

Multifaceted Proteins

Newsletter



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

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

03

2024.02



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

03 2024.02

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
版画家の頼富敦子さんによる「ゆりかご」(2006年、木版)。解説は巻頭言参照。

C O N T E N T S

Announcement 巻頭言

「プロテイン」が空前のブーム？	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

田中 良和 東北大学 生命科学研究所 教授	3
内原 脩貴 慶應義塾大学 薬学部 助教	4
小林 穂高 徳島大学 先端酵素学研究所 准教授・東京大学 定量生命科学研究所 客員准教授	5
松尾 芳隆 東京大学 医科学研究所 准教授	6
富田 野乃 東京大学 大学院新領域創成科学研究科 准教授	7
平山尚志郎 東京大学 大学院薬学系研究科 (薬学部) 助教	8
古畑 隆史 東京大学 大学院工学系研究科 (工学部) 助教	9
古川健太郎 新潟大学大学院 医歯学総合研究科 医学部 准教授	10
山崎 智弘 大阪大学 大学院生命機能研究科 特任講師 (常勤)	11
親泊 政一 徳島大学 先端酵素学研究所 教授	12
花田 耕介 九州工業大学 大学院情報工学研究科 教授	13
町田 幸大 兵庫県立大学 工学研究科 准教授	14
石黒 亮 法政大学 マイクロ・ナノテクノロジー研究センター 研究員	15
浅川 和秀 国立遺伝学研究所 遺伝形質研究系 特命准教授	16
七野 悠一 国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部 研究員	17

Meeting Report ミーティングレポート

第23回蛋白質科学会年会	18
2023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	19
第4回領域班会議	20
領域会議：学生優秀ポスター発表賞受賞者のコメント	22

Schedule / Information

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	26
---	----

Column コラム

米国土産で作成した「生命のセントラルドグマ」	27
------------------------	----

Recent Publications 研究成果

受賞情報 / 編集後記	裏表紙
-------------	-----

まずは今年度の領域活動を振り返ろう。

2020年度に本領域が発足してから4年目となったが、ようやくコロナ禍が一段落した1年になった。2023年9月下旬には領域初の合宿型の領域会議を実施した。対面かつ泊まり込みというのは本当に久々で、私のようなキャリアが長い者にとって、「領域会議はこういう形式がやっぱりいいよね」と再確認できた。さらに、若手ワークショップを全体領域会議のサテライトとして同じ会場で直前に開催した。参加した学生たちの多くにとって初の合宿型会議ということで強い印象を残したことだろう¹。また、今年度は領域発足後4年目で領域の中間評価が行われた²。昨年12月に中間評価の結果が届いており、「A（研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの進展が認められる）」ということで、高い評価をいただいた。今年度からは後期の公募班員が出揃ったところであり³、新たな領域メンバーも含めて、一層の連携が進んで大きな成果を期待できる状況である。なお、来年度は最終年度ということで国際会議を福岡で予定している（2024年9月2-5日）。

「プロテイン」が 空前のブーム？

さて、残りはエッセイ風にいきたい。

巷では、空前の「プロテイン」ブームである、とテレビ番組で取り上げていた。プロテインと言っても、本領域「マルチファセット・プロテインズ」でないのはもちろんで、筋トレブームに伴う筋肉増強のために飲む「プロテイン」パウダーのことだ。最近ではボディビルダーのような気合いの入った人たちだけでなく、コロナ太り解消のダイエットなどライトユーザーが非常に増えているという。そう言えば、ドラッグストアなどでプロテインの売り場が増えている気がしていた。



表紙絵に採用した頼富敦子さん（版画家）による2024年カレンダー

「ブーム」と言えば、本領域は生命科学分野におけるタンパク質に関する新たな「ブーム」を取り上げているという見方もできる。非典型的な翻訳動態によってできる未開拓タンパク質の世界、液-液相分離、・・・など10年ほど前には非常識だったり、想定されていなかった現象が新たな常識になっている。さらに言えば、本領域のど真ん中ではないが、AlphaFold2による高精度のタンパク質の立体構造予測が2021年に大ブームとなったのは前号の巻頭言でも述べたところだ。その拡がりや、この1年で出た学会などで、従来は構造生物と全然無関係に思えた研究者の講演でもふつうにAlphaFold構造が出てくるようになったことから実感している。

AlphaFoldと言えばAI、巷でAIと言えばchatGPTということになる。ちょうど1年前にこの巻頭言を書いたときはchatGPTが世に回り始めたころでまだ目新しさがあつたが、この1年間ですっかり定着した。みなさんも（程度は違えども）賢い「アシスタント」として便利に使っていることであろう。AIは何でもできるということで、今年のニュースレターの表紙はAIによる画像生成(DALL・E2)でマグリットの的なマルチファセット・プロテインズを採用したのだった。今回もまたAIによる画像に頼ろうかと最初考えたが、それも面白くないな、ということでAI生成画像と正反対に思える手作りの美術作品を使うことを思い付いた。そこで旧知の版画家で毎年手刷りの版画カレンダーを楽

しませてもらっている頼富敦子さんに作品一覧を見せてもらい、私が「タンパク質的」と感じた作品を選んだのが本号の表紙である。

なんでこの作品？と思われるかもしれない。題名は「ゆりかご」である。私が長年研究しているシャペロンタンパク質、シャペロニンGroELは「タンパク質のゆりかご」と呼ばれることもあるのだ。この版画の「コ」の字型がGroELのサブユニットの一つ、中に入っている粒みみたいなものが基質タンパク質⁴、に見えた（ような気がした）のだった。35年前にシャペロニンに出会ってマイブームとなり、いまだにブームが終わらない私だからこそ生成された連想はまだAIにはできないと信じたい。

「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



左上に見えるChristian Anfinsen写真との“ツーショット”での著者近影
(2023年3月NIHにて)。詳細はp27のコラムにて。

1. 若手会議(1泊)+領域会議(2泊)を通して参加するのが基本だったので、いきなりの3泊4日の長丁場で後半は疲れていたように見受けられたが・・・。
2. 新学術領域のときは3年目が中間評価だったが、学術変革(A)になってからは4年目と遅くなった。スケジュールとしては6月に中間評価資料提出、10月にヒアリング実施だった。
3. 公募研究の競争率は6.4倍であり、この数字は同年度の全ての学術変革(A)領域内で最も高かった。本領域の裾野の広さがあらためて示されたと考えている(なお、前期の公募研究の競争率は8.3倍であった)。
4. 実際にはシャペロニン複合体の中に基質タンパク質は一つしか入らないというのが基本ではあるが。

01

終止コドンリードスルーの誘発因子の特定と クライオ電顕による活写



研究代表者
田中 良和
東北大学
生命科学研究科
教授



<https://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す。

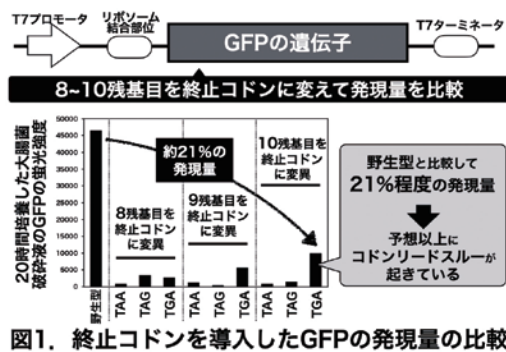


図2. クライオ電顕で決定したリボソームの構造

Publication

- Shiraishi C, Matsumoto A., Ichihara K., Yamamoto T., Yokoyama T., Hatano A., Matsumoto M., [Tanaka Y.](#), Matsushima S., Tsutsui H., and Nakayama K.I. "Myo-ribosome" secures translation elongation dynamics for cardiac function. *Nat. Commun.*, accepted (2023)
- Watarai H., Kageyama H., Masubuchi N., Nakajima H., Onodera K., Focia P.J., 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)
- 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)
- [Tanaka Y.](#), Kato S, Stabrin M, Raunser S, Matsui T, and Gatsogiannis C. CryoEM reveals the asymmetric assembly of squid hemocyanin. *IUCr*, 6, 426-437 (2019)
- 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)
- 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)
- Gai Z, Matsuno A, Kato K, Kato S, Khan R I, Shimizu T, Yoshioka T, Kato Y, Kishimura H, Kanno G, Miyabe Y, Terada T, [*Tanaka Y.](#) Yao M. Crystal structure of the 3.8 MDa respiratory supermolecule hemocyanin at 3.0 angstrom resolution. *Structure*, 23, 2204-2212 (2015)
- 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)
- 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)
- 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)



02

DNA 損傷依存的な非典型的翻訳産物の同定とその生理的意義の解明

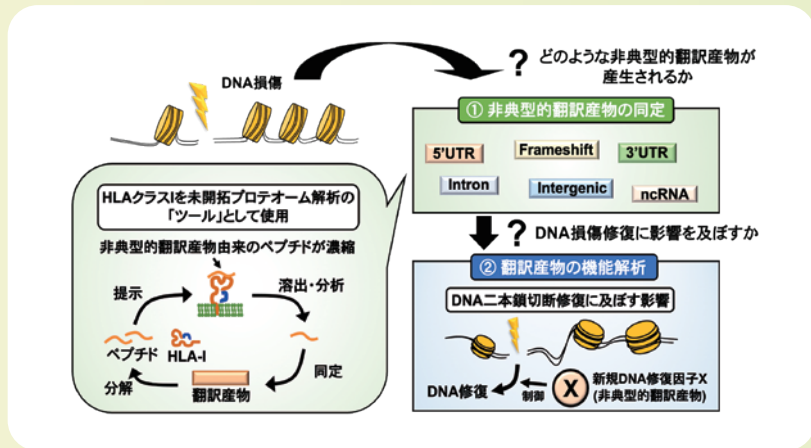


研究代表者
内原 脩貴
慶應義塾大学
薬学部
助教



<https://shibataxlab.com/>

昨今のタンパク質研究のブレークスルーにより非典型的な翻訳が恒常的に生じていることが明らかとなり、様々な生命現象に影響を及ぼすことが分かってきた。細胞内に存在する非典型的な翻訳産物の同定を目的に、全細胞抽出液を用いたプロテオゲノミクスがこれまで広く用いられているが、検出感度については未だ改善の余地がある。その解決方法の一つとして、HLAクラスI (HLA-I) の利用が期待される。近年、HLA-I結合ペプチド溶出液を用いることで、全細胞抽出液と比較して多くの非典型的な翻訳産物由来のペプチドが得られることが報告された。HLA-Iは免疫応答を制御する分子であるが、細胞内に存在する多種多様なタンパク質が分解されて生じるペプチドを細胞表面上に提示する。つまり、HLA-I結合ペプチドの解析は、細胞内に存在する非典型的な翻訳産物を効率的に検出するための強力なツールとなりうる。そこで本研究では、HLA-I結合ペプチド溶出液を用いた非典型的な翻訳産物同定系を構築することで、DNA損傷依存的な未開拓プロテオームの解明に迫る。さらに、非典型的な翻訳産物がDNA損傷の関連する生命現象に及ぼす影響について研究を展開し、DNA損傷研究における新たなパラダイムの確立を目指す。



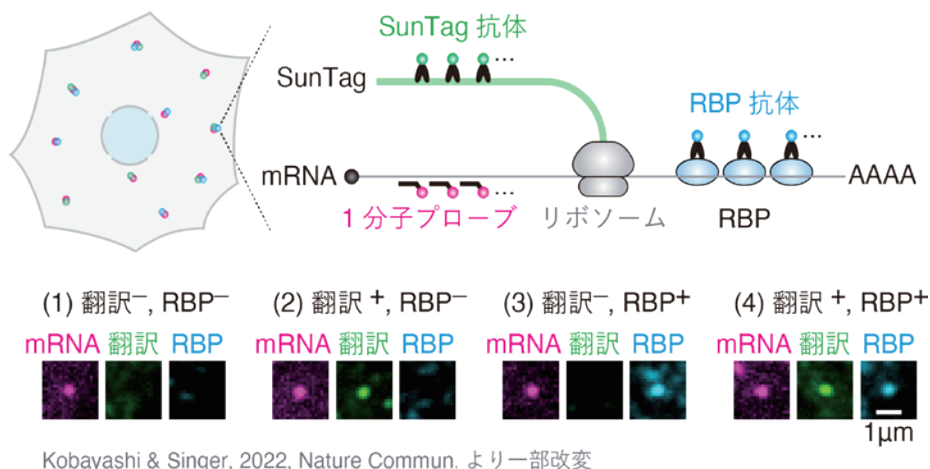
Publication

1. Yuki Uchihara, Tiara Bunga Mayang Permata, Hiro Sato, Reika Kawabata-Iwakawa, Sayako Katada, Wenchao Gu, Sangeeta Kakoti, Motohiro Yamauchi, Reona Kato, Soehartati Gondhowiardjo, Naoki Hosen, Takaaki Yasuhara, Atsushi Shibata. DNA damage promotes HLA class I presentation by stimulating a pioneer round of translation-associated antigen production. *Mol Cell*. 2022 Jul 21;82(14):2557-2570.e7. doi: 10.1016/j.molcel.2022.04.030.
2. *Takaaki Yasuhara, *Reona Kato, Motohiro Yamauchi, Yuki Uchihara, Lee Zou, Kiyoshi Miyagawa, Atsushi Shibata. (equally contributed) RAP80 suppresses the vulnerability of R-loops during DNA double-strand break repair. *Cell Rep*. 2022 Feb 1;38(5):110335. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110335.
3. Yuki Uchihara, Tiara Bunga Mayang Permata, Hiro Sato, Atsushi Shibata. Modulation of immune responses by DNA damage signaling. (review) *DNA Repair*. 2021 Aug;104:103135. doi: 10.1016/j.dnarep.2021.103135.
4. Yuki Uchihara, Kenji Tago, Hirooomi Tamura, Megumi Funakoshi-Tago. EBP2, a novel NPM-ALK-interacting protein in the nucleolus, contributes to the proliferation of ALCL cells by regulating tumor suppressor p53. *Mol Oncol*. 2021 Jan;15(1):167-194. doi: 10.1002/1878-0261.12822.
5. Yuki Uchihara, Tomoyuki Ohe, Tadahiko Mashino, Takayuki Kidokoro, Kenji Tago, Hirooomi Tamura, Megumi Funakoshi-Tago. N-Acetyl cysteine prevents activities of STAT3 inhibitors, Stattic and BP-1-102 independently of its antioxidant properties. *Pharmacol Rep*. 2019 Dec;71(6):1067-1078. doi: 10.1016/j.pharep.2019.05.021.
6. Yuki Uchihara, Reiko Komori, Kenji Tago, Hirooomi Tamura, Megumi Funakoshi-Tago. Methotrexate significantly induces apoptosis by inhibiting STAT3 activation in NPM-ALK-positive ALCL cells. *Biochem Pharmacol*. 2019 Dec;170:113666. doi: 10.1016/j.bcp.2019.113666.
7. Yuki Uchihara, Kenji Tago, Hidetoshi Taguchi, Yuji Narukawa, Fumiyuki Kiuchi, Hirooomi Tamura, Megumi Funakoshi-Tago. Taxodione induces apoptosis in BCR-ABL-positive cells through ROS generation. *Biochem Pharmacol*. 2018 Aug;154:357-372. doi: 10.1016/j.bcp.2018.05.018.
8. Yuki Uchihara, Takayuki Kidokoro, Kenji Tago, Tadahiko Mashino, Hirooomi Tamura, Megumi Funakoshi-Tago. Alpha-tocopherol attenuates the anti-tumor activity of crizotinib against cells transformed by EML4-ALK. *Eur J Pharmacol*. 2018 Apr 15;825:1-9. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.02.012.
9. Yuki Uchihara, Fumihito Ueda, Kenji Tago, Yosuke Nakazawa, Tomoyuki Ohe, Tadahiko Mashino, Shigenobu Yokota, Tadashi Kasahara, Hirooomi Tamura, Megumi Funakoshi-Tago. Alpha-tocopherol attenuates the anti-tumor activity of crizotinib against cells transformed by NPM-ALK. *PLoS One*. 2017 Aug 14;12(8):e0183003. doi: 10.1371/journal.pone.0183003.
10. Yuki Uchihara, Ken-ichiro Tanaka, Teita Asano, Fumiyuki Tamura, Tohru Mizushima. Superoxide dismutase overexpression protects against glucocorticoid-induced depressive-like behavioral phenotypes in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Jan 22;469(4):873-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.12.085.

