

戦略的創造研究推進事業  
－チーム型研究(CREST)－

研究領域「ライフサイエンスの革新を目指  
した構造生命科学と先端的基盤技術」

研究領域事後評価用資料

研究総括：田中 啓二

2020年2月



## 目 次

1. 研究領域の概要 .....	1
(1)戦略目標 .....	1
(2)研究領域 .....	1
(3)研究総括 .....	1
(4)採択研究課題・研究費.....	2
2. 研究領域および研究総括の設定について.....	4
3. 研究総括のねらい.....	5
4. 研究課題の選考について.....	5
5. 領域アドバイザーについて.....	6
6. 研究領域のマネジメントについて.....	8
7. 研究領域としての戦略目標の達成状況について.....	11
8. 総合所見 .....	18

## 1. 研究領域の概要

### (1) 戦略目標

「多様な疾病の新治療・予防法開発、食品安全性向上、環境改善等の産業利用に資する次世代構造生命科学による生命反応・相互作用分子機構の解明と予測をする技術の創出」

### (2) 研究領域

「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」（平成 24 年度発足）

本研究領域は、先端的ライフサイエンス領域と構造生物学との融合によりライフサイエンスの革新に繋がる「構造生命科学」と先端基盤技術の創出を目指します。すなわち最先端の構造解析手法をシームレスに繋げ、原子レベルから細胞・組織レベルまでの階層構造ダイナミクスの解明と予測をするための普遍的原理を導出し、それらを駆使しながら生命科学上重要な課題に取り組みます。

近年わが国では大規模なタンパク質の構造決定研究が進められ大きな成果を収めてきましたが、今後はその資源を礎に、生命現象の重要な担い手でありながら単独では機能しないタンパク質を動的に捉え、これが多くの生体高分子との相互作用で機能を発揮するメカニズムを追求することが大切です。たとえば多くの動植物の病気はタンパク質の異常に由来しますが、その原因を解明し、新規治療法や予防法を開発するためには、構造生命科学を基軸にした生命現象の理解が不可欠です。また、健康な長寿社会の実現、安全な食糧生産、環境問題の克服でも構造生物学的研究が求められます。こうした局面において構造生命科学は、生命現象を原子・分子レベルで時間的・空間的に解明して普遍的原理を導出し、さらには構造から生命現象を予測することで、こうした課題に応えるものとなります。

そこで本研究領域では、この構造生命科学を駆使して生命現象を支える重要な機能性素子である巨大複合体やオルガネラの動態解析、疾患の原因分子の特定とその構造の解明、構造的相互作用に基づいた創薬のためのリード化合物の分離などのほか、こうした研究を実現するために必要な先導的技術の創出を目指します。本研究領域は、文部科学省の選定した戦略目標「多様な疾病の新治療・予防法開発、食品安全性向上、環境改善等の産業利用に資する次世代構造生命科学による生命反応・相互作用分子機構の解明と予測をする技術の創出」のもとに、平成 24 年度に発足しました。

### (3) 研究総括

氏名 田中 啓二

（東京都医学総合研究所 理事長）

## (4) 採択研究課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	所属・役職 研究課題終了時	研究課題	研究費*
2012年 度	遠藤斗志也	京都産業大学総合生命科学部・教授	ミトコンドリアをハブとする構造機能ネットワークの解明	355
	千田俊哉	高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所・教授	ピロリ菌の感染と発がん機構の構造学的解明	240
	月原富武	兵庫県立大学大学院生命理学研究科・特任教授	ミトコンドリア呼吸鎖の構造生命科学ー構造がもたらす正確さ	240
	樋口芳樹	兵庫県立大学大学院生命理学研究科・教授	生物酵素による水素エネルギー利用システムの構造基盤解明	287
	深井周也	東京大学定量生命科学研究所・准教授	シナプス形成を誘導する膜受容体複合体と下流シグナルの構造生命科学	262
	山口明人	大阪大学産業科学研究所・特任教授	異物排出輸送の構造的基盤解明と阻害剤の開発	394
2013年 度	安藤敏夫	金沢大学 WPI ナノ生命科学研究所・特任教授	ATP/GTP が駆動するタンパク質マシナリーの動的構造生命科学	242
	磯辺俊明	首都大学東京大学院理学研究科・特任教授	RNA 代謝異常症のリボヌクレオプロテオミクス解析と構造生命科学への展開	261
	伊藤隆	首都大学東京大学院理学研究科・教授	NMR と計算科学の融合による in situ 構造生物学の確立と真核細胞内蛋白質の動態研究へ	230

			の応用	
	栗栖源嗣	大阪大学蛋白質 研究所・教授	植物の環境適応を実現 する過渡的超分子複合 体の構造基盤	266
	清水敏之	東京大学大学院 薬学系研究科・教 授	自然免疫における一本 鎖核酸認識受容体の構 造解明およびその応用	305
	永田和宏	京都産業大学タ ンパク質動態研 究所・所長	小胞体恒常性維持機 構：Redox, Ca <sup>2+</sup> , タン パク質品質管理のクロ ストーク	267
	野田展生	微生物化学研究 会微生物化学研 究所・部長	オートファジーの膜動 態解明を志向した構造 生命科学	229
2014年 度	吉川雅英	東京大学大学院 医学系研究科・教 授	鞭毛・繊毛をターゲッ トとする細胞の構造生 命科学	247
	高島成二	大阪大学大学院 医学系研究科・教 授	新たなる臓器保護剤の 開発に向けた ATP 産生 制御の構造生命科学	246
	中川敦史	大阪大学蛋白質 研究所・教授	新規細胞膜電位シグナ ルの構造基盤の解明	274
	長田重一	大阪大学免疫学 フロンティア研 究センター・教授	細胞膜におけるリン脂 質の非対称分布とその 崩壊	309
	森田（寺 田）美代	基礎生物学研究 所・教授	重力屈性における重力 シグナリングの分子機 構～分子構造から個体 応答まで～	221
			<b>総研究費</b>	<b>4,875</b>

\*研究費：2019年度上期までの実績額

本研究領域においては、提案の内容に応じて適切に研究費を見直し、限られた予算の中でライフサイエンス分野での機能分子の構造が機能解析に重要な情報をもたらすような課題から技術革新や開発の可能な課題までを組み合わせで採択した。期中の予算見直しにおいては、特にチーム間の技術の連携、研究成果の社会への還元を意識した研究項目を重視し、2016年度より2018年度までの間、領域内でコンペティションを行い、年間数百～

