

V. 生命科学研究部門

V-1. 生命機能情報分野

1. メンバー

教授	重田 育照
助教	庄司 光男
助教	栢沼 愛
研究員	原田 隆平 (日本学術振興会特別研究員)
研究員	佐藤 竜馬
研究員	鬼頭 (西岡) 宏任
研究員	Bui Thi Kieu My
学生	大学院生 3名 (内1名は早期修了プログラム社会人博士)、学類生 3名

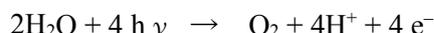
2. 概要

生命機能情報分野では、生体内で重要な働きをしている蛋白質と核酸に注目し、その原子レベルでの特異的機能を理論的に解明することを目的としている。平成 28 年度では、光合成酸素発生中心(PSII-OEC)の反応機構の解明、宇宙空間におけるヒダントイン及びアミノ酸生成機構の解明、分子動力学シミュレーションによる細菌の細胞分裂タンパク質の動的秩序解析、三重項-三重項消滅に基づくフォトン・アップコンバージョンの理論的研究、紫外線損傷 DNA におけるフリッピング機構の理論的研究、GaN 表面におけるアンモニア吸着反応の第一原理解析について研究が大きく進展した。これらの研究では、センターのスーパーコンピュータ(HA-PACS, COMA)を利用している。センター内の共同研究として宇宙理論分野と高性能計算分野と連携し、それぞれアミノ酸合成反応に関する理論研究とフラグメント分子軌道法プログラム OpenFMO への DFT 法の実装とその検証を行った。

3. 研究成果

【1】 光化学系 II 酸素発生中心(OEC)の反応機構についての理論的研究

光合成は光エネルギーを化学エネルギーに効率的に変換するシステムであり、生命が作り上げた洗練された化学反応系とも言える。光合成反応は巨大な蛋白質複合体内で行われ、一連の化学反応：光捕集、電子伝達、ATP 生成と糖生成が行われる。電子伝達を担う光化学系 II では水を分解し、酸素分子を発生する以下の反応を触媒している。



この反応では化学的に安定な水から電子を引き抜いて(酸化して)いる事から分かるように、極めて難しいため、多くの反応制御がなされていると考えられる。そのため、これらの反応

機構を明らかにする事は、生化学的重要性のみならず人工光合成の有益な設計指針を与えるものと期待される。

今年度は最も初めの化学反応過程である $S_2 \rightarrow S_3$ 遷移について量子古典混合(QM/MM)法を用いて理論解析を進めた。本過程は水分子の挿入の有無で反応過程が大きく変わる。また、 S_3 構造は研究開始当初は不明であったため(2017年3月に沈先生らにより報告されるのだが)、両可能性について理論的に検討した。まず、水が挿入されない場合では可能なスピン状態解析を行い、 S_3 状態後の OO 結合形成時での反応性の検討を行った。水分子の挿入がある場合については、 S_3 状態で OO 結合形成を行う場合と、 S_4 状態になってから OO 結合を形成する場合についてそれぞれの機構を検討した。 S_3 状態でとりうる可能な中間体の構造と相対安定性について網羅的に理論解析を行った。 $S_2 \rightarrow S_3$ に続く $S_3 \rightarrow S_4$ 反応についても既に理論研究を進展させており、様々な OO 結合形成経路(プロトン移動経路、プロトン化状態、OO 結合形成機構)について理論検討を行った。酸素放出経路についても理論計算を完了しており、現在論文投稿中である。酸素発生機構は多くの仮定の上に組み立てられており、まだ多くの検討すべき状況が残されている。そのため、結晶構造、EXAFS、分光実験結果と整合性を吟味しながら、全ての可能性を検討していく事が重要である。例えば酸素結合過程に関してはラジカルカップリング機構とは異なり、非断熱電子移動によって OO 結合が形成される可能性について指摘した。

また、活性中心のコンフォメーション自由度を取り込んだ、自由エネルギーでの議論を行えるように、計算プログラムを整備している。それにより、これまでの膨大な実験結果とより対応させることが可能となり、PSII の酸素発生機構が急速に明確になると期待される。

【2】 宇宙空間におけるヒダントイン及びアミノ酸生成機構の解明

宇宙空間におけるアミノ酸の生成機構に関しては、様々な反応経路が提唱されているが、本研究では、Bücherer-Bergs 反応によりアミノアセトニトリルからヒダントインが生成され、ヒダントインが加水分解されることで、最も単純な構造を持つアミノ酸であるグリシンが生成される経路(図 1)を、量子化学計算を用いて解析した。アミノアセトニトリルは星間雲で観測されており、また、ヒダントインも隕石から検出されているなど、どちらも宇宙化学において重要な分子である。

