



公益社団法人 日本農芸化学会 中部支部
第 184 回例会

講演要旨集

若手シンポジウム
『化学と生物のマリアージュ：
若手研究者による生化学研究の新機軸』

平成 30 年 11 月 3 日 (土)
岐阜大学サテライトキャンパス
(岐阜スカイウィング 37 東棟 4 階)

主催：日本農芸化学会中部支部
共催：国立大学法人 岐阜大学



公益社団法人 日本農芸化学会 中部支部
第 184 回例会

平成 30 年 11 月 3 日 (土)
岐阜大学サテライトキャンパス
(岐阜スカイウイング 37 東棟 4 階)

主催：日本農芸化学会中部支部
共催：国立大学法人 岐阜大学

若手シンポジウム

『化学と生物のマリアージュ：若手研究者による生化学研究の新機軸』

- 13:30-13:35 開会の挨拶
支部長 吉村 徹 (名古屋大学大学院生命農学研究科)
- 13:35-14:15 糖鎖の枝分かれ構造の生化学
木塚 康彦 (岐阜大学 生命の鎖統合研究センター (G-CHAIN))
座長：橋本 美涼 (岐阜大学応用生物科学部)
- 14:15-14:55 観るだけでわかるタンパク質間相互作用解析法 (VIP アッセイ) と
ゲノム編集を活用した繊毛内タンパク質輸送メカニズムの解明
加藤 洋平 (京都大学 大学院薬学研究科)
座長：柴田 秀樹 (名古屋大学大学院生命農学研究科)
- 14:55-15:05 休憩
- 15:05-15:45 G タンパク質共役型受容体の動的なダイマー形成：蛍光 1 分子観察法
による解明
笠井 倫志 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所)
座長：鈴木 健一 (岐阜大学生命の鎖統合研究センター (G-CHAIN))
- 15:45-16:25 光合成反応を蛋白質の分子化学から展望する
石北 央 (東京大学 先端科学技術研究センター)
座長：海老原 章郎 (岐阜大学応用生物科学部)
- 16:25- 閉会の挨拶
副支部長 人見 清隆 (名古屋大学大学院創薬科学研究科)
- 17:00- 懇親会

若手シンポジウム

『化学と生物のマリアージュ： 若手研究者による生化学研究の新機軸』

(S01～S04)

- S01 糖鎖の枝分かれ構造の生化学
木塚 康彦（岐阜大学 生命の鎖統合研究センター (G-CHAIN)）
- S02 観るだけでわかるタンパク質間相互作用解析法（VIP アッセイ）と
ゲノム編集を活用した繊毛内タンパク質輸送メカニズムの解明
加藤 洋平（京都大学 大学院薬学研究科）
- S03 G タンパク質共役型受容体の動的なダイマー形成：蛍光 1 分子観察法
による解明
笠井 倫志（京都大学 ウイルス・再生医科学研究所）
- S04 光合成反応を蛋白質の分子化学から展望する
石北 央（東京大学 先端科学技術研究センター）

(S01) 糖鎖の枝分かれ構造の生化学

木塚 康彦（岐阜大学 生命の鎖統合研究センター（G-CHAIN））

タンパク質の糖鎖付加は、最も豊富な翻訳後修飾であり、生体内の半数以上のタンパク質は糖鎖を持っている。中でもN型糖鎖は普遍的な糖鎖として知られ、N型糖鎖の根元の構造や、初期段階の生合成酵素は酵母からヒトまでよく保存されている。一方、N型糖鎖の末端側の構造はバリエーションに富み、生物種や発現細胞によって大きく異なる。この糖鎖構造の違いは、細胞や疾患のマーカーとして有用であると同時に、タンパク質機能を調節する因子として様々な場面で働いている。

