

領域略称名：クロス生物学
領域番号：21A302

令和6年度
科学研究費助成事業「学術変革領域研究（A）」
に係る中間評価報告書

「クロススケール新生物学」

領域設定期間

令和3年度～令和7年度

令和6年6月

領域代表者 東京大学・大学院医学系研究科・教授・吉川 雅英

目 次

研究組織

1	総括班・総括班以外の計画研究	2
2	総括班・総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者	3
3	公募研究	7

研究領域全体に係る事項

4	研究領域の目的及び概要	10
5	審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	12
6	研究の進展状況及び主な成果	13
7	研究発表の状況	30
8	研究組織の連携体制	35
9	若手研究者の育成に係る取組状況	36
10	アウトリーチ活動に係る取組状況	37
11	研究費の使用状況・計画	38
12	今後の研究領域の推進方策	39
13	総括班評価者による評価	40

研究組織

(令和6年6月末現在。ただし完了又は廃止した研究課題は完了・廃止時現在。)

1 総括班及び総括班以外の計画研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数[2]
X00 総	21H05247 総括班：クロススケール新生物学	吉川 雅英	東京大学・大学院医学系研究科・教授	10
計	21H05248 クロススケール In-cell cryo-ET 技術の開発と上皮組織への応用	吉川 雅英	東京大学・大学院医学系研究科・教授	1
計	21H05249 クロススケール細胞内分子構造動態の実験データ融合モデリング	杉田 有治	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員	2
計	21H05250 細胞内分子構造動態を解明するためのクロススケール In-cell NMR 解析	西田 紀貴	千葉大学・大学院薬学研究院・教授	1
計	21H05251 細胞内分子構造動態を解明するためのクロススケール In-cell AFM 技術の開発	福間 剛士	金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授	3
計	21H05252 細胞内分子の構造・動態・機能相関を調べるためのクロススケール可視化制御技術の開発	水上 進	東北大学・多元物質科学研究所・教授	2
計	21H05253 クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する小胞体恒常性維持機構	稲葉 謙次	九州大学・生体防御医学研究所分子機能制御学部門・教授	2
計	21H05254 クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する細胞骨格ネットワーク構築とその破綻	仁田 亮	神戸大学・医学研究科・教授	3
計	21H05255 クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する体軸形成と恒常性維持	倉永 英里奈	東北大学・生命科学研究所・教授 / 京都大学・薬学研究所・教授	1
計	21H05256 クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する選択的オートファジー始動メカニズム	山本 林	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授	1
計	21H05257 クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明するタンパク質凝集化による神経変性機構	田中 元雅	国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー	1
総括班及び総括班以外の計画研究 計 11 件（廃止を含む）				

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

2 総括班及び総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者

研究項目：X00

研究課題名：総括班：クロススケール新生物学

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	吉川 雅英	東京大学・大学院医学系研究科・教授	研究統括、技術提供
分担	杉田 有治	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員	研究交流担当（海外）、技術提供
分担	西田 紀貴	千葉大学・大学院薬学研究院・教授	若手育成担当、技術提供
分担	福間 剛士	金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授	若手育成担当、技術提供
分担	水上 進	東北大学・多元物質科学研究所・教授	研究交流担当（国内）、技術提供
分担	稲葉 謙次	九州大学・生体防御医学研究所分子機能制御学部門・教授	研究統括補佐、企画担当
分担	仁田 亮	神戸大学・医学研究科・教授	事務担当、企画担当
分担	倉永 英里奈	東北大学・生命科学研究所・教授 / 京都大学・薬学研究所・教授	研究交流担当（国内）
分担	山本 林	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授	広報担当、事務補佐
分担	田中 元雅	国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー	研究交流担当（海外）
合計 10 名			

研究項目：A01

研究課題名：クロススケール In-cell cryo-ET 技術の開発と上皮組織への応用

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	吉川 雅英	東京大学・大学院医学系研究科・教授	研究代表者として研究全体を統括
合計 1 名			

研究項目：A01**研究課題名：クロススケール細胞内分子構造動態の実験データ融合モデリング**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	杉田 有治	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員	クロススケール計算法の開発と実験グループとの連携
分担	笠原 健人	大阪大学・大学院基礎工学研究科・助教	分子シミュレーションの実施
合計 2 名			

研究項目：A01**研究課題名：細胞内分子構造動態を解明するためのクロススケール In-cell NMR 解析**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	西田 紀貴	千葉大学・大学院薬学研究科・教授	研究統括、In-cell NMR 解析
合計 1 名			

研究項目：A01**研究課題名：細胞内分子構造動態を解明するためのクロススケール In-cell AFM 技術の開発**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	福間 剛士	金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授	研究統括
分担	宮田 一輝	金沢大学・ナノ生命科学研究所・准教授	In-Cell AFM・蛍光顕微鏡複合装置の開発
分担	宮澤 佳甫	金沢大学・理工研究域フロンティア工学系・助教	In-Cell AFM による細胞内現象の解析
合計 3 名			

研究項目：A01**研究課題名：細胞内分子の構造・動態・機能相関を調べるためのクロススケール可視化制御技術の開発**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	水上 進	東北大学・多元物質科学研究科・教授	研究総括および機能性分子の開発

分担	藤原 敬宏	京都大学・高等研究院・特定准教授	1 分子超解像顕微鏡測定
合計 2 名			

研究項目：A02

研究課題名：クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する小胞体恒常性維持機構

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	稲葉 謙次	九州大学・生体防御医学研究所分子機能制御学部門・教授	小胞体恒常性維持機構に関する構造生物学的研究と細胞生物学的研究の遂行と総括
分担	渡部 聡	九州大学・生体防御医学研究所分子機能制御学部門・准教授	カーゴ受容体と積荷タンパク質の構造生物学実験の遂行
合計 2 名			

研究項目：A02

研究課題名：クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する細胞骨格ネットワーク構築とその破綻

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	仁田 亮	神戸大学・医学研究科・教授	研究統括、微小管ネットワークのクロススケール解析
分担	中田 隆夫	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授	光遺伝学によるタイムラプスクライオ EM 技術の開発
分担	佐藤 繭子	国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・技師	凍結電子顕微鏡法による細胞～組織レベルへの空間スケールの拡張
合計 3 名			

研究項目：A02

研究課題名：クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する体軸形成と恒常性維持

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	倉永 英里奈	東北大学・生命科学研究科・教授 / 京都大学・薬学研究科・教授	研究代表者として研究全体を統括
合計 1 名			

研究項目：A02**研究課題名：クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する選択的オートファジー始動メカニズム**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	山本 林	日本医科大学・大学院医学 研究科・大学院教授	研究代表者として研究全体を統括
合計 1 名			

研究項目：A02**研究課題名：クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明するタンパク質凝集化による神経変性機構**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	田中 元雅	国立研究開発法人理化学研 究所・脳神経科学研究セン ター・チームリーダー	研究代表者として研究全体を統括
合計 1 名			

3 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
公	22H05523 軸索輸送モーターKIF5Aによる長距離輸送機構と疾患のクロススケール解析	令和4年度 ～ 令和5年度	丹羽 伸介	東北大学・学際科学フロンティア研究所・准教授	1
公	22H05526 メゾ複雑体としてのシナプスの発達様式を統括的に理解するための深層学習による挑戦	令和4年度 ～ 令和5年度	小金澤 紀子	群馬大学・大学院医学系研究科・助教	1
公	22H05527 メゾ複雑体内の1分子構造動態計測のための高速3次元超解像顕微鏡開発	令和4年度 ～ 令和5年度	池崎 圭吾	東京大学・大学院理学系研究科・助教	1
公	22H055232 小胞体-ミトコンドリア接触のメゾスケール構造解析による形態制御メカニズム解明	令和4年度 ～ 令和5年度	平林 祐介	東京大学・大学院工学系研究科・准教授	1
公	22H05534 クロススケール顕微鏡の実現	令和4年度 ～ 令和5年度	藤芳 暁	東京工業大学・理学院・助教	1
公	22H05536 In-cell NMR 構造解析技術の開発とER-Golgi 膜接触領域構造体の解析	令和4年度 ～ 令和5年度	児嶋 長次郎	横浜国立大学・大学院工学研究院・教授	1
公	22H05537 クロススケール核膜孔内選択的分子輸送システムの解明とその破綻	令和4年度 ～ 令和5年度	Richard WONG	金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授	1
公	22H05538 クライオ電子トモグラフィーを用いたバーベック顆粒による免疫防御機構の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	小田 賢幸	山梨大学・大学院総合研究部・教授	1
公	22H05539 繊毛内タンパク質輸送装置とトランジションゾーンのメゾスケール構造-機能相関の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	加藤 洋平	京都大学・薬学研究科・講師	1
公	22H05544 細胞の左右極性を決定するメゾ複雑体の同定	令和4年度 ～ 令和5年度	稲木 美紀子	大阪大学・理学研究科・講師 (当時、現・兵庫県立大学・大学院理学研究科・教授)	1
公	22H05546 メゾ複雑体のストイキオメトリーを計測する超高感度定量プロテオミクス技術の開発	令和4年度 ～ 令和5年度	増田 豪	慶應義塾大学・政策・メディア研究科・特任講師	1

公	22H05549 局所光操作と蛍光寿命イメージングによるシナプス内メゾスケール組織化機構の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	村越 秀治	生理学研究所・脳機能計測・支援センター・准教授	1
公	22H05550 メゾ複雑体が構築する脂質輸送場のクロススケール解析	令和4年度 ～ 令和5年度	的場 一晃	公益財団法人微生物化学研究会・微生物化学研究所・研究員	1
公	22H05551 細胞骨格制御シグナル伝達における細胞内分子構造動態の解析	令和4年度 ～ 令和5年度	柊元 睦子	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・上級研究員	1
公	22H05553 メゾ複雑体ユビキチン液滴が司るタンパク質分解	令和4年度 ～ 令和5年度	土屋 光	公益財団法人東京都医学総合研究所・基礎医学研究分野・主任研究員	1
令和6年度～令和7年度					
公	24H01266 細胞内で区画化されたGPCRシグナル伝達を司るメゾ複合体の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	柳川 正隆	東北大学・薬学研究科・准教授	1
公	24H01269 ミトコンドリアー小胞体接触の形態と大きさの制御機構の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	平林 祐介	東京大学・大学院工学系研究科・准教授	1
公	24H01270 クロススケール顕微鏡から迫る、メゾ複合体の秩序性と生体機能制御	令和6年度 ～ 令和7年度	加藤 孝信	東京大学・大学院医学系研究科・助教	1
公	24H01271 メゾ複雑体顆粒による生殖細胞のゲノムインテグリティ維持機構の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	山崎 啓也	東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・助教	1
公	24H01272 クライオ nanoCLEM で拓くクロススケール新生物学	令和6年度 ～ 令和7年度	藤芳 暁	東京工業大学・理学院・助教	1
公	24H01276 クロススケール核膜孔周辺と核膜孔内の分子輸送システムの解明とその破綻	令和6年度 ～ 令和7年度	Richard WONG	金沢大学・ナノ生命科学研究科・教授	1
公	24H01280 ギャップ結合を介した細胞競合制御メカニズムの遺伝学的解析	令和6年度 ～ 令和7年度	永田 理奈	京都大学・生命科学研究所・特定研究員	1
公	24H01282 Clathrin 被覆部位での HER を基点としたメゾ複雑体の機能解析	令和6年度 ～ 令和7年度	木内 泰	京都大学・医学研究科・准教授	1
公	24H01284 ミオシン I に依存してキラルな細胞変形を誘発するアクチン・メゾ複雑体の研究	令和6年度 ～ 令和7年度	松野 健治	大阪大学・大学院理学研究科・教授	1

公	24H01285 細胞の左右極性を決定するメゾ複雑体の同定	令和6年度 ～ 令和7年度	稲木 美紀子	兵庫県立大学・大学院理学研究科・教授	1
公	24H01286 細胞外小胞のクライオ電子顕微鏡解析に向けた分類と精製方法の確立	令和6年度 ～ 令和7年度	末次 志郎	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授	1
公	24H01289 細胞内分子構造動態解析による神経細胞極性の決定・維持メカニズム解明	令和6年度 ～ 令和7年度	玉川 直	鹿児島大学・歯学部医学系・助教	1
公	24H01290 第3世代 in-cell NMR 測定技術の確立による天然変性蛋白質の細胞内動態解析	令和6年度 ～ 令和7年度	伊藤 隆	東京都立大学・理学研究科・教授	1
公	24H01292 メゾ複雑体の1細胞ストイキオメトリーを可能にする超高感度絶対定量法の開発	令和6年度 ～ 令和7年度	増田 豪	慶應義塾大学・政策・メディア研究科・特任講師	1
公	24H01295 細胞の生死と炎症応答を制御するメゾ複雑体の細胞内分子構造動態の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	森脇 健太	東邦大学・医学部・准教授	1
公	24H01298 2光子分子操作とイメージングによるシナプス分子メゾスケール組織化機構の理解	令和6年度 ～ 令和7年度	村越 秀治	生理学研究所・脳機能計測・支援センター・准教授	1
公募研究 計 31 件 (廃止を含む)					

[1] 公：公募研究

[2] 公募研究は研究代表者が1名で実施

研究領域全体に係る事項

4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる」ものであるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

本研究領域の研究目的

本研究領域の目的は、分子レベルからオルガネラ・細胞レベルまでの定量的クロススケール計測、特に細胞内における 20~500 nm 程度の大きさの「メゾ複雑体」(我々の造語)の計測も可能にすることにより、どのように生命現象や病気の起源を決定するのか?を分子レベルからオルガネラ・細胞レベルまでシームレスに解明しようとするものである。

このクロススケール観察には、最近急速に発展しつつあるクライオ電子線トモグラフィー (Cryo-ET, 吉川)を中心に、超解像イメージング(水上)、In-cell NMR(西田)、In-cell AFM(福岡)を有機的に組み合わせることにより、メゾ複雑体の定量的計測を可能にする。また、複数の手法に使える標識の開発、実験データの統合と解釈の為に大規模計算科学(杉田)を用いる。これによって、バーチャルな「クロススケール細胞計測センター」を創設する。

メゾ複雑体が重要な役割を果たす生命現象は多岐にわたるが、中でも、細胞の基本的な構成要素であるタンパク質・膜の課題として、疾患のもととなるタンパク質の構造異常・品質管理(稲葉、田中)と膜の形・トポロジーを制御する過程(山本、吉川)、およびそれらによって決定される細胞や発生の向きを決めるプロセス(倉永、仁田)、の三領域を計画班とする。これにより、「一見ランダムに見えるメゾ複雑体が、どのように一定の方向に制御されるのか?」という問いに答える細胞生物学の新たなフレームワークを創出したい。公募研究では、クロススケール観察が重要な問題の解決につながる研究領域において、若手研究者を中心に採択し日本全体の研究レベルを底上げする。

研究の学術的背景

分子レベルと、オルガネラ・細胞レベルの時空間におけるギャップ

21世紀に入ってから技術的な進歩により、生命科学における分子レベルでの解析方法は大きな進歩を遂げた。核酸情報を読むコストは劇的に下がり、一細胞毎のシーケンスも可能となっている。さらに疾患のゲノム情報から、その原因となる遺伝子も数多く同定されてきた。また、X線結晶解析、NMR、クライオ電子顕微鏡の進歩により、非常に多くの分子構造が原子レベルで解明されつつある。これらの大きく進歩した分子レベルの研究に共通するのは、誰が実験してもほぼ同じ結果になる定量性と再現性があることである。

一方、メゾスケールからオルガネラ・細胞レベルの現象については、定性的な観察が殆どである。

方法論の限界

これらの問題が未解決なのは、細胞内で「メゾ複雑体」を定量的に計測する手法が、これまでは無かったからである。メゾ複雑体は、我々の造語で、20 nm ~ 500 nm 程度の大きさの、分子の集合・複合体と定義し、本領域の重要なターゲットとする。

メゾ複雑体は、分子レベル (1~20 nm) よりも大きく、オルガネラなどの 500 nm よりも小さなスケール、つまり、20 nm ~ 500 nm 程度の大きさである。この領域は、メゾスケールと呼ばれることが多い。最近、液-液相分離 (LLPS) が生体分子の凝縮体を作る現象として注目されているが、このメゾスケール領域を扱うフレームワークの一つと言える。メゾ複雑体は決まった構造を取っていないものが多く(無秩序)、そこからどのように細胞や生物の運命を決める状態(秩序)へ遷移するのか?というメカニズムについては解明が進んでいない。これは、メゾ複雑体の領域を観察しようとしても、通常の光学顕微鏡で観察するには小さすぎ、逆に、分子を観察する手法である X線結晶