密度汎関数法(DFT、Density Functional Theory)を用い、汎関数は B3LYP、基底関数は 6-31G* として計算を行った。星間ダスト上の氷表面の影響を検証する為、触媒として働く水分子がない場合と 1 個、さらに 2 個存在する場合について、反応障壁の高さを比較した。

図 2 に、水分子なしの場合と水分子を一つ考慮した場合の反応エネルギープロファイルを示した。今回検証した反応経路における 9 つの遷移状態の中で、最も反応障壁が高い反応は、

触媒となる水分子なし及び一個を考慮した場合で、それぞれ $71.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ 及び $56.1 \text{ kcal mol}^{-1}$ となり、水分子を考慮することで、 15 kcal mol^{-1} 反応障壁が減少した。さらに、触媒となる水分子を 2 個に増やした場合は、障壁は $46.9 \text{ kcal mol}^{-1}$ にまで減少した。このことから、本反応において、触媒となる水分子の重要性、即ち、星間ダスト上の氷表面の重要性が示された。しかし、反応障壁は依然として高いことから、更なる解析を進めている。

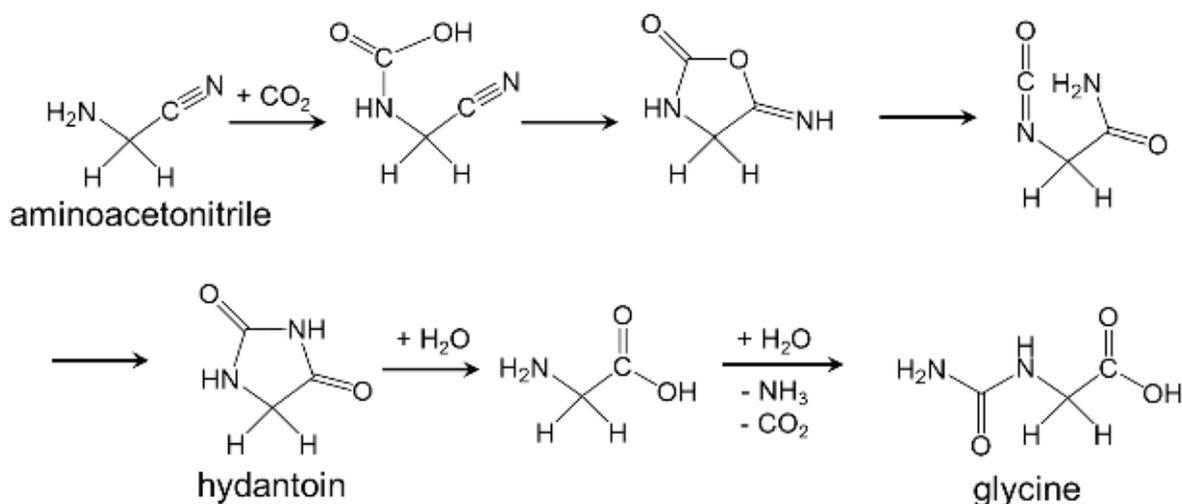


図 1 ヒダントインを経由するグリシン生成経路

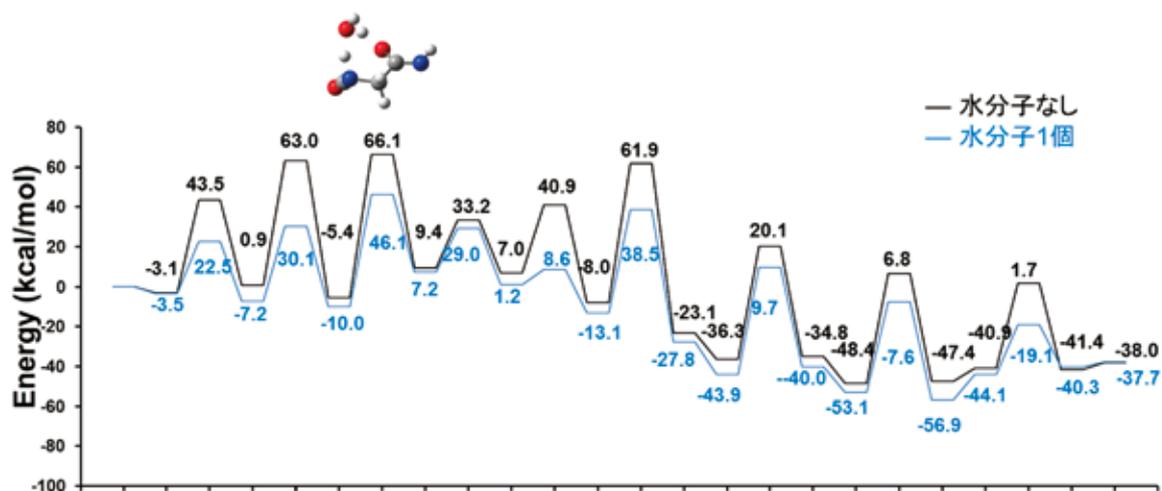


図 2 ヒダントインを経由するグリシン生成経路の反応エネルギープロファイル

【3】 分子動力学法による細菌の細胞分裂タンパク質の動的秩序解析

細菌の細胞分裂タンパク質 FtsZ は、図 3 に示す様に細胞膜の内側にリング状のフィラメント (Z リング) を形成し、ダイナミックに離合集散を繰り返すことで細胞膜に陥入を生じさせる。この細胞膜の陥入は Z リングの収縮により起きると考えられるが、その分子メカニズムには未解明な部分が多い。平成 28 年度は、立命館大学・松村教授の研究グループが X 線構

造解析により決定した黄色ブドウ球菌 FtsZ の結晶構造をもとに、全原子の分子動力学シミュレーションを実行し、細菌の細胞分裂タンパク質の動的秩序解析を行った。大変興味深いことに、X 線結晶構造解析から同一結晶中に立体構造が大きく異なる FtsZ が 2 状態 (T-状態と R-状態) 存在していることが分かった。同一種で状態の異なる 2 構造が得られた例はこれまでになく大変貴重な実験結果であるため、T-R 状態間の構造遷移経路の探索を行い細胞分裂タンパク質の動的秩序過程の解析を行った。