



第 62回 日本生化学会北海道支部例会

日本生化学会北海道支部・日本生物物理学会北海道支部 合同シンポジウム
北海道大学遺伝子病制御研究所 共同利用・共同研究拠点事業共催

プログラム・要旨集

2025年 7月 14日

於 北海道大学医学部 学友会館 フラテ

第 62 回 日本生化学会北海道支部例会

日時：2025年（令和7年）7月14日（月）9：30～

■ 会場所在地

〒060-8638 北海道札幌市北区北15条西7丁目

会場：北海道大学医学部 学友会館フラテ

（17：30 から北海道大学 医学部百年記念館で懇親会を開催します）

■ アクセス

- ・公共交通機関のご利用を推奨いたします。
 - 地下鉄「北12条」駅から徒歩約10分
- ・タクシー利用の場合
 - 「北海道大学医学部正面玄関前」で下車

■ 飲食について

- ・事前に参加登録をされた方には、昼食（お弁当）をご用意しております。
- ・会場内には飲料・軽食の自販機が設置されています。
- ・会場付近にセブン-イレブン北海道大学工学部店があります(約100m)



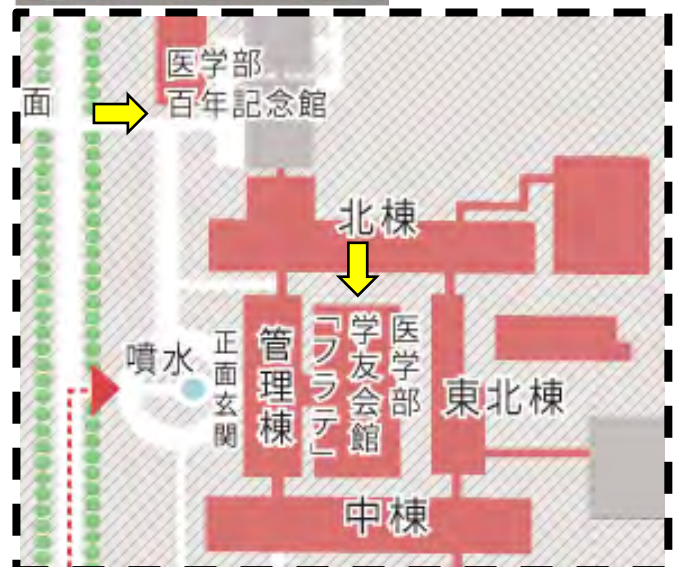
最寄り駅から会場までのアクセス

医学部百年記念館外観



会場付近詳細図

医学部学友会館
「フラテ」へは、正面玄関
よりご入場いただけます。



◆参加者の皆様へ

【口頭発表者の皆様へ】

- ・プレゼンテーションは、発表者ご自身のPCをプロジェクターに接続し、ご自身で操作をお願いいたします。
- ・発表用ファイルをあらかじめ立ち上げた状態で待機し、前の発表終了後、速やかに接続してください。
- ・プロジェクターへの接続端子は、HDMI または RGB（D-sub 15ピン）です。
- ・発表時間はプログラム記載のとおりです。円滑な進行のため、時間厳守にご協力ください。

【発表時間の目安】

- ・ 特別講演 : 講演 30分／質疑応答 5分
 - ・ 合同シンポジウム: 講演 16分／質疑応答 4分
 - ・ 若手奨励賞受賞講演: 講演 20分／質疑応答 5分
 - ・ 一般講演 : 講演 12分／質疑応答 3分
- ・時間管理のため、以下のタイミングでベルを鳴らします：
 終了2分前：1回／終了時：2回／質疑終了時：3回
- ・一般講演では、応募者を対象に優秀講演賞の審査を行います。

【ポスター発表の皆様へ】

- ・ポスター会場は、フラテホワイエ（2Fロビー）を予定しております。
- ・ポスターボードのサイズは「縦180cm × 横90cm」です。
- ・各ポスターには演題番号が付されています。ご自身の番号のポスターボードに、当日11:00までに掲示をお願いいたします（受付後に掲示してください）。
- ・ポスター発表終了後も、掲示や議論は可能ですが、懇親会準備の都合上、17:00までに撤収をお願いいたします。
- ・ポスターセッションの時間帯（12:30～13:50）は、各自ポスター前での発表・説明をお願いいたします。特に、奇数／偶数番号ごとの指定時間には、必ずポスター付近にて待機・対応をお願いします。
- ・応募者を対象に、優秀ポスター賞の審査を行います。

【若手優秀講演賞・優秀ポスター賞 審査員の皆様へ】

- ・当日は、受付にて審査用紙をお渡しいたします。
- ・演題番号の前に＊マークがついたすべての応募演題について審査をお願いいたします（ただし、ご自身に関する演題は除いてください）。
- ・審査用紙は、15:25までに受付へご提出くださいますようお願いいたします。

【座長の皆様へ】

- ・講演時間は、上記ご案内のとおりです。円滑な進行にご協力くださいますようお願いいたします。

プログラム・タイムテーブル

9:00 開場

9:30 開会

<第 62 回例会長 野田展生（北海道大学・遺制研）>

9:35-10:55 日本生化学会・日本生物物理学会 北海道支部合同シンポジウム（口演16分、質疑応答4分）

座長：喜多俊介（北海道大学・薬学研究院）、小笠原裕太（北海道大学・遺制研）

9:35-9:55 S-1

小胞体ストレスに応答した小胞体膜局在タンパク質の膜トポロジー反転現象の発見とその制御機構の解明

○森本菜央^{1,2}、山田珠鈴^{1,2}、岡崎朋彦^{1,2}

¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子細胞生物研究室、²北海道大学・大学院生命科学院

9:55-10:15 S-2

有糸分裂期における非膜オルガネラのダイナミクスと機能解析

○栗原美寿々¹、小原大暉¹

¹北海道大学・大学院薬学研究院・RNA 研究室、

10:15-10:35 S-3

LINC02154 は口腔扁平上皮がんにおいて細胞周期関連遺伝子とミトコンドリア関連遺伝子を制御する

○新沼 猛¹ 関口 翔平² 岡崎 史佳² 北嶋 洋志¹ 石黒 一也¹ 萬 顕³ 甲斐 正広¹ 宮崎 晃亘² 鈴木 拓¹

¹.札幌医科大学 医学部 生化学講座 分子生物学分野、².札幌医科大学 医学部 口腔外科学講座

³.札幌医科大学 医学部 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座

10:35-10:55 S-4

宿主由来マイクロRNA によるEnterococcus 属細菌の増殖制御メカニズム

山口万柚子¹、勅使河原優夏¹、○逢坂文那²、園山慶²

¹北海道大学・大学院農学院・食品機能化学研究室、²北海道大学・大学院農学研究院・食品機能化学研究室

10:55-11:05 休憩

11:05-11:50 一般講演 1（口演12分、質疑応答3分）

座長：木原章雄（北海道大学・薬学研究院）

11:05-11:20 O-1

膜上相分離によるマイトファジーの始動機構

○丸山達朗¹、野田展生^{1,2}

¹微生物化学研究所・構造生物学研究部、²北海道大学・遺伝子病制御研究所・生命分子機構分野

11:20-11:35 O-2

DDX6 はRNA ヘリカーゼ活性非依存的にNF-κB を制御し、IL-6 アンブを介した炎症性疾患に関与する

○北條慎太郎^{1,2,3}、内藤正一郎¹、田中宏樹¹、Jing-Jing Jiang¹、橋本あり⁴、田中勇希²、村上薫¹、橋本茂¹、村上正晃^{1,2,3,5}

¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子神経免疫学分野、²量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究
所・量子免疫学チーム、³北海道大学・ワクチン研究開発拠点（HU-IVReD）、⁴北海道大学大学院医学研究院・分
子生物学教室、⁵自然科学研究機構・生理学研究所・分子神経免疫研究部門

11:35-11:50 O-3

生命科学と哲学の超異分野融合による時間論からの根源的生命倫理の検討

○臼杵靖剛¹

¹北海道大学・大学院先端生命科学研究院・附属次世代物質生命科学研究センター

11:50-12:30 昼食休憩

- 12 : 30-13 : 50 ポスター発表**
- 12 : 30-13 : 10 奇数番号演題
- 13 : 10-13 : 50 偶数番号演題
- 13 : 50-14 : 00 休憩
- 14 : 00-14 : 45 一般講演 2 (口演12分、質疑応答3分：*は優秀講演賞応募演題)**
- 座長：園下将大（北海道大学・遺伝子病制御研究所）
- 14 : 00-14 : 15 * O-4
- アトピー性皮膚炎および乾癬モデルマウスにおけるセラミド組成変化
- 野坂奈生¹、永沼達郎^{1,2}、木原章雄^{1,2}
- ¹北海道大学・大学院生命科学院・生化学研究室、²北海道大学・大学院薬学研究院・生化学研究室
- 14 : 15-14 : 30 * O-5
- mitoNEET の配向性によるミトコンドリア機能に対する影響
- 半田悠¹、及川司²、小野寺康仁³、横田卓⁴、李承峰¹、村上正晃^{1,5,6}
- ¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子神経免疫学分野、²北海道大学・医学研究院・分子生物学教室
- ³北海道大学・医理工学研究院・分子・細胞動態計測分野、⁴北海道大学病院・医療－ヘルスサイエンス研究開発機構、⁵量子技術研究開発機構 量子免疫学チーム、⁶生理学研究所 分子神経免疫研究部門
- 14 : 30-14 : 45 O-6
- 細胞老化におけるゲノムの再編成を駆動するタンパク質の同定
- 太田信哉¹、谷澤英樹¹、鍾奕洛¹、小迫英尊²、野間健一^{1,3}
- ¹北海道大学 遺伝子病制御研究所 ゲノム医生物学分野、²徳島大学 先端酵素学研究所 細胞情報学分野
- ³Institute of Molecular Biology, University of Oregon
- 14 : 45-14 : 50 日本生化学会北海道支部若手奨励賞 受賞式**
- 14 : 50-15 : 15 日本生化学会北海道支部若手奨励賞 受賞講演**
- 座長：高橋 素子（札医大・医、北海道支部長）
- ウミホタルルシフェリンの発光反応を引き起こすタンパク質の研究
- 蟹江 秀星¹
- ¹産業技術総合研究所・バイオものづくり研究センター
- 15 : 15-15 : 25 休憩
- 15 : 25-15 : 40 日本生化学会北海道支部総会**
- 議長：高橋 素子（札医大・医、北海道支部長）
- 15 : 40-16 : 50 特別講演（講演30分、質疑応答5分）**
- 座長：野田展生（北海道大学・遺制研）
- 15 : 40-16 : 15 リボソーム速度異常を感知し解消する翻訳品質管理の分子機構とその生理機能
- 稲田利文¹
- ¹東京大学・医科学研究所・RNA 制御学分野
- 16 : 15-16 : 50 オートファジーと液－液相分離が紡ぐストレス応答機構
- 小松雅明¹
- ¹順天堂大学・大学院医学研究科・器官・細胞生理
- 16 : 50-17 : 00 優秀講演賞・優秀ポスター賞受賞者の発表・表彰**
- 17 : 00 閉会 <第 62 回例会長 野田展生（北海道大学・遺制研）>
- 17 : 30-19 : 00 懇親会（北海道大学 医学部百年記念館）**

特別講演

要旨

[特別講演]

リボソーム速度異常を感知し解消する翻訳品質管理の分子機構とその生理機能

氏名：○稲田利文¹

所属：¹ 東京大学・医科学研究所・RNA 制御学分野

【要旨】

正確な遺伝子発現は生命現象の根幹であり、その破綻や異常は様々な疾患の原因となる。翻訳品質管理機構 RQC (Ribosome-associated Quality Control) は、異常翻訳停止により形成される「衝突リボソーム」を解消し、タンパク質恒常性を維持する¹⁻¹¹。RQC の破綻はタンパク質の局在異常¹¹や、神経細胞死¹²、分化異常を起こす。また衝突リボソームは、細胞死を誘導する MAP キナーゼ経路¹³や統合ストレス応答 ISR を活性化することも報告されている (図 1)。