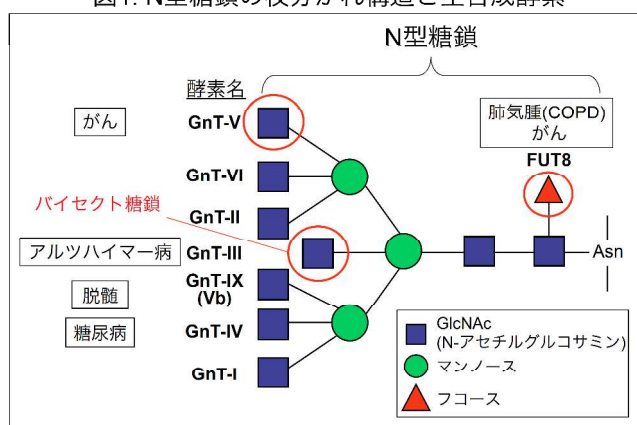
N型糖鎖の構造の大きな特徴の一つに、分岐のバリエーションがある。それぞれの枝分かれ構造は、GnT-I~IX あるいは FUT8 とよばれる糖転移酵素によって生合成されることがわかっており（図1）、それぞれの枝は固有の機能を持っている。中でも我々は、GnT-III, GnT-V, FUT8 とよばれる糖転移酵素と、これらの酵素が作る枝分かれ構造の発現・機能に着目して研究を行っている。本発表では、GnT-III が生合成するバイセクト糖鎖 (bisecting GlcNAc) とアルツハイマー病との関連、GnT-V による枝分かれ構造の生合成の制御メカニズム、また糖のアナログを用いたケミカルバイオロジーによるこれら糖鎖の研究手法などについて紹介したい。

GnT-III とアルツハイマー病との関連では、GnT-III 欠損マウスによってアルツハイマー病の原因物質であるアミロイドβの蓄積が減少すること、およびその分子機構について紹介する(1)。GnT-III が作るバイセクト糖鎖は脳に豊富に存在しており、中でもアミロイドβを産生する酵素 BACE1 に選択的に発現する。本糖鎖によって BACE1 の局在が制御され、アミロイドβの産生量が調節されていることがわかった。

また、GnT-III や GnT-V による枝分かれ構造の生合成の制御や基質選択性のメカニズムについてはまだわかっていないことが多いが、最近明らかにした GnT-V の結晶構造からわかってきたことについて紹介する(2)。

さらに、フコースと呼ばれる糖のアナログを用いたケミカルバイオロジーのアプローチを紹介する。フコースのアナログが、高感度の糖鎖プローブや特異的な糖鎖合成阻害剤としての機能を持つことを見出したので(3, 4)、これらの知見について紹介する。

図1. N型糖鎖の枝分かれ構造と生合成酵素



References

1. Kizuka et al., *EMBO Mol. Med.*, 2015, 7, 175-189.
2. Nagae and Kizuka et al., *Nat. Commun.*, 2018, in press.
3. Kizuka et al., *Cell Chem. Biol.*, 2016, 23, 782-792.
4. Kizuka et al., *Cell Chem. Biol.*, 2017, 24, 1467-1478.

講師略歴

木塚 康彦 (きづか やすひこ)

- 2004年3月 京都大学薬学部卒業 (川寄敏祐教授)
- 2009年3月 京都大学大学院薬学研究科博士課程修了 (岡昌吾教授)
- 2009年4月 理化学研究所 特別研究員 (谷口直之グループディレクター)
- 2012年10月 理化学研究所 基礎科学特別研究員 (谷口直之グループディレクター)
- 2015年10月 理化学研究所 研究員 (谷口直之グループディレクター)
- この間、お茶の水女子大学理学部、福島県立医科大学医学部で非常勤講師 (兼任)
- 2017年10月 岐阜大学 生命の鎖統合研究センター (G-CHAIN) 准教授
- 現在に至る
- 2018年4月 大阪国際がんセンター研究所 招聘研究員 (兼任)

MEMO

(S02) 観るだけでわかるタンパク質間相互作用解析法 (VIP アッセイ) と
ゲノム編集を活用した繊毛内タンパク質輸送メカニズムの解明

加藤 洋平 (京都大学 大学院薬学研究科)

ヒトのほとんどの細胞には一次繊毛という細胞膜から突出したオルガネラが存在する (図 1)。そこにはさまざまな受容体やイオンチャネルが局在し、外部からのシグナルを感知する「細胞のアンテナ」として機能する。一次繊毛に異常が生じると、多岐にわたる重篤な症状 (嚢胞腎、網膜色素変性、脳や骨格の形成異常、多指症、内臓逆位、病的肥満、不妊など) を示す「繊毛病」が引き起こされる。繊毛内へ受容体などを運んでいるのは、繊毛内タンパク質輸送 (Intraflagellar transport: IFT) 装置と呼ばれる巨大なタンパク質複合体である。IFT 装置は 3 つのタンパク質複合体 (IFT-A 複合体、IFT-B 複合体、BBSome 複合体) と 2 つのモータータンパク質 (キネシン 2 とダイニン 2 複合体) を含み、全部で 40 種類以上のサブユニットによって構成されている。

