

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H04324

研究課題名(和文)動物RNAウイルス生活環の試験管内再現

研究課題名(英文)Recapitulation of life cycle of an animal RNA virus in vitro

研究代表者

今高 寛晃 (IMATAKA, HIROAKI)

兵庫県立大学・工学研究科・教授

研究者番号：50201942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：RNAウイルスの増殖は自身のゲノムRNAが宿主のリボソームにより翻訳されることにより開始する。そして翻訳産物の一つであるRNA合成酵素によりゲノムRNAが複製されウイルス増殖へと向かう。この過程の詳細なメカニズムを探るため我々は試験管内でRNAウイルスの翻訳を再現することにした。その目的のため、我々はヒト由来因子で再構成された完全再構成型翻訳システムを樹立した。そのシステムとクライオ電子顕微鏡観察を組み合わせることによりC型肝炎ウイルス(HCV)のRNAがいかに自身の翻訳のためリボソームを独占していくのかが明らかになった。得られた知見は、抗HCV薬剤の開発のために役立つと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではC型肝炎ウイルス(HCV)の増殖初期反応である「翻訳過程」を試験管内で精製因子を用いて再現し、これをクライオ電子顕微鏡で可視化することによりウイルスが持つ巧妙な増殖戦略が明らかになった。このように試験管内再構成技術とクライオ電子顕微鏡解析を組み合わせることにより、コロナウイルスを含む様々なRNAウイルス特有の増殖様式を突き止め、抗ウイルス剤の開発に繋げることができる。

研究成果の概要(英文)：The RNA virus initiates its replication through translation of its genome RNA by the ribosomes in cells. Then, the RNA synthetase, one of the translated products, replicates the genome RNA. To elucidate the underlying mechanisms thereof, we tried to recapitulate these steps of the viral life cycle in vitro. For this aim, we established a reconstituted translation system composed of human factors. By combining this system and the cryo-electron microscopy (cryo-EM) analysis, we unraveled that hepatic type C virus (HCV) RNA captures a translating ribosome to effectively generate its own viral products. The data obtained herein may be useful for development of anti-HCV pharmaceuticals.

研究分野：生物学

キーワード：翻訳 タンパク質合成 試験管内合成 再構成 RNAウイルス in vitro 無細胞 ウイルス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ウイルスの本体はゲノム (DNA, RNA) であり、ウイルスゲノムは感染細胞の機能を最大限に利用することにより増幅していく。ゲノムにコードされた情報は翻訳され、最終的にはウイルス粒子が構築される。この過程はセントラルドグマ (複製、転写、翻訳) そのものを示している。つまりウイルスの生活環の研究は単にウイルス学の発展に寄与するだけでなく、細胞側の機能に関する新たな発見ができると考えられた。

2. 研究の目的

ウイルスは保有するゲノムによって DNA ウィルスと RNA ウィルスに分類される。共に医学的には重要であるが、本研究では細胞質を複製の場とする RNA ウィルスを研究対象とし、その中でも +1 本鎖 RNA (そのまま mRNA として翻訳される RNA) をゲノムに持つ RNA ウィルスを扱う。+1 本鎖 RNA ウィルスが細胞に感染すると、そのゲノム RNA がウイルス粒子から細胞質に放出され、翻訳される (図 1)。その翻訳産物は個々のウイルスタンパク質へとプロセッシングされ、構造タンパク質 (カプシド) はウイルスの殻を構成し、非構造タンパク質は主にゲノム RNA の複製に関わる。複製されたゲノム RNA はウイルスの殻に包含され、ウイルス粒子が形成される。ウイルスによっては更に細胞由来の膜構造 (エンベロープ) に包まれる。細胞内で形成されたウイルス粒子は細胞の外に脱出し、新たな細胞に感染していく。細胞内にはタンパク質、糖、脂質、低分子生体物質など様々な因子及び構造体が有り、ゲノム RNA やウイルスタンパク質はそれらの生体物質と相互作用しながら増幅及び粒子形成へと向かう。本研究では脳心筋炎ウイルス (EMCV) と C 型肝炎ウイルス (HCV) が細胞内で増幅していくためにどのような分子生物学的戦略をとっているのか? これらのウイルスがどのように細胞成分・機能を利用しながら複製していくのか? を分子レベルで明らかにすることである。

