

領域略称名：新生鎖生物学
領域番号：3607

令和元年度科学研究費助成事業
「新学術領域研究（研究領域提案型）」
に係る事後評価報告書

「新生鎖の生物学」

（領域設定期間）

平成26年度～平成30年度

令和元年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

1. 研究領域の目的及び概要	8
2. 研究領域の設定目的の達成度	10
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	13
4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況	15
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	16
6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	19
7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況	24
8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	26
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	30
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	31
11. 総括班評価者による評価	32

研究組織 (総：総括班, 支：国際活動支援班, 計：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究, 公：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	7
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	13
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	10
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
統括・支援・計画研究 計9件					

平成 27～28 年度 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
A01 公募	15H01525 シロイヌナズナ CGS1 遺伝子における翻訳停 止と mRNA 分解機構の 研究	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
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み込み過程の構造生物学	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
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證する機構の解明	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	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

	間測定系の開発				
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
平成27～28年度公募研究 計 20 件					

平成29～30年度 公募研究 (*が付いた班員は27-28年度も公募班員)

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
A01 公募	17H05656 新生鎖の合成速度を段 階的に変える翻訳シス テムの創成	平成29年度～ 平成30年度	姚 閔	北海道大学・先端生命・教授	4
A01 公募	17H05657 分子シャペロンの基質 選択と活性発現におけ る動的構造基盤	平成29年度～ 平成30年度	齋尾 智英	北海道大学・理学系・助教	7
A01 公募	17H05658 シロイヌナズナCGS 1 遺伝子における翻訳 停止とmRNA分解機 構の研究	平成29年度～ 平成30年度	内藤 哲*	北海道大学・連合農学・教授	1
A01 公募	17H05659 疾患に関わる非AUG 型上流ORFの情報工 学的網羅同定法の開発	平成29年度～ 平成30年度	高橋 広夫	金沢大学 医薬保健研究域薬学系 准 教授	4
A01 公募	17H05660 SecMおよびTna Cの翻訳アレスト機構 の1分子計測による解 明	平成29年度～ 平成30年度	船津 高志*	東京大学・薬学研・教授	1

A01 公募	17H05661 神経の発生と疾患における新生鎖の生成機構と機能	平成29年度～ 平成30年度	池内 与志穂*	東京大学・生産技術研究所・講師	1
A01 公募	17H05662 新生鎖合成中のリボソームによるmRNA安定性制御機構の解明	平成29年度～ 平成30年度	三嶋 雄一郎	東京大学・分子研・助教	1
A01 公募	17H05664 新生鎖分解のUnstructured領域を介した多層的制御機構	平成29年度～ 平成30年度	伊野部 智由*	富山大学・准教授	1
A01 公募	17H05666 新生鎖VemPの翻訳伸長停止／解除機構の解明	平成29年度～ 平成30年度	森 博幸	京都大学・再生研・准教授	4
A01 公募	17H05667 タンパク質新生鎖の末端プロテオーム解析	平成29年度～ 平成30年度	石濱 泰	京都大学・薬学研・教授	3
A01 公募	17H05668 サイトゾルで合成される葉緑体蛋白質新生鎖の二重包膜透過連携機構の解析	平成29年度～ 平成30年度	中井 正人*	大阪大学・たんぱく質研究所・准教授	3
A01 公募	17H05669 新生膜タンパク質の膜組み込み過程の構造生物学的研究	平成29年度～ 平成30年度	田中 良樹*	奈良先端科技大・バイオ研・助教	2
A01 公募	17H05670 新生鎖分解による小胞体の予防的品質管理システムに関する研究	平成29年度～ 平成30年度	西頭 英起*	宮崎大学・医学部・教授	5
A01 公募	17H05671 アミノ酸飢餓応答における停滞リボソーム－新生鎖複合体の解析	平成29年度～ 平成30年度	山下 暁朗	横浜市立大学・医学部・准教授	1
A01 公募	17H05672 機動的翻訳速度制御とtRNAレパートリー	平成29年度～ 平成30年度	吉久 徹*	兵庫県立大学・生命理学・教授	2

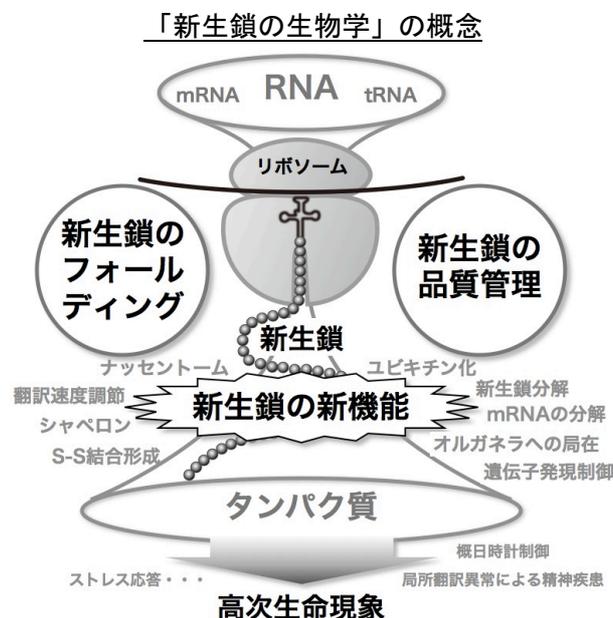
A01 公募	17H05673 膜タンパク質の伸長途 上鎖をハンドリングす る分子機構の解明	平成29年度～ 平成30年度	阪口 雅郎*	兵庫県立大学・生命理学・教授	1
A01 公募	17H05674 mRNAディスプレイ 法による翻訳アレスト 配列の大規模探索	平成29年度～ 平成30年度	土居 信英*	慶應義塾大学・理工学部・教授	3
A01 公募	17H05675 新生鎖による小胞体還 元ネットワーク構築機 構の解明	平成29年度～ 平成30年度	潮田 亮*	京都産業大学・准教授	2
A01 公募	17H05677 ウイルスが引き起こす 非標準的な翻訳機構の 構造基盤	平成29年度～ 平成30年度	伊藤 拓宏*	国立研究開発法人理化学研究所・チ ームリーダー	5
A01 公募	17H05678 リン酸化酵素の新生鎖 における品質管理機構 の解明	平成29年度～ 平成30年度	喜井 勲	信州大学・准教授	1
A01 公募	17H05679 Chasing translation along the time by novel ribosome profiling	平成29年度～ 平成30年度	岩崎 信太郎	国立研究開発法人理化学研究所・主 任研究員	1
A01 公募	17H05680 翻訳鋳型核酸の部位特 異的大規模解析による セントラルドグマが持 つ高次性の解明	平成29年度～ 平成30年度	清水 義宏	国立研究開発法人理化学研究所・ユ ニットリーダー	1
A01 公募	17H05681 不良新生鎖に提示され る分解シグナルの解明	平成29年度～ 平成30年度	佐伯 泰	公益財団法人東京都医学総合研究 所・室長	3
平成29～30年度 公募研究 計 23 件					

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（応募研究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 着想に到った経緯

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。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る。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 XBP1 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 XBP1 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. 研究領域の設定目的の達成度（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、どの程度達成できたか、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の達成度合いについて、具体的に記述してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

【研究期間内に何をどこまで明らかにしようとしたのか】

本領域では、新生鎖の生物学という新しい分野を「新生鎖の翻訳速度調節」「新生鎖の品質管理機構」「新生鎖のフォールディング・修飾・局在化」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当初の目標とした。それらに対する達成度合いを記述する。（なお、個別の研究成果については、後述の5. 主な研究成果に記載した。）

【1. 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？

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 の翻訳伸長の一時停止（翻訳アレスト）である（*Mol Cell* 2001, *Cell* 2002）。その後、翻訳アレストの制御機構については我が国の貢献が大きく、本領域でもさまざまに研究を推進した。

千葉志信らは、SecMに加えて、千葉が自ら発見した翻訳アレストである枯草菌 MifM など主要な材料とし、翻訳アレストの制御機構の解明に注力した。これまでに、1) 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（*Nat Commun* 2015）。2) MifM の翻訳アレスト解除における分子機構を明らかにした（*PNAS* 2015）。3) 公募班の秋山芳展、森博幸（京大）らとの共同研究で、ビブリオ菌において生理機能に直結した新規アレスト因子 VemP を見出した（*PNAS* 2015）。

河野憲二らは、2011年に哺乳動物の小胞体ストレス応答時に起こる Xbp1u タンパク質による翻訳アレストが自身をコードする mRNA を小胞体膜に局在させる機能をもつことを見出し（*Science* 2011）、その分子機構を本領域にて主に研究した。翻訳アレストを起こした XBP1u-mRNA 複合体を小胞体膜上のトランスロコンまで運ぶのはシグナル認識粒子（SRP）であることを見出し、ノンカノニカルな SRP 経路と名付けた（*PNAS* 2016）。さらに、翻訳アレストがどのように起こるのかを光架橋法、質量分析、免疫沈降、無細胞翻訳系、クライオ電顕など領域内の連携をフルに活かして解析し、Xbp1u 新生鎖とリボソーム uL4 サブユニット相互作用が重要であることを突きとめた。

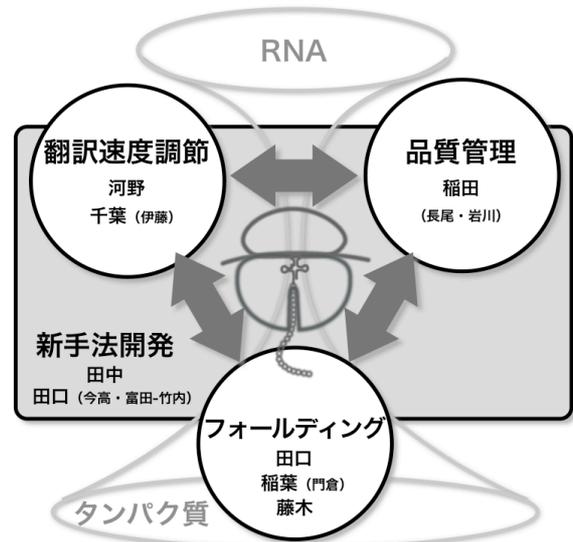
b. 翻訳アレストの普遍性は？

c. 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？

上記二つは関連しているので一緒に記載する。

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だろうか。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 遺伝子の翻訳途中の新生鎖（ペプチジル tRNA）がどの程度一時停止するのかを、生きた大腸菌（*in vivo*）および大腸菌の再構築型無細胞翻訳系（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き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（*PNAS* 2016）。

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



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。

【領域発足後の新展開】新規の非典型的な翻訳動態の発見

さらに田口、千葉（伊藤）、長尾は、上記の iNP 解析の発展研究で連携した結果、領域発足時には全く想定していなかった新規の翻訳動態を発見した。具体的には、大腸菌において負電荷アミノ酸の翻訳時にリボソームが解離して終止コドンとは無関係に翻訳が途中終了する現象である (*Mol Cell* 2017)。これは新生鎖依存でリボソームが不安定化 (IRD = Intrinsic ribosome destabilization) するために起こる全く新規の翻訳動態である。この IRD は翻訳系の一種の不備とも言えるが、大腸菌は IRD を細胞内のマグネシウム濃度のセンサーとして活用していることも見出した。この IRD 研究は、真核生物でどうなのか？、他の生理機能は？、既知 ORF に依らないタンパク質の翻訳など、大きな広がりを見せている。

【2. 新生鎖の品質管理機構】

- 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？
- 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？
- 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？

真核生物の新生鎖の品質管理は稲田利文らが世界に先駆けて開拓した。具体的には、連続した塩基性配列を持った新生鎖が翻訳アレートを引き起こした結果、新生鎖のユビキチン化とプロテアソームによる迅速な分解 (Ribosome-associated Quality Control: RQC) が起こる。本領域にて、稲田は、RQC と mRNA の品質管理機構 (NGD) における新生鎖の運命決定機構の解析を目指し、以下のような結果を得た。1) E3 ユビキチンライゲース RQT1 (RQC-Triggering factor 1)/HEL2 が翻訳伸長中に停滞したリボソームの特異的な構造を認識し、リボソームタンパク質 Rps20 をユビキチン化することが RQC に必須であることを発見、さらに、停滞した 80S リボソームを各サブユニットに解離する新規の因子 RQT2/3/4 複合体を世界で初めて同定した (*Nat Commun* 2017、公募班の佐伯、岩崎との連携)。2) NGD と RQC が共役していて、停滞した2つのリボソームが1つの単位 (ダイソーム) として品質管理機構が発動することを見出した (*EMBO J* 2019、公募班の佐伯との連携)。3) 機能欠損リボソームを認識して排除する品質管理機構として 18S NRD を解析した結果、リボソームタンパク質 uS3 のユビキチン化が必須であることを証明し、必須な E3 ユビキチンライゲース群を同定した (*Cell Rep* 2019)。

長尾翌手可 (稲田の研究分担者) は、翻訳初期段階における品質管理機構の一つ、リボソームドロップオフの解析をペプチジル tRNA の液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC/MS) での分析により行った。ペプチジル tRNA の MS 解析は田口・千葉との連携につながった (長尾-田口-千葉ら *Mol Cell* 2017)。

岩川弘宙 (稲田の研究分担者) は、RISC による RNA とタンパク質の品質管理機構の解明を目指して研究した結果、RISC 依存のリボソーム停滞の役割に関する新知見を得た。

【3. 新生鎖のフォールディング・修飾・局在化】

- 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、これまでに 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、その系を拡張し、翻訳に伴った膜タンパク質フォールディング (*Sci Rep* 2015)、プロテアーゼを使った大規模な翻訳時フォールディングアッセイ系の確立 (*Protein Sci* 2019)、500 種類超の出芽酵母タンパク質の翻訳時フォールディングとシャペロン効果の解析 (*Sci Rep* 2018) を行った。さらに翻訳伸長の一時停止の大規模実験から翻訳一時停止の頻度がフォールディングに影響を及ぼしうることを示した (*PNAS* 2016)。

- 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 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、多くの成果を得た。1) PDI 酸化酵素の Ero1 α や Prx4、PDI ファミリーの ERp44 の機能と構造が小胞体-ゴルジ体間の pH 勾配や亜鉛イオンにより制御を受け