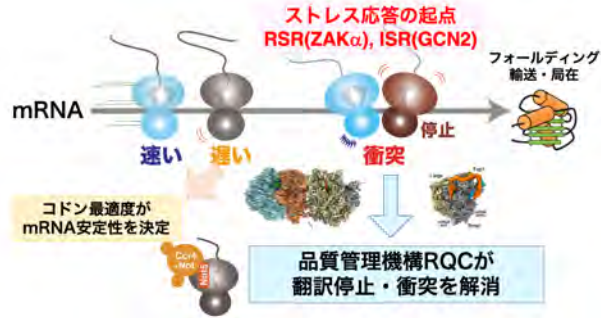


図 1 品質管理機構RQCによる異常翻訳解消とタンパク質恒常性維持

RQC の初期段階において、衝突リボソームセンサー因子が衝突リボソームの特異的構造を認識し、リボソームタンパク質 uS10 に K63 型のポリユビキチン鎖を形成する。その後、衝突リボソーム解消複合体 (RQT 複合体) が衝突リボソームを解消する。60S 上の異常タンパク質はユビキチン化とプロテアソームによって分解される。この異常タンパク質の分解機構には、mRNA 非依存の原始的な翻訳反応による異常タンパク質への特殊タグ配列の付加が重要な役割を果たす (図 2)。

さらに異常リボソーム自身が翻訳異常で誘起されるリボソームユビキチン化依存に分解される機構の解明も進んでいる¹⁴⁻¹⁵。本講演では、異常翻訳の感知応答システムの分子機構と生理機能について、特にリボソーム動態制御とストレス応答、神経変性疾患や代謝に関する最新の知見について紹介する。

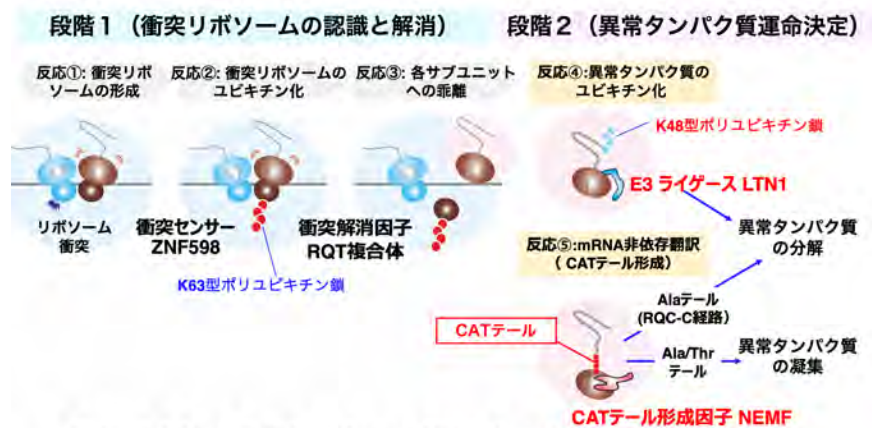


図 2 RQCによる衝突リボソーム解消とタンパク質分解の分子機構

【参考文献】

- 1) Buschauer, Matsuo et al. (2020) Science.;
- 2) Matsuo et al. (2017) Nat. Commun.;
- 3) Ikeuchi et al. (2019) EMBO J.;
- 4) Matsuo et al. (2020) NSMB;
- 5) Narita et al. (2022) Nat. Commun.;
- 6) Best et al. (2023) Nat. Commun.;
- 7) Tesina, Ebine et al. (2023) Mol. Cell;
- 8) Matsuo et al. (2023) Nat. Commun.;
- 9) Ishimura, Ito et al. (2023) Sci. Adv.;
- 10) Sato et al. (2025) Nat. Commun.;
- 11) Matsuo et al. (2021) Cell Rep.;
- 12) Udagawa et al, (2021) Cell Rep.;
- 13) Paternoga, Xia et al., (2025) PNAS;
- 14) Sugiyama, Li et al., (2019) Cell Rep.
- 15) Li et al. (2022) Mol. Cell

[特別講演]

オートファジーと液-液相分離が紡ぐストレス応答機構

氏名：○小松雅明¹

所属：¹順天堂大学・大学院医学研究科・器官・細胞生理

【要旨】

広範なストレスによって変性・ユビキチン化されたタンパク質が細胞質に蓄積すると、ユビキチン化タンパク質と p62 との多価相互作用により液-液相分離が誘導され、「p62 body」と呼ばれる大型の液滴構造が形成される。この p62 body が成熟する過程で、細胞はストレス応答経路である KEAP1-NRF2 系を強力に活性化させる。最終的に、変性タンパク質を多数内包した p62 body は、クライアントタンパク質とともに選択的オートファジーによって分解される。すなわち、ダイナミックに形成・変容する p62 body は、ストレスに応答した細胞のロバストネス（環境適応性）と、プロテオスタシス（タンパク質恒常性）の維持における中核的な役割を担っていることが明らかとなってきた。

本講演では、p62 body の多様な翻訳後修飾や物性の変化を通じたストレス応答と、オートファジーによる分解制御の仕組みについてご紹介したい。

【参考文献】

- 1) Komatsu M (1 of 25),...*Tanaka K. Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic inclusion body formation in autophagy-deficient mice. (2007) *Cell*, 131, 1149-63.
- 2) *Komatsu M (1 of 19),...*Yamamoto M. The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. (2010) *Nat Cell Biol.* 12, 213-23.
- 3) Ichimura Y,...*Komatsu M (20 of 20). Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. (2013) *Mol Cell*, 51, 618-31.
- 4) #Kageyama S, #Gudmundsson SR...*Eskeline E-L, *Komatsu M (21 of 21). p62/SQSTM1-droplet serves as a platform for autophagosome formation and anti-oxidative stress response. (2021) *Nat Commun.*, 12, 16.
- 5) #Kurusu R, #Fujimoto Y, #*Morishita H,... *Komatsu M (19 of 19). Integrated proteomics identifies p62-dependent selective autophagy of the supramolecular vault complex. (2023) *Dev Cell*, 58, 1189-1205.
- 6) Ikeda R,... *Ichimura Y, *Noda NN, *Komatsu M (20 of 20). Phosphorylation of phase-separated p62 bodies by ULK1 activates a redox-independent stress response. (2023) *EMBO J.* 42: e113349.
- 7) Takada S,...*Komatsu M (14 of 14). KEAP1 retention in phase-separated p62 bodies drives liver damage in autophagy-deficient conditions. *EMBO Rep.* in press.

日本生化学会・日本生物物理学会
北海道支部合同シンポジウム
(S-1～S-4)

要 旨

[合同シンポジウム]

小胞体ストレスに応答した小胞体膜局在タンパク質の膜トポロジー反転現象の発見とその制御機構の解明

氏名：○森本菜央^{1,2}、山田珠鈴^{1,2}、岡崎朋彦^{1,2}

所属：¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子細胞生物研究室

²北海道大学・大学院生命科学院

【要旨】

小胞体(ER)ストレス応答は、不良タンパク質の蓄積などにより誘導される細胞の恒常性維持機構であり、その破綻は多くの疾患の発症や進行と深く関与している。このストレス応答の調節において重要な役割を担うのが、ER膜タンパク質 FICD である。FICD は哺乳類における主要な AMP 化酵素であり、ER 内腔に存在する酵素活性部位を介して ER 内腔に局在する基質を修飾すると考えられている。代表的な基質である ER シャペロン BiP に対しては、AMP 化によりその活性を抑制し、ER ストレス応答を制御することが知られている。一方で、近年の網羅的プロテオーム解析から、FICD が細胞質タンパク質にも AMP 化修飾を行う可能性が示唆されている。しかし、酵素活性部位を ER 内腔側にもつ FICD がどのようにして細胞質タンパク質を修飾しうるのか、その分子機構は明らかになっておらず、AMP 化修飾が ER ストレス応答において果たす役割についても、依然として未解明な点が多く残されている。

我々はこれまでに、細胞ストレス応答により膜トポロジー（膜への挿入方向）が反転する ER 膜タンパク質を同定しており、この知見に基づき FICD が ER ストレスに伴い膜トポロジーを反転させ、細胞質側に酵素活性部位を提示する可能性を検討した。その結果、ER ストレス誘導下において FICD が膜トポロジーを反転させること、および、細胞質基質を AMP 化することを見出した。

本発表では、FICD による膜トポロジー反転と細胞質基質 AMP 化という新しい現象に加え、我々が同定した細胞質局在基質候補とその機能に関する最新の知見について紹介する。

【参考文献】

- 1) Okazaki T., Nozaki K., Morimoto N., Otobe Y., Saito R., Abe S., Okajima M., Yoshitane H., Hatta T., Lemura S., Natsume T., Kosako H., Yamasaki M., Inoue S., Kondo T., Koseki H., Gotoh Y. (in press) Science.

[合同シンポジウム]

有糸分裂期における非膜オルガネラのダイナミクスと機能解析

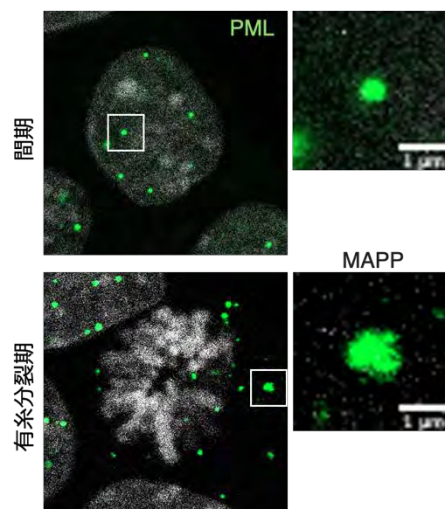
氏名：○栗原美寿々¹、小原大暉¹（講演者の名前の前に○を付けてください。）所属：¹北海道大学・大学院薬学研究院・RNA 研究室、

【要旨】

細胞内には、タンパク質を中心に形成される膜を持たない非膜オルガネラが多数存在し、極端な分子夾雑環境下において複数の独立した生体反応を混線させずに進行させるための空間的区画として重要な役割を果たしていると考えられている。これらの構造体の多くは多価の分子間相互作用により形成され、液滴状かつ可逆的な性質を示すことが知られているが、それらが実際の細胞内でどのように振る舞い、どのような場面で機能を果たしているのかについては、十分に理解されていない。特に、特に、染色体や細胞内小器官などの細胞構成要素がダイナミックに変化する有糸分裂期におけるダイナミクスや機能についてはほとんど明らかになっていない。

一般的な核内の非膜オルガネラは、有糸分裂期に一旦消失し、間期に再構成されることが知られている。その中で、例外的な振る舞いを示す非膜オルガネラとして注目されるのが、PML (Promyelocytic leukemia) body である。液滴状の構造体として知られる PML body は、細胞老化、がん、抗ウイルス応答、転写制御などに関与することが報告されている (Corpet et al., NAR 2020)。興味深いことに PML body は、有糸分裂期において MAPP (mitotic assemblies of PML proteins) と呼ばれる歪で硬質な構造へと変化するという極めて特異な性質を持つ (Lång et al., Cells 2019)。しかし、MAPP を構成する因子は未だ明らかになっておらず、液状の PML body がどのようなメカニズムで固相化した MAPP へと変化するのか、その仕組みは依然として不明である。本研究では、MAPP を構成する因子を近接ラベリングにより同定することで、PML body が MAPP へと遷移する分子メカニズムを解明する。

図 間期と有糸分裂期におけるPMLをコアとする非膜オルガネラ



LINC02154 は口腔扁平上皮がんにおいて細胞周期関連遺伝子とミトコンドリア関連遺伝子を制御する

氏名：○新沼 猛¹ 関口 翔平² 岡崎 史佳² 北嶋 洋志¹ 石黒 一也¹ 萬 頭³ 甲斐 正広¹ 宮崎 晃亘² 鈴木 拓¹

所属： 1. 札幌医科大学 医学部 生化学学講座 分子生物学分野
2. 札幌医科大学 医学部 口腔外科学講座
3. 札幌医科大学 医学部 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座

【要旨】

本研究は口腔扁平上皮がん(OSCC)に関連する lncRNA を同定し、分子機能を解明することを目的とした。The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース上の OSCC の RNA-seq データを解析し、腫瘍部で高発現し、かつ予後不良と関連する lncRNA として LINC02154 を同定した。LINC02154 のノックダウンは、OSCC 細胞株の細胞増殖抑制とアポトーシスを誘導した。マイクロアレイ解析から、LINC02154 のノックダウンによる細胞周期関連遺伝子、特に G2/M 期関連遺伝子の発現低下が認められ、かつ G2/M 期関連遺伝子転写の制御因子である FOXM1 の発現低下が確認された。small RNA シークエンス解析から、LINC02154 ノックダウンによる miR-17 の発現上昇が確認され、その標的遺伝子として HNRNPK を同定した。HNRNPK のノックダウンにより FOXM1 の発現低下が認められ、さらに HNRNPK と FOXM1 mRNA の相互作用が RIP アッセイで確認されたことから、LINC02154/miR-101-3p/HNRNPK axis による FOXM1 発現の活性化機構が推測された。また LINC02154 は酸化的リン酸化に関与する LRPPRC 蛋白と相互作用し、COX1、COX2 などミトコンドリア関連遺伝子の発現を制御する可能性が示唆された。

