

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

04

2025.02



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

04 2025.02

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

C O N T E N T S

Announcement 巻頭言

田中啓二先生を悼む	1
田口 英樹 「マルチファセット・プロテインズ」領域代表	

Research 計画研究班／研究成果報告

田口 英樹 東京科学大学 総合研究院 教授	3
千葉 志信 京都産業大学 生命科学部 教授	5
永井 義隆 近畿大学 医学部 脳神経内科 教授	7
松本有樹修 名古屋大学 大学院理学研究科 教授	9
遠藤斗志也 京都産業大学 生命科学部 教授	11
松本 雅記 新潟大学大学院 医歯学総合研究科 オミクス生物学 教授	13
渡邊 力也 理化学研究所 開拓研究本部 渡邊分子生理学研究室 主任研究員	15
太田 元規 名古屋大学大学院 情報学研究科 教授	17

Meeting Report ミーティングレポート

第24回蛋白質科学会年会ワークショップ	19
2024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	21
若手ワークショップ優秀発表賞受賞者のコメント	22
マルチファセットプロテインズ国際会議2024福岡 International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics ミーティングレポート	24
国際会議優秀発表賞受賞者のコメント	29
国際会議サテライトミーティング・レポート	
京都産業大学バイオフィォーラム・タンパク質動態研セミナー	31
国際会議サテライトミーティング・レポート	
国際シンポジウム「Repeat Expansion Disorders: Unveiling New Aspects of the Central Dogma」開催報告	32
第47回 日本分子生物学会年会 シンポジウムレポート「再定義される翻訳研究の常識」	34

Information 36

活動記録 / 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

「マルチファセットプロテインズ」的なギフトあれこれ	37
---------------------------	----

Recent Publications 研究成果 39

受賞情報／編集後記	裏表紙
-----------	-----

田中啓二先生を悼む

2020年度に発足した本領域も今年度が最終年度となった。科研費種目の再編で学術変革(A)第1期だったのに加えて、コロナ禍が始まったこともあり、領域採択通知が2020年11月、キックオフミーティングが2021年1月下旬であり、実質4年ほどの活動となる。先が見通せないコロナ禍は全てオンライン活動、領域3年目後半でようやく対面での領域会議ができるようになった。ただ、そのあとは対面活動への渴望もあいまって、より活発な領域活動ができたと自負している。特に昨年9月に主催した福岡での国際会議は豪華な招待演者とともに密度の濃いミーティングとなった。詳細はp24からの千葉さんによるレポートを参照いただくとして、領域発足時には想定していなかったような新たなタンパク質の世界を参加者全員が楽しみながら活発に議論できる場となった。領域自体は今年度で終わるが、次の新たな分野の息吹が端々に見える会になったと言えよう。

その国際会議の冒頭で昨年7月23日にご逝去された田中啓二先生の追悼をさせていただいた。黙祷の際に添えた田中先生の笑顔の写真には“*The proteasome giant and all-time leader of proteostasis in Japan*”と添えさせていただいたように、田中先生のプロテアソーム研究への貢献は計り知れずここに記すまでもないであろう。田中先生には本学術変革(A)の評価委員のみならず、前身の「新生鎖の生物学」でも評価委員を務めていただき、折に触れて助言をいただいただけでなく、ご出席いただいた領域会議のあとには、「田中さんっ、新しい分野を勉強できてよかったよっ!」と常に好奇心旺盛でおられた。

もう少し個人的な思いを綴りたい。私は田中先生と研究上で直接関わったことはないが、私のキャリアのすぐそばにいつも田中先生がいた。実は、私が修士2年(東工大・吉田賢右研)で初めて学会発表したとき(1990年、生化学会、大阪)のポスター演題は「古細菌のプロテアソーム類似タ



Cell誌に掲載された田中啓二先生の追悼文と「田中先生を偲ぶ会」で列席者がもたらした田中先生マグネットコレクションの一部。



特定領域「タンパク質の一生」沖縄班会議(2003年10月)での「酪酐講演」。

ンパク質」であった。私の主テーマは好熱菌の熱ショックタンパク質を精製してフォールディングを助ける機能があるかどうか調べることだったが、田中先生のプロテアソームにインスパイアされた吉田先生がサブテーマとして出した古細菌からプロテアソームを見つける実験も並行して行っていたのである。古細菌 *Sulfolobus* からプロテアーゼ活性をもつ巨大なタンパク質複合体を探すとそれっぽい複合体が取れ、サブユニット分子量も25~30 kDだったのでプロテアソームが取れたかもしれない、と学会発表を申し込んだのだ。その直後、ハーバード大の Alfred Goldberg ラボ (田中先生が留学してプロテアソーム研究を始めたラボ) に行き実験する機会をもらった。哺乳類プロテアソーム抗体でウェスタンすると全くクロスせずがっかりし、さらに実験を進めると巨大複合体とプロテアーゼ活性が別のカラムで分離したので、結局プロテアーゼ活性は巨大複合体に結合したコンタミだったという苦い学会デビューであった¹。

直接田中先生にお目にかかったのは、1991年頃の蛋白研シンポジウムでの講演であった²。田中先生がまだ徳島大の助手時代で、プロテアソームのクローニングと配列決定を精力的に進めていた頃だ。田中先生の講演は聴衆を一気に引き込む圧倒的な内容であり、研究対象への強いパッションをあれほど強烈に間近で見たのは初めてであった。

その後、タンパク質の一生関連の会議などで一緒にする機会が増え、いつも発表後に励ましてもらっていた。2008年に田中先生が第8回日本蛋

白質科学会年会の年会長をされた際には、私を庶務幹事に指名いただき、実行委員会で何度も駒込の臨床研に出向いた。田中先生は若手育成にたいへん熱心で若手賞新設への提案に「どんどん進めなさい」と後押しいただき、適切な助言をいただいてスタートしたのが、今ではすっかり定着した蛋白質科学会での若手賞 (学生ポスター賞と若手奨励賞) である³。なお、実行委員会はたいがい16時頃からに設定されていて、まだ議題が残っている段階で田中先生が時間を気にされはじめたと思うやいなや、「会議はとりあえず中断してワインなど準備しているので飲みながら続きをやりませんか」ということで宅配ピザや寿司が配られ、おいしいワインをいただいたのも良き思い出である⁴。その後も引っ越したばかりの都医学研でセミナーさせてもらったり、佐伯泰さんのプロテアソーム研究でディスカッションさせていただいたり、いつも目にかけてもらっていたのは実に幸せなことであった。

本領域発足時めたいへん喜んでいただき、コロナ禍でリモートが明けた2022年の領域会議に来ていただいたのが最後となってしまった。田中先生には本領域でのタンパク質の世界の拡がりをもっと見ていただきたかった。あらためて、田中先生のご冥福をお祈りします。

「マルチファセット・プロテインズ」
領域代表

田口 英樹

東京科学大学 総合研究院
細胞制御工学研究センター
教授

1. その後、その「巨大複合体」は古細菌にあるシャペロニンであるということが1991年にNatureに報告され驚愕した (今で言うところの CCT/TriC)。シャペロニンに典型的な60 kDが真ん中辺りで切断されて30 kDくらいになっていたのだ。なお、古細菌のプロテアソームは私たちが研究を始める前後に Baumeister らが *Thermoplasma* にプロテアソームがあることを発見し、精力的に研究を展開した。

2. 当時勢いのある研究者が集まる魅力的な会だったので、ラボの同級生や後輩と旅行がてら車で大阪まで行ったのだ。他にも柳田敏雄先生が1分子レベルでアクチンとミオシンが動くようすをムービーで示されて仰天したのも覚えている。大成功した柳田 ERATO (1992-1997) が始まる直前で、「みなさんぜひ一緒に研究しましょう」とアジっていたのも印象的だった。

3. 若手賞以外に蛋白質科学のレジェンドによる「ストーリーレビュー」も企画して、和田昭允先生と郷信広先生にご講演いただいたが、数年続いた後になくなってしまった。

4. 次々と提供される赤ワインをつい飲み過ぎてしまうのが常であった。生涯でもっともひどい二日酔いになったのはこの実行委員会のときであり、それ以来赤ワインには気を付けている…。

01

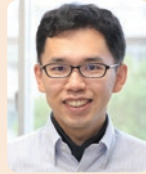
非典型的な翻訳動態の 多様性・普遍性と分子機構



研究代表者
田口 英樹
東京科学大学
総合研究院
教授



<http://www.taguchi.bio.titech.ac.jp>



研究分担者
茶谷 悠平
岡山大学
学術研究院
准教授



<https://sites.google.com/s.okayama-u.ac.jp/chadani-lab/%E3%83%88%E3%83%83%E3%83%97%E3%83%9A%E3%83%BC%E3%82%B8?authuser=0>

【背景と目的】

本領域の目標は、これまで見ていなかった多面的な（マルチファセット）タンパク質の世界を明らかにすることにある。私たちの最近の発見も含めて生命のセントラルドグマの終端である翻訳過程に大きな未開のバイオロジーがあることがわかってきた。例えば、翻訳途上の新生ポリペプチド鎖（新生鎖）によっては翻訳を途中で終了させる場合がある。このような非典型的な翻訳は翻訳レベルでタンパク質の発現・機能を制御し、プロテオームを拡張しうが、その詳細は不明である。そこで本研究では、非典型的な翻訳の普遍性、分子機構、生理機能などを領域内連携研究や新たな技術開発も行いながら解析することで、マルチファセットなタンパク質の世界の一端を開拓することを目的とした。

【研究成果1：新生鎖依存のリボソーム不安定化現象（茶谷・田口）】

私たちは、負電荷アミノ酸に富む新生鎖を合成する途上で翻訳が破綻する現象（Intrinsic Ribosome Destabilization：内因性リボソーム不安定化現象、IRDと命名）を大腸菌で発見し、その生物学的な意義も含めて2017年に報告した。さらに、領域公募班の町田らが開発したヒト因子由来の再構成型翻訳系（ヒトPUREシステム）や出芽酵母などでもIRDが起こることから、IRDはバクテリアからヒトまで共通に保存された現象であることを見出した¹。さらに、IRD由来で産生される翻訳途上産物（ペプチジルtRNA）の細胞内全体での解析にも活用できるペプチジルtRNAの大規模解析法（PETEOS法）を開発した²。ゲノムの遺伝情報の中にはIRDを誘発しタンパク質合成を途中で止め得るアミノ酸配列が多数あるが、リボソーム内部の「トンネル」において作られた新生鎖の長さや大きさによって、IRDが抑制されることがわかった（図1）³。関連して、これまで機能が明確でなかった翻訳因子ABCファミリータンパク質がIRDや翻訳アレストなど翻訳困難現象を緩和していることを発見した⁴。計画班の松本有樹修らとの共同研究により、IRDがどのような仕組みで発生するのかについて詳細に解明した⁵。

¹ Ito Y, Chadani Y et al, *Nat Commun* (2022), ² Yamakawa A et al, *Nucleic Acids Res* (2023), ³ Chadani Y et al, *EMBO J* (2021), ⁴ Chadani Y et al, *Nucleic Acids Res* (2024), ⁵ Chadani Y et al, *Cell Rep* (2023)

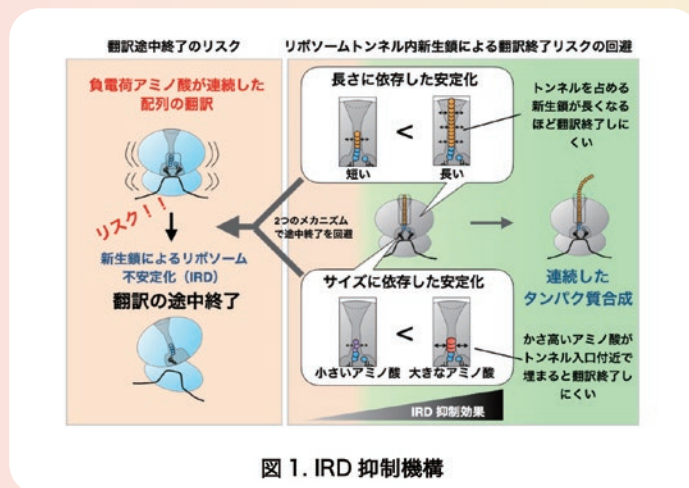


図 1. IRD 抑制機構

【研究成果2：新規翻訳アレスト配列の同定とその分子機構（茶谷・田口）】

どのようなアミノ酸配列が翻訳を強固に止める（翻訳アレスト）するのかについて全体像は明らかではない。そこで私たちは、翻訳アレスト配列を同定する統合的な手法を開発し、新たに複数の翻訳アレスト配列を見出した。その一つ、新生PepNL鎖については、翻訳アレストが起こっている新生鎖-リボソーム複合体のクライオ電子顕微鏡構造を解明し、新生PepNLはリボソームトンネル内で β ヘアピン構造を形成するというこれまでにない翻訳アレスト様式を見出した（図2）⁶。公募班（前期）の土居らとの共同研究により新たな翻訳停止配列の同定法を開発した⁷。典型的な翻訳アレスト配列であるSecMなどの翻訳停止機構について新たな知見を得た⁸。

⁶ Ando Y, Kobo A, Niwa T et al, *Nat Commun* accepted in principle (2024), ⁷ Hamano T et al, *J Biol Chem* (2024), ⁸ Kobo A et al, *J Biol Chem* (2024),

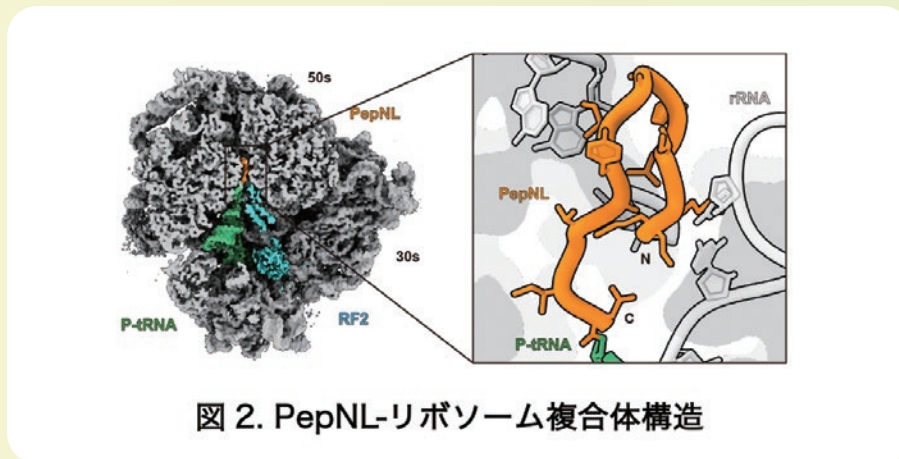


図 2. PepNL-リボソーム複合体構造

【研究成果3：RAN 翻訳の分子機構（田口）】

神経変性疾患に関与することがわかってきたリピート関連非 AUG (RAN) 翻訳の分子機構を計画班の永井、公募班の町田らと連携して進めた⁹⁻¹¹。特に、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に関与する *C9orf72* 遺伝子内の GGGGCC リピートが引き起こす RAN 翻訳 (C9-RAN) をヒト PURE システムで再現し、C9-RAN が最低限の翻訳因子だけで起こることを証明した⁹。他にも脊髄小脳変性症 36 (SCA36) に関与する *NOP56* 遺伝子内の GGCCUG リピートによる RAN 翻訳についても詳細な解析を行った¹⁰。典型的な翻訳アレスト配列である SecM などの翻訳停止機構について新たな知見を得た⁸。

⁹ Ito H et al, *Sci Rep* (2023), ¹⁰ Hasumi M et al, submitted (2024), ¹¹ Fujino Y et al, *Elife* (2023)

【研究成果4：small Hsp による翻訳レベルでの発現制御機構の発見（田口）】

低分子量熱ショックタンパク質 (small Hsp) はバクテリアからヒトまで保存される普遍的なシャペロンであり、高温で変性しつつあるタンパク質と共凝集体を形成して不可逆な凝集形成を防ぐことが知られている。大腸菌の small Hsp の IbpA の発現制御機構を調べたところ、IbpA は自らの mRNA と相互作用して平常時は自身の翻訳を抑制するが、熱ストレス時にはその抑制が解除されて発現がオンになるというこれまでの Hsp の常識とは異なる新規の生理機能を明らかにした^{12,13}。IbpA が有する翻訳レベルでの発現制御機構は、small Hsp のみならず、Hsp 全般の発現を制御する転写因子 σ^{32} にも関わっていることを発見した¹⁴。

¹² Miwa T et al, *Mol Microbiol* (2021), ¹³ Cheng Y et al, *J Biol Chem* (2023), ¹⁴ Miwa T and Taguchi H, *Proc Natl Acad Sci USA* (2023)



02

機能性翻訳途上鎖の生理機能と分子機構



研究代表者
千葉 志信

京都産業大学
生命科学部
教授



<https://www.cc.kyoto-su.ac.jp/~k4563/index-j.html>



研究分担者
内藤 哲

北海道大学大学院
農学研究院
教授



<http://lab.agr.hokudai.ac.jp/arabi/>

【背景と目的】

機能性翻訳途上鎖（アレストペプチド）は、細胞内環境に应答して、翻訳の途上で自身の翻訳伸長や終結を停止（アレスト）、もしくは、翻訳アレストを解除することで、遺伝子発現をフィードバック制御し、細胞機能を調節する。これらは、翻訳アレストという非典型的な翻訳動態を介し、翻訳途上鎖の状態では生理機能を発揮する点で、典型的なタンパク質と大きく異なる。機能性翻訳途上鎖の生理機能や分子機構の理解は、非典型翻訳動態の分子機構を理解する上でも重要であり、また、タンパク質の機能発現様式の多面性を理解することを目指す本領域のコンセプトとも合致する。本研究課題では、代表者・千葉が真正細菌由来の機能性翻訳途上鎖を、また、分担者・内藤が真核生物由来の機能性翻訳途上鎖をそれぞれ担当し、様々な生物種類由来の機能性翻訳途上鎖の生理機能と分子機構の解明を目指した。

