

領域略称名：新生鎖生物学

領域番号：3607

平成28年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「新生鎖の生物学」

(領域設定期間)

平成26年度～平成30年度

平成28年6月

領域代表者 (東京工業大学・科学技術創成研究院・教授・田口 英樹)

目 次

研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	7
2. 研究の進展状況	9
3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況	12
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	13
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	16
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	21
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	23
8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	24
9. 総括班評価者による評価	25
10. 今後の研究領域の推進方策	26

研究組織 (総括：総括班，支援：国際活動支援班，計画：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究，公募：公募研究)

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00 総括	26116001 新生鎖の生物学	平成26年度～ 平成30年度	田口 英樹	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授	5
Y00 支援	15K21743 「新生鎖の生物学」推進 のための国際連携	平成27年度～ 平成30年度	田口 英樹	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授	5
A01 計画	26116002 新生鎖フォールディング とシャペロン効果の 網羅解析	平成26年度～ 平成30年度	田口 英樹	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授	3
A01 計画	26116003 mRNA とタンパク質の 品質管理機構における 新生鎖の新規機能の解 明	平成26年度～ 平成30年度	稲田 利文	東北大学・薬学研究科・教授	3
A01 計画	26116004 tRNA リボソームプロ ファイリングの開発と 応用	平成26年度～ 平成30年度	田中 元雅	国立研究開発法人理化学研究所・脳 科学総合研究センター・チームリー ダー	1
A01 計画	26116005 新生鎖の立体構造を支 えるジスルフィド結合 形成システムの解明	平成26年度～ 平成30年度	稲葉 謙次	東北大学・多元物質科学研究所・教 授	2
A01 計画	26116006 mRNA の局在化に働く 新生鎖の機能解析	平成26年度～ 平成30年度	河野 憲二	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	2
A01 計画	26116007 新生鎖テイルアンカー 型タンパク質 (TA) の 輸送・膜挿入と品質管理	平成26年度～ 平成30年度	藤木 幸夫	九州大学・生体防御医学研究所・特 任教授	3
A01 計画	26116008 働く新生鎖の生理機能 と分子機構	平成26年度～ 平成30年度	千葉 志信	京都産業大学・総合生命科学部・准 教授	2
計画研究 計9件					
A01 公募	15H01525 シロイヌナズナ CGS1 遺伝子における翻訳停	平成27年度～ 平成28年度	内藤 哲	北海道大学・大学院農学研究院・教 授	2

	止と mRNA 分解機構の研究				
A01 公募	15H01527 1 分子計測による SecM の翻訳アレスト機構の解明	平成 27 年度～ 平成 28 年度	船津 高志	東京大学・大学院薬学系研究科・教授	2
A01 公募	15H01528 神経発生を司る mTOR シグナル伝達経路依存的新生鎖合成制御機構の解析	平成 27 年度～ 平成 28 年度	池内 与志穂	東京大学・生産技術研究所・講師	3
A01 公募	15H01530 ウイルス感染における蛋白質の品質管理制御とそれに基づく広域阻害剤の薬効効果	平成 27 年度～ 平成 28 年度	川口 寧	東京大学・医科学研究所・教授	4
A01 公募	15H01531 プロテアソームによる新生鎖分解の分子シャペロンによる制御	平成 27 年度～ 平成 28 年度	伊野部 智由	富山大学・先端ライフサイエンス拠点・特命助教	3
A01 公募	15H01532 ビブリオ菌における新生鎖機能を介したタンパク質膜透過の制御	平成 27 年度～ 平成 28 年度	秋山 芳展	京都大学・ウイルス研究所・教授	2
A01 公募	15H01534 新生鎖研究のためのリボソーム in vitro 人為選択技術の開発	平成 27 年度～ 平成 28 年度	市橋 伯一	大阪大学・情報科学研究科・准教授	1
A01 公募	15H01535 新生鎖合成と連動する葉緑体蛋白質包膜透過の分子メカニズムの解明	平成 27 年度～ 平成 28 年度	中井 正人	大阪大学・蛋白質研究所・准教授	1
A01 公募	15H01536 新生鎖の N 末端アセチル化を介したミトコンドリアの恒常性制御	平成 27 年度～ 平成 28 年度	岡本 浩二	大阪大学・生命機能研究科・准教授	2
A01 公募	15H01537 新生鎖タンパク質の膜組込み過程の構造生物	平成 27 年度～ 平成 28 年度	田中 良樹	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教	2

	化学				
A01 公募	15H01538 新生膜タンパク質のER 膜挿入・フォールディング に関わる変異体の解析	平成27年度～ 平成28年度	佐藤 明子	広島大学・大学院総合科学研究科・ 准教授	3
A01 公募	15H01539 ストレス依存的な小胞 体膜上での新生鎖品質 管理機構の解明	平成27年度～ 平成28年度	西頭 英起	宮崎大学・医学部・教授	4
A01 公募	15H01541 リボソームとトランス ロコンの協調による新 生鎖の膜組み込み機構 の解明	平成27年度～ 平成28年度	阪口 雅郎	兵庫県立大学大学院・生命理学研究 科・教授	1
A01 公募	15H01542 一時停止状態にある翻 訳の再開を保証する機 構の解明	平成27年度～ 平成28年度	吉久 徹	兵庫県立大学・大学院生命理学研究 科・教授	1
A01 公募	15H01543 mRNA ディスプレイ法 による翻訳アレスト配 列探索技術の開発	平成27年度～ 平成28年度	土居 信英	慶應義塾大学・理工学部・准教授	3
A01 公募	15H01545 新生鎖による小胞体レ ドックス制御ー新生鎖 による還元力の獲得	平成27年度～ 平成28年度	潮田 亮	京都産業大学・総合生命科学部・助 教	6
A01 公募	15H01546 N末端アレスト配列に よる巨大新生鎖の翻訳 速度調節	平成27年度～ 平成28年度	森戸 大介	京都産業大学・タンパク質動態研究 所・主任研究員	1
A01 公募	15H01547 新生鎖の翻訳およびフ ォールディングの実時 間測定系の開発	平成27年度～ 平成28年度	渡辺 洋平	甲南大学・理工学部・准教授	3
A01 公募	15H01548 ピコルナウイルスの2A ペプチドの終止コドン 非依存的翻訳終結の構 造基盤	平成27年度～ 平成28年度	伊藤 拓宏	国立研究開発法人理化学研究所・ラ イフサイエンス技術基盤研究センタ ー・ユニットリーダー	5

A01 公募	15H01549 ポリペプチド鎖合成に おけるレアコドンによ る正の折り畳み制御機 構の検討	平成27年度～ 平成28年度	鵜澤 尊規	国立研究開発法人理化学研究所・伊 藤ナノ医工学研究室・専任研究員	3
公募研究 計 20 件					

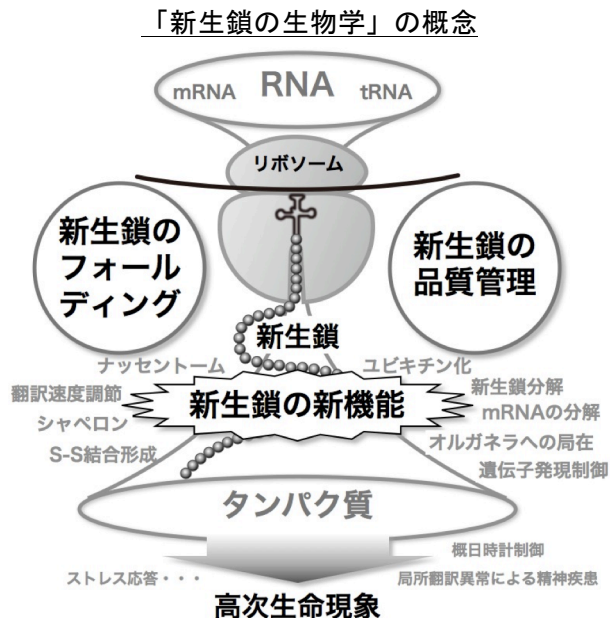
研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要（2ページ以内）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

① 学術的背景

正確な遺伝子発現は生命現象の根幹である。遺伝情報はリボソームによってアミノ酸配列に翻訳されるが、tRNA が付加した合成途上のポリペプチド鎖を新生鎖（nascent chains）と呼ぶ。数千から数万種におよぶ細胞内のタンパク質はいきなり完成するわけではなく、mRNA の情報がポリペプチド鎖へと変換される過程で、すべて翻訳途上の新生ポリペプチド鎖（新生鎖）の状態を経過する。従来、新生鎖はポリペプチド合成反応の単なる過渡的な中間体にすぎないと理解されてきたが、最近、新生鎖が自分自身の機能化や品質管理も含めて、細胞全体の生命現象の制御と調節に関わることが明らかになってきた。すなわち、これまで受動的な反応中間体と考えられていた新生鎖そのものが、リボソームをプラットフォームとして、ときには独自の機能を獲得し、積極的にさまざまな生命現象に関与するのである。さらに、新生鎖の成熟・品質管理機構の破綻が細胞の恒常性を攪乱し、さまざまな疾患の原因となっていることも明らかになりつつある。



② 目的

このように生命現象の根幹に関わる新生鎖の重要性が認識されはじめているものの、まだ未開拓の分野である。そこで本領域では、新生鎖を主役に据えた「新生鎖の生物学」を設定することで、新生鎖をハブとする遺伝情報発現と細胞機能制御のネットワーク解明および分子機構の理解をめざす。そして「新生鎖を介した細胞機能の恒常性維持」という新しいパラダイムを構築することを目的とした。

③ 着想に至った経緯

領域代表の田口は20数年間にわたりシャペロン、さらにはその派生研究である酵母プリオンの研究に邁進してきた。シャペロン研究の大きな潮流の中で最もホットかつ重要なのが新生鎖に関わるシャペロン研究である。さらに、シャペロンを超えて、翻訳系に関わる mRNA、tRNA、さらには新生鎖そのものが奏でる新しいバイオロジーが見えてきた。これらの新生鎖研究にブレイクスルーを起こした研究の端緒は我が国の研究者による貢献が大きい、喫緊の課題として国際的にも認識されはじめている。特に、競争力のある研究者による本格的な取り組みが始まっている中で我が国としても決して遅れを取ってはならない。このような背景の下、従来のシャペロン研究にとらわれず、新生鎖を対象とした新しい研究領域の確立が急務であると考えに至った。

そこで本新学術領域では、従来の枠組みでは異分野と考えられてきた RNA 研究者をも含む実績のある研究者を「新生鎖」という共通の課題の下に結集し、スクラムを組むことで世界を引き続き牽引していくこととした。申請前の時点で、既に連携を深めている計画班員も多く、本領域が立ち上がることで有機的な相乗効果がさらに誘起されることが期待できた。実際、新学術領域の設定により、周辺研究の中でも我が国が伝統的に強い領域の更なる発展、また、国内で層が薄かった分野も世界に遅れることなく進めることが可能となっている。さらに、新しい分野に必要な新しい方法論の開発/発展も支援しながら研究を推進することで、これまで想定していなかった新しい概念や方法論が創出されることも期待できる。