一般的に、生体機能に関する大規模な構造遷移を分子動力学シミュレーションにより再現するためには、極めて長時間のシミュレーション時間が必要になる。この問題に対して、出来るだけ短時間かつ効率的に重要な構造変化を再現するためには、何らかの構造サンプリング手法を適用する必要がある。本研究では、研究室で開発しているタンパク質の構造サンプリング法の中から、レアイベントを効率的に計算機上に再現することが出来るカスケード型超並列シミュレーション (PaCS-MD) を適用し、同一結晶中の 2 状態構造間の構造遷移経路を探索した。

PaCS-MD は、反応過程における始構造と終構造が既知である条件の下で、始構造から終構造へ至る構造遷移経路を探索出来る。具体的には、反応座標として終構造から測定した平均自乗距離 (RMSD) の値を参照しながら類似した分子構造を遷移確率が高い初期構造として選択し、短時間 MD をリスタートさせるサイクルを繰り返す。これにより、生成物へ遷移する「稀にしか起こらない構造揺らぎ」の出現確率を上昇させることができる。結果的に、遷移確率の高い分子構造から経路探索を逐次的に再開することで探索領域が終構造へ徐々に近づいていき、効率的に遷移経路を探索することができる。定量的には、生成物から測定した RMSD 生成物の値が徐々に小さくなっていき、閾値より小さくなったら、遷移完了とする。

PaCS-MD により得られた遷移経路を解析したところ、状態遷移における重要なアミノ酸残基のメカニズムを突き止めることができた。具体的には、29 番目のアルギニン残基に注目したところ、側鎖のフリップがスイッチとなり状態遷移を制御していることが明らかになった。図 3 に示す様に、Arg29 の側鎖がフリップすることで Asn188 の側鎖と水素結合を形成し、FtsZ 中央に存在しているヘリックスが振れた構造から振れが解消された直線的な形状に構造遷移するメカニズムを解明した。また、PaCS-MD により抽出した Arg29-Asn188 の水素結合距離の時系列データから (図 3・右下)、T-R 状態遷移に伴い Arg29-Asn188 間に水素結合が形成されていることが分かる。更に、FtsZ モノマーは 2 構造間の構造遷移において基質である GDP を段階的に認識・解除していることを解明し、中間体構造を経て多段階に状態遷移していることも突き止めた。本研究において実験と計算化学が密に連携することで、FtsZ モノマーの構造揺らぎと T-R 状態間構造遷移を解明し、FtsZ ポリマーの離合集散の関係を解明するための足がかりを築くことが出来た。本年度は FtsZ モノマーのシミュレーションのみ実行したが、次年度は FtsZ ポリマーのシミュレーションも検討し、より生体環境に近いモデルを構築して細胞分裂過程の動的秩序解明を進めて行く予定である。