【研究成果：千葉担当分】

タンパク質局在化経路をモニタリングする機能性翻訳途上鎖は、2001年に発見された大腸菌 SecM 以来、枯草菌 MifM (2009年)、海洋性ビブリオ菌 VemP (2015年) の3種類しか見つかっていなかった。これらの中で、翻訳アレストに必要なアミノ酸配列に類似性がなく、また、それぞれが、非常に限られた生物種にのみ狭く保存されていた。そのため、真正細菌界全体を見たときに、機能性翻訳途上鎖がどれほど普遍的で、また、その機能や分子機構がどれほど多様であるのかについては、ほとんど知見がなかった。

本研究では、多様な細菌を対象とした大規模なスクリーニングから、20種以上の新規アレストペプチドを同定することに成功し、その進化的な普遍性と機能的な多様性を明らかにした（文献^{1,2}、および未発表）。また、遺伝学、生化学、構造生物学的な解析から、複数のアレストペプチドが共有する新規のアレスト機構を解明した^{3,4}。その概要を以下に記す。

本研究では、まず、本領域が開始される直前に我々が同定した3つのアレストペプチド（放線菌 ApcA、ApcD、根粒菌 ApcP）に着目し、解析を行った。既知のアレストペプチドと異なり、これらは、C末端付近に類似のアミノ酸配列を共有していた（ApcAはRAPG、ApcD、ApcPはRAPP）。変異解析などを行った結果、配列保存性の高いC末端 RAPP 様配列および、そこに隣接し、配列や長さの多様なN末端隣接領域の両方がアレストに重要であることが示された¹。RAPP 様配列の重要性が共通していたことから（文献¹および未発表）、共通の分子機構が想定されたが、実際、ハンブルク大・Daniel Wilson らとの共同研究では、ApcD、ApcP の RAPP 配列が、リボソーム内で同一の構造をとること、一方で、N末端隣接領域は異なる構造をとることがそれぞれ示された³。また、これらの因子が新規の分子機構でアレストを起こすことも提唱された。さらに、C末端に RAGP 配列を持つ SecM との分子機構における類似性も、変異解析（未発表）、および構造解析から示された^{3,4}。一方、30,000以上のバクテリアゲノムを対象とした大規模なバイオインフォマティクス解析を行い、新たに20種近いアレストペプチドを新規に同定した²（図1、および未発表）。その結果は、多種にわたる真正細菌が、アレストペプチドを介してタンパク質局在化経路をモニタリングする機構を持つこと、中でも、RAPP 様配列を介した共通のし

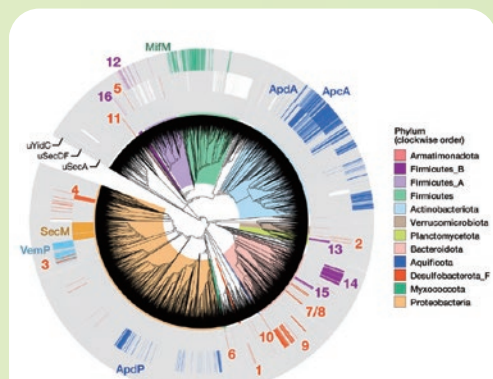


図1 アレストペプチドの系統分布：RAPP様配列を持つ新規アレストペプチド（1-11）および、新規アレスト配列を持つもの（12-16）

くみを採用するものが多く見られること、一方で、新規のアレスト配列を介した分子機構が存在することなどを示唆するものであった²。さらに、RAPP様配列をC末端付近に持つタンパク質の探索から、タンパク質局在化経路以外の多様な細胞機能に関与するアレストペプチドが細菌に広く存在することも分かりつつあり、真正細菌が多様な機能を持つ機能性翻訳途上鎖をパラレルに進化させてきた証拠が得られつつある（未発表）。

以上のように、本研究は、細菌の機能性翻訳途上鎖の機能、分子機構、進化を、細菌界全体を俯瞰した形で捉え、理解することを可能にし、機能性翻訳途上鎖研究を大きく進展させた。また、新規機能を持つアレストペプチドの発見への筋道を示すことで、今後の機能性翻訳途上鎖研究の発展にも繋がる成果となった。

¹Sakiyama et al (2021) *Nucleic Acids Res.* ²Fujiwara et al. (2024) *Nat. Commun.* ³Morici et al., (2024) *Nat. Commun.* ⁴Gersteuer et al. (2024) *Nat. Commun.*

【研究成果：内藤担当】

小胞体ストレス応答に関わる転写制御因子である酵母HAC1、動物XBP1、およびシロイヌナズナbZIP60は、いずれも小胞体膜での細胞質スプライシングにより読み枠がズレることで活性化される。しかしながら、3者の遺伝子構造は保存されておらず、小胞体輸送メカニズムはHAC1（3'-UTRが関与）とXBP1（翻訳アレストと共役）で異なり、植物では未解明である。そこで、コムギ胚芽の無細胞翻訳系で翻訳アレストを解析した（図2）⁵。

シロイヌナズナ、イネ、イヌカタヒバ（下等シダ類）、およびヒメツリガネゴケ（セン類）のオルソログで翻訳アレストが検出され、少なくともシロイヌナズナとイヌカタヒバでは細胞質スプライシングと関連していた。シロイヌナズナ、イネ、およびヒメツリガネゴケでは翻訳アレストが翻訳伸長過程で起こるのに対して、イヌカタヒバでは翻訳終止段階で起こるなど、同じ生理現象に関わるのに、アレストの「方策」が異なるのは興味深い。一方、ゼニゴケ（タイ類）や藻類のオルソログでは翻訳アレストは検出されず、bZIP60転写因子の活性化に翻訳アレスト以外のメカニズムが作用していることが考えられた。

⁵Imamichi et al (2024) *Nucleic Acids Res.*

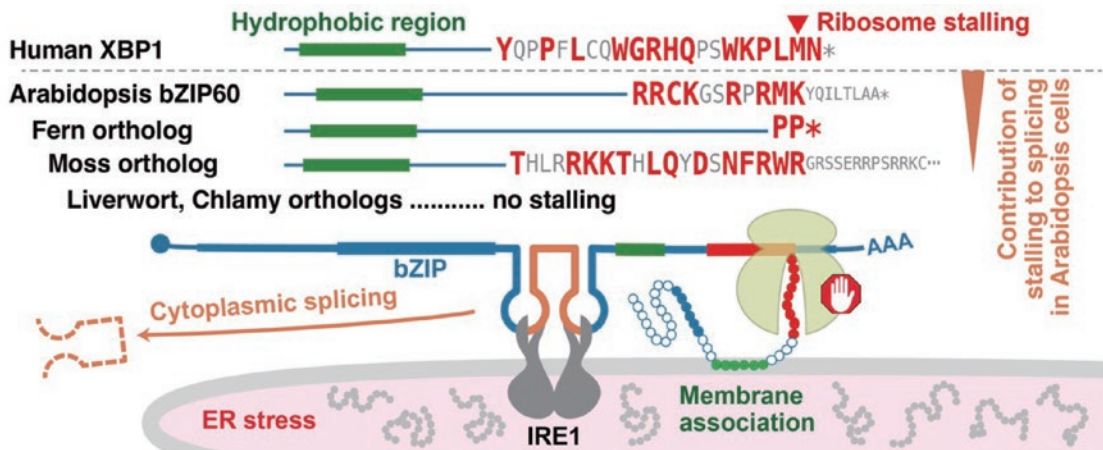


図2 bZIP60オルソログにおける翻訳アレスト

03

新規 AUG 非依存性 RAN 翻訳の分子機構と
その神経変性病態における役割

研究代表者

永井 義隆

近畿大学
医学部 脳神経内科
教授<https://www.med.kindai.ac.jp/neuro/>

研究分担者

森 康治

大阪大学大学院
医学系研究科
精神医学
講師<https://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/psy/>

【研究成果】

近年のゲノム解析技術の飛躍的な進展により、遺伝子非翻訳領域内の様々なリピート配列の異常伸長変異が、家族性筋萎縮性側索硬化症 / 前頭側頭型認知症 (ALS/FTD) や様々な脊髄小脳失調症 (SCA)、筋強直性ジストロフィーなど30以上の遺伝性神経・筋疾患の原因として見つかり、これらはノンコーディングリピート病と総称されている。これらの疾患では、異常伸長リピート配列を含む変異RNAが形成するRNA fociを介したRNA毒性メカニズムが研究されてきたが、近年変異リピートRNAを鋳型としてリピート関連AUG非依存性 (RAN) 翻訳によりリピートペプチドが産生されることが発見され、これらが神経毒性を発揮することが明らかにされた。しかしながら、RAN翻訳の分子メカニズム、そしてRAN翻訳リピートペプチドによる神経変性メカニズムは全く未解明である。

本計画研究では、RAN翻訳の分子メカニズムとそれに伴う神経変性メカニズムを解明することを目的として、研究代表者の永井グループでは主に分子生物学的解析とショウジョウバエモデルを用いた *in vivo* 解析を行い、研究分担者の森グループでは主に培養細胞モデルを用いた解析を行い、両グループが相補的に研究を推進して、以下のような成果を挙げた。

1) hnRNPA3によるGGGGCCリピートRNAの減少を介したC9-ALS/FTDモデルショウジョウバエに対する治療効果

C9orf72遺伝子GGGGCCリピートの異常伸長変異を原因とするC9orf72連鎖性ALS/FTD (C9-ALS/FTD) の病態解明、治療法開発を目指して、C9-ALS/FTDモデルショウジョウバエを用いた遺伝学的解析を行った。まず、GGGGCCリピートRNAに結合することが報告されている約20種類のRNA結合タンパク質 (RBP) を過剰発現するショウジョウバエを作製し、C9-ALS/FTDモデルショウジョウバエとの遺伝学的交配を行った。その結果、hnRNPA3、IGF2BP1、hnRNPA2B1、hnRNPR、SF3B3などのRBPがGGGGCCリピートRNAを減少させて、複眼変性を抑制することを明らかにした。このうちhnRNPA3は森らが培養細胞でGGGGCCリピートRNAの安定性に関わることを報告しており、ショウジョウバエモデルでの過剰発現により、RNA fociおよびRAN翻訳は減少して神経変性は抑制され、hnRNPA3オルソログであるHrb87FのノックダウンによりGGGGCCリピートRNAが増加して、複眼変性が増悪することを明らかにした (Taminato et al, *Hum Mol Genet* 2023)。

2) FUSによるGGGGCCリピートRNAの構造制御を介したRAN翻訳の抑制によるC9-ALS/FTDモデルショウジョウバエに対する治療効果

上記1)でのGGGGCCリピートRNA結合RBPのスクリーニングから、FUSはGGGGCCリピートRNAの発現量には影響を与えずに、RAN翻訳および複眼変性を抑制することを見出した。そしてFUSオルソログであるCazのノックダウンによりRAN翻訳が増加して、複眼変性が増悪することを示した。さらに森グループや領域代表の田口、公募班員の石黒らの協力を得て *in vitro* での結合解析、円偏光二色性分散、翻訳解析を行い、FUSはGGGGCCリピートRNAのグアニン四重鎖構造を解きほぐしてRAN翻訳を制御することを明らかにした。また、RNAグアニン四重鎖構造を標的とするEWSR1、DDX3X、DDX5、DDX17などのRBPが同様にRAN翻訳および複眼変性を抑制することを示した。以上の結果から、FUSはグアニン四重鎖構造を標的としてRAN翻訳を制御するRNAシャペロンとして働き、神経変性を抑制すると考えられた (Fujino et al, *eLife* 2023)。

3) その他

公募班員の石黒との共同研究にて、FUSにおけるALS連鎖変異によりグアニン四重鎖構造RNA依存的な液-液相分離の平衡が崩れて、液-固相転移を引き起こすことを明らかにした (Ishiguro et al, *J Biol Chem* 2021)。また、領域代表の田口との共同研究にて、精製翻訳因子を用いたGGGGCCリピートRNAからのin vitro RAN翻訳実験系を樹立した (Ito et al, *Sci Rep* 2023)。

【研究分担者：森康治 (大阪大学・大学院医学系研究科 精神医学 講師)】

C9-ALS/FTDの病態解明、治療法開発を目指して、研究代表者の永井グループと共同して研究を行った。分担者のグループでは主に培養細胞系およびin vitro 合成リピートRNAやウサギ赤血球ライセートによるin vitro 翻訳系を用いた解析を、以下のような成果を挙げた。

1) C9-ALS/FTDモデル培養細胞系やウサギ赤血球ライセートによるin vitro系においてポルフィリン誘導体TMPyP4が、GGGGCCリピートRNAに結合し、GGGGCCリピートRNAをテンプレートとするRAN翻訳をその伸長段階で阻害することを示した (Mori et al, *J Biol Chem* 2021)。

2) C9-ALS/FTDモデル培養細胞系において翻訳開始因子の一つであるeIF5がそのGTPase activating protein (GAP) 活性を介してGGGGCCリピートの5'側上流に位置する特定のCUGコドンからのRAN翻訳の開始を促進していることを明らかにした。さらに研究代表者の永井グループとの共同研究によりC9-ALS/FTDショウジョウバエモデルにおいてeIF5をノックダウンするとpoly-(Gly-Ala)リピートタンパク質の発現が低下することも確認し、eIF5がpoly-(Gly-Ala)フレームRAN翻訳における内因性の調整因子であることを示した (Gotoh et al, *J Biol Chem* 2024)。

3) hnRNPA3はGGGGCCリピートRNAと結合し、その不安定化に関与するが、詳細な機序は不明であった。そこで近接バイオチン化法と質量分析によりhnRNPA3に近接するタンパク質を網羅的に探索し、PABPC1を同定した。PABPC1ノックダウンによりC9-ALS/FTDモデル培養細胞やC9-ALS/FTD患者由来線維芽細胞でRNA fociが増加した。さらにGGGGCCリピートRNA存在下において、PABPC1はhnRNPA3と近接した。またこのときPABPC1は3' exonucleaseであるRNAエクソソーム複合体とも近接した。以上より、PABPC1がhnRNPA3およびRNAエクソソーム複合体との相互作用を介してGGGGCCリピートRNAの分解に関与することを示した (Uozumi et al, *iScience* 2024, Uozumi et al, *STAR Protoc.* 2024)。

04

ノンコーディングRNAから産生される タンパク質の生理機能



研究代表者
松本 有樹修
名古屋大学
大学院理学研究科
教授



<https://ger.sub.jp/index.html>

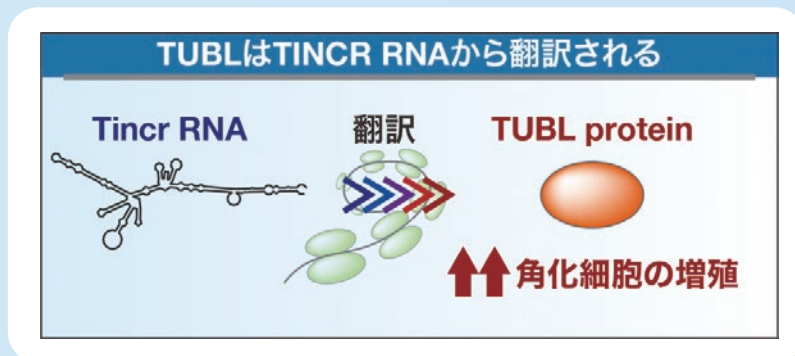
【研究成果】

Long non-coding RNA (lncRNA) の定義は「タンパク質をコードしない200塩基以上のRNA」とされているが、実は100アミノ酸残基以下の小さなOpen Reading Frame (ORF) を持つと予測されるものも多い。これまでに質量分析計を用いて、lncRNAに存在する小さなORFから翻訳される新規タンパク質を同定し、それらが重要な機能を持つことを明らかにした [Matsumoto et al., *Nature* 541: 228-232 (2017)]。すなわち、これらlncRNAは「ノンコーディング」ではなく、「コーディング」RNAであり、存在すらしないと思われていた未開拓のタンパク質を翻訳している。このような新規タンパク質は、これまで見逃されてきた新たな機能性のタンパク質であり、原因不明のさまざまな疾患に関与している可能性が考えられる。そこで、lncRNA由来新規タンパク質をさらに同定し、それら新規タンパク質に対する結合タンパク質の同定やノックアウトマウスの解析などを行い、それらの生理機能を明らかにしていくことを目標とした。これまでに、皮膚の再生を促進するTUBLと、精子の機能に必須なKastorとPolluksという、lncRNAと思われていたRNAから翻訳される新規ポリペプチドを同定し、それらの機能を明らかにした [Nita A. et al., *PLOS Genet.* 17: e1009686 (2021)] [Mise S. et al., *Nat. Commun.* 13: 1071 (2022)]。

【皮膚の再生を亢進する新規ポリペプチドTUBLを同定した】

進化的に保存されているlncRNAについて、ORF領域の存在をin silicoで評価した。その結果、皮膚特異的なlncRNAとして知られていたTINCRにおいて、その一部の領域が高度に保存され、さらにその領域が翻訳された場合のアミノ酸配列を予測すると、ユビキチン様ドメインを持つことが明らかとなった。そこで、このTINCR RNAから翻訳されるタンパク質をTINCR-encoded ubiquitin-like protein (TUBL) と名付けた。