03

高時空間解像度イメージングという視点から
翻訳の典型的・非典型的な制御機構に迫る研究代表者
小林 穂高徳島大学 先端酵素学研究所
准教授
東京大学 定量生命科学研究所
客員准教授<https://sites.google.com/view/h-kobayashi-lab>

翻訳はmRNAの配列情報をもとにタンパク質を合成する過程であり、多面的なタンパク質世界の中核をなす現象です。その重要性ゆえに、これまで数十年にわたり精力的に先行研究が行われてきましたが、実はその大部分は生化学的な手法（細胞を破壊して得られるライセートを用いた手法など）によるものです。これはすなわち、多面的なタンパク質世界を長年にわたり「同一の視点」から眺めてきたような状況ともいえます。そこで本研究では、翻訳の制御過程を細胞内において高時空間解像度でイメージングできる新規技術（Kobayashi & Singer, 2022, Nature Commun.:図参照）を「新しい視点」として活用し、翻訳の重要課題に取り組みます。具体的には、近年論争になっている「翻訳はpoly(A)鎖によって促進されるのか・されないのか?」といった謎を、mRNA一つ一つの翻訳状態を細胞内で実際に可視化することで明らかにし、これにより翻訳の典型的・非典型的な制御機構に迫ります。



Publication

1. *Kobayashi H, *Singer RH. Single-molecule imaging of microRNA-mediated gene silencing in cells. *Nat Commun* 2022;13:1435. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29046-5>.
2. *Kobayashi H, *Tomari Y. Identification of an AGO (Argonaute) protein as a prey of TER94/VCP. *Autophagy* 2020;16:190-2. <https://doi.org/10.1080/1548627.2019.1691351>.
3. *Kobayashi H, Shoji K, Kiyokawa K, Negishi L, *Tomari Y. VCP machinery mediates autophagic degradation of empty Argonaute. *Cell Rep* 2019;28:1144-1153.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.07.003>.
4. *Kobayashi H, Shoji K, Kiyokawa K, Negishi L, *Tomari Y. Iruka eliminates dysfunctional Argonaute by selective ubiquitination of its empty state. *Mol Cell* 2019;73:119-129.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.10.033>.
5. Kobayashi H, *Tomari Y. RISC assembly: Coordination between small RNAs and Argonaute proteins. *Biochim Biophys Acta* 2016;1859:71-81. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2015.08.007>.
6. Kobayashi H, Etoh K, Marubashi S, Ohbayashi N, *Fukuda M. Measurement of Rab35 activity with the GTP-Rab35 trapper RBD35. *Methods Mol Biol* 2015;1298:207-16. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2569-8_18.
7. Kobayashi H, Etoh K, Ohbayashi N, *Fukuda M. Rab35 promotes the recruitment of Rab8, Rab13 and Rab36 to recycling endosomes through MICAL-L1 during neurite outgrowth. *Biol Open* 2014;3:803-14. <https://doi.org/10.1242/bio.20148771>.
8. Kobayashi H, Etoh K, *Fukuda M. Rab35 is translocated from Arf6-positive perinuclear recycling endosomes to neurite tips during neurite outgrowth. *Small GTPases* 2014;5:e29290. <https://doi.org/10.4161/sgtp.29290>.
9. Kobayashi H, *Fukuda M. Rab35 establishes the EHD1-association site by coordinating two distinct effectors during neurite outgrowth. *J Cell Sci* 2013;126:2424-35. <https://doi.org/10.1242/jcs.117846>.
10. Kobayashi H, *Fukuda M. Rab35 regulates Arf6 activity through centaurin-β2 (ACAP2) during neurite outgrowth. *J Cell Sci* 2012;125:2235-43. <https://doi.org/10.1242/jcs.098657>.

04

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



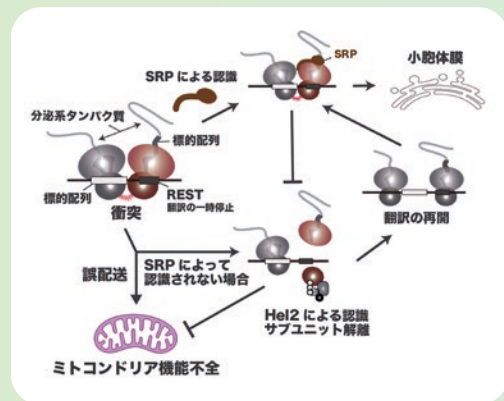
研究代表者
松尾 芳隆
東京大学
医科学研究所
准教授



<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、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

- Best K, Ikeuchi K, Kater L, Best D, Musial J, Matsuo Y, Berninghausen O, Becker T, Inada T*, Beckmann R*. Structural basis for clearing of ribosome collisions by the RQT complex. *Nat Commun.* 14(1): 921. (2023)
- Tesina P*, Ebine S*, Buschauer R*, Thoms M, Matsuo Y, Inada T*, Beckmann R*. Molecular basis of eIF5A-dependent CAT tailing in eukaryotic ribosome-associated quality control. *Mol Cell.* 83(4): 607-621. (2023)
- 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, Coller 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)
- 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

真核細胞におけるリコーディングの分子基盤



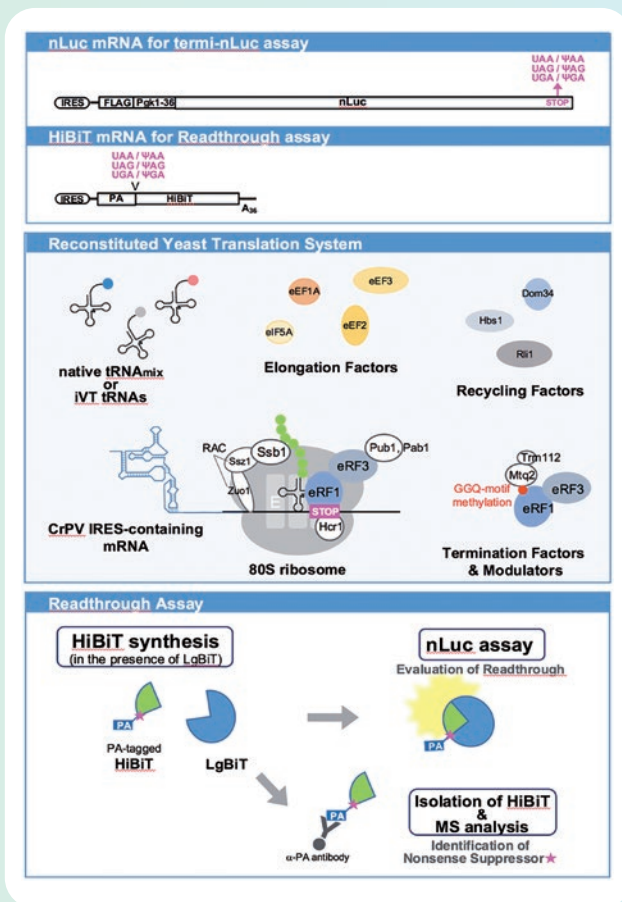
研究代表者
富田 野乃

東京大学
大学院新領域創成科学研究科
准教授



<https://sites.google.com/view/molbio/member?authuser=0>

リコーディングは、終止コドンリードスルー、中途終結、フレームシフト、などの非典型的な遺伝暗号解読であり、多くは翻訳終結制御と連動している。本研究では、申請者が確立した酵母由来再構築型生体外翻訳系を利用し、修飾塩基シュドウリジン (Ψ) を導入した mRNA で誘起されるリコーディング、特に「Ψ含有終止コダンのリードスルー」の分子機構に着目する。i) ペプチド解離因子 eRF1 による Ψ 含有終止コダンの認識機構、ii) サプレッサー tRNA による Ψ 含有終止コダンの認識機構、ついて解析する。従来、成熟した mRNA の遺伝暗号は固定されたものと考えられてきた。「細胞は mRNA 修飾などを介した翻訳終結制御によって遺伝暗号の書き換えを積極的に行い、タンパク質発現を制御する。」というパラダイムシフトに資することを目標とする。化学修飾を有する mRNA ワクチンのデザイン、ナンセンス変異に起因する疾患に対するリードスルー薬の開発、抗ウイルス薬の開発、などの医療応用にも結びつくと期待している。



Publication

- Lee, M., & Takeuchi-Tomita, N.* Reconstitution of mammalian mitochondrial translation system capable of long polypeptide synthesis. *Methods Mol Biol.* (2023), in press.
- Lee, M., Matsunaga, N., Akabane, S., Yasuda, I., Ueda, T. & Takeuchi-Tomita, N.* Reconstitution of mammalian mitochondrial translation system capable of correct initiation and long polypeptide synthesis from leaderless mRNA. *Nucleic Acids Res.* (2021) 49, 371-382.
- Nagai, R., Xu, Y., Liu, C., Shimabukuro, A. and Takeuchi-Tomita, N.* In vitro reconstitution of yeast translation system capable of synthesizing long polypeptide and recapitulating programmed ribosome stalling. *Methods Protoc.* (2021) 4, 45.
- Abe, T., Nagai, R., Shimazaki, S., Kondo, S., Nishimura, S., Sakaguchi, Y., Suzuki, T., Imataka, H., Tomita, K. & Takeuchi-Tomita, N.* In vitro yeast reconstituted translation system reveals function of eIF5A for synthesis of long polypeptide. *J Biochem.* (2020) 167(5):451-462.
- Abe, T., Nagai, R., Imataka, H. & Takeuchi-Tomita, N.* Reconstitution of yeast translation elongation and termination in vitro utilizing CrPV IRES-containing mRNA. *J Biochem.* (2020) 167(5):441-450.
- Tsuboi, M., Morita, H., Nozaki, Y., Akama, K., Ueda, T., Ito, K., Nierhaus, K.H. & Takeuchi, N.* EF-G2mt is an Exclusive Recycling Factor in Mammalian Mitochondrial Protein Synthesis. *Molecular Cell* (2009) 35(4), 502-10.
- Nozaki, Y., Matsunaga, N., Ishizawa, T., Ueda, T. & Takeuchi, N.* HMRFL1 is a human mitochondrial translation release factor involved in the decoding of the termination codons UAA and UAG. *Genes Cells.* (2008) 13, 429-38.
- Ishizawa, T., Nozaki, Y., Ueda, T. & Takeuchi, N.* The human mitochondrial translation release factor HMRFL1 is methylated in the GGQ motif by the methyltransferase HMPmC. *Biochem Biophys Res Commun.* (2008) 373, 99-103.

