

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 物理刺激で制御される膜蛋白質の分子機構の解明

東京大学・大学院理学系研究科・教授 ぬれき おさむ
瀧木 理

研究課題番号：16H06294 研究者番号：10272460

研究分野：構造生物学

キーワード：チャンネル, 物理刺激, X線結晶構造解析, クライオ電子顕微鏡, XFEL

【研究の背景・目的】

これまで化学センサーとして働くチャンネル・トランスポーターに関する研究を推進してきたが、本研究ではこれらの成果・技術基盤を踏まえた上で、主に**物理刺激で開閉が制御されるイオン輸送体**に焦点を絞り、物理センサーの構造と機能の相関を原子分解能レベルで明らかにする。生物は、光、熱、音（機械刺激、重力）などの物理的刺激を感覚として受容し、これらを量子力学的あるいは（熱）力学的に膜輸送体によるイオン輸送に変換し、神経細胞を興奮させ、適切な行動をとる。しかしながら、これらの物理的刺激がイオン輸送体を活性化するメカニズムに関しては、今なおほとんどわかっていない。我々は、光を感受するロドプシンファミリータンパク質、熱を感受する TRP チャンネル、音を感受する TMC および Prestin タンパク質（電位感受性モーター）に焦点を当てて構造機能研究を進めており、これらを推進発展させ、物理センサーの分子機構を原子分解能レベルで解明する。

【研究の方法】

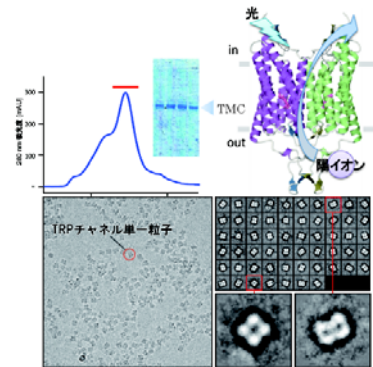
本研究の遂行のために、これまで以上の革新的技術を取り入れ、X線結晶構造解析、X線自由電子レーザー、クライオ電子顕微鏡単粒子解析など最先端の構造解析法を駆使し、これに MD シミュレーション、電子スピン共鳴 (ESR) 解析、1 分子 FRET、原子間力顕微鏡などのダイナミクス解析を統合して、様々な角度から構造・動態と機能の相関を明らかにする。さらに、遺伝学解析、電気生理学的解析、リポソームを用いた生化学的解析などの相補的な機能解析により、構造と機能の相関を解明して行く。



図 1. 構造解析の戦略

【期待される成果と意義】

本研究では、各物理センサー膜タンパク質に関して、従来の X 線結晶構造解析に加えて、ロドプシンファミリータンパク質については XFEL を用いたポンプ・プローブ法により時分割の構造解析を、分子量の大きな TRP チャンネル、TMC およびプレスティンタンパク質に関してはクライオ電子顕微鏡を用いた構造解析を行い、ダイナミクスの情報を得るとともに、構造に基づいた分子動力学シミュレーションによる状態遷移のダイナミクスの予測を行い、*in vitro*、*vivo* での機能解析により機能的な検証を行う。また ESR、1 分子 FRET、原子間力顕微鏡を用いたダイナミクス解析を共同研究で行うことで、統括的に**分子構造動態に基づき物理刺激が膜輸送体を活性化するメカニズムの全貌解明**に迫る。



【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- H. E. Kato, K. Inoue, R. Abe-Yoshizumi, Y. Kato, H. Ono, M. Konno, T. Ishizuka, M. R. Hoque, S. Hososhima, H. Kunitomo, J. Ito, S. Yoshizawa, K. Yamashita, M. Takemoto, T. Nishizawa, R. Taniguchi, K. Kogure, A. D. Maturana, Y. Iino, H. Yawo, R. Ishitani, H. Kandori and O. Nureki “Structural basis for Na⁺ transport mechanism by a light-driven Na⁺ pump” *Nature* **521**, 48-53 (2015)
- H. E. Kato, F. Zhang, O. Yizhar, C. Ramakrishnan, T. Nishizawa, K. Hirata, J. Ito, Y. Aita, T. Tsukazaki, S. Hayashi, P. Hegemann, A. D. Maturana, R. Ishitani, K. Deisseroth and O. Nureki “Crystal structure of the channelrhodopsin light-gated cation channel” *Nature* **482**, 369-374 (2012).