1,500万円規模での支援を行った。

\*各研究課題とも5年間の見込み総額

## 2. 研究領域および研究総括の設定について (JST 記載)

### (1) 研究領域選定の理由

本研究領域は、先端的ライフサイエンス領域と構造生物学との融合によりライフサイエンスの革新に繋がる「構造生命科学」と先端基盤技術の創出を目指すものである。具体的には、最先端の生体分子の構造解析手法をシームレスに繋げ、生命現象の重要な担い手でありながら単独では機能しないタンパク質を動的に捉え、これらが多くの生体高分子との相互作用で機能を発揮するメカニズムを追求し、そのうえで構造から生命現象を予測することで生命科学上重要な課題に取り組む。得られた成果は、たとえば、タンパク質の異常に由来するとされる動植物の病気の原因解明、新規治療法や予防法の開発、健康な長寿社会の実現、安全な食糧生産、環境問題の克服といった科学技術イノベーションにつながるものである。近年、大規模なタンパク質の構造決定研究プロジェクトが進められ、「構造生命科学」における先駆的な研究成果が積み上がってきたことが背景となって、ライフサイエンスおよび構造生物学分野の最前線において、生命現象に関わる分子のダイナミックな相互作用を解明しようという機運が高まっている。このような状況の中、本研究領域は科学技術イノベーションにつながる「構造生命科学」とその基盤となる技術の創出を推し進めるものであり、戦略目標達成に向けて適切に設定されたものであると言える。本研究領域では、先端的な研究を展開する幅広いライフサイエンスの研究者と卓越した構造生物学的技術を駆使する研究者が融合的に研究を進める必要があり、また前述の機運の高まりもあることから応募数も多数見込まれ、CRESTを選定することは適切である。

### (2) 研究総括指定の理由

研究総括 田中 啓二

田中啓二氏は、タンパク質分解機構について、細胞内で不要なタンパク質を選択的に分解するタンパク質分解酵素を発見、プロテアソームと命名し、その構造・機能・生理・病態に関する先駆的研究を行ってきたことで著名である。さらには免疫プロテアソームの発見や胸腺での T 細胞分化に関与する胸腺プロテアソームを発見して分子免疫学の発展に大きく貢献し、最近ではユビキチン代謝系やオートファジー（自食作用）の研究において世界の最先端をいく研究にも取り組んでいる。こうした田中氏の研究は、生命科学をベースに遺伝子クローニング・電子顕微鏡・X 線結晶構造解析などの最先端技術を駆使するもので、同氏は本研究領域が掲げる構造生命科学の方法を自身で長年実践してきたと言え、本研究領域をリードする上で必要となる高い見識と優れた先見性と洞察力を備えると言える。

また田中氏は2002年に東京都臨床医学総合研究所の副所長に就任して以来現職にいたるまでの10年の長きにわたり同組織を率い、研究プロジェクトから組織運営まで幅広く手腕

を發揮してきた。このことから同氏は 研究プロジェクトの指揮・指導や組織運営に必要な高いマネジメント能力を備えると言える。さらに、同氏は、日本生化学会、日本分子生物学会、日本タンパク質科学会をはじめとする学会においても要職を歴任しており、信望もあつたことから、公平かつ適正な評価を行いうると判断される。以上を総合すると、田中氏はCREST「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」研究領域の研究総括として適任であると考えられる。

(JST 記載)

### 3. 研究総括のねらい

本研究領域は、先端的ライフサイエンス領域と構造生物学との融合によりライフサイエンスの革新に繋がる「構造生命科学」と先端基盤技術の創出を目的とする。

この新しい「構造生命科学」という研究分野では、タンパク質の「構造を解く」研究を深化させ、「構造を使う」研究への飛躍を実現し、研究の社会還元を目指したい。具体的な社会還元内容としては、「革新的な予防法の開発」、「新しい早期診断法の開発」、「安全で有効性の高い治療の実現」、「高齢者、障害者、患者の生活の質 (QOL) の向上」及び「安定的なエネルギー供給と低炭素化の実現」などがあげられる。この目的を達成するために、(1) ヒトをはじめとする動物や植物・微生物の生体内機能解明やエネルギー産生メカニズムおよび(2) その解明のための新技術の開発の2つを研究対象とした。

また、構造生物学と生命機能解明の融合という点を最重要視している。このため、タンパク質などの機能分子の構造解明のみの研究は対象としないこととした。基礎生命科学研究者と構造生物学研究者の共同研究を重視し、構造を使って生命機能解明に貢献することを主眼において、領域運営を行った。

### 4. 研究課題の選考について

本研究領域では、ライフサイエンス分野と構造生物学の融合を目指した課題を推進し、タンパク質の「構造を解く」研究を深化させ、「構造を使う」研究へと飛躍させ、疾患に対する創薬や治療法の創出・エネルギー生産技術の産出・植物育成を目的とした研究やそれらにつなげるために必要な基礎研究の技術開発を行うことを目的とし、そのために構造を「解き」、「使う」という生命機能解析と構造解析に両軸をおくような課題を公募した (図 1)。また、ライフサイエンス研究の発展に資するための結晶構造解析、溶液散乱、核磁気共鳴 (NMR)、電子顕微鏡、1 分子観察、分子イメージング、タンパク質複合体単粒子構造解析、質量分析、計算科学、バイオインフォマティクス、各種相互作用解析法などの手法を高度化させる課題や新たな多次元研究手法、全く新規な手法の創出も対象とした。

初年度は、疾患の原因分子の特定とその構造の解明、構造的相互作用に基づいた創薬のためのリード化合物の分離、細胞内小器官機能解明などの観点から審査を行い、ミトコンドリア機能解明・疾患メカニズム解明・感染症に対する阻害剤開発・バイオ電池開発などを目的



とした6課題を選出した。

次年度は、「構造を解く」研究では構造解析技術の高度化や新たな技術開発研究を主軸に、「構造を使う」研究ではウイルスに関する新たな検査法・予防法・治療法等の開発につながる研究、環境問題等に配慮した植物の育成につながる研究などを行う課題を中心に選考を行った。また、タンパク質以外の生命機能分子（核酸や脂質・糖など）の構造の知見から生命現象解明に迫るような研究も対象とした。その結果として、高速AFM、in cell NMR、RNA質量分析などの技術課題を中心に採択し、構造を使う研究では、自然免疫・植物・微生物の光環境適応・オートファジーや小胞体恒常性研究などを採択し、様々な分野にわたる7課題を選出した。

最終年度は、前年度までの観点に加えて、技術開発中心の提案については緩和した条件で課題の選考を行い、臓器保護剤開発・植物の重力屈性・細胞膜電位機構・アポトーシスの機能解明や、クライオ電子顕微鏡を用いた繊毛・鞭毛の構築原理解明など、合計5課題を採択した。

