳と共役した折りたたみを促進する仕組み」について、紹介。ヒト全タンパク質の半数以上はマルチドメインタンパク質である。試験管内の折り畳み実験ではこのようなタンパク質はドメイン間の相互作用によって凝集しやすいが、生体内では効率よく折りたたまれる。従って、細胞内で進行するマルチドメインタンパク質の折り畳みには、各ドメインの効率良い立体構造形成を促進するための、未同定の様々な仕組みが隠されていると予想される。しかし、細胞内で進行する翻訳途上鎖の折り畳みを調べるための良い評価系がなかったため、その実態は不明瞭だった。門倉さんは、ヒト細胞の小胞体内に送り込まれてくる翻訳途上のマルチドメインタンパク質LDL受容体(LDLR)に、ジスルフィド結合が導入され、正しい立体構造形成に折り畳まれていく過程を可視化する系の構築に成功した。この系を使った解析から、本タンパク質の上流ドメインの折り畳みは、遙か下流に存在する、 β プロペラドメイン内の特定配列に依存すること、および後者の配列は翻訳途上で一過的に働くことを示唆する知見を得た。これは、マルチドメインタンパク質の折り畳みの常識を覆す発見である。その仕組みの詳細や、取ってこのような方法を使う必然性は何かなど、今後の地道な解析から明らかになると期待される。

5番目には、松本俊介さん(九大院・農・生化)が「ミトコンドリア外膜に誤配送されたテイルアンカー型タンパク質の配送校正機構」について講演した。酵母Msp1はミトコンドリア外膜に存在するAAA型ATPアーゼである。松本さんらは、Msp1は、小胞体からミトコンドリアへと誤配送されたテイルアンカー型タンパク質をミトコンドリア外膜から引き抜くことによって、配送のやり直しを可能にする役割を担っていることを示している。今回、松本さんらは、顕微鏡とプロテインノックダウン技術を駆使することによって、一旦、ミトコンドリアへと誤配送されたテイルアンカータンパク質がその後、小胞体へと輸送される様子をリアルタイムで可視化することに成功した。この系を用いた解析によって、Msp1の働きに依存してミトコンドリア外膜から引き抜かれたタンパク質は、迅速に小胞体へと輸送されることを示した。更に、この過程に働く因子を同定することにも成功した。よって、誤配送されたタンパク質を膜から引き抜いた後、正しいオルガネラへと効率よく輸送する仕組みが細胞に備わっていることが明確に示された。

6番目に藤岡優子さん(北大・遺制研)が「オートファジーにおける液-液相分離の機能」について発表した。均一な溶液が複数の液相に分離することを液-液相分離と呼ぶ。その際、タンパク質などの濃度の高い部分は、液滴と呼ばれる球体を形成する。この時、特定の化学反応に関与する分子群が液滴に集合すれば、濃縮効果によって反応が効率よく進むと期待される。一般に、液滴を形成するタンパク質は分子内に天然変性領域をもつ。藤岡さんは、ある時、それまでに自らが構造決定したオートファジー関連タンパク質も、分子内に天然変性領域を持つことから、液滴形成タンパク質と共通する特質を持つことに気付いた。このことが端緒となり、分解すべき対象を包み込む隔離膜の形成に先立って作られる構造体(PAS)が液滴そのものであることを発見したという。更に、初期のPASの液滴に下流のタンパク質を導入する実験から、特定のタンパク質のみが優先的に液滴に取り込まれること、およびこのことが後期PASの効率良い形成を可能にしていることも見出した。つまり、液滴(液滴内のタンパク質やその他の分子)は、欲しい物を必要な時に、自身のつくる反応場に取り込んで、自らが担当する反応を効率化していることが判明した。多数の因子からなる構造体を形成するためには、時空間的に制御された、秩序だったタンパク質間の相互作用が必要になると予想されるが、そのために液滴の特質が巧妙に利用されていることを示

す、興味深い発表だった。

新たな発見や技術革新によって、これまで見えてこなかったタンパク質の新たな面が続々と分かってきているが、それを目の当たりにすることができる、極めて有意義なワークショップだった。コロナ禍で、長い期間、対面での議論が難しい状況が続いていたが、今回、幸いにも一般聴衆の方々や関係者と、対面で深い議論を交わすことができ、得ることが大きかった。このような機会を作ってくださった田口さんに感謝致します。

著者紹介など

門倉 広 (かどくら ひろし)

略歴：1990年東京大学大学院農学系研究科博士課程修了、同年同大学助手、2000年ハーバード大学医学部 Visiting Assistant Professor、2002年同大学 Instructor、2008年奈良先端科学技術大学院大学国際リサーチフェロー・博士研究員、2013年東北大学物質科学研究所准教授、現在に至る

研究テーマ：細胞内で進行するタンパク質の折り畳み機構、特に分泌タンパク質が作られる仕組み

抱負：まだ、手がつけられていないが、重要だと信じる問題に、独自の手法で取り組んでいきたい



Meeting Report 2

第60回日本生物物理学会年会シンポジウム 「マルチファセット・プロテインズへの生物物理アプローチ」

山本 詠士

(慶應義塾大学 理工学部システムデザイン工学科 専任講師)

2022年9月28日から30日にかけて、日本生物物理学会年会が「函館アリーナ・函館市民会館」で開催された。本学術変革領域との共催による表記シンポジウムにおいて6名が発表した。

最初の講演者は小林穂高さん (JST さきがけ、東京大・定量生命科学研)。「mRNAの翻訳制御を1分子解像度で in situ イメージングする」について講演した。mRNAの翻訳は多様なRNA結合タンパク質 (RBP) によって制御されているが、こうした過程はこれまで生化学的に試験管内で解析が行われてきた。こうした解析手法は、翻訳制御の機序を明らかにする上で非常に強力であるものの、翻訳制御が細胞内において「いつ・どこで」起こるのかといった時空間的な側面には迫れない。こうした翻訳制御の未開拓な側面に光をあてるべく、小林さんは細胞内の mRNA・新生ペプチド・RBP を1分子感度で in situ イメージングすることで、翻訳制御の時空間解析を可能にする新しい技術を開発した。本発表では、この技術の基本的な原理に関する説明と共に、この技術により明らかになった翻訳制御の新しい知見について紹介された。なお、小林さんは本学会若手奨励賞選考会での発表により「若手奨励賞」、「IUPAB award」を受賞された。