実際に、TUBLタンパク質が産生されるかを評価するために、TUBLタンパク質領域の末端にタグ配列を挿入したノックインマウスを作製してTUBLタンパク質の存在を確認した。次に、TUBLを過剰発現した角化細胞を用いてRNAシーケンスを行うと細胞周期関連遺伝子の発現上昇が認められ、細胞周期が亢進していることが明らかとなった。RNAの構造は全く異なるが、同一のタンパク質を翻訳するような変異体を作製して細胞周期解析を行ったところ、RNAの構造は関係なく、TUBLタンパク質の機能により、角化細胞の細胞周期が亢進していることが明らかとなった。次に、TUBLノックアウトマウスを作製し、表皮の遺伝子発現パターンをRNAシーケンスで評価したところ、TUBLノックアウト初代角化細胞では、過剰発現細胞とは逆に細胞周期関連遺伝子の発現低下と細胞周期の遅延が認められた。そこで、マウスの皮膚の損傷実験を行い、皮膚の損傷からの治癒を経時的に評価すると、TUBLノックアウトマウスの皮膚では、損傷治癒が遅延することが明らかとなった。最後に、TUBLタンパク質の機能を評価するために、TUBLと結合するタンパク質を網羅的に



同定した。その結果、TUBLはタンパク質分解酵素であるプロテアソームの構成因子と複結合することが明らかとなった。以上の結果より、TUBLタンパク質はプロテアソームに結合することで、角化細胞の増殖を制御している可能性が示唆された。

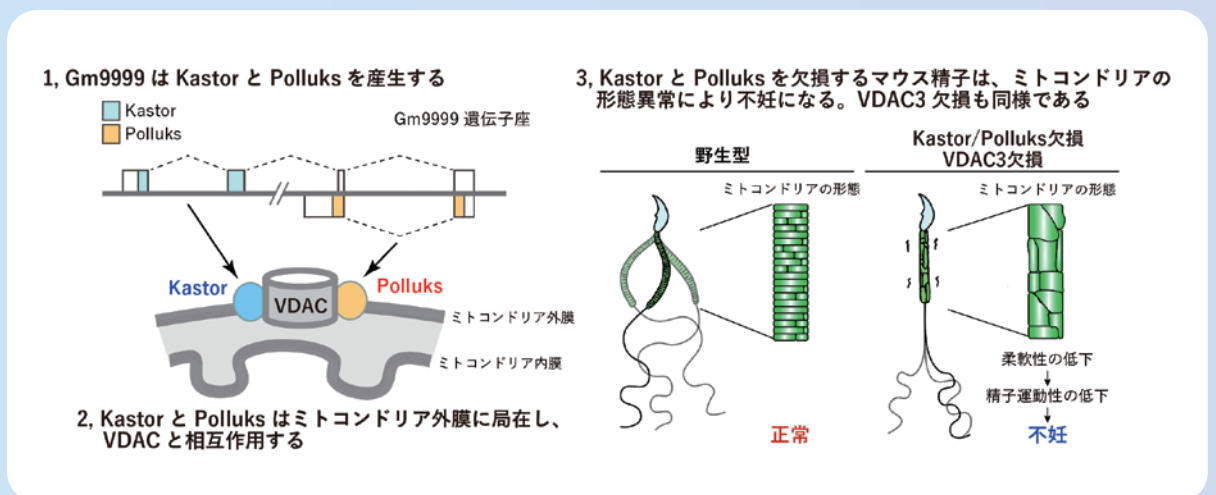
本研究結果により、これまでノンコーディングRNAと考えられていたTINCRが、実際はTUBLタンパク質を産生しており、TUBLタンパク質は皮膚角化細胞の細胞周期を亢進させていることが明らかとなった。TINCRは皮膚以外の臓器において、がんで高発現するという報告もあり、これはTUBLタンパク質の高発現によるものである可能性が考えられる。今回の発見は、皮膚の再生や種々の臓器でのがん治療の一助となることが期待される。

【新規ポリペプチドKastorとPolluksの欠損は不妊になる】

精巣特異的に発現することが知られているlncRNAについて、タンパク質が産生される可能性を探索した結果、Gm9999遺伝子を候補の遺伝子として見出した。興味深いことに、Gm9999は1つの遺伝子座から2種類の小さなタンパク質を産生する可能性が示唆され、これらのタンパク質をKastorとPolluksと名付けた。Kastorタンパク質とPolluksタンパク質が本当に産生されているのかを検証するために、KastorとPolluksタンパク質の末端にタグ配列をもつノックインマウスを作製し、KastorとPolluksタンパク質が存在することを証明した。さらに、KastorとPolluksの機能を推定するためにKastorとPolluksの結合タンパク質を探索したところ、KastorとPolluksは共に電位依存性アニオンチャンネル(VDAC)と結合していることが分かった。同一遺伝子座から翻訳される、アミノ酸配列が異なる2つのポリペプチドが、どちらも同じ分子(VDAC)に強く結合するという事は、予想外の結果であった。

VDAC3欠損マウスは、精子ミトコンドリア鞘の形態異常により精子の運動性が低下し、雄性不妊になることが知られていた。そこで、KastorとPolluksの両方を欠損するマウスを作製したところ、VDAC3欠損マウスと同様に、雄性不妊を示した。さらに、走査電子顕微鏡を用いてこれらの精子ミトコンドリア鞘を観察したところ、KastorとPolluksの両方を欠損する精子ミトコンドリアも、明らかな形態異常を示し、この形態異常はVDAC3を欠損した精子ミトコンドリアと非常に類似していた。このミトコンドリアの形態異常は精子の運動性の低下を引き起こし、その運動異常によって最終的に不妊になることが分かった。以上の結果から、KastorとPolluksがVDAC3依存性のミトコンドリア鞘形成に必須な役割を果たし、それが雄の生殖機能に必要であることが分かった。

本研究では、これまでlncRNAと思われていたGm9999が、実はKastorとPolluksという2種類の小さなタンパク質を産生しており、それらが精子ミトコンドリアの形態制御を担っていることを明らかにした。KastorとPolluksは共にヒトを含む哺乳類に広く保存されており、これらの生物では、共通した機能を持つと考えられる。精巣特異的な遺伝子の機能解析は、男性不妊の原因解明だけでなく、これらを標的とした避妊薬の開発への展開が期待される。



05

細胞内タンパク質の多重局在と
その制御機構の解明研究代表者
遠藤 斗志也京都産業大学
生命科学部
教授<https://endolab.jp/wp/>研究分担者
松本 俊介九州大学
農学研究院
助教<https://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/seibutsukagaku/index.html>

【Spf1によるERに誤配送されたミトコンドリアタンパク質の再配送】

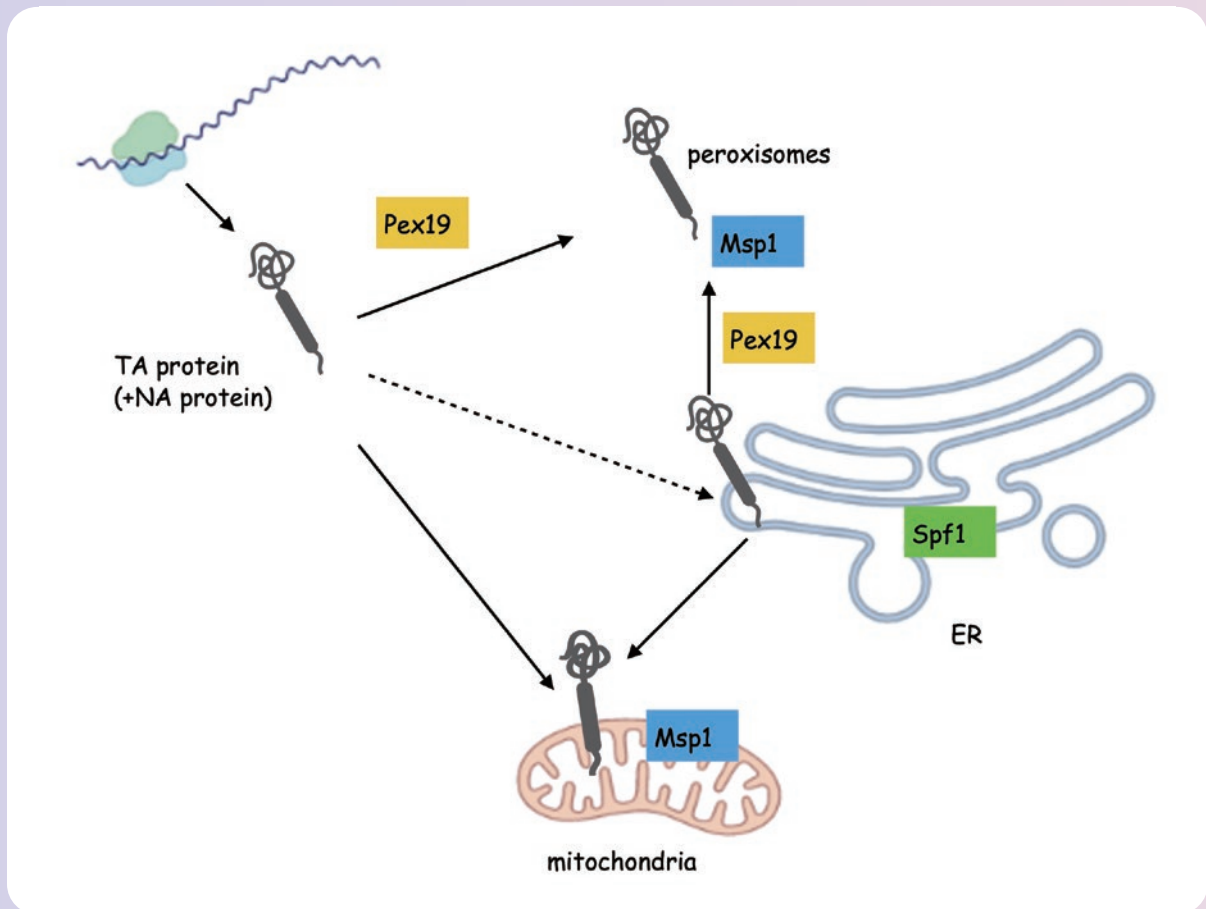
細胞内のタンパク質配送は正確に行われ、配送に失敗したタンパク質はただちに分解除去されるものと考えられてきた。しかし最近当研究室の発見を含め、タンパク質の誤配送は一定の確率で起こり、誤配送タンパク質には配送のやり直しをする機会がありうること、「配送の品質管理」の機構があることがわかってきた。ミトコンドリアに誤配送されたテールアンカー (TA) タンパク質は、ミトコンドリア外膜のAAA-ATPアーゼのMsp1が膜から引き抜き、これがサイトゾルのGETシステムの助けによりERに移行、ERで分解されるか配送をやり直すかが決まる (Matsumoto, Ono *et al.*, *JCB*, 2022)。一方、酵母ER膜のP-type ATPアーゼSpf1が欠損すると、ミトコンドリア外膜のTAタンパク質や一部のNアンカータンパク質がERに誤局在する。さらに誤配送基質の発現をオフにしてからSpf1の発現を誘導すると、誤配送されたミトコンドリア外膜タンパク質がERから減少し、ミトコンドリアへの局在が回復することを見出した。様々なミトコンドリア外膜タンパク質についてSpf1欠損に伴うERへの誤局在の有無を調べたところ、ミトコンドリア上で複合体をつくるタンパク質はERに誤局在しにくかったことから、複合体をつくらずにミトコンドリア外膜からサイトゾルに抜けやすいタンパク質が確率的にERに誤局在することが考えられた。一方で、新規合成されたNアンカーミトコンドリア外膜タンパク質も、過剰発現するとSpf1欠損株ではいったんERに蓄積すること、蓄積したNアンカータンパク質はSpf1を発現すると本来の目的地であるミトコンドリアに移行することが分かった。さらにSpf1が存在する野生型株でも、新規合成直後にNアンカーミトコンドリア外膜タンパク質の一部はERに移行し、それが次にミトコンドリアに移行することがわかった。ミトコンドリア外膜タンパク質のERへの誤配送は、SRP経路など既存のERへのターゲティング経路には依存しなかった。したがって、ミトコンドリア外膜のTAタンパク質や一部のNアンカータンパク質は、ミトコンドリアへの局在経路が曖昧であるためERへの誤配送が起こりやすく、これらのタンパク質のミトコンドリアへの正しい局在化は、Spf1によって誤配送タンパク質がER膜から引き抜かれて配送やり直しを行うことで実現することが考えられた。

【Msp1, Spf1によるペルオキシソームタンパク質の再配送 (遠藤・松本)】

Msp1は一部がペルオキシソーム膜にも存在する。ペルオキシソームのTAタンパク質Pex15は、Pex19-Pex3経路でペルオキシソームに局在することが知られている。Pex19をオーキシシニデグロン (AID) 法により急速分解すると、新規合成されたPex15はミトコンドリアに誤配送される。誤配送されたPex15はミトコンドリアのMsp1によって引き抜かれ、Pex19が発現するとPex19-Pex3経路で再びペルオキシソームに戻ることが分かった。Pex19もSpf1も存在しない場合は、Pex15はERに誤局在するが、Spf1を発現させるとミトコンドリアに誤配送される。しかしこのときPex19が発現すると、ERに誤配送されたPex15はミトコンドリアではなくペルオキシソームに戻ることが分かった。このように、ミトコンドリア、ER、ペルオキシソーム間でのタンパク質の正しい局在には、Pex19のようなターゲティング因子とMsp1やSpf1のような配送やり直しを担う因子の存在が重要であることが明らかになった。

【クライオ電子顕微鏡を用いたMsp1/ATAD1による基質膜引き抜き機構の解析 (松本)】

Msp1がどのようにして誤配送タンパク質を認識し、膜から引き抜くのかという問いを解明するために、松本らは耐熱性酵母*Kluyveromyces marxianus*由来Msp1とゼブラフィッシュ由来ATAD1 (Msp1のホモログ) について、クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析を行った。Msp1/ATAD1は、N末端に1つの膜貫通配列と1つのAAAドメインから構成されている。松本らは、Msp1とATAD1の膜貫通配列を除いた可溶性領域のクライオ電顕構造を2.9~3.2 Å分解能で決定した (いずれもらせん階段状のホモ6量体構造)。これらの構造 (一部は基質ペプチドの密度を含む) に基づき、Msp1/ATAD1は螺旋階段様に集合することで基質を取り巻きながら把捉する。次にM5-M6サブユニット間のATP加水分解によって基質から最も離れたM6サブユニットが解離し、ATPを取り込みながら新しいM1サブユニットへの交換が起こる。このサイクルを繰り返すことで、Msp1/ATAD1は誤配送タンパク質の膜からのプロセッシブな引き抜きを可能にしていることが明らかになった。



06

未開拓プロテオームの同定・
定量技術の開発

研究代表者
松本 雅記

新潟大学大学院
医歯学総合研究科 オミクス生物学
教授



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

【研究成果】

近年、ゲノム情報の整備と質量分析計の高性能化によって一度に数千のタンパク質発現情報を取得できるようになった。その一方で、ゲノムが内包するプロテオームの実体は未だ不明瞭である。特に、近年、ノンコーディングRNAからの翻訳や、異常スプライシング、翻訳途上終結、ストップコドンのリードスルー、RAN翻訳などさまざまな非典型的翻訳が見出されており、ゲノムには隠された広大な未開拓プロテオームの存在が示唆されている。これら未知タンパク質の同定には大規模に取得したペプチドのMS/MSスペクトルを核酸配列から想定されるアミノ酸配列に照合する、いわゆる探索型のプロテオゲノミクスが行われているが、このようなアプローチでは、ペプチド同定の信頼性の担保が極めて困難である。本計画研究では、未開拓プロテオームの実体解明に資する「仮説駆動型プロテオゲノミクス」技術基盤を確立するとともに、プロテオームの特性や機能を包括的に理解するための様々な機能プロテオミクスの手法を開発し、これらを組み合わせることでプロテオームの性質や機能の理解を目指した。

1) ハイスループット定量プロテオミクスのための技術基盤の構築

短時間で多数のタンパク質を高い精度で定量でき、かつ高い堅牢な質量分析システムを構築した。本システムを用いて、松本(有)班と共同でRpl31ノックアウトマウスにおける心臓の発現プロテオーム解析を実施し、心筋収縮や拡張型心筋症に関連するタンパク質の発現量変化を見出した(Tateishi C. *Nat. Commun.* 2023)。次に、タンパク質抽出なしにペプチド試料調製を可能とする新技术を開発し、プロテオーム試料調製の大幅な合理化に成功した(Hatano A. et al. *J. Biochem.* 2023)。本方法を利用して、オートファジーの不均一性に基づいてセルソーターで分離した微量細胞におけるプロテオーム解析を行い、オートファジー活性の強弱がプロテオームに与える影響を明らかにした(Aoyama Y. et al. *Cell Chem. Biol.* 2023)。さらに、マルチウェルプレート上に固定した細胞を用いて、さまざまなプロテオーム解析を可能とする技術を構築した(投稿準備中)。

2) 仮説駆動型プロテオゲノミクスの構築

複数の消化酵素を用いてタンパク質N末端を行う技術と新規仮説駆動型データ解析法を組み合わせることで網羅性と信頼性の高いN末端解析プラットフォームを構築した。本法では、1プロテオームあたり5,000程度の既知N末端を同定可能であり、総計10,000におよぶタンパク質N末端を検出可能であり、1200を超える非典型翻訳産物を同定することに成功した(投稿準備中)。

これら新規ORFに由来するタンパク質の発現をより高い信頼性で評価するために、内部標準を用いた絶対定量系が有効である。これまでに大規模なタンパク質絶対定量法であるiMPAQT(in vitro proteome assisted mass spectrometry for protein absolute quantification)を構築しているが、本法は標準的なタンパク質のみを対象としており、非典型翻訳等に由来するタンパク質を対象とするにはより自由度の高いプラットフォームが必要となる。そこで、任意の同定されたペプチドを連結した人工タンパク質をデザインし、これを用いて安定同位体標識体を大腸菌(アミノ酸合成経路欠変異株)にて生合成する系を構築した。それぞれの連結体には識別・定量するために定量タグ(QuantiCode)を付加し、正確かつ容易に絶対定量を実施可能とした(Igami K. et al. *Life Sci. Alliance* 2024, Johmura et al. *Science*, 2021)。

3) 未開拓プロテオームを含むタンパク質機能の包括的解析基盤の確立

機能未知のタンパク質を理解するためには、プロテオームワイドにさまざまなタンパク質機能や特性を計測する技術の構築が必須である。そこで、プロテオームワイドにタンパク質の動態や機能を解析する技術の構築に取り組んだ。まず、タンパク質の局在とタンパク質の動態の関係性を調べるために、pulsed SILC (pSILAC) 法によるターンオーバー解析とクロマチン濃縮法や化学分画法などの生化学的タンパク質分画を組み合わせて、同一タンパク質であってもそのターンオーバーが局在によって大きく異なることを見出した。さらに、翻訳後修飾の網羅的計測技術も構築し、T細胞シグナル伝達におけるアナログ-デジタル変換の分子実体の解明 (Funasaki et al. *iScience*, 2023) や酸化ストレスによるタンパク質システインのレドックス状態の計測を行った (Kobayashi et al, *bioRxiv*, 2024)。

業績

- 1) Kobayashi D, Takami T, *Matsumoto M. Data-independent acquisition (DIA)-based label-free redox proteomics (DIALRP) reveals novel oxidative stress-responsive translation factors, *bioRxiv*, 2024.
- 2) Igami K, Kittaka H, Yagi M, Gotoh K, Matsushima Y, Ide T, Ikeda M, Ueda S, Nitta SI, Hayakawa M, Nakayama KI, Matsumoto M, Kang D, Uchiumi T. IMPAQT reveals that adequate mitohormesis from TFAM overexpression leads to life extension in mice. *Life Science Alliance*, 7(7):e202302498, 2024.
- 3) 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.
- 4) Shiraiishi 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.
- 5) 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.
- 6) Hatano A, Takami T, *Matsumoto M. In situ digestion of alcohol-fixed cells for quantitative proteomics. *J Biochem.*, 173(4):243-54, 2023.
- 7) Johmura Y, Yamanaka T, Omori S, Wang T, Sugiura Y, Matsumoto M, Suzuki N, Kumamoto S, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Takami T, Yamaguchi R, Shimizu E, Ikeda K, Okahashi N, Mikawa R, Suematsu M, Arita M, Sugimoto M, Nakayama KI, Furukawa Y, Imoto S, Nakanishi M. Senolysis by glutaminolysis inhibition ameliorates various age-associated disorders. *Science* 371(6526): 265-70, 2021.