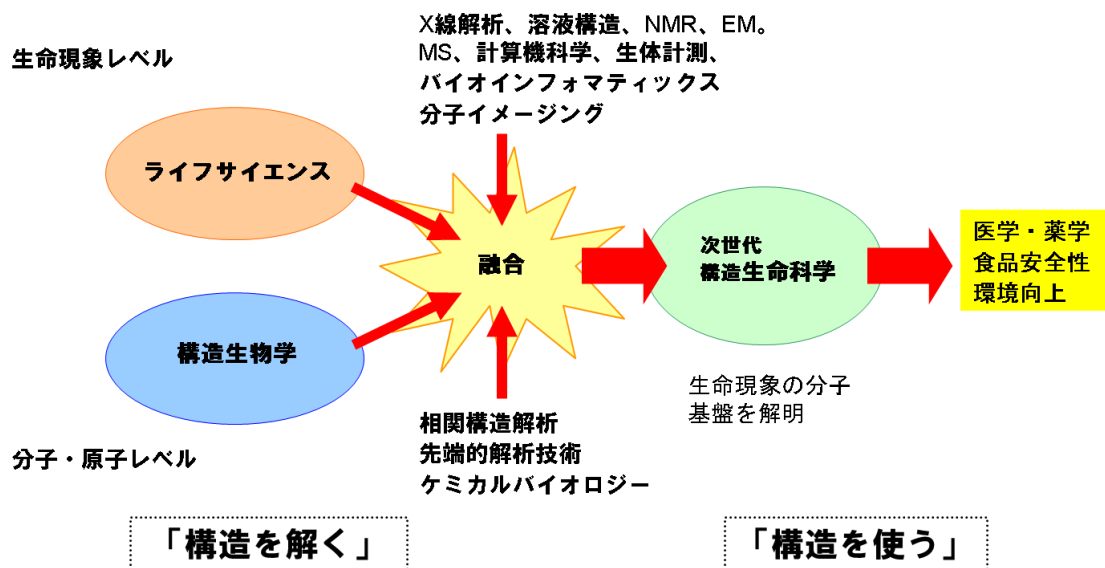


図1. 本研究領域の対象となる技術・分野の俯瞰

## 5. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザー名 (専門分野)	現在の所属	役職	任期
大隅良典	東京工業大学 フロンティア研究機構	名誉教授	2012年5月～現在に至る

嶋田一夫	東京大学大学院薬学系研究科	教授	2012年5月～現在に至る
中島元夫	SBI ファーマ (株)	取締役執行役員・CSO	2012年5月～現在に至る
箱嶋敏雄	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	教授	2012年5月～現在に至る
藤吉好則	東京医科歯科大学高等研究院卓越研究部門	特別栄誉教授	2012年5月～現在に至る
古谷利夫	ペプチドリーム (株)	技術顧問	2012年5月～現在に至る
三浦正幸	東京大学大学院薬学系研究科	教授	2013年4月～現在に至る
山縣ゆり子	熊本大学	名誉教授	2012年5月～現在に至る
由良敬	お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科	教授	2014年4月～現在に至る
吉田賢右	京都産業大学総合生命科学部	シニアリサーチフェロー	2012年5月～現在に至る

本研究領域では、生命科学と先端技術の異分野融合により、構造と機能の相関から生命現象の解明を目標とし、対象とする分野はガン・免疫・感染症・神経変性疾患などの医学・薬学から光合成や植物の伸長などの植物分野、RNA、細胞やオルガネラの機能など多岐にわたり、対象となる解析技術はX線結晶構造解析やNMR、電子顕微鏡、計算科学など多様な技術を用いた提案が期待された。

このため領域アドバイザーとして、生命機能解析から構造解析まで幅広い分野を網羅さ

れている吉田賢右先生、機能解析の専門家としては、オートファジー研究にてノーベル生理学・医学賞を受賞されるなど細胞内機能解析で国際的に評価されている大隅良典先生、ガンや感染症などの医療分野の研究で顕著な成果をあげ、製薬企業所属の立場から創薬など開発の観点をお持ちの中島元夫先生を、構造解析の専門家として、電子顕微鏡を用いた構造解析の国内第一人者である藤吉好則先生、核酸に関わるタンパク質の X 線結晶構造解析がご専門の山縣ゆり子先生、シグナル伝達タンパク質などの結晶構造解析やタンパク質の発現・精製など多くの研究をされている箱嶋敏雄先生、NMR がご専門の嶋田一夫先生、分子構造などから創薬基盤研究を行われている古谷一夫先生と、それぞれ幅広い学問分野にわたり基礎から研究開発フェーズを縦横に俯瞰することのできる、前表の有識者の方々にお願いした。また、お願いするにあたって自分の専門分野だけでなく本研究領域全体に亘って幅広い視点での研究へのアドバイスができる有識者と言う点を重視した。

また、2013 年度に課題選考における細胞死などの細胞機能研究の評価を強化する観点から、カスパーゼを介した細胞死研究など幅広い見識をお持ちの三浦正幸先生に参加いただいた。2014 年度には構造生物学における計算科学の進展に伴い、インフォマティクスの重要性が高まったことから構造解析における計算科学がご専門の由良敬先生に参加いただいた。

## 6. 研究領域のマネジメントについて

### 研究領域の全体的な運営方針

ライフサイエンスにおけるタンパク質構造生物学の研究は、ポストゲノム時代と呼ばれた 2000 年代初頭の網羅的解析からターゲットを絞った解析へと変移していったが、機能解析との融合は次のフェーズの課題であった。2012 年度からの本領域の研究では、この背景を受けて、機能解析グループと構造解析グループがチームを編成し、「構造解析」と「生命機能解析」の融合を目指している。その際、両解析のバランスを考慮し、一方に偏ることなく、互いの成果が双方に新しい知見をもたらし合い、生命科学の躍進につながるよう、留意している。また、構造解析における先端的な基盤技術の開発によって解析技術の革新がなされることも重要な課題とした。

この研究領域を運営するに当たって特に留意した事項は以下の通りである。

#### (1) 研究領域会議・アドバイザー会議の開催

各研究チームの進捗把握・研究成果の共有目的で、研究総括、領域アドバイザー、および研究代表者の参加を必須とし、主たる共同研究者や研究参画者もできる限りの参加とした領域会議を年 1 回、開催した。オーラル発表は、研究代表者がチーム全体の発表をする形式と、各グループの代表者である研究代表者および主たる共同研究者がそれぞれの担当研究をご発表いただく形式と隔年で行い、研究代表者の研究マネジメントと各グループの詳細