次に講演した桜庭俊さん (量科研) は、「SARS-CoV-2 nsp1は宿主翻訳系をどう乗っ取るのか?」というタイトルで、ウイルスの持つ巧妙な翻訳制御の仕組みについて報告した。SARS-CoV-2ウイルスは nsp1 と呼ばれる小さなタンパク質を持つが、nsp1は宿主由来の mRNA の翻訳をブロックしつつ、自分自身の RNA は選択的に翻訳させることで、効率的に宿主細胞を乗っ取ることができる。この翻訳のブロックは nsp1 の C 末端領域が 40S リボソームの mRNA 入り口を塞ぐことで実施されていること、また nsp1 が RNA の 5'-末端にあるステムループを認識していることは知られていたが、どのように nsp1 が宿主と自分を区別するかの仕組みはよく分かっていなかっ

た。桜庭さんらは、生体分子シミュレーションでnsp1とステムループのシミュレーションを行い、その機構の解明に取り組んだ。シミュレーション結果から、nsp1とステムループは結合するものの、堅い結合構造を持たないことが分かった。Nsp1は主にステムループのループ部分と結合しており、かつ天然変性領域が結



ワークショップ会場にて(左から、桜庭さん、山形さん、小林さん、田口さん、太田さん、渡邊さん、著者、山内さん)

合に大きく関与することが示された。桜庭さんらは天然変性領域とステムループとのゆるやかな結合により、nsp1のC末端領域が物理的に引っ張られてブロックが外れるモデルを提示しているが、まだnsp1の機構については謎な点も多く、今後の詳しい解明やそれを狙った治療法の開発が待たれる状況である。ウイルス類はホストの翻訳系を乗っ取る必要性から特異な翻訳や発現制御の機構を持つことが多く、SARS-CoV-2以外のウイルスでもまだ未解明の多様なタンパク質の発現機構が存在することが期待される。

3番目に、山形敦史さん(理研・BDR)が「神経変性疾患を引き起こすアミロイド線維のクライオ電顕解析」について発表した。アルツハイマー病(AD)やパーキンソン病、ALSといった神経変性疾患は構造異常タンパク質の凝集体がアミロイド線維を形成することによって引き起こされる。山形さんらは家族性AD変異を持ったアミロイドβの線維構造のクライオ電子顕微鏡による高分解能構造解析に成功した。クライオ電顕による具体的な解析手法に加えて、SEMを用いた線維の手系の決定について紹介した。アミロイド線維の構造研究において、試験管内再構成された線維構造と脳内で形成された線維構造が異なる例が明らかとなっている。アミロイド線維による病態機構を解明するためには、脳から抽出したアミロイド線維を用いた研究が必要である。山形さんらはADモデルマウス脳からアミロイド線維を抽出し、クライオ電顕によって線維構造を確認することに成功した。さらに、細胞内のアミロイド線維構造の解析への取り組みとして、本学術変革領域の田口さんらとの共同研究による酵母プリオンのCLEMでの観察やcryo-FIBによるラメラ加工が短いながらも紹介された。今後、これらの解析が進むことによりアミロイド線維の構造と病態との関連が明らかになっていくと期待される。

4番目に、山内駿さん(東大・院理・生科)がポスター発表からのピックアップで「新規遺伝子の誕生と機能獲得の進化メカニズムに迫るゲノム計算科学」について講演した。近年、進化ゲノミクス分野では、新たな遺伝子が祖先遺伝子の存在なしに生じること(*de novo* 遺伝子誕生)が明らかになってきており、「遺伝子はどのようにして誕生するのか、遺伝子とは何なのか」を再考する鍵として注目を集めている。しかし、先行研究は*de novo* 遺伝子の特定や進化履歴の記述などに注目しており、*de novo* 遺伝子が機能をどのように進化させるかについてはよくわかっていなかった。そこで、山内さんらは、出芽酵母やショウジョウバエのゲノムを対象に、遺伝子外の配列がどれだけ潜在的な機能を持っているかを体系的に評価するパイオインフォマティクス解析を行った。具体的には、既知の機能モチーフに類似した配列を網羅的に探索することで、遺伝子間領域や既存遺伝子の「別読み枠」に有意に多くのモチーフが存在することや、こうした既知モチーフ類似配列は種間ではほとんど保存されておらず、急速に生成消滅を繰り返していることも明らかにした。山内さんらはこうした結果を受け、ゲノムは機能の素を「プール」しており、それらがマイクロ進化の時間スケールでの一時的な適応に寄与しているのではないかと考えているとのことである。今後の解析により、このような進化の実例が示されるとともに、遺伝子誕生の法則性が明らかになることが期待される。なお、山内さんは本発表により「学生発表賞」を受賞された。

5番目に山本詠士(著者)が「Multifaceted view of protein diffusion」について発表した。通常、溶液中でのトレーサー粒子の拡散性は、粒子半径、液体の粘性、温度によって決まる。これはストークス・アインシュタインの式として知られ、色々な形、大きさをもつタンパク質の拡散性も、温度や粘性が同じであれば、タンパク質の平均的な大きさによって決まる。しかし、タンパク質の大きさは、周りの環境にも依存し、時々刻々と変化している。著

者らは希薄溶液中のタンパク質の長時間の分子動力学シミュレーションを行い、拡散係数の時間変化を推定する手法を用いることで、時間経過とともに変化する瞬間的な拡散係数の大きさがタンパク質の大きさの逆数に比例するというストークス・アインシュタインの式を拡張した関係性を見出した。また、相分離によって形成された非膜性構造体内部においても、タンパク質構造のゆらぎがタンパク質の拡散性に影響を与えることを明らかにした。今後、周りの環境に応じて変化するタンパク質構造と拡散性が生体反応などの制御や細胞機能の維持において果たす役割の解明が期待される。

6番目に渡邊力也さん(理研・CPR)が「Single molecule analysis of biomolecules and its applications: 生体分子の1分子計測とその応用」について発表した。渡邊さんは膜たんぱく質の1分子生物物理学を専門とするが、近年、それら基礎研究で開発した1分子計測技術の実用化研究も併せて推進している。本シンポジウムでは、マイクロチップを利用したCRISPR-Cas13aの1分子計測技術の開発から、新型コロナウイルスの非増幅・迅速検出への展開まで、基礎から応用に至る最新の成果を紹介した。新型コロナウイルスの感染症診断においては、PCR検査法がgold standardとなるが、ウイルス遺伝子をRT-qPCRにより増幅する必要があるため、その検出に1時間程度かかる。渡邊が今回開発したSATORI法は、マイクロチップを利用したCRISPR-Cas13aの1分子計測技術であり、ウイルス遺伝子と結合することで活性化するCas13aの性質を利用して、サンプル中のウイルス遺伝子を増幅せずとも1分子単位で検出することが可能となる。これまでに、1) 検出の全自動化、2) 世界最速の検出速度、3) PCRと同等かそれ以上の検出感度を実現しており、将来の感染症診断技術としての実用化が期待される成果であった。

