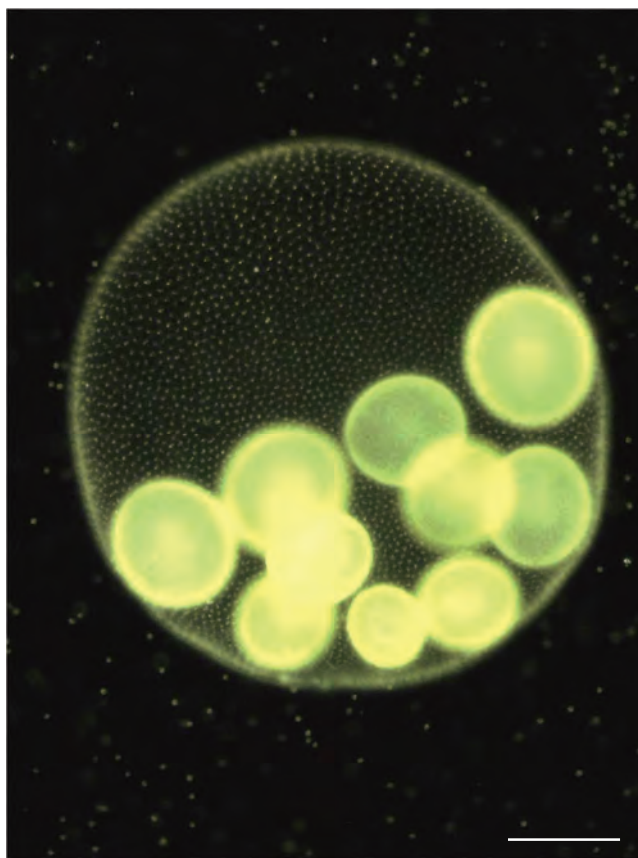


ISSN 2436-0007

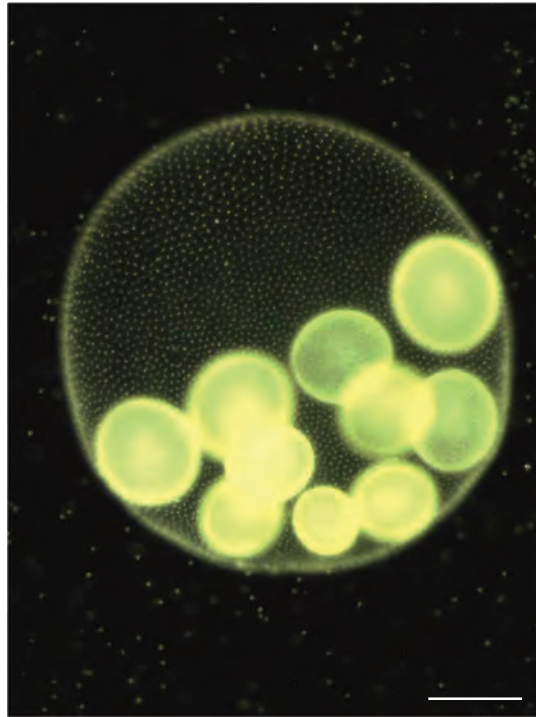
# 京都産業大学生命科学部 年報

Annual Report of the Faculty of Life Sciences  
Kyoto Sangyo University



《第6号》

2024年度  
令和6年度



【同じ水なのに： ボロボックスとクラミドモナス】

ボロボックスは、肉眼でも動きが見えるほど大きな植物プランクトンで、愛好家も多い、多細胞の微生物です。写真のボロボックス *Volvox ferrisii* は、直径が約 1 mm もある大型種で、約 5000 個の細胞からなります（スケールバーは 200  $\mu\text{m}$ =0.2 mm）。

よく見ると、ボロボックスの周囲に小さな粒のような生き物が写っています。これはクラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii* という単細胞の藻類で、直径はわずか約 5  $\mu\text{m}$  です。大きさを比べやすくするため、別々に培養したこれら 2 つの生物を混ぜて、一緒に観察しました。ボロボックスとクラミドモナスは、ともに「緑藻綱ボロボックス目」に属する近縁種で、クラミドモナスのような単細胞の祖先が多細胞化することで、ボロボックスが進化したと考えられています。

どちらも池や湖などの淡水にすんでいます。大きさがこれほど違うと、同じ水の中にも「それぞれが感じる水のネバネバ度合い」がまったく違います。たとえば、ボロボックスにとって水は、人間がメープルシロップの中を泳ぐようなもの。一方、クラミドモナスにとってはもっとネバネバで、ピーナツバターの中で泳ぐようなものです。どちらの生き物も、細胞から生えた鞭毛（べんもう）を動かして泳ぎますが、泳ぎながら曲がったり止まったりするときの鞭毛の調節方法が異なります。私たちは、この違いが、それぞれのサイズに応じて「水の粘り」にうまく適応して進化した結果ではないか、という新しい説を提唱しました（植木、若林： BMC Ecology and Evolution 2024, 24:119）。

# 目次

|            |                   |     |
|------------|-------------------|-----|
| 巻頭言        | 1                 |     |
| 教員研究室一覧    | 2                 |     |
| 2024 年活動記録 |                   |     |
| 先端生命科学科    | 先端生命科学科の教育研究活動    | 7   |
|            | 板 野 直 樹 教授        | 10  |
|            | 潮 田 亮 准教授         | 13  |
|            | 遠 藤 斗志也 客員教授      | 18  |
|            | 加 藤 啓 子 教授        | 23  |
|            | 金 子 貴 一 教授        | 27  |
|            | 川 根 公 樹 准教授       | 29  |
|            | 河 邊 昭 教授          | 31  |
|            | 黒 坂 光 教授          | 33  |
|            | 白 鳥 秀 卓 教授 (学科主任) | 34  |
|            | 高 桑 弘 樹 教授        | 37  |
|            | 高 橋 純 一 准教授       | 39  |
|            | 武 田 洋 幸 客員教授      | 42  |
|            | 棚 橋 靖 行 准教授       | 45  |
|            | 千 葉 志 信 教授        | 48  |
|            | 津 下 英 明 教授 (学部長)  | 52  |
|            | 中 村 暢 宏 教授        | 56  |
|            | 西 野 佳 以 准教授       | 60  |
|            | 三 嶋 雄一郎 教授        | 63  |
|            | 本 橋 健 教授 (副学部長)   | 65  |
|            | 横 山 謙 教授          | 68  |
| 産業生命科学科    | 産業生命科学科の教育研究活動    | 75  |
|            | 川 上 雅 弘 准教授       | 77  |
|            | 木 村 成 介 教授 (学科主任) | 79  |
|            | 佐 藤 賢 一 教授        | 83  |
|            | 三 瓶 由 紀 准教授       | 85  |
|            | 染 谷 梓 准教授         | 87  |
|            | 寺 地 徹 教授          | 89  |
|            | 西 田 貴 明 准教授       | 93  |
|            | 野 村 哲 郎 教授        | 97  |
|            | 前 田 秋 彦 教授        | 100 |
|            | 若 林 憲 一 教授        | 102 |
| 2024 年     | 動物実験教育訓練および動物慰霊祭  | 106 |
| 2024 年     | 生命科学部 研究トピックス     | 109 |



## 巻頭言

生命科学部長

木村成介

生命科学部は、2019年に前身の総合生命科学部が改組されて誕生し、2つの学科、すなわち「先端生命科学科」と「産業生命科学科」を柱に、それぞれ特色ある教育研究活動に取り組んできました。生命科学部は、この年報の対象年度である2024年度をもって設置から6年を迎え、第1期生が修士課程を修了し、社会へと羽ばたく節目を迎えることとなりました。理工系分野では、学部から修士課程までを一貫して修了することで一人前と見なされることが一般的になりつつあります。その意味で、2024年度は本学部にとって意義深い年となったと考えています。

本学部は、前身の総合生命科学部の時代から「良い教育は良い研究から」というモットーを掲げ、教育・研究に取り組んできました。この言葉には、大学における教育は、優れた研究者によって支えられるべきであるという考え方が込められています。また、生命科学という学問を修得するためには、学生自身が本当の研究に取り組む、すなわち主体的に考え、行動し、他者と協働しながら研究成果をあげて発表する、という経験が不可欠です。大学における研究活動が、教育そのものと深く結びついていることを、このモットーは端的に示しています。本学部では、少人数教育を徹底し、学生が主体となって最先端の研究に取り組む環境を整えています。この環境の中で、多くの学生が研究活動に真摯に取り組み、確かな力を身につけています。

本年報は、生命科学部の研究活動を自己評価・客観評価するために毎年作成しているものです。各研究室の取り組みを振り返るとともに、今後の発展に資することを目的としています。総合生命科学部時代から数えれば第15号、生命科学部としては第6号となる本号には、論文発表、学会活動、外部資金の獲得状況だけでなく、社会貢献活動や教育活動の様子も記録されています。お目通しいただければ、生命科学部の現在の姿を感じ取っていただけるものと思います。

今後とも、教育・研究の質の向上に努め、社会に貢献できる学部づくりを目指してまいります。本年報が、生命科学部をより深くご理解いただく一助となれば幸いです。

生命科学部教員研究室一覧

| 学科      | 役職    | 職名   | 氏名     |    |      |                                                                         |
|---------|-------|------|--------|----|------|-------------------------------------------------------------------------|
|         |       |      |        | 講師 | 研究助教 | 研究員・研究補助員                                                               |
| 先端生命科学科 |       | 教授   | 板野 直樹  |    |      |                                                                         |
|         |       | 客員教授 | 遠藤 斗志也 |    |      | 草野 清輔 宗 家萱 平嶋 孝志 中村 京子<br>張 春明 齊藤 知加 小野 鈴花 布施 涼子<br>石田 玉美 赤羽 しおり 篠田 沙緒里 |
|         |       | 教授   | 加藤 啓子  |    |      |                                                                         |
|         |       | 教授   | 金子 貴一  |    |      |                                                                         |
|         |       | 准教授  | 川根 公樹  |    |      | 中嶋 晶子<br>栗井 麻里那                                                         |
|         | 副学科主任 | 教授   | 河邊 昭   |    |      |                                                                         |
|         |       | 教授   | 黒坂 光   |    |      |                                                                         |
|         | 学科主任  | 教授   | 白鳥 秀卓  |    |      |                                                                         |
|         |       | 教授   | 高桑 弘樹  |    |      | 藪田 淑予                                                                   |
|         |       | 准教授  | 高橋 純一  |    |      |                                                                         |
|         |       | 客員教授 | 武田 洋幸  |    |      | 池田 貴史 森戸 亜未                                                             |
|         |       | 准教授  | 棚橋 靖行  |    |      |                                                                         |
|         |       | 教授   | 千葉 志信  |    |      | 村木 直子 石川 香奈子 村田 真智子                                                     |
|         | 学部長   | 教授   | 津下 英明  |    |      | 藪田 淑予 羽深 典之                                                             |
|         |       | 教授   | 中村 暢宏  |    |      |                                                                         |
|         |       | 准教授  | 潮田 亮   |    |      | 福田 泰子 葛西 綾乃                                                             |
|         |       | 准教授  | 西野 佳以  |    |      |                                                                         |
|         |       | 准教授  | 三嶋 雄一郎 |    |      | 石橋 幸大 若林 貴美                                                             |
|         | 副学部長  | 教授   | 本橋 健   |    |      | 佐藤 望                                                                    |
|         |       | 教授   | 横山 謙   |    |      | 津山 泰一                                                                   |
| 産業生命科学科 |       | 准教授  | 川上 雅弘  |    |      |                                                                         |
|         |       | 教授   | 木村 成介  |    |      | 坂本 智昭 水野 華織 池松 朱夏                                                       |
|         | 学科主任  | 教授   | 佐藤 賢一  |    |      |                                                                         |
|         |       | 准教授  | 三瓶 由紀  |    |      |                                                                         |
|         |       | 准教授  | 染谷 梓   |    |      |                                                                         |
|         |       | 教授   | 寺地 徹   |    |      | 瀧井 瑠季 静 貴子 宮田 暉大                                                        |
|         |       | 准教授  | 西田 貴明  |    |      |                                                                         |
|         | 副学科主任 | 教授   | 野村 哲郎  |    |      |                                                                         |
|         |       |      | 前田 秋彦  |    |      |                                                                         |
|         |       |      | 若林 憲一  |    |      | 高井 恵理子                                                                  |

| スタッフ等名簿                                                                |         |                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 客員研究員                                                                  | 嘱託・契約職員 | 大学院生                                                                                                     | その他 |
|                                                                        |         | 岩本 駿吾(D3)9月まで<br>蘆田 紗和子(M2) 坂本 惇哉(M2) 櫻井 彩弥音(M2)<br>ベン カキ(M2) 利一 祐理子(M2) 杉本 愛侑(M1)<br>浅尾 茉弥(M1) 松尾 俊(M1) |     |
| 竹田 弘法 渡邊 康紀 佐藤 久夫 丹羽 一<br>松本 俊介 須賀 比奈子 荒磯 裕平 阪上 春花                     | 足立 織生   | 小西 雄大(D2) 内片 康貴(M2) 清水 一馬(M2)                                                                            |     |
| 藤田 明子, 高木 陽子<br>シリポーン タングスツザイ                                          |         | 岡 卓也(D3) 田村 聡哉(D3) 上村 碧(M2)<br>村田 賢司(M1) 中谷 敢(M1) 森井 渉羽(M1)                                              |     |
|                                                                        |         |                                                                                                          |     |
|                                                                        |         | イヅララ サティシュ クマール(D3) 達富 一湖(D2)<br>井上 英二(M2) 原田 翔悟(M2) 下山 瑠稀矢(M1)<br>中川 敦斗(M1) 宮浦 由樹(M1)                   |     |
|                                                                        |         | 笹本 悠馬(M2)                                                                                                |     |
|                                                                        |         |                                                                                                          |     |
|                                                                        |         | 片岡 莉奈(M1) 松本 愛海(M1)                                                                                      |     |
| 清水 英信 植 貴俊 下向井 美摩 筋寛 拓也<br>塚本 裕太 富田 陽子 中川 和子 中川 力<br>西口 麻衣子 原田 裕子 古市 茜 |         | 川西 一佳(M2) 木村 仁哉(M2)<br>大西 野乃香(M1) 足田 侑那(M1)                                                              |     |
|                                                                        |         |                                                                                                          |     |
|                                                                        |         |                                                                                                          |     |
|                                                                        |         | 中尾 真琴(D1)                                                                                                |     |
|                                                                        |         | 辻 奈緒子(D1) 吉田 真悠(M2) 小笠原 優大(M1)<br>佐野 桃加(M1)                                                              |     |
| 吉田 徹 山田 等仁                                                             |         | 迫田 憲亮(M2) 西田 和哉(M2) 三谷 優季(M2)                                                                            |     |
|                                                                        |         | 中西 百合香(M2) 山本 隆誠(M1)                                                                                     |     |
| 永田 和宏                                                                  | 坂本 龍太   | 堤 智香(D3)9月まで 和田 匠太(D3) 杉澤 亜美(D2)<br>駒井 実紅(M1) 坂本 龍太(M1) 残間 瑠南(M1)<br>布村 七海(M1)                           |     |
|                                                                        | 青木 ゆき子  | 酒谷 紬(M2) 小西 鈴音(M1)                                                                                       |     |
|                                                                        |         | 宇賀神 希(D3) 門田 みく(M2) 影山 航也(M2)<br>井口 碧(M2) 景井 飛羅(M1) 松江 瞭太(M1)                                            |     |
|                                                                        |         | 米澤 舞那(M2) 福渡 発(M1)                                                                                       |     |
| 井尻 貴之                                                                  | 横山 朋子   | 中野 敦樹(D3) 河内 貴哉(M2) 西田 結衣(M2)<br>上田 楓華(M1) 寺村 龍河(M1)                                                     |     |
|                                                                        |         |                                                                                                          |     |
| 李 高洁 Dhanya Radhakrishnan                                              |         | シデク ツイ バザル(D2) 黒田 友衣(M2)<br>有山 蓮(M1) 大倉 一馬(M1)                                                           |     |
| Tokmakov Alexander A                                                   |         | 土井 香波(M1) 萩野 姫奈(M1) 宮本 大和(M1)                                                                            |     |
|                                                                        |         |                                                                                                          |     |
| 石崎 雅和 美濃部 仁志                                                           |         |                                                                                                          |     |
| 辻村(塚谷) 真衣 植村 香織                                                        |         |                                                                                                          |     |
| 小笠原 奨悟 大庭 義也 多賀 洋輝                                                     |         | 辻野 建貴(M2) 富岡 瑠加(M2) 植平 隆暉(M1)                                                                            |     |
| 花房 美緒                                                                  |         | 平野 珠結(M1)                                                                                                |     |
| 川崎 成人 和田 好生 藤田 友紀                                                      |         | ハサン エムディ ムラド(D3) 中川 侑哉(M2)<br>前嶋 颯(M2) 金子 実夏子(M1)                                                        |     |
|                                                                        |         |                                                                                                          |     |



先端生命科学科

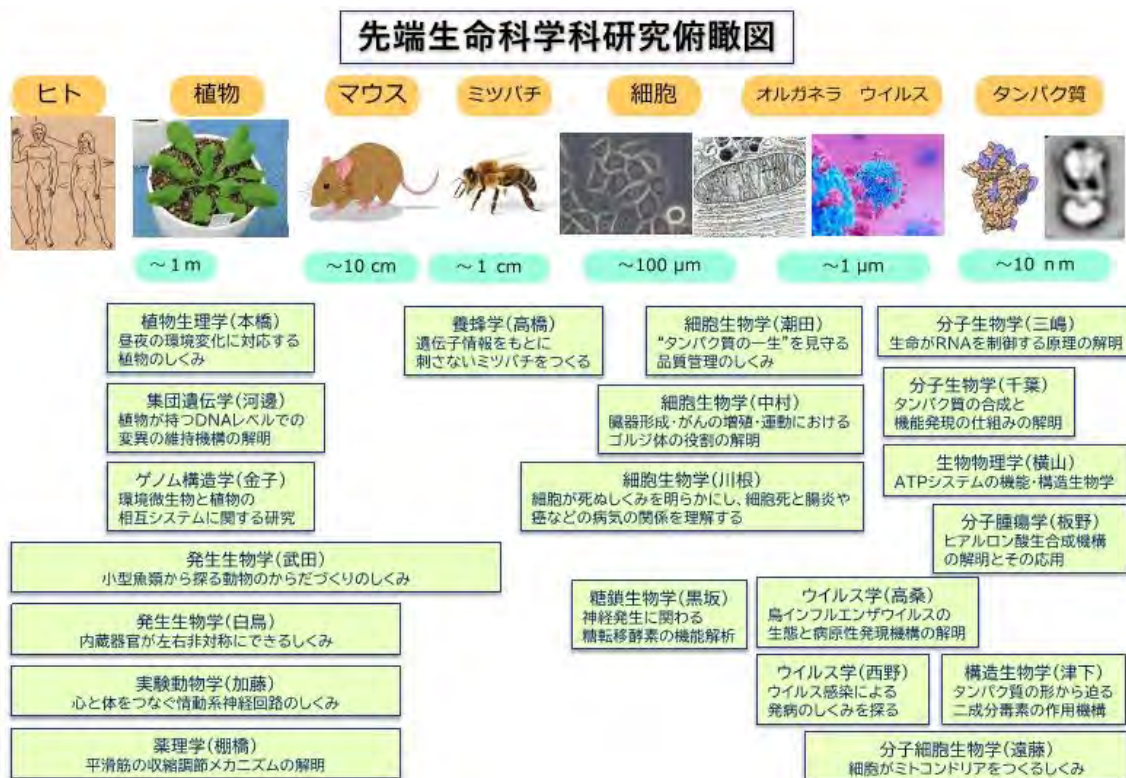


## 先端生命科学科

### 【研究】

生命科学は持続可能な社会の構築に不可欠であり、人類の生存に直結する「医療・健康」「食料・資源」「環境・生態」に集約される地球規模の諸問題と密接に関係している。この背景のもと、先端生命科学科では、生命科学の先端的分野における研究を牽引するとともに、研究を通じて得た成果を社会に向けて効果的に発信している。

先端生命科学科がカバーする研究領域としては、環境・生態、食料・資源といったマクロな視点から、細胞、オルガネラ、生体分子といったミクロな視点まで、多岐に渡る。具体的には、ミクロの領域では、人獣共通感染症を引き起こすウイルスに関する研究、糖代謝と癌の悪性化機構に関する研究、ミトコンドリアや小胞体等のオルガネラの構築原理やその機能解明、創薬につながるタンパク質の構造研究、タンパク質の合成と恒常性の維持機構の解明、根粒菌や植物のゲノム解析、植物の生理機能解析等、マクロな領域では、糖鎖修飾と行動との関連、環境保全型養蜂技術の確立等がある。これら多様な研究テーマを推進している教員が有機的に連携しながら、共同研究を展開できる環境が整っている。最先端の生命科学に基づく研究成果を発信し続けることで、実社会への貢献を目指す。



## 【教育】

先端生命科学科では、「生命科学に関する専門的な知識と技術をもち、生命科学の諸問題を正しく認識・理解するとともに、その解決策を提案し実行することで社会に貢献する、あるいは研究や開発等を通して生命科学の発展に寄与する人材の養成」を教育目標にしている。この教育目標を実現するために、生命科学の基本となる基礎科目および基本的な知識の定着をはかるための各基礎科目に対応した演習科目を配置し、学年進行に伴って開講される専門科目の学びにつなげる積み上げ型のカリキュラムを設定している。

初年次には生物学通論、化学通論と対応する演習科目により、生命科学の学びに必要な基本的な知識や考える力を修得する。また、コンピュータのスキルも修得する。初年次後半には、生化学の基礎を学ぶ物質生物化学、2年次には代謝生物化学、分子生物学、細胞生物学などの生命科学の基盤となる科目と対応する演習科目を配当し、その後に専門性の高い科目として生命医科学1, 2、食料資源学1, 2、環境生態学1, 2、微生物学、タンパク質科学等を履修するようになっている。2年次春学期には生命倫理を配当し、特別研究科目など他のさまざまな科目を通して、生命や研究についての高い倫理観を修得する。実験科目としては、初年次秋学期から化学実験、2年次春学期には生物学実験が開講され、化学・生物学の基本について実習を通して学ぶとともに基本的な実験手法を身に付け、2年次秋学期～3年次春学期に開講される先端生命科学実習1, 2では専門性の高い実験・演習を行う。また、先端生命科学英語1, 2では専門英語を学ぶための英語力を涵養する。

2年次からは「生命医科学コース」、「食料資源学コース」、「環境・生態学コース」のいずれかの主コースを選択し、選択したコースの選択必修科目を中心に履修する。幅広い知識と視野を身に付けるために、選択したコース以外の専門科目も受講できる。また、主コースで学修した専門性を生かして資格などの取得を目指す4つの副コース「グローバル・サイエンス・コース」、「教職課程コース」、「実験動物技術者養成コース」、「食品衛生管理者養成コース」を設置している。3年次秋学期の先端生命科学特別研究1あるいは生命科学プロジェクト研究1から各教員の研究室へ分属する。1つの研究室に学生3～5名が分属する少人数教育により、卒業年次には、先端生命科学特別研究2あるいは生命科学プロジェクト研究2で本格的な卒業研究に取り組む。分属先研究室としては、先端生命科学科の20研究室に加え、産業生命科学科の7実験系研究室を選ぶこともできる。生命科学の専門性が高い人材の育成が学科目標のひとつであり、大学院進学を

積極的に推奨している。

将来の進路としては、食品、製薬、バイオ関連企業のほか、中学高校の理科教員や、公務員などを見込んでいる。本年度は当学科の79名が卒業した。生命医科学コース62名、食料資源学コース9名、環境・生態学コース8名の卒業生であった。また、教員免許取得9名、実験動物技術者1級資格取得11名、食品衛生管理者養成コース修了20名であった。

| 科目名          | 配当学年 | 担当教員              | 科目名                              | 配当学年 | 担当教員                          |
|--------------|------|-------------------|----------------------------------|------|-------------------------------|
| フレッシュヤーズセミナー | 1    | 学科全教員             | 化学の基礎                            | 1    | 中村                            |
| 生物学通論A       | 1    | 川根                | 生物の基礎                            | 1    | 千葉                            |
| 生物学通論B       | 1    | 高橋                | 化学実験                             | 1    | 潮田、武田、津下、中村、西野、本橋             |
| 化学通論A        | 1    | 横山                | 先端生命科学演習1                        | 1    | 潮田、棚橋                         |
| 化学通論B        | 1    | 津下                | 先端生命科学演習2                        | 1    | 川根、横山                         |
| 生命科学概論       | 1    | 河邊、白鳥             | 先端生命科学演習3                        | 1    | 板野、高桑                         |
| 物質生物化学       | 1    | 黒坂                | 英語サマーキャンプ1                       | 1    | 三嶋                            |
| 生命科学データサイエンス | 1    | 金子、河邊             |                                  |      |                               |
| 分子生物学        | 2    | 千葉                | 食料資源学1                           | 2    | 高橋                            |
| 代謝生物化学       | 2    | 遠藤、本橋             | 環境生態学1                           | 2    | 高橋                            |
| 細胞生物学        | 2    | 中村                | 植物生理学                            | 2    | 本橋                            |
| 解剖生理学        | 2    | 加藤                | 先端生命科学演習4                        | 2    | 中村、西野                         |
| 遺伝学          | 2    | 河邊                | 先端生命科学演習5                        | 2    | 三嶋、千葉                         |
| 生物学実験        | 2    | 板野、金子、川根、武田、高桑、高橋 | 先端生命科学英語1                        | 2    | 潮田、加藤、武田、横山                   |
| 生命医科学1       | 2    | 板野                | 先端生命科学実習1                        | 2    | 川根、河邊、黒坂、高桑、高橋、千葉、津下、西野、三嶋、横山 |
| 発生生物学        | 2    | 武田                | 解剖生理学実習                          | 2    | 加藤、白鳥、棚橋                      |
| 微生物学         | 2    | 西野                | サイエンスキャリアプランニングセミナー              | 2    | 川根、津下、本橋                      |
| 生物統計学        | 2    | 金子、河邊             |                                  |      |                               |
| 生命医科学2       | 3    | 潮田、川根             | Modern Life Sciences in Our Life | 3    | 潮田、遠藤、加藤                      |
| 薬理学・毒性学      | 3    | 棚橋                | 先端生命科学英語2                        | 3    | 遠藤、白鳥、千葉、本橋                   |
| バイオインフォマティクス | 3    | 金子                | 先端生命科学実習2                        | 3    | 板野、潮田、加藤、金子、白鳥、中村、本橋          |
| タンパク質科学      | 3    | 津下、横山             | 分子動態学                            | 3    | 三嶋                            |
| 実験動物学        | 3    | 加藤、白鳥             | 実験動物学実習                          | 3    | 白鳥、棚橋                         |
| 生体物質分析化学     | 3    | 板野                | 感染症学                             | 3    | 高桑                            |
| 創薬医療学        | 3    | 黒坂                | 先端生命科学特別研究1                      | 3    | 学科全教員                         |
| 食品栄養衛生学      | 3    | 加藤、西野             | 生命科学プロジェクト研究1                    | 3    | 河邊、高桑、高橋、西野、本橋、横山、津下          |
| 先端生命科学特別研究2  | 4    | 学科全教員             | 生命科学プロジェクト研究2                    | 4    | 河邊、高桑、高橋、西野、本橋、横山             |
| 短期海外生命科学英語実習 | 4    | 加藤、黒坂、白鳥          |                                  |      |                               |

## 抗老化医学研究室

Laboratory of Anti-Aging Medicine

教授 板野 直樹

Prof. Naoki Itano, Ph.D.



### 1. 研究概要

高齢化社会の急速な進行を背景として、介護など様々な問題の解決が急務の課題となっている。当研究室の目標は、老化に特徴的な病的な状態に介入し、長寿の質(元気に長寿を享受できる状態)を確保するための革新的な技術確立することである。抗老化医学研究室では、この目的のため、分子生物学、細胞生物学、生化学、そして、遺伝子工学の先端技術を駆使して、以下の研究課題に取り組んでいる。

#### 1-1: ヒアルロン酸生合成機構の解明とアンチエイジング技術への展開

関節機能の低下が原因で寝たきりになる高齢者が増えている。この要因として、関節でクッションや潤滑の役割をするヒアルロン酸の減少がある。ヒアルロン酸は、*N*-アセチルグルコサミン(GlcNAc)とグルクロン酸(GlcA)が、 $\beta$ -1,3 と  $\beta$ -1,4 結合で交互に連結した2糖ユニットの繰り返し構造からなる高分子多糖であり、特に結合組織の細胞外マトリックス成分として広く存在している。細胞はこのマトリックスにヒアルロン酸受容体を介して接着し、細胞内情報伝達系を活性化して細胞増殖や移動の調節に働くとされる(図1)。私達は、世界に先駆けて、動物のヒアルロン酸合成酵素を見出し、ヒアルロン酸合成機構の解明に取り組んできた。そして、合成酵素遺伝子組換えタンパク質を用いた試験管内ヒアルロン酸合成システムの開発に成功し、酵素を活性化する化合物の探索を始めている。今後、ヒアルロン酸生合成機構の全容解明に取り組み、その研究を通じて、アンチエイジングへの技術展開を目指す。

#### 1-2: がん幹細胞を標的とした治療の基盤研究

高齢化社会の到来によって、我が国では、癌が主な死因となり、その克服が社会的要請となっている。癌は、生命システムの精巧なコントロールを逸脱して細胞が増え続けることで発症するが、癌の進展、転移、再発の正確な機構については、未だ十分な解明がなされていない。近年、多くの癌において、「がん幹細胞」の存在が報告されており、この細胞が癌の源であるという考えに注目が集まっている。がん幹細胞は、従来の化学療法や放射線治療に抵抗性を示すことから、転移や再発を引き起こす最大の要因と考えられ、根治的治療の標的として重要視されている。従っ

て、がん幹細胞の幹細胞性を喪失させ、悪性形質転換を阻止することが重要である。本研究の主目的は、がん幹細胞性を支配している分子を同定し、がん幹細胞を標的とする新規治療法を確立することである。

### 2. 本年度の研究成果

我々は以前の研究で、ヒアルロン酸を過剰産生する乳癌発症モデルマウスにおいて、がん細胞からがん幹細胞への転換が高率に起こることを明らかにしてきた。また、安定同位体と質量分析によりヒアルロン酸過剰産生細胞における糖代謝について検討し、UDP-*N*-アセチルグルコサミン(GlcNAc)合成経路であるヘキサミン合成経路(HBP)の代謝流束が著しく加速していることを明らかにした(図)。このことは、ヒアルロン酸の過剰な産生が、糖供与体である細胞内 UDP-GlcNAc と UDP-グルクロン酸(GlcUA)を多量に消費することで、細胞内糖代謝に影響を及ぼしていることを示唆している。糖ヌクレオチドの細胞内プールは、グルコース代謝によって包括的に制御されている。UDP-GlcNAc と GDP-マンノース(Man)は、それぞれ HBP と GDP-Man 生合成経路において、共通の解糖系中間体であるフルクトース-6-リン酸(Fru-6P)から *de novo* で合成される。UDP-GlcUA は、グルコース-6-リン酸(Glc-6P)からグルコース-1-リン酸(Glc-1P)への変換、Glc-1P の UDP-Glc への変換、UDP-Glc の酸化という3段階の反応によって合成される(図)。HPLC 分析の結果、ヒアルロン酸過剰産生乳がん細胞では、UDP-GlcNAc や GDP-Man そして UDP-Glc といった *N*-型糖鎖修飾において重要な糖ヌクレオチドが減少していることが明らかとなった。また、質量分析の結果、糖ヌクレオチドの減少に伴って、*N*-型糖鎖のうちハイマンノース型、ハイブリッド型、そしてコンプレックス型糖鎖の組成が変化していることが明らかとなった。さらに、低用量ツニカマイシンによる *N*-型糖鎖修飾の部分的な阻害が、タンパク質の *N*-型糖鎖構造パターンに特徴的な変化をもたらし、がん幹細胞性を促進することを明らかにした。

今年度我々は、ヒアルロン酸過剰産生が、がん幹細胞性を調節する機構の解明を目的に、各種阻害剤による糖代謝の変化が、がん幹細胞性や抗がん剤耐性に及ぼす影響を検討している。

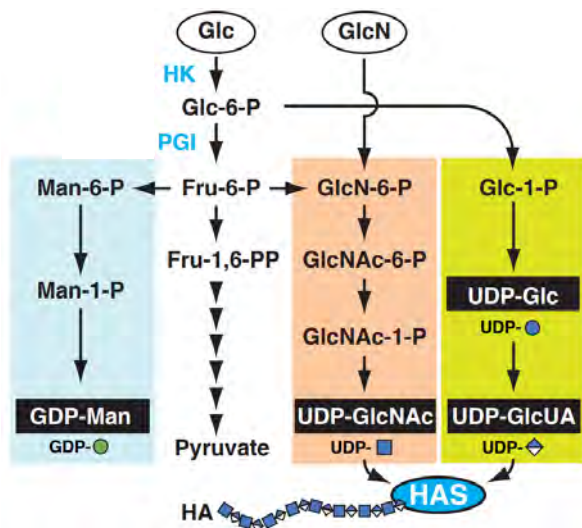


図 細胞内糖ヌクレオチド代謝

### 3. Research projects and annual reports

1-1. Elucidation of the Biosynthetic Process of Hyaluronan and its Application to Anti-aging Technologies  
There are an increasing number of bedridden elderly people in Japan with a loss of joint function due to conditions like osteoarthritis. Hyaluronan (HA) acts as a cushion and lubricant in articulating joints. It is an integral component of the synovial fluid between joints, but becomes reduced by age and thereby causes functional disorders. HA is a high molecular-mass polysaccharide found in the extracellular matrix, especially of that of connective tissues, and is composed of repeating disaccharide units in which N-acetylglucosamine (GlcNAc) and glucuronic acid (GlcUA) are linked together by alternating  $\beta$ -1,3 and  $\beta$ -1,4 linkages (Figure 1). Our laboratory discovered the first mammalian HA synthase (HAS) gene and has been thoroughly investigating the mechanism of HA biosynthesis ever since. Recently, we succeeded in establishing an in vitro reconstitution system using a recombinant HAS protein and developed a screening system for compounds that have HAS activation potential. Our future challenge is therefore to understand the entire mechanism of HA biosynthesis and apply this knowledge to developing innovative anti-aging technologies.

#### 1-2. Establishment of Therapies Targeting Cancer Stem Cell

Cancer has become the leading cause of death in our country due to increased longevity, and as such the

eradication of cancer has become a social mission. Although it is well known that uncontrolled cell proliferation leads to the development of cancers, the precise mechanisms underlying metastatic tumor progression and recurrence have not been fully resolved. Cancer stem cells (CSCs) have recently been reported to exist in many malignancies and have attracted remarkable attention because they are believed to be the only cells capable of initiating cancer growth. Because CSCs are relatively resistant to conventional chemotherapy and radiotherapy, and because they are closely associated with cancer metastasis and recurrence, targeting them is now a primary goal in cancer therapy.

The main purpose of our research in this domain is to identify the molecular cues that govern the CSC properties and establish novel therapies to induce a state of cancer dormancy by controlling CSCs.

#### 2. Annual reports

Our previous studies have demonstrated that the conversion of cancer cells to cancer stem cells occurred at a high rate in a breast cancer mouse model with a high HA production ability. We further investigated glucose (Glc) metabolism in HA-overproducing cancer cells by stable isotope and mass spectrometry, and found that the metabolic flux of the hexosamine biosynthetic pathway (HBP) is significantly accelerated (Fig. 1). This suggests that excessive HA production affects intracellular Glc metabolism by consuming large amounts of the sugar donors, UDP-N-acetylglucosamine (GlcNAc) and UDP-glucuronic acid. As illustrated in Figure, the intracellular pools of nucleotide sugars are comprehensively regulated by glucose metabolism. UDP-GlcNAc and GDP-Man are synthesized de novo from a common glycolytic intermediate, fructose-6-phosphate (Fru-6P), in the HBP and GDP-Mannose (Man) biosynthetic pathway, respectively. UDP-GlcUA is made by three-step reactions: conversion of glucose-6-phosphate (Glc-6P) into glucose-1-phosphate (Glc-1P); conversion of Glc-1P into UDP-Glc; and oxidation of UDP-Glc. HPLC analysis revealed that HA-overproducing breast cancer cells have reduced amounts of nucleotide sugars such as UDP-GlcNAc, GDP-Man, and UDP-Glc, which are important for N-glycosylation. We also analyzed glycan structures by mass spectrometry and demonstrated alterations of N-glycosylation in HA-overproducing breast cancer cells.

With the decrease of sugar nucleotides, the composition of pauci-mannose-type, high mannose-type, hybrid-type, and complex-type *N*-glycans was changed. Furthermore, we have shown that partial inhibition of *N*-glycosylation by low-dose tunicamycin causes characteristic changes in the *N*-glycan structural patterns of proteins and promotes cancer stemness.

We are currently investigating the effects of various Glc metabolism inhibitors on both cancer stemness and anticancer drug resistance to elucidate the mechanism by which HA hyperproduction modulates cancer stemness.

#### 4. 論文、著書など

Iwamoto S, Kobayashi T, Hanamatsu H, Yokota I, Teranishi Y, Iwamoto A, Kitagawa M, Ashida S, Sakurai A, Matsuo S, Myokan Y, Sugimoto A, Ushioda R, Nagata K, Gotoh N, Nakajima K, Nishikaze T, Furukawa JI, Itano N. Tolerable glycometabolic stress boosts cancer cell resilience through altered *N*-glycosylation and Notch signaling activation. *Cell Death Dis.* 15(1):53 (2024). doi: 10.1038/s41419-024-06432-z.

#### 5. 学会発表など

板野直樹 持続的な糖代謝ストレスががん幹細胞性を促進する機構の解明 第33回日本がん転移学会学術集会・総会、奈良

板野直樹、岩本駿吾、小林 孝、花松久寿、古川潤一 持続的な糖代謝ストレスによるがん幹細胞性促進機構の解明 第97回日本生化学会大会 横浜

蘆田紗和子、岩本駿吾、板野直樹 乳がん細胞におけるヒアルロン酸産生が化学療法抵抗性を促進する機構 第97回日本生化学会大会 横浜

松尾 俊、櫻井彩弥音、岩本駿吾、板野直樹 乳がん細胞におけるヒアルロン酸産生ががん幹細胞性を促進する機構 第97回日本生化学会大会 横浜

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究 C

課題名：がん細胞集団のレジリエンスを鍛える低容量ストレス応答の作動原理解明

研究代表者：板野直樹，取得年度：令和4年－7年（4年）

##### 2) 知財権等 なし

##### 3) 学外活動 板野直樹：

日本生化学会評議員  
日本糖質学会評議員  
日本結合組織学会評議委員  
日本がん転移学会評議委員  
プロテオグリカンフォーラム世話人

##### 4) 受賞等

該当なし

##### 5) その他

ホームページ：

<http://www.cc.kyoto-su.ac.jp/~itanon/index2.html>



研究室メンバー

# 分子細胞生物学研究室

Laboratory of Molecular and Cellular Biology

准教授 潮田 亮

Associate Prof. Ryo Ushioda, Ph.D.



## 1. 研究概要

分子細胞生物学研究室では、「タンパク質の一生」を大きな研究の枠として設定し、タンパク質の誕生から死までのメカニズムを中心に、中でも、特に「分子シャペロンによるフォールディングと細胞機能制御」および「タンパク質品質管理機構」に焦点をあてて研究を進めている。

タンパク質は正しく合成され、正しい構造をとって初めて本来の機能を発揮するが、それには種々の分子シャペロンが重要な働きをしている。また、いったん正しい機能を獲得したタンパク質も、細胞に不断にかかる種々のストレスによって変性したり、遺伝的変異によってどうしても正しい構造をとれないタンパク質も存在する。このようないわゆる<不良タンパク質>は、単に機能を持たないだけでなく、細胞毒性によって細胞死を誘導し、アルツハイマー病やパーキンソン病のような種々の神経変性疾患の原因ともなっている。従って、「**タンパク質を正しく合成する productive folding**」と、「**ミスフォールドしたタンパク質を適正に処理するための品質管理機構**」をとっても研究することは、「**タンパク質動態の恒常性(プロテオスタシス)**」、「**細胞レベルでの生命システムの恒常性の維持**」という観点からは、必須の研究領域である。

本研究室では、上記のコンセプトに従って、3 つの主要なプロジェクトについて研究を推進してきた。すなわち、

- 1) 小胞体におけるタンパク質品質管理、レドックス制御、カルシウム恒常性のクロストーク: 小胞体恒常性維持の解明
- 2) コラーゲン特異的分子シャペロン Hsp47 の機能解析
- 3) プロテオスタシス破綻に伴う老化・疾患メカニズムの解明

以下、プロジェクト 1) について、得られた知見について紹介する。

### 小胞体におけるタンパク質品質管理、レドックス制御、カルシウム恒常性のクロストーク: 小胞体恒常性維持の解明

小胞体でミスフォールドしたタンパク質はサイトゾルへ逆輸送されてからユビキチンプロテアソーム系によって分解される(ERAD)。この過程で潮田らにより、2008 年に ERdj5 という還元酵素が発見され、ミスフォールドタンパク質の品質管理機構において重要な役割を果たしていることをすでに報告してきた(*Science* 2008, *Mol. Cell* 2011 など)。さらに ERdj5 がカ

ルシウムポンプの活性を制御することによって、小胞体内のカルシウム恒常性維持を担っていることを発見した(*PNAS* 2016)。そのような経過から、レドックス制御を介したタンパク質品質管理とカルシウム恒常性のクロストークに注目している。小胞体はよく知られるように酸化的環境下にあるが、この酸化的環境において ERdj5 が還元活性を発揮するためには、何らかの方法によって還元力を得なければならない。言い方を変えれば、電子はどのようにして ERdj5 に伝達されるのか、小胞体はどのようにしてサイトゾルから電子を得ているのか、が避けて通れない大きな問題となる。これは小胞体というオルガネラに残された細胞生物学上の最大の謎の一つでもある。本、従来知られてきたのとはまったく異なる新たな方法によって、小胞体に電子が供給されているメカニズムを明らかにしつつある。また、小胞体内腔のレドックス環境がどのように構築されるのか、その機構解明にも挑戦している。

## 2. 本年度の研究成果

### 小胞体におけるタンパク質品質管理、レドックス制御、カルシウム恒常性のクロストーク: 小胞体恒常性維持の解明

細胞内小器官の一つである小胞体では、タンパク質品質管理・レドックス制御・カルシウムホメオスタシスという三つの環境要因が影響を及ぼしあい、恒常性を維持している。小胞体は酸化的フォールディングの場であり、そのレドックス環境はサイトゾルと比較し、酸化的環境に維持されている。また、多くの酸化酵素が存在し、酸化的フォールディングを触媒している。この酸化的環境で、我々は小胞体でジスルフィド還元活性に特化した還元酵素 ERdj5 を発見し、ERdj5 が小胞体のレクチンタンパク質 EDEM および分子シャペロン BiP と複合体を形成することを見出した。ERdj5 は小胞体でミスフォールドした分解基質のジスルフィド結合を自身の還元活性で切断し、小胞体からサイトゾルへの排出を促進し、タンパク質品質管理において重要な役割を果たしていることを見出した(R. Ushioda *et al.*, *Science*, 2008; M. Hagiwara *et al.*, *Mol. Cell*, 2011; R. Ushioda *et al.*, *Mol. Biol. Cell*, 2013, K. Uegaki *et al.*, *Cell Rep.*, 2023)。

さらに ERdj5 が小胞体膜上に存在するカルシウムポンプ SERCA2b およびカルシウムイオンチャネル IP3 受容体のジスルフィド結合を自身の還元活性で開裂し、複合体を形成することで小胞体へのカルシウム流入を調節し、小胞体のカル

シウム動態に影響を与えていることが明らかになった(R. Ushioda *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 2016, S. Fujii *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 2016)。また、ERdj5 の欠損はサイトゾルのカルシウムイオン恒常性破綻を招き、ミトコンドリアの異常断裂を引き起こすことを明らかにした (R. Yaamashita *et al.*, *Sci. Rep.*, 2021)。

さらに我々は、硫黄原子を介して小胞体還元酵素 ERp18 が亜鉛イオンと結合することを見出した。小胞体内腔の亜鉛イオンの役割は不明な点が多いのが現状であったが、ERp18 は亜鉛イオンと結合することで過酸化水素の分解活性を持つことを明らかにした。ERp18 による小胞体の過酸化水素分解活性は、小胞体からサイトゾルへの過酸化水素の漏洩を防ぎ、酸化ストレスを低減することで細胞および個体の老化に影響を与えることがわかった (C. Tsutsumi *et al.*, *Cell Rep.*, 2024)。

今回、当グループは、小胞体にグルタチオンを供給する初の輸送体を発見した (*In preparation*)。グルタチオンは小胞体内の酸化還元環境を維持し、ジスルフィド結合の形成やタンパク質の品質管理において中心的な役割を果たす分子であるが、その供給機構は長らく不明であった。本成果により、小胞体恒常性の分子基盤に新たな理解が加わった。現在、この輸送体の機能解析を進めるとともに、大腸菌を用いた高純度精製系の確立に成功しており、Cryo-EM による構造解析にも着手可能な体制を整えた。また、プロテオリボソーム系を用いた輸送活性の定量的評価系の構築にも取り組んでおり、今後の展開が期待される。

加えて、小胞体ストレス応答における新たな制御機構として、ストレスセンサーATF6 の活性化が小胞体内のレドックス状態に依存して制御されていることを明らかにした (図 1., *Under revision*)。これは、小胞体ストレス応答がレドックスという化学的パラメータを介して精緻に制御されていることを示すものであり、小胞体のプロテオスタシスとレドックス環境との密接な連関を示唆する重要な知見である。

さらに、小胞体における新規のタンパク質品質管理構造体を同定し、誤った構造を持つタンパク質の選別と分解における空間的制御機構としての機能が示唆されている (*Under revision*)。これにより、小胞体内の局所構造と機能に関する新たな知見をもたらし、プロテオスタシス研究の進展に資することが期待される。

### 3. Research projects and annual reports

We have been focusing our research on the productive folding of nascent polypeptides by molecular chaperones and protein quality control mechanism for misfolded proteins within the cells. Particularly, we have been devoted our activity on the following two major research projects:

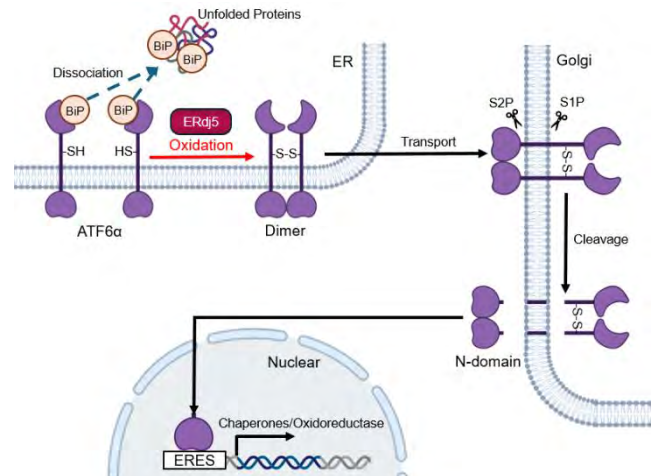


図 1. レドックス制御を介したストレスセンサーATF6 の活性化機構

**Maintenance of ER homeostasis through the crosstalk among Protein Quality Control, Redox regulation, and  $\text{Ca}^{2+}$  flux.** We identified ERdj5 as a disulfide-reductase in the endoplasmic reticulum (ER). ERdj5 forms the supramolecular complex with EDEM and BiP, and activates the degradation of proteins misfolded in the ER by cleaving the disulfide bonds of misfolded proteins and facilitating the retrograde transport of these proteins from the ER lumen into the cytosol, where they are degraded by the ubiquitin-proteasome system, which is called as ERAD (R. Ushioda *et al.*, *Science*, 2008; M. Hagiwara *et al.* *Mol. Cell*, 2011; R. Ushioda *et al.* *Mol. Biol. Cell*, 2013).

We found that ERdj5 cleaves the disulfide bond of SERCA2b, a  $\text{Ca}^{2+}$  pump on the ER membrane, and regulates its function. Additionally, ERdj5 senses the  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in the ER and regulates the interaction with SERCA2b. It suggests that the redox activity of ERdj5 is involved not only in protein quality control but also in  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis in the ER (R. Ushioda *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 2016).

Here, we focused on the control of the  $\text{Ca}^{2+}$  pump and channel by the redox regulation in the ER. Here, we obtained the structural information of SERCA2b for understanding how ERdj5 promotes the influx of  $\text{Ca}^{2+}$  by SERCA2b. Then, we found that the reductase ERdj5 affects the  $\text{Ca}^{2+}$  release activity of the IP3R (S. Fujii *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2023). Additionally, we found that ERdj5 deficiency causes mitochondrial fragmentation due to  $\text{Ca}^{2+}$  homeostatic disruption (R. Yamashita *et al.*, *Sci. Rep.*, 2021). It was clarified that redox regulation by ERdj5 is involved in the uptake and release of calcium ions in the ER.