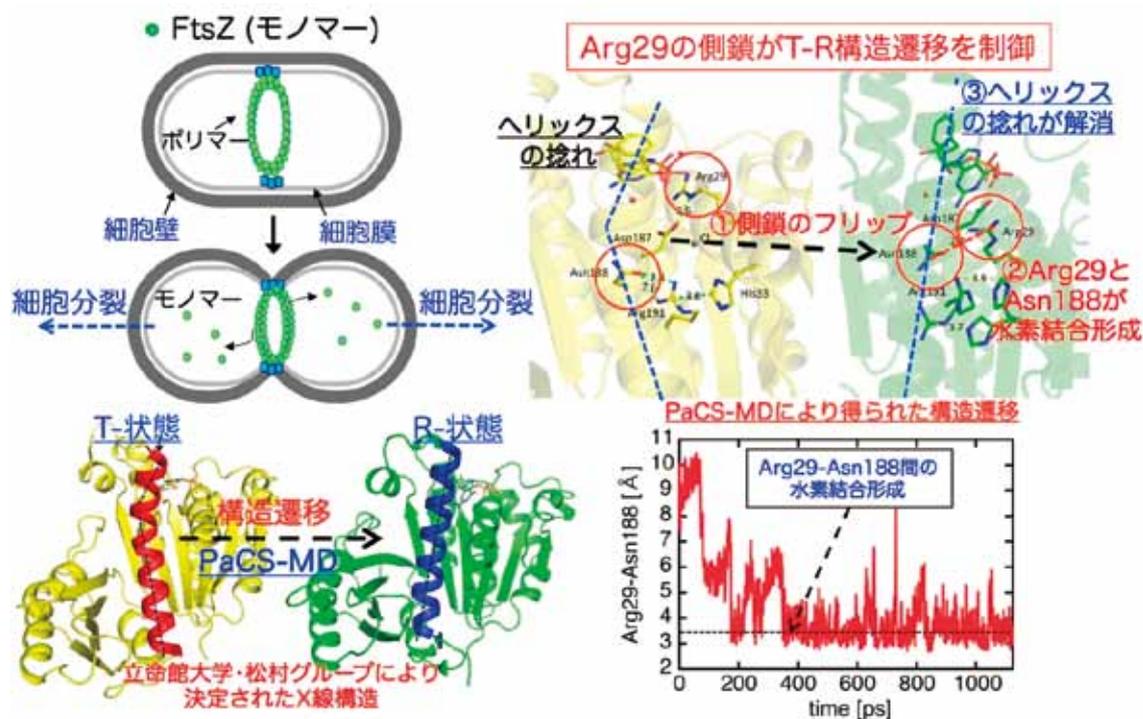


図 3: 黄色ブドウ球菌由来の FtsZ モノマーの状態遷移メカニズム

【4】 三重項-三重項消滅に基づくフォトン・アップコンバージョンの理論的研究

低いエネルギー（長波長）の光から高いエネルギー（短波長）の光へと変換する機構としてフォトン・アップコンバージョン（UC）が知られている。近年、これまで利用が不可能であった太陽光の可視・近赤外領域を利用して UC を起こす機構として三重項-三重項消光（TTA）が注目されている。TTA-UC の研究は盛んに行われており、増感剤として白金またはパラジウムオクタポリフィリン（Pt OEP または PbOEP）、発光体として 9,10-ジフェニルアントラセン（DPA）またはその誘導体の組み合わせがよく用いられている。この組み合わせは溶液内で太陽光レベルの光を照射することで TTA-UC を観測している。しかし、このシステムは酸素分子が豊富に存在している環境では TTA-UC が起こらないという問題点がある。また、溶液系では分子の拡散と衝突が反応律速であるため粘度の低い揮発性の有機溶媒を用いる必要があることも問題である。そのため、実用化するためには空気中でも安定して TTA-UC が起こる分子システムの提案・開発が必要である。現在、結晶系、無溶媒系、金属有機構造体などによって空気中での TTA-UC が観測されている。しかし、多くは反応効率が低く実用化には至らない。

本研究では、TTA-UC の反応機構を分子レベルで解明することで、空気中においても実用化に耐えうる反応効率を実現するために必要な因子を特定することを目的とし研究を実施した。TTA-UC が電子交換機構によって生じることから DPA の二量体モデルに対して電子移動

速度 (k_{ET}) を算出し、分子配向および距離との依存性を評価した。分子配向による依存性については、距離が近い領域では角度が小さい (0 度~30 度) ときのほうが、角度が大きいつきよりも速い電子移動速度であったが (10^{-3} ps < 10^0 ps)、距離が離れるにつれ角度が大きいつきのほうが電子移動速度が速くなることがわかった。距離の依存性については 9.5 Å 近傍を境に 0 度と 90 度の電子移動速度の大小が逆転していることがわかった。これらのことから、短距離では角度が小さいとき、長距離では角度が大きいつきに TTA が起こりやすいことがわかった。さらに分子の拡散係数を見積もった結果、 $D=1.77 \times 10^{-10}$ m² s⁻¹ であった。そして、並進拡散は 37 μs と遅く、DPA の回転拡散においてはプロパノール内においておよそ 100 ps と測定されている。このことから、TTA が起こる際に、必ずしも近距離になる必要はなく、分子が衝突する間に分子の回転が速い時間スケールで起こり、距離が離れていたとしても TTA が起こりえる分子配向になり TTA が起こることが示唆できる。さらに分子動力学 (MD) 計算から DPA 間の距離を解析した結果、500 ns の間に 10 Å 以内になる確率は 10% 程度であったことから近距離での反応は起きにくく、長距離で TTA が起こっていることがわかった。本研究成果は Chemistry Letters に掲載された。