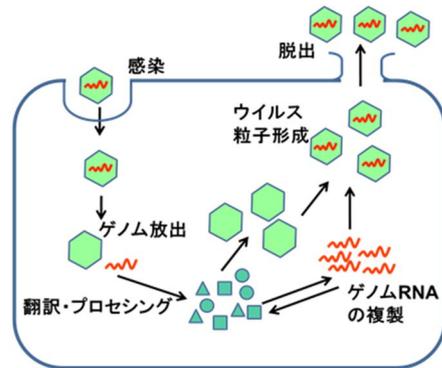


図1 RNAウイルスの生活環

3. 研究の方法

我々が用いる研究方法は無細胞系である。通常、ウイルスの biogenesis の研究は当該ウイルスを生きた細胞に感染させて行う。どのような細胞成分が重要であるかは、例えば RNAi などの技術によって RNA/タンパク質をノックダウンすることにより突き止めていく。この場合、網羅的解析を行うことにより理解が進むことは多くの論文が証明している。ただ、これは対象が核酸・タンパク質に限り有効であり、他の生体分子 (脂質、糖、低分子) に対しては間接的な知見しか得られない。そこで我々は、生きた細胞を用いないで、RNA ウィルスの biogenesis を試験管内で再現していく方法をとった。

(1) まず、我々が既に開発している「ヒト細胞抽出液由来試験管内翻訳系」を改善した。このシステムは HeLa 細胞などを破碎して得られた細胞質が主体になっており、核を除くすべての細胞成分を含んでいる。この中に EMCV や HCV の RNA を投入するとウイルスタンパクの翻訳・プロセッシングが起こることが予想されるが、この反応をできるだけ細胞に近い状態でできるようにした。

(2) もう一つの無細胞系は「ヒト因子由来再構成型試験管内翻訳系」であり、リボソームや翻訳因子などをヒト細胞から精製、またはリコンビナント体として発現・精製し、それらを混ぜ合わせるにより試験管内で翻訳系を構築したものである。これまでに我々は HCV RNA の翻訳を可能にする再構成型試験管内翻訳系を樹立している (Machida et al., 2014 *J. Biol. Chem.* 289:31960)。そこで EMCV RNA の翻訳を可能にする再構成を樹立していった。HCV RNA の翻訳には翻訳開始因子が必要ではないが、EMCV RNA の翻訳には、細胞側の mRNA と同様に 1 2 種類もの翻訳開始因子を必要とする。

(3) 実験 (1) (2) の系を脂質二重膜に包み、その中でレプリコン複製が行われる系を構築した。それにより、できるだけ in vivo に近い状態で実験を行えるようにした。

4. 研究成果

(1) 細胞抽出液の調製方法を改善し合成系のタンパク質濃度を高めることにより「改善ヒト細胞抽出液由来試験管内翻訳系」を確立した (Machida et al., 2016 *J. Biotechnol.* 239:1)。そこに

EMCV RNA を投入し翻訳・プロセッシングを観察した。すると最初の分断である 2A-2B 間のプロセッシングが行われ、N末端側の L-1A-1B-1C-1D-2A と C 末端側の 2B-2C-3A-3B-3C-3D が産物として検出された。その後 3C プロテアーゼの働きにより、個々のタンパク質へと切断されていく様子が再現できた。L-1A-1B-1C-1D-2A の部分だけ合成すると強固な構造（凝集体）をとってしまい 3C プロテアーゼを後から投入しても分断はおこらず、L-1A-1B-1C-1D-2A が合成されているときに 3C プロテアーゼが共存していることが重要であることがわかった。つまり 3C プロテアーゼは co-translational にウイルスタンパク前駆体に働いていることがわかった（論文準備中）。