We have elucidated how ERdj5 obtains the electrons for its reductase activity in the oxidative environment of the endoplasmic reticulum (ER). It has been demonstrated that

ERdj5 binds to the oxidative enzyme Ero1 and utilizes the electrons transferred to Ero1 through oxidative folding to supply the electrons (K. Uegaki *et al.*, *Cell Reports*, 2023).

Moreover, we have discovered that the ER reductase ERp18 binds to zinc ions via sulfur atoms. While the role of zinc ions within the ER lumen has largely remained unclear, our findings reveal that ERp18 acquires hydrogen peroxide decomposition activity upon binding to zinc ions. This hydrogen peroxide decomposition activity of ERp18 in the ER prevents the leakage of hydrogen peroxide into the cytosol, thereby reducing oxidative stress and influencing cellular and organismal aging (C. Tsutsumi *et al.*, *Cell Reports*, 2024).

Our group has identified the first transporter responsible for supplying glutathione to the ER, uncovering a previously unknown molecular basis for maintaining the redox environment within the ER (*In preparation*). We have also established a high-purity purification system suitable for structural analysis by cryo-electron microscopy (Cryo-EM) and are developing a proteoliposome-based assay system for quantitative evaluation of its transport activity. In addition, we revealed that the ER stress sensor ATF6 is activated through redox-dependent regulation mediated by ERdj5, PDIR, and ERp18 (Fig.1, *Under revision*), providing new insight into the tight interplay between ER proteostasis and the redox environment. Furthermore, we identified a novel protein quality control structure within the ER, which appears to function as a spatial platform for the selective degradation of misfolded proteins (*Under revision*), offering a new perspective for advancing research in proteostasis.

#### 4. 論文、著書など

堤智香、潮田亮:小胞体の亜鉛イオンが制御する新たな抗酸化機構の解明、日本亜鉛栄養治療研究会「亜鉛栄養治療」15(1)、19-25(2024)

潮田亮:小胞体環境を評価する、羊土社実験医学増刊号「疾患研究につながるオルガネラ実験必携プロトコル Essential protocols on organelle experiments」67-77(2024)

和田匠太:Opinion-研究の現場から 第 174 回 細胞生物若手の会 発足から 10 年—未来へつなぐ伝統と革新、羊土社実験医学「AIで識別してオミクスで理解する 生体イメージング」3073 (2024)

#### 5. 学会発表など

潮田亮:オルガネラ環境に応じたタンパク質フォールディング、令和 6 年度 AMED-CREST「プロテオスタシス」領域会議、東京都、2025.3.24-26、口頭

Chika Tsutsumi: Novel Zn<sup>2+</sup>-dependent antioxidation mechanism in the ER, online, 16<sup>th</sup> ER & REDOX CLUB MEETING, 2025.3.17-20

駒井実紅、杉澤亜美、潮田亮:メラニン合成酵素チロシナーゼの新たなタンパク質品質管理機構の解明、三研究室合同セミナー、滋賀、2024. 12. 20-22

奥田結香、杉澤亜美、上田汐莉、潮田亮:構造異常タンパク質の空間的制御を実現する ERAD body の発見、三研究室合同セミナー、滋賀、2024. 12.20-22

堤智香、潮田亮:小胞体レドックス環境を構築するグルタチオン輸送機構の解明、三研究室合同セミナー、滋賀、2024. 12.20-22

潮田亮:タンパク質品質管理を支える電子硫黄媒体としての超硫黄分子の役割、学術変革領域研究(A)「硫黄生物学」第 4 回領域会議、滋賀、2024.12.3-5、口頭

和田匠太、永田和宏、潮田亮:レドックス制御を介した小胞体ストレスセンサーATF6 活性化機構の解明、学術変革領域研究(A)「硫黄生物学」第 4 回領域会議、滋賀、2024.12.3-5、口頭・ポスター

河内初穂、堤智香、上垣日育、潮田亮:超硫黄化修飾を介した新たな小胞体恒常性維持機構の解明、学術変革領域研究(A)「硫黄生物学」第 4 回領域会議、滋賀、2024.12.3-5、ポスター

杉澤亜美、上田汐莉、奥田結香、潮田亮:構造異常タンパク質の空間的制御を実現する ERAD body の発見、学術変革領域研究(A)「硫黄生物学」第 4 回領域会議、滋賀、2024.12.3-5、ポスター

駒井実紅、杉澤亜美、潮田亮:メラニン合成酵素チロシナーゼの新たなタンパク質品質管理機構の解明、学術変革領域研究(A)「硫黄生物学」第 4 回領域会議、滋賀、2024.12.3-5、ポスター

堤智香、上垣日育、山下龍志、潮田亮、永田和宏:亜鉛イオンを介した新たな小胞体における抗酸化機構の解明、第 97 回日本生化学会大会、横浜市、2024.11.6-8、口頭

駒井実紅、杉澤亜美、潮田亮:メラニン合成酵素チロシナーゼの新たなタンパク質品質管理機構の解明、第 97 回日本生化学会大会、横浜市、2024.11.6-8、ポスター

杉山誉人、梅澤啓太郎、佐々木克仁、信田理沙、堤智香、三浦ゆり、潮田亮、乃村俊史:病理性変異型 SERPINB7 の細胞外分泌不全によるタンパク質恒常性の破綻が表皮セルピノパチーを引き起こす、第 97 回日本生化学会大会、横浜市、2024.11.6-8、口頭・ポスター

坂本龍太、堤智香、潮田亮、小胞体グルタチオン輸送体の再構成、「細胞を創る」研究会 Ver17.0、大阪、2024.11.11-12、ポスター

佐野凌太、堤智香、潮田亮:小胞体レドックス環境の解明と再構成系の構築酸化的フォールディングにおけるグルタチオン環境の寄与、「細胞を創る」研究会 Ver17.0、大阪、2024.11.11-12、ポスター

杉澤亜美、上田汐莉、奥田結香、潮田亮:液-液相分離によって形成される新たなタンパク質品質管理プラットフォーム、第18回日本臨床ストレス応答学会大会、2024.11.1-2、ポスター

和田匠太、永田和宏、潮田亮:レドックス制御を介した小胞体ストレスセンサーATF6 活性化機構の解明、第 2 回細胞生物コロキウム、京都、2024.10.19、口頭(「優秀口頭発表賞」受賞)

Ryo Ushioda : Mechanism for maintaining ER calcium ion homeostasis through redox regulation, EMBO Workshop 「The endoplasmic reticulum - guardian of cellular homeostasis」, Italia, 2024.10-20-25, ポスター

Ami Sugisawa, Shiori Ueda, Yuika Okuda, Yasuko Fukuda, Kohei Yokosawa, Keisuke Mochida, Shinya Tahara,

Motomasa Tanaka, Takakazu Nakabayashi, Kazuhiro Nagata, Ryo Ushioda : “ERAD body” as a platform facilitating the degradation of misfolded proteins, EMBO Workshop 「The endoplasmic reticulum – guardian of cellular homeostasis」, Italia, 2024.10-20-25, ポスター

潮田亮:レドックス制御に基づく小胞体恒常性維持機構、第 45 回日本薬学会九州山口支部コロキウム、長崎市、2024.10.19、口頭(招待講演)

Ami Sugisawa, Shiori Ueda, Yuika Okuda, Yasuko Fukuda, Ryo Ushioda: Platform for Protein Quality Control Formed through Phase Separation in the Endoplasmic Reticulum、第 52 回 内藤コンファレンス、札幌市、2024.10.1-4、ポスター

Chika Tsutsumi, Kaiku Uegaki, Riyuji Yamashita, Ryo Ushioda, Kazuhiro Nagata: Zn<sup>2+</sup>-dependent functional switching of ERp18, an ER-resident thioredoxin-like protein、第 52 回 内藤コンファレンス、札幌市、2024.10.1-4、ポスター

Ayano Kasai, Shinya Ito, Hisato kondoh, Kazuhiro Nagata: The collagen-specific molecular chaperon Hsp47 responds to loading changes through mechanotransductor YAP/TEAD、第 52 回 内藤コンファレンス、札幌市、2024.10.1-4、ポスター

潮田亮:化学白斑物質による小胞体ストレス応答の評価、第 6 回日本白斑学会学術大会、山形市、2024.9.21-23、口頭

葛西綾乃、山本洋平、滝野友愛、杉原宗親、梅本 哲雄、濱崎万穂、八田 知久、夏目 徹、Richard I. Morimoto、荒井 律子、和栗聡、佐藤美由紀、佐藤健、潮田亮、Shoshana Bar-Nun、吉森保、野田健司、永田和宏:小胞体膜タンパク質 ERdj8 によるオートファジー制御機構、徳島市、2024.9.13-14

Chika Tsutsumi, Ryo Ushioda : Discovery of a glutathione transporter constructing the redox environment of the ER, International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics, 福岡市、2024.9.2-5, ポスター(「Excellent Poster Presentation Award」受賞)

潮田亮: 亜鉛イオンによるユニークな小胞体レドックス環境の制御、第 28 回 日本亜鉛栄養治療研究会学術集会、2024.8.24、大阪、口頭(招待講演)

潮田亮:小胞体の「質」を担保するレドックス環境の構築機構とその評価、第 76 回日本細胞生物学会大会、つくば市、2024.7.17-19、口頭

布村七海、堤智香、潮田亮:TMX4 を介した小胞体グルタチオン輸送の生理学的意義の解明、第 76 回日本細胞生物学会大会、つくば市、2024.7.17-19、ポスター

和田匠太、永田和宏、潮田亮:レドックス制御を介した小胞体ストレスセンサーATF6 活性化機構の解明、第 76 回日本細胞生物学会

大会、つくば市、2024.7.17-19、ポスター

杉澤亜美、上田汐莉、奥田結香、潮田亮:液-液相分離によって形成される新たな小胞体タンパク質品質管理プラットフォーム、第 76 回日本細胞生物学会大会、つくば市、2024.7.17-19、口頭

和田匠太:「創る」が織りなす未来の細胞生物学と若手研究者へのメッセージ、第 76 回日本細胞生物学会大会、つくば市、2024.7.17-19、口頭(「細胞生物若手の会功労賞」受賞)

Ryuta Sakamoto, Chika Tsutsumi, Ryosuke Tahara, Kazuhiro Nagata, Ryo Ushioda、Reconstitution of ER glutathione transport system, International Union for Pure and Applied Biophysics, 京都市、2024.6.24-28、ポスター

Shota Wada, Kazuhiro Nagata, Ryo Ushioda: Activation mechanism of endoplasmic reticulum stress sensor ATF6a through redox control, EMBO/FEBS Advanced Lecture Course, Greece, 2024.5.26 – 6.1, 口頭・ポスター(「Boehringer Travel Grant」採択)

布村七海、堤智香、潮田亮:TMX4 による小胞体グルタチオン輸送の生理学的意義の解明、第 76 回日本細胞生物学会大会、つくば市、2024.7.17-19、ポスター

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究(B)

課題名:一過的・局所的に出現する小胞体還元環境の解明

研究代表者:潮田 亮、取得年度 2022-2026 年

科学研究費補助金・学術変革領域研究(A)

課題名:タンパク質品質管理を支える電子移動媒体としての超硫黄分子の役割

研究代表者:潮田 亮、取得年度:2021-2025 年

科学研究費補助金・学術変革領域研究(A)

課題名:硫黄生物学研究推進のための国際連携とインフラ整備

研究分担者:潮田 亮、取得年度 2021-2025 年

科学研究費補助金・若手研究

課題名:コラーゲンとその品質管理機構に着目した廃用性筋力低下発症メカニズムの解明

研究代表者:葛西綾乃、取得年度 2024-2028 年

AMED-CREST

課題名:プロテオスタシスにおけるタンパク質構造形成機構の包括的解明

研究分担者:潮田 亮、取得年度:2021-2026 年

武田科学振興財団・特定研究助成[I]

課題名:膜輸送を介したオルガネラ恒常性維持と細胞機能制御

共同研究者:潮田 亮 (研究代表者:遠藤 斗志也)

取得年度:2023-2024 年

資生堂株式会社

課題名:チロシンナーゼタンパク分解のメカニズム解明に関する研究

研究代表者:潮田 亮、取得年度:2024 年

KHネオケム株式会社

課題名: 小胞体でタンパク質品質管理を受ける糖タンパク質の糖鎖構造解析

研究代表者: 潮田 亮、取得年度: 2024 年

## 2) 学外活動

- (1) 潮田亮: 文部科学省科学技術・学術政策研究所 専門調査委員
- (2) 潮田亮: 小胞体ストレス研究会 世話人
- (3) 潮田亮: 臨床ストレス応答学会 評議員
- (4) 潮田亮: 日本レドックス超分子医学生物学会 理事
- (5) 潮田亮: 細胞小器官用語検討委員会 委員
- (6) Ryo Ushioda: Journal of Biochemistry Associate Editor
- (7) 潮田亮: 京都第二赤十字看護専門学校 非常勤講師

## 3) アウトリーチ活動

潮田亮: 京都市立紫野高等学校、京都府立洛西高等学校 高大接続授業「タンパク質が光る!? 病気の原因になる!? タンパク質が織りなす不思議な世界」

潮田亮: SOI cafe 特別講義「タンパク質科学から考えるアンチエイジング～なぜヒトは老化するのか～」2024.11.18

## 4) 受賞歴

Chika Tsutsumi: 「Excellent Poster Presentation Award」International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics, 福岡市, 2024.9.5

和田匠太: 「細胞生物若手の会功労賞」第 76 回日本細胞生物学会大会, つくば市, 2024.7.17-19

和田匠太: 「優秀口頭発表賞」第 2 回細胞生物コロキウム, 京都, 2024.10.19

Shota Wada: 「Boehringer Travel Grant」EMBO/FEBS Advanced Lecture Course, Greece, 2024.5.26-6.1

## 5) その他

・潮田亮: 第 2 回 G-ReXS 国際シンポジウム セッション座長, 仙台, 2024.5.20

・潮田亮: 日本細胞生物学会シンポジウム「オルガネラの「量」と「質」の恒常性維持とその破綻」シンポジウムオーガナイザー, 筑波, 2024.7.19

・潮田亮: 第 97 回日本生化学会大会シンポジウム「ケミカルプロテオスタシス: タンパク質品質管理におけるレドックスと金属イオンの協奏」シンポジウムオーガナイザー, 横浜, 2024.11.8

・学術変革領域(A)「硫黄生物学」第三回領域会議@長浜 オーガナイザー, 長浜, 2024.12.3 -4

潮田研ホームページ

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



図 2. 2024 年度お花見(京都府亀岡市)



図 3. 琵琶湖湖畔にて集合写真



図 4. 京大・井垣研、森研との合同合宿(松の浦セミナーハウス)

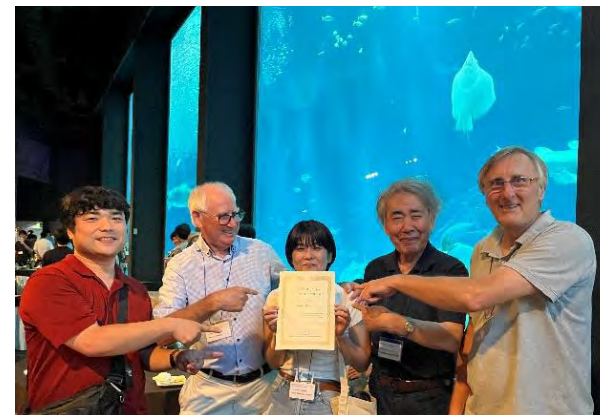


図 5. Excellent Poster Presentation Award を受賞した堤さん(中央)

## 生物化学研究室

Laboratory of BIOCHEMISTRY

教授 遠藤 斗志也

Prof. Toshiya Endo, Ph. D.



### 1. 研究概要

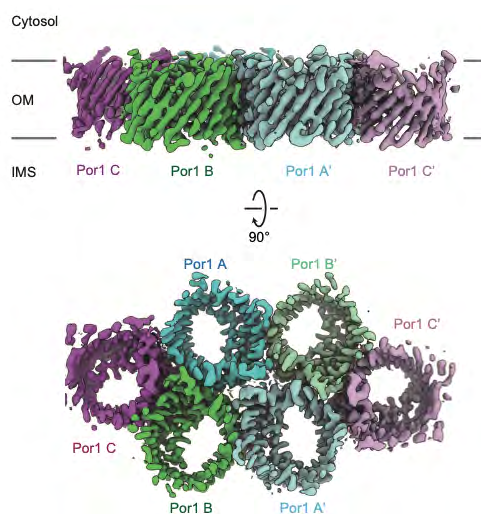
真核生物の細胞内には高度に発達したオルガネラ（細胞小器官）構造が作られ、それらが細胞に課せられた複雑で膨大な仕事を分散管理している。真核細胞に必須のオルガネラであるミトコンドリアは、好氣的 ATP 産生とともに様々な物質代謝・情報伝達を担い、アポトーシスにも関わる。近年ミトコンドリア機能と老化や健康、神経変性疾患をはじめとする様々な病態との関係も注目されている。ミトコンドリアの正常な構造と機能を維持するためには、細胞の内外からの要請とシグナルに応答し、不要となったミトコンドリアを除去する一方で、必要に応じてミトコンドリアを新たに作り出す必要がある。ミトコンドリアは *de novo* には作られず、既存のミトコンドリアを拡大、分裂、分配することで増える。ミトコンドリアを拡大するためには、ミトコンドリアを構成する 1000 種類を超えるタンパク質とカルジオリピンをはじめとする特定組成の脂質を、外部から既存ミトコンドリア内に配送、あるいは新規合成しなければならない。細胞内にはこうしたミトコンドリア生合成や構造のリモデリングのためのタンパク質と脂質の合成・配送、品質管理、オルガネラ間の機能調整を図る巧妙なネットワークが構築されている。さらに最近、ミトコンドリアと ER、液胞等、他のオルガネラとの間に物理的接触（コンタクト）部位が見つかり、それらが脂質輸送に関わる可能性が指摘されている。当研究室では、ミトコンドリアを中心に様々なオルガネラ構造が細胞内でどのようにつくられ、その構造と機能がどのように維持されるのかについて、遺伝学、生化学、細胞生物学、構造生物学など様々な手法を用いて研究している。

### 2. 本年度の研究成果

#### ミトコンドリア DNA (mtDNA) 維持に関わる因子の同定

ミトコンドリア内のプロテオスタシスは、核ゲノムにコードされたタンパク質とミトコンドリアゲノムにコードされたタンパク質の協調により維持される。当研究室では 2023 年度にミトコンドリア外膜で小分子やイオンの通り道を提供するポリリン（酵母では Por1、ヒトでは VDAC）のクライオ電子顕微鏡構造を決定し、Por1 はミトコンドリア上で 6 量体として機能するこ

とを見出した（下図、論文 revise 中）。Por1 の 6 量体のプロトマー間の相互作用に関わる残基の変異体を多数作成し、その表現型を解析したところ、急速にミトコンドリア DNA (mtDNA) を欠失する変異体が見つかった。そこでこの変異体を利用して、mtDNA 欠失を抑制する酵母ヌクレアーゼ関連因子欠失変異株のスクリーニングを行ったところ、これま mtDNA の維持に関連することが報告されている Yme2 を含む 7 種類の因子が見つかった。これらの因子はほとんどがミトコンドリアに局在し、4 種はヒトにもホモログが存在する。さらに Por1 変異存在下でこれらの因子を欠失させると mtDNA がミトコンドリア内に蓄積することも明らかになった。ミトコンドリアプロテオスタシス維持に必須の mtDNA 維持と制御機構解明の突破口が開かれることが期待される。



#### Spf1による誤配送膜タンパク質の局在校正経路の解明

ミトコンドリアに誤配送されたテイルアンカー (TA) 膜タンパク質はミトコンドリア外膜の ATP アーゼ Msp1 によって引き抜かれて ER に移動し、ER の品質管理システムに供される。一方、ER の ATP アーゼ Spf1 が欠失すると、ミトコンドリア外膜タンパク質のうち多くの TA タンパク質と一部の N アンカータンパク質は ER 膜に誤配送される。誤配送されたタンパク質は Spf1 を発現すると、ミトコンドリアに移行する。プロモーターによる発現スイッチ法を使って、ミトコンドリア外膜の N アンカータンパク質 Msp1 を発現する

と、Spf1の有無にかかわらず、ERにいったん誤局在することが分かった。その後Spf1があればミトコンドリアに移行するが、Spf1がなければ誤配送されたMsp1はERに留まる。ここでMsp1のERへの誤配送の機構は、通常の新規合成Nアンカータンパク質のER移行に必要なSRP経路を使わない。一方で誤配送Nアンカータンパク質にグリコシル化タグを付加しておくことで糖鎖が付加するので、Nアンカータンパク質は単にERに誤配送されるだけでなく、おそらくSEC61複合体を使って内腔側に到達し糖鎖付加を受けることが分かった。現在、誤配送Nアンカータンパク質をSpf1による引き抜きと共役してミトコンドリアに再配送する因子を検討している。

### 3. Research projects and annual reports

#### **Identification of the factors involved in mitochondrial DNA (mtDNA) maintenance**

Mitochondrial proteostasis is maintained through the coordinated function of proteins encoded by both the nuclear and mitochondrial genomes. In 2023, our laboratory determined the cryo-EM structure of yeast porin (Por1 in yeast; VDAC in humans), a transporter of small molecules and ions across the mitochondrial outer membrane. The determined structure showed that Por1 forms a homo-hexameric structure on the mitochondrial membrane (below, manuscript under revision). By generating a series of Por1 mutants with amino-acid substitution at residues involved in the protomer-interfaces, we identified one interesting mutant that rapidly lost mitochondrial DNA (mtDNA). By using this mutant por1 strain, we performed a genetic screen for deletion strains lacking genes for yeast known nuclease-related proteins that could suppress mtDNA loss in the por1 mutant strain. This screen allowed us to identify seven genes, including *YME2*, which has previously been implicated in mtDNA maintenance. Most of these factors are localized in mitochondria, and four have human homologs. Furthermore, deletion of these factors in the por1 mutant led to the accumulation of mtDNA within mitochondria. These findings may offer a starting point to elucidate the mechanisms underlying mtDNA maintenance and regulation, which are essential for mitochondrial proteostasis.

#### **Re-routing pathway for mislocalized mitochondrial membrane proteins by Spf1**

Tail-anchored (TA) membrane proteins mislocalized to mitochondria are extracted by the mitochondrial outer membrane AAA-ATPase Msp1 and redirected to the endoplasmic reticulum (ER), where they are subjected to quality control processes. Conversely, deletion of the ER-resident ATPase Spf1 causes mislocalization of many mitochondrial outer membrane TA proteins, as well as a subset of N-anchored (NA) proteins, to the ER. Upon re-expression of Spf1, these mislocalized proteins are relocated to mitochondria. Using a promoter-switch system, we found that newly synthesized mitochondrial outer membrane NA proteins, such as Msp1, initially mislocalize to the ER regardless of the presence of Spf1. In the presence of Spf1, however, Msp1 is relocated to mitochondria, whereas in its absence, Msp1 stays in the ER. This mislocalization to the ER does not require the signal recognition particle (SRP) pathway, which is typically essential for the ER targeting of nascent NA proteins. When glycosylation tags were attached to the mislocalized NA proteins, they became glycosylated, indicating not only ER targeting but also translocation across the ER membrane into the lumen, presumably via the SEC61 complex. We are currently investigating the factors that mediate the re-routing of mislocalized single-pass membrane proteins to mitochondria in coordination with Spf1-mediated extraction

### 4. 論文, 著書など

Matsumoto S, Ono S, Endo T. Analysis of protein trafficking between mitochondria and the endoplasmic reticulum by fluorescence microscopy. *Methods Enzymol* 707, 153-171 (2024) (ed. Nils Wiedemann, Review)

Matsumoto S, Kogure Y, Ono S, Numata T, Endo T. Msp1 and Pex19-Pex3 cooperate to achieve correct localization of Pex15 to peroxisomes. *FEBS J.* online published (2025)

Endo T, Wiedemann N. Mechanisms and pathways of mitochondrial protein transport. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* in press. (2025) (Review)

### 5. 学会発表など

(招待講演)

小野 鈴花, 松本 俊介, 遠藤 斗志也, ATPase を介したオルガネラ間における膜タンパク質の局在制御機構

第 24 回蛋白質科学会年会ワークショップ「多面的視点から捉える蛋白質の世界」, 札幌 2024.6.11-13, 国内, 口頭

Toshiya Endo, Proofreading of organelle protein targeting aided by ATPases in cells. International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics, 福岡, 2024.9.2-5, 国内, 口頭

Toshiya Endo, Regulation of transport pathways for mitochondrial proteins. EMBO Workshop on Advances and challenges in protein translocation across membranes, Sant Feliu de Guixols, Spain, 2024.9.21-25, 国外, 口頭 (一般発表)

Yuta Konishi, Haruka Sakaue, Hironori Takeda, Toshiya Endo, Analysis of the physiological significance and the molecular mechanism of dual localization of Hfd1 in yeast. IUPAB2024, 京都, 2024.6.11-13 国内, ポスター

篠田沙緒里, 坂本智昭, 木村成介, 榎佐和子, 岡田康志, 遠藤斗志也, 出芽酵母のミトコンドリアへ輸送される核コード RNA の探索手法の確立と生理学的意義の解析, 第 76 回細胞生物学会大会, つく, 2024.7.17-19, 国内, 口頭

小西 雄大, 阪上 春花, 竹田 弘法, 遠藤斗志也, 出芽酵母 Hfd1 の細胞内多重局在の分子機構と生理的意義の解析, 第 76 回細胞生物学会大会, つく, 2024.7.17-19, 国内, ポスター

Suzuka Ono, Toshiya Endo, The localization control mechanism of single-spanning membrane proteins by ATPases, International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics, 福岡, 2024.9.2-5, 国内, ポスター

Shunsuke Matsumoto, Toshiya Endo, Msp1-mediated quality control of peroxisomal tail-anchored proteins, International Symposium on Multifaceted Protein Dynamic, 福岡, 2024.9.2-5, 国内, ポスター

Suzuka Ono, Shunsuke Matsumoto, Toshiya Endo, The localization control mechanism of single-spanning membrane proteins by ATPases, EMBO Workshop on Advances and challenges in protein translocation across membranes, Sant Feliu de Guixols, Spain, 2024.9.21-25, 国外, ポスター

Saori Shinoda, Tomoaki Sakamoto, Seisuke Kimura, Sawako Enoki, Yasushi Okada, Toshiya Endo, A novel mitochondrially-imported RNA (mitoPORT RNA), snR33 is imported into mitochondria in *Saccharomyces cerevisiae*, EMBO Workshop on Advances and challenges in protein translocation across membranes, Sant Feliu de

Guixols, Spain, 2024.9.21-25, 国外, ポスター

Yuta Konishi, Haruka Sakaue, Hironori Takeda, Toshiya Endo, Analysis of the molecular mechanism and physiological significance of multiple localization of Hfd1, EMBO Workshop on Advances and challenges in protein translocation across membranes, Sant Feliu de Guixols, Spain, 2024.9.21-25, 国外, ポスター

赤羽しおり, 遠藤斗志也, 岡敏彦, 「低酸素環境におけるミトコンドリア品質管理の制御」について, 第 97 回日本生化学会大会, 2024.11.6, 国内, ポスター  
平嶋孝志, 遠藤斗志也, in vivo ジスルフィド架橋法によるタンパク質複合体予測構造の実験的検証, 第 97 回日本生化学会大会, 横浜, 2024.11.6-8, 国内, ポスター

小野鈴花, 松本俊介, 遠藤斗志也, 異種オルガネラ間における ATPase を介した膜タンパク質の局在制御機構, 第 47 回分子生物学会年会, 福岡, 2024.11.27-29, 国内, 口頭+ポスター

篠田沙緒里, 坂本智昭, 木村成介, 榎佐和子, 岡田康志, 遠藤斗志也, ミトコンドリアへ輸送される RNA (mitoPORT RNA), snR33 の時空間的解析, 第 47 回分子生物学会年会, 福岡, 2024.11.27-29, 国内, ポスター

小暮佳希, 沼田倫征, 遠藤斗志也, 松本俊介, Msp1 を介したペルオキシソーム膜タンパク質の配送やり直し機構の解析, 第 47 回分子生物学会年会, 福岡, 2024.11.27-29, 国内, 口頭+ポスター

稲本大輝, 沼田倫征, 遠藤斗志也, 松本俊介, クライオ電顕解析によって明らかになったミトコンドリア AAA-ATP アーゼ Msp1/ATAD1 による基質膜引き抜きメカニズム, 第 47 回分子生物学会年会, 福岡, 2024.11.27-29, 国内, ポスター

塚原佑飛, 沼田倫征, 遠藤斗志也, 松本俊介, ミトコンドリアタンパク質輸送ストレス条件下における Msp1 の機能解析, 第 47 回分子生物学会年会, 福岡, 2024.11.27-29, 国内, ポスター

小林菜々子, 九笹加菜, Amyot Romain, 川合志朋, 今井湧太, 今井賢一郎, 古寺哲幸, 遠藤斗志也, 荒磯裕平, ミトコンドリア膜透過装置 TOM 複合体の分子動態解析, 第 47 回分子生物学会年会, 福岡, 2024.11.27-29, 国内, ポスター

Suzuka Ono, Shunsuke Matsumoto, Toshiya Endo, ATPases control the intracellular distribution of single-spanning membrane proteins, Keystone Symposium on Mitochondrial Biology in Health and Disease, Taipei, Taiwan, 2025.1.13-16, 国外, ポスター+口頭

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究(S)

課題名:ミトコンドリアの生合成と機能維持を担うタンパク質交通システムの分子基盤

研究代表者:遠藤斗志也, 取得年度:2020-2024 年度 (5年)

科学研究費補助金・学術変革領域研究(A)

課題名: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, 取得年度:2020-2024 年度 (5年)

AMED・CREST

課題名:タンパク質の交通が制御するミトコンドリアプロテオスタシスの構造生物学研究

研究代表者:遠藤斗志也, 取得年度:2020-2025 年度 (6年)

科学研究費補助金・基盤研究(B)

課題名:生物種を超えたミトコンドリアへ輸送される RNA に関する包括的理解

研究代表者:篠田沙緒里, 取得年度:2024-2026 年度 (2年)

科学研究費補助金・特別研究奨励費

課題名:小胞体-ミトコンドリア間コンタクト部位を介した脂質輸送の生理的意義

研究代表者:平嶋孝志, 取得年度:2023-2025 年度 (3年)

科学研究費補助金・特別研究奨励費

課題名:ATPase による膜タンパク質輸送機構の解明

研究代表者:小野鈴花, 取得年度:2024-2026 年度 (3年)

科学研究費補助金・若手研究

課題名:異種オルガネラ間における膜タンパク質の局在制御機構

研究代表者:小野鈴花, 取得年度:2024-2026 年度 (3年)

### 2) 知財権等 なし

### 3) 学外活動

遠藤斗志也: 日本学術会議連携会員

遠藤斗志也: 日本細胞生物学会代議員

遠藤斗志也: 日本細胞生物学会常任編集委員

遠藤斗志也: JST-CREST「細胞内現象の時空間ダイナミクス」研究総

遠藤斗志也 (日本科学未来館サイエンスコミュニケーターが協力), 篠田沙緒里, 張春明: 【ミトコンドリアクエスト】

実施日時: 2024 年 6 月 8 日

場所: 日本科学未来館 3 階コスタジオ, ハブスペース

内容: 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。プロジェクト代表の遠藤よりミトコンドリアの基礎知識から最新研究成果まで発表した(40 分×2 回)。進行は SC との対話形式にすることで, 聴衆が参加しやすい形式を目指した。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。また, まだ体験ができない未就学児に向けて実験道具を使った知育遊びコーナーを儲けたことで, 家族での参加を促した。

篠田沙緒里: 【私立北鎌倉女子学園高等学校 ラボツアー】

実施日時: 2024 年 4 月 3 日

場所: 日本科学未来館遠藤プロジェクト研究室+3 階ハブスペース

内容: 研究内容の紹介, 研究室ツアー, 事前に受け付けた質問の回答を合わせた対談を行った。研究室ツアーではミトコンドリアを染色した生きた状態のヒト培養細胞を蛍光顕微鏡を使って実際に観察、実験道具を実際に触る体験を取り入れた。研究室ツアーは各所で実験を挟みながら, 待ち時間に別のエリアを説明するなど, 研究員が一日を通して複数の実験を並行して行っている様子をイメージしやすいように工夫した。

### 4) 受賞等

小西雄大: 2024 年 7 月 ミトコンドリアサイエンスワークショップ 2024 特別表彰銅メダル, 和歌山 2024.7.2

5) その他 なし



R6 年 10 月 研究室(+関連研究者)のリトリート「オルガネラ研究会」(富山県黒部市)

# 動物神経代謝生物学研究室

Laboratory of Affective Neurobiology and Metabolism

教授 加藤 啓子

Prof. Keiko Kato, D.V.M. Ph.D DJCLAM



## 1. 研究概要

「神経の可塑的变化」とは、持続的な刺激により、神経回路をつなぐ神経突起（軸索や樹状突起）の分岐や肥大、さらには新たな接続が生じることで、神経伝達物質の質及び量が変化する。またグリア細胞の活性化等も知られている。しかしながら、いまだ分子レベルの裏付けに基づくメカニズムの全容を知るための研究課題は山積であり、現在の研究レベルはスタート地点から少し前に進んだ状況である。我々は、海馬—扁桃体を中心とする情動記憶がどのように生じるのかを中心に、辺縁系における神経可塑性の獲得過程を知ることが目的に研究を進めてきた。その際、扁桃体を中心とする情動記憶に変調をきたすと、てんかん～うつ病・不安症を発症する。こうした精神疾患は、相互の共存症が知られていると共に、代謝との関連性も、ヒトで指摘されていた。我々は、てんかんモデルマウスやうつ・不安症モデル（シアル酸転移酵素欠損）マウスを用いることで、これら精神疾患の発症に代謝が影響すると共に、代謝負荷が精神疾患に強く影響することを見つけてきた。こうした代謝との関連性を利用した診断法や治療薬の開発につなげていくことを目指している。本研究分野では具体的に次の諸点について研究を展開している。

### (1) てんかん～うつ・不安障害に至る分子発症メカニズムの解明

#### (1)-1. 難治てんかん発症機序と代謝との関連性

難治てんかんの 50%を占める側頭葉てんかんのモデルマウスである扁桃体キンリングマウスを用いることで、2つのてんかん原因分子を見つけた。

その一つ、下垂体で発現した後全身に運ばれ、成長促進作用を示す『成長ホルモン』が脳内で発現し、Arc(シナプス活性の強化に作用)の発現調節を介して過活動 低活動を制御することで、てんかん発症の閾値を決定することを発見した。

さらに『シアル酸転移酵素 ST3Gal4』が側頭葉てんかんの原因分子であることを見つけた。それは、ST3Gal4 を欠失したマウスが、扁桃体（情動中枢）へのてんかん誘導刺激に応答しない、てんかんを発症しないマウスであることを証明したことによる。加えて、てんかん発症に ST3Gal4 成長ホルモン Arc をつなぐ

シグナル系の制御が関与することを調べるため、シアル酸修飾と脂質代謝との関連性を調べてきた。

ヒト難治てんかんの 50%を占める側頭葉てんかんのモデルマウス（扁桃体キンリングモデルマウス）が、てんかん発作を重積すると、糖尿病を発症し、肥満を呈することがわかってきた。令和4年度には、てんかん発作を重積したマウスが、扁桃体刺激による血糖値の上昇とインスリン分泌の増加を示し、その結果インスリンシグナルを亢進し、脳、脂肪組織の重量が増加することを見つけている。新たに骨格筋のインスリン抵抗性を発見し、糖尿病の原因を見つけることに成功した。また、脂肪組織におけるインスリンシグナルの亢進は、ホルモン感受性リパーゼのリン酸化を抑制し、肥満の原因となることも見つけることができた。これ等の現象は、側頭葉てんかんにより、大脳辺縁系の下流にある視床下部—下垂体を介した、アドレナリンとコルチコステロンの発作後分泌亢進が原因であることも同時に示すことができた。以上の知見を原著論文まとめている。人では、糖尿病が、てんかんを発症の高リスク要因であることや、その逆にてんかんが、心臓血管系発症の高リスク要因であることが知られていることから、てんかんモデルマウスの血糖値亢進の原因の究明は、人に外挿できると思われる。

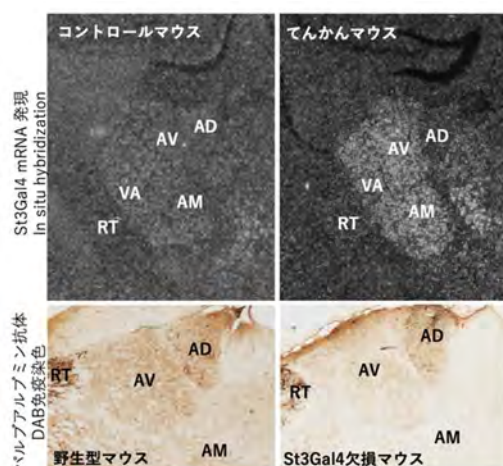
我々が用いるてんかんモデルマウスが、てんかん発症が肥満や糖尿病発症を示すことから、このマウスを用いて、てんかんマウスの尿中最終代謝産物から体内の代謝変化を捉えることで、代謝疾患との関連性を明らかにすることを目指している。側頭葉てんかんモデルマウスの尿中揮発性有機化合物(volatile organic compounds, VOCs)を固相マイクロ抽出 (SPMI)—ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC—MS)により計測し、てんかんバイオマーカーを特定し、特許を得ることができた。今後は、尿中 VOCs マーカーから体内の代謝変化を観察していく。

#### (1)-2. 視床—大脳皮質神経回路の可塑性に関わるシアル酸転移酵素 (ST3GAL4)の機能解明

てんかん患者の 30%が、睡眠障害、うつ、不安症を含む神経精神障害を示し、薬剤の副作用がその原因のひとつと考えられているが、そのメカニズムは不明である。一方で、シアル酸転移酵素 (St3gal4)

を欠損したマウスは、てんかん発症を消失した副作用として、うつ、不安障害、睡眠障害を発症するマウスであった(JNC, 2014)。また、この欠損マウスは、聴覚性ブレパルス抑制の低下も示すことがわかってきている。この表現型は、ドーパミン D2 受容体拮抗薬ハロペリドールや、ドーパミン D2 受容体及びセロトニン 2A/2C 受容体拮抗薬クロザピンの投与で回復する。ST3GAL4 は、視床ニューロンが刺激にตอบสนองして発現することから、*St3gal4* が欠損することで、視床—大脳皮質神経回路を介して、大脳皮質にあるドーパミン受容体やセロトニン受容体に影響を与えたと考えられる。

2024 年度は、*St3gal4* 欠損マウスの視床前核において GABA 作動性ニューロンの軸索投射が阻害されていることを発見し、ST3GAL4 が消失すると、生後 20 齢に完成する軸索投射が生じないことがわかった。研究室では、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)を用いて投射経路を可視化する系を立ち上げたので、2025 年度は、GABA 作動性ニューロンの軸索投射を中心とした神経回路の変化をとらえていく。視床—大脳皮質神経回路における構造可塑性の変化を捉えて、GABA 作動性ニューロンと *St3gal4* 発現ニューロンとの接点を明らかにすることを目指す。



*St3gal4* 欠損マウスでは血中アルカリホスファターゼ (ALP) 値が上昇することを確認している。2024 年に発表した原著論文において、この血中 ALP 値の上昇が脳内視床領域の ALP 活性低下と負の相関を示すこと、さらに恐怖条件付け試験におけるすくみ行動の増加と正の相関を示すことを明らかにした。これらの相関関係は、*St3gal4* 遺伝子欠損が ALP の局在や機能に影響を与え、情動行動表現型の発現メカニズムに関与している可能性を示唆する。さらに、

欠損マウス脳内において、エクト型・組織非特異的アルカリホスファターゼ (TNAP) タンパク質の発現量が低下することもわかってきた。令和 7 年度は ST3GAL4 の受容体基質を脳内から探索する計画である。加えて、TNAP を含む細胞膜上および細胞外糖タンパク質との相互作用について解析していく。

## 2) 精神神経疾患の発症機序と代謝との関連性

側頭葉てんかん～うつ・不安症が発症すると、大脳辺縁系を中心とした神経回路の可塑的变化をもたらすと考えられる。その結果、大脳辺縁系に含まれる視床下部を介した代謝変化が生じると考えられる。

そこで、「気持ちの沈みや不安」を感じている状況から「うつ・不安症」と診断がつく状況に推移する早い段階で、代謝の変化を介した、うつや不安症の診断システムを開発してきた。これまでに高齢者とうつ・不安症モデルマウス、さらに側頭葉てんかんモデルマウスの尿中揮発性有機化合物 (volatile organic compounds, VOCs) を固相マイクロ抽出 (SPMI) —ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC—MS) により計測してきた。その結果、うつ・不安症バイオマーカー群 (ヒトとマウス) と側頭葉てんかんバイオマーカー群 (マウス) を発見した。

側頭葉てんかんモデルマウスから得た 15 種のてんかんバイオマーカーは、グルコースの異化代謝、β酸化を介した脂質代謝、メチオニン—ホモシステイン経路 & トランススルフェーションを中心としたアミノ酸代謝経路上に位置する代謝産物であった。さらに、加齢マウスのうつ・不安症を識別する VOCs は、てんかんバイオマーカーの代謝経路上に位置しており、特に、薬物代謝の低下による影響を受けていることが示唆された。またバイオマーカーの多くが食品由来や、腸内細菌による代謝産物由来の VOC を含むことが示唆された。

また、ヒトにおいては、うつ・不安症を呈する高齢者 9 名と健康な高齢者 9 名の尿中揮発性有機化合物 (VOC) を分析した結果、うつ・不安症のバイオマーカーとして 3 種類の VOC を特定し、特許を取得し、原著論文に報告した。さらに、高齢者のサルコペニアに関する尿中 VOC バイオマーカーの探索も行った。2024 年には、サルコペニア患者 68 名と同年齢の健康者 71 名から 10 種類の VOC バイオマーカーを特定し、JST の支援を受けて国際特許を出願し、原著論文も発表した。ヒトを対象とした研究は、これまで東京都健康長寿医療センターの「お達者検診」に参加し、尿サンプルを提供いただくことで進めてきた。今後は、VOC

マーカーの代謝経路を明らかにすると共に、研究成果を社会実装へとつなげていく所存である。

## 2. 本年度の研究成果

1)-2 *St3gal4* 欠損マウスの代謝変化を解析し、血中および脳内のアルカリホスファターゼ活性と不安症との間に相関があることを見出し、その成果を原著論文として報告した。また、*St3gal4* 欠損マウスの視床前核において GABA 作動性ニューロンの軸索投射が阻害されていることを明らかにし、神経回路の投射様式を観察するための実験系を確立した。

2) ヒト高齢者を対象にサルコペニア尿中 VOC バイオマーカーを特定し、JST の支援を受けて国際特許出願を行った。さらに、これらの成果についても原著論文として報告した。

### Research projects and annual reports

We investigate the mechanisms of developing emotional memory in the hippocampus-amygdala connections and the acquisition of neural plasticity in the limbic system. Furthermore, we aim to develop diagnostic methods and therapeutic drugs for relieving epilepsy, anxiety, and mood disorders based on clarifying the mechanism.

Epileptic model mice and stress-sensitive model mice showing anxiety, sleep disorder, and hormonal homeostatic change were used. Our approach was to check the symptoms of the models by behavioral and physiological analyses and clarify causal molecules by histological and biochemical studies. The other goal is to develop diagnostic methods and therapeutics based on such metabolic associations. The topics of research and the content were as follows.

#### 1: Clarification of mechanism of epilepsy progression and the comorbidity.

Amygdala-kindling model mice are analogous to secondarily generalized complex partial seizures and a model of temporal lobe epilepsy in humans, showing abnormal neural plasticity. We have found two molecules responsible for epileptogenesis using kindled mice: a growth hormone and a sialyltransferase.

First, we found that the expression of growth hormone was up-regulated along with neural circuits during epileptogenesis. The administration of the hormone into the hippocampus markedly enhanced the progression of kindling. We performed the infusion tests of growth hormone and its receptor antagonist. It showed that the expression of Arc mRNA was strongly correlated with

locomotor activity and that the correlation completely distinguished among vehicle, growth hormone, and the receptor antagonist groups. This year, we found that when epileptic seizures continue for more than 20 days, blood glucose levels increase just after epileptic seizures, and brain and adipose tissue weights increase daily. We are now trying to determine why the amygdala stimulation induced hyperglycemia.

Second, we previously demonstrated that the sialyltransferase ST3Gal4 was upregulated within the neural circuits during epileptogenesis. In contrast, that kindling stimulation recently failed to evoke epileptic seizures in *St3gal4* deficient mice. On the other hand, the deficient mice showed anxiety, depression, and REM sleep disorders.

The deficient mice also exhibited reduced auditory prepulse inhibition. While the thalamic neurons express *St3gal4* in response to stimuli, the loss of *St3gal4* may affect dopamine and serotonin receptor in the cerebral cortex via the thalamo-cortical circuit. In 2024, we discovered that *St3gal4* knockout mice exhibit impaired axonal projections of GABAergic neurons to the thalamic anterior nucleus. The absence of ST3GAL4 prevents the development of axonal projections that typically mature by postnatal day 20. Using adeno-associated virus (AAV) vectors, we established a system to visualize these neural pathways. In 2025, we aim to investigate changes in neural circuits focused on GABAergic axonal projections, particularly structural plasticity in the thalamocortical circuit.

In a 2024 peer-reviewed study, we demonstrated that elevated blood ALP levels in *St3gal4* knockout mice exhibit a negative correlation with reduced ALP activity in the thalamus and a positive correlation with increased freezing behavior in fear conditioning tests. These findings suggest that *St3gal4* deficiency disrupts ALP localization/function, potentially driving emotional behavioral phenotypes.

Third, we investigate the mechanisms of neuropsychiatric disorders and their metabolic correlations. Temporal lobe epilepsy and depression-anxiety cause plastic changes in neuronal circuits, mainly in the limbic system. Therefore, it suggested that metabolic changes via the limbic system's hypothalamus will occur. Then, we developed the diagnostic procedure for anxiety and depression involving the limbic system, which is associated with metabolism. So far, we have found anxiety and

depression biomarkers in mice and human or temporal lobe epilepsy biomarkers.

In 2024, we identified ten VOC biomarkers from 68 sarcopenia patients and 71 age-matched healthy controls, with support from JST, and applied for an international patent as well as publishing a peer-reviewed article. Our human studies have been conducted through participation in the "Otassha Kenshin" health checkup program at the Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, where urine samples were provided. Moving forward, we intend to clarify the metabolic pathways of these VOC markers and to translate our research findings into real-world applications.

#### 4. 論文, 著書など

1) Tangsudjai, S., Fujita, A., Tamura, T., Okuno, T., Oda, M. and Kato, K. 2025. ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 4 (St3gal4) deficiency reveals correlations among alkaline phosphatase activity, metabolic parameters, and fear-related behavior in mice. *Metabolic Brain Disease*. 40, 2 (2025), 125. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11011-025-01551-8>.

2) Oka T, Fujita A, Kawai H, Obuchi S, Sasai H, Hirano H, Ihara K, Fujiwara Y, Tanaka M, Kato K. Urinary odor molecules in the Otassha Study can distinguish patients with sarcopenia: A pilot study. *Geriatrics and Gerontology International*, 25(2):307-315, 2025, DOI: 10.1111/ggi.15072

#### 5. 学会発表など

1) フレイルを検出するための高齢者うつ不安症の尿中バイオマーカー加藤啓子, 藤田明子 (京都産業大学), 井原一成 (弘前大学医学研究科), 河合 恒, 大淵修一 (東京都健康長寿医療センター), 田中雅嗣 (順天堂大学大学院医学研究科) ウィンクあいち 2024.6.13-15(口頭)

2)サルコペニアの尿中バイオマーカー岡卓也, 河合恒, 大淵修一, 藤田明子, 加藤啓子 ウィンクあいち 2024.6.13-15 (ポスター)

3) シアル酸転移酵素ST3Gal4欠損マウスの自発性運動量と情動行動の変化について 井出尚希, 山本裕大, 永谷直久, 中村勇太, 中谷敢, 岡卓也, 加藤啓子, 第71回実験動物学会 みやこめっせ 2024.5.29-31

4) 側頭葉てんかんモデルマウスにおける扁桃体刺激による高血糖と肥満誘導のメカニズム 加藤啓子, 上窪悠真, 田中朋也, 利川泰博, 太田真菜美, 藤田明子(京都産業大学生命科学研究科)第71回実験動物学会みやこめっせ 2024.5.29-31.

(以下, 産学連携)

5) 高齢者の健康を目指した尿検査系の開発 加藤啓子, 京都ビジネス交流フェア, 京都パルスプラザ, 2025, 2025.2.13

6) Inspection service for physical and mental frailty, 尿中バイオマーカーを用いたフレイル検査サービス Keiko Kato, HVC KYOTO 2024, 京都リサーチパーク「バズホール」「バンケットホール」, 2024.7.8.