[合同シンポジウム]

宿主由来マイクロ RNA による *Enterococcus* 属細菌の増殖制御メカニズム

氏名：山口万柚子¹、勅使河原優夏¹、○逢坂文那²、園山慶²

所属：¹北海道大学・大学院農学院・食品機能化学研究室

²北海道大学・大学院農学研究院・食品機能化学研究室

【要旨】

腸内細菌叢と宿主のクロストークはさまざまな物質によって媒介されており、例えば、腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸や、宿主が産生する抗菌ペプチドや分泌型 IgA についての研究が精力的になされてきた。しかしながら、その全貌は明らかになっていない。

私たちは腸内細菌叢と宿主のクロストークを媒介するものとして、マイクロ RNA (miRNA) に着目をしてきた。miRNA は 20 塩基程度のノンコーディング RNA であり、標的遺伝子の発現抑制を介して免疫系などのさまざまな生理機能の調節に関与している。腸内細菌叢は宿主の miRNA の発現に影響することが知られており、私たちは腸内細菌叢が宿主の腸管免疫に影響する際に宿主の miRNA が関与することを明らかにしてきた^{1, 2, 3)}。一方で、宿主の miRNA は腸内細菌叢の構成や機能も左右する⁴⁾。

私たちは最近、マウスの糞便から分離した miRNA を培養下の腸内細菌に添加すると、その菌叢構成が変化し、とりわけ *Enterococcus* 属細菌が増加することを見出した⁵⁾。この機序を明らかにするために、糞便 miRNA が *E. faecalis* の遺伝子発現におよぼす影響を RNA-seq により網羅的に解析した結果、細菌の糖輸送機構の一つであるホスホトランスフェラーゼ系 (PTS) に関連する遺伝子の発現減少が認められ、宿主 miRNA が *Enterococcus* 属細菌の糖の取り込みを調節することにより腸管定着に寄与することが示唆された。実際に、糞便 miRNA の添加による *E. faecalis* の増殖促進はグルコースやフルクトースなどの PTS 糖を唯一の炭素源として培養した場合にはみられず、PTS 以外の系によって取り込まれるムチンの構成糖であるガラクトース、フコース、シアル酸や難消化性オリゴ糖であるラフィノースやメリビオースを炭素源とした場合にみられた。以上のことから、PTS 糖の存在量が限られている大腸においては、宿主由来の miRNA は *Enterococcus* 属のような腸内細菌が内在性の糖質であるムチンの構成糖や難消化性糖類の資化を促進し、これらの細菌の定着を有利にしているものと考えた。

【参考文献】

- 1) Ohsaka F *et al.* (2021) *Biochem Biophys Res Commun* 534, 808-814.
- 2) Ohsaka F *et al.* (2023) *J Nutr Sci Vitaminol* 69, 150-154.
- 3) Ohsaka F *et al.* *J Nutr Sci Vitaminol* in press
- 4) Liu *et al.* (2016) *Cell Host Microbe* 19, 32-43.
- 5) Ohsaka F *et al.* (2023) *Biochem Biophys Res Commun* 685, 149184.

一 般 講 演

(O-1~O-6)

要 旨

* 若手優秀講演賞応募演題

[一般講演]

膜上相分離によるマイトファジーの始動機構

氏名：○丸山達朗¹、野田展生^{1,2}所属：¹微生物化学研究所・構造生物学研究部²北海道大学・遺伝子病制御研究所・生命分子機構分野

【要旨】

マイトファジーはミトコンドリアの品質管理機構であり、損傷または蓄積したミトコンドリアをオートファジーによって選択的に分解することで、その恒常性を維持している。出芽酵母では、マイトファジーレセプターAtg32がマイトファジーの誘導に応じてカゼインキナーゼ2によりリン酸化され、続いてアダプタータンパク質Atg11をリクルートし、隔離膜の形成に必要な足場構造を構築する。これまでに、Atg32細胞質領域中のAtg11結合領域がリン酸化依存的にAtg11のC末端領域へ結合することが報告されている。しかし、Atg32とAtg11に含まれる天然変性領域や構造形成領域の機能的役割は不明であり、Atg32とAtg11から成る足場構造がマイトファジーの開始時にどのように形成されるのか、その仕組みは十分には理解されていない。

そこで本研究では、X線結晶構造解析、溶液NMR法、生物物理学的手法を用いてAtg32細胞質領域とAtg11のC末端領域の相互作用を網羅的に解析した。その結果、Atg32の天然変性領域を介した複雑な相互作用様式を明らかにし、足場形成を駆動する相互作用の分子基盤を解明した。さらにリポソームを用いた再構成実験により、Atg32とAtg11は脂質膜上で液-液相分離を引き起こすことを新たに見出した。天然変性領域を介した多価相互作用を変異により阻害すると膜上相分離が顕著に阻害されたことから、マイトファジーの足場構造は天然変性領域を介した膜上相分離によって形成されることが示唆された(Figure.1)。

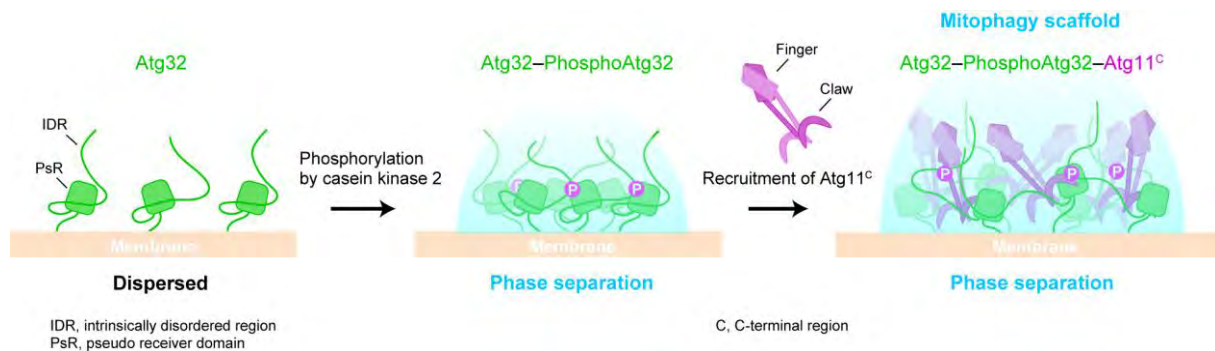


Figure.1 マイトファジーの足場構造の形成機構

【参考文献】

- 1) Okamoto K., Kondo-Okamoto N., Ohsumi Y. (2009) *Dev. Cell.*, 17, 87-97.
- 2) Kanki T., Wang K., Cao Y., Baba M., Klionsky D.J. (2009) *Dev. Cell.*, 17, 98-109.
- 3) Kanki T., Kurihara Y., Jin X., et al. (2013) *EMBO Rep.*, 14, 788-794.

[一般講演]

DDX6 は RNA ヘリカーゼ活性非依存的に NF- κ B を制御し、IL-6 アンプを介した炎症性疾患に関与する

氏名：○北條慎太郎^{1,2,3}、内藤正一郎¹、田中宏樹¹、Jing-Jing Jiang¹、橋本あり⁴、田中勇希²、村上薫¹、橋本茂¹、村上正晃^{1,2,3,5}

所属：¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子神経免疫学分野

²量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・量子免疫学チーム

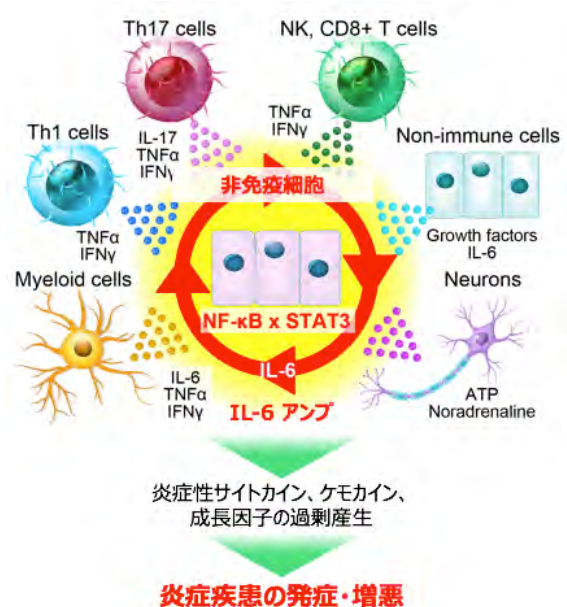
³北海道大学・ワクチン研究開発拠点 (HU-IVReD)

⁴北海道大学大学院医学研究院・分子生物学教室

⁵自然科学研究機構・生理学研究所・分子神経免疫研究部門

【要旨】

IL-6 アンプは STAT3 と NF- κ B の同時活性化により非免疫細胞における NF- κ B 活性を増幅し、IL-6 などのサイトカインやケモカインの過剰産生を誘導することで慢性炎症疾患の病態に関与する(右図)¹⁻³。我々は shRNA を用いたゲノムワイドスクリーニングから、RNA ヘリカーゼ DDX6 を IL-6 アンプの正の制御因子候補として同定した。本研究では、DDX6 の抑制が非免疫細胞における NF- κ B 活性と IL-6 アンプを抑制する一方で、DDX6 の過剰発現はそのヘリカーゼ活性に依存せず NF- κ B プロモーター活性を増強することを見出した。さらに、イミキモド誘導性皮膚炎モデルにおいて、DDX6 のノックダウンは p65 および I κ B α のリン酸化の低下、核内 p65 の減少、および I κ B α の安定化を伴い、皮膚炎症を抑制した。さらに、DDX6 は p65 および I κ B α と結合し、TRADD や RIP、TRAF2 とは相互作用せず、当該分子が NF- κ B シグナルの新規アダプター分子として機能する可能性が示唆された。これらの結果は、DDX6 が従来知られている RNA 代謝機能に加えて、NF- κ B 活性化と炎症促進に関与することを示し、炎症性疾患の新たな治療標的となる可能性を示唆している。



【参考文献】

- 1) Murakami M., Kamimura D., Hirano T. (2019) *Immunity*, 50, 812-831.
- 2) Arima Y. et al., (2012) *Cell*, 148, 447-457.
- 3) Ogura H. et al., (2008) *Immunity*, 29, 628-636.

[一般講演]

生命科学と哲学の超異分野融合による時間論からの根源的生命倫理の検討

氏名：○臼杵靖剛¹

所属：¹北海道大学・大学院先端生命科学研究院・附属次世代物質生命科学センター

【要旨】

倫理とは善悪、正義不義、公正不正などの判断根拠である。アリストテレスが存在論を体系化して以来、存在忘却が起きたとハイデガーは主張して存在の意味を問う（存在者と存在の存在論的差異を問う）哲学を始めた。存在の意味を問うとは同時に君たちはどう生きるかという問いかけでもあり倫理の問いでもある。生命倫理は科学技術の進歩の背景での倫理観である。生命科学はそこに基礎知識を与え明確な存在論的構造を有するということで生命倫理に深く関わっている。現在の生命倫理はニュールンベルグ綱領を起源としたヒューマニズムから問題を産出しているが、本論ではそれらの取り組みとは区別して根源的生命倫理という造語を用いる。存在論の基本構造は実証的な事実存在（x x xがある）と思弁的な本質存在（y y yである）から成り立つ。

生命科学に限らず自然科学は存在論としては科学的実在論と言う立場をとり、方法論としては仮説演繹であり、事実存在から帰納的に仮説を立て演繹的に結論を予測し、実験により仮説の真偽を確かめ、仮説が真であれば新しい事実存在で更新される。こうしてとりあえず誤りのない仮説により成り立つ世界は私たちが日々生活する日常性世界と呼ばれる。正確には日常性世界は素朴実在論であり、科学的実在論は数ある実在論の中では素朴実在論に一番近い立場である。事実存在に向き合う自然科学者は現存在としては世人自己（ダスマン：悪い意味ではなく）であるべきであるが、根源的生命倫理は本質存在であるから、現存在の各私性、主観が関与する余地がある。しかし、カントの警告する超越論的独断論になるのは注意深く避けねばならない。