本シンポジウムでは、実験からシミュレーションまで、新規で幅広いアプローチにより、タンパク質に関する新たな発見があった。今回、コロナ禍で3年ぶりに現地とオンラインによるハイブリッド開催となった。長い期間、対面での議論が難しい状況が続いていたが、徐々に生物物理学会の熱気を感じ、対面で深い議論を交わすことができた。このような機会を作ってくださったオーガナイザーの渡邊さん、太田さん、また領域代表の田口さんに感謝致します。

著者紹介など

山本 詠士 (やまもと えいじ)

慶應義塾大学理工学部システムデザイン工学科 専任講師

略歴：2016年慶應義塾大学大学院理工学研究科後期博士課程修了。同年より同大学院理工学研究科の特任助教、2018年より同大学理工学部の助教を経て、2021年より現職。

研究テーマ：分子動力学計算法を用いたタンパク質や生体膜の研究



Meeting Report 3

2022年度 マルチファセットプロテインズ・若手ワークショップ

三輪 つくみ

(東京工業大学 科学技術創成研究院 研究員)

マルチファセットプロテインズ初のオンサイト領域会議が開催される前日の2022年12月6日、一足先にマルチファセットプロテインズ初のオンサイト若手ワークショップが開催された。参加者は54名、うち約6割が学部生も含めた

学生さん達という非常にフレッシュな会となった。また同領域内の若手同士での半日かけた交流は、年齢を問わず多くの参加者にとって新鮮な機会となったのではないだろうか。

領域始動後初の若手ワークショップをどのような形にしたものか。企画は3月末から始動していた。

「これって…どうすればいいんですかね」

初回の企画会議はこのような言葉で始まったことを記憶している。心許ない私に加え、企画段階では千葉班の高田 啓さん

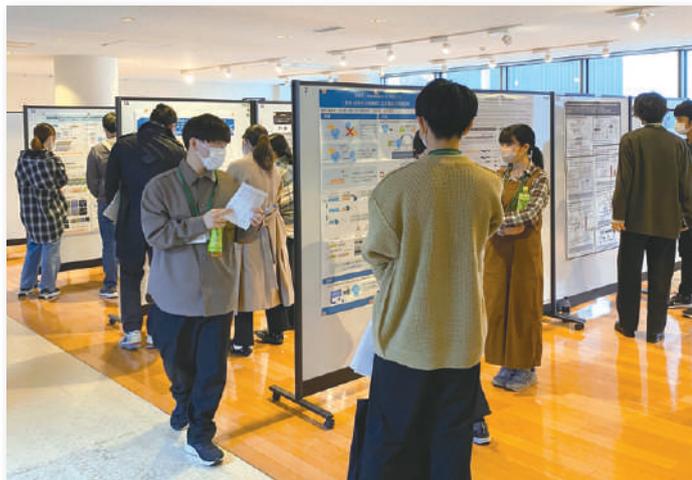
と藤原 圭吾さん、遠藤班の小野 鈴花さん、九大松本班の市原 知哉さんという心強いメンバーで、コロナ禍、一日限りという制限のある中で交流について何度も何度も打ち合わせを行った。

初のワークショップということもあり、講演、発表という定番の内容に加え、発表セッションの前にはお互いの研究室の事を知るための研究室紹介コーナーを設けることにした。

時間は5分、内容は各ラボにお任せという形式で試みたところ、ある紹介では織り交ぜられた冗談に笑いが巻き起こり、またある紹介ではラボ立ち上げにまつわる苦労に惻隱のため息が起こりと、各ラボそれぞれが色濃く印象に残る、楽しいセッションとなった。発表セッションの理解を深めるためのイントロダクション代わりにと設けてみた研究室紹介だったが、発表前の良いアイスブレイクにもなってくれたようである。

次いで設けた発表セッションは限られた時間でより多くの人に発表を、という方針でポスター形式を採用した。参加者の7割にも及ぶ37名が、前後に分かれて発表を行った。学会のポスター発表では、オーディエンスが集まらず、ぼつねんと持ち時間を持って余すこともままある。しかし今回のワークショップでは前後どちらのセッションも活気に溢れ、会場全体が終了時間まで議論の声でがやがやと賑わっていた。若手同士ということもあってかポスターセッション初参加の学生さんも臆することなく意見を交わせたようで、後にラボの学生にインタビューしてみたところ「こんな話をした」「こんな意見をもらった」と有意義かつ楽しく発表できたようである。

ワークショップのオープニングと締めには岩川先生、田口先生をお招きして講演をしていただいた。先生方には研究の話だけでなく若手に向けてメッセージをということで、キャリアにまつわるお話もしていただいた。先生方のお自から進路選択、現在の研究に至るまでの経緯など、滅多に聞くことのできない先生方の人生のお話に参加者も大いに聞き入り、質疑応答セッションでは参加者からの質問が絶えず飛び交った。私は司会進行として質問を盛



ポスター発表の様子



集合写真

り上げねばと秘かに意気込んでいたのだが、そんな杞憂は必要ない程の盛り上がりとなった。

半日という短い時間にタイトにプログラムを詰め込んだ本ワークショップだったが、その分お互いの研究室を知り、研究を知り、意見を交わし合う密な時間を過ごせたのではないと思う。今回の交流が若手同士の今後の交流の足掛かりとなってくれたらいいなあと、切に思うところである。

「これって…どうすればいいんですかね」

初のワークショップ主催が終わりホッと一息ついたとき、ボスの田口先生からニュースレターに載せるレポート執筆を頼まれた。このレポートもまた心許ないながらも手探りで書いてみたものだが、ワークショップに参加していない方にもどのような会だったのかが伝われば幸いである。

最後に、共に頭をひねってくださった企画担当の皆さん、会場セッティングをしてくださった渡邊班の皆さん、当日お手伝いしてくれた田口班の学生さん達、それから活気ある会にしてくださった参加者の皆さんにお礼を述べて、このレポートを締めたいと思う。

著者紹介など

三輪 つくみ (みわ つくみ)

略歴：2020年東京工業大学大学院生命理工学院生命理工学コース博士後期課程修了、同年同大学科学技術創成研究院研究員、現在に至る。

研究テーマ：大腸菌低分子量熱ショックタンパク質の翻訳制御因子としての機能解析



Meeting Report 4

第3回領域班会議

町田 幸大

(兵庫県立大学 工学研究科 准教授)

2022年12月7日から8日の2日間、和光市の理化学研究所、鈴木梅太郎記念ホールにて『マルチファセットプロテインズ-拡大し変容するタンパク質世界-』が立ち上がって以来初となるオンサイトの領域会議が開催された。コロナ禍にあり第1回、第2回と領域会議はウェブミーティングで実施されてきたが第3回目にしてようやく計画班員と公募班員がリアルで集まったことになる。著者にとっては久しぶりの現地開催の学会で、各演者が壇上で発表し質疑応答に答える姿を見て感じていたことは、やはりオンサイトの方が、やりやすいし、伝わるし、活発な意見交換の場にな