7) 高齢者の健康を目指した尿検査系の開発, 加藤啓子, 新技術説明会, ONLINE, 2024.2.29.

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

令和6年 NEDO Entrepreneurs Program, フレイル尿中分子マーカーを用いたフレイルリスク評価ビジネス (1年間)

##### 2) 知財権等

JST 支援 PCT 出願 WO/2024/210185(登録日:R6.4.7)

##### 3) 学会活動

日本糖質学会評議員; 日本神経化学会評議員; 関西実験動物研究会評議員; 日本獣医学会誌編集委員 (令和5年3月まで); 実験動物学会評議委員

##### 4) その他

京都産業大学大学院長

文部科学省専門委員会委員

次世代研究者挑戦的研究プログラム・事業統括「トランスファブルスキルを身に付けた科学技術を牽引するリーダーの育成」事業統括

##### ホームページ

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



# ゲノム生物学研究室

Laboratory of Genomics

教授 金子 貴一

Prof. Takakazu Kaneko, ph.D.



## 1. 研究概要

植物の体内には多様な微生物が定着しており、その多くは宿主植物に対して病原性を示さず、共生関係を築いている。これまでに様々な植物から細菌や真菌など多様な微生物が分離されており、その中には植物の成長促進や病害抵抗性の向上、さらには乾燥や塩ストレスといった環境ストレスへの耐性を高める効果を持つものも存在する。これらの微生物は、農業における持続可能な生産技術として注目されており、微生物資材としての応用に向けた研究も進められている。なかでも、マメ科植物と根粒菌の間に見られる根粒共生系は、植物と微生物の相互作用の代表例である。根粒菌は、宿主植物の根に根粒を形成させ、根粒内で窒素固定を行い、植物に窒素源を供給する。この共生関係は、植物の生育を助けるだけでなく、土壌中の窒素循環を促進する生態系の一部を構成する。我々は、この根粒共生系に注目し、根粒菌と宿主植物の間で形成される複雑な相互作用の分子基盤を明らかにすることを目的としている。特に、共生成立に必要な宿主・微生物双方の遺伝子やシグナル伝達経路の解明に加え、根粒菌ゲノムに存在する外来性 DNA 領域の多様性に注目している。この DNA 領域には、共生成立に関与する遺伝子群が存在するため、その構造や機能の解析を通じて、根粒菌がどのようにして共生能を獲得・維持してきたかを理解する手がかりが得られると期待される。

本年度は引き続き、以下の2点の研究に取り組んだ。

- (1) 根粒共生系の成立に関与する因子の解明
- (2) 根粒菌ゲノムにおける外来性 DNA 因子の多様化と進化過程の解析

## 2. 本年度の研究成果

(1) アレチヌスビトハギ (*Desmodium paniculatum*) に共生する根粒菌の多様性と宿主植物への影響を評価することを目的とし、系統分類した複数の根粒菌株を用いて共生効果の検証を行った。アレチヌスビトハギ根粒菌は、ITS 領域と *nifH* の塩基配列に基づいて分類されたものを用いた。根粒菌株をアレチヌスビトハギに接種した結果、すべての菌株が根粒を形成し、地上部の生育を促進することが確認された。ただし、根粒形成数や生育促進効果には菌株間で顕著な差異が見られた。特に Dpn1、Dpn2、Dpn3 の3菌株は、ITS および *nifH* の配列が一致

しているにもかかわらず、地上部の生育量は Dpn1 < Dpn2 < Dpn3 の順で有意に異なり、同一遺伝的背景が推測されるにもかかわらず、共生効果に差異が生じる可能性が示唆された。さらに、これらよりもアレチヌスビトハギへの共生効果が高い2菌株 (B02 および B39) を、系統樹上で異なるクラスターに属する菌株群から見出した。これにより、遺伝的背景の異なる株がより優れた共生能を持つ可能性があることが示された。一方で、ITS および *nifH* 配列の系統解析により *Bradyrhizobium elkanii* ダイズ根粒菌と同じクラスターに含まれるアレチヌスビトハギ根粒菌株を用いて、ダイズおよびミヤコグサへの共生効果も評価したが、いずれの宿主においても根粒数は少なく、ニトロゲナーゼ活性も低く、無接種区と比較して地上部の生育に有意差は認められなかった。これらの結果は、アレチヌスビトハギ由来の根粒菌が高い宿主特異性を有していること、また、同一系統内においても共生効果に多様性が存在する可能性を示唆するものである。

(2) アレチヌスビトハギ根粒菌群の中には、ダイズ根粒菌 *Bradyrhizobium elkanii* の主系統とは異なるクラスターに属する HK4-10 菌株に ITS および *nifH* 配列が一致する2菌株を同定した。これらの菌株をダイズに接種した結果、根粒形成能は極めて低く、ニトロゲナーゼ活性も検出されなかった。このような共生不成立の特性は、ダイズの *Rj* 遺伝型と根粒菌との不適合性に類似しており、根粒菌が分泌する共生阻害因子の関与が示唆される。一方、同じ菌株をアレチヌスビトハギに接種したところ、根粒形成・窒素固定活性ともに良好で、地上部の生育促進効果も HK4-10 株接種時と同等であることが確認された。今後は、両宿主間で異なる共生応答の分子メカニズムを解析し、宿主特異的な共生制御機構の解明を目指す。

## 3. Research projects and annual reports

A wide variety of microorganisms colonize the interior of plants, many of which establish symbiotic rather than pathogenic relationships with their hosts. Microbes such as bacteria and fungi have been isolated from numerous plant species and are known to promote growth, enhance resistance to pathogens, and improve tolerance to abiotic stresses like drought and salinity. These beneficial microbes are gaining attention for their potential in sustainable agriculture, with ongoing research into their

application as microbial inoculants. Among these interactions, the rhizobium-legume symbiosis is a well-characterized model. Rhizobia form nodules on legume roots and fix atmospheric nitrogen, supplying it to the host plant while contributing to soil nitrogen cycling. Our research focuses on understanding the molecular basis of this symbiosis, particularly the genes and signaling pathways involved in its establishment, and the diversity of symbiosis-related genomic regions acquired via horizontal gene transfer. In this year, we pursued two main objectives: (1) elucidating the factors required for nodule symbiosis establishment, and (2) analyzing the diversification and evolution of horizontally acquired DNA in rhizobial genomes.

As part of this work, we investigated rhizobia isolated from *Desmodium paniculatum*. Strains were classified based on ITS and *nifH* sequences, and their symbiotic performance was evaluated. All tested strains successfully formed nodules and promoted shoot growth in *D.paniculatum*, but notable differences in nodule number and growth effects were observed among strains. For example, strains Dpn1, Dpn2, and Dpn3—despite having identical ITS and *nifH* sequences—showed significantly different growth-promotion effects (Dpn1 < Dpn2 < Dpn3), suggesting that functional diversity can exist even among closely related strains. Furthermore, two additional strains (B02 and B39) from distinct phylogenetic clusters exhibited even higher symbiotic effectiveness, indicating that strains from genetically divergent groups may possess superior symbiotic traits. We also assessed the host specificity of *D.paniculatum* derived rhizobia by inoculating them into *Glycine max* (soybean) and *Lotus japonicus*. Some strains clustered with *Bradyrhizobium elkanii* based on ITS and *nifH* phylogeny, but showed poor nodule formation, low nitrogenase activity, and no significant promotion of shoot growth in either host. These findings highlight the high degree of host specificity among *D.paniculatum* associated rhizobia and the existence of functional diversity even within the same phylogenetic lineage. Additionally, two strains from *D.paniculatum* were identified as genetically identical (ITS and *nifH*) to the *B.elkanii* related soybean strain HK4-10, which belongs to a subcluster distinct from the main *B.elkanii* lineage. These strains failed to form effective symbioses with soybean, likely due to incompatibility linked to the

soybean *Rj* genotype and bacterial symbiosis suppressing factors. However, when inoculated into *D.paniculatum*, these same strains exhibited effective nodulation and nitrogen fixation, with growth-promotion effects comparable to HK4-10. These results suggest the presence of host-specific symbiotic control mechanisms and provide a basis for further investigation into the molecular determinants of host compatibility.

#### 4. 論文、著書など

Y. Shimoda, H. Yamaya-Ito, T. Hakoyama, S. Sato, T. Kaneko, S. Shibata, M. Kawaguchi, N. Suganuma, M. Hayashi, H. Kouchi, Y. Umehara: A mitochondrial metalloprotease FtsH4 is required for symbiotic nitrogen fixation in *Lotus japonicus* nodules. *Sci. Rep.* 2024. **14**, 27578

#### 5. 学会発表など

橋本駿、番場大、日下部翔平、Y. Mustamin、高澤瑞希、Y. Cui、P. Pongdet、S. Pongpan、T. Panlada、B. Nantakorn、T. Neung、金子貴一、岡崎伸、内海俊樹、三井久幸、佐藤修正: 根粒菌エフェクターに起因するミヤコグサの根粒共生制御に関わる遺伝子の探索: 植物微生物研究会第33回研究交流会、高知大学、オンライン開催、2024.8. 28-30

橋本駿、番場大、日下部翔平、Y. Mustamin、高澤瑞希、Y. Cui、P. Pongdet、S. Pongpan、T. Panlada、B. Nantakorn、T. Neung、金子貴一、岡崎伸、内海俊樹、三井久幸、佐藤修正: 根粒菌エフェクターに起因するミヤコグサの根粒共生制御機構の解析: 日本植物学会 第88回大会、宇都宮大学、宇都宮市、2024.9.14-16

#### 6. その他特記事項

なし

# 細胞社会学研究室

Laboratory of Cellular Society

准教授 川根公樹

Associate Prof. Kohki KAWANE, Ph. D.



## 1. 研究概要

本研究は、接着細胞の細胞終焉様式である細胞脱落の機構を明らかにし、得られる知見をもとに、細胞脱落の異常が関連すると考えられる、癌、炎症等の疾患の理解を新たな側面からもたらすことを目的とする (図 1)。

外界に接し、細胞が生涯を通じてターンオーバーを行う上皮組織では、寿命を迎えた細胞、癌細胞、感染細胞、細胞競合で敗者となった細胞など、夥しい数の不要な細胞及び有害な細胞が組織から失われる。上皮細胞の終焉は、細胞脱落と呼ばれる組織からの剥離である。脱落する細胞は、隣接細胞が細胞境界に形成するアクチン・ミオシンからなるリングが収縮することで押し出されて組織から剥離し除かれることが報告されている。またこの時、脱落細胞が占めていたスペースは隣接細胞によってシールされ組織の恒常性の破綻は防がれる。すなわち細胞脱落は、脱落細胞と隣接細胞との相互協調作用によって、組織の恒常性を維持しながら不要な細胞を組織から除く、細胞社会のコンテキストで実行される重要な細胞の振る舞いであるが、その機構については多くが不明である。

この小胞形成の機構とこれが細胞脱落の実行に果たす役割を明らかにする研究を遂行している。加えて私たちは、「細胞が脱落するには細胞接着を解除する必要があるが、接着の喪失は上皮のバリア機能を脅かす」点に着目し、細胞脱落における細胞接着の動態についても解析を行っている。培養細胞、オルガノイド、マウス、ショウジョウバエの各解析系においてイメージング解析を駆使し、「細胞外小胞形成」と「細胞接着」の2つの独自の視点から細胞脱落の実行機構の全容理解を目指す (図 1)。そして得られた知見をもとに、細胞脱落の破綻が組織や個体にどのような異常や疾患をもたらすかを、炎症や癌を念頭に明らかにする。

さらに、(1)血管内皮細胞の細胞脱落の機構の解明 や、(2)腸上皮の細胞ターンオーバーの機構の解明 や、(3)細胞の密度上昇が誘導する細胞死、増殖停止の機構の解明 などのテーマの研究にも最近着手し、複数の国内外の研究機関、大学との共同研究も行いながら、それぞれ取り組みを展開している。

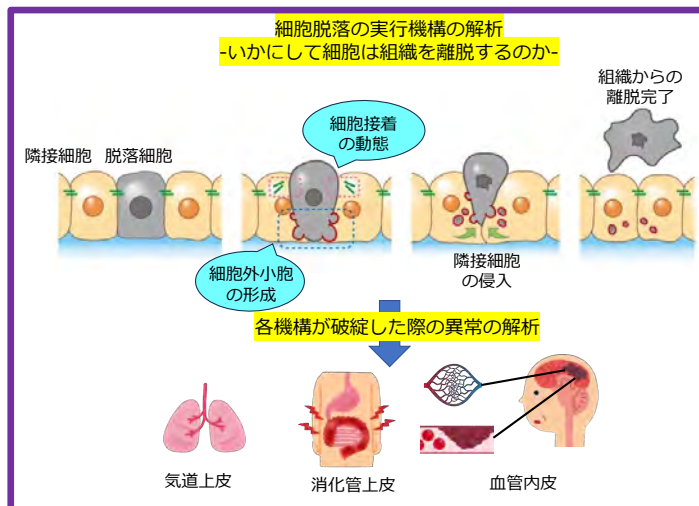


図 1. 隣接細胞との相互協調作用によって実行される、社会的細胞終焉と位置付けられる「細胞脱落」の機構の解析と、これが破綻した際の疾患(炎症、癌)の解析

私たちは、細胞脱落の実行機構について解析を進め、これまでに「脱落する細胞は、脱落を実行しながらその側面から局所的に細胞外小胞を形成し、これを隣接する同種の上皮細胞が貪食する」種を越え保存された現象を見出した。そして、この小胞形成が細胞脱落の実行に必要な役割を担っていることを示してきた。現在、これに着目し、

## 2. 本年度の研究成果

本年度は、細胞脱落の実行の異常が生体に及ぼす悪影響を明らかにする目的で、哺乳類培養細胞を用いて実験を行い、細胞脱落の実行に重要な役割を果たす細胞外小胞形成を阻害することで速やかな細胞脱落の実行を妨げたところ、秩序ある細胞層構造の構築によってもたらされるバリア機能に破綻が生じることを強く示唆する結果を得た。上皮バリアの破綻は、「Leaky Gut」として近年注目を集めるように、生体に様々な疾患をもたらすことが明らかになってきている。細胞脱落の異常がバリア破綻に関連する様々な疾患に関与する可能性があり、今後、これらを検証していく。

また、生体内での細胞脱落を、より詳細なライブイメージングにより解析したところ、脱落細胞が、細胞外マトリクスと接着する面において多数の放射状突起構造を形成することを見出した。これが細胞脱落の実行に何らかの役割を果たす可能性について、検証を続けているところである。

## 3. Research projects and annual reports

This year, in order to clarify the adverse effects of abnormal execution of cell extrusion on living organisms, we conducted experiments using mammalian cultured cells and found that inhibition of

extracellular vesicle formation, which plays an essential role in cell extrusion, impeded its rapid execution and strongly suggested that this leads to disruption of the barrier function normally maintained by the orderly architecture of the epithelial layer. In addition, detailed live-imaging analysis of cell extrusion in vivo (*Drosophila*) revealed that extruding cells formed numerous radial protrusions at the interface with the extracellular matrix. We are currently examining the possibility that these protrusive structures play a role in the execution of cell extrusion.

#### 4. 論文、著書など

1. 川根公樹 「細胞脱落の実行におけるホスファチジルセリン露出の役割」細胞, 56 (13): 22-26, (2024)

#### 5. 学会発表など

1. 宮浦由樹 吉良彰人 木村成介 川根公樹: 「ショウジョウバエ腸上皮の細胞ターンオーバーにおけるカスパーゼの役割」(ポスター発表), 第70回日本生化学会近畿支部例会, 大阪, 2024年5月(他2演題発表: 発表者 Satheesh Kumar Indilala, 下山瑠稀矢)
2. 原田翔悟 井上英二 川根公樹: 「Competitive cellular interaction via autophagy during tissue development」(ポスター発表), 第16回日本ショウジョウバエ研究集会, 仙台, 2024年9月
3. 栗井麻里那 梶田春奈 中川敦斗 吉良彰人 川根公樹: 「ショウジョウバエ上皮組織を用いた、組織発生における細胞脱落の実行機構の解析」(ポスター発表), 第47回日本分子生物学会年会, 福岡, 2024年11月(他5演題発表: 発表者 井上英二, 原田翔悟, 下山瑠稀矢, 中川敦斗, 宮浦由樹)
4. 川根公樹: 「A challenge to understand the mechanism of epithelial cellular end during tissue development in *Drosophila*」(口頭発表) The 4th Cell Death Colloquium, 京都, 2025年1月

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

##### 1. アステラス病態代謝研究会 研究助成金

課題名: 細胞脱落の実行機構の破綻と炎症性腸疾患の関連の解明

研究代表者: 川根公樹, 取得年度: 2023年

##### 2. 小野医学研究財団 研究助成金

課題名: 細胞脱落におけるリン脂質スクランブリングの役割と機構及び疾患との関連の解析

研究代表者: 川根公樹, 取得年度: 2023年

##### 3. 武田科学振興財団 ビジヨナリーリサーチ助成 (ホップ)

課題名: 上皮、内皮のバリア破綻による疾患を社会的細胞死の視点から理解する

研究代表者: 川根公樹, 取得年度: 2024年

#### 4. コーセーコスメトロロジー研究財団 研究助成

課題名: 上皮バリア機構を保証する、上皮細胞の終焉におけるタイトジャンクションの動態

研究代表者: 川根公樹, 取得年度: 2024年

#### 5. 科研費 基盤研究 (C)

課題名: 細胞終焉におけるアポトーシス小体の新奇役割とその形成機構

研究代表者: 川根公樹, 取得年度: 2024年

#### 2) 知財権等 該当なし

#### 3) 学外活動

1. 夢ナビライブ 2024 in Summer 「細胞の死の物語～私たちの生を支える細胞死～」(川根公樹)
2. 分子生物学会における講師派遣事業 大阪府立天王寺高校

#### 4) 受賞等 該当なし



大掃除後のお疲れ様パーティー



卒業式の一コマ

## 集団遺伝学研究室

Laboratory of Population Genetics

教授 河邊昭

Prof. KAWABE, Akira.



### 1. 研究概要

集団遺伝学分野では、植物を用いて DNA 変異の維持機構の解明を大きな課題として研究をおこなっている。DNA 変異がどのように出現し、世代を経て集団中での頻度をどのように変化させていくのかを明らかにすることは集団遺伝学の主要な目的であり、過去に起こった出来事を推測することで現在進行中の進化や将来的にどのように進化が起こるのかを予測することができる。

本研究分野では特に染色体構造の違いやそれをもたらす機構がどのように DNA 変異に影響を与えるかという点に焦点を絞って研究をおこなっている。ゲノムには多くの遺伝子が存在し、それぞれが自然選択の対象となって生物の進化の要因となっている。しかし全ての遺伝子は同様に自然選択の影響を受けるわけではなく、周辺の領域の染色体構造の違いによって自然選択の働きの度合いは異なってくる。単純なものでは、領域間で組換え率が違うと連鎖の強さに差が生じ、自然選択の効果が領域によって大きく異なることになる。染色体を構成する要素である動原体やテロメアなど、またヘテロクロマチンを構成する転移因子など、エピジェネティックなクロマチン構造の変化など、は周辺領域の進化パターンを決定する上で非常に重要なものである。単に表現形の変化をもとに自然選択の検出や適応進化の予想をするのではなく、そもそも自然選択の影響がどのような要因によって変化するのかを明らかにすることは、近年のゲノム情報をもとにした生物学の発展を踏まえて多様性研究をするうえでは欠かせないものになってくると思われる。

本研究分野では具体的に次の3点について研究を進めている。

#### 1) 動原体領域の進化機構

動原体は細胞分裂の際に染色体を正確に娘細胞に分配するために必須のものであり、遺伝情報の正確な伝達には不可欠のものである。しかし、その重要性にもよらず動原体配列はゲノム中で最も早く進化すると言われている。シロイヌナズナの近縁種を用いて動原体配列がどのように置換しているのか、動原体配列の違いが実際に染色体の分離に影響を与えるのかを解析している。

#### 2) 転移因子の進化パターンの解析

転移因子は多くの生物でゲノムの大部分を占めるなど染色体の構造を考える上で非常に重要な要素である。転移因子が生存上重要な遺伝子に挿入することで生物に有害な効果をもたらすこともあり、多くの生物で転移因子を不活化する機構が進化している。現在、アブラナ科、マメ科、イネ科の中での進化パターンを解析することでどのようにコピー数を増やし不活化をまねがれているのかなどについて明らかにしようとしている。

#### 3) エピジェネティックな制御機構の進化に与える影響の解明

エピジェネティックな制御機構により遺伝子発現やクロマチン構造の変化が起こることが知られている。エピジェネティックな制御は配列の違いによらず表現形に差異をもたらすことが可能であるが、クロマチン構造の変化により進化パターンに影響を与えると思われる。様々なエピジェネティック制御機構のうち特に外来 DNA のメチル化に注目して研究を進めている。

### 2. 本年度の研究成果

本年度は転移因子の解析に関して、引き続きアブラナ科植物を中心にトランスポゾンファミリーの存在様式の調査をおこなった。いくつかの種に関しては DNA メチル化レベルを薬剤処理によって低下させることでトランスポゾンの再活性化を促し、新たな転移の探索をおこなっている。

またシロイヌナズナ属で動原体領域特異的な挿入様式がみられるトランスポゾンファミリーについて、シロイヌナズナの複数個体のゲノム解析から新たなグループを見出し、そのグループの転移様式の解析をおこなっている。数は少ないが新規の転移が見つかり、今後データを増やすことで転移特性を解明していく。

動原体特異的な挿入様式を示すファミリーに関してはアブラナ科を中心に他の種においても解析を進めており、動原体への局在が多くの種で確認できた。これらの中に複数の種で動原体への挿入特異性が失われたグループが確認できている。共同研究によって、動原体特異性に関わる変化を明らかにしつつあり、多くの種の状況を考

慮することで、動原体への転移特異性の進化の解明につなげたい。

### 3. Research projects and annual reports

We focused on the maintenance mechanisms of DNA variation in Plant species. We are interested in the following four topics.

#### 1) Evolutionary process of Centromere regions

Centromere is an important area for accurate chromosome segregation but is also one of the fastest evolving regions in the genome. By using *Arabidopsis* relatives, we are analyzing evolutionary pattern of centromeric sequences. We found novel repeat from *Turritis glabra* with no homology to previously known centromeric repeat from any species. *T. glabra* also has very complicated repeat structure with chromosome specificities.

#### 2) Patterns of Transposable Element Evolution

Transposon families with an integration specificity to the centromere region were characterized in Brassicaceae species and their evolutionary patterns were analyzed. In *Arabidopsis thaliana* and *A. lyrata*, we identified an amino acid change that caused loss of centromere targeting in ALE family transposon. In several Brassicaceae species, we found different types of subgroups in the centromere region and in the other regions. We believe that further analysis of different species will allow us to verify how transposons of the same family maintain centromere specificity and how they have evolved.

### 4. 論文, 著書など

Tsukahara S, Bousios A, Perez-Roman E, Yamaguchi S, Leduque B, Nakano A, Naish M, Osakabe A, Toyoda A, Ito H, Edera A, Tominaga S, Juliarni, Kato K, Oda S, Inagaki S, Lorković Z, Nagaki K, Berger F, Kawabe A, Quadrana L, Henderson I, Kakutani T.: Centrophilic retrotransposon integration via CENH3 chromatin in *Arabidopsis*. *Nature*. 8046:744-748. (2025)

「琵琶湖集水域の環境メタロミクス」(2024 年 8 月 10 日初版 1 刷発行) 原田英美子 編

第 2 節 「琵琶湖岸の希少植物タチスズシロソウ—環境要因が個体数に与える影響—」(吉山 浩平・小野 夏実・宮村 弘・河邊 昭・原田 英美子)

### 5. 学会発表など

1, 「レトロトランスポゾン Ta11 はセントロメアクロマチンを標的として転移する」塚原小百合、Alexandros Bousios、Estela Perez-Roman、山口 颯太、Basile Leduque、中野 藍美、Matthew Naish、越阪部 晃永、豊田 敦、伊藤 秀臣、Alejandro Edera、富永 さやか、Juliarni、加藤 夏絵、小田 頌子、稲垣 宗一、Zdravko Lorković、長岐 清孝、Frédéric Berger、河邊 昭、Leandro Quadrana、Ian Henderson、角谷 徹仁、染色体ワークショップ 2025. 11 大分

### 6. その他特記事項

#### 1) 学外活動

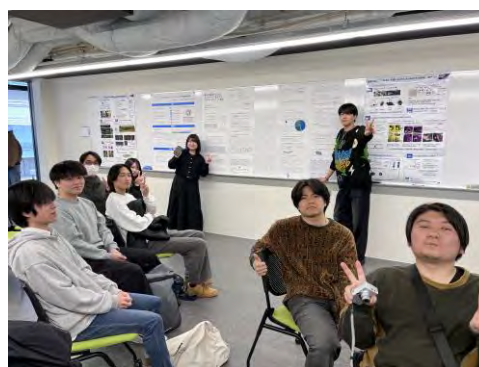
Genetica: 編集委員

BMC Plant Biology: 編集委員

Plants: 編集委員

日本遺伝学会評議員

#### 2) その他 なし



卒業研究発表会での集合写真

# 神経糖鎖生物学研究室

Laboratory of Neuroglycobiology

## 1. 研究概要

タンパク質の重要な翻訳後修飾反応である糖鎖付加反応の解析を進めている。糖鎖の構造はいくつかのタイプに分類される。それらのうちで、我々は N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)とタンパク質中のセリン、トレオニン残基のヒドロキシ基との間に形成されるムチン型糖鎖(GalNAc  $\alpha$  1 $\rightarrow$ Ser/Thr)に注目し、それらの主に脳における機能を解析している。

ムチン型糖鎖の合成開始反応は UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase (以降 GalNAc-T) により触媒される。我々はその中の2つのアイソザイム(GalNAc-T9, -T17)を単離し、それらが脳特異的に発現していることを見いだした。

本年は、神経分化能を有するマウス胚性腫瘍細胞の神経文化における GalNAc-T の機能について解析した。

## 2. 本年度の研究成果

多分化能をもつマウス胚性腫瘍細胞である P19 細胞を使って、我々が開発した接着培養による効率の良い分化誘導法を用いて、神経細胞への分化誘導実験を行った。低濃度の加えることで、神経分化の効率を高めることに成功した。また、神経特異的に発現する GalNAc-T9 と GalNAc-T17 を標的とし、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集により変異体を作製するための実験に着手した。

## 3. Research projects and annual reports

The addition of glycans to proteins is a crucial post-translational modification within cells. Our research focuses on O-linked carbohydrate chains, specifically mucin-type carbohydrates. These glycans play essential roles in various cellular processes. The biosynthesis of mucin-type glycans is initiated by a group of enzymes known as UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferases (GalNAc-Ts). In humans, this enzyme family consists of 20 different isozymes.

To gain insight into the functions of mucin-type glycans during neural differentiation, we have conducted extensive analyses of brain-specific GalNAc-Ts. Specifically, we isolated the *Galnt9* and *Galnt17* genes. Using these genes, we are generating a mutant P19 cell line - an embryonic carcinoma cell line capable of differentiating into neural cells. Our ongoing work involves examining the roles of

教授 黒坂 光

Prof. Akira Kurosaka, Ph. D.



*Galnt9* and *Galnt17* mutants during neural differentiation processes.

## 4. 論文、著書など

なし

## 5. 学会発表など

なし

## 6. その他特記事項

### 1) 学外活動

日本生化学会評議員, 日本生化学会近畿支部幹事, 日本薬学会関西支部委員

大学コンソーシアム京都理事長 (2024.6 まで), 公益財団法人京都高度技術研究所特別顧問、KYOTO 地球環境の殿堂選考委員, 公益財団法人京都市景観・まちづくりセンター顧問

### 2) その他の活動

KSU: Building Brides in Global Education - Excelling in space science and safety research, KSU is the shining star of Japanese Education. Newsweek vol. 183, No. 10, pp. 44-45, 2024.10.11

新たな社会創造に向けた挑戦 日本人のわすれもの 京都新聞 2023.4

大学コンソーシアム京都設立 30 周年に向けて 大学コンソーシアム京都会報 vol. 55, pp. 9-10, 2024.11.27

## 器官形成学研究室

Laboratory of Organogenesis

教授 白鳥 秀卓

Prof. Hidetaka Shiratori, D.V.M., Ph.D.



### 1. 研究概要

我々ヒトを始めとした脊椎動物は、外見上ほぼ左右対称であるが、心臓、胃、血管など内臓器官の多くは左右非対称に配置されている。胎児期において、内臓器官も初めは左右対称にできるが、左右非対称な遺伝子発現によって左右非対称に形が変化して完成する。私たちは、このような器官の左右非対称性の形成機構を解析する。「どのように左右非対称な遺伝子発現が確立するのか？」その結果として、「どのように内臓器官が左右非対称に変化するのか？」を明らかにしていきたい。

具体的には、我々ヒトと同じ哺乳類のマウスを用いて、胚発生期における各臓器の左右非対称な形態変化を詳細に観察する。さらに、KO マウスやトランスジェニックマウスを作製・繁殖・解析して、左右非対称に発現する遺伝子の発現制御機構や役割、細胞形態・細胞移動・細胞増殖・細胞死の左右非対称性とその意義を解明する。また、左右非対称に形成された内臓器官において、左右の形態の違いだけでなく機能にも左右に違いがあるのではないかと考え、研究を進めている。

*LRI* は左右非対称に発現する遺伝子であり、*LRI* 変異マウスは左右非対称性の異常を示す。一方で、一部の *LRI* ホモ変異マウス胚は左右軸形成より発生の早い時期において異常になっており、この点についても研究を進める。

また、アミノ酸代謝酵素 *Pycr2* や *Shmt2* の役割を解析する。*Pycr2* KO マウスは、早老症様(神経症状、痩せ、短命、繁殖率の低下、毛周期異常など)の症状を示した。さらに、*Pycr2* は脳において *Shmt2* の発現を制御していることを報告した(Escande-Beillard N. et al., 2020)。一方で、*Shmt2* KO マウスは胚性致死となり、胚発生に *Shmt2* が必要であることも明らかである。*Pycr2* や *Shmt2* のトランスジェニックマウスや組織特異的・時期特異的変異マウス、関連分子の変異マウスを作製・繁殖・解析して、*Pycr2* KO マウスや *Shmt2* KO マウスが示す症状のメカニズムを明らかにする。

### 2. 本年度の研究成果

#### 1) 細胞外マトリックス分子 *LR1* の変異マウスの解析

*LR1* 変異マウスが左右非対称性の異常を示した一方で、*LRI* ホモ変異マウスの一部は胎生 6 日目～7 日目で胚性致死となった。*LRI* ホモ変異マウス胚では、細胞増

殖率が異常に低下することで形態異常になることが示唆された。野生型でも一過性に形態異常が生じることがあるが、*LR1* によって細胞増殖率を高めて正常な発生に追いついているのではないかと仮説を立てて、野生型でも形態異常を生じやすいように妊娠中にストレス負荷をかけて実験を行った。具体的には、低タンパク飼料で飼育して解析を行った。また、*LRI* ホモマウスにおいて着床後の妊娠継続率が低下しているため、着床直後の子宮の組織学的な解析をしたが、異常は検出できなかった。

#### 2) 生体器官の機能における左右差の探索

左右非対称に形成される内臓器官において、左右の形態の違いだけでなく、機能にも左右に違いがあるのではないかと考え、肝臓のはたらきに関する左右の違いを探索している。マウス肝臓の左右2葉ずつを選び、各種遊離アミノ酸の定量解析を行った結果、いくつかのアミノ酸において分葉間に差が見られ、そのアミノ酸代謝に関わる遺伝子の発現量にも肝臓の分葉間で差があった。これらの分葉間での差は、胚発生中の肝臓では見られず、生後から分葉間に差が生じることが分かった。一方で、これらの分葉間の差を制御していると考えられる転写因子 *Pitx2* は、胚発生中から継続して左右非対称に発現していることもわかった。肝臓内のどのような細胞において遺伝子発現に差があるのかを明らかにするために組織学的な解析を進め、*Pitx2* がアミノ酸代謝を制御するしくみを解析した。

#### 3) プロリン合成酵素 *Pycr2* の変異マウスの解析

*Pycr2* KO マウスは腎臓にも異常があることが、血清生化学的解析から示唆された。よって、マウスの尿検査を行い、さらに腎臓で *Pycr2* が発現している組織を同定し、*Pycr2* KO マウスにおける尿細管の組織異常も調べた。*Pycr2* KO マウスの尿や尿細管の組織異常を検出することはできなかったが、*Pycr2* は腎臓のボウマン嚢、尿細管、集合管等で発現していることがわかった。これらの *Pycr2* が発現している尿細管以外の組織にも注目して、今後は解析を進める。

*Pycr2* KO マウスは毛周期に異常がある。*Pycr2* KO マウスの毛周期が野生型に比べて遅延すること、*Pycr2* は毛周期を制御している毛乳頭細胞で発現していること、*Pycr2* KO マウスでは毛乳頭細胞において毛周期を制

御している *Fgf7* の発現量が減少していること、毛乳頭細胞の基底膜にも異常が見られることを明らかにしてきた。本年度は、*Pycr2* KO マウスにおける基底膜の構成分子の異常を探索した。その結果、ラミニンに異常はなかったが、コラーゲンに異常があることがわかった。

### 3. Research projects and annual reports

Several visceral organs are left-right (L-R) asymmetrically located in vertebrates. In embryonic development, the visceral organs are L-R symmetrically initiated, and then their shape is asymmetrically changed through asymmetric gene expression. We want to know the mechanism for the generation of L-R asymmetry.

①How is the asymmetric expression of the genes regulated?

②How is the shape of the visceral organs changed?

We observe the morphogenesis of each organ in detail, focusing on the differences between left and right in cell shape, cell migration, cell proliferation, and cell death, and analyze the roles and transcriptional mechanisms of the genes that are asymmetrically expressed using mutant and transgenic mice.

LR1 is an extracellular matrix protein and is L-R asymmetrically expressed in the mouse embryo. The *LR1* mutant mice had shown L-R defects, while some of the homozygotes had been early embryonic lethal.

We also analyze the roles of amino acid metabolizing enzymes, *Pycr2* and *Shmt2*. We reported that the *Pycr2* KO mice showed a premature aging-like phenotype, and *Pycr2* regulates *Shmt2* in the mouse brain (Escande-Beillard N. et al., 2020). The *Shmt2* KO mouse is embryonic lethal, suggesting *Shmt2* is essential for mouse embryogenesis. We want to clarify the mechanisms of the symptoms in these KO mice using mutant and transgenic mice.

#### 1) *LR1* mutant mouse.

*LR1* mutant mice have L-R defects, while some of its homozygotes are embryonic lethal at E6 ~ E7. We had found the cell proliferating defect in the *LR1* KO mouse embryos. It was suggested that low cell proliferating causes the abnormal morphology. We guessed that the abnormal morphology is transiently arisen in wild-type embryos too, which is recovered by LR1 regulating the cell proliferation. To verify this hypothesis, we gave the

stress to pregnant mice, which was bred with low protein feed, and analyzed the morphology of their embryos.

We also found that *LR1* KO mice showed a low ongoing pregnancy rates after the implantation. We analyzed the uterus of *LR1* KO mice after the implantation. However, we could not detect the histological defects in their uterus.

#### 2) Functional differences between left and right in visceral organs.

Several visceral organs are L-R asymmetrically formed. We thought there might also be functional differences between the left and right in the visceral organs and searched for the difference in the free amino acid level between the left and right lobes of the mouse liver. There were differences between lobes in the amount of the several amino acids and the expression of the genes regulating amino acid metabolism. The differences in the gene expression between lobes were shown after birth, but not before birth. On the other hand, a transcription factor *Pitx2* that governs L-R asymmetric morphogenesis in visceral organs is asymmetrically expressed in the liver before birth. This year, we analyzed which cells express these genes and how *Pitx2* regulates the asymmetric expression of amino acid metabolism genes.

#### 3) *Pycr2* KO mouse.

*Pycr2* is an enzyme for proline biosynthesis. We had found by blood biochemical tests that *Pycr2* KO mice might have the kidney defects. This year, we analyzed *Pycr2* KO mouse urine and searched for the histological defects in the renal tubule of the *Pycr2* KO mouse kidney. However, *Pycr2* KO mouse urine was normal, and we could not detect any defect in the renal tubule of the *Pycr2* KO mouse. We revealed the expression pattern of *Pycr2* in the mouse kidney. *Pycr2* is expressed in the Bowman capsule, the renal tubule, and collecting duct.

*Pycr2* KO mice show the hair cycle defect. We had found out that the hair cycle is delayed in the *Pycr2* KO mice, that *Pycr2* is expressed in the dermal papilla cells, that the expression of *Fgf7* at the dermal papilla is decreased, and that the basement membrane of the dermal papilla is abnormal. This year, we searched for the defects of some molecules composing basement membrane. As a result, it was shown that the laminin is

normal, whereas the collagen is abnormal, in the *Pycr2* KO mice.

#### 4. 論文, 著書など

白鳥 秀卓

解剖学的視点からみた非対称性の意義

理学療法ジャーナル, 2024. 58, 994-998

#### 5. 学会発表など

なし

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究(C)

課題名: 左右非対称な内臓器官の形態変化のしくみとその役割

研究代表者: 白鳥秀卓, 取得年度: R2-4 年 (3 年), 新型コロナウイルス感染症の影響等により R6 まで 2 年延長

##### 2) 学外活動

大学コンソーシアム京都 第 30 回 FD フォーラム企画検討委員会 委員

大学コンソーシアム京都 第 30 回 SD・FD フォーラム シンポジウム 2 コーディネーター



## 感染症学研究室

Laboratory of Infectious Disease

教授 高桑 弘樹

Prof. Hiroki Takakuwa, D.V.M., Ph.D.



### 1. 研究概要

現在、世界各地で鳥インフルエンザをはじめとする新興・再興感染症の発生が多数報告されており、人を含む動物に被害をもたらしている。1997年に香港で出現したH5亜型高病原性鳥インフルエンザは、ヒトへの感染は報告されなくなったものの、全世界的に継続的に流行を繰り返している。さらにヒトに感染性を示すH5N1亜型以外の亜型の鳥インフルエンザウイルスが、出現してきている。感染症の原因である病原体の生態を解明し、コントロールすることは重要な課題である。

- 1) 鳥インフルエンザウイルスをはじめとする病原体の自然界での存続、進化および伝播機構を解明する。
- 2) 宿主と病原体の相互作用を解析し、病原体の宿主域を決定する因子、病原性の発現機構の解明を行う。
- 3) 感染症の診断、予防と治療法の開発を行い、動物とヒトの感染症を予防・制圧する。

### 2. 本年度の研究成果

世界各地で猛威を奮っている高病原性鳥インフルエンザは、今シーズンも国内で発生し、野鳥においては、全国各地で約226事例と一昨年の242事例に迫る発生があり、家禽においても51事例の発生があり、過去最多であった一昨年に迫る1,000万羽近い家禽が殺処分されている。我々の国内の保有状況の調査でも長野県のオオタカから高病原性H5N1亜型1株を分離している。また、今シーズンの特長として、3月下旬から北海道道東地域において海鳥の感染が見られ、その後、海棲哺乳類のアザラシ、ラッコの死亡を引き起こした。同じ哺乳類であるヒトへの感性が懸念されるが、今のところヒトへの感染性に関わるような変異は有していない。今後も毎シーズン国内にウイルスが持ち込まれると考えられ、引き続き、野鳥のウイルス保有状況を継続して監視することが重要である。

パンデミックの発生に関与する可能性が懸念されているH9N2亜型の鳥インフルエンザウイルスが哺乳類に適応について解析を進め、PB2-195変異は哺乳類の病原性に関わり、マウスの脳での増殖性を高める。あるいは、ウイルスポリメラーゼの活性を高めることが示唆された。PB2-195は、重要な活性部位の可能性もあり、さらに詳細な解析を進めている。

### 3. Research projects and annual reports

Currently, outbreaks of highly pathogenic avian influenza and other emerging and re-emerging diseases have caused serious economic and social disturbances worldwide. The H5N1 subtype highly pathogenic avian influenza virus, which emerged in Hong Kong in 1997, is no longer reported to infect humans; however, it continues to spread among domestic poultry worldwide. In addition, avian influenza viruses of subtypes other than H5, which are infectious to humans, are emerging. Controlling these infections is the most important. Our research is focused on:

- 1: The evolution and spread mechanism of pathogens such as avian influenza virus in nature.
- 2: Studies on the host range determinant in pathogens, mechanisms of pathogenesis, and immune response of the hosts through in vivo and in vitro analyses of the host-parasite interactions.
- 3: Development of strategies for the prevention and control of infections.

Highly pathogenic avian influenza viruses are spreading worldwide, with approximately 226 cases reported in wild birds across Japan this season. This figure is almost the same as the 242 cases reported two years ago. In addition, 51 cases of infection have been confirmed in domestic poultry, and approximately 10 million birds have been culled. This figure was close to the record high level of two years ago. In our domestic surveillance, the highly pathogenic H5N1 subtype virus was isolated in a goshawk in Nagano Prefecture. One of the characteristics of this season is that infections in sea birds were confirmed in eastern Hokkaido from late March. These infections caused the deaths of marine mammals, including seals and sea otters. There are concerns about the possibility of human infection, but so far, no mutations related to human infection have been confirmed. Since the highly pathogenic avian influenza viruses are expected to enter Japan by wild birds in the coming year, it is important to continue monitoring the status of wild birds carrying the virus.

Analysis of mammalian adaptation of the H9N2 subtype avian influenza virus, which is thought to be involved in the outbreak of the pandemic, suggests that the PB2-195 mutation promotes replication in the mouse brain and

enhances viral polymerase activity. PB2-195 may be an important active site. Further detailed analysis is ongoing.

#### 4. 論文, 著書など

Hew YL, Hiono T, Monne I, Nabeshima K, Sakuma S, Kumagai A, Okamura S, Soda K, Ito H, Esaki M, Okuya K, Ozawa M, Yabuta T, Takakuwa H, Nguyen LB, Isoda N, Miyazawa K, Onuma M, Sakoda Y. Cocirculation of Genetically Distinct Highly Pathogenic Avian Influenza H5N5 and H5N1 Viruses in Crows, Hokkaido, Japan. *Emerging Infectious Diseases* **30**(9): 1912-1917

#### 5. 学会発表など

疋田侑那, 荒川来夢, 木村仁哉, 安田茉世, 藪田淑予, 高桑弘樹: マウス継代によりH9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスに導入されたPAタンパク質変異の解析. 第71回日本ウイルス学会, 名古屋, 2024.11.4-6 (名古屋)

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究(B)

課題名: インフルエンザパンデミック制御におけるニワトリトランスジェニック技術の展開

研究分担者: 高桑弘樹, 取得年度: R6-9年 (4年)

##### 2) 知財権等 なし

##### 3) 学外活動

高桑弘樹: 日本獣医学会評議委員

高桑弘樹: 近畿ブロック病性鑑定ネットワーク協議会委員

高桑弘樹: 京都府新型インフルエンザ等対策有識者会議委員

高桑弘樹: 京都市衛生環境研究所と共同研究

高桑弘樹: 京都府農林水産技術センター畜産センターとの共同研究

##### 4) 受賞等

京都府獣医師会功労者表彰 R6年6月16日

##### 5) その他 なし



# 動物分子生態学研究室

Laboratory of Animal Molecular Ecology

## 1. 研究概要

昆虫や動物を研究対象として、動物の社会における社会性進化、植物との共進化、種分化のメカニズムの解明を目的に分子生態学的研究を行っている。さらにミツバチやマルハナバチの農業利用を目的とした応用生態学的研究、絶滅が危惧されている昆虫・動物類の保護を目的とした保全遺伝学的研究を行っている。

## 2. 本年度の研究成果

### ニホンミツバチにおける島嶼化の影響—フォスターの法則の検証—(小倉 千幸)

島嶼化(フォスターの法則、島の法則)とは、大陸から離れた島に生息する生物の体サイズが、大陸の同種個体と比較して異なる傾向を示す法則である。例えば、日本国内では、シカやイノシシが北海道から南西諸島にかけて広く分布しているが、本州に比べて離島の個体群は体サイズが小さくなる傾向が知られている。こうした島嶼化の要因としては、食料資源の制限、島の面積、気候、天敵の有無などが考えられる。このような島嶼化の法則は哺乳類では広く確認されているものの、昆虫では十分に検証されていない。

ニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) は、本州・四国・九州およびその周辺の離島に自然分布している。社会性昆虫であるミツバチは、同じ大きさの巣房で働きバチにより幼虫が育てられるため、生育要因に差異がなく体サイズのばらつきが少ないという特徴がある。そのため、ミツバチの働きバチの体サイズは、島嶼化の影響やその要因を検証する上で適した対象と考えられる。

本研究では、ニホンミツバチが自然分布する佐渡島、淡路島、小豆島、対馬、壱岐島、天草島、種子島、屋久島、奄美大島、請島、与路島と、滋賀県と愛媛県で採集した個体を使用した。まず、これらの個体群間の単系統性を示すためにミトコンドリア DNA の全長配列を用いて分子系統解析を行った。次に、働きバチの各形態を測定し、生息環境と体サイズの関係について多変量解析による分析を行った。本研究では、島嶼部に生息するニホンミツバチの形



准教授 高橋 純一

Associate Prof. Jun-ichi Takahashi, Ph. D.