解析や NMR にとっては大きすぎるからである。

定量的クロススケール計測の必要性・重要性

このように、計画班はそれぞれの分野において最先端の顕微鏡技術・計測技術を実践してきているが、一つの方法論だけではメゾ複雑体を含むクロススケールな観察は不可能である。例えば、吉川班は、繊毛の微小管内部に結合するタンパク質 MIPs を Cryo-ET により発見したが、「MIPs が繊毛微小管を安定化する」という働きは、脱重合過程の高速 AFM を用いた直接観察により明らかとなった (*Nat. Commun.* 2019)。

この例からもわかる様に、様々な手法には得手・不得手がある。この例では、Cryo-ET は、空間解像度は高く、MIP の同定はできたものの、時間分解能が無い。一方、高速 AFM は、空間分解能は相対的には低い、微小管が壊れる過程を直接観察できる時間分解能がある。従って、様々な手法を組み合わせ、時間と空間のクロススケール計測を行う必要がある。

これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる点

そこで、本領域ではバーチャルな「クロススケール細胞計測センター」を創設する。大きな目標は以下の三つである。

- (1) 複数の手法で共通して使うことのできる標識技術を開発する。これによって、細胞内でどのタンパク質が三次元上のどこにあり、どのタンパク質と相互作用して、実現しているのか？をクロススケールで計測する。(具体的な標識技術例:形状標識、タンパク質-DNA 標識、細胞内 NMR 用標識など。詳しくは、(C)領域推進の計画概要を参照)
- (2) (1) で開発した標識技術も用いながら、同一の構造・現象を、独立に二つ以上の方法によって計測を行うことで、計測の再現性を定量的に示す(validation)とともに、それぞれの方法でしか計測できない構造・現象を有機的につなげて解釈を可能にする。
- (3) 計画班と公募班の両方について、それぞれの解析技術の専門家と密に議論・共同研究を行い、複数の方法で計測できる体制を作る。

領域設定期間終了後、クロススケール計測で期待される成果

我々はクロススケール細胞計測センターによって、これまでの定性的な細胞観察を、定量的な「数値」として計測し計算機上でモデリングが可能な定量的な科学に変革したい。以下には、期待される成果の例を述べる。

例えば、細胞骨格が誘導する細胞極性・左右軸形成はヒトを始めとする多細胞生物にとって最も基本的な現象である。未分化な細胞の中では、液-液相分離 (LLPS=将来の星状体の中心) の内部で tubulin がリング (=メゾ複雑体) となっている、と試験管内実験から「想定」されている。しかし、現状では細胞内で tubulin ring は観察されておらず、星状体ができる場所、そこから出ていく微小管の方向などから細胞極性が確立するメカニズムは不明である。クロススケール細胞計測センターでは、光学顕微鏡・超解像イメージングによって、tubulin ring (30~40 nm)=メゾ複雑体のできるタイミング・場所を同定し、その分子の組成とおおよその分子の密度を見積もる。そこで、同じ細胞を、Cryo-ET 用グリッド上に凍結し、フォーカストイオンビームで切削する。この際には、光学顕微鏡で決めたターゲットの三次元位置が必須となる。超解像イメージングに使われている蛍光標識には、Cryo-ET で見分けることのできる「形状標識」もついており、膨大な 3D トモグラムの中から計算機が分子を「数える」ことができる。さらに、一定コンフォメーションとして観察が困難な分子の動的状態や分子間相互作用を、In-cell NMR や In-cell AFM により計測する。このような、定量的な計測の結果として、細胞極性・左右軸形成は LLPS 内部(または重合形成中心)におけるメゾ複雑体の成長の微妙な不均一性が、星状体から伸びる微小管の方向・長さやアクチンリングが生じる位置の極性を生み、ポジティブフィードバックにより細胞レベルにまで拡大されることで確立される、という事を示したいと考えている。

5 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、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、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

審査結果の所見

本研究領域は、分子レベルからオルガネラ、細胞レベルまでの連続的な計測、特にメゾ複雑体と名付けた 20-500 nm の大きさを対象にした定量的計測技術の開発を目指すもので、クライオ電子顕微鏡を初め、複数の方法を組み合わせた先端的な計測技術を、標識技術などとともに開発することを計画している。そのような計測法を、分子レベルより大きく、オルガネラより小さいメゾ複雑体に適用して、新たな方法論の創出を目指すことは細胞生物学の重要な視点であり、学問分野に新たな変革や転換をもたらすことが期待される。

各計画研究は新規性や革新性が高く、それぞれの代表者には研究遂行能力の高い研究者を配しており、着実な成果が期待される。領域代表者のリーダーシップも十分に期待できる。計画されている「クロススケール細胞計測センター」が十分な機能を果たして、領域内での有機的連携を促進することが期待されるが、ここでの計測技術には先端的なものが多いため、その円滑な運営にはきめの細かい配慮が求められる。

また、研究領域の全体計画に沿った高質な公募研究が参画することで、領域としての幅を更に広げることとも期待される。

留意事項

クロススケール細胞計測センターは素晴らしい計画である一方、若手人材の育成にも留意して実行することが望まれる。

採択時の所見における指摘事項への対応

バーチャルなクロススケール細胞計測センターの円滑な運営の為に、以下の対応を行っている。(項目 8. **研究組織の連携体制**にも、センターにおける連携の留意事項を詳述する。)

- 月一回の計画班 PI による月例会（オンライン）を行い、共同研究の進捗状況を共有している。
- 3ヶ月毎に公募班も含む全体会議（オンライン）を行い、領域内での共同研究を推進できるよう促している。その成果もあり、現時点で **50 件以上の領域内共同研究が推進**されており、論文成果も出始めている。
- 領域会議（今年度は5月30, 31日開催）では、研究成果だけではなく、今後解きたい問題の提起や、新たな技術の紹介を行い、ポスター発表の時間を十分に設けて、領域内での共同研究を始めるきっかけとしてもらった。

若手人材の育成については、項目 9. **若手研究者の育成に係る取組状況**に詳述するが、大学院生・若手博士研究員の研究素養の育成および准教授以下スタッフの独立・キャリアアップ支援の双方の観点から、様々な取り組みを実践しており、今後も継続していく予定である。

- 若手の会を毎年開催しており、昨年度は12月5日に神戸大学で開催し、28名の大学院生・若手スタッフが発表し、交流を深めた。
- 「クロススケール細胞計測センター」の活用のために、技術班では必ず年1回は技術講習会を行っており、旅費は総括班経費で支援し、領域内から多くの参加者がある。
- 関連学会で共催シンポジウムを開催し、若手研究者の積極的な登壇を支援している。

6 研究の進展状況及び主な成果

(1) 及び (2) について、計画研究及びそれと連携している公募研究ごとに、具体的かつ簡潔に記述すること。
(一つの計画研究及び連携する公募研究で2頁以内)

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果について、(計画研究・連携する公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。)

A01 吉川班「クロススケール In-cell cryo-ET 技術の開発と上皮組織への応用」

(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

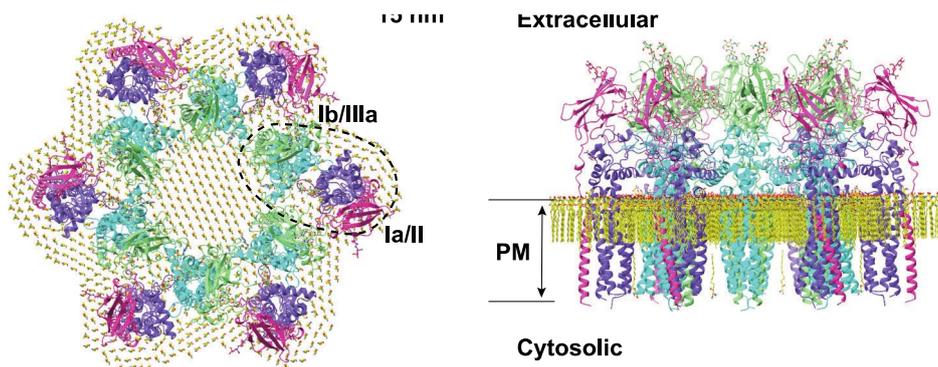
吉川班ではクライオ電子線トモグラフィー (Cryo-ET) を、他の班の技術と統合することにより、細胞内のメゾ複雑体を含むクロススケール計測を可能とする技術開発を行う。これによって、メゾ複雑体の初期状態→遷移状態→最終状態のスナップショットを高解像度で可視化して、細胞内におけるタンパク質分子の分布・構造・状態を解明できると考える。

この目的のため、以下の技術を、上皮細胞をターゲットとして開発をすすめる。

- ① Cryo-ET から得られる構造に基づいて細胞内のタンパク質を同定するビジュアルプロテオミクス技術 (大量の三次元データの処理を杉田班と連携) また、そのハイスループット化
- ② Cryo-CLEM (光学顕微鏡) + FIB-SEM (試料作成用走査型電顕) + Cryo-ET を組み合わせたクロススケール観察法の確立。この為のマルチ計測プラットフォームの開発 (水上班、平林班と連携)

- ① の目標のために、Cryo-ET によって大量のデータを取得し、解析する技術を開発して来ている。例えば、PACE-Tomo と呼ばれるハイスループットな Cryo-ET データ収集法を開発した [業績 12]。また、稲葉班との共同研究によって SERCA2b の新たに三つの中間状態のクライオ電顕構造に成功した ([業績 11, 13] 詳しくは稲葉班の項を参照)。

(2) 計画研究で得られた成果、及び連携している公募研究で得られた成果



公募研究と連携して得られた成果としては、小田班 (公募) との共同研究で得られた尿路上皮の透過性バリア機能に重要な役割を果たす、ウロプラキン複合体の構造が挙げられる。[業績 4]
尿路 (腎盂、尿管、膀胱、尿道) の内側は、移行上皮というユニークな構造で覆われている。

また、尿路の伸展性と透過性バリアに重要な役割を果たしている。我々は、ブタの膀胱から単離した非対称ユニット膜 (AUM) のサリチル酸不溶性画分をクライオ電子顕微鏡を用いて観察することにより、ウロプラキン複合体の構造が明らかになった。このウロプラキン構造体は、UPIa、UPIb、UPII、UPIIIa の 4 つのサブユニットから構成されるヘテロ六量体構造を形成し、UPII および UPIIIa の細胞外ドメインは、特徴的な β シート構造を示していました。面白い事に、複合体の内部には脂質が存在し、その安定性に寄与しています。また、UPIa および UPIb の膜貫通ヘリックスは、結晶性脂質に取り込まれているように見えます。これらのことから、ウロプラキン複合体は、単なる膜タンパク質複合体ではなく、脂質を安定化して、尿路上皮の透過性バリア機能に重要な役割を果たしている「メゾ複雑体」だと考えられる。

この他にも、小田班とは、繊毛内での微小管・翻訳後修飾の一つ、*glutamate* の付加が繊毛の運動、中心微小管の形成に重要であることを示した。[業績 6]

A01 杉田班「クロススケール細胞内分子構造動態の実験データ融合モデリング」

(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

本研究課題では、NMR、Cryo-EM/ET、AFM などによって得られたメゾ複雑体の動的構造に関する情報を利用して細胞内分子構造動態を計算科学的に研究することを目指している。特に領域設定期間内に、20~500nm のメゾ複雑体のモデリングとシミュレーションを実験グループとの協奏により実現することを目指している。中間評価実施時までは、それに必要な計算科学的手法の開発と本研究領域内の共同研究が複数立ち上がっていることが必要である。中間評価実施時までに、メゾ複雑体のモデリングとシミュレーションを行う計算科学的手法を、理研を中心に開発しているマルチスケール分子動力学ソフトウェア GENESIS に導入することができた。この手法についてはすでに論文を発表し、GitHub 上でプログラムを公開している。さらに、本領域内の西田班 (NMR)、稲葉班 (Cryo-EM)、水上班 (化学プローブ) などとの共同研究が進展し、いずれも論文発表を行うことができた。詳細については次のセクションに述べる。

(2) 計画研究で得られた成果、及び連携している公募研究で得られた成果

代表者の杉田 (理研) らは、メゾ複雑体のモデリングとシミュレーションを行う計算科学手法の開発においては、脂質分子の粗視化モデルの改良 (iSoLFv2: Ugarte La Torre, Sugita: *J. Chem. Phys.* 2023 [業績 23]) と、超並列粗視化分子動力学アルゴリズムとプログラム (CGDYN: Jung, Tan, Sugita: *Nat. Commun.* 2024 [業績 19]) を開発した。特に後者によって、100~200 nm³ のサイズの液滴形成のモデリングとシミュレーションを実現しており、メゾ複雑体のシミュレーションを実現した。この手法では、分子動力学ソフトウェア GENESIS に粗視化モデル専用の新たな並列化アルゴリズム (不均一な空間分割と動的負荷分散) を導入することで、空間的密度分布にばらつきがあるような系においても並列化の高いパフォーマンスを維持することができた (図 1)。このプログラムを「富岳」上で活用することで、アミノ酸残基レベルの粗視化モデルを用いた分子動力学で初めて、液滴形成過程における Ostwald ripening 現象を観察することに成功した。今後、このプログラムを用いて、様々な生命現象の解明を行うことができる。プログラムは現在、GitHub 上で公開している。

代表者の杉田ら (理研) は、稲葉班や西田班との共同研究を行い、それぞれ、カルシウムイオンポンプの Ca²⁺脱離過程の構造変化に関する Cryo-EM を用いた解析と HDM2 のリン酸化による天然変性領域の動的な構造に関する NMR を用いた解析に関する全原子分子動力学計算を行い、詳細なメカニズムの解析に貢献した[業績 11, 18]。

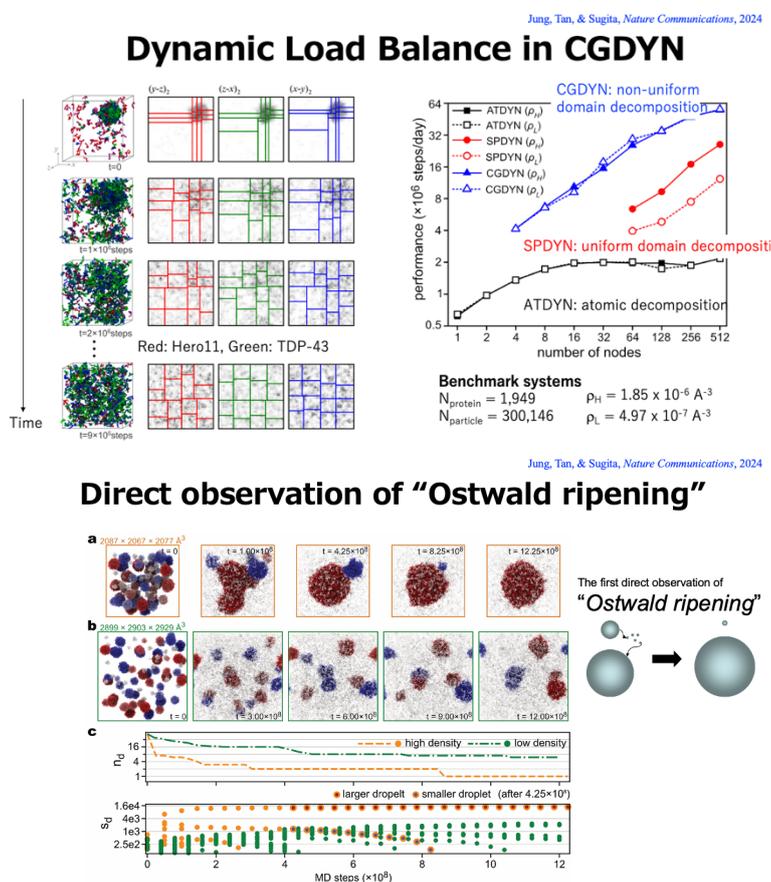


図 1 粗視化分子動力学計算専用の並列化アルゴリズム (CGDYN) の開発 (上)。小さな液滴から大きな液滴へと融合していく過程のシミュレーションに成功 (下)。