ところで現存在は世界の超越論的な存在者であるが「身体」をもって経験の現場に居合わせており「環境」と相互作用している。身体をメルロポンティは現象学的身体論で考察しているが、本論では生命とつながる身体生命現象存在論により時間を手掛かりに生命に迫る。時空は認識の感性形式であり、時間は外的感性形式である空間より理解が困難であるが、アリストテレスの「時間とは前後の運動の数である」という定義もある。近年の物理学や神経科学の時間を空間化して解明する手法、さらにAIの深層・機械学習によるデータの次元削減も空間化手法であり時間の空間化は有効であると考えられる。一方、時間には聖アウグスチヌスの分散せず存在する「過去・現在・未来」という心の時間もあるが、将来は時間の空間化により解明されていくと考えられる。生命科学の時間には概日時間、時間遺伝子などの時間生物学、生成AIが作り出す細胞分化の疑似時間などがあるが、これらの時間は概日計時的であり、運動する身体の主観的時間意識は展望計時的である。そこで運動する身体の方に注目して展望的時間から時間を検討する。

19世紀末に動く映像（日本では活動写真）が広まり、その後は映画として静止画にない動く映像により感情表現が移入されるようになった。さらに発展を遂げた映像分析と生成AIが日常性世界の行動理解の手法になろうとしている。そこで、通俗的脳科学ではなく映像分析により主観的時間感覚を検討した。その結果、人間の固有の環世界時間と映像速度の分析により主観意識と動きから生じる時間位相差の補正に記憶の形成（過去）と展望予測の形成（未来）にともに錯覚による遮蔽/補完効果の深い関与を認め、感性としてのアイデア感にもその効果が示唆される。

最後に、現存在は非本来性と時間性のどの脱自態においても虚無性と根拠欠如態であり、動く映像でも各瞬間（1/18秒）は無である。しかし、無である現存在に対して根源的生命倫理の志向性は感性による感覚質（感覚の質感）がアイデア感（人工質感）として真善美の三大アイデアの善のアイデアにおいて他の2つのアイデアが両輪となり根源的生命倫理感として現出されると考えられる。

[一般講演]

アトピー性皮膚炎および乾癬モデルマウスにおけるセラミド組成変化

氏名：○野坂奈生¹，永沼達郎^{1,2}，木原章雄^{1,2}所属：¹北海道大学・大学院生命科学院・生化学研究室²北海道大学・大学院薬学研究院・生化学研究室

【要旨】

表皮の最外層に位置する角質層には、脂質の多層構造体（脂質ラメラ）が存在し、皮膚バリア形成において極めて重要な役割を担っている。脂質ラメラの主要構成脂質の1つであるセラミドは、長鎖塩基と脂肪酸がアミド結合した構造をもち、脂肪酸鎖長や不飽和度、水酸基の数などに多様性をもつ。アトピー性皮膚炎（AD）や乾癬などの皮膚炎では特徴的なセラミド組成変化（アシルセラミドおよびフィトセラミドの減少，2-水酸化脂肪酸含有セラミドの増加，非アシル化セラミドの脂肪酸部分の短鎖化など）が見られ、皮膚バリア機能低下と関連している。しかし、セラミド組成を変化させる分子機構は不明である。本研究ではその解明のための解析系の確立を目指してADおよび乾癬モデルマウスでのセラミド組成変化を調べた。C57BL/6JマウスへのMC903塗布によりADモデルを、イミキモド塗布により乾癬モデルを作製し、両モデルのセラミド組成変化をLC-MS/MSにより詳細に解析した。その結果、ヒト患者と同様に、いずれのモデルマウスにおいてもコントロールと比較してアシルセラミドの減少（AD：33%，乾癬：61%）と2-水酸化脂肪酸含有セラミドの増加傾向，非アシル化セラミドの脂肪酸部分の短鎖化（炭素数24の脂肪酸の割合の増加，炭素数26の脂肪酸の割合の減少）が認められた（図1，2）。同様の脂肪酸短鎖化とそれに起因するアシルセラミド量の低下は炭素数24から26への脂肪酸伸長を担う脂肪酸伸長酵素 *Elovl1* のノックアウトマウスにおいて観察されている¹⁾。そこで、両皮膚炎モデルにおいて *Elovl1* の発現量を定量的RT-PCRにより調べたところ、その発現量はコントロールと変わらなかった。このことは、両モデルにおいて *ELOVL1* の活性が低下している可能性を示唆している。以上、両モデルマウスが、ヒト患者と共通したセラミド組成変化（アシルセラミドの減少と脂肪酸の短鎖化）を示し、セラミド組成変化の分子機構の解析ツールとして有用であることが示された。

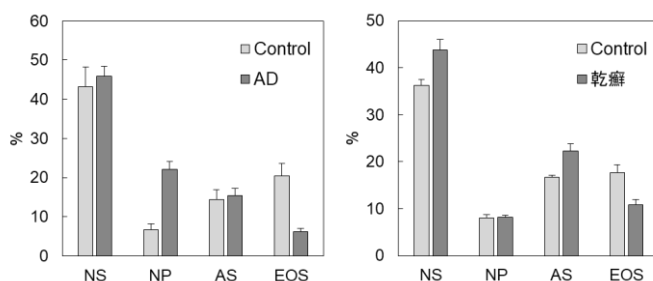


図1. 皮膚炎モデルにおけるセラミド組成変化

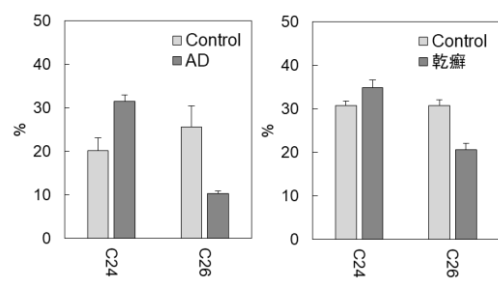


図2. セラミドの脂肪酸鎖長の割合

【参考文献】

- 1) Sassa T. *et al.* (2013) *Mol. Cell. Biol.*, 33, 2787–96.

[一般講演]

mitoNEET の配向性によるミトコンドリア機能に対する影響

氏名：○半田悠¹、及川司²、小野寺康仁³、横田卓⁴、李承峰¹、村上正晃^{1,5,6}

所属：¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子神経免疫学分野

²北海道大学・医学研究院・分子生物学教室

³北海道大学・医理工学研究院・分子・細胞動態計測分野

⁴北海道大学病院・医療－ヘルスサイエンス研究開発機構

⁵量子技術研究開発機構 量子免疫学チーム

⁶生理学研究所 分子神経免疫研究部門

【要旨】

我々はこれまでに、マウス正常乳腺上皮細胞 NMuMG において、TGF β 誘導性の上皮間葉転換 (EMT)前後でミトコンドリアの呼吸能が変化することを見出した(1)。EMT は一般に、細胞の運動能獲得に寄与するため、運動のためのエネルギー産生としてミトコンドリアによる酸化的リン酸化 (OXPHOS)が重要と考えられる。実際に、ATP 産生を阻害すると運動能が減弱することを確認した。OXPHOS を担う電子伝達系には、数種類の鉄硫黄クラスターが組み込まれているが、鉄硫黄クラスターと結合する mitoNEET タンパク質の発現が EMT 前後で減少することを観測した。mitoNEET は、ミトコンドリア外膜タンパク質で、鉄硫黄クラスター結合部が細胞内に向けた配向性を取ると考えられているが、その機能はいまだに明らかとなっていない。mitoNEET とミトコンドリア機能の関連として、心筋細胞において加齢に伴う mitoNEET 発現変化が心筋ミトコンドリアの機能不全に関与することを報告しているが、その分子的詳細は不明である(2)。そこで、EMT 前後の OXPHOS 活性亢進には mitoNEET の発現減少が必要であると考え、強制発現系を用いた解析系を導入した。その結果、mitoNEET 強制発現系においては、EMT 誘導時に見られた OXPHOS 活性亢進が見られなくなった。次に、mitoNEET がどのような機序で OXPHOS 活性に影響を与えるかを調べるため、共免疫沈降およびプロテオミクス解析を行ったところ、これまで知られている mitoNEET のミトコンドリア内局在に、新たな知見をもたらすデータを得た。本演題では、mitoNEET がいかにしてミトコンドリア呼吸能に影響を及ぼすのか、について mitoNEET の配向性を中心に議論を展開させたい。

【参考文献】

- 1) Handa H, Onodera Y, Oikawa T, Takada S, Ueda K, Setoyama D, Yokota T, Yamasaki M, Watamabe M, Fumoto Y, Hashimoto A, Hata S, Murakami M, Sabe H. MitoNEET reduces the mitochondrial oxidative phosphorylation during epithelial-mesenchymal transition. *bioRxiv*, 2024. (Preprint)
- 2) Furihata T, Takada S, Kakutani N, Maekawa S, Tsuda M, Matsumoto J, Mizushima W, Fukushima A, Yokota T, Enzan N, Matsushima S, Handa H, Fumoto Y, NioKobayashi J, Iwanaga T, Tanaka S, Tsutsui H, Sabe H & Kinugawa S. Cardiac-specific loss of mitoNEET expression is linked with age-related heart failure. *Communications Biology*, volume 4: 138, 2021

[一般講演]

細胞老化におけるゲノムの再編成を駆動するタンパク質の同定

氏名：○太田信哉¹、谷澤英樹¹、鍾奕洛¹、小迫 英尊²、野間健一^{1,3}

所属：¹北海道大学 遺伝子病制御研究所 ゲノム医生物学分野

²徳島大学 先端酵素学研究所 細胞情報学分野

³Institute of Molecular Biology, University of Oregon

【要旨】

細胞老化は、細胞周期の不可逆的な停止に加え、老化関連分泌表現型（SASP）と呼ばれるサイトカインやケモカインの発現誘導を伴い、加齢関連疾患の進行因子として注目されている。細胞老化に際しては、SAHF（senescence-associated heterochromatic foci）の形成に代表されるヘテロクロマチン構造の変化が観察され、これは老化細胞に特異的な 3D ゲノム構造の再編を反映していると考えられる。しかしながら、このような老化特異的なゲノム構造がどのような分子機構で形成されるのか、その全貌は明らかでない。我々は、胎児肺由来細胞から短期間でかつ高効率に細胞老化を誘導可能なモデル細胞を構築した。この系を用いることで、細胞老化が進行する過程において核内タンパク質の変動を時系列で定量することに成功した。さらに同時に、次世代シーケンスによる網羅的な RNA-seq 解析を行い、各タンパク質の発現変動と転写プロファイルの変容とを統合的に解析した。これらの解析から、細胞老化に伴う 3D ゲノム再編を制御する候補タンパク質群を抽出した。さらに、これらの候補の一部について機能喪失させると、老化に伴って形成される SAHF 構造が消失することを見出した。こうした表現型を示すタンパク質群を、Noss（ノス：No SAHF Structure）タンパク質と命名した。本発表では、Noss 因子の同定過程、老化細胞特異的な 3D ゲノム構造と転写制御における機能的役割について議論する。

日本生化学会北海道支部若手奨励賞

要 旨

ウミホタルルシフェリンの発光反応を引き起こすタンパク質の研究

氏名：○蟹江 秀星¹

所属：¹産業技術総合研究所・バイオものづくり研究センター

【要旨】

海洋発光生物であるウミホタルは、酵素ウミホタルルシフェラーゼ (CypLase) を介した、ウミホタルルシフェリン (CypL) の酸化反応を利用して光を生み出している (図 1)。基質となるルシフェリンの化学構造に違いはあるものの、CypLase が触媒する CypL の発光反応は、ホタルなど他の発光生物が利用する発光反応と比べ、単位時間あたりの発光量に優れるという特徴がある。しかしながら、CypLase は既知のタンパク質と有意な相同性を示さず、未だにその立体構造が不明であり、基質である CypL の不斉認識を含めた触媒機構も十分に理解されていないため、レポーターアッセイ等への応用展開が十分に進んでいないという現状がある。そこで「なぜ CypLase が CypL の発光反応を担えるのか」、そして「CypLase が CypL のキラリティをどの程度厳密に認識して発光反応を触媒しているのか」という問いを起点に CypLase の研究を進めてきた。