07

未開拓タンパク質の1分子計測技術・デバイス開発



研究代表者
渡邊 力也

理化学研究所
開拓研究本部 渡邊分子生理学研究室
主任研究員



<https://nanobio.riken.jp/index.html>

【はじめに】

近年、工学技術の深化に伴い、1分子生物物理学はその基礎・応用の両面において大きな発展を見せている。そこで、本研究では、微細加工技術、自動ロボット技術などを駆使することで、タンパク質の機能を全自動かつ高い分解能で計測できる新技術を開発し、未開拓タンパク質へと応用することを目指した。

【マイクロチップを用いた全自動1分子計測装置の開発】

従来の1分子計測は熟練された技術が必要とするため、データ取得のスループットなどに問題を抱え、汎用性を拡張することが困難であった。そこで、本研究では、1分子計測の汎用化に資するべく、マイクロチップを用いたタンパク質の1分子計測を例として、それらの全自動化を目指した。具体的には、自動分注ロボットと蛍光顕微鏡を組み合わせたともに、相互通信系を実装することで、試料の調整から、マイクロチップへの導入、タンパク質機能の1分子蛍光検出に至る全工程の自動化に成功した(図1、参考文献1, 2, 3)。

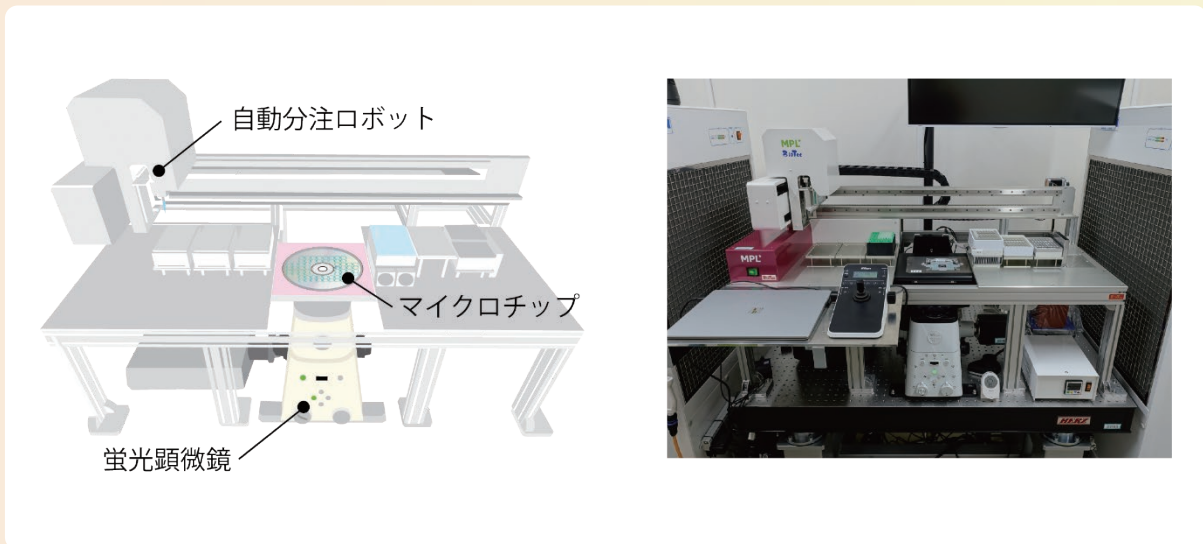


図1 全自動1分子計測装置の開発

実証実験として、CRISPR-Casなどの新機能を有する未開拓酵素を標的とし、それらの活性の1分子計測に成功した。ちなみに、本計測の鍵となるマイクロチップであるが、従来は半導体製造装置を用いて光造形法で作成していたが、プラスチックの射出成型による造形法を確立し、全自動化に向けた大幅なコストダウンと量産化を併せて実現した。

【様々なタンパク質の1分子計測技術の開発】

マイクロチップを用いた1分子計測では、オイルで開口部を封止した微小試験管アレイを利用する。そのため、従来汎用される疎水性の高い蛍光団を用いたプローブの場合、そのまま1分子計測へ展開することは困難であった。そこで、本研究では、1分子計測に最適化した親水性蛍光プローブを開発するとともに、未開拓酵素との反応点に細工を施すことで、アイソザイムレベルでの識別が可能な、新規1分子計測技術を開発することに成功した(図2、参考文献4, 5)。加えて、親水性蛍光プローブの量産技術を確立することで、標的酵素のレパートリーを大幅に拡張することにも成功した。

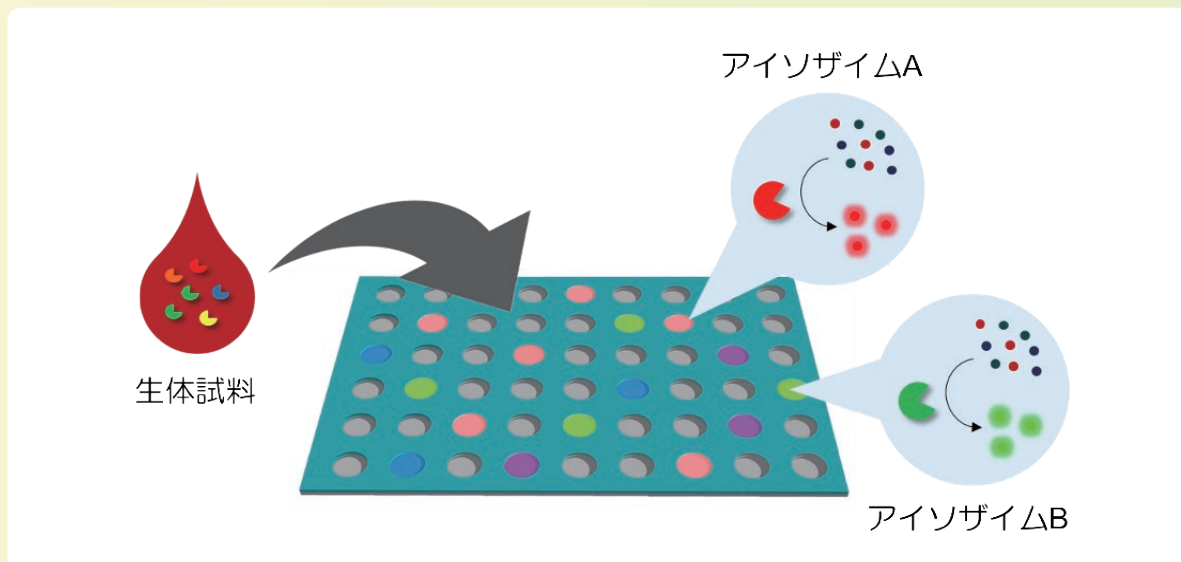


図2 アイソザイムレベルの識別が可能な新規1分子計測技術の開発

【さいごに】

本研究では、多種の工学技術を駆使することで、タンパク質を全自動かつ高い分解能で計測できる新技術を開発し、様々な未開拓タンパク質へと展開することに成功した。今後は、民間企業と連携して、マイクロチップや全自動計測装置などのサプライチェーンを確立し、1分子計測に興味のある方々に手軽にご利用いただける環境を整備したいと考えている。

参考文献

- 1) Shinoda, H. et al., *Commun. Biol.* (2022) 5, 473
- 2) Iida, T. et al., *Lab Chip* (2023) 23, 684-691
- 3) Iida, T. et al., *iScience* (2024) 110868
- 4) Sakamoto, S. et al., *Sci. Adv.* (2020) 6, eaay0888
- 5) Sakamoto, S. et al., *Cell Rep Methods* (2024) 100688

08

未開拓タンパク質データの収集・特徴抽出・予測



研究代表者
太田 元規
名古屋大学大学院
情報学研究科
教授



<http://www.force.cs.is.nagoya-u.ac.jp/index.html>



研究分担者
福地 佐斗志
前橋工科大学
工学部
教授



<https://www.maebashi-it.ac.jp/~sfukuchi/index.html>

本課題では、未開拓タンパク質についてアミノ酸配列などの情報基盤を整備するとともに、それらを解析して特徴を抽出し、構造や機能などを推定する手法を研究した。

【lncRNA由来のタンパク質に関する研究】

情報基盤整備として、lncRNAから翻訳されるタンパク質を著名な論文から収集し、データベース化した。データベース化に際して、構造ドメイン同定や天然変性領域予測を実施した。ヒト心臓由来のlncRNAから翻訳される211タンパク質について天然変性領域予測を行ってみると、天然変性率がプログラム毎に大きく異なっていた。これらのプログラムをヒトプロテオームに適用した結果では、天然変性率に大きな違いはない。天然変性領域予測プログラムの多くは、アミノ酸配列のマルチプルアライメントの情報をもとに予測を行っているが、lncRNA由来タンパク質では多くのタンパク質がホモログを持たない。このような配列では、マルチプルアライメントから得られる、各サイトの残基の許容度といった進化的情報が含まれない。このため、マルチプルアライメントを利用する予測プログラムは、ホモログ数により予測が不安定になるのではないかと考えた。そこで複数のプロテオームに対し天然変性領域を行い、ホモログの数と予測プログラム間の予測の一致具合を解析した。結果は予想通り、ホモログの数が多いタンパク質の予測結果はプログラム間で一致する傾向が見られた(図1)。また、マルチプルアライメントを用いない予測法では、プログラム間の一致具合にホモログ数との関係は見られなかった。このため、lncRNA由来タンパク質の天然変性領域予測のプログラム間の食い違いは、ホモログの少なさによるものと推察した。

		配列長			
		≤100	≤500	≤1000	1000<
ホモログ数	0	0.244	0.279	0.343	0.248
	≤5	0.258	0.290	0.365	0.387
	≤10	0.254	0.300	0.428	0.397
	≤50	0.270	0.317	0.392	0.402
	≤100	0.286	0.348	0.413	0.398
	≤500	0.315	0.369	0.406	0.386
	≤1000	0.322	0.377	0.421	0.383
	1000<	0.353	0.413	0.466	0.461

図1：プログラム間の予測一致度(平均マッシュ係数)。赤いほどプログラム間の一致度が高い。

【IDEALの高度化】

情報基盤整備のもう一つの取り組みとして、天然変性タンパク質データベースIDEALの高度化を実施した。IDEALは実験的に検証された天然変性領域の情報を、論文を精読して収集したデータベースである。天然変性タンパク質には様々な機能が知られているが、翻訳後修飾サイトの提供やタンパク質との相互作用により、細胞内の情報伝達やタンパク質の機能調節に重要な役割を果たしている。このような天然変性タンパク質の機能は状態遷移のダイアグラムとして表現可能である。IDEALでは天然変性領域中の相互作用部位は、相互作用相手のタンパク質との複合体構造をもとにアノテーションされている。この複合体PDB情報を基点とし、その前後に細胞内で起こる状態遷移を論文等から拾い上げた。この情報をもとに、タンパク質名、相互作用相手、その結果起こること、等の情報をSBGN (System Biology Graphical Notation) ファイルとして出力するシステムを構築した。SBGNはシステムバイオロジーのために開発された言語であり、世界共通のフォーマットで記述され、描画ソフトに読み込ませれば相互作用ネットワークや代謝経路のようなダイアグラムを出力できる。現在186個の生物学的現象 (Biological Process) を記述したダイアグラムを生成・公開

している (図2)。遷移図の元となるSBGNファイルはXML、SBGN-ML、RDFなどのファイル形式で見することもできる。また、これらのファイル及び遷移図のpngファイルはダウンロード可能である。

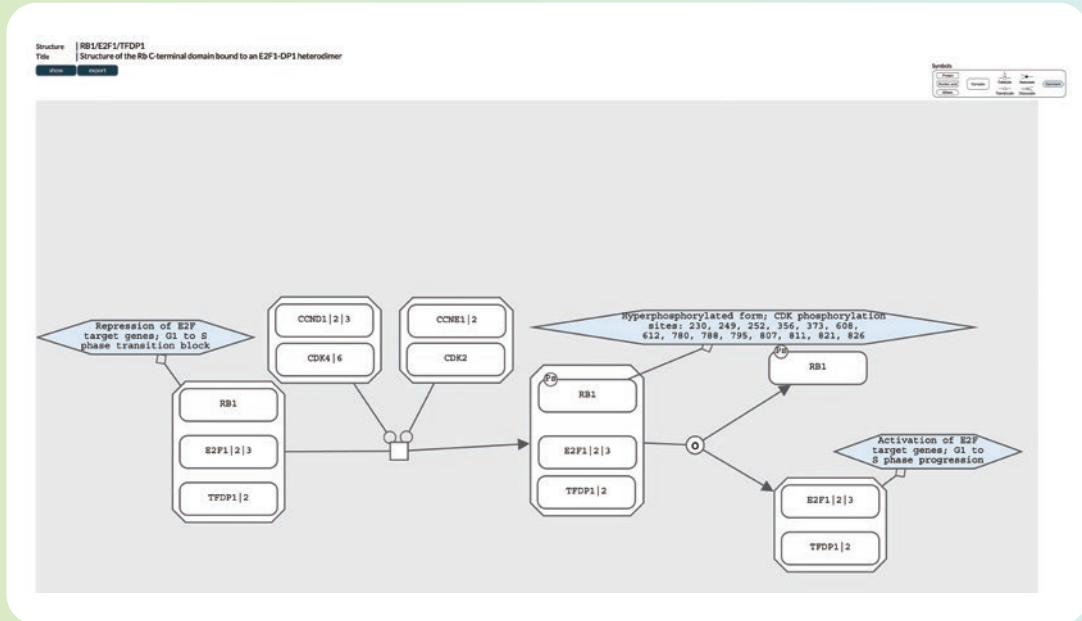


図2：遷移図の例。レチノブラストーマ関連タンパク質リン酸化による転写因子活性化を示している

【DARUMAの開発】

天然変性領域予測プログラムDARUMA (Disorder order cLAssifier by Rapid and User-friendly MACHine) を開発した。天然変性領域予測プログラムの中で精度が良いものの多くは、位置特異的スコアマトリックス (Position specific score matrix, PSSM) を入力データとして利用している。PSSMはホモロジーサーチを繰り返し行うため生成には多くの時間を要する。そこでPSSMを用いず、AAindexデータベースに収録された20種のアミノ酸についての500種以上の特徴量の数値データを入力とすることで、計算の高速化を目指した。予測手法としては畳み込みニューラルネットワーク (Convolutional neural network, CNN) を採用し、DARUMAを構築した。天然変性領域予測プログラムコンテストCAIDで良い成績を取めたプログラムとDARUMAの性能比較を行ったところ、予測精度はPSSMを用いないプログラムの中ではトップで、PSSMを用い最も成績が良かったプログラムに近い精度を示した。一方、計算時間の比較では、DARUMAは他のPSSMを用いないプログラムと同様に平均0.5秒程度で1つのタンパク質の予測を完了するのに対し、PSSMを用いた精度の良いプログラムでは4300秒以上を要した。PSSMを用いた最も速いプログラムでも24秒かかっており、DARUMAは49倍早い。DARUMAは、複数のアミノ酸配列が入ったマルチFASTAファイルを入力した計算が可能だが、この場合、個別ファイルで実行するのに比べioが短縮され8倍程高速化された。その結果ヒトプロテオームの予測を20分程度で完了することができた。



図3：DARUMAの出力例。青線のグラフで天然変性傾向を示している。赤は予測天然変性領域。

その他、液-液相分離、天然変性領域の進化、大きな生体高分子複合体の構造比較、AlphaFold2やAlphaFold DBを利用した研究などを実施した。



第24回蛋白質科学会年会ワークショップ

山崎 智弘

(大阪大学大学院生命機能研究科 准教授)