06

非典型的翻訳産物を含めた新規タンパク質 品質管理機構のユビキトームによる可視化



研究代表者
平山 尚志郎

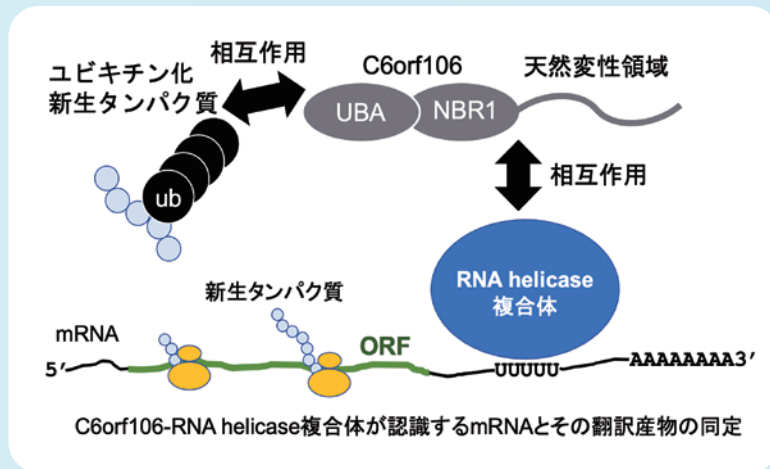
東京大学
大学院薬学系研究科(薬学部)
助教



<https://tanpaku.f.u-tokyo.ac.jp/>

我々はユビキチン化タンパク質が選択的に核からサイトゾルへ運び出される現象を発見し、責任因子としてUBIN, POSTさらにC6orf106等を同定してきた (Hirayama et al. PNAS. 2018など)。近位依存性ピオチン化酵素を用いたタンパク質相互作用解析によりC6orf106結合タンパク質を同定し生化学的に解析したところ、C6orf106はRNA helicase 複合体を介して、mRNAと翻訳中のリボソームと複合体を形成していることを捉えた。さらなる解析から、C6orf106による核外搬出されるユビキチン化タンパク質の大半は、ユビキチン化された新生鎖であることを明らかにしてきた。

近年の研究により、本来の開始コドン以外から始まる、イントロン、UTRから翻訳されるなど、非典型的な翻訳が存在しそれらは不安定であると考えられている。そこで本研究では、不安定だとされる非典型的な翻訳産物を含めて、翻訳後速やかに分解されるタンパク質や核外搬出のターゲットとなるタンパク質がどのようなものか、Ub化ペプチドに注目しながら同定を試みる。分解されなかったUb化タンパク質が核にたまることで起きる細胞機能の異常を明らかにする。そのことで、翻訳後の速やかなタンパク質分解と、Ub化タンパク質核外搬出機構を可視化し、これら現象の生理的意義を明らかにすることを研究目的とする。



Publication

1. Hashimoto E, Okuno S, Hirayama S, Arata Y, Goto T, Kosako H, Hamazaki J, Murata S. Enhanced O-GlcNAcylation Mediates Cytoprotection under Proteasome Impairment by Promoting Proteasome Turnover in Cancer Cells. *iScience*. 24;23(7):101299. (2020)
2. Arata Y, Watanabe A, Motosugi R, Murakami R, Goto T, Hori S, Hirayama S, Hamazaki J, Murata S. FAM48A mediates compensatory autophagy induced by proteasome impairment. *Genes Cells*. Aug;24(8):559-568. (2019)
3. Arata Y, Watanabe A, Motosugi R, Murakami R, Goto T, Hori S, Hirayama S, Hamazaki J, Murata S. Defective induction of the proteasome associated with T-cell receptor signaling underlies T-cell senescence. *Genes Cells*. Dec;24(12):801-813. (2019)
4. Hirayama S, Sugihara M, Morito D, Iemura SI, Natsume T, Murata S, Nagata K. Nuclear export of ubiquitinated proteins via the UBIN-POST system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1;115(18):E4199-E4208. (2018)
5. Uechi H, Kuranaga E, Iriki T, Takano K, Hirayama S, Miura M, Hamazaki J, Murata S. Ubiquitin-Binding Protein CG5445 Suppresses Aggregation and Cytotoxicity of Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked TDP-43 in Drosophila. *Mol Cell Biol*. Jan 16;38(3):e00195-17. (2018)
6. Tomita T, Hirayama S, Sakurai Y, Ohte Y, Yoshihara H, Saeki Y, Hamazaki J, Murata S. Specific Modification of Aged Proteasomes Revealed by Tag-Exchangeable Knock-In Mice. *Mol Cell Biol*. Dec 11;39(1):e00426-18. (2018)
7. Wu W, Sahara K, Hirayama S, Zhao X, Watanabe A, Hamazaki J, Yashiroda H, Murata S. PAC1-PAC2 proteasome assembly chaperone retains the core $\alpha 4$ - $\alpha 7$ assembly intermediates in the cytoplasm. *Genes Cells*. Oct;23(10):839-848. (2018)
8. Koizumi S, Irie T, Hirayama S, Sakurai Y, Yashiroda H, Naguro I, Ichijo H, Hamazaki J, Murata S. The aspartyl protease DDI2 activates Nrf1 to compensate for proteasome dysfunction. *Elife*. Aug 16;5:e18357. (2016)
9. Hamazaki J, Hirayama S, Murata S. Redundant Roles of Rpn10 and Rpn13 in Recognition of Ubiquitinated Proteins and Cellular Homeostasis. *PLoS Genet*. Jul 29;11(7):e1005401. (2015)
10. Tomita T, Hamazaki J, Hirayama S, McBurney MW, Yashiroda H, Murata S. Sirt1-deficiency causes defective protein quality control. *Sci Rep*. Jul 29;5:12613. (2015)

07

不均一ポリユビキチン鎖とシャトル因子の
“ライブラリ×ライブラリ” 相互作用解析

研究代表者

古畑 隆史

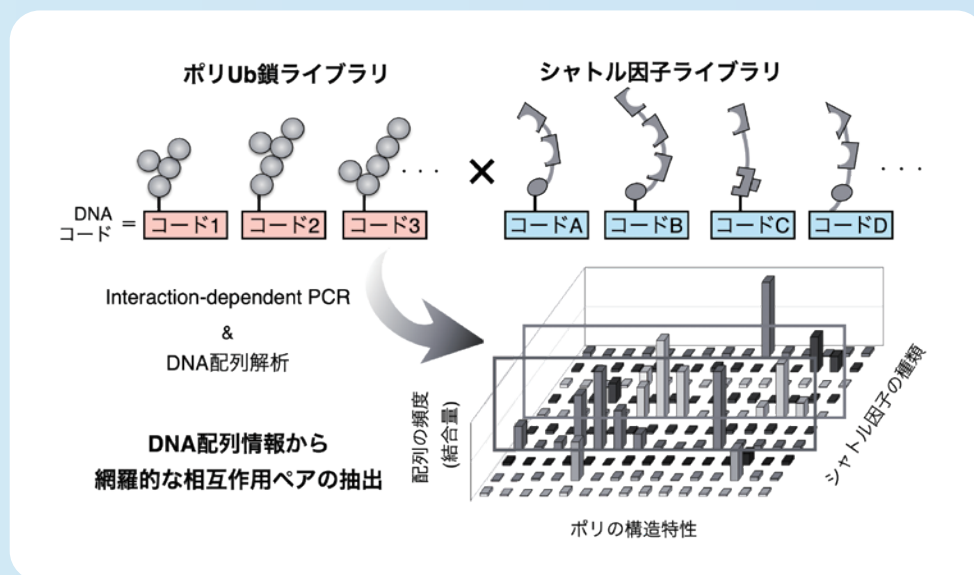
東京大学

大学院工学系研究科(工学部)

助教


<https://webpark1516.sakura.ne.jp/>

近年、ストレス環境下でタンパク質の品質管理を制御するメカニズムとして、ポリユビキチン鎖とシャトル因子による液液相分離が注目されている。相分離液の内では、基質タンパク質が、プロテアソームとシャトル因子を介して濃縮されるため、効率的かつ選択的に分解されると考えられる。しかし、ポリユビキチンの構造は、ユビキチン同士の結合に使われるアミノ酸の位置、分岐の有無や形状の観点から非常に多様であり、構造と機能の系統的評価が非常に困難であった。そのため、液液相分離を強力に誘起するポリユビキチン鎖とシャトル因子のペアや、鍵となるポリユビキチンの構造的特徴など、液滴形成の背景にある相互作用の体系的な理解は進んでいない。本課題では、ポリユビキチン鎖のワンポット構造制御合成法とDNAバーコーディング技術を組み合わせた“ライブラリ×ライブラリ”の相互作用解析手法の確立を目指す。それにより、複数のシャトル因子とポリユビキチン鎖が共存する混在系において相互作用の強弱を網羅的に評価することを可能とし、シャトル因子とポリユビキチン鎖の相分離挙動を制御する化学メカニズムの理解へ繋げることを目指す。



Publication

1. Furuhashi T, Komoto Y, Ohshiro T, *Taniguchi M, Ueki R, *Sando S. Key aurophilic motif for robust quantum-tunneling-based characterization of a nucleoside analogue marker. *Chem. Sci.* 11, 10135–10142 (2020)
2. Furuhashi T, Ohshiro T, Izuhara Y, Suzuki T, Ueki R, *Taniguchi M, *Sando S. Chemical Labeling-Assisted Detection of Nucleobase Modifications by Quantum Tunneling-Based Single Molecule Sensing. *ChemBioChem*, 21, 335–339 (2020)
3. Furuhashi T, Ohshiro T, Akimoto G, Ueki R, *Taniguchi M, *Sando S. Highly conductive nucleotide analogue facilitates base-calling in quantum tunneling-based DNA sequencing. *ACS Nano*, 13, 5028–5035 (2019)
4. Tsuchiya A, Hashim S. N, Ise S, Furuhashi T, Kawai K, Wakabayashi R, Goto M, Kama N, Sando S. BODIPY- Labeled fluorescent aptamer sensors for turn-on sensing of interferon-gamma and adenine compounds on cells *Anal. Sci.* 32, 543–547 (2016)



08

ミトコンドリアの視点から紐解く マイクロタンパク質の機能と分子機構



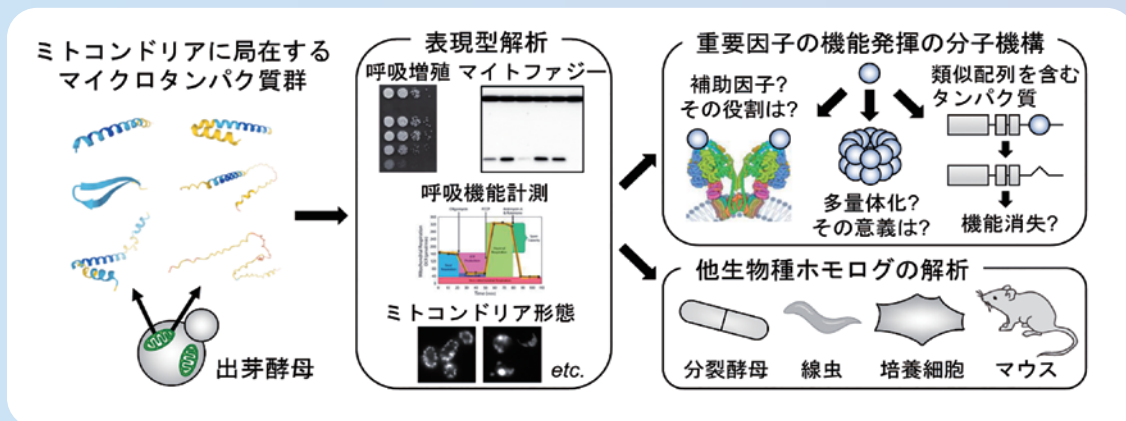
研究代表者
古川 健太郎

新潟大学大学院
医歯学総合研究科 医学部
准教授



<https://www.med.niigata-u.ac.jp/mit/>

本研究は、酵母のミトコンドリアに局在する100アミノ酸に満たないマイクロタンパク質群が、どのようにミトコンドリアの各種機能に関与するのか、さらには機能発揮の分子機構を解明し、それぞれの短いアミノ酸配列に隠された意義を見出すことを目指すものである。この目的のために次の二つの研究を遂行する。①ミトコンドリアプロテオーム解析で局在のみが明らかとなっているマイクロタンパク質群のミトコンドリアの呼吸機能・形態制御・品質管理などにおける役割と機能発揮の分子機構の解明。②マイクロタンパク質群の中から先行して見出した二つの新規因子が駆動するミトコンドリア分裂の分子機構の解明。本研究は、ミトコンドリアの視点からマイクロタンパク質の意義を解明することによって新たなタンパク質の世界を開拓し、当該研究領域の目標達成に貢献する。



Publication

- *Fukuda T, Furukawa K, Maruyama T, Noda NN, *Kanki T. Mitofissin: a novel mitochondrial fission protein that facilitates mitophagy. *Autophagy* 19, 3019-3021 (2023).
- Fukuda T, Furukawa K (co-first), Maruyama T, Yamashita SI, Noshiro D, Song C, Ogasawara Y, Okuyama K, Alam JM, Hayatsu M, Saigusa T, Inoue K, Ikeda K, Takai A, Chen L, Lahiri V, Okada Y, Shibata S, Murata K, Klionsky DJ, *Noda NN, *Kanki T. The mitochondrial intermembrane space protein mitofissin drives mitochondrial fission required for mitophagy. *Mol Cell* 83, 2045-2058.e9 (2023).
- *Furukawa K, Innokentev A, *Kanki T. Mitophagy regulation mediated by the Far complex in yeast. *Autophagy* 17, 1042-1043 (2021).
- Innokentev A, *Furukawa K (co-first), Fukuda T, Saigusa T, Inoue K, Yamashita SI, *Kanki T. Association and dissociation between the mitochondrial Far complex and Atg32 regulate mitophagy. *eLife* 9, e63694 (2020).
- *Fukuda T, Ebi Y, Saigusa T, Furukawa K, Yamashita SI, Inoue K, Kobayashi D, Yoshida Y, *Kanki T. Atg43 tethers isolation membranes to mitochondria to promote starvation-induced mitophagy in fission yeast. *eLife* 9, e61245 (2020).
- Furukawa K, Innokentev A, *Kanki T. Regulatory mechanism of mitochondrial autophagy: Lessons from yeast. *Front Plant Sci* 10, 1479 (2019).
- *Furukawa K, *Kanki T. PP2A-like protein phosphatase Ppg1: an emerging negative regulator of mitophagy in yeast. *Autophagy* 14, 2171-2172 (2018).
- *Furukawa K, Fukuda T, Yamashita SI, Saigusa T, Kurihara Y, Yoshida Y, Kirisako H, Nakatogawa H, *Kanki T. The PP2A-like protein phosphatase Ppg1 and the Far complex cooperatively counteract CK2-mediated phosphorylation of Atg32 to inhibit mitophagy. *Cell Rep* 23, 3579-3590 (2018).
- Yamashita SI, Jin X, Furukawa K, Hamasaki M, Nezu A, Otera H, Saigusa T, Yoshimori T, Sakai Y, Mihara K, *Kanki T. Mitochondrial division occurs concurrently with autophagosome formation but independently of Drp1 during mitophagy. *J Cell Biol* 215, 649-665 (2016).
- *Furukawa K, *Hohmann S. A fungicide-responsive kinase as a tool for synthetic cell fate regulation. *Nucleic Acids Res* 43, 7162-7170 (2015).