るな、ということである。また、休憩時間には演者を捕まえてサクッと討論の続きや雑談ができるし、マスク越しではあるが、ようやく顔を突き合わせた本来の会議ができるような状況に戻ってきたな、ということを楽しんだ。

一日目の最後にはポスター討

論も企画されており、討論前のフラッシュトークで予め全てのポスター内容にある程度把握できたことも良かった。各研究グループ代表の口頭発表がメインだったためポスター件数は多くは無かったが、終了予定時刻を過ぎても議論が尽きないほど盛況だった。それくらい質の高い討論に参加している学生さん達が出来ていることが、この領域が若手の育成にも貢献していることの表れだと感じた。若手の育成に関して付け加えると、本会議の前日に若手ワークショップが開催されており、そちらの方は50件を超えるポスターで、むしろ本会議よりも盛況だったのでは?という話を、若手の会を主催した田口研のメンバーから聞いたので、公募班の私に次回があれば学生を伴いそちらにも参加してみようと思った。



今回はクローズドの会で未発表データも多く、各員の研究内容の詳細を紹介することはしないが（既に発表済の論文や今後発表される成果で確認していただきたいが）、3回目の会議ということもあり、計画班員、公募班員を問わず、新しい発見に基づく成果が報告されていた。どの成果も、本領域の課題である『タンパク質世界の新たな一面を切り拓く』もので、教科書に書かれた内容がアップデートされていく報告を目の当たりにし、研究者としての視野が広がる刺激的な会議だった。また領域内での共同研究の成果も多数報告されており、各員の研究の深さや幅が広がっている様子が垣間見えたことも印象深かった。具体的には公募班：七野さんのリボソームプロファイリング技術とコラボレーションした成果が最も多く報告されており、リボソームプロファイリングが本領域を支える基幹的な技術になっていると感じた次第である。著者も独自開発したヒトPUREシステム（ヒトの翻訳関連因子のみをエッペンチューブ内で混合した再構成型の無細胞タンパク質合成系）を班員に提供することで本領域の発展に貢献したことをこの場を借りて宣伝しておきたい。

最後に、本領域は計画班員のベテランと若手を中心に、ウェット研究からドライ研究までバランスよく構成されており、公募班員も合わせて研究内容と世代がうまく融合している集まりだと思う。班員それぞれが持つ独自の技術をさらに発展させたり、お互いに組み合わせたりして得られる成果は、これまで生化学や分子生物学の教科書に書かれていた内容を書き換える必要があるほどのインパクトがあるものばかりであり、まさに学術変革の名にふさわしい領域であると感じた。今後、新たな公募班員が加わり、本領域がますます活性化されていくものと期待される。

著者紹介など

町田 幸大（まちだ こうだい）

略歴：2009年鳥取大学大学院医学系研究科博士後期課程修了、同年兵庫県立大学大学院工学研究科助教、2020年同大学工学研究科准教授、現在に至る。

研究テーマ：ヒトの細胞機能を試験管内で再構成した人工細胞システムの樹立とその応用。



第3回領域会議写真

Schedule/Information

Information : 活動記録

- 日本プロテオーム学会 (JPrOS2021) シンポジウム
2021年7月19日(月)~21日(水) オンライン
座長: 松本 雅記(新潟大学)、田口 英樹(東京工業大学)
- 第1回 領域会議
2021年10月29日(金) オンライン
世話人: 松本 有樹修(九州大学)
- 第94回 日本生化学会大会シンポジウム
2021年11月3日(水・祝)~5日(金) オンライン
オーガナイザー: 田口 英樹(東京工業大学)、永井 義隆(近畿大学)
- 第15回 日本臨床ストレス応答学会大会
2021年11月19日(金)~20日(土) 大阪大学
オーガナイザー: 田口 英樹(東京工業大学)、永井 義隆(近畿大学)
- 第2回 領域会議
2022年3月14日(月) オンライン
世話人: 渡邊 力也(理研)
- 蛋白質科学会ワークショップ
(細胞内タンパク質世界の新視点-翻訳から液-液相分離まで)
2022年6月9日(木) つくば
オーガナイザー: 田口 英樹(東京工業大学)
- 生物物理学会シンポジウム
「マルチファセット・プロテインズへの生物物理アプローチ」
2022年9月28日(水)~30日(金) 函館
オーガナイザー: 渡邊 力也(理研)、太田 元規(名古屋大学)
- 若手ワークショップ
2022年12月6日(火) 理研和光
世話人: 三輪 つくみ(東京工業大学)
- 第3回 領域会議
2022年12月7日(水)~8日(木) 理研和光
世話人: 渡邊 力也(理研)

Schedule : 今後の予定

- 蛋白質科学会年会WS「多面的メガ生命動態の世界」
2022年7月5日(火)~7日(木) 名古屋
オーガナイザー: 千葉 志信(京都産業大学)、野澤 佳世(東京工業大学)

Lunch on Seminar : マルチファセットプロテインズ・ランチオンセミナー

- 第1回 「未開拓プロテオーム研究を支える基盤技術: 質量分析」
2021年11月29日(月) オンライン
松本 雅紀(新潟大学)
- 第2回 「AlfaFoldと天然変性領域予測」
2022年1月31日(月) オンライン
太田 元規(名古屋大学)
- 第3回 「リボソームプロファイリング (Ribo-seq) の発展と応用」
2022年3月28日(月) オンライン
松本 有樹修(九州大学)、七野 悠一(理研)
- 第4回 「マイクロチップを用いた1分子計測とその応用」
2022年6月27日(月) オンライン
渡邊 力也(理研)
- 第5回 「神経変性疾患におけるリピート関連AUG非依存性翻訳 (RAN翻訳)」
2022年10月24日(月) オンライン
永井 義隆(近畿大学)
- 第6回 「翻訳アレストを応用したタンパク質動態解析」
2022年12月20日(火) オンライン
千葉 志信(京都産業大学)

画像生成AIでの「マルチファセットプロテインズ」など

巻頭言で機械学習の進展について触れたが、今回は画像生成AIを使ってこのニュースレターの表紙を作成してみた。OpenAI社が開発したDALL・E2というツールを使用し、作成したいイメージを言語化してプロンプト（呪文）を投げる。すると、ものの1分ほどでいくつかの画像を作成してくれる。本領域に合致した画像ということで、次のような呪文を投げて生成されたイラストの一つが表紙である。

A Magritte-like oil painting of Multifaceted Protein worlds: Expanding and Transformative Protein World.