ることを発見し、その分子構造基盤を解明した (*PNAS* 2017、*Nat Commun* 2019)。2) PDI の 1 分子解析により PDI の新たな触媒機構を解明した (*Nat Chem Biol* 2019)。3) PDI ファミリー酵素の発現維持に小胞体ストレスセンサー *Ire1a* が働き、新たに合成されたインスリンのフォールディングに必要であることを発見した (*J Cell Biol* 2018 河野らとの連携) 4) 分担者の門倉 広らとともにリボソーム上で翻訳合成されつつ小胞体内で伸長する LDL 受容体の新生鎖にジスルフィド結合が導入される過程を観察する系を構築した。

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た。藤木らは、無細胞翻訳系と中性条件下での SDS-PAGE を組み合わせることで翻訳途上の新生鎖 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 (*JBC* 2017)。

また、TA が関与するペルオキシソーム機能の制御機構として、a)細胞死促進因子 BAK (TA) の一部ペルオキシソーム局在化とカタラーゼのサイトゾルへの放出による酸化ストレス抵抗性抗細胞死作用を発見 (*JCB* 2017) ; b)ペルオキシソームの細胞内移動を担う *Miro1* のスプライシングバリエーション 2 種(TA)を同定した (*JCB* 2018)。

【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

2009 年に Ingolia, Weissman らによって開発されたリボソームプロファイリング (Ribo-Seq) は次世代シーケンサーを使って細胞内の翻訳状況を網羅的、かつ、コドンレベルでの精度で解析できる画期的な手法である。そこで本領域では、新生鎖研究に必須の新手法の一つとして、Ribo-Seq にも注力した。従来の Ribo-Seq では tRNA は解析できなかったが、田中元雅らは、リボソームに結合した tRNA を網羅的かつ 1 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 (田中ら *Cell Rep* 2018)。さらに、公募研究後半では、Ingolia ラボでポストドクを終えたあとに独立した岩崎信太郎が加わり、一層 Ribo-Seq 体制が充実し、連携研究も含めて多くの成果を挙げた (岩崎-稲田ら *Nat Commun* 2017、岩崎-今高-伊藤拓宏ら *Mol Cell* 2019 など)。領域発足当初は実施したくても実現が難しかった Ribo-Seq が今では比較的気軽に試せるツールになったのは大きな進展である。

b. 真核生物の翻訳系はどのように再構成できるのか？

新生鎖研究に再構成系は必須である。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) は上田卓也 (早稲田大) らによって開発されたあと市販されており、国内外の新生鎖研究の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たので、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、領域内外との連携に活用することを申請時の目標の一つとした。その支援もあって、ヒト因子については今高寛晃、出芽酵母については富田野乃 (どちらも田口の研究分担者) らが真核 PURE システムを完成させた。特に、今高らによるヒト由来の系は、さまざまな連携研究が進展し、そのいくつかは論文発表につながっている (今高-田口ら *Sci Rep* 2018、今高-岩崎-伊藤拓宏ら *Mol Cell* 2019、今高-伊藤拓宏ら *Mol Cell* 2019)。

本領域で開催した国際シンポジウムなどでのロコミも含めて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に予想した以上に、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。本新学術領域を立ち上げた大きな成果だと考える。

3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ以内）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

【問題点 1：RNA 研究】

本領域の主役である「新生鎖」の分子としての実体は翻訳途上のペプチジル tRNA である。つまり、本領域は、セントラルドグマにおける RNA とタンパク質のインターフェースという見方ができる。実際、本領域発足前の申請では「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を生み出す」とした。しかし、発足当初の班員は第一期の公募班員も含めて、タンパク質分野の研究者が多く、境界分野での連携を十分に生み出せる状況ではなかった。

【対応策 1】

後半の公募班では多くの RNA 研究者に新たに加わってもらった（岩崎信太郎、山下暁朗、三嶋雄一郎、姚関）。この結果、領域前半に比べて新生鎖における RNA 研究の位置付けが高まり、領域全体にて新生鎖に対してより複眼的な視点を共有できるようになり、結果として、多くの連携研究が生まれた。

【問題点 2：リボソームプロファイリング法】

領域推進のために必須の新技术であるリボソームプロファイリング（Ribo-Seq）について、領域前半では計画班員の田中、公募班員の池内のみが実施可能であった。Ribo-Seq は実験手技として多くのノウハウが必要、かつ、ビッグデータを扱わなければならない手法であるので、領域全体のニーズに十分対応できる状況ではなかった。

【対応策 2】

後半の公募研究では、Ribo-Seq の開発元である Ingolia ラボでポスドクを終えて独立したばかりの岩崎が加わり、一層強力な Ribo-Seq 体制が整った。多くの連携研究が進み、既出版されている研究もある（稲田-岩崎ら *Nat Commun* 2017、伊藤-岩崎-今高 *Mol Cell* 2019）。

4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況（2 ページ以内）

審査結果の所見及び中間評価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。

＜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＞

【審査結果の所見：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た(p10、概要図)。便宜上、3つを設定したが、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を進めた。例えば、田口と千葉らは非典型的な翻訳動態の連携研究を期間内を通して行った(Chadani *et al*, PNAS 2016, Chadani *et al Mol Cell* 2017)。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、新生鎖の研究を強力に推進するために新手法の開発を掲げた。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、既に実りを挙げている。

【審査結果の所見：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 システムには多くのサポートを行った。その結果、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み、一部は既に出版されている(伊藤-今高ら *Mol Cell* 2018、岩崎-今高ら *Mol Cell* 2019 など)

【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：本領域の申請準備を始めた2013年頃、本領域は世界的にも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」の重要性は増した。本領域が掲げる「RNAとタンパク質のインターフェース」において、タンパク質側はシャペロン研究、RNA側は翻訳時の品質管理研究が「新生鎖」に合流しているのが近年の世界的な流れであり、本領域はこれらの潮流を先んじて始めたと考えている。

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、世界に向けて領域コンセプト、成果を発信する必要がある。それも踏まえて、大小合わせて2年目から国際シンポジウムを通算5回開催した。また、さらなる情報発信のため、3年目と最終年度に開催した国際会議はどちらも *Nature* 姉妹紙に Meeting Report 掲載(Wilson and Clark *Nat Struct Mol Biol* 2016, Hermann *et al Nat Struct Mol Biol* 2018)、最終年度の国際会議では *Nature* 誌と *NSMB* 誌から1名ずつエディターが参加した。このような活動により本領域を世界の関連研究者に大いにアピールできたと考える。

MEETING REPORT

Climbing to the peak of nascent-chain knowledge

Daniel N. Wilson & Patricia J. Clark

During protein synthesis, the growing nascent polypeptide chain acts as a positive or negative regulator of the rate of peptide-bond formation and ribosomal fidelity, and influences the efficiency of downstream protein-folding and targeting events. At a recent international meeting held on the banks of Lake Kawaguchi in Japan, scientists and students investigating diverse aspects of nascent-chain biology met to discuss their latest findings in the scenic presence of Mount Fuji.

On 3 September 2016, 180 scientists and students gathered to exchange ideas on the topic of nascent-chain biology research, in the scenic setting of the Paul Lake Hotel, situated on the banks of Lake Kawaguchi (generally, which is an approximation to have done from Tokyo. The meeting was conducted under the patronage of a collaboration between Osaka and the Scientific Research on the Innovative Area of "Nascent-chain biology" (No. 2410401) and was supported by Hokkaido University (Hokkaido University), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), and National Institute of Health (NIH).

Other members of the organizing committee included Shinya Chiba (Osaka University), Kazuo Kohno (Osaka Institute of Science and Technology) and Takao Fukui (Hokkaido University). Over 3 days, participants held 18 talks divided into four main sessions focused on ribosome-coupled protein quality control, nascent-chain folding and function, nascent-chain and organella biogenesis, and new methodologies in nascent-chain research. Young investigators

made a substantial contribution to the success of the conference, including special lab tours, social sessions featuring well-attended talks, and the top five presentations from America (Japan University of Science and Technology, University of Tokyo, Hokkaido University, University of Osaka Prefecture, and Osaka University).

Each of the 47 poster presenters had the opportunity to present a 1-minute research summary in English, as an effective way to introduce their progress during the poster sessions, presentations by students and postdoctoral fellows were judged by all the invited speakers, and the top five presentations were awarded prizes. The award for their overall poster went to Chao-Nien Chen (Tsinghua University, BEIJING), for the development of new methods to analyze changes in RNA utilization in yeast under various stress conditions.

Other winners were Takao Fukui (Hokkaido University), Takao Fukui (Hokkaido University) for a detailed analysis of mitochondrial targeting and localization and coding sequence elements



Participants in the nascent-chain biology research meeting at Lake Kawaguchi.

© 2016 Nature America, Inc., part of Springer Nature. All rights reserved.

Daniel N. Wilson is at the Gene Center and Department of Biochemistry, University of Munich, Munich, Germany. Patricia J. Clark is at the Department of Chemistry, Biochemistry, University of Notre Dame, Notre Dame, Indiana, USA. Email: wilson@biochem.umd.edu

Meeting report by Wilson and Clark, *NSMB* 2016

NATURE STRUCTURAL & MOLECULAR BIOLOGY | VOLUME 13 | NUMBER 11 | NOVEMBER 2016

Meeting report by Wilson and Clark, *NSMB* 2016

<中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況>

科学研究費補助金審査部会における所見	A (研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの進展が認められる)
	本研究領域の設定目的に向けて、遺伝情報の翻訳途上における新生ポリペプチド鎖(新生鎖)をハブとした遺伝情報発現と細胞機能制御のネットワーク解明及び分子機構の研究を進め、その成果として、翻訳中のポリペプチド鎖が、フォールディング、機能獲得、発現量制御、局在など、様々な現象に関与していることの詳細なメカニズムが解明されつつある。特に、新生鎖のプロファイリングから、原核細胞での翻訳一時停止が一般的であることを示した研究は重要であり、今後は真核細胞やオルガネラでの解析に取り組まれることで更なる展開が期待される。
	新学術領域としての情報発信と、国際連携、若手育成などのためのシンポジウムやワークショップの開催にも注力しており、領域発足時に目標とした、「新生鎖生物学」という新たな分野の創出とその国際発信に成功しつつあると言える。
	領域代表者を中心に、多くの計画研究では順調に成果が上がっているが、一部遅れが見られるため、研究領域内でのより一層の有機的な連携を強化し、研究領域全体の進展を図る工夫が求められる。 本研究領域の基盤的技術となる真核細胞での無細胞翻訳システム、RNA リボソームプロファイリングなどの確立とその研究領域内への技術移転を早急に進めることによって、本領域研究の更なる発展が期待される。

【中間評価の所見：コメント1】

領域代表者を中心に、多くの計画研究では順調に成果が上がっているが、一部遅れが見られるため、研究領域内でのより一層の有機的な連携を強化し、研究領域全体の進展を図る工夫が求められる。

対応策：計画研究の一部の班員に中間評価の際に論文発表が全くなかったため、特に指摘を受けたと思われる。そこで、領域会議に加えて、個別に進捗状況を確認したところ、複数の重要な結果を既に得ていて、論文投稿中であることがわかった。最終的には、*Cell Reports*、*PNAS* 2報、*Science Advances* (IF:11.5)、*Biological Psychiatry* (IF:12.0) と、いずれもインパクトのある重要な成果を挙げた。特に、*Cell Reports* 誌に掲載された tRNA のリボソームプロファイリング法の確立は新規の細胞内 tRNA 解析法として画期的であり、本領域の重要な成果の一つである。

それに加えて、領域内での一層の共同研究を促し、その結果として 100 件を超える共同研究が推進された。

【中間評価の所見：コメント2】

本研究領域の基盤的技術となる真核細胞での無細胞翻訳システム、RNA リボソームプロファイリングなどの確立とその研究領域内への技術移転を早急に進めることによって、本領域研究の更なる発展が期待される。

対応策：真核細胞での再構築型無細胞翻訳系(真核 PURE システム)は、本領域で最大限サポートした新しい基盤技術であり、出芽酵母由来、ヒト由来のどちらの真核 PURE システムも完成し、領域内での多くの共同研究のみならず、国際会議などを経ての国際共同研究にもつながっている。

リボソームプロファイリング法(Ribo-Seq)に関しては、領域前半は計画班の田中、公募班の池内のみが限定的に実施可能で多くの共同研究を担っていたが、後半の公募研究では、Ribo-Seq の開発者の一人 Ingolia ラボでポストドクを終えて独立したばかりの岩崎が加わって一層強力な Ribo-Seq 体制が整い、多くの連携研究が進んだ(例えば、稲田-岩崎ら *Nat Commun* 2017、伊藤拓宏-岩崎-今高 *Mol Cell* 2019)。後者の *Mol Cell* 論文は真核 PURE システム(今高)の共同研究も加わっており、本領域の連携ならでの研究と言える。岩崎ラボは現在では日本での Ribo-Seq の拠点となっている。

5. 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）

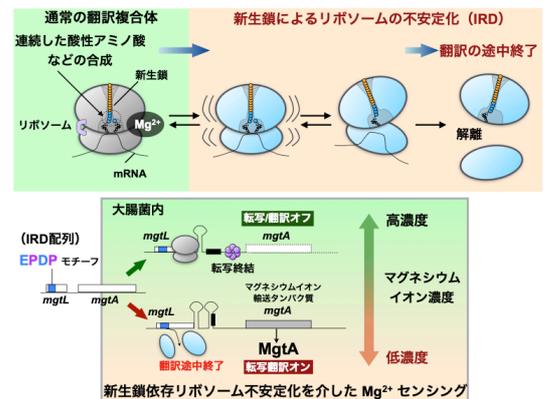
本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。記述に当たっては、**本研究課題により得られたものに厳に限る**こととします。