このような経緯を踏まえて、「新生鎖の生物学」を立ち上げるに至った。

④ 本領域の発展がどのように学術水準の向上・強化につながるか

生命活動の根幹を支えるタンパク質は例外なくリボソームから産まれてくる。本領域の背景を端的に言えば、翻訳という生命のセントラルドグマの最終段階が単にリボソームでアミノ酸をつなぐだけではなく、多くの生命現象に積極的に関与していることが近年急速に明らかとなってきている、ということである。

たとえば最近、個々のタンパク質ではなく細胞内の全タンパク質（プロテオーム）を対象としたフォールディング研究、シャペロン研究が始まりつつあり、**田口**らが先導的な成果を挙げているが、こうした研究は細胞内の新生鎖全体（**ナッセントーム**: nascentome）を対象として新たに展開される必要がある。なぜなら、古典的なフォールディング研究では完成したタンパク質をいったん変性したのちにフォールディングさせるため、翻訳時における N 末端からの合成と共役したフォールディングの方向性と時間性、翻訳速度の調節を介したフォールディングの微調整を再現できないからである。こうした問題は、**田口**らが確立した、精製リボソーム、翻訳関連因子のみから成る再構築型の無細胞翻訳系を利用したフォールディング研究で解決できる。

タンパク質の品質管理も、リボソームをプラットフォームとして、実は新生鎖の段階からすでに始まっている。すなわち、新生鎖の段階での異常が修復できなければ、新生鎖はユビキチン化され、プロテアソームにより分解される。異常タンパク質を生じる原因として、DNA 上の変異やスプライシング反応などのエラーによって生じる異常 mRNA も新生鎖の段階で常時監視され、検出された異常 mRNA はヌクレアーゼにより分解される。こうした翻訳異常に伴うリボソームの異常停止は直ちに解消され、正常な翻訳が再開されねばならない。最近まで、新生鎖と mRNA の品質管理は別々に解析され、両者の関係に注目する研究はほとんどなかったが、最近**稲田**らは異常新生鎖の認識と mRNA の品質管理が密接に関係していることを見出した。このことから、新生鎖と mRNA の品質管理がメカニズムとして共役しており、両者を統合的に理解できる可能性が示された。

(UPR) に関わる **XBPI** タンパク質の新生鎖が小胞体膜に挿入されることで、小胞体上に **XBPI** の mRNA を局在させる機能をもつことを発見した。さらに、新生鎖の翻訳速度調節が概日時計の制御のような高次生命現象に関わる例も報告されている。これらの現象はいずれも、翻訳途上の新生鎖がリボソームとの相互作用を介してリボソーム活性を制御し、**翻訳の一時停止（翻訳アレスト）**に代表される翻訳速度の調節を行うことが引き金となっている。

このように、新生鎖フォールディングの制御、異常新生鎖・異常 mRNA の除去、翻訳速度の調節や新生鎖の安定化によって引き起こされるタンパク質の発現や mRNA のオルガネラ局在など、新生鎖を介した細胞プロセスは多岐にわたり、その制御機構と生理的意義の解明は急務である。すなわち、遺伝情報がいかに細胞機能に転換されるのかという生命現象の根幹を理解するうえで、新生鎖研究を牽引できるわが国の開拓的研究者を結集して、新生鎖に関わるさまざまな生命現象を包括的に解明し、**新生鎖のダイナミクスと機能の理解に基づく新たなパラダイムの構築**をめざすことが、今まさに求められている。

以上、新生鎖をハブとした正確な遺伝子発現はすべての生命現象の根幹であり、その破綻や異常はさまざまな疾患の原因となる。従って、本領域による新生鎖の新規生理機能や新生鎖自身の運命決定機構の解明は、その破綻に起因するさまざまな疾患の発症機構の解明に大きく寄与することが期待される。また、異なる研究分野であったタンパク質と RNA の研究者が連携して新たな融合研究分野が生まれることが期待でき、実際本領域の発足により、大きな果実が実りつつある。

以上、本領域の発展はわが国の学術水準の向上・強化に大きくつながる。

2. 研究の進展状況〔設定目的に照らし、研究項目又は計画研究ごとに整理する〕(3ページ以内)

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在までにどこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究ごとに記述してください。

【研究期間内に何をどこまで明らかにするのか】

本領域では、新生鎖の生物学という新しい分野を「新生鎖のフォールディング・修飾・局在化」「新生鎖の翻訳速度調節」「新生鎖の品質管理機構」の3つにブレイクダウンするとともに、「新生鎖研究のための新たな方法論の開発と応用」にも注力し、研究期間内に以下の問いに答えることを目標とした。現状どこまで研究が進展したかをそれぞれ記述する。

(なお、計画研究ごとの成果については、後述の4. 主な研究成果にて個別に記載した。)

【1. 新生鎖のフォールディング・修飾・局在化】

a. 新生鎖のフォールディングにおける各種シャペロンの連携・役割分担の機構は？

翻訳に伴ってリボソームから新たに生まれてくるポリペプチド鎖(新生鎖)がどのように立体構造を形成(フォールディング)するのかはセントラルドグマ終端における重要課題の一つである。田口英樹らは大腸菌の再構築型無細胞翻訳系(大腸菌 PURE システム)を用いて、4000種類を超える大腸菌の全タンパク質を個別に翻訳してフォールディングの性質やシャペロンの影響を解析、シャペロンの細胞内基質を同定するなど、新生鎖のフォールディング研究に新たなアプローチを導入した。本課題では、主要なシャペロンである Hsp70 (DnaK) とシャペロニン (GroEL/Hsp60) がどのように役割分担もしくは連携しながら新生鎖フォールディングを助けているのかについて約 100 種類のシャペロン基質に対して系統的に解析を行った。その結果、細胞内で DnaK と GroEL の両方をフォールディングに必要とするタンパク質を数十個同定した。

b. 新生鎖へジスルフィド結合はどのように導入されるのか？

ジスルフィド結合の形成は、新生鎖の合成・局在化・立体構造形成過程において、PDI ファミリータンパク質と新生鎖間の特異的な相互作用に依存して進行すると予想される。稲葉謙次らは構造生化学および細胞生物学の両方のアプローチにより、新生鎖のジスルフィド結合形成の解明を目指している。現在までに、系統的 *in vitro* 解析により、ERp46 や P5 がフォールディング初期過程のジスルフィド結合導入にはたらき、PDI はフォールディング後期過程のジスルフィド結合の組み換えに寄与することで、効率的な酸化的フォールディングが進行することを示した。また ERp46 全長の溶液構造を X 線小角散乱により決定し、その機能発現機構を解明した。

さらに、無細胞タンパク質合成系を用い、リボソームと結合した翻訳途上の新生鎖に PDI 依存的にジスルフィド結合が導入されることを観測し、新生鎖の翻訳合成とカップルした酸化的フォールディング機構を解析する実験手法を構築した。

門倉 広(稲葉の研究分担者)は、この過程を調べるためにジスルフィド結合形成モニタリングシステムを構築し、LDL 受容体の新生鎖が遅くとも約 70 kDa の大きさにまで伸長した時にジスルフィド結合が導入されることを見出した。また、LDL 受容体へのジスルフィド結合形成に働くと予想される PDI ファミリー酵素を網羅的に同定することに成功した。

c. 新生鎖はオルガネラ膜へどのような機構で挿入されるのか？

真核生物の新生鎖の 20~30%は膜に挿入されるらしい。では、どのような因子の助けを借りて新生鎖はオルガネラ膜へと挿入されるのだろうか。この問いについて、藤木幸夫(九大)らは、テイルアンカー型膜タンパク質(TA)をモデルとしてリボソーム翻訳時およびその直後における新生鎖の運命決定機構を解明し、品質管理システムと共役したタンパク質翻訳後選別輸送機構という新たな概念の創出を目指している。現在までに藤木らは、無細胞翻訳系と中性条件下での SDS-PAGE を組み合わせて翻訳途上の新生鎖 TA を検出する *in vitro* 実験系を確立し、ペルオキシソーム局在性 TA の翻訳速度が遅延していることを見出した。翻訳速度遅延に関わるアミノ酸配列を同定し、翻訳速度調節が TA の細胞内局在に関与することを明らかにしつつある。

また、藤木らは、哺乳動物ではペルオキシソーム局在性 TA を含む多様な PMP が Pex19p-Pex3p 依存的な Class-I 経路により輸送されることをも明らかにした。Pex19p とペルオキシソーム局在性 TA である Pex26p 複合体に特異的に結合するサイトゾルタンパク質を同定し、このタンパク質のペルオキシソーム局在性 TA 輸送における役割について解析を進めている。加えて、Pex14p を主構成成分とする高分子複合体の動的調節を介したペルオキシソームマトリクスタンパク質

輸送の制御機構を明らかにした。

【2. 新生鎖の翻訳速度調節】

a. 翻訳アレストや翻訳速度微調整の仕組みとその制御機構はどのようなものか？

千葉志信らは、枯草菌 MifM、大腸菌 SecM など、自身の翻訳伸長を一時停止（アレスト）することで細胞の機能を調節する因子を主な材料とし、翻訳アレストの制御機構の解明などを目指している。これまで、MifM とリボソームとの翻訳アレスト複合体の構造解析を、ミュンヘン大学の Daniel Wilson 博士と行い、MifM-リボソーム相互作用の詳細を明らかにした。SecM のアレスト解除に必要な SecM 分子内の新規領域を同定した。

また、千葉志信らは公募班の秋山芳展（京大）らとの共同研究で、ビブリオ菌の新規アレスト因子 VemP を見出し、VemP がリボソームのペプチジル転移活性を阻害することで翻訳アレストを引き起こしていることを示した。さらに、MifM を利用したレポーター系を用いてタンパク質膜組込装置 YidC の機能解析を行い、YidC の膜内の溝構造の親水性と塩基性の重要性を示した。

河野憲二らは、翻訳アレストによる mRNA の細胞内局在化の分子機構を明らかにするとともに、翻訳アレストにより生ずる動物細胞での mRNA と新生鎖の品質管理機構を解析している。小胞体ストレス応答に関与する XBP1u タンパク質は翻訳アレストを起こすと、疎水性領域（HR2）はちょうどリボソームトンネルの外に露出した状態になる。その条件下でシグナル認識粒子（SRP）は HR2 に結合し小胞体膜上のトランスロコンまで運ぶ。翻訳アレストが起きないと SRP は結合せず分泌経路を利用できない。また翻訳アレストにより XBP1u は小胞体のトランスロコンに運ばれるが小胞体内に挿入はされず、小胞体膜上にゆるく結合した状態にある、という新知見を得た。

b. 翻訳速度と新生鎖フォールディングはどう相関しているのか？

c. 翻訳アレストの普遍性・生理的意義は何か？

上記二つは関連しているので一緒に記載する。

遺伝子の発現制御における翻訳速度調節の重要性をいち早く見出したのは、2001 年に伊藤維昭らが発見した大腸菌の SecM の翻訳アレストである。その後、2-a に記したように翻訳アレストの制御機構について大きな進展が見られている。