まず CypLase の機能を理解するためのアプローチの 1 つとして、臨界ミセル濃度を超える濃度の陽イオン界面活性剤や低分子化合物を包接するシクロデキストリンの存在下で CypL の発光反応が起きるといった過去の報告に着目し、「CypL を包接できる天然のタンパク質の中にも、CypLase 様の発光活性を示すものが存在するのではないか」という独自の仮説を立て、その検証を試みた。具体的には、CypL と化学構造が部分的に似た化合物を包接する性質があるヒトの α 1-酸性糖タンパク質 (hAGP) に着目した実験を行った。その結果、ウミホタルとは生物分類群が異なるヒト由来のタンパク質であり、炎症性バイオマーカーの 1 種として知られている hAGP が CypL の発光反応を引き起こすことを発見した (図 1)¹。さらにこの発見に基づき、血清アルブミンを除去したヒト血清試料に CypL を加えるという簡便かつ短時間で実施可能な操作のみで血清試料に含まれる hAGP の量を発光量から調べられることを示した²。また、鏡像関係にある (R)-CypL と (S)-CypL の 2 種類の CypL を用いた実験から CypLase が CypL のキラリティをそれほど厳密に認識することなく発光反応を触媒しており、基質との親和性が高いからといって必ずしも発光反応の速度が向上し、最大発光強度も向上するとは限らないことを示唆する結果を得た³。これらの結果は発光生物に由来しないタンパク質を利用した発光反応系の創出や、CypLase による発光反応の触媒機構の理解およびその高度化、そして「発光反応を触媒するという一見すると特別な機能を有するタンパク質 CypLase を、ウミホタルは進化の過程でなぜ獲得できたのか」という進化学的な問いの考察にも寄与するのではないかと考えている。

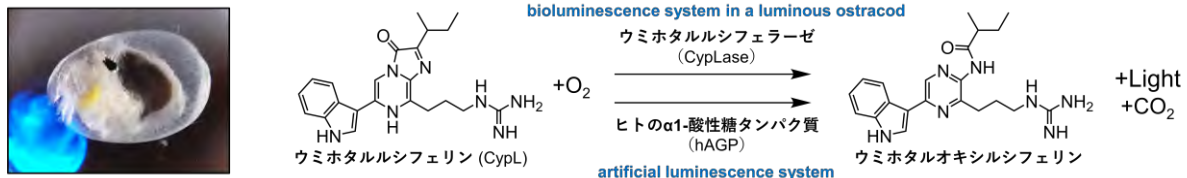


図 1. 発光するウミホタル (左) と CypLase および hAGP を介した CypL の発光反応スキーム (右)

【参考文献】

- 1) Kanie S., Wu C., Kihira K., Yasuno R., Mitani, Y., Ohmiya Y. (2024) Int. J. Mol. Sci., 25, 2699.
- 2) Kanie S., Mitani Y. (2022) Anal. Sci., 38, 1555-1562.
- 3) Kanie S., Komatsu M., Mitani Y. (2020) Int. J. Mol. Sci., 21, 7516.

ポスター発表

(P-1～P-14)

要 旨

* 若手優秀ポスター賞応募演題

[ポスター]

HIV-2 Nef タンパク質の配列多様性と CD3 細胞内モチーフ結合活性の関連

氏名：○東はるか¹、古関亮太²、平尾憲吾²、小澤偉大¹、鷺見正人³、田所高志⁴、
Sophie Andrews⁵、Sarah Rowland-Jones⁵、黒木喜美子²、前仲勝実^{2,3}

所属：¹北海道大学薬学部・生体分子機能学研究室、
²北海道大学・大学院薬学研究院・生体分子機能学研究室、
³北海道大学・大学院薬学研究院・創薬科学研究教育センター、
⁴山口東京理科大学薬学部、
⁵University of Oxford

【要旨】

後天性免疫不全症候群 (AIDS) の原因となるヒト免疫不全ウイルス (HIV) は HIV-1 と HIV-2 に分類される。HIV-1 と HIV-2 はゲノム配列相同性が高いにも関わらず、HIV-2 は HIV-1 と比べて感染宿主内でのウイルス複製・増殖能が低いことから、AIDS 発症が遅いことが知られている。私たちは HIV-1 と HIV-2 の病原性の違いの原因として、HIV の病原性やウイルス複製能において重要な役割を果たしている多機能タンパク質 Nef に着目した。HIV-2 Nef、HIV-2 と近縁のサル免疫不全ウイルス SIV Nef は感染した T 細胞の T 細胞受容体 (TCR) と複合体を形成する CD3 の細胞内モチーフ (CD3 ζ) と結合し、TCR-CD3 複合体を細胞内に取り込むことによって、細胞表面上の発現量を低下させるのに対し、HIV-1 Nef はこの機能を持たないことが知られている。私たちは、HIV-2 Nef タンパク質が μ M オーダーの解離定数で CD3 細胞内モチーフに結合することを明らかにした¹⁾が、変異導入率が高い HIV-2 Nef の配列多様性が CD3 ζ 結合能に与える影響は不明であった。そこで本研究では HIV-2 感染者から単離、配列同定した 7 種類の HIV-2 Nef 組み換えタンパク質を用いて、CD3 ζ の結合能に差があるのかを等温滴定カロリーメトリー法を用いて検討した。さらに、配列相同性が高いにも関わらず、CD3 ζ 結合能が異なった 2 種類の HIV-2 Nef タンパク質に着目して変異体解析を行い、CD3 ζ 結合に重要な HIV-2 Nef アミノ酸残基を同定した。今後は、同定したアミノ酸残基が他の配列の HIV-2 Nef タンパク質の CD3 ζ 結合活性にも重要であるかを解析するとともに、HIV-2 Nef と CD3 ζ 複合体の X 線結晶構造解析により、さらに詳細な HIV-2 Nef による CD3 ζ 認識機構を明らかにする予定である。

【参考文献】

- 1) Hirao K., Andrews S., Kuroki K., Kusaka H., Tadokoro T., Kita S., Ose T., Rowland-Jones S.L., Maenaka K. (2020). *iScience*, 23, 100758.

[ポスター]

Role of Mitochondrial Dynamics in the Regulation of Cellular Interferon Memory

氏名：○Zahra Diva Fatchurrachman¹、Kazuyasu Sakaguchi^{1,2}、Rui Kamada^{2,3}

所属：¹Laboratory of Biological Chemistry, Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University

²Laboratory of Biological Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University

³Chemistry of Functional Molecules, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University

【要旨】

To protect against harmful external stimuli, the human body employs a first-line defense mechanism known as innate immunity. Interferons (IFNs) are a family of cytokines that play an essential role in the body's innate immune response. Upon viral infection, the release of IFNs initiates the transcription of interferon-stimulated genes (ISGs) to inhibit viral replication. Recently, we made a

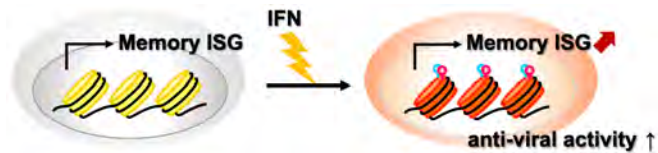


Fig.1 Schematic illustration of interferon-induced memory formation significant discovery that cells can retain memory-like properties of previous IFN stimulation and respond more rapidly and robustly when presented with the same stimuli for the second time (Fig.1) [1]. This discovery provides a key insight into the concept of “trained innate immunity”, representing immunological memory properties independent of adaptive immunity.

Here, we report the involvement of mitochondria in regulating interferon-mediated trained immunity. While mitochondria are widely recognized as the central part of cellular bioenergetics, recent studies have also shown that they play a crucial role in the establishment of cellular memory through mitochondrial dynamics. We found that multiple stimulations by Type-I interferon (IFN β) significantly enhanced cellular response in MEF cells. IFN β -pretreated cells were shown to have a rapid and stronger induction of interferon-stimulated genes (ISGs) compared to naïve cells. Results have also found that this response is enhanced with subsequent numbers of treatments. Furthermore, through observation of mitochondrial morphology, it was found that the mitochondria morphology was not only altered from the primary IFN β challenge, but were also able to dynamically respond to future challenges. Moreover, these changes in morphology persisted in cells with memory properties even after the removal of IFN β . These results suggest that mitochondria may play an important role in the regulation of interferon-mediated cellular memory. This novel function of mitochondria in trained immunity may lead the way to new strategy in infectious disease treatment and prevention.

【参考文献】

- 1) Kamada, R., Yang, W., Zhang, Y., Patel, M. C., Yang, Y., Ouda, R., Dey, A., Wakabayashi, Y., Sakaguchi, K., Fujita, T., Tamura, T., Zhu, J., & Ozato, K. (2018) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 115(39), E9162-E9171

[ポスター]

細菌内のリボソーム物性を標的とする新規抗菌ペプチド

氏名：○西奈美卓^{1,2}、Moynul Hasan³、五十嵐雅之³、戸田浩史²、野田展生^{1,3}

所属：¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・生命分子機構分野

²筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIS）

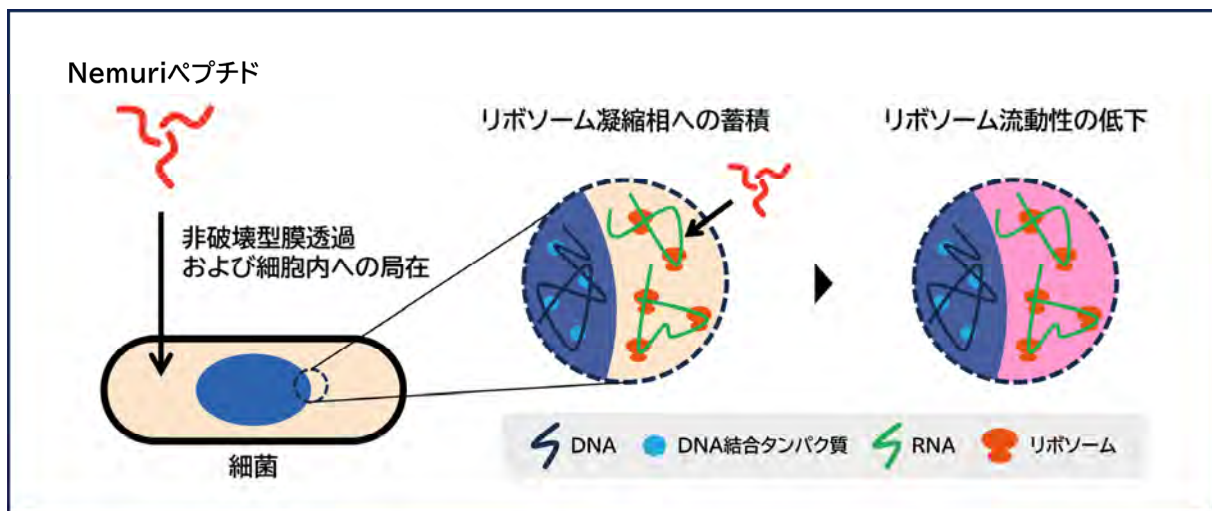
³公益財団法人微生物化学研究会・微生物化学研究所（BIKAKEN）

【要旨】

薬剤耐性（Antimicrobial resistant, AMR）の世界的脅威に対し、全く新しい作用機序を持つ抗菌薬が渴望されている。我々は、ショウジョウバエの睡眠を誘発する因子「Nemuri」¹が、薬剤耐性菌を含む広範な細菌に強力な殺菌効果を持つことを発見した。

Nemuri は、従来の抗生物質や抗菌ペプチドとは異なり、細胞膜を破壊することなく細菌内に侵入し、生命活動の中核であるタンパク質合成の場「リボソーム」に直接作用する。ここで鍵となるのが、細胞内のリボソームの物理状態である。リボソームは RNA とともに細菌内で集団挙動することが知られていた。Nemuri ペプチドはこの集団挙動の基盤となる弱い相互作用を増強することでリボソームの物理状態を改変し、機能不全の凝縮体へと固めることで、翻訳プロセスを停止させることを見出した（下図）。いわば、細菌の生命システムを物理的に静止させる、全く新しい作用機序である。

また、Nemuri は多剤耐性菌にも有効でありながら、ヒト細胞への毒性は低いことを確認した。本研究は、これまで見過ごされてきたリボソームの物理状態が、細菌の脆弱性となりえることを初めて示すものである。本発表では、この新規抗菌メカニズムの詳細に加え、Nemuri 本来の機能である睡眠誘発作用についても物理状態の視点から捉えた最新の知見を報告し、革新的な抗菌療法開発への展望を議論する。



【参考文献】

- 1) Toda H., Williams J.A., Gullledge M., Sehgal A. (2019) Science, 363, 509-515.