態的変異の有無を明らかにし、その結果が島嶼化の法則とどのように関係するのかを考察する。

### LAMP 法によるハチミツの品質評価法の開発(三宅 優生)

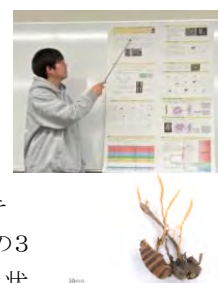
ハチミツは、貴重な天然の甘味料として広く利用されている。その種類は、大きく百花蜜と単花蜜に分けられる。百花蜜は、複数の種類の花の蜜を集めて作られるのに対し、単花蜜は1種類の蜜源植物から採取されたものである。単花蜜の中でも、ニュージーランド産のマヌカハニーやキルギス産のホワイトハニーは特に高価格で流通している。これらのハチミツは、特定の地域に自生する植物から採取されるため、生産量が限られており、希少価値が高い。そのため、種類や品質に関する偽装や混入の問題が懸念されている。は特に高価格で流通している。

本研究では、ハチミツの品質を正確に評価するため、DNA 検査法の一つである LAMP 法 (Loop-mediated Isothermal Amplification) を用いた検査法を開発した。これら2種類の葉緑体 DNA である *rbcL* 遺伝子を標的とした LAMP プライマーセットを設計し、リアルタイム濁度測定装置を用いて偽装の判別を行った。その結果、種特異的な LAMP プライマーセットを用いることで、60 分以内に陽性・陰性の判定が可能であることが確認された。以上の結果から、LAMP 法はハチミツの品質評価に有効であり、今後の偽装防止や品質管理に貢献できると考えられる。



### ズメバチ科寄生性ハチタケの子実体形態観察と分子系統解析(若林 優汰)

冬虫夏草は、昆虫を栄養源として発図 2、画像図 1、画像芽・成長する寄生性の真菌であり、真菌界のノムシタケ科 (*Cordycipitaceae*) やオフィオコルジケプス科 (*Ophiocordycipitaceae*)、バツカクキン科 (*Clavicipitaceae*) に属する。この3科は宿主の種類や結実部の色・形状に基づき主要 4 属に分類される。ハチ目に寄生する冬虫夏草は *Ophiocordyceps* 属に属し、一般にハチタケと総称される。国内においては、少なくとも *Ophiocordyceps*



sphecocephala および *Ophiocordyceps elongatistromata* の 2 種のハチタケがカリバチ類を宿主とする例が確認されている。しかし、両種の系統分類や宿主選択性については不明である。

本研究では、近畿地域におけるスズメバチ亜科を宿主とするハチタケの発生地を調査した。その結果、ハチタケの発生地は、沢や川などの水辺に近く湿度が高いこと、また斜面で木陰が多いことなどの共通性が認められた。さらに、子実体の形態観察を行うため、ホルマリン固定後にパラフィン包埋処理を施し、ミクロトームにより作製した組織切片を染色し、顕微鏡で観察を行った。その結果、*O. sphecocephala* と *O. elongatistromata* の子実体形態に明確な差異が認められた。また、採集したハチタケ 30 個体について DNA を抽出し、真菌のバーコーディング領域である ITS 領域の約 600bp の配列を解読した。その結果、今回確認できたハチタケは 4 種であり、宿主選択性については確認できなかった。

### ニホンミツバチのサイエンティフィックイラストの制作(西藍香)

サイエンティフィックイラストレーション (Scientific Illustration) とは、科学的知識を記録、表現、伝達するための図のことである。生物やそれに関連するイラストのうち、教科書、図鑑、専門書、博物館等の展示に使用される図がこれにあたる。これらのイラストは、科学的データや観察に基づき、細部まで正確に描写されていることが特徴であり、過度なデフォルメや誇張を避け、研究や教育の目的に適した表現で作成されると定義されている。日本においては、明治以降の博物学・分類学の発展とともに、サイエンティフィックイラストが制作されるようになった。国内のミツバチを題材としたサイエンティフィックイラストを調査したところ、欧米で制作されたセイヨウミツバチをモデルに描かれたものがほとんどであることがわかった。

明治以前においては、鎌倉初期に作成された「古事談」や、江戸時代から明治初期にかけて制作されたニホンミツバチのイラストが存在していたが、これらは挿絵的な表現で描かれていた。さらに、日本画の伝統的な材料や技法を用いた彩色画や水墨画であったため、自然科学の視点から利用することが難しいこともわかった。そこで、平成以降に国内で生物教育向けに制作されたミツバチのサイエンティフィックイラストを調査したところ、すべてセイヨウミツバチが題材となっていた。このような背景を踏まえ、本研究では、セイヨウミツバチとニホンミツバチの生物学的相

違点に着目し、ニホンミツバチを題材とした生物教育向けのイラストを制作した。

### 3. Research projects and annual reports

#### *The cadastral survey of honey plant resources in the Altyn Solok Nature Reserve in the Urals, Russia.*

*The cadastral survey of honey plant resources entails a thorough assessment of nectar plant flora, covering quantitative, qualitative, and territorial aspects, alongside economic evaluation. Our research aimed to conduct such a survey within the Altyn Solok Nature Reserve. Modern beekeeping prioritizes exploring nectar-bearing potential and species diversity among wild growing woody, shrubby, and herbaceous nectar-bearing plants in protected conservation areas with minimal human intervention. These natural biocenoses contrast sharply with modern agrocenoses, optimized for crop productivity but often lacking the diversity of nectar bearing plants crucial for sustainable bee colony development and survival. Investigating nectar bearing flora in stable feral biocenoses can guide the creation of an agricultural environment tailored for optimized honey bee breeding. In the Altyn Solok Nature Reserve, the linden tree (*Tilia cordata*) stands out as the dominant nectar plant, contributing to 91% of all nectar production. The Nature Reserve hosts a diverse array of nectar plants, including 18 tree species, 23 bush species, and 210 herb species. Determining the optimal number of honey bee (*A. m. mellifera*) colonies in the region revealed that managing approximately 8,109 colonies (increasing tenfold from the current 800 colonies) would maximize beekeeping efficiency while preserving the reserve's ecological integrity. This calculation considers available nectar plant resources and aims to ensure sustainable beekeeping practices. Only 30% of the maximum possible nectar-producing potential of honey plants is used to calculate the number of bee colonies. The remaining 70% of the nectar is inaccessible to bees since it is consumed by insects of other species living in parts of the reserve inaccessible to bees.*

### 4. 論文、著書など

1. Ilyasov RA, Khisamov RR, Farkhutdinov RG, Ilyasova AW, Khisamova RR, Sattarov VN, Takahashi J, Kwon HW, Danilenko VN, Boguslavsky DV (2024) The cadastral survey of



- honey plant resources in the Altyn Solok Nature Reserve in the Urals, Russia. Journal of Apicultural Research. doi:10.1080/00218839.2024.2402611
- Inokuchi F, Inoue MN, Kanbe Y, Ito M, Takahashi J, Nomura T, Goka K, Tsuchida K (2024) Polyandry may mitigate the negative impact of reproductive interference among bumblebees in Japan. The Science of Nature. 111:31. doi:10.1007/s00114-024-01917-5
  - Taylor BA, Tembrock LR, Sankovitz M, Wilson TM, Looney C, Takahashi J, Gilligan TM, Smith-Pardo AH, Harpur BA (2024) Population genomics of the invasive Northern Giant Hornet *Vespa mandarinia* in North America and across its native range. 14:10803. doi:10.1038/s41598-024-61534-0
  - Abe J, Takahashi J, Tsuchida K. High Microsatellite but No Mitochondrial DNA Variation in an Invasive Japanese Mainland Population of the Parasitoid Wasp *Melittobia sosui*. Ecology and Evolution. inpress.
  - Takahashi J, Ohba S. Development of a visual loop-mediated isothermal amplification method to detect environmental DNA of the giant water bug *Kirkaldyia deyrolli* in the field. Conservation genetic resources. inpress.
  - 木村隼大・小田陸斗・清拓哉・高橋純一 (2024) 口永良部島で捕獲されたオオスズメバチのミトコンドリアDNA解析にもとづく起源推定. Nature of Kagoshima. 31:125-128.
  - 木村隼大・清拓哉・伊地知告・坂巻祥孝・山根正気・高橋純一 (2024) 喜界島において2023年に採集されたコガタスズメバチ成熟巣の解析. Nature of Kagoshima. 50: 147-153.
  - 高橋純一・近野真央 (2024) ニホンミツバチの発酵したハチミツに含まれる酵母のDNA解析. DNA多型. 32: 22-25.
  - 高橋純一 (2024) 屋久島におけるニホンミツバチの分布調査. Nature of Kagoshima 50: 205-208.
  - 高橋純一 (2024) 鹿児島県・口永良部島からのオオスズメバチの初分布記録. 昆虫(ニューシリーズ). 27(1): 36-38.
  - 高橋純一 (2024) 偽ハチミツを探せーハチミツ分析の最先端ー. vesta. 134: 46-47.

#### 学会発表など

- 高橋純一. スズメバチ類の侵入事例と環境への影響ーツマアカスズメバチを例にー. 第36回日本環境動物昆虫学会次大会シンポジウム講演. 2024年10月16-17日. 吹田市.
- 高橋純一・中迫樹生(B4)・清拓哉・大庭伸也. Field-LAMP法を用いたタガメの環境DNAの検出. DNA多型学会第33回学術集会. 2024年11月16-17日. 横浜市.

- 小倉千幸(B4)・砂畑ひめゆり(B3)・松尾裕弥(B4)・奥山永・清拓哉・高橋純一. 離島に生息するニホンミツバチのミトコンドリアDNAの遺伝的多様性と固有性. DNA多型学会第33回学術集会. 2024年11月16-17日. 横浜市.
- 三宅優生(B4)・高橋純一. LAMP法による単花ハチミツの品質評価法の開発. DNA多型学会第33回学術集会. 2024年11月16-17日. 横浜.
- 若林優汰(B4)・嶋崎拓・高橋純一. スズメバチ科寄生性ハチタケの子実体形態観察と分子系統解析. 関西昆虫研究会. 2024年12月7日. 大阪市.
- 坪田未有(B3)・高橋純一. アマミノクロウサギの保全を目的とした各種遺伝マーカーの開発. 第6回動物園水族館学会. 2025年2月23-24日. 名古屋.
- 吉尾実莉(B3)・藤本恵里菜(B4)・高橋純一. ノサップマルハナバチのオスに見られる形態異常析. 第69回日本応用動物昆虫学会. 2025年3月20-22日. 千葉市.
- 小倉千幸(B4)・高橋純一. ニホンミツバチの働きバチの体サイズはスズメバチに影響を受けるのか. 第69回日本応用動物昆虫学会. 2025年3月20-22日. 千葉市.
- 高橋純一. 「SDGs未来都市」みなべ梅ラーニングコモンズ. オンライン講義. ミツバチと生物多様性. 2025年3月18日. みなべ町.

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

高橋純一 科研費・基盤研究(C)代表

高橋純一 科研費・基盤研究(B)分担

高橋純一 屋久島環境文化財団・屋久島生物多様性保全研究活動奨励事業

##### 2) 学外活動

1. 高橋純一 みなべ・田辺地域世界農業遺産推進協議会専門委員

2. 高橋純一 近畿有害生物研究会:顧問



2024 年度卒業式

# 動物発生学研究室

Laboratory of Embryology

教授 武田洋幸

Prof. Hiroyuki Takeda, Ph. D.



## 1. 研究概要

動物発生学研究室では、小型魚類(ゼブラフィッシュ *Danio rerio* と メダカ *Oryzias latipes*)を用いて脊椎動物の初期発生過程における体軸形成および器官形成の機構を研究している。小型魚類は多数の突然変異体が存在し、遺伝子導入や胚操作が容易であるなど、発生遺伝学、実験発生学に適したモデル脊椎動物である。我々はゼブラフィッシュ胚、メダカ胚を用いて、初期発生過程で重要な働きを持つ遺伝子群の機構解析を進めている。現在注目している現象は、左右軸形成、体節の分化、耳石の形成などである。並行して、我々は、メダカゲノムプロジェクトおよびエピゲノム解析(発生と環境応答)を他の研究室と共同で推進している。

2023 年 4 月に着任し、池田貴史研究員とともに、以下の 3 つの新規研究を開始した。

- ・シグナル分子の細胞外動態に注目した左右軸形成機構の解明
- ・*ha* 変異体を用いた耳石形成機構の解明
- ・体節由来細胞種の進化的多様性の解明

## 2. 本年度の研究成果

令和6年度は、Dand5 の細胞外分布制御に関わる細胞外基質であるヘパラン硫酸を時期領域特異的に分解するシステムの立ち上げを行った。熱ショックプロモーター下流で膜係留型ヘパラン硫酸分解酵素 tethered-HepIII を発現する遺伝子組換え系統を作製し、熱ショックの条件検討を進めた。このほか、Dand5 とヘパラン硫酸の相互作用に関わるモチーフ配列も同定した。

## 3. Research projects and annual reports

We have been studying the mechanisms of body axis formation and organogenesis using small fish, zebrafish (*Danio rerio*) and medaka (*Oryzias latipes*). Small fish are model vertebrates suitable for developmental genetics and experimental embryology because of the large number of mutants, and the ease of genetic and embryonic manipulation. Currently, we are focusing on left-right axis formation, somite differentiation, and otolith formation. We are also

collaborating on the Medaka Genome Project to study the genome evolution of vertebrates, and on the epigenetic changes during development and in response to environmental stimuli.

I was appointed in April 2023 and began the following new research projects.

- ・Left-right asymmetry formation by secreted signaling proteins
- ・Mechanism of otolith formation using *ha* mutants
- ・Evolutionary diversity of somite-derived cell types

The results of the above new projects have not yet been obtained. Instead, we have published the following results of our previous genomics and epigenomics-related studies in medaka fish.

- ・A Complete picture of the dynamics of histone modifications during epigenetic reprogramming in medaka embryos
- ・Identifying candidate epigenetic memories for nutritional stimuli
- ・Establishment of an experimental system to study the effects of maternal nutritional environment on the next generation

## 4. 論文, 著書など

(\*: corresponding authors)

Fukushima HS\*, Ikeda T, Ikeda S, Takeda H\*. Cell cycle length governs heterochromatin reprogramming during early development in non-mammalian vertebrates. EMBO Rep. 2024 Aug;25(8):3300-3323. doi: 10.1038/s44319-024-00188-5.

Kametani H, Tong Y, Shimada A, Takeda H\*, Sushida\* T, Akiyama M\*, Kawanishi T\*. Twisted cell flow facilitates three-dimensional somite morphogenesis in zebrafish. Cells Dev. 2024 Dec;180:203969. doi: 10.1016/j.cdev.2024.203969.

Kei Nagura#, Takafumi Ikeda#, Takashi Hasebe, Yumeko Satou-Kobayashi, Sumio Udagawa, Shuji Shigenobu, Atsuko Ishizuya-Oka, Masanori Taira. Histological and gene-expression analyses of pyloric sphincter formation during stomach metamorphosis in *Xenopus laevis*. *Developmental biology*. 2025 Jan;517:100-116. (#: equal contribution)

#### 総説

井上雄介、武田洋幸、馬谷千恵. 母親の高脂肪食がメダカ卵に与える影響. 理科通信\_サイエンスネット\_第 81 号, 6 -9, 2024

Kawanishi T\*, Takeda H\*. Dorsoventral patterning beyond the gastrulation stage: Interpretation of early dorsoventral cues and modular development mediated by *zic1/zic4*. *Cells Dev*. 2025 Feb 24;204012. doi: 10.1016/j.cdev.2025.204012.

#### 5. 学会発表など

池田貴史. 魚類における頭部鱗の発生と進化—さかなの頭の鱗は進化的新規形質か? 館山湾岸研究所セミナー. 口頭発表. 2025 年 3 月、館山.

Hiroyuki Takeda. Towards understanding the epigenetic regulation of vertebrate early development – fish as a model. Asian Conference on Fish Models for Diseases, 17 - 20 February, 2025. Bangkok, Thailand. Invited talk.

池田貴史. 左右軸形成を駆動する分泌性リガンドと非基底膜 ECM の協働ダイナミクス. マルチモダル ECM 若手の会 2025. 口頭発表. 2025 年 1 月、大阪. 優秀発表賞(ポストドク部門)・ディスカッション特別賞.

Takafumi Ikeda. Left-right asymmetry formation by secreted ligands from the left-right organizer in zebrafish embryo. Kyoto University International Symposium, 2024. 口頭発表. 2024 年 12 月、京都.

池田貴史. 左右軸形成におけるシグナル分子のはたらしを「見て」理解する. 関西おさかな勉強会. 口頭発表. 2024 年 11 月、京都.

福嶋悠人, 武田洋幸. 魚類初期胚の Zygotic genome activation における活性型ヒストン修飾の機能解析、第 47 回日本分子生物学会年会 2024 年 11 月 27 日、福岡.

Hiroyuki Takeda. Interpretation of the organizer-mediated BMP gradient in late development - Insights from the spontaneous medaka mutant, Da. Spemann-Mangold Centennial Symposium, 16 - 19 September 2024, Freiburg, Germany. Invited talk.

Takafumi Ikeda, Toru Kawanishi, Hiroyuki Takeda. Extracellular behavior of Nodal and Dand5 proteins secreted from the left-right organizer during left-right pattern formation. Spemann-Mangold Centennial Symposium, 16 - 19 September 2024, Freiburg, Germany. Poster.

Takafumi Ikeda, Toru Kawanishi, Hiroyuki Takeda. Extracellular interplay of Nodal and Dand5 proteins secreted from the left-right organizer during left-right asymmetry formation. 18th International Zebrafish Conference. 17 – 21 August, 2024, Kyoto. Poster.

哺乳類以外の脊椎動物の初期発生における、細胞周期長調節に依存したヒストン修飾のリプログラミング制御機構、福嶋悠人, 池田貴史, 池田森羅, 武田洋幸. 日本動物学会 第 95 回長崎大会 2024 年 9 月 13 日、口頭発表

Takafumi Ikeda, Toru Kawanishi, Hiroyuki Takeda. Visualization and manipulation of Nodal and Dand5 proteins secreted from the left-right organizer in zebrafish embryo. The 57th Annual Meeting of JSDB. ポスター発表. 2024 年 6 月、京都.

福嶋悠人, 池田貴史, 池田森羅, 武田洋幸. 哺乳類以外の脊椎動物の初期発生において細胞周期調節機構がヒストン修飾のリプログラミングを制御する、第 17 回日本エピジェネティクス研究会年会 2024 年 6 月 13 日、大阪. ポスター.

Hiroto Fukushima, Takafumi Ikeda, Shinra Ikeda, Hiroyuki Takeda. Cell cycle length regulates both erasure and re-establishment of heterochromatin during

early development in non-mammalian vertebrates. Cold Spring Harbor Asia meeting for Chromatin, Epigenetics & Transcription, May 13 -17, 2024, Suzhou, China. Poster (Poster Awards)

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

・科研費・基盤研究B

研究課題：魚類脂肪組織を対象とした栄養適応の発生生物学的解析

研究代表者：武田洋幸 取得年度：2023-2025(3年)

・学術変革領域研究(A)(公募研究)

研究課題：左右軸形成における分泌性リガンドと非基底膜 ECM の協働ダイナミクス

研究代表者：武田洋幸 取得年度：2024-2025(2年)

##### 2) 知財権等 なし

##### 3) 学外活動

武田洋幸：日本発生生物学会理事

武田洋幸：AMED-CREST「早期ライフステージにおける分子生命現象の解明」研究開発副総括(PO)

武田洋幸：JST-ERATO パネルオフィサー(PO)

##### 4) 受賞等

なし

##### 5) その他 なし

2024年度研究室メンバー 2024年10月



卒業記念 2025年3月



## 薬理学研究室

Laboratory of Pharmacology

准教授 棚橋靖行

Assoc. Prof. Yasuyuki Tanahashi, D.V.M., Ph.D.



### 1. 研究概要

当研究室では、主に以下のテーマについて研究を行っている。

(1) 平滑筋収縮調節メカニズムおよび平滑筋機能疾患の病態解明

平滑筋組織は、末梢臓器および脈管系の管壁を構成しており、血圧の調節、胃腸管および泌尿・生殖器の運動、気道抵抗の調節といった様々な生理機能を担っている。平滑筋の収縮は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) が増加することにより起こり、様々な神経伝達物質やホルモンによって緻密に制御されている。これら内因性情報伝達物質は、まず、平滑筋細胞に発現する受容体と呼ばれる蛋白質と結合し、それぞれの受容体に固有の情報伝達機構を作動させる。これにより、細胞に発現する  $\text{Ca}^{2+}$  透過性イオンチャネルの活性が変化する結果、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  が変化し、最終的に筋の収縮活性が変化する (Figure 1)。平滑筋組織の形態および機能的変化は、構成する臓器の機能異常につながり、高血圧、喘息、過敏性腸症候群などの疾患につながると考えられる。当研究室では、未解明な点が多く残されている、①平滑筋収縮調節メカニズム、および、②平滑筋組織の異常を伴う疾患の病態について、それぞれ研究を行っている。

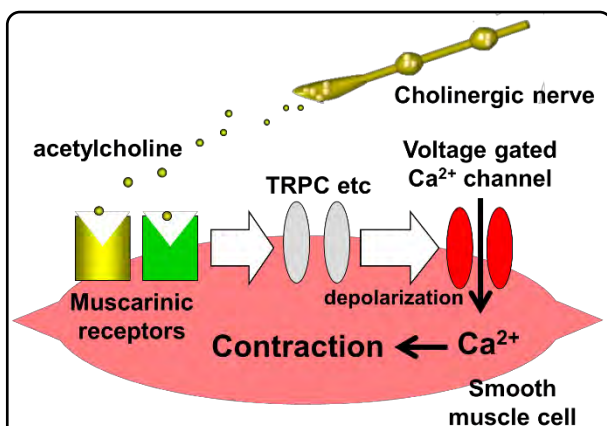


Figure 1. Regulation of smooth muscle contractility by cholinergic nerves

平滑筋収縮調節機構の一例としてコリン作動性神経による腸管平滑筋収縮調節機構の概略を示す。同神経から放出されたアセチルコリンにより、TRPC チャネルをはじめとする様々なイオンチャネルの活性が変化し、細胞が脱分極する。その結果、電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルを介して細胞内に  $\text{Ca}^{2+}$  が流入し、筋は収縮する。

(2)  $\text{Ca}^{2+}$  透過性イオンチャネルの生理学的・病態生理学的役割

細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  は平常時、100 nM 以下という非常に低い濃度に保たれている。細胞に様々な刺激が加わると、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  が増加し、その結果、細胞の収縮、増殖、遊走、細胞死、神経伝達物質の放出など様々な細胞応答が惹起される。このように細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  は生理機能および病態に深く関与していることが知られている。この  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の増加は、 $\text{Ca}^{2+}$  ストアから細胞質への  $\text{Ca}^{2+}$  放出と各種  $\text{Ca}^{2+}$  透過性イオンチャネルを介した細胞外からの  $\text{Ca}^{2+}$  動員によってもたらされる。本研究課題は、TRP チャネル、Piezo チャネル、Orai チャネルなどの各種  $\text{Ca}^{2+}$  透過性イオンチャネルの薬理学的性質、生理学的・病態生理学的役割を明らかにするものである。

### 2. 本年度の研究成果

消化管平滑筋の収縮は、腸内容物による組織の伸展によって変化することが知られている。この伸展刺激による調節は、機械刺激感受性イオンチャネルによって仲介されることが示唆されている。機械刺激感受性イオンチャネルは、内在性神経のみならず平滑筋細胞にも発現が知られている。しかしながら、その分子実体は特定されておらず、腸管運動調節における役割については不明である。本研究の目的は、機械刺激感受性陽イオンチャネル Piezo1 が腸管運動の調節にどのように関与しているのかを明らかにすることである。昨年度の研究において、ICC に発現する Piezo1 チャネルが小腸平滑筋の収縮を促進的に調節することが示唆された。本年度は、この平滑筋収縮調節機構における Piezo1 チャネルより下流のシグナル伝達メカニズムについて検討した。その結果、ICC に発現する Piezo1 チャネルによる小腸平滑筋収縮調節機構は、「①Piezo1 チャネルの開口に伴う ICC 細胞内への  $\text{Ca}^{2+}$  流入。②細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇による  $\text{Ca}^{2+}$  活性化  $\text{Cl}^-$  チャネル (Ano1) の開口。③ICC 細胞膜の脱分極。④ギャップ結合を介した平滑筋細胞への脱分極の伝播。⑤電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルの開口に伴う平滑筋細胞内への  $\text{Ca}^{2+}$  流入。⑥平滑筋細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇による筋の収縮。」という一連のメカニズムによって作動することが示唆された。

### 3. Research projects and annual reports

#### (1) Mechanisms of gastrointestinal motility

Smooth muscle, which is located in the walls of the visceral organs, plays an important role in several processes in the body including blood vessel tone, gastrointestinal and genitourinary tract motility, and airway resistance. Smooth muscle contractility is regulated by intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ , which is affected by various neurotransmitters and hormones that act on its receptors, leading to change in activities of ion channels (Figure 1). Structural and functional changes in the smooth muscle can lead to disorders such as hypertension, asthma, and irritable bowel syndrome. Our laboratory focuses on understanding 1) the mechanisms that regulate smooth muscle contractility, and 2) pathophysiology of diseases associated with smooth muscle abnormality.

#### (2) Physiological and pathophysiological roles of $\text{Ca}^{2+}$ -permeable ion channels

Under normal conditions, intracellular concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) is kept very low (less than 100 nM). When cells are stimulated, the  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  is increased, resulting in various cellular responses such as contraction, proliferation, migration, cell death and release of neurotransmitters etc.. The increase in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  is induced by the  $\text{Ca}^{2+}$  release from internal  $\text{Ca}^{2+}$  stores and  $\text{Ca}^{2+}$  entry into the cell through  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable ion channels including TRP channels, piezo channels and Orai channels etc.. The aim of this study is to characterize the channels and to elucidate physiological and pathophysiological roles of them.

#### Annual Reports:

The contractility of smooth muscle changes in response to mechanical stretch caused by luminal contents in the gastrointestinal tract, mediated by mechanosensitive ion channels. Mechanosensitive ion channels are expressed on smooth muscles and intrinsic neurons in the gastrointestinal tracts. However, the molecular identity of these channels and their physiological roles in regulating gastrointestinal motility remain unclear. This study aimed to elucidate the roles of Piezo1 channels, which have been identified as a new class of mechanosensitive nonselective cationic channels, in the regulation of gastrointestinal motility. Our previous

studies demonstrated that activation of Piezo1 channels expressed in the interstitial cells of Cajal (ICCs) can potentiate ileal smooth muscle contraction. This year, we specifically investigated the signal transduction mechanisms downstream of Piezo1 channel activation involved in this excitatory modulation.

### 4. 論文, 著書など

Tanahashi Y, Kitazawa T, Unno T: Muscarinic Regulation of Gastrointestinal Motility. In: Myslivecek, J., Jakubik, J. (eds) Muscarinic Receptor From Structure to Animal Models. Neuromethods, vol 211. Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4015-9\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4015-9_15)

### 5. 学会発表など

中尾真琴, 服部萌菜, 熊野明良, 海野年弘, 棚橋靖行: カハール間質細胞に発現する機械刺激感受性陽イオンチャネル Piezo1 を介した小腸平滑筋収縮調節機構. 日本平滑筋学会若手の会 研究発表会, 岐阜市, 2025.2.15

中尾真琴, 服部萌菜, 熊野明良, 海野年弘, 棚橋靖行: カハール間質細胞の機械刺激感受性陽イオンチャネル Piezo1 を介した小腸平滑筋収縮調節. 第167回日本獣医学会学術集会 日本薬理学・毒性学会, 帯広市, 2024.9.12-9.13

中尾真琴, 藤川咲, 齊藤玲香, 岡田航一, 海野年弘, 棚橋靖行: マウス結腸輪走筋における機械刺激感受性陽イオンチャネル Piezo1 による収縮調節機構, 第66回日本平滑筋学会総会, 東京都, 2024.8.2-8.3

### 6. その他特記事項

#### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究(C)

課題名: 平滑筋-カハール-PDGFR  $\alpha$  +細胞複合体の機械刺激感受性チャネル Piezo1 による腸管運動調節

研究代表者: 棚橋靖行, 取得年度: R5-7 年度 (3 年)

科学研究費補助金・基盤研究(B)・分担金

課題名: 過活動膀胱の病態発現に関わるリモデリング機構の解明と新規治療薬標的の探索

研究代表者: 海野年弘, 取得年度: R5-8 年度 (4 年)

#### 2) 学外活動

i. 棚橋靖行: 日本獣医学会評議員

ii. 棚橋靖行: 日本薬理学会学術評議員

iii. 棚橋靖行: 薬理学エデュケーター(公益社団法人日本薬理学会認定)

3) 受賞等

該当なし

4) その他

i. 担当講義科目:

- ① 共通教育科目: 病気とくすり入門
- ② 学部: 先端生命科学演習1, フレッシュヤーズセミナー, 薬理学・毒性学, 解剖生理学実習, 実験動物学実習, 先端生命科学特別研究1, 先端生命科学特別研究2
- ③ 大学院: 器官形成・機能病態学特論, 生命科学演習Ⅰ－1・2, 生命科学演習Ⅱ－1・2, 生命科学コロキウム1, 生命科学コロキウム2, 生命科学コロキウム3, 生命科学特別研究Ⅰ－1・2, 生命科学特別研究Ⅱ－1・2

ii. 学部広報委員リーダー

iii. 生命科学部学生広報スタッフ アドバイザー

iv. 京都産業大学オープンキャンパスにて生命科学部見学ツアー担当 (2024.6.9, 7.21, 8.4, 2025.3.29)。



研究室メンバー

# タンパク質バイオジェネシス研究室

Laboratory of Protein Biogenesis

教授 千葉 志信

Prof. Shinobu Chiba, Ph.D.



## 1. 研究概要

生命活動は主にタンパク質が触媒する生化学的反応の集合体と見なすことができるが、タンパク質をはじめとする生体分子やエネルギー源を人為的に混ぜただけでは生命は誕生しない。細胞内では、これらの因子の個々の働きが高次に連携することでひとつの生命体として組織化されている。このような生体分子の組織化を支える要素のひとつが、生体分子の合成と配置の時空間制御である。

当研究室では、タンパク質の合成と成熟、さらには、その空間配置(局在化)の分子機構を明らかにすることを目指し研究を進めている。生命活動の実働部隊であるタンパク質が合成され機能を獲得するこの過程は、情報が生命へと変換される最初の重要なプロセスであり、このメカニズムを理解することは、遺伝情報が生命活動へと変換される機構を理解することに繋がる。加えて、我々は、合成の途上で生理機能を発揮するユニークなタンパク質を見出した。例えば、枯草菌 MifM は、翻訳の途上で自身を合成するリボソームに働きかけ、自らの翻訳伸長を一時停止(アレスト)する性質を持つ。この性質を利用し、タンパク質膜組込装置である YidC の活性をモニターし、その合成量をリアルタイムに調整する役割を担っている。伊藤維昭元京産大教授らが見出した大腸菌 SecM も、翻訳の途上で機能を発揮する因子のひとつである。それらの「働く翻訳途上鎖」の発見は、遺伝子の機能発現についての我々の理解を拡張するものであり、我々は、「翻訳途上鎖が主役を演じる生命現象」にも着目している。その研究を通じて、「翻訳途上鎖の分子生物学」という新たな学術分野の創成と発展に貢献したい。また、最近、翻訳の品質管理に関する新たな研究プロジェクトも始動し、成果が得られつつある。

## 2. 本年度の研究成果

### (1) 新規翻訳アレスト因子の同定と解析

翻訳アレスト因子は、翻訳途上鎖の状態では生理機能を発揮する。近年、当研究室では、3 万種以上のバクテリアゲノムを対象にアレスト因子の網羅的探索を行い、新規アレスト因子をコードする可能性のある遺伝子を 20 種近く同定した。この網羅的な探索から、多くのアレストモチーフに共通の配列(RAPP や RGPP といった RAPP 様アミノ酸配列)が見出された。そこで、今度は、RAPP 様配列を含むタンパク質をモチーフ検索することで、新たなアレスト因子の同定を試みた。この探索からも、すでに 10 種以上の新規

アレスト因子を同定した。既知のアレスト因子の多くがタンパク質局在化装置関連遺伝子の上流にコードされていたが、興味深いことに、モチーフサーチから同定された新規アレスト因子は、下流遺伝子の機能がタンパク質局在化経路に限定されておらず、このことから、新規アレスト因子の生理機能も多岐にわたることが示唆された。

### (2) 翻訳品質管理因子 YlmH の同定と機能解析

翻訳の異常によって起こるリボソームの mRNA 上での停滞は、リボソームのリサイクリングを損なうことで翻訳の活性を低下させる。一方、細胞は、mRNA 上で停滞したリボソームを解放する機構(リボソーム品質管理機構:RQC)を介して問題を回避する。我々は、遺伝学的スクリーニング(TnSeq)や情報生物学的なアプローチから、枯草菌の新規翻訳品質管理因子 YlmH を同定した。YlmH と他の翻訳品質管理機構の同時破壊は合成生育阻害を引き起こした。また、翻訳阻害剤存在下で、YlmH は、リボソームの 50S サブユニットと相互作用することも、生化学的に示された。Hauryliuk 研(スウェーデン)、Wilson 研(ドイツ)との国際共同研究による構造解析からも、YlmH が、RQC 経路で機能する RqcH とともに、50S サブユニットに結合することが示された。また、Buskirk 研(米国)の開発したレポーターアッセイからも、YlmH が、RQC 因子のひとつであり YlmH ホモログの RqcP の機能を代替しうることが示された。

### (3) ABCF ファミリータンパク質による翻訳促進機構の解明

EF-P は、リボソームが合成を苦手とする配列(難翻訳配列)のひとつとして知られるプロリンの連続配列の合成を促進する trans-acting factor である。今回、我々は、ABCF ファミリーに属するタンパク質も、難翻訳配列の合成を促進する trans-acting factor として働くことを見出した。まず、我々は、*efp*(EF-P をコードする)と、ABCF ファミリータンパク質のひとつをコードする *yfmR* の二重欠失が、枯草菌において合成生育阻害を引き起こすことを見出した。また、その後の解析から、YfmR は、プロリンとアスパラギン酸が交互に連続する配列の合成を促進することが示された。また、同じく ABCF に属する YkpA が、酸性残基や塩基性残基の連続配列の合成を促進することも示された。以上の結果は、ABCF ファミリータンパク質が、EF-P と同様に、様々な難翻訳配列の翻訳を促進することを示唆している。

### 3. Research projects and annual reports

Since our discovery of *Bacillus subtilis* MifM, which monitors the activity of the YidC-mediated membrane insertion pathway, we have been interested in and studying this class of proteins called ‘regulatory nascent chains’, which function while they are still in the midst of the process of biosynthesis on the ribosome. A remarkable property of this class of gene products is that they interact cotranslationally with components of the ribosome including those comprising the polypeptide exit tunnel, and thereby arrest their own translation elongation. The arrested state of translation elongation affects translation of the downstream target gene either positively (in the case of MifM) or negatively. Importantly, these regulatory nascent chains serve as a co-translational substrate of the protein localization pathway to be monitored, such that the arrest can be stabilized or canceled in response to changes in the effectiveness of the localization machinery under given conditions of the cell. Thus, these nascent chains represent unique biological sensors that enable real-time feedback regulation of the target machinery. In the MifM regulatory system, its translation arrest is released when the nascent MifM chain, as a monitoring substrate of YidC (the regulatory target), engages in the YidC-mediated insertion into the membrane. The regulated elongation arrest of MifM enables cells to maintain the capacity of membrane protein biogenesis. As introduced above, our interests are also focused more generally on the mechanisms of protein localization and biogenesis, the biological processes where nascent substrates undergo dynamic interactions with the machineries of translation, targeting and translocation. We envision that our research activities should ultimately lead to the development of a new research area that might be called “nascent chain biology”, which aims at understanding the still hidden principle of the central dogma of gene expression, where nascent chains are likely to play key roles.

#### **This year’s accomplishments**

##### (1) Identification and Analysis of Novel Translation Arrest Peptides

Translation arrest peptides (APs) function cotranslationally as nascent polypeptide chains. Recently, we conducted a comprehensive search for APs across over 30,000 bacterial genomes and identified nearly 20 novel APs. This screening

revealed that many arrest motifs shared common sequences, such as RAPP or RGPP. Based on this finding, we further searched for proteins containing RAPP-like motifs to identify additional AP candidates and further identified more than 10 novel APs. Notably, whereas most previously known APs are encoded upstream of genes involved in protein localization, many of the newly identified APs were located upstream of a wide variety of genes unrelated to localization pathways, suggesting their broader range of biological functions.

##### (2) Identification and Functional Characterization of the Translation Quality Control Factor YlmH

Ribosome stalling on mRNAs due to aberrant translation can impair ribosome recycling and reduce overall translation capacity. To counteract this, cells utilize ribosome quality control (RQC) mechanisms that resolve stalled ribosomes. Using transposon sequencing (TnSeq) and bioinformatics-based approaches, we identified YlmH as a novel RQC factor in *Bacillus subtilis*. Simultaneous loss of YlmH and *trans*-translation, another translation quality control mechanism, caused synthetic growth defects. Biochemical and structural analyses in collaboration with the Hauryliuk lab (Sweden) and the Wilson lab (Germany) confirmed that YlmH binds to the 50S subunit in complex with RqcH, a known RQC component. Furthermore, a reporter assay developed by the Buskirk group (USA) showed that YlmH functions as an RQC factor and can substitute for the function of RqcP, a YlmH homolog.

##### (3) Translation Facilitation of Translation-impeding sequences by ABCF Family Proteins

EF-P is a well-characterized trans-acting factor that facilitates the translation of polyproline sequences, which are difficult for the ribosome to synthesize. In this study, we found that members of the ABCF protein family also promote the translation of translation-impeding sequences. Specifically, we found that the double deletion of *efp* (encoding EF-P) and *yfmR* (encoding an ABCF protein) results in synthetic growth defects in *Bacillus subtilis*. YfmR promoted the translation of sequences containing alternating proline and aspartic acid residues. In addition, another ABCF protein, YkpA, was found to enhance the translation of sequences composed of consecutive acidic or basic amino acids. These observations revealed the role of ABCF proteins in ensuring efficient translation.

#### 4. 論文, 著書など

##### 原著論文

Takada, H.#, Fujiwara, K., Atkinson, G. C., Chiba, S., Hauryliuk, V.#; Resolution of ribosomal stalling by EF-P and ABCF ATPases YfmR and YkpA/YbiT. (2024) **Nucleic Acids Res.** 52, 9854-9866. (# corresnpoinding 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.; A role for the S4-domain containing protein YlmH in ribosome-associated quality control in *Bacillus subtilis*. (2024) **Nucleic Acids Res.** 52, 8483-8499. (# corresnpoinding authors, \* contributed equally)

Fujiwara, K.#, Tsuji, N., Yoshida, M., Takada, H., Chiba, S.#; Patchy and widespread distribution of bacterial translation arrest peptides associated with the protein localization machinery. (2024) **Nat Commun.** 15, 2711. (# corresponding authors)

##### 5. 学会発表など

辻奈緒子、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「Hybrid-PURE system の構築とそれを利用した新規翻訳アレスト因子の同定」第 24 回日本蛋白質科学会年, 2024.6.10-13, 札幌コンベンションセンター

辻奈緒子、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「海洋性バクテリア *Alteromonas macreodii* の多様な翻訳アレスト因子の解析」第 20 回 21 世紀大腸菌研究会, 2024.6.17-18, 青島サンクマール(宮崎)

高田啓、藤原圭吾、Gemma C. Atkinson、千葉志信、Vasili Hauryliuk：「多様な ABCF 因子の機能に関して～抗生物質耐性付与から翻訳伸長制御まで～」第 20 回 21 世紀大腸菌研究会, 2024.6.17-18, 青島サンクマール(宮崎)

藤原圭吾、辻奈緒子、千葉志信：「翻訳アレストモチーフの細菌界横断的 in silico 解析」第 20 回 21 世紀大腸菌研究会, 2024.6.17-18, 青島サンクマール(宮崎)

小笠原優大、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「*Brevibacillus* 属由来のアレストペプチドの機能解析」第 20 回 21 世紀大腸菌研究会, 2024.6.17-18, 青島サンクマール(宮崎)

佐野桃加、藤原圭吾、千葉志信：「枯草菌アレスト因子 YwcI の機能解析」第 20 回 21 世紀大腸菌研究会, 2024.6.17-18, 青島サンクマール(宮崎)

小笠原優大、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「*Brevibacillus* 属由来のアレストペプチドの機能解析」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. 8. 1-2, ハートンホテル 京都

吉田真悠、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「クロストリジウム綱由来の新規アレスト因子 CliM の解明」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. 8. 1-2, ハートンホテル 京都

辻奈緒子、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「翻訳アレストによる多様な遺伝子の発現制御」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. 8. 1-2, ハートンホテル 京都

辻奈緒子、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「アルテロモナス属細菌における翻訳アレスト因子の解析」第 97 回日本細菌学会総会, 2024. 8. 7-9, 札幌コンベンションセンター

高田啓：「Mechanism analysis of multidrug-resistant factor, ARE-ABCF and 23S rRNA modification enzyme」第 97 回日本細菌学会総会, 2024. 8. 7-9, 札幌コンベンションセンター

吉田真悠、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「クロストリジウム綱から見つかった翻訳アレスト因子 CliM の解明」2024 年度グラム陽性菌ゲノム機能会議, 2024. 8. 23-24, 長野市若里市民文化ホール

小笠原優大、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「*Brevibacillus* 属由来のアレストペプチドの機能解析」2024 年度グラム陽性菌ゲノム機能会議, 2024. 8. 23-24, 長野市若里市民文化ホール

佐野桃加、藤原圭吾、千葉志信：「枯草菌翻訳アレスト因子 YwcI の機能解析」2024 年度グラム陽性菌ゲノム機能会議, 2024. 8. 23-24, 長野市若里市民文化ホール

Shinobu Chiba: 「Universal translation-impeding sequences drive evolution of arrest peptides in bacteria」International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics, 2024. 9. 2-5, The LUIGANS(福岡)

Keigo Fujiwara, Shinobu Chiba: 「Bacterial domain-wide bioinformatic analysis of RAPP/RGPP as the universal core motif for the translation arrest」International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics, 2024. 9. 2-5, The LUIGANS (福岡)

Naoko Tsuji, Shinobu Chiba: 「Diverse translation arrest peptides in the marine bacterium *Alteromonas macleodii*」International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics, 2024. 9. 2-5, The LUIGANS(福岡)

辻奈緒子、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「翻訳アレストを利用した遺伝子発現制御機構の解析」第 16 回ゲノム微生物若手の会研究会, 2024.9.23-24, ホテルシーパレスリゾート 愛知県豊橋市神野新田町ミノ割 1-3

千葉志信：「万能でない翻訳装置とそれが生み出す生理機能」京都産業大学 生命科学セミナー, 2024. 10. 16, 京都産業大学

辻奈緒子、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「バクテリアの翻訳アレストを利用した遺伝子発現制御」第二回細胞生物コロキウム, 2024. 10. 19, 京都産業大学

小笠原優大、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「Brevibacillus 属由来のアレストペプチドの機能解析」第 47 回日本分子生物学会年会, 2024. 11. 27-29, 福岡国際会議場

藤原圭吾、辻奈緒子、千葉志信：「細菌のアレストペプチドの網羅探索」第 47 回日本分子生物学会年会, 2024. 11. 27-29, 福岡国際会議場(招待講演)

吉田真悠、藤原圭吾、高田啓、千葉志信：「クロストリジウム綱由来の新規アレスト因子 CtiM の解明」第 47 回日本分子生物学会年会, 2024. 11. 27-29, 福岡国際会議場

佐野桃加、藤原圭吾、千葉志信：「枯草菌アレスト因子 YwcI の機能解析」第 47 回日本分子生物学会年会, 2024. 11. 27-29, 福岡国際会議場

高田啓：「微生物における翻訳品質管理機構の最前線」第 47 回日本分子生物学会年会, 2024. 11. 27-29, 福岡国際会議場(シンポジウムオーガナイザー)

Hiraku Takada, Caillan Crowe-McAuliffe, Helge Paternoga, Keigo Fujiwara, Esther N Park, Gemma C. Atkinson, Allen R Buskirk, Shinobu Chiba, Daniel N. Wilson, Vasili Hauryliuk: 「What we know about bacterial ribosome-associated quality control」Ribosome meeting Japan 2024, 2024. 12. 2-4, 東大医科学研究所(招待講演)

Keigo Fujiwara, Naoko, Tsuji, Karen Sakiyama, Shinobu Chiba: 「Universal Translation-impeding Sequences Drive Evolution of Bacterial Arrest Peptides」Ribosome meeting Japan 2024, 2024. 12. 2-4, 東大医科学研究所(招待講演)

Naoko Tsuji, Keigo Fujiwara, Hiraku Takada, Shinobu Chiba: 「Common translational arrest mechanism for diverse genes in *Alteromonas macleodii*」Ribosome meeting Japan 2024, 2024. 12. 2-4, 東大医科学研究所

高田啓：「翻訳制御機構の理解から探る応用微生物学」日本農芸化学会 2025 年度大会, 2025. 3. 3-8, 札幌コンベンションセンター

高田啓、藤原圭吾、杉本竜太、大島拓、千葉志信、Vasili Hauryliuk: 「枯草菌における新規翻訳制御因子の探索と機能解析」第 19 回日本ゲノム微生物学会年会, 2025.3. 17-19, かずさアカデミアホール

藤原圭吾、辻奈緒子、千葉志信：「翻訳を制御する新生鎖の網羅的探索」第 19 回日本ゲノム微生物学会年会, 2025.3. 17-19, かずさアカデミアホール

藤原圭吾、辻奈緒子、千葉志信：「海洋性細菌 *Alteromonas macleodii* 由来

新規翻訳アレスト因子による 環境センサー機能」第 19 回日本ゲノム微生物学会年会, 2025.3. 17-19, かずさアカデミアホール

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

科研費補助金・学術変革領域研究 (A) 計画研究

課題名: 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、取得年度: R2-R6 年 (5 年)

### 2) アウトリーチ活動

高大接続授業(京都産業大学附属高等学校)(2024/11/8)

### 3) 研究会主催

バイオフィォーラム&タンパク質動態研セミナー (Alexander Mankin 博士、Nora Vázquez-Laslop 博士), 2024. 9. 6, 京産大

バイオフィォーラム&タンパク質動態研セミナー (Patricia Clark 博士) 2024. 11. 7, 京産大



# タンパク質構造生物学研究室

Laboratory of Protein Structural Biology

教授 津下 英明

Prof. Hideaki Tsuge, Ph.D



## 1. 研究概要

タンパク質の構造は今や生命の基礎理解に必要不可欠なものとなりつつある。タンパク質複合体、特に感染因子と宿主であるヒトのタンパク質の相互作用を見たいと考えている。この基礎研究から将来的には感染症を予防や治療する新たな創薬の可能性が生まれる。現在以下の研究テーマを軸として研究を進めている。X線結晶構造解析とクライオ電子顕微鏡を主要な手段として用いる。

(1) 細菌タンパク質輸送装置の構造と機構の解明: ウェルシュ菌 *C. perfringens* が持つ二成分毒素はアクチンをADPリボシル化するIaとこれをエンドサイトーシスを経て細胞内へ輸送する装置Ibからなる。この数年、クライオ電子顕微鏡によりIbの構造と機能に焦点を当てた研究を進めてきた。Ib膜孔とIa-Ib膜孔複合体の構造を明らかにしている (*Nature Structural & Molecular Biology*, 2020)。これに引き続き、抗生物質耐性菌が問題となり、その強毒化が懸念されている、デフィシル菌の二成分毒素CDTのクライオ電子顕微鏡により明らかにして、論文として発表を行った (*Nature Communications*, 2022)。

(2) ADPリボシル化毒素とその標的分子複合体の構造生物学: 様々な病原微生物はADPリボシル化毒素(ADPRT)を分泌して、宿主のタンパク質を修飾し、宿主のシグナル伝達系に影響を与える。この反応特異性とその反応機構の詳細を明らかにすべく、様々なADPリボシル化毒素(酵素)とその基質複合体での結晶構造解析を進めている。

(3) オシロイバナ由来のリボソーム不活性化タンパク質(MAP)の構造機能解析: 様々な植物にはリボソーム不活性化タンパク質と呼ばれる毒素が存在している。よく知られた植物毒素リシンもRIPであるが、B鎖と呼ばれる細胞内に侵入に欠かせないレクチンドメインを持っている。一方オシロイバナや小麦にはB鎖を持たないRIPが存在しておりMAP, Tritinと呼ばれ単独では細胞内に入れない。RIPは一般に真核生物のリボソームのサルシンリシンループのアデニンを特異的に引き抜くことが知られている。しかし、MAPは他のRIPと異なり、大腸菌のリボソームの阻害もすることが知られている。研究の目的はMAPの構造を明らかにすること及び大腸菌のリボ

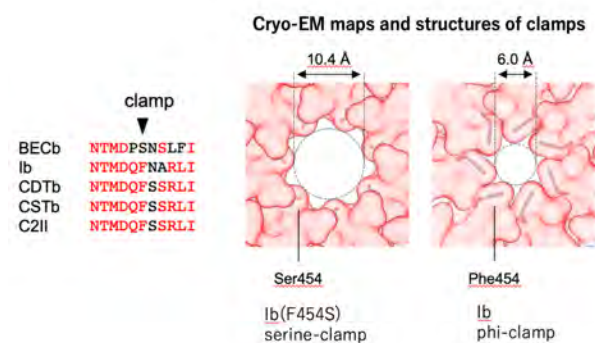
ソームの複合体の構造を明らかにして、まだ詳細にわかっていない、分子機構を明らかにすることにある。

(4) スクリミングガイはアルゼンチン原産のリングガイ科の大型巻貝で、通称、ジャンボタニシと呼ばれる。日本では食用を目的として、持ち込まれたが、野生化した外来種で、稲を食害することから、防除対象となっている。田んぼで赤い卵塊を目にするが、この卵には2成分毒素と赤色のアスタキサンチン結合タンパク質が含まれている。どちらも分子量が大きく、この立体構造をクライオ電子顕微鏡で明らかにしようとしている。

## 2. 本年度の研究成果

(1) 新規二成分毒素BEC (CPILE)の研究  
*C. perfringens*や抗生物質耐性菌の感染が問題となっているデフィシル菌が持つ2成分毒素(イオタ毒素及びCDT)はアクチンを特異的ADPリボシル化する毒素Ia、CDTaとこれを細胞内へ輸送する装置Ib、CDTbからなる。クライオ電子顕微鏡の複合体構造解析から、どちらもA成分がB成分の膜孔に結合することで、N末端の $\alpha$ ヘリックスがアンフォールディングすることを明らかにした。これらの二成分毒素のタンパク質膜透過の仕組みはまだよくわかっていない。これらのタンパク質膜透過システムをトキシン膜透過システムと名づけ、さらに研究を進めている。

近年日本で起きた食中毒で、ウェルシュ菌のエンテロトキシン(CPE)欠損株の関与が疑われ、新規の食中毒毒素が見出された。この毒素はBEC (CPILE)と命名された。BECはBECa, BECbの2つのコンポーネントからなる2成分毒素である。前述のイオタ毒素Ibやデフィシル菌毒素CDTbでは最狭窄部位はPheでできた $\phi$ クラ



ブでできており、これがタンパク質膜透過に最も重要であることはわかっている。一方、BECb のクランプ最狭部位は Ser で形成され (Ser クランプ)、狭窄部位の大きさも疎水・親水といった違いもあり、どのような影響をしているのか興味深い。異なる性質をもつ膜孔に焦点を当て、Ib (Ser クランプへの変異体) のクライオ電子顕微鏡構造、細胞毒性、病理、電気生理のデータをまとめて報告した (*Communications Biology*, 2025)。

(2) ADP リボシル化の特異性：我々は ADP リボシル化毒素 (酵素) とその基質タンパク質の複合体の丸ごとの構造解析を進めてきた。Ia-アクチン複合体、C3-RhoA 複合体、ScARP-グアニン複合体を明らかにしてきたが、このような研究は世界でもほとんどない。これらの研究により、ADP リボシル化はタンパク質のアミノ酸であれ、あるいは DNA の塩基であれ同じ基質認識機構で、ADP リボシル化するということを初めて明らかにした。これら ADP リボシル化毒素の研究から、その分子機構はわかってきたが、まだヒト PARP などの分子機構は不明な点が多く、若い研究者の参入が求められている。特に DNA の ADP リボシル化は DarT-DarG のトキシナンチトキシンの構造が Ivan Ahel 等により明らかになり注目をあびている。面白いことに、その塩基の認識は ScARP-グアニン複合体と同じであることがわかってきた (*Toxins (Basel)* 2024)。

### 3. Research projects and annual reports

We have been focusing our research on the structural biology of infectious diseases. Especially our target is macromolecular complexes, and we would like to reveal the interaction between the infectious factor protein and substrate protein. This basic research leads to finding a novel drug for infectious diseases.