どこがマルチファセットプロテイン的なのかわかったようでわからないが、驚くほどレベルの高い絵が多数出てくるのに驚いた。他にも捨てがたい画像がたくさんあるのでいくつかはここに載せてみたい。

エッシャーのだまし絵、ダリ、ピカソ、マグリット、ゴッホ、印象派的・・・とか面白くてつい時間を忘れて没頭してしまった。マルチファセット・プロテインズ・・・などという学習データにありえない用語だけでなく、もう少しあちこちに出てきそうな「分子シャペロン」、「細胞内でのタンパク質恒常性」なども試したりしても唸らされる絵が生成された。

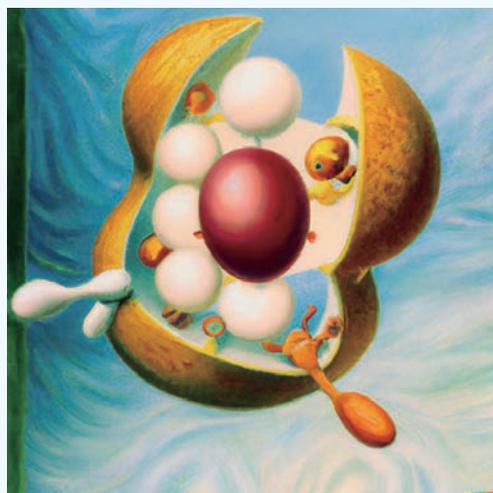
DALL・E2だけでなく、Stable Diffusionなど類似のツールもレベルが高い。著作権などもなく、自由に使えるようだ。みなさんもぜひお試しあれ。（田口 英樹）



エッシャーのだまし絵的な「マルチファセット・プロテインズ」



ピカソ的な「分子シャペロン」



ダリ的な「細胞内のタンパク質の恒常性」

Recent Publications

田口 英樹 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター 教授)

*Chiba S, Fujiwara K, Chadani Y, *Taguchi H. Nascent chain-mediated translation regulation in bacteria: translation arrest and intrinsic ribosome destabilization. *J. Biochemistry in press*

Yamakawa A, *Niwa T, *Chadani Y, Akinao Kobo, *Taguchi H. A method to enrich polypeptidyl-tRNAs to capture snapshots of translation in the cell. *Nucleic Acid Res* (2022) in press.

Ito Y, *Chadani Y, Niwa T, Yamakawa A, Machida K, Imataka H, *Taguchi H. Nascent peptide-induced translation discontinuation in eukaryotes impacts biased amino acid usage in proteomes. *Nat Commun* 13 (1), 7451 (2022) doi: 10.1038/s41467-022-35156-x.

Onodera H, Niwa T, *Taguchi H, *Chadani Y. Novel trans-translation-associated gene regulation mechanism revealed by prophage excision-triggered switching of ribosome rescue pathways. *Mol Microbiol* (2022) doi: 10.1111/mmi.15003.

Niwa T, Nakazawa K, Hoshi K, Tadakuma H, Ito K, *Taguchi H. Application of fluorescence correlation spectroscopy to investigate the dynamics of a ribosome-associated trigger factor in *Escherichia coli*. *Front Mol Biosci* 25, 9, 891128 (2022) doi: 10.3389/fmolb.2022.891128. eCollection 2022.

Niwa T, Chadani Y, *Taguchi H. Shotgun proteomics revealed preferential degradation of misfolded in vivo obligate GroE substrates by Lon protease in *Escherichia coli*. *Molecules* 27, 3772 (2022) doi: 10.3390/molecules27123772

Fujita T, Yokoyama T, Shirouzu M, *Taguchi H, Ito T, *Iwasaki S. The landscape of translational stall sites in bacteria revealed by monosome and disome profiling. *RNA* 28(3), 290-302 (2022) doi: 10.1261/ma.078188.120

Nakagawa Y, Shen H C-H, Komi Y, Sugiyama S, Kurinamaru T, Tomabechi Y, Krayukhina E, Okamoto K, Yokoyama T, Shirouzu M, Uchiyama S, Inaba M, Niwa T, Sako Y, *Taguchi H, *Tanaka M. Amyloid conformation-dependent disaggregation in a reconstituted yeast prion system. *Nat Chem Biol* 321-331 (2022) doi: 10.1038/s41589-021-00951-y

*Chadani Y, Sugata N, Niwa T, Ito Y, Iwasaki S, *Taguchi H. Nascent polypeptide within the exit tunnel stabilizes the ribosome to counteract risky translation. *EMBO J* 20, e108299 (2021) doi: 10.15252/emboj.2021108299

千葉 志信 (京都産業大学 生命科学部 教授)

*Chiba S, Fujiwara K, Chadani Y, *Taguchi H. Nascent chain-mediated translation regulation in bacteria: translation arrest and intrinsic ribosome destabilization. *J. Biochemistry in press*

内藤 哲 (北海道大学大学院農学研究院 研究員)

Hiragori Y, Takahashi H, Karino T, Kaido A, Hayashi N, Sasaki S, Nakao K, Motomura T, Yamashita Y, Naito S and Onouchi H. Genome-wide identification of Arabidopsis non-AUG-initiated upstream ORFs with evolutionarily conserved regulatory sequences that control protein expression levels. *Plant Mol. Biol.* (2022) Online ahead of print. doi: 10.1007/s11103-022-01309-1.

Sotta N¹, Chiba Y, Aoyama H, Takamatsu S, Suzuki T, Miwa K, Yamashita Y, Naito S² and Fujiwara T¹. Translational Landscape of a C4 Plant, Sorghum bicolor, Under Normal and Sulfur-Deficient Conditions. *Plant Cell Physiol.* 63, 592-604 (2022) doi: 10.1093/pcp/pcac023.

Sotta N, Chiba Y, Miwa K, Takamatsu S, Tanaka M, Yamashita Y, Naito S² and Fujiwara T¹. Global analysis of boron-induced ribosome stalling reveals its effects on translation termination and unique regulation by AUG-stops in Arabidopsis shoots. *Plant J.* 106:1455-1467 (2021). doi: 10.1111/tpj.15248.