細胞内相分離を誘導するタンパク質の大規模探索と誘導機構の解明



研究代表者
山崎 智弘

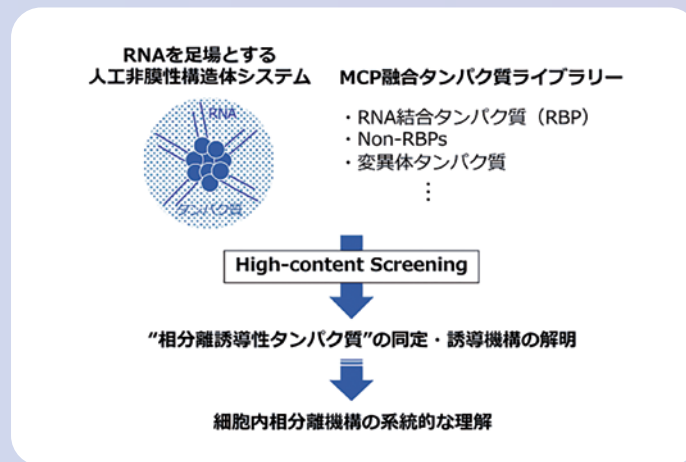
大阪大学
大学院生命機能研究科
特任講師(常勤)



<https://hirose-lab.com/>

相分離により構築される非膜性構造体は、細胞内の混雑した環境で、特定の分子を集約した区画を作り出すことで、様々な細胞内プロセスにおいて重要な役割を果たす。こうした非膜性構造体には、多数のタンパク質が局在しているが、構造体の形成に必須なものはそのうちの一握りであることがこれまでの研究から明らかになっている。しかし、こうした非膜性構造体の核となり、構造体の性質や機能を規定する細胞内相分離を理解する上で要となるタンパク質の全体像は明らかになっていない。

本研究では、独自に確立したRNAを足場とする人工非膜性構造体実験系を用いて、非膜性構造体の形成を誘導できるタンパク質を大規模に探索する。さらに、同定したタンパク質の構造体誘導メカニズムを明らかにする。こうした解析から、細胞内相分離誘導というタンパク質の機能側面についてそのルールを系統的に明らかにする。



Publication

- *Hirose T, Ninomiya K, Nakagawa S, Yamazaki T. A guide to membraneless organelles and their various roles in gene regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* Nov 23, 24, 288-304 (2023) doi: 10.1038/s41580-022-00558-8
- *Yamazaki T, Yamamoto T. Statistical thermodynamics approaches for intracellular phase separation. *Methods Mol Biol* July 8, 2509, 361-393 (2022) doi: 10.1007/978-1-0716-2380-0_22
- *Yamazaki T, Yamamoto T, Hirose T. Micellization: A new principle in the formation of biomolecular condensates. *Front Mol Biosci* Aug 29, 9, 974772 (2022) doi: 10.3389/fmolb.2022.925058
- *Yamamoto T, Yamazaki T. Triblock copolymer micelle model of spherical paraspeckles. *Front Mol Biosci* Aug 22, 9, 925058 (2022) doi: 10.3389/fmolb.2022.925058
- Yamazaki T, Yamamoto T, Yoshino H, Souquere S, Nakagawa S, Pierron G, Hirose T. Paraspeckles are constructed as block copolymer micelles. *EMBO J* Apr 22, 40(12) e107270 (2021)
- Yamazaki T, Hirose T. CRISPR-mediated mutagenesis of long noncoding RNAs. *Methods Mol Biol* 2254, 283-303 (2021) doi: 10.1007/978-1-0716-1158-6_18
- Yamazaki T, Nakagawa S, Hirose T. Architectural RNAs for membraneless nuclear body formation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* Feb 4, 84 227-237 (2019) doi: 10.1101/sqb.2019.84.039404
- Yamazaki T, Fujikawa C, Kubota A, Takahashi A, Hirose T. CRISPR-mediated NEAT1 lncRNA upregulation induces formation of intact paraspeckles. *Biochem Biophys Res Commun* Sep 26, 504(1) 218-224 (2018) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.158
- Yamazaki T, Souquere S, Chujo T, Kolbelke S, Chong YS, Fox AH, Bond CS, Nakagawa S, Pierron G, Hirose T. Functional Domains of NEAT1 architectural lncRNA induce paraspeckle assembly through phase separation. *Mol Cell* Jun 21, 70(6) 1038-1053 (2018) doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.019
- Yamazaki T, Chen S, Yu Y, Yan B, Haertlein TC, Carrasco MA, Tapia JC, Zhai B, Das R, Lalancette-Hebert M, Sharma A, Chandran S, Sullivan G, Nishimura AL, Shaw CE, Gygi SP, Shneider NA, Maniatis T, Reed R. FUS-SMN protein interactions link the motor neuron diseases ALS and SMA. *Cell Rep* Oct 25, 2(4) 799-806 (2012) doi: 10.1016/j.celrep.2012.08.02
- Yamazaki T, Fujiwara N, Yukinaga H, Ebisuya M, Shiki T, Kurihara T, Kioka N, Kambe T, Nagao M, Nishida E, Masuda S. The closely related RNA helicases, UAP56 and URH49, preferentially form distinct mRNA export machineries and coordinately regulate mitotic progression. *Mol Biol Cell* Aug 15, 21(16) 2953-2965 (2010) doi: 10.1091/mbc.E09-10-0913



癌化に関わる特殊リボソームによる 非典型的翻訳の網羅的探索



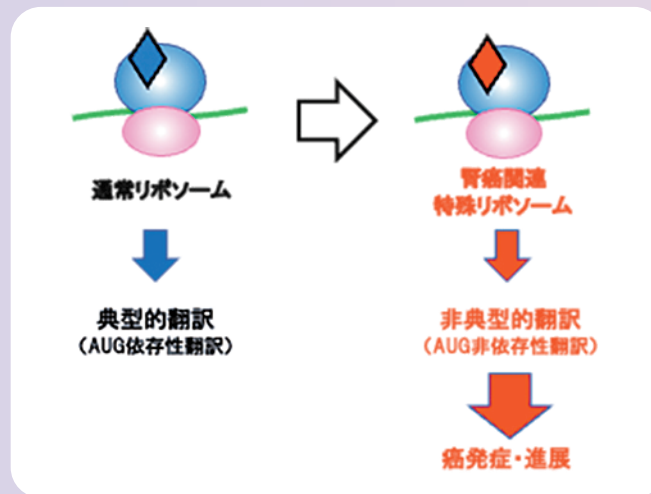
研究代表者
親泊 政一
徳島大学
先端酵素学研究所
教授



<http://www.genome.tokushima-u.ac.jp/dmb/DMB/homu.html>

翻訳途上で機能するタンパク質の発見により、タンパク質は固有の構造に正しく折り畳まれて機能するという固定概念が変わりタンパク質の世界が広がった。このような多面性を有する様々なタンパク質の生成のために、リボソームが多様性を生み出す動的な制御因子として機能しているのではないかと考えた。すなわち約80種類のリボソームタンパク質と4種類のrRNAで構成されるリボソームはヘテロに存在し、それらが特定のmRNAを選択的に認識・翻訳することで、生理機能や病理機能を発揮するのではないだろうか。

本研究では、統合的ストレス応答の研究から見出した腎癌関連特殊リボソームに着目したタンパク質翻訳の網羅的探索を行い、発癌との関連する非典型的翻訳を明らかにする。



Publication

- Sobajima M, Miyake M, Hamada Y, Tsugawa K, Oyadomari M, Inoue R, Shirakawa J, Arima H, *Oyadomari S. The multifaceted role of ATF4 in regulating glucose-stimulated insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun.* 611:165-71 (2022)
- Miyake M, Sobajima M, Kurahashi K, Shigenaga A, Denda M, Otaka A, Saio T, Sakane N, Kosako H, *Oyadomari S. Identification of an endoplasmic reticulum proteostasis modulator that enhances insulin production in pancreatic β cells. *Cell Chem Biol.* 29:996-1009 (2022)
- Miyake M, Zhang J, Yasue A, Hisanaga S, Tsugawa K, Sakaue H, Oyadomari M, Kiyonari H, *Oyadomari S. Integrated stress response regulates GDF15 secretion from adipocytes, preferentially suppresses appetite for a high-fat diet and improves obesity. *iScience.* 24:103448 (2021)
- Kitakaze K, Oyadomari M, Zhang J, Hamada Y, Takenouchi Y, Tsuboi K, Inagaki M, Tachikawa M, Fujitani Y, Okamoto Y, *Oyadomari S. ATF4-mediated transcriptional regulation protects against β -cell loss during endoplasmic reticulum stress in a mouse model. *Mol Metab.* 54:101338 (2021)
- Hamada Y, Furumoto Y, Izutani A, Taniuchi S, Miyake M, Oyadomari M, Teranishi K, Shimomura N, *Oyadomari S. Nanosecond pulsed electric fields induce the integrated stress response via reactive oxygen species-mediated heme-regulated inhibitor (HRI) activation. *PLoS One.* 15:e0229948 (2020)
- Kitakaze K, Taniuchi S, Kawano E, Hamada Y, Miyake M, Oyadomari M, Kojima H, Kosako H, Kuribara T, Yoshida S, Hosoya T, *Oyadomari S. Cell-based HTS identifies a chemical chaperone for preventing ER protein aggregation and proteotoxicity. *Elife.* 8:e43302 (2019)
- Hisanaga S, Miyake M, Taniuchi S, Oyadomari M, Morimoto M, Sato R, Hirose J, Mizuta H, *Oyadomari S. PERK-mediated translational control is required for collagen secretion in chondrocytes. *Sci Rep.* 8:773 (2018)
- Miyake M, Kuroda M, Kiyonari H, Takehana K, Hisanaga S, Morimoto M, Zhang J, Oyadomari M, Sakaue H, *Oyadomari S. Ligand-induced rapid skeletal muscle atrophy in HSA-Fv2E-PERK transgenic mice. *PLoS One.* 12:e0179955 (2017)
- Taniuchi S, Miyake M, Tsugawa K, Oyadomari M, *Oyadomari S. Integrated stress response of vertebrates is regulated by four eIF2 α kinases. *Sci Rep.* 6:32886 (2016)
- Miyake M, Nomura A, Ogura A, Takehana K, Kitahara Y, Takahara K, Tsugawa K, Miyamoto C, Miura N, Sato R, Kurahashi K, Harding HP, Oyadomari M, Ron D, *Oyadomari S. Skeletal muscle-specific eukaryotic translation initiation factor 2 α phosphorylation controls amino acid metabolism and fibroblast growth factor 21-mediated non-cell-autonomous energy metabolism. *FASEB J.* 30:798-812 (2016)



病害菌の感染防御に関与する非 AUG を 開始コドンを持つ短い遺伝子の探索



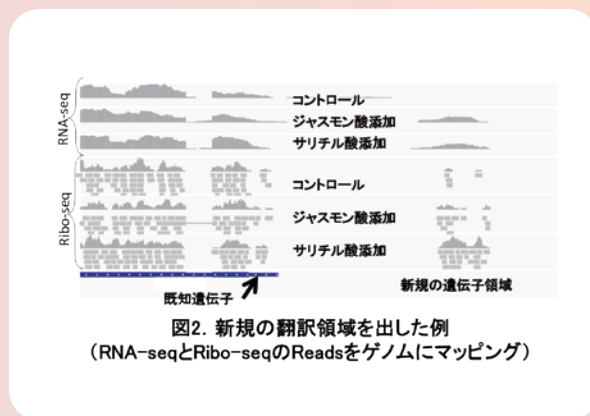
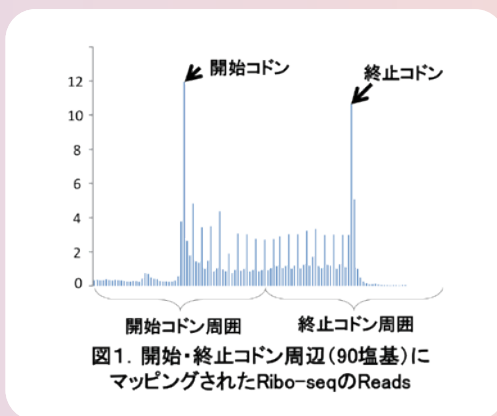
研究代表者
花田 耕介

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（100aa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す。



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, Yoshizumi 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, Myounga 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)



ポリアミンがCAGリピート由来の非標準翻訳に 与える影響と翻訳開始点の解明

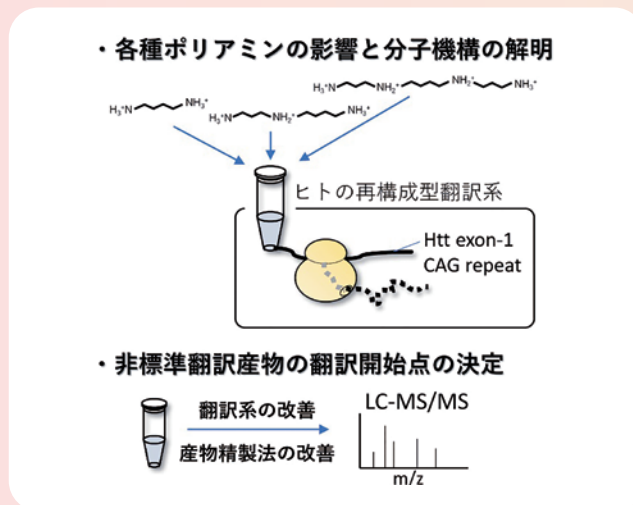


研究代表者
町田 幸大
兵庫県立大学
工学研究科
准教授



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

申請者はこれまでに、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で翻訳させると、細胞内で生じる標準翻訳(AUG開始コドンから始まるin-frame)と翻訳開始点が不明の非標準翻訳(+1 frameと+2 frame)が再構成系でも再現できること、また非標準翻訳にも翻訳開始因子群に依存した翻訳開始段階が必要であることを明らかにしている。さらに、非標準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核酸やタンパク質合成を促進すると言われるポリアミンが、CAGリピート由来の+1 frameと+2 frameの翻訳を顕著に促進することを新たに発見した。そこで本研究では、ポリアミンのうち主要とされる3種(プトレスシン、スペルミジン、スペルミン)が、CAGリピート由来の非標準翻訳に与える影響とその分子機構を解明すると共に、再構成型無細胞翻訳系の合成活性を向上させ非標準翻訳産物を確実に精製し質量分析に供することで各翻訳frameの開始点を決定する。



Publication

1. *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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. *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.
6. *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.
7. Machida K, Imataka H. Production methods for viral particles. *Biotechnol Lett*. 2015 Apr;37(4):753-60.
8. *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.
9. Kobayashi T, Machida K, Imataka H. Human cell extract-derived cell-free systems for virus synthesis. *Methods Mol Biol*. 2014;1118:149-56.
10. Masutani M, Machida K, Kobayashi T, Yokoyama S, Imataka H. Reconstitution of eukaryotic translation initiation factor 3 by co-expression of the subunits in a human cell-derived in vitro protein synthesis system. *Protein Expr Purif*. 2013 Jan;87(1):5-10.