2024年6月11日から13日にかけて、第24回蛋白質科学会年会が開催され、領域主催のワークショップ「多面的視点から捉える蛋白質の世界」(オーガナイザー：田口英樹先生、田中良和先生)が行われました。昨年の領域会議は北海道の定山溪(札幌市南区)で開催されましたが、今回も、北海道札幌市での開催でした。現在の所属は地元大阪の大阪大学ですが、4年ほど前までは、北海道大学で教員をしておりましたので、馴染みのある土地での開催でもあり、楽しみにしておりました。余談ですが、大学時代は、スキー部に所属し、クロスカントリースキーをしており、北海道には毎年来ていたこともあり、昔から北海道好きです。

蛋白質科学会年会ですが、普段はあまり参加することはない、5年前に神戸で行われた日本細胞生物学会との合同大会での参加以来でした。今回のワークショップは、会場の札幌コンベンションセンターの一番広い会場で、小池亮太郎(名大)、新井宗仁(東大)、田中良和(東北大)、松本雅記(新潟大)、山崎智弘(阪大)、小野鈴花(京産大)の6名からの発表が行われました。

小池先生からは、これまでに解明されている巨大なタンパク質複合体の立体構造の中身に、どのようなものが含まれているかを解析し、似たものが含まれるコミュニティがあるという話があり、さらに巨大構造を比較することができる手法についてお話がありました。新井先生からは、タンパク質が最終的にとる構造を与えれば、どのような経路を辿ってタンパク質がフォールディングされるかという昨今の構造予測ではできない問題を、AIではなく物理理論によって解決したというお話がありました。

田中先生からは、タンパク質翻訳のリードスルーのお話がありました。ストップコドンを読み飛ばす際に、ストップコドンの位置に、他のアミノ酸がどのように挿入されるかを、立体構造解析からエレガントに示されていました。領域会議でも伺っていましたが、非常に興味深い現象で、この現象をうまく利用した生命現象もあるということでしたが、なぜ生物がこうした状況を許容しているのか、その意義に興味をそそられました。また、ストップコドンの種類によってリードスルーの頻度が異なるということ(TAAの場合にリードスルーが起こりにくい)、哺乳類細胞での起こることなども伺い、コンストラクトを作成し、実験を行う際にも留意すべき点だと感じました。

松本先生からは、質量分析のプロフェッショナルならではの解析から、翻訳開始の場所のばらつきを明らかにしたというお話がありました。このばらつきを生むメカニズムの中で、ポリアラニンの重要性やアラニンの伸長が関連する疾患との関連も議論されており、非常に興味深いお話でした。私は、本領域でサポートしていただいている、細胞内で非膜性構造体の核になるタンパク質を大規模に探索するという話を行いました。こうした核となるタンパク質はどういった配列や構造的な特徴を持つか、変異体を用いた解析からどういう機構で非膜性構造体を形成するか、どういうRNAと相互作用して細胞内で機能しているのかといった、現在進行中の研究について話をさせていただきました。最後、小野先生からは、タンパク質再局在化の機構について、酵母を使った精緻な研究結果の発表がありました。このように、タンパク質の様々な局面について、まさに、“これまでの常識にとらわれない視点”からというこの領域のコンセプト通りの素晴らしいワークショップで、教科書的な内容から逸脱する“non-canonical”な現象が多くあり、変わったものを理解したいという私の好みとも合うものでした。

このワークショップ以外でも、最近のタンパク質の構造の予測や設計という今後の生物学のベースになっていくような研究も数多く発表されており、迫力ある発表を聴くことができました。また、ポスター会場では、かなり大きな

人だかりができていところもたくさんあり、非常に活気がある学会だと感じました。興味のある相分離関連のワークショップやポスターも複数ありました。例えば、ラマン顕微鏡を使った細胞内のRNA濃度の定量やレドックス状態の解析、相分離誘導性のタンパク質の特徴の情報学的解析、特定のタンパク質の酸化還元状態の変化による細胞内相分離の制御など、非常に興味深い話を聞くことができました。また、本学会では、米国留学時代の友人(関山直孝、京大・理)が代表を務める学術変革(B)「動的溶液環境」のワークショップも行われており、NMR、物理理論解析、合成生物学的なアプローチなどを用いた細胞内の相分離やタンパク質の凝集に関する発表もあり、大変楽しむことができ、また旧交を温めることもできました。

私は、RNAとタンパク質の複合体であるRNA-タンパク質複合体(RNP)の研究を行っています。皆さんご承知のとおり、RNAとタンパク質という2つの生体分子が力を合わせた時に、それぞれが単独では成し得ない機能を発揮できます。CRISPRやRNA干渉などはわかりやすい例ですし、RNPはリボソームやスプライソソームなどの巨大な複合体を作り上げ、細胞内のインフラとしても働きます。私が研究対象とする細胞内の非膜性構造体は、これらの巨大な複合体よりもさらに数百、数千倍大きな構造です。このようなことが可能になるのは、RNAがタンパク質に比べて、非常に長い高分子であり、そこに、多数・多種類の多彩な機能を持つタンパク質を集めることができるからだと思います。今回、様々なタンパク質の研究を伺いながら、今後もタンパク質を研究されている方々とともに、RNPの研究を進めていきたいと感じました。

今回は普段参加しない学会に参加したことで、これまで発表を聞いていただいたことがなかった方々にも話を聞いていただけたのではないかと期待しております。また、発表されていた先生に直接お話を伺い、解析の相談をさせていただくこともできました。さらに、大阪に帰る前に、北海道大学の共同研究者の打ち合わせを行い、論文作成に向けた有意義な議論もできました。このような機会をいただきましたオーガナイザーの田口先生、田中先生には、大変感謝いたします。



著者紹介など

山崎 智弘 (やまざき ともひろ)

大阪大学大学院生命機能研究科RNA生体機能研究室・准教授

略歴：京都大学農学部生物機能科学科卒業、京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻修了(生命科学博士)、2011年Harvard Medical Schoolリサーチフェロー、2014年北海道大学遺伝子病制御研究所・助教/講師、2020年大阪大学大学院生命機能研究科・講師を経て現職。



2024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

阿部 藤吉郎
(新潟大学医歯学 総合研究科 M1)

令和六年八月一日、朝7時頃。太陽が登りきっていない京都市内、気温はすでに三十度を超えているだろうか。ペットとの散歩やランニングをする人とすれ違う。それに対抗するようスーツケースを引く。二条城の荘厳な空気を感じ、京都御苑で歴史に思いを馳せ、鴨川のほとりで自分を俯瞰した。これぞ夏の趣か。暑さと目新しい環境にざわついていた心を整えた後、初参加となるマルチファセットプロテインズ若手ワークショップに臨むためハートンホテル京都に足を運んだ。

ワークショップは二日間に渡って口頭発表とポスター発表が行われた。私が4月に大学院に入学してから口頭発表をする機会はこれで2回目となる。つまり全くのビギナーである。六つの大学と理化学研究所から集まった総勢25名の先輩方から厳しくご指導いただけると思うと心が躍って、踊りすぎて舞台から姿を消しそうになる。当然、先刻に静めた心の面影はすでにない。会場の前方にはスクリーンと椅子が並び、後方にはポスターが掲示されている。受付を済ませ、開会まで手持ち無沙汰の時間、周囲に聞き耳を立てるとなにやら早速議論が交わされている。席につき、初日午前中の自分の発表資料を眺めるうちに開会の挨拶が終わった。先行する口頭発表、きっかり15分間流れるスライドに必死に食いついてメモを取る。発表が終わると質疑応答。時間にして発表の1/3だが自分にとって情報量に大差はなかった。「なぜ初めて聞いた内容に対して的確な質問が思いつくのか」とても不思議だった。

自分の時間がやってきた。内容は散々で勉強・経験不足を痛感して初日を終えた。いや、終わっていない。夕食とその後自由討論の時間が設けられている。しかし、この時間には先輩方の研究者としてではなく、人としての一面が見られた。深い議論ができない自分にとって、先輩方がどのような価値観をお持ちでどのような人生を過ごされてきたかを夜が更けるまで聞いたことが本ワークショップで得たもので最も今後の糧になった。前述の「なぜ初めて聞いた内容に対して的確な質問が思いつくのか」という問いの答えをなんとなく知れた気がした。



著者紹介など

阿部 藤吉郎 (あべ とうきちろう)

略歴：2024年新潟大学農学部応用生命化学プログラム卒業、同年新潟大学医歯学総合研究科 医科学専攻オミクス生物学分野入学、現在に至る。

研究テーマ：質量分析計を用いたタンパク質複合体のターンオーバー解析

ここまでの人生の感想：恥の多い生涯を送って来ました。

若手ワークショップ優秀発表賞受賞者のコメント

口頭発表（優秀賞）・ポスター発表（優秀賞）

「Complexity and dynamics of *in organello* translation landscape assessed by high- resolution mitochondrial ribosome profiling」

脇川 大誠

(理化学研究所 七野研 リサーチアソシエイト)

大変光栄なことに、優秀口頭/ポスター発表賞を受賞することができました。若手ワークショップの参加者の方々に私たちの研究の面白さが伝わって大変嬉しく思います。また、プロジェクトに関わってくださった共同研究者の方々や七野研究室のメンバーに感謝申し上げます。

私はミトコンドリア翻訳の制御メカニズムについて興味を持っています。今回はRibo-Seqをミトコンドリア翻訳の解析に特化した新たな手法 (MitoIP-Thor-Ribo-Seq) について発表させていただきました。通常のRibo-Seqではミトコンドリア翻訳の詳細な解析を行うことは難しいですが、MitoIP-Thor-Ribo-Seqは細胞内のミトコンドリアリボソームの状態を1コドン分解能で捉えることが可能です。この手法によってミトコンドリア翻訳における、1. 翻訳のカイネティクス (翻訳開始速度・伸長速度など)、2. 暗号化された翻訳開始部位、3. mt- tRNA 修飾のデコーディングやトランスロケーションへの効果、4. プログラムされた翻訳休止部位でのミトコンドリアリボソーム衝突 (ダイソーム) など、様々な未知の制御機構・意外な翻訳の複雑さを明らかにすることができました。ミトコンドリア翻訳の領域は技術的制約からあまり理解が進んでこなかった領域です。そういった意味でまだ見ぬ発見が眠る非常にやりがいがある領域であると思っています。日々ワクワクしながら研究できる環境に感謝しつつ、これからも全力で研究を楽しんできたいと思っています。

若手ワークショップは非常にアットホームな雰囲気、年の近い方々と研究やラボ生活のことなど1日中語り尽くした有意義な時間であったと感じています。個人的には、飲み会の合間に近くの銭湯に行ったり、飲み会後の深夜に鴨川を眺めに行ったりと少し羽目を外してしまいましたが、非常に楽しませていただきました。翌朝に発表を控えた私を鴨川に連れ出した彼曰く、その効果があって賞を受賞することができたようなので、感謝したいと思います。冗談はさておき、こういった会で知り合えた縁は今後も大切にしつつ、切磋琢磨できる関係でアカデミアを盛り上げていけるよう励んでいけたらと思います。

最後になりましたが、若手ワークショップを企画・運営していただいた、小野さんはじめ関係者の方々に心より感謝申し上げます。

口頭発表（優秀賞）

Repeat Associated Non-AUG(RAN) 翻訳における翻訳開始因子 eIF1A/eIF5B の機能解明

伊藤 隼人

(東京工業大学 (田口班))

この度は優秀口頭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方々を含め、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。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)を用いて見出した、RAN翻訳の制御因子の機能解析について発表しました。前回の領域会議で話した内容の発展という形で、質疑応答では熱くディスカッションをすることができたことが、楽しかったと記憶しています。また、前回の領域会議で出会った方、それ以外の方とも多くディスカッションをする機会が若手WSの中で多くあり、コミュニティを広げることができたとも感じます。昨年の領域会議で出会った方は、前回からの進展の顕著さ、新しく出会った方からは、興味深い研究のアプローチを学べた、など多くの方から刺激を受けることができました。またポスター発表では大きく異なるテーマを話したのですが、そちらでも多くの方に興味を持っていただき、大変勉強することができました。

本領域の最終年度という節目を迎え、ひとつの区切りがついたと感じておりますが、今後もNon-AUG翻訳、RAN翻訳という興味深い分野の研究を続けていきたいと考えています。

最後に、今回の若手WSが盛況のうちに終了できたのは、運営にご尽力いただいた皆様のおかげです。改めて、心より感謝申し上げます。

口頭発表(奨励賞)

N末端プロテオフォームがNIP1の機能に与える影響の解析

五十嵐 梨紗
(新潟大学(松本班))

この度は2024年度MFP若手ワークショップ・奨励賞に選定していただき、誠にありがとうございます。

昨年、初めてMFP学術変革領域「マルチファセット・プロテインズ」領域会議に参加し、他大学の先生方や同世代の学生の皆さんの豊富な知識量と研究に対する熱い想いに圧倒されたことを鮮明に覚えています。また、当時は研究テーマを始めて期間が浅かったのですが、そのときに受賞された皆さんを見て「来年は賞を取りたい」と研究に邁進する糧になりました。

今回、「Proteomicsを用いたタンパク質N末端の多様性が局在に与える影響の解明」というテーマで発表をさせていただきました。新たな翻訳機構について挑戦的な内容の発表ではありましたが、参加された皆さんからいただく多様な視点からの議論やアドバイスの数々は大きな刺激になり、大変貴重な経験になりました。今後期待される研究として投票してくださいました皆様に感謝の気持ちでいっぱいであるとともに、皆様から頂いた期待に身の引き締まる思いです。

最後になりましたが、松本雅記先生をはじめ、日ごろから熱心に指導して下さる研究室の皆様、本当にありがとうございます。今後ご指導ご鞭撻のほどよろしく願いいたします。

ポスター発表 (奨励賞)

Clogger によるミトコンドリアストレスとその応答

塚原 佑飛

(九州大学農学部 生物化学研究室 (MFPの所属:京産大遠藤班))

この度は奨励賞に選定していただき、誠にありがとうございます。研究の話はまだ経験の浅い私には難しいので本WSに至るまでの話をしようかと思います。このWSのプログラムを初めて見たとき“若手WS”なのにB4が私一人である上に修士の学生もほとんどいないことになりかなり心配でした。というのも、人生で初めてのポスター制作・発表に、研究室ゼミ以外で初めての口頭発表まで、若輩者の私は恥ずかしい思いをせずにやっていけるだろうかと考えていました。なんとか結果を残せるようにとまずはスライド作りを始めました。ただ、スライドの違和感を減らそうとすると図をほとんど自作することになりましたが、なんとかこだわりのものを作ることができました。おかげでPower Pointのスキルが格段に上達しました。しかしWS開催10日前というところでポスター制作にまったく取り掛かっていないということに気が付き焦り始めます。スライドをそのままポスターに貼りつけようかとあきらめの気持ちも出てきましたが、研究室の先輩であり本WSにも参加した稲本さんの応援もあってもうひと踏ん張りしようと気持ちを切り替えて制作しました。そしてなんとか体裁の整ったポスターを作り終わりました。このもうひと踏ん張りがなければこの賞もいただけなかったのが本当に頑張っただけよかったと思います。またこの賞をいただけたのは、日ごろから実験や発表の指導をいただいている松本俊介先生をはじめとして研究室の皆さんの助けがあったことだと思い、心からの感謝を申し上げます。私にいただいているいいものなのかと思いましたが、この賞を励みに研究をしていこうと思います。



Meeting Report 3

マルチファセットプロテインズ国際会議2024福岡

International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics ミーティングレポート

2024年9月2日(月)~5日(木) 福岡・ザ・レイガンズ

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)

2024年9月2日から4日間にわたり、福岡のザ・レイガンズにおいて、マルチファセットプロテインズ国際会議「International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics」が開催された。今回の国際会議は、本学術領域最終年度の集大成として、領域設立当初から計画されていた。領域代表の東工大・田口英樹さんを中心とし、また、名古屋大の松本有樹修さんが世話人を務めた。今回は、海外の著名な研究者8名に加え、山中伸弥先生、大隅良典先生を含む国内の著名な研究者も多く招待され、ビッグネームから若手新鋭の研究者まで、タンパク質研究の様々な分野において最前線で活躍している研究者が福岡の地に集結した。大隅良典先生、水島昇先生がそれぞれ体調不良のため不参加となったのは大変残念であったが、それでも、4日間にわたり、レベルの高い発表や議論がなされ、大いに盛り上がった会議となった。

DAY1

まず、初日の午後3時に、領域代表の田口さんにより、開会が宣言された。田口さんの opening remarks の中では、領域の評価委員であり、この7月に逝去された田中啓二先生を悼み、黙祷が捧げられた。

Session1は、遠藤斗志也先生（京産大）が座長を行い、稲田利文先生（東大）、富田野乃さん（東大）、親泊政一先生（徳島大）、Judith Frydman（スタンフォード大）が登壇された。稲田さんは、リボソームの停滞を解消する様々な分子機構に関する緻密で包括的な仕事の一端を発表された。富田さんは、ミトコンドリアの翻訳系の精製再構成系を用いた翻訳終結の分子認識に関する結果を発表された。親泊さんは、腎臓がんに関与する特殊リボソームによる翻訳動態と、それが腫瘍に与える影響についての網羅的な解析について発表された。Judith Frydmanは、翻訳のポーズが加齢によって増加する現象を線虫や酵母の系で示された。