(2) ヒト因子由来完全再構成型翻訳システムを完成させた。eIF1, eIF1A, eIF2, eIF2B, eIF3, eIF4A1, eIF4B, eIF4G1, eIF4E, eIF5, eIF5B, DHX29, eEF1, eEF2, eRF1, eRF3, 40S リボソーム, 60S リボソーム, アミノアシル tRNA 合成酵素そして tRNAs を精製し、それらを試験管で混合し、更にアミノ酸や核酸を添加した。このシステムに 5 末端にキャップ構造、3 末端にポリ A 構造を持った mRNA を投入すると、キャップ構造やポリ A 構造に依存してコードされたタンパク質が合成された。つまり、ヒト細胞内で行われているタンパク質合成を忠実に再現している試験管内翻訳系が完成した (Machida et al., 2018 *Scientific Reports* 8, 17435) (Iwasaki et al., 2019 *Mol. Cell* 73:738)。そこで、この系に、脳筋炎ウイルス (**EMCV**) のゲノム RNA を投入し、まず、合成されるタンパク質を観察した。**EMCV RNA** は 2300 アミノ酸で構成されているオープンリーディングフレームを持つが、C 末端にある 3D (RNA 複製酵素) と 3C (プロセッシング酵素) との融合タンパク質 3C-3D の合成が観察された。このことは、この再構成系で、EMCV 由来のすべてのタンパク質が合成されていることを示し、また 3C によるプロセッシングも近接部位に関してはうまく行われていることを示している。途中の 2A-2B 間のプロセッシングも行われており、L-1A-1B-1C-1D-2A の合成が確認された (論文準備中)。

(3) 次に、**EMCV** や **HCV** を人工細胞で合成させるための技術開発として、リボソームに試験管内タンパク質合成系 (抽出液型及び再構成型タンパク質合成系) を組み込み、中でタンパク質を合成する系を立ち上げた。方法は界面通過法を用いた: 脂質 (POPC) とコレステロールをパラフィンと混合し、タンパク質合成系とのエマルジョンを形成させ、外部液 (タンパク質合成系のバッファー) の上に重層し遠心することによりリボソームを集め、それを加温することによりリボソーム内でのタンパク質合成を開始させる方法である。具体的にはこの抽出液由来翻訳系や再構成型翻訳系を細胞様 vesicle (直径約 20 μ m) に包み、その中で試験的にハンチントン病原因遺伝子を発現し観察すると、神経細胞内で見られる凝集体形成を人工細胞体で再現することに成功した (Machida et al., 2018 *ACS Synthetic Biol.* 7:377)。この中で EMCV-EGFP レプリコンを発現させ、それが増幅するかどうか研究を進めている。

(4) 最後に、ヒト因子由来再構成型翻訳システムを用いた合成実験で、**C**-型肝炎ウイルス (**HCV**) の翻訳開始機構に関し新たな知見を見出した (Yokoyama et al., 2019 *Mol. Cell* 74:1205)。**HCV** の翻訳はその **IRES** (internal ribosomal entry site) に ribosome が直接結合することにより開始する。そのメカニズムを探るために、**HCV IRES** と ribosome の結合様式をヒト細胞抽出液を用いて調べた。すると、**HCV IRES** はポリゾームに存在していることがわかった。この結果を基に、我々は **HCV IRES** は翻訳途中の ribosome に結合するのでは、という仮説を立てた。まず我々は、ヒト因子由来再構成型翻訳システムにて、ribosome が cap-mRNA 上で翻訳停止している状況をつくり、そこに **HCV IRES** を添加した。その後 ribosome-新生鎖複合体を精製しクライオ電子顕微鏡で観察した。結果、**HCV IRES** は cap-mRNA 上を翻訳している ribosome に結合することがわかった。更に、**HCV IRES RNA** 上を翻訳している ribosome を観察するとその ribosome に翻訳中の **IRES** が結合したままになっていた。また、ヒト因子由来再構成型翻訳システムにおいて、**HCV IRES RNA** の翻訳は、cap-mRNA が共存する方が単独で翻訳を行うより翻訳活性が高い、ということが判明した。これらの結果から、**HCV IRES** は翻訳中の ribosome に取りつき、翻訳終了後 ribosome を独占し効率よく **HCV** タンパク質の合成を行う、ということが分かった。