では、翻訳アレスト（翻訳一時停止）は細胞内での翻訳時にどのくらい普遍的に起こる現象なのであろうか。この問題に関して田口英樹らは千葉志信（および伊藤維昭）らと連携して、大腸菌ゲノム上の遺伝子の約 1/4 に相当する 1038 遺伝子で、翻訳途中で一時停止した新生鎖（ペプチジル tRNA）が鎖のどのような配列の部位でどの程度蓄積するのかを、生きた大腸菌（*in vivo*）及び PURE システム（*in vitro*）を用いて解析した。この新生鎖プロファイリング（iNP = integrated *in vivo* and *in vitro* nascent chain profiling と命名）の結果、80%以上の遺伝子で、翻訳途上産物の蓄積が 1 回あるいは複数回起こっていることがわかり、翻訳の一時停止は、これまで考えられた以上に普遍的な生命現象であることが明らかとなった。

また、この結果を生物情報学的に解析した結果、翻訳一時停止の頻度と自発的フォールディングの効率とに相関があることが示唆され、今後、翻訳の一時停止がどのようにフォールディングに影響を与えるのか、またシャペロンによるフォールディング支援とどう関連するのかという問題に発展している。

さらに田口らと千葉（伊藤）らは、上記の iNP 解析を発展させた結果、翻訳途上にもかかわらずリボソームを解離させうるアミノ酸配列（RSS = ribosome splitting sequences）を発見した。この RSS では、特定のアミノ酸配列がリボソームのトンネル内とリボソームのペプチド転移中心にさしかかると 70S リボソームが 50S と 30S に解離してペプチジル tRNA が露出する。大腸菌内には RSS を使ったタンパク質発現機構があることも同時に見出しているので新生鎖が関与する新たな翻訳制御機構だと言える。

【3. 新生鎖の品質管理機構】

a. 異常 mRNA の品質管理において新生鎖はどのような役割をもつのか？

b. 新生鎖がフォールディングするか分解されるかの運命決定機構はどうなっているのか？

c. 異常 mRNA の品質管理因子が、異常新生鎖の分解にどのような役割をもつのか？

これらの問いは全てが密接につながっていることが、真核生物の新生鎖の品質管理という分野を開拓した稲田利文らによって明らかにされようとしている。具体的には、遺伝子発現の正確性を保証する

mRNA とタンパク質の品質管理機構における、新生鎖の新規機能と新生鎖の運命決定機構の解明を目指すなかで、現在までに、翻訳伸長阻害が原因で起こる mRNA (NGD) と新生ポリペプチド鎖 (RQC) の品質管理には、E3 ユビキチンリガーゼ Hel2 による 40S リボソームタンパク質の特異的なユビキチン化が必須であることを見出した。また、ミュンヘン大学の Roland Beckmann 博士との共同研究により Hel2 と 80S リボソームとの複合体の構造をクライオ電顕により解析し、翻訳伸長の極めて特徴的な中間体が Hel2 に認識される可能性が強く示唆された。また、RQC に必須な新規因子 RQT 複合体を同定し、RQT 複合体に含まれるユビキチン結合因子によるユビキチン認識が RQC に必須であることを見出した。

長尾翌手可 (稲田の研究分担者) は、タンパク質 N 末端付近の翻訳精度維持機構を見出し、さらにリボソームドロップオフに影響を及ぼす rRNA 変異体ではその精度が低下することも明らかにした。

岩川弘宙 (稲田の研究分担者) は、RISC による切断または翻訳アレストを受けた mRNA 上のリボソーム、および新生鎖のその後の運命を生化学的に解析する基盤となる動植物の無細胞系を作成した。

【新生鎖研究の新しい方法論の開発と応用】

a. tRNA リボソームプロファイリングの開発とその応用

リボソームによる mRNA 翻訳の実体を明らかにするためには、新規な tRNA リボソームプロファイリング法を開発し、それを酵母や哺乳動物細胞における新生鎖の生成、分解機構の解明に応用する必要がある。**田中元雅**らは、出芽酵母を用いてリボソームに結合した tRNA を網羅的かつ一塩基レベルの高分解能で調べることのできる tRNA リボソームプロファイリング法および tRNA/mRNA 同時リボソームプロファイリング法を新規に開発した。その手法を様々な環境ストレス下における酵母の翻訳解析に用いたところ、リボソームに結合した tRNA を見ることで環境ストレスによって変化した翻訳状態を検索できることや、酸化ストレスによる tRNA の変化が翻訳抑制に深く関わる新たな分子機構を見出した。また、神経細胞を含む哺乳動物細胞やマウス個体を用いても、上記の tRNA/mRNA 同時リボソームプロファイリング法を確立させ、樹状突起における局所翻訳を解明するための技術基盤を確立させた。さらに、上記の研究を補完する手法として、神経細胞で新生ポリペプチド鎖を観察するためのイメージング技術も確立しつつある。

b. 真核生物の翻訳系はどのように再構成できるのか？

試験管内でのタンパク質合成は細胞抽出液を用いて行うのが通常だが、翻訳に必須な因子を全て精製して再構成することも可能である。これまでに大腸菌の翻訳系をベースとした再構築型無細胞翻訳系 (大腸菌 PURE システム) は 2001 年に東大・新領域の上田卓也らによって開発、現在では市販もされており、国内外の新生鎖研究の分子基盤を解析する重要なプラットフォームとなっている。大腸菌に加えて、真核生物由来の PURE システム (真核 PURE システム) が国内外で強く望まれている。そこで、本領域では重点分野として真核 PURE システムの開発を強く推進し、領域内の連携に活用することを申請時の目標の一つとした。

真核生物として、ヒト因子については**今高寛晃**、出芽酵母については**富田-竹内野乃** (どちらも田口の研究分担者) らが、開発を行い、27 年度には両因子由来の再構築型無細胞翻訳系がともに完成している。この無細胞翻訳系を用いて、今高らは、ヒト新生鎖のフォールディングとシャペロンの関連を精査しつつある。また、富田-竹内は出芽酵母因子由来の真核 PURE システムを構築し、最適化を行い、翻訳伸長制御因子 (翻訳伸長因子、シャペロン、アミノアシル合成酵素複合体、など) の機能解析を進めている。

さらに、特筆すべきこととして、この真核 PURE システムを使った共同研究が既に多数進行していることである。さらに、国外からの問い合わせも多数届いており、領域を組織するとき予想したとおり、真核 PURE システムは世界中が待ち望んでいた実験系であった。新学術領域を立ち上げた大きな成果だと考える。

3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況（2ページ以内）

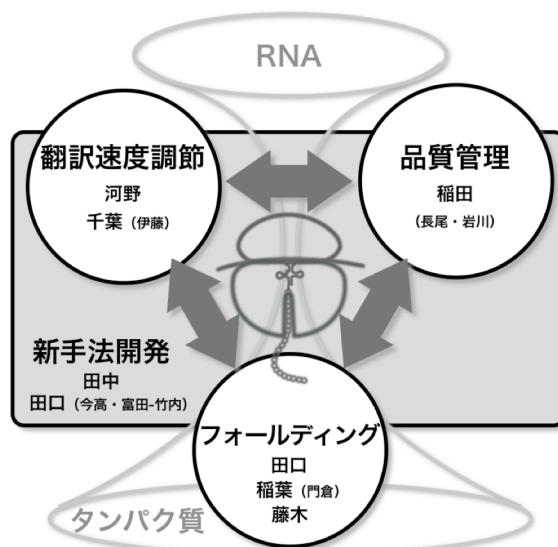
審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

【コメント1】

・・・一方で、計画研究間の連携の努力は認められるが、具体的にどのように有機的な連携を図るのか、より具体化することが必要である。

対応策：本領域では新生鎖をキーワードとして3つの柱となる研究項目を設定している（右図）。便宜上、3つを設定しているが、それらは深く連携しあっており、後述するように相互に連携が進んでいる。例えば、田口らと千葉らは、翻訳の一時停止の大規模解析を一緒に行った（Chadani et al, *PNAS* 2016）。これは、田口らが得意とする大規模解析と千葉らの得意とする翻訳アレストの分子機構解析の相乗効果で得られた成果である。

また、図の3つの柱を強力に推進するために新手法の開発を掲げている。この中でも特に、真核生物の再構築型無細胞翻訳系（真核 PURE システム）は当初想定していた以上の進展状況であり、班員内での連携が非常に多くスタートしており、今後たいへん楽しみである。



【コメント2】

大腸菌で構築された無細胞翻訳系（ピュアシステム）を真核生物に適用するシステムを完成させ共有する段階にまで持って行くことは、本領域研究が広いインパクトを持つための鍵であるが、そのためには一層の努力と戦略が必要であろう。

対応策：真核生物での PURE システムの完成が待ち望まれていたので、審査所見で指摘を受けた通り、本領域の成功のために真核 PURE システムが完成し、内外にて広く使われることが望まれていた。本領域の採択に伴った支援も幸いして、当初の計画以上の進展を見せて、現在多くの連携研究が進んでいる。

【参考意見】

先端性、独創性において本概念がどこまで認知されているのか、国際的な位置づけを明確にすることが求められる。

対応策：申請準備を始めた3年前の2013年頃には本領域は分野として確立していなかったが、年々関連分野における「新生鎖の生物学」の重要性は増すばかりである。特に、国際的な位置付けの中で我が国のこの分野の存在感を明確にするためには、論文発表だけでなく、海外研究者との密な交流、情報交換が必須である。それも踏まえて、昨年度の秋には、当初の計画にはなかったが、海外から新進気鋭の関連研究者5名を招待して、国際シンポジウムを開催した（2015.10.1 “Nascent-chain Biology” Meeting 2015 in Tokyo）。

また、論文発表、国際会議に加えて、国際的な共同研究も重要であるが、これについては昨年度後半の国際活動支援班としての採択を受け、ますます加速できるものと考えている。



4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。記述に当たっては、**本研究課題により得られたものに厳に限る**こととします。