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度－32 年度
433,300 千円

【ホームページ等】

<http://www.nurekilab.net/>
nureki@bs.s.u-tokyo.ac.jp



研究課題名 制御性 T 細胞による免疫応答制御の包括的研究

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授

さかぐち しもん
坂口 志文

研究課題番号：16H06295 研究者番号：30280770

研究分野：医歯薬学

キーワード：免疫寛容・自己免疫、免疫監視・腫瘍免疫、免疫制御・移植免疫

【研究の背景・目的】

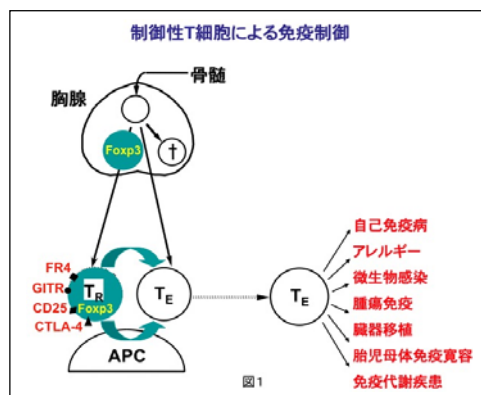
本研究では、免疫自己寛容、免疫恒常性の確立と維持に不可欠である内在性制御性 T 細胞 (Regulatory T cells、以下 Treg と略) による抑制的免疫制御、特に Treg による免疫抑制機構および Treg の発生・分化・増殖機構の分子的基础を明らかにし、ヒト Treg の機能操作による病的および生理的免疫応答制御の基礎を確立する。

正常個体中に存在する内在性 Treg は、異常・過剰な免疫反応の抑制に特化した T 細胞群であり、免疫自己寛容、免疫恒常性の維持に中心的役割を果たしている。その異常は、自己免疫病、アレルギー、炎症性腸炎などの直接的原因となる。また、妊娠の継続を可能とする胎児母体免疫寛容の維持、炎症を伴う様々な慢性疾患 (例えば動脈硬化症) の炎症抑制にも寄与しているとの知見が集積している (図 1)。内在性 Treg の大部分は、他の T 細胞と異なり、正常胸腺で抑制機能に特化した細胞群として機能的に成熟した状態で産生される。Treg 特異的に発現する転写因子 Foxp3 は、その発現のみによって正常 T 細胞に Treg 機能を付与でき、Treg 機能のマスター制御分子である。本研究の目的は、Treg をモデルとした細胞系譜決定機構の分子的基础の解明、Treg による免疫抑制機能の分子的基础の解明にある。

【研究の方法】

Treg の細胞系譜の成立と機能維持には、Foxp3 を含む Treg 特異的遺伝子の発現と、Treg 特異的エピゲノム変化が必要である。

まず、胸腺での各 Treg 発生段階で、Treg 特異的 DNA 脱メチル化パターン、各種ヒストン修飾、オープンクロマチンの分布、遺伝子発現の差異を Treg ゲノム全体で解析する。特に、T 細胞抗原レセプターを介する刺激が、Foxp3 を含む Treg 特異的遺伝子の転写とエピゲノム変化を誘導するメカニズム



を Treg 特異的スーパーエンハンサーの活性化を中心に解析する。TGF-β 存在下、通常 T 細胞を抗原刺激すれば Foxp3 陽性 T 細胞を誘導できるが、このような誘導型 Treg の機能は不安定であるため、Treg 特異的エピゲノムの誘導メカニズムを応用して機能的な安定な誘導型 Treg の誘導機構を解明する。さらに、Treg 抑制機能の分子的基础に加えて、Treg による抑制下にある T 細胞の細胞運命について、後者のゲノム全体での遺伝子発現、エピゲノム変化パターンを中心に解析する。

【期待される成果と意義】

この研究の期待される成果は、免疫寛容、免疫抑制機構の基礎的理解と、それに基づく新しい免疫制御法の開発である。例えば、内在性 Treg を標的とし、その量的あるいは機能的減弱を図ることで、癌、病原微生物に対する新しい免疫賦活法の開発につながる。また、内在性 Treg の抗原特異的増殖、あるいは抗原特異的な通常 T 細胞に Treg 特異的トランスクリプトーム (特に Foxp3 発現) と Treg 特異的エピゲノムを成立させ、機能的に安定な Treg を作製できれば、自己免疫疾患や臓器移植時の拒絶反応に対し革新的な治療法を提供できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Maeda Y, et al. Detection of self-reactive CD8⁺ T cells with an anergic phenotype in healthy individuals. *Science*. 346:1536-1540, 2014.
- Ito Y, et al. Detection of T-cell responses to a ubiquitous cellular protein in autoimmune disease. *Science*. 346:363-368, 2014.
- Saito T, et al. Two FOXP3⁺CD4⁺ T-cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers. *Nature Med*. 22: 679-684, 2016.