永井 義隆 (近畿大学 医学部 脳神経内科 教授)

*Nagai Y. How repeat sequences alter host protein structure. *Mol. Cell in press*

Taminato T, *Takeuchi T, Ueyama M, Mori K, Ikeda M, Mochizuki H, *Nagai Y. Therapeutic reduction of GGGGCC repeat RNA levels by hnRNP A3 suppresses neurodegeneration in Drosophila models of C9orf72-linked ALS/FTD. *Hum. Mol. Genet. in press*

Hatanaka Y, Umeda T, Shigemori K, Takeuchi T, Nagai Y, Tomiyama T. C9orf72 hexanucleotide repeat expansion-related neuropathology is attenuated by nasal rifampicin in mice. *Biomedicines* 10(5), 1080 (2022) doi: 10.3390/biomedicines10051080

Abdelhamid R.F, Ogawa K, Beck G, Ikenaka K, Takeuchi E, Yasumizu Y, Jinno J, Kimura Y, Baba K, Nagai Y, Okada Y, Saito Y, Murayama S, Mochizuki H, Nagano S. piRNA/PIWI protein complex as potential biomarkers in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Mol. Neurobiol.* 59(3),1693-1705 (2022) doi: 10.1007/s12035-021-02686-2

Hideshima M, Kimura Y, Takeuchi T, Kakuda K, Choong C.J, Aguirre C, Yamaguchi K, Nakajima K, Nabekura K, Baba K, Nagano S, Goto Y, Nagai Y, Mochizuki H, Ikenaka K. Two-step screening method to identify α -synuclein aggregation inhibitors for Parkinson's disease. *Sci. Rep.* 12(1), 351 (2022) doi: 10.1038/s41598-021-04131-9

Ishiguro A, Lu J, Ozawa D, Nagai Y, Ishihama A. ALS-linked FUS mutations dysregulate G-quadruplex-dependent liquid-liquid phase separation and liquid-to-solid transition. *J. Biol. Chem.* 297(5), 101284 (2021) doi: 10.1016/j.jbc.2021.101284

Mori K, Gotoh S, Yamashita T, Uozumi R, Kawabe Y, Tagami S, Kamp F, Nuscher B, Edbauer D, Haass C, Nagai Y, Ikeda M. TMPyP4 inhibits elongation during the non-canonical translation of the GGGGCC repeat in C9orf72 FTD/ALS. *J. Biol. Chem.* 297(4), 101120 (2021) doi: 10.1016/j.jbc.2021.101120

Oura S, Noda T, Morimura N, Hitoshi S, Nishimasu H, Nagai Y, Nureki O, *Ikawa M.

Precise CAG repeat contraction in a Huntington's Disease mouse model is enabled by gene editing with SpCas9-NG. *Commun. Biol.* 4(1), 771 (2021) doi: 10.1038/s42003-021-02304-w

森 康治 (大阪大学大学院医学系研究科 精神医学 助教)

Taminato T, Takeuchi T, Ueyama M, Mori K, Ikeda M, Mochizuki H, Nagai Y. Therapeutic reduction of GGGGCC repeat RNA levels by hnRNP A3 suppresses neurodegeneration in Drosophila models of C9orf72-linked ALS/FTD. *Human Molecular Genetics in press*

Mori K, Gotoh S, Uozumi R, Miyamoto T, Akamine S, Kawabe Y, Tagami S, Ikeda M. RNA dysmetabolism and repeat associated non-AUG translation in Frontotemporal Lobar Degeneration/Amyotrophic Lateral Sclerosis due to C9orf72 hexanucleotide repeat expansion. *JMA Journal in press*

Mori K, Ikeda M. Biological basis and psychiatric symptoms in frontotemporal dementia. *Psychiatry and Clinical Neuroscience* 76, 351-360 (2022)

Czuppa M, Dhingra A, Zhou Q, Schludi C, König L, Scharf E, Farny D, Dalmia A, Täger J, Castillo-Lizardo M, Katona E, Mori K, Aumer T, Schelter F, Müller M, Carell T, Kallioikoski T, Messinger J, Rizzu P, Heutink P, Edbauer D. Drug screen in iPSC-Neurons identifies nucleoside analogs as inhibitors of (G4C2)n expression in C9orf72 ALS/FTD. *Cell Reports* 39, 1110913 (2022)

Mori K, Gotoh S, Yamashita T, Uozumi R, Kawabe Y, Tagami S, Kamp F, Nuscher B, Edbauer D, Haass C, Nagai Y, Ikeda M. The porphyrin TMPyP4 inhibits elongation during the non-canonical translation of the FTD/ALS-associated GGGGCC repeat in the C9orf72 gene. *Journal of Biological Chemistry* 297(4) 101120, 2021

Kawabe Y, Mori K, Yamashita T, Gotoh S, Ikeda M. The RNA exosome complex degrades expanded hexanucleotide repeat RNA in C9orf72 FTD/ALS. *The EMBO Journal* 39(19), e102700 (2020)

松本 有樹修 (九州大学 生体防御医学研究所 准教授)

Ichihara K, Nakayama KI, *Matsumoto A. Identification of unannotated coding sequences and their physiological functions. *J. Biochem.* 12, mvac064 (2022)

Mise S, *Matsumoto A, Shimada K, Hosaka T, Takahashi M, Ichihara K, Shimizu H, Shiraiishi C, Saito D, Suyama M, Yasuda T, Ide T, Izumi Y, Bamba T, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Miyata H, Ikawa M, *Nakayama KI. Kastor and Pollux polypeptides encoded by a single gene locus cooperatively regulate VDAC and spermatogenesis. *Nat. Commun.* 28 13(1), 1071 (2022)

Nita A, *Matsumoto A, Tang R, Shiraiishi C, Ichihara K, Saito D, Suyama M, Yasuda T, Tsuji G, Furue M, Katayama B, Ozawa T, Murata T, Dainichi T, Kabashima K, Hatano A, Matsumoto M, *Nakayama KI. A ubiquitin-like protein encoded by the "noncoding" RNA TINCR promotes keratinocyte proliferation and wound healing. *PLoS Genet.* 5 17(8), e1009686 (2021)

Ichihara K, *Matsumoto A, Nishida H, Kito Y, Shimizu H, Shichino Y, Iwasaki S, Imami K, Ishihama Y, *Nakayama KI. Combinatorial analysis of translation dynamics reveals eIF2 dependence of translation initiation at near-cognate codons. *Nucleic Acids Res.* 21 49(13), 7298-7317 (2021)

遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部 教授)

Takeda H, Busto JV, Lindau C, Tsutsumi A, Tomii K, Imai K, Yamamori Y, Hirokawa T, Motono C, Ganesan I, Wenz L-S, Becker T, Kikkawa M, Pfanner N, Wiedemann N, and Endo T. A multipoint guidance mechanism for β -barrel folding on the SAM complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* (2023) Doi: 10.1038/s41594-022-00897-2

Matsumoto S and Endo T. Proofreading of protein localization mediated by a mitochondrial AAA-ATPase Msp1 (JB Special Review - Multi-facet Proteins). *J. Biochem.* (2022) doi: 10.1093/jb/mvac097

Matsumoto S, Ono S, Shinoda S, Kakuta C, Okada S, Ito T, Numata T, and Endo T. GET pathway mediates transfer of mislocalized tail-anchored proteins from mitochondria to the ER. *J. Cell Biol.* 221, e202104076 (2022) doi: 10.1083/jcb.202104076

Araiso Y, Imai K, and Endo T. Role of the TOM complex in protein import into mitochondria: structural views. *Ann. Rev. Biochem.* 91, 679-703 (2022) doi: 10.1146/annurev-biochem-032620-104527

松本 雅記 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 教授)

Hatano A, Takami T, Matsumoto M. In situ digestion of alcohol-fixed cells for quantitative proteomics. *J. Biochem. in press*

Fujimoto M, Takii R, Matsumoto M, Okada M, Nakayama K.I, Nakato R, Fujiki K, Shirahige K, Nakai A. HSF1 phosphorylation establishes an active chromatin state via the TRRAP-TIP60 complex and promotes tumorigenesis. *Nat. Commun.* 13, 4355 (2022).