な研究内容が両方、分野内に共有されるように心がけた。また、実験に携わる若手の研究参加者等にはポスター発表を頂き、互いのチームの理解や交流を図っている。会議の休憩時間には、研究総括およびアドバイザーの参加によるアドバイザー会議を開催し、領域運営の方針等について検討を行った。なお、領域会議ではアドバイザーより各チームに対するコメントを作成頂き、後日、研究代表者へフィードバックした。また、領域の運営方針についても説明を総括および領域担当から行い、領域の参画者全員が同じ方向性を持って研究活動を推進するよう心がけた。

## (2) 研究チームのサイトビジット

研究チームに対して、研究進捗状況の確認、および領域会議や評価会等で研究総括・アドバイザーから指摘された事項を再確認する目的で行った。また、予算配分時（総括裁量等）の判断材料のため、研究推進上の問題等をヒアリングし情報収集することも目的の一つであった。サイトビジットは、研究総括、研究課題の専門分野に近い領域アドバイザー1から4名程度、およびJST担当が研究現場を訪問した。なお、サイトビジット後は、必要に応じてアドバイザーより各チームに対するコメントを作成頂き、内容を取捨選択の上、後日、研究代表者へフィードバックした。2020年1月現在、全チーム、合計34回のサイトビジットを終えた。サイトビジットの助言が研究課題推進に効果をもたらした一例をあげると、2017年4月に行った森田チームのサイトビジットでは、スクリーニング系に課題があることが分かったため、同行した古谷アドバイザーから専門家である農業・食品産業技術総合研究機構の加藤悦子先生を紹介いただいた。加藤先生は、翌年度から主たる共同研究者として参画いただくことになった。このように研究現場を訪問し、状況報告してもらうことで研究チームの抱えている課題を把握し、それを解決するための具体的なアドバイスができたことは大きい。

## (3) 研究課題の中間評価

2017年1月現在、2012年度、2013年度、および2014年度採択の合計18チームの課題中間評価を行った。中間評価結果については、研究総括・アドバイザーからの公開・非公開コメントにて、研究代表者へフィードバックを行っている。フィードバック内容には、成果展開・チーム体制の見直しや新たな展開に対する今後の指針に対するアドバイスなどが含まれており、評価会から数ヶ月後に行われる領域会議において、どのように反映されたかについて研究代表者より発表頂くと共に、次年度の研究計画書に反映いただいた。

一例をあげると、2013年度採択課題の栗栖チームはX線結晶構造解析の専門家であるが、このCREST研究課題で取り組んでいる超分子複合体の構造解析で苦戦していたため、クライオ電子顕微鏡解析にも取り組むように中間評価時点で助言を行った。その結果、翌年度からゲーレ・クリストフ博士を招聘し、栗栖チームの参画者となった。その結果、同チームはクライオ電顕を用いた構造解析の基盤が整った。

また、課題中間評価時の進捗が思わしくないチームには翌年度の研究費の一部を減額するなど、めりはりのある運営を行った。

#### (4) 研究成果の公開

研究成果を領域内外の研究者へ公開する目的で、2015年11月5-6日にさきがけ「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」(若槻 壮市 研究総括)、CREST「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」研究領域(山本 雅 研究総括)および、さきがけ「細胞機能の構成的な理解と制御」研究領域(上田 泰己 研究総括)とで、4研究領域合同の国際シンポジウム“Structural Biological Dynamics: From Molecules to Life with 60 trillion Cells”を開催した<sup>5</sup>。海外の著名な研究者6名を招聘し、約300名の参加者に対して、研究領域における世界レベルの成果についてアピールすることが出来た。また、さきがけ「構造生命科学」領域が終了した2017年度には、合同で公開型の成果報告会を行い、CRESTからは清水チーム・野田チーム・樋口チームが報告を行った。

更にプレスリリースも32件(およびJSTの共同発表を行わずに研究者の所属機関が主体で行った10件)と積極的に行い、新聞等のメディアに数多く取り上げられた。

#### (5) 研究費の配分

研究総括裁量経費は、サイトビジットによる実地でのヒアリングや中間評価会や領域会議での発表内容による成果・現状把握や年に数回の増額希望調査に基づいて、必要性や緊急性を研究総括が承認した案件のみ、当該経費の配分を行った。その際、①CRESTの研究において、増額により現状の課題を克服するような案件、②領域内チーム間連携課題に対する案件、③CRESTの研究加速のために必要な国際共同研究や国際シンポジウムなど成果の国際的な展開を見据えた案件、④研究加速に早急に必要、ないし成果の社会実装に向けて必要となる案件、⑤公開シンポジウム開催費用等、研究成果の展開支援に関わる案件、⑥その他(移籍による研究室セットアップ経費、グループ追加支援等)の6項目を念頭に支援を行った。①については、森田チームの垂直ステージ共焦点顕微鏡開発や加藤グループの参画費、栗栖チームのクライオ電子顕微鏡専門家の参画費等の支援を行った。③や⑥については、安藤チームが行った高速AFMの国際シンポジウム開催の支援を行った。この他、JST共通の制度である、CREST研究費で雇用している研究員のライフイベント(出産・育児・介護等)に係る研究費支援を磯辺チーム・深井チームの2チームに行った。

#### (6) 国際支援

本領域で開発・研究加速が期待される技術の国際的な展開や連携を目的に、シンポジウムやワークショップ開催の支援を領域内に周知した。その結果、研究代表者が主催する2016年10月に高速AFMの国際ワークショップの開催支援を行った。当ワークショップでは、本領域の研究チームだけでなく、さきがけ「構造生命科学」領域の研究者も多く参加し、領域内外の連携にもつながる成果となった。また、クライオ電顕の技術取得ならびに成果発信のため、中国の浙江州で行われた2018年度のKU0シンポジウム参加への支援を行い、吉川チームがオーラル発表を行い、清水・永田・野田・吉川チームの若手研究者が技術取得のサマ