#### This year's accomplishments

(1) The iota toxin produced by *Clostridium perfringens* type E, is a binary toxin comprising two independent polypeptides: Ia, an ADP-ribosyltransferase, and Ib, which is involved in binding to the cell and translocation of Ia across the cell membrane. We have reported the cryo-EM structures of the translocation channel Ib-pore and its complex with Ia (*Nat Struct & Mol Biol.*, 2020). Furthermore, we reported binary CDT (CDTa and CDTb) toxin complex from the most clinically important bacterium *Clostridioides difficile* (formerly

*Clostridium*) (*Nature communications*, 2022). These studies revealed the dynamic motion of N-terminal unfolding of A subunit for the translocation upon the binding into the B subunit pore.

Recently, outbreaks of food poisoning in Japan were reported in which *Clostridium perfringens* was strongly suspected to be the cause based on epidemiological information and fingerprinting of isolates. The isolated strains lack the typical *C. perfringens* enterotoxin (CPE) but secrete a new binary toxin consisting of two components (BEC (CPiLE)). We revealed the novel property of BEC by cryo-EM, electro-physiology, cell toxicity, and pathology.

(2) We are interested in the specificity of ADP-ribosyltransferase (ART). We have revealed the complex structures of Ia-actin, C3-RhoA, and ScARP-guanine for the last ten years. From these structures, we understood they all use the ARTT-loop in common. Furthermore, we consider this a common substrate recognition mechanism for all ARTs, all protein/amino acid-target and DNA/base-target ARTs. However, the specificity of human PARPs, which belong to a different group of ART, is still an open question. We summarized the review of ART and published as special issue, ADP-Ribosylation and Beyond (*Toxins (Basel)* 2024).

### 4. 論文著書など (2024.4~2025.3)

Toru Yoshida, Chie Monma, Yuki Ninomiya, Sotaro Takiguchi, Shoko Fujita, Yuto Uchida, Noriaki Sakoda, Vladimir A. Karginov Jun-ichi Kishikawa, Tomohito Yamada, Ryuji Kawano, and **Hideaki Tsuge** (2025)

Serine clamp of *Clostridium perfringens* binary toxin BECb (CPiLEb)-pore confers cytotoxicity and enterotoxicity

*Communications Biology*, In press (査読あり)

**Hideaki Tsuge H**, Noriyuki Habuka, Toru Yoshida (2024)

General ADP-Ribosylation Mechanism Based on the Structure of ADP-Ribosyltransferase-Substrate Complexes

*Toxins (Basel)*

16(7):313.(査読あり)

### 5. 学会発表など (2024.4~2025.3)

1) 西田菜七実, 羽深典之, 津下英明 “オシロイバナ由来の Mirabilis Antiviral Protein のリボソーム不活性化メカニズムの解明”  
蛋白質科学会 若手の会  
札幌, 2024. 6. 11-13

2) Kazuya Nishida, Tomohito Yamada, Hideaki Tsuge “Structure and Function of Egg Mass Proteins in the Apple Snail(Pomacea canaliculata)”  
蛋白質科学会  
札幌、2024.6.11-13

3) Noriaki Sakoda, Tomohito Yamada, Hideaki Tsuge “Preparation of *Clostridium perfringens* iota toxin using liposomes”  
蛋白質科学会  
札幌、2024.6.11-13

4) Yuki Mitani, Toru Yoshida, Tomohito Yamada, Hideaki Tsuge “Single-particle structure analysis and activity measurement of *C. perfringens* iota toxin Ib serine-clamp mutant”  
蛋白質科学会  
札幌、2024.6.11-13

5) Yuki Mitani, Sotaro Takiguchi, Ryuji Kawano, Hideaki Tsuge “Analysis of membrane translocation of *Clostridioides difficile* binary toxin using electrophysiological techniques”  
国際生物物理学会 (IUPAB)  
京都、2024.6.24-28

6) 三谷 優季, 滝口 創太郎, 川野 竜司, 津下 英明 “二成分毒素の膜透過機構の解明へ向けたナノボア計測”  
生物物理若手の会 夏の学校  
札幌、2024.8.26-29

7) 西田菜七実, 羽深典之, 津下英明 “オシロイバナ由来の *Mirabilis* Antiviral Protein (MAP) のリボソーム不活性化メカニズムの解明  
第70回トキシンシンポジウム  
滋賀、2024.8.30-31

8) Yuki Mitani, Toru Yoshida, Jun-ichi Kishikawa, Tomohito Yamada, Hideaki Tsuge “Cryo-EM Structure and Activity measurements of Serine clamp mutant of *C. Perfringens* iota toxin Ib Reveal that Serine clamp Confers Cytotoxicity”  
TARA セミナー 生理学研究会 クライオ電顕 2024  
筑波、2024.10.29

9) Yuki Mitani, Sotaro Takiguchi, Ryuji Kawano, Hideaki Tsuge “Nanopore Sensing to Reveal the Membrane Translocation Mechanism of a Binary Toxin”  
分子生物学会 2024, 11.27-29

10) 西田菜七実, 羽深典之, 津下英明 “Structural and functional analysis of antiviral protein derived from *Mirabilis jalapa*”  
分子生物学会 2024, 11.27-29

11) 西田菜七実, 羽深典之, 津下英明 “オシロイバナ由来リボソーム不活性化タンパク質の構造と機能”  
第478回ビタミンB協議会  
滋賀、2025.2.28

## 6. その他特記事項

### (1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究 (B) 24K01993

課題名：

リボソーム単粒子解析で迫るトキシン膜透過システムの理解

研究代表者：津下英明 取得年：2024~2026

科学研究費補助金・挑戦的研究 (萌芽) 23K18011

課題名：リボソーム不活性化タンパクとリボソームのクライオ

電子顕微鏡による丸ごと複合体解析

研究代表者：津下英明 取得年：2023~2025

科学研究費補助金・基盤研究 (C) 24K08704

課題名：セルロース高生産菌に見るエンカプスリンとカーゴタンパク質としての DyP の役割とは

研究代表者：菅野靖史 取得年：2024~2027

(2) 学外活動

Journal of Biological Chemistry, Editorial boards member

Toxins, Editorial boards

ビタミン B 研究委員会 委員

日本生化学会 評議員



神戸-小豆島フェリー 2024年8月



小豆島 2024年8月

# 発生細胞生物学研究室

Laboratory for Cell and Developmental Biology

教授 中村暢宏

Prof. Nobuhiro Nakamura, PhD



## 1. 研究概要

ゴルジ体は、分泌経路の中央に位置する細胞小器官であり、小胞体で新規合成されたタンパク質を受け取り、糖鎖や硫酸基の付加やペプチド鎖の切断などの修飾を行い、リソソームや細胞膜などの目的地に応じて選別し発送する機能を担っている。ゴルジ体の存在と機能は、単細胞の酵母や原生動物から、多細胞の植物・動物までほとんどの真核生物に保存されている。ゴルジ体は、囊あるいは槽と呼ばれるリン脂質二重層で覆われた袋状の構造物であり、ほとんどの脊椎動物や高等植物では、扁平な形状の槽が積み重なった層板構造を取っている (Fig.1 左)。さらに脊椎動物では、層板が側方で繋がりあってリボン状の高次構造を形成している (Fig.1 右)。当研究室では、このゴルジ体の構造形成の分子機構と、構造の生理的意義の理解を目指して研究を進めている。

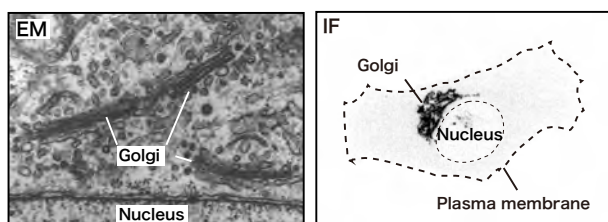


Fig. 1 The structure of the Golgi apparatus. (Left) Stacked cisternal structure. (Right) Ribbon like structure near the nucleus.

ゴルジ体は、分裂期に解体され、娘細胞に均等に分配されたのちに再構成される。これまでに我々は、ゴルジ体の解体分散が GM130 のリン酸化によって引き起こされることを明らかにした (Nakamura et al., *Cell* 89, p445-, 1997)。また一方、ゴルジ体の解体分散は分裂期の進行に必須の役割を持っていることも明らかにした (Yoshimura et al., *J. Biol. Chem.* 280, p23048-, 2005)。さらに、間期のゴルジ体は中心体付近の微小管に絡むようにして局在しており、ゴルジ体の再構成は、細胞運動時に進行方向を変化させるために重要であること、また、GM130 のパートナータンパク質である GRASP65 のリン酸化がこのゴルジ体の再構成に重要であることも明らかにしている (Bisel et al., *J. Cell Biol.* 182, p837-, 2008)。

最近の研究から、ゴルジ体の構造や機能の不全がアミロイド繊維形成を誘導してアルツハイマー病や ALS (筋萎縮性側索硬化症) などの神経変性疾患を導く可能性や、ゴルジ体に局在するタンパク質群が細胞骨格や細胞極性の調節、また、細胞内情報伝達系の調節に関与しており、これらのタンパク質の機能不全が、細胞の癌化に関わるこ

となどが次々と明らかになってきた。これらのゴルジ体の構造変化や機能不全から生じる疾患は、「ゴルジ体病」と名づけられ、その研究が注目を集めている (中村暢宏 *生化学* 90, p21-, 2018)。培養細胞やゼブラフィッシュを用いた研究から、細胞レベル、そして個体レベルでのゴルジ体や GM130, GRASP65, YIPF (Yip domain family) などの機能を明らかにすることで、癌や神経変性疾患などの各種疾患の病理の解明や新規治療標的の発見が期待される。

## 2. 研究テーマ

### (1) ゴルジマトリクスタンパク質 GM130 のゴルジ体局在化機構と機能

GM130 はゴルジ体の *cis* 側に局在する表在性膜タンパク質であり、ゴルジ体の構造維持に働くとともに、ゴルジ体へのタンパク質局在化に機能していることが示唆されている。近年の我々の研究から、GM130 が 4 量体であり Y 型と I 型の 2 種の構造をとることが明らかとなっている (Ishida et al, *FEBS J.* 282, p2231-, 2015)。ネガティブ染色像を再度精査したところ、Y 型がさらに開いて T 型となり、これが 2 分子結合した十字型の分子と思われる像が発見された。これらの異なる構造型間の変換が GM130 に結合する小型 GTPase である Rab1 の結合や GM130 分子のリン酸化によって変化するかどうかを解析している。

### (2) ゴルジ体に局在する 5 回膜貫通タンパク質群 YIPF の機能と局在化機構

YIPF タンパク質群は我々が 2003 年に同定したゴルジ体に局在する複数回膜貫通タンパク質群であり、GM130 や GRASP65 と協調してゴルジ体へのタンパク質局在や構造維持に機能している可能性がある。*Saccharomyces cerevisiae* には、Yip1p, Yif1p, Yip3p, Yip4p の 4 種の YIPF が存在し、一方、ヒト YIPF では、YIPF1~6, YIP1B, YIF1A, YIF1B の 9 種が存在する。また、*Saccharomyces cerevisiae* の Yip1p および Yif1p のホモログがペアとなって複合体を形成する (Shaik, et al., *Frontiers Cell Dev. Biol.* 7, 130-, 2019)。ヒト YIPF は、3 種の独立した複合体 1~3 を形成し、それぞれゴルジ体上流 (ERGIC)、中流 (*cis*-Golgi)、下流 (*medial*-, *trans*-Golgi, TGN) に分かれて局在している。YIPF の 3 種の複合体がどのような分子機構でゴルジ体の異なる部位に局在しているのか、また、それぞれの機能はどのように異なるかを、遺伝子ノックダウン法、遺伝子破壊法、変異遺伝子発現法などにより解析している。

### (3) YIPF の発現・複合体形成調節機構

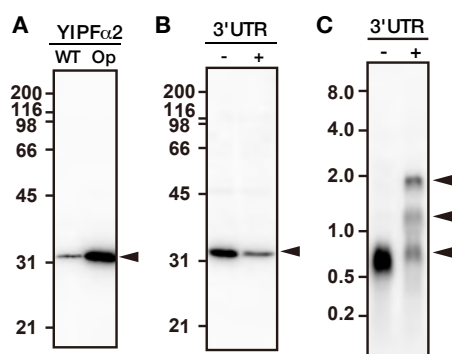
これまでに、YIPF $\alpha$  サブユニットの翻訳領域には非最適コドンが多く採用されており、このことによってタンパク質発現が抑制されていることが明らかとなっている。一方、YIPF $\alpha$  サブユニット mRNA の 3'UTR は  $\beta$  サブユニットに比較して長いことから、この領域が YIPF $\alpha$  サブユニットのタンパク質発現に何らかの役割を果たしていることが示唆された。実際に、YIPF $\alpha$ 1A の 3'UTR は、タンパク質発現を促進する効果があること、また、その効果は 3'UTR の 1-1118 残基の部分によることが明らかになっている。また、このタンパク質発現促進は mRNA レベルではなく翻訳レベルで行われていることも示唆されている。(高司時生:京都産業大学大学院生命科学研究科修士論文, 2022)

以上の結果に基づき、現在は YIPF  $\alpha$  1A の 3'UTR によるタンパク質発現調節の分子機構の詳細を探っている。また、他の YIPF  $\alpha$  サブユニットについても同様の調節機構があるかどうか解析している。

## 3. 本年度の研究成果

### (1) YIPF $\alpha$ 2 の発現調節機構の解析

YIPF  $\alpha$  2 においても、YIPF  $\alpha$  1A 同様にコドン最適化と 3'UTR によって調節されているかどうか解析を行った。まず、YIPF  $\alpha$  2 の 47 箇所の希少コドンを最適コドン変換した変異体を作成し、HEK293 細胞で発現させたところ、タンパク質発現量は野生型と比較して約 10 倍に増加した (Fig. 2A)。一方、mRNA 量はコドン最適化によって変化しなかった。この結果は、YIPF  $\alpha$  2 の発現量が、YIPF  $\alpha$  1A と異なりタンパク質翻訳レベルでのみ調節されていることを示している(山本隆誠:未発表データ)。



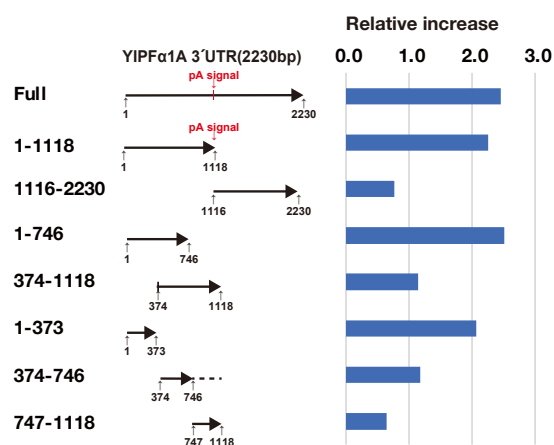
**Fig. 2. YIPF $\alpha$ 2 expression is reduced by non-optimal codons in the coding region and by its 3' UTR sequence.** (A) Wild-type (WT) or codon-optimized (Op) YIPF $\alpha$ 2 constructs were expressed in HEK293 cells, and protein levels were analyzed by western blotting. (B) The YIPF $\alpha$ 2 3' UTR was inserted either directly downstream of the wild-type YIPF $\alpha$ 2 coding region (+) or downstream of the poly(A) signal as a control (-). Protein expression in HEK293 cells was analyzed by western blotting. (C) The experiment was performed as in (B), but mRNA levels were analyzed by northern blotting.

次に、野生型の YIPF  $\alpha$  2 翻訳領域に YIPF  $\alpha$  2 の 3'UTR (1938bp)を付加し HEK293 細胞で発現させたところ、予想に反してタンパク質発現量は野生型と比較して約 50%に減少した (Fig. 2B)。mRNA 量も同程度のレベルに減少していたことから (Fig. 2C), YIPF  $\alpha$  1A とは異なり、YIPF  $\alpha$  2 の 3'UTR は mRNA レベルで発現を減少させる効果を持つことが示唆された(山本隆誠:未発表データ)。

以上の結果は、YIPF  $\alpha$  2 の発現が YIPF  $\alpha$  1A とは異なる分子機構で調節されていることを示している。今後は、YIPF  $\alpha$  2 の 3'UTR による mRNA 発現抑制の分子機構を探る。

### (2) YIPF $\alpha$ 1A の 3'UTR によるタンパク質発現量調節機構の解析

YIPF  $\alpha$  1A の 3'UTR の前半部分(1-1118bp)の翻訳レベルでのタンパク質発現量増加機能に着目し、3'UTR の前半部分のどの部分に調節エレメントが存在するか解析を行った。3'UTR の前半部分を、5'側あるいは 3'側から三分の一欠損させたもの (1-746, 374-1118), および、三分の一のエレメントに分割したもの (1-373, 374-746, 747-1118) を作成し、野生型 YIPF  $\alpha$  1A の翻訳に連結して HEK293 細胞で発現させた。コントロールと比較したところ、1-746 と 1-373 のみでタンパク質発現量の増加が観察された。また、1-373 のエレメントの付加では、mRNA 量に変化はなかった。したがって、3'UTR の 5'側 1-373 の領域に翻訳レベルでのタンパク質発現量増加機能があることが示唆された(中西百合香:京都産業大学大学院生命科学研究科修士論文, 2024)。



**Fig. 3. The YIPF $\alpha$ 1A expression enhancer sequence is located at the 5' end of the 3' UTR.** Full-length or indicated regions of the 3' UTR were placed either immediately downstream of the YIPF $\alpha$ 1A coding sequence or downstream of the poly(A) signal as a control. Expression in HEK293 cells was analyzed by western blotting and quantified using ImageJ. The relative increase in protein expression compared to the control is shown on the right.

今後は、1-373 の領域によるタンパク質発現量増加の分子機構の詳細を探る。

#### 4. Research projects and annual reports

The Golgi apparatus occupies a central position within the secretory pathway, where it plays a crucial role in the modification of newly synthesized secretory proteins through processes such as glycosylation, sulfation, and peptide chain processing. These modifications result in the formation of fully modified proteins, which are subsequently sorted and directed to their final destinations, such as the lysosome and plasma membrane. The Golgi apparatus is conserved extensively across Eukaryota, ranging from unicellular fungi and protozoa to multicellular plants and animals. Structurally, the Golgi apparatus exhibits a cisternal architecture. In most animals and plants, the Golgi cisternae are arranged in multiple layers and are interconnected laterally, giving rise to a ribbon-like structure in vertebrates (Fig. 1). Our research aims to unravel the underlying molecular mechanisms and physiological significance of this unique organization of the Golgi apparatus.

The Golgi apparatus undergoes disassembly and is equally inherited by daughter cells during mitosis. Previous studies have shown that this disassembly process is initiated by the phosphorylation of GM130 (Nakamura et al., *Cell* 89 p445, 1997). Additionally, it has been discovered that the disassembly of the Golgi apparatus is essential for the onset of mitosis (Yoshimura et al., *J. Biol. Chem.* 280 p23048). During interphase, the Golgi apparatus maintains close association with the centriole and surrounding microtubules. This tight interaction enables the continuous reassembly of the Golgi apparatus, which in turn facilitates the reorientation of the centriole towards the front of the cells. This reorientation is crucial for directed cell movement. Notably, our investigations have revealed the significance of GRASP65 phosphorylation in orchestrating the reorganization of the Golgi apparatus (Bisel et al., *J. Cell Biol.* 182 p837).

Recent studies have highlighted the significant role of Golgi apparatus disorganization in the development of neurodegenerative disorders, such as Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Additionally, disruptions in the structure and function of the Golgi apparatus have been associated with the onset and progression of cancer, as certain Golgi resident proteins

play crucial roles in cytoskeletal regulation, cell polarization, and signal transduction. Consequently, the term "Golgipathy" has been coined to encompass the diverse diseases resulting from these structural and functional defects within the Golgi apparatus.

##### (1) Function and Localization Mechanism of GM130

GM130 is a peripheral membrane protein that primarily localizes to the Golgi apparatus. It has been proposed to play a crucial role in maintaining Golgi structure and participating in the localization of Golgi proteins. In a recent study by Ishida et al. (*FEBS J.* 282, p2231-, 2015), we demonstrated that GM130 exists as a tetramer composed of two distinct structures characterized by differences in the N-terminus: a closed I-shape and an open Y-shape. Upon re-examining negatively stained images of GM130, we discovered the formation of X-shaped structures, resulting from the binding of two T-shaped structures at the open N-terminus. Currently, our research aims to investigate the interconversion and regulation of these different GM130 structures, particularly through the interaction with Rab1, a small GTPase, and GM130 phosphorylation.

##### (2) Analysis of the Function and Localization Mechanism of YIPF Proteins

YIPF proteins comprise a family of multi-span transmembrane proteins that localize to the Golgi apparatus. These proteins are predicted to interact with GM130 and/or GRASP65 and are suggested to be involved in maintaining Golgi structure. In *Saccharomyces cerevisiae*, there are four family members (Yip1p, Yif1p, Yip4p, Yip5p), while in humans, there are nine family members (YIPF1~6, YIP1B, YIF1A, YIF1B). In human cells, there are three distinct complexes that localize to different sub-compartments of the Golgi apparatus: complex 1 localizes to the early Golgi (ERGIC), complex 2 localizes to the middle Golgi (cis-Golgi), and complex 3 localizes to the late Golgi (medial-trans Golgi, TGN). Our current investigations involve analyzing the functions and localization mechanisms of these three YIPF complexes in various Golgi sub-compartments through gene knockdown, gene knockout, and gene expression experiments.

##### (3) Regulation Mechanisms of the YIPF Expression and Complex Formation

It has been shown that the coding region of the YIPF $\alpha$  subunit is rich in non-optimal codons, which suppress protein expression. On the other hand, the 3' untranslated region (3'UTR) of the YIPF $\alpha$  subunit mRNA is longer

compared to that of the  $\beta$  subunit, suggesting that this region may play a role in regulating YIPF $\alpha$  subunit protein expression. In fact, it has been shown that the 3'UTR of YIPF $\alpha$ 1A promotes protein expression, and this effect is attributed to the region spanning nucleotides 1–1118 of the 3'UTR. Furthermore, it has been suggested that this promotion of protein expression occurs at the translational level rather than at the mRNA level (Tokio Takaji: Master's Thesis, Graduate School of Life Sciences, Kyoto Sangyo University, 2022).

Based on these findings, we are currently investigating the detailed molecular mechanisms by which the 3'UTR of YIPF $\alpha$ 1A regulates protein expression. In addition, we are analyzing whether similar regulatory mechanisms exist for other YIPF $\alpha$  subunits.

## Annual progress

### (1) Analysis of the Regulation Mechanism of YIPF $\alpha$ 2 Expression

We analyzed whether YIPF $\alpha$ 2, like YIPF $\alpha$ 1A, is regulated by codon optimality and 3'UTR. First, we created a mutant with 47 rare codons of YIPF $\alpha$ 2 converted to optimal codons and expressed it in HEK293 cells. The protein expression level increased approximately 10-fold compared to the wild type (Fig. 2A). Meanwhile, mRNA levels did not change due to codon optimization. This result indicates that YIPF $\alpha$ 2 expression levels are regulated only at the protein translation level, unlike YIPF $\alpha$ 1A (Ryusei Yamamoto).

Next, when the 3'UTR of YIPF $\alpha$ 2 (1938bp) was added to the wild-type YIPF $\alpha$ 2 coding region and expressed in HEK293 cells, contrary to expectations, protein expression levels decreased by approximately 50% compared to the wild type (Fig. 2B). Since mRNA levels also decreased to similar levels, this suggests that unlike YIPF $\alpha$ 1A, the 3'UTR of YIPF $\alpha$ 2 has an effect of reducing expression at the mRNA level (Fig. 2C; Ryusei Yamamoto).

These results indicate that YIPF $\alpha$ 2 expression is regulated by molecular mechanisms different from YIPF $\alpha$ 1A. In the future, we will investigate the molecular mechanisms of mRNA expression suppression by the 3'UTR of YIPF $\alpha$ 2.

### (2) Analysis of the Regulation Mechanism of YIPF $\alpha$ 1A expression by the 3'UTR

Focusing on the protein expression level increase by the first half of YIPF $\alpha$ 1A's 3'UTR (1-1118bp) at the translational level, we analyzed which part of the first half

of the 3'UTR contains regulatory elements. We created constructs with one-third deletions from either the 5' or 3' side of the first half of the 3'UTR (1-746, 374-1118), as well as those divided into one-third elements (1-373, 374-746, 747-1118), linked them to wild-type YIPF $\alpha$ 1A coding region, and expressed them in HEK293 cells. Compared to controls, increased protein expression levels were observed only with 1-746 and 1-373. Additionally, addition of the 1-373 element showed no change in mRNA levels. Therefore, it is suggested that the 5'-side region of the 3'UTR (1-373) has a function to increase protein expression levels at the translational level (Fig. 3; Yurika Nakanishi: Master's thesis, Graduate School of Life Sciences, Kyoto Sangyo University, 2024).

In the future, we will investigate the detailed molecular mechanisms of protein expression level increase by the 1-373 region.

## 5. 論文, 著書など (Publications)

Kitta, S. et al. YIPF3 and YIPF4 regulate autophagic turnover of the Golgi apparatus. *EMBO J.* 1–25 (2024) doi:10.1038/s44318-024-00131-3.

## 6. 学会発表など (Meeting Reports)

該当なし

## 7. その他特記事項 (Others)

1) 外部資金 (Research Grants) : 該当なし

2) 知財権 (Patents) : 該当なし

3) 学会活動 (Activities in Academic Societies)

日本生化学会評議員 (2012.4～)

日本細胞生物学会代議員 (2022.6～)

Review Editor: *Frontiers in Cell and Developmental Biology; Membrane Traffic* (2018.4.10～)

4) 受賞等 (Awards) : 該当なし

5) その他 (Others)

**Laboratory Members:** 中西百合香 Yurika Nakanishi (M2), 山本隆誠 Ryusei Yamamoto (M1), 足立心花 Kohana Adachi (B4), 坂本優太 Yuta Sakamoto (B4), 福尾実優 Miyu Fukuo (B4), 安川玲音 Renon Yasukawa (B4), 石坂建樹 Tatsuki Ishizaka (B3), 垣本二葉 Futaba Kakimoto (B3), 谷合春飛 Haruhi Taniai (B3), 中川凌 Ryo Nakagawa (B3), 堀晴実 Harumi Hori (B3)

# ウイルス学研究室

Laboratory of Virology

准教授 西野 佳以

Associate Prof. Yoshii Nishino,

DVM, Ph.D



## 1. 研究概要

私達は多くの微生物に囲まれて生きている。ウイルスは微生物の一員であるが、自己複製のために必要な最小限度の遺伝子しか持たないため、動物や植物に寄生し、宿主細胞内の小器官を拝借して増殖する。その結果、寄生した細胞の破壊、細胞機能の障害といった直接的な障害、あるいはウイルス抗原を発現した感染細胞が宿主免疫応答から「異物」と認識されて排除されたり、サイトカイン等の液性因子の産生が誘導されるなどの間接的な障害が引き起こされる。このような感染個体における様々な影響を発症(病)と呼ぶ。私達の研究室では、動物/人獣共通のウイルス感染症、特に神経ウイルス症に注目している。なぜなら、中枢神経系を好むウイルスは免疫応答を誘導しにくく、また血液脳関門の存在により効果的な化学療法剤が限られるために治療法が困難な場合が多い、いわゆる「困難な感染症」として社会的にその解決が望まれているからである。

私達は、「ウイルス性神経・精神神経疾患」を研究するために、ボルナ病ウイルス(BoDV)感染により引き起こされるボルナ病に焦点を絞り研究を行っている。ボルナ病はウマやヒツジに持続的に感染し、時に致死的な神経疾患を引き起こす病気として 100 年以上前から知られていた。現在、ネコ、イヌ、アライグマ、ニホンザル、ウシ、ヒト、鳥類、爬虫類を含む幅広い脊椎動物に感染が認められる新興感染症として認識されている。しかしながら、いまだ発病メカニズムは十分に解明されていない。長らく、ヒトにおける病原性は不明であったが、近年、感染リスから感染したヒト

が脳障害により死亡したことが報告されたことから、本感染症が人獣共通感染症であり、ヒトでは重篤な脳障害を起こす可能性があることが示された。私達は、BoDV の持続感染性と病原性を多角的に解析する目的で、ラットやマウス等の感染モデル動物における病態の解析(運動障害と行動学的異常)、神経細胞、グリア細胞などの初代培養細胞における感染性の解析を行っている。

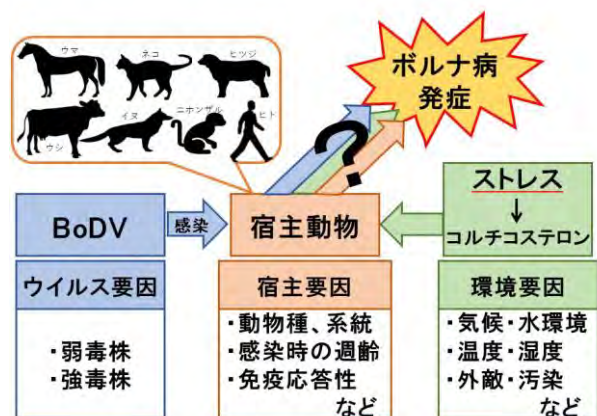
## 2. 本年度の研究成果

「ボルナ病ウイルス 1 感染マウスにおけるオキシトシン処置の影響」

ボルナ病ウイルス(BoDV)は、モノネガウイルス目ボルナウイルス科に属する、マイナス鎖 1 本鎖 RNA ウイルスであり、神経向性を持つ持続感染ウイルスである。多くの哺乳類で自然感染しており、感染した動物が発症すると、行動学的異常や運動機能障害、および感覚異常などの神経症状(ボルナ病)を呈し、重篤な場合は致死的な神経疾患を引き起こす。近年、ドイツでリスのブリーダーが飼育していたリスから BoDV に感染し、神経疾患により死亡した。この報告から、ボルナ病が人獣共通感染症であることが初めて証明された。BoDV 感染後の症状の推移は、宿主要因やウイルス要因に起因することが報告されていることから、これらの要因が発症の程度に深く関わると考えられてきた。しかしながら、不顕性に持続感染が成立した動物が発症するきっかけは十分に明らかにされていない。発症機序を明らかにすることは野外に広く存在する BoDV 感染動物の発症を予防し、感染動物の QOL を維持するだけでなく、ヒトへの感染を防御することにつながるため重要な課題である。

今年度は、環境要因からストレスを受けたときに分泌されるコルチコステロン(CORT)の産生を抑制するオキシトシン(OXT)を処置した場合の、感染病態への影響を解析した。

2 週齢、雌雄 MRL-+/+マウス(SLC)に BoDV-CRNP5 株( $4 \times 10^3$  FFU/ $20 \mu$ l/匹)を脳内接種した。感染 7 あるいは 8 日目に OXT( $60 \mu$ g/ $\mu$ l)を  $1 \mu$ l ずつマウスの両鼻腔に投与した。40 日間の観察期間中、4 日毎に体重測定と目視によるボルナ病臨床症状を評価し、糞便中の CORT 濃度測定を行った。感染 40 日目あるいは重度ボルナ病と判断した場合、Modified-SHIRPA 法から



抜粋した 12 項目の行動学的試験を行い、胸腺・副腎の重量測定、脳内ウイルス力価測定、脳の組織学的解析を行った。

その結果、感染群における体重は、OXT 処置の有無に関わらず感染 16 日目まで増加したが、感染 16 日目では OXT 処置群は非処置群と比べ、有意に重かった。ボルナ病臨床症状は、感染による有意な悪化が認められたが、OXT 処置による差は認められなかった。行動学的試験では 3 項目で感染による有意な異常が認められ、そのうち 1 項目で OXT 処置により変化が認められた。感染群では脳に囲管性細胞浸潤が認められたが、OXT 処置による差は認められなかった。

BoDV-1 感染マウスにおいて、OXT 処置群では感染初期における体重減少の遅延や行動学的変化が認められたが、ボルナ病の発症および脳炎への明らかな影響は認められなかった。しかし、OXT 非処置群は体重減少が主症状であった一方、OXT 処置群は運動障害を中心とした神経症状が主症状であった傾向が示され、全身状態の悪化を引き起こす要因が変化したことが示唆された。

### 3. Research projects and annual reports

We are surrounded by a lot of microbes. Virus is one of microbes and causes disease on animal and plant. Our laboratory is focused to veterinary and zoonotic viral disease, especially neurovirology. We are interested in Borna disease virus (BoDV) that is etiological agent of Borna disease. Borna disease has been known over 100 years as a fatal neurological disease of horses and sheep in central Europe. At present, it is recognized as an emerging disease in cats, dog, birds, and a broad host range in warm-blooded animals, including humans. BDV infection in experimental animals has been used to study the pathogenesis of virus-induced central nervous system damage and as a model for specific human diseases, e.g., autism. Classical BD is in large part due to immunopathogenic damage to the nervous system by blood-borne inflammatory cells. Responses to BDV infection vary according to differences in host-specific factors, e.g., species, animal strain, or age of the host at the time of infection. However, the definite mechanism underlying disease outcome is not fully clarified yet. To study disturbances of movement and behavior in BDV-infected animals, we examined the following points: 1) comparing pathogenesis in rats infected with several viral strains, 2) contribution of gene expression of TGF- $\beta$  family in CNS

and viral pathogenesis, and 3) mechanism of changes in virus genome with adaptation to host.

In this year, we analyzed the effect of oxytocin (OXT), which suppresses the production of corticosterone (CORT) secreted when stressed by environmental factors, on the pathology of infection.

Two-week-old male and female MRL-+/+ mice (SLC) were inoculated intracerebrally with BoDV-CRNP5 strain ( $4 \times 10^3$  FFU/20  $\mu$ L/mouse). On the 7th or 8th day after infection, 1  $\mu$ L of OXT (60  $\mu$ g/ $\mu$ L) was administered to both nasal cavities of the mice. During the 40-day observation period, body weight was measured and clinical symptoms of Borna disease were evaluated visually every 4 days, and CORT concentration in feces was measured. On the 40 days post infection (dpi) or when severe Borna disease was detected, 12 behavioral tests selected from the Modified-SHIRPA method were performed, and thymus and adrenal weights, viral titers in the brain, and brain histological analysis were performed.

Body weight in the infected group increased until the 16 dpi regardless of whether or not OXT treatment was administered, but on the 16th day of infection, the OXT-treated group was significantly heavier than the non-treated group. Clinical symptoms of Borna disease were significantly worsened by infection, but no difference was observed with OXT treatment. In behavioral tests, significant abnormalities due to infection were observed in three items, one of which changed with OXT treatment. Perivascular cell infiltration was observed in the brain in the infected group, but no difference was observed with OXT treatment.

In BoDV-1-infected mice, the OXT-treated group showed delayed weight loss and behavioral changes in the early stages of infection, but no clear effect on the onset of Borna disease or encephalitis was observed. However, while the non-OXT-treated group showed weight loss as the main symptom, the OXT-treated group showed a tendency for neurological symptoms, mainly motor disorders, to be the main symptom, suggesting that the factors causing the deterioration of the overall condition had changed.

### 4. 論文、著書など

該当なし。

### 5. 学会発表など

1. 小西鈴音、秋山聡一朗、大和亜弥香、木村享史、西野佳以、ボルナ病ウイルス1感染マウスにおけるオキシトシン処置の影響、第71回日本ウイルス学会（2024年11月4～6日、名古屋市）
2. 小西沙弥、テイト翔音、小川明日香、木村享史、西野佳以、高血圧自然発症ラットにおけるボルナ病ウイルス1感染病態の解析、第71回日本ウイルス学会（2024年11月4～6日、名古屋市）
3. 酒谷紬、利一裕理子、上野信洋、清水昭男、佐藤直子、西野佳以、瀬尾美鈴、カルマン症候群患者由来 FGFR1 変異の神経突起伸長に及ぼす影響、第97回日本生化学会 2024年11月6～8日（横浜市）

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

受諾研究・雪印メグミルク

研究課題：乳素材の感染防御作用に関する研究

研究代表者：西野佳以、取得年度：R6-R7

### 2) 学会活動

- ・日本ボルナウイルス研究会、副会長
- ・日本獣医学会、評議委員

### 3) その他

- ・京都動物愛護センター運営委員会、委員
- ・京都府動物愛護推進計画検討委員会・委員
- ・薬事・食品衛生審議会・専門委員
- ・日本学術振興会・特別研究員等審査会、審査委員



中間発表会・秋合宿（2024年8月30日、滋賀県松の浦セミナーハウス）

# RNA 制御学研究室

Laboratory of RNA Regulation

## 1. 研究概要

遺伝子発現は、ゲノム DNA からの転写段階のみならず、転写後の mRNA 制御によっても巧妙に調節されている。特に mRNA の安定性はタンパク質発現の量とタイミングを規定する主要因であり、その制御は個体発生のような複雑な生命現象に必須である。しかし現在までに解明されている mRNA 安定性制御機構は氷山の一角に過ぎない。我々は、小型淡水魚ゼブラフィッシュをモデルとした研究から、受精直後の mRNA 安定性がコドン組成によって規定されており、コドンには mRNA を安定化するものと不安定化するものが存在することを見出した。この現象はリボソームによる翻訳に依存していることから、コドンが tRNA によって読み取られる際の動態が mRNA の安定性に影響を及ぼしていると考えられる。このようなコドン機能の新知見に加え、コドンを解読する tRNA の量や修飾の状態、リボソームの品質や結合因子も細胞の状態や種類に応じて動的に変化することが明らかとなっている。

このような背景のもと、本研究室ではゼブラフィッシュをモデルとして、個体発生過程においてリボソームによる遺伝子発現制御のしくみと生理的意義を明らかにすることを目的に研究を行なっている。現在は、ゲノム編集技術によって作成したリボソーム結合因子や tRNA の修飾酵素のゼブラフィッシュ変異体系統の解析と、リボソーム動態の生化学的な解析を進めているところである。発生生物学、遺伝学、生化学、分子生物学、生物情報学を組み合わせ、リボソームの新機能の解明に挑戦している。

## 2. 本年度の研究成果

### (A) 翻訳とその品質管理機構の解析

翻訳の伸長中にリボソームが異常停滞し、後続のリボソームとの衝突が生じると、異常停滞したリボソームは Ribosome Quality Control (RQC) 経路によって乖離され、鋳型の mRNA は No-go decay (NGD) により分解される。この過程にはリボソームに結合する E3 ユビキチンリガーゼである Znf598 が必要である。当研究室では、Znf598 の生理的役割を解明するためにゼブラフィッシュ *znf598* 変異体を作成し、*znf598* 変異体では赤血球が減少していることを見出している。本年度は昨年度に引き続き、*znf598* 変異体の分子レベルでの異常を解析するために、翻訳異常によって引き起こされるリボソームの衝突を解析した。衝突した 2 つのリボソームに由来する約 60 塩基の mRNA 配列を次世代シーケンシングにより解析する Disome Seq の解析結果から、野生型および *znf598* 変異

教授 三嶋 雄一郎

Prof. Yuichiro Mishima, Ph. D.



体ゼブラフィッシュ胚において、リボソームの衝突が起こっている部位を網羅的に解析した。その結果、C2H2 型ジンクフィンガードメインをタンデムにコードする mRNA 配列を翻訳する際にリボソームの衝突が頻繁に起こっており、これが品質管理機構に認識されて NGD が誘導されることを明らかにした。

### (B) ゼブラフィッシュ胚発生過程におけるコドン依存の mRNA 分解機構の解析

mRNA を安定化するコドンと不安定化するコドンを検知するメカニズムを解明するために、この現象に関連することがヒトと出芽酵母で報告されている CNOT4/NOT4 のゼブラフィッシュ変異系統を作成し解析を行なった。その結果、ゼブラフィッシュでは *cnot4* が欠損した場合でもコドンが mRNA の安定性に及ぼす効果に大きな変化は認められなかった。このことから、コドンが mRNA の安定性に及ぼす機構は既報のメカニズム以外の経路が存在する可能性が示唆された。

## 3. Research projects and annual reports

Gene expression is regulated not only by the transcriptional mechanisms but also by the post-transcriptional control of mRNAs. mRNA stability is a major determinant of both amount and timing of protein expression, thereby essential for complex biological processes such as development. By using zebrafish embryos as a model system, we discovered that codon composition determines mRNA stability after fertilization. These codon effects on mRNA stability are dependent on translation by the ribosome, indicating that the codon effects stem from the decoding process by tRNAs. In addition to this novel function of codons, recent studies highlighted prevalent changes in tRNA amount and modifications, ribosome quality and its binding factors under different cellular environments.

Our laboratory studies the molecular mechanisms and biological roles of codon-mediated control of gene expression during zebrafish embryogenesis by combining a wide variety of approaches in biology. We have achieved the following progress in this year.

(A) During translation elongation, when ribosomes stall abnormally and collide with trailing ribosomes, the stalled ribosomes are disassembled by the Ribosome-associated Quality Control (RQC) pathway,

and the mRNA is degraded via the No-go decay (NGD) pathway. This process requires Znf598, an E3 ubiquitin ligase that binds to ribosomes. To elucidate the physiological role of Znf598, our laboratory generated a zebrafish *znf598* mutant and discovered that red blood cells are reduced in the mutant. We analyzed ribosome collisions induced by translational defects at the molecular level in *znf598* mutants. Using Disome-Seq, a next-generation sequencing technique that captures ~60 nucleotide-long mRNA fragments derived from colliding ribosomes, we comprehensively mapped sites of ribosome collision in wild-type and *znf598* mutant zebrafish embryos. Our analysis revealed that ribosome collisions frequently occur during translation of mRNA sequences encoding tandem C2H2-type zinc finger domains, and that such collisions are recognized by the quality control machinery, triggering NGD.

(B) To elucidate the mechanism by which codon optimality affects mRNA stability, we generated and analyzed a zebrafish mutant line of *CNOT4*, a gene previously reported in humans and yeasts to be involved in this process. Our results showed that even in the absence of *cnot4*, codon optimality still influenced mRNA stability in zebrafish, suggesting that alternative mechanisms beyond the previously reported pathways may mediate codon-dependent mRNA stability regulation.

#### 4. 論文、著書など

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

#### 5. 学会発表など

影山航也、林田千優、三嶋雄一郎 The molecular and physiological roles of Cnot4 in zebrafish. 第25回 日本RNA学会年会, 東京都文京区、2024/6/26-28

影山航也、林田千優、三嶋雄一郎 Analysis of the molecular and physiological roles of Cnot4 in zebrafish. 第47回 日本分子生物学会年会, 福岡市、2024/11/27-29

門田みく、三嶋雄一郎 Analysis of the translational GTPase GTPBP1 in zebrafish. 第47回 日本分子生物学会年会, 福岡市、2024/11/27-29

井口碧、石橋幸大、若林貴美、三嶋雄一郎 Analysis of the effects of RQC deficiency in zebrafish *znf598* mutant embryos.

第47回 日本分子生物学会年会, 福岡市、2024/11/27-29

松江瞭太、入江徹、石橋幸大、若林貴美、三嶋雄一郎

Dynamics and physiological functions of tRNA queuosine modification in zebrafish. 第47回 日本分子生物学会年会, 福岡市、2024/11/27-29

Yuichiro Mishima Translational quality control of zinc finger proteins in vertebrate evolution. Ribosome meeting in Japan 2024, 東京都港区、2024/12/2-4

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究(B)

課題名: リボソーム恒常性の乱れによって生じる mRNA 特異的な翻訳変動の解明

研究代表者: 三嶋雄一郎, 取得年度: R5-R7 年 (3 年)

科学研究費補助金・挑戦的研究(萌芽)

課題名: 翻訳異常を解消するリボソーム品質管理機構の個体内イメージング

研究代表者: 三嶋雄一郎, 取得年度: R4-R6 年 (3 年)

科学研究費補助金・基盤研究(B)

課題名: リボソームの不均一性から生み出される細胞・組織特異的な翻訳開始制御機構の解明

研究代表者: 藤原 俊伸 取得年度: R4-R6 年 (3 年)

##### 2) 知財権等 なし

##### 3) 学外活動

三嶋雄一郎: 日本 RNA 学会 年会プログラム委員

##### 4) 受賞等 なし

##### 5) その他 なし



研究室の集合写真(2024 年 4 月)

# 植物生理学研究室

Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry

## 1. 研究概要

植物生理学研究室では、植物葉緑体における機能制御に興味を持ち、大きなテーマ設定を行っている。

植物の大きな特徴のひとつに光合成がある。陸上植物の光合成は葉緑体と呼ばれる複数の膜系からなる形態的にも複雑なオルガネラで進行し、光エネルギーを用いた電子伝達とそれにつづく反応で  $\text{CO}_2$  固定が行われる。植物にとって光合成は非常に重要な機能であるため、様々な制御機構を備えている。私たちはこの中でも陸上植物葉緑体におけるレドックス制御機構について、その生理機能と分子メカニズムの解明を目指し、研究を行っている。

葉緑体のレドックス制御機構では、チオレドキシンと呼ばれるタンパク質がその制御に中心的な役割を果たす。チオレドキシンファミリータンパク質の生理学的機能の解析を中心として、以下の具体的な研究項目を設定し、研究を進めている。

### 1) 葉緑体ストロマにおけるチオレドキシンファミリータンパク質の機能制御機構の解明

葉緑体ストロマでは、光合成の行われる昼と夜とで大きくレドックス状態が変化する。光合成の行われる昼には、光合成電子伝達経路から生じる電子で NADPH を産生するため、ストロマ画分は還元的な状態にある。昼の還元状態のときに葉緑体ストロマに局在するチオレドキシンは、カルビンサイクルなどの酵素を還元し活性化する、ペルオキシレドキシンをはじめとする活性酸素種消去系酵素へ反応に必要な電子を供給する、チラコイド内腔への還元力供給経路へ電子を渡す、などさまざまな場面において機能している。これらの構造の異なる多くの標的タンパク質を、チオレドキシンはどのように見分け、葉緑体内で混乱することなく相手タンパク質を認識し、必要な還元力（つまり電子）を供給しているのか、明らかにする。また、葉緑体中に複数のアイソフォームを持つチオレドキシンファミリータンパク質が植物葉緑体内でどのように使い分けられているのか、その分子機構、生理学的意義を明らかにする。

### 2) 葉緑体チラコイド膜を介した還元力伝達機構の解明

葉緑体は、外包膜、内包膜という二枚の膜に囲まれたオルガネラである。葉緑体は、さらにチラコイド膜と呼ばれる膜を持っており、形態上も複雑なオルガネラである。昼と夜とで大きくレドックス環境が変化する葉緑体ストロマ画分とは対照的に、チラコイド膜を隔てたチラコイドの内側（チラコイド内腔）のレドックス状態変化はほとんど知

教授 本橋 健

Prof. Ken MOTOHASHI, Ph. D.



られていない。私たちは、チラコイド内腔にもチオレドキシン様タンパク質が局在することを示し、これがチラコイド内腔で機能していることも明らかにした。還元力の蓄積のないチラコイド内腔で、チオレドキシンのような酸化還元タンパク質が機能するためには還元力の供給が必要である。チラコイド内腔で必要となる還元力をストロマから伝達する分子メカニズム、およびその生理学的な意義を明らかにする。

### 3) 生化学・分子生物学に用いる新規技術開発

植物生理学にかかわる研究を行ううえで、その研究を効率的に推進するため、生化学・分子生物学的手法が重要な役割を果たす。そのため、生化学・分子生物学に関して、クローニング技術をはじめとする分子生物学的手法、タンパク質発現解析をはじめとする生化学的手法の新規技術開発を行っている。

## 2. 本年度の研究成果

### 1) 光合成制御において、チオレドキシンに制御される制御因子群の機能解析

本年度は、制御因子であるチオレドキシンが制御する因子群について研究を進めた。シロイヌナズナを材料にして、古くからチオレドキシンに活性制御されることが知られているカルビン回路酵素であるセドヘプツロース 1, 7 ビスホスファターゼ (SBPase)、フルクトース 1, 6 ビスホスファターゼ (FBPase)、葉緑体型 FoF1-ATP 合成酵素の活性制御について研究を進め、その性質を調べた。その結果として、葉緑体 ATP 合成酵素について、チオレドキシンによりレドックス制御されることの重要性が明らかとなった。

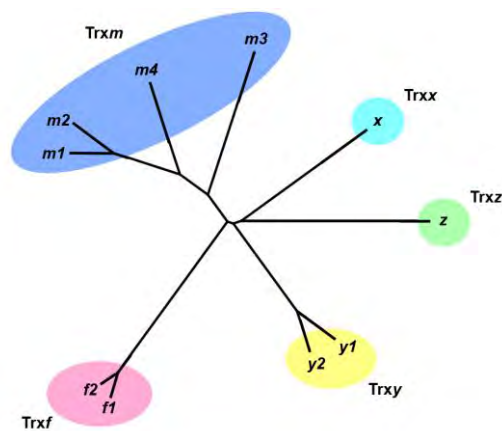


図 1 葉緑体チオレドキシンファミリータンパク質の系統樹

また、制御因子のチオレドキシンは、葉緑体で5グループ10種類のアイソフォームがある(図1)。最近10年間でそれらが植物葉緑体内で機能分担していることが明らかとなってきた。そこで、私たちのグループの成果を含む、最近の知見をまとめ、葉緑体チオレドキシンファミリータンパク質群が果たす生理機能をグループごとに整理し、総説にまとめた。

## 2) 生化学・分子生物学に用いる新規技術開発

植物科学分野では遺伝学的手法を用いて植物の遺伝型解析する際、その遺伝型を簡便に決定することが必要となる。植物の変異体スクリーニングのためのジェノタイピングを迅速、かつ簡易に行うための方法論について、研究を開始し、予備実験を行った。その結果、構想していた方法で迅速、かつ簡易なジェノタイピングを行えることがわかった。今後、方法論の研究結果の発表に向け、データを取得し、整理する。

## 3. Research projects and annual reports

We have been setting our research theme on the functional regulation of higher plant chloroplast.

