

研究領域「細胞内現象の時空間ダイナミクス」中間評価（課題評価）結果

1. 研究領域の概要

本研究領域は、超分子複合体からオルガネラ、非膜オルガネラに至る細胞内の高次構造体の微小空間でのダイナミクスを観察・計測し、その機能相関を解析することにより細胞の統合的理解を目指します。

近年、クライオ電子顕微鏡や超解像顕微鏡、高速原子間力顕微鏡等の観察・計測技術の発展により、細胞内における微細構造や動態の理解が大きく進展しました。これにより、巨大膜タンパク質複合体等の構造情報が急増するとともに、生物学的相分離やオルガネラ間の相互作用等の新しい現象が見いだされ、従来の細胞の概念が見直されつつあります。

一方で、細胞の統合的理解のためには、上記のようなオルガネラ、非膜オルガネラレベルの細胞内高次構造体に関する精度の高い知見を、分子レベルと細胞レベルの双方向からのアプローチにより獲得し、それらを統合していくことが求められます。

以上から、本研究領域では、上記課題を克服する細胞内現象の観察や計測、制御等の技術の開発と、それらを活用した細胞内高次構造体の機能解明を行い、それに基づく新たな生命現象の理解を目指します。

2. 中間評価の概要

2-1. 評価の目的、方法、評価項目及び基準

戦略的創造研究推進事業・CRESTにおける中間評価の目的、方法、評価項目及び基準に沿って実施した。

2-2. 評価対象研究代表者及び研究課題

2020年度採択研究課題

(1) 栗栖 源嗣（大阪大学蛋白質研究所 教授）

光合成オルガネラ間コミュニケーションの動的分子基盤

(2) 濡木 理（東京大学大学院理学系研究科 教授）

細胞機能を担う超分子複合体の原子分解能ダイナミクス

(3) 野田 展生（北海道大学遺伝子病制御研究所 教授／（公財）微生物化学研究会微生物化学研究所 特任研究員）

多階層高次構造体群が駆動するオートファジーダイナミクス

(4) 林 康紀（京都大学大学院医学研究科 教授）

記憶を司るシナプス微小構造の時空間ダイナミクス

(5) 東山 哲也（東京大学大学院理学系研究科 教授）

化学屈性を駆動する高次膜交通ダイナミクス

(6) 廣瀬 哲郎（大阪大学大学院生命機能研究科 教授）

RNAによる非膜性構造体の形成と作動原理の確立

2-3. 中間評価会の実施時期

2023年8月31日（木曜日）、9月2日（土曜日）

2-4. 評価者

研究総括

遠藤 斗志也 京都産業大学生命科学部 教授

領域アドバイザー

稲葉 謙次	東北大学多元物質科学研究所 教授
井上 篤	エーザイ（株）DHBLオフィスポートフォリオ&プロジェクトマネジメント部 ディレクター
上田 貴志	基礎生物学的研究所細胞動態研究部門 教授
岡本 祐幸	名古屋大学国際本部 特任教授
金井 求	東京大学大学院薬学系研究科 教授
吉川 雅英	東京大学大学院医学系研究科 教授
後藤 典子	金沢大学がん進展制御研究所 教授
嶋田 一夫	理化学研究所生命機能科学研究センター チームリーダー
豊島 陽子	東京大学 名誉教授
藤田 克昌	大阪大学大学院工学研究科 教授
山下 敦子	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授
米田 悦啓	（一財）阪大微生物病研究会（BIKEN財団） 理事長

外部評価者

該当なし

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： 光合成オルガネラ間コミュニケーションの動的分子基盤
2. 研究代表者： 栗栖 源嗣（大阪大学蛋白質研究所 教授）
3. 中間評価結果

X線結晶解析、NMR分光法、分子動力学計算、クライオ電子顕微鏡を駆使して、光合成反応の制御を担うチラコイド膜とピレノイドの動的コミュニケーションについての構造・機能解析を進め、順調に結果を出していると認められる。特に、新規ピレノイド構成因子として同定した Pyshe11 の構造について、海外専門家との共同研究を進め、難易度が高い in situ クライオ電子線トモグラフィー（クライオET）を用いてインパクトのある構造情報を得ていることは高く評価できる。

また、チラコイド内腔を酸性化する動的構造基盤の解析に関しては、シトクロム b_6f 複合体の pH による鉄硫黄クラスターの構造変換を明らかにし、電子伝達のメカニズムに加え、pH センサーの実体に迫る優れた進捗が見られる。作用モデルの検証のために全原子 MD シミュレーションにも着手しており、今後の進展が期待される。さらに、炭酸固定反応にかかわる因子の特徴的な重炭酸イオン結合様式を明らかにした点も興味深い成果といえる。

クライオ ET については、学内で自立して研究を進められる体制をつくとともに、海外の技術を取り入れながら独自かつ強みのある手法として、ノウハウを蓄積していくことを期待する。

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： 細胞機能を担う超分子複合体の原子分解能ダイナミクス
2. 研究代表者： 濡木 理（東京大学大学院理学系研究科 教授）
3. 中間評価結果

内耳外有毛細胞におけるモーター膜タンパク質 Prestin、dsRNA 輸送に働く SID-1、ニューロンの高次機能に働くイオンチャネルの過渡的複合体、RNA 干渉に働く過渡的複合体 Dicer-2-R2D2 など、それぞれの対象タンパク質（複合体）について、クライオ電子顕微鏡の単粒子解析により原子分解能で構造を決定し、超解像ライブセルイメージング等の他の手法による解析結果と組み合わせて新しいモデルを提唱するという、質の高い優れた成果が認められる。得られた重要な基礎的知見に関し、ハイインパクトの雑誌に継続的に論文を発表している点は高く評価できる。また、構造解析に基づいて GPCR 創薬の新たな標的を提示する成果は、医薬分野への応用面でも波及効果が大きいと考えられる。