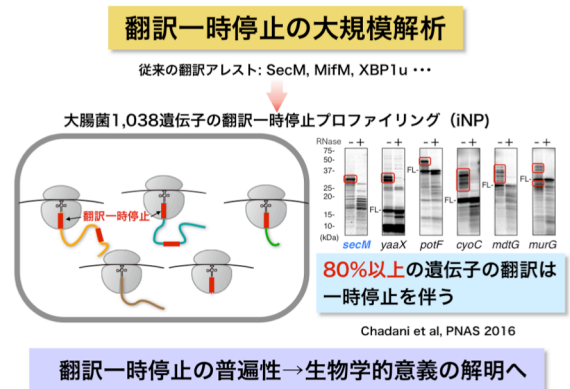
【計画研究の成果】

研究課題：新生鎖フォールディングとシャペロン効果の網羅解析

研究代表者：田口英樹（東京工業大学科学技術創成研究院 教授）

大腸菌の再構築型無細胞翻訳系（PURE システム）および細胞内にて大規模な翻訳速度調節アッセイを行った。結果として、大腸菌全遺伝子（ORF）の 4 分の 1 以上に相当する 1000 種類以上の ORF の翻訳一時停止の状況を実験的に明らかとした。これらの結果を生物情報学的にも解析した結果、翻訳一時停止と膜蛋白質の生合成や蛋白質のフォールディングとの相関を初めて明らかとした（*PNAS* 2016）。この解析の発展として、特定のアミノ酸配列がリボソームのトンネル内にさしかかると翻訳途上にもかかわらずリボソームが解離するという新たなタンパク質発現機構を見出した。さらに、翻訳に共役した膜タンパク質のフォールディング研究を進めるための第一歩として、難溶性の膜タンパク質数十種類をリボソーム存在下において PURE システムで合成し、その可溶性を高めた（*Sci. Rep* 2015）。

また分担者の今高、富田-竹内らの努力により、真核生物の再構築型無細胞翻訳系が完成し、新生鎖研究のさまざまな分野に波及効果をもたらしている。



研究課題：mRNA とタンパク質の品質管理機構における新生鎖の新規機能の解明

研究代表者：稲田利文（東北大学大学院薬学研究科 教授）

遺伝子発現の正確性を保証する mRNA とタンパク質の品質管理機構における、新生鎖の新規機能と新生鎖の運命決定機構の解明を目指し、以下の研究結果を得た。翻訳伸長阻害が原因で起こる mRNA (NGD) と新生ポリペプチド鎖 (RQC) の品質管理には、E3 ユビキチンライゲース Hel2 による 40S リボソームタンパク質の特異的なユビキチン化が必須であることを明らかにした。E3 ユビキチンライゲース Hel2 と 80S リボソームとの複合体の構造をクライオ電顕により解析し、翻訳伸長の極めて特徴的な中間体が Hel2 に認識される可能性が強く示唆された。また、RQC に必須な新規因子 RQT 複合体を同定し、RQT 複合体に含まれるユビキチン結合因子によるユビキチン認識が RQC に必須であることを見出した

（論文投稿中）。また Rack1 の mRNA 分子内切断における新規機能を発見した（*Sci. Rep.* 2016）。

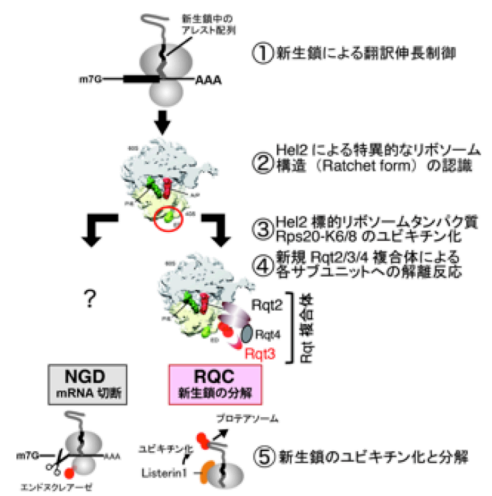
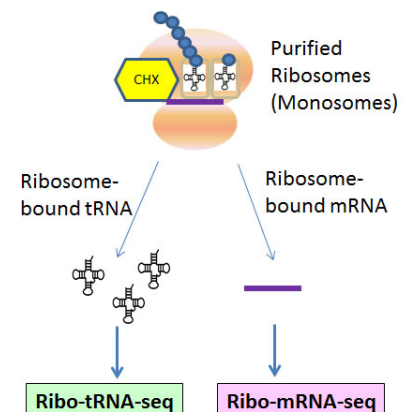


図1 Hel2による異常翻訳複合体の認識とユビキチン化に依存したRqt因子によるサブユニット解離反応

研究課題：tRNA リボソームプロファイリングの開発と応用

研究代表者：田中元雅（国立研究開発法人理化学研究所 チームリーダー）

リボソームによる mRNA 翻訳の実体を明らかにするため、新規な tRNA リボソームプロファイリング法を開発し、以下の研究結果を得た。熱ショックなどの様々な環境ストレス下における酵母の翻訳解析に tRNA リボソームプロファイリングを用いたところ、リボソームに結合した tRNA は環境ストレスによる翻訳阻害の状態をよく表すバイオマーカーになることや、酸化ストレスによるリボソーム内 tRNA の変化が翻訳抑制に深く関わる新たな分子機構を見出した（Chen ら、論文投稿中）。また、神経細胞を含む哺乳動物細

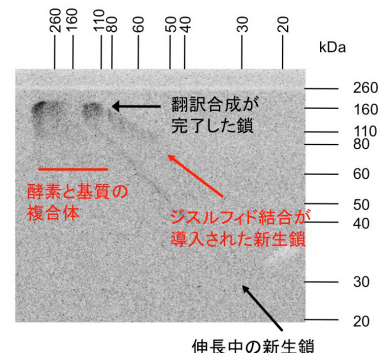


胞やマウス脳を用いても、tRNA リボソームプロファイリング法を確立させ、その詳細な配列解析のためのバイオフィンフォマティクスの各種ツールも開発した。

研究課題：新生鎖の立体構造形成を支えるジスルフィド結合形成システムの解明

研究代表者：稲葉 謙次（東北大学多元物質科学研究所 教授）

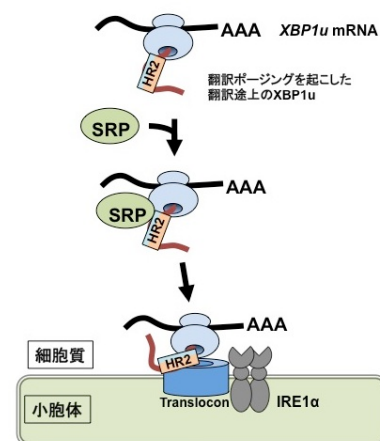
統合的に構造生化学と細胞生物学の手法を用いることにより、新生鎖のジスルフィド結合形成の解明を目指す。これまでに田口計画班の今高らとの共同研究により、無細胞タンパク質合成系を用い、リボソーム上の新生鎖に PDI 依存的にジスルフィド結合が導入されることを観測し、新生鎖の翻訳とカップルした酸化的フォールディング機構を解析する実験手法を構築した。更に、細胞中で新生鎖にジスルフィド結合が形成される過程を調べるためのモニタリング系を構築し、LDL 受容体の新生鎖が遅くとも約 70 kDa の大きさに伸長した時にジスルフィド結合が導入されることを見出した（右図）。また、Ero1-PDI 系と Prx4-ERp46 系の二つのジスルフィド結合導入経路の構造基盤と機能的役割を解明した（Kojima et al., *Structure*, 2014）。



研究課題：mRNA 局在化に働く新生鎖の機能解析

研究代表者：河野憲二（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）

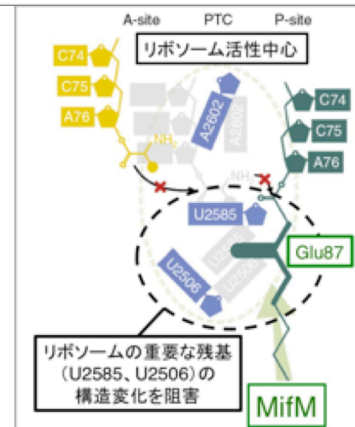
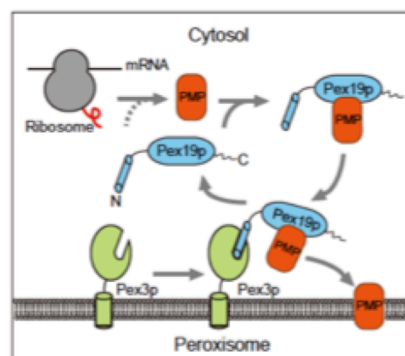
小胞体ストレス応答に関与する XBP1u タンパク質は翻訳アレストを利用して小胞体への mRNA 局在化を実現する。XBP1u 内の疎水性領域 (HR2) はリボソームトンネルの外に露出した状態になる。その条件下でシグナル認識粒子 (SRP) は HR2 に結合し小胞体膜上のトランスロコンまで運ぶ。翻訳アレストが起きないと SRP は結合せず分泌経路を利用できない。また翻訳アレストにより XBP1u は小胞体のトランスロコンに運ばれるが小胞体内に挿入はされず、小胞体膜上にゆるく結合した状態にある、という新知見を得た（論文投稿中）。



研究課題：新生鎖テイルアンカー型タンパク質 (TA) の輸送・膜挿入と品質管理

研究代表者：藤木幸夫（九州大学生体防御医学研究所 特任教授）

TA をモデルとしたリボソーム翻訳時およびその直後における新生鎖の運命決定機構の解明を目指し、以下の研究結果を得た。ペルオキシソーム膜タンパク質 (PMP) の大部分はリボソームで翻訳後、その標的化因子である Pex19p にサイトゾルで結合し、ペルオキシソーム膜上の Pex3p によりペルオキシソーム膜へ挿入される (Class-I 経路) と考えられている。今回、セミインタクト化した哺乳動物細胞を用いた輸送解析系により、TA や2回膜貫通型のみならず、4, 6 回膜貫通型 PMP についても検討し、いずれの膜タンパク質も Class-I 経路依存的にペルオキシソームへ局在化されることを見出した。また、N 末アンカー型膜タンパク質である ATAD1 のペルオキシソーム輸送が Pex19p-Pex3p 依存的であることを初めて見出し、哺乳動物においては Class-I 経路が多様な PMP を主体的に輸送することを明らかにした (Liu et al., *Traffic* 2016)。



研究課題：働く新生鎖の生理機能と分子機構

研究代表者：千葉志信（京都産業大学総合生命科学部 准教授）

枯草菌 MifM や大腸菌 SecM による翻訳アレストの調節機構の解明を目指している。ミュンヘン大学 Daniel Wilson 博士との共同研究では、クライオ電子顕微鏡を用いた MifM-リボソーム複合体の構造決定に成功した。MifM は、リボソームのペプチド鎖出口トンネルの成分と複数の場所で相互作用するとともに、MifM の Glu87 が、リボソームの活性中心付近の特定の残基の構造変化を阻害することで、リボソームのペプチジル転移活性を阻害していることが示唆された (Sohmen et al. *Nat. Comm.* 2015)。MifM の翻訳アレストに必要な新生鎖-リボソーム間相互作用