ALS関連RNA結合タンパク質の グアニン四重鎖依存的位相変化



研究代表者
石黒 亮

法政大学
マイクロ・ナノテクノロジー研究センター
研究員

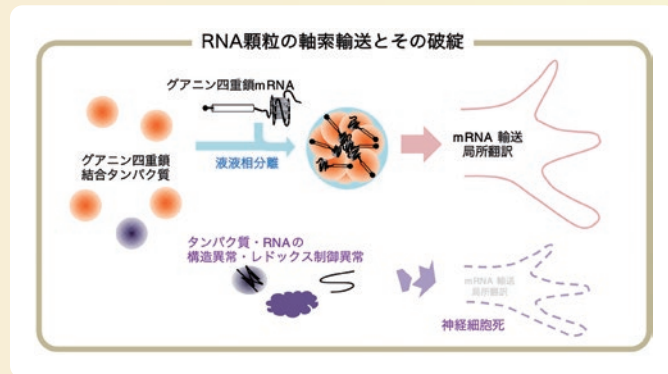


<https://www.hosei.ac.jp/nano/?auth=9abbb458a78210eb174f4bdd385bcf54>

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は病因解明や治療法開発が強く望まれる進行性の神経変性疾患である。症例の多くは孤発性が占める一方、家族性の遺伝子変異も存在し、既に50種類以上の関連遺伝子が報告されている。孤発性患者からも同じ遺伝子の変異が分離されることから、遺伝性と環境要因両方の関与が疑われる。中でもTDP-43 (TAR DNA binding protein 43) やFUS (fused in sarcoma) など、低複雑性の天然変性領域を有するRNA結合タンパク質をコードする遺伝子が多く、液液相分離 (LLPS) で形成されるRNA顆粒を介してmRNA輸送と局所翻訳に寄与している (Fujii et al. 2005; Ishiguro et al. 2016)。mRNA認識は極めて選択的で、非標準型な核酸構造であるグアニン四重鎖が共通の結合シグナルとなっている。近年、我々の研究グループはそれらRNA結合タンパク質が相転移の際、可逆的にフォールディングが変化する現象を発見。異なる位相空間の存在と分子動体に注目するに至った。本研究は位相変化の基軸となる。

- 1) 低複雑領域
- 2) グアニン四重鎖
- 3) レドックス制御

の3要素を解析し、グアニン四重鎖と結合タンパク質本来の分子制御及び、構造・制御破綻に起因するALS発症機序解明を目的としている。ALS変異は、軸索輸送に影響を持つ複数の遺伝子 (*KIF5A*, *DCTN1*, *TUBA4A*, *VCP*, *ALS2*, *VAPB*, *SIGMAR1*, *MATR3*, *PFN1*, *SFPQ*, *ANXA11*, *TBK1*, *NEFH*) にも認められる為、RNA顆粒の輸送機構解明はALS発症原理の総合的な理解にも貢献するものと期待できる。



Publication

1. *Ishiguro A, Ishihama A. ALS-linked TDP-43 mutations interfere with the recruitment of RNA recognition motifs to G-quadruplex RNA. *Sci Rep.* in press.
2. *Ishiguro A, Ishihama A. Essential Roles and Risks of G-Quadruplex Regulation: Recognition Targets of ALS-Linked TDP-43 and FUS. *Front Mol Biosci.* 2022;9:957502. Published 2022 Jul 11. doi:10.3389/fmolb.2022.957502
3. *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.* 2021;297(5):101284. doi:10.1016/j.jbc.2021.101284
4. *Ishiguro A, Katayama A, Ishihama A. Different recognition modes of G-quadruplex RNA between two ALS/FTLD-linked proteins TDP-43 and FUS. *FEBS Lett.* 2021;595(3):310-323. doi:10.1002/1873-3468.14013
5. *Ishiguro A, Kimura N, Noma T, Shimo-Kon R, Ishihama A, Kon T. Molecular dissection of ALS-linked TDP-43 – involvement of the Gly-rich domain in interaction with G-quadruplex mRNA. *FEBS Lett.* 2020;594(14):2254-2265. doi:10.1002/1873-3468.13800
6. Tohmonda T, Kamiya A, Ishiguro A, Iwaki T, Fujimi TJ, Hatayama M, *Aruga J. Identification and Characterization of Novel Conserved Domains in Metazoan Zic Proteins. *Mol Biol Evol.* 2018;35(9):2205-2229. doi:10.1093/molbev/msy122
7. *Ishiguro A, Hatayama M, Otsuka MI, Aruga J. Link between the causative genes of holoprosencephaly: Zic2 directly regulates Tgfr1 expression. *Sci Rep.* 2018;8(1):2140. Published 2018 Feb 1. doi:10.1038/s41598-018-20242-2
8. *Ishiguro A, Kimura N, Watanabe Y, Watanabe S, Ishihama A. TDP-43 binds and transports G-quadruplex-containing mRNAs into neurites for local translation. *Genes Cells.* 2016;21(5):466-481. doi:10.1111/gtc.12352
9. Ishiguro A, Akiyama T, Adachi H, Inoue J, *Nakamura Y. Therapeutic potential of anti-interleukin-17A aptamer: suppression of interleukin-17A signaling and attenuation of autoimmunity in two mouse models. *Arthritis Rheum.* 2011;63(2):455-466. doi:10.1002/art.30108
10. *Hatayama M, *Ishiguro A, Iwayama Y, Takashima N, Sakoori K, Toyota T, Nozaki Y, Odaka YS, Yamada K, Yoshikawa T, *Aruga J. Zic2 hypomorphic mutant mice as a schizophrenia model and ZIC2 mutations identified in schizophrenia patients. *Sci Rep.* 2011;1:16. doi:10.1038/srep00016

*: Corresponding author, *: Equal contribution.

14

光遺伝学を用いた低複雑性ドメイン蛋白質の
生体内凝集機構の解明

研究代表者
浅川 和秀
国立遺伝学研究所
遺伝形質研究系
特命准教授



<https://kazuhiko-asakawa.com/>

本研究は、神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) において、病的な凝集体を形成する TDP-43タンパク質に着目する。TDP-43は、従来は細胞核に局在するが、ALSにおいては細胞質に凝集体として蓄積する。この TDP-43凝集のメカニズムは、ほとんど理解されていない。本研究は、TDP-43が、ホモオリゴマー化ドメイン、RNA/DNA 結合ドメイン、低複雑性ドメインなどの複数の機能ドメインを含んだモジュラー構造を有するタンパク質であることに着目し、光照射によって TDP-43の相転移をコントロールする技術を駆使して、各機能ドメインが TDP-43の凝集において果たす役割を包括的に解明する。熱帯魚ゼブラフィッシュをモデルに用いて、ALSの標的となる細胞種「運動ニューロン」のコンテキストにおいてドメイン解析を実施することで、TDP-43の多量体化、相転移、細胞質への移行などの素過程をドメイン機能と対応づけ、TDP-43凝集への介入点を見出すことを試みる。これにより、ALSや、その他の低複雑性ドメインの相転移が関与する疾患の治療戦略の構築に貢献することを目指す。

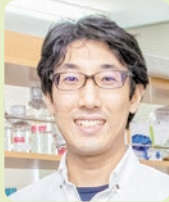


Publication

1. *Asakawa K, Handa H, Kawakami K. Optogenetic phase transition of an intrinsically disordered protein in vivo. *Methods in Mol Biol*, in press
2. *Asakawa K, Handa H, Kawakami K. Multi-phaseted problems of TDP-43 in selective neuronal vulnerability in ALS. (review) *Cell Mol Life Sci* 78:4453-4465 (2021) doi: 10.1007/s00018-021-03792-z.
3. *Asakawa K, Handa H, and *Kawakami K. Optogenetic modulation of TDP-43 oligomerization accelerates ALS-related pathologies in the spinal motor neurons. *Nat Commun* 11:1004 (2020) doi: 10.1038/s41467-020-14815-x.
4. Asatsuma-Okumura T, Ando H, De Simone M, Yamamoto J, Sato T, Shimizu N, Asakawa K, Yamaguchi Y, Ito T, Guerrini L, *Handa H. p63 is a cereblon substrate involved in thalidomide teratogenicity. *Nat Chem Biol* 15:1077-1084. (2019) doi: 10.1038/s41589-019-0366-7.
5. *Asakawa K and *Kawakami K. Protocadherin-mediated cell repulsion controls the central topography and efferent projections of the abducens nucleus. *Cell Rep* 24:1562-1572 (2018) doi: 10.1016/j.celrep.2018.07.024.
6. Ohki Y, Wenninger A, Hruscha A, Asakawa K, Kawakami K, Haass C, Edbauer D, *Schmid B. Glycine-alanine dipeptide repeat protein contributes to toxicity in a zebrafish model of C9orf72 associated neurodegeneration. *Mol Neurodegener* 12:6. (2017) doi: 10.1186/s13024-016-0146-8.
7. *Asakawa K, Gembu A and *Kawakami K. Cellular dissection of the spinal cord motor column by BAC transgenesis and gene trapping in zebrafish. *Front Neural Circuits* 7:100. (2013) doi: 10.3389/fncir.2013.00100.
8. Kwon HB, Fukuhara S, Asakawa K, Ando K, Kashiwada T, Kawakami K, Hibi M, Kwon YG, Kim KW, Alitalo K, *Mochizuki N. The parallel growth of motoneuron axons with the dorsal aorta depends on Vegfc/Vegfr3 signaling in zebrafish. *Development* 140:4081-90. (2013) doi: 10.1242/dev.091702.
9. Asakawa K, Higashijima S, and *Kawakami K. An mnr2b/hlx9lb enhancer trap line that labels spinal and abducens motor neurons in zebrafish. *Dev Dyn* 241:327-332. (2012) doi: 10.1002/dvdy.22781.
10. Asakawa K, Suster ML, Mizusawa K, Nagayoshi S, Kotani T, Urasaki A, Kishimoto Y, Hibi M and *Kawakami K. Genetic dissection of neural circuits by Tol2 transposon-mediated Gal4 gene and enhancer trapping in zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:1255-1260. (2008) doi: 10.1073/pnas.0704963105.

15

非典型局所翻訳を包括的に解明する APEX-Ribo-Seq法の確立



研究代表者
七野 悠一

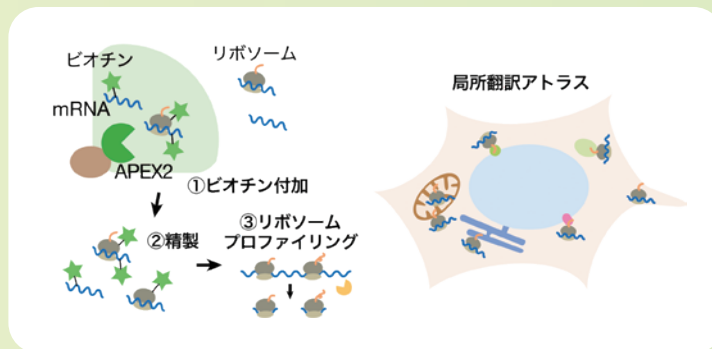
国立研究開発法人理化学研究所
開拓研究本部
研究員



<http://iwasakirna.com/>

細胞内の翻訳状況を網羅的に解析するリボソームプロファイリング (Ribo-Seq) の登場により、従来のイメージを覆す非典型的な翻訳動態が次々と明らかになっている。この手法は「翻訳中のリボソームが結合しているmRNAの領域はRNase処理から保護される」という性質を利用したもので、次世代シーケンサーによりリボソームの結合箇所を網羅的かつ定量的、そしてコドンレベルの分解能で解析できる。これまでに各mRNAの翻訳効率だけでなく、非AUG開始点、既知ORF以外の新規翻訳領域、リボソーム停滞を介した新制御など、予想外の発見がリボソームプロファイリングによって次々と生み出されている。

ミトコンドリアや神経細胞のシナプスなど細胞内の特定箇所で行われる局所翻訳も非典型的な翻訳の1つである。その分子機構を理解すべくリボソームプロファイリングの改変手法による網羅的解析が行われてきたが、これまでは煩雑で局所環境ごとに異なる手法がとられていた。本研究では近傍標識を用いて局所翻訳を網羅的に解析する簡便かつ汎用な新規手法APEX-Ribo-Seqを確立する。近傍のタンパク質とRNAをビオチン化する酵素APEX2を用いることにより様々な局所環境中のリボソームとmRNAを標識・精製し、リボソームプロファイリングを行う。この手法を可能な限り多様な局所環境に適用することにより細胞内の局所翻訳アトラスを作成し、大規模比較により新たな翻訳制御を開拓する。



Publication

- [†]Chen M, [†]Kumakura N, Saito H, Muller R, Nishimoto M, Mito M, Gan P, Ingolia NT, Shirasu K, Ito T, Shichino Y, ^{*}Iwasaki S. "A parasitic fungus employs mutated eIF4A to survive on rocaglate-synthesizing *Aglaia* plants" *eLife*, 12, e81302 (2023).
- ^{*}Shichino Y, ^{*}Iwasaki S. "Compounds for selective translational inhibition" *Curr Opin Chem Biol*, 69, 102158 (2022). Review.
- ^{*}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 NSs suppresses the integrated stress response" *Nat Commun*, 12, 7102 (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(5), 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(2), e1008598 (2020).
- ^{*}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(4), 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 *N*⁶-methylation of RNA by an RNA polymerase II-associated methyltransferase" *Science*, 363(6423), 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 meiRNA accumulates as a dot at its genetic locus facilitated by Mmi1 and plays as a decoy to lure Mmi1." *Open Biol*, 4(6), 140022 (2014).