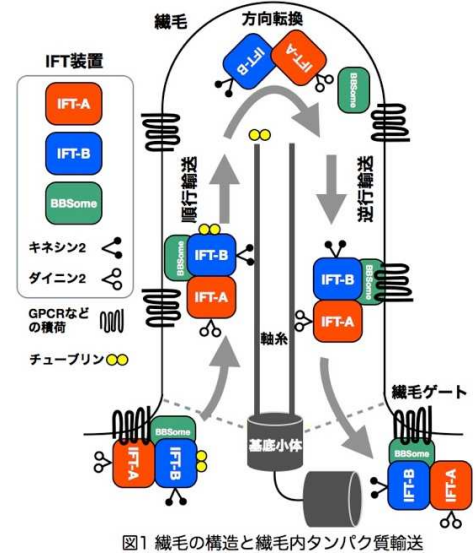


図1 繊毛の構造と繊毛内タンパク質輸送

多数のサブユニットから成る IFT 装置のタンパク質間相互作用を簡便かつ迅速に解析するために、私たちは『観るだけでわかるタンパク質間相互作用解析法: Visible immunoprecipitation (VIP) アッセイ』という方法を開発した (図 2)。VIP アッセイは GFP 融合タンパク質と RFP 融合タンパク質を用いた共免疫沈降法であり、基本的な原理は通常の共免疫沈降法と同じである。通常の共免疫沈降法との違いは、タンパク質間相互作用の検出にウェスタンブロット法を行うのではなく、蛍光顕微鏡を使う点にある。VIP アッセイは「ビーズが赤く光っているかどうかを顕微鏡で観る」という単純な仕組みであるため、既存の方法よりも圧倒的に速く、相互作用の検出が可能である。シンプルながらもパワフルな VIP アッセイを駆使することで、IFT 装置の全体像を解き明かすことができた (図 3)。

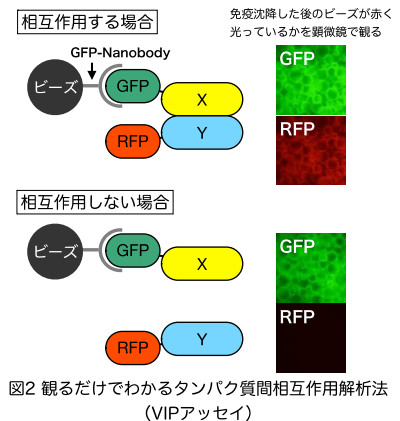


図2 観るだけでわかるタンパク質間相互作用解析法 (VIPアッセイ)

本シンポジウムでは、VIP アッセイだけでなく、CRISPR-Cas9 法によって明らかにした繊毛内タンパク質輸送と繊毛病発症メカニズムについて合わせて紹介したい。

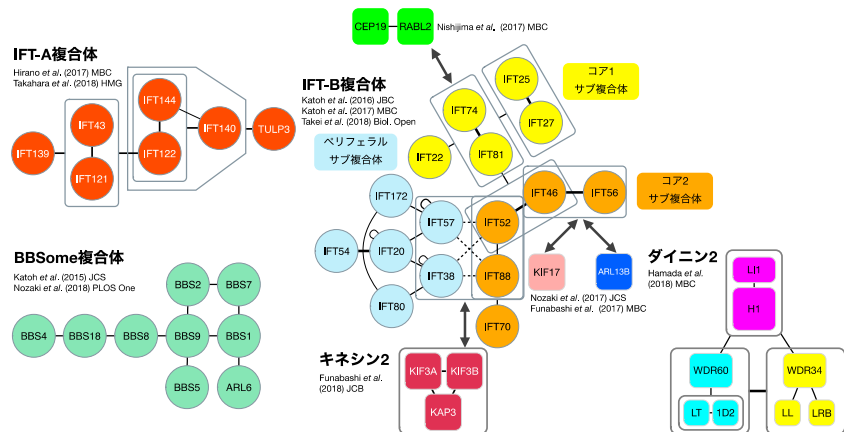


図3 VIPアッセイによって明らかになったIFT装置の相互作用マップ

講師略歴

加藤 洋平 (かとう ようへい)