【計画研究】

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 細胞制御工学研究センター 教授）

1. 翻訳動態研究：千葉志信・伊藤維昭らとの共同研究にて、大腸菌の 1000 種類以上の遺伝子の翻訳時にどのくらいの頻度で翻訳伸長の一時停止が起こるかを調べた。その結果、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きていることを見出し、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を明らかとした（*PNAS* 2016:千葉との共同研究）。大腸菌において、負電荷アミノ酸の連続配列や、負電荷アミノ酸とプロリンとの混合配列の翻訳時に、合成されてきた新生鎖がリボソームを不安定化して翻訳を途中で終了する現象（Intrinsic Ribosome Destabilization: IRD）を発見した。大腸菌はこの IRD を使って細胞内のマグネシウム濃度をモニターしてマグネシウム輸送タンパク質の発現を制御していることも明らかとした（*Mol Cell* 2017:千葉、長尾との共同研究）
2. 翻訳に共役したフォールディング・シャペロン研究：大腸菌の再構築型無細胞翻訳系（PURE システム）を用いて、膜タンパク質フォールディング、出芽酵母タンパク質のフォールディングやシャペロンの効果について大規模な解析を行った（*Sci Rep* 2015, *Sci Rep* 2018:今高との共同研究, *Protein Sci* 2019)



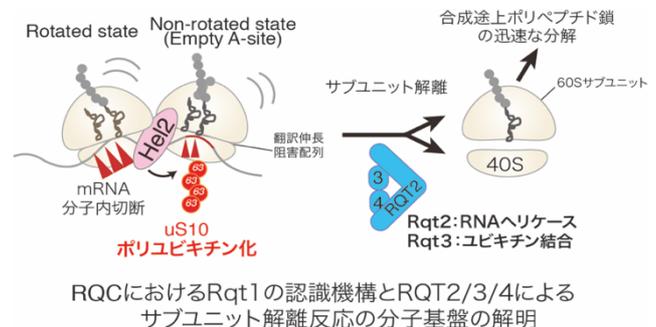
研究課題：mRNA とタンパク質の品質管理機構における新生鎖の新規機能の解明

研究代表者：稲田利文（東北大学大学院薬学研究科 教授）

連続した塩基性配列を持った新生鎖が翻訳伸長反応を停止（翻訳アレスト）させる結果、新生鎖のユビキチン化とプロテアソームによる迅速な分解(RQC: Ribosome-associated Quality Control)が起こることを世界に先駆けて報告した。本計画研究では、遺伝子発現の正確性を保証するタンパク質品質管理機構(RQC)と、mRNA の品質管理機構(NGD)における新生鎖の運命決定機構の解明をめざした。

我々は、翻訳伸長中に停滞したリボソームを認識し解離させる分子機構を解析し、E3 ユビキチンライゲース RQT1(RQC-Triggering factor 1)/HEL2 が翻訳伸長中に停滞したリボソームの特異的な構造を認識し、リボソームタンパク質 Rps20 をユビキチン化することが RQC に必須であることを発見した(*Nat Commun* 2017:岩崎、佐伯との共同研究)。

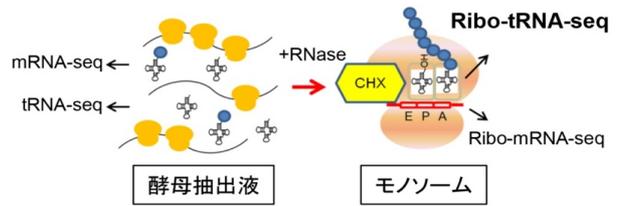
また停滞した 80S リボソームを各サブユニットに解離する新規 RQT2/3/4 複合体を世界で初めて同定した(*Nat Commun* 2017)。さらに NGD と RQC が共役した品質管理機構であり、停滞した 2 つのリボソームを 1 つの単位(Disome)として起こることを見出した(右図) (*EMBO J* 2019:佐伯との共同研究)。また、様々な発現異常の原因となる機能欠損リボソームを認識し排除する品質管理機構である 18S NRD を解析した。その結果、リボソームタンパク質 uS3 のユビキチン化が必須であることを証明し、必須な E3 ユビキチンライゲース群を同定した(*Cell Rep* 2019)。



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 脳神経科学研究センター チームリーダー）

本研究では、リボソームに結合した mRNA に加え、tRNA をも網羅的かつ一塩基の高分解能で調べる新たな tRNA リボソームプロファイリング法を開発した (図)。この手法を用いて、様々な環境ストレス下における出芽酵母のリボソーム内 tRNA の種類、量および修飾を調べた結果、リボソームに結合した tRNA は、環境ストレス下における翻訳阻害の状態を特徴づけ、どこで翻訳阻害が生じているかを示すマーカーになることを見出した (*Cell Rep* 2018)。



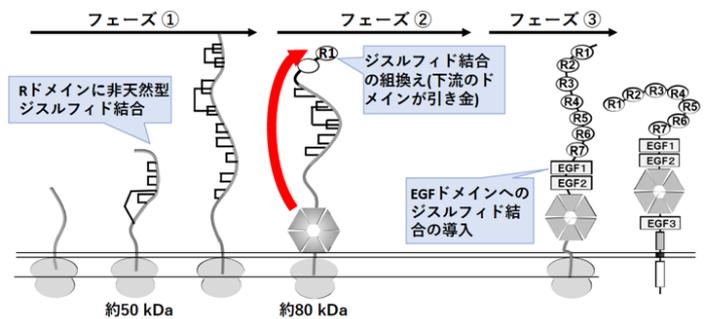
tRNA/mRNA 同時リボソームプロファイリング法の開発

翻訳の異常は、多くの精神・神経変性疾患の発症に関与している。そこで、前頭側頭葉変性症 (FTLD) において、FTLD の特徴である顕著な精神障害が現れる原因に翻訳異常が関与しているのか、その解明を目指した。その結果、FTLD の原因タンパク質である TDP-43 と幅広く精神障害に関わる DISC1 とが神経細胞内で共凝集していることを見出した。さらに、その共凝集によって可溶性 DISC1 の量が減少し、それに伴う神経細胞の翻訳の異常が、前頭側頭葉変性症に顕著な過活動や社会性の低下などの精神障害をもたらすことを明らかにした (*Biol Psychiatry* 2018)。

研究課題：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

研究代表者：稲葉 謙次 (東北大学 多元物質科学研究所 教授)

1. リボソーム上で翻訳されつつ小胞体内で伸長する LDL 受容体の新生鎖にジスルフィド結合が導入される過程を観察する系を構築した。この系と立体構造特異的な抗体を用いた解析から、小胞体内で新生鎖が折りたたまれる過程の詳細な観察に成功した。その結果、小胞体内におけるタンパク質の立体構造形成は、リボソーム上でのペプチドの伸長と強く共役して段階的に進行しうることが判明した (右図参照)。 (to be published)

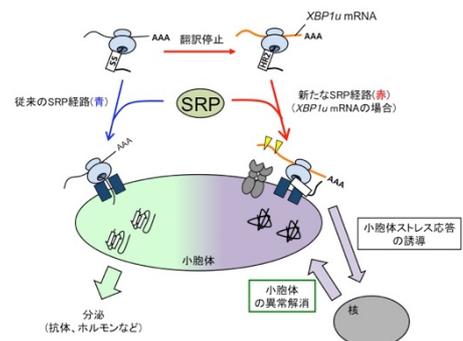


- 高速原子間力顕微鏡により PDI を 1 分子観察することにより、酸化還元依存的なダイナミクス制御を解明した。さらに基質存在下で PDI の振る舞いを 1 分子観察することにより、同酵素による酸化的フォールディングの新たな触媒機構を解明した。 (*Nat Chem Biol* 2019)
- PDI 酸化酵素である Ero1 α や Prx4、さらには構造未成熟な分泌タンパク質をゴルジ体から小胞体に送り返す機能を有する PDI ファミリータンパク質 ERp44 の機能と構造が小胞体-ゴルジ体間の pH 勾配、さらには亜鉛イオンにより制御を受けることを発見し、その分子構造基盤を解明した。 (*PNAS* 2017, *Nat Commun* 2019)
- PDI ファミリー酵素 PDip が膵臓の外分泌細胞で特異的に発現し、新たに合成された消化酵素の前駆体が凝集体を形成するのを抑制してフォールディングを促進する作用があることを突き止めた。 (*J Biol Chem* 2018, *Protein Sci* 2019)
- 小胞体ストレスセンサー IRE1 α は膵 β 細胞で PDI ファミリー酵素の発現維持に働き、新合成されたインスリンの折り畳みに必要であることを発見した。 (*J Cell Biol* 2018;河野との共同研究)

研究課題：mRNA の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 研究推進機構 河野特任研究プロジェクト 教授)

1. XBP1 mRNA の小胞体膜への標的化に必須な翻訳休止：哺乳動物小胞体ストレス応答に重要な XBP1u mRNA の小胞体膜への標的化機構を明らかにした。XBP1u タンパク質は翻訳途上の C 末にある翻訳休止配列 (PS) で翻訳を休止すると、PS の上流にある疎水性領域 (HR2) にシグナル認識粒子 (SRP) が結合し、XBP1u mRNA-ribosome-XBP1u 複合体が小胞体膜上にリクルートされる (*PNAS* 2016)。通常の SRP 経路とは翻訳休止の順序が逆であること、また膜に挿入されないこと、から私達はこの経路を noncanonical SRP 経路と名付けた。この翻訳休止は生理的に重要な意味を持ち、小胞体ストレスの有無に関わらず恒常的に働いている (図)。

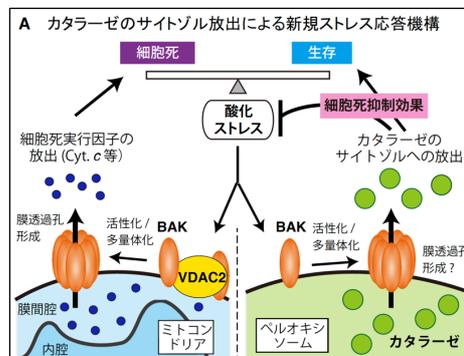


2. 翻訳休止はどのように起きるのか：光架橋法、質量スペクトル、免疫沈降、無細胞タンパク合成系、クライオ電顕等の手法を駆使し、HR2 配列がリボソームトンネル狭窄部位を構成する uL4 と相互作用することが要因の 1 つであることを明らかにした。

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)

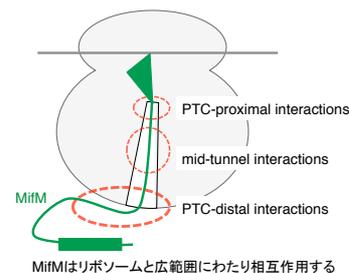
1. 新生鎖 TA の運命決定機構：網膜変性原因因子 ACBD5 をはじめペルオキシソーム膜タンパク質の Pex19p-Pex3p 依存型 class I 経路輸送を解明 (*Traffic* 2016, *J Biol Chem* 2017)。
2. TA 関与ペルオキシソーム機能制御機構の主なものとして、: a) ミトコンドリア局在細胞死促進因子 BAK (TA) の一部ペルオキシソーム局在化とカタラーゼのサイトゾルへの放出による酸化ストレス抵抗性抗細胞死戦略を発見 (*J Cell Biol* 2017; *Mol Cell Oncol* 2017; 図 A) ; b) ペルオキシソームの細胞内移動を担う Miro1 のスプライシングバリエント 2 種 (TA) を発見 (*J Cell Biol* 2018) ; c) 聴覚低下・損失の病因として Pex26p (TA) の F51P 変異を同定 (*CSH-MCS* 2019)。d) ペルオキシソーム TA, 酵素 Far1 の発現量調節によるプラスマローゲン合成制御機構の解明 (*Sci Rep* 2017)、など特筆すべき成果を挙げた。



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)

機能性新生鎖である枯草菌 MifM、大腸菌 SecM の生理機能と分子機構の解明を目指し、以下の知見を得た。(1) MifM の翻訳アレストが、リボソームの PTC 付近、トンネル内のみならず、構造解析からは見出すことのできなかつたリボソーム表面での相互作用にも依存していることを示した (*Sci Rep* 2018, 図)。(2) ドイツ・ミュンヘン大学の D. Wilson 博士 (現ハンブルグ大)、R. Beckmann 博士らとの共同研究により、構造生物学および遺伝学的手法を用いて、翻訳アレストに必要な MifM-リボソーム相互作用の詳細を明らかにした (*Nat Commun* 2015)。



(3) MifM の翻訳アレストの解除には、MifM の YidC 依存的な膜挿入が必要であるが、YidC が脂質二重層内に形成する溝構造の親水性が MifM の膜挿入と翻訳アレストの解除に重要であることを示した (*PNAS* 2015)。(4) MifM が、枯草菌の第一の YidC ホモログである SpoIIIJ のみならず、YidC2 の活性をも感知する能力があり、この性質を利用し、枯草菌は、SpoIIIJ と YidC2 のトータルの膜挿入活性をモニターし、YidC2 の細胞内量をフィードバック制御していることが示唆された (*J. Bact.* 2015)。

【公募研究 (一部)】ここでは、領域内での連携研究の成果を一部紹介する (*: 責任著者)。

森博幸*-秋山芳展-千葉志信 (計画) :

ビブリオ属細菌内に、自身のアミノ酸配列だけで安定に翻訳が停止する新しい翻訳停止モチーフの存在、さらにその生理機能を明らかにした (*Ishii et al. PNAS* 2015)。

岩崎信太郎*-伊藤拓宏-今高寛晃 : X 線結晶構造解析、兵庫県立大今高寛晃教授による in vitro 翻訳再構成系を ribosome profiling と組み合わせることにより、Rocaglamide A と呼ばれる抗がん作用をもつ翻訳阻害剤の作用メカニズムを解明した (*Iwasaki et al. Mol. Cell* 2019)。

伊藤拓宏*-今高寛晃 : ヒト因子由来の再構築型無細胞翻訳系も活用することで、C 型肝炎ウイルス (HCV) 由来の IRES のクライオ EM 法による立体構造解析を行った (*Yokoyama et al. Mol. Cell* 2019)。

潮田亮-稲葉謙次 (計画) : ERdj5 によるカルシウムポンプ SERCA2b の活性化機構などを明らかにした (*Ushioda et al. PNAS* 2016、他 2 報)。

田中良樹-潮田亮-稲葉謙次 : SERCA2b 結晶構造解析を行った (*Inoue et al. Cell Rep* 2019)。

6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（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。