Session2では、まず、遠藤先生は、酵母の Msp1 や Spf1 が、誤局在した膜タンパク質を膜から引き抜くことで正しいオルガネラへと再局在させるという発見と、そこから導き出された、タンパク質局在化における校正機構という新たな概念について発表された。Manu Hegde (MRC) は、小胞体への分泌タンパク質のターゲティング経路において、小胞体膜で SRP と相互作用することでリボソーム-新生鎖複合体を受け取る新たな因子を同定し、その解析結果を発表された。Tom Rapoport (Harvard Medical School) は、これまであまり具体的な理解が進んでいなかったペルオキシソームへのタンパク質輸送の分子機構について、基質タンパク質が核膜孔のようなメッシュからなる孔を通してレセプタータンパク質とともに輸送されること、そのキャリアタンパク質が、ユビキチン化され、AAA ATPase により引っ張られて再びサイトゾルへと戻ることなど、斬新な結果を示された。藤木幸夫先生（九大）は、カタラーゼの細胞質-ペルオキシソーム間のダイナミックな局在変化とそれを介した新たな酸化ストレス応答機構について話された。いずれも、新たなコンセプトを提唱するスケールの大きな仕事であった。セッション終了後、夕食と懇親会で初日の幕を閉じた（写真1）。



写真1：1日目終了後の夕食の様子

DAY2

2日目には、口頭発表の4つのセッションとポスター発表が行われた。Session3では、まず筆者（千葉）が、バクテリアの翻訳アレスト因子を網羅的に同定する中で見えてきたアレスト機構の普遍性と機能の多様性について発表した。次に、Alexander Mankin (University of Illinois, Chicago) が、バクテリアのリボソームトンネルに侵入して翻訳終結反応を停止する驚くべき抗菌ペプチドについての発表を行った。3番目に、領域代表の田口さんが、大腸菌新規アレストペプチドの話や、翻訳中にリボソームのサブユニット間相互作用が不安定化する現象 (IRD)、さらには、IRDとリボソームスキッピングの関連などについて話された。新生鎖には「translation dynamics code」が内包されており、それを読み解くことが重要であるとのメッセージが印象的であった。

Session4では、まず、今回の国際会議の世話人である松本有樹修さんが登壇され、non-coding RNAとして定義されるなどの理由でこれまで見過ごされてきた coding sequence (hidden CDS) の生理機能について発表された。個体レベルでの生理機能解析から、分子レベルでのメカニズム解析（例えば、Non-AUG コドンからも翻訳が開始されることなど）にいたるまで、包括的な研究の一端を話された。次に、花田耕介先生（九州工業大）は、シロイヌナズナのゲノムにコードされた de novo gene の網羅的探索とその機能解析について話された。3番手として、山中伸弥先生（京大）が登壇された。iPS細胞の印象が強い山中さんであったが、翻訳開始に関与する因子の研究を中心に、ベーシックな翻訳研究についての最近の成果を発表された。研究室の多くの人が翻

訳関連の仕事をしているとのことであった。技術的な限界により行き詰まっていた研究が、CRISPR-Casシステムの開発によって進展した話など、現場レベルでの話にも臨場感があり、親近感の湧く発表であった。ご多忙のため、限られた時間帯での参加となったようだが、ポスターも見て、若手の研究者と議論もされていた(写真2)。ポスターを聴いてもらえた若手の方にはとても素晴らしい経験になったと思われるし、なんとも羨ましい限りである！



写真2：ポスター会場にて

集合写真撮影とランチタイム終了後、ポスター発表が行われた。若手からシニアの研究者まで、全62題のポスターが発表され、活発な議論がなされた。ポスター発表は、3日目の午後にも行われた。

ポスター発表終了後のSession5では、まず、浅川和秀先生(遺伝研)が、筋萎縮性側索硬化症(ALS)に関わる凝集性タンパク質であるTDP-43について、凝集に関与するドメインを光遺伝学という独自の手法を用いて決定される仕事を発表された。次に、田中元雅さん(理研)は、アミロイドの脱凝集における各シャペロンの役割についての最近の研究成果を発表された。3番手の森戸大介さん(昭和大)は、もやもや病に関与する巨大タンパク質ミスチリンの生理機能と病態との関連について、最近の展開を踏まえて発表された。ミスチリンの本来の生理機能とその破綻による発症のメカニズムの理解が、ここに来て急激に進んできたようだ。

この日最後のセッションであるSession6は、RAN翻訳がテーマであり、筆者が座長を務めた。トップバッターのLaura Ranum (University of Florida) は、二本鎖RNA依存性プロテインキナーゼがRAN翻訳を制御すること、その酵素を阻害することで、病態を改善出来ることを示された。また、RAN翻訳産物に対する抗体も、症状を改善することを示した。2番手の石黒亮先生(法政大)は、ALSの原因遺伝子の多くがRNA結合タンパク質をコードしていること、それらがmRNAのグアニン四重鎖構造に結合することに着目し、自然界に存在するリチウムの2種類の安定同位体のグアニン四重鎖構造に与える影響の違いとその病態リスクに関する研究を発表された。3番手のPeter Todd (University of Michigan School of Medicine) は、CGGリピートが原因となるRAN翻訳の分子機構についての解析結果を報告された。このセッション最後の演者は永井義隆先生(近畿大)で、RAN翻訳が引き起こす病態に影響を与える内因性因子を、疾患モデルショウジョウバエを用いて複数同定し、それぞれに異なるメカニズムでRAN翻訳を抑制し症状を改善することを示す結果を発表された。本セッションからは、ノンコーディングリピート病の発症機構の理解とその治療に向けた基礎研究がリンクしながら急速に進んでいるという印象を受けた。

2日目のディナーは屋外でのバーベキューであった。天気にも恵まれ、爽やかな気候の中、親睦を深めつつ、みなバーベキューを楽しんでいた(写真3)。



写真3：バーベキューの様子

DAY3

3日目は、午前中に口頭発表、午後からポスターセッション、その後、エクスカージョンという流れであった。密度の濃い国際会議で余裕のあるスケジュールは大変ありがたいと感じた。まず、この日最初のセッション(Session 7)では、永田和宏先生(JST生命誌館)が、ERのタンパク質やカルシウムの恒常性維持機構について話された。

特に、最近発見された小胞体タンパク質ERp18が、亜鉛イオン依存的な機能変換によってカタラーゼ活性を獲得し、過酸化水素の除去を行うことで小胞体や細胞内環境の維持を行っていることなどを話された。2番手の奥村正樹さん（東北大）は、カルシウムイオン依存的な液胞形成と、その小胞体プロテオスタシスにおける役割について話された。3番手の稲葉謙次さん（九州大）は、小胞体とゴルジ体における亜鉛イオンの恒常性維持機構と、それぞれのオルガネラでの亜鉛イオン濃度の違いがタンパク質の局在を制御するという斬新な研究成果を発表された。このセッションの最後の演者はRichard Morimoto (Northwestern University) で、加齢にしたがって熱ショックストレス応答が低下し、そのことが、プロテオスタシスの破綻を引き起こすとの研究成果を発表された。

コーヒーブレイクを挟んでSession8が行われた。このセッションでは、独創的な技術開発を伴う研究が発表された。まず、小林穂高さん（徳島大）が、翻訳中のリボソームの一分子ライブイメージングと、それを利用した解析結果を紹介された。合成直後のmRNAよりも少し時間が経った後のmRNAのほうが翻訳が盛んに起こるとの予想外の結果を示された。2番手の七野悠一さん（理研）は、近接分子特異的なビオチン化とリボソームプロファイリングを組み合わせた手法を開発し、細胞周期における局所翻訳の動的な挙動について最新の成果を発表された。松本雅記さん（新潟大）は、質量分析を駆使し、非典型的な翻訳により生み出されたタンパク質群の直接的な検出を試みた。その結果、アラニンの連続配列をコードした部位から非典型的な翻訳開始が起こることなど、新規の非典型翻訳現象を発見された。産物を直接見ることの強みを感じられる発表であった。このセッションの最後の演者、渡邊力也さん（理研）は、ナノポアデバイスを用いた一分子計測系を用い、高感度での酵素アッセイや短時間での診断を可能にする技術について紹介された。セッション全体として、クリエイティブな技術開発を伴う独創性の高い発表の連続であった。

午前のセッション終了後、ランチタイム、2回目のポスターセッションと続いた。ポスターセッションは、1回目に劣らず盛り上がっていた。午後3時からはエクスカージョン（自由時間）であった。私は近くの水族館（マリンワールド）に遊びに行った（写真4）。ホテルのプールで楽しんだ人達もいたようである。



写真4：マリンワールドにて

この日のディナーは、マリンワールドを貸し切って行われた（写真5）。大きな水槽の前での立食パーティーは、ほとんどの参加者にとって経験がなく、海外からのゲストにも大変好評であった。学生・院生を対象とした優秀ポスター賞の受賞者の発表も行われた。このような場所での表彰ということも相まって、受賞者にとっては、特別な夜となったことだろう（写真6）。受賞者はもちろんであるが、受賞しなかった学生・院生の皆さんも含め、ここに至るまでの努力とその成果に対し、心から祝福したい。



写真5：水族館を貸し切ったディナー



写真6：受賞者を囲んで

DAY4

さて、最終日である。午前中に2つのセッションが行われた。一つ目のセッション (Session9) のトップバッターは三輪つくみさん (東工大) で、大腸菌の small heat shock protein である IbpA が熱ショックシグマ因子である σ^{32} を翻訳レベルで制御するという、新たな熱ショックストレス応答の制御機構について話された。次に、斉尾智英さん (徳島大) が、大腸菌のシャペロンと基質タンパク質との局所的な親和性が基質分子全体のフォールディングにどのように貢献するのかを調べた結果を発表された。局所的な holding が分子全体の folding を促進するとの概念を提唱された。Johannes Buchner (Technical University Munich) は、ヒトのがん抑制遺伝子産物である p53 タンパク質の凝集を防ぐ機構として、small heat shock protein である クラストリンに着目し、クラスタリンが p53 に結合し、多様な non-native state に維持することで、Hsp70 による再生を促しているという話をされた。Session9 最後の演者、塩田拓也さん (宮崎大) は、大腸菌外膜タンパク質のアセンブリにおいて、普段は必須でないと言われる BamC コンポーネントが、L-form (大腸菌がペプチドグリカン層を失った状態) になる条件下において必須となることを示した。

最後のセッションである Session10 では、まず、太田元規先生 (名古屋大) が、複数の天然変性領域予測プログラムの比較解析の結果を発表された。特に、ホモログが多いものの予測は各プログラム間でより合致する傾向にあるが、ホモログの少ないものについてはパラツキが多く、このことが問題であるとのことであった。一方で、異なるプログラム間で予測が合致することが、必ずしも予測の正確さを保証していないとの議論もあり、印象的であった。このセッション2番目の演者である平山尚志郎さん (東大) は、ユビキチン化されたタンパク質の核外への輸送 (核内へのインポートを防ぐ) 機構について話された。特に、新規に合成されたタンパク質がユビキチン化を受けた場合にそれらを認識する C6orf106 の働きについて話された。最後に、体調不良でご欠席となった水島昇先生の代理で、助教の江口智也さん (東大) が登壇された。江口さんは、ATG101 の発現をリバーシブルに ON/OFF できるマウスを開発し、神経の機能維持におけるオートファジーの重要性について検討した結果を報告された。オートファジーをブロックしてしばらくすると神経系の破綻に伴う運動障害が現れるが、オートファジーを回復させることで運動障害が消失することを示された。一度発症した神経性の運動障害が回復するという結果は驚きであった。

田口さんの閉会の挨拶の前に、ゲストスピーカー数名からコメントをいただいた。中でも、Richard Morimoto は、このような国際会議が過去のタンパク質・シャペロン関連の特定領域や新学術領域時代から日本において脈々と受け継がれ、発展してきているものであることをリマインドした上で、日本のタンパク質研究のコミュニティが達成してきた成果を賞賛された。また、Manu Hegde は、若手とシニア世代の研究者間で“phase separation”が見られたとの指摘をした上で、世代を超えた交流をより促進することが重要であるとコメントされた。

今回の国際会議の直前には、予測不能な挙動で日本列島を迷走していた台風10号 (サンサン/珊珊) の影響もあり、多くの方が、福岡にたどり着けるのかどうかヤキモキしたものと思われる。海外からのゲストも、不安を抱えながらの訪日となったようだ。蓋を開けてみれば、海外からのゲストも無事福岡に到着し、また、会期中は天気にも恵まれ、素晴らしい国際会議となった。この会議を大変素晴らしいものしてくれた松本有樹修さんとその研究室のメンバーに、改めて感謝したい。



国際会議優秀発表賞受賞者のコメント

優秀ポスター賞

“Functional analysis of the non-essential ribosomal subunit RPL41”

平田 実奈
(名古屋大学 松本班 博士1年)

この度はMost Excellent Poster Presentation Awardに選定していただきありがとうございます。大変光栄に存じます。

今年のマルチファセットプロテインズの領域会議は国際会議で、私自身国際会議に参加するのは初めてでとても刺激を受けました。

昨年と同様に、今年もRPL41についてポスター発表を行いました。昨年の発表から大きく結論が変わった今回の研究では、新たな視点を導入することで、ディスカッションを活発に行うことができました。この成果が評価されたことに、大変嬉しく思っております。

また、研究内容を覚えてくださっている方も多くいらしゃったことにも感謝しています。

最後に、本研究の遂行に際してご指導してくださった当研究室の松本有樹修教授、市原知哉助教ならびに先輩の皆様、後輩の皆様にご感謝しております。この場をお借りして深く御礼申し上げます。



Discovery of a glutathione transporter constructing the redox environment of the ER

堤 智香
(京都産業大学 潮田研)

この度は、「Excellent Poster Presentation Award」に選んでいただき、誠にありがとうございます。わたしは、小胞体へのグルタチオン供給経路の研究について発表させていただきました。レベルの高い発表が行われる中で、受賞できたことを大変光栄に感じております。

この研究テーマは、修士課程のころに着手したテーマでした。自身の所属する研究室では、ほとんどのメンバーがタンパク質の品質管理や分解機構について研究を行っています。私たちのグループで、新しくグルタチオン輸送体の候補因子を同定したものの、その因子が輸送の実行因子であることを示す決定的なデータを取ることに手を焼いておりました。そんな中での発表でした。

発表当日は、膜タンパク質や構造解析、再構成系を専門とされる先生方と、トランスポーターとしての性質や専門的な解析技術についてディスカッションを交わすことができました。さらに、豪華な海外ゲストとも議論できたことは印象深いことでした。しかし実は、その議論の中で厳しいコメントもいただいており、悔しい思いをしましたが、この研究テーマをさらに深めるための良い刺激になったと感じています。

最後に、本会議を運営くださった皆様から心からお礼申し上げます。水族館の大水槽前での、夕食と表彰式は忘れられないです。また、自由に研究できる環境を作ってくださった永田先生、日頃から厳しくご指導いただいた潮田先生、温かくサポートいただいた研究室のみなさまにも感謝申し上げます。



Imaging translation at different mRNA ages

元起 寧那

(東京大学 定量生命科学研究所 RNA機能研究分野・mRNA翻訳研究分野)

この度は優秀ポスター賞をいただき、誠にありがとうございます。本学会への参加を通じて、多くの学びと刺激を得ることができました。特に、タンパク質の異なる側面に関する幅広い研究成果に触れる機会を得られたことは、非常に貴重な経験であり、マルチファセットなタンパク質の世界への探究心がより一層深まりました。

私のポスターでは、mRNAの年齢と翻訳の関係についての研究を発表させていただきました。mRNAには寿命がありますが、その寿命を通じて翻訳効率が一定なのか、あるいは時間とともに変化するのかが、未だ分かっていません。この謎に迫るため、本研究では1分子イメージング法を用いています。具体的には、in situで翻訳活性を観察するため、異なる年齢のmRNAにおいて、個々のmRNAと新生タンパク質を細胞内で可視化しています。これら1分子について、時空間的な情報を含めて、1細胞ごとにイメージ解析を行っています。このアプローチにより、mRNAの合成から分解に至るまでの寿命全体にわたり、翻訳がどのように変化し制御されているのか、mRNAの年齢が翻訳に及ぼす影響について研究しています。

この度、ポスターをご覧いただいた皆様には心より感謝申し上げます。いただいた貴重なご意見やご質問は、今後の研究活動において新たな視点を与えてくださいました。引き続き研究に励んでまいりますので、今後ともどうぞよろしくお願い申し上げます。最後になりましたが、日頃からご指導いただいている泊幸秀先生、小林穂高先生、研究室の皆様、そして本学会のオーガナイザーの皆様のご尽力に、心より感謝申し上げます。





Meeting Report 4

国際会議サテライトミーティング・レポート 京都産業大学バイオフィォラム・タンパク質動態研セミナー 2024/9/6 (金)

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)

2024年9月2-5日に福岡で行われたマルチファセットプロテインズ国際会議の翌日、国際会議に参加されていた4名の海外からの研究者が京都産業大学に招かれ、サテライトミーティングとして、「京都産業大学バイオフィォラム・タンパク質動態研セミナー」が開催された。講演者は、イリノイ大学シカゴ校のNora Vázquez-Laslop 博士、Alexander Mankin 博士 (ホスト：千葉志信)、ハーバード大のTom Rapoport 博士、オックスフォード大MRCのRamanujan Hegde 博士(ホスト：遠藤斗志也)の4名であり、それぞれ、「A Lasso-Peptide Inhibitor of the Bacterial Ribosome (Vázquez-Laslop 博士)」、「A Fully-Integrated Protein Synthesis Machine (Mankin 博士)」、「Mechanism of protein import into peroxisomes (Rapoport 博士)」、「Orphan protein



quality control - health and disease (Hegde 博士)」という演題で講演を行った。京産大および近隣の大学から、教員、研究員、学生らが聴衆として参加した。抗菌ペプチドやリボソーム工学、タンパク質の細胞内局在や品質管理などのトピックで講演と活発な議論が行われた。マルチファセットプロテインズ国際会議とタイアップしてのサテライトセミナーであったが、来訪者にとっては、最先端のサイエンスに触れる素晴らしい機会になったものと思われる。



国際会議サテライトミーティング・レポート 国際シンポジウム 「Repeat Expansion Disorders: Unveiling New Aspects of the Central Dogma」開催報告

藤野 雄三

(近畿大学医学部脳神経内科 研究員)