以上のように、当初の目的どおり、ヒト因子由来完全再構成型翻訳系を樹立し、その系を用いて RNA ウイルスの生活環について新たな知見を得ることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Taisho Abe, Riku Nagai, Shunta Shimazaki, Shunta Kondo, Satoshi Nishimura, Yuriko Sakaguchi, Tsutomu Suzuki, Hiroaki Imataka, Kozo Tomita, and Nono Takeuchi-Tomita	4. 巻 -
2. 論文標題 In vitro yeast reconstituted translation system reveals function of eIF5A for synthesis of long polypeptide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akihiro Oguro, Tomoaki Shigeta, Kodai Machida, Tomoaki Suzuki, Takeo Iwamoto, Senya Matsufuji, and Hiroaki Imataka	4. 巻 -
2. 論文標題 Translation efficiency affects the sequence-independent +1 ribosomal frameshifting by polyamines.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taisho Abe, Riku Nagai, Hiroaki Imataka, and Nono Takeuchi-Tomita	4. 巻 -
2. 論文標題 Reconstitution of yeast translation elongation and termination in vitro utilizing CrPV IRES-containing mRNA.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takeshi Yokoyama, Kodai Machida, Wakana Iwasaki, Tomoaki Shigeta, Madoka Nishimoto, Mari Takahashi, Ayako Sakamoto, Mayumi Yonemochi, Yoshie Harada, Hideki Shigematsu, Mikako Shirouzu, Hisashi Tadakuma, Hiroaki Imataka, and Takuhiro Ito	4. 巻 74
2. 論文標題 HCV IRES captures an actively translating 80S ribosome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol. Cell	6. 最初と最後の頁 1205-1214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2019.04.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shintaro Iwasaki, Wakana Iwasaki, Mari Takahashi, Ayako Sakamoto, Chiduru Watanabe, Yiichi Shichino, Stephen N. Floor, Koichi Fujiwara, Mari Mito, Kosuke Dodo, Mikiko Sodeoka, Hiroaki Imataka, Teruki Honma, Kaori Furuzawa, Takuhiro Ito and Nicholas T. Ingolia	4. 巻 73
2. 論文標題 The translation inhibitor Rocaglamide targets a biomolecular cavity between eIF4A and polypurine RNA.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol.Cell	6. 最初と最後の頁 738-748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2018.11.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nogimori, Takuto; Nishiura, Kyutatsu; Kawashima, Sho; Nagai, Takahiro; Oishi, Yuka; Hosoda, Nao; Imataka, Hiroaki; Kitamura, Yoshiaki; Kitade, Yukio; Hoshino, Shin-ichi	4. 巻 47
2. 論文標題 Dom34 mediates targeting of exogenous RNA in the antiviral OAS/RNase L pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 432-449
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gky1087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kodai Machida, Tomoaki Shigeta, Yuki Yamamoto, Takuhiro Ito, Yuri Svitkin, Nahum Sonenberg and Hiroaki Imataka	4. 巻 8
2. 論文標題 Dynamic inteaction of poly(A)-binding protein with the ribosome	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-35753-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yusuke Daiko, Kyohei Segawa, Kodai Machida, Hiroaki Imataka, Sawao Honda, and Yuji Iwamoto	4. 巻 20