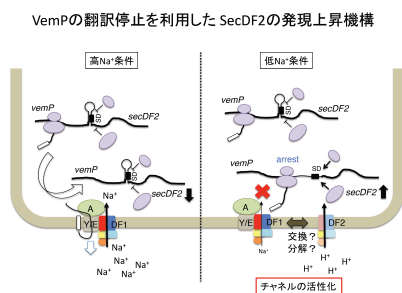
用の詳細を明らかにした本研究成果は、アレスト機構の解明に向けて大きな進展をもたらす成果といえる。

【公募研究の成果（一部）】

公募研究課題：ビブリオ菌における新生鎖機能を介したタンパク質膜透過の制御

研究代表者：秋山芳展（京都大学ウイルス研究所 教授）

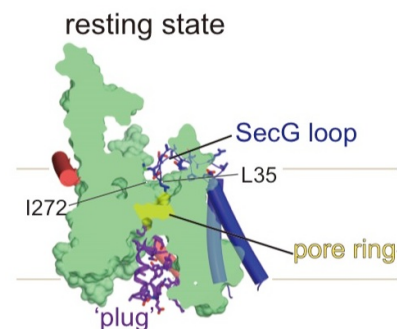
ビブリオ菌のタンパク質膜透過能を維持する機構の解明を目指し、イオン特異性を異にする二種の V.SecDF パラログに着目し解析した。その結果、ビブリオ菌は環境中の Na⁺濃度変化にตอบสนองして、二種の V.SecDF パラログを使い分け、膜透過装置を再編成する巧妙な適応機構を持つことを明らかにした（Ishii *et al.* *PNAS* 2015）。また、H⁺駆動型 V.SecDF2 の特異的な発現に、上流遺伝子によりコードされる分泌監視タンパク質 VemP の翻訳伸長の停止が必須であることも見出した。



公募研究課題：新生膜タンパク質の膜組み込み過程の構造生物学

研究代表者：田中良樹（奈良先端科学技術大学院大学 助教）

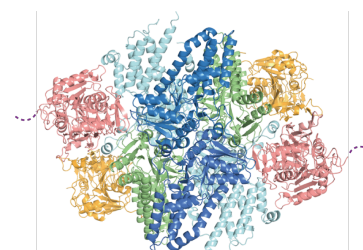
新生膜タンパク質の組み込みに関わる膜タンパク質についての構造機能相関の解明を目指した。細菌型 Sec トランスロコン SecYEG 複合体膜タンパク質について、2.7Å 分解能での構造決定を達成した。この構造情報に基づき変異体解析及び分子動力学シミュレーションを実施し、タンパク質膜透過しない（閉状態 resting state）チャネル（透過孔）が、複合体を形成する膜タンパク質（SecE）によって蓋がされていることを明らかにした。（*Cell Rep.* 2015）



公募研究課題：ピコルナウイルスの 2 A ペプチドの終止コドン非依存的翻訳終結の構造基盤

研究代表者：伊藤拓宏（理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター ユニットリーダー）

翻訳開始を制御する翻訳開始因子 eIF2B の結晶構造と生化学的な解析から eIF2B の eIF2 における作用機構を明らかにした（Kashiwagi *et al.*, *Nature*, 2016）。結晶構造解析に用いた組み換え eIF2B の精製手法についても発表し、組み換え eIF2B の活性測定を今高寛晃と共同で行った（Kashiwagi *et al.*, *J Struct Funct Genomics*, 2016）。



研究課題：リボソームとトランスロコンの協調による新生鎖の膜組み込み機構の解明

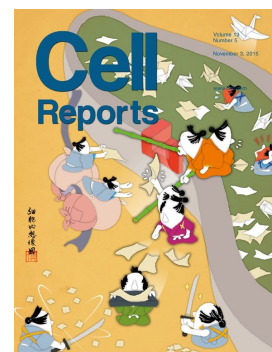
研究代表者：阪口雅郎（兵庫県立大学大学院生命理学研究科 教授）

「新奇フォールディングプローブ（CP-EGFP）」によって、細胞内での小胞体トランスロコンにおける膜透過効率を定量的に評価できることを見出し、トランスロコンに質的变化をもたらす要因を明らかにしつつある。ペルオキシソーム膜タンパク質の N 末端に新生鎖の小胞体標的化を抑制する機能（ER-targeting suppressor, ETS）が存在することを見いだした。

研究課題：ストレス依存的な小胞体膜上での新生鎖品質管理機構の解明

研究代表者：西頭英起（宮崎大学医学部機能生化学 教授）

小胞体ストレス時の小胞体膜結合リボソームで起こる新生タンパク質分解システムの解明を目指した。小胞体内腔への新生鎖の挿入を抑制し、細胞質へリルートする因子 Derlin の結合分子解析を行い、Sec61 トランスロコン複合体、リボソーム、小胞体近傍で作用するコシャペロン分子を同定するとともに、小胞体膜上で輸送孔と逆輸送孔が近接することが品質管理に回される新生鎖の効率的な分解に関与することが示唆された（*Cell Rep.* 2015, 模式図が表紙に採用）。



5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。
- 別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したもののについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください）。
- 一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

原著論文は全て査読有り

田口 英樹

【原著論文】

- ◎▲1. Chadani Y, Niwa T, Chiba S, *Taguchi, H., *Ito K. Integrated in vivo and in vitro nascent chain profiling reveals widespread translational pausing. *Proc Natl Acad Sci USA*. 113, E829-38 (2016)
- ▲2. Niwa T, Fujiwara, K., *Taguchi, H. Identification of novel in vivo obligate GroEL/ES substrates based on data from a cell-free proteomics approach. *FEBS Lett*. 590, 251-257 (2016)
- ▲3. Niwa T, Sasaki Y, Uemura E, Nakamura S, Akiyama M, Ando M, Sawada S, Mukai S, Ueda T, *Taguchi, H. and *Akiyoshi, K. Comprehensive study of liposome-assisted synthesis of membrane proteins using a reconstituted cell-free translation system. *Sci. Rep.* Dec 15;5:18025. doi: 10.1038/srep18025. (2016)
- ▲4. Niwa T, Sugimoto R, Watanabe L, Nakamura S, Ueda T, *Taguchi, H. Large-scale analysis of macromolecular crowding effects on protein aggregation using a reconstituted cell-free translation system. *Front Microbiol*. 6, 1113 (2015) doi: 10.3389/fmicb.2015.01113. eCollection 2015
- 5. Ishino, S, Kawata, Y., Taguchi, H., Kajimura, N., Matsuzaki, K., *Hoshino, M. Effects of C-terminal truncation of chaperonin GroEL on the yield of in-cage folding of the green fluorescent protein. *J. Biol. Chem.* 290, 15042-15051 (2015)
- ▲6. *Taguchi, H. Reaction cycle of chaperonin GroEL via symmetric "football" intermediate (review). *J. Mol. Biol.* 427, 2912-2918 (2015)
- ▲7. Okuda, M, Niwa, T., *Taguchi, H. Single-Molecule Analyses on the Dynamics of Heat Shock Protein 104 (Hsp104) and Protein Aggregates. *J. Biol. Chem.* 290, 7833-7840 (2015)
- ▲8. Ishimoto, T., Fujiwara, K., Niwa, T., *Taguchi, H. Conversion of a chaperonin GroEL-independent protein into an obligate substrate. *J. Biol. Chem.* 289 32073-32080 (2014)
- ▲9. Koike-Takeshita, A., Mitsuoka, K., *Taguchi, H. Asp52 in combination with Asp398 plays a critical role in ATP hydrolysis of chaperonin GroEL. *J. Biol. Chem.* 289 30005-30011 (2014)
- ▲10. Koike-Takeshita, A., Arakawa T., *Taguchi, H., *Shimamura, T. Crystal structure of a symmetric football-shaped GroEL:GroES2 complex determined at 3.8Å reveals rearrangement between two GroEL rings. *J. Mol. Biol.* 426, 3634-3641 (2014)

【シンポジウム】

日本生化学会、日本蛋白質科学会などにて「新生鎖の生物学」のシンポジウムなどをオーガナイズした。

【啓蒙関係】

生命科学の入門書を出版。「学んでみると生命科学はおもしろい」田口英樹（ベレ出版）2014年、231p

【産業財産権】

○ 出願状況（計1件）

【ホームページ】

領域ウェブサイトおよび田口英樹HPにて、各研究の概要や論文の内容の説明文などを掲載し、広く国民に成果を発信した。格段の成果は大学からプレスリリースを行った。

【一般向けのアウトリーチ活動】

高校での出前授業 平成27年 開智高校、都立国立高校にて出張講義

計画研究分担者：今高 寛晃

【原著論文】

1. Kashiwagi K., Shigeta T., Imataka H., *Ito T., *Yokoyama S. Expression, purification, and crystallization of *Schizosaccharomyces pombe* eIF2B. *J. Structural and Functional Genomics* 17: 33-38. (2016)
2. Ozdemir A., Machida K., Imataka H., *Catling A. Identification of the T-complex protein as a binding partner for newly synthesized Cytoplasmic Dynein Intermediate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 469: 126-131. (2015)
3. Machida K., *Imataka H. Production methods of virus particles. *Biotech. Lett.* 37: 753-760. (2015)

4. Machida K., Mikami S., Masutani M, Mishima K., Kobayashi T., ***Imataka H.** A translation system reconstituted with human factors proves that processing of encephalomyocarditisvirus proteins 2A and 2B occurs in the elongation phase of translation without eukaryotic release factors. *J. Biol. Chem.* 289: 31960-31971 (2014)

【図書】

Kobayashi, T., Machida, K., ***Imataka, H.** Human cell extract-derived cell-free systems for virus synthesis. In: Alexandrov, K. and Johnston, W.A. (Eds.), *Methods in Molecular Biology* 1118, Cell-free protein synthesis: Methods and Protocols. Humana Press, pp149-156. (2014)

計画研究分担者：富田-竹内 野乃

【原著論文】

1. Nierhaus KH & ***Takeuchi N.** Response to the Formal Letter of Z Chrzanowska-Lightowlers and RN Lightowlers regarding our article "Ribosome rescue and translation termination at non-standard stop codons by ICT1 in mammalian mitochondria" *PLoS Genet.* 11(6), e1005218 (2015)
2. Nagano T, Yutthanasirikul R, Hihara Y, Hisabori T, Kanamori T, **Takeuchi N**, Ueda T & Nishiyama Y. Oxidation of translation factor EF-G transiently retards the translational elongation cycle in Escherichia coli. *J Biochem.* 158(2), 165-72 (2015)
3. Akabane S, Ueda T, Nierhaus KH & **Takeuchi N.** Ribosome rescue and translation termination at non-standard stop codons by ICT1 in mammalian mitochondria. *PLoS Genet.* 10(9), e1004616 (2014)