---

<sup>5</sup> 開催報告の公開ウェブ: <http://www.jst.go.jp/report/2015/151111.html>

ースクールに参加した。

#### (7) 領域内ならびに領域間連携

本領域では、「高速 AFM」「RNA 質量分析」「クライオ電子トモグラフィー」「MD シミュレーション」などの要素技術開発が目覚ましく、開発技術の展開を目的に、領域内での共同研究ならびに、さきがけ「構造生命科学」領域との領域間連携が数多く行われた。例えば、永田チームと安藤チームは、ERdj5 の構造および動態解析の共同研究を行い、研究成果を Structure 誌に発表した。RNA 質量分析の磯辺チームは清水チームと共同研究を行い、論文発表した。また、吉川チームはクライオ電子顕微鏡の解析を行い、野田チームや遠藤チームと共同研究を行った。遠藤チームはこの共同研究成果を 2019 年に Nature 誌に発表した。野田チームとの共同研究成果は 2020 年に発表予定である（現在、アクセプトされて掲載準備中である）。

#### (8) 領域研究分野の紹介

本領域ならびにさきがけ「構造生命科学」領域で行われている、①「構造生物学」と「生命機能解析」の融合と予想される今後の展開、②分野の発展のための共同研究のあり方、③各要素技術の現状と今後なされるべき技術開発を議論し、領域の考えを広く周知するために、2016 年 12 月にさきがけ「構造生命科学」領域との合同会議を行った。約 150 名の「構造生命科学」研究者がグループディスカッションを行い、分野の現状と今後についてまとめた。この成果は 2017 年 3 月号掲載の「実験医学」に掲載した。

また、最終年度である 2020 年度に CREST・さきがけで得られた成果をまとめ、今後の方向性について言及した「構造生命科学からトランススケール・イメージングによる細胞動態学へ（仮題）」を 2020 年 3 月に実験医学増刊号で特集予定である。

### 7. 研究領域としての戦略目標の達成状況について

研究は計画に沿って概ね順調に進められた。論文発表は 620 報あまり（2020 年 1 月 14 日現在）行っており、学術的に優れた研究成果が得られている。また、科学技術イノベーション創出への貢献という点でも、一定数の国内・国際特許出願がなされている。また、数名の研究代表者は「文部科学大臣賞」、「文部科学大臣・若手科学者賞」、「井上春成賞」等の著名な賞を受賞しており、その研究業績に対する高い評価を得ている。

研究成果については、戦略目標達成に貢献した技術課題および特に優れた研究成果を挙げた研究課題について、成果の具体的な内容と今後の見通し等を記載する。

#### (1) 樋口チーム

NAD<sup>+</sup>還元型[NiFe]ヒドロゲナーゼが機能する仕組みを立体構造にもとづき明らかにし、エネルギー代謝システムの進化的側面を解明すること、およびその構造情報をもとに高機能の酵素機能電極を開発することを目的として研究が進められた。

研究目標の中心である「水素-化学エネルギー変換ヒドロゲナーゼの構造科学的研究」、

「酸素・熱耐性ヒドロゲナーゼの構造基盤の確立とその電気化学的特性の評価」、そして「ヒドロゲナーゼの Ni-Fe 活性化部位の水素活性化触媒版の機構の解明」の 3 テーマは、本領域の目標に合致した内容で、当初より研究成果の進展に期待が寄せられていたが、ほぼすべての研究テーマにおいて目標を達成し、論文発表も積極的に行ってきた。特に、NAD<sup>+</sup>還元（活性）型 [NiFe] ヒドロゲナーゼと NAD<sup>+</sup>酸化（不活性）型 [NiFe] ヒドロゲナーゼの構造解析は、当初、かなり困難なテーマと思われていたが、最終的に X 線結晶構造解析に成功し、最終年度の 2017 年にインパクトのある論文として発表できたのは、秀逸であった。また NAD<sup>+</sup>還元ギ酸脱水素酵素による水素-酸素バイオ電池の開発は、実験室レベルでは成功しているものの実用的レベルまで引き上げるためには、さらなるイノベーションが必要であるが、本研究課題は実践的に興味深い課題であり、今後の展開を期待する。また、解き明かされた NAD<sup>+</sup>還元型 [NiFe] ヒドロゲナーゼの構造は、ミトコンドリアの呼吸鎖、つまり電子伝達系を構成する複合体 I との構造的相同性が高く、それらの進化の起源が共通であることが示唆された。本研究は、エネルギー産生の基盤であり、将来的に医療の分野へも役立つ知識を与えてくれるものと思われるので、今後さらなる発展を期待している。

## (2) 安藤チーム

(1) 高速原子間力顕微鏡 (AFM) の応用技術の開発、(2) AAA 型及びその他の分子シャペロンの高速 AFM 解析、(3) ダイナミン系 GTPase の高速 AFM 解析、および(4) その他のタンパク質系の高速 AFM 解析などによってタンパク質の一分子での動態・機能を明らかにすることを目的として研究が進められた。

研究代表者が技術開発・高度化を行っている高速 AFM を用いた動態解析の中で、当初は ATP/GTP 依存性メカノマシンを主な解析対象としていたが、領域内外での共同研究を活発に行い、これまでに 50 以上の多種多様なタンパク質のイメージング解析を手がけた。このように研究期間内に高速 AFM の利用拡大を成功させて、動的構造生命科学の発展に貢献したことを評価する。

当初の研究計画に掲げられていた、ATP/GTP 依存性タンパク質の動的解析では、(1) シャペロニン GroEL と GroES のサイクル構造遷移の解明、(2) 時計タンパク質 KaiC のリン酸化状態振動機構の解明、(3) ペロキシレドキシシン 2 の過酸化あるいは ATP/ADP による構造変換の解明、(4) Dynamin1/Amphiphysin による小胞膜切断の可視化など、高速 AFM の特性を活かして生命機能の解明に鋭く迫り多くの画期的な成果を挙げた。

一方で、この解析技術は基本的に「一分子の形」をみているため、他のアンサンブル平均のもの比べると S/N が低いことが課題として挙げられる。何か他のパラメーターを用いて、例えば複合体 A+B における、A と B の区別ができるようになれば、より説得力が出ると思われる。また、基板との相互作用の影響やカンチレバーの梁の供給などの課題も残されているため、引き続きこの技術の汎用性に向けた技術開発を行っていただきたい。

研究期間内に、研究代表者の所属機関が WPI に採択されたこと、また、代表者のグルー

プの参画者が他大学に異動して独立し、高速 AFM の高度化を継続していることなど、本技術の普及に向けた体制が整備されたので、今後の高速 AFM 研究展開を大いに期待する。本研究課題は、CREST らしい新技術の創出という戦略目標に合致した基盤研究であり、高く評価している。

### (3) 磯辺チーム

本研究課題では、(1) RNA の絶対定量と修飾解析のための質量分析システム (RNA-MS 法) の開発と高度化、(2) RNA 代謝異常症などを解析するためのリボヌクレオプロテオミクス研究基盤の構築、(3) RNA 解析ソフトウェア Ariadne の高度化の3つを目的として研究が進められた。