【5】 紫外線損傷 DNA におけるフリッピング機構の理論的研究

DNA は紫外線によって損傷を受けることが知られている。そして、受けた損傷が修復されないと DNA の転写や複製の阻害、植物の静緒阻害などの原因となる。生物はこの損傷を修復する機能を有する光回復酵素 (PHR) という酵素を保有している。PHR は紫外線損傷 DNA を認識して結合し、光誘起電子移動反応によって修復する。紫外線損傷 DNA において PHR と結合するために、損傷部位が二重らせん構造から外れるフリッピングと呼ばれる現象が起こることが X 線結晶構造解析により明らかになった。しかし、フリッピングがどの段階で生じているかについては明らかではない。

本研究では、フリッピングが DNA が損傷した際に起こっているのか蛋白質との相互作用によって起こっているのかを明らかにするために MD 計算と量子化学計算を用いて、その反応機構を調べた。MD 計算の結果、DNA 単体ではフリッピングは生じなかった。さらに、損傷部位と核酸間の相互作用エネルギーを量子化学計算によって見積もった結果、損傷部位と隣接する核酸間の相互作用エネルギーが < -10 kcal mol⁻¹ であった。以上のことから紫外線損傷部位は隣接する核酸と強く相互作用しており、DNA 単体ではフリッピングは生じず、フリッピングを起こすためには外部からの力が必要であることを明らかにした。本研究成果は、Biophysics and Physicobiology に採択された。

【6】 第一原理計算による GaN 表面におけるアンモニアの吸着と脱着過程の解析

III-V 族に属する窒化ガリウム (GaN) はバンドギャップが広いこと、オプトエレクトロニクス、フォトンクス、高出力および高温動作デバイスに応用が期待されており、近年、非常に注目を集めている。薄膜の結晶品質を改善し、その成長プロセスを最適化するためには、異なる前駆体の表面吸着および堆積メカニズムの解明が必須である。我々は、実空間密度汎関数理論 (RSDFT) [Iwata, J., et al, J. Comput. Phys. 229, 2339 (2010)] を用いて、前駆体として NH_3 が吸着した際の GaN の(0001)面での結晶成長過程を研究した。まず計算の妥当性を検証するため、格子パラメータを計算したところ($a = 3.2 \text{ \AA}$, $c = 5.2 \text{ \AA}$)、実験値を上手く再現することができた[Schulz, H. et al, Solid State Commun. 23, 815 (1977)]。得られた構造を元に、 2×2 の表面構造をモデル化し、既往研究と良い一致をすることを確認した[Chugh, M. et al, J. Phys. Chem. C, 120, 8076 (2016)]。Ga アドアトム表面構造は HCP サイトで一番安定であり、一方、N アドアトム表面構造は FCC サイトで最も安定であった(図 4 参照)。 NH_3 、 NH_2 、 NH に関して、清浄表面、および、Ga アドアトム表面への吸着について検討した。清浄表面へは、 NH_3 はオントップサイト、 NH_2 はブリッジサイト、 NH は FCC サイトへそれぞれ吸着するのが、最も安定であることを明らかにした。一方、Ga アドアトム表面上では、 NH_3 、 NH_2 、 NH すべての前駆体は、オントップサイトが最も安定であることが分かった。

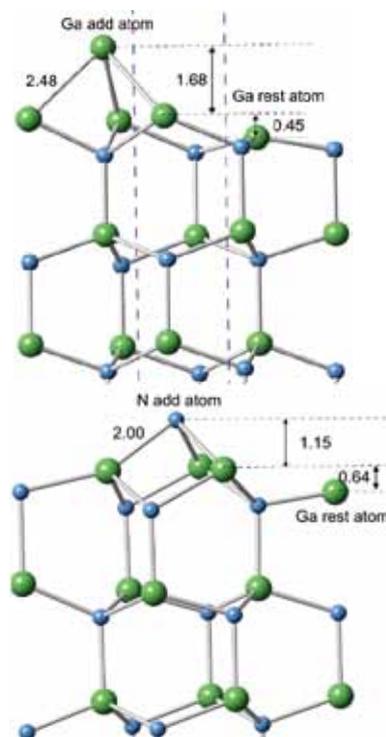


図 4: (a) Ga-HCP、および、
(b) N-FCC アドアトム構造
(\AA 単位)