渡邊 力也 (理化学研究所 主任研究員)

Iida T, Ando J, Shinoda H, Makino A, Yoshimura M, Murai K, Mori M, Takeuchi H, Noda T, Nishimasu H and *Watanabe R. Compact wide-field femtomolar-chamber imaging system for high-speed and accurate digital bioanalysis. *Lab Chip* (2022)

Shinoda H, Iida T, Makino A, Yoshimura M, Ishikawa J, Ando J, Murai K, Sugiyama K, Muramoto Y, Nakano M, Kiga K, Cui L, Nureki O, Takeuchi H, Noda T, *Nishimasu H and

*Watanabe R. Automated amplification-free digital RNA detection platform for rapid and sensitive SARS-CoV-2 diagnosis. *Commun. Biol.* 5, 473 (2022)

太田 元規 (名古屋大学情報学研究所 教授)

福地 佐斗志 (前橋工科大学 工学部 生命情報学科 教授)

Ozawa Y, Anbo H, Ota H, and Fukuchi S. Classification of proteins inducing liquid-liquid phase separation: sequential, structural and functional characterization. *J. Biochem. in press*

市之瀬 敏晴 (東北大学 学際科学フロンティア研究所 助教)

Kanno M, Hiramoto S, Kondo S, Tanimoto H, *Ichinose T. Voluntary intake of psychoactive substances is regulated by the dopamine receptor Dop1R1 in *Drosophila*. *Sci. Rep.* 11(1),3432 (2021) doi: 10.1038/s41598-021-82813-0.

*Ichinose T, *Kanno M, Wu H, Yamagata N, Sun H, Abe A, *Tanimoto H. Mushroom body output differentiates memory processes and distinct memory-guided behaviors. *Curr. Biol.* 31, 1-9 (2021) doi: 10.1016/j.cub.2020.12.032.

今見 考志 (京都大学大学院 薬学研究所 特任講師)

Harnett D, Ambrozkiwicz MC, Zinnall U, Rusanova A, Borisova E, Drescher AN, Couce-Iglesias M, Villamil G, Dannenberg R, Imami K, Münster-Wandowski A, Fauler B, Mielke T, Selbach M, Landthaler M, Spahn CMT, Tarabykin V, Ohler U, *Kraushar ML. A critical period of translational control during brain development at codon resolution. *Nature Structural Biology* 29, 1277-1290 (2022) DOI: 10.1038/s41594-022-00882-9

Uchiyama J, Roy R, Wang DO, Morikawa K, Kawahara Y, Iwasaki M, Yoshino C, Mishima Y, *Ishihama Y, *Imami K. pSNAP: Proteome-wide analysis of elongating nascent polypeptide chains. *iScience* 25, 1-18 (2022)

門倉 広 (東北大学 多元物質科学研究所 准教授)

ヒト細胞内で翻訳途上のタンパク質にジスルフィド結合が形成される仕組み. *化学と生物* 60, 557-559 (2022)

七野 悠一 (理化学研究所 開拓研究本部 基礎科学特別研究員)

[†]Zhao T, [†]Chida A, [†]Shichino Y, Choi D, Mizunuma M, Iwasaki S, *Ohya Y. Multifarious Translational Regulation during Replicative Aging in Yeast. *J. Fungi.* 8(9), 938 (2022)

*Shichino Y, *Iwasaki S. Compounds for selective translational inhibition. [Review] *Curr Opin Chem Biol.* 69, 102158 (2022)

*Wu Q, Shichino Y, Abe T, Suetsugu T, Omori A, Kiyonari H, Iwasaki S, *Matsuzaki F. Selective translation of epigenetic modifiers affects the temporal pattern and differentiation of neural stem cells. *Nat Commun.* 13, 470 (2022).

[†]Kashiwagi K, [†]Shichino Y, [†]Osaki T, Sakamoto A, Nishimoto M, Takahashi M, Mito M, Weber F, *Ikeuchi Y, *Iwasaki S, *Ito T. eIF2B-capturing viral protein NS5 suppresses the integrated stress response. *Nat Commun.* 12, 7102 (2021)

[†]Ichihara K, [†]*Matsumoto A, Nishida H, Kito Y, Shimizu H, Shichino Y, Iwasaki S, Imami K, Ishihama Y, *Nakayama KI. Combinatorial analysis of translation dynamics reveals eIF2 dependence of translation initiation at near-cognate codons. *Nucleic Acids Res.* 49(13) 7298-7317 (2021).

花田 耕介 (九州工業大学大学院 情報工学研究院 教授)

Takeda T, Shirai K, Kim YW, Higuchi-Takeuchi M, Shimizu M, Kondo T, Ushijima T, Matsushita T, Shinozaki K, Hanada K*. A de novo gene originating from the mitochondria controls floral transition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* (2022) *in press*

Oguchi R, Hanada K, Shimizu M, Mishio M, Ozaki H, Hikosaka K*. Enhanced growth rate

under elevated CO2 conditions was observed for transgenic lines of genes identified by intraspecific variation analyses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* 1-13 (2022)

町田 幸大 (兵庫県立大学 工学研究科 准教授)

Ito Y, *Chadani Y, Niwa T, Yamakawa A, Machida K, Imataka H, *Taguchi, H. Nascent peptide-induced translation discontinuation in eukaryotes impacts biased amino acid usage in proteomes. *Nat Commun* 13 (1), 7451 (2022) doi: 10.1038/s41467-022-35156-x.

松尾 芳隆 (東京大学 医科学研究所 准教授)

Matsuo Y*, Uchihashi T, Inada T*. Decoding of the ubiquitin-code for clearance of colliding ribosomes by the RQT complex. *Nat Commun.* 14(1), 79 (2023)

Tomomatsu S[†], Watanabe A[†], Tesina P, Hashimoto S, Ikeuchi K, Li S, Matsuo Y, Beckmann R, Inada T*. Two modes of Cue2-mediated mRNA cleavage with distinct substrate recognition initiate No-go decay. *Nucleic Acids Res. in press*

Narita M[†], Denk T[†], Matsuo Y, Sugiyama T, Kikuguchi C, Ito S, Sato N, Suzuki T, Hashimoto S, Machova I, Tesina P, Beckmann R*, Inada T*. A distinct human disome collision interface harbors K63-linked polyubiquitination of uS10 to trigger hRQT-mediated subunit dissociation. *Nat Commun.* 27, 13(1), 6411 (2022) doi: 10.1038/s41467-022-34097-9.