[ポスター]

原核生物 ribosomal RNA の latent ORF にコードされる機能性ペプチド r-Peptide の新規発現機構と機能解明

氏名：○芝垣瑠七¹、高田恵風¹、伊達正広¹、立井龍太郎¹、小俣悠馬¹、室町慧¹、鎌田瑠泉^{1,2}、
中川 夏美^{1,3}、坂口和靖^{1,3}

所属：¹北海道大学・大学院総合化学院・総合化学専攻・生物化学研究室、
²長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科（薬学系）機能性分子化学分野、
³北海道大学・大学院理学研究院・化学部門・生物化学研究室

【要旨】

原核細菌は、熱、抗生物質、紫外線などの過酷なストレスに対して、多様な防御機構を備えている。抗生物質は、微生物の増殖を阻害することによって感染症の治療に広く用いられている。しかし、細菌は抗生物質に対するさまざまな耐性機構を有しており、薬剤耐性菌の出現は世界的な問題となっている。耐性菌は、外膜の変化による透過性の低下、酵素による分解や修飾、標的分子の変異、トランスポーターによる排出など、複数の防御手段を備えている。

今回、原核生物である大腸菌のリボソーム RNA に存在する“latent” Open Reading Frame (ORF) にコードされる新規機能性ポリペプチド“r-Peptides”の発見とその機能について報告する(図 1)。

我々は、抗生物質 Kanamycin 存在下で培養した大腸菌から抽出したペプチド分画から MS/MS 解析を用いて 23S rRNA の latent ORF 由来の複数の r-Peptide を同定した。これらの r-Peptide 配列を発現するためのベクターを大腸菌にトランスフェクションした結果、実際に r-peptide が発現することが MS/MS 解析により示された。さらに、これらの r-Peptide が Kanamycin による細胞増殖阻害に対して防御的な機能である抗-抗生物質活性を有することを初めて明らかとした。また、r-Peptide の Ala scanning 解析により活性発現に重要なアミノ酸残基が明らかとなり、配列特異性が示された。

さらに、形態観察の結果、Kanamycin 存在下 r-Peptide により、大腸菌の両極に inclusion body が形成されることが明らかとなった。また、r-Peptide が、Kanamycin 添加により誘起される細胞長および Separation stage 細胞数の増加を抑制していることが明らかとなった。

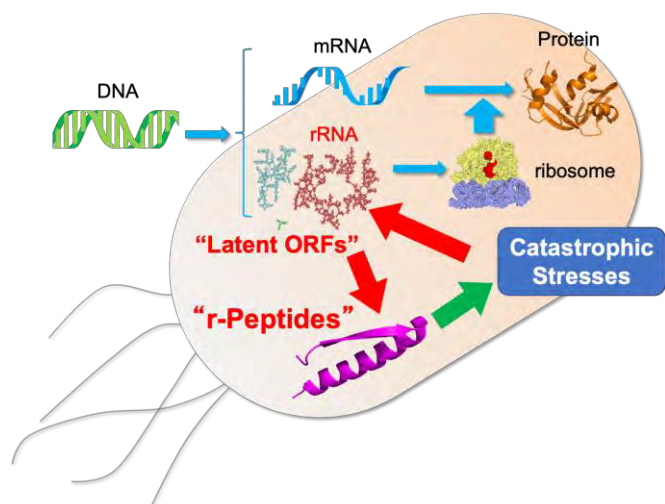


図 1 rRNA 中の latent ORF にコードされる機能性ペプチド r-Peptide

以上、本研究の結果は、ncRNA である rRNA から機能性ポリペプチドが翻訳されることを示しており、セントラルドグマの拡張の点からもめて興味深い。また、今後のより詳細な機構の解明により、薬剤耐性菌に対する新規薬剤開発への展開が期待される。

[ポスター]

イミダゾールジペプチド Carnosine の癌抑制タンパク質 p53 の転写活性への効果

氏名：○羽根涼香¹、中川夏美^{1,2}、坂口和靖^{1,2}

所属：¹北海道大学・大学院総合化学院・生物化学研究室

²北海道大学・大学院理学研究院・化学部門・生物化学研究室

【要旨】

Carnosine (Car) は β -Alanine および L-Histidine からなるイミダゾールジペプチドであり、生体内では脳や神経、筋肉に多く存在する (Fig. 1)。Car は抗酸化能、抗炎症能、抗糖化能、二価金属キレート能、細胞内 pH 調節などの様々な機能を持ち、これらの機能により多くの疾患に対して抑制効果を有している¹。腫瘍に対しては増殖を抑制する効果が報告されているが、Car の癌に対する機能やメカニズムには未知の部分が多く、それらの解明が望まれている。

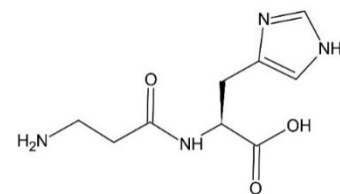


Fig. 1 Carnosine

癌抑制タンパク質 p53 は、細胞内の多様なストレスに応答して活性化し、四量体を形成する。活性化した p53 は、細胞周期停止やアポトーシスを誘導する多様な下流遺伝子の転写活性化や、ミトコンドリアを介したアポトーシス促進、miRNA のプロセッシング促進などの機能により、細胞周期停止やアポトーシス促進、DNA 修復を誘導し、ゲノムの恒常性を維持している²。p53 は癌化の抑制に重要な機能を持っており、p53 の機能制御は癌治療において極めて重要である。

本発表では、Car による p53 経路の応答を解析することで明らかとなった、Car の癌抑制タンパク質 p53 経路における機能について報告する。

本発表では、所属研究室において開発した p53 の転写活性を蛍光により定量できる蛍光レポーター細胞を用いた。さらに、蛍光画像の定量には、所属研究室において新規に開発した Deep learning モデルを用いた。まず、p53 蛍光レポーター細胞に Car を添加して培養し、p53 の転写活性を解析した。その結果、p53 レポーター細胞に Car のみを添加した場合には p53 活性に変化がないことが明らかとなった。一方で、Car を incubation したのちに wash out することで Car の濃度依存的に p53 活性が上昇することが明らかとなった。次に、抗がん剤 Etoposide (Etp) と Car を p53 レポーター細胞に共添加し、p53 活性を解析した。その結果、興味深いことに Car の濃度依存的に Etp による p53 活性の上昇が抑制されることが明らかとなった。また、シングルセルレベルで p53 活性を解析した結果、p53 が非常に強く活性化されている細胞が減少していることが示された。Car が Etp による過剰な刺激を緩和する機能を持つことが示唆された。さらに、p53 レポーター細胞に対して二価金属イオンと同時に Car を添加し p53 活性を解析した。その結果、金属イオンによる p53 活性の上昇が Car 共添加により抑制されることが明らかとなった。Car が金属イオンをキレートすることで、金属イオンの刺激を緩和したことが示唆された。

本研究により Car によって p53 活性が制御されることを明らかとした。今後、ジペプチドによる新たな p53 の活性制御法の開発への展開が期待される。

【参考文献】

- 1) Caruso G, Di Pietro L, Cardaci V, Maugeri S, and Caraci F. (2023) Current Research in Pharmacology and Drug Discovery, 4.
- 2) Kamada R, Toguchi Y, Nomura T, Imagawa T, and Sakaguchi K. (2016) Biopolymers, 106, 598-612.

[ポスター]

BBSome の再構成の品質管理機構

氏名：○吉田周世¹、渡部昌¹、畠山鎮次¹（講演者の名前の前に○を付けてください。）

所属：¹北海道大学・大学院医学研究院・生化学分野医化学教室

【要旨】

BBSome (Bardet-Biedl Syndrome) は、7つの Bardet-Biedl 症候群の原因遺伝子 BBS1, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS8, BBS9 がそれぞれ1分子ずつから構成される分子量約438 kDaの複合体であり、一次繊毛内へのタンパク質の輸送に重要な役割を果たしており、ヘッジホッグシグナルや Wnt シグナルなどの繊毛に依存する細胞シグナル伝達経路に関与する。Bardet-Biedl 症候群は、BBSome の機能不全により網膜変性、肥満、多指症、知的障害、腎異常、性腺機能低下などの症状を示す常染色体潜性遺伝病である。BBSome の生体における重要性が指摘される一方で、BBSome の複合体としての品質管理を制御する機構については未だ解明されていない。一般的に成熟していない孤立した状態で存在する複合体構成タンパク質は“オーファンサブユニット”と呼ばれ、主としてユビキチン化を介してすみやかに分解されることが多く、このような機構は品質管理機構 (Assembly quality control) と定義されている。タンパク質の再構成での品質管理機構はいくつかの複合体・制御因子関係が報告されており、不完全な細胞質リボソームとユビキチン連結 E2 酵素 UBE2O、核リボソームユビキチン E3 リガーゼ HUWE1、BTB dimer とユビキチン E3 リガーゼ SCF^{FBXL17} などが挙げられる。

我々は BBSome 複合体についても同様の品質管理機構が存在することを想定し、BBSome の各サブユニットをノックダウンすることにより、他のサブユニットのオーファンサブユニット化を誘導し、その安定性の検証を行った。その結果、BBS2, BBS7 及び BBS9 のノックダウン時には、他の構成因子が不安定化することを見い出した。BBS2, BBS7, BBS9 は BBSome 複合体が組み立てられていく際に最も初期に組み立てられるタンパク質であり、BBSome を構成する核としての重要性を示していることが想定された。現在、BBSome 複合体の安定性制御が既知の品質管理機構に依存しているかどうかを検証するため、UBE2O, HUWE1 及び FBXL17 ノックアウト細胞を樹立している。さらに、未知の制御因子の同定を目指し CRISPR スクリーニングの実験系を構築中である。

【参考文献】

- 1) Yanagitani K., Juskiewicz S., and Ramanujan S. (2017) *Science*, 357, 472-475.
- 2) Min K., Tanya R., Justin M., et al. (2016) *eLife*
- 3) Elijah L., Rachel A., Robert A., et al. (2018) *Science*, 362

[ポスター講演]

がん免疫における分泌型 CEACAM3 スプライスバリエントの相互作用分子の解析

氏名： ○相川綾音¹、岩城皓大¹、児玉達哉¹、川村慧¹、小澤孝彰¹、中川夏美^{1,2}、坂口和靖^{1,2}、鎌田瑠泉^{2,3}

所属： ¹ 北海道大学・大学院総合化学院・生物化学研究室

² 北海道大学・大学院理学研究院・化学部門・生物化学研究室

³ 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科（薬学系）・機能性分子化学分野

【要旨】

近年、腫瘍周辺の環境を構成する免疫細胞が腫瘍の形成や悪性化に関わることが示されており、がん細胞と免疫細胞の細胞間ネットワークの解明が求められている。当研究室では、Ser/Thr ホスファターゼ PPM1D が好中球の分化を制御しており、PPM1D を阻害することで T 細胞の増殖を抑制する好中球サブセットが誘導されることを見出した [1]。この好中球サブセットでは、好中球膜タンパク質 CEACAM3 のスプライシングが変化している (Fig. 1)。CEACAM3 は好中球の病原体認識や貪食を担う免疫応答分子であり、その属する CEACAM ファミリーはがんにおける細胞間相互作用やバイオマーカーとして大きく注目されている。

本発表では、がん免疫における CEACAM3 スプライスバリエントの機能と相互作用分子の解析について報告する。CEACAM3 スプライスバリエント (CEACAM3-S) を大腸菌発現系で精製し、がん細胞に添加して CEACAM3-S の細胞増殖能に与える効果を解析した結果、

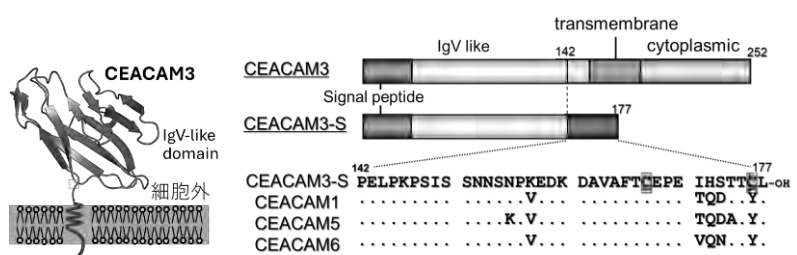


Fig. 1 CEACAM3 とそのスプライスバリエントのドメイン構造

control 条件と比較して細胞数が増加した。また、CEACAM3-S をがん細胞に添加した時、がん細胞の炎症性サイトカイン産生量を増加させた。これにより CEACAM3-S が、がん細胞に対して炎症性サイトカイン産生を誘導し、細胞増殖を促進する可能性が示唆された。また、CEACAM3-S を細胞に添加した際の局在を免疫染色によって解析した結果、CEACAM3-S が細胞内へと取り込まれ、特定の細胞小器官に局在する可能性を見出した。CEACAM3 以外の CEACAM family は IgV 様ドメインと IgC 様ドメインを介して homo および hetero dimer を形成する一方で、CEACAM3 は dimer を形成しないことが知られている。興味深いことに、CEACAM3-S は、解析により homo dimer を形成していることが明らかとなり、特異的 C 末端配列が homo dimer 形成に寄与している可能性が示された。CEACAM3-S のがん細胞における標的分子を同定するため、EGFP 融合 CEACAM3-S を精製し、GFP-Trap を用いて細胞溶解液に対する免疫沈降法を行った。得られたタンパク質を in gel digestion によって回収して nLC-MS/MS 解析を実施し、CEACAM3-S の標的分子の候補が得られた。

本研究により、分泌型 CEACAM3 スプライスバリエントの相互作用タンパク質が明らかとなり、がん免疫の機構解明に対して新たな知見をもたらすことが期待される。

【参考文献】

1) Kamada R., Kudoh F., Yoshimura F., Tanino K., and Sakaguchi K. (2017), J. Biochem., 162, 303-308.