- 2002年3月 筑波大学第二学群生物学類 卒業
- 2004年3月 筑波大学大学院生命環境科学研究科 博士前期課程修了
- 2007年3月 京都大学大学院薬学研究科 博士後期課程修了 博士 (薬学)
- 2007年4月 McGill大学 Montreal Neurological Institute 博士研究員
- 2009年9月 京都大学大学院薬学研究科 助教
- 現在に至る

MEMO

(S03) Gタンパク質共役型受容体の動的なダイマー形成：蛍光1分子観察法による説明

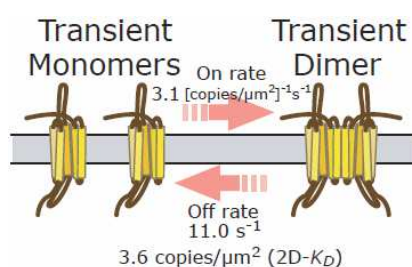
笠井 倫志（京都大学 ウイルス・再生医科学研究所）

G 蛋白質共役型受容体（GPCR）は、ヒトでは700種以上存在することが知られている最大の受容体ファミリーである。以前はモノマーで機能すると考えられていたが、その後、ダイマー形成によって機能が調整される可能性が報告されてきた。その一方で、ダイマーの機能の詳細や、ダイマーを形成する分子割合や寿命などのダイマー実態は、よくわかっておらず議論が続いていた。

著者らは、生細胞内・蛍光1分子観察法を用いて、走化性に関わる GPCR、フォルミルペプチド受容体（FPR）が、刺激前であっても、細胞膜上で一過的なダイマーを形成する事を明らかにした。さらに、膜分子として初めて、ダイマー・モノマーの平衡を記述するパラメータを決定することにも成功した。さらに、別の2つの GPCR についても、FPR と同様に、寿命が100ミリ秒以下の一過的なダイマーを形成する事を明らかにしたことから、動的なダイマー形成は GPCR に広く保存された性質の一つである可能性がある事がわかってきた。

また、アゴニスト添加によってダイマーの寿命が延びる事がわかったが、その一方で、GPCR の基礎活性（GPCR に固有の性質の一つで、アゴニスト添加によらない、自発的な弱いシグナル活性）を阻害する逆作動薬の添加によって受容体の不活性化を促すと、ダイマーの寿命が短くなる事を見出した。すなわち、受容体の活性化状態とダイマーの寿命が相関することから、ダイマー形成とシグナル生成に何らかの関連があるらしい事もわかってきた。

さらに、二色同時蛍光1分子観察によって、GPCR と三量体 G 蛋白質との結合解離を調べたところ、アゴニスト添加前でも、三量体 G 蛋白質と GPCR は動的な結合解離を繰り返しており、ダイマーとモノマーで三量体 G 蛋白質の結合の頻度と時間に差がないことがわかった。アゴニスト添加によってもこれらの結合頻度に差は見られなかったが、逆作動薬添加後には、三量体 G 蛋白質のダイマーへのリクルートが抑制された。これらの結果から、GPCR の一過的なダイマー形成が基礎活性の生成に重要であることが示唆された。



細胞膜上の GPCR の動的なダイマー・モノマー平衡

(Kasai, 2011)

1. Kasai et al., *Cell Biochem. Biophys.* 76, 29–37 (2018)
2. Kasai et al., *J. Cell Biol.* 192, 463–480 (2011)

講師略歴

笠井 倫志 (かさい りんし)

- 1998年 3月 金沢大学理学部物理学科 卒業
 - 2000年 3月 名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻博士前期課程 修了
 - 2005年 3月 名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻博士後期課程 単位取得退学
 - 2005年 4月 科学技術振興機構 国際共同研究事業 (ICORP) 研究員
 - 2010年 4月 京都大学 物資-細胞統合システム拠点 (iCeMS) 特定研究員
 - 2011年 3月 名古屋大学大学院理学研究科 理学博士 (論文) 取得
 - 2011年 4月 京都大学 再生医科学研究所 助教
 - 2016年10月 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 助教 (改組による名称変更)
- 現在に至る