【一般向けのアウトリーチ活動】

女子中高生に研究紹介、平成 26, 27 年、東京大学 女子中高生理系進学支援事業、東大柏キャンパス

稲田 利文

【原著論文】

- ▲1. Ikeuchi, K. and ***Inada, T.** Ribosome-associated Asc1/RACK1 is required for endonucleolytic cleavage induced by stalled ribosome at the 3' end of nonstop mRNA. *Sci. Rep.* 6, 28234 (2016)
- ▲2. Makino, S., Mishima, Y., Inoue, K. and ***Inada, T.** Roles of mRNA-fate modulators Dhh1 and Pat1 in TNRC6-dependent gene silencing recapitulated in yeast. *J Biol. Chem.* 290, 8331- 8347. (2015)
- ▲3. Tsuboi, T., Yamazaki, R., Nobuta, R., Ikeuchi, K., Makino, S., Ohtaki, Y., Suzuki, Y., Yoshihisa, T., Trotta, C. and ***Inada, T.** The tRNA Splicing Endonuclease Complex Cleaves the Mitochondria-localized *CBP1* mRNA. *J Biol. Chem.* 290, 16021-16030. (2015)
4. Kashima I., Takahashi M, Hashimoto Y, Sakota E, Nakamura Y. and ***Inada T.** A functional involvement of ABCE1, eukaryotic ribosome recycling factor, in nonstop mRNA decay in *Drosophila melanogaster* cells. *Biochimie* 106, 10-6. (2014)
5. Matsuda, R., Ikeuchi, K., Nomura, S. and ***Inada, T.** Protein quality control systems associated with No-Go and Nonstop mRNA surveillance in yeast. *Genes Cells* 19, 1-12. (2014)
6. ***Inada, T.**, Makino S. Novel roles of the multi-functional CCR4-NOT complex in post-transcriptional regulation. *Front Genet.* 5, 135-. (2014)

【シンポジウム】

国際シンポジウム「Nascent-chain biology meeting 2015 in Tokyo」を田口とともに主催した。新生鎖関連研究に関する国内外の優れた研究者が一同に会する機会となった。

【ホームページ】

URL (<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/nascentbiology/>)において、各研究の概要や論文の内容の説明文などを掲載し、広く国民に成果を発信した。

【一般向けのアウトリーチ活動】

高校での出前授業 平成 2 5 年 青森県立八戸北高等学校、平成 2 6 年 福島県立安積高等学校

田中 元雅

【原著論文】

なし

【産業財産権】

○ 出願状況 (計 1 件)

【一般向けのアウトリーチ活動】

2015年4月および2016年4月の理研公開日にてポスター発表を行った。

稲葉 謙次

【原著論文】

- ▲1. Ramming, T., Kanemura, S., Okumura, M., ***Inaba, K.** and *Appenzeller-Herzog, C. (*co-corresponding authors) "Cysteines 208 and 241 in Ero1 α are required for maximal catalytic turnover", *Redox Biology* 7, 14-20

(2016)

- ▲2. Okumura, M.[†], **Kadokura, K.**[†] and ***Inaba, K.** ([†]contributed equally to this work) "The structures and functions of protein disulfide isomerase family members involved in proteostasis in the endoplasmic reticulum." *Free Rad. Biol. Med.* 83, 314-322 (2015)
 - ▲3. *Okumura, M., **Kadokura, K.**, Hashimoto, S., Yutani, K., Kanemura, S., Hikima, T., Hidaka, Y., Ito, L., Shiba, K., **Masui, S.**, Imai, D., Imaoka, S., Yamaguchi, H.* and ***Inaba, K.** "Inhibition of the functional interplay between ER oxidoreductin-1a(Ero1a) and protein disulfide isomerase (PDI) by the endocrine disruptor bisphenol A." *J. Biol. Chem.* 289, 27004-27018 (2014)
 - 4. Sannino, S., Anelli, T., Cortini, M., Masui, S., Degano, M., Fagioli, C., **Inaba, K.**, *Sitia, R. "Progressive quality control of secretory proteins in the early secretory compartment by ERp44" *J. Cell. Sci.* 127, 4260-4269 (2014)
 - 5. Kojima, R., Okumura, M., Masui, S., Kanemura, S., Inoue, M., Saiki, M., Yamaguchi, H., Hikima, T., Suzuki, M., Akiyama, S. and ***Inaba, K.** "Radically different thioredoxin domain arrangement of ERp46, an efficient disulfide-bond introducer of the mammalian PDI family" *Structure* 22, 431-443 (2014)
- 【一般向けのアウトリーチ活動】
- ・第22回理科サロン(大阪市)での講演「細胞の中のタンパク質の一生」(2016年3月)。
 - ・仙台市立向山高校の高校生を研究室に招いての研究室紹介(2015年11月)。

河野 憲二

【原著論文】

- ▲1. Tsuru, A., Imai, Y., Saito, M., and ***Kohno, K.** Novel mechanism of enhancing IRE1 α -XBP1 signaling via the PERK-ATF4 pathway. *Sci. Rep.* 6:24217 (2016)
- 2. Hirai, S., Kurashima, H., Nakamura, D., Komatsu, T., Yasuda, Y., Habashita-Obata, S., Ichikawa, S., Katsuta, O., Iwawaki, T., and ***Kohno, K.** 2-Phenyl-APB-144-induced retinal pigment epithelium degeneration and its underlying mechanisms. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, 31, 570-584, (2015)
- 3. Mathuranyanon, R., Tsukamoto, T., Takeuchi, A., Ishiwata-Kimata, Y., Tuchiya, Y., **Kohno, K.**, and *Kimata, Y. Tight regulation of the unfolded protein sensor Ire1 by its intramolecularly antagonizing subdomain. *J. Cell Sci.* 128(9), 1762-1772 (2015)

【シンポジウム】

第66回日本細胞生物学会大会(奈良、2014)で国際シンポジウム「Quality Control in Cells」を開催し、タンパク質やRNAの品質管理に関わる国内外の優れた研究者を集め最新の情報交換を行った。

【マスコミ発表等】

2014年6月26日 読売新聞 ドキワク先端科学 「管理バッチリ体内工場」

【図書】

Yanagitani, K. and ***Kohno, K.** Nascent chain-mediated localization of mRNA on the endoplasmic reticulum as an important step of unfolded protein response. pp. 291-310, (2014) Ed. by Koreaki Ito, in "Regulatory Nascent Polypeptides" Springer

小池雅昭, **河野憲二** 「タンパク質品質管理」 生体の科学 増大特集「細胞シグナル操作法」(医学書院) 66(5) 490-491 (2015)

【ホームページ】

URL(<http://bsw3.naist.jp/kouno/>)において、各研究の概要や論文の内容の説明文などを掲載し、広く国民に成果を発信した。

【一般向けのアウトリーチ活動】

大阪府高齢者大学「先端技術を優しく学ぶ科」で毎年、メディカル生物学の授業を担当。受講者50人程度(河野憲二)

藤木 幸夫

【原著論文】

- ▲1. Liu, Y., Yagita, Y., and ***Fujiki, Y.**: The Pex19p- and Pex3p-dependent direct pathway imports divergent membrane proteins to peroxisomes. *Traffic* 17: 433-455 (2016). doi: 10.1111/tra.12376
- ▲2. Honsho, M., Abe, Y., and ***Fujiki, Y.**: Dysregulation of plasmalogen homeostasis impairs cholesterol biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 290: 28822-28833 (2015). doi: 10.1074/jbc.M115.656983
- ▲3. Yoshida, Y., Niwa, H., Honsho, M., Itoyama, A., and ***Fujiki, Y.**: Pex11p mediates peroxisomal proliferation by promoting deformation of the lipid membrane. *Biology Open*, 4: 710-721 (2015). doi: 10.1242/bio.201410801
- ▲4. **Tamura, S.**, Matsumoto, N., Takeba, R., and ***Fujiki, Y.**: AAA peroxins and their recruiter Pex26p modulate the interactions of peroxins involved in peroxisomal protein import. *J. Biol. Chem.* 289: 24336-24346 (2014). doi: 10.1074/jbc.M114.588038
- ▲5. Miyauchi-Nanri, Y., Mukai, S., Kuroda, K., and ***Fujiki, Y.**: Cul4A-DDB1-Rbx1 E3 ligase controls the quality of the PTS2 receptor Pex7p. *Biochem. J.* 463: 65-74 (2014). doi:10.1042/BJ20130861
- ▲6. ***Fujiki, Y.**, Okumoto, K., Mukai, S., Honsho, M., and **Tamura, S.**: Peroxisome biogenesis in mammalian cells. *Front. Physiol.*, Vol. 5 Article 307: 1-8 Epub. Aug. 15 (2014). doi: 10.3389/fphys.2014.00307
- 7. Yamashita, S., Abe, K., Tatemichi, Y., and ***Fujiki, Y.**: The membrane peroxin PEX3 induces peroxisome-ubiquitination-linked pexophagy. *Autophagy* 10: 1549-1564 (2014). doi: 10.4161/auto.29329

8. Okumoto, K., Noda, H., and *Fujiki, Y.: Distinct modes of ubiquitination of peroxisome-targeting signal type 1 (PTS1)-receptor Pex5p regulate PTS1 protein import. *J. Biol. Chem.* **289**: 14089-14108 (2014). doi: 10.1074/jbc.M113.527937

【図書】

1. *Fujiki, Y., Okumoto, K., and Honsho, M.: Protein Import into Peroxisomes: the principles and methods of studying (version 2.0). *Encyclopedia of Life Sciences*, John Wiley & Sons, Chichester, UK, Published online: April 14, (2015). doi: 10.1002/9780470015902.a0002618.pub2
2. *Fujiki, Y., Itoyama, A., Abe, Y., and Honsho, M.: Molecular complex coordinating peroxisome morphogenesis. In: Brocard, C. and Hartig, A. (eds) Molecular machines involved in peroxisome biogenesis and maintenance, *Springer-Verlag*, Wien, Austria. pp. 391-401 (2014). doi: 10.1007/978-3-7091-1788-0
3. *Fujiki, Y., Okumoto, K., Mukai, S., and Tamura, S.: Molecular basis for peroxisome biogenesis disorders. In: Brocard, C. and Hartig, A. (eds) Molecular machines involved in peroxisome biogenesis and maintenance, *Springer-Verlag*, Wien, Austria. pp. 91-110 (2014). doi: 10.1007/978-3-7091-1788-0
4. 藤木幸夫、本庄雅則：「エーテルリン脂質プラスマローゲンの生合成とその障害」
機能性食品と薬理栄養 特集「プラズマローゲンと神経機能」：Vol.9 (No.5), 322-327(2016)
5. 藤木幸夫：「Zellweger 症候群 (Zellweger syndrome)」
小児科診療：第 79 巻増刊号：小児の症候群、287-288(2016)
6. 藤木幸夫、奥本寛治、本庄雅則：「ペルオキシソーム形成異常と疾患」
医学のあゆみ 特集：「ストレスシグナルと疾患—細胞恒常性維持機構の破綻と病態」：Vol.254(No.5), 397-401(2015)