[ポスター]

顕微鏡イメージングを用いた不凍タンパク質の非凍結細胞保護機能の分子メカニズム解明

氏名：○前田皓丞¹、曾根 正光^{2,3}、横井友樹⁴、中村公則⁴、津田栄⁵、相沢智康^{1,5}、新井達也^{1,5}

所属：¹北海道大学・理学部生物科学科高分子機能学専修・蛋白質科学研究室

²北海道大学・低温科学研究所・冬眠代謝生理発達分野

³北海道大学・大学院環境科学院・生物圏科学専攻・分子生物学コース

⁴北海道大学・大学院先端生命科学研究院・自然免疫研究室

⁵北海道大学・大学院先端生命科学研究院・蛋白質科学研究室

【要旨】

細胞や組織の低温保存は、臓器移植や生物資源の輸送において重要な技術である。従来の凍結保存法では、凍結時に生じる氷結晶形成による物理的損傷が細胞や組織によっては致命的な影響を及ぼすことがある。そのため、氷結晶の形成を回避しつつ低温環境下での代謝抑制を実現する非凍結低温保存法が注目されてきた。しかし、低温環境では膜脂質の相転移や酸化的損傷、細胞内恒常性の破綻が引き起こされるため、長期間にわたる細胞機能の維持には限界がある。不凍タンパク質 (Antifreeze protein, AFP) は、寒冷環境に適応した生物が産生する生体保護分子であり、氷結晶に結合することで、その成長を抑制する機能を有する。また、氷結合能に加えて、非凍結の低温下において細胞膜と相互作用し、細胞の生存期間を延長する細胞保護機能を有することも示されている[2][3]。しかしながら、AFPによる細胞保護の分子機構は未だ十分に解明されていない。本研究では、低温下における新たな細胞・組織保存技術の確立に寄与するため、AFPが非凍結低温条件下で示す細胞保護作用の分子メカニズム解明を目的とした。

まず、構造の異なる複数種の魚類由来 AFP についてその細胞保護活性を定量的に評価したところ、いずれの AFP も濃度依存的に細胞死を抑制し、4℃、24 時間の条件下において、最大で約 80% 生存率が向上した。次に、4℃での細胞挙動を 24 時間のタイムラプス観察により解析した結果、AFP 存在下では細胞接着の剥離や細胞膨張といった、低温で細胞が受けるダメージの進行が遅延し、細胞死が抑制されることが分かった。さらに、共焦点顕微鏡および超解像顕微鏡 (3D-SIM) を用いて AFP の細胞内外での局在を解析したところ、AFP は細胞膜全体に均一に分布するのではなく、特定の膜領域および細胞内小器官周辺に局在することが明らかとなった (Fig. 1)。本発表では AFP の細胞内外での局在と、その細胞保護作用との関連性について議論する。

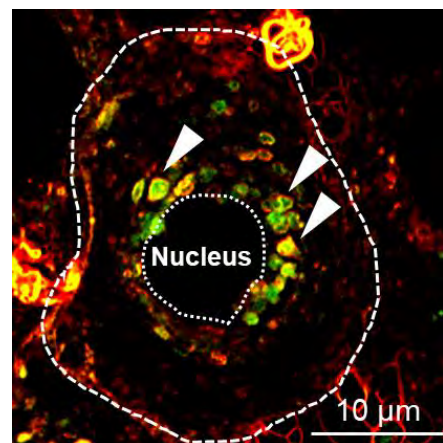


Figure 1. Confocal microscopy image of fluorescently labeled AFP in A549 cells. AFP were visualized green, and membrane was stained red.

【参考文献】

[1] Rubinsky et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, (1992) 566-5712)

[2] Kamijima et al., *PLoS One.*, (2013), 17;8(9): e73643

[3] Yang et al., *Biochem Biophys Res Commun.*, (2023), 682:343-348.

[ポスター]

Coiled-coil ペプチドアナログによる定常期における大腸菌増殖効果の機構解明

氏名：○立井龍太郎¹、上野康大¹、布川優奈¹、鎌田瑠泉^{1,2}、坂口和靖^{1,2*}、中川夏美^{1,2*}所属：¹北海道大学・大学院総合化学院・総合化学専攻・生物化学研究室、²北海道大学・大学院理学研究院・化学部門・生物化学研究室

【要旨】

大腸菌は、腸内細菌叢を構成する重要な通性嫌気性細菌であり、人体において重要な役割を果たす一方で様々な感染症の原因となる。このため、大腸菌の増殖機構を理解し制御することは、基礎科学の観点はもちろん健康や疾患においても極めて重要であり、そのメカニズムの解明が強く求められている。大腸菌の増殖過程は、誘導期、対数増殖期、定常期、死滅期からなる。特に対数増殖期から定常期にかけて、 σ 因子のひとつである σ^{38} が発現し様々なストレス応答に関与する遺伝子の転写が促進される。

Coiled-coil (CC) は、その配列と高次構造の研究が進んでおり、緻密なナノ構造を形成するための分子ツールとして幅広く使用されている。当研究室においても、D-LヘテロキラルCCヘテロダイマー形成 [1]、CCによる多量体化を介したバイオミネラル化制御に関する研究を実施しており [2]、非常に興味深い結果を報告している。

今回、CCペプチドアナログによる大腸菌の定常期における増殖促進効果について報告する。

本研究において、酵母転写因子GCN-4由来のCCペプチドのMonomer (CC(Mono))、Dimer (CC(Di))、Trimer (CC(Tri)) を用いた。これらのペプチドを大腸菌に対し添加した結果、濃度依存的に大腸菌の定常期における増殖が促進された。CC(Mono)は、CC(Di)およびCC(Tri)よりも高い活性を示した。さらに、コロニー形成アッセイによる大腸菌の生存菌体数の定量を行い、CC(Mono)の添加により顕著に生存菌体数が増加することが示された。蛍光ラベルCC(Mono)を用いた解析により、CC(Mono)が大腸菌細胞膜全体あるいは細胞内部に局在することが示された。また、CC(Mono)添加条件下の対数増殖期にある大腸菌の形態を観察した結果、サイズの小さい大腸菌が多く観察され、CC(Mono)が対数増殖期における大腸菌細胞の分裂に影響を与えることが示唆された。さらに、Western Blottingにより、CC(Mono)を大腸菌に添加するとより早期かつ強い σ^{38} の発現が誘導されることが明らかになった。この結果より、CC(Mono)が特異的な σ 因子を介して定常期の細胞増殖を制御していることが示唆された (図1)。さらに、CC(Mono)と相互作用するタンパク質を同定するため、pull-down assayを実施し、nLC-MS/MS解析により候補となる相互作用タンパク質を同定した。

本研究は、真核生物由来ペプチド断片が原核生物の高密度増殖と競争優位性を促す可能性を示唆する。本研究により大腸菌細胞増殖能を有するCC(Mono)の作用機序が明らかになることで、大腸菌をはじめとした原核生物の増殖制御が可能となり、腸内細菌叢の動態の最適化につながることを期待される。

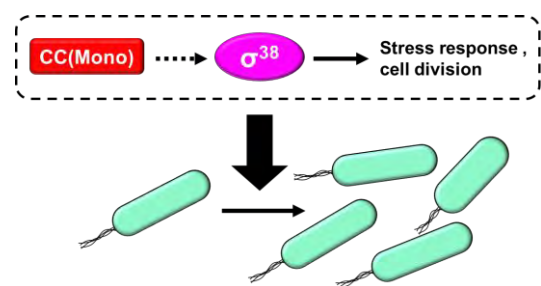


図1 CC(Mono)による σ^{38} を介した大腸菌の増殖制御

【参考文献】

- 1) T. Sakaguchi, N. Nakagawa, K. Mine, J. I. B. Janairo, R. Kamada, J. G. Omichinski, and K. Sakaguchi. (2023) Biomimetics, 8, 606.
- 2) R. Kamada, N. Nakagawa, T. Oyama, and K. Sakaguchi. (2017) J. Pept. Sci., 23, 644-649,

Investigating a New Role of Liquid-Liquid Phase Separation in Selective Autophagy

氏名：○Wang Pingping¹, Eigo Takeda¹, Yuko Fujioka¹, Nobuo Noda^{1,2}

所属：¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・生命分子機構分野,²微生物化学研究所・構造生物学研究部

【要旨】

Autophagy is a vital process for maintaining cellular homeostasis by removing damaged or excess cellular components. Selective autophagy enables the precise recognition of specific targets, such as protein aggregates and dysfunctional organelles, through cargo receptors including Atg19, p62, and NDP52 (Zaffagnini & Martens, 2016).

Liquid-liquid phase separation (LLPS), a mechanism by which weak molecular interactions form membrane-less compartments within cells, has recently emerged as a key player in cellular spatial organization, protein homeostasis, and selective autophagy. These characteristics of LLPS may be important for selective autophagy processes that collect and transport soluble cargo. However, the role of LLPS in selective autophagy of soluble cargo is not well understood. Atg19 is a key receptor in yeast selective autophagy and is known to recognize Ape1, a selective autophagy cargo that forms condensates via LLPS in *Saccharomyces cerevisiae* (Yamasaki et al., 2016, 2020). Ape4 shares structural similarity with Ape1 but lacks the propeptide required for LLPS of Ape1 and therefore does not form condensates. Although Ape4 is also a selective autophagy cargo that depends on Atg19 (Yuga et al., 2011), the details of its recognition and potential involvement in LLPS are unclear.

In this study, we investigate how Atg19 selectively recognizes the soluble cargo Ape4, determine whether their interaction involves LLPS, and elucidate a new role for LLPS in selective autophagy.

【参考文献】

- 1) Zaffagnini G., and Martens S. (2016) *J. Mol. Biol.*, 428, 1714–1724.
- 2) Yamasaki A., Watanabe Y., Adachi W., et al. (2016) *Cell Rep.*, 16, 19–27.
- 3) Yamasaki A., Alam J. Md., Noshiro D., et al. (2020) *Mol. Cell*, 77, 1163–1175.e9.
- 4) Yuga M., Gomi K., Klionsky D. J., et al. (2011) *J. Biol. Chem.*, 286, 13704–13713.