RNA の直接解析技術として、研究代表者のグループが世界に先駆けて開発した質量分析法 (MS) を用いた RNA 解析法に、ゲノムデータベース検索エンジン Ariadne を組み込んだシステムを開発し、さらに高度化させることに成功している。この高度化によって、miRNA や mRNA を質量分析法で直接同定して構造を解析することに成功した。さらに、RNA 代謝異常症に関わる RNA-タンパク質複合体を解析し、リボソーム病である先天性角化不全症の解析、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の責任遺伝子産物である TDP-43 複合体や Survival Motor Neuron Protein (SMN) 複合体の RNA 解析などを行ってきた。その結果、これらリボヌクレオプロテイン複合体と疾患との関連性が明らかになってきた。また、本 RNA-MS 解析技術を non-coding RNA の発現や化学修飾を起点にした医科学領域に導入したことは、特筆すべきことである。さらに、Ariadne の企業へのライセンスアウトにより、実用化を目指した点も評価する。

加えて、クライオ電子顕微鏡を用いた 80S リボソームの RNA 修飾解析との比較検証では、現段階でのクライオ電顕の解析限界を示すなど、開発した RNA-MS 法の優位性と重要性を示すことができた。

本技術を用いた mRNA の修飾を含む RNA の転写後修飾解析は、これからさらに注目される Epitranscriptome 分野でも威力を発揮することが期待される。また、本領域の中で、技術の高度化、機能解明、領域内での共同研究を通じて、リボヌクレオプロテオミクスの基盤構築を行うことに成功した。

今後、この解析技術を発展・継承させていくために、実用化のファンディングを獲得するとともに人材育成を行うことで、リボヌクレオプロテオミクス研究の基盤を確立し、新たな世界的イノベーションとして発展することを期待したい。本課題は、CREST らしい新技術の創出という戦略目標に合致した基盤研究であり、高く評価している。

### (4) 清水チーム

本研究課題では、自然免疫システムに関わるセンサーである TLR (Toll like receptor) のうち、一本鎖核酸をリガンドとする TLR7ファミリー分子 (TLR7, TLR8, TLR9) を対象とし



て、(1) それぞれの分子単独での構造解析およびリガンドとの複合体の構造解析を行うことで自然免疫分子機構、即ち原子レベルでのリガンド認識機構の構造基盤を構築するとともに、(2) 一本鎖核酸認識受容体のトランスジェニックマウス（自己免疫疾患モデルマウス）の作製および機能解析による核酸認識TLRの生理的役割の解明の2つを主な目的として研究が進められた。

研究代表者のグループは、TLR7ファミリー分子全てに関して、細胞外ドメインとリガンドとの複合体の立体構造を解くことに成功した。本チームが明らかにしたことは、(1) TLR7およびTLR8のいずれもが2つのリガンド結合部位をもち、第一結合部位には一本鎖RNAの分解産物であるモノヌクレオチドが結合すること、(2) TLR9も2つのリガンド結合部位をもち、第一結合部位にはCpG DNAが結合していたこと、(3) CpG DNAはエンドソームでDNA分解酵素DNaseIIによる分解によってつくられることである。これらの成果はいずれも、TLRによる一本鎖核酸認識機構の理解を著しく進めた。世界的に競争の熾烈な研究領域であるが、質の高い論文を輩出し、当該分野における世界のトップ研究者となったことを高く評価する。敢えて述べるのであれば、膜一回貫通型TLRの全長構造が研究期間中に解明できなかったことだが、現在進めているナノディスクの応用やクライオ電子顕微鏡による単粒子解析などを活用することにより克服し、是非とも構造解明まで進めて欲しいと考えている。

また、共同研究者のグループは免疫学的な研究課題を担当し、自己炎症疾患の発症におけるTLR7の関与を見出すなど多くの医学的な知見を得た。

研究期間中に得られた成果は、新規アンタゴニスト開発などの創薬にも繋がる重要な情報を提供しており、広い波及効果が期待される優れた成果である。今後も核酸認識TLRの構造・機能解明を進めていき、現在と同様、本研究分野をリードしていただきたいと思います。

#### (5) 永田チーム

本研究チームは、分子生物学・構造生物学的手法を用いて、小胞体（ER）におけるタンパク質品質管理に関わる3つの恒常性維持機構、即ち(1) 小胞体関連分解（ERAD）を中心としたタンパク質恒常性維持機構、(2) ERdj5/SERCA2b/IP3R系を中心としたカルシウム恒常性維持機構、および(3) 小胞体膜を介したタンパク質恒常性とレドックス恒常性のクロストークの分子機構を解明することを目的として研究が進められた。

とくに新規レドックス因子 ERdj5 によるカルシウムポンプ SERCA2b とカルシウムチャネル IP3 レセプターの合理的な制御機構の解明は、秀逸であった。還元酵素である ERdj5 は、小胞体内カルシウム濃度が低い時には SERCA2b を還元してポンプを開放、カルシウムの小胞体への流入を促進し、逆に IP3R を還元してチャネル活性を閉鎖、カルシウムの流出を抑制するというレシプロカルな制御機構を明らかにした。また、小胞体内カルシウム濃度が高くなると、SERCA2b と IP3R が酸化され、カルシウムの小胞体内への流入の阻止と放出の促進が駆動されるという機構の存在を明らかにした。このように同じ ERdj5 が、ポンプとチ

チャンネルを相反的に制御するというメカニズムの解明は、非常に興味深い現象である。さらに、特筆すべき成果は、当初困難が予想されていた SERCA2b に関して、酸化と還元状態における立体構造の解析を成功させ、その作動機構を明らかにしたことである。また、酸化的環境にある ER で還元酵素 ERdj5 が機能するためには還元力が何らかの機構で導入されなければならないが、これが新生鎖のシステイン残基に由来する電子によるという、従来の概念を一変させる非常に新しいメカニズムを提案している。

加えて、ERdj5 ファミリータンパク質である ERdj8 がオートファジーを負に制御するとともに、オートファゴソームのサイズ調節を行っているという驚くべき発見もあり、これは予期せぬ研究の発展であった。この非常にインパクトのある成果の早急な論文化を進めるとともに、そのメカニズムの解明を進めて欲しいと思っている。

研究成果は全て目標を超えて達成させる一方、新たな方向への展開も見せており、優れた研究であったと高く評価している。SERCA2b や IP3 レセプターの研究成果は、今後の更なる発展の可能性を提示すると思われる。また、小胞体が還元反応の場であるという新たな概念を提唱し、小胞体への還元力の導入機構に関して大胆且つ画期的な知見を得ており、今後の展開を期待している。