Plants have photosynthetic ability to convert carbon dioxide into organic compounds, especially sugars, as unique feature. The photosynthesis in higher plants occurs in chloroplasts which are comprised of multilayered membranes, and pushes forward carbon dioxide fixation. Chloroplasts have various regulation mechanisms of photosynthesis that is an important function for plants. Particularly, we focus on redox regulation in modulation system of higher plant chloroplast.

### 1: Functional analysis of factors controlled by thioredoxin in the regulation of photosynthesis

This year, we advanced our research on the factors regulated by thioredoxins, a regulatory factor. Using *Arabidopsis thaliana* as a model, we studied the activity regulation of Calvin cycle enzymes known to be regulated by thioredoxin for a long time, such as sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase), fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase), and the chloroplast-type FoF1-ATP synthase, and examined their properties. It became clear that the redox regulation by thioredoxin is important for the activity of the chloroplast ATP synthase.

Additionally, thioredoxin, the regulatory factor, has 10 isoforms in 5 groups in chloroplasts (Figure 1). Over the

past decade, it has become evident that these isoforms have distinct functional roles within plant chloroplasts. Therefore, we summarized recent findings, including our group's results, and organized the physiological functions of the chloroplast thioredoxin family proteins by group, compiling them into a review article.2: Physiological role and molecular mechanism of reducing equivalent transfer system on thylakoid membranes in chloroplasts.

### 2: Development of new techniques for biochemistry and molecular biology

In the field of plant science, genotyping of plants using genetic methods requires a convenient determination of their genotypes. We initiated research and conducted preliminary experiments on a methodology for rapid and simple genotyping for screening plant mutants. The results showed that rapid and simple genotyping can be performed with the envisioned method. We will acquire data for publication of the methodology research results.

## 4. 論文, 著書など

本橋健: 葉緑体チオレドキシシステムの多様性とその機能分担. 京都産業大学総合学術研究所所報 19, 19-25 (2024)

## 5. 学会発表など

Yuki Okegawa, Ken Motohashi, Wataru Sakamoto, "Photoprotection mechanism of Photosystem I by the thioredoxin system under fluctuating light conditions": The 2nd Asia-Oceania International Congress on Photosynthesis (2nd AOICP), Kobe Fashion Mart, JAPAN, 2024年9月18~21日

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

なし

### 2) 学外活動

本橋健: 日本光合成学会常任幹事

### 3) その他

受賞

「Blue Flame Award」, Addgene (2024)

大学ホームページ掲載

【生命科学部】本橋 健教授が Addgene から『Blue Flame Award』を受賞

[https://www.kyoto-su.ac.jp/news/2024\\_Is/20241108\\_400a\\_news.html](https://www.kyoto-su.ac.jp/news/2024_Is/20241108_400a_news.html)



研究室集合写真（2024 年 12 月）

## 膜エネルギー代謝分野

Laboratory of membrane bioenergetics and metabolism

教授 横山 謙

Prof. Ken Yokoyama, Ph.D



### 1. 研究概要

生命の維持にはエネルギーが必要であり、生命がエネルギーを使いやすい形に変え、それを使う仕組みを研究するのが、生体エネルギー学 (Bioenergetics) である。生命のエネルギー通貨である ATP は、主にミトコンドリアに存在する ATP 合成酵素により作られる。作られた ATP は、生物が運動することや、生体分子の合成、分解、輸送などに使われる。たとえば、液胞型プロトン ATPase (V-ATPase) は、ATP を使って小胞内にイオンを輸送し、その酸性化を通して様々な生理現象を担う。V-ATPase のように、ATP を使って基質を運ぶタンパク質は輸送体と呼ばれ、その仕組みは、それぞれの輸送体の構造を明らかにすることでだいぶわかってきたが、不明な点も残っている。タンパク質からなる分子機械がどうやって ATP のエネルギーを輸送や運動に変換するのかは、とても興味深い問題であり、解決すべき生命科学の課題の一つである。この分子機械の仕組みを解明するために、クライオ電顕による動的構造解析を進めている。従来の膜タンパク質は、生体膜から可溶化した状態で構造解析していたが、可溶化および精製過程でサブユニットの脱離や複合体の解離が起こる可能性がある。生体膜上の膜タンパク質を直接構造解析することで、本来の膜タンパク質の姿を捉える。

#### 1) ATP 合成酵素、V-ATPase の構造解析

V-ATPase は、真核生物の酸性小胞 (リソゾーム、エンドソームなど) に存在する ATP 駆動性のプロトンポンプであり、小胞内の酸性化を通して、タンパク質の品質管理や物質代謝を担っている。ATP 合成酵素  $F_1F_0$  と同様の回転触媒機構で ATP のエネルギーを回転力に変えてプロトンを輸送する。我々は、真核生物の V-ATPase の先祖と考えられるバクテリア由来の V-ATPase (V/A-ATPase) を研究材料として用い、生化学、生物物理学 (1 分子観察)、構造生物学の手法を組み合わせ、機能・構造の解明を進めてきた。その結果、ATP 駆動の回転機構については、かなり理解が進んだ (昨年度の研究成果)。また、真核生物の V-ATPase の構造を決定することで、V-ATPase を標的とした創薬につながる構造情報を得る。また、ATP 合成酵素  $F_1F_0$  についても、構造解析を進めており、ATP

の合成・分解と回転という運動間のエネルギー変換機構の解明を目指している。

#### 2) クライオ電子顕微鏡による ATP 動態に関する膜タンパク質の構造生物学

クライオ電子顕微鏡は、今や構造生物学の主流となり、分子の構造だけでなく、オルガネラや細胞全体の構造を、時には原子分解能近くの精度で見ることが可能にする。我々は、この技術をいち早くとり入れ、世界に先駆けて V 型 ATP 合成酵素の回転に伴う構造変化を明らかにした。この手法をさらに発展させ、細胞内での分子の挙動を高分解能に明らかにし、細胞内で起こっている現象を原子レベルで記述するのが目標である。研究対象を、ATP 動態を司る ATP チャンネルに広げ、ATP 動態を原子レベルで明らかにすることを目的とする。

#### 3) 生体膜上の膜タンパク質の in situ 構造解析

従来は、可溶化状態の膜タンパク質を精製し、その構造解析を行ってきた。しかしながら、本来膜タンパク質は膜電位を帯びている生体膜上で機能しており、膜タンパク質本来の機能や構造を見るには、生体膜上の膜タンパク質を直接構造解析する必要がある。

我々は、現在ミトコンドリア内膜にある ATP 合成酵素  $F_1F_0$  と呼吸鎖複合体の構造解析を進めており、これらの機能中の構造を決定することで、酸化リン酸化の分子機構を原子レベルで記述することを目指している。また、シナプス小胞上にある V-ATPase を標的とした特異的精製法を改良して効率的にシナプス小胞を精製し、シナプス小胞丸ごとの構造解析を行う。

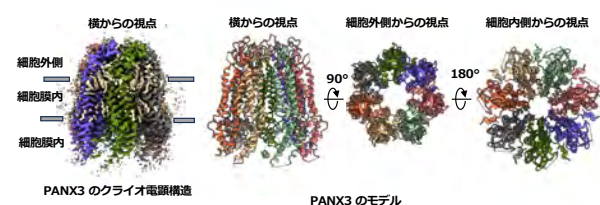
### 2. 本年度の研究成果

#### 1) ラージポアタンパク質 PANX3 の構造決定

細胞膜には、ATP などの比較的大きな分子を透過させるチャンネルタンパク質が存在している。PANX と呼ばれるラージポアタンパク質は、PANX1-3 の三種類のアイソマーが存在し、ATP や AMP などのヌクレオチドを主に透過させると考えられている。通常は、閉じた構造になっているが、アポトーシスが進行するなどの特殊な条件下で開構造になり、細胞内の ATP を細胞外に漏洩させることで、細胞内の ATP 濃度を現象させ、アポトーシスの進行

を促進するといわれている。しかしながら、どのような仕組みで開閉が起こるのか、またヌクレオチド選択の分子基盤などわかっていない点が残されている。さらに3つのアイソマーの役割についても不明である。PANX1 および PANX2 の構造は既に報告されているが、PANX3 に関しては、今年になって ATP およびカルシウムイオン存在下での構造が報告された。しかし、その分解能は低く、何も結合していないアポ型の構造は未解明であった。我々は、構造不明であった PANX3 の構造決定を試みた。浮遊細胞を使った発現系を構築し、構造解析に必要な量の PANX3 を精製することができた。精製された PANX3 からクライオグリッドを作成し、大阪大学高圧電顕センターの Titan Krios で撮影した。定法にのっとり、構造解析を行ったところ、3Å を切る分解能の PANX3 のクライオ電顕構造を得ることができた。

決定された PANX3 チャンネルは7量体であり、中心対称軸に沿って膜貫通孔を形成する。孔の最も狭い狭窄部は細胞外領域に位置するイソロイシン環で構成され、その大きさは他のパネキシンと同程度であった。構造変異解析 (Structural Variability analysis) の結果、細胞内領域における顕著な構造ダイナミクスが明らかとなり、パネキシンチャンネルの詳細な特性を理解するための構造基盤が解明された。



## 2) FoF1-ATPase の ADP 阻害構造の解明

FoF1-ATPase は、ATP を加水分解する F1 部分と、膜内在性でプロトンチャンネルとして機能する Fo 部分から構成される。F1 部分には、ATP 加水分解を担う3つの触媒部位と、ATP が結合するものの加水分解されないヌクレオチド結合部位である3つの非触媒部位が存在する。

F1 の触媒部位に ADP が結合したままになると、F1 の ATP 加水分解活性が阻害される。この阻害様式は ADP 阻害と呼ばれる。一方で、非触媒部位は ATP 加水分解には直接関与しないが、人工的に非触媒部位への ATP の結合をなくすと、F1 が ADP 阻害型となり、ATP 加水分解活性が失われることが報告されていた。F1 が ADP 阻害型となる分

子機構は、長年にわたり未解決の課題として残されていた。

今回、非触媒部位の ATP 結合能を失った F1-ATPase ( $\Delta$ NC-F1-ATPase)を作成し、ADP 阻害状態に陥った $\Delta$ NC-FoF1 の構造を、クライオ電子顕微鏡により 2.9Å という高分解能で決定した。ADP 阻害型 F1-ATPase の構造は、野生型の構造とほぼ同様であったが、触媒部位に結合しているヌクレオチドの種類に違いが見られた。

ATP が最初に結合する触媒部位である E サイトに関しては、野生型 F1-ATPase では ATP が結合しているのに対し、ADP 阻害型 F1-ATPase では ATP の代わりに ADP が結合していた。また、ATP 分解が行われる D サイトでは、野生型 F1-ATPase では ADP とリン酸が結合しているのに対し、ADP 阻害型 F1-ATPase ではリン酸が存在せず、ADP のみが結合していた。

これらの結果から、ADP 阻害型 F1-ATPase では、E サイトに結合している ADP が ATP の新たな結合を妨げるとともに、D サイトからリン酸が失われることで、ADP 阻害構造の安定化が促進されることが明らかとなった (図2)。

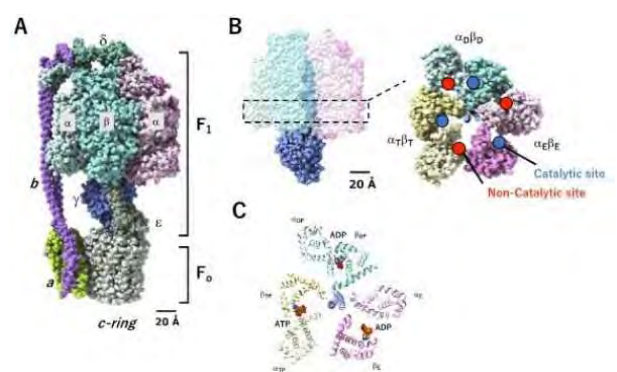


図2. 今回の研究で解明された ADP 阻害型 FoF1-ATPase の構造. A. FoF1 の全体構造. B. F1 部分の構造. C. F1 部分のヌクレオチド結合状態

## 2) ミトコンドリア内膜上の FoF1-ATPase の in situ 構造解析

牛心筋ミトコンドリアから調製したサブミトコンドリア顆粒 (SMP) をクライオ電子顕微鏡で撮影した。F1 と思われる突出部が膜小胞表面に多数観察された。撮影された電顕画像から FoF1 の単粒子を抽出し、クラス分けを行ったところ、阻害タンパク質である IF1 でつながった FoF1 の2量体構造が得られた。それぞれのプロトマーに焦点を当てて構造精密化を行ったところ、3Å 前半の分解能の構造を得ることができた。さらに抽出する範囲を広げて単粒子解析を行ったところ、FoF1 の4量体構造が得られた。このように、SMP 上の FoF1 は複数の FoF1 か

らなる超分子構造からなっていた。また、2D 平均像の中には、FoF1 と異なる超分子複合体の像があり、これを元に単粒子を電顕画像から抽出し、単粒子解析を行ったところ、呼吸鎖分子超複合体の構造が得られた。さらにクラス分けを行い、SMP 上に存在する超分子の構造解析を進めている。

### 3) 哺乳類 V-ATPase の高分解能構造解析

ラット脳から V-ATPase を精製し、クライオ電子顕微鏡で高分解能構造を得た。ラット脳のホモジネートに界面活性剤を加え、膜タンパク質を可溶化した。そこに V-ATPase 特異的に結合するレジオネラ菌由来の阻害タンパク質である SidK を加えた。SidK には Flag-tag が導入されており、Flag resin に混合液を通すことで、SidK-V-ATPase 複合体を Flag-resin に結合させた。つぎに Flag ペプチドにより SidK と結合した V-ATPase を溶出した。ゲルろ過により精製度を高めた標品をクライオ電子顕微鏡による構造解析に供した。解析をすすめた結果、全体で 2Å 前半の分解能の構造を得ることができた。さらに精密化をすすめ、Vo 部分でも原子モデル構築可能な構造を得ることができた。

## 3. Research projects and annual reports

The maintenance of life requires energy, and bioenergetics is the field of study that examines how organisms convert energy into a usable form and utilize it. Adenosine triphosphate (ATP), the universal energy currency of life, is primarily synthesized by ATP synthase in mitochondria. The ATP produced is utilized in various biological processes, including movement, biosynthesis, degradation, and molecular transport. For instance, vacuolar-type proton ATPase (V-ATPase) uses ATP to transport ions into vesicles, leading to acidification that facilitates diverse physiological functions. Proteins that utilize ATP to transport substrates, such as V-ATPase, are classified as transporters. Structural analyses of these transporters have significantly advanced our understanding of their mechanisms; however, some aspects remain unresolved. A fundamental question in life sciences is how molecular machines composed of proteins convert ATP energy into transport or movement. To elucidate this mechanism, dynamic structural analyses using cryo-electron microscopy are being conducted. Traditionally, membrane proteins have been analyzed in a solubilized state after extraction from biological membranes; however, solubilization and purification may result in subunit dissociation or complex disassembly. By

directly analyzing membrane proteins in their native biological membranes, their authentic structural state can be captured.

### 1) Structural Analysis of ATP Synthase and V-ATPase

Vacuolar-type ATPase (V-ATPase) is an ATP-driven proton pump found in the acidic organelles of eukaryotic cells, such as lysosomes and endosomes. It plays a crucial role in protein quality control and metabolic processes by facilitating acidification within vesicles. Similar to ATP synthase FoF1, V-ATPase utilizes a rotary catalytic mechanism to convert ATP energy into rotational force, enabling proton transport.

To elucidate the functional and structural mechanisms of V-ATPase, we have employed a bacterial V-ATPase variant (V/A-ATPase), which is considered an ancestral form of eukaryotic V-ATPase. Using a combination of biochemical analyses, single-molecule biophysics, and structural biology approaches, we have made significant progress in understanding the ATP-driven rotary mechanism (as demonstrated in last year's findings).

Furthermore, determining the structure of eukaryotic V-ATPase provides valuable insights that could contribute to drug discovery targeting V-ATPase. Structural analyses of ATP synthase FoF1 are also being conducted, with the aim of elucidating the energy conversion mechanisms between ATP synthesis, hydrolysis, and rotational movement.

### 2) Structural Biology of Membrane Proteins Involved in ATP Dynamics Using Cryo-Electron Microscopy

Cryo-electron microscopy (cryo-EM) has emerged as a leading technique in structural biology, enabling the visualization of molecular structures, organelles, and even entire cells with near-atomic resolution. We have actively adopted this technology and were among the first to elucidate the structural changes associated with the rotation of V-type ATP synthase. Building upon this methodology, our goal is to further refine high-resolution imaging of molecular behavior within cells and describe intracellular phenomena at the atomic level. We aim to extend our research scope to ATP channels that regulate ATP dynamics, with the objective of elucidating ATP-related molecular mechanisms at atomic resolution.

### 3) In Situ Structural Analysis of Membrane Proteins

Traditionally, structural analyses of membrane proteins have relied on purification in a solubilized state; however, membrane proteins naturally function within biological

membranes under specific membrane potentials. To accurately investigate their native functions and structures, direct structural analysis of membrane proteins within biological membranes is essential.

Currently, we are conducting structural analyses of ATP synthase FoF1 and respiratory chain complexes located in the mitochondrial inner membrane. By determining their active-state structures, we aim to describe the molecular mechanisms of oxidative phosphorylation at atomic resolution. Additionally, we are refining a specialized purification method for V-ATPase located in synaptic vesicles, enabling efficient isolation and structural analysis of intact synaptic vesicles.

#### Achievements in 2023

### 1. Structural Determination of Large-Pore PANX3

The cell membrane contains channel proteins that facilitate the transport of relatively large molecules such as ATP. Large-pore proteins known as pannexins (PANX1–3) are thought to primarily mediate nucleotide transport, including ATP and AMP. Typically, these channels remain in a closed conformation but open under specific conditions, such as during apoptosis, allowing ATP efflux, which reduces intracellular ATP levels and accelerates apoptosis. However, the molecular mechanisms underlying channel gating and nucleotide selectivity remain unclear, as do the specific roles of the three isoforms.

While the structures of PANX1 and PANX2 have been reported, the structural characteristics of PANX3 remained unresolved. Although a low-resolution structure of PANX3 in the presence of ATP and calcium ions was published earlier this year, its apo-form structure had yet to be determined. To address this gap, we established an expression system using suspension cells and successfully purified PANX3 for structural analysis. Cryo-EM grids were prepared and imaged using a Titan Krios at Osaka University's High-Voltage Electron Microscopy Center.

Subsequent structural analysis yielded a cryo-EM reconstruction of PANX3 at sub-3 Å resolution. The resolved PANX3 channel formed a heptamer, generating a transmembrane pore along a central symmetry axis. The narrowest constriction, located in the extracellular region, was composed of an isoleucine ring, similar in size to that of other pannexins. Structural variability analysis revealed substantial conformational dynamics in the intracellular regions,

providing critical insights into the mechanistic properties of pannexin channels.

### 2. ADP-Inhibited FoF1-ATPase Structure

FoF1-ATPase consists of the F1 domain, which hydrolyzes ATP, and the Fo domain, a membrane-embedded proton channel. The F1 domain has three catalytic sites for ATP hydrolysis and three non-catalytic sites where ATP binds but is not hydrolyzed.

ADP inhibition occurs when ADP remains bound at the catalytic sites, preventing ATP hydrolysis. Although the non-catalytic sites do not directly participate, eliminating ATP binding at these sites induces ADP inhibition, a long-standing unresolved question.

To investigate this mechanism, we generated a variant of FoF1-ATPase ( $\Delta$ NC-F1-ATPase) lacking ATP-binding at non-catalytic sites and determined its ADP-inhibited structure at 2.9 Å resolution using cryo-electron microscopy.

The ADP-inhibited structure closely resembled the wild-type enzyme but showed distinct nucleotide binding differences. In the E site, ATP was replaced by ADP, and in the D site, phosphate was absent, leaving only ADP bound. These findings suggest that ADP at the E site blocks ATP binding, while phosphate loss at the D site stabilizes the ADP-inhibited state.

### 3. High-Resolution Structural Analysis of Mammalian V-ATPase

V-ATPase was purified from rat brain and analyzed using cryo-electron microscopy. Membrane proteins were solubilized with detergent, followed by the addition of SidK, a Legionella-derived inhibitor that specifically binds V-ATPase. The SidK-V-ATPase complex was isolated using Flag-tagged SidK and Flag resin purification. Further refinement by gel filtration yielded high-purity samples for structural analysis. Cryo-EM imaging achieved sub-2.5 Å resolution, allowing atomic model construction of the Vo domain. These findings provide detailed structural insights into mammalian V-ATPase.

#### 発表、著書など

1 ADP-inhibited structure of non-catalytic site-depleted FoF1-ATPase from thermophilic *Bacillus* sp. PS-3. Kobayashi R., Nakano A., Mitsuoka K., and Yokoyama K.

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics (2025) DOI: 10.1016/j.bbabo.2025.149536

2 Cryo-EM structure of the human Pannexin-3 channel. Tsuyama T., Teramura R., Kishikawa J., Mitsuoka K. Biochemical and Biophysical Research Communications 745 (2025) doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.151227

## 5. 学会発表など

### 学会発表

1. 哺乳類 V-ATPase の阻害剤結合構造の解明 上田楓華 西田結衣 中野敦樹 中西温子 光岡薫 横山謙 第 24 回日本蛋白質科学会年会 会場 札幌コンベンションセンター 6/2024 ポスター発表
2. V-ATPase の阻害剤結合構造と in situ 構造解析の試み 上田楓華 西田結衣 中野敦樹 中西温子 光岡薫 横山謙 第 47 回日本分子生物学会年会 会場 福岡国際会議場 マリンメッセ福岡 11/2024 ポスター発表
3. V-ATPase の阻害剤結合構造と in situ 構造解析の試み 上田楓華 西田結衣 中野敦樹 中西温子 光岡薫 横山謙 日本生体エネルギー研究会第 50 回討論会 会場 名古屋大学野依記念学術交流館 12/2024 ポスター発表
4. Cryo-EM structure of mammalian V-ATPase. 西田結衣 中西温子 中野敦樹 上田楓華 光岡薫 横山謙 第 21 回国際生物物理学会 会場 国立京都国際会館 06/2024 ポスター発表
5. Structural analysis of mammalian V-ATPase. 西田結衣 中西温子 中野敦樹 上田楓華 光岡薫 横山謙 第 24 回日本蛋白質科学会年会 会場 札幌コンベンションセンター 06/2024 ポスター発表
6. Purification of Mammalian V-ATPase and Determination of Inhibitor Binding Structure. 西田結衣 中西温子 中野敦樹 上田楓華 光岡薫 横山謙 第 47 回日本分子生物学会年会 会場 福岡国際会議場 マリンメッセ福岡 11/2024 ポスター発表
7. 創薬につながる哺乳類 V-ATPase の精製と構造解析の試み 西田結衣 中西温子 岡本佳乃 光岡薫 横山謙 日本生体エネルギー研究会第 50 回討論会 会場 名古屋大学野依記念学術交流館 12/2024 ポスター発表
8. Pannexin-3 の構造解析 寺村龍河 津山泰一 横山謙 第 24 回日本蛋白質科学会年会 会場 札幌コンベンションセンター 6/2024 ポスター発表
9. Pannexin-3 の構造解析 寺村龍河 津山泰一 横山謙 第 21 回国際生物物理学会 会場 国立京都国際会館 06/2024 ポスター発表
10. Liposome 上での LRRC8A の高分解構造解析の試み 寺村龍河 津山泰一 中野敦樹 横山謙 日本生体エネルギー研究会第 50 回討論会 会場 名古屋大学野依記念学術交流館 12/2024 ポスター発表
11. 脂質二重膜に組み込まれた機能中膜タンパク質のクライオ電子顕微鏡単粒子解析 中野 敦樹 第 24 回日本蛋白質科学会年会 6/2024 ポスター発表
12. Structural analysis of ATP synthases embedded in a lipid bilayer under proton motive force by cryoEM. 中野敦樹 IUPAB2024 6/2024 ポスター発表udent and Early Career Researcher Poster Award
13. 自作 PC でお手軽単粒子解析 -小胞上の膜タンパク質の構造解析とともに- 中野敦樹 第 47 回日本分子生物学会年会 11/2024 招待講演
14. クライオ電子顕微鏡による ATP 合成酵素の ATP 合成中構造解析 中野 敦樹 日本生体エネルギー研究会第 50 回討論会 12/2024 口頭発表 若手発表賞受賞 FoF1-ATPase の非触媒部位の機能解明 小林廉 第 49 回日本生体エネルギー研究会討論会 会場 山口大学 吉田キャンパス 大学会館 12/2023 ポスター発表

## 6. 学外活動

日本生物物理学会, 分科会委員  
日本生体エネルギー研究会 常任幹事  
日本生化学会  
日本分子生物学会  
日本タンパク質科学会

## 7. 受賞等

なし

## 8. その他

科学研究補助金 基盤研究 (B) 「プロトン駆動力による V/A-ATPase の回転触媒機構の解明」 23K27146 研究期間: 令和 5-7 年度 研究代表者

科学研究費審査委員

産業生命科学科



## 産業生命科学科

### 【研究】

産業生命科学科（以下、当学科）では、現代社会が抱える生命科学にかかわる問題を、医療・健康、食料・資源、環境・生態の3つの領域に集約し、それぞれの領域に関連した研究を進めている。具体的には、医療・健康の領域では受精・発生の分子機構、緑藻類の光反応行動のメカニズムと意義、人獣共通感染症の原因菌やウィルスの病原性と分布、食料・資源の領域では遺伝・育種学を応用した生命資源の利用と開発、環境・生態の領域では植物の環境応答、地域社会や企業・自治体との連携による環境保全、希少動物の保全などをテーマとして掲げて研究活動を展開している。また、研究成果の実社会への発信と普及について方法論の研究を進めていることも当学科の特徴である。各教員の研究対象は、図に示すようにモデル生物（動物、原生生物）、野生動物、作物、家畜、環境保全の対象となる地域社会など多岐にわたり、さらに研究の視点もミクロからマクロまで多様である。これらの教員が学科内で交流を持ちながら、個々の視野の裾野を広げて研究を推進できる環境が整っている。人類が直面する課題（たとえば、近年世界的なパンデミックを引き起こした新型コロナウイルス感染症の問題や、国連が定めた持続可能な開発目標にて示されている具体的な社会課題や行動目標）に対して、生命科学に基づく解決策を提示するとともに実社会への研究成果の発信と普及の実現を通じて貢献することを目指している。



## 【教育】

下表は、当学科の専任教員が担当する主な授業科目のリストである。全体的なカリキュラムの構成は、入学後に生物学、化学の基礎を学んだ後、1、2年次で基礎専門科目、その後に専門性のより高い科目を履修できるようになっている。1年次終了時に学生は、「医療と健康コース」、「食と農コース」、「環境と社会コース」のいずれかのコースを選択し、2年次以降は選択したコースに配置された科目を中心に受講する。幅広い知識と視野を身に付けるために、選択したコース以外のコースに配置された専門科目も受講できるように配慮されている。また、生命科学と実社会とのつながりを体験するために、生命科学1、2および生命科学インターンシップを開講していることは当学科のカリキュラムの特徴である。学生は3年の秋セメスターの産業生命科学特別研究1から各教員の研究室へ分属し、最終年度には、産業生命科学特別研究2で本格的な卒業研究に取り組む。卒業後は、食品、製薬、バイオ関連企業、公務員、学芸員などへの就職に加えて、大学院への進学（京都産業大学大学院生命科学研究科など）を見込んでいる。2024年度は当学科の3期生にあたる37名が卒業した（うち、医療と健康コース6名、食と農コース19名、環境と社会12名）。また、2名が卒業と同時に学芸員課程を修了した。

| 科目名                 | 配当学年 | 担当教員     | 科目名          | 配当学年 | 担当教員     |
|---------------------|------|----------|--------------|------|----------|
| フレッシューズセミナー         | 1    | 学科全教員    | 生物の基礎        | 1    | 川上       |
| 生物学通論A              | 1    | 前田       | 化学の基礎        | 1    | 前田       |
| 生物学通論B              | 1    | 野村       | 産業生命科学演習1    | 1    | 染谷       |
| 化学通論A               | 1    | 若林       | 産業生命科学演習2    | 1    | 若林       |
| 化学通論B               | 1    | 佐藤       | 生命科学リテラシー    | 1    | 佐藤       |
| 生命科学概論              | 1    | 野村、前田、若林 |              |      |          |
| 産業生命科学英語1           | 2    | 川上、三瓶    | 農学概論         | 2    | 三瓶       |
| 産業生命科学演習3           | 2    | 寺地       | 農業生物学        | 2    | 寺地、野村    |
| 生物学実験               | 2    | 木村、寺地    | 里山生態学        | 2    | 三瓶       |
| 化学実験                | 2    | 染谷、若林    | 地域環境論        | 2    | 西田       |
| 生命倫理                | 2    | 前田       | 環境生態学1       | 2    | 木村       |
| 生命医科学1              | 2    | 佐藤       | 微生物学         | 2    | 染谷       |
| サイエンスコミュニケーション      | 2    | 川上       | バイオイノベーション   | 2    | 川上       |
| 日常生活と生命科学           | 2    | 木村、染谷、前田 | 食農文化・政策      | 2    | 西田       |
| 遺伝学                 | 2    | 寺地       | 環境経済学        | 2    | 西田       |
| 創薬医療ビジネス            | 2    | 川上       | 生命科学PBL1     | 2    | 三瓶、西田    |
| サイエンスキャリアプランニングセミナー | 2    | 木村、佐藤    | 健康・医療概論      | 2    | 染谷       |
| 環境生命科学              | 2    | 若林       | 食料資源学1       | 2    | 寺地       |
| 食料資源学2              | 3    | 寺地、野村    | アグリビジネス論     | 3    | 三瓶       |
| 公衆衛生学               | 3    | 前田       | 生命科学PBL2     | 3    | 木村、三瓶、西田 |
| 保全生物学               | 3    | 野村       | 生命科学インターンシップ | 3    | 川上、西田、若林 |
| 産業生命科学英語2           | 3    | 川上、西田    | 環境生態学2       | 3    | 若林       |
| 現代社会と生命科学           | 3    | 寺地、野村    | 産業生命科学特別研究1  | 3    | 学科全教員    |
| 感染症学                | 3    | 高桑       |              |      |          |
| 産業生命科学特別研究2         | 4    | 学科全教員    |              |      |          |

# 生命文化学研究室

Laboratory of science communication

准教授 川上雅弘

Associate Prof. Masahiro Kawakami, Ph.D.



## 1. 研究概要

生命科学は、生命現象の理解を通して医療技術の向上や食物生産などに寄与するに留まらず、新たな生命観や社会的課題もうみだしている。本研究室では、生命科学の社会的文化的側面に着目し、生命科学と社会の接点で生じる現象や課題を対象に、科学コミュニケーション、科学教育、科学技術ガバナンスの観点から研究を行う。

### (1) 生命科学の利活用に関する教育の研究

ゲノム科学の発展は、治癒困難だった病気の診断や治療法開発に留まらず、個人の遺伝子検査による病気の予見をも可能としている。このような技術が広がる社会では「自らの遺伝子を調べること」の科学的・社会的意味を学び、誤解なく利活用する能力が求められる。しかし、日本の中等教育ではDNAや遺伝子、ゲノムの概念理解を扱う一方で、ヒトの遺伝子検査やゲノム医療を学ぶ教育カリキュラムがない。そこで、ゲノム医療や再生医療に焦点を当て、各医療の利点だけでなく課題も含めた認識向上と利活用に関する意思決定に資する教育プログラムの開発を行う。

### (2) 生命科学への市民参加手法の開発

生命科学研究の中でも、特に倫理的・法的・社会的課題(ELSI)の課題への対応が求められ、世代を超えた影響も考えられる、ヒトの生殖細胞を作成する研究やヒト受精卵にゲノム編集を施すような生命科学研究に焦点を当て、これらの研究進展への一般市民の認識や意見抽出、情報共有に資する対話手法の開発を行う。

## 2. 本年度の研究成果

### (1) 科学を社会と共有する手法の開発

昨年度より海外の取り組み事例を参考にしながら、ELSI 課題について認識し自分ごととして考えるためのワークショップに用いるカード型教材の開発を進め、森林の持続的利用をテーマにした内容やゲノム編集技術の医療技術や農業への有効性と課題を題材とする内容のカード型教材の開発を進めた。さらに、これらを用いて、大学生や高校生を対象にワークショップを実施し、教材としての有効性の検証を始めている。また、科学コミュニケーターが集まる大会にてブースを出展して本教材を紹介する機会を設け、科学コミュニケーターや高校や中学の教員などを対象に本教材を紹介した。ワークショップ参加者に対するアンケート調査の結果からは、対話を経る

ことで新たな意見や考えを知り、自身の意見や気持ちの変化を感じたといったことのほか、他の参加者に対して質問や意見を表明することができるといった結果が得られた。このようなことから、本教材が対話的な学びや主体的な学びを伴いながら、非専門家の意見抽出についての有用性を確認した。次年度は規模を拡大して試行し、教材の評価を行う予定である。

## 3. Research projects and annual reports

Life sciences are not only contributed to improving medical technologies and food production through the understanding of life phenomena but also provide new perspectives on life and social issues. Focusing on the social aspects of life sciences, we will conduct research from the perspectives of science communication, science education, and science and technology governance, targeting the issues between life sciences and society.

### 1) Develop methods to share science & ELSI with society.

Since last year, we have been creating card-style teaching materials for use in workshops that help people think about ELSI (Ethical, Legal, and Social Issues) as personal and relevant topics. These materials are based on real-life examples from other countries and cover topics such as the sustainable use of forests and the benefits and challenges of genome editing in medicine and agriculture. We have started using these materials in workshops for university and high school students to test how effective they are as educational tools. We also introduced the materials at a conference for science communicators, where we shared them with science communicators as well as high school and middle school teachers. According to surveys from the workshops, participants said the discussions helped them gain new ideas and viewpoints. They also felt their own opinions and feelings changed through the dialogue, and they were able to ask questions and share their thoughts with others. These results show that the materials help support interactive, self-driven learning and encourage people who are not experts to speak up and think deeply. Next year, we plan to run more workshops and further

evaluate how useful the materials are in different settings.

#### 4. 論文・著書など

なし

#### 5. 学会発表など

川上雅弘: 気候変動対策の対話を経験するための教材の開発.  
日本科学技術社会論学 第23回年次研究大会, 東京大学,  
2024.11.30-12.1

#### 6. その他

##### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤(C)

課題名: 理科を専攻しない学生の文脈を重視した、小学校教員養成のための理科教科書の開発

研究分担者: 川上雅弘, 取得年度: R2-6 年 (5 年)

科学研究費補助金・基盤(B)

課題名: 細胞の人為的改変に対する制度論と印象論の接合  
研究分担者: 川上雅弘, 取得年度: R3-6 年 (4 年)

科学研究費補助金・基盤(C)

課題名: アレルギー疾患児への適切な対応を指向するための  
教員の基礎的知識向上に関する研究

研究分担者: 川上雅弘, 取得年度: R6-8 年 (3 年)

科学研究費補助金・挑戦的研究(萌芽)

課題名: DIY バイオの市民認識とその ELSI 教育の開発

研究代表者: 川上雅弘, 取得年度: R4-6 年 (3 年)

科学研究費補助金・基盤(B)

課題名: 「科学・公民」教育としての気候市民会議プログラムの開発

研究分担者: 川上雅弘, 取得年度: R5-7 年 (3 年)

国立研究開発法人科学技術振興機構(JST-RISTEX) RInCA

課題名: 工学生物学の ELSI 検討と『責任ある』研究開発エコシステムの構築

研究分担者: 川上雅弘, 取得年度: R6-8 年 (3 年)

##### 2) 知財権等 なし

##### 3) 学外活動

石原研治, 川上雅弘, 鈴木一史: 第 24 回日本再生医療学会  
総会 中高生のためのセッション 企画・担当

川上雅弘: 日本再生医療学会代議員

##### 4) 受賞等 なし

##### 5) その他

大阪大学 SEEDS プログラムで実施された SEEDS2024 分野横断型ワークショップ「『脱炭素社会に向けた動き』をいろんな側面から考えてみる」に、気候変動を題材にした対話用カード教

材を提供し、ワークショップを実施。大阪大学豊中キャンパス,  
2024.9.21

株式会社ロフトワークとの共催で『探究する力を育む「DIY バイオ」の可能性』というテーマで、教育関係者向け体験ワーク&ディスカッションの企画を実施。FabCafe Kyoto, 2024.10.5  
生命文化化学研究室としてのブース出展: 気候変動×カードゲーム〜対話で知る科学〜と題して、作成したカード教材の展示・解説・実演など。科学技術振興機構(JST)主催 サイエンスアゴラ 2024, テレコムセンタービル(東京・お台場 青海地区), 2024.10.26-27



サイエンスアゴラ 2024 にて(2024 年 10 月)



2・3・4 期生の集合写真(2024 年 10 月)

2 期生: 桑村さん、高倉さん

3 期生: 河野さん、北原君、中野さん、森本さん、土井君

4 期生: 檜原さん、桂さん、畔柳さん、杉森君、田口君、堀内君、渡邊君



祝卒業! (2025 年 3 月)

# 植物生態進化発生学研究室

Laboratory of Plant Ecological and Evolutionary

Developmental Biology

教授 木村 成介

Prof. Seisuke Kimura, Ph. D.



## 1. 研究概要

生物の形の多様性が生じる仕組みを、「発生」「進化」「環境」の3つの観点から理解しようとするのが生態進化発生学である。本研究室では、植物の形の多様性に興味を持ち、生態進化発生学を核とした研究を進めている。具体的には以下の3つの研究を展開している。

### (1) 葉の形態の表現型可塑性の研究

北米に分布する半水生植物 *Rorippa aquatica* は、生育環境に応答して葉の形態を変化させる表現型可塑性を示す。この植物は、水没すると葉身が針状のギザギザの葉を発生する一方、陸上では生育環境に依存して丸い葉からギザギザの葉まで様々な形の葉を発生する。このような変化は、水の抵抗を軽減したり、効率良く光合成を行なうために役立っていると考えられ、発生と環境の相互作用を理解するための最良のモデルとなる。そこで私たちは、*R. aquatica* の表現型可塑性の研究を進めている。

### (2) 葉の形態の多様性の進化発生学的研究

自然界にはさまざまな形の植物がいる。その中でも葉の形は大きな変化に富み、植物の形を特徴づけているといっている。本研究室では、このような葉の形態の多様性が進化の過程でどのように生み出されているのかを、発生メカニズムの違いに着目することで明らかにしようとしている。特に野菜などの栽培種がもつ特徴のある形態に注目し、発生学および遺伝学的な解析を進めている。

### (3) 植物の栄養繁殖機構の研究

植物の高い再生能力は古くから知られており、多くの植物が栄養繁殖により増殖する。*R. aquatica* は、水分状況さえ適切であれば、葉の断面に複数の不定芽を形成して再生する。栄養繁殖の分子メカニズムについては不明な点が多く、特に葉の断面からの再生についてはほとんど研究がされてこなかった。そこで、この植物をモデルにして、栄養繁殖機構を明らかにするための研究を進めている。

## 2. 本年度の研究成果

植物の水中環境への適応機構の一つとして、形態や生理的特性の可塑的变化が知られている。*Rorippa aquatica* は水陸両生のアブラナ科植物であり、従来の研究では、水没による葉形態の変化や気孔形成の抑制が報告されている。本研究では、新たな水没応答として、表皮細胞内で



図1 *Rorippa aquatica*

左: 陸上の形態 左: 水中の形態

の葉緑体分化 (Epidermal Chloroplast Differentiation, ECD) を発見し、その動態と分子機構を解析した

成熟した *R. aquatica* を水没させたところ、表皮細胞内に葉緑体のような構造が分化することを偶然発見した。この構造は陸上葉では観察されず、水没に応答して新たに分化したと考えられた。共焦点顕微鏡や組織染色により、これらが確かに葉緑体であることを確認した。さらに、時間経過観察の結果、水没 1 日目から葉緑体の分化が始まり、日数の経過とともに増加することが明らかとなった。一方で、葉緑体のサイズ自体には大きな変化は見られなかった。

透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察により、陸上葉の表皮細胞には未分化な色素体が存在し、水没によってこれらが葉緑体へと分化することが確認された。水没後の表皮細胞には、内膜・外膜・グラナ・ストロマを持つ典型的な葉緑体構造が観察された。また、デンブロン染色による検証の結果、これらの葉緑体は光合成能を持つことが示唆された。

水没応答型表皮葉緑体分化の分子基盤を明らかにするため、RNA-seq による遺伝子発現解析を行った。水没後の葉を時間経過で採取し、表皮細胞を剃刀で切り出して RNA を抽出した。その結果、水没応答に関与する遺伝子の発現変動が明らかとなった。特に、GO 解析によりエチレン応答や低酸素応答関連遺伝子が有意に変動しており、これらのシグナルが ECD 誘導に関与している可能性が示唆された。

本研究により、*R. aquatica* において水没に応答した表皮細胞の葉緑体分化 (ECD) が新たな表現型可塑性として存在することが明らかになった。この現象は、既存の色素体が水没シグナルを受けて迅速に葉緑体へ分化することで実現されている。今後は、エチレンシグナルや低酸素応答が ECD をどのように制御しているのかを詳細に解析

することで、水生植物の適応機構の理解が深まることが期待される。

### 3 . Research projects and annual reports

We are interested in plant development and environmental interactions. Currently, we have been focusing on the following three major projects.

#### (1) Analysis of phenotypic plasticity of leaf shape

Plant can alter their development, physiology and life history depending on environmental conditions, which is called phenotypic plasticity. The North American lake cress, *Rorippa aquatica*, shows heterophylly, phenotypic plasticity on leaf shape. Submerged leaves are usually deeply dissected and has needle-like blade, whereas emergent leaves are generally entire with serrated or smooth margins (Fig. 1). We investigate the mechanism of the heterophylly of lake cress.

#### (2) The evolutionary-developmental study on leaf shape

Leaf shape is one of the most diverse character all in biology and divarication patterns are key factors that determine leaf shapes. We analyzed a variation in the leaf shape using wide range of plant species.

#### (3) Molecular studies on the mechanisms of vegetative propagation

Some plant species have an amazing regenerative capacity and naturally regenerate entire individuals from explants, while many other species require optimized hormonal application. Although vegetative propagation by regeneration is widely observed across various plant species, the underlying regulatory mechanisms are mostly unknown owing to the lack of suitable experimental models. We have established a novel model system to study these mechanisms using an amphibious plant, *Rorippa aquatica*, which naturally undergoes vegetative propagation via regeneration from leaf fragments.

One of the adaptive mechanisms of plants to submerged environments is the plastic changes in morphological and physiological traits. *Rorippa aquatica* is an amphibious plant in the Brassicaceae family, and previous studies have reported changes in leaf morphology and suppression of stomatal formation in response to submergence. In this study, we discovered a novel submergence response: epidermal chloroplast differentiation (ECD), and we analyzed its dynamics and molecular mechanisms.

While submerging mature *R. aquatica*, we serendipitously discovered the differentiation of

chloroplast-like structures within epidermal cells. These structures were not observed in aerial leaves and were considered to have newly differentiated in response to submergence. Confocal microscopy and histological staining confirmed that these structures were indeed chloroplasts. Furthermore, time-course observations revealed that chloroplast differentiation began on the first day of submergence and increased over time, although there was no significant change in the size of individual chloroplasts.

Transmission electron microscopy (TEM) observations revealed that undifferentiated plastids were present in the epidermal cells of aerial leaves, and these plastids differentiated into chloroplasts upon submergence. In the epidermal cells after submergence, typical chloroplast structures, including inner and outer membranes, grana, and stroma, were observed. In addition, starch staining suggested that these chloroplasts possessed photosynthetic functions.

To elucidate the molecular basis of submergence-induced epidermal chloroplast differentiation, we performed gene expression analysis using RNA sequencing (RNA-seq). Leaves were collected at different time points after submergence, and RNA was extracted from epidermal cells isolated using a razor blade. The analysis revealed significant changes in gene expression associated with the submergence response. Gene ontology (GO) analysis showed a significant enrichment of genes related to ethylene response and hypoxia response, suggesting that these signaling pathways may be involved in the induction of ECD.

This study demonstrated that submergence-induced epidermal chloroplast differentiation (ECD) is a novel form of phenotypic plasticity in *R. aquatica*. This phenomenon occurs through the rapid differentiation of pre-existing plastids into chloroplasts upon submergence signaling. Future research focusing on how ethylene signaling and hypoxia response regulate ECD is expected to further enhance our understanding of the adaptive mechanisms of aquatic plants.