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
411,500 千円

【ホームページ等】

<http://exp.immunol.ifrec.osaka-u.ac.jp/>
shimon@ifrec.osaka-u.ac.jp

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 作物のミネラル輸送システムの統合解析

岡山大学・資源植物科学研究所・教授

ま けんぼう
馬 建 鋒

研究課題番号：16H06296 研究者番号：80260389

研究分野：植物栄養生理学

キーワード：ミネラル、輸送体、結晶構造、モデリング、作物

【研究の背景・目的】

植物が生きていくためには、土壌から生育に欠かせない14種類の必須ミネラルを吸収し、根から地上部に転流した後、各器官へ過不足なく分配する必要がある。一方、植物は土壌中の有害なミネラルも吸収してしまい、食物連鎖を経て我々の健康に甚大な影響を与える。カドミウムによるイタイイタイ病やヒ素の慢性中毒はその典型的な例である。したがって、植物におけるミネラル輸送システムの理解は作物の生産性の向上だけでなく、作物の安全性を高めるためにも非常に重要な課題である。本研究は作物(主にイネとソバ)におけるミネラルの吸収、転流、分配及び再分配などに必要な様々な輸送体(トランスポーター)を同定し、それらの輸送体の機能と構造を明らかにすることを目的としている。またこれらの知見に基づいて数理モデルによる個体レベルの輸送システムの統合的解明を目指す。

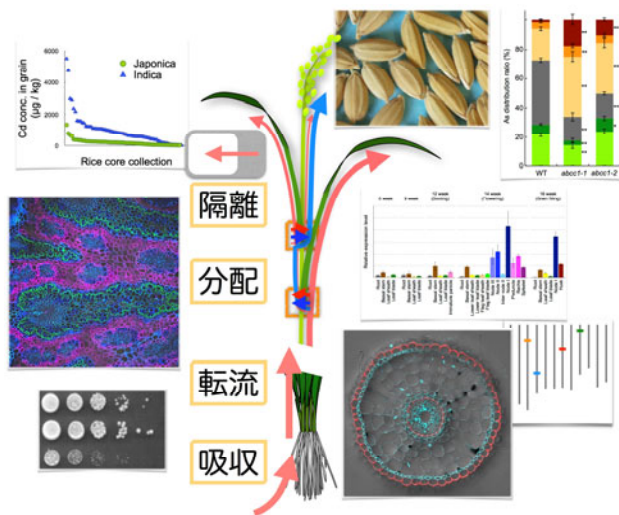


図1 土壌から種子までのミネラルの輸送過程

【研究の方法】

本研究では、生理学、遺伝学、分子生物学、生化学、結晶構造解析、数理モデルなど多彩な手法を駆使し、ミネラル集積の品種間差や突然変異体などを用いて、吸収、転流、分配及び再分配にかかわる各種ミネラルの新規輸送体を単離する。また遺伝子の発現パターンや輸送体の組織・細胞・細胞内局在などを調べ、これら輸送体の機能とミネラル輸送における役割について遺伝子破壊株などを用いて解明す

る。ミネラルの欠乏や過剰に対するミネラル輸送体の応答を遺伝子レベルおよびタンパク質レベルで調べ、ミネラル輸送体の制御機構を解明する。さらにミネラル輸送体を培養細胞などに大量発現し、精製・結晶化してX線結晶構造解析によって輸送体の構造を原子レベルで明らかにする。得られた結晶構造に基づいて変異導入と機能解析を行い、輸送体が輸送基質を特異的に認識して輸送する機構を解明する。最終的に得られた実験情報に基づいて輸送システムの数理モデルを構築し、ミネラル輸送システムの統合的理解を目指す。

【期待される成果と意義】

これまでにモデル植物の研究から、多数のミネラル輸送体が単離/推定されているが、それらの具体的な機能や役割が解明された例は依然として少ない。また植物の種類によって養分の要求性やミネラル耐性などは大きく異なり、本研究が研究対象とする作物がモデル植物と異なる輸送システムや制御機構を持っている可能性もある。本研究で得られる成果は様々な新規ミネラル輸送体の同定、これまでに知られていないミネラル輸送機構の統合的解明に貢献するだけでなく、ミネラルストレス耐性作物の作出、安全性の高い有害ミネラルフリー作物の作出、養分利用効率の高い作物の作出などにも寄与する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Yamaji, N., Sakurai, G., Mitani-Ueno, N. and Ma, J. F. 2015. Orchestration of three transporters and distinct vascular structures in node for intervascular transfer of silicon in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:11401-11406
- Clemens, S. and Ma, J. F. 2016. Toxic Heavy Metal and Metalloid Accumulation in Crop Plants and Foods. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67: 489-512

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
412,500千円

【ホームページ等】

<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/plant.stress/index-j.html>