分担者の笠原（大阪大学）は、2分子反応理論に立脚して、不均一環境下でのタンパク質-リガンド（薬剤，基質）結合やリガンドの膜透過過程を解析する手法を開発した（図2）。この手法では、結合過程や膜透過過程に存在する活性状態の熱力学・動力学特性をMD法により計算することで、結合の速度定数や膜透過係数を定量化する。この手法を水中における基質分子（BUT，DSS）のタンパク質FKBPへの結合に適用し、長時間MD計算による速度定数をほぼ定量的に再現することを確認した[業績22]。小分子（エタノールなど）の脂質膜透過への適用においても、長時間MD計算とよく一致する膜透過係数が得られており、手法の妥当性が確認できた。また、水上班との共同研究として、光制御リガンドazoMTXとその改良版D-azoPyQMについて、eDHFRに対する結合親和性をMD計算により解析した。その結果、2分子での親和性の差異がタンパク質-リガンド間の静電相互作用形態の違いに主に由来することを明らかにした[業績33]。

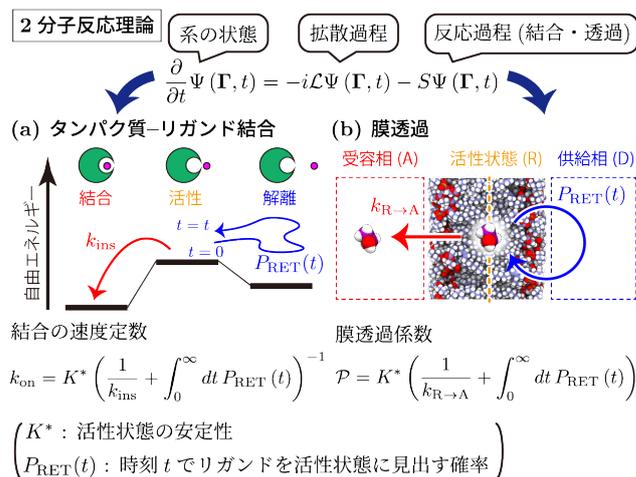


図2 2分子反応理論に基づくタンパク質-結合過程および膜透過過程を記述する方法論の開発。

A01 西田班 「細胞内分子構造動態を解明するためのクロススケール In-cell NMR 解析」

(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

本研究では、細胞内タンパク質の構造情報を原子レベルで観測可能な In-cell NMR 技術をさらに発展させ、細胞内タンパク質の構造ダイナミクスと機能、細胞内制御因子との相互作用、細胞内局所環境における観測を可能とする新たな In-cell NMR 技術を開発し、細胞内で形成されるメゾ複雑体の構造解明に貢献することを目的とする。これまでに、タンパク質の機能と直結した構造ダイナミクスに着目し、In-cell NMR 法を用いて細胞内タンパク質のミリ秒からマイクロ秒スケールの構造平衡を解析した。Rac1 ではマイクロ秒スケールの構造平衡の交換速度や存在割合が細胞内で変調を受けることで、GTP 結合型割合が制御されていることを明らかにした。また、細胞内における特定の制御因子の寄与を定量的に評価するため、細胞内因子をロックアウトした細胞を用いた In-cell NMR 計測法を確立した。細胞内局所環境における観測を可能とするため、 ^{19}F 標識法、区分標識法、哺乳細胞を用いた安定同位体標識法などを In-cell NMR 観測に適用することにも取り組んだ。また、KRAS を実際に細胞膜に局在化させることで細胞刺激依存的な活性化を In-cell NMR 法で観測することができるようになった。以上のように、中間評価までに細胞内生命現象の観測に適用可能な In-cell NMR 観測技術を整備することができた。今後は確立した手法を細胞内の液-液相分離 (LLPS) 形成タンパク質などのメゾ複雑体にも適用して細胞内環境下における機能発現メカニズムの解明を目指す。

(2) 計画研究で得られた成果、及び連携している公募研究で得られた成果

(2-1) Multi-state 構造平衡にあるタンパク質の構造可視化

ガン抑制因子 p53 の分解を制御する HDM2 について、NMR と MD シミュレーションを組み合わせた動的立体構造解析を行った。HDM2 は p53 結合部位が露出した open 構造と N 末端の天然変性領域が p53 結合部位を覆う closed 状態の平衡にあることが知られていたが、我々の NMR 解析により closed 状態内に新たな fast exchange の構造平衡が存在することを見出した。さらに、杉田班との共同研究により拡張アンサンブル法の一つである gREST 法を用いた MD シミュレーションを実施したところ 2 つの closed 状態を可視化することに成功し、その構造やエネルギー状態は NMR で得られた実験データとよく一致するものであった。加えて HDM2 の IDR のリン酸化は closed 状態の構造平衡を変調することで、open 状態への遷移を抑制しており、構造平衡に基づく HDM2 の活性制御機構が明らかとなった (右図、*J. Am. Chem. Soc.* 2024 [業績 18])。さらに現在は細胞内の分子混雑環境における構造平衡を NMR と MD の両面から明らかにすべく研究を継続している。

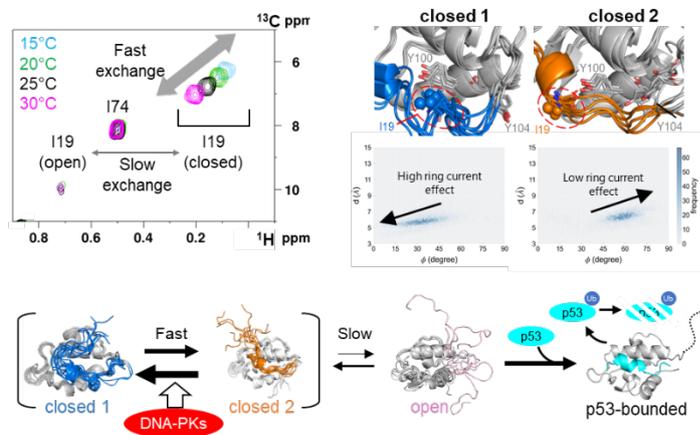


図 NMR と MD 計算によって明らかになった HDM2 の multi-state 構造平衡とその役割

(2-2) 細胞内制御因子との相互作用の定量法

時分割 NMR 法を用いたリアルタイム観測により、RAS をはじめとする低分子量 GTPase の活性 (加水分解速度および GDP-GTP 交換速度) を in vitro および細胞内で計測する手法を確立した (文献 37)。これを活用し、RAS の細胞内制御因子 (GTP 加水分解促進タンパク質 GAP : p120、NF1) をロックアウトした細胞を用いた In-cell NMR 解析を行い、それぞれの GTP 加水分解促進効果を定量的に明らかにした (下図)。さらにこの結果に基づく数理モデルの構築を行った。増田班と連携して質量分析を用いて NF1 の細胞内濃度を定量し、in vitro で決定した酵素パラメーターを用いて細胞内 NF1 の活性のシミュレーション

を行った結果、細胞内の NF1 の活性が *in vitro* よりも低く制御されていることを明らかにした（論文作成中）。また、KRAS（G12C）に対する共有結合型阻害剤（ARS-853）の反応をリアルタイム観測することにも成功し、阻害剤の反応の律速段階である GTP 加水分解が細胞内では促進することで、*in vitro* よりも効率よく反応が進行していることを明らかにした（*Sci. Rep.* 2023 [業績 38]）。

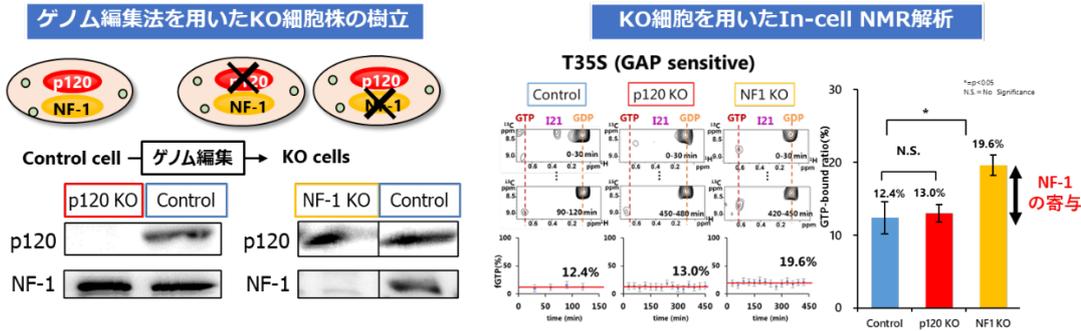


図 In-cell NMR 法を用いた細胞内因子の寄与の定量

(2-3) SARS-Cov2 由来 ORF6 タンパク質の構造解析 (Wong 班との共同研究)

SARS-Cov2 由来 ORF6 は核膜孔タンパク質を介した細胞内輸送を阻害する。公募班の Wong 班において ORF6 の HS-AFM 解析が行われ、ORF6 は粒子状のオリゴマーが数珠つなぎとなったフィラメントを形成することが明らかとなった。Wong 班との共同研究で我々は ORF6 オリゴマーのサイズ排除クロマトグラフィーと NMR を用いた解析を行った結果、オリゴマーを形成した ORF の一部が溶液中ではフレキシブルな構造をとっていることを明らかにした。この領域を介して ORF6 オリゴマーが核膜孔タンパク質 Rael との相互作用に寄与している可能性が示唆された（右図、*J. Phys. Chem. Lett.* 2023 [業績 39]）。今後、核膜孔タンパク質を含めた ORF6 複合体の解析を実施する。

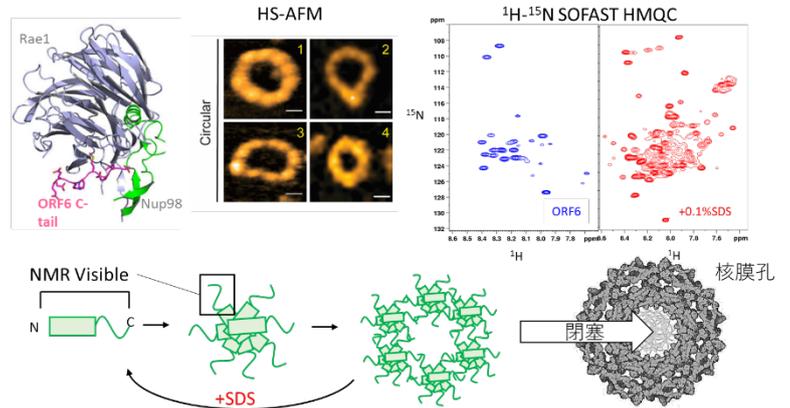


図 HS-AFM と NMR から明らかになった ORF6 オリゴマー構造

A01 福間班 「細胞内分子構造動態を解明するためのクロススケール In-cell AFM 技術の開発」

(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

本研究では、生きた細胞内部の構造、動態、物性をナノレベルで直接計測できる In-Cell AFM（原子間力顕微鏡）技術の開発と、それをを用いた細胞内現象の研究を領域内の研究者と協力して推進することを期間全体の目標としている。特に中間評価までの期間においては、蛍光顕微鏡と In-Cell AFM の複合装置の開発を進め、それらの同時計測を実現することを目標とした。一方で、生物系の計画班メンバーとの間で、In-Cell AFM だけでなく高速 AFM、FM-AFM、3D-AFM などの金沢大学ナノ生命科学研究所（WPI-NanoLSI）が誇る世界最先端のバイオ AFM 技術を用いた共同研究の可能性を広く探索し、有望なテーマを見出すことも目標としている。現在（中間評価）までのところ、装置開発、応用研究ともに、計画通り順調に進展している。

A01 水上班 「細胞内分子の構造・動態・機能相関を調べるためのクロススケール可視化制御技術の開発」

課題 I. 細胞内局所化学環境の定量イメージング技術の開発

課題 I では、メゾ複雑体の周辺環境を定量的に調べるための基盤技術開発として、研究代表者が開発してきた細胞内局所イメージング技術を発展させて、細胞内局所の化学環境の定量イメージング技術を開発する。領域設定期間における達成目標は、細胞内局所の化学種の定量マップ作製 (I-1)、複数化学種の同時定量イメージング (I-2)、および 3 次元および 4 次元定量イメージング (I-3) である。中間評価実施時までには、上記の目標の半数を達成することを目指した。

(I-1) については、細胞内亜鉛イオンの定量マッピング (*ACS Sens.* 2022 [業績 63]、稲葉班との共同研究)、および有糸分裂時の核内マグネシウム濃度変動解析 (*Chem. Commun.* 2023 [業績 60]) に成功した。(I-2) については、 Ca^{2+} と Zn^{2+} の同時イメージング、ローダミン骨格の赤色蛍光亜鉛プローブを新たに開発し、リソソーム内と細胞内の亜鉛イオンの同時イメージングを達成した。(I-3) については、低分子蛍光プローブと蛍光蛋白質のハイブリッドプローブを用いることで、細胞内亜鉛イオンのタイムラプス定量イメージングを達成した。(I-2) については異なる化学種 (特に pH と Zn^{2+}) の同時定量イメージング、(I-3) についてはタイムラプス 3D 定量イメージングについては未達の為、残りの研究期間中の達成を目指す。

課題 II. 機能性分子に基づくマルチ計測・制御プラットフォーム技術の開発

課題 II では、化学的な手法に基づいた細胞内のメゾ複雑体の可視化制御技術を開発する。領域設定期間の達成目標は、同一細胞内の構造体を蛍光顕微鏡と電子顕微鏡で可視化するための標識技術開発 (II-1)、および光応答性分子によって細胞内の任意の場所・時間で液滴を発生させる技術の開発 (II-2) とした。中間評価実施時までには、電子顕微鏡観察のための標識技術開発 (II-1)、および光機能性分子による細胞内蛋白質の光二量化技術の確立 (II-2) を設定し、同時並行で研究を進めた。

(II-1) では、細胞内で金属蛋白質を連結する低分子および蛋白質モジュールを設計し、電顕標識タグの作成検討を行い、電子顕微鏡観察で識別可能なサイズの有機/無機複合構造体の生成が確認できた (吉川班・公募班の平林班との共同研究)。(II-2) については、光応答性化学二量化剤を開発し、マイトファジーの進行を光で精密に制御することに成功した (*Nat. Chem. Biol.* 2024 [業績 55]、山本班との共同研究)。また、二量化剤中の光応答性リガンド部位の改良を行い、内在性蛋白質への影響の軽減や、熱安定性および光制御効率の改善を達成した (*ACS Chem. Biol.* 2023 [業績 33]、杉田班との共同研究)。また、生細胞内の任意の場所・時間において瞬時に液滴を生成・消滅させる技術を開発した (山本班との共同研究)。

課題 III. 高速 1 分子超解像技術の開発と細胞内メゾ複雑体のライブイメージング

課題 III では、メゾ複雑体の構造機能相関の解析のために、生細胞内メゾ複雑体の超解像蛍光観察技術を開発する。1 分子局在化顕微鏡法 (Single-Molecule Localization Microscopy: SMLM) は、最も空間分解能が高い観察法の 1 つであるが、1 枚の超解像画像の取得に通常数分以上かかるため、生細胞観察への応用は限られていた。そこで、機能性プローブ開発 (水上) および最先端計測技術開発 (藤原) の融合による高速 1 分子超解像イメージング技術の開発 (III-1)、および細胞内メゾ複雑体の超解像ライブイメージング (III-2) を目的とした。中間評価実施時までの目標として、高速ブリンキング色素の開発 (III-1)、細胞膜上のメゾ複雑体の超解像観察 (III-2) を設定し、同時並行で研究を進めた。

(III-1) では、シリコンローダミンを母骨格とし、現時点で最速のカメラスピードに対応したブリンキング特性を持つ蛍光色素を開発に成功した。また、化合物の構造によってブリンキング速度を制御可能なブリンキング色素の新たな設計原理を確立し、ミトコンドリア構造の高速 1 分子超解像イメージングに成功した (水上・藤原による領域内共同研究)。(III-2) において研究分担者 (藤原) は、時間分解能 0.1 ms