【7】 フラグメント分子軌道法プログラム OpenFMO への DFT 実装と性能評価

蛋白質などの巨大分子の電子状態計算を解く代表的な手法として、フラグメント分子軌道 (FMO) 法がある。FMO 法は、大きな分子系をフラグメントに分割し、各フラグメントに対して解かれた電子状態から全系のエネルギーを決定することで、計算コストの問題を回避する。OpenFMO は、稲富らによって開発された Hartree-Fock (HF) レベルの FMO (FMO-HF) 計算を行うプログラムで、MPI+OpenMP ハイブリッド並列で動作する。我々は、これまで、OpenFMO の FMO-HF 計算ホットスポットを CUDA で実装し、GPGPU クラスタを用いて高速な FMO 計算を実行することに成功してきた。一方、現在の固体や分子の電子状態計算では、HF 法よりも精度の高い密度汎関数理論(DFT)を用いることが一般的になっている。そこで、この研究では、DFT レベルの FMO(FMO-DFT)計算が行えるように、DFT コードを OpenFMO に MPI+OpenMP ハイブリッド並列で実装し、その性能評価を行った。

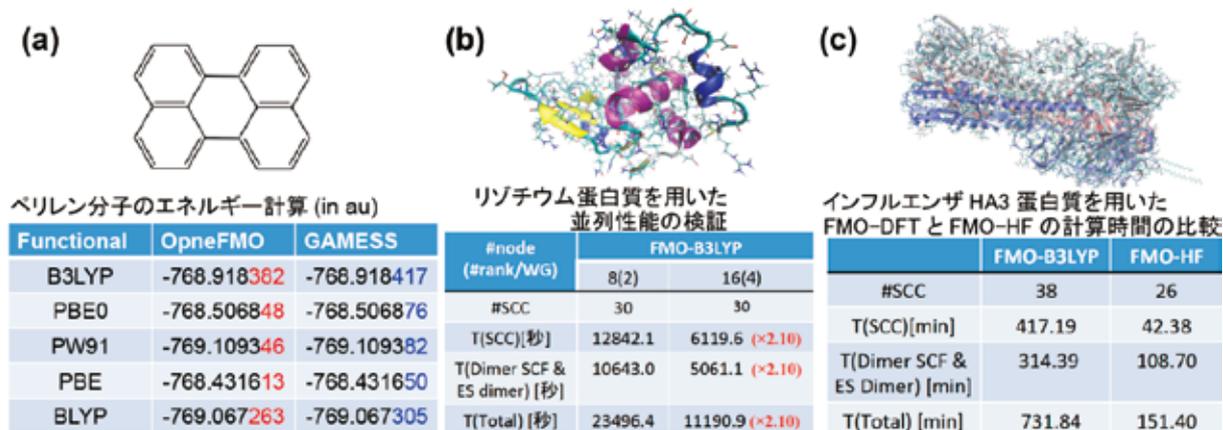


図 5 (a) ペリレン分子(b)リゾチウム蛋白質(c)インフルエンザ HA3 蛋白質、に対する DFT 版 OpenFMO プログラムのベンチマーク計算(基底関数は 6-31G(d)を使用)

DFT コードの交換相関汎関数ポテンシャルは、実際の分子計算で一般的に用いられる、一般勾配法汎関数 BLYP、PW91、PBE と、混合汎関数 B3LYP、PBE0 を実装した。まず、各フラグメントの電子状態を解くルーチン(スケルトンプログラム)を用いて、正しく DFT 計算が実行されるかを確認した。図 5 (a) にはペリレン分子を用いた計算例で、DFT 版 OpenFMO スケルトンプログラムが、汎用量子化学計算プログラム GAMESS の電子状態エネルギーを十分に再現していることが分かる。

次に、リゾチウム蛋白質(1,961 原子、57 フラグメント)を用いて、DFT 版 OpenFMO プログラムが正しく MPI+OpenMP で並列動作することを確認した。図 5(b)は、HA-PACS ベースクラスタ上で、1 ノード当たり 4 MPI ランクを 4 OpenMP スレッド環境で FMO-B3LYP / 6-31G(d) 計算を実行した例である。16 ノード計算が、8 ノード計算に較べて正しくスケール(2 倍の高速化)していることが分かる。

最後に、インフルエンザ HA3 蛋白質(23,460 原子、721 フラグメント、澤田敏彦(産総研)らによって作成)を用いて、DFT 版 OpenFMO プログラムの超並列計算が正しく動作することを確認した。図 5(c)では、HA-PACS ベースクラスタ上で、1 ノード当たり 4MPI ランクを 4 OpenMP スレッド環境で起動し、64 ノード(計 256MPI ランク・GPU256 台)から FMO-HF/6-31G(d)と FMO-B3LYP/6-31G(d)計算を実行した場合の、計算時間を比較している。FMO-DFT 計算は正しく完了するが、FMO-HF 計算と比較すると 5 倍程度遅い。これはまだ、FMO-DFT 計算のホットスポットが CUDA で実装されていないため、FMO-HF 計算のように GPU によって加速されないからである。今後、FMO-DFT 計算のボトルネックである、グリッドを用いて交換相関項の数値計算を行うルーチンを CUDA で実装し、GPU による加速化とその性能検証を行っていく予定である。