さらに、クライオ電子線トモグラフィーの最大の課題である分子複合体の帰属について、急速凍結した試料を凍結させたまま電子と光で高分解能の相関観察を行うクライオ-nano CLEM は、タンパク質複合体から細胞まで階層を超えた構造解析実現の鍵を握ると考えられ、その計測技術が実現されつつあることも評価できる。

今後は、これまでに開発された、そして開発中の様々な観測技術を上手く融合させ、チームとして、他を凌駕する成果を挙げられることを期待する。

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： 多階層高次構造体群が駆動するオートファジーダイナミクス
2. 研究代表者： 野田 展生（北海道大学遺伝子病制御研究所 教授）
3. 中間評価結果

膜構造の動的変換に関わるオートファジーについて、隔離膜の新生・伸展・閉鎖の機構解明を目指し、NMR、AFMなどの構造解析と蛍光顕微鏡観察に、*in vitro*再構成系による生化学実験を組み合わせ、分子レベルから細胞機能まで繋がるレベルの高い研究が進められている。特に再構成系を用いた膜構造の変換過程や液滴の解析の技術レベルの高さは特筆に値する。国際一流雑誌への論文発表が途切れることなくなされている点も高く評価できる。AlphaFold-multimerによる複合体構造予測技術を積極的に活用した研究の展開も目を引く。プレオートファゴソーム構造（PAS）で初期隔離膜が生成し、Atg8とその脂質化酵素群が膜上で連携して柔軟な膜複合体を形成し、隔離膜の伸展が進行することの証明に加えて、Atg2の疎水性ポア内での脂質輸送や、小胞体（ER）近傍で形成される液滴におけるER濃縮などの、新しい現象・機構も見えてきており、さらに解像度をあげた今後の研究の進展が期待される。

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： 記憶を司るシナプスタンパク質の微小構造の時空間ダイナミクス

2. 研究代表者： 林 康紀（京都大学大学院医学研究科 教授）

3. 中間評価結果

シナプスタンパク質の動態変化を、CaMKIIの液-液相分離（LLPS）の概念を足掛かりとして解析し、長期記憶のメカニズムを解明しようとする研究の方向性は興味深い。当初計画にはなかったが、コフィリンとスパイン形態の関係、リン酸化、非リン酸化コフィリンのドメイン形成の発見は重要な成果であり、これに関して着実に論文を発表していることは高く評価できる。また、in vitroの結果をマウスにまで戻して記憶との関係を検証した点も非常に高く評価できる。LLPSの形成の理論モデリングについても興味深い結果が得られており、理論予測の精度の検証を進めて、さらなる発展を期待する。

長期増強現象（LTP）に伴うシナプスタンパク質のダイナミクスの可視化、電気生理学実験、さらには、オプトジェネティクスによるLLPS制御技術については遅れがあるので、当初計画に沿っての今後の進展を期待する。開発中の二光子STED顕微鏡を活用したライブ観察も含め、グループ間でのさらなる有機的連携にも努めていただきたい。

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： 化学屈性を駆動する高次膜交通ダイナミクス
2. 研究代表者： 東山 哲也（東京大学大学院理学系研究科 教授）
3. 中間評価結果

花粉管膜交通について、新たな顕微観察技術を確立した上で、超解像イメージングによる解析を推進し、膜交通の多様性やダイナミクス、受容体分子との関連を明らかにしている。花粉管特異的なR-SNAREを特定し、異なるR-SNAREがそれぞれ異なる小胞に局在し、空間分布も異なるという発見や、化学屈性を担うカーゴに応じた異なる小胞輸送経路の解明など、研究目標の達成に向けた順調な進展がみられる。特に、化学屈性に関わる小胞輸送の多くの新しいイメージングデータを取得している点は高く評価でき、生体試料の深部観察を可能とする1分子・超解像イメージング技術の開発も進んでいる。すでに複数の論文成果を挙げており、今後も研究代表者が中心となって精力的に成果が発信されることを期待する。

今後、化学屈性を担うカーゴに応じた異なる輸送経路への仕分けが行われるメカニズム解明などの到達目標を明らかにし、小胞輸送、膜交通の本質に迫る実験結果を得て花粉管の屈性制御の理解を深め、本研究が大きく展開することを期待する。

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： RNA による非膜性構造体の形成と作動原理の確立
2. 研究代表者： 廣瀬 哲郎（大阪大学大学院生命機能研究科 教授）
3. 中間評価結果

arcRNA を足場とした RNP 構造体の構造、機能、作動機構の解明、及び小分子化合物による RNP 構造体の人為的な操作技術の開発に向けて、計画どおり着実に研究が進行し、優れた成果が得られていると認められる。arcRNA を骨格とした核内ストレス体 (nSB) のサブクラスの発見、RNP 構造体内部の層構造の理解が深まるなど、その成果は複数の著名雑誌で論文発表され、世界的にも最先端の研究として注目されていることは極めて高く評価できる。arcRNA がサイトゾルに移行して別の構造体をつくること、さらにはサイトゾルで一部翻訳される可能性の発見は想定外の展開であり、今後の展開が興味深い。

RNP 構造体形成の光制御に用いる化合物の開発も進んでおり、これを用いた細胞制御への展開を期待する。多種類の arcRNA の候補や、そこに結合するタンパク質も同定しており、今後、これらが実際の細胞機能や疾患にどのように繋がっているのかについて明らかにしていくことが期待される。