以上での1蛍光分子イメージングを実現するカメラシステムを開発し (*J. Cell Biol.* 2023 [業績 59])、2色同時 SMLM (dSTORM/PALM) 観察に応用することにより、超解像画像の取得を10秒程度に短縮することに成功した。この技術により、ミクロンスケールの細胞膜構造で、細胞運動の足場となる接着斑においては、構成分子のタリンとパキシリンがそれぞれ直径約30 nmの島(クラスター)を形成し、これらの島が直径約300 nmの領域にゆるやかに集合していることが(図1上)、さらに、受容体分子の超高速1分子追跡と組み合わせることにより、接着斑の構造が、アクチン膜骨格の仕切りを足場として、メゾスケールで階層的に組織化されていることが明らかになった(図1下、*J. Cell Biol.* 2023 [業績 58])。また、研究分担者は、光安定性が従来の蛍光タンパク質と比較して10-100倍高い、新規緑色蛍光タンパク質 StayGold の開発に貢献した (*Nat. Methods* 2024 [業績 56], *Nat. Biotechnol.* 2022 [業績 62])。構造化照明顕微鏡法(SIM)により、メゾ複雑体の動態の超解像分解能での長時間観察が可能になり、クロススケール計測基盤技術の大幅な改善を得た。今後は、1ミリ秒オーダーの高速ブリンキングと光安定性を兼ね備えた dSTORM プローブの開発により、1秒毎の超解像画像を数10秒間にわたって取得できる技術の開発を推進する。

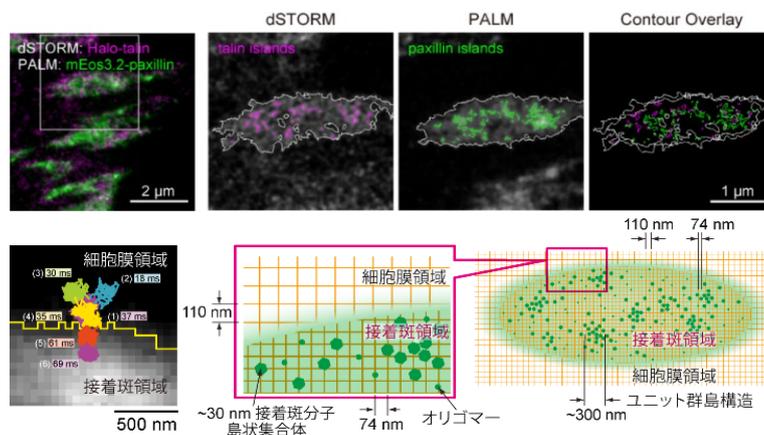


図1. 2色同時生細胞SMLM観察と高速1分子追跡で明らかになった、接着斑のメゾスケール階層構造

SPCA1 についても現在、細胞内分子構造と生理機能の解明に向けたクロススケール計測を行うため、ゲノム編集により SPCA1a ノックアウト細胞ならびに各種タグを SPCA1a 遺伝子に導入したノックイン細胞の構築が完了している。さらに、小胞体およびゴルジ体のカルシウムの定量ライブセルイメージングを行うための実験系も構築済みであり、小胞体とゴルジ体のカルシウム恒常性維持機構に関する興味深いデータを取得中である。

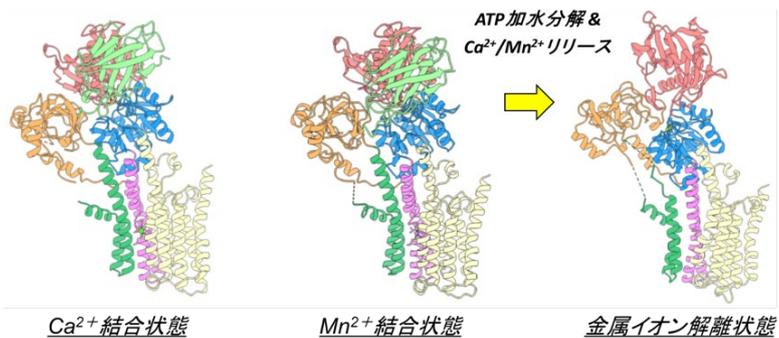


図 ゴルジ体カルシウムポンプ SPCA1a のクライオ電顕構造

(2-3) クライオ電顕が明らかにしたカーゴ受容体 ERGIC-53 全長の構造と作用機序

本領域期間の前半に、分泌タンパク質の細胞内輸送の中心であるカーゴ受容体 ERGIC-53 について、その補助因子 MCFD2 との複合体の立体構造をクライオ電子顕微鏡単粒子解析により決定した。構造解析の結果、全長構造はヘッド領域、ストーク領域、膜貫通領域で構成されており、四葉のクローバーに類似した全体構造をとることが分かった (右図)。また取得した電顕データの解析結果から、ERGIC-53 全長のダイナミックな構造変化を可視化することにも成功し、ERGIC-53 の柔軟な構造変化を利用したカーゴ認識機構が明らかになった。並行して、ERGIC-53-MCFD2 複合体のヘッド領域にフォーカスした高分解能での構造解析によって、MCFD2 中に亜鉛結合部位が存在することを発見した。以上の結果から、ストーク領域の柔軟性と亜鉛を介したカーゴ輸送制御の分子機構を提唱した (*Nat. Commun.* 2024 [業績 65])。

現在、カーゴと ERGIC-53 との複合体を、ほぼ細胞内の状態のまま取り出すための技術開発に取り組んでおり、カーゴとカーゴ受容体との複合体のクライオ電子線トモグラフィーによる構造解析を、吉川班との共同研究で取り組む予定である。また ERGIC-53 の細胞内サイクルの様子を水上班との共同研究により生細胞の超解像顕微観察等により高空間分解能で可視化することにも取り組む予定である。以上のアプローチにより、カーゴ受容体を介した小胞体からゴルジ体へのタンパク輸送の全容解明に迫る。

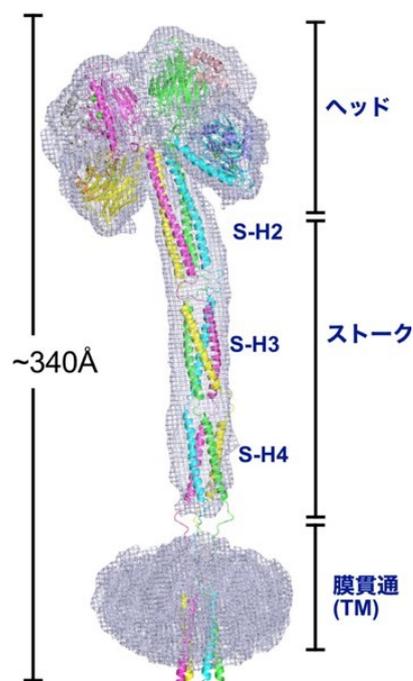


図 全長 ERGIC-53 のクライオ電顕構造

A02 仁田班 「クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する細胞骨格ネットワーク構築とその破綻」

(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

本計画研究では、領域設定期間内に3種の細胞骨格ネットワーク「微小管、アクチン、ラミン」がどのように形成され、維持され、またどのような分子構造変化の結果で破綻を来すのか、その構造動態を高い時空間分解能で明らかにすることを目的とし、以下の3課題を設定した。全体として、計画班内の3研究室の連携およびクロススケール計測センターを利用した技術班・公募班との連携が効率的に進み、中間評価までに3課題とも想定以上の進捗で研究が進展しており、国際一流誌への論文掲載も進んでいる。

1.非中心体性微小管ネットワークの構築過程をクロススケール計測で解明する：福間班、丹羽班、杉田班との領域内共同研究で、tubulin が濃縮される相分離=メゾ複雑体の中で起こる反応のクロススケール計測に成功し、これまで見ることが不可能であった微小管ネットワーク形成過程を原子分解能動画として再現することに成功した（業績74 および論文執筆中）。来年度までに HeLa 細胞内での同ネットワーク形成過程を可視化すべく、In-cell cryo-ET および In-cell AFM の準備を進めている。

2.光遺伝学によるタイムラプス In-cell cryo-ET 技術を開発し、葉状仮足内のアクチンメッシュワークの形成機構を解明する：中田と仁田との計画班内共同研究により、タイムラプス凍結用の急速凍結装置を Vitrobot MARK IV (Thermo Fisher Scientific) を改良して自作し、COS7 細胞を利用したアクチンメッシュワーク形成のタイムラプス Cryo-ET 撮影に成功した（論文執筆中）。来年度までには、マウス海馬初代培養神経細胞を用いた軸索成長端のタイムラプス撮影に取り組む。

3.分子から個体のクロススケール解析法を開発し、ラミン変異による遺伝性拡張型心筋症の病態を解明する：仁田と佐藤との計画班内共同研究により、高圧凍結・凍結置換法によるマウス心臓・ヒト iPS 心筋細胞の構造解析手法を確立し、ラミン変異による遺伝性拡張型心筋症の分子機構を解明した（業績72）。来年度までには、患者由来 iPS 心筋細胞の In-cell Cryo-ET のデータ取得を行い、サブナノメートルの解像度での疾病の解析手法を開発・解明する。

(2) 計画研究で得られた成果、及び連携している公募研究で得られた成果

既に執筆した論文のうち、重要なものを抜粋する。

業績72（計画班内共同研究）：上述3のテーマで、ラミン変異遺伝性拡張型心筋症が、ラミン変異によるクロマチン繫留異常で遺伝子発現異常が誘導され、心筋細胞が未熟な形態を来すために発症することを解明した。

業績73（丹羽公募班との共同研究）：上述1のテーマで、微小管の長さを調節する分子モーターKinesin-4の作用機序を TIRF, Cryo-EM, X線結晶学, 線虫遺伝学など、個体～原子にいたる幅広い空間軸の解析法を駆使して解明した。

業績74：（丹羽公募班との共同研究）：上述1のテーマで、非中心体性微小管の形成が、微小管結合タンパク質 CAMSAP の相分離から誘導されることを細胞生物学・構造生物学・生物物理学で融合研究により解明した。

A02 倉永班 「クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する体軸形成と恒常性維持」

(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

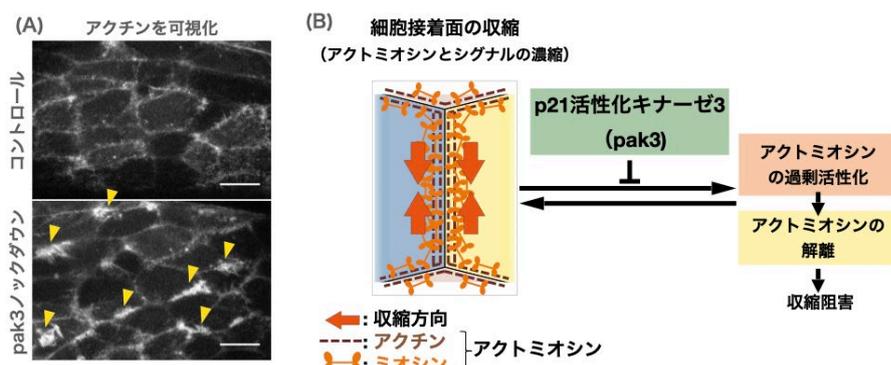
本研究では、上皮組織における細胞の集団移動における「左右軸」と「動的恒常性」を制御する細胞骨格ネットワークの構造動態を明らかにすることを期間全体の目標としている。研究代表者が注目する *in vivo* 集団細胞移動における細胞接着リモデリングの際には、細胞接着面がパルス状に収縮してリモデリングを実行する。このパルス状収縮を制御することが示唆される動的構造体“アクチン foci”に注目し、それらが細胞接着面を収縮させる集合体（メゾ複雑体）となる制御機構・分子構造・周囲との相互作用を解明することで、(1) 細胞運動の「動的恒常性」が維持される仕組みを解明する。加えて(2) 細胞の「左右軸」を制御するメゾ複雑体を解明するために、ショウジョウバエ左右軸形成に重要な MyoID 依存的に形成される“アクチンリング”の構造動態を解析することで、体軸に沿った組織形成を支えるメゾ複雑体の分子実体解明を目指す。中間評価までの目標として、①「動的恒常性」を維持するために必要なアクチン細胞骨格の制御機構の解明、②細胞の「左右軸」を制御するメゾ複雑体の実態解明を設定している。これまでにアクチン細胞骨格動態と制御機構の解明に関する研究を国際誌 (*Nat. Commun.* 2022, *Life Sci. Alliance* 2023, *Mol. Biol. Cell* 2024[業績 82, 80, 76]) に研究成果を発表するだけでなく、挑戦的な課題である”アクチンリング”の構造解析も共同研究により進展している。その他、上皮細胞の「動的恒常性」を支える細胞骨格ネットワークに細胞外マトリクスの関与が新たに見出されており、当初の研究計画から発展した新規課題に着手している。

(2) 計画研究で得られた成果、及び連携している公募研究で得られた成果

(2-1) 上皮細胞集団移動を支えるアクチン細胞骨格の制御機構の解明

上皮組織は、上皮細胞と呼ばれる細胞が密接に接着した状態で構成されている。発生過程において上皮組織内の上皮細胞が同一方向に集団移動することで、シート状の上皮組織を折りたたみ、伸長・陥入・移動などの変形を行い、複雑な器官を作り上げる。上皮細胞が接着したまま集団移動するメカニズムとしては、上皮細胞をつなぐ接着部分でアクトミオシンが偏って集積することで、細胞同士のつなぎ替えが連続して起こり、上皮細胞が集団移動する原動力となっている (*Nat. Commun.* 2015, *Dev. Cell* 2019)。つなぎ替えの仕組みとして分かっていたことは、①隣り合う細胞の細胞接着面にアクトミオシンが集積すると、その細胞接着面は短縮し、②やがて消失して4つの細胞が1点で接する点を形成し、③さらに、この接合点から新たな細胞接着面が、元の接着面とは垂直方向に伸張する、ということであった。

この①の過程において必要なアクトミオシン制御因子を遺伝学的スクリーニングにより探索し、p21 活性化キナーゼ3 (pak3) を同定した (*Nat. Commun.* 2022[業績 82])。細胞接着部分を収縮させる際に pak3 が不足すると、アクトミオシンを集積させたシグナルが濃縮して異常な細胞骨格応答が起こり、アクトミオシンが一時的に解離して収縮を妨げることが明らかになった (右図 A)。このことから、pak3 は収縮によって過剰に濃縮されたアクトミオシン活性化シグナルを沈静化する機能を持つことが示唆された (右図 B)。



この研究から、細胞のつなぎ替えをおこすための細胞接着面の収縮は、収縮させると同時にアクトミオシンが濃縮することで異常応答して収縮を妨げていること、pak3 がそのような異常応答を解消することで、細胞接着面のつなぎ替えがスムーズに起こることが分かった。この仕組みにより上皮細胞が集団移動することが可能となり、上皮組織が複雑な形の器官を作り上げる原動力となっていると考えられる。

(2-2) 細胞接着の動的維持機構におけるアクチン細胞骨格の自己組織化を制御するメカニズムの解明

細胞が集団移動する際には、細胞間に力学的ストレスが発生し、それらに応答・解消することで継続的な動態を維持することが可能である。そのメカニズムを知る手がかりとして、哺乳類培養細胞の細胞接着における力覚応答分子に注目し、細胞接着の形成と維持を支える動的メカニズムとして、PLEKHG4B の関与を示した (*Mol. Biol. Cell* 2024 [業績 76])。PLEKHG4B は Cdc42 を標的とするグアニンヌクレオチ

ド交換因子（GEF）であり、細胞間の力学的摂動に反応して細胞接着部に局在した。PLEKHG4B はカルシウム濃度が通常の培地において細胞の基底側に局在していたが、イオノマイシン処理によって細胞接着部に移動し、この移動はアネキシン A2（ANXA2）との結合を介することが明らかになった。重要なポイントとして、メカノセンシティブイオンチャネル（MSC）がカルシウム流入を介して PLEKHG4B を細胞接着部に局在することにより、細胞接着部のアクチン細胞骨格が強固に組織化されて安定化することが明らかになった。この研究により、細胞間にかかる力学的ストレスが細胞接着やアクチン骨格のダイナミクスに大きな影響を与えることが明らかになり、それらを回避するメカニズムの存在が示唆された。

A02 山本班 「クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する選択的オートファジー始動メカニズム」

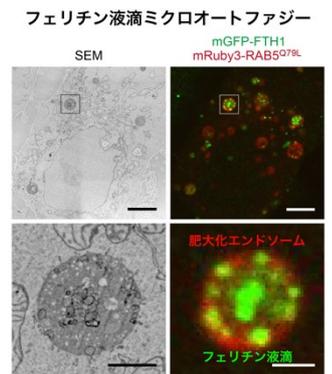
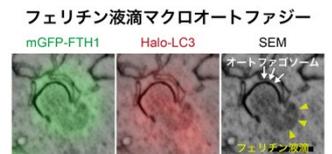
(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