4. 教育

【卒業研究発表】

木間塚政人、「分子動力学法を用いた不凍蛋白質-水分子間相互作用解析」

山崎笙太郎、「シアン耐性酸化酵素における反応機構についての理論的研究」

石井優輝、「FtsZ 繊維の構造変化についての分子動力学解析」

【博士修了】

前川真太郎、「光学材料および生体材料評価に関する第一原理計算法の研究」

【講義】

重田育照、計算物理学 2、物理学類専門科目、春 ABC

重田育照、計算物理学 3、物理学類専門科目、秋 ABC

重田育照・庄司光男、生物物理学 I、物理学類専門科目、秋 AB

庄司光男、生物物理科学、物理学類専門科目、春 ABC

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

【受賞】

原田隆平、若手招待講演賞、第 54 回日本生物物理学会、2016 年 11 月 26 日

佐藤皓允、学生発表賞、第 54 回日本生物物理学会、2016 年 11 月 27 日

【外部資金】

【研究代表者】

1. 新学術領域研究「複合光応答」計画研究、重田育照（代表者）（平成 26～30 年度）「実験と理論の協奏的アプローチによる多重スピン励起子変換制御」
2. 基盤研究 C：庄司光男（代表者）（平成 26 年～28 年度）「トレオニン合成酵素の全反応機構の理論的解明」
3. 若手研究（A）：原田隆平（研究代表者）（平成 28 年～30 年度）「G タンパク質共役受容体におけるシグナル伝達機構の解明」

【分担研究者】

1. 挑戦的萌芽研究：重田育照（分担者）（代表者：岡野泰則 大阪大学教授）（平成 27～28 年度）「メゾスケール空間内移動速度論創成のための挑戦的研究」
2. 特別推進研究：庄司光男（分担者）（代表者：沈建仁 岡山大学教授）（平成 24～28 年度）「光合成系 II における水分解反応の学理解明」

【知的財産権】（種別、氏名、課題名、年月日）

1. [国際特許] 特許名: Information Processing Apparatus and Simulation Method, 発明者: Tomotake Nakamura, Ryuhei Harada, Yasuteru Shigeta, 出願日: 2016 年 8 月 4 日, 特許庁: US (米国), 申請番号: 15/228,540
2. [国際特許] 特許名: Information Processing Apparatus and Index Dimension Extracting Method, 発明者: Tomotake Nakamura, Ryuhei Harada, Yasuteru Shigeta, 出願日: 2016 年 8 月 4 日, 特許庁: US(米国), 申請番号: 15/228,873

6. 研究業績

(1) 研究論文

A) 査読付き論文

- (1) J. Fujita, R. Harada, Y. Maeda, Y. Saito, E. Mizohata, T. Inoue, Y. Shigeta, H. Matsumura, " Identification of the key interactions in structural transition pathway of FtsZ from *Staphylococcus aureus*", *J. Struct. Biol.* **198**, 65-73 (2017).
- (2) Y. Kitagawa, M. Asaoka, Y. Natori, K. Miyagi, R. Teramoto, T. Matsui, Y. Shigeta, M. Okumura, M. Nakano, " Theoretical study on relationship between spin structure and electron conductivity of one-dimensional tri-nickel (II) complex", *Polyhedron*, in press (2017).
- (3) W. Naito, N. Yasuda, T. Morimoto, Y. Shigeta, H. Takaya, I. Hisaki, H. Maeda, "Doubly N-Methylated Porphyrinoids", *Org. Lett.*, **18**, 3006-3009 (2016).
- (4) S. Maekawa, M. Krzysztow, Y. Shigeta, "Refractive Indices of Organo-Metallic and -Metalloid Compounds: A Long-Range Corrected DFT Study", *J. Comp. Chem.* **37**(32), 2759-2769 (2016).
- (5) S. Negoro, Y. Kawashima, N. Shibata, T. Kobayashi, T. Baba, Y.-H. Lee, K. Kamiya, Y. Shigeta, K. Nagai, I. Takehara, D.-I. Kato, M. Takeo, Y. Higuchi, "Mutations affecting the internal equilibrium of the 6-aminohexanoate-dimer hydrolase reactions", *FEBS Lett.*, **590**(18), 3133-3143 (2016).
- (6) R. Yamakado, S. Sato, Y. Shigeta, H. Maeda, "Ion-Pairing Crystal Polymorphs of Interlocked [2+1]-type Receptor-Anion Complexes", *J. Org. Chem.*, **81**, 8530-8536 (2016).
- (7) S. Maekawa, R. Sato, K. Hirao, Y. Shigeta, "Solvent effects on excited-state electron transfer rate of pyrene-labeled deoxyuridine: A theoretical study", *Chem. Phys. Lett.*, **644**, 25-30(2016).
- (8) M. Shoji, H. Isobe, T. Nakajima, K. Yamaguchi, "Large-scale QM/MM calculations of the CaMn₄O₅ cluster in the oxygen-evolving complex of photosystem II: comparisons with EXAFS structures", *Chem. Phys. Lett.*, 658, 354-363 (2016).
- (9) Y.Abe, M.Shoji, Y.Nishiya, H.Aiba, T.Kishimoto, K.Kitaura, "Reaction mechanism of sarcosine oxidase elucidated using FMO and QM/MM methods", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **19**, 9811-9822