《主な論文》詳細を掲載した原著論文は全て査読有り

計画研究代表者：田口 英樹

【原著論文】計 22 件（査読有 22 件、査読無 0 件）

- ▲Niwa T, Uemura E, Matsuno Y, *Taguchi H. Translation-coupled protein folding assay using a protease to monitor the folding status. *Protein Sci* (2019) in press
- ▲*Nojima T, Niwa T, *Taguchi H. Proteome analysis of phase-separated condensed proteins with ionic surfactants revealed versatile formation of artificial biomolecular condensate. *Biomacromolecules* 20, 539-545 (2019)
- ▲Uemura E, Niwa T, Minami S, Takemoto K, Fukuchi S, Machida K, Imataka H, Ueda T, Ota M, *Taguchi H. Large-scale aggregation analysis of eukaryotic proteins reveals an involvement of intrinsically disordered regions in protein folding. *Sci Rep* 8, 678 (2018)
- ◎▲Sugita S, Watanabe K, Hashimoto K, Niwa T, Uemura E, Taguchi H, *Watanabe YH. Electrostatic interactions between middle domain motif-1 and the AAA1 module of the bacterial ClpB chaperone are essential for protein disaggregation. *J Biol Chem* 293, 19228-19239 (2018)
- ◎▲Chadani Y, Niwa T, Izumi T, Sugata N, Nagao A, Suzuki T, Chiba S, *Ito K, *Taguchi H. Intrinsic ribosome destabilization underlies translation and provides an organism with a strategy of environmental sensing. *Mol Cell* 68, 528-539 (2017)
- ◎▲*Fujiwara K., Sawamura T., Niwa T, Deyama T, Nomura MS, Taguchi H, Doi N. *In vitro* transcription-translation using bacterial genome as a template to reconstitute intracellular profile. *Nucleic Acids Res* 45, 11449-11458 (2017)
- ◎▲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-E838 (2016)
- ▲Niwa T, Sasaki Y, Uemura E, Nakamura, S., Akiyama, M., Ando, M., Sawada, S., Mukai, S., Ueda, T., *Taguchi H, *Akiyoshi, K. Comprehensive study of liposome-assisted synthesis of membrane proteins using a reconstituted cell-free translation system. *Sci. Rep.* Dec 15:18025. doi: 10.1038/srep18025. (2015)
- ▲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)

計画研究分担者：今高 寛晃

【原著論文】計 7 件（査読有 7 件、査読無 0 件）

- ◎▲Yokoyama T, Machida K, Iwasaki W, Shigeta T, Nishimoto M, Takahashi M, Sakamoto A, Yonemochi M, Harada Y, Shigematsu H, Shirouzu M, *Tadakuma H, *Imataka H, *Ito T. (2019) HCV IRES captures an actively translating 80S ribosome. *Mol Cell* published : May 09 2019, doi:10.1016/j.molcel.2019.04.022
- ◎▲*Iwasaki S, Iwasaki W, Takahashi M, Sakamoto A, Watanabe C, Shichino Y, Floor SN, Fujiwara K, Mito M, Dodo K, Sodeoka M, Imataka H, Honma T, Furuzawa K, *Ito T, *Ingolia NT. The translation inhibitor Rocaglamide targets a biomolecular cavity between eIF4A and polypurine RNA. *Mol Cell* 73, 738-748 (2019)
- ◎▲Machida K, Shigeta T, Yamamoto Y, Ito T, Svitkin YV, Sonenberg N, *Imataka H. Dynamic interaction of poly(A)-binding protein with the ribosome. *Sci Rep* 8, 17435 (2018)
- ◎▲Uemura E, Niwa T, Minami S, Takemoto K, Fukuchi S, Machida K, Imataka H, Ueda T, Ota M, *Taguchi H. Large-scale aggregation analysis of eukaryotic proteins reveals an involvement of intrinsically disordered regions in protein folding. *Sci Rep* 8, 678 (2018)
- ▲*Machida K, Kanzawa K, Shigeta T, Yamamoto Y, Tsumoto K, *Imataka H. Huntingtin polyglutamine-dependent protein aggregation in reconstituted cells. *ACS Synthetic Biol* 7, 377-383 (2018)
- ▲*Machida K, Shigeta T, Kobayashi A, Masumoto A, Hidaka Y, *Imataka H. Cell-free analysis of polyQ-dependent protein aggregation and its inhibition by chaperone proteins. *J Biotechnol* 239, 1-8 (2016)
- Machida K, Mikami S, Masutani M, Mishima K, Kobayashi T, *Imataka H. A translation system reconstituted with human factors proves that processing encephalomyocarditisvirus proteins 2A and 2B occurs in the elongation phase of translation without eukaryotic release factors. *J Biol Chem* 289, 31960-31971 (2014)

計画研究分担者：富田 野乃

【原著論文】計 4 件（査読有 4 件、査読無 0 件）

- Hayashi H, Nagai R, Abe T, Wada M, Ito K. & Takeuchi-Tomita N. Tight interaction of eEF2 in the presence of Stm1 on ribosome. *J Biochem* 163, 177-185 (2018)

- 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, 165-72 (2015)
- 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, e1004616 (2014)

計画研究代表者：稲田 利文

【原著論文】計 16 件（査読有 16 件、査読無 0 件）

- ▲Su, T.[#], Izawa, T.[#], Thoms, M., Yamashita, Y., Cheng, J., Berninghausen, O., Hartl, U., Inada, T., Neupert, W.* and Beckmann, R.* Structure and function of Vms1 and Arb1 in RQC and mitochondrial proteome homeostasis. *Nature* (2019) [#]These authors contributed equally.
- ▲Hashimoto, S., Nobuta, R, Izawa, T. and *Inada, T. Translation arrest as a protein quality control system for aberrant translation of the 3'-UTR in mammalian cells. *FEBS Lett* doi: 10.1002/1873-3468.13362 (2019)
- [Review]*Inada, T. The mechanism for recycling tRNAs on stalled ribosomes. *Nat. Struc. Mol. Biol.* doi: 10.1038/s41594-019-0222-1. (2019)
- ▲Sugiyama, T., Li, S., Kato, M., Ikeuchi, K., Ichimura, A., Matsuo, Y. and *Inada, T. Sequential ubiquitination of ribosomal protein uS3 triggers the degradation of non-functional 18S rRNA. *Cell Rep* doi: 10.1016/j.celrep.2019.02.067. (2019)
- ▲Ikeuchi, K., Tesina P, Matsuo Y, Sugiyama T, Cheng J, Saeki Y, Tanaka K, Becker T, *Beckmann R, *Inada, T. Collided ribosomes form a unique structural interface to induce Hel2-driven quality control pathways. *EMBO J.* 38 (2019) doi: 10.15252/embj.2018100276.
- [Review]▲Ikeuchi, K., Izawa, T. and *Inada, T. Recent Progress on the Molecular Mechanism of Quality Controls Induced by Ribosome Stalling. *Front Genet.* 9:743. doi: 10.3389/fgene.2018.00743. (2019)
- ▲Matsuo, Y., Ikeuchi, K., Saeki, Y., Iwasaki, S., Schmidt, C., Udagawa, T., Sato, F., Tsuchiya, H., Becker, T., Tanaka, K., Ingolia, N.T., Beckmann, R. and *Inada, T. Ubiquitination of Stalled Ribosome Triggers Ribosome-associated Quality Control. *Nat. Commun.* doi: 10.1038/s41467-017-00188-1 (2017)
- Sugiyama T, Nobuta R, Ando K, Matsuki Y, *Inada, T. Crucial role of ATP-bound Sse1 in Upf1-dependent degradation of the truncated product. *Biochem Biophys Res Commun.* 488, 122-128. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.05.0 (2017)
- [Review]*Inada, T. The ribosome as a platform for mRNA and nascent polypeptide quality control *Trends Biochem. Sci.* 42, 5-15 (2017)
- ▲Ikeuchi, K., Yazaki, E., Kudo, K. and *Inada, T. Conserved functions of human Pelota in mRNA quality controls for nonstop mRNA. *FEBS Lett.* 18, 3254-3263 (2016) 10.1002/1873-3468.12366.
- ▲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)

計画研究分担者：岩川 弘宙

【原著論文】計 9 件（査読有 9 件、査読無 0 件）

- Baeg K, Tomari Y, *Iwakawa HO. In vitro RNA-dependent RNA Polymerase Assay Using Arabidopsis RDR6. *Bio-protocol.* Vol. 8(1), (2018).
- *Iwakawa HO, *Tomari Y. Silencing messages in a unique way. *Nature Plants.* Vol. 3(10), 769-770, 2017.
- Watanabe M, Iwakawa HO, Tadakuma H, *Tomari Y. Biochemical and single-molecule analyses of the RNA silencing suppressing activity of CrPV-1A. *Nucleic acids research.* Vol. 45(18), 10873 - 10844, (2017).
- ▲Tomari Y, *Iwakawa HO. In vitro analysis of microRNA-mediated translational repression in plants. *Methods in Molecular Biology,* Vol. 1640, 55-71, (2017).
- ▲Baeg K, *Iwakawa HO, *Tomari Y. The poly(A) tail blocks RDR6 from converting self mRNAs into substrates for gene silencing. *Nature Plants,* Vol. 3 | Article number: 17036, (2017).
- ▲Iwakawa HO, *Tomari Y. The Functions of MicroRNAs: mRNA Decay and Translational Repression. *Trends in Cell Biology,* Vol. 25 (11), 651-665, 2015.
- #Fukaya T, #Iwakawa HO, *Tomari Y. MicroRNAs block assembly of eIF4F translation initiation complex in Drosophila. *Mol Cell,* Vol. 56, 67-78, (2014).

計画研究分担者：長尾 翌手可

【原著論文】計 1 件（査読有 1 件、査読無 0 件）

- ©▲Chadani Y, Niwa T, Izumi T, Sugata N, Nagao A, Suzuki T, Chiba S, *Ito K, *Taguchi H. Intrinsic ribosome destabilization underlies translation and provides an organism with a strategy of environmental sensing. *Mol Cell* 68, 528-539 (2017)

計画研究代表者：田中 元雅

【原著論文】計 5 件（査読有 5 件、査読無 0 件）

- ▲Sugiyama S, *Tanaka M. Distinct segregation patterns of yeast cell-peripheral proteins uncovered by a method for protein segregatome analysis. *Proc Natl Acad Sci USA,* 116, 8909-8918.
- ▲Hui KK, Takashima N, Watanabe A, Chater TE, Matsukawa H, Nekooki-Machida Y, Nilsson P, Endo R, Goda Y, Saido TC, Yoshikawa T, *Tanaka M. GABARAP dysfunction by autophagy deficiency in adolescent brain impairs GABA_A receptor trafficking and social behavior. *Sci Adv,* 5, eaau8237 (2019)

- ▲Endo R, Takashima N, Nekooki-Machida Y, Komi Y, Hui KK, Takao M, Akatsu H, Murayama S, *Sawa A, *Tanaka M. TDP-43 and DISC1 Co-Aggregation Disrupts Dendritic Local Translation and Mental Function in FTLD. *Biol. Psychiatry* 84: 509-521 (2018)
- Ohhashi Y, Yamaguchi Y, Kurahashi H, Kamatari YO, Sugiyama S, Uluca B, Piechatzek T, Komi Y, Shida T, Müller H, Hanashima S, Heise H, Kuwata K, *Tanaka M. Molecular basis for diversification of yeast prion strain conformation, *Proc Natl Acad Sci USA* 115: 2389-2394 (2018)
- ▲Chen CW, *Tanaka M. Genome-Wide Translation Profiling by Ribosome-Bound tRNA Capture. *Cell Rep* 23: 608-621 (2018)

計画研究代表者：稲葉 謙次 計画研究分担者：門倉 広

【原著論文】計 22 件（査読有 22 件、査読無 0 件）

- ▲Matsusaki M, Kanemura S, Kinoshita M, Lee YH, *Inaba K, *Okumura M. (*co-corresponding authors) The protein disulfide isomerase family: from proteostasis to pathogenesis. *Biochem Biophys. Acta General Subject* in press (2019)
- ▲*Okumura M, Noi K, Kanemura M, Kinoshita M, Saio T, Inoue Y, Hikima T, Akiyama S, *Ogura T, *Inaba K. Dynamic assembly of protein disulfide isomerase in catalysis of oxidative folding. *Nat Chem Biol* 15, 499-509 (2019)
- ▲Watanabe S, Amagai Y, Sannino S, Tempio T, Anelli T, Harayama M, Masui S, Sorrentino I, Yamada M, *Sitia R, *Inaba K. (*co-corresponding authors) Zinc regulates ERp44-dependent protein quality control in the early secretory pathway. *Nat Commun* 10, 603 (2019)
- ▲Fujimoto T, Inaba K, *Kadokura H. Methods to identify the substrates of thiol-disulfide oxidoreductases. *Protein Sci.* 28, 30-40 (2019)
- ©▲Fujimoto T, Nakamura O, Saito M, Tsuru A, Matsumoto M, Kohno K, Inaba K, *Kadokura H. Identification of the physiological substrates of PDIP, a pancreas-specific protein disulfide isomerase family member. *J Biol Chem* 293, 18421-18433 (2018).
- ©▲Tsuchiya Y, Saito M, Kadokura H, Miyazaki J-I, Tashiro F, Imagawa Y, Iwawaki T, *Kohno K. IRE1-XBP1 pathway regulates oxidative proinsulin folding in pancreatic β cells. *J Cell Biol* 217, 1287-1301 (2018)
- ▲Watanabe S, Harayama M, Kanemura S, Sitia R, *Inaba K. “Structural basis of pH-dependent client binding by ERp44, a key regulator of protein secretion at the ER-Golgi interface” *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, 3224-3232 (2017)
- ▲Arai K[†], Takei T[†], Okumura M[†], Watanabe S[†], Amagai Y, Asahina Y, Moroder L, *Hojo H, *Inaba K, *Iwaoka M. (†equal contribution; *co-corresponding authors) “Preparation of selenoinsulin as a long-lasting insulin analog” *Angewandte Chemie In Ed* 56, 5522-5526 (2017)
- ▲*Akaike T, Ida T, Wei F-Y, Nishida M, Kumagai Y, Alam MM, Ihara H, Sawa T, Matsunaga T, Kasamatsu S, Nishimura A, Morita M, Tomizawa K, Nishimura A, Watanabe S, Inaba K, Shima H, Tamura N, Minkyung J, Fujii S, Watanabe Y, Ohmuraya M, Nagy P, Feelisch M, Fukuto JM, Motohashi H. Cysteinyl-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics” *Nat Commun* 8, 1177 (2017)
- ▲Kanemura S, Okumura M, Yutani K, Ramming T, Hikima T, Appenzeller-Herzog C, Akiyama S, *Inaba K. Human ER oxidoreductin-1 α (Ero1 α) undergoes dual regulation through complementary redox interactions with protein-disulfide isomerase”, *J Biol Chem* 291, 23952-23964 (2016)
- ▲Ramming T, Kanemura S, Okumura M, *Inaba K, *Appenzeller-Herzog C. (*co-corresponding authors) Cysteines 208 and 241 in Ero1 α are required for maximal catalytic turnover. *Redox Biol* 7, 14-20 (2016)
- ▲Okumura M[†], Kadokura H[†], *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)
- Ramming T, Okumura M, Kanemura S, Baday S, Birk J, Moes S, Spiess M, Jenö P, Berneche S, *Inaba K, Appenzeller-Herzog C. A PDI-catalyzed thiol/disulfide switch regulates the production of hydrogen peroxide by human Ero1. *Free Rad Biol Med* 83, 361-372 (2015)
- *Okumura M, Kadokura H, Hashimoto S, Yutani K, Kanemura S, Hikima T, Hidaka Y, Ito L, Shiba K, Masui S, Imai D, Imaoka S, *Yamaguchi H, *Inaba K. Inhibition of the functional interplay between ER oxidoreductin-1 α (Ero1 α) and protein disulfide isomerase (PDI) by the endocrine disruptor bisphenol A. *J Biol Chem* 289, 27004-27018 (2014)

