

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：15301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2023

課題番号：19K23727

研究課題名(和文) アスガルド古細菌に探る細胞形態の制御機構の分子進化

研究課題名(英文) Molecular evolution of the regulatory mechanisms of cell morphogenesis explored in Asgard archaea

研究代表者

千住 洋介 (SENJU, Yosuke)

岡山大学・異分野基礎科学研究所・研究准教授

研究者番号：90536848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：アスガルドアーキアの細胞形態を制御するタンパク質の発現・精製・結晶化に成功し、大型放射光施設SPring-8のビームラインを用いることによりX線結晶構造解析を行った。得られたX線回折データから高分解能で立体構造を明らかにした。そして、リン脂質との結合に必要なアミノ酸残基を同定した。緑色蛍光タンパク質(GFP)を融合したアスガルドアーキアのタンパク質を真核細胞で発現させ、細胞膜への局在と形態形成を明らかにした。GFPやmCherryなどの蛍光色素でタンパク質を蛍光標識し、巨大脂質膜リポソーム(GUV)に作用させることで、脂質膜に結合し、形態を変化させることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタゲノム解析の結果から、真核生物に相同性を持つ細胞形態を制御するタンパク質がアスガルドアーキアでも見出されている。つまり、細胞膜の形態形成機構が、真核生物のみならず原核生物にも共通して保存されていることを示唆する。例えば、アスガルドアーキアが宿主として、細胞形態を制御するタンパク質を利用して、真正細菌をファゴサイトーシス(食作用)により取り込んだのかもしれない。

研究成果の概要(英文)：Proteins that regulate cell morphogenesis in Asgard archaea were successfully expressed, purified and crystallized, and X-ray crystallography was performed using the beamline of the SPring-8 synchrotron radiation facility. The three-dimensional structures were determined at high resolution from the X-ray diffraction data. The amino acid residues required for binding to phospholipids were then identified. Asgard archaea proteins fused with green fluorescent protein (GFP) were expressed in eukaryotic cells to reveal their localization to the plasma membrane and morphogenesis. Fluorescent labeling of Asgard archaea proteins with GFP/mCherry and their association with Giant Unilamellar Vesicles (GUVs) revealed that they bind to the lipid membrane and alter its morphology.

研究分野：生物物理学

キーワード：構造生物学 分子進化 真核生物起源 生体膜

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

細胞は、細胞膜によって外界と区画されることで生命の基本単位として定義される。細胞膜の形態変化は、がん細胞の浸潤、転移などに見られる細胞運動や細胞分裂、分化などの生命活動に伴う必須のメカニズムである。

最近、真核生物に近い系統と考えられているアスガルドと命名された新規アーキアのメタゲノム解析によるゲノムの再構築から、細胞膜の形態形成を制御するタンパク質に相同性のあるタンパク質をコードする遺伝子が発見された。

真核生物が原核生物からどのように生じたのかは今のところよく分かっていない。しかし、アスガルドアーキアが真核生物と同様な細胞機能をすでに獲得していたことが分かれば、真核生物と原核生物のミッシングリンクを埋める可能性を秘めている。

本研究課題では、アスガルドアーキアの新規タンパク質の立体構造を解き、生物物理学と細胞生物学を組み合わせることで機能を解明する。さらに、原核生物にも保存された真核生物と同様な細胞機能を見いだしていくことで、生命の起源の一端を解明していく。

2. 研究の目的

- (1) アスガルドアーキアに見出された細胞形態を制御するタンパク質の結晶構造を解き、生物物理学と細胞生物学を組み合わせることで、細胞膜の形態変化に代表される生命システムがどのように進化してきたかを解明する。
- (2) 原核生物にも保存された真核生物と同様な細胞機能を見いだしていくことで、生命の起源の一端を解明する。

3. 研究の方法

[Step1] アスガルドアーキアで見出された細胞形態を制御するタンパク質の人工遺伝子合成をする。

[Step2] タンパク質の発現・精製をする。

[Step3] タンパク質の結晶化条件のスクリーニングを行い、結晶化を試みる。

[Step4] 大型放射光施設 SPring-8 のビームラインを用いることにより、X線結晶構造解析を試みる。得られたX線回折データから立体構造を明らかにする。また、リン脂質との結合に必要なアミノ酸残基の保存性を考察する。