【一般向けのアウトリーチ活動】

日本学術会議 第 8 回形態科学シンポジウム「生命科学研究の魅力を語る高校生のための集い」世話人
(藤木計画班員) (平成 27 年度)

千葉 志信

【原著論文】

- ◎▲ 1. Chadani, Y., Niwa, T., Chiba, S., *Taguchi, H. and *Ito, K. (2016) Integrated in vivo and in vitro nascent chain profiling reveals widespread translational pausing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 113, E829-E838
- ▲ 2. Ishii, E., Chiba, S., Hashimoto, N., Kojima, S., Homma, M., Ito, K., Akiyama, Y. and *Mori, H. (2015) Nascent chain-monitored remodeling of the Sec machinery for salinity adaptation of marine bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 112, E5513-E5522.
- ▲ 3. Sohmen, D., Chiba, S., Shimokawa-Chiba, N., Innis, A., Berninghausen, O., Beckmann, R., Ito, K. and *Wilson, D. (2015) Structure of the Bacillus subtilis 70S ribosome reveals the basis for species-specific stalling. *Nat. Commun.* 6, 6941.
- ▲ 4. Shimokawa-Chiba, N., Kumazaki, K., Tsukazaki, T., Nureki, O., Ito, K. and *Chiba, S. (2015) Hydrophilic microenvironment required for the channel-independent insertase function of YidC protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 112, 5063-5068.
5. *Chiba, S. and Ito, K. (2015) MifM monitors total YidC activities of Bacillus subtilis including that of YidC2, the target of regulation. *J Bacteriol.* 197, 99-107.
6. Nakamori, K., Chiba, S. and *Ito, K. (2014) Identification of a SecM segment required for export-coupled release from elongation arrest. *FEBS Lett.* 588, 3098-3103.

【書籍】

1. Koreaki Ito (Editor) "Regulatory Nascent Polypeptides" Springer. ISBN 978-4-431-55051-8. DOI 10.1007/978-4-431-55052-5.

担当部分

Ito, K. and Chiba, S. (2014) Biological significance of nascent polypeptides that stall the ribosome. pp 3-20, *Regulatory Nascent Polypeptides* (Ed. Ito, K.), Springer Japan

Chiba, S. (2014) MifM, a regulatory nascent chain that monitors membrane protein integration. pp 257-277, *Regulatory Nascent Polypeptides* (Ed. Ito, K.), Springer Japan

【その他】

研究室、大学、領域の HP 等で、研究成果を公開。また、大腸菌翻訳プロファイリングの論文（茶谷ら 2015 PNAS）の新聞記事が、2016 年 2 月 18 付けの京都新聞朝刊に掲載された。

以下、公募班員の成果（一部）

田中 良樹

【原著論文】

- ▲ Tanaka Y., Sugano Y, Takemoto M, Mori T, Furukawa A, Kusakizako T, Kumazaki K, Kashima A, Ishitani R, Sugita Y, Nureki O and *Tsukazaki T. Crystal structures of SecYEG in Lipidic cubic phase elucidate a precise resting and a peptide-bound states. *Cell Rep.* 1561-8 (2015)

伊藤 拓宏

【原著論文】

1. Kashiwagi, K., Shigeta, T., Imataka, H., *Ito, T. and *Yokoyama, S. (2016) Expression, purification, and crystallization of *Schizosaccharomyces pombe* eIF2B. *J Struct Funct Genomics*, **17**, 33-38. DOI: 10.1007/s10969-016-9203-3. (* co-corresponding authors)
2. Kashiwagi, K., Takahashi, M., Nishimoto, M., Hiyama, T.B., Higo, T., Umehara, T., Sakamoto, K., *Ito, T. and *Yokoyama, S. (2016) Crystal structure of eukaryotic translation initiation factor 2B. *Nature*, **531**, 122-125. DOI: 10.1038/nature16991. (* co-corresponding authors)
3. Ito, T., Masuda, I., Yoshida, K., Goto-Ito, S., Sekine, S., Suh, S.W., Hou, Y.-M. and *Yokoyama, S. (2015) Structural Basis for methyl-donor-dependent and sequence-specific binding to tRNA substrates by knotted methyltransferase TrmD. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **112**, E4197-E4205. DOI: 10.1073/pnas.1422981112.

阪口 雅郎

【原著論文】

- ▲ 1. Kang, K., Takahara, M., Sakaue, H., and *Sakaguchi, M. Capsid protease domain as a tool for assessing protein-domain folding during organelle import of nascent polypeptides in living cells. *J. Biochem.* **159**, 497-508. (2016)
- ▲ 2. *Kida, Y., Ishihara, Y., Fujita, H., Onishi, Y., and *Sakaguchi, M. Stability and flexibility of marginally hydrophobic-segment stalling at the endoplasmic reticulum translocon. *Mol. Biol. Cell* **27**, 930-940. (2016)
- ▲ 3. Sakaue, H., Iwashita, S., Yamashita, Y., Kida, Y., and *Sakaguchi, M. The N-terminal motif of PMP70 suppresses cotranslational targeting to the endoplasmic reticulum. *J. Biochem.* **159**, 539-551. (2016)

秋山 芳展

【原著論文】

- ▲1. Ishii, E., Chiba, S., Hashimoto, N., Kojima, S., Homma, M., Ito, K., Akiyama, Y., and *Mori, H. Nascent chain-monitored remodeling of the Sec machinery for salinity adaptation of marine bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**, E5513–E5522. (2015)
- ▲2. Akiyama, K., Mizuno, S., Hizukuri, Y., Mori, H., Nogi, T., and *Akiyama, Y. Role of membrane-reentrant β -hairpin-like loop of RseP protease in selective substrate cleavage. *eLife* **4**, e08928. (2015)

西頭 英起

【原著論文】

1. Kadowaki, H., Nagai, A., Maruyama, T., Takami, Y., Satrimafitrah, P., Kato, H., Honda, A., Hatta, T., Natsume, T., Sato, T., Kai, H., Ichijo, H., *Nishitoh, H. Preemptive quality control protects the ER from protein overload via the proximity of ERAD components and SRP. *Cell Rep.* **13**, 944-956. (2015)

吉久 徹

【原著論文】

- ▲ 1. *Yoshihisa, T. Nucleocytoplasmic shuttling of tRNAs and implication of the cytosolic Hsp70 system in tRNA import. *Nucleus* **6**:339-343. (2016)
2. Takano, A., Kajita, T., Mochizuki, M., Endo, T., and *Yoshihisa, T. Cytosolic Hsp70 and co-chaperones constitute a novel system for tRNA import into the nucleus. *eLife* **4**:e04659. (2015)
3. Tsuboi, T., Yamazaki, R., Nobuta, R., Ikecuhi, K., Makino, S., Ohtaki, Y., Suzuki, Y., Yoshihisa, T., Trotta, C. and *Inada, T. The tRNA Splicing Endonuclease Complex Cleaves the Mitochondria-localized *CBP1* mRNA. *J Biol. Chem.* **290**:16021-16030. (2015)

遠藤 斗志也 (公募班採択後に重複制限により途中辞退)

【原著論文】

1. Shiota T, Imai K, Qiu J, Hewitt VL, Tan K, Shen HH, Sakiyama N, Fukasawa Y, Hayat S, Kamiya M, Eloffson A, Tomii K, Horton P, Wiedemann N, Pfanner N, Lithgow T.*, Endo T.*. Molecular architecture of the active mitochondrial protein gate. *Science*. **349**, 1544-1548 (2015)

6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2ページ以内）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

	氏名	所属	研究期間
計画・代表	田口 英樹	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授	H26-28
分担	今高 寛晃	兵庫県立大学 大学院工学研究科・教授	H26-28
分担	富田（竹内） 野乃	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授	H26-28
計画・代表	稲田 利文	東北大学・大学院薬学研究科・教授	H26-28
分担	長尾 翌手可	東京大学・大学院工学系研究科（工学部）・助教	H26-28
分担	岩川 弘宙	東京大学・分子細胞生物学研究所・助教	H26-28
計画・代表	田中 元雅	国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー	H26-28
計画・代表	稲葉 謙次	東北大学・多元物質科学研究所・教授	H26-28
分担	門倉 広	東北大学・多元物質科学研究所・准教授	H26-28
計画・代表	河野 憲二	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	H26-28
計画・代表	藤木 幸夫	九州大学・生体防御医学研究所・特任教授	H26-28
分担	田村 茂彦	九州大学・基幹教育院・教授	H26-28
計画・代表	千葉 志信	京都産業大学・総合生命科学部・准教授	H26-28
分担	伊藤 維昭	京都産業大学・研究機構・シニアリサーチフェロ ー	H26-28
公募	内藤 哲	北海道大学・大学院農学研究院・教授	H27, 28
公募	船津 高志	東京大学・大学院薬学系研究科・教授	H27, 28
公募	池内 与志穂	東京大学・生産技術研究所・講師	H27, 28
公募	川口 寧	東京大学・医科学研究所・教授	H27, 28
公募	伊野部 智由	富山大学・先端ライフサイエンス拠点・特命助教	H27, 28
公募	秋山 芳展	京都大学・ウイルス研究所・教授	H27, 28
公募	市橋 伯一	大阪大学・情報科学研究科・准教授	H27, 28
公募	中井 正人	大阪大学・蛋白質研究所・准教授	H27, 28
公募	岡本 浩二	大阪大学・生命機能研究科・准教授	H27, 28
公募	田中 良樹	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教	H27, 28
公募	佐藤 明子	広島大学・大学院総合科学研究科・准教授	H27, 28
公募	西頭 英起	宮崎大学・医学部・教授	H27, 28
公募	阪口 雅郎	兵庫県立大学大学院・生命理学研究科・教授	H27, 28
公募	吉久 徹	兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・教授	H27, 28
公募	土居 信英	慶應義塾大学・理工学部・准教授	H27, 28
公募	潮田 亮	京都産業大学・総合生命科学部・助教	H27, 28
公募	森戸 大介	京都産業大学・タンパク質動態研究所・主任研究員	H27, 28

公募	渡辺 洋平	甲南大学・理工学部・准教授	H27, 28
公募	伊藤 拓宏	国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス 技術基盤研究センター・ユニットリーダー	H27, 28
公募	鶴澤 尊規	国立研究開発法人理化学研究所・伊藤ナノ医工学 研究室・専任研究員	H27, 28

(計画研究 7 課題 14 名、公募研究 20 名)