本研究では、選択的オートファジーにおける「液滴と膜の動的な相互作用」に着目し、液滴選択的オートファジーの膜動態・始動・制御の分子メカニズムを解明することを期間全体の目標としている。中間評価までの目標として、①膜動態が異なる2つのオートファジー経路であるマクロオートファジーとマイクロオートファジーで、フェリチンが共通基質になる分子メカニズムの解明、②液滴オートファジー定量法とスクリーニング系の確立、③液滴と膜の相互作用や液滴物性の In-cell 計測に向けた実験条件の最適化の3つを設定している。すでに国際誌 (*J. Cell Biol.* 2022, *eLife* 2022[業績 91, 90]) やプレプリント (*bioRxiv* 2023) に研究成果を発表するなど、3課題とも順調に進展しているほか、疾患に関連する液滴のマイクロオートファジーが新たに見出されるなど、当初の研究計画から発展した新規課題の設定にも至っている。

(2) 計画研究で得られた成果、及び連携している公募研究で得られた成果

(2-1) 2つのオートファジー経路への仕分けと選択的オートファジー始動メカニズムの解析

鉄貯蔵タンパク質フェリチンがマクロオートファジー（オートファジー）とマイクロオートファジー（エンドソームの多胞体経路に相当）の2つの経路で分解されるメカニズムを解析し、フェリチンが NCOA4 依存的に液滴を形成した後、オートファジーアダプターである TAX1BP1 に認識されることで、マクロオートファジーとマイクロオートファジーの共通基質になることを明らかにした。3D-CLEM 解析により、オートファゴソーム膜がフェリチン液滴に密着するように伸展する「液滴マクロオートファジー」の特徴が捉えられ（右図上）、さらに、フェリチン液滴がエンドソーム内腔に取り込まれている様子が観察されたことから（右図下）、「液滴マイクロオートファジー」を新たに定義した (*J. Cell Biol.* 2022 [業績 91])。タンパク質スケールの解析から液滴や膜のメゾスケールの解析まで展開することで、マクロオートファジーとマイクロオートファジーの関連を明らかにした革新的な研究成果である。

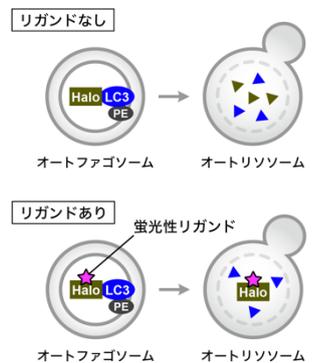


TAX1BP1 の解析から TAX1BP1-SCAMP3-ATG9 相互作用を見出し、TAX1BP1 がオートファゴソーム形成に必要な最初の構造体である ATG9 小胞をリクルートすることで、オートファゴソーム形成の始動ステップを制御することを明らかにした (*bioRxiv*, DOI:10.1101/2023.08.18.553817、論文改訂中)。

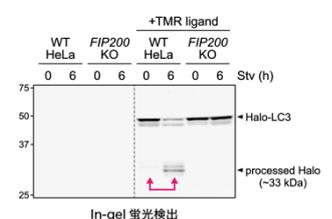
水上班との共同研究により、マイトファジーを光照射で誘導する系を確立し、PINK1 がミトコンドリア外膜に局在化してから、Parkin をリクルートしてマイトファジーを始動するまでに閾値（実験的には時間的な閾値）があることを明らかにした (*Nat. Chem. Biol.* 2024 [業績 55])。

(2-2) 新規蛍光プローブを利用した液滴オートファジー定量法とスクリーニング系の確立

哺乳類培養細胞ではこれまでオートファジー活性を高感度に定量する方法がなかったが、リガンド共有結合型のタンパク質タグである HaloTag を利用することで、オートファジー活性を高感度に定量できる「HaloTag processing assay」を開発した (*eLife* 2022 [業績 92])。HaloTag はリガンド共有結合に依存してリソソーム内での分解に耐性となるため（右図上）、オートファゴソーム膜に局在する LC3 に HaloTag を付加すると、オートファジー活性に依存した量の processed HaloTag を生じる（右図下、両矢印の差がオートファジー活性を示す）。HaloTag をミトコンドリアタンパク質に付加することで、マイトファジー活性を定量することが可能になるなど、本方法は汎用性が極めて高く、すでに多くの論文で使われている。



HaloTag processing assay をフェリチン液滴オートファジーの高感度定量に応用するため、NCOA4 に HaloTag を付加し、課題 2-1 で得られた変異体と組み合わせることにより、フェリチン液滴のマクロオートファジーとマイクロオートファジーを別々に定量する方法を開発した。マイクロオートファジー活性の定量法は前例がなく、本研究の進展に必須の研究成果である。



(2-3) オートファゴソーム膜変形を促す因子の In-cell 解析

共に液滴オートファジーの分解標的となるフェリチン液滴とユビキチン液滴について、膜との相互作用の解析や液滴物性の In-cell 計測を行うための条件検討として、液滴構成因子の解析とマクロオートファジーおよびマイクロオートファジーによる分解の定量化、誘導条件の決定を行った。フェリチン液滴とユビキチン液滴の構成因子を同定した後、個々の因子について薬剤誘導性発現細胞を作成し、これらの液滴同士が隣り合った状態を効率的に作り出す方法を確立した。また、課題 2-2 で開発したフェリチン液滴オートファジーの高感度定量法を使い、通常培養下ではマイクロオートファジーが亢進し、鉄イオン欠乏や飢餓条件下ではマクロオートファジーが亢進することを明らかにした。隣り合ったフェリチン液滴とユビキチン液滴の固さや流動性の In-cell 計測・比較は福間班との共同研究で進めている。

A02 田中班 「クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明するタンパク質凝集化による神経変性機構」

(1) 領域設定期間及び中間評価までの目標と、中間評価までの進展状況

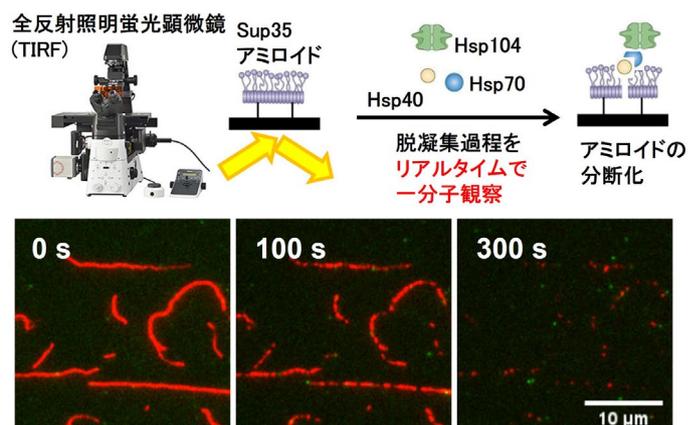
我々は、細胞生命現象としてタンパク質凝集体の構造と生成・脱凝集機構の理解を通して神経変性疾患の発症機序解明を目指している。特に、認知症などの多くの神経変性疾患では脳内で線維状のタンパク質凝集体であるアミロイドが蓄積する。細胞内のアミロイドは構造、サイズ、局在が多様な“メゾ複雑体”であり、その分布の違いは異なる細胞機能障害や毒性をもたらす。そのため、アミロイド構造の多様性に焦点をあてアミロイドの生成・脱凝集過程を理解することは疾患メカニズムを解明することを目指す。これまでの期間で、クロススケール細胞計測センターにおける共同研究を通して、アミロイドの構造に依存した線維分断過程を明らかにしてきた。また、疾患死後脳内に存在するアミロイド線維をリコンビナントのタンパク質から作製する革新的な技術を開発し、その病理学的影響を細胞やマウスを用いて見出してきた。以上から、本研究はおおむね順調に進んでいると考えている。

(2) 計画研究で得られた成果、及び連携している公募研究で得られた成果

(2-1) シャペロン群による Sup35 アミロイドの脱凝集過程の解析

細胞内で生じるアミロイドの脱凝集過程を再現できる新規な再構成系を開発した。特に、酵母プリオン Sup35 の研究では、アミロイド線維に Hsp70/Hsp40 である Ssa1/Sis1 が最初に結合し、その後に Ssa1/Sis1 が結合した場所に Hsp104 が結合・解離を繰り返すことで脱凝集が生じることを全反射照明蛍光顕微鏡などの解析から明らかにした (右図、*Nat. Chem. Biol.* 2022 [業績 86])。また、アミロイドを分解できる新規な実験系を構築し、Ssa1 部位をタグとすることで、アミロイドのコアが野生型とは全く異なる構造をもつアミロイドに対して分解できることを示した (Shen *et al.* 投稿中)。

この実験系を哺乳動物へと拡張し、アルツハイマー病 (AD) やパーキンソン病の原因のひとつであるタウや α シヌクレインのアミロイドに関して、哺乳動物のシャペロン群で効率よく脱凝集できる実験系を開発し、アミロイド構造の差異によって、脱凝集の効率が顕著に異なることを見出した。水上班との共同研究で、ライブセルイメージングによる動態解析を進める予定である。



7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、主催シンポジウム等の状況。令和6年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に*印を付すこと。

本領域では、これまでに計画班 10 班で論文 80 報と総説 14 報、公募班 15 班で論文 24 報と総説 4 報を発表している。

計画班 A01 吉川班（研究代表者：吉川雅英）

1. Tani Y, Yanagisawa H, Yagi T, *Kikkawa M. (2024) *Cytoskeleton* PMID: 38899546
2. Morikawa M, Yamaguchi H, *Kikkawa M. (2024) *Life Sci. Alliance* PMID: 38876797
3. Goto S, 8 名省略, *Nishizawa T, *Kikkawa M., *Saito A. (2024) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* PMID: 38771880
4. Yanagisawa H, Kita Y, *Oda T., *Kikkawa M. (2023) *Commun. Biol.* PMID: 37805589
5. Bui HB, Watanabe S., 9 名省略, Kikkawa M., *Inaba K. (2023) *Nat. Commun.* PMID: 37553324
6. *Kubo T, Tani Y, Yanagisawa HA, Kikkawa M., *Oda T. (2023) *J. Cell Sci.* PMID: 37519241
7. Yamaguchi H, Morikawa M, *Kikkawa M. (2023) *eLife* PMID: 37057896
8. Chen Z, Watanabe S., Hashida H, Inoue M, Daigaku Y, Kikkawa M., *Inaba K. (2023) *Sci. Adv.* PMID: 36867705
9. *Ito C, Makino T, Mutoh T, Kikkawa M., *Toshimori K. (2023) *Sci. Rep.* PMID: 36804949
10. Takeda H, 11 名省略, Kikkawa M., *Pfanner N, *Wiedemann N, *Endo T. (2023) *Nat. Struct. Mol. Biol.* PMID: 36604501
11. Zhang Y, 2 名省略, Watanabe S., Tsutsumi A, Kikkawa M., Sugita Y., *Inaba K. (2022) *Cell Rep.* PMID: 36476867
12. Eisenstein F, Yanagisawa H, Kashihara H, Kikkawa M., Tsukita S, *Danev R. (2023) *Nat. Methods* PMID: 36456783
13. Zhang Y, Watanabe S., Tsutsumi A, Kadokura H, Kikkawa M., *Inaba K. (2021) *EMBO J.* PMID: 34459010
14. *Danev R, Yanagisawa H, *Kikkawa M. (2021) *Microscopy* PMID: 33969878
15. *Kikkawa M. (2023) *FEBS Lett.* PMID: 37599096（総説）
16. *Kikkawa M., Yanagisawa H. (2022) *Microscopy* PMID: 35275186（総説）

主な学会発表（招待講演）

Kikkawa M. The 20th International Microscopy Congress, Sep. 2023 (Busan, Korea)

Kikkawa M. 第2回タンパク質シンポジウム、2024年1月（東京）

Kikkawa M. International Union for Pure and Applied Biophysics, June 2024 (Kyoto, Japan)

書籍：(1) 吉川雅英「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2（日本顕微鏡学会誌「顕微鏡」に本領域の特集を掲載）

計画班 A01 杉田班（研究代表者：杉田有治、研究分担者：笠原健人）

17. Lei YK, Yagi K, *Sugita Y. (2024) *J. Chem. Phys.* PMID: 38828815
18. Watanabe K, Zhao Q, 2 名省略, Ren W, *Sugita Y., *Nishida N. (2024) *J. Am. Chem. Soc.* PMID: 38549219
19. Jung J, Tan C, *Sugita Y. (2024) *Nat. Commun.* PMID: 38643169
20. Ito S, *Sugita Y. (2024) *Biophys. Chem.* PMID: 38290241
21. Yu I, Mori T, Matsuoka D, Surblys D, *Sugita Y. (2024) *J. Comput. Chem.* PMID: 37966727
22. *Kasahara K., Masayama R, Okita K, Matubayasi N. (2023) *J. Chem. Phys.* PMID: 37787130
23. Ugarte La Torre D, Takada S, *Sugita Y. (2023) *J. Chem. Phys.* PMID: 37581417
24. Jung J, Kobayashi C, *Sugita Y. (2023) *J. Comput. Chem.* PMID: 37141320
25. Dokainish HM, *Sugita Y. (2023) *Biophys J.* PMID: 36397671
26. Ito S, Yagi K, *Sugita Y. (2023) *J. Chem. Phys.* PMID: 36948822
27. Tan C, Niitsu A, *Sugita Y. (2023) *JACS Au* PMID: 37006777
28. Matsubara D, Kasahara K., Dokainish HM, Oshima H, *Sugita Y. (2022) *Molecules* PMID: 36080494
29. Oide M, *Sugita Y. (2022) *J. Chem. Phys.* PMID: 35987583
30. Ito S, Yagi K, *Sugita Y. (2022) *J. Phys. Chem. B* PMID: 35446577
31. Shinobu A, Re S, *Sugita Y. (2022) *Front. Mol. Biosci.* PMID: 35573746
32. Tan C, Jung J, Kobayashi C, Torre DU, Takada S, *Sugita Y. (2022) *PLoS Comput. Biol.* PMID: 35381009
33. Sarkar HS, 4 名省略, Kasahara K., Matubayasi N, Matsui T, *Mizukami S. (2023) *ACS Chem. Biol.* PMID: 36662098
11. Zhang Y, 2 名省略, Watanabe S., Tsutsumi A, Kikkawa M., Sugita Y., *Inaba K. (2022) *Cell Rep.* PMID: 36476867
34. Dokainish HM, Re S, Mori T, Kobayashi C, Jung J, *Sugita Y. (2022) *eLife* PMID: 35323112
35. Niitsu A, *Sugita Y. (2023) *Phys. Chem. Chem. Phys.* PMID: 36647771（総説）
36. Matsunaga Y, Kamiya M, Oshima H, Jung J, Ito S, *Sugita Y. (2022) *Biophys. Rev.* PMID: 36659993（総説）

主な学会発表（招待講演）

Sugita Y. EMBO Workshop on Computational Structural Biology, Dec. 2023 (Heidelberg, Germany)
Sugita Y. The 34th IUPAP Conference on Computational Physics (Keynote Lecture), Aug. 2023 (Kobe, Japan)
Sugita Y. BPS Thematic Meeting in Hamburg, May 2022 (Hamburg, Germany)

計画班 A01 西田班 (研究代表者: 西田紀貴)

37. Zhao Q, *Shimada I, *Nishida N. (2024) *Methods Mol. Biol.* PMID: 38570464
18. Watanabe K, Zhao Q, 2 名省略, Ren W, *Sugita Y., *Nishida N. (2024) *J. Am. Chem. Soc.* PMID: 38549219
38. Zhao Q, Haga R, Tamura S, *Shimada I, *Nishida N. (2023) *Sci. Rep.* PMID: 37935773
39. Nishide G, Lim K, 5 名省略, *Nishida N., *Wong R.W. (2023) *J. Phys. Chem. Lett.* PMID: 37707320

主な学会発表 (招待講演)

Nishida N. 第 61 回日本生物物理学会年会、2023 年 11 月 (名古屋)

Nishida N. 2023 International Symposium on Mixed and Augmented Reality, Aug. 2023 (Brisbane, Australia)

Nishida N. 第 23 回蛋白質科学学会年会、2023 年 7 月 (名古屋)

Nishida N. 第 128 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2023 年 3 月 (仙台)

Nishida N. 第 22 回蛋白質科学学会年会、2022 年 6 月 (筑波)

書籍: (1) 外山侑樹、西田紀貴、嶋田一夫「月刊細胞」(2023) Vol. 3、(2) 西田紀貴「日本核磁気共鳴学会・機関誌」(2022) Vol. 12, 17-22、(3) 西田紀貴「生化学」(2021) Vol. 93, No. 6