MEMO

(S04) 光合成反応を蛋白質の分子化学から展望する

石北 央（東京大学 先端科学技術研究センター）

太陽光によって水から酸素を生成する一水分解・酸素発生反応は植物の光合成における重要な反応としてよく知られており、膜蛋白質 photosystem II (PSII) で起こる。触媒活性部位は PSII に埋め込まれた Mn_4CaO_5 錯体である。現在提案されている一水分解酸素発生反応機構のほとんどは Mn_4CaO_5 錯体だけに焦点を置いているが、その中で決定的なものはない。その理由は、(結晶構造中の Mn_4CaO_5 錯体近傍には多くの水分子が存在しているため) 分解される「基質水分子」が同定されていないことによる。一方、 Mn_4CaO_5 錯体だけでは反応を進めることはできない。化学反応式 $2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$ から見て取れるように、4つの電子と4つの水素イオン H^+ (プロトン) を引き抜いてはじめて一水分解・酸素発生反応は可能となる。私たちはこの事実を逆手にとり「基質水分子とは ① (電子を引き抜く) 電子移動経路^{1,2)}、② (H^+ を引き抜く) プロトン移動経路^{3,4)}、そして③ (基質水分子を外部から供給するための) 水チャンネルが1点で交わる場⁵⁾」にとらえ、それら全てを矛盾なく満たす条件を考えることこそ一水分解・酸素発生反応機構を解明できる、と考えている⁶⁾。ここでは、生物学分野として見られがちな光合成も、基礎的な分子化学の観点から平易に説明がつくことをお伝えしたい。

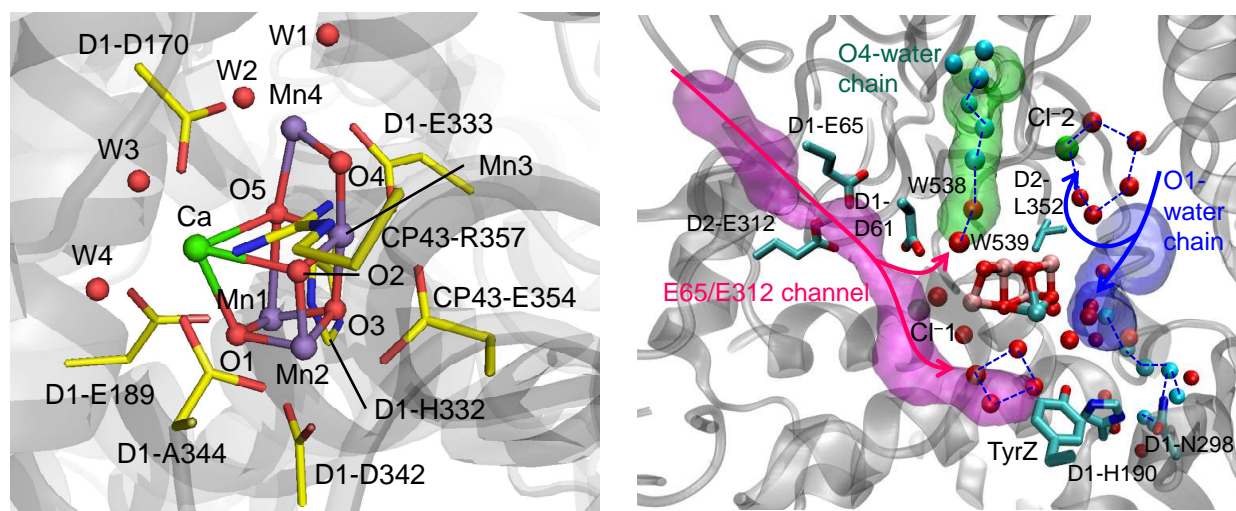


図 (左) Mn_4CaO_5 錯体と配位子場環境。(右) PSII 内水チャンネルと水分子・水素結合ネットワーク。

References

- 1) K. Saito *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 133, 14379 (2011).
- 2) K. Kawashima, H. Ishikita, *Chem Sci* 9, 4083 (2018).
- 3) K. Saito, A. W. Rutherford, H. Ishikita, *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 7690 (2013).
- 4) K. Saito, A. W. Rutherford, H. Ishikita, *Nat. Commun.* 6, 8488 (2015).
- 5) N. Sakashita, H. C. Watanabe, T. Ikeda, K. Saito, H. Ishikita, *Biochemistry* 56, 3049 (2017).
- 6) K. Kawashima, T. Takaoka, H. Kimura, K. Saito, H. Ishikita, *Nat. Commun.* 9, 1247 (2018).