2. 論文標題 Palm-sized Ag ion emission gun operated at roomtemperature in non-vacuum atmosphere	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Adv. Engineering Mater.	6. 最初と最後の頁 1800198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adem.201800198	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Eri Uemura, Tatsuya Niwa, Shintaro Minami, Kazuhiro Takemoto, Satoshi Fukuchi, Kodai Machida, Hiroaki Imataka, Takuya Ueda, Motonori Ota, and Hideki Taguchi	4. 巻 8
2. 論文標題 Large-scale aggregation analysis of eukaryotic proteins reveals an involvement of intrinsically disordered regions in protein folding.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-18977-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kodai Machida, Kuru Kanzawa, Tomoaki Shigeta, Yuki Yamamoto, Kanta Tsumoto, and Hiroaki Imataka	4. 巻 7
2. 論文標題 Huntingtin polyglutamine-dependent protein aggregation in reconstituted cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 377-383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.7b00372	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yusuke Daiko, Satoshi Mizutani, Kodai Machida, Hiroaki Imataka, Sawao Honda and Yuji Iwamoto	4. 巻 83
2. 論文標題 H ion emission under room temperature and non-vacuum atmosphere from a sol-gel-derived nanoporous emitter	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Sol-Gel Sci. Technol.	6. 最初と最後の頁 252-258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10971-017-4430-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kodai Machida, Tomoaki Shigeta, Ayano Kobayashi, Ai Masumoto, Yuna Hidaka and Hiroaki Imataka	4. 巻 239
2. 論文標題 Cell-free analysis of polyQ-dependent protein aggregation and its inhibition by chaperone proteins	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiotec.2016.09.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuhiro Kashiwagi, Tomoaki Shigeta, Hiroaki Imataka, Takuhiro Ito, and Shigeyuki Yokoyama	4. 巻 17
2. 論文標題 Expression, purification, and crystallization of Schizosaccharomyces pombe eIF2B	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Structural and Functional Genomics	6. 最初と最後の頁 33-38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10969-016-9203-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kodai Machida, and Hiroaki Imataka	4. 巻 37
2. 論文標題 Production methods of virus particles	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Biotechnology Letters	6. 最初と最後の頁 753-760
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10529-014-1741-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aysun Ozdemir, Kodai Machida, Hiroaki Imataka, and Andrew Catling	4. 巻 469
2. 論文標題 Identification of the T-complex protein as a binding partner for newly synthesized Cytoplasmic Dynein Intermediate	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun	6. 最初と最後の頁 126-131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1016/j.bbrc.2015.11.082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計57件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 町田幸大、神澤空流、白子太紀、井寄真仁、今高寛晃
2. 発表標題 アクチン生合成の試験管内再現 (in vitro actin biogenesis)
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平山千尋、奥村正樹、町田幸大、野井健太郎、小椋光、今高寛晃、稲葉謙次
2. 発表標題 PDIファミリー酵素による新生鎖の酸化的フォールディングの触媒機構
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長井 陸、阿部 大翔、近藤 俊太、島崎 俊太、西村 聡、今高 寛晃、富田 野乃