計画班 A01 福間班 (研究代表者: 福間剛士、研究分担者: 宮田一輝、宮澤佳甫)

40. *Yurtsever A, Hirata K, Kojima R, Miyazawa K., Miyata K., 5 名省略, *Fukuma T. (2024) *Small* PMID: 38385848
41. *Ichikawa T, 6 名省略, Miyata K., Nakamura C, *Fukuma T. (2023) *STAR Protoc.* PMID: 37481726
42. *Miyazawa K., 4 名省略, Miyata K., Nakamura C, Fukuma T. (2023) *Microsc. Microanal.* PMID: 37613502
43. Biyani R, Hirata K, 5 名省略, *Fukuma T., *Biyani M. (2023) *ACS Appl. Mater. Interfaces* PMID: 37261999
44. *Tsujioka M, Miyazawa K., 5 名省略, Fukuma T., *Shimizu S. (2023) *Cell Death Dis.* PMID: 37031228
45. *Yurtsever A, Sun L, Hirata K, Fukuma T., 2 名省略, Watanabe S, *Sarıkaya M. (2023) *ACS Nano* PMID: 36857412
46. *Hayakawa Y, 11 名省略, Fukuma T., Ando T, Nakano K, Uyeda TQ. (2022) *Life Sci. Alliance* PMID: 36288901
47. *Yurtsever A, 4 名省略, Miyazawa K., MacLachlan MJ, Foster AS, *Fukuma T. (2022) *Sci. Adv.* PMID: 36240279
48. *Yurtsever A, 4 名省略, Miyata K., MacLachlan MJ, Foster AS, *Fukuma T. (2022) *Small Methods* PMID: 35686343
49. *Ngo KX, Nguyen PDN, 10 名省略, Fukuma T., *Quoc NB. (2022) *Phytopathology* PMID: 35238604
50. *Sumikama T, 3 名省略, Miyazawa K., Foster AS, *Fukuma T. (2022) *J. Phys. Chem. Lett.* PMID: 35678499
51. *Ichikawa T, Wang D, Miyazawa K., Miyata K., Oshima M, *Fukuma T. (2022) *Commun. Biol.* PMID: 35595960
52. *Penedo M, Miyazawa K., 4 名省略, Miyata K., Nakamura C, *Fukuma T. (2021) *Sci. Adv.* PMID: 34936434
53. *Puppulin L, 9 名省略, Fukuma T., 2 名省略, *Shibata M. (2021) *ACS Appl. Mater. Interfaces* PMID: 34766499
54. *Fukuma T. (2024) *Jpn. J. Appl. Phys.* DOI:10.35848/1347-4065/acf721 (総説)

主な学会発表 (招待講演)

Fukuma T. 2023 MRS Fall Meeting & Exhibit, Nov. 2023 (Boston, USA)

Fukuma T. The 82nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sep. 2023 (Yokohama, Japan)

Fukuma T. 9th Multifrequency AFM Conference, June 2023 (Madrid, Spain)

Fukuma T. 2022 JAIST International Symposium of Nanomaterials and Devices Research Area, Dec. 2022 (Nomi, Japan)

Fukuma T. The 99th CEMS Colloquium, Mar. 2022 (Wako, Japan)

Fukuma T. AVS 67th Virtual Symposium, Oct. 2021 (Online, hosted by AVS, USA)

書籍: (1) 福間剛士「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2、(2) 福間剛士「高分子」(2023) Vol. 72, No. 12、(3) 福間剛士「表面と真空」(2022) Vol. 65, 72-77

産業財産権: (1) 福間剛士、市川壮彦、特許第 7352951 号 (2023 年 9 月 21 日)、(2) 高東智佳子、宇野恵、尾形奨一郎、濱田聡美、福間剛士、特許第 6924993 号 (2021 年 8 月 5 日)

計画班 A01 水上班 (研究代表者: 水上進、研究分担者: 藤原敬宏)

55. Mashita T, Kowada T, Yamamoto H., 2 名省略, Matsui T, *Mizukami S. (2024) *Nat. Chem. Biol.* PMID: 38890432
56. Ando R, 9 名省略, Fujiwara T., Okada Y, Yamamoto M, *Miyawaki A. (2024) *Nat. Methods* PMID: 38036853
57. Hirano M, Yonemaru Y, 3 名省略, Okada Y, Fujiwara T., *Miyawaki A. (2024) *Sci. Rep.* PMID: 38448511
58. Fujiwara TK., Tsunoyama TA, 9 名省略, Suzuki KGN, *Kusumi A. (2023) *J. Cell Biol.* PMID: 37278764
59. Fujiwara TK., Takeuchi S, 6 名省略, Suzuki KGN, *Kusumi A. (2023) *J. Cell Biol.* PMID: 37278763
60. Matsui Y, Kowada T, Ding Y, Sahoo PR, Kikuchi K, *Mizukami S. (2023) *Chem. Commun.* PMID: 37211865
61. Amagai Y, 6 名省略, Watanabe S., 4 名省略, Mizukami S., *Inaba K. (2023) *Nat. Commun.* PMID: 37160917
33. Sarkar HS, 4 名省略, Kasahara K., Matubayasi N, Matsui T, *Mizukami S. (2023) *ACS Chem. Biol.* PMID: 36662098
62. Hirano M, 13 名省略, Fujiwara T., Morimoto T, *Katayama K, *Miyawaki A. (2022) *Nat. Biotechnol.* PMID: 35468954
63. Liu R, Kowada T, Du Y, Amagai Y, Matsui T, Inaba K., *Mizukami S. (2022) *ACS Sens.* PMID: 35238552
64. Sahoo PR, Kowada T, *Mizukami S. (2021) *Methods Mol. Biol.* PMID: 34050476 (総説)

主な学会発表（招待講演）：

[Mizukami S.](#) ISBC2024 Satellite Symposium, Apr. 2024 (Tokyo, Japan)

[Mizukami S.](#) 第 96 回日本生化学会大会、2023 年 11 月（福岡）

[Mizukami S.](#) The 60th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Sep. 2022 (Hakodate, Japan)

産業財産権：(1) 水上進、イラノヴィアンティ、小和田俊行 特許 PCT/JP2021/040154（2021 年 10 月 29 日）

計画班 A02 稲葉班（研究代表者：稲葉謙次、研究分担者：渡部聡）

65. *[Watanabe S.](#), Kise Y, Yonezawa K, Inoue M, Shimizu N, Nureki O, *[Inaba K.](#) (2024) *Nat. Commun.* PMID: 38493152

5. Bui HB, [Watanabe S.](#), 9 名省略, [Kikkawa M.](#), *[Inaba K.](#) (2023) *Nat. Commun.* PMID: 37553324

61. Amagai Y, 6 名省略, [Watanabe S.](#), 4 名省略, [Mizukami S.](#), *[Inaba K.](#) (2023) *Nat. Commun.* PMID: 37160917

8. Chen Z, [Watanabe S.](#), Hashida H, Inoue M, Daigaku Y, [Kikkawa M.](#), *[Inaba K.](#) (2023) *Sci. Adv.* PMID: 36867705

11. Zhang Y, 2 名省略, [Watanabe S.](#), Tsutsumi A, [Kikkawa M.](#), [Sugita Y.](#), *[Inaba K.](#) (2022) *Cell Rep.* PMID: 36476867

63. Liu R, Kowada T, Du Y, Amagai Y, Matsui T, [Inaba K.](#), *[Mizukami S.](#) (2022) *ACS Sens.* PMID: 35238552

13. Zhang Y, [Watanabe S.](#), Tsutsumi A, Kadokura H, [Kikkawa M.](#), *[Inaba K.](#) (2021) *EMBO J.* PMID: 34459010

66. Bui HB, *[Inaba K.](#) (2024) *Int. J. Mol. Sci.* PMID: 38474291（総説）

67. Zhang Y, *[Inaba K.](#) (2022) *Bioessays* PMID: 35560336（総説）

主な学会発表（招待講演）：

[Inaba K.](#) 第 2 回タンパク質シンポジウム、2024 年 1 月（東京）

[Inaba K.](#) 10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference, Nov. 2022 (Kobe, Japan)

[Inaba K.](#) 基調講演 25th Korean Peptide Protein Society Annual Symposium, June 2022 (Busan, Korea)

書籍：(1) 井澤俊明、[稲葉謙次](#)、3 名省略、[山本林](#)、[倉永英里奈](#)、[田中元雅](#)「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2、

(2) [稲葉謙次](#)「日本高分子学会・高分子」(2023) Vol. 72, No. 8、(3) [渡部聡](#)、[稲葉謙次](#)「高度化するクライオ電子顕微鏡ハンドブック」(2022)

計画班 A02 仁田班（研究代表者：仁田亮、研究分担者：中田隆夫、佐藤繭子）

68. Okuma H, Saijo-Hamano Y, 15 名省略, *[Yamamoto M.](#), *[Nitta R.](#) (2024) *Genes Cells* PMID: 37984375

69. Takada A, Asano T, Nakahama KI, Ono T, *[Nakata T.](#), *[Ishii T.](#) (2024) *Sci. Rep.* PMID: 38242937

70. Asano T, Sasse P, *[Nakata T.](#) (2024) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* PMID: 38000293

71. *[Toyooka K.](#), Goto Y, Hashimoto K, Wakazaki M, [Sato M.](#), Hirai MY. (2023) *Plant Cell Physiol.* PMID: 36617247

72. Yamada S, 5 名省略, [Sato M.](#), 21 名省略, *[Nitta R.](#), *[Aburatani H.](#), *[Komuro I.](#) (2023) *Sci. Adv.* PMID: 37058558

73. Taguchi S, Nakano J, Imasaki T, 9 名省略, *[Niwa S.](#), *[Nitta R.](#) (2022) *eLife* PMID: 36065637

74. Imasaki T, Kikkawa S, *[Niwa S.](#), 15 名省略, Takeichi M, *[Nitta R.](#) (2022) *eLife* PMID: 35762204

75. Saijo-Hamano Y, Sherif AA, 5 名省略, Standley DM, *[Nitta R.](#) (2021) *Life Sci. Alliance* PMID: 34753804

主な学会発表（招待講演）：

[Nitta R.](#) 第 2 回タンパク質シンポジウム、2024 年 1 月（東京）

[Nitta R.](#) The 46th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Nov. 2023 (Online, Japan)

[Nitta R.](#) The 49th NAITO Conference, July 2023 (Sapporo, Japan)

[Nitta R.](#) Frontier of Dynamic Structural Biology, Oct. 2022 (Osaka, Japan)

書籍：(1) [仁田亮](#)、[丹羽伸介](#)、[小田賢幸](#)「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2

計画班 A02 倉永班（研究代表者：倉永英里奈）

76. Ninomiya K, 4 名省略, [Kuranaga E.](#), *[Ohashi K.](#), *[Mizuno K.](#) (2024) *Mol. Biol. Cell* PMID: 38088892

77. Fujita S, Takahashi M, Kumano G, [Kuranaga E.](#), Miura M, *[Nakajima YI.](#) (2023) *PLoS Biol.* PMID: 38127832

78. Nagai H, Nagai LAE, 3 名省略, [Kuranaga E.](#), Miura M, *[Nakajima Y.](#) (2023) *Dev. Cell* PMID: 37689060

79. Aida A, Yuswan K, Kawai Y, Hasegawa K, Nakajima YI, *[Kuranaga E.](#) (2023) *Sci. Rep.* PMID: 37518191

80. Fujita H, 5 名省略, [Kuranaga E.](#), 5 名省略, *[Watanabe TM.](#) (2023) *Life Sci. Alliance* PMID: 37236659

81. Masuda-Ozawa T, Fujita S, Nakamura R, Watanabe H, [Kuranaga E.](#), *[Nakajima YI.](#) (2022) *Sci. Rep.* PMID: 36180523

82. Uechi H, Fukushima K, Shirasawa R, Sekine S, *[Kuranaga E.](#) (2022) *Nat. Commun.* PMID: 35725726

83. Uechi H, *[Kuranaga E.](#) (2023) *Bioessays* PMID: 36929512（総説）

主な学会発表（招待講演）：

[Kuranaga E.](#) International Symposium of Mechanical control of biological self-organization, June 2024 (Kyoto, Japan)

[Kuranaga E.](#) Serendipity Symposium 2024, Mar. 2024 (Ishigaki, Japan)

[Kuranaga E.](#) The 60th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Sep. 2022 (Hakodate, Japan)

[Kuranaga E.](#) The 51st NIPS International Symposium, Dec. 2021 (Okazaki, Japan)

書籍：(1) 井澤俊明、[稲葉謙次](#)、3 名省略、[山本林](#)、[倉永英里奈](#)、[田中元雅](#)「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2

計画班 A02・田中班（研究代表者：田中元雅）

84. Endo R, Chen YK, 4 名省略, Miyazaki T, *[Tanaka M.](#) (2023) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* PMID: 36917672

85. Raspadori A, 4 名省略, [Tanaka M](#), Bustamante C, Zuccheri G, *Legname G. (2022) *Biology* PMID: 36138837
86. Nakagawa Y, Shen HC, 12 名省略, *Taguchi H, *[Tanaka M](#). (2022) *Nat. Chem. Biol.* PMID: 35177839
87. Suryawanshi N, *[Tanaka M](#). (2023) *Psychiatry Clin. Neurosci.* PMID: 37964686 (総説)
88. Hui KK, Chater TE, Goda Y, *[Tanaka M](#). (2022) *Front. Mol. Neurosci.* PMID: 35875665 (総説)
89. Hui KK, Endo R, Sawa A, *[Tanaka M](#). (2022) *Biol. Psychiatry* PMID: 34836635 (総説)

主な学会発表 (招待講演)

[Tanaka M](#). The 46th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Nov. 2023 (Online, Japan)

[Tanaka M](#). The 27th Biophysics Conference, May 2023 (Tzu Chi University, Taiwan)

[Tanaka M](#). Gordon Research Conference, Feb. 2023 (Galveston, USA)

[Tanaka M](#). Asia Pacific Prion Symposium, Dec. 2022 (Kanagawa, Japan)

書籍 : (1) 井澤俊明、稲葉謙次、3 名省略、[山本林](#)、[倉永英里奈](#)、[田中元雅](#) 「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2、
(2) 野村高志、[田中元雅](#) 「生体分子環境の化学」(2023) Vol. 45, 48-53

計画班 A02 山本班 (研究代表者: 山本林)

55. Mashita T, Kowada T, [Yamamoto H](#), 2 名省略, Matsui T, *[Mizukami S](#) (2024) *Nat. Chem. Biol.* PMID: 38890432
90. Shinoda S, Sakai Y, 4 名省略, [Yamamoto H](#), *[Mizushima N](#). (2024) *eLife* PMID: 38831696
91. Ohshima T, [Yamamoto H](#), Sakamaki Y, Saito C, *[Mizushima N](#). (2022) *J. Cell Biol.* PMID: 36066504
92. Yim WW, *[Yamamoto H](#), *[Mizushima N](#). (2022) *eLife* PMID: 35938926
93. *[Yamamoto H](#), Matsui T. (2024) *J. Nippon Med. Sch.* PMID: 37271546 (総説)
94. [Yamamoto H](#), Zhang S, *[Mizushima N](#). (2023) *Nat. Rev. Genet.* PMID: 36635405 (総説)
95. Yim WW, *[Yamamoto H](#), *[Mizushima N](#). (2023) *Autophagy* PMID: 36095089 (総説)

主な学会発表 (招待講演)

[Yamamoto H](#). The 46th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Nov. 2023 (Online, Japan)

[Yamamoto H](#). YU-COE(C) Intracellular Iron Symposium Joint with 46th MBSJ Symposium, Nov. 2023 (Online, Japan)

[Yamamoto H](#). The 60th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Sep. 2022 (Hakodate, Japan)

書籍 : (1) 井澤俊明、[稲葉謙次](#)、3 名省略、[山本林](#)、[倉永英里奈](#)、[田中元雅](#) 「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2、
(2) [山本林](#)、[水島昇](#) 「生化学」(2023) Vol. 95, No. 6、(3) [山本林](#) 「月刊細胞」(2023) Vol. 4

公募班 A01 児嶋班 (研究代表者: 児嶋長次郎)