講師略歴

石北 央 (いしきた ひろし)

- 1998年3月 東京大学工学部 化学生命工学科 卒業
- 2000年3月 東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 修士課程 修了
- 2005年11月 Free University of Berlin, Ph.D. 取得
(2000年6月-2004年3月 DAAD奨学生)
- 2005年12月 The Pennsylvania State University ポスドク
- 2006年12月 University of Southern California ポスドク
(2007年4月-2008年3月 JSPS 海外特別研究員)
- 2008年4月 東京大学分子細胞生物学研究所 助教
- 2009年1月 京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット 特定助教 (テニュアトラックPI)
(2009年10月-2013年3月 JST さきがけ研究者 兼任)
- 2013年4月 京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット 講師
- 2013年7月 大阪大学大学院理学研究科 生物科学専攻 教授
- 2014年4月 東京大学大学院工学系研究科 応用化学専攻 教授
- 2014年7月 東京大学先端科学技術研究センター 教授
- 現在に至る

MEMO

日本農芸化学会中部支部 賛助企業（五十音順）

	天野エンザイム(株) 岐阜研究所	http://www.amano-enzyme.co.jp/jp/
	イチビキ(株) 研究開発部	http://www.ichibiki.co.jp/
	(株)伊藤園 生産本部	http://www.itoen.co.jp/
	伊那食品工業(株)	http://www.kantenpp.co.jp/
	加藤化学(株) 技術部	http://www.katokagaku.co.jp/
	(株)岐阜セラック製造所 品質保証部	http://www.gifushellac.co.jp/
	キリンビール(株) 名古屋工場	http://www.kirin.co.jp/
	敷島製パン(株) 研究部	http://www.pasconet.co.jp/
	(株)真誠	http://www.shinsei-ip.ne.jp/
	太陽化学(株) ニュートリション事業部	http://www.taiyokagaku.com/
	辻製油(株)	http://www.tsuji-seiyu.co.jp/
	東海物産(株) 食品研究所	http://www.tokaibsn.co.jp/
	中日本冰糖(株)	http://www.nakahyo.co.jp/
	(株)ニッポンジーン	http://www.nippongene.com/
	フジ日本精糖(株) 研究開発室	http://www.fnsugar.co.jp/
	物産フードサイエンス(株) 研究開発センター	http://www.bfsci.co.jp/
	ポッカサッポロフード&ビバレッジ(株)	http://www.pokkasapporo-fb.jp/
	(株)Mizkan-Holdings 中央研究所	http://www.mizkan.co.jp/company/
	ヤマモリ(株) 桑名工場	http://www.yamamori.co.jp/
	養命酒製造(株) 商品開発センター	http://www.yomeishu.co.jp/

協力企業（五十音順）

アサヒビール(株) 名古屋工場旭	サンエイ糖化(株)	(株)東洋発酵
松食品(株) 食品研究所	サンジルシ醸造(株) 生産本部	東洋紡績(株) 敦賀バイオ研究所
アステラス製薬(株) CSR 部	敷島スターチ(株) 技術開発室	名古屋製酪(株) 中央研究所
伊藤忠製糖(株) 品筆保証室	大和製罐(株) 総合研究所	日本食品化工(株) 研究所
科研製薬(株) 生産技術研究所	竹本油脂(株) 情報調査室	三井農林(株) R&D グループ
カネハツ食品(株) 技術部	デザイナーフーズ(株)	名糖産業(株) 食品開発部
金印(株) 研究開発部	東海漬物(株) 漬物機能研究所	盛田(株) 小鈴谷工場

公益社団法人 日本農芸化学会 中部支部
日本農芸化学会中部支部第 184 回例会
講演要旨集

平成 30 年 11 月 3 日 発行

編集発行人：日本農芸化学会中部支部 支部長 吉村 徹

名古屋市千種区不老町 名古屋大学 東山キャンパス内