([†]: contributed equally, ^{*}: corresponding author)



第23回蛋白質科学会年会 2023. 7/5-7 名古屋国際会議場

千葉 志信

(京都産業大学 生命科学部 タンパク質動態研究所 教授)

2023年7月5日から7日の3日間にわたり、第23回蛋白質科学会年会在、名古屋国際会議場にて開催された。その中で、本領域・学術変革領域研究 (A)「マルチファセットプロテインズ」と、学術変革領域研究 (B)「メガダルトン生命深化ダイナミクス」(領域代表：塚崎智也)との共催ワークショップが行われた。当初は、マルチファセットプロテインズから私が、また、メガダルトン生命深化ダイナミクスから、東工大の野澤佳世さんが、それぞれオーガナイザーを行うことになっていたが、都合により野澤さんの代わりに奈良先端大学院大の塚崎智也さんがオーガナイザーを担当することになった。それぞれの領域から3名ずつ、計6名の演者が登壇した。

本ワークショップは、タンパク質同士や、タンパク質と核酸、脂質などの生体分子間相互作用と、それを伴う高次複合体の実像を明らかにすることを目指した研究を紹介することに主眼が置かれた。

まずは、塚崎さんが、オープニング・リマークとトップバッターのスピーカーを務めた。大腸菌におけるチオ硫酸イオンの取り込みに関わる新規トランスポーターを同定し、その構造を決定した仕事を紹介された。この新規イオントランスポーターは、硫酸イオンやチオ硫酸イオンを輸送することが知られている既知のABCトランスポーターとは全く異なる構造をしており、その分子機構も新規のものであるらしい。

2番目には、京産大の遠藤斗志也先生が、ミトコンドリアのTOM複合体によるタンパク質輸送のメカニズムと、ミトコンドリア外膜への β -バレルタンパク質の挿入やアセンブリの機構について発表された。前者については、TOM複合体の状態がダイナミックに変化すること、ミトコンドリアタンパク質を行き先の違いによってソーティングするしくみが存在することなどを紹介された。また、後者については、 β -バレルのアセンブリを担うSam50と基質との複合体の構造データなどから、Sam50が、基質やパートナー因子と交互に相互作用しながら β -バレルタンパク質のアセンブリを促進するメカニズムについて、最新のモデルを紹介された。

3番目には、理研の江原晴彦さんが登壇された。江原さんは、クライオ電子顕微鏡を駆使し、RNAポリメラーゼがクロマチン構造を段階的にほどこしながら進む様子を活写されていた。クライオ電子顕微鏡の強みを存分に生かした仕事であった。講演の最後には、研究者としての雑感を述べておられたが、細胞の中でのタンパク質の真の姿を知ることの難しさを語ったくだけたものでは、共感を覚えたものである。

4番目には、海洋研究開発機構 (JAMSTEC) の車愈徹さんが登壇された。車さんは、人工細胞システムの構築とその応用に関する研究を紹介された。細胞増殖を模倣する上で脂質合成の再構成は不可欠であるとし、in vitroで脂質合成経路の再構成を試みておられた。細胞内での複雑な化学反応を人工的に再現することの困難さが垣間見えたように思われた。

5番目の演者は茶谷悠平さんで、最近、東工大・田口研から独立し、岡山大学にラボを構えるに至った。この講演では、田口研時代に自らが見出した新生鎖依存的・終止コドン非依存的な翻訳終結反応について発表された。新生鎖の特定の配列がリボソームの大小サブユニット間相互作用を不安定化する現象 (Intrinsic ribosome destabilization: IRD) が、原核生物から真核生物まで広く共通するものであることや、プロテオームがそのようなりボソームの不完全性を回避する形で形成されている可能性などを、ウェット・ドライの両面からの多面的な解析結果を示し、それらに基づいて議論を展開されていた。

最後に私が登壇し、タンパク質局在化装置の発現制御にかかわるアレストペプチドのバクテリアにおける普遍性について、ポストクの藤原圭吾氏らが中心となって行った最近の解析結果を紹介した。予想外に多くの真正細菌が、タンパク質局在化装置に関連する遺伝子の上流にアレストペプチドをコードしていることを紹介し、アレストペプチドを用いた細胞機能調節がバクテリア界で広く利用されていることを提唱した。

プロテオミクスやクライオ電子顕微鏡、AlphaFold2など、タンパク質の解析技術が飛躍的な進歩を見せる一方、実際の細胞内でのタンパク質の働く姿を理解することは依然として一筋縄ではいかない。創意工夫と地道な解析を重ねてその実像に迫ることの重要性を改めて感じる機会にもなったように思われた。

著者紹介など

千葉 志信 (ちば しのぶ)

京都産業大学生命科学部・タンパク質動態研究所・教授

略歴：2002年京大ウイルス研博士課程修了、同年同研究所博士研究員、2004年UCSD博士研究員、2008年京大ウイルス研博士研究員、2009年同研究所助教、2010年京産大総合生命科学部助教、2014年同准教授を経て、2019年より現在に至る。



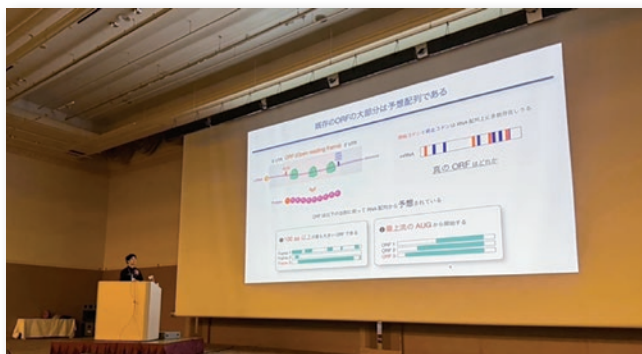
Meeting Report 2

2023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

平田 実奈

(名古屋大学 理学研究科 修士2年)

今年のマルチファセットプロテインズ若手ワークショップは北海道の定山溪万世閣ホテルミリオネにて本領域会議が行われる前日の午後から本会議が始まる午後までの約1日開催された。今回はポスター発表に加え、口頭発表の機会も設けられた。去年に引き続き参加者は学部生も含めた比較的若い参加者であった。



口頭発表の様子

まずはそれぞれがどんな研究をしているかを知るために口頭発表が行われた。予想以上に多くの方が発表を申し込んでくれたようだ。そのため発表者24名のうち12名ずつ前日と後日に分かれた。発表時間は12分、質疑応答3分の計15分で行われた。私自身、口頭発表はこの若手プロテインズが初めてであった。発表は緊張したが想像しているよりは緊張しなかった。しかし、先輩方や他の参加者に比べると発表はまだ改善が必要であると感じ今後の発表機会までに改善したいと思った。また、どの発表でも質疑応答が活発に行われ発表者にとっても質問者にとっても有意義な時間だったのではないかと感じた。

ポスター発表では若手プロテインズに参加している53名のうち49名が前後に分かれて発表を行った。若手同士かつ同じ領域の研究を行っていることもありとても話しやすくポスター会場は終始盛り上がり続いていた。口頭発表の質疑応答で時間が足りず聞けなかったことを聞きにいたり、共同研究を行っている研究のポスター発表を聞きより深く理解したり、もう一度聞いて理解をしたいなどそれぞれ充実した時間を過ごせたのではないと思われる。この若手プロテインズで出会った方々とは違う視点で議論することで新たな発見や今後の研究に活かせるアドバイスがもらえたことだと思う。

口頭発表やポスター発表の間にあった休憩の時や朝食、昼食、夕食の際には別の研究室の人と雑談をすることで息抜きになったと思われる。

最後になりますが、若手ワークショップ世話人の方々、当日の会場セッティングをくださった北海道大学内藤班の皆さん、東京工業大学田口班の皆さん、携わってくださった方々本当にありがとうございました。



ポスター発表の様子



著者紹介など

平田 実奈 (ひらた みな)

略歴：2022年3月京都橘大学健康科学部臨床検査学科卒業、2022年4月九州大学大学院医学系学府医科学専攻修士課程入学、2023年8月名古屋大学理学研究科特別研究学生

所属：名古屋大学理学研究科分子発現制御学

抱負・座右の銘：初心の忘るべからず



Meeting Report 3

第4回領域班会議

白石 千瑛

(名古屋大学 生命理学講座 大学院生)

2023年10月24日から26日の3日間、北海道の定山溪温泉、定山溪万世閣ホテルミリオーネにてマルチファセットプロテインズ第4回領域会議が開催された。ここ数年はコロナ禍にあったため第4回目にしてはじめて、旅館に宿泊して対面での領域会議が行われた。今年は暑い日が続いたおかげで紅葉の時期が後ろにずれこみ、ちょうど本会開催日に見頃となったため、素晴らしい景色と温泉に囲まれた領域会議であった。個人的には、このような一面の紅葉を見るのは初めてで大変感動した。

一日目には高橋 重成 先生 (京都大学 大学院工学研究科)、中川 真一 先生 (北海道大学 大学院薬学研究院)、永田 和宏 先生 (JT 生命誌研究館・館長) の講演が行われた。普段よく聞く研究発表とは違い、研究者になるまでのストーリーや研究における発見の裏話などをお伺いすることができ、とても貴重な経験となった。また一日目の夜には、ポスター発表者54名によるショートトークが行われ、簡単ではあるが、ほとんどの参加者がそれぞれどのような研究をして



いるのか知ることができた。私も発表をおこなったが1分以内に自分の研究内容をまとめて話すのには苦勞し、どこをどう伝えれば簡潔で分かりやすいかなど、今後の研究発表にも役立つ良い経験となった。

二日目にはポスター発表が行われ、会場全体で活発な議論が行われた。今回は大学院生を対象として優秀ポスター発表賞が選定されたが、当研究室修士2年生の平田美奈さんと博士4年生の白石大智さんが優秀ポスター賞を受賞でき、個人的にとっても嬉しく感じた。また、懇親会は旅館の大広間にて豪華な会席料理が振る舞われた。その後の自由討論会は夜の12時までに行われ、これまで以上に参加者と親睦を深めることができ、オンライン会議では得られない経験をすることができた。

領域会議は1日目から3日目まで4セッションに分けて行われ、計画班員と公募班員、計28人が最新の研究成果を報告した。in vitroの分子レベルの解析からin vivoの表現型解析、さらに技術開発に至るまで、新たなタンパク質の機能をさまざまな角度から解明する研究発表に、質問も多く飛び交い、熱い議論が行われた。筆者は、マウスを主として実験を行うことが多いため、酵母や植物など幅広い生物を用いた研究内容は新鮮で大変興味深かった。

このように研究分野が近い領域の方々とディスカッションし、新たなコミュニティを築くことができ、私自身今後につながる大変有意義な時間となった。このような場を開催していただいた方々に深く御礼申し上げます。



著者紹介など

白石 千瑛 (しらいし ちさ)

略歴：2018年九州大学大学医学部生命科学科卒業、2020年九州大学大学院医学系学府医科学専攻修士課程修了、現在に至る。

所属：名古屋大学大学院理学研究科 理学専攻 生命理学講座 分子発現制御学グループ
抱負・座右の名：「好きこそ物の上手なれ」で、興味のあることを楽しく研究し、新たな発見につながるよう努力していきたい。

領域会議：学生優秀ポスター発表賞受賞者のコメント

学生最優秀ポスター賞

「C9orf72 GGGGCCリピートで生じるRepeat Associated Non-AUG (RAN) 翻訳のヒト翻訳因子による再構成型翻訳系を用いた分子機構解析」

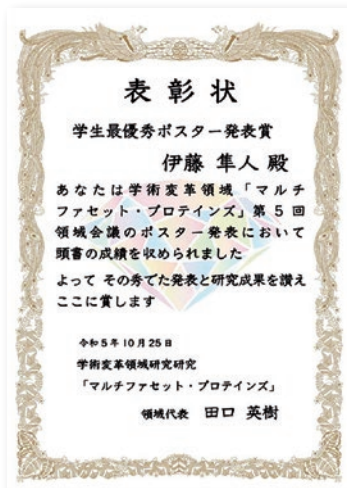
伊藤 隼人

(東京工業大学 田口研 博士2年)

この度は最優秀ポスター発表賞に選んでいただき、誠にありがとうございます。大変光栄であるとともに、身が引き締まる思いです。審査をしてくださった先生方を含め、共同研究者の先生方、田口研究室のメンバーなど関係各位の方々に心から御礼を申し上げます。

さてニュースレターに文章を寄稿できる機会をいただいたので、今回報告したポスターの研究の裏話でも書こうと思います。現在、私は公募班の町田先生（兵庫県立大）らが確立したヒト因子由来再構成型無細胞翻訳系（Human PURE）を用いて、RAN翻訳の分子機構解析を行なっています。このテーマになった経緯は、COVID-19で共同研究先に渡航できず、学部から研究テーマを大きく変更する必要があったためです。テーマを変更する際に、雑談ベースで田口先生に「HumanのPUREってないですかね?」と聞いた覚えがあります。そこから話が固まっていて、トントン拍子で今のRAN翻訳の分子機構解析のテーマに変更しました。しかし、そこらが大変でした。RAN翻訳を発生するリピート配列がうまくクローニングできなかつたり、PUREシステムの翻訳量が少なくRAN翻訳産物がほとんど検出できなかつたり、ネガティブな話のオンパレードでした。M2の秋前まで、学部を含めると2年以上まともにポジティブデータを取得できず、研究が嫌になって就職活動に取り組み始めました。それでも、私の根っこは研究が好きだったので、細々と工夫を凝らして続けていました。そんなある日、実験系を切り替えてみると、唐突にポジティブデータが出てきました。実は、RAN翻訳がPUREシステムで再現よく起こっていたのです。どんどん出てくるポジティブデータから、私は、こんなに面白いのに研究をやめる理由がないと判断して、博士課程の進学を決断しました。修士課程を修了後、就職先に半年で退職願を出し、田口研に舞い戻って研究を再開し、現在に至ります。今では後輩たちと共に、賑やかにRAN翻訳の研究を進められていて非常に刺激的で楽しい毎日です。振り返ってみると、諦めなければチャンスの女神の前髪を拾えるものだなあ、と思います。

最後に、自由奔放に振る舞う私をシャペロンのように見守ってくれた田口先生に御礼を伝えて文章を締めたいと思います。ありがとうございました。



学生優秀ポスター賞

「RPL41はダイソーム形成を制御する」

平田 実奈

(名古屋大学 松本研 修士2年)

学術変革領域「マルチファセット・プロテインズ」第5回領域会議のポスター発表で私は、「RPL41はDisome形成を制御する」に関して発表させていただきました。

このテーマは大学院に入学した時に頂いたテーマで、最初の頃はあまり魅力を感じませんでした。しかし、研究を進めているうちに結果が出て新たな発見ができ面白いかもかもしれないと思いました。今ではこのテーマを楽しく研究できていて頂けて良かったと思っています。