リピート病に関する国際シンポジウム「Repeat Expansion Disorders: Unveiling New Aspects of the Central Dogma」が、永井 義隆先生(近畿大)、森 康治先生(大阪大)をオーガナイザーとして2024年9月6日にTKPガーデンシティ京都タワーホテルにおいて開催された。本会は、直前まで福岡市で行われていたマルチファセット・プロテインズ国際会議のサテライトシンポジウムという位置付け



で、同会に来訪されたLaura Ranum先生(フロリダ大)、Peter Todd先生(ミシガン大)に加え、領域外から国内の新進気鋭のリピート病研究者である塩田 倫史先生(熊本大)、中森 雅之先生(山口大)、金蔵 孝介先生(東京医科大)を京都にお招きし、ご講演いただいた。

リピート病は、ゲノム中の短いリピート塩基配列が異常に伸長する遺伝子変異によって発症する一群の神経筋疾患であり、近年ゲノム解析技術の発展に伴って次々と新たなリピート病が同定されていることから、神経内科学や神経科学におけるホットピックスの1つである。今回のシンポジウムにおいても、平日開催にも関わらず、国内外から42名もの参加者が集結し、会議は大いに盛り上がりを見せた。Todd先生と森先生には、病的なリピート関連AUG非依存性翻訳（RAN翻訳）の制御分子・機構に関して、未発表のデータを交えて研究をご紹介いただいた。塩田先生、金蔵先生には、異常伸長したリピート配列から産生されるリピートRNA・リピートペプチドの毒性機序に関して、生理的な液-液相分離動態の攪乱という観点を交えてご講演いただいた。これらの研究は、単にリピート病の分子病態にとどまらず、リピート配列の生物学的意義や、生理的に存在する非AUG翻訳などセントラルドグマの新たな側面についても示唆を与えるものであり、科学的探究心と好奇心を刺激された。

加えて印象的であったのは、このような分子病態研究を基盤として、治療開発が精力的に展開されていたことである。例えば、Ranum先生は病的リピートペプチドを標的とした抗体療法を、また中森先生はリピート配列のゲノム不安定性を抑制する小分子化合物の治療効果を、それぞれモデルマウスで実証されていた。加えて、永井先生による脊髄小脳失調症に対するアルギニン療法や、中森先生による筋強直性ジストロフィーに対するエリスロマイシン療法など、リピート病患者を対象とした臨床試験でも有望な結果が報告され、いよいよこれらの神経筋難病が治療可能な時代が迫っていることが期待された。

このように、当該分野のトップランナー達による講演は、いづれも大変エキサイティングで魅力的な内容であり、休憩時間を含め参加者間で絶えず活発なディスカッションが続いた。

本シンポジウムは、研究者間の交流と新たなアイデアの創出を促進する場として、非常に有意義なものとなった。本会で築かれた、分子生物学・神経科学・神経内科学・遺伝学・薬学など多分野にまたがる有機的な結びつきを大切に、リピート病の病態解明と治療開発の突破口をさらに切り開いていきたいと感じている。最後に、本会シンポジスト、参加者の皆さま、事務局スタッフ、そして共催いただいたマルチファセット・プロテインズ関係者の皆さまに深く感謝申し上げます。





第47回 日本分子生物学会年会 シンポジウムレポート 「再定義される翻訳研究の常識」

田口 英樹

(東京科学大学 総合研究院 細胞制御工学研究センター)



第47回日本分子生物学会年会（2024年11月27-29日、福岡国際会議場）にて本領域と関連するシンポジウム「再定義される翻訳研究の常識」（オーガナイザー：田口英樹、松本有樹修）が催された。このシンポジウム開催のきっかけは、年会長の木村宏さん（筆者と同じ所属、同じビルで一つ下にラボがある）から、年会指定のシンポジウムの枠をいただいたことにある。そこで、マルチファセット・プロテインズ計画班の松本有樹修さんに声をかけて新たな視点で翻訳研究を進めている演者を選定したという次第である。演者は以下の通りである。

- 阿部 洋（名古屋大学）：多様な Cap 構造を有する mRNA の高純度合成法とその生物学的機能
- 伊藤 弓弦（東京大学）：ミトリボソーム特異的な tRNA 相互作用および LRPPRC-SLIRP 複合体を介した mRNA 結合の構造基盤
- 田口 英樹（東京科学大学）：酸性アミノ酸に富んだ配列の翻訳リスクとプロテオームへの影響
- 山中 伸弥（京都大学）：翻訳開始における eIF4G2 の役割
- 松本 有樹修（名古屋大学）：Hidden ORF とその発現制御メカニズム
- 森田 斉弘（大阪大学）：Cross-talk between mTORC1, mRNA translation, and energy metabolism in cancer
- 門脇 寿枝（宮崎大学）：小胞体膜上でのストレス依存的な翻訳時分解の分子機構
- 永井 義隆（近畿大学）：神経疾患リピート病におけるリピート関連 AUG 非依存性 (RAN) 翻訳の制御機構

2時間15分の枠で8人ということで、一人の持ち時間は議論時間を含めて全員15分間、年会指定のシンポジウムの縛りのために英語で行われた（演者が全員日本人であったことと英語発表であるという事前周知が十分でなかったので、筆頭演者の阿部さんはシンポジウム開催10分ほど前に英語発表であることを知り、一瞬慌てたようすもあったが、つつがなく、しかも時間内に発表を終えられた）。

内容は、有機化学での mRNA 合成やクライオ電顕解析などを含む分子レベルから疾患に関する非典型的な翻訳まで幅広く翻訳研究の新常識を披露していただいた。

特筆すべきは、演者の一人がノーベル賞学者の山中伸弥さんだったことであろう。ただし、今回は iPS 細胞の話ではなく、NAT1 という非典型的な翻訳開始因子について話していただいたし、持ち時間も他の演者同様15分である。NAT1 (eIF4G2) は山中さんが米国留学中に発見して1997年に報告した因子でNAT1を欠損するとES細胞は分化できず未分化な状態を維持したまま増殖を続ける（山中ら、Genes Dev. 1997, EMBO J. 2000, PNAS. 2017）。山中さんはこの発見からES細胞の研究を開始し、その後のiPS細胞の樹立に至った経緯がある。山中さんが特別講演ではない一般講演するのは20年ぶりくらいということでNHKの科学番組の取材陣が来ていた。どのように紹介されるのか楽しみである。

なお、本シンポジウムの会場は本年会の最大会場の福岡国際会議場のメインホールだったのだが、山中さんの集客力もあいまって非常に多くの聴衆に恵まれた。事後の年会事務局からの連絡によると最大で会場参加者338名、ライブ配信視聴者42名だったということだ。オーガナイザーとしては、非常に多くの方々ホットな新たな翻訳研究をお届けして、活発な議論が展開できたのは嬉しい限りである。

Information

Information : 活動記録

- 第24回 蛋白質科学会年会ワークショップ
2024年6月11日(火)~13日(木)
オーガナイザー: 田口 英樹(東工大)
田中 良和(東北大)
- 京都産業大学バイオフィォーラム・タンパク質動態研
セミナー (MFP 国際会議・サテライトミーティング)
2024年9月6日(金) 京都産業大学
世話人: 遠藤 斗志也(京産大)・千葉 志信(京産大)
- 2024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
2024年8月1日(木)~2日(金) ハートンホテル京都
世話人: 小野 鈴花(京産大)
- 国際シンポジウム「Repeat Expansion Disorders:
Unveiling New Aspects of the Central Dogma」
(MFP 国際会議・サテライトミーティング)
2024年9月6日(金) TKP ガーデンシティ京都タワーホテル
オーガナイザー: 永井 義隆(近畿大)・森 康治(大阪大)
- マルチファセットプロテインズ国際会議
「International Symposium on Multifaceted
Protein Dynamics」
2024年9月2日(月)~5日(木) 福岡(ザ・ルイガンズ)
世話人: 松本 有樹修(名古屋大)
- 2024年度 第2回領域会議
2025年1月15日(水) 東京科学大すずかけ台キャンパス
世話人: 田口 英樹(東京科学大)

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11回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2024年12月19日 12:00 PM~
演者: 田中 良和(東北大学)
演題: 「クライオ電顕単粒子解析の技術紹介」
- 第5回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2022年10月24日 12:00 PM~
演者: 永井 義隆(近畿大学)
演題: 「神経変性疾患におけるリポート関連AUG
非依存性翻訳 (RAN 翻訳)」
- 第10回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2024年10月18日 12:00 PM~
演者: 小林 穂高(徳島大学)
演題: 「1分子 mRNA 翻訳イメージングの技術紹介」
- 第4回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2022年6月27日 12:00 PM~
演者: 渡邊 力也(理化学研究所)
演題: 「マイクロチップを用いた1分子計測とその応用」
- 第9回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2024年1月19日 12:00 PM~
演者: 茶谷 悠平(岡山大学)
演題: 「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」
- 第3回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2022年3月28日 12:00 PM~
演者: 松本 有樹修(九州大学) /
七野 悠一(理化学研究所)
演題: 「リボソームプロファイリング (Ribo-seq) の
発展と応用」
- 第8回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2023年7月31日 12:00 PM~
演者: 内藤 哲(北海道大学)
演題: 「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」
- 第2回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2022年1月31日 12:00 PM~
演者: 太田 元規(名古屋大学)
演題: 「AlfaFoldと天然変性領域予測」
- 第7回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2023年3月13日 12:00 PM~
演者: 遠藤 斗志也・小野 鈴花(京都産業大学)
演題: 「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」
- 第1回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2021年11月29日 12:00 PM~
演者: 松本 雅記(新潟大学)
演題: 「未開拓プロテオーム研究を支える基盤技術:
質量分析」
- 第6回 MFP ランチオンセミナー (オンライン)
日時: 2022年12月20日 12:00 PM~
演者: 千葉 志信(京都産業大学)
演題: 「翻訳アレストを応用したタンパク質動態解析」



「マルチファセットプロテインズ」的なギフトあれこれ

本領域の基本コンセプトは、従来見えていなかった、見ようとしなかった、見るができなかった、「タンパク質の世界」の新たな面（ファセット）を開拓する、ということで、領域のシンボルは多くの「ファセット」を有して光り輝くダイヤモンドである。ということで、領域発足後に卒業生が私にくれるギフトは、このロゴにちなんだモノが多い。2021年3月の卒業生たちのマルチファセット的なランプ（手作り！）は以前のニュースレターのコラムに書いた（ニュースレターvol.1(2021) p20「マルチファセットプロテインズのランプ？」）。その後ももらっているけど紹介してなかったので紹介したい。

2023年3月卒業生

これは「ストームグラス」と呼ばれているモノでいろいろな形の商品が販売されている。容器に密閉された樟脳（しょうのう）の結晶形が天気によって複雑に変化するので天気予報に使えるということだ（それほど精度はないようだが）。



これをひっくり返すと、ダイヤモンド的になる！

2024年3月卒業生

今年3月は、ダイヤモンド型の3Dジグソーパズルをもらった。パーツは41ピース。

ゼロから始めて完成させようとしばらくもがいたが、できそうもないので、答えを見ながら完成させた（パズル好きだが、パズルを解くのが得意ということでは全然ない）。なお、3Dジグソーパズルは初めてだったが、なかなかうまくできていて、少しずつ形が整って行って、最後に見事に組み上がるのは快感である。

かなりキレイだ。プラスチックではあるが質感もなかなかしっかりしている。



透明なので、何かひと工夫してできないかということで、調べるとディスプレイ用のライトが市販されているようだ。それは買ってないが、手元にあるブラックライトを下に置いて光を当ててみた。

それなりにキレイに輝く。

オマケとして、このダイヤモンドパズルと、マルチファセット・プロテインのうちわを並べてみた。このうちわは、2023年9月に定山溪で領域会議を開いた際に世話人の内藤哲さん(北大)が作成してくれた代物である。

本ニュースレターでも紹介しているように最終年度の今年度は国際会議を催した。この会議で学生ポスター賞を実施したが、その副賞の一つとして前回のブログで紹介したダイヤモンドの3Dパズルを送ったのだ。以下は授賞式で受賞者3人との記念撮影の一コマである。

さて、受賞者のみなさんが送ったパズルを完成させたのか気になるところである……。実際、このパズルだけだと私が嬉しがっているだけかもしれないので、もう一つメインの副賞があり、そちらは現実的にみなが喜ぶものだったと思う。

この写真の背景を見て、どこで撮ったんだと思われるかもしれない。この会議の最終日のパーティーはホテルの前にある水族館(マリンワールド)を夜に貸し切ったのである。夕刻より貸切となって、会議参加者はまず水族館をぶらぶらと歩きながら内部を一通り見て、最後にマリンワールドの目玉の一つの大水槽前に到着する。そこで懇親会を行い、ひとしきり飲み食いしたあとで、学生ポスター賞授賞式となったのだ。レベルの高いサイエンスを存分に楽しんだあとに水族館でも楽しめて、参加者全員の印象に残るイベントとなったのはまちがいない。(田口英樹)



Recent Publications

田口 英樹 (東京科学大学 総合研究院 細胞制御工学研究センター 教授)

Ando Y[†], Kobo A[†], Niwa T[†], Yamakawa A, Konoma S, Kobayashi Y, *Nureki O, *Taguchi H, *Itoh Y, and *Chadani Y. A mini-hairpin shaped nascent peptide blocks translation termination by a distinct mechanism. *Nat Commun* accepted in principle.

Ikeda T, Nojima T, *Taguchi H. Seesaw protein: Design of a protein that adopts interconvertible alternative functional conformations and its dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* in press

*Ohhashi Y, Nishinami S, Shiraki K, *Chatani E, *Taguchi H. Low-complexity Domains in Phase-separated Droplets Suppress the Amyloid Formation of Yeast Prion Sup35. *npj Biosensing* in press

Miwa T and *Taguchi H. Revival of the *Escherichia coli* heat shock response after two decades with a small Hsp in a critical but distinct act. (review) *Biol Chem* 2025 Jan 7. doi: 10.1515/hsz-2024-0140.

Hamano T, Nagumo Y, Umehara T, Hirono K, Fujiwara K, Taguchi H, Chadani Y, *Doi N. STALL-seq: mRNA-display selection of bacterial and eukaryotic translational arrest sequences from large random-sequence libraries. *J Biol Chem* 300(12):107978. doi: 10.1016/j.jbc.2024.107978.

*Kadokura H, Harada N, Yamaki S, Hirai N, Tsukuda R, Azuma K, Amagai Y, Nakamura D, Yanagitani K, Taguchi H, Kohno K, *Inaba K Development of luciferase-based highly sensitive reporters that detect ER-associated protein biogenesis abnormalities. *iScience* 2024 Oct 16;27(11):11189. doi: 10.1016/j.isci.2024.11189.

*Taguchi H and Niwa T Reconstituted cell-free translation system for exploring protein folding and aggregation. (review) *J Mol Biol* 436(19):168726 (2024) doi: 10.1016/j.jmb.2024.168726.

Kobo A, *Taguchi H and *Chadani Y Non-specific N-terminal tetrapeptide insertions disrupt the translation arrest induced by ribosome arresting peptide sequences. *J Biol Chem* 300(6):107360 (2024) doi: 10.1016/j.jbc.2024.107360.

*Chadani Y, Yamanouchi S, Uemura E, Yamasaki K, Niwa T, Ikeda T, Kurihara M, Iwasaki W and *Taguchi H: The ABCF proteins in *Escherichia coli* individually cope with "hard-to-translate" nascent peptide sequences. *Nucleic Acids Res* 52, 5825–5840 (2024) doi: org/10.1093/nar/gkac309

*Taguchi H. On the pursuit to reconstitute the *Escherichia coli* ribosome from purified components. (Commentary) *J Biochem* Jan 17;mvad121 (2024) doi: 10.1093/jb/mvad121

Ito H, Machida K, Hasumi M, Ueyama M, Nagai Y, Imataka H and *Taguchi H. Reconstitution of C9orf72 GGGGCC repeat-associated non-AUG translation with purified human translation factors. *Sci Rep* Dec 20;13(1):22826 (2023) doi: 10.1038/s41598-023-50188-z

千葉 志信 (京都産業大学 生命科学部 教授)

Takada, H.#, Fujiwara, K., Atkinson, G. C., Chiba, S., Hauryliuk, V.# (2024) Resolution of ribosomal stalling by EF-P and ABCF ATPases YfmR and YkpA/YbiT. *Nucleic Acids Res*. gkae556. doi: 10.1093/nar/gkac556. (# corresponding authors)

Takada, H.#, Paternoga, H.#, Fujiwara, K., Nakamoto, J. A., Park, E. N., Dimitrova-Paternoga, L., Beckert, B., Saarma, M., Tenson, T., Buskirk, A. R., Atkinson, G. C., Chiba, S., Wilson, D. N., Hauryliuk, V. (2024) A role for the S4-domain containing protein YlmH in ribosome-associated quality control in *Bacillus subtilis*. *Nucleic Acids Res*. gkae399. doi: 10.1093/nar/gkac399. (# corresponding authors, * contributed equally)

Fujiwara, K.#, Tsuji, N., Yoshida, M., Takada, H., Chiba, S.# (2024) Patchy and widespread distribution of bacterial translation arrest peptides associated with the protein localization machinery. *Nat Commun*. 15, 2711. doi: 10.1038/s41467-024-46993-3. (# corresponding authors)

Gersteuer, F.#, Morici, M.#, Gabrielli, S., Fujiwara, K., Safdari, H. A., Paternoga, H., Bock, L. V., Chiba, S., Wilson, D. N. (2024) The SecM arrest peptide traps a pre-peptide bond formation state of the ribosome. *Nat Commun*. 15, 2431. doi: 10.1038/s41467-024-46762-2. (* contributed equally)

Morici, M., Gabrielli, S., Fujiwara, K., Paternoga, H., Beckert, B., Bock, L. V., Chiba, S.#, Wilson, D. N.# (2024) RAPP-containing arrest peptides induce translational stalling by short circuiting the ribosomal peptidyltransferase activity. *Nat Commun*. 15, 2432. doi: 10.1038/s41467-024-46761-3. (# corresponding authors)

内藤 哲 (北海道大学大学院 農学研究院 教授)

Aoyama H, Arai T, Yamashita Y, Toyoda A, Naito S, *Sotta N, *Chiba Y. Impact of translational regulation on diel expression revealed by time-series ribosome profiling in *Arabidopsis*. *Plant J*. 118, 1889–1906 (2024).