Li S[†], Ikeuchi K[†], Kato M, Buschauer R, Sugiyama T, Adachi S, Kusano H, Natsume T, Berninghausen O, Matsuo Y, Becker T, Beckmann R*, Inada T*. Sensing of individual stalled 80S ribosomes by Fap1 for non-functional rRNA turnover. *Mol Cell.* 82(18),3424-3437.e8 (2022) doi: 10.1016/j.molcel.2022.08.018.

山形 敦史 (理化学研究所 上級研究員)

*Yamagata A, Murata Y, Namba K, Terada T, Fukai S, Shirouzu M. Uptake mechanism of iron-phytosiderophore from the soil based on the structure of yellow stripe transporter. *Nat. Commun.* (2022) doi: 10.1038/s41467-022-34930-1.

[†]Cao P, [†]Braun L, [†]Yamagata A, Christianson BM, Negami T, Zou B, Terada T, Canniffe DP, Shirouzu M, Li M, [†]Liu LN. Structural basis for the assembly and quinone transport mechanisms of the dimeric photosynthetic RC-LH1 supercomplex. *Nat. Commun.* (2022) doi: 10.1038/s41467-022-29563-3.

Kikuchi A, Onoda H, Yamaguchi K, Kori S, Matsuzawa S, Chiba Y, Tanimoto S, Yoshimi S, Sato H, Yamagata A, Shirouzu M, Adachi N, Sharif J, Koseki H, Nishiyama A, Nakanishi M, Defossez PA, Arita K. Structural basis for activation of DNMT1. *Nat. Commun.* (2022) doi: 10.1038/s41467-022-34779-4.

Katsumura S, Siddiqui N, Goldsmith MR, Cheah JH, Fujikawa T, Minegishi G, Yamagata A, Yabuki Y, Kobayashi K, Shirouzu M, Inagaki T, Huang TH, Musi N, Topisirovic I, Larsson O, Morita M. Deadenylase-dependent mRNA decay of GDF15 and FGF21 orchestrates food intake and energy expenditure. *Cell Metab.* (2022) doi:10.1016/j.cmet.2022.03.005.

横井 佐織 (北海道大学大学院 薬学研究院 助教)

*Yokoi S, Nakagawa S. UPA-Seq-Based Search Method for Functional lncRNA Candidates. *Methods in molecular biology* 2509 269-278 (2022)

Takahashi O, Tanahashi M, Yokoi S, Kaneko M, Yanaka K, Nakagawa S, Maita H. The cell type-specific ER membrane protein UGS148 is not essential in mice. *Genes to cells* 27(1) 43-60 (2022)

吉久 徹 (兵庫県立大学大学院 理学研究科 教授)

Hayashi S, Matsui M, Ikeda A, Yoshihisa T. Six identical tRNATrpCCA genes express a similar amount of mature tRNATrpCCA but unequally contribute to yeast cell growth. *Biosci Biotechnol Biochem.* 23, 86(10), 1398-1404 (2022) doi: 10.1093/bbb/zbac134.

受賞情報

田港 朝也 (永井班) (近畿大学 医学部 脳神経内科 助教)

第63回日本神経学会 最優秀ポスター賞

“Discovery of RNA-binding proteins as genetic modifiers that distinguish the SCA36 and C9-ALS pathomechanisms.”

藤野 雄三 (永井班) (近畿大学 医学部 脳神経内科 派遣大学院生)

第16回臨床ストレス応答学会 若手奨励賞

「FUSはRNAシャペロンとしてGGGGCCリピートRNAからのRAN翻訳を抑制し、C9orf72関連ALS/FTDにおける変性病態を改善する」

森 康治 (大阪大学大学院医学系研究科 精神医学 助教)

2021年度日本認知症学会 学会賞 基礎研究部門

2021年度日本神経化学会 優秀賞

「C9orf72リピート伸長による前頭側頭葉変性症の分子病態」

2021年度日本医師会医学研究奨励賞 臨床医学部門

「前頭側頭葉変性症における異常伸長リピート翻訳の研究」

松本 有樹修 (九州大学 生体防御医学研究所 准教授)

令和4年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞

「Translatome解析と未踏ORFの生理機能の研究」

渡邊 力也 (理化学研究所 主任研究員)

バイオインダストリー奨励賞 (第6回奨励賞) / 一般財団法人バイオインダストリー協会

「新型コロナウイルスの世界最速デジタル検出技術の開発」

今見 考志 (京都大学大学院 薬学研究科 特任講師)

2022年度日本生化学会 奨励賞

「転写後・翻訳制御のプロテオミクスに関する研究」

第30回JB論文賞 / 公益社団法人日本生化学会

“Quantitative nascent proteome profiling by dual-pulse labelling with O-propargyl-puromycin and stable isotope-labelled amino acids”

門倉 広 (東北大学 多元物質科学研究所 准教授)

第23回酵素応用シンポジウム研究奨励賞 / 天野エンザイム科学技術振興財団

「ヒトPDIファミリー酵素によって触媒されるタンパク質のジスルフィド結合形成機構」

編集後記

昨年度のニュースレターからおおよそ一年半ぶりに、マルチファセット・プロテインズの第2号のニュースレターを発行することができました。貴重なお時間をいただき、原稿をご執筆くださいました先生方には、心より感謝申し上げます。コロナ禍で多くのイベントがオンラインで開催されてきた中、2022年に入った頃から、対面で皆さんに会う機会が少しずつ増えてきたように思われます。それに伴い、今号では、ミーティングレポートも、対面での学会の報告が増えました。ランチオンセミナーなど、オンラインならではの利便性を生かしたイベントも定着する一方で、直接みなさんとお会いして議論を交わし、交流することの貴重さを改めて感じる昨今です。

我々を取り巻く環境は常に変化していきますが、皆様の研究が常に進展することを願いつつ、編集後記とさせていただきます。
ニュースレター編集担当：京都産業大学 千葉 志信

2020-24年度 科研費学術変革領域研究 (A)

マルチファセット・プロテインズ：拡大し変容するタンパク質の世界

ニュースレター第2号 2023年3月 発行 編集人 千葉 志信 発行人 田口 英樹

学術変革「多面的蛋白質世界」領域事務局

〒603-8555 京都市北区上賀茂本山 京都産業大学 生命科学部 先端生命科学科
multifacetedproteins@gmail.com

<http://proteins.jp/>



マルチファセット・プロテインズ
拡大し変容するタンパク質の世界