[Step5] 緑色蛍光タンパク質（GFP）を融合したアスガルドアーキアの細胞形態を制御するタンパク質を真核細胞で発現させ、細胞膜の形態が変化するか調べるとともに、どのような細胞内構造に局在するか明らかにする。

[Step6] 精製したアスガルドアーキアの細胞形態を制御するタンパク質を GFP や mCherry など で蛍光標識し、巨大脂質膜リポソーム（GUV: Giant Unilamellar Vesicle）に作用させることで、脂質膜に結合し、形態を変化させるか明らかにする。

4. 研究成果

- (1) アスガルドアーキアの細胞形態を制御するタンパク質をバイオインフォマティクスで同定し、分子進化系統樹を作成した。
- (2) タンパク質の発現・精製・結晶化に成功した。大型放射光施設 SPring-8 のビームラインを用いることにより、X線結晶構造解析を行い、得られたX線回折データから高分解能で立体構造を明らかにした。真核生物の立体構造と比較し、構造アラインメントを行って RMSD (root mean square deviation、平均二乗偏差) を求めることで、進化的保存性を考察した。また、リン脂質との結合に必要なアミノ酸残基を予測し、変異を導入することで結合部位を同定した。
- (3) 緑色蛍光タンパク質（GFP）を融合したアスガルドアーキアの細胞形態を制御するタンパク質を細胞で発現させ、細胞膜の形態が変化するか明らかにし、細胞膜への局在と形態形成を明らかにした。

- (4) 精製したアスガルドアーキアの細胞形態を制御するタンパク質を GFP や mCherry など蛍光標識し、GUV に作用させることで、脂質膜に結合し、形態を変化させるか明らかにした。
- (5) アスガルドアーキアの新規タンパク質に対する抗体（ナノボディ）を作製した。また、光・電子相関顕微鏡法（CLEM）を用いて、タンパク質の局在を蛍光顕微鏡によって同定し、細胞膜の形態や構造を電子顕微鏡で微細観察した（英国 Diamond Light Source で実施した国際共同研究）。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Senju Yosuke, Zhao Hongxia	4. 巻 2251
2. 論文標題 Fluorescence Assays to Study Membrane Penetration of Proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 215 ~ 223
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-1142-5_16	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 Senju Yosuke, Lappalainen Pekka, Zhao Hongxia	4. 巻 2251
2. 論文標題 Liposome Co-sedimentation and Co-flotation Assays to Study Lipid-Protein Interactions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 195 ~ 204
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-1142-5_14	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 Tran Linh T., Akil Caner, Senju Yosuke, Robinson Robert C.	4. 巻 7
2. 論文標題 The eukaryotic-like characteristics of small GTPase, roadblock and TRAPPC3 proteins from Asgard archaea	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Communications Biology	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） 10.1038/s42003-024-05888-1	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yosuke Senju
2. 発表標題 Structural and functional characterization of membrane-remodeling proteins encoded by genome of Asgard archaea
3. 学会等名 CREST・さきがけ 合同領域会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yosuke Senju
2. 発表標題 真核生物進化の新規モデル生物-アスガルド古細菌の機能探索
3. 学会等名 CREST・さきがけ 合同領域会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yosuke Senju
2. 発表標題 Structural and functional characterization of membrane-remodelling proteins encoded by the genome of Asgard archaea
3. 学会等名 CREST・さきがけ 合同領域会議
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

researchmap https://researchmap.jp/senju ORCID https://orcid.org/0000-0002-9606-3270 Google Scholar https://scholar.google.co.jp/citations?user=hp0G-ngAAAAJ&hl=ja 岡山大学 研究者総覧 https://soran.cc.okayama-u.ac.jp/html/84dc2a3fb4cb5a5c74506e4da22f6611_ja.html Okayama University https://okayama.pure.elsevier.com/en/persons/yosuke-senju

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	Diamond Light Source			
英国	University of Oxford			
タイ	VISTEC			
フィンランド	University of Helsinki			