計画研究代表者：河野 憲二

【原著論文】計 16 件（査読有 13 件、査読無 3 件）

- ©Fujimoto, T., Nakamura, O. Saito M., Tsuru A., Matsumoto M., Kohno K., Inaba K. *Kadokura H. Identification of the physiological substrates of PDIP, a pancreas-specific protein disulfide isomerase family member. *J. Biol. Chem.* 293(48), 18421-18433 (2018)
- ©▲Tsuchiya, Y., Saito, M., Kadokura, H., Miyazaki, J., Tashiro, F., Imagawa, Y., Iwawaki, T., *Kohno K. IRE1-XBP1 pathway regulates oxidative proinsulin folding in pancreatic β cells. *J. Cell Biol.* 217(4), 1287-1301 (2018)
- ▲Sato, H., Shiba, Y., Tsuchiya, Y., Saito, M., *Kohno K. 4 μ 8C inhibits insulin secretion independent of IRE1 α RNase activity. *Cell Struct. Func.* 42, 61-70 (2017)
- ▲Kanda, S., *Yanagitani, K., Yokota, Y., Esaki, Y., *Kohno K. Autonomous translational pausing is required for XBP1u mRNA recruitment to the ER via the SRP pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113(40), E5885-E5895 (2016)
- ▲*Tsuru, A., Imai, Y., Saito, M., *Kohno K. Novel mechanism of enhancing IRE1 α -XBP1 signaling via the PERK-ATF4 pathway. *Sci. Rep.* 6:24217 (1-8) (2016)
- Mathuranyanon, R., Tsukamoto, T., Takeuchi, A., Ishiwata-Kimata, Y., Tsuchiya, Y., Kohno K., *Kimata, Y. Tight regulation of the unfolded protein sensor Ire1 by its intramolecularly antagonizing subdomain. *J. Cell Sci.* 128(9), 1762-1772 (2015)

計画研究代表者：藤木 幸夫

【原著論文】計 39 件（査読有 39 件、査読無 0 件）

1. ▲Tanaka, H., *Okazaki, T., Aoyama, S., Yokota, M., Koike, M., Okada, Y., Fujiki, Y., and Gotoh, Y.: Peroxisomes control mitochondrial dynamics and the mitochondrion-dependent pathway of apoptosis. *J. Cell Sci.*, in press (2019).
2. ▲*Tanaka, A.J., *Okumoto, K., *Tamura, S., Abe, Y., Hirsch, Y., Deng, L., Ekstein, J., Chung, W.K., and *Fujiki, Y.: A newly identified mutation in the *PEX26* gene is associated with a milder form of Zellweger spectrum disorder. *Cold Spring Harb. Mol. Case Stud.* 5: a003483 (2019) (*equally contributed)
3. ▲Mukai, S., Matsuzaki, T., and *Fujiki, Y.: The cytosolic peroxisome-targeting signal (PTS)-receptors, Pex7p and Pex5pL, are sufficient to transport PTS2 proteins to peroxisomes. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell Res.* 1866: 441-449 (2019).
4. ▲Abe, Y., Honsho, M., Itoh, R., Kawaguchi, R., Fujitani, M., Fujiwara, K., Hirokane, M., Matsuzaki, T., Nakayama, K., Ohgi, R., Marutani, T., Nakayama, K.I., Yamashita, T., and *Fujiki, Y.: Peroxisome biogenesis deficiency attenuates the BDNF-TrkB pathway-mediated development of cerebellum. *Life Sci. Alliance* 1: e201800062 (2018).
5. ▲Imoto, Y., Abe, Y., Honsho, M., Okumoto, K., Ohnuma, M., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., and *Fujiki, Y.: Onsite GTP fuelling via DYNAMO1 drives division of mitochondria and peroxisomes. *Nat. Commun.* 9: 4634 (2018).
6. ▲Okumoto, K., Ono, T., Toyama, R., Shimomura, A., Nagata, A., and *Fujiki, Y.: New splicing variants of mitochondrial Rho GTPase-1 (Miro1) transport peroxisomes. *J. Cell Biol.* 217: 619-633 (2018).
7. ▲*Fujiki, Y., Miyata, N., Mukai, S., Okumoto, K., Cheng, E. H.: BAK regulates catalase release from peroxisomes. *Mol. Cell. Oncol.* 4: e1306610 (2017)
8. ▲Honsho, M., Abe, Y., and *Fujiki, Y.: Plasmalogen synthesis is spatiotemporally regulated by sensing plasmalogens in the inner leaflet of plasma membranes. *Sci. Rep.* 7, 43936 (2017).
9. ▲Hosoi, K., Miyata, N., Mukai, S., Furuki, S., Okumoto, K., Cheng, E. H., and *Fujiki, Y.: The VDAC2-BAK axis regulates peroxisomal membrane permeability. *J. Cell Biol.* 216: 709-721 (2017).
10. ▲Yagita, Y., Shinohara, K., Abe, Y., Nakagawa, K., Al-Owain, M., Alkuraya, F. S., and *Fujiki, Y.: Deficiency of a retinal dystrophy protein, acyl-CoA binding domain-containing 5 (ACBD5), impairs peroxisomal β -oxidation of very-long-chain fatty acids. *J. Biol. Chem.* 292: 691-705 (2017).
11. ▲Liu, Y., Yagita, Y., and *Fujiki, Y.: Assembly of peroxisomal membrane proteins via the direct Pex19p-Pex3p pathway. *Traffic* 17: 433-455 (2016).
12. ▲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).
13. ▲Yamashita, S., Abe, K., Tatemichi, Y., and *Fujiki, Y.: The membrane peroxin PEX3 induces peroxisome-ubiquitination-linked pexophagy. *Autophagy* 10: 1549-1564 (2014).

計画研究代表者：千葉 志信

【原著論文】計 12 件（査読有 8 件、査読無 4 件）

1. ▲Fujiwara K, Ito K., *Chiba S. MifM-instructed translation arrest involves nascent chain interactions with the exterior as well as the interior of the ribosome. *Sci Rep.* 8, 10311 (2018).
2. ◎▲Chadani Y, Niwa T, Izumi T, Sugata N, Nagao A, Suzuki T, Chiba S., *Ito K., *Taguchi H. Intrinsic ribosome destabilization underlies translation and provides an organism with a strategy of environmental sensing. *Mol Cell* 68, 528-539 (2017)
3. ◎▲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-E838 (2016).
4. ◎▲Ishii E, Chiba S., Hashimoto N, Kojima S, Homma M, Ito K., Akiyama Y, *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).
5. ▲Sohmen D, Chiba S., Shimokawa-Chiba N, Innis A, Berninghausen O, Beckmann R, Ito K., *Wilson D. Structure of the Bacillus subtilis 70S ribosome reveals the basis for species-specific stalling. *Nat. Commun.* 6, 6941 (2015).
6. ▲Shimokawa-Chiba N, Kumazaki K, Tsukazaki T, Nureki O, Ito K., *Chiba, S. Hydrophilic microenvironment required for the channel-independent insertase function of YidC protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 112, 5063-5068.
7. *Chiba S., Ito K. MifM monitors total YidC activities of Bacillus subtilis including that of YidC2, the target of regulation. *J. Bacteriol.* 197, 99-107 (2015).

以下、公募班員の原著論文成果（一部） 全て査読有り

岩崎 信太郎

1. ◎▲*Iwasaki S. Iwasaki W., Takahashi M., Sakamoto A., Watanabe C., Shichino Y., Floor SN., Fujiwara K., Mito M., Dodo K., Sodeoka M., Imataka H., Honma T., Fukuzawa K., *Ito T., *Ingolia NT. The translation inhibitor Rocaglamide targets a bimolecular cavity between eIF4A and polypurine RNA. *Mol Cell.* 73:1-11. (2019)
2. ▲Akichika S., Hirano S., Shichino Y., Suzuki T., Nishimasu H., Ishitani R., Sugita A., Hirose Y., Iwasaki S., *Nureki O., *Suzuki T. Cap-specific terminal N^6 -methylation of RNA by an RNA polymerase II-associated methyltransferase. *Science.* 11;363 (2019)

伊藤 拓宏

1. ▲Kashiwagi, K., Yokoyama, T., Nishimoto, M., Takahashi, M., Sakamoto, A., Yonemochi, M., Shirouzu, M. & *Ito, T. (2019) Structural basis for eIF2B inhibition in integrated stress response. *Science*, 364, 495-499. DOI: 10.1126/science.aaw4104.
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)

齋尾 智英

▲*Saio T., Kawagoe S, Ishimori K, Kalodimos CG. Oligomerization of a molecular chaperone modulates its activity. *eLife*, 7, e35731 (2018)

姚 閔

M. Chen, K. Kato, Y. Kubo, Y. Tanaka, Y.n Liu, F. Long, W. Whitman, P. Lill, C. Gatsogiannis, S. Raunser, N. Shimizu, A. Shinoda, A. Nakamura, I. Tanaka, and *M. Yao. Structural basis for the tRNA-dependent cysteine biosynthesis. *Nat Commun* 8, 1512-1532 (2017)

田中 良樹

▲ Furukawa A, Yoshikaie K, Mori T, Mori H, Morimoto YV, Sugano Y, Iwaki S, Minamino T, Sugita Y, Tanaka Y, *Tsukazaki T. "Tunnel Formation Inferred from the I-Form Structures of the Proton-Driven Protein Secretion Motor SecDF." *Cell Rep* 895-901 (2017)

内藤 哲

▲Tanaka M, Sotta N, Yamazumi Y, Yamashita Y, Miwa K, Murota K, Chiba Y, Hirai MY, Akiyama T, Onouchi H, *Naito S, *Fujiwara T. The minimum open reading frame, AUG-stop, induces boron-dependent ribosome stalling and mRNA degradation. *Plant Cell* 28, 2830-2849 (2016)

潮田 亮

▲R. Ushioda, A. Miyamotod, M. Inoue, S. Watanabe, M. Okumurae, K. Maegawa, K. Uegaki, S. Fujii, Y. Fukuda, M. Umitsu, J. Takagi, K. Inaba, K. Mikoshibad, and *K. Nagata Redox-assisted regulation of Ca²⁺ homeostasis in the endoplasmic reticulum by disulfide reductase ERdj5 *Proc Natl Acad Sci USA* 113(41):E6055-E6063(2016)

佐藤 明子

Satoh, T., Ohba, A., Liu, J., Inagaki, T., and *Satoh A. K. dPob/EMC is essential for biosynthesis of rhodopsin and other multi-pass membrane proteins in Drosophila photoreceptors. *eLife*, doi: 10.7554/eLife.06306. (2015)

秋山 芳展

▲I. 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)

西頭 英起

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

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)

《主催した国際シンポジウム》

領域2年目からは毎年一回以上の国際シンポジウムを主催した。

Nascent-chain Biology Meeting 2015 in Tokyo 2015年10月1日（東京大学弥生講堂、東京）

RNA2016 satellite-symposium 2016年6月27日（京都大学芝蘭会館、京都）

International Symposium on Nascent Chain Biology 2016年9月1～3日（富士レックホテル、静岡）

International Symposium on Protein Quality Control 2017年6月4日（東大寺総合文化センター、奈良）

International Symposium on "Proteins: from the Cradle to the Grave"（京都産業大学タンパク質動態研究所との共催）2018年8月26～29日（比叡山延暦寺会館、滋賀）

2016、2018年の国際会議（河口湖、延暦寺）は*Nat Struct Mol Biol* (*NSMB*) 誌にミーティングレポートが掲載された（Wilson and Clark *NSMB* 2016, Herrmann *et al NSMB* 2018）。

《アウトリーチ活動》

【ウェブサイト <http://www.pharm.tohoku.ac.jp/nascentbiology>】 初年度に領域公式ウェブサイト立ち上げ、領域活動・研究成果などを定期的に掲載した。

【ニュースレター】 毎年発行し、領域内ニュースのみならず、新たなトピックスの解説、領域パイオニアへのインタビュー（Randy Schekman 博士 2013年ノーベル医学生理学賞受賞）なども盛り込んだ。

【書籍】 一般向けの生命科学入門書「池上彰が聞いてわかった生命のしくみ」池上 彰、岩崎 博史、田口 英樹（朝日新聞出版）248p（2016）にて、生命のセントラルドグマにおける新生鎖の重要性を紹介。

【出張講義：領域代表のみ記載】 ウィンターレクチャー（お茶の水女子大附属高校）2018年12月14日、高校出張講義（開智高校 2015年5月23日、国立高校 2015年6月4日、吉祥女子高 2017年11月25日、吉祥女子高 2018年6月9日）