## (6) 野田チーム

本研究課題では、オートファジーにおける複雑な膜動態のメカニズム解明のため、オートファジーを制御するAtg因子群に着目し、(1) ユビキチン様タンパク質Atg8と脂質の結合・脱結合反応の構造および機能解析、(2) Atg因子群が形成する相互作用ネットワークの構造および機能解析、そして、(3) 新規Atg8結合因子の同定と解析の3点を主軸として研究が進められた。

本研究チームは、(1) オートファジーの始動を担うAtg1複合体の解析により、Atg13の脱リン酸化が引き金となって起こるAtg1とAtg17の複合体形成機構を明らかにするとともに、(2) 隔離膜の伸長機構において、Atg2-18複合体が小胞体 (ER) exit siteに存在して、Atg9と協調してERから隔離膜への脂質輸送を担うことを解明した。また、(3) 核および小胞体の一部をオートファゴソームに積み込む新規レセプター因子として同定したAtg39およびAtg40の分子基盤を示し、(4) アミノペプチダーゼ I (Ape1) とその特異的レセプターであるAtg19の解析から、Ape1が凝集体を形成すること、またAtg19がApe1の凝集体の表面に特異的に結合して凝集化を制御する機構を明らかにした。これらの結果は、Atg因子群が関与するオートファジーの全貌と素過程の解明および酵母における選択的オートファジーの分子機構を解明した成果として注目される。

構造解析の難しい天然変性領域の多いAtgタンパク質群を標的としたにも関わらず、様々な解析手法を活用し、構造生物学から生理学まで研究を着実に進め、目標を達成したのみならず予想を遙かに超える成果を挙げた。その結果、オートファゴソーム形成の分子機構と制御機構解明の糸口が得られ、さらに疾患との関連も示唆された。研究代表者の研究構想は的

確であり、加えて領域内連携で高速AFMやクライオ電子顕微鏡など最先端技術も取り入れるなど、本研究は期待以上の素晴らしい成果を収めたと高く評価する。

さらに、Atg1 複合体や Ape1 のユニークな形態特性、Atg9 の新たな機能、液-液相分離がオートファゴソームの初期形成の場であることなど、研究期間中に次々と興味深い知見を見出してきた。競争が激化している領域であるが、得られた数々の成果について論文化を進めつつ、引き続きオートファゴソームの形成機構を解明して欲しい。そして非常に困難とは思われるが、最終的にはオートファジーの全過程を試験管内で再現する系を確立することを望みたい。これが成功すると、オートファジー機構の分子レベルでの理解が磐石となり、オートファジー研究の他の領域への波及効果も大いに期待できると考えている。

## (7) 吉川チーム

本研究課題は、複雑な細胞内小器官の一つである鞭毛・繊毛について、クライオ電子顕微鏡と遺伝学を用いて「回路図」の解読法、即ち「細胞の構造生命科学」の確立を目指し、また、それにもとづいた鞭毛・繊毛の構築原理、制御機構、関連する病気である「繊毛病」の病態解明を行うことを目的として研究が進められた。

これまでの鞭毛・繊毛の構造解析については、クラミドモナスで進んでいたが、本研究課題では、脊椎動物であるゼブラフィッシュおよびマウスにまで対象を広げて、それぞれ、ゲノム編集と遺伝子改変技術を駆使して、その構造解析および機能解析を行なった。

具体的な成果としては、繊毛の構築原理解明については、(1) 従来クラミドモナスを用いた繊毛構造解析を発展させ、変異体と鞭毛構造解析によって FAP59, FAP172 を同定し、それらが繊毛の内腕ダイニンの周期の長さを 96 nm に決める「分子ものさし」タンパク質であることを示し、さらに、(2) 外腕ダイニンが 24 nm 周期に配置するメカニズムについては、ODA (外側粗大線維) 自身が数珠つなぎに連なり、その周期が 24 nm であることを明らかにし、そして、(3) 運動で常に機械的負荷のかかる鞭毛・繊毛を安定に保つ機構について高速 AFM を用いた解析を進め、FAP45, FAP52 が周辺微小管を安定化している因子であることを明らかにした。さらに、高等動物の繊毛の非対称性の解明については、(4) 4 つのダイニン組み立て遺伝子にそれぞれ変異をいれたゼブラフィッシュ精子鞭毛のクライオ電子線トモグラフィー解析から、4 つの PIH タンパク質 (Pih1d1, Pih1d2, Ktu, Twister) すべてが軸系ダイニン組み立て因子であり、それぞれが異なる種類の軸系ダイニンの組み立てに関与することを明らかにした。また、(5) マウスの精子形成についても、現在解析を進めている。課題中間評価時点では、やや論文化に課題があると指摘されたが、その後の研究期間では数多くの成果を出し、論文発表することができたので、十分な実績と評価する。当初掲げた「細胞の構造生命科学」を推進し、その渦中で生じた新たなテーマにも取り組んでおり、今後の展開を期待したいと思っている。

また、領域内連携として、数多くの共同研究を実施した。例えば、微小管の内側に結合するタンパク質の機能解明を行うために、高速 AFM 解析に習熟した他グループと連携して優

れた成果を得た。特筆すべきことは、研究期間中に導入された電子線直接検知型・超高速 CMOS カメラ搭載型の 300kV のクライオ電子顕微鏡を用いて、複数のグループの単粒子解析の支援において顕著な成果を上げることに貢献したことである。これからも、日本のクライオ電子顕微鏡解析拠点の一つとして、引き続き構造生命科学分野を支えていてもらいたいと考えている。

#### (8) 長田チーム

本研究課題は、細胞膜におけるリン脂質二重層の外側層と内側層のリン脂質の非対称的分布の維持、ならびに、アポトーシスを起こした細胞や活性化された血小板等で起こるリン脂質の非対称的分布の崩壊の機構解明を目指した。具体的には研究代表者のグループが同定した 3 種類の膜タンパク質の立体構造、作用機構を明らかにすることを目的として研究が進められた。即ち、リン脂質の非対称的分布に関与するフリッパーゼ ATP11C と CDC50A 複合体、そして非対称性の崩壊に関与するスクランブラーゼ TMEM16 と Xkr8 に焦点を当て、細胞生物学的・生化学的・構造生命科学的解析に取り組んだ。