96. Furuita K, *[Kojima C](#). (2024) *Biophys. Chem.* PMID: 38728808
97. Shinya S, Katahira R, 12 名省略, Fujiwara T, *[Kojima C](#). (2022) *RSC Med. Chem.* PMID: 36324497
書籍 : (1) 古板恭子、[児嶋長次郎](#) 「タンパク質の構造解析手法と In silico スクリーニングへの応用事例」(2023)、
(2) 猪俣光稀、[児嶋長次郎](#) 「タンパク質の構造解析手法と In silico スクリーニングへの応用事例」(2023)

公募班 A01 藤芳班 (研究代表者: 藤芳咲)

98. Otomo K, Dewa T, Matsushita M, *[Fujiyoshi S](#). (2023) *J. Phys. Chem. B* PMID: 37222077

公募班 A01 増田班 (研究代表者: 増田豪)

書籍 : (1) [増田豪](#) 「Journal of Mass Spectrometry Society of Japan」(2023) Vol. 71、(2) [増田豪](#)、[大槻純男](#) 「Dojin news」(2023) Vol. 186、(3) [増田豪](#) 「月刊細胞」(2023) Vol. 6、(4) [増田豪](#) 「ファルマシア」(2022) Vol. 58

公募班 A02 Wong 班 (研究代表者: Richard Wong)

99. Qiu Y, Sajidah ES, Kondo S, 11 名省略, Ando T, Lim K, *[Wong RW](#). (2024) *Cells* PMID: 38334671
100. Kato Y, 8 名省略, [Wong RW](#), Takahashi K, Hirata E, *[Kuroda K](#). (2024) *Macromol. Biosci.* PMID: 38329319
101. Kato Y, 8 名省略, [Wong RW](#), 2 名省略, Hirata E, *[Kuroda K](#). (2023) *Commun. Chem.* PMID: 38030701
39. Nishide G, Lim K, 5 名省略, *[Nishida N](#), *[Wong RW](#). (2023) *J. Phys. Chem. Lett.* PMID: 37707320
102. Ikliptikawati DK, Hirai N, 8 名省略, Nakada M, *[Wong RW](#). (2023) *Cell Rep.* PMID: 37552992
103. Lim K, Nishide G, 6 名省略, Ando T, Hanayama R, *[Wong RW](#). (2023) *Nano Lett.* PMID: 36641798
104. Sajidah ES, Lim K, 8 名省略, Hanayama R, Ando T, *[Wong RW](#). (2022) *J. Extracell. Vesicles* PMID: 36317784
105. Lim K, Hazawa M, *[Wong RW](#). (2024) *Cell Host Microbe*. PMID: 38604120 (総説)
書籍 : (1) 松本晃希、[羽澤勝治](#)、[Wong RW](#) 「月刊細胞」(2024) Vol. 2

公募班 A02 小金澤班 (研究代表者: 小金澤紀子)

106. *Altas B, Rhee HJ, 15 名省略, [Koganezawa N](#), 10 名省略, *Rhee J, *Kawabe H. (2024) *J. Cell Biol.* PMID: 38032389
107. Yamamura M, *Hanamura K, [Koganezawa N](#), 2 名省略, *Kawabe H. (2024) *Genes Cells* PMID: 37170756
108. Katsube S, *[Koganezawa N](#), 3 名省略, Ambrozkiwicz MC, *Kawabe H. (2023) *Neurosci. Lett.* PMID: 36623761

公募班 A02 丹羽班 (研究代表者: 丹羽伸介)

109. Higashida M, *[Niwa S](#). (2023) *Genes Cells* PMID: 36461782
73. Taguchi S, Nakano J, Imasaki T, 9 名省略, *[Niwa S](#), *[Nitta R](#). (2022) *eLife* PMID: 36065637
110. Chiba K, *[Niwa S](#). (2024) *Curr. Opin. Cell Biol.* PMID: 38096601 (総説)
111. Chiba K, Kita T, Anazawa Y, *[Niwa S](#). (2023) *J. Cell Sci.* PMID: 36655764 (総説)
書籍 : (1) [仁田亮](#), [丹羽伸介](#), [小田賢幸](#) 「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2

公募班 A02 小田班 (研究代表者:小田賢幸)

4. Yanagisawa H, Kita Y, *[Oda T](#), *[Kikkawa M](#). (2023) *Commun. Biol.* PMID: 37805589
6. *[Kubo T](#), Tani Y, Yanagisawa HA, [Kikkawa M](#), *[Oda T](#). (2023) *J. Cell Sci.* PMID: 37519241
112. *[Oda T](#), Yanagisawa H, Shinmori H, Ogawa Y, Kawamura T. (2022) *eLife* PMID: 35758632
書籍 : (1) [仁田亮](#), [丹羽伸介](#), [小田賢幸](#) 「顕微鏡」(2023) Vol. 58, No. 2

公募班 A02 加藤班 (研究代表者:加藤洋平)

113. Fujii T, Liang L, *[Nakayama K](#), [Katoh Y](#). (2024) *Hum. Mol. Genet.* PMID: 38751342
114. Tasaki K, Zhou Z, Ishida Y, [Katoh Y](#), *[Nakayama K](#). (2023) *Hum. Mol. Genet.* PMID: 37427975
115. Hiyamizu S, Qiu H, Tsurumi Y, Hamada Y, [Katoh Y](#), *[Nakayama K](#). (2023) *Biol. Open* PMID: 37309605
116. Hiyamizu S, Qiu H, 7 名省略, [Katoh Y](#), Stephens DJ, *[Nakayama K](#). (2023) *J. Cell Sci.* PMID: 36632779

公募班 A02・稲木班 (研究代表者:稲木美紀子)

117. Utsunomiya S, Takebayashi K, 2 名省略, [Inaki M](#), *[Ueda M](#), *[Matsuno K](#). (2024) *Genes Cells* PMID: 38454557

公募班 A02 村越班 (研究代表者:村越秀治)

118. Tsujioka S, Sumino A, 10 名省略, *[Murakoshi H](#), *[Shibata M](#). (2023) *Sci. Adv.* PMID: 37390213
119. Nagasawa Y, Ueda HH, Kawabata H, *[Murakoshi H](#). (2023) *Biophys. Physicobiol.* PMID: 38496236 (総説)

公募班 A02 柁元班 (研究代表者:柁元睦子)

120. *[Kukimoto-Niino M](#), Katsura K, 6 名省略, Zhang KYJ, *[Shirouzu M](#). (2024) *J. Biol. Chem.* PMID: 38857861
121. *[Kukimoto-Niino M](#), Ihara K, 4 名省略, [Shirouzu M](#). (2023) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* PMID: 36848820

公募班 A02 平林班 (研究代表者:平林祐介)

- 書籍 : (1) 菅翔吾、河合宏紀、[平林祐介](#) 「実験医学増刊」(2023) Vol. 41, No. 5
産業財産権 : (1) 栗田昌和、加藤基、[沈琪](#)、[平林祐介](#)、菅翔吾 (出願人:東京大学) 米国出願番号 63/415320

公募班 A02 土屋班 (研究代表者:土屋光)

- 書籍 : (1) 佐伯泰、[土屋光](#)、遠藤彬則、富田拓哉 「実験医学別冊・質量分析活用スタンダード」(2023) 213-224

公募班 A01 池崎班 (研究代表者:池崎圭吾) 特になし

公募班 A02 的場班 (研究代表者:的場一晃) 特になし

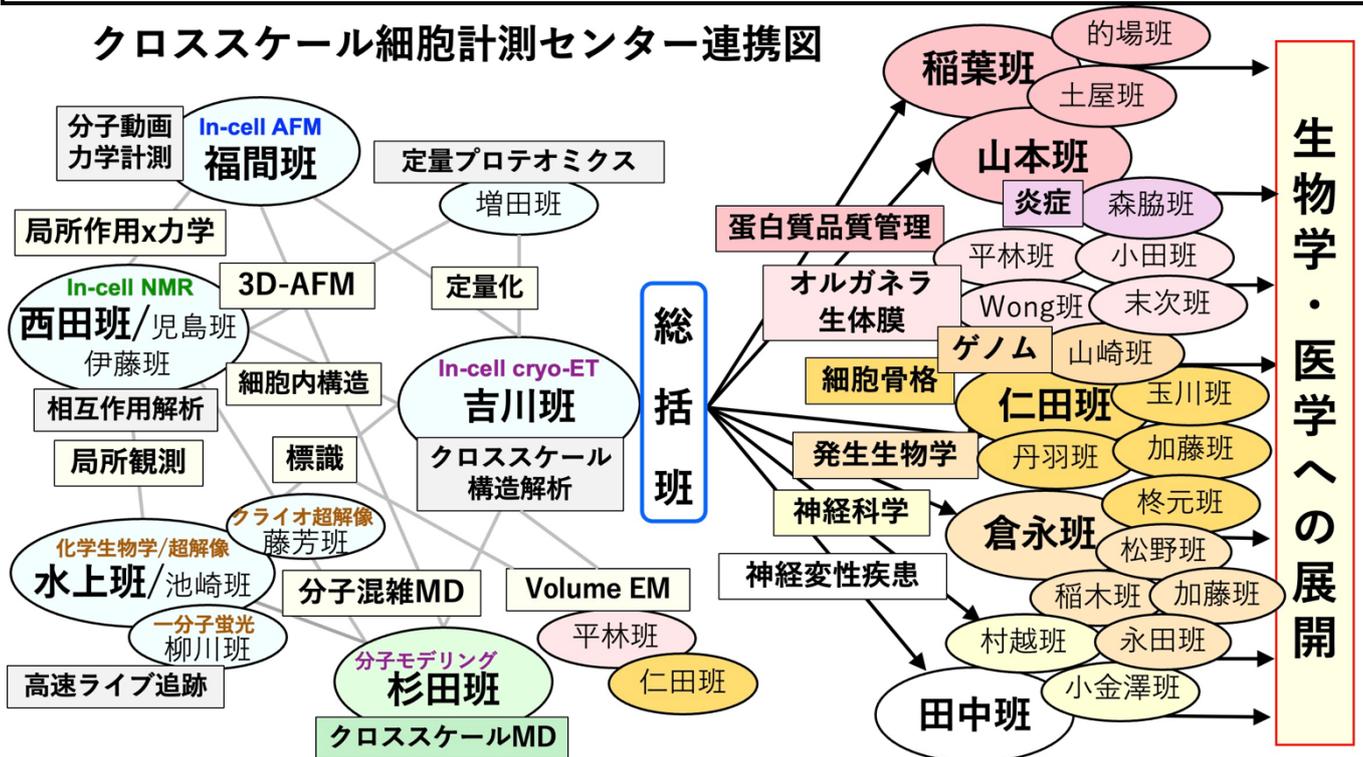
本領域の主催・共催シンポジウム等

- 共催 第 24 回日本蛋白質科学会年会 共催ワークショップ 2024 年 6 月
主催 学術変革領域研究(A) クロススケール新生物学 第 4 回領域会議 2024 年 5 月
共催 国際会議 RIKEN Pioneering Project International Symposium 2024 2024 年 2 月
共催 第 45 回日本分子生物学会年会 共催シンポジウム 2023 年 11 月
主催 国際会議 The 3rd Meeting of Cross-Scale Biology Transformative Research Area (A) 2023 年 9 月
共催 第 23 回日本蛋白質科学会年会 共催ワークショップ 2023 年 7 月
共催 第 128 回日本解剖学会総会・全国学術総会 共催シンポジウム 2023 年 3 月
共催 ZEISS-iCeMS Innovation Core 格子ライトシート顕微鏡ワークショップ・講習会 2022 年 12 月
共催 大阪大学蛋白質研究所セミナー Frontier of Dynamic Structural Biology 2022 年 10 月
共催 第 60 回日本生物物理学会年会 共催シンポジウム 2022 年 9 月
主催 学術変革領域研究(A) クロススケール新生物学 第 2 回領域会議 2022 年 7 月
共催 第 22 回日本蛋白質科学会年会 共催ワークショップ 2022 年 6 月
共催 ZEISS-iCeMS Innovation Core 超解像顕微鏡セミナー・講習会 2022 年 3 月
主催 学術変革領域研究(A) クロススケール新生物学 第 1 回領域会議 2021 年 12 月

8 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

クロススケール細胞計測センター連携図



本研究領域では上図に示すように、総括班が運営する「クロススケール細胞計測センター」を中心として、メソスケールの観察・計測・計算技術を開発する A01 技術班（左側）と、これらの先端技術を用いて生物学的重要な課題を解決する A02 生物班（右側）が緊密に連携した体制をとっている。このような連携体制を構築するにあたって以下の取り組みを実践しており、高いレベルでの融合研究と分野開拓、それに基づいた「学術領域の変革」を目指している。

1. 月例会（総括班、毎月）、公募班を含む全体会議（3ヶ月に1回）：オンラインで実施。医学・生物学的なニーズと技術的シーズのマッチングを行うことで、新たな共同研究の種を発見する機会となっている。また、様々な領域のスペシャリストが参加しているため、実験上の障壁や具体的問題点などを相談し、解決する場ともなっている。
2. 「総括班 Slack」の設置：総括班メンバー全員（研究代表者、研究分担者、事務職員の合計20名）が参加する。「クロススケール細胞計測センター」の運営に関わる全ての情報を共有している。特に、領域開設時から技術班同士の連携や技術班と生物班との融合研究を進める際には、Slackを介した密な議論が功を奏し、これらの活動を順調に軌道に乗せることに成功した。
3. 「領域全体 Slack」の設置：総括班/計画班と公募班のメンバー全員（現在187名）が参加する。研究代表者からポストドクや大学院生・学部生まで含めたメンバー全員でのオープンな情報共有を行う。
4. 領域会議（年1回）の開催：毎年対面で開催している。計画班と公募班が互いに理解を深めるよう、口頭・ポスター発表の順序・配置を工夫している。全員の発表が終わった後には、90分間のフリーディスカッションを設定し、共同研究の開始や経過に関する密な議論が行われている。この場を活用することで、各研究課題が相互に影響を及ぼし合い、次世代の若手研究者の成長にも寄与することが期待される。
5. データの共有：新しい解析手法の開発、複数の手法間の Validation、また生物学的アプリケーションを共有し、領域全体で効率的にアウトプットを出すシステムを構築している。

これらの試みは想定以上の成果を挙げており、領域内で50件以上の共同研究が進められている。また令和6年採択の新規公募班を早期に軌道に乗せるために、2024年5月末に領域会議を開催し、既に新たな共同研究が始まっている。

9 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、本研究領域が育成に取り組んだ「若手研究者」の定義を始めに示すこと。

本領域では、1) 大学院生や博士取得5年以内程度の博士研究員と2) 各計画班・公募班の准教授から助教・シニアな博士研究員の双方を「若手研究者」として定義し、それぞれの段階に応じたサポートを行っている。前者に対しては、研究進展のための技術的サポート、研究コミュニティの構築、研究費の獲得など、研究者としての素養を育成するための支援を行っている。後者については、登壇機会の提供やPI公募情報の共有などコミュニティ全体でプロモーションを支援し、全体として、本学術変革領域の裾野を育成するとともに、関連研究室の拡充に努めている。これらを実現するため、以下の活動を実施しており、今年度以降も継続する予定である。

1. 月例会（総括班、毎月）、全体会議（総括班＋公募班3ヶ月に1回）をオンラインで行い、領域内に属するすべてのグループの現況を正確に把握し、共同研究なども含めて、迅速に対応できる体制を構築している。
2. 1年に1回、対面での領域会議を開催し、共同研究計画を話し合う時間を設けるとともに、若手同士の交流の場を構築している。また昨年度は国際会議として海外の著名研究者を招聘し、英語で領域会議を開催した。来年(最終年)度も国際会議を開催する予定である。
3. 若手の会を1年に1回、日本分子生物学会年会の時期に合わせて開催し、若手同士の交流の場を構築している。
4. 日本蛋白質科学会（第22,23,24回）、日本分子生物学会（第45回）、日本生物物理学会（第60回）、日本細胞生物学会（第76回）、日本解剖学会（第128回）などで共催シンポジウムを開催し、若手研究者の積極的な登壇を支援している。
5. クロススケール細胞計測センターが主催する技術講習会を開催し、旅費も助成している。
 - ・クライオ電子顕微鏡・技術講習会を年に一度開催。相談は随時受け入れ。電頭利用料を総括班牙算で補助
 - ・Bio-SPM 夏の学校（金沢大学ナノ生命科学研究所）は年に一度開催。
 - ・GENESIS Summer School（理化学研究所計算科学研究センター）は年に一度開催。
 - ・超解像顕微鏡オンサイト試料持ち込みデモ、格子ライトシート顕微鏡ワークショップ（京都大学 iCeMS）など、超解像関連もテーマを絞って年に一度開催。
 - ・電頭実技講習会（理化学研究所横浜キャンパス）を年に一度開催。