[ポスター]

炎症性腸疾患における炎症促進性好中球 NTSC の機能解析

氏名：○岩城皓大¹、相川綾音¹、児玉達哉¹、川村慧¹、工藤風樹¹、坂口和靖^{1,2}、鎌田瑠泉^{2,3}

所属：¹ 北海道大学・大学院総合化学院・生物化学研究室

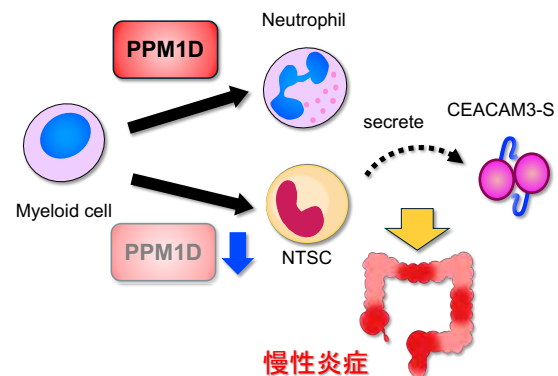
² 北海道大学・大学院理学研究院・化学部門・生物化学研究室

³ 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科（薬学系）・機能性分子化学分野

【要旨】

炎症性腸疾患は消化管内における慢性的な炎症を特徴とする疾患であり、潰瘍性大腸炎とクローン病に大別される。その発症要因として遺伝的要因や環境的要因以外にも、腸内細菌叢の変化や免疫異常が見られることが知られている一方で、その詳細な発症メカニズムは未解明であり、解明が強く求められている。近年、炎症性腸疾患の患者では、健常者と比較して Ser/Thr ホスファターゼ PPM1D の発現量が減少していることが報告され、PPM1D が炎症性腸疾患の新規治療法開発及び病因解明の標的として注目されている。PPM1D は p53 誘導性のタンパク質であり、細胞分化や免疫応答など、様々な細胞内イベントに関与していることが知られている [1,2]。当研究室では、PPM1D の阻害により T 細胞の増殖を抑制する機能を有した Neutrophil-derived T cell Suppressive Cells (NTSC) への分化が誘導されることを見出している。また NTSC において、好中球の貪食に関与する膜タンパク質である CEACAM3 が、選択的スプライシングにより膜貫通ドメインを持たない分泌型の CEACAM3-S を発現していることを明らかにしている。

今回、PPM1D 阻害時に分化が誘導される NTSC と、NTSC が分泌する CEACAM3-S の機能について報告する。まず、PPM1D 阻害剤 SL-176 による PPM1D 阻害により分化が誘導された NTSC に対して、貪食能を解析した。EGFP 発現大腸菌に対する貪食については、通常的好中球と比較して NTSC では貪食能が上昇していた。一方で、オプソニン依存的な貪食能は NTSC で低下している傾向が見られた。好中球の貪食に対する CEACAM3-S の効果についても同様に解析した結果、CEACAM3-S の添加による貪食能の変化はほとんど見られなかった。さらに興味深いことに、CEACAM3-S は、大腸菌の増殖を促進する機能を有していることが明らかとなった。次に、好中球の炎症性サイトカイン産生に CEACAM3-S が与える効果について解析した結果、CEACAM3-S の投与濃度依存的に炎症性サイトカインの発現量が上昇する結果が得られた。さらに、NTSC において LPS 刺激に応答した炎症性サイトカイン産生量が大きく亢進していることを見出した。



以上の結果から、NTSC と CEACAM3-S が免疫細胞の異常な活性化を誘導し、炎症性腸疾患などの慢性炎症を促進している可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Kamada R., Kudoh F., Ito S., Tani I., J. I. B. Janairo, J. G. Omichinski, and Sakaguchi K. (2020), *Pharmacology & Therapeutics*, 215, 107622.
- 2) Kamada R., Kudoh F., Yoshimura F., Tanino K., and Sakaguchi K. (2017), *The Journal of Biochemistry*, 162, 303-308.

[ポスター]

in vitro 再構成系による GEF-H1 の微小管結合メカニズムの解析

氏名: ○近藤龍樹¹、西村有香子¹、神原丈敏²、栗林-繁富香織³、岡田康志^{2,4,5}、茂木文夫¹

所属: ¹北海道大学・遺伝子病制御研究所・発生生理学分野、²理研・生命機能科学研究センター、

³北海道大学・大学院教育推進機構、⁴東京大学・理学部、⁵東京大学・医学部

【要旨】

方向性を持った細胞移動は創傷治癒やがん細胞の浸潤・転移といった生理学的なプロセスにおいて重要な役割を果たす。移動している細胞はリーディングエッジの伸長と退縮を規則的に繰り返す。この伸長と退縮にはアクチン細胞骨格のダイナミックな制御が必要であり、その制御には微小管が重要な働きを行っていると考えられている¹⁻²。アクチン細胞骨格と微小管の連携には微小管結合因子である GEF-H1 が関与する。GEF-H1 は、低分子量 GTPase RhoA を GDP 型から GTP 型に交換することでアクチン骨格の再編成と収縮を促進し、微小管に結合すると RhoA 制御能力を失うことから、アクチン細胞骨格—微小管のクロストークで中心的役割を担う³⁻⁴。しかし、活性化型 GEF-H1 によるアクチン細胞骨格制御と、微小管への結合による不活化が、細胞内で時間的・空間的に連携している機構は未だ十分に理解されていない。

今回、我々は GEF-H1 による RhoA の活性化が、GEF-H1 の微小管結合親和性を高めることを見出した(図 1)。まず、昆虫細胞から GFP 標識 GEF-H1 を精製し、GFP-GEF-H1 と微小管との結合性を全反射照明顕微鏡下で一分子計測する実験系を確立した。この *in vitro* 再構成系において、GFP-GEF-H1 に GDP 型 RhoA と GTP を加えたところ、GFP-GEF-H1 の微小管上における蛍光輝度および分子数がコントロール条件と比較して顕著に増加した。この結果は、RhoA を GDP 型から GTP 型に交換した GEF-H1 は微小管への結合親和性が向上して RhoA 制御能力を失うという、負のフィードバック制御機構の存在を支持する。GEF-H1 はこの負のフィードバック機構により、RhoA—アクチン細胞骨格の活性を時空間的に制御し、リーディングエッジにおけるダイナミックな伸長と退縮のサイクルを駆動していると示唆される。

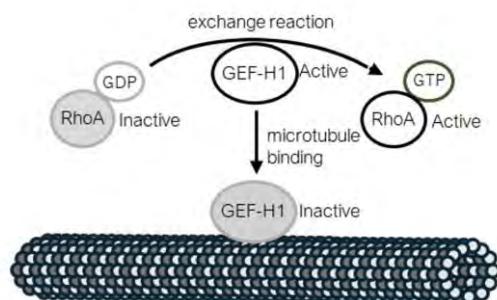


図 1. GEF-H1 の微小管結合能力は、自身による RhoA の GDP-GTP 交換反応によって増強される

【参考文献】

- 1) Dogterom, M., Koenderink, G.H. *Nat Rev Mol Cell Biol* **20**, 38-54 (2019).
- 2) Seetharaman, Shailaja et al. *Trends in Cell Biology*, Volume 30, Issue 9, 720 - 735 (2020).
- 3) Krendel, M., Zenke, F. T. & Bokoch, G. M. *Nat Cell Biol* **4**, 294-301 (2002).
- 4) Rafiq, N.B.M., Nishimura, Y., Plotnikov, S.V. et al. *Nat. Mater.* **18**, 638-649 (2019).

[ポスター]

セレンテラジンを硫酸エステル化するホタルイカ由来の硫酸転移酵素の特定

氏名：Nowshin Farjana^{1,2}、三谷 恭雄³、加藤 創一郎^{1,2}、○蟹江 秀星¹所属：¹産業技術総合研究所・バイオものづくり研究センター、²北海道大学大学院・農学院³産業技術総合研究所・モレキュラーバイオシステム研究部門

【要旨】

富山湾の春の味覚として知られるホタルイカは青く輝く光を放つ発光生物である。ホタルイカの発光は化学反応に起因しており、その化学反応にはセレンテラジン (CTZ) の 2 つのフェノール性ヒドロキシ基が硫酸エステル化された化合物 (CTZ 2,6-SO₃H) が利用されている (図 1)¹。CTZ は多様な海洋生物のエサとなる海洋性プランクトンによって生合成されることが知られており、ホタルイカを含む様々な海洋生物から CTZ が検出されている²。その一方で CTZ の硫酸エステル体である CTZ 2,6-SO₃H の存在が報告されているのはホタルイカに限られている。加えて、これまでに海洋生物からは CTZ のフェノール性ヒドロキシ基を硫酸エステル化する酵素の報告はなく、ホタルイカが CTZ から CTZ 2,6-SO₃H を生合成しているかは明らかでない。そこで本研究では、「ホタルイカに CTZ のフェノール性ヒドロキシ基を硫酸エステル化する酵素が存在するのか」という点を明らかにすることを目的とした³。

はじめに CTZ 2,6-SO₃H が局在するホタルイカの腕発光器の RNA-seq 解析を実施したところ、硫酸転移酵素としてアノテーションされ、高発現していると考えられる遺伝子を見出した。次にその遺伝子を組み込んだプラスミドを大腸菌に導入し、His タグ付きタンパク質として発現を試みたところ、アミノ酸配列から推定される分子量に一致するタンパク質の発現に成功した。続いて得られた組換えタンパク質に CTZ と硫酸転移酵素の補酵素として知られる 3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸 (PAPS) を加え、得られた生成物をフォトダイオードアレイ検出器が付属した超高速液体クロマトグラフ質量分析装置 (UPLC-PDA-MS) を用いて分析したところ、CTZ のフェノール性ヒドロキシ基の 1 つが硫酸エステル化された CTZ 2-SO₃H が生成していることを明らかにした (図 1)。ただし、CTZ 2,6-SO₃H の生成については確認することができなかった。本研究で特定した硫酸転移酵素がホタルイカ体内での CTZ 2,6-SO₃H の生合成に関わっているか否かについてはさらなる検討が必要であるものの、今回得られた結果はホタルイカが CTZ から CTZ 2,6-SO₃H を生合成する能力を有する可能性を示唆している。

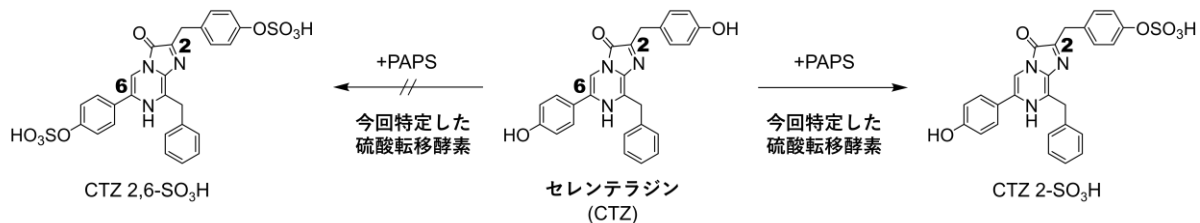


図 1. 本研究で特定した硫酸転移酵素を用いた CTZ の硫酸エステル化反応の結果

【参考文献】

- 1) Shimomura, O., Yampolsky, I. V. (2019) Bioluminescence: Chemical Principles and Methods, 3rd ed.; World Scientific: Hackensack, NJ, USA.
- 2) Duchatelet L., Dupont S. (2025) Mar. Life Sci. Technol., 7, 366-381.
- 3) Farjana N., Mitani Y., Kato S., Kanie S. (2025) Biochem. Biophys. Res. Commun., 152215.

[ポスター]

分裂期の PML タンパク質関連構造体の構成因子解析

氏名：○小原大暉¹、中川真一²、栗原美寿々²

所属：¹北海道大学・大学院生命科学院 RNA 生物学研究室

²北海道大学・大学院薬学研究院 RNA 生物学研究室

【要旨】

細胞内には、膜を持たない「非膜オルガネラ」が多数存在し、特定の生化学反応を促進する場として生命現象において重要な役割を担っている。その一つである PML (Promyelocytic leukemia) body は、PML タンパク質によって形成される非膜オルガネラであり、転写制御や細胞老化、がん抑制などに関与することが知られている。しかし、これらの機能の多くは細胞周期の間期における解析で明らかになったものであり、分裂期における PML body の機能は未だ不明な点が多い。PML タンパク質は細胞周期を通じて構造体を形成するが、その性状は大きく異なる。間期では核内に安定した球状の「PML body」として存在するのに対し、分裂期には MAPP (Mitotic Accumulations of PML Proteins) と呼ばれる、よりダイナミックで不均一な形状の構造体を形成する。また、生細胞タイムラプス観察により、MAPP は分裂の進行に伴い非常にダイナミックな挙動を示すことが明らかとなった。

本研究では、この分裂期特異的な MAPP の動態や性状変化を駆動する分子メカニズムを解明するため、MAPP の構成因子を網羅的に同定した。近接ラベリング酵素の一つである APEX2 を PML に融合させた PML-APEX2 安定発現細胞株を用いて PML タンパク質近位の分子について探索を行った。M 期と S 期のそれぞれで APEX 反応を行い、PML 近傍に存在するタンパク質をビオチンで標識した。その後、ストレプトアビジンビーズでビオチン化タンパク質を濃縮し、質量分析 (MS) によって同定した。

候補因子の中から約 40 種類のタンパク質について局在解析を行った結果、Stam2 及び Snx3 が、MAPP と共局在することを見出した。Stam2 はエンドソームソーティング複合体 ESCRT-0 のサブユニットであり、Snx3 はエンドソーム輸送に関わる Sorting Nexin ファミリータンパク質である。この共局在は分裂期に特異的であり、間期の細胞ではほとんど見られなかった。さらに APEX-MS のデータを詳細に解析したところ、Stam/Snx ファミリーに属する他の複数のタンパク質も分裂期の MAPP に濃縮されていることが分かった。

この結果は、これまで機能未知の構造体であった MAPP が、エンドサイトーシスやエンドソームの制御といった細胞機能に関与している可能性を示唆するものである。

【参考文献】

- 1) Graham Dellaire et al. J Cell Sci (2006) 119 (6): 1034–1042.
- 2) Anna Lång et al. Cells. 2019 Aug 14;8(8):893.