

## 二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月17日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]  
国立大学法人東北大学・大学院生命科学研究科  
[職・氏名]  
教授・田中良和  
[課題番号]  
JPJSBP 120209905

1. 事業名 相手国: ウクライナ (振興会対応機関: OP)との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 放線菌の抗生物質産生を制御する転写因子 LanK の構造生物学的研究

(英文) Structural biology of LanK, a transcriptional factor involved in antibiotic production by Streptomyces

3. 共同研究実施期間 令和2年 4月 1日 ~ 令和5年 3月 31日 (3年 0ヶ月)【延長前】 令和2年 4月 1日 ~ 令和4年 3月 31日 (2年 0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Ivan Franko National University of Lviv · Professor · Ostash Bohdan

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額	3,800,000 円
内訳	
1年度目執行経費	1,900,000 円
2年度目執行経費	1,900,000 円
3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	16名
相手国側参加者等	5名

\* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	0	0	(0)
2年度目	0	0	(0)
3年度目	0	0	1(0)

\* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。  
受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

## 8. 研究交流の概要・成果等

### (1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

本研究では、抗がん作用を有することからがん治療への応用が期待されているランドマイシンの合成を調節する転写因子 LanK に着目し、そのリガンド認識機構を明らかにすることを目指した。

LanK と LaA 複合体の結晶を作成し、大型放射光施設にて X 線回折データを収集した。プログラム XDS を用いたデータ処理により 2.9 Å 分解能のデータを得ることができ、分子置換法によりその構造を決定できた。非対称単位中に含まれる 4 分子の LanK が合計 3 分子の LaA を結合している様子が確認でき、リガンド結合による LanK の構造変化についての知見を得ることができた。一連の構造解析の過程は、オンラインミーティングを介して Ostash 研究室の学生へと伝達することができた。また、EMSA 解析、ドッキングシミュレーションによりリガンドの結合様式についてのさらに詳細な情報を得ることができた。さらに、構造情報に基づき 23 残基に関する 1 残基変異体を作成し、それらの DNA 結合特性の解析を行った。ランドマイシン A およびその類縁体の存在下および非存在下での挙動の違いから、ランドマイシン A およびその類縁体の結合と DNA 結合の相関に関する知見を得た。前年度までに決定した立体構造情報とコンピュータシミュレーションの結果を総括し、LanK によるランドマイシンの結合および DNA 結合活性についての詳細な知見を得た。これらの結果をまとめ、FEBS Journal 誌に発表した(Tsugita, A., Uehara, S., Matsui, T., Yokoyama, T., Ostash, I., Deneka, M., Yalamanchili, S., Bennett, C. S., Tanaka, Y., and Ostash, B. The carbohydrate tail of landomycin A is responsible for its interaction with the repressor protein LanK. *The FEBS J.*, 289, 6038-6057 (2022))。

### (2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

ランドマイシン A との複合体の立体構造解析と変異体解析により、LanK がランドマイシンの糖鎖部分を深い基質認識ポケットで結合し、それにともないヘリックス 6 の顕著な構造変化が引き起こされ、それにより DNA 結合ドメインの相対配置が大きく変化することで DNA がリリースされるという分子機構を明らかにした。LanK が、アグリコン部分ではなく、糖鎖部分を認識する前例のないタイプの TetR ファミリータンパク質であることがわかった。また、一連の代謝の最終産物であるランドマイシン A のもつ長い糖鎖を深いポケットで認識することで、短い糖鎖しかもたない反応経路の中間産物と区別するという興味深い分子機構が明らかになった。

### (3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

交流実績については、当該研究室が関係する 2 つの二国間交流事業(日本-ウクライナおよび日本-タイの共同研究)に立脚した 3 カ国間の国際シンポジウムを開催し、3 つの研究機関の間で交流をすることができた。各研究室から合計 8 名の研究者(大学院生 3 名を含む)が口頭発表し、活発な議論が行われた。3 カ国間の国際シンポジウムの開催は申請時には計画されていなかった活動であり、コロナ禍でオンライン会議の環境が整備されたことにより実現した、副次的な国際交流の成果であるといえる。2022 年度には、戦時下で研究を実施できないリヴィウ大学から大学院生 1 名(Vasylyna-Marta Tseduliak)を受け入れた。タンパク質精製と立体構造解析についての技術提供を行なった。また、2023 年 3 月には、国際シンポジウム「AMED e-ASIA / JSPS KAKENHI / JSPS Bilateral Programs / TIA KAKEHASHI Joint Symposium」を北海道大学にて開催し、本プロジェクトに参画する 2 名の大学院生(次田、Tseduliak)が発表した。コロナウイルス拡大およびロシアとの戦争で共同研究が思うように進まぬ中、日本にて対面で両国の大学院生が交流して研究を進めることができたことは、非常に大きな成果であると考えている。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

本国際共同研究は、戦時下のウクライナの研究活動をささえる国際的社会貢献として、3件の新聞報道がなされた(2022年2月26日 毎日新聞、2022年5月7日 読売新聞、2023年2月26日 読売新聞)。また、受け入れ研究者の Tseduliak は、仙台市立八木山小学校にて講演し、現在のウクライナの状況について紹介した。この講演会の様子は、1件のテレビ報道と2件の新聞報道がなされた(2023年2月28日 東北放送、2023年3月18日 読売新聞、2023年3月3日 河北新報)。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

リヴィウ大学から大学院生1名(Vasylyna-Marta Tseduliak)を受け入れ、両国間の大学院生同士が交流できたことは非常に大きな成果と考えている。研究を一緒に行うなかで、多くの学生の国際的な視野を広げることができたと確信している。微生物学を専門とする Tseduliak がタンパク質工学や構造生物学の技法を習得できた点も非常に大きな成果である。Tseduliak が構造生物学の地盤の乏しいウクライナに大きな波及効果をもたらすことを期待している。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

本研究により得られた放線菌の抗生物質産生の制御機構は、遺伝子発現のツールとして利用できる可能性がある。また、LanK の特殊なリガンド認識機構は、タンパク質-リガンド相互作用のデザインの一つのモデルとして応用される可能性がある。高度なタンパク質調製や立体構造解析技術が伝達されたことにより、これまでは全て日本側研究者が担当してきた一連の構造解析のうち、データ収集を日本の高度な測定機器を用いて行い、それ以外の部分をウクライナにて実施できることとなった。今後は、双方の長所に特化した形で共同研究を行うことができるようになるため、これまで以上に高い水準の国際連携ができるようになることを期待する。

(7)その他(上記(2)~(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

次田篤史 2021年度生物物理学会、北海道支部・東北支部合同例会 学生発表賞受賞