これまで研究代表者のグループは、一貫してアポトーシスの分子機構の解明に挑み、その全体像を明らかにしてきた。さらに、死細胞の貪食細胞による eat-me シグナルの解析を通して、アポトーシス時のホスファチジルセリンの細胞外露出の発見から、細胞膜におけるリン脂質の不均一性に関する一連の解析を推進し、アポトーシスの最終経路である貪食のメカニズム研究で世界をリードした。Fas/FasL によるアポトーシス開始の研究から約 30 年をかけ、アポトーシスの全ての段階を分子レベルで解明したことになる。課題中間評価時からさらに研究が進展し、アポトーシスが起こるときにカスパーゼによって切断を受けて活性化するスクランブラーゼ Xkr8 が Ba/F3 細胞ではカスパーゼ活性化によらず、リン酸化によっても活性化されることを明らかにした。このことはアポトーシス時以外にもホスファチジルセリンの露出がおこることを示し、この現象はアポトーシスに留まらず、様々な細胞の状況に応じた細胞膜のリン脂質動態に関わっていることを示唆しており、この点でも細胞生物の重要な課題である。解析手法は、新規因子を得るための細胞のスクリーニングと、徹底した生化学的な解析に依拠している点で、いずれも際だって優れており、これらによって得られた一連の研究成果は、世界的にも卓越しており、高く評価している。

主たる共同研究者のグループでは、一連の分子の構造解析に取り組んだ。Xkr8-Basigin 複合体の X 線結晶構造解析については、精製標品に対するモノクローナル抗体作製を進め、さらに、結晶化の条件や X 線照射法について検討を行っている。一方で、フリッパーゼ ATP11C/CDC50A 複合体の構造解析に関しては結晶化の最適化を試み、分解能が改善され、原子モデルを得ることに成功している。CDC50A は細胞膜への局在だけではなく ATP11C の活性化にも寄与していることが研究代表者のグループから見出されている。フリッパーゼに関しては、脂質の基質特異性の決定を含め、酵素活性の制御機構解明には構造情報が不足しており、引き続き構造解析を進めて、全体像を構造面から明らかにしてほしいと思っている。

## 8. 総合所見

### (1) 研究領域のマネジメントと戦略目標の達成状況

本領域において、従来の「タンパク質の構造解析」領域にならないように注意しながら運営を行ってきた。発足からの3年間、1期から3期までの研究課題選考において特に意識し、アドバイザーにも意識していただいたのは、ライフサイエンス研究分野から構造解析が行われることによって、生命機能の理解が飛躍的に進む課題を抽出することである。その結果、ミトコンドリアや小胞体などのオルガネラ、オートファジーなどの細胞内分解機構など分子生物学的課題、多剤耐性細菌感染や自然免疫システム・ピロリ菌感染・発がん機構の感染メカニズム研究課題、バイオ電池開発に向けた課題やクラミドモナスなどの微生物、そして植物の光環境応答や重力屈性など、多様な分野・生物を対象とした課題を採択することができた。いずれの課題も、国際的競争が激しい分野であるが、多くのチームが創意工夫を行い、想像以上のスピードで研究成果をあげた。また、領域内の共同研究を活発にするために解析に用いる技術についても、X線結晶構造解析をはじめとして、NMR、計算科学から電子顕微鏡までバラエティに富んだ技術課題を選んだ。RNA質量分析技術やin cell NMRは本領域独自の技術とあってよく、領域会議等で技術が周知され、選考時の予測を超える数多くの共同研究がなされた。そして、特筆すべきなのはクライオ電子顕微鏡である。本領域の期間とクライオ電子顕微鏡の技術革新“Resolution Revolution”の時期がちょうど重なったことである。当初は日本国内での配備が遅れていたが、領域期間後半では、吉川チームに300kVのハイエンドマシンと直接検出器が整備されたことで、領域内はもちろんのこと、日本全体の研究成果底上げに貢献している。また、高速AFMについても、領域期間内に金沢大がWPI事業に採択され、解析拠点となったことも大きい。いずれも本研究領域および日本の構造生命科学分野全体の基盤技術として大きな貢献をした。

一方で、やや進捗が芳しくなかった課題もあったのは事実である。そういったチームには、サイトビジットによって詳細なヒアリングを行い、具体的なアドバイスを行った。本領域には様々な構造解析技術・専門分野のアドバイザーがいることから、各チームの研究状況によって、適切な分野の先生に同行いただいております。この領域のアドバイザー・ボードの層の厚さを実感した。ポスドクなどの実験などを担う若手研究者にとって、学外研究者から詳細な実験内容や研究計画のアドバイスをもらう機会はなかなか与えられないことから、このサイトビジットは非常に有益な取り組みだったと考えている。本領域においては、特に30代後半から40代の研究代表者のチームのサイトビジットについて、研究の進め方や具体的なアドバイスができた実感している。また、国際シンポジウム開催やプレスリリースや成果報告会開催、そして実験医学での成果・情報発信を複数回行い、本領域の研究成果やこれからの当該分野の研究の方向性について示すことができた。本領域で「構造生命科学」という研究分野を姉妹領域のさきがけ領域とともに確立することができたと考えている。

## (2) 本領域を設定したことの意義と今後の期待・展望

本領域の最大目標である「構造生物学とライフサイエンス研究の融合」を基に、選考方針に沿って18研究チームの課題を採択した。機能解明の研究グループと構造解析のグループが両方向からのアプローチによって生命現象解明に取り組むことで、大きな成果をあげることができた。また、in cell NMRやRNA質量分析、高速AFMやクライオ電子顕微鏡（単粒子解析・トモグラフィ）などの基盤技術の研究課題を採択することで、本領域での解析基盤が確立し、多くの共同研究がなされた。本領域内で新たな技術開発や技術の高度化が行われたことで、分野の大きな発展に寄与したと考えている。また、当初掲げた「解く構造から使う構造へ」という目標に対しても、多剤耐性菌の異物排出ポンプの阻害剤開発やTo11様受容体やヒドロゲナーゼの構造解析など多くの成果をあげることができ、達成できたと考えている。そして、領域発足当初に領域内で推奨した、複数の構造解析を組み合わせた「相関構造解析」については、半数以上のチームが取り組んでいる。

本領域で行われたライフサイエンス研究の分野は、医学・薬学・分子細胞生物学・植物学・微生物学等と多岐にわたる。8年間でこの領域が創り出した新たな「構造生命科学」分野にて、未解明の生命現象を、構造と機能の両観点からアプローチし、より多くの解明が行われたことは本研究領域の設定目標に対して期待を超えるような成果を出したと考えている。この領域で研究が取り組まれ、発展していった「構造生命科学」という研究分野が、領域終了後もさらに飛躍していくことを期待している。

以上