### 4 . 論文, 著書など

Arvid Herrmann, Krishna Mohan Sepuru, Pengfei Bai, Hitoshi Endo, Ayami Nakagawa, Shuhei Kusano, Asraa Ziadi, Hiroe Kato, Ayato Sato, Jun Liu, Libo Shan, Seisuke Kimura,

- Kenichiro Itami, Naoyuki Uchida, Shinya Hagihara, and Keiko U. Torii: Chemical genetics reveals cross-regulation of plant developmental signaling by the immune peptide-receptor pathway. *Science Advances* **11**, eads3718-1-17 (2025) (Issue cover)
- Seiji Takeda, Yuki Nishikawa, Tsutomu Tachibana, Takumi Higaki, Tomoaki Sakamoto, Seisuke Kimura: Morphological and Transcriptome Analysis of the Near-Threatened Orchid *Habenaria radiata* with Petals Shaped Like a Flying White Bird. *Plants* **14**, 393-1-14 (2025)
- Kota Ishibashi, Yuichi Shichino, Peixun Han, Kimi Wakabayashi, Mari Mito, Toshifumi Inada, Seisuke Kimura, Shintaro Iwasaki, Yuichiro Mishima: Translation of zinc finger domains induces ribosome collision and Znf598-dependent mRNA decay in zebrafish. *PLOS Biology* **22**, e3002887-1-30 (2024)
- 木村成介: 第6節 京野菜 ミズナ: 伝統の味わい (第2編野菜のおいしさ)「青果物のおいしさの科学 (監修山野善正)」195-201 (株式会社エヌ・ティー・エス) (2024)
- Gaojie Li, Xuyao Zhao, Jingjing Yang, Shiqi Hu, Jathish Ponnu, Seisuke Kimura, Inhwan Hwang, Keiko U. Torii, Hongwei Hou: Water wisteria genome reveals environmental adaptation and heterophyly regulation in amphibious plants. *Plant Cell & Environment* **47**, 4720-4740 (2024) (Issue cover)
- Seidai Takasawa, Kosuke Kimura, Masato Miyanaga, Takuya Uemura, Masakazu Hachisu, Shinichi Miyagawa, Abdelaziz Ramadan, Satoru Sukegawa, Masaki Kobayashi, Seisuke Kimura, Kenji Matsui, Mitsunori Shiroishi, Kaori Terashita, Chiharu Nishiyama, Takuya Yashiro, Kazuki Nagata, Yoshikazu Higami, Gen-ichiro Arimura: The powerful potential of amino acid menthyl esters for anti-inflammatory and anti-obesity therapies. *Immunology* **173**, 76-92 (2024)
- 坂本智昭、木村成介: アブラナ科水陸両生植物 *Rorippa aquatica* のゲノム解読と比較解析. *植物科学最前線 (BSJ-Review)* **15**, 81-86 (2024)
- Hiroyuki Koga, Shuka Ikematsu, Seisuke Kimura: Diving into the Water: Amphibious Plants as a Model for Investigating Plant Adaptations to Aquatic Environments. *Annual Review of Plant Biology* **75**, 579-604 (2024)
- Seiji Takeda, Makiko Yoza, Sawako Ueda, Sakura Takeuchi, Akiteru Maeno, Tomoaki Sakamoto, Seisuke Kimura: Exploring the diversity of galls on *Artemisia indica* induced by *Rhopalomyia* species through morphological and transcriptome analyses. *Plant Direct* **8**, e619-1-14 (2024)
- Tomoaki Sakamoto, Shuka Ikematsu, Hokuto Nakayama, Terezie Mandáková, Gholamreza Gohari, Takuya Sakamoto, Gaojie Li, Hongwei Hou, Sachihito Matsunaga, Martin A. Lysak, and Seisuke Kimura: A chromosome-level genome assembly for the amphibious plant *Rorippa aquatica* reveals its allotetraploid origin and mechanisms of heterophyly upon submergence. *Communications Biology* **7**, 341-1-14 (2024)
5. 学会発表など
- 木村成介、水陸両生植物の水環境への適応機構、京都産業大学生命科学セミナー、京都産業大学、2025 年 1 月 8 日 (口頭)
- 木村成介、水陸両生植物の水環境への適応機構、植物科学フロンティア研究会 2024、袋田コミュニティセンター、2024 年 12 月 13 日 ~ 12 月 15 日 (口頭)
- 宮浦由樹、吉良彰人、木村成介、川根公樹、ショウジョウバエ腸上皮の細胞ターンオーバーにおけるカスパーゼの役割、第 47 回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2024 年 11 月 27 日 ~ 11 月 29 日 (ポスター)
- 諫山慧士朗、渡邊健司、大塚正人、木村成介、村田智昭、本田健、朝霧政孝、佐藤俊、田村博史、杉野法弘、水上洋一、卵巣老化で低下する Akr1b7 の卵巣機能の解明、第 47 回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2024 年 11 月 27 日 ~ 11 月 29 日 (ポスター)
- Saori Shinoda, Tomoaki Sakamoto, Seisuke Kimura, Sawako Enoki, Yasushi Okada, Toshiya Endo: Establishment of analysis for mitochondrially-imported RNA (mitoPORT RNA) in *Saccharomyces cerevisiae*, 第 97 回日本生化学会大会、パシフィコ横浜、シンポジウム「先端技術で挑むオルガネラバイオロジー」、2024 年 11 月 7 日 (口頭) (招待講演)
- ショウジョウバカマの葉上不定芽形成機構の解明、黒田友衣、坂本智昭、池松朱夏、木村成介、日本植物学会第 88 回大会、宇都宮大学、2024 年 9 月 14 日 ~ 9 月 16 日 (口頭)
- ジャスモン酸とサリチル酸の蓄積を誘導する抵抗性誘導剤候補化合物の作用機序と効果の解析、小川瑞貴、並木健太郎、小川聡太、遠矢龍平、栗野真妃、斉藤優歩、北畑信隆、浅見忠男、木村成介、友井拓実、倉持幸司、朽津和幸、日本植物学会第 88 回大会、宇都宮大学、2024 年 9 月 14 日 ~ 9 月 16 日 (口頭)
- 水陸両生植物 *Rorippa aquatica* の水没時のガス交換を可能とするクチクラ層の透過性制御メカニズム、池松朱夏、辻野建貴、南井 啓太、坂本 智昭、信澤岳、木村成介、日本植物学会第 88 回大会、宇都宮大学、2024 年 9 月 14 日 ~ 9 月 16 日 (口頭)
- ビャクシンが示す異形葉性のメカニズムの解明、大倉一馬、木村成介、日本植物学会第 88 回大会、宇都宮大学、2024 年 9 月 14 日 ~ 9 月 16 日 (ポスター)
- Submergence-Induced Epidermal Cell Chloroplasts Differentiation in *Rorippa aquatica*, Sidhiq Dwi Fajar, 池松 朱夏、坂本 智昭、木村 成介、日本植物学会第 88 回大会、宇都宮大学、2024 年 9 月 14 日 ~ 9 月 16 日 (ポスター)
- ショウジョウバエ腸上皮の細胞ターンオーバーにおけるカスパーゼの役割、宮浦由樹、吉良彰人、木村成介、川根公樹、第 70 回日本生化学会近畿支部例会 (国立循環病研究センター)、2024 年 5 月 25 日 (ポスター)

篠田沙緒里, 坂本智昭, 木村成介, 榎佐和子, 岡田康志, 遠藤斗志也, 出芽酵母のミトコンドリアへ輸送される核コード RNA の探索手法の確立と生理学的意義の解析、第 76 回日本細胞生物学会大会、茨城県つくば国際会議場、2024 年 7 月 17 日～7 月 19 日(口頭)

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

令和 3 年度～6 年度 科学研究費助成事業(基盤研究(B))  
「植物の新奇器官「再生繁殖芽」の発生メカニズムと進化的基盤の解明」

令和 4 年度～令和 6 年度 Leverhulme Trust Research Project Grant 「Tuning the regenerative competence in Brassicaceae」(Co-Applicant)

### 2) 知財権等

該当なし

### 3) 学外活動

Editorial Board Member, Journal of Plant Research

Associate Editor, Plant Development and EvoDevo, Frontiers in Plant Science

Scientific Reports editorial board member

特定非営利活動法人ハテナソン共創ラボ 副理事長

京都植物バイテク談話会幹事

### 4) 受賞等

該当なし

### 5) その他

#### 顧問・部長

京都産業大学サイエンスコミュニケーション研究会サングラ  
顧問

京都産業大学体育会少林寺拳法部 部長

#### サングラスの活動

2024 年 7 月 7 日 大宮交通公園で小学生科学体験イベント「わくわくらボ」開催。

2024 年 9 月 11 日 京都産業大学附属すみれ幼稚園で「わくわくらボ」開催。園児約 100 名が参加。

2024 年 9 月 28 日 サタデージャンボリーで科学体験イベント開催

2024 年 11 月 23 日 サイエンスフェスタ 2024(亀岡市ガレリア亀岡)に出展。子供約 100 名が参加。

2024 年 11 月 30 日 秋のエコフェスタ「The.NorthGs」(京都市北区総合庁舎)に出展し、スライムづくり、人工イクラづくりを実施。子供約 40 名が参加。

2025 年 1 月 18 日 かみがもラボ(上賀茂小学校児童向け科学体験イベント)(上賀茂おやじの会主催)開催。児童約 40 名参加)

2025 年 2 月 8 日 姫路市立手柄小学校わくわくらボ開催。児童約 30 名が参加。(手柄小学校おやじ塾主催)

2025 年 3 月 1 日 京都産業大学・新興出版社啓林館連携わくわく学習教室 低学年向け科学体験イベント「科学の不思議にふれてみよう!!」(低学年児童 41 名参加)



令和 6 年度卒業式



## 卵細胞発生情報研究室

Laboratory of Oocyte Biology

### 1. 研究概要

私たちは、チロシンキナーゼ Src が関与する細胞機能の解明を目的として、アフリカツメガエル *Xenopus laevis* の卵細胞をモデルに研究を行っている。卵細胞内の Src タンパク質を生化学的に同定・精製し、受精に伴いそのチロシンキナーゼ活性が顕著に上昇することを明らかにした。この知見は、当時ウニ卵を用いた研究ですでに知られていたが、脊椎動物では初めての報告であり、かつその分子実体を特定した点において、生物種を超えた世界初の発見であった。続く研究では、受精によって活性化された Src の生理機能の解明に重点を置き、Src が体細胞においても基質として知られるホスホリパーゼ C  $\gamma$  (PLC  $\gamma$ ) をリン酸化・活性化することで、受精時に見られる普遍的現象——すなわち卵細胞内カルシウム濃度の一過の上昇と、それに続く卵活性化(egg activation)という一連の生化学的・細胞生物学的応答を誘導していることが明らかとなった。ここ数年は、以下の 2 点に焦点を当てて研究を進めている: 1) 受精により Src がどのように活性化されるか。2) 精子と卵がどのようにして接着・融合するのか。体細胞では、Src は成長因子や環境ストレスに応答して活性化されることが知られているが、卵細胞における Src 活性化は、精子との相互作用によってトリガーされることが示唆されている。しかし、その具体的な実行因子や卵側の受容体分子の実体は依然として不明である。マウスにおいては、卵側の CD9(4 回膜貫通型タンパク質)および精子側の Izumo1(1 回膜貫通型タンパク質)が、配偶子膜融合に必須であることが示されている。これにより、*Xenopus* においても類似の分子機構が存在する可能性が高い。私たちはこれまでに、卵細胞膜マイクロドメインに局在するウロプラキン III(Uroplakin III)が、精子との相互作用および Src 活性化に重要な役割を果たしていることを見出してきた。今後は、ウロプラキン III の構造・機能をさらに詳しく解析することで、受精成立の分子機構の全体像の解明を目指している。さらに近年の研究から、酸化ストレスや機械的刺激によって引き起こされる「卵の過剰活性化(overactivation)」が、非アポトーシス性の壊死的細胞死を誘導することが示された。特に、自発的に起こる過剰活性化現象においても、卵皮質の急速かつ不可逆的収縮、卵サイズの増大、ATP の枯渇、ADP/ATP 比の上昇、M 期サイクリン B2 の分解が確認さ

教授 佐藤 賢一 Prof. Ken-ichi SATO, Ph. D.

れており、細胞膜の破綻による ATP および ADP の漏出が明確に観察されている。これらは、卵が壊死に陥ることを明確に示す生化学的サインである。重要なのは、この過剰活性化がカエルの生殖管内においても発生し得るという新知見であり、産卵時の機械的ストレスが誘因となる可能性が示唆されている。こうした事象は、受精の成否や卵の生存性に影響を及ぼす可能性があることから、Src の活性化と過剰活性化との関連性や分子メカニズムの交差点を探ることが、今後の研究課題として重要になっている。

### 2. 本年度の研究成果

カエルの卵の過剰な活性化はオーバーアクチベーションと呼ばれ、強い酸化ストレスによって引き起こされ、カルシウム依存のかつアポトーシスを伴わない細胞死が急速に進行する。過剰活性化は自然に産卵されたカエルの卵でも、低頻度ながら自発的に発生することがあるが、現在のところこの自発的過程における細胞学的・生化学的イベントは明らかにされていない。本年度は、アフリカツメガエル(*Xenopus*)の卵における自発的過剰活性化が、酸化ストレスや機械的ストレスによって誘導される過剰活性化と同様に、以下の特徴を持つことを示すことができた: 1) 卵の皮質層の急速かつ不可逆的な収縮、2) 卵サイズの増加、3) 細胞内 ATP の枯渇、4) 細胞内の ADP/ATP 比の著しい上昇、5) M 期特異的サイクリン B2 の分解。これらの現象は、カスパーゼの活性化を伴わず、過剰活性化の引き金となってから 1 時間以内に卵内で発生する。重要な点として、過剰活性化した卵からは大量の ATP および ADP が漏出し、細胞膜の完全性が損なわれていることが明らかとなった。細胞膜の破壊と細胞内 ATP の急速な枯渇は、壊死性細胞死(ネクローシス)の明確な指標である。最後に、本年度の研究では、カエルの生殖管内でも卵の過剰活性化が発生しうることも報告することができた。これらのデータは、産卵時の機械的ストレスが、卵の過剰活性化を促進する重要な因子である可能性を示唆している。

### 3. Research projects and annual reports

The excessive activation of frog eggs, referred to as overactivation, can be initiated by strong oxidative stress, leading to expedited calcium-dependent

non-apoptotic cell death. Overactivation also occurs spontaneously, albeit at a low frequency, in natural populations of spawned frog eggs. Currently, the cytological and biochemical events of the spontaneous process have not been characterized. In the present study, we demonstrate that the spontaneous overactivation of *Xenopus* frog eggs, similarly to oxidative stress- and mechanical stress-induced overactivation, is characterized by the fast and irreversible contraction of the egg's cortical layer, an increase in egg size, the depletion of intracellular ATP, a drastic increase in the intracellular ADP/ATP ratio, and the degradation of M phase-specific cyclin B2. These events manifest in eggs in the absence of caspase activation within one hour of triggering overactivation. Importantly, substantial amounts of ATP and ADP leak from the overactivated eggs, indicating that plasma membrane integrity is compromised in these cells. The rupture of the plasma membrane and acute depletion of intracellular ATP explicitly define necrotic cell death. Finally, we report that egg overactivation can occur in the frog's genital tract. Our data suggest that mechanical stress may be a key factor promoting egg overactivation during oviposition in frogs.

#### 4. 論文, 著書など

- 1) Alexander A Tokmakov, Ryuga Teranishi, Ken-Ichi Sato.  
(2024) Spontaneous Overactivation of *Xenopus* Frog Eggs Triggers Necrotic Cell Death. Int J Mol Sci. 2024 May 13;25(10):5321. doi: 10.3390/ijms25105321.
- 2) 佐藤 賢一 (2024) ハテナソンの本: 問いづくりへの旅. 新評論. ISBN978-4-7948-1277-3 C0037

#### 5. 学会発表など

- 1) 土井香波、萩野姫奈、宮本大和、佐藤賢一 (2024) ツメガエルラン細胞の卵卵と成熟過程におけるウロプラキシンⅢの役割について: 第 47 回日本分子生物学会年会: 第 47 回日本分子生物学会年会
- 2) 萩野姫奈、土井香波、宮本大和、佐藤賢一 (2024) 長期培養によるツメガエル卵母細胞の老化と機能破綻における細胞内活性酸素種の関与: 第 47 回日本分子生物学会年会
- 3) 宮本大和、土井香波、萩野姫奈、佐藤賢一 (2024) 細胞容積感受性塩素チャネル阻害剤 NPPB がツメガエル卵母細胞形態およびアポトーシスに与える影響: 第 47 回日本分子生物学会年会
- 4) 井尻貴之、中西裕紀、小澤良敏、岩崎哲史、佐藤賢一 (2024) アフリカツメガエル受精時の卵細胞膜マイクロドメインに着

目したシグナル伝達に関するタンパク質の同定: 第 47 回日本分子生物学会年会

#### 6. その他特記事項

- 1) 外部資金 基盤研究 (C) エージェンシー発揮を目標とした情報活用能力 (情報モラルを含む) 育成方法の開発. 分担 (課題番号: 24K06294)
- 2) 知財権等 該当なし
- 3) 学外活動 Associate editor (Frontiers in Cell and Developmental Biology)  
<https://loop.frontiersin.org/people/924246/overview>、公益財団法人大学基準協会大学評価委員会 幹事、特定非営利活動法人ハテナソン共創ラボ 代表理事、一般社団法人 Question Lab 理事、兵庫県立尼崎高等学校運営指導委員会 副委員長
- 4) 受賞等 該当なし
- 5) その他 中学・高校・大学授業: 広島市立舟入高等学校、兵庫県立須磨友が丘高等学校、近畿大学附属高等学校、京都府立須知高等学校、徳島県立池田高等学校、筑波大学附属高等学校など、教員研修: 兵庫県教育委員会、御殿場市立御殿場中学校など、一般向けワークショップ: ハテナソン・ファシリテータ養成セミナー、クエスチョンデザイナー認定セミナーなど

研究室ホームページ:

[https://peraichi.com/landing\\_pages/view/ksusatolabsince2007](https://peraichi.com/landing_pages/view/ksusatolabsince2007)



2024 年度研究室イベントでの様子

# 食農システム学研究室

Laboratory of Sustainable Agriculture and Food Systems

准教授 三瓶由紀

Assoc. Prof. SAMPEI, Y., Ph. D.



## 1. 研究概要

私たちの生活は、農作物などの食料や、工業原料、医薬品など、多様な生物資源により成立している。「生態系」「生物種」「遺伝子」といった様々なレベルでの多様性の保全が必要であり、それらの持続可能な利用のあり方の提示が求められている。また、その実現に向けては、人間活動と地域がどのように関わっているのかを理解し、有効な社会システムを検討することも大切である。

本研究室では、こうした観点から、生物資源としての食と農に注目し、社会科学的なアプローチにより、地域資源循環系の構築、生態系サービスと持続可能な供給システム、地域生産物の価値の創出といった研究に取り組んでいる。

地域資源循環については、地域の人々のつながりを踏まえた社会システムのあり方について検討している。例えば、生ゴミを堆肥化し、その堆肥を使って野菜を育て、地域で消費することで、有機性廃棄物が削減されることが期待できるが、その実現に向けては、生ごみの排出量や削減量、堆肥の成分分析などの数値的な把握だけでなく、どのような人であれば参画してくれるか、社会の受け入れ体制はどうあるべきか、といった点も踏まえて明らかにする必要がある。

また、農地や里山は、生物資源の生産の場としてだけでなく、空気や水の浄化、レクリエーションや環境教育の場など、多様な生態系サービスを提供している。生態系サービスは農村に多くみられる資源であるが、このような生態系サービスの便益は農村住民のみならず、都市住民にも幅広くもたらされており、都市と農村のあり方を検討する上で重要な視点となる。持続可能な生態系サービスの供給のためにどのような仕組みが期待されるのか、どのように都市と郊外を結びつける工夫が求められるか、人と自然の適度な関わりのあり方について検討するため、農地や里山の環境評価などを実施するとともに、人々の生態系サービスへの関心への影響要因の解明にも取り組んでいる。

## 2. 本年度の研究成果

近畿圏を対象に、地域資源としての利活用や自然共生社会の実現の観点から、自然・植物の機能を活かした事例について、引き続きデータの収集・分析を行った。

地域の自然とのかかわりの中で培われてきた地域資源の利活用の把握については、引き続き、明治末期から昭和中期にかけて湯呑茶碗に描かれた植物・景観に関する

分析を行った。その結果、松柏科植物や田園風景・農村景観への価値の見出しなど、従来、絵画や文献などから指摘されていた傾向が湯呑茶碗の模様においても確認され、大正から昭和前期の人々の風景観を表しうるものとして貴重な資料となりえることが示唆された。

また伝統的作物による文化的景観の保全と活用に関して、京都市左京区大原地区を対象に赤シソ畑景観に着目して分析を行った。大原地区の赤シソは生産物・加工品としてだけでなく、観光者の視覚に訴えかける視対象として活用可能な分布特性を有することが明らかとなった。

自然共生社会の実現については、世界農業遺産へ申請中の有田・下津地域を対象に、自然共生システムの構築における世界農業遺産制度の可能性と課題を検討するため、長期にわたるランドスケープの変遷ならびに伝統的知識について分析を行った。GIS 解析による 1960 年代、1970 年代、2020 年代の農業・森林土地利用変化の分析から尾根筋の雑木林の重要性が示唆されたほか、伝統的知識の一部が形式知化されている一方で、暗黙知として存在しているものも多く、暗黙知の経験による共有・継承するための保全体制の構築の必要性が示唆された。

そのほか野生動物、特に哺乳類の半自然的環境への出現状況と影響要因について、地方国立大学、農業公園、国営公園と連携して研究を実施し、人間の活動場所との距離が近い残存林においても、多様な哺乳類が生活圏を共有しながら生息している実態が明らかとなった。

## 3. Research projects and annual reports

Biodiversity and ecosystem services play a crucial role in sustaining human life in various ways. Traditional Satoyama landscapes in Japan, which historically provided rich ecosystem services, have been increasingly threatened by rapid socio-economic changes in recent years. To ensure the sustainable provision of these ecosystem services, it is essential to develop effective countermeasures based on the dynamic interactions between nature and human activities.

We have continued to study on cases of nature- and plant-based resource utilization in the Kinki region, to understand their potential as regional assets and their contribution to fostering a society in harmony with nature. Regarding the use of local resources cultivated through long-standing human-nature interactions, we examined the depiction of

plants and landscapes on teacup bowls from the late Meiji period to the mid-Showa period. Our analysis confirmed the cultural significance of pine species, rural and farming landscapes. Patterns observed on teacup bowls reflected trends previously identified in historical paintings and documents, suggesting that these artifacts serve as valuable representations of people's perceptions of landscapes from the Taisho to early Showa period.

Additionally, we conducted a study on the preservation and utilization of cultural landscapes characterized by traditional crops in the Ohara district of Sakyo Ward, Kyoto City, with a focus on red shiso (*P. frutescens* var. *crispa* f. *purpurea*). Our findings indicate that red shiso in Ohara is not only valued as a product or processed good but also plays a role in enhancing the visual appeal of the landscape for tourists.

In our research for the realization of a nature-symbiosis society, we also conducted a survey of the Arita-Shimotsu area, which is currently under application for World Agricultural Heritage status. We analyzed the long-term changes in the landscape and traditional local knowledge, to examine the possibilities and challenges of the World Agricultural Heritage system in establishing a system of symbiosis with nature. The analysis of agricultural and forest land use changes in the 1960s, 1970s, and 2020s suggested the importance of ridge-top forests, and while some of the traditional knowledge has been become explicit knowledge, much of it exists as tacit knowledge. The need to build a conservation system to share and pass on tacit knowledge through experience was suggested.

In addition, research was conducted on the occurrence of wild animals, especially mammals, in semi-natural environments and the factors that influence them, in cooperation with regional national universities, agricultural parks, and national parks, revealing the reality that a variety of mammals share living areas in remnant forests that are close to places of human activity.

#### 4. 論文、著書など

木本有紀, 原祐二, 三瓶由紀: 和歌山大学敷地内における自動カメラを活用した哺乳類の出現状況 南紀生物 66(1), 72-77 (2024)

升田昌吾, 原祐二, 木本有紀, 三瓶由紀: 和歌山大学敷地内における多地点自動カメラを活用した哺乳類相の把握とイノシシの生息密度推定 環境情報科学論文集38, 209-214 (2024)

#### 5. 学会発表など

都市化による切盛造成と付随する建設発生土流動の環境影響  
評価: 原 祐二、三瓶 由紀、日本地理学春季学術大会、青山学院大学、2024年3月19日～21日

和歌山県海南市下津地域におけるランドスケープの変遷: 中谷 妃那、政家一文、原 祐二、三瓶 由紀、2024年度環境情報科学 研究発表大会、日本学会館、2024年12月9日

京都市大原地区における地域資源としての赤シソの活用可能性: 石本溪人、原 祐二、三瓶 由紀、2024年度環境情報科学 研究発表大会、日本学会館、2024年12月9日

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究(C)

課題名: 世界農業遺産の申請を通じた新たな人的ネットワークの構築における課題と可能性

研究代表者: 三瓶由紀, 取得年度: R5-R8年

##### 2) 知財権 「該当なし」

##### 3) 学外活動 三瓶由紀: 日本造園学会査読委員,

##### 4) 受賞等 「該当なし」

##### 5) その他



大原地区におけるフィールド調査の様子

## 細菌学研究室

Laboratory of Bacteriology

准教授 染谷 梓

Assoc. Prof. Azusa SOMEYA, D.V.M., Ph.D.



### 1. 研究概要

微生物はあらゆる場所に存在しており、時に動物や人の健康を脅かすこともある。なかでも動物と人の双方に感染する微生物は、人と動物との関わり方が多様化する現代社会において、人獣共通感染症や食品衛生上の問題を引き起こす可能性があるため、大きな注目を集めている。当研究室では、動物と人との間に入って病原体の受け渡し役を担っているマダニや野生動物の疫学調査を実施し、これらのマダニが媒介する感染症が自然界でどのように維持されているのかを解明することをめざしている(図)。また、食肉の流通現場における大腸菌の抗菌薬耐性について調査し、食肉を介し、動物と人との間でどのように耐性遺伝子が拡散していくのかを研究している。



図. 調査地において撮影された野生動物。A. イノシシ B. ネズミ C. ハクビシン D. シカ

### 2. 本年度の研究成果

マダニやノミなどの吸血性の節足動物は、ヒトと動物の双方に寄生することから、さまざまな人獣共通感染症の病原体を媒介する可能性がある。国内においては、マダニ媒介性の *Rickettsia japonica* による日本紅斑熱の発生の増加が危惧されている。京都市におけるマダニの分布をより詳細に明らかにするため、マダニの採集調査を継続して実施した。今年度は、これまで検出されていたリケッチアの遺伝学的性状について、多検体を使用して解析を進めた。その結果、マダニ種ごとに保有するリケッチアが異なること、遺伝的にほぼ同一のリケッチアが、長期間にわたり維持されていることが明らかとなった。引き続き研究を進め、これらのリケッチアの人や動物への病原性について解析していく必要がある。また、調査地には多数の野生動物が生息し

ている。これらの野生動物が、マダニの生活環にどのように関与しているか検討するため、今年度も野生動物の赤外線カメラによる生態調査を実施した。さらに、シャーマントラップを利用した小型野生動物の捕獲調査も実施している。野生生物の分布状況に大きな変動は認められなかった。一方、新型コロナウイルス感染症流行時は、緊急事態宣言中に行動制限がなされるなど、人の活動に大きな変動があった。今年度は、この変動が野生動物の生態やマダニの生態に与える影響について、統計学的に解析する試みを開始した。

近年、市街地への野生動物の侵入が問題となっており、野生動物からの感染症の伝播が危惧されている。当研究室では、近年生息数の増加が問題となっているハクビシンからバルトネラを分離した。バルトネラはネコひっかき病などの人獣共通感染症を引き起こす細菌で、ノミなどの媒介によりヒトに感染する。分離されたバルトネラは、ヒトにおける病原性が報告されている *Bartonella henselae* と、これまでハクビシンから分離されたことのない *Bartonella clarridgeiae* と同定された。これらの分離株について、塩基配列解析を実施したところ、ハクビシンから分離されたバルトネラは、ヒトやネコから分離されたバルトネラと高い相同性を示すことが明らかとなった。ハクビシンが保有するバルトネラの、野生動物やヒトにおける病原性については未知であるため、引き続き詳細に解析するとともに、媒介する節足動物や、その感染環について調査し、感染経路を明らかにしていく必要がある。今後も引き続き、これらの野生動物の病原体感染状況等を検討していく。

薬剤耐性菌は、細菌感染症の治療の際、使用できる抗菌薬が制限されるなど、公衆衛生上の問題となる。家畜への抗菌薬の使用により出現した耐性菌が食肉に付着し、人へと伝播する可能性が示唆されている。そこで当研究室では、食肉検査を実施する現場における薬剤耐性菌の現状を把握するため、食肉検査場の環境中から大腸菌を分離し、薬剤感受性の調査を継続して実施している。分離した薬剤耐性菌の耐性が他の大腸菌に伝播することが明らかとなったため、引き続きこれらの株の薬剤耐性等に注視していく必要がある。

### 3. Research projects and annual reports

The microorganism exists in any places, and might threaten human and animal health. Zoonotic and food

poisoning microorganism which can infect both animals and humans cause concern for public health.

Arthropods can transmit zoonotic pathogens such as spotted fever group rickettsiae. *Rickettsia japonica*, the etiological agent of Japanese spotted fever is also associated with arthropod vector, mainly ticks. Therefore, the prevalence of ticks in Kyoto was investigated. Ticks were collected weekly by flagging method and rickettsial DNA was detected by PCR.

The drug resistant bacterium in food processing can spread the drug resistance to commensal microflora in human. Therefore, susceptibility to antimicrobials in *Escherichia coli* isolated from slaughterhouse was investigated. *E. coli* isolated from the swab samples obtained from the barn which pigs and cattle were tied for slaughter were resistant to ampicillin, gentamicin, streptomycin, chloramphenicol and tetracycline and showed multidrug resistance.

#### 4. 論文, 著書など

なし

#### 5. 学会発表など

中川 侑哉、小園 紗希、有地 蘭、仲澤 怜、中峯 梢恵、西村 暁、竹谷 香南、古賀 由希恵、前田 秋彦、染谷 梓。“京都市に生息するマダニにおけるリケッチアの保有状況の推移” 日本獣医学会学術集会、帯広、2024 年 9 月。

前嶋 勲、福田 美樹、Robert Klaus Hofstetter、染谷 梓、前田 秋彦。“日本脳炎ウイルスのエンベロープ糖蛋白質ドメイン III に結合するペプチドの検索” 日本ウイルス学会学術集会、名古屋、2024 年 11 月。

Hasan Md Murad, Mikako Kaneko, Sato Maeshima, Robert Klaus Hofstetter, Azusa Someya, Akihiko Maeda “Effect of amino acid substitutions on mouse adaptation of Thogotovirus” 日本ウイルス学会学術集会、名古屋、2024 年 11 月。

金子 実夏子、前嶋 勲、Hasan Md Murad, Robert Klaus Hofstetter, 染谷 梓、前田 秋彦。“トゴトウイルス(THOV)の改良型細胞融合アッセイの開発” 日本ウイルス学会学術集会、名古屋、2024 年 11 月。

#### 6. その他特記事項

##### 1) 学外活動

染谷梓: 京都市衛生環境研究所との共同研究

##### 2) その他



研究室のメンバー(卒業式にて)

# 植物分子遺伝学研究室

Laboratory of Plant Molecular Genetics

## 1. 研究概要

当研究室では、「高等植物のオルガネラゲノム」をキーワードに、それに関連する研究を実施している。実験材料として、コムギ (*Triticum aestivum*)、ダイコン (*Raphanus sativus*)、レタス (*Lactuca sativa*)、タバコ (*Nicotiana tabacum*) 及びナス (*Solanum melongena*) などの作物を用い、それらの葉緑体やミトコンドリアのゲノム並びに遺伝子の研究を行っている。ここ数年は大きく、「ゲノム編集によるミトコンドリア雄性不稔遺伝子の機能解析」と、「葉緑体の遺伝子組換えによる有用植物の作出」を研究の二本柱とし、そこから派生した各種の学術的な課題について研究を進めている。また、当初の目論見とは異なり、オルガネラゲノムには関連しないことが判明したが、当研究室で発見された「易変異性を示すタバコ」について研究を開始している。一方、学外との共同研究も実施しており、「空気の資源化」という大きな課題のもと、海洋性紅色光合成細菌のライセートが水耕栽培の肥料として使用可能かを検討する実験にも取り組んでいる。より具体的な実験内容は、以下の1)～6)の通りである。

- 1) mitoTALEN 法及び mitoTALECD 法を用いて、ナスの雄性不稔系統のミトコンドリア原因遺伝子を同定する実験
- 2) 山形県で採取したハマダイコンのミトコンドリアゲノムと稔性回復遺伝子の解析
- 3) 日本のパンコムギコアコレクションにおける稔性回復遺伝子の分布を調べる実験
- 4) タバコの葉緑体形質転換技術を利用して Rubisco 大サブユニットにアミノ酸置換をもたらす実験
- 5) 易変異性タバコにみられる各種表現型変異の原因遺伝子を探索する実験
- 6) レタスの水耕栽培において紅色光合成細菌のライセートが肥料として働くかを調べる実験

これらの実験は、学部学生、本学の植物科学研究センターで雇用している研究員、及び生命科学部の客員研究員らとともに実施しているものであるが、一部は学振や JST などから外部資金を受けている。例えば、上記 1) は、東京大学の堤教授を代表者とする基盤研究 (S) の分担者としての課題であり、所期の成果を得るべく現在も研究を継続している。また、4) の課題は、広島大学の島田准教授を代表者とする JST の ALCA-Next (グリーンバイオテクノロジー) の分担者としての課題であり、6) の課題は、京都大学の沼田教授をプロジェクトリーダーとする JST-共創の場形成支援プログラムから長期支援を受けて実施している研究で

教授 寺地 徹

Prof. Toru Terachi, Dr. Agr.



ある。

個々の研究内容を簡単に紹介すると、1) では、ナスの雄性不稔系統のミトコンドリアゲノムに存在する *orf218* 遺伝子が、雄性不稔の原因遺伝子であることを直接的に証明することを目的とする。そのため、*orf218* をゲノム編集によりノックアウトし、その植物の花粉稔性が回復するか否かを調査している。

また、2) と 3) の研究はいずれもミトコンドリアの雄性不稔遺伝子 (及び核の稔性回復遺伝子) に関連するものである。雄性不稔とは、植物の生育は正常であるにもかかわらず、機能を持った花粉が形成されない現象のことを言い、多くの高等植物で見出されている。雄性不稔のうち細胞質遺伝するものは細胞質雄性不稔 (CMS) と呼ばれ、原因遺伝子がミトコンドリアゲノムに存在するという共通点がある。しかし、CMS の原因遺伝子は、それぞれの種に固有なものであり、その詳細は個別に研究する必要がある。2) のダイコンの実験系では、ミトコンドリアゲノムに存在する雄性不稔原因遺伝子 (*orf138*) と、核ゲノムに存在する稔性回復遺伝子 (*Rf6* 及び *Rfs*) の双方の塩基配列が明らかになっている。そのため、この実験系は、稔性回復の機構を分子生物学的に解明する土台ができていく数少ない例と言える。我々はこれまで、日本各地のハマダイコンに *orf138* が見出されること、また塩基置換や欠失により *orf138* には複数のタイプが存在することを明らかにしてきた。また、稔性回復遺伝子にも配列が異なる複数のタイプがあることがわかっており、最近、特定のタイプが特定の *orf138* のタイプにのみ作用する事例を明らかにした。すなわち、ダイコンにおいては、稔性回復遺伝子の産物である PPR タンパク質と *orf138* の mRNA の結合強度が、花粉形成の可否を決めている。ダイコンではミトコンドリアの *orf138* の分化に対応して稔性回復遺伝子の種類が増加しており、この現象はミトコンドリアと核のゲノム間の進化的な軍備拡張競争の実例であると思われる。なお、3) の研究は、細胞質置換コムギという希有な材料を用いて、栽培コムギにおける稔性回復遺伝子の分布を将来的に明らかにしようとするものである。

上記 4) の研究は、葉緑体の酵素である Rubisco の大サブユニットに、ある特定のアミノ酸置換を生じさせると、CO<sub>2</sub> の固定効率を高めることができるかを問うものである。これは、島田准教授の大腸菌を用いた先行研究の結果を、実際の植物で検証しようとするもので、葉緑体の遺伝子組換え技術を利用して、タバコのネーティブな *rbcL* 遺伝子を、アミノ酸置換をもたらす変異 *rbcL* 遺伝子に置き換えること

を目指している。

5)の研究は、葉緑体の遺伝子組換え実験に日常的に用いてきた、純系の栽培タバコ(cv. SR1)を栽培している過程で、「雄性不稔を示すタバコの変異体」を偶然見出したことが出発点となっている。すなわち、この雄性不稔のタバコを戻し交雑で維持したところ、戻し交雑第二世代(BC<sub>2</sub>)の各個体に、突如多様な変異が出現するという不思議な現象が発見された。この変異体には、雄性不稔はもとより、葉が柳のように細くなる、がくが花弁になる、双子の花が咲く、色が黄緑色になるなど、興味深い表現型を示すものが多数含まれていた。なぜ BC<sub>2</sub> で突如、多数の変異体が出現したのか、その原因を探ることが最終的な目標ではあるが、ここ数年は BC<sub>2</sub> の特定の個体の戻し交雑で得られた BC<sub>3</sub> 集団に属する数十個体を温室で栽培し、それらの表現型を観察している。

6)の研究は、紅色光合成細菌のライゼートがレタスの水耕栽培の肥料として使用できるか、多数の装置を用いて検討しようとしている。

## 2. 本年度の研究成果

本年度、1)では、ナス CMS 系統のミトコンドリア *orf218* を mitoTALEN 法及び mitoTALECD 法を用いてノックアウトする実験を継続した。そのためアグロバクテリウム法を用いて、ナスの CMS 系統の核ゲノムに、mitoTALEN 及び mitoTALECD を含む T-DNA 領域を導入した。これらの TALE はいずれも CMS 原因遺伝子の候補であるミトコンドリアの *orf218* を標的とする。ナスの場合、これまではアグロバクテリウム法で組換え体を得ること自体に苦労していたが、各種条件を検討した結果、例えば GFP 遺伝子をミトコンドリアヘターゲットするなど、通常の組換え体を得ることはルーティン化できた。しかしながら、*orf218* をターゲットとした実験では、組換え体を得る効率の悪さが問題として残っている。その原因の一部は以下のように解釈された。すなわち mitoTALEN 法では、*orf218* の切断は可能である一方、*orf218* を含む領域に大きな欠失が生じ、結果として *orf218* の近傍にある必須遺伝子も失われる。そのため、再分化個体が得られなかった、という解釈である。そこで、以後の実験では mitoTALECD 法に注力した。この方法では、*orf218* を切断するのではなく、*orf218* に特定の塩基置換(C を U 変換)を生じさせるものである。結果として、1個体だけではあるが、塩基置換により *orf218* のコード領域に終止コドンを出すことに成功した。この個体を特定網室で育成したところ、花粉の形成が認められ、*orf218* がナスの CMS 原因遺伝子であることが初めて証明された。

2)では、過去に山形県米沢市で発見されたハマダイコン(野ダイコン、弘法ダイコンとも呼ばれる)の2個体に注目した。これらの個体は、CMSを示すオグラ型のミトコンドリアゲ

ノムと、正常型のミトコンドリアゲノムをヘテロプラスミックな状態で保持している可能性がある。これまで数多くのハマダイコンのミトコンドリアゲノムを調査してきたが、ヘテロプラスミックな個体は例がなかった。そこでこの個体について、次世代シーケンサーを用いたミトコンドリアゲノムの解読を実施するとともに、その後代を栽培し、ミトコンドリアゲノムの変遷を追跡している。また、昨年度、米沢市を再訪し、ハマダイコンを採取した。この中に、以前と同じようにヘテロプラスミックな個体があるか調査したところ、複数個体が見出された。その後代を温室で栽培し、放任受粉でさらなる後代を得るとともに、ヘテロプラスミの状態が後代へ維持されるか調査している。また、ハマダイコンに栽培ダイコンを交配し、この研究に使用する材料を育成している。

3)では、その研究の一環として、パンコムギの *Rf* 遺伝子に注目した。*Triticum timopheevi* 細胞質を持つパンコムギでは、ミトコンドリアゲノムの雄性不稔遺伝子と、核にある *Rf* 遺伝子が同定されている。この *Rf* 遺伝子は PPR タンパク質をコードしているが、PPR 遺伝子はゲノム中に数百以上のコピーが存在しており、目的とする *Rf* 遺伝子と似て非なるものが多数存在する。そこで今年度は、日本のコムギにおける、この *Rf* 遺伝子の分布を明らかにするため、農林水産省からパンコムギのコアコレクションを取り寄せ、コレクションを構成する 96 品種に当該 *Rf* 遺伝子が存在するか、PCR により調べている。

4)の研究では、アミノ酸置換をもたらす改変 *rbcL* 遺伝子を有する葉緑体形質転換ベクターと、コントロールとして用いるネーティブな *rbcL* 遺伝子を有するベクターの精製 DNA を入手し、それぞれタバコ(SR1)の葉にパーティクルボンバードメント法で撃ち込んだ。抗生物質耐性個体を選抜し、結果的に改変実験から4個体、コントロール実験から4個体を得て、閉鎖系温室で開花・結実するまで栽培した。しかし、当代及び後代の評価はまだできていない。

5)の研究では、易変異性タバコの BC<sub>3</sub> 集団(20BC<sub>3</sub>)を栽培し、花器形態の変異を観察した。この集団は、昨年度に用いた集団(19BC<sub>3</sub>)とは異なる BC<sub>2</sub> 個体を母親とする集団である。19BC<sub>3</sub> ではピン型とスラム型の花器が出現すること、また、いくつか観察された花器形態の変異の中で、ピン型とスラム型のみが1個体の全ての花に安定して出現することが見出されていた。20BC<sub>3</sub> においても、花器形態、特にピン型とスラム型の変異に注目したが、これらの形質を示した個体はほとんど観察されなかった。ピン型とスラム型は、自然界ではソバなどいくつかの自家不和合性植物に見られる二形花柱性と表現型が類似しており、自家和合性のタバコにこの形質が出現したことが興味深い。昨年度は 19BC<sub>3</sub> からタイプの異なる個体を選抜し、SR1 を戻し交配して BC<sub>4</sub> 集団を育成し、BC<sub>4</sub> への変異の遺伝様式を調

査したが、今年度の 20BC<sub>3</sub> については、後代の育成は行わなかった。

6)の研究では、Plant Garden GS1 という水耕栽培装置を新たに購入し、レタス(cv.キングクラウン)の初期生育(〜5週間)を観察した。紅色光合成細菌の培養液をオートクレープし、その液から遠心分離により残渣を除いた上清を PhotoB として、その希釈系列を水耕栽培の肥料として供試した。培養液の pH、EC 値及び NO<sub>3</sub> 濃度を経時的に測定し、最終的に地上部(葉)の生重量を測定した。レタスの生育状態などを市販の無機肥料(Plant Food)と比較した結果、性能は無機肥料に劣るものの、PhotoB には肥料としての効果があることがわかった。水耕栽培で有機肥料を使用できたこと自体、とても興味深いのが、PhotoB の窒素はもとをたどれば空気であり、空気が植物の窒素源として使われているのは画期的なことと思われた。さらに詳細な研究を継続している。

### 3. Research projects and annual reports

We are currently conducting the following six research projects:

#### 1. Mitochondrial genome editing in eggplant

This project focuses on mitochondrial genome editing in eggplant, with a particular emphasis on *orf218*, a putative male-sterility gene. Using the mitoTALECD platform, we aim to introduce a premature stop codon to disrupt its function and validate its role in cytoplasmic male sterility (CMS).

#### 2. Male sterility and fertility restoration in radish

This project investigates the molecular basis of the male sterility and fertility restoration system in radish. We are elucidating the crosstalk between mitochondrial and nuclear genomes by characterizing genetic variations in the mitochondrial *orf138* and nuclear *Rf* genes, with a focus on the evolutionary dynamics of this system.

#### 3. Survey of *Rf* genes for *timopheevi* cytoplasm in wheat

This project aims to identify and characterize *Rf* genes responsible for fertility restoration in the *timopheevi* cytoplasm of wheat. A comprehensive survey of the Japanese wheat core collection is being conducted to determine the distribution and diversity of these genes.

#### 4. Production of transplastomic tobacco expressing modified RUBISCO

This project focuses on generating transplastomic tobacco plants that express a large subunit of the RUBISCO enzyme with targeted amino acid substitutions. These modifications aim to enhance photosynthetic efficiency and improve plant growth.

#### 5. Genes controlling morphological variation in the tobacco mutable line

This project explores the genetic basis of morphological variations observed in the tobacco mutable line. By integrating classical genetics and modern genomic tools, we seek to identify the key genes and regulatory networks responsible for these phenotypic changes.

#### 6. Utilization of purple photosynthetic bacterial lysate as a liquid fertilizer

This project examines the application of lysate derived from purple photosynthetic bacteria as a liquid fertilizer for hydroponic lettuce cultivation. We aim to evaluate its potential to enhance plant growth and nutrient uptake in sustainable agricultural systems.

#### 4. 論文, 著書など

H. Yamagishi, A. Hashimoto, A. Fukunaga, M. Takenaka, T. Terachi: Identification and variation of a new restorer of fertility gene that induces cleavage in *orf138* mRNA of Ogura male sterility in radish. **Theor. Appl. Genet.** **137(10)**, 231, DOI10.1007/s00122-024-04736-4, OCT 2024

#### 5. 学会発表など

宮田暉大, 辻村真衣, 静貴子, 有村慎一, 一色司郎, 寺地徹: 葯裂開不全を示す細胞質雄性不稔ナスの表現型調査と原因遺伝子の推定 日本育種学会 第146回講演会, 広島大学, 広島県, 2024.9.20

工藤葵, 夏目俊, 杉原優, 加藤大明, 阿部陽, 及川香梨, 清水元樹, 伊藤和江, 辻村真衣, 寺地徹, 堺俊之, 太田敦士, 寺内良平: 雌雄異株植物オニドコロにおける性決定ゲノム基盤. 日本育種学会 第147回講演会, 東北大学, 仙台市, 2025.3.20

宮田暉大, 辻村真衣, 静貴子, 有村慎一, 一色司郎, 寺地徹: 葯裂開不全を示す細胞質雄性不稔ナスを使った葯形態の経時的観察. 日本育種学会 第147回講演会, 東北大学, 仙台市, 2025.3.21

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

#### 科学研究費助成事業・基盤研究(S)

課題名：植物ミトコンドリアゲノム育種の基盤創出

研究分担者：寺地徹，取得年度：R2-6年（5年）

#### 共創の場形成支援プログラム 地域共創分野「本格型」

課題名：ゼロカーボンバイオ産業創出による資源循環共創拠点

研究分担者：寺地徹，取得年度：R5-14年（10年）

#### ALCA-Next(戦略的創造研究推進事業 先端的カーボンニュートラル技術開発)

課題名：スーパーRubiscoによる高光合成植物の育種

研究分担者：寺地徹，取得年度：R6-7年（2年）

### 2) その他

科学技術振興機構(JST)創発的研究支援事業外部専門家書類  
審査委員

農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業研究課題評価分  
科会委員 1次(書面)審査専門評価委員

Gene & Genetic Systems editor

Breeding Science editor

北海道函館中部高校 SSH 運営指導委員

他大学講師：

京都府立大学大学院「植物バイオテクノロジー特論」



## 環境政策学研究室

Laboratory of Environmental policy science

### 1. 研究概要

環境政策学研究室では、自然環境に関わる政策を主な対象として、グリーンインフラや Eco-DRR、NbS など、環境価値の活用に向けたアプローチに注目し、これらの政策形成プロセスの解明と政策手法の開発に関する研究を行っている。

従来、日本の自然環境に関わる政策は、経済発展による開発や汚染に対する自然環境の保護、保全が中心であった。一方で、近年は人口減少、少子高齢化、グローバル経済の拡大、気候変動の進行により、日本社会は地域経済の停滞や災害リスクの拡大などの新たな社会課題が顕在化している。このような社会課題と自然環境の関わりをみると、森林や農地の利用促進や外来生物種の適正な管理など、自然環境の機能や資源を適切に活用するアプローチへの注目が高まっている。本研究室では、グリーンインフラ（自然の機能を活用したインフラ整備）、Eco-DRR（生態系を活用した防災減災）、NbS（自然に根差した解決策）、地域循環共生圏といった自然環境の機能や資源を活用するアプローチに着目して、政策形成プロセスや、政策展開に必要な制度や仕組みを明らかにするとともに、政策実施による効果の評価手法の開発を行う。これらの調査研究の実施においては、自然環境の活用により、防災減災、経済振興等の様々な社会課題の解決に向けた実践的な取り組みに参画しながら、さまざまな政策現場に実際に貢献できる成果を目指したい。

### 2. 本年度の研究成果

#### 1) 自然環境分野の政策形成プロセスの評価

日本国内におけるグリーンインフラ（GI）に関する政策動向を調査している。GI は、日本においても近年自然環境の多様な機能の活用を推進する概念として導入が進められている。GI の導入の契機は、日本は東日本大震災の復興であるが、地域によって異なっている。近年、日本では、洪水の発生頻度が高まる中で、雨水管理としての GI に注目が集まっており、日本における GI の捉え方は拡大している。今後、自然環境政策や GI の展開プロセスを比較しつつ、日本における効果的な政策手法を検討する。

#### 2) 自然環境施策の導入にむけた評価手法の開発

日本における地域の GI の導入可能性の評価するため、GI に関わる自然環境と社会体制に関する指標を構築し、包括的な評価手法の開発を進めている。自然環境に関しては、洪水時の遊水機能、生物多様性保全に関する指標

准教授 西田 貴明

Assoc Prof. Takaaki Nishida, Ph.D.



を構築した。また、社会体制に関しては、アンケート調査による市民意向と行政計画を捉える指標を構築した。これらの評価指標を踏まえて、地域のグリーンインフラの導入効果を評価する指標群を検討した。さらに、GI の導入可能性を包括的に評価するために、グリーンインフラの事業や取組を対象とした GI に関する評価体系の構築を進めている。

#### 3) グリーンインフラの導入に向けた社会実践

地域におけるグリーンインフラの社会実装を推進するため、地方自治体や地域の関係主体と連携体制の緊密な連携のもと、自然の機能の活用に向けたフィールド調査に注力した。さらに、グリーンインフラ関連の商業施設の活用や、雨庭やレインガーデンの整備のプロジェクトに参画し、実際のグリーンインフラの社会的効果を検証する取組をおこなった。

### 3. Research projects and annual reports

#### 1) Analysis of policy formation processes

We researched trends of green infrastructure (GI) policies in Japan. The results of our study show that GI is a common political concept that promotes the use of various ecosystem services in local governments. However, the apparent motivations for the introduction of GI differs among the cities. In most cities in Japan, reconstruction from the Great East Japan Earthquake are the basis for developing GI policy. In addition, GI in Japan is characterized by the fact that there are ongoing discussions on land use based on the characteristics of ecosystems and the use of various ecosystem services. In recent years, the frequency of floods has increased in Japan and GI policies as a means of stormwater management have been attracting attention. Therefore, the scope of GI policies in Japan is expanding. In future, we suggest examining effective GI policy formation methods in local government.

#### 2) Evaluation of possibilities for GI policy introduction

To evaluate the possibility of introducing GI policies in local government, we developed natural environmental and social system indicators related to GI. We constructed indicators of water management and biodiversity conservation of agricultural lands during floods and as a natural environmental index. In addition, we established a social system index based upon completion of a

questionnaire that captures citizens' GI-related intentions and administrative plans. In a future study, we intend to further develop GI indicators for local government and local activities to comprehensively evaluate the possibility of introducing GI policies.

### 3) Social action for regional implementation of GI

In order to promote the social implementation of GI at the field level, we have built a collaborative system with local governments and related entities in the region. In addition, we are actively participating in the utilization of commercial facilities related to GI and projects to develop rain gardens and have begun efforts to verify the social effects of GI.