Imamichi T, Kusumoto N, Aoyama H, Takamatsu S, Honda Y, Muraoka S, Hagiwara-Komoda Y, Chiba Y, *Onouchi H, *Yamashita Y, *Naito S. Phylogeny-linked occurrence of ribosome stalling on the mRNAs of *Arabidopsis* unfolded protein response factor bZIP60 orthologs in divergent plant species. *Nucleic Acids Res*. 52, 4276–4294 (2024).

永井 義隆 (近畿大学 医学部 脳神経内科 教授)

Ishihara T., Tada M., Kanemitsu Y., Takahashi Y., Ishikawa K., Ikenaka K., Hirano M., Yokota T., Minakawa E.N., Saito K., Nagai Y., Onodera O. L-arginine in patients with spinocerebellar ataxia type 6: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *eClinicalMedicine* (in press) doi.org/10.1016/j.eclinm.2024.102952

Kamano S., Ozawa D., Ikenaka K., *Nagai Y. Role of lipids in the pathogenesis of Parkinson's disease. [Review] *Int. J. Mol. Sci.* 25(16): 8935 (2024) doi: 10.3390/ijms25168935

Gotoh S., Mori K., Fujino Y., Kawabe Y., Yamashita T., Omi T., Nagata K., Tagami S., Nagai Y., Ikeda M. eIF5 stimulates the CUG initiation of RAN translation of poly-GA DPR in C9orf72 FTL/ALS. *J. Biol. Chem.* 300(3): 105703 (2024) doi: 10.1016/j.jbc.2024.105703

Ueda T., *Takeuchi T.(equal contribution), Fujikake N., Suzuki M., Minakawa E.N., Ueyama M., Fujino Y., Kimura N., Nagano S., Yokoseki A., Onodera O., Mochizuki H., Mizuno T., Wada K., *Nagai Y. Dysregulation of stress granule dynamics by DCTN1 deficiency exacerbates TDP-43 pathology in *Drosophila* models of ALS/FTD. *Acta Neuropathol. Commun.* 12: 20 (2024) doi.org/10.1186/s40478-024-01729-8

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* 121(1): e2312306120 (2024) doi: 10.1073/pnas.2312306120

Ito H., Machida K., Ueyama M., Nagai Y., Imataka H., Taguchi H. Reconstitution of C9orf72 GGGGCC repeat-associated non-AUG translation with purified human translation factors. *Sci. Rep.* 13(1): 22826 (2023) doi: 10.1038/s41598-023-50188-z

上田哲大. 第43回 日本認知症学会 奨励賞「DCTN1の機能欠損はストレス顆粒の動態異常を引き起こし、TDP-43凝集を促進する」(R6.11.21-23、福島)

森 康治 (大阪大学大学院 医学系研究科 精神医学 講師)

Gotoh S., *Mori K., Fujino Y., Kawabe Y., Yamashita T., Omi T., Nagata K., Tagami S., Nagai Y., Ikeda M. eIF5 stimulates the CUG initiation of RAN translation of poly-GA DPR in C9orf72 FTL/ALS. *J. Biol. Chem.* 300(3): 105703 (2024) doi: 10.1016/j.jbc.2024.105703

Uozumi R., *Mori K., Gotoh S., Miyamoto T., Kondo S., Yamashita T., Kawabe Y., Tagami S., Akamine S., Ikeda M. PABPC1 mediates degradation of C9orf72-FTLD/ALS GGGGCC repeat RNA. *iScience*. 22:27(3):109303 (2024) doi: 10.1016/j.isci.2024.109303

Uozumi R., *Mori K., Akamine S., Ikeda M. Protocols for identifying endogenous interactors of RNA-binding proteins in mammalian cells using the peroxidase APEX2 biotin-labeling method. *STAR Protoc.* 9:5(4):103368 (2024) doi: 10.1016/j.xpro.2024.103368

松本 有樹修 (名古屋大学 大学院理学研究科 教授)

Shiraishi T, Matsumoto A* From Non-Coding to Coding: The Importance of Long Non-Coding RNA Translation in De Novo Gene Birth. *Biochim. Biophys. Acta.* in press.

Matsumoto K, Fujimori N, Ichihara K, Takeno A, Murakami M, Ohno A, Kakehashi S, Teramatsu K, Ueda K, Nakata K, Sugahara O, Yamamoto T, Matsumoto A, Nakayama KI, Oda Y, Nakamura M, Ogawa Y* Patient-derived organoids of pancreatic ductal adenocarcinoma for subtype determination and clinical outcome prediction. *J. Gastroenterol.* 59(7): 629-640, 2024.

Shiraishi T, Katayama Y, Nishiyama M, Shoji H, Miyakawa T, Mizoo T, Matsumoto A, Hijikata A, Shirai T, Mayanagi K, Nakayama KI* The complex etiology of autism spectrum disorder due to missense mutations of CHD8. *Mol. Psychiatry*, 29(7): 2145-2160, 2024.

遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部 教授)

Shiino H, Tashiro S, Hashimoto M, Sakata Y, Hosoya T, Endo T, Kojima H, Tamura Y. Chemical inhibition of phosphatidylcholine biogenesis reveals its role in mitochondrial division. *iScience* 27, 109189 (2024) doi: 10.1016/j.isci.2024.109189.

Genge MG, Roy Chowdhury S, Dohnálek V, Yunoki K, Hirashima T, Endo T, Doležal P, Mokranjac D. Two domains of Tim50 coordinate translocation of proteins across the two mitochondrial membranes. *Life Sci Alliance* 6(12):e202302122 (2023) doi: 10.26508/lsa.202302122

Nishio K, Kawarasaki T, Sugiura Y, Matsumoto S, Konoshima A, Takano Y, Hayashi M, Okumura F, Kamura T, Mizushima T, Nakatsukasa K. Defective import of mitochondrial metabolic enzyme elicits ectopic metabolic stress. *Science Advances* 9:eadf1956 (2023) doi: 10.1126/sciadv.adf1956

松本 雅記 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 オミクス生物学 教授)

Igami K, Kittaka H, Yagi M, Gotoh K, Matsushima Y, Ide T, Ikeda M, Ueda S, Nitta SI, Hayakawa M, Nakayama KI, Matsumoto M, Kang D, Uchiumi T. IMPAQT reveals that adequate mitohormesis from TFAM overexpression leads to life extension in mice. *Life Science Alliance*, 7(7):e202302498, 2024.

太田 元規 (名古屋大学大学院 情報学研究所 教授)

*Sakuma K, Koike R, *Ota M. Dual-wield NTPases: A novel protein family mined from AlphaFold DB. *Protein Sci.*, 33, e4934 (2024)

*Koike R, Ota M. Elastic network model reveals distinct flexibilities of capping proteins bound to CARMIL and twinfilin-tail. *Proteins*, 92, 37-43(2024)

Ozawa, Y., Anbo, H., Ota, M., *Fukuchi, S., Classification of proteins inducing liquid-liquid phase separation: sequential, structural and functional characterization, *J. Biochem.* 173, 255 – 264 (2023).

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)

松尾 芳隆 (東京大学 医科学研究所 准教授)

Kim KQ, Li JJ, Nanjaraj Urs AN, Pacheco ME, Lasehinde V, Denk T, Tesina P, Tomomatsu S, Matsuo Y, McDonald E, Beckmann R, Inada T, Green R*, Zaher HS*. Multiprotein bridging factor 1 is required for robust activation of the integrated stress response on collided ribosomes. *Mol Cell*. 84(23): 4594-4611. (2024)

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., Wakigawa, T., Jia, Q., Liu, C., Huang, R., Huang, S., Nagao, A., Suzuki, T., Tomita, K., Iwasaki S., and Takeuchi-Tomita, N. (2025) Selection of initiator tRNA and start codon by mammalian mitochondrial initiation factor 3 in leaderless mRNA translation. *Nucleic Acids Research*. in press

Bibel. B., Raskar, T., Couvillion, M., Lee, M., Kleinman, J. I., Takeuchi-Tomita, N., Churchman, L. S., Fraser, J. S., and Fujimori, D. G. (2024) Context-specific inhibition of mitochondrial ribosomes by phenicol and oxazolidinone antibiotics. *Nucleic Acids Research*. in press

古畑 隆史 (東京大学大学院 工学系研究科 助教)

Furuhata T, Choi B, Uno T, R. Shinohara, Sato Y, Okatsu K, Fukai S, *Okamoto A. Chemical Diversification of Enzymatically Assembled Polyubiquitin Chains to Decipher the Ubiquitin Codes Programmed on the Branch Structure. *J. Am. Chem. Soc.* 146, 28538–28552 (2024).

古川 健太郎 (九州大学大学院 医学研究院 助教)

*Furukawa K, Ginevskaia T, *Kanki T. Re-exploration of all ATG genes. *Autophagy Rep* 3, 2386194 (2024).

*Furukawa K, Hayatsu M, Okuyama K, Fukuda T, Yamashita SI, Inoue K, Shibata S, *Kanki T. Atg44/Mdi1/mitofissin facilitates Dnm1-mediated mitochondrial fission. *Autophagy* 20, 2314-2322 (2024).

以下、前号掲載の成果

*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 特任講師)

*Yoshimoto R, Nakayama Y, Nomura I, Yamamoto I, Nakagawa Y, Tanaka S, Kurihara M, Suzuki Y, Kobayashi T, Kozuka-Hata H, Oyama M, Mitu M, Iwasaki S, Yamazaki T, Hirose T, Araki K, *Nakagawa S. 4.5SH RNA counteracts deleterious exonization of SINE B1 in mice. *Mol Cell* 83, 4479-4493 (2023)

町田 幸大 (兵庫県立大学 工学研究科 准教授)

Ito H, Machida K, Hasumi M, Ueyama M, Nagai Y, Imataka H, *Taguchi H. Reconstitution of C9orf72 GGGGCC repeat-associated non-AUG translation with purified human translation factors. *Sci Rep* 2023 Dec 20;13(1):22826. doi: 10.1038/s41598-023-50188-z.

浅川 和秀 (国立遺伝学研究所 准教授)

Asakawa K*, Handa H, Kawakami K*. Dysregulated TDP-43 proteostasis perturbs excitability of spinal motor neurons during brainstem-mediated fictive locomotion in zebrafish. *Dev Growth Differ* 65(8):446-452. (2023) doi: 10.1111/dgd.12879.

Asakawa K*, Handa H, Kawakami K. In Vivo Optogenetic Phase Transition of an Intrinsically Disordered Protein. *Methods Mol Biol* 2707:257-264. (2024) doi: 10.1007/978-1-0716-3401-1_17.

* Corresponding author

七野 悠一 (理化学研究所 開拓研究本部 研究員)

† Fukuchi K, † Nakashima Y, *† Abe N, Kimura S, Hashiya F, Shichino Y, Liu Y, Ogisu R, Sugiyama S, Kawaguchi D, Inagaki M, Meng Z, Kajihara S, Tada M, Uchida S, Li TT, Maity R, Kawasaki T, Kimura Y, Iwasaki S, *Abe H. "Internal cap-initiated translation provides efficient protein production from circular mRNA" *Nat Biotechnol*, in press.

*Schneider-Poetsch T, Dang Y, Iwasaki W, Arata M, Shichino Y, Mourabit AA, Moriou C, Romo D, Liu JO, Ito T, Iwasaki S, *Yoshida M. "Girlline is a sequence-context specific modulator of eIF5A activity" *Nat Commun*, in press.

Ishibashi K, Shichino Y, Han P, Wakabayashi K, Mito M, Inada T, Kimura S, Iwasaki S, *Mishima Y. "Translation of zinc finger domains induces ribosome collision and Znf598-dependent mRNA decay in zebrafish" *PLoS Biol*. 22(12), e3002887 (2024).

*Shichino Y, Yamaguchi T, Kashiwagi K, Mito M, Takahashi M, Ito T, Ingolia NT, Kuba K, *Iwasaki S. "eIF4A1 enhances LARP1-mediated translational repression during mTORC1 inhibition" *Nat Struct Mol Biol*, 31, 1557-1566 (2024).

Saito H, Handa Y, Chen M, Schneider-Poetsch T, Shichino Y, Takahashi M, Romo D, Yoshida M, Fürstner A, Ito T, Fukuzawa K, *Iwasaki S. "DMDA-PatA mediates RNA sequence-selective translation repression by anchoring eIF4A and DDX3 to GNG motifs" *Nat Commun*, 15, 7418 (2024).

† Tomuro K, † Mito M, Toh H, Kawamoto N, Miyake T, Chow SYA, Doi M, Ikeuchi Y, *Shichino Y, *Iwasaki S. "Calibrated ribosome profiling assesses the dynamics of ribosomal flux on transcripts" *Nat Commun*, 15, 7061 (2024).

*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, RP0713 (2024).

†Teyssonniere E, †Shichino Y, Mito M, Friedrich A, *Iwasaki S, *Schacherer J. "Translation variation across genetic backgrounds reveals a post-transcriptional buffering signature in yeast" *Nucleic Acids Res*, 52, 2434-2445 (2024).

Apostolopoulos A, Kawamoto N, Chow SYA, Tsujii H, Ikeuchi Y, *Shichino Y, *Iwasaki S. "dCas13-mediated translational repression for accurate gene silencing in mammalian cells" *Nat Commun*, 15, 2205 (2024).

アウトリーチ

R6年2月24日 日本科学未来館コスタジオ+ハブスペース
「ミトコンドリアクエスト」#1 (遠藤 斗志也)

一般来館者向けに当研究室の研究対象であるミトコンドリアをテーマに、生物学を身近に感じてもらうためのイベントを開催した。3階ハブスペースでは酵母の顕微鏡観察や知育エリア、書籍の展示などの体験企画を中心として、クイズワークを行った。事前申込者はラボツアーに参加し、研究室内の機器等を見学した。今回新たに3階のハブスペースではアガロースゲルにサンプルを打ち込む体験コーナーを作った。研究室クエストでは顕微鏡エリアや大量培養エリアなどの見学、SDS-PAGE サンプル添加、Vitrobot 操作 (常温)、菌体破砕機操作などの体験を開催した。その後、質疑応答時間を設け、参加者からラボツアーで思った質問や感想を頂いて、さらなる交流を図った。

- R6年6月8日 日本科学未来館コスタジオ+ハブスペース
「ミトコンドリアクエスト」#2 (遠藤 斗志也)
一般来館者向けに当研究室の研究対象であるミトコンドリアをテーマに、生物学を身近に感じてもらうためのイベントを開催した。コスタジオではサイエンストークを行い、ミトコンドリアの最新の知識を分かりやすく説明した (Youtubeに動画を公開)。3階のハブスペースではアガロースゲルにサンプルを打ち込む体験コーナーを作った。サイエンストークでは、タンパク質の配送法は宛名がタンパク質に書き込まれているので宅配便に似ているが、配送には間違いが起こりやすく、それをやり直すことで正しい住所への配送が実現すること (本領域の研究課題) にも触れた。
<https://www.youtube.com/watch?v=H93UWTDTIVc>
- R6年8月26-27日 高校生インターンシップ (東京工業大学すずかけ台キャンパス) (田口英樹)
- R6年12月26日 東京都立国立高等学校 サイエンスカフェ
「タンパク質科学が拓くこれからの生命科学」(田口英樹)

受賞情報

上田 哲大 (永井班)(近畿大学 医学部 脳神経内科 元派遣大学院生)

第43回日本認知症学会 奨励賞

「DCTN1の機能欠損はストレス顆粒の動態異常を引き起こし、TDP-43凝集を促進する」

太田 元規 (名古屋大学大学院 情報学研究科 教授)

2024年ノーベル賞からみる最新研究講演会 化学賞

「タンパク質の配列・構造相関」

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)

文部科学大臣表彰 若手科学者賞

「RNAサイレンシングの細胞内時空間動態 / 制御の萌芽研究」

日本細胞生物学会 若手最優秀発表賞

「細胞内においてmicroRNAはいつ・どこで機能しているのか?」

古畑 隆史 (東京大学大学院 工学系研究科 助教)

第18回バイオ関連化学シンポジウム 講演賞

「直列型ユビキチン鎖の非酵素的修飾を介した標的タンパク質の分解経路制御」

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)

2024年度「第8回せりか基金賞」：一般社団法人せりか基金

「牟婁病 (ALS/PDC) の危険因子と疑われるリチウム同位体効果の研究」

編集後記

このたび、マルチファセットプロテインズ・ニュースレター第4号をお届けいたします。ご多忙の中、多くの先生方、研究員、学生の方々にご協力いただきましたこと、心より御礼申し上げます。本年度は領域の最終年度として、9月に、国際会議も開催されました。名古屋大・松本有樹修先生をはじめ、国際会議の運営にご尽力くださいました松本研のメンバーの皆様のおかげで、とても素晴らしい国際会議になったと思います。また、8月には、京産大・遠藤斗志也研究室の小野鈴花さんを中心に、若手ワークショップも開催されました。国際会議や若手ワークショップの様子は、ミーティングレポートや、優秀発表賞受賞者のコメントとして、本ニュースレターで紹介しています。加えて、今号では、計画班員の研究成果もまとめて掲載しております。この5年間の研究の進展の一端を感じ取っていただければ幸いです。

マルチファセットプロテインズ・ニュースレターは、これもちまして最終号となりますが、これまで多くの方に原稿執筆や情報提供などをいただきましたこと、改めて深く感謝申し上げます。今後の皆様の研究が変わらず進展することを願っております。

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4号 2025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