【領域内の連携状況】

- ・ 田口英樹×千葉志信 (伊藤維昭) : 大腸菌翻訳一時停止の大規模解析 (Chadani *et al* **PNAS** 2016)。
- ・ 田口英樹×今高寛晃 : ヒト因子由来再構築型無細胞翻訳系 (ヒト PURE システム) を用いた翻訳一時停止解析。
- ・ 田口英樹×伊藤拓宏 : リボソーム-新生鎖複合体のクライオ電顕解析。
- ・ 田口英樹×渡辺洋平 : PURE システムによる新生鎖の合成速度の測定解析。
- ・ 稲田利文×富田 (竹内) 野乃 : 酵母因子由来再構築型無細胞翻訳系 (酵母 PURE システム) を利用した NAD, NGD の検証実験。
- ・ 田中元雅×富田 (竹内) 野乃 : 酵母 PURE システムを用いた tRNA リボソームプロファイリングおよび新生鎖の 1 分子力学計測。
- ・ 田中元雅×今高寛晃 : ヒト PURE システムを用いた翻訳状態解析の技術開発。
- ・ 稲葉謙次×今高寛晃 : ヒト PURE システムを用いた翻訳に共役したジスルフィド結合形成の分子機構解析。
- ・ 稲葉謙次 (門倉広) ×河野憲二 : インスリン新生鎖におけるジスルフィド結合形成過程解析。
- ・ 稲葉謙次×千葉志信 : 哺乳動物細胞におけるリボソーム上で翻訳途上にあるペプチジル tRNA の単離。種々の新生鎖と PDI ファミリータンパク質間の相互作用の解析。
- ・ 稲葉謙次×河野憲二×千葉志信 : 分泌タンパク質や膜タンパク質の翻訳速度の制御とジスルフィド結合形成効率の関連。
- ・ 稲葉謙次×稲田利文 : mRNA (NGD) と新生ポリペプチド鎖 (RQC) の品質管理において重要な役割を担う Hel2, Rqt3, Rqt4 の各因子の構造解析。
- ・ 河野憲二×今高寛晃 : ヒト PURE システムを用いた翻訳伸長因子 2 の機能解析。
- ・ 千葉志信×秋山芳展 : ビブリオ菌 VemP の翻訳アレスト機構の解明を行った。その研究成果は論文発表された (Ishii *et al.*, **PNAS** 2015)。
- ・ 千葉志信×秋山芳展 : 翻訳アレスト機構の多様性と使い分け機構の解明。
- ・ 阪口雅郎×今高寛晃 : ヒト PURE システムを用いた新生鎖小胞体標的化抑制因子の機能解析。
- ・ 阪口雅郎×吉久徹 : トランスロコン機能に質的变化をもたらす出芽酵母遺伝変異の網羅的解析。
- ・ 土居信英×田口英樹×千葉志信 : mRNA ディスプレイ法を応用した新規の翻訳アレスト配列の探索。
- ・ 内藤哲×稲田利文 : 植物における翻訳停止とユビキチン化の解析
- ・ 潮田亮×稲葉謙次 : 還元酵素 ERdj5 の還元メカニズム解明
- ・ 森戸大介×田中元雅 : ミステリンのリボソームプロファイリング (マウス)
- ・ 森戸大介×稲田利文 : ミステリンのリボソームプロファイリング (ヒト)
- ・ 伊藤拓宏×今高寛晃 : 終止コドン非依存的翻訳終結の構造基盤

7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1ページ以内）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

【若手ワークショップの開催】 既に3回若手ワークショップを開催している。

第1回 2015年3月8-10日（東京都八王子市）

第2回 2015年9月28-30日（山形県蔵王市）

第3回 2016年5月23-25日（兵庫県淡路市）

【技術ワークショップの開催】

第2回若手ワークショップでは、新生鎖研究に必須だが、国内での研究が十分でない方法論に関して海外から実際に研究を進めている第一線の専門家を招待して技術ワークショップを同時開催した。

クライオ電顕：Thomas Becker (Roland Beckmann ラボ)

リボソームプロファイリング：Shintaro Iwasaki (Nick Ingolia ラボ)



第1回 若手ワークショップ（八王子）

【領域全体会議におけるポスターセッション並びにポスター賞表彰】

領域全体会議に参加した学生・ポスドクなどにポスター発表の機会を設け、班員による投票により、ポスター賞表彰を行っている。

8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1ページ以内）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

田口 英樹：AB Sciex 社 Triple TOF4600（27-30 年度レンタル：総額 2,808 万円） 新生鎖フォルディングの網羅解析のための定量ショットガンプロテオミクスに使用。

田中 元雅：キーエンス社 オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X700（856 万円） 用途：神経細胞での翻訳解析のために、マウス脳へ導入したウイルス由来のタンパク質発現を広角かつ（多くのスライドを）容易に調べるため。

田中 元雅：ライカ社 レーザーマイクロダイセクションシステム LMD6500-3（1,199 万円） 用途：神経細胞での翻訳解析のために、神経細胞内の様々な局所部位を切り出し、翻訳解析を行うため。

田中 元雅：コーンズテクノロジー社 蛍光顕微鏡用 sCMOS カメラアップグレード（679 万円） 用途：出芽酵母の母細胞・娘細胞での局所翻訳を明らかにするために、退色のない高感度での蛍光イメージングを行うため。

田中 元雅：ライカ社 共焦点レーザー顕微鏡システム TCS SP8 HSR（1,205 万円） 用途：神経細胞での翻訳解析のための蛍光イメージングにおいて、細胞内の微細部位での翻訳を明らかにするため。

9. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

【総括班評価体制】 以下の研究組織により本領域の研究方針を策定し、総括班を運営する。研究協力者・海外アドバイザーは、総括班会議、全体領域会議などで本領域の評価と助言を行う。

役割	氏名	所属・職名
評価委員	田中 啓二	東京都医学総合研究所・所長
評価委員	山本 正幸	基礎生物学研究所・所長
評価委員	吉田 賢右	東京工業大学・名誉教授
評価委員	渡辺 公綱	東京大学・名誉教授
評価委員	貫名 信行	順天堂大学・教授
海外アドバイザー	Bernd Bukau	Heidelberg 大学・教授
海外アドバイザー	Judith Frydman	Stanford 大学・教授

【総括班評価者による評価状況】

総括班評価者には、領域全体会議や国際シンポジウムなどに付随して開催している総括班会議に出席をお願いし、領域活動に対する助言をいただき、領域活動に反映させている。

平成26年度：

2014年9月30日に開催した領域発足時のキックオフシンポジウムに評価委員（山本正幸、渡辺公綱、貫名信行）をお招きし、総括班会議にて助言をいただいた。

平成27年度：

2015年10月1日に開催した国際シンポジウム時に開催した総括班会議に渡辺公綱委員に出席いただいた。

【海外アドバイザーによる評価状況】

2015年12月に開催されたBMB2015の「新生鎖の生物学」共催シンポジウムにJudith Frydmanを招待し、領域活動の一端を紹介した。

また、2015年10月1日に開催した国際シンポジウム時には、海外招待演者5名全員にも総括班会議に出席いただき、領域の概要や活動方針を説明した。特に、Kramer博士からは、新学術領域研究という枠組みにて先進性/重要性の高い領域にサポートがあることに対して、たいへん高い評価をいただいた。

10. 今後の研究領域の推進方策（2ページ以内）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募研究での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

領域発足後、「新生鎖」関連研究の重要性や今後の拡がりには国内外でますます認識されるようになってきている。現在までのところ、計画研究を中心に、順調な成果があがり、領域の分野設定など適切だったと考えているが、さらなる研究の強化、新学術という研究プラットフォームを活用した交流、領域内外との連携研究を推進していく。

今後、以下の点に重点をおいて領域を推進していきたい。

【1. 領域内連携の更なる促進】

(1) 共同研究： 領域設定前からの共同研究は当然のこと、領域発足をきっかけとした共同研究が多数産まれてきており、中には田口と千葉（伊藤）との共同研究の成果である大規模な翻訳一時停止解析 (Chadani *et al.* *PNAS* 2016) に見られるように既に成果が得られた共同研究もある（6. 連携状況に詳述）。密な共同研究以外でも、領域会議や若手ワークショップでの発表や班員間交流などをきっかけとした試料の提供や実験技術のノウハウの伝授などは枚挙にいとまがない。このような良い連携の雰囲気維持、さらに加速するために残りの研究期間においてもより一層の交流の機会を設ける。特に、技術ワークショップについてはまだ1回しか実施していないので、今後はより積極的に推進していく。

(2) 情報共有： 新生鎖関連の研究は、ある特定の分野としてはまだ認知されていない。関わる分野も多岐にわたっており、分子生物学、生化学、細胞生物学、構造生物学を軸としながらも現在ではさらに、1分子研究、バイオインフォマティクスなども重要な部分を占めるようになってきている。このような広い分野の最先端情報を班員一人一人がカバーするには限界があるので、**新生鎖研究メーリングリスト**を立ち上げている。このメーリングリストは登録した関連研究者が自由に投稿することができるので、最新文献の紹介、自らの成果発信、さらには試料提供や実験ノウハウの相談なども行っている。

【2. 重点研究領域のさらなる強化】

新生鎖研究に必須だが、現状で国内の研究がまだ十分でない領域がいくつかある。手法的には、次世代シーケンサーを使用したリボソームプロファイリング、クライオ電顕、ショットガンプロテオミクス、内容的には新生鎖が関与する高次生命現象、特に疾患とのリンク、である。

3年前の申請時にも、上記分野の重要性の認識はあり、ある程度は注力していたが、この3年で上記の手法（特にクライオ電顕）は驚くほどの進展を見せているし、病気との関連もますます重要視されるようになってきている。今後は、現在それほど層が厚くない分野に関して、計画班員を中心とした国内外の専門家との共同研究、また、今年度後半に行われる公募班の入れ替え時にも留意し、より一層の重点化を推進する。

【3. 海外との連携・共同研究】

昨年度後半に採択を受けた国際活動支援班のサポートもあり、海外との連携は活発となっている。今後、既存の共同研究に加えて、さらに新しい共同研究がスタートできるよう班員に働きかけていく。

関連して、今年の9月には河口湖で国際会議を予定している。9月1日～3日までの予定で、海外からのスピーカーを10人程度、国内のスピーカー20名程度を予定している。海外のスピーカーについては、すでにこの分野のトップの研究者に依頼を出し、快諾してくれている状況である。学会の規模としては参加者総数150名、ポスター70件程度を予定している。

【4. 若手育成】

本新学術領域研究では、既に3回若手ワークショップを開催しており、学生を含めた若手研究者

の発表の機会とともに、極めてレベルの高い研究成果発表と、活発な討論の場となっている。今後も引き続き、開催したいと考えている。若手の育成，新しい研究グループの支援は，本新学術領域研究の重要な使命であると認識している。

【5. 広報活動】

ニュースレターを既に2号発行し、内外でのミーティングレポートや解説記事など定番のコンテンツはもちろんのこと、第2号では本領域のパイオニアの一人である Randy Schekman 博士 (2013年ノーベル医学生理学賞受賞) のインタビュー記事を載せるなど、内容の濃いニュースレターとなっている。このようなリッチなコンテンツのニュースレター、さらにはウェブサイトも一層の充実を図っていく。



ニュースレター第2号の Schekman 博士インタビュー記事

【領域研究推進するにあたっての問題点】

現在のところ特になし