2. 発表標題 再構成型酵母翻訳系を利用したeIF5A の機能解析
3. 学会等名 第21回日本RNA学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町田幸大、白子太紀、井寄真仁、今高寛晃
2. 発表標題 再構成型タンパク質合成・フォールディング共役システムを利用したin vitroアクチン生合成
3. 学会等名 第92回日本生化学会学会 シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井寄 真仁,町田 幸大,鈴木 哲朗,今高 寛晃
2. 発表標題 無細胞タンパク質合成系を用いたC型肝炎ウイルスの複製機構解析
3. 学会等名 第14回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町田幸大、宮脇翔馬、白子太紀、今高寛晃
2. 発表標題 再構成型タンパク質合成・フォールディング共役システムを利用した in vitroアクチン生成
3. 学会等名 第14回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町田幸大、宮脇翔馬、白子太紀、井寄真仁、今高寛晃
2. 発表標題 ヒト因子由来再構成型タンパク質合成・フォールディング共役システムを利用したin vitroアクチン生成
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小黒 明広、鈴木 智明、町田 幸大、今高 寛晃、岩本 武夫、松藤 千弥
2. 発表標題 ポリアミンによる配列非依存的 + 1 フレームシフトと翻訳効率の関連性
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平山千尋、町田幸大、野井健太郎、奥村正樹、小椋光、今高寛晃、稲葉謙次
2. 発表標題 新生鎖の立体構造形成を補助するPDIファミリー酵素のジスルフィド結合導入機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 憲哉, 佐々木駿, 平郡 雄太, Zhihang Feng, 藤原徹, 渡部 敏裕, 町田 幸大, 今高 寛晃, 高橋 広夫, 山下 由衣, 内藤 哲, 尾之内 均
2. 発表標題 上流 ORF の新生ペプチドを含む翻訳複合体が細胞内のマグネシウム濃度を感知して翻訳を制御する
3. 学会等名 第 6 1 回植物生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kodai Machida, Kuru Kanzawa, Taiki Hakushi, Hiroaki Imataka
2. 発表標題 In vitro analysis of actin fibrillization associated with developmental disorders
3. 学会等名 International symposium on proteins; from the cradle to the grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuki Yamamoto, Soshi Okadome, Takuhiro Ito, Kodai Machida, and Hiroaki Imataka
2. 発表標題 A viral protease efficiently processes the nascent viral polyprotein by interacting with the 60S ribosomal subunit
3. 学会等名 International symposium on proteins; from the cradle to the grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chihiro Hirayama, Masaki Okumura, Kodai Machida, Kentaro Noi, Teru Ogura, Hiroaki Imataka and Kenji Inaba
2. 発表標題 Elucidation of molecular mechanisms of PDI family enzymes acting on nascent chains in early-stage of translation
3. 学会等名 International symposium on proteins; from the cradle to the grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi Yokoyama, Kodai Machida, Tomoaki Shigeta, Madoka Nishimoto, Mari Takahashi, Wakana Iwasaki, Ayako Sakamoto, Mayumi Yonemochi, Hideki Shigematsu, Mikako Shirouzu, Hiroaki Imataka, Takuhiro Ito
2. 発表標題 HCV IRES CAPTURES A TRANSLATING 80S RIBOSOME TO HIJACK HOST TRANSLATIONAL MACHINERY
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Meeting Translational Control (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chihiro Hirayama, Masaki Okumura, Kodai Machida, Kentaro Noi, Teru Ogura, Hiroaki Imataka, Kenji Inaba
2. 発表標題 Interplay between PDI family enzymes and nascent chains for the catalysis of their oxidative folding
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本 悠貴、岡留 壮志、伊藤 拓宏、町田 幸大、今高 寛晃
2. 発表標題 脳心筋炎ウイルス3Cプロテアーゼはリボソームに結合し効率的にウイルス新生鎖を切断する
3. 学会等名 第20回日本RNA学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本 悠貴、岡留 壮志、伊藤 拓宏、町田 幸大、今高 寛晃
2. 発表標題 脳心筋炎ウイルス3Cプロテアーゼはリボソームに結合し効率的に ウイルス新生鎖を切断する
3. 学会等名 第5回 Ribosome Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町田幸大、神澤空流、白子太紀、今高寛晃