ニュースレター第2号のSchekman博士インタビュー記事

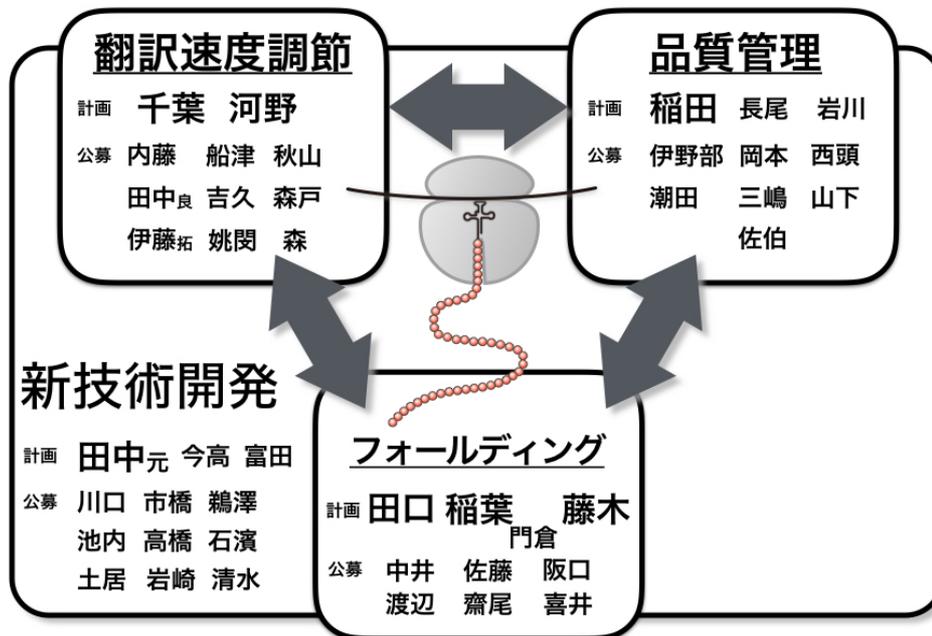
7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況（2 ページ以内）

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、総括班研究課題の活動状況も含め、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、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。

本領域は、翻訳途上の新生ポリペプチド鎖、すなわち新生鎖を主役に据えた「新生鎖の生物学」という新たな分野を立ち上げるために発足した。新生鎖をハブとして、さまざまな異分野が集結して研究を推進した。発足時に想定した計画研究に加えて、計画研究で網羅できない分野は公募研究で補完し、領域会議などを通して、多くの連携が生まれた。

多くの研究は「新生鎖」をハブとして緩くオーバーラップしており、完全に区別することは難しいが、ここでは、便宜的に新生鎖の生物学という新しい分野を「新生鎖の翻訳速度調節」「新生鎖の品質管理機構」「新生鎖のフォールディング・修飾・局在化」「新技術の開発」に分けて班員構成を表現した。これらの班員が新学術領域という理想的なプラットフォームの元で多くの連携を行った。連携研究の一部について以下に記す。

「新生鎖の生物学」領域 組織図



《領域内の連携状況》

【論文発表が既になされた連携研究】

- ・ 田口×千葉（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×千葉（伊藤維昭）×長尾：大腸菌翻訳途中終了の発見（Chadani *et al* *Mol Cell* 2017）。
- ・ 田口×今高：ヒト因子由来再構築型無細胞翻訳系を用いた翻訳時フォールディング解析（Uemura *et al*, *Sci Rep* 2018）。
- ・ 田口×土居：細胞内新生鎖合成のプロテオミクス解析（Fujiwara *et al*, *Nucleic Acids Res* 2017）
- ・ 田口×渡辺：質量分析を用いたシャペロンの機能解析（Sugita *et al*, *J Biol Chem* 2018）。
- ・ 稲田×岩崎×佐伯：酵母における異常翻訳の品質管理機構（Matsuo *et al* *Nat Commun* 2017）
- ・ 稲田×佐伯：ユビキチン修飾による RQC 制御機構（Ikeuchi *et al* *EMBO J* 2019）
- ・ 稲葉×潮田：ERdj5 によるカルシウムポンプ SERCA2b の活性化機構（Ushioda, *et al* *PNAS* 2016）
- ・ 稲葉（門倉）×河野：新合成されたインスリンに関する研究（Tsuchiya Y, *et al* *J Cell Biol* 2018）
- ・ 稲葉（門倉）×河野：消化酵素フォールディングに必要な因子の解析（Fujimoto T, *et al* *J Biol Chem* 2018）
- ・ 稲葉×齋尾：PDI による酸化的フォールディングの分子機構（Okumura *et al*. *Nat Chem Biol* 2019）
- ・ 千葉×秋山×森：ピブリオ菌 VemP の翻訳アレスト機構の解明（Ishii *et al*, *PNAS* 2015）。
- ・ 千葉×森：熱ショック転写因子の膜局在化機構（Yura *et al* *Genes & Genetic Systems* 2018）、
- ・ 千葉×森：新生鎖のモニタリング基質としての機能（Ito *et al* *FEMS Microbiol Lett* 2018）
- ・ 岩崎×伊藤拓宏×今高：Rocaglamide A の作用機序の解明（Iwasaki *et al* *Mol. Cell* 2019）
- ・ 今高×伊藤拓宏：クライオ電顕を用いた HCV IRES 依存性翻訳の解析（Yokoyama T, *et al* *Mol Cell* 2019）

- ・ 潮田×田中良樹：SERCA2b 結晶構造解析 (Inoue, *et al Cell Rep.* 2019)
- ・ 内藤×高橋：上流 ORF による翻訳アレスト解析 (Hayashi N *et al Nucleic Acids Res* 2017)。
- ・ 鶴澤×清水：ルテニウム錯体を形成するペプチドのスクリーニング (Karimiavargani M, *et al J Pept Sci* 2019)
- ・ 森×田中良樹：タンパク質膜透過促進因子 SecDF の構造・機能解析 (Furukawa *et al, Cell Rep* 2017)、
- ・ 森×田中良樹：ペリプラズムプロテアーゼ BepA の構造・機能解析 (Daimon *et al, Mol Microbiol* 2017)

【それ以外の連携研究 (一部)】

- ・ 田口×今高：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×田中元雅：出芽酵母の翻訳終結因子に関する共同研究。
- ・ 田口×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×渡辺：PURE システムによる新生鎖の合成速度の測定解析。
- ・ 田口×富田：出芽酵母因子由来再構築型無細胞翻訳系 (酵母 PURE システム) を用いた翻訳途中終了解析。
- ・ 田口×岩崎：リボソームプロファイリングを用いた翻訳途中終了解析。
- ・ 田口×船津：翻訳アレストの分子機構に関する共同研究
- ・ 田口×森：mRNA の二次構造解析
- ・ 稲田×富田：酵母因子由来再構築型無細胞翻訳系を利用した NAD, NGD の検証実験。
- ・ 稲田×三嶋：リボソーム停滞感知因子 Znf598/Hel2 の機能解析
- ・ 稲田×今高：新規翻訳機構に関する研究
- ・ 稲田×吉久：小胞体ストレス応答の鍵転写因子 HAC1 の翻訳制御に関する研究
- ・ 田中元雅×富田：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：ヒト PURE システムを用いた翻訳状態解析の技術開発。
- ・ 田中元雅×森戸：リボソームプロファイリングによる巨大新生鎖合成プロセスのモニタリング
- ・ 田中元雅×吉久：eEF1A と相互作用する tRNA に関する研究
- ・ 稲葉 (門倉)×河野：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×千葉：哺乳動物細胞におけるペプチジル tRNA の単離。新生鎖と PDI 間の相互作用の解析。
- ・ 稲葉×河野×千葉：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×稲田：NGD と 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。
- ・ 稲葉×今高：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×岩崎：LDL 受容体新生鎖のリボソームプロファイリングに関する共同研究
- ・ 河野×今高：ヒト PURE システムを用いた翻訳伸長因子 2 の機能解析。
- ・ 河野×姚閔：新生鎖合成に必要なエネルギーを供給する翻訳 GTPase である真核伸長因子に関する共同研究
- ・ 河野×岩崎×稲田：リボソームプロファイリング手法による XBP1u 翻訳休止機構の解析
- ・ 千葉×秋山：翻訳アレスト機構の多様性と使い分け機構の解明。
- ・ 今高×阪口：ヒト因子由来の再構築型無細胞翻訳系を用いた ETS 機能の解析
- ・ 今高×富田：酵母因子由来再構築型無細胞翻訳系の開発
- ・ 今高×喜井：ヒト PURE システムを用いたリン酸化酵素 DYRK1A のフォールディング中間体の解析
- ・ 伊藤拓宏×今高：終止コドン非依存的翻訳終結の構造基盤
- ・ 岩崎×富田：出芽酵母でのリボソームプロファイリングに関する共同研究
- ・ 岩崎×岩川：リボソームプロファイリングに関する共同研究
- ・ 岩崎×石濱：プロテオミクスとリボソームプロファイリングに関する共同研究
- ・ 岩崎×西頭：小胞体品質管理のリボソームプロファイリングによる解析
- ・ 岩崎×森戸：リボソームプロファイリングによる巨大新生鎖合成プロセスのモニタリング
- ・ 岩崎×山下：酸化ストレスとリボソーム停滞に関する共同研究
- ・ 岩崎×三嶋：リボソームプロファイリング法による翻訳動態解析
- ・ 岩崎×吉久：tRNA イントロン欠失株のリボソームプロファイリングに関する共同研究
- ・ 岩崎×船津：リボソームプロファイリングを用いた翻訳アレストの分子機構に関する共同研究
- ・ 岩崎×長尾：新生鎖のリボソームからの脱落の分子機構
- ・ 阪口×今高：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×吉久：トランスロコン機能に質的変化をもたらす出芽酵母遺伝変異の網羅的解析。
- ・ 吉久×阪口：出芽酵母遺伝子欠失ライブラリを用いた小胞体のタンパク質膜透過機構に関する研究
- ・ 土居×田口×千葉：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×稲田：植物における翻訳停止とユビキチン化の解析
- ・ 潮田×稲葉：還元酵素 ERdj5 の還元メカニズム解明
- ・ 潮田×池内：ストレス依存的翻訳停滞調節
- ・ 森戸×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×稲田：ミステリンのリボソームプロファイリング (ヒト)
- ・ 森×石濱：膜タンパク質プロテオミクスに関する共同研究
- ・ 山下×伊藤拓宏：SMG1 複合体の構造解析に関する共同研究
- ・ 伊野部×土居：異常新生鎖の分解制御に関する共同研究

8. 研究経費の使用状況（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記述してください（総括班における設備共用等への取組の状況を含む。）。

田口英樹

装置名：液体クロマトグラフィー質量分析装置 (LC-MS) (AB Sciex Triple TOF4600) レンタル4年間 (総額 2,775万円)

活用状況：細胞内での新生鎖フォールディングや非典型的な翻訳動態を大規模に調べるために活用した。活用成果の一つとして、新生鎖に依存した翻訳異常終了を活用して細胞内環境をモニターするタンパク質 (MgtA) を発見することができた (Chadani *et al* *Mol Cell* 2017)。また、班員との共同研究にてプロテオミクス解析を多数行い、本領域の研究推進に貢献できた (Sugita S *et al.* *J Biol Chem* 2017, Fujiwara K *et al.* *Nucleic Acids Res* 2017 など)。

田中元雅

装置名：オールインワン蛍光顕微鏡 (BZ-X700 (キーエンス)) (8,564,400 円)

活用状況：神経細胞内でのタンパク質の局在や翻訳過程、マウスへのウイルス感染効率の解析に頻繁に用いることで研究の推進に貢献した (Endo *et al* *Biol. Psychiatry*, 2018)。

装置名：レーザーマイクロダイセクションシステム (ライカ) (11,988,000 円)

活用状況：神経細胞内で核酸やタンパク質の局所翻訳解析のため局所的な試料採取を行うために頻繁に用いることで研究の推進に貢献した (Hui *et al* *Sci Adv.*, 2019)。

装置名：蛍光顕微鏡用 sCMOS カメラアップグレード (アンドール) (6,798,276 円)

活用状況：神経変性疾患関連タンパク質の機能および構造を調べるための全反射顕微鏡を用いた解析に用いることで研究の推進に貢献した (Hui *et al* *Sci Adv.*, 2019)。

装置名：共焦点レーザー顕微鏡システム (ライカ) (12,048,480円)

活用状況：酵母や神経変性疾患関連タンパク質の細胞内局在や翻訳過程を調べるために頻繁に用いることで研究の推進に貢献した (Endo *et al* *Biol. Psychiatry*, 2018; Hui *et al* *Sci Adv.*, 2019; Sugiyama *et al.*, *PNAS*, in press)。

装置名：超解像システムアップグレード (ライカ) (11,999,880円)

活用状況：酵母や神経変性疾患関連タンパク質の細胞内局在や翻訳過程について、より微細構造を調べるために頻繁に用いることで研究の推進に貢献した (Endo *et al* *Biol. Psychiatry*, 2018; Hui *et al* *Sci Adv.*, 2019; Sugiyama *et al.*, *PNAS*, 2019, in press)。

稲葉謙次

装置名：等温滴定型カロリメーター (マルバーン・MicroCal iTC200) (11,988,000 円)

活用状況：新生鎖と PDI ファミリー酵素間の相互作用を定量的に解析するために活用した。また PDI ファミリー酵素の一つ ERp44 が亜鉛イオンと結合して機能発現することを発見し、ERp44 と亜鉛間の相互作用を定量解析するのに活用した (Watanabe *et al*, *Nat Commun.* 2019)。

千葉志信

装置名：高圧乳化分散機マイクロフルイダイザー LV-1 (Microfluidics 社製・一式) (481 万円)

活用状況：本課題では、*in vitro* の翻訳系を使用したアッセイを多用した。本装置の導入により、*in vitro* 翻訳系の構築に必要な枯草菌リボソームの精製時に、リボソームに与えるダメージを最小限にしつつ効率よく細胞破碎を行うことができた。

・研究費の使用状況 ((1), (2), (3) を合わせて3ページ以内)