## 4. 論文、著書など

西田貴明・遠香尚史・吉成絵里香・大澤剛士(2024)地方自治体の規模がグリーンインフラ、生態系を活用した防災・減災の政策に及ぼす影響、保全生態学研究29, pp101-115.

Y. Kawabata, K. Takimoto, T. Nishida, Y. Koshikawa, A. Aizawa (2025) Integration of Green and Gray Infrastructures–Conceptualization from the Perspective of Gray Engineers. Structural Engineering International, 35(1), 125-133

## 5. 学会発表など

西田貴明、グリーンインフラの経済価値評価、第3回グリーンインフラの市場における経済価値に関する研究会、国土交通省、2024年5月7日

西田貴明、生き物や自然は、どうやって守るの？、動物園 DE サイエンストーク、京都市動物園、2024年6月2日

西田貴明、グリーンインフラ雨庭整備のあり方と維持管理、グリーンインフラ官民連携プラットフォーム グリーンインフラ優良事例視察会 in 京都、キャンパスプラザ京都、2024年9月17日

西田貴明、産学官民連携によるグリーンインフラ・NbS(自然に根差した解決策)の展開、山とみどりのフェスティバル生物多様性研究フォーラム「みんなで考えよう! 災害に強い 持続可能な森づくり(箕面市・NPO法人みのお山麓保全委員会)、箕面市・箕面船場生涯学習センター、2024年11月10日

西田貴明、いなべ市におけるグリーンインフラ地域実装の紹介：  
西田貴明、都市計画学会防災特別委員会 第2部会公開研

究会：都市・地域におけるグリーンインフラ研究・実装の展開、オンライン、2025年1月22日

西田貴明、趣旨説明：グリーンインフラの社会実装の最前線 ～政策と現場から～、グリーンインフラ産業展 2025、東京都・東京ビッグサイト、2025年1月30日

西田貴明、いなべ市のSIPグリーンインフラプロジェクトって何？、いなべグリーンインフラフェス 2025：グリーンインフラ実装研究中間報告、いなべ市・藤原文化センター、2025年3月8日  
御手洗彰・坂本唯人・三鬼裕泰郎・西田貴明・棟方渚、モバイルアプリケーションを用いた行動促進による疎と密の人流制御の効果、エンターテインメントコンピューティングシンポジウム 2024、江別市・北海道情報大学、2024年9月2,3日

植平隆暉・西田貴明、雨庭が節足動物の種多様性へ与える影響とその要因の調査：応用生態工学会 2024、さいたま市・埼玉会館、2024年9月18日

植平隆暉・西田貴明、雨庭が地表性の節足動物群集に及ぼす影響、グリーンインフラ・ネットワーク・ジャパン 2025、江東区・東京ビッグサイト、2025年1月29～31日

池ヶ谷咲妃・西田貴明、いなべ市の伝統的水利施設「マンボ」が水生生物に及ぼす影響、グリーンインフラ・ネットワーク・ジャパン 2025、江東区・東京ビッグサイト、2025年1月29～31日

岩崎恒輝・西田貴明、グリーンインフラの普及に向けた生成 AI 活用の可能性、グリーンインフラ・ネットワーク・ジャパン 2025、江東区・東京ビッグサイト、2025年1月29～31日

三鬼裕泰郎・西田貴明、Web アプリケーションを用いたナッジによる自然との関わり促進効果の検証、グリーンインフラ・ネットワーク・ジャパン 2025、江東区・東京ビッグサイト、2025年1月29～31日

西田貴明、生物多様性の保全、自然資源の活用を活かすグリーンインフラの地域実装、自由集会：自然資源を活用した地域づくりに向けた生態学の貢献、日本生態学会第72回全国大会、札幌市・札幌コンベンションセンター、2025年3月16日

三鬼裕泰郎・西田貴明、Web アプリを用いた自然に関する取り組みの評価手法開発と試行、日本生態学会第72回全国大会、札幌市・札幌コンベンションセンター、2025年3月16日

池ヶ谷咲妃・西田貴明、いなべ市の伝統的水利施設「マンボ」が水生生物に及ぼす影響、日本生態学会第 72 回全国大会、札幌市・札幌コンベンションセンター、2025 年 3 月 17 日

辻野建貴・多賀洋輝・杉山実優・西田貴明、生き物調査アプリは人の環境保全意識・行動を変えるのか？、日本生態学会第 72 回全国大会、札幌市・札幌コンベンションセンター、2025 年 3 月 17 日

植平隆暉・西田貴明、雨庭が地表性の節足動物群集に及ぼす影響、日本生態学会第 72 回全国大会、札幌市・札幌コンベンションセンター、2025 年 3 月 18 日

西田貴明、生態系管理専門委員会の活動と「グリーンインフラ 12 箇条」、フォーラム：グリーンインフラの推進をネイチャーポジティブの実現につなげる、日本生態学会第 72 回全国大会、札幌市・札幌コンベンションセンター、2025 年 3 月 18 日

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

内閣府 SIP スマートインフラマネジメントシステムの構築  
課題名：e-1 魅力的な国土・都市・地域づくりを評価するグリーンインフラに関する省庁連携基盤  
研究分担者：西田貴明  
取得年度：2023 年度～2028 年度

### 2) 学外活動

西田貴明、国土交通省、グリーンインフラ官民連携プラットフォーム 企画・広報部会 運営委員/部会長

西田貴明、国土交通省、グリーンインフラ社会実装推進検討会、委員

西田貴明、国土交通省、ブルーカーボン研究会、委員

西田貴明、滋賀県、しが生物多様性取組認証制度審査会、審査委員

西田貴明、滋賀県、滋賀県グリーンインフラ懇話会、委員

西田貴明、京都府、京都府生物多様性地域戦略の改訂に関する専門委員会、委員

西田貴明、京都府、京都府環境審議会 自然・鳥獣保護部会、委員

西田貴明、いなべ市、いなべ市グリーンインフラ推進協議会、会長

西田貴明、一般社団法人バイオミキリージャパン、アカデミックアドバイザー

西田貴明、とくしま生物多様性活動認証機構、運営委員

西田貴明、公益財団法人高速道路調査会、高速道路のカーボンニュートラルに向けた総合的な施策等に関する基礎的研究委員会、委員

西田貴明、グリーンインフラ研究会、運営委員/副運営委員長

西田貴明、グリーンインフラネットワークジャパン 2024、運営委員・会場部会

西田貴明、一般社団法人加太・友ヶ島環境戦略研究会、理事

西田貴明、文部科学省 科学技術予測・政策基盤調査研究センター、専門調査員

西田貴明、日本生態学会生態系管理専門委員会、委員長

西田貴明、日本生態学会キャリア支援専門委員会、専門委員

西田貴明、土木学会複合構造委員会 H220 委員会、委員

西田貴明、一般社団法人環境情報科学センター企画委員会、委員

西田貴明、一般社団法人環境情報科学センター、審議員

### 3) その他

京都産業大学 環境政策学研究室、環境展 2024(東京ビッグサイト)、2024 年 5 月 23 日～24 日 出展

京都産業大学環境政策学研究室、きょうと いきものフェス！2024(きょうと生物多様性センター)、京都市、ブース出展・ワークショップ開催、2024 年 9 月 28、29 日

京都産業大学環境政策学研究室、水源の森オータムフェスタ 2024(滋賀県森林政策課)、野洲市、ブース出展、2024 年 10 月 5 日

京都産業大学環境政策学研究室、第 13 回いなべの里 新そば祭り いなべを楽しむアプリ体験会開催(いなべ市そば祭り実行委員会)、いなべ市、ブース出展、2024 年 11 月 10 日

京都産業大学 環境政策学研究室、国土交通省、第 5 回グリーンインフラ大賞 優秀賞(企画・計画段階の取組)、グリーンインフラ普及啓発ツール「雨庭カプセルトイ」の開発及び カプセルトイを用いた地域におけるグリーンインフラ認知度向上にむけた取組、2024 年 12 月 23 日

京都産業大学 環境政策学研究室、グリーンインフラ産業展(東京ビッグサイト)2025 年 1 月 29 日～31 日 出展

西田貴明、環境ビジネス オンライン「自然の力を活用し経済・防災に貢献 産学官連携で進めるグリーンインフラ」掲載、2025 年 1 月 17 日 <https://www.kankyo-business.jp/column/b8031a39-2c2b-49d3-8256-3ae6ced9f8d3>

グリーンインフラの社会実装の最前線～政策と現場から～、グリーンインフラ研究会・内閣府 SIP スマートインフラマネジメントシステムの構築、東京ビッグサイト、2025 年 1 月 30 日(企画運営) 池ヶ谷咲妃、西田貴明、グリーンインフラ・ネットワーク・ジャパン 2025 実行委員会、グリーンインフラネットワークジャパン 2025

研究者学生部門 優秀賞、いなべ市の伝統的水利施設「マンボ」が水生生物に及ぼす影響、2025 年 1 月 30 日

西田貴明、公開セミナー：自然を活かした地域づくり -グリーンインフラの管理・活用に向けて-、SIP グリーンインフラ研究プロジェクト・京都産業大学、京都産業大学(ハイブリッド)、2025 年 2 月 21 日

京都産業大学環境政策学研究室、いなべグリーンインフラシンポジウム(京都産業大学 生命科学部 環境政策学研究室)、いなべ市、シンポジウム開催、ブース出展、ポスター展示、2025 年 3 月 8 日

京都産業大学環境政策学研究室、みょうけん！こどもの学校(豊能町)、豊能町、ブース出展、2025 年 3 月 22 日

西田貴明(2025)コラム：グリーンインフラを俯瞰的に捉えた持続可能なまちづくりへ、グリーンインフラによるまちづくりの基本方針～公園みどりの新たな展開に向けて～(豊中市)

#### 4) 研究室メンバー

西田貴明(准教授)、富岡瑠加(M2)、辻野建貴(M2)、植平隆暉(M1)、有友蒼太(B4)、岩崎恒輝(B4)、池ヶ谷咲妃(B4)、川村政輝(B4)、三鬼裕泰郎(B4)、宮本花菜(B4)、青木悠人(B3)、伊藤 誠章(B3)、稲里莉奈(B3)、梅田歩依(B3)、奥戸祐貴(B3)、堀川祥真(B3)、松尾彩子(B3)、小笠原奨悟(客員研究員)、多賀洋輝(客員研究員)、大庭義也(客員研究員)、渥美圭介(客員研究員)、重原奈津子(客員研究員)

フィールド調査 藤原岳(三重県いなべ市)



フィールド調査 大文字山(京都市)



卒業式 2025 年 3 月

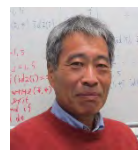


# 動物遺伝育種学研究室

Laboratory of Animal Genetics and Breeding

教授 野村 哲郎

Prof. Tetsuro Nomura, Ph.D



## 1. 研究概要

生物集団内に保有される遺伝的多様性は、進化や動植物の品種改良（育種）にとって不可欠な素材である。たとえば、生物種が様々な環境に適応し進化していくためには、それぞれの環境に適した多様な遺伝子が集団内に保有されている必要がある。また、動植物の育種においても、改良の対象とする形質について集団内に保有される遺伝的多様性を素材として、望ましい遺伝子を人為選択によって集積することが基本となる。

動物遺伝育種学研究室では、動物集団の遺伝的多様性の維持と利用について、保全遺伝学および育種学の観点から研究を進めている。具体的には、つぎのような研究テーマで研究を展開している。

### 1) 動物集団の遺伝的多様性の評価方法の開発とその応用

野生動物や家畜について血統記録や DNA 情報を用いて集団内の遺伝的多様性を評価するための方法について、理論的研究を行っている。また、開発した方法を家畜集団の遺伝的多様性維持のために応用している。

### 2) 絶滅が危惧される野生動物の維持集団および家畜希少系統における遺伝的多様性の維持方法の確立

動物園や自然公園などで動物を維持するときに、どのような個体を親として残し、どのような交配を採用すれば遺伝的多様性が効率的に維持できるかについて研究を進めている。

### 3) 動物および昆虫集団における遺伝的多様性の調査

外部形態の計測、DNA 解析によって昆虫集団の遺伝的多様性の評価を行っている、また、家畜の血統記録を用いた遺伝的多様性の調査を実施している。

## 2. 本年度の研究成果

### 1) 非相加的遺伝効果を考慮した盲導犬の選抜方法の確立

現在、日本では年間約 1000 頭の盲導犬が利用されているが、盲導犬の利用を希望する人は 4000 人を超えると言われている。このような盲導犬の不足を解決するために、育種技術を用いて盲導犬を効率的に生産する集団を造成することを課題として研究を進めている。

現在採用されている盲導犬の適性試験では、刺激に対する反応、動作量、おとなしさなどに関する 42 項目を 5 段階で候補犬が評価される。評価結果に基づいて、最も適性の高い個体群が次世代を生産するための繁殖犬として選抜され、次に適性の高い個体群が盲導犬としてのトレーニングを受け

てユーザに提供される。盲導犬に適さないと判断された個体は、家庭犬やキャンペーン犬に進路変更（キャリアチェンジ）する。

当研究室では、これまでに適性試験の結果を用いて子孫に遺伝する遺伝成分である育種価に基づく繁殖犬の選抜方法の開発を進めてきた。その成果は、すでにアジア盲導犬繁殖ネットワーク(AGBN)で導入されている。

2023 年度は、適性試験の結果に基づいて盲導犬を選抜するための選抜基準の開発について研究を進めた。盲導犬は去勢や不妊手術を受けるために、子孫を残すことはないの、優良な盲導犬を選抜するためには育種価に加えて、子孫には遺伝しない遺伝成分である非相加的遺伝効果（優性効果とエピスタシス効果）を考慮する必要がある。そのために必要な優性血縁係数を大規模な血統データから計算するための効率的な計算アルゴリズムとコンピュータプログラムを開発した。さらに適性試験の結果を用いて、育種価、優性効果とエピスタシス効果の一部を推定した。これらの効果を考慮した盲導犬の選抜方法については、現在開発中である。



盲導犬として利用されているラブラドル・レトリバー

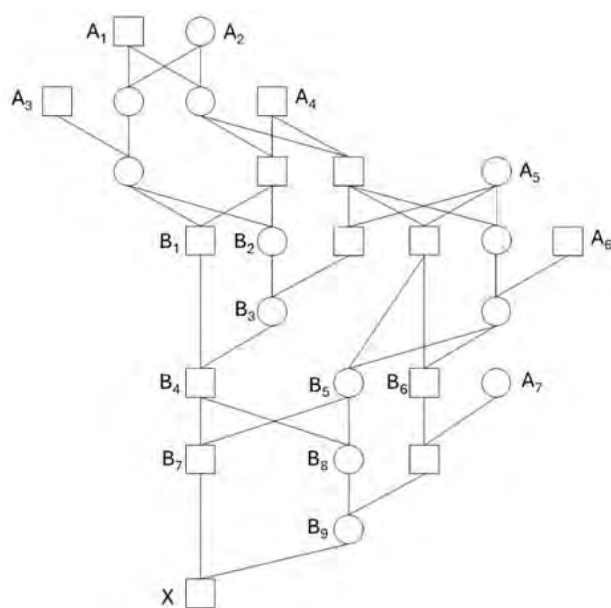
### 2) 祖先近交係数の公式化と信頼性の高い推定法の開発

近親交配は個体数が少ない集団では、必然的に生じる。動物では、近親交配によって適応度と関連した生存力や繁殖力が低下する近交退化と呼ばれる現象が起こることが知られている。しかし、近交退化は、不可避な現象ではなく、近親交配と自然選択や人為淘汰が同時に働くことによって近交退化の原因となる遺伝子を取り除かれる（近交退化の除去）なら、近交退化を起こさない集団が形成されることが期待される。生物保全や動物育種では、絶滅を危惧される野生動物を捕獲して保護施設で増

殖する場合や意図的な近親交配によって系統を造成することが多くあり、これらの分野では近交退化の除去は魅力的な現象である。

近交退化の除去の存在を検証する目的で、野生動物の保護集団、家畜集団、人の血統情報（家系図）を用いて、多くの研究が行われてきた。これらの研究では、祖先近交係数と呼ばれるパラメーターに基づいて、近交退化の除去が働いたかどうかを評価してきた。祖先近交係数が発表された当時には計算式が与えられていたが、その後の研究でその計算式では正しい値が得られないことが明らかになり、現在ではジーン・ドロッピング・シミュレーション（GDS）による推定値が用いられている。

本年度の研究では、オリジナルの計算式を再検討し、正しい値が得られる公式を導くことに成功した。残念ながら、その公式は比較的単純な家系図には適用できるが、複雑な家系図では計算量が多くなり、正確な値を得ることが困難であることも明らかになった。そこで、GDS と公式による決定論的計算を組み合わせた「ハイブリッド法」による推定法を考案した。「ハイブリッド法」は、従来に用いられてきた GDS よりも信頼性の高い推定値を与えることを示した。



研究に用いたスペイン・ハブスブルク家カルロス 2 世 (X) の家系図。彼は「叔父-姪」婚で生まれたことがわかるが、この家系では他にも多くの近親婚が認められる。カルロス 2 世は後継ぎを残すことなく 35 歳で亡くなり、スペイン・ハブスブルク家は断絶した。

### 3. Research projects and annual reports

Genetic diversity retained in populations is an essential material for adaptive evolution and breeding of plants and animals; species can successfully adapt through natural selection to changing environment if they have sufficient genetic diversity. Breeders of domesticated plants and animals can genetically improve their economically important characters by artificial selection on genetic variability. Our laboratory is researching the methodology for evaluation, conservation and utilization of genetic diversity in wild and domesticated animal populations. Our main research projects and the annual reports are summarized as follows:

#### 1: Development of selection procedure for guide dogs by accounting for non-additive genetic effects

In successful production of guide dogs, selection of breeding dogs with favorable temperament should be based on the heritable genetic component (breeding value), while performance of guide dogs should be evaluated not only on heritable but also on non-heritable genetic components (dominance and epistatic components) because their performance is an assembled expression of gene actions including gene-interactions with various dimensions. In our laboratory, we have established a selection method for breeding dogs based on breeding values. In this year, we developed a selection procedure for guide dogs by accounting for dominance and epistatic effects.

#### 2. Formulation and estimation of Ballou's ancestral inbreeding coefficient

Deleterious recessive alleles causing inbreeding depression may be eliminated from populations by purifying selection facilitated by inbreeding. Providing evidence of this phenomenon (i.e., inbreeding purging) is of great interest for conservation biologists and animal breeders. Ballou's ancestral inbreeding coefficient is one of the most widely used pedigree-based measurements to detect inbreeding purging, but the theoretical basis has not been fully established. I gave a mathematical formulation of the coefficient and proposed a new method to estimate based on the obtained formula. Stochastic simulation suggested that the new method could reduce the variance of estimates, compared to the conventional gene dropping simulation.

### 4. 論文・著書など

野村哲郎 (2023) ジーン・ドロッピング・シミュレーションから得られる結果の部分共祖係数による決定論的計算. 日本畜産学会報. 94: 413-425.

Nomura T. (2024) Ballow's ancestral inbreeding coefficient: Formulation and new estimate with higher reliability. *Animals* 14(13), 1844; <https://doi.org/10.3390/ani14131844>.

## 5. 学会発表など

Mine S., Nomura T., Yokoi K., Kimura K., Hatakeyama M. (2024) Aiming at building the better strains of the honey bee *Apis mellifera*. XXVII International Congress of Entomology, Kyoto.

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

科学研究費 基盤研究(C)「国内養蜂家を対象としたローヤルゼリー多収系統の造成に関する量的・分子遺伝学的研究」(研究代表者)

JST 共創の場形成プログラム COI-NEXT, Bio-Digital Transformation (バイオ DX), 「データ駆動型ゲノム育種(デジタル育種)技術の開発」(ミツバチチーム 研究分担者)

### 2) 学外活動

公益社団法人全国和牛登録協会 育種推進委員会委員長

公益社団法人全国和牛登録協会 中央審査委員会委員

独立行政法人 家畜改良センター 肉用牛評価技術検討会委員

独立行政法人 家畜改良センター 肉用牛改良問題専門委員会委員

### 3) その他

なし



盲導犬研究のメンバー: 亀岡市・関西盲導犬協会



昆虫多様性研究のメンバー: 富山県中央植物園



2024 年度卒業式を終えて

## 環境衛生学研究室

Laboratory of Environmental Hygiene

教授 前田 秋彦

Prof. Akihiko Maeda, D.V.M., Ph. D



### 1. 研究概要

私たちの身の周りには、数え切れない程、様々な微生物が存在する。その中には、いろいろな動植物やヒトに感染して病気を引き起こすものもあれば、そうでないものもある。また、腸内細菌のように動物の腸内で食物の消化を助けるものや、恐らくは動植物の進化の過程で重要な役割を担っているであろうものまで存在する。この様に、私たちの周りに存在する微生物は動物や植物と相互に影響し合っており、生態学的マイクロコスモスやマクロコスモスを形成している。

本研究分野では、微生物の中でも特に「動物からヒト」あるいは「ヒトから動物」に感染する人獣共通感染症（人畜共通感染症、動物由来感染症または Zoonosis）を引き起こす病原微生物についての病原性の発現メカニズムや自然環境中での存在様式の解明、公衆衛生対策のための基礎的な研究を行っている。具体的な研究対象は、蚊やマダニ等の節足動物が媒介する人獣共通感染症である（図1）。近年の地球温暖化に伴う媒介蚊の生息範囲の拡大と、それに伴う各種の節足動物媒介性感染症の流行域の拡大が危惧されている。日本においても、海外で流行するウイルスや細菌等病原体の侵入と、その国内流行への対策が急務となっている。そこで、本研究室では以下の研究テーマについて研究を行っている。

(1)蚊およびマダニ媒介性人獣共通感染症の京都市における感染疫学的解析と、新規検査法やワクチンの開発

(2)蚊およびマダニ媒介性人獣共通感染症を引き起こす病原微生物の病原学的・分子生物学的解析

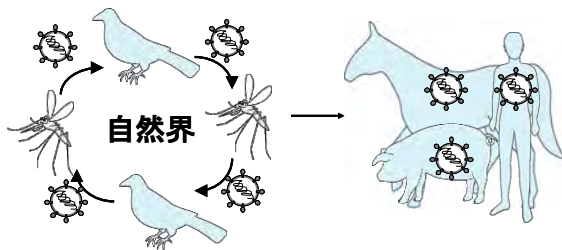


図1. 蚊媒介性人獣共通感染症の感染環

節足動物媒介性人獣共通感染症の例として、蚊が媒介するウエストナイルウイルス感染症の感染環を示す。自然界では、蚊が媒介者となってトリの間で生活環が維持されている。しかし、突発的にウマやブタ、ヒトに感染し脳炎等の重篤な症状を引き起こす。

### 2. 本年度の研究成果

#### (1)マダニ媒介性人獣共通感染症の京都市における感染疫学的解析と、新規検査法の開発

京都市環境衛生研究所、および熊本大学准教授の米島万有子さん、麻生大学の二瓶直子客員研究者らとの共同研究として行っている。蚊やマダニ等の吸血性節足動物は様々な病原体を動物から人に媒介する。媒介する病原体は蚊やマダニの種類により異なる。したがって、人が居住する環境中に生息する蚊やマダニの種類や、それらの持つ常在細菌の種類（常在細菌叢）によっても、当該地域で流行する感染症が異なるものと考えられる。これまでの研究で、京都市内で採取したフトゲチマダニの常在細菌、特にコクシエラ属細菌の保有率に雌雄差や地域差がある可能性が示唆されており、現在、詳細に解析している。

#### (2)蚊およびマダニ媒介性人獣共通感染症を引き起こす病原微生物の病原学的・分子生物学的解析

これまでの研究で、マダニから分離した野生型トゴウイルス（WT-THOV）はマウスに病原性を示さず、一方、マウスへの馴化ウイルス（MA-THOV）では、多臓器不全を起こし、致死経過をたどることを明らかにした。両ウイルスのゲノム RNA 配列を比較したところ、ウイルスの RNA 依存 RNA ポリメラーゼ遺伝子（PB2）に1ヶ所、膜糖蛋白質に2ヶ所および ML 蛋白質に1ヶ所に変異が認められた。昨年度に開発した方法（Mini-genome assay、Fusion assay および Interferon-promoter assay）を用いて、これらの変異が THOV の増殖に与える影響について解析した。

### 3. Research projects and annual reports

Many micro-organisms exist surrounding of natural environment. Some of them infect to plants, and some do to animals including human. They cause unique diseases to their host, but the others do not. Some live in animal intestines and help food-digestion of host animals. Or some have a role for host evolution. Microbes interact with their host and establish micro- and macro-cosmos in nature. We are now studying on pathology, ecology, and other basic research of zoonotic micro-organisms. We especially focus on viruses, which cause mosquito- and tick-borne diseases. Recently, arthropod vectors are spreading their living places due to global warming. Therefore, the diseases

become one of big concerns in world-wide public health. Although some diseases are not in Japan, it is also urgent to develop detection and prevention system for the diseases. Our main research themes are: 1) Epidemiological study on mosquito- and tick-borne diseases in Kyoto city, and 2) Pathological and molecular biological studies on mosquito- and tick-borne pathogens. The THOV neutralizing antibody titer was measured in wild animals living in Kyoto City, it became clear that the palm civet and the raccoon possess the THOV neutralizing antibody titer.

## Annual reports

### (1) Epidemiological study on tick-borne diseases in Kyoto city

This is a joint research project with the Kyoto City Institute of Environmental Health, Kumamoto University Associate Professor Mayuko Yoneshima, and Aso University Visiting Researcher Naoko Nihei. Hematophagous arthropods such as mosquitoes and ticks transmit various pathogens from animals to humans. The pathogens they transmit vary depending on the type of mosquito or tick. Therefore, it is thought that infectious diseases prevalent in a given area differ depending on the type of mosquito or tick that inhabits the environment in which people live, and the type of resident bacteria (resident bacterial flora) that they carry. Previous research has suggested that there may be gender differences and regional differences in the rate of resident bacteria, especially *Coxiella* bacteria, in *Haemaphysalis longicornis* ticks collected in Kyoto City, and we are currently conducting a detailed analysis.

### (2) Pathological and molecular biological studies on mosquito- and tick-borne pathogens

In our previous study, we found that wild-type Thogotovirus (WT-THOV) isolated from ticks was not pathogenic to mice, whereas the mouse-adapted virus (MA-THOV) caused multiple organ failure and was fatal. Comparing the genomic RNA sequences of both viruses, we found one mutation in the viral RNA-dependent RNA polymerase gene (PB2), two in the membrane glycoprotein, and one in the ML protein. Using methods developed last year (mini-genome assay, fusion assay, and interferon-promoter assay), we analyzed the effect of these mutations on the proliferation of THOV.

## 4. 論文, 著書など 【著書】

Hasan Md Murad (日本語抄訳、前田 秋彦), Current Status of Biosafety and Biosecurity in Bangladesh. 2024, バイオセーフティ 1: 18-24

## 5. 学会発表など

Hasan Md Murad, Mikako Kaneko, Sato Maeshima, Robert Klaus Hofstetter, Azusa Someya, and Akihiko Maeda, Effect of amino acid substitutions on mouse adaptation of Thogotovirus. 第 71 回日本ウイルス学会学術集会 (愛知、2024.11.4-6)

前嶋 勲、福田 美樹、Robert Klaus Hofstetter、染谷 梓、前田秋彦. 日本脳炎ウイルスのエンベロープ蛋白質に結合するペプチドの検索. 第 71 回日本ウイルス学会学術集会 (愛知、2024.11.4-6)

金子 実夏子、前嶋 勲、Hasan Md Murad、Robert Klaus Hofstetter、染谷 梓、前田 秋彦. トゴトウイルス (THOV) の改良型細胞融合アッセイの開発. 第 71 回日本ウイルス学会学術集会 (愛知、2024.11.4-6)

前田 秋彦. 次のパンデミックに備える. 京都産業大学世界問題研究所 (京都、2024.10.23)

前田 秋彦. 身近に潜む感染症-野生動物⇄ダニ⇒人. 日本会議 公開シンポジウム「増大する野生動物と人間の軋轢〜これからの鳥獣管理と人間社会を考える〜」(東京、2024.11.24)

## 6. その他特記事項

### 1) 外部資金

科学研究費補助金・基盤研究 (C)

課題名: マダニ由来トゴトウイルスのマウスへの馴化メカニズムの解析、研究代表者: 前田秋彦, 取得年度: R5-R7年 (3年)

### 2) 学外活動

前田秋彦: 日本学術会議・連携会員

前田秋彦: 日本農学アカデミー・会員

前田秋彦: 日本獣医学会・評議員

前田秋彦: 日本バイオセーフティー学会・理事長

前田秋彦: 日本バイオセーフティー学会・会誌編集委員

前田秋彦: 日本脳炎ウイルス生態学研究会・評議員

前田秋彦: Journal of Virological Method. ・Reviewer's Board member

前田秋彦: R6 京都府畜産研究発表会・選考委員長

前田秋彦: R6 防除作業監督者講習会・講師



2024.新歓コンパにて

# 細胞行動学研究室

Laboratory of Cell Behavior

## 1. 研究概要

生物が外部からの刺激に応答し、自律的に行動を変容させる様子は、いかにも生物らしい。我々の研究室では、モデル単細胞緑藻であるクラミドモナスが、光刺激に応じて繊毛運動を調節し、走光性や光驚動反応といった「光反応行動」を示す機序を、分子レベルで明らかにすることを目指している。（なお、クラミドモナス細胞から生える毛状オルガネラは鞭毛と呼ばれてきたが、近年真核細胞の鞭毛・繊毛は繊毛に用語統一される動きがあり、本稿もそれに従う。）

クラミドモナス *Chlamydomonas reinhardtii*（和名 こなみどりむし）（図1）は、淡水に棲む単細胞の緑藻である。一倍体であるために順遺伝学的手法が適用できること、有性生殖するために古典遺伝学的手法が適用できること、繊毛が容易に単離できることなどの理由から、繊毛運動、光合成、光行動などの広い研究分野でモデル生物とみなされている。

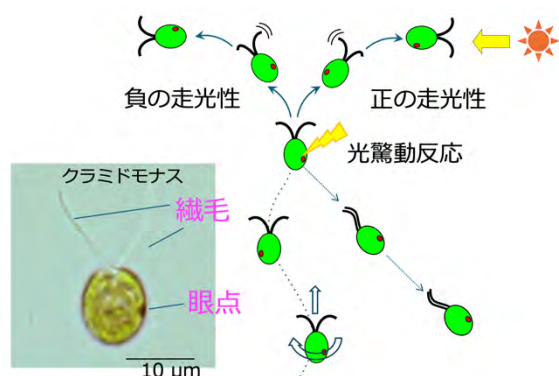


図1 クラミドモナスの明視野顕微鏡像（左下）と光反応行動の模式図（右）

クラミドモナスは、細胞の赤道付近にある眼点で光を感受し、2本の繊毛の打ち方を調節して方向転換し、走光性（光源方向、またはその逆方向への方向転換）や光驚動反応（短時間の後退遊泳）といった光反応行動を示す（図2）。この過程は、光感受後1秒以内に起こる迅速なもののため、生物の光反応行動の良いモデルとなっている。我々の研究室では、クラミドモナスや、その近縁の多細胞緑藻ボルボックスの仲間を材料に、

- (1) 光源の方向・光強度等の情報は、細胞内でどのように処理されているのか
- (2) その情報は、どのように繊毛運動を調節するのか
- (3) 光反応行動は、藻類の生存にどのように貢献するのか

教授 若林憲一

Prof. Ken-ichi WAKABAYASHI, Ph. D.



の3つの疑問に、分子レベルで回答することを目指している。

これらの疑問に答えることで、2つの方向で社会貢献する可能性がある。1つは、藻類の産業利用への貢献である。現在、多様な藻類が、サプリメントや次世代燃料などのカーボンニュートラルな生産プラットフォームとして利用されている。モデル藻類のクラミドモナスの光反応行動の知見を蓄積することで、藻類の屋外培養の効率向上や濃縮過程などに貢献する可能性がある。もう1つは、ヒト原発性不動繊毛症候群の発現機構に関する知見の蓄積である。ヒトの体内には、脳室上皮、気管上皮、卵管上皮、精子などに運動性繊毛が生えており、これらの形成・運動異常による疾患は多様な疾患の原因になる。クラミドモナスは、繊毛の構築と運動調節機構の分子機構の研究分野においてモデル生物とみなされている。光反応行動のための繊毛運動調節についての我々の研究は、ヒトを含む真核生物の繊毛に共通する運動調節機構の理解につながると期待できる。

## 2. 本年度の研究成果

「クラミドモナスが集団行動を示す可能性」

クラミドモナスの走光性実験は、多くの場合、長くても15分程度の光照射の結果を観察する。これは、数 cm 程度の直径のペトリディッシュに細胞懸濁液を入れて、一方向から光を当てて走光性を観察する場合、5分もあれば細胞からディッシュの端から端まで泳ぐことができることによる。我々は以前、この光照射時間をさらに数時間まで伸ばしたところ、走光性の正負の符号が負→正→負と変動することを見出した（朝比奈ら、投稿準備中）。

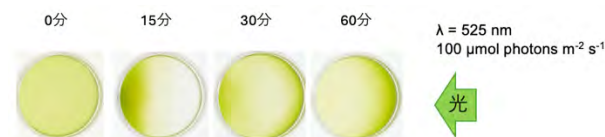


図2 クラミドモナス細胞懸濁液を 3.5 cm ペトリディッシュに入れ、右から走光性を誘導する緑色光を当てた。

この現象を、個々の細胞が走光性の符号を入れ替えた と解釈することもできるが、変動の過程を見ると、一部の細胞が先に負→正に変動し、他の細胞がそれに追随しているように見える。ここに着目し、「一部の細胞から分泌される物質に対して、他の細胞が正の走化性を示している」という仮説を立てた。走光性符号が細胞内活性酸素種(ROS)

蓄積量によって変動することに着目して、ROS 産生を誘導する赤色強光を当てながら走光性を観察すると、この変動が早まった。そのことから、強光がその「仮想・誘導物質」の分泌を誘導すると考えた。そこで、細胞懸濁液に強光を当てたのち、遠心分離し、その上清（強光上清）を得た。この強光上清を用いて、走化性の伝統的な検証法である「アガー・プラグアッセイ」を行った。これは、誘導物質を寒天で固め、その寒天片の周囲に細胞が集まるかどうかを見るというものである。その結果、確かに強光上清を含む寒天片に有意に細胞が集まることがわかった。

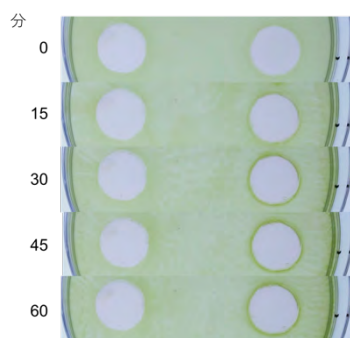


図3 強光上清(右)とコントロールの細胞懸濁液(左)を寒天で固め、10 cm ペトリディッシュ中の細胞懸濁液に入れ、15 分ごとに写真を撮影した。

つまり、クラミドモナスは、集団中のある細胞が分泌した物質に対して走化性を示すことで、集団として移動する性質がある可能性が示唆された。今後は、この原因物質の同定や、走化性行動のための繊毛運動調節様式の検証を行う予定である。

### 3. Research projects and annual reports

It is typical for organisms to change their behavior autonomously in response to external stimuli. Our laboratory aims to elucidate the molecular mechanisms by which *Chlamydomonas reinhardtii*, a model unicellular green alga, regulates ciliary movement in response to light stimuli and exhibits photobehavioral responses.

*C. reinhardtii* is a freshwater unicellular green alga. It is considered a model organism in a wide range of research fields, such as ciliary motility, photosynthesis, and photobehavior. *C. reinhardtii* cells sense light at the eyespot near the equator of the cell and changes swimming direction by regulating the beating of its two cilia (flagella), exhibiting photobehaviors such as phototaxis (change of direction toward the light source or against it) and photoshock response (brief backward

swimming). These responses occur within 1 second after photosensing, and thus provides a good model of photobehavior in organisms. In our laboratory, using *C. reinhardtii* and its closely related multicellular green alga *Volvox* as materials, we aim to answer following three questions at the molecular level.

- (1) How is information such as the direction and intensity of the light source processed in the cell?
- (2) How is ciliary movement regulated by this information?
- (3) How does photobehavior contribute to algal survival?

Answering these questions has the potential to contribute to society in two directions. The first one is to contribute to the industrial use of algae. A wide variety of algae are currently being used as carbon-neutral production platforms for supplements and next-generation fuels. Accumulating knowledge of the photobehavior of the model alga *C. reinhardtii* may contribute to improving the efficiency of outdoor cultivation of algae and the enrichment process. The other is to accumulate knowledge on the expression mechanism of human primary ciliary dyskinesia. *C. reinhardtii* is regarded as a model organism in the field of research on the molecular mechanisms of ciliary construction and motility regulation. Since dysregulation of ciliary motility induces abnormal light-responsive behavior, our studies are expected to lead to a better understanding of the regulatory mechanisms common to eukaryotic cilia.

#### Progress in this year: "Potential Collective Behavior in *Chlamydomonas*"

Phototaxis experiments with *C. reinhardtii* typically involve light exposure for no more than 15 minutes. This is because when a cell suspension is placed in a Petri dish several centimeters in diameter and illuminated from one direction, the cells are capable of swimming from one edge of the dish to the other within about 5 minutes. In a previous study, we extended the light exposure duration to several hours and observed that the sign of phototaxis (positive or negative) fluctuated over time, shifting from negative to positive and then back to negative (Asahina et al., manuscript in preparation).

This phenomenon could be interpreted as individual cells changing the sign of their phototaxis over time. However, upon closer examination of the transition process, it appeared that a subset of the cells shifted from

negative to positive phototaxis first, followed by others, suggesting collective behavior. Based on this observation, we hypothesized that some cells might secrete a substance that induces positive chemotaxis in neighboring cells.

Given previous findings that the sign of phototaxis is influenced by the intracellular accumulation of reactive oxygen species (ROS), we examined phototactic behavior under strong red light, which induces ROS production. We found that the fluctuation in phototactic direction occurred more rapidly under this condition. This led us to speculate that strong light may promote the secretion of the hypothesized signaling substance.

To test this, we irradiated a cell suspension with strong light, then centrifuged it to obtain the supernatant (referred to as “strong light supernatant”). We used this supernatant in a traditional chemotaxis assay known as the “agar plug assay,” in which agar pieces containing the test substance are placed in a cell suspension to determine whether cells accumulate around them. As a result, we found that cells were significantly attracted to agar pieces containing the strong light supernatant.

These findings suggest that *C. reinhardtii* may exhibit a form of collective migration, responding chemotactically to substances secreted by some members of the population. Future work will aim to identify the attractant and examine the regulation of ciliary motion involved in this chemotactic behavior.

#### 4. 論文、著書など

##### 1) 査読つき原著論文

1. Sekiguchi, T., Yoshida, K., Wakabayashi, K., Hisabori, T. (2024) Proton gradient across the chloroplast thylakoid membrane governs the redox regulatory function of ATP synthase. *Journal of Biological Chemistry* 300:1076592
2. Ueki, N., Wakabayashi, K. (2024) Multicellularity and increasing Reynolds number impact on the evolutionary shift in flash-induced ciliary response in Volvocales. *BMC Ecology and Evolution* 24:119
3. Strain, A., Kratzberg, N., Vu, D., Miller, E., Wakabayashi, K., Melvin, A., Kato, N. (2024) COP5/HKR1 changes ciliary beat pattern and biases cell steering during chemotaxis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Scientific Reports* 14:30354

##### 2) プレプリント

1. Nakazawa, Y., Horii, M., Noga, A., Koike, Y., Kawai-Toyokoka, H., Dohra, H., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Wakabayashi, K., Hirono, M. (2025) *Chlamydomonas*  $\gamma$ -

tubulin mutations reveal a critical role of  $\gamma$ -TuRC in maintaining the stability of centriolar microtubules  
**bioRxiv**

#### 5. 学会発表など

1. 植木紀子、宋叡陽、井須敦子、久堀徹、若林憲一。緑藻の多細胞化への生存戦略:ボルボックス目パンドリナは高い光行動能と光防御能をあわせ持つ。日本植物学会第88回大会。宇都宮大学、2024年9月13-15日。
2. 高野真由、前川優太、森口努、植木紀子、若林憲一。緑藻クラミドモナスの光走性符号変動と化学走性の連関。日本植物学会第88回大会。宇都宮大学、2024年9月13-15日。
3. 若林憲一 (招待講演)。光行動から紐解くボルボックス目緑藻の多細胞化に伴う生存戦略の変遷。第39回ユーグレナ研究会。京都大学北部キャンパス、2024年10月26日。
4. 高野真由、前川優太、森口努、植木紀子、若林憲一。緑藻クラミドモナスの走光性符号変動と走化性の連関。生体運動研究合同班会議。静岡グランシップ、2025年1月6-7日。
5. 若林憲一 (招待講演)。繊毛運動・細胞行動研究者のラボ引っ越し。第18回クラミドモナス研究会。京都大学北部キャンパス、2025年3月7-8日。
6. 森口努、高野真由、植木紀子、若林憲一。強光ストレス下の緑藻クラミドモナス分泌物による走化性の解析。第18回クラミドモナス研究会。京都大学北部キャンパス、2025年3月7-8日。

#### 6. その他特記事項

##### 1) 外部資金

##### 1. 科学研究費補助金・基盤研究(B)

課題名: 活性酸素種による緑藻の光走性調節分子機構とその生理的意義の解明

研究代表者: 若林憲一, 取得年度 R4-6 年 (3 年)

##### 2. 科学研究費補助金・挑戦的研究(萌芽)

課題名: クラミドモナスの2本の繊毛が協調して運動する分子機構

研究代表者: 若林憲一, 取得年度 R5-6 年 (2 年)

##### 3. 科学研究費補助金・基盤研究(B)(分担)

課題名: 群体性藻類型自己組織化による自律素子群体の合目的的挙動生成

研究代表者: 倉林大輔, 取得年度 R4-6 年 (3 年)

##### 4. 科学研究費補助金・学術変革(A)「ジオラマ行動力学」(公募班)

課題名: 緑藻クラミドモナスの走化性に基づく集団行動のジオラマ環境下での検証

研究代表者: 若林憲一, 取得年度 R6-7 年 (2 年)

## 2) 学外活動

若林憲一、日本生物物理学会 代議員

若林憲一、日本生物物理学会 分野別専門委員(走性)

若林憲一、日本生物物理学会 ウェブサイト委員

## 3) 受賞等

なし

## 4) その他

1. アウトリーチ活動 2024年8月3日 高校生向け公開実験  
「藻の平泳ぎが人類を救う? 緑藻クラミドモナスのゾンビ実験と走  
光性お絵描き」(ひらめき・ときめきサイエンス事業による)



研究室2期生分属記念写真



京都大学で開催されたクラミドモナス研究会に参加



研究室1期生卒業式

## 2024 年度 動物実験教育訓練および動物慰霊祭

### 動物実験教育訓練

本学では毎年春学期に、本学動物実験委員会主催のもと、動物実験のための教育訓練を実施しています。この教育訓練では、動物実験の総論（実験動物の役割、飼育管理、取扱い、動物愛護・福祉、関連法規等）の説明と動物実験施設の利用講習を行っています。また、定期的な開催に加えて、適宜、臨時の教育訓練を実施しています。2024 年度は、春学期の 4 月に対面で教育訓練を実施し、144 名が参加者しました。

### 動物慰霊祭

本学では毎年、本学動物実験委員会の主催のもと、動物慰霊祭を執り行っています。2024 年度は 2 月 5 日に心光院村橋邦彦住職に来て頂き読経のもと、多くの学生、教職員約 140 名が出席し、教育・研究のため犠牲となった動物に供養を行いました。供養の後、ご住職よりご説法がありました。

### 動物慰霊祭風景



2024年

生命科学部 研究トピックス



研究トピックス(1): セミナー・シンポジウム開催状況

| 開催年月日      | 関係学科等 | 講演者(所属先)                                                   | イベント名・講演タイトル                                  |
|------------|-------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 2024.10.16 | 先端生命  | 津下 英明(京都産業<br>大学生命科学部 教授)<br>千葉 志信(京都産業<br>大学生命科学部 教<br>授) | Teamsによるオンラインで、生命科学セミナーが開催されました!(10<br>月16日)  |
| 2024.10.23 | 産業生命  | 前田 秋彦(京都産業<br>大 学 生 命 科 学 部 教<br>授)                        | Teamsと対面によるハイブリッドで、定例研究会が開催されました!(10<br>月23日) |

研究トピックス(2): その他の大学ホームページに掲載された主なトピックス

| HP掲載月 | 関係学科等 | 関係者      | トピック内容                                                                        |
|-------|-------|----------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 4月    |       |          | Monthly GSCセミナーを開催しました。(4月10日)                                                |
| 5月    | 産業生命  | 木村 成介 教授 | 葉の形を変えて水中で生き延びる植物の謎を解明しました                                                    |
| 5月    |       |          | Monthly GSCセミナーを開催しました(5月8日)                                                  |
| 5月    |       |          | 今年5年度学業成績優秀者表彰式を挙行了しました(5月15日)                                                |
| 6月    |       |          | バイオフィォーラムを開催<br>~Channels and insertases in action for protein translocation~ |
| 6月    |       |          | Monthly GSCセミナーを開催しました(6月10日)                                                 |
| 7月    |       |          | Monthly GSCイベントを開催しました(7月10日)                                                 |
| 7月    | 先端生命  |          | 生命科学部 高橋研究室の4年次生が第1回オーガニックライフスタイル<br>EXPO in 京都に参加・発表しました                     |
| 7月    |       |          | バイオフィォーラムを開催<br>~葉緑体とミトコンドリアのゲノム編集技術の開発と利用~                                   |
| 7月    |       |          | 【タンパク質動態研究所】池田 貴史 研究員が第57回日本発生物学会<br>大会にて優秀ポスター賞を受賞しました                       |
| 8月    |       |          | 「ひらめき ときめきサイエンス~ようこそ大学の研究室へ~KAKENHI」<br>を開催しました                               |
| 9月    |       |          | バイオフィォーラムを開催<br>~Insertion and assembly of multipass membrane proteins~ 等     |
| 9月    |       |          | バイオフィォーラムを開催<br>~Pinning down germline development~                           |
| 9月    |       |          | 「ミツバチ同好会BoooN!!!」がイベント「はちみつせっけんとみつろうハ<br>ンドクリームを作ろう!」を開催しました                  |

研究トピックス(2): その他の大学ホームページに掲載された主なトピックス

| HP掲載月 | 関係学科等 | 関係者       | トピック内容                                                                    |
|-------|-------|-----------|---------------------------------------------------------------------------|
| 10 月  |       |           | 「短期海外生命科学英語実習」タイにて現地実習をしました                                               |
| 10 月  |       |           | Monthly GSCイベントを開催しました(10月9日)                                             |
| 10 月  | 産業生命  | 寺地 徹 教授   | 「ダイコンのオグラ型雄性不稔に関連するorf138mRNAを切断する新規稔性回復遺伝子の同定とその多様性」に関する論文を公表しました        |
| 11 月  |       |           | 「ミツバチ同好会BoooN!!!」が第 59 回神山祭において模擬店大賞 1 位を受賞しました                           |
| 11 月  |       |           | Monthly GSCセミナーを開催しました(11月13日)                                            |
| 11 月  | 先端生命  | 本橋 健 教授   | Addgeneから『Blue Flame Award』を受賞しました                                        |
| 11 月  |       |           | サイエンスコミュニケーション研究会「サングラス」が亀岡市で開催されたサイエンスフェスタ 2024 に出展しました                  |
| 12 月  |       |           | Monthly GSC12月・英語プレゼンテーション発表会を開催しました(12月11日)                              |
| 12 月  | 先端生命  | 横山 謙 教授   | ヒト由来パネキシン 3 チャネル蛋白質の高分解能構造をクライオ電子顕微鏡により解明                                 |
| 1 月   | 先端生命  | 横山 謙 教授   | FoF1-ATPase(ATP合成酵素)のADP阻害型構造をクライオ電子顕微鏡により解明                              |
| 1 月   |       |           | Monthly GSCセミナーを開催しました(1月15日)                                             |
| 1 月   |       |           | NPOセンターが主催する「輝く学生応援アワード 2024」に出場し表彰されました                                  |
| 2 月   | 先端生命  | 高橋 純一 准教授 | 外来生物である寄生バチの一種において、マイクロサテライトDNAの高い多様性とミトコンドリアDNAの多様性の欠如が生じていることを明らかにしました。 |
| 3 月   |       |           | 生命科学部 福島 巧大さんがKyoto Students Business Award 2025 優秀賞を受賞しました               |



# キャンパスマップ



## 生命科学部関連校舎

| 名 称    |
|--------|
| 第1実験室棟 |
| 16号館   |
| 9号館    |
| 15号館   |

## 京都産業大学 生命科学部 年報

### 第6号 2024(令和6年)

発 行 日 2025(令和7)年9月30日

発 行 者 京都産業大学 生命科学部

〒603-8555 京都市北区上賀茂本山

TEL 075-705-1466 FAX 075-705-1914

<https://www.kyoto-su.ac.jp/faculty/lis/>