2. 発表標題 アクチン遺伝病の試験管内解析
3. 学会等名 第91回日本生化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町田幸大、神澤空流、白子太紀、今高寛晃
2. 発表標題 アクチン遺伝病の試験管内解析
3. 学会等名 細胞を創る研究会 11.0
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町田幸大、神澤空流、白子太紀、今高寛晃
2. 発表標題 アクチン遺伝病の試験管内解析
3. 学会等名 第13回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小黒明広、町田幸大、今高寛晃、松藤千弥
2. 発表標題 ポリアミンによる翻訳フレームの+1方向へのシフト作用
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平山千尋、奥村正樹、町田幸大、野井健太郎、小椋光、今高寛晃、稲葉謙次
2. 発表標題 新生鎖の構造形成を補助するPDIファミリー酵素の作用機序に関する研究
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町田幸大、神澤空流、白子太紀、今高寛晃
2. 発表標題 アクチン遺伝病の試験管内解析
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町田幸大、神澤空流、井寄真仁、白子太紀、今高寛晃
2. 発表標題 アクチン生合成の試験管内再現
3. 学会等名 第4回デザイン生命工学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平山千尋、奥村正樹、町田幸大、今高寛晃、稲葉謙次
2. 発表標題 PDIとErp46によるヒト血清アルブミン新生鎖へのジスルフィド結合導入機構の解明
3. 学会等名 第17回 蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小黒明広, 重田友明, 岩本武夫, 今高寛晃, 松藤千弥
2. 発表標題 ポリアミンで誘導される+1翻訳フレームシフトの新規分子機構
3. 学会等名 第19回日本RNA学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 町田幸大, 神澤空流, 山本悠貴, 井寄真仁, 岡留壮志, 今高寛晃
2. 発表標題 人工細胞を用いた神経変性疾患の解析
3. 学会等名 細胞を創る研究会 10.0
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 町田幸大, 神澤空流, 山本悠貴, 井寄真仁, 今高寛晃
2. 発表標題 再構成型ヒト細胞を利用したハンチンチン凝集解析システムの開発
3. 学会等名 第12回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山本悠貴, 宇野友貴, 町田幸大, 今高寛晃
2. 発表標題 ウイルス由来新生鎖を切断する3Cプロテアーゼの機能解析
3. 学会等名 第12回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 町田幸大、神澤空流、井寄真仁、岡留壮志、山本悠貴、今高寛晃
2. 発表標題 再構成型細胞様GUVを利用したポリグルタミンタンパク質の凝集と凝集抑制の解析
3. 学会等名 第40回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山本悠貴、宇野友貴、町田幸大、今高寛晃
2. 発表標題 ウイルス由来新生鎖を切断する3Cプロテアーゼの機能解析
3. 学会等名 第40回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 町田幸大、重田友明、今高寛晃
2. 発表標題 ヒト因子由来再構成型翻訳システムの開発とその応用
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 町田幸大、重田友明、今高寛晃
2. 発表標題 ヒト因子由来再構成型タンパク質合成系の開発と応用
3. 学会等名 第68回 日本生物工学会大会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tomoaki Shigeta, Kodai Machida and Hiroaki Imataka
2. 発表標題 A 5' and 3' ends-dependent translation system reconstituted with human factors
3. 学会等名 The 21st annual meeting of the RNA society (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Hiroaki Imataka, Kodai Machida and Tomoaki Shigeta
2. 発表標題 A Translation System Reconstituted with Purified Human Factors for the Study of Nascent Chains
3. 学会等名 Nascent Chain Biology Meeting 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tomoaki Shigeta, Kodai Machida, Kuru Kanzawa, Mutsuto Hoshino and Hiroaki Imataka
2. 発表標題 Stimulation of translation by PABP unraveled by a reconstitution system
3. 学会等名 Nascent Chain Biology Meeting 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Kodai Machida, Tomoaki Shigeta, Ayano Kobayashi, Ai Masumoto, Yuna Hidaka and Hiroaki Imataka
2. 発表標題 Cell-free analysis of polyglutamine-dependent protein aggregation and its inhibition by molecular chaperones
3. 学会等名 Nascent Chain Biology Meeting 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tomoaki Shigeta, Kuru Kanzawa, Kodai Machida and Hiroaki Imataka
2. 発表標題 Reconstitution of eIF4E/eIF4G/PABP-dependent translation with purified human factors