(1) 主要な物品明細 (計画研究において購入した主要な物品 (設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。) について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価 (円)	金額 (円)	設置(使用)研究機関
26	ルミノイメ ジアナライザ ー一式	ImageQuant LAS4000mini	1	3,564,000	3,564,000	東北大学
	オールインワ ン蛍光顕微鏡	キーエンス BZ-X700	1	8,564,400	8,564,400	理化学研究所
	レーザーマイ クロダイセク ションシステ ム	ライカ LMD6500-3	1	11,988,000	11,988,000	理化学研究所
	蛍光顕微鏡用s CMOSカメ ラアップグレ ード	アンドール 53-853130-000	1	6,798,276	6,798,276	理化学研究所
	等温滴定型カ ロリメーター	マルバーン MicroCal iTC200	1	11,988,000	11,988,000	東北大学
	デジタルイメ ー ジャー Amersham Imager	GE ヘルスケア・600 システム	1	4,374,000	4,374,000	京都産業大学
27	液体クロマト グラフィー質 量分析装置(レ ンタル)	サイエックス Triple TOF 4600, NanoLC	1	12,960,000	12,960,000	東京工業大学
	共焦点レーザ ー顕微鏡シス テム	ライカ TCS SP8 HS	1	12,048,480	12,048,480	理化学研究所
	オールインワ ン蛍光顕微鏡	キーエンス社製 BZ-X700	1	7,030,800	7,030,800	奈良先端科学技術大学院 大学
28	液体クロマト グラフィー質 量分析装置(レ ンタル)	サイエックス Triple TOF 4600, NanoLC	1	5,918,832	5,918,832	東京工業大学
	超解像システ ムアップグレ ード	ライカ GmbH	1	11,999,880	11,999,880	理化学研究所
29	液体クロマト グラフィー質 量分析装置(レ ンタル)	サイエックス Triple TOF 4600, NanoLC	1	4,924,800	4,924,800	東京工業大学
30	液体クロマト グラフィー質 量分析装置(レ ンタル)	サイエックス Triple TOF 4600, NanoLC	1	3,942,036	3,942,036	東京工業大学

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成26年度】

・旅費

1. EMBO Conference (クロアチア、Dubrovnik) に参加 (福岡-ドブロブニクの交通費、宿泊費、日当) 864,170 円 (藤木)
2. 実験手法の習得のため (アメリカ、Ingolia Lab UC Berkeley) (仙台-バークレーの交通費、滞在費) 486,800 円 (稲田)
3. セミナー、研究打ち合わせ及び CSHL meeting (アメリカ、UCSF、Cold Spring Harbor) に参加 (仙台-サンフランシスコ-ニューヨークの交通費、宿泊費) 463,650 円 (稲田)
4. FASEB meeting (アメリカ、Bigsky) に参加 (仙台-モンタナの交通費、宿泊費) 421,400 円
5. Gordon Research Conference (米国・ガルベストーン) に参加 (交通費) 220,650 円 (千葉志信)

・人件費・謝金

1. 博士研究員の雇用：稲葉 1,921,201 円 (1名)、藤木 10,155,546 円 (5名)、千葉 2,148,000 円 (1名)
2. 研究支援者の雇用：田口 1,791,705 円 (1名)、稲田 2,793,849 円 (1名)、田中 406,205 円 (1名)、稲葉 1,255,824 円 (1名)、藤木 6,487,493 円 (4名)、千葉 470,540 円 (1名)
3. RA の雇用：藤木 586,404 円 (4名)

・その他

1. マウス業務委託料 807,840 円 (藤木)
2. 論文投稿料 713,585 円 (藤木)
3. ソフトウェアライセンス料 604,800 円 (千葉) DNA 塩基配列データ解析のため
4. ソフトウェア更新料 259,200 円 (千葉) DNA 塩基配列データ解析のため

【平成27年度】

・旅費

1. EMBO conference (ギリシャ) に参加。(東京-クレタ島の交通費、宿泊費) 320,394 円 (田口)
2. EMBO meeting に参加及び研究打合せ (ドイツ、クロアチア) (仙台-ハイデルベルグ-ミュンヘン-ドブロブニクの交通費、宿泊費) 667,770 円 (稲田利文)
3. 研究打合せ及び分子生物学会に参加(仙台、神戸) (ミュンヘン-仙台-神戸の交通費、宿泊費) 299,230 円 (Roland Beckmann 稲田班)
4. Gordon Research Conference (イタリア、Renaissance Tuscany Il Ciocco) に参加 (奈良先端科学技術大学院大学-ルッカの交通費、宿泊費) 497,747 円 (河野)
5. Gordon Research Conference (米国・ガルベストーン) に参加 (交通費) 220,650 円 (千葉志信)

・人件費・謝金

1. 博士研究員の雇用：田口 6,104,513 円 (1名)、稲葉 4,310,489 円 (1名)、河野 1,338,648 円 (1名)、藤木 6,505,758 円 (2名)、千葉 4,309,014 円 (1名)
2. 研究支援者の雇用：田口 7,955,649 円 (2名)、稲田 3,811,487 円 (1名)、田中 944,090 円 (1名)、河野 289,612 円 (1名)、藤木 3,435,279 円 (2名)、千葉 866,400 円 (1名)
3. RA の雇用：藤木 439,803 円 (1名)

・その他

1. 生体物質分析支援費 394,740 円 (田中元雅) (翻訳研究のための質量解析などを行うため)
2. マウス維持費 2,597,840 円 (田中元雅) (翻訳研究のためのマウスの系統維持を行うため)
3. マウス業務委託料 1,067,040 円 (藤木幸夫)
4. カスタム抗体作製 323,136 円 (千葉志信) ウェスタンブロットティングに使用するため

【平成28年度】

・旅費

1. Cold Spring Harbor Laboratory (アメリカ、ニューヨーク) に参加。(東京-ニューヨークの交通費、宿泊費) 306,970 円 (田口)
2. EMBO Conference (フランス、ストラスブール) に参加。(東京-ストラスブールの交通費、宿泊費) 328,530 円 (茶谷：田口班)
3. EMBO meeting 及び FASEB meeting に参加 (フランス、ポルトガル) (仙台-ストラスブール-リスボンの交通費、宿泊費) 409,220 円 (稲田)
4. 共同研究のための実験を行うため (ドイツ、ミュンヘン大学) (仙台-ミュンヘンの交通費、宿泊費) 386,200 円 (松尾：稲田班)
5. EMBO meeting (スペイン、ジローナ) に参加 (仙台-ジローナの交通費) 238,580 円 (金村：稲葉班)
6. EMBO Conference (クロアチア、Dubrovnik) に参加 (福岡-ドブロブニクの交通費、宿泊費、日当) 632,240 円 (藤木幸夫)
7. OEPM 2016 (オーストリア、Vienna) に参加 (福岡-ウィーンの交通費、宿泊費、日当) 421,099 円 (藤木幸夫)
8. EMBO Ribosome Structure and Function 2016 (フランス・ストラスブール) に参加 (交通費・宿泊費) 285,630 円 (千葉)
9. EMBO Ribosome Structure and Function 2016 (フランス・ストラスブール) に参加 (交通費・宿泊費) 286,150 円 (藤原)

・人件費・謝金

1. 博士研究員の雇用：田口 6,327,086 円 (1名)、稲葉 4,489,057 円 (1名)、河野 2,683,595 円 (1名)、藤木 5,363,662 円 (1名)
2. 研究支援者の雇用：田口 11,868,599 円 (2名)、稲田 4,040,682 円 (1名)、田中 5,639,645 円 (1名)、稲葉 3,340,892 円 (1名)、河野 3,685,055 円 (3名)、藤木 1,364,167 円 (2名)、千葉 652,260 円 (1名)

・その他

1. 論文掲載料 183,600 円 (稲田)
2. 生体物質分析支援費 1,003,960 円 (田中元雅) (翻訳研究のための質量解析などを行うため)
3. マウス維持費 488,040 円 (田中元雅) (翻訳研究のためのマウスの系統維持を行うため)
4. 論文投稿料 792,815 円 (藤木幸夫)
5. マウス業務委託料 739,800 円 (藤木幸夫)

【平成29年度】

・旅費

1. EMBO meeting に参加 (スペイン、Girona) (仙台-Girona の交通費、宿泊費) 195,250 円 (稲田)
2. Gordon Research Conference (アメリカ、West Dover) に参加 (福岡-West Dover の交通費、宿泊費、日当) 797,820 円 (藤木)
3. Metabolomics & Systems Biology (シンガポール) に参加 (福岡-シンガポールの交通費、日当) 377,550 円 (藤木)
4. 国際会議 Microbial Genetics and Genomics VII (米国・サンフランシスコ) に参加 (交通費・参加費) 319,750 円 (伊藤)

・人件費・謝金

1. 特任助教の雇用：河野 1,837,537 円 (1名)
2. 博士研究員の雇用：田口 6,140,378 円 (1名)、稲田 4,350,951 円 (1名)、田中 9,974,712 円 (2名)、稲葉 4,043,534 円 (1名)、藤木 7,227,271 円 (3名)
3. 研究支援者の雇用：田口 11,868,599 円 (2名)、稲田 4,555,092 円 (2名)、田中 7,523,922 円 (2名)、稲葉 4,928,773 円 (2名)、藤木 2,446,339 円 (4名)、千葉 745,360 円 (1名)
4. RA の雇用：田口 601,289 円 (1名)

・その他

1. オープンアクセス出版掲載料 714,420 円 (稲田)、論文掲載料 412,727 円 (田口)
2. カスタム抗体作製 269,460 円 (千葉志信) ウェスタンブロットティングに使用するため

【平成30年度】

・旅費

1. Cold Spring Harbor Meeting(アメリカ、ニューヨーク)に参加。(東京-ニューヨークの交通費、宿泊費) 346,875 円 (田口)
2. Venice Spring Conference (イタリア・ベニス) に参加。(東京-ベニスの交通費) 257,700 円 (田口)
3. FASEB meeting に参加 (アメリカ、snowmass) (仙台-アスペンの交通費、宿泊費) 270,080 円 (稲田)
4. CSHL meeting (アメリカ、Cold Spring Harbor) に参加 (東京-ニューヨークの交通費、宿泊費) 264,150 円 (1名) (田中)・国際会議にて研究成果発表のため
5. FASEB meeting (アメリカ、St Bonaventure University) に参加 (仙台-ニューヨーク州 St Bonaventure University の交通費) 194,740 円 (藤本：稲葉班)
6. Ribosome 2018 Meeting (メキシコ・メリダ) に参加 (交通費) 398,210 円 (伊藤維昭)
7. Bacterial Protein Export 2018 (ベルギー・ブリュッセル) に参加 (交通費・宿泊費) 388,530 円 (千葉志信)
8. Bacterial Protein Export 2018 (ベルギー・ブリュッセル) に参加 (交通費・宿泊費) 384,010 円 (伊藤維昭)
9. CSHL meeting (米国・Cold spring harbor) に参加 (交通費) 268,100 円 (千葉志信)
10. CSHL meeting (米国・Cold spring harbor) に参加 (交通費) 268,390 円 (藤原圭吾)

・人件費・謝金

1. 特任助教の雇用：河野 3,678,600 円 (1名)
2. 博士研究員の雇用：稲田 4,992,824 円 (1名)、田中 8,737,030 円 (2名)、稲葉 4,051,083 円 (1名)、河野 441,236 円 (1名) 藤木 7,196,087 円 (3名)
3. 研究支援者の雇用：田口 6,619,372 円 (2名)、稲田 4,208,626 円 (1名)、田中 6,229,308 円 (1名)、稲葉 3,001,249 円 (1名)、河野 2,203,259 円 (1名)、藤木 906,218 円 (4名)、千葉 978,720 円 (1名)
4. RA の雇用：田口 601,292 円 (1名)

・その他

1. 生体物質分析支援費 2,054,880 円 (田中元雅) 翻訳研究のための質量解析などを行うため。
2. 論文掲載料 782,925 円 (稲田)
3. FASEB meeting Protein Folding in the Cell (アメリカ、St Bonaventure University) 参加費 148,753 円 (藤本拓志：稲葉班)
4. 論文出版費用(ASBMB) 157,465 円 (門倉：稲葉班)
5. サンプル解析 (リボソームプロファイリング) (University of California, Berkeley) 145,608 円 (門倉：稲葉班)
6. 論文投稿料 722,910 円 (藤木幸夫)

(3) 最終年度 (平成30年度) の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

(田口) 新生鎖プロテオミクス解析に使用していた質量分析装置に不測の故障が生じたため、当装置の修理・調整が必要となり、新生鎖プロテオミクス解析の再開までに6ヶ月間を要したので繰越しを行った。

(門倉：稲葉) LDL 受容体(LDLR)の新生鎖の折りたたみに想定していなかった分子機構があることがわかり、その解析への準備と実験が年度内に終わらないために繰越しを行った。

(河野) XBP1u の翻訳休止配列とリボソームトンネル狭窄部位を構成する uL4 のアミノ酸が相互作用し、XBP1u の翻訳休止を引き起こしていることを証明するため、内因性の uL4 を KD し、変異型 uL4 を強発現して uL4 を入れ替えたリボソームを作り、変異型では翻訳休止が起こらないことを証明する実験を計画している。

9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1ページ以内）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

すべてのタンパク質は新生ポリペプチド鎖（新生鎖）として産まれる。タンパク質の機能が、個々のタンパク質のアミノ酸配列に刻まれた立体構造に依存するというタンパク質の見方からすると、新生鎖はタンパク質合成時における過渡的な中間体である。しかし、新生鎖がタンパク質合成時における単なる中間体ではなくさまざまな生命現象に積極的に関わっていることが本領域発足前に徐々にわかってきたのを受けて本領域は発足した。この5年間の領域期間に、本領域の研究は大きく進展し、学問分野の確立、さらには関連分野に大きなインパクトを与えたと考えている。具体的には、以下の三つの観点で整理する。

【領域コンセプトの認知】

本領域のコンセプトの一つは「RNA とタンパク質研究のインターフェース」というものである。従来のタンパク質フォールディング、シャペロンといったタンパク質研究と RNA の品質管理や翻訳など RNA 研究がリボソームを場として交わり、「新生鎖の生物学」研究を開拓した。その結果、領域のコンセプトは内外に浸透し、特に、翻訳レベルでの遺伝情報発現制御がこれまで考えられているよりも重要であることはかなり認知されるようになったと考えている。実際、本領域のコンセプトは世界的にも評価されている。例えば、2016、2018 に主催した国際会議（河口湖、延暦寺）は両方ともに、以下に示すように *Nat Struct Mol Biol* (*NSMB*) 誌にミーティングレポートが掲載された。さらに、2016 年の国際会議を受けて、2018 年の延暦寺での国際会議では、*Nature* 誌と *NSMB* 誌からエディターが会議を通して参加した。このような国際的な活動も含めて、本領域のコンセプト、領域内の研究成果を国際的にも発信し、一定の評価を得たと考えている。