今年の領域会議は北海道で開催されるかつ学生にはポスター賞があると分かりせつかく北海道に行けるのなら何かを得て帰りたいと思っていました。ポスター作製し始めた頃は「作製はいつ終わるかな?」と思っていました。作製中は何度もアドバイスを受け修正を重ねました。途中からポスター作製が嫌になってきましたが、諦めずにポスター作製に励めたことはポスター賞を狙うには必要不可欠なことだったと今は思います。この度は学生優秀ポスター賞をいただけて大変嬉しいです。私のポスターを聞きに来てくださった方、投票してくださった方、今後の研究の助言をくださった方ありがとうございました。最後になりますが松本有樹修先生をはじめ同じ研究室の皆さんサポートのおかげです。本当にありがとうございました。今後もよろしくお願ひ致します。

「Non-AUG開始コドンによるタンパク質の局在変化や新規機能の獲得」

白石 大智

(名古屋大学 松本研 博士4年)

この度は優秀ポスター賞に選定していただき誠にありがとうございます。

マルチファセットプロテインズの領域会議には今年初めて参加しましたが、普段自分がおこなっている研究内容と近いこともあり、先生方の発表はもちろんのこと大学院生・学部生の皆さんの発表内容もとても興味を惹かれ大変刺激を受けました。

私は哺乳類細胞における非典型翻訳の一例として、AUGコドン以外を開始コドンとするタンパク質についての研究結果を発表しましたが、植物や細菌等で同じような研究をしている方に特に強く興味を持っていただき、熱くディスカッションができたことが印象に残っています。このように多種多様な生物を研究対象としている方々と議論でき



る機会は貴重で、自身の研究にとって有益な知見を多く得ることができました。

また、新参者も歓迎して下さるような本領域会議の温かい雰囲気の中で背中を押され、私自身新しいコミュニティを広げることができたことも大変有意義であったと感じています。特に田口先生を最高顧問とするマルチファセットサウナ部を結成できたのはとても思い出深いです。早朝にサウナで頭と体を整え、一日中刺激的な研究を拝聴した後、夜はお酒を飲みながら楽しく交流し、個人的にはこれまで参加した中で最も楽しむことができた領域会議でした（ポスター賞を

取れたのもサウ活によって本来以上の力が出せた結果ではないかと考えています）。来年は海外の研究者もたくさん参加されるとのことで、さらに刺激的な研究を聞けること、また新たなコミュニティを広げることができるのではないかと今から楽しみにしています。

最後に、このように自分が有意義で楽しい時間を過ごすことができたのも若手の会および本会の運営にご尽力くださった皆様方のお陰と切に感じております。心より感謝申し上げます。

“Absolute calibration of ribosome profiling assesses the dynamics of ribosomal flux on transcripts”

戸室 幸太郎

(理化学研究所 七野研 修士2年)

私のポスターはリボソームプロファイリング法を絶対定量する「Ribo-Calibration」という新手法に関するものでした。コンセプトとしては非常に単純で *in vitro* でレポータ遺伝子を翻訳して合成した“リボソーム/mRNA 複合体”を添加してからリボソームプロファイリングを行うというものです。Ribo-Calibrationでは添加する複合体中のリボソーム:mRNA比が既知であるため、RNA-seqから得られたmRNAの量を加味することで、一つのmRNAにいくつのリボソームがのっているのか、その「絶対数」を知ることができます。

リボソームの絶対数がわかればこれまで見ていなかった（マルチファセットな）さまざまな翻訳ダイナミクスを明らかにすることができます。

実際にHEK293細胞では、平均でおよそ5個のリボソームがmRNA上に定常的に結合していて、リボソームと



リボソームの間隔はおおよそ270塩基長程度であることが分かってきました。さらに翻訳開始速度が平均~22秒/回であることや、一つの mRNA 分子が生涯何回翻訳を受ける回数が平均~1800回である、などの情報を得ることができます。

私がプロジェクトを始める前は、はたして遠心して分画してきたレポーターからリードが取れるのかなど疑心暗鬼な部分もありましたが、解析を経て、実際に予想していたリボソームの数とピッタリ一致した時はとても嬉しかったです。

博士課程でもこれまでに知られていないような翻訳のしくみを明らかにしていきたいです。



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)
- 2023年度 第1回領域会議
2023年6月16日(金) 東京工業大学 すすかけ台
世話人:田口 英樹
- 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)、塚崎 智也(奈良先端大)
- 2023年度若手ワークショップ/融合ワークショップ
2023年10月23日(月)~24日(火)(若手WS)
2023年10月24日(火)(融合WS) 札幌・定山溪
- 2023年度 第2回領域会議
2023年10月24日(火)~26日(木) 札幌・定山溪
世話人:内藤 哲(北大)

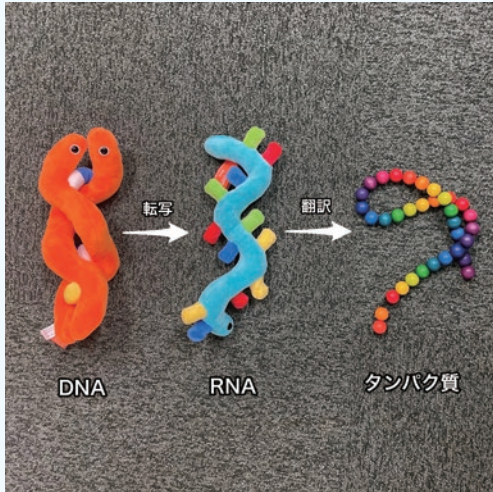
Schedule : 今後の予定

- 2024年度 マルチファセットプロテインズ国際会議
2024年9月2日(月)~5日(木) 福岡
世話人:松本 有樹修

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)
- 第7回 「ATPaseを介したミトコンドリア-ER間の膜タンパク質の再配送」
2023年3月13日(月) オンライン
遠藤 斗志也・小野 鈴花(京都産業大学)
- 第8回 「翻訳アレストが強い/弱いというのはどういうことか? in vitro系でのパルス翻訳実験」
2023年7月31日(月) オンライン
内藤 哲(北海道大学)
- 第9回 タンパク質配列に秘匿された「遺伝暗号」の解読と制御に向けて
2024年1月19日(金) オンライン
茶谷 悠平(岡山大学)

米国土産で作成した「生命のセントラルドグマ」



「セントラルドグマ」

昨年3月のアメリカ出張の際にNIHに立ち寄る機会があった。本館にはショップや展示コーナーがある。私はタンパク質に見えるおもちゃやパズルを趣味で集めているが、海外で面白いグッズが手に入ることが多い。NIHのショップではタンパク質ではなく「mRNA」のぬいぐるみ(?)が売っていたので思わず購入した。新型コロナウイルスのワクチンでmRNAが一般にも広く浸透したので売り出したのだと思われる。DNA(オレンジ色)は二重らせんだが、mRNA(青)は一本鎖である。

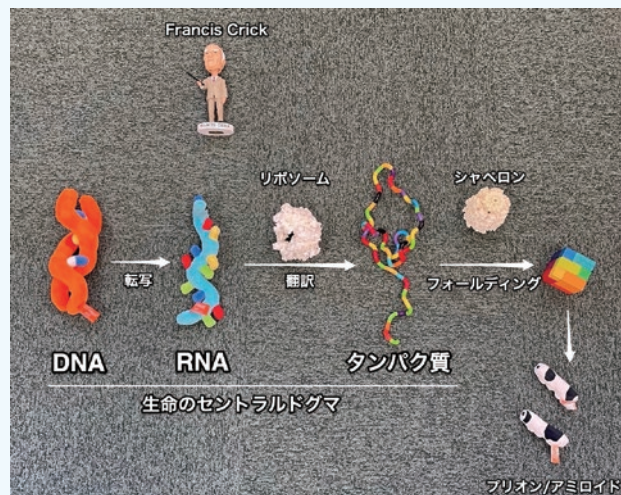
既にDNA「ぬいぐるみ」は購入済みだし、タンパク質のおもちゃも多数ある。

そこで、生命のセントラルドグマを作ってみた。「タンパク質」と見なしたカラフルな数珠みたいなモノは、確かMOMAショップで売っていたネックレスを切ったモノだ¹。

というような内容を私設ブログ²に載せて悦に入っていたのだが³、さらに拡張してみた。まずは、私の専門のタンパク質のフォールディングや「プリオン」を参加させてみた。フォールディングした「タンパク質」もいくらでもある。さらに以前購入した狂牛病、つまり異常構造のプリオンタンパク質の「ぬいぐるみ」⁴も登場させてみた。

リボソームやシャペロン(ここではシャペロンGroEL-GroES複合体)は3Dプリンターで作った模型がある。最後に、「生命のセントラルドグマ」ということで、私が持っているコレクションで登場させたいモノ(人?)があった。セントラルドグマの提唱者、フランシス・クリックのバブルヘッドである⁵。以上、私の誇るコレクション?で作った拡張版セントラルドグマの大作である。

実は、NIHではドグマはドグマでも私のライフワークに関係するドグマにまつわる「出会い」もあった。タンパク質フォールディングの基本ドグマ、すなわちAnfinsenのドグマのChristian Anfinsenの展示コーナーがNIHにあったのだ。Anfinsenのドグマ、すなわち、アミノ酸配列がタンパク質の立体構造を決定する、というタンパク質科学の基本原則はNIHのAnfinsenラボにて1950年代頃より行われた。予期せず「Anfinsen」さんに遭遇して思わず嬉しくなり、「ツーショット」を撮ったのが巻頭言に置いた写真である。(田口英樹)



拡張させた「セントラルドグマ」

1. ということを講義とかオープンラボみたいなところで披露すると失笑が漏れたり、子供の中には記憶に残ることがあるようだ。ただ、環状のタンパク質がない、というのは実はけっこう深いことなのだ。それこそ、セントラルドグマの仕組みを考えると納得がいく部分もある。
2. 「田口英樹のサプリメント」<https://taguchi-hideki.blogspot.com>
3. 塩基にあたる突起がATGCのどれに相当するかを考えるのも楽しい(詳細はブログ参照)。
4. 狂牛病の牛ということで白黒斑紋、プリオンのアミロイドは棒状(rod-like)ということでこのような形になったと推察される。
5. クリックのバブルヘッド人形なんてマニアックなのをよく買ったね、と思われるかもしれない。実は、コロナ前に行ったCSH研究所ショップで無料で配っていたのだ。大量に作ったが売れずに在庫処分となったのかもしれない・・・。

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)

*Chadani Y, Kanamori T, Niwa T, Ichihara K, Nakayama K, I, Matsumoto A, and *Taguchi H. Mechanistic dissection of premature translation termination induced by acidic residues-enriched nascent peptide. *Cell Rep* (2023) in press

Cheng Y, Miwa T, *Taguchi H. Self-regulatory function of bacterial small heat shock protein IbpA through mRNA binding is conferred by a conserved arginine. *J Biol Chem Sep*;299(9):105108. 2023.10 (2023) doi: 10.1016/j.jbc

Miwa T, *Taguchi H. *Escherichia coli* small heat shock protein IbpA plays a role in regulating the heat shock response by controlling the translation of σ^{32} . *Proc Natl Acad Sci USA* Aug 8;120(32):e2304841120 (2023) doi: 10.1073/pnas.2304841120

Matsumoto R, Niwa T, Shimane Y, Kuruma Y, Taguchi H, Kanamori T. Regulated N-terminal modification of proteins synthesized using a reconstituted cell-free protein synthesis system. *ACS Synth Biol* Jul 21;12(7):1935-1942. (2023) doi: 10.1021/acssynbio.3c0019

Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Ito H, Sugiki T, Murata A, Ishiguro A, Gendron T, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera O, Nakatani K, Petrucelli L, Taguchi H, Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in C9orf72-linked ALS/FTD. *eLife* (2023) doi: 10.7554/eLife.84338.1

千葉 志信 (京都産業大学 生命科学部 教授)

Morici M, Gabrielli S, Fujiwara K., Paternoga H., Beckert B, Bock LV., Chiba S. and Wilson DN* RAPP-containing arrest peptides induce translational stalling by short circuiting the ribosomal peptidyltransferase activity. *Nat Commun.* (2023) in press.

Shiota N, Shimokawa-Chiba N, Fujiwara K, and Chiba S. Identification of Bacillus subtilis YidC Substrates Using a MifM-instructed Translation Arrest-based Reporter. *J Mol Biol.* 435, 168172 (2023).

永井 義隆 (近畿大学 医学部 脳神経内科 教授)

Kakuda K, Ikenaka K, Kuma A, Doi J, Aguirre C, Wang N, Ajiki T, Choong C.J, Kimura Y, Badawy S.M.M, Shima T, Nakamura S, Baba K, Nagano S, Nagai Y, Yoshimori T, Mochizuki H. Lysophagy protects against propagation of α -synuclein aggregation through ruptured lysosomal vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* in press

Hirano M, Kuwahara M, Yamagishi Y, Samukawa M, Fujii K, Yamashita S, Ando M, Oka N, Nagano M, Matsui T, Takeuchi T, Saigoh K, Kusunoki S, Takashima H, Nagai Y. CANVAS-related RFC1 mutations in patients with immune-mediated neuropathy. *Sci. Rep.* 13(1), 17801 (2023) doi: 10.1038/s41598-023-45011-8.

Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Sugiki T, Ito H, Murata A, Ishiguro A, Gendron T, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera O, Nakatani K, Taguchi H, Petrucelli L, *Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in C9orf72-linked ALS/FTD. *eLife* 12, RP84338 (2023) doi: 10.7554/eLife.84338

Choong C.J, Aguirre C, Kakuda K, Kimura Y, Beck G, Nabekura K, Hideshima M, Doi J, Yamaguchi K, Nakajima K, Wadayama T, Hayakawa H, Baba K, Ogawa K, Takeuchi T, Murayama S, Nagano S, Goto Y, Miyanoi Y, Nakanishi H, Nagai Y, Mochizuki H, Ikenaka K. Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate interacts with alpha-synuclein and initiates its aggregation and formation of Parkinson's disease-related fibril polymorphism. *Acta Neuropathol.* 145(5), 573-595 (2023) doi: 10.1007/s00401-023-02555-3

*Takeuchi T, Maeta K, Xin D, Oe Y, Takeda A, Inoue M, Nagano S, Fujihara T, Matsuda S, Ishigaki S, Sahashi K, Minakawa E.N, Mochizuki H, Neyama M, Sobue G, *Nagai Y. Sustained therapeutic benefits by transient reduction of TDP-43 using ENA-modified antisense oligonucleotides in ALS/FTD mice. *Mol. Ther. Nucleic Acids* 31, 353-366 (2023) doi: 10.1016/j.omtn.2023.01.006

Taminato T, *Takeuchi T, Ueyama M, Mori K, Ikeda M, Mochizuki H, *Nagai Y. Therapeutic reduction of GGGGCC repeat RNA levels by hnRNP3 suppresses neurodegeneration in *Drosophila* models of C9orf72-linked ALS/FTD. *Hum. Mol. Genet.* 32(10), 1673-1682 (2023) doi: 10.1093/hmg/ddac298

森 康治 (大阪大学大学院 医学系研究科 精神医学 助教)

*Mori K, Shigenobu K, Beck G, Uozumi R, Satake Y, Suzuki M, Kondo S, Gotoh S, Yonenobu Y, Kawai M, Suzuki Y, Saito Y, Morii E, Hasegawa M, Mochizuki H, Murayama S, *Ikeda M. A heterozygous splicing variant IVS9-7A>T in intron 9 of the MAPT gene in a patient with right-temporal variant frontotemporal dementia with atypical 4 repeat tauopathy. *Acta Neuropathol. Commun.* 11 (1), 130, 2023

Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Ito H, Sugiki T, Murata A, Ishiguro A, Gendron T, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera

O, Nakatani K, Petrucelli L, Taguchi H, *Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in C9orf72-linked ALS/FTD. *eLife*, Jul 18, 2023

*Mori K, Gotoh S, Ikeda M, Aspects of degradation and translation of the expanded C9orf72 hexanucleotide repeat RNA. *J. Neurochem.* 166(2):156-171, 2023

Fujino Y, Mori K, *Nagai Y, Repeat-associated non-AUG translation in neuromuscular diseases: Mechanisms and therapeutic insights. *J. Biochem.* 31;173(4):273-281, 2023

松本 有樹修 (九州大学 生体防御医学研究所 准教授)

Chadani Y*, Kanamori T, Niwa T, Ichihara K, Nakayama KI, Matsumoto A, Taguchi H.* Mechanistic dissection of premature translation termination induced by acidic residues-enriched nascent peptide. *Cell Rep.* in press.

Shiraishi C[†], Matsumoto A^{†*}, Ichihara K, Yamamoto T, Yokoyama T, Mizoo T, Hatano A, Matsumoto M, Tanaka Y, Matsuura-Suzuki E, Iwasaki S, Matsushima S, Tsutsui H, Nakayama KI* RPL3L-containing ribosomes determine translation elongation dynamics required for cardiac function. *Nat. Commun.* 14(1):2131, (2023).

Kito Y[†], Matsumoto A^{†*}, Ichihara K[†], Shiraishi C, Tang R, Hatano A, Matsumoto M, Han P, Iwasaki S, Nakayama KI* The ASC-1 complex promotes translation initiation by scanning ribosomes. *EMBO J.* e112869, (2023).

遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部 教授)

Akabane S, Watanabe K, Kosako H, Yamashita SI, Nishino K, Kato M, Sekine S, Kanki T, Matsuda N, Endo T, Oka T. TIM23 facilitates PINK1 activation by safeguarding against OMA1-mediated degradation in damaged mitochondria. *Cell Rep.* 42, 11254 (2023) doi: 10.1016/j.celrep.2023.112454

松本 雅記 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 教授)

Funasaki S, Hatano A, Nakatsumi H, Koga D, Sugahara O, Yumimoto K, Baba M, *Matsumoto M, *Nakayama KI. A stepwise and digital pattern of RSK phosphorylation determines the outcome of thymic selection. *iScience* 26(9):107552, 2023.

Kito Y, *Matsumoto A, Ichihara K, Shiraishi C, Tang R, Hatano A, Matsumoto M, Han P, Iwasaki S, *Nakayama KI. The ASC-1 complex promotes translation initiation by scanning ribosomes. *EMBO J.* 42(12):e112869, 2023.

Shiraishi C, *Matsumoto A, Ichihara K, Yamamoto T, Yokoyama T, Mizoo T, Hatano A, Matsumoto M, Tanaka Y, Matsuura-Suzuki E, Iwasaki S, Matsushima S, Tsutsui H, *Nakayama KI. RPL3L-containing ribosomes determine translation elongation dynamics required for cardiac function. *Nature Commun.* 14(1):2131, 2023.

Aoyama S, *Nishida Y, Uzawa H, Himuro M, Kanai A, Ueki K, Ito M, Iida H, Tanida I, Miyatsuka T, Fujitani Y, Matsumoto M, Watada H. Monitoring autophagic flux in vivo revealed its physiological response and significance of heterogeneity in pancreatic beta cells. *Cell Chem. Biol.* 30(6):658-71.e4, 2023.

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 教授)

*Koike R, *Ota M. Elastic network model reveals distinct flexibilities of capping proteins bound to CARML and twinfilin-tail. *Proteins in press*

Anbo H, Sakuma K, Fukuchi S, *Ota M. How AlphaFold2 predicts conditionally folding regions annotated in an intrinsically disordered protein database, IDEAL. *Biology* 12, 182 (2023).

Fukuchi S, Noguchi N, Anbo H, Homma K. Exon elongation added intrinsically disordered regions to the encoded proteins and facilitated the emergence of the last eukaryotic common ancestor. *Mol Biol Evol* 40, msac272 (2023).

*Kanematsu Y, Narita A, Oda T, Koike R, Ota M, Takano Y, Moritsugu K, Fujiwara I, Tanaka K, Komatsu H, Nagae T, Watanabe N, Iwasa M, *Maeda Y, *Takeda S. Structures and mechanisms of actin ATP hydrolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 119, e2122641119 (2022).

*Takeda S, Koike R, Fujiwara I, Narita A, Miyata M, Ota M, Maeda Y. Structural insights into the regulation of actin capping protein by twinfilin C-terminal tail. *J Mol Biol* 433, 166891 (2021)

内原 脩貴 (慶應義塾大学 薬学部 助教)

Uchihara Y, Shibata A. Regulation of DNA damage-induced HLA class I presentation. *DNA Repair* 132:103590 (2023) doi: 10.1016/j.dnarep.2023.103590.

松尾 芳隆 (東京大学 医科学研究所 准教授)

Ikeuchi K, Ivic N, Buschauer R, Cheng J, Frohlich T, Matsuoy, Berninghausen O, Inada T,

Becker T*, Beckmann R*. Molecular basis for recognition and deubiquitination of 40S ribosomes by Otu2. *Nat Commun.* 14(1): 2730. (2023)

Best K, Ikeuchi K, Kater L, Best D, Musial J, Matsuo Y, Berninghausen O, Becker T, Inada T*, Beckmann R*. Structural basis for clearing of ribosome collisions by the RQT complex. *Nat Commun.* 14(1): 921. (2023)

Tesina P*, Ebine S*, Buschauer R*, Thoms M, Matsuo Y, Inada T*, Beckmann R*. Molecular basis of eIF5A-dependent CAT tailing in eukaryotic ribosome-associated quality control. *Mol Cell.* 83(4): 607-621. (2023)

富田 野乃 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科 准教授)

Lee, M. and Takeuchi-Tomita N.* Reconstitution of Mammalian Mitochondrial Translation System Capable of Long Polypeptide Synthesis. *Methods Mol. Biol.* (2023) 2661, 233-255. doi: 10.1007/978-1-0716-3171-3_14.

古畑 隆史 (大学院薬学系研究科 薬学部 助教)

Furuhata T, Devadasan Racheal P. A. Murayama I, Toyoda U, and Okamoto A. One-Pot, Photocontrolled Enzymatic Assembly of the Structure-Defined Heterotypic Polyubiquitin Chain. *J. Am. Chem. Soc.* 2023, 145, 11690-11700.

古川 健太郎 (新潟大学 医学部 准教授)

*Fukuda T, Furukawa K, Maruyama T, Noda NN, *Kanki T. Mitofissin: a novel mitochondrial fission protein that facilitates mitophagy. *Autophagy* 19, 3019-3021 (2023).

Fukuda T, Furukawa K (co-first), Maruyama T, Yamashita SI, Noshiro D, Song C, Ogasawara Y, Okuyama K, Alam JM, Hayatsu M, Saigusa T, Inoue K, Ikeda K, Takai A, Chen L, Lahiri V, Okada Y, Shibata S, Murata K, Klionsky DJ, *Noda NN, *Kanki T. The mitochondrial intermembrane space protein mitofissin drives mitochondrial fission required for mitophagy. *Mol Cell* 83, 2045-2058.e9 (2023).

山崎 智弘 (大阪大学 大学院生命機能研究科 常勤特任講師)

*Yamamoto T, *Yamazaki T, Ninomiya K, Hirose T. Nascent ribosomal RNA act as surfactant that suppresses growth of fibrillar centers in nucleolus. *Commun Biol* Nov 7, 6, 1129 (2023) doi: 10.1038/s42003-023-05519-1

Takakuwa H, *Yamazaki T (co-first author), Souquere S, Adachi S, Yoshino H, Fujiwara N, Yamamoto T, Natsume T, Nakagawa S, Pierron G, *Hirose T. Shell composition specified by the lncRNA NEAT1 domains dictates the formation of paraspeckles as distinct membraneless organelles. *Nature Cell Biology* Nov 6, 25, 1664-1675 (2023) doi: 10.1038/s41556-023-01254-1

Ninomiya K, Yamazaki T, *Hirose T. Satellite RNAs: emerging players in subnuclear architecture and gene regulation. *EMBO J* Aug 1, 42, e114331 (2023) doi: 10.15252/emboj.2023114331

花田 耕介 (九州工業大学 大学院情報工学研究科 教授)

Takeda T, Ezoe A, Hanada K. Expression profiles in knock-down transgenic plants of high and low diversified duplicate genes in Arabidopsis thaliana. *Genes & Genetic Systems* 98 (5), 283-286 (2023)

石黒 亮 (法政大学 マイクロ・ナノテクノロジー研究センター 研究員)

Ishiguro A, Ishihama A. ALS-linked TDP-43 mutations interfere with the recruitment of RNA recognition motifs to G-quadruplex RNA. *Sci. Rep.* 13(1):5982. (2023)

Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Ito H, Sugiki T, Murata A, Ishiguro A, Gendron T, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera O, Nakatani K, Petrucci L, Taguchi H, Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in C9orf72-linked ALS/FTD. *Elife* 18;12:RP84338. (2023)

七野 悠一 (国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部 研究員)

*Ichinose T, Kondo S, Kanno M, Shichino Y, Mito M, Iwasaki S, *Tanimoto H. Translational regulation enhances distinction of cell types in the nervous system. *eLife* 12, RP90713 (2023). *Reviewed preprint.*

Yamashita A, Shichino Y, Fujii K, Koshidaka Y, Adachi M, Sasagawa E, Mito M, Nakagawa S, Iwasaki S, Takao K, *Shiina N. ILF3 prion-like domain regulates gene expression and fear memory under chronic stress. *iScience* 26(3), 106229 (2023).

† Miyake T, † Inoue Y, Shao X, Seta T, Aoki Y, Nguyen Pham KT, Shichino Y, Sasaki J, Sasaki T, Ikawa M, Yamaguchi Y, Okamura H, Iwasaki S, *Doi M. Minimal upstream open reading frame of Per2 mediates phase fitness of the circadian clock to day/night physiological body temperature rhythm. *Cell Rep* 112157 (2023).

† Chen M, † Kumakura N, Saito H, Muller R, Nishimoto M, Mito M, Gan P, Ingolia NT, Shirasu K, Ito T, Shichino Y, *Iwasaki S. A parasitic fungus employs mutated eIF4A to survive on rosglate-synthesizing *Aglaia* plants. *eLife* 12, e81302 (2023).

* Corresponding author

アウトリーチ

- 2023年2月14日 大谷中学高等学校 学部学科説明会「ミライノビラ」
模擬授業「『生命科学』の魅力」(千葉 志信)
- 2023年10月7-13日 日本科学振興協会 (JAAS) 年次大会2023 「会いにいける科学者フェス」
展示ブース「生命を支えるタンパク質はカタチがいのち-タンパク質科学の基礎から最新の話題まで」(田口 英樹)
- 2023年12月27日 名古屋大学遺伝子実験施設公開セミナー「シン・タンパク質生命科学」
「拡大生命科学会の歩き方」(太田 元規)

受賞情報

永井 義隆 (近畿大学 医学部 脳神経内科 教授)

2023年度日本神経治療学会 学会賞 (治療活動賞)

「ポリグルタミン病に対するタンパク質ミスフォールディング・凝集を標的とした治療法開発」

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42回日本認知症学会学術集会 学会奨励賞

「FUSはRNAシャペロンとしてRAN翻訳を抑制し、C9orf72関連ALS/FTDの神経変性を改善する」

第46回日本神経科学大会若手育成塾 優秀発表賞

“FUS suppresses RAN translation and neurodegeneration in C9orf72-linked ALS/FTD through modulating the higher-order structures of GGGGCC repeat RNA”

魚住 亮太 (永井班 (分担) 森グループ)(大阪大学大学院 医学系研究科精神医学 大学院生)

第42回日本認知症学会学術集会 学会奨励賞

「近接標識プロテオミクスによるC9orf72-GGGGCCリピートRNA分解タンパク質の同定」

小林 穂高 (徳島大学 先端酵素学研究所 准教授)

日本蛋白質科学会 若手奨励賞

日本蛋白質科学会 若手奨励賞優秀賞

「蛋白質合成の制御過程を細胞内1分子イメージングで見る」

七野 悠一 (国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部 研究員)

2022年度理研梅峰賞

「ウイスタンパク質による統合的ストレス応答抑制の新規機構」

編集後記

皆様のご協力のおかげで、マルチファセットプロテインズ・ニュースレター第3号を発行することができました。お忙しい中、原稿をご執筆くださいました方々に、心より感謝申し上げます。今年度から後期の公募班員の先生方が参加され、また、本領域が発足して初めて領域会議が合宿形式で行われました。北大・内藤先生をはじめ、内藤研のメンバーの皆様のご尽力のおかげで、とても快適で密度の濃い領域会議になり、心より感謝しております。ミーティングレポートや優秀ポスター賞の受賞コメントで、院生さん達の声ニュースレターに掲載できたことは、編集人としても喜ばしいことと感じております。改めまして、ご協力ありがとうございました。

コロナ禍の制約から少しずつ解放され、以前の日常が戻りつつある中、皆様の研究が変わらず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3号 2024年2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