3. 学会等名 Translational Control CSH meeting (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、神澤空流、星野睦人、今高 寛晃
2. 発表標題 ヒト翻訳系の試験管内再構成から見えてきたリボソームとPABPの新たな関係性
3. 学会等名 第5回リボソーム研究会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 町田 幸大、重田 友明、小林綾乃、樹本愛、日高優奈、今高 寛晃
2. 発表標題 セルフリータンパク質合成システムを利用したpolyQ凝集の解析とヒト分子シャペロンによる凝集抑制
3. 学会等名 第11回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、神澤 空流、星野 睦人、今高 寛晃
2. 発表標題 第11回無細胞生命科学研究会
3. 学会等名 第11回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 町田 幸大, 重田 友明, 小林綾乃, 榎本愛, 日高優奈, 今高 寛晃
2. 発表標題 セルフリータンパク質合成システムを利用したpolyQ凝集の解析と分子シャペロンによる凝集抑制
3. 学会等名 第39回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 重田 友明, 町田 幸大, 神澤 空流, 星野 睦人, 今高 寛晃
2. 発表標題 ポリA鎖結合タンパク質を介した翻訳制御の試験管内再構成
3. 学会等名 第39回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 町田 幸大, 神澤空流, 今高 寛晃
2. 発表標題 人工細胞を利用した神経変性疾患の病態モデル
3. 学会等名 第2回デザイン生命工学研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroaki Imataka, Kodai Machida and Tomoaki Shigeta
2. 発表標題 A New Experimental Tool: Translation System Reconstituted with Purified Human Factors
3. 学会等名 Protein & Peptide Conference 2015 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 町田 幸大、重田 友明、今高 寛晃
2. 発表標題 試験管内ウイルス合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2016年大会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、石井 陽子、玉越 智也、向田 芳純、今高 寛晃
2. 発表標題 翻訳開始を含むヒト因子由来再構成型翻訳システムの樹立：RNAウイルス合成に向けて
3. 学会等名 第17回日本RNA学会年会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 町田 幸大、重田友明、榎本愛、島田将行、湊元幹太、今高 寛晃
2. 発表標題 再構成型翻訳・フォールディングシステムの樹立：人工ヒト細胞構築に向けて
3. 学会等名 第17回日本RNA学会年会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、石井 陽子、玉越 智也、向田 芳純、今高 寛晃
2. 発表標題 翻訳開始因子を含むヒト因子由来完全再構成型翻訳系の樹立
3. 学会等名 第10回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 町田 幸大、重田友明、榎本愛、島田将行、湊元幹太、今高 寛晃
2. 発表標題 ヒトの再構成型タンパク質合成/フォールディング共役系
3. 学会等名 第10回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、石井 陽子、玉越 智也、向田 芳純、今高 寛晃
2. 発表標題 ヒト因子由来再構成型翻訳系の樹立
3. 学会等名 第67回日本生物工学会大会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 町田 幸大、重田友明、榎本愛、島田将行、湊元幹太、今高 寛晃
2. 発表標題 人工ヒト細胞の創出に向けて
3. 学会等名 第67回日本生物工学会大会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、石井 陽子、玉越 智也、向田 芳純、今高 寛晃
2. 発表標題 翻訳開始に依存したヒト因子由来再構成型翻訳系の樹立
3. 学会等名 細胞を創る研究会8.0
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 町田 幸大、重田友明、榎本愛、島田将行、湊元幹太、今高 寛晃
2. 発表標題 ヒトの人工細胞構築に向けたヒト因子由来再構成型翻訳/フォールディング共役系の樹立
3. 学会等名 細胞を創る研究会 8 . 0
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、石井 陽子、玉越 智也、向田 芳純、今高 寛晃
2. 発表標題 翻訳開始因子に依存したヒト由来再構成型翻訳系
3. 学会等名 第 3 8 回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 町田 幸大、重田友明、榎本愛、島田将行、湊元幹太、今高 寛晃
2. 発表標題 ヒト因子由来再構成型タンパク質合成/フォールディング共役システムによる人工細胞の創出
3. 学会等名 第 3 8 回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 重田 友明、町田 幸大、今高 寛晃
2. 発表標題 ヒト因子由来完全再構成型無細胞翻訳系の樹立
3. 学会等名 日本農芸化学会 2 0 1 6 年大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 重田友明、町田幸大、今高寛晃	4. 発行年 2017年
2. 出版社 シーエムシー出版 監修：植田充美	5. 総ページ数 7
3. 書名 人工細胞の創生とその応用 (ヒト完全再構成型タンパク質合成システム)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>http://www.eng.u-hyogo.ac.jp/group/group37/</p>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----