【2016 年 河口湖】 Wilson DN, Clark PL. Climbing to the peak of nascent-chain knowledge. *Nat Struct Mol Biol* 23, 949-951 (2016)

【2018 年 延暦寺】 Herrmann JM, Carvalho P, Hayer-Hartl M, Yoshihisa T. Life of proteins: from nascent chain to degradation. *Nat Struct Mol Biol* 25, 996-999 (2018)

【連携から産まれた多くの成果】

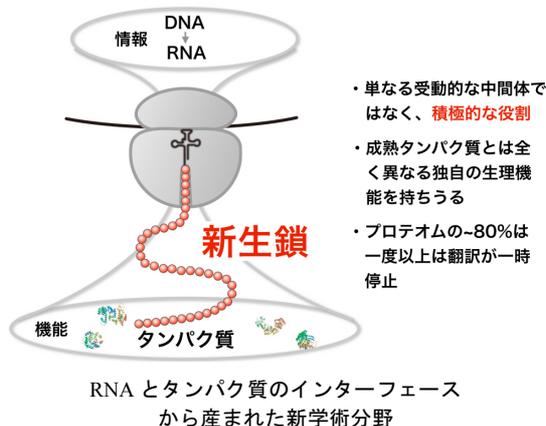
新学術領域の枠組みの中で多くの連携研究が進行し、既に実りを挙げている。例えば、田口-千葉-長尾が連携した新生鎖に依存した翻訳途中終了 (*Mol Cell* 2017) はこれまで知られていなかった新規の翻訳動態である。また、稲田-佐伯-岩崎の連携による、リボソームでの新生鎖の品質管理研究 (*Nat Commun* 2017) は世界をリードする研究である。

【新生鎖研究のための新規技術の確立】

領域発足時の目標の一つが、新生鎖研究に必須だが確立していない手法をサポートするというものであった。その点では領域期間内に、真核生物由来翻訳再構成系（真核 PURE システム）が確立し、さまざまな連携が領域内外、さらには海外までにも広がったのは大きな成果である。また、リボソームプロファイリング（Ribo-Seq）は領域発足当初は国内で実施できる研究室が非常に限定されていたが、今では研究の裾野が大きく広がり、特に公募班の岩崎の共同研究の数は際だっている。いずれも、領域内に留まらず、広く生命科学研究に貢献できたと考えている。

【「新生鎖の生物学」からの拡がり】

本領域研究はさまざまなベクトルで拡がりを見せている。例えば、新規の翻訳動態や Ribo-Seq からは、これまで未知の新規 ORF が非常に多数あること（未開拓プロテオーム）がわかりつつあり、新規のプロテオーム研究が始まっている。新生鎖の視点から生み出された新規のタンパク質科学、RNA バイオロジーが既に始まっており、世界的にもホットなトピックスとなりつつある。



NSMB 誌でのミーティングレポート (Herrmann et al, NSMB 2018)

10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1 ページ以内）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者（※）の研究終了後の動向等を記述してください。

※研究代表者・研究分担者・連携研究者・研究協力者として参画した若手研究者を指します。

《若手育成の取組》

【若手ワークショップの開催】 領域期間内の全年度で若手ワークショップを開催した。各回 50～70 名程度の参加者が集い、活発な議論が展開された。

- 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）
- 第4回 2017年8月29-31日（京都府京都市）
- 第5回 2018年5月14-16日（山形県蔵王市）



第1回 若手ワークショップ（八王子）

【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。その後の若手ワークショップ、領域会議において若手研究者を中心に自発的な技術講習会が開かれた。

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：岩崎信太郎 (Nick Ingolia

ラボ：岩崎は領域後半での公募班員)



第5回 若手ワークショップ（蔵王）

【受賞（一部）】

藤木幸夫：日本生化学会 柿内三郎記念賞（平成27年）「オルガネラ恒常性とその障害に関する研究」

三嶋 雄一郎（公募班員）：平成29年度 文部科学大臣表彰 若手科学者賞を受賞

岩川 弘宙（計画研究分担者）：平成30年度 文部科学大臣表彰 若手科学者賞を受賞

岩崎 信太郎（公募班員）：平成31年度 文部科学大臣表彰 若手科学者賞を受賞

有井 潤（公募班（川口）連携研究者）：平成29年度 文部科学大臣表彰 若手科学者賞を受賞

【参画した班員の昇進】

- ・千葉 志信 京都産業大学 准教授 → 京都産業大学 教授
- ・岩川 弘宙（研究分担者） 東京大学定量生命科学研究所 助教 → 東京大学定量生命科学研究所 講師
- ・土居 信英 慶應義塾大学 准教授 → 慶應義塾大学 教授
- ・伊藤 拓宏 理化学研究所ユニットリーダー → 理化学研究所生命機能科学研究センター チームリーダー
- ・清水 義宏 理化学研究所ユニットリーダー → 理化学研究所 チームリーダー
- ・潮田 亮 京都産業大学 研究助教 → 京都産業大学 准教授 (PI)
- ・森戸 大介 京都産業大学博士研究員 → 北里大学 専任講師
- ・市橋 伯一 大阪大学 准教授 → 東京大学 教授
- ・三嶋 雄一郎 東京大学 助教 → 京都産業大学 准教授 (PI)
- ・高橋 広夫 千葉大学 園芸学研究科 准教授 → 金沢大学 医薬保健研究域薬学系 准教授
- ・喜井 勲 理化学研究所・科技ハブ産連本部 ユニットリーダー → 信州大学准教授

【参画した連携研究者・研究協力者の昇進】

- ・茶谷悠平（田口）東京工業大学 博士研究員 → 東京工業大学 特任助教
- ・猫沖陽子（田中元雅）理化学研究所 テクニカルスタッフ → 帝京大学医学部 助教
- ・奥村正樹（稲葉）日本学術振興会 特別研究員PD → 東北大学 多元研 助教 → 東北大学 学際研 助教
- ・金村進吾（稲葉）日本学術振興会 特別研究員DC2 → 東北大学 学際研 博士研究員 → 関西学院大学 助教
- ・天貝佑太（稲葉）東北大学 多元研 博士研究員 → 東北大学 多元研 助教
- ・中村織江（稲葉）東北大学 多元研 研究支援者 → 国立研究開発法人国立環境研究所 特別研究員
- ・松崎元紀（稲葉）東北大学 学際研 博士研究員 → 日本学術振興会 特別研究員 PD
- ・平山千尋（稲葉）東北大学 大学院生 → 東北大学 学際高等研究教育院 育成対象者
- ・柳谷 耕太（河野）奈良先端科学技術大学院大学 研究員 → 九州大学 准教授
- ・曾川 愛守榮（河野）奈良先端科学技術大学院大学 研究員 → 大阪国際がんセンター研究所 研究員
- ・藤原慶（土居）慶應義塾大学 専任講師（有期） → 慶應義塾大学 専任講師
- ・門脇寿枝（西頭）宮崎大学 助教 → 宮崎大学 医学部准教授
- ・小柳直人（川口）東京大学特任研究員 → 東京大学助教
- ・土屋 光（佐伯）東京都医学総合研究所研究員 → 東京都医学総合研究所 主任研究員
- ・古寺 哲幸（齋尾）金沢大学 准教授 → 金沢大学 教授

11. 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》 以下の表に示すような評価体制にて総括班会議、全体領域会議などで本領域の評価と助言をいただいた。

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

*渡辺公綱先生は2016年10月に逝去されました。

《総括班評価者による評価》

【田中 啓二 東京都医学総合研究所 所長】

タンパク質の一次構造形成（合成）からフォールディング（折り畳み）を経て三次構造形成（機能発現）に至る経路は、タンパク質のセントラルドグマともいふべき基本的な生命現象である。フォールディングとは、アミノ酸の配列情報を機能素子としてのタンパク質に変換するプロセスであり、その主役としての分子シャペロン研究は、長年に亘って国内外の多くの研究者たちが凌ぎを削ってきた。しかし2000年初頭、我が国の研究者によって翻訳アレスト（翻訳伸長の一時停止）が発見されると、新生鎖（翻訳時の新生ポリペプチド鎖）をハブとした正確な遺伝子発現という概念が誕生し、フォールディング研究にパラダイムシフトを引き起こした。即ち、リボソームの翻訳過程における品質管理という新しい課題が登場し、フォールディング研究の深化とも相まって、「新生鎖」という造語が新しい学術用語として定着してきた。その結果、本「新生鎖の生物学」は、新学術らしい新鮮さと独自性を持って発足したのである。研究開始当時、やや時期尚早かと思われた「新生鎖」研究は、5年を経過した頃には未曾有に拡大して、生命科学に一つの分野を創出することになった。そしてリボソームにおける新生鎖の翻訳速度の調整は、殆どの遺伝子に見られる普遍的な現象であることが明らかとなった。また翻訳伸長異常を認識して合成途中の新生ポリペプチド鎖や異常リボソームを分解する機構の発見や、リボソーム停滞型の mRNA を分解する機構の発見から、様々なステップで新生鎖に対する厳格な品質管理が行われていることが示された。さらに、細胞内の翻訳状況を一塩基レベルで網羅的に解析できる新しい tRNA リボソームプロファイリング技術や真核生物由来の PURE システム（再構成無細胞翻訳系）など卓越した技術開発が本領域研究の発展に大きく貢献した。加えて新生タンパク質のジスルフィド結合形成、修飾、局在化などの理解も目覚ましく進展した。このように本「新生鎖の生物学」は、課題克服のための新技術の開発や多数の共同研究による有機的な連携が多くを成果を挙げる原動力となり、新しい学術分野の創成に寄与した。また複数の国際会議を開催し、その中の2回が一流国際誌に Meeting Report として掲載されたことは、この研究班活動の国際性を象徴的に示している。

【山本 正幸 東京大学名誉教授、自然科学研究機構基礎生物学研究所名誉教授（基礎生物学研究所 前所長）】

タンパク質はそれぞれ特異的なアミノ酸配列をもつ。本新学術領域研究は、タンパク質が合成マシンであるリボソーム上で作られていく際の中間体、すなわち新生鎖の状態ですでにそのアミノ酸配列に応じた特徴を発揮し、合成マシンとの相互作用によって合成速度や品質管理などの制御に携

わっていることに着目して、新生鎖のダイナミクスと機能の理解に基づく新たな生物学的パラダイムを構築しようとした意欲的な課題である。5年間の研究で、新生鎖に関する3つの側面、すなわち翻訳速度調節、品質管理、フォールディング・修飾・局在化のそれぞれにおいて興味深い成果が得られている。研究代表者を中心とするコアメンバーはこの新しい研究領域の揺るぎなき確立に向けて、研究者間の連携を支援し、中間評価で指摘された問題点に対応し、また国際会議を開くなど真摯な努力を傾注しており、特に解析技術を中心とした領域融合に大きな進展が認められる。領域の研究は順調であったと言えるが、研究成果が総体としてコヒーレントで斬新な新生鎖像を浮かび上がらせたとはまだ言えない点は惜しまれる。

【吉田 賢右 東京工業大学 名誉教授】

10年前の生化学細胞生物学の教科書をみれば、細胞内の個々のタンパク質の量の時々刻々の制御は遺伝子の転写の段階およびタンパク質分解によって行われていると記されてあった。しかし、伊藤維昭らのリボソームにおける翻訳の一時停止（ポーズ）の発見などを嚆矢として、リボソームのおこなう反応もタンパク質の合成制御の重要なシーンとなっていることが注目されるようになった。この分野において我が国の研究者の貢献と実績は大きく、急速に進む開拓的な分野に焦点をしばった新学術研究「新生鎖の生物学」は時宜にあったものであった。今、5年の領域研究の終了を機会に振り返ってみると、実に多くの解明があった。翻訳ポーズが限られた特殊なタンパク質の合成だけでなく広範なタンパク質の合成においても起こっていること、リボソームのトンネル内壁だけでなくトンネルの出口表面も新生鎖と相互作用すること、アミノ酸配列によってはリボソームが不安定となりサブユニットに解離すること、これが細胞内マグネシウム濃度の制御に利用されていること、翻訳途中で停止したポリペプチドはユビキチンが付加されて分解されること、それに必要な因子が同定されたこと、新生鎖のジスルフィド結合形成機構の原子分解能の詳細な構造的解明がなされたこと、などである。また、完全に精製された因子のみによる真核細胞の翻訳系がつくられたこと、リボソームに結合している mRNA, peptidyl-tRNA を同時に網羅的に解析する方法が確立したことは今後の研究にとっても重要な貢献といえる。総じて、この新学術研究は期待にたがわず非常に大きな成果をあげ、リボソームを舞台とするタンパク質合成制御の理解は格段に進歩した。

【貫名 信行 同志社大学 教授】

本研究領域は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目指した。領域研究を「新生鎖の翻訳速度調節」、「新生鎖の品質管理機構」、「新生鎖研究のフォールディング・修飾・局在化」の研究グループと「新手法開発」の開発支援グループで行った。

「翻訳速度調節」グループからは翻訳アレストのメカニズムに関する新たな知見を得、また翻訳アレストが普遍的な現象であることを示した。さらに新規の非典型的な翻訳動態を発見し、報告している。「品質管理」グループからは真核生物の新生鎖の品質管理のメカニズムに関する新たな知見が報告された。「フォールディング」グループからは新生鎖フォールディングにおけるシャペロン効果の解析や新生鎖のジスルフィド結合、オルガネラ膜への挿入メカニズムの新たな知見が得られた。「新手法開発」グループでは tRNA/mRNA 同時リボソームプロファイリング法が開発され、また Ribo-Seq 法の領域内利用の確立により、連携研究も発展した。これらの研究成果はハイインパクトな雑誌に報告されており、国際的にも大きく認識されたと思われる。中間評価を含め問題点を随時解決し、国際会議を行い国際的なレベルでの認知度を高めたのも評価できる。公募班員も各自がハイインパクトな仕事を出しており、領域がうまく育ったことが示唆される。全体として本領域は予想以上の成果を上げていると思われるが、本領域の対象が RNA とタンパク質のインターフェースを扱ったという認識は重要で、今後この領域が関連する疾患研究も含めて展開されることを期待したい。