これら総括班を中心とした研究活動のマネジメントを継続することにより、以下に示す通り、若手研究者育成に関する具体的な成果が出始めている。

- ・PIの栄転2名（京都大学、九州大学）
- ・独立PIポジションの獲得10名（大阪大学、広島大学、徳島大学、熊本大学、兵庫県立大学2名、慶應義塾大学、東京理科大学、日本医科大学、理化学研究所）
- ・スタッフの昇任人事11名
- ・理化学研究所基礎科学特別研究員採択1名
- ・JST創発獲得3名、JSTさきがけまたはAMED PRIME獲得2名、JST ACT-X獲得1名
- ・科研費若手研究獲得8名、スタートアップ獲得1名
- ・学振PDまたはDC採択3名

10 アウトリーチ活動に係る取組状況

研究領域全体を通じ、一般向けのアウトリーチ活動に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本領域では、以下のような一般向けのアウトリーチ活動を行っており、本領域の研究成果を広く一般に発信するよう努めている。

1. 領域ホームページによる研究活動の公開

領域ホームページを2021年11月に開設し、本領域が有する先進の研究技術・装置の紹介、計画班と公募班の研究内容の紹介、研究成果の公表などを行っている (<https://structure.m.u-tokyo.ac.jp/xscalebio/index.html>、右図)。



2. デジタルニュースレターの公開

年1回開催している領域会議の終了後にニュースレターを作成し、ウェブ上で公開している (<https://structure.m.u-tokyo.ac.jp/xscalebio/index.html>、右図)。研究内容の紹介や活動報告のほか、特に重要な研究成果については特集記事を作成して掲載している。また、デジタルニュースレターの強みを活かし、インタビュー動画を使って若手研究者の生の声を届けている。



3. 公開シンポジウム・公開講義等の開催

- ・吉川領域代表は、2024年6月に行われた顕微鏡学会第80回学術講演会(千葉県・幕張メッセ)で大会委員長として、市民公開講座・顕微鏡体験ワークショップを開催した(千葉県下の高校生50名を含む77名が参加)
- ・田中班が2022年4月23日と2023年10月14日に理化学研究所一般公開「タンパク質の凝集化に着目した精神・神経変性疾患の病態解明」を行った。
- ・杉田班が2024年6月28日に京都大学理学研究科セミナーハウスで市民講演会「理論研究者のみた新型コロナウイルス感染症」の講演を行った (<https://theory.biophys.kyoto-u.ac.jp/iupab-public-seminar>)。
- ・仁田班が2024年7月25日に神戸大学高大連携特別講義「原子レベルで観る医学・生命科学」の開催を予定している(兵庫県下の高校生130名が参加予定)。

4. 記者発表・プレスリリース

- ・水上班、山本班の共同研究成果 (*Nat. Chem. Biol.* 2024 [業績 55]) のオンライン記者会見(右図)とプレスリリースを行った(2024年6月18日)。
- ・西田班、杉田班の共同研究成果 (*J. Am. Chem. Soc.* 2024 [業績 18]) のプレスリリースを行った(2024年3月29日)。
- ・稲葉班、吉川班の共同研究成果 (*Nat. Commun.* 2023 [業績 5]) のプレスリリースを行った(2023年8月28日)。
- ・稲葉班、水上班の共同研究成果 (*Nat. Commun.* 2023 [業績 61]) のプレスリリースを行った(2023年5月18日)。
- ・稲葉班、杉田班、吉川班の共同研究成果 (*Cell Rep.* 2023 [業績 11]) のプレスリリースを行った(2022年12月7日)。
- ・杉田班の研究成果 (*Nat. Commun.* 2024 [業績 19]) のプレスリリースを行った(2024年5月10日)。
- ・稲葉班の研究成果 (*Nat. Commun.* 2024 [業績 11]) のプレスリリースを行った(2024年3月29日)。
- ・水上班の研究成果 (*J. Cell Biol.* 2023 [業績 58, 59]) のプレスリリースを行った(2023年5月29日)。
- ・倉永班の研究成果 (*Life Sci. Alliance* 2023 [業績 80]) のプレスリリースを行った(2023年5月29日)。
- ・仁田班の研究成果 (*Sci. Adv.* 2023 [業績 72]) のプレスリリースを行った(2023年4月17日)。
- ・福間班の研究成果 (*Small* 2024 [業績 40]) のプレスリリースを行った(2024年3月14日)。
- ・田中班の研究成果 (*PNAS* 2023 [業績 84]) のプレスリリースを行った(2023年3月14日)。
- ・福間班の研究成果 (*ACS Nano* 2023 [業績 45]) のプレスリリースを行った(2023年3月1日)。
- ・福間班の研究成果 (*Sci. Adv.* 2022 [業績 47]) のプレスリリースを行った(2022年10月14日)。
- ・倉永班の研究成果 (*Nat. Commun.* 2022 [業績 82]) のプレスリリースを行った(2022年7月4日)。
- ・仁田班の研究成果 (*eLife* 2022 [業績 74]) のプレスリリースを行った(2022年6月28日)。
- ・田中班の研究成果 (*Nat. Chem. Biol.* 2022 [業績 86]) のプレスリリースを行った(2022年2月18日)。



11 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

総括班では、研究の企画、調整、支援、アウトリーチに必要な経費を研究期間を通じて支出している。この中で核となる支出は、『クロススケール細胞計測センター』の装置共用費、技術講習会の開催費、および領域内参加者の旅費支援であり、以下に詳述する。さらに、毎年開催される領域会議および若手の会の会場費などの開催補助、3年目と5年目に開催する国際学会の開催費および海外からの招待講演者の渡航費を支出している。また、学会のシンポジウム共催のための会場運営費や事務職員2名の雇用費（東京大学、神戸大学各1名）、領域ホームページの作成・維持費、ニュースレター作成費にも使用している。

計画班では、若手育成・裾野の拡大を目的に各計画班あたり平均1名程度の若手博士研究員を雇用している。A01技術班の各グループでは、『クロススケール細胞計測センター』を構成する先端計測機器や計算設備の開発、維持、共通利用促進のために、以下に述べる通り、研究費を活用した。

1. **吉川班 クライオ電子顕微鏡の共用利用・スループットの促進**: クライオ電子顕微鏡の共用利用に総括班の研究費を活用した。例えば、公募・藤芳班がフィコビリソームの構造と蛍光色を確かめるために、頻繁に東京大学の電子顕微鏡を利用したが、そのような場合には、総括班からの補助をすることで、利用料金の負担を減らした。また、吉川の総括班では、領域会議などの会場費を負担することで、共同研究開始のきっかけとした。計画研究では、Cryo-FIB-SEM用(Aquilos)組み込み型蛍光顕微鏡 iFLM (税込 30,800 千円)を導入し、クライオ電子線トモグラフィーの標的を効率よく同定してスループットを上げた。
2. **福岡班 In-Cell AFM のニーズに応じた開発・改良および WPI-NanoLSI 設備の有効活用**: In-Cell AFM 装置の開発及び改良に計画班経費を使用した。例えば、全反射照明蛍光 (TIRF) 顕微鏡ユニットを購入 (税込 9,000 千円)し、水上班の藤原 (京大) と協力して TIRF-In-Cell AFM 複合機を開発し、生細胞内の現象を同時観察するシステムを構築した。さらに、この装置を含めて、福岡が所長を務める金沢大学ナノ生命科学研究所 (WPI-NanoLSI) の高速 AFM、3D-AFM、In-Cell AFM などの最先端バイオ AFM 設備の領域内共同利用を推進した。例えば、NanoLSI で実施する夏の学校や共同研究プログラムへの本領域からの参加を推進し、その費用の一部を総括班費から支援した。今後も、これらの設備の共同利用を推進し、研究費の有効活用に努める。
3. **西田班 In-Cell NMR の有効活用**: 保有する NMR 装置 (Bruker AvanceNEO 600) を In-cell NMR 解析を含めた領域内共同研究に活用した。装置の維持のために必要な液体ヘリウムは近年価格が高騰しており、その維持費用の一部を総括班研究費から支援した。
4. **水上班 ニーズに応じた化合物合成・超解像イメージングの共用利用の促進**: 効率的な化合物合成のためにクロマトグラフィー装置を、また1分子イメージングの位置決め精度の改善と高速化のために優れた高感度カメラをそれぞれ導入した。高感度カメラにイメージスプリッティング光学系を組み合わせた3色同期録画システムを、領域内の1分子追跡・超解像イメージングの共同研究に活用している。また、分担者 (藤原) が京都大学 iCeMS のコアファシリティ (iCeMS 解析センター) で運用する先端光学顕微鏡機器に関しては、異なるテーマの技術ワークショップとオンサイトデモを年に一度開催し、技術支援を進めるとともに、本領域からの顕微鏡利用者による超解像光学顕微鏡観察や2光子励起レーザーアブレーションに必要な装置の利用料金の一部を総括班研究費から支援した。
5. **杉田班 計算基盤の構築による共同研究の効率化**: モデリングとシミュレーションを行うための計算機を購入した。代表者の杉田 (理研) は、高速なネットワークで接続されたクラスタ計算機と、高速な演算を実現するための GPGPU を複数台購入することで開発したソフトウェアを用いた効率的な計算が可能となった。分担者の笠原 (大阪大学) は、演算サーバーとストレージサーバーを購入することで大阪大学においてもクロススケールモデリングとシミュレーションを行う計算基盤を構築した。総括班予算では、クラウドを用いてデータを共有するためのストレージを利用するためのコストとしても利用し、稲葉班や西田班などとの共同研究を効率的に進めることができた。

12 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させることを先導する」観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後実施する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

総論・現状分析

本領域では、20-500 nm スケールのメゾ複雑体を様々な計測手法 (Cryo-ET, AFM, NMR, 超解像顕微鏡)・計算機シミュレーションを担当する A01 技術班 (計画・公募) と、新しい手法を用いて解決すべき生物学的問題を提供する A02 生物班 (計画・公募)、の両輪が噛み合うことが重要である。A02 生物班は、A01 技術班とのコミュニケーションにより様々な計測手法の利点と限界を理解し、その上で生物学的問題を解決する。逆に、A01 技術班は A02 生物班が提示する問題に対して、技術の限界を明確にし、その限界を打破する新たな技術を行う。

これまでの三年間の領域研究の中で、**A01 技術班**については、**細胞内のメゾ複雑体にアプローチできる技術基盤が整った**。技術的な進歩の例としては、Cryo-ET データをハイスループットに収集できる PACE tomo [業績 12]、脂質を含むメゾ複雑体のモデリングとシミュレーションを行う計算科学手法の開発 [業績 19, 23]が挙げられる。また、細胞内の Cryo-ET に必須の cryo-FIB-SEM については、英国・electron Bio-Imaging Centre (eBIC) のディレクター・Zhang 博士との国際協力の下、薄膜作製のハイスループット化を行い、2022 年度までは5~6 枚/日を2023 年度には40 枚/日にアップグレードすることができた。

また、**A02 生物班**については、**クロススケール細胞計測センターによる成果が多数出てきている**。これは、技術の利点・限界を正しく理解し、A01 技術班と緊密な共同研究を行う事で初めて可能になったものである。例を挙げると、稲葉 A02-吉川 A01-杉田 A01 による小胞体カルシウムポンプ SERCA2b の反応サイクル [業績 11, 13]、稲葉 A02-吉川 A01 による SPCA1a 構造 [業績 8]、仁田 A02-福間 A01-杉田 A01-丹羽(公募)による CAMSAP 相分離・微小管ネットワーク形成過程 [業績 74+執筆中論文]、仁田 A02-丹羽(公募)による分子モーターKinesin-4 の作用機序[業績 8]、山本 A02-水上 01 の共同研究によるマイトファジーの研究 [業績 55]、Wong/公募-西田 A01 の共同研究による SARS-CoV2 由来 ORF6 の解析[業績 30]、吉川 A01-小田(公募)による膀胱上皮構造 [業績 4]、稲葉 A02-水上 A01 による細胞内亜鉛イオンやマグネシウムイオンの定量 [業績 60, 63]、などである。

13 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

【総括班評価者による評価体制】

総括班評価者：大阪大学・大学院生命機能研究科・教授 深川竜郎

学術変革領域研究がスムーズに進んでいるのかどうか、特に、クロススケール細胞計測センターが機能しているのかどうかを評価するために、領域会議、および、オンラインの月例会（年に12回）の内、2回に参加し、領域代表と対話をすることで、フィードバックを行って来た。重要な観点としては、領域としての目標を達成するためにクロススケール細胞計測センターを介して班員同士が密接に協力して、領域研究が進展しているかどうか注目した。また、若手の育成が適切に行われ、領域内の若手メンバーがキャリアをステップアップしているかどうか、も検証している。

【総括班評価者による評価コメント】

この研究領域「クロススケール新生物学」は、分子レベルからオルガネラ・細胞レベルまでのクロススケールな計測と解析およびその生理学的意義の解明を目指しており、それらを達成するための多角的なアプローチの独創性が際立っている。特に、20~500nmの「メゾ複雑体」の計測に焦点を当て、クライオ電子線トモグラフィー（Cryo-ET）やIn-cell NMR、AFMなどの先端技術を専門的に行うスペシャリストが集まって創設された「クロススケール細胞計測センター」は本領域の特徴であり大きなアドバンテージである。

細胞内生命現象は多彩であり、領域が注目しているメゾ複雑体にしても、その解析するスケール、動態、構成成分、機能を解明するためには、それぞれに異なる解析技術を使う必要がある。一方で、取り扱うそれぞれの解析技術は通常独立しているため、一つのメゾ複雑体の解析を複数の技術で実施するのはかなりハードルが高い。この問題点を解決するのが、本領域のセンターであり、これまでに解決が困難であった多くの課題を解決する鍵になると期待できる。

領域運営について

第4回領域会議に出席して、研究組織の連携体制が非常に強固であり、各計画班や公募研究班が、「クロススケール細胞計測センター」を介して密接に協力していることが確認できた。例えば、クライオ電子顕微鏡とAFMを組み合わせた計測技術の開発や、細胞内の構造動態解析における共同研究など、領域内でのシナジー効果が顕著に見られている。このような共同研究をベースとした領域研究の進展により、個別の技術では達成できない高度な解析が可能となることが今後期待される。

また、計画班や公募班のメンバーには、多くの若手研究者が含まれており、参加した学生などからも活発な討論が展開されていることにも好感を覚えた。ポスターセッションなどでも、A01技術班とA02生物班が垣根なく議論している様子が印象に残った。その理由として、領域会議以外でも、月に1回オンラインで月例会を実施して各自の進捗を情報共有しているとのことだった。生物班が気軽に技術的な相談をして、技術班がそれに答えることで技術をブラッシュアップさせるという、個別研究では成し遂げられない領域内シナジー効果が得られやすい取り組みがなされていると感心した。また、クロススケール細胞計測センターで扱うデータは、高度な数理解析を要するものも多いが、ドライの研究者も参画し、ウェットの構造解析と共同していることも感心した。残りの研究期間で更なる新しい技術発展も期待でき、生物学の成果と相乗的に更なる成果を予感させた。今後の領域会議への出席が楽しみである。

これまでの成果と今後について

中間報告までに得られた成果は非常に豊富であり、数多くの論文発表や国際学会での発表を通じて、研究の進展が広く共有されている。特に、クライオ電子顕微鏡を用いた新規な分子構造の解明や、In-cell AFMによる細胞内構造の計測技術の開発など、革新的な成果が多く報告されており、細胞生物学の新たなフレームワークを構築するための基盤が確立されつつあるので、今後の成果発表も十分に期待できる。

若手研究者の育成にも力を入れており、技術講習会や若手の会の開催、領域内外での国際交流の推進など、多角的な支援体制があることで、次世代の研究者が育ち、研究領域のさらなる発展が期待される。本領域の代表者である吉川雅英教授の優れたリーダーシップのもとに、総括班が連携して領域全体を牽引する充実した体制が構築されていることは疑いない。

まとめ

以上のように、本領域は、独創性の高いアプローチ、多分野にわたる協力体制、豊富な研究成果、若手研究者の育成、充実したアウトリーチ活動のいずれにおいても非常に高く評価される。今後の発展が大いに期待される優れた研究領域であり、領域代表者のリーダーシップの下、さらなる飛躍が期待されると高く評価する。