- (2017).
- (10) W. Tanaka, M. Shoji, F. Tomoike, Y. Ujiie, K. Hanaoka, R. Harada, M. Kayanuma, K. Kamiya, T. Ishida, R. Masui, S. Kuramitsu, Y. Shigeta, "Molecular Mechanisms of Substrate Specificities of Uridine-Cytidine Kinase", *Biophys. Physico.*, **13**, 77-84 (2016).
- (11) R. Hadara, Y. Takano, Y. Shigeta, "TaBoo SeArch(TBSA) algorithm with a modified inverse histogram for reproducing biologically relevant rare-events of proteins", *J. Chem. Theoret. Comp.*, **12**, 2436-2445 (2016).
- (12) R. Harada, T. Nakamura, Y. Shigeta, "A Fast Convergent Simulated Annealing Algorithm for Protein-Folding: Simulated Annealing Outlier FLOODing (SA-OFLOOD) Method", *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **89** (11), 1361-1367 (Cover).
- (13) R. Harada, Y. Shigeta, "Efficient Conformational Search Based on the Structural Dissimilarity Sampling: Applications to Reproductions of Structural Transitions in Maltodextrin Binding Protein", *J. Chem. Theoret. Comp.*, **13**(3), 1411-1423(2017).
- (14) R. Harada, Y. Takano, Y. Shigeta, "Common Folding Processes of the Fast-Folding Proteins: Partial Formations of Secondary Structures Initiate the Immediate Protein Folding", *J. Comp. Chem.* **38** (Front Cover), 790-797(2017).
- (15) R. Harada, Y. Shigeta, "How does the number of initial structures affect the conformational sampling efficiency and quality in Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS-MD)?", *Chem. Lett.*, **46**, 862-865 (2017)
- (16) R. Sato, H. Kitoh-Nishioka, T. Yanai and Y. Shigeta., "Theoretical Analyses on Triplet-triplet Annihilation Process of 9,10-diphenylanthracene in Solution", *Chem. Lett.*, **46** (2017).
- (17) R. Sato, R. Harada and Y. Shigeta., "Theoretical analyses on a flipping mechanism of UV-induced DNA damage", *Biophys. Physico.*, **13**, 311-319 (2016).
- (18) R. Yamakado, R. Sato, Y. Shigeta and H. Maeda, "Ion-Pairing Crystal Polymorphs of Interlocked [2+1]-Type Receptor-Anion Complexes", *J. Org Chem.*, **81**, 8530-8536 (2016).
- (19) R. Yamakado, Y. Ashida. R. Sato, Y. Shigeta, N. Yasuda and H. Maeda, "Cooperatively Interlocked [2+1]-Type π -system-Anion Complexes", *Chem. Eur. J.*, **23**, 4160-4168 (2017).

B) 査読無し論文

(2) 国際会議発表

A) 招待講演

- (1) Y. Shigeta, "A consistent scheme for accurately estimating acid dissociation constant (pK_a) and redox potential"(Invited), *Fourth Changsha International Workshop on Theoretical and*

Computational Chemistry with Materials 2016, June 10th-12th, Hunan, China.

- (2) M. Shoji, H. Isobe, K. Yamaguchi, "Reaction mechanisms for the S2 to S3 transition in the oxygen-evolving complex of photosystem II" (**Invited**), *AWEST 2016*, June 19-21, Awaji island, Hyogo, Japan.
- (3) Y. Shigeta, "Simple conformational search methods for understanding biological functions" (**Invited**), Shanghai Workshop on Frontiers in Molecular Biophysics, Jul. 23th-26th 2016, Shanghai, China.
- (4) Y. Shigeta, "Efficient Conformational Search Methods for Protein Folding Problems" (**Invited**), The 9th Congress of the International Society for Theoretical Chemical Physics (ISTCP 2016), Jul. 17th-22nd 2016, Grand Forks, North Dakota, USA.
- (5) M. Shoji, H. Isobe, J.-R. Shen, K. Yamaguchi, Y. Shigeta, Y. Takano, "Electronic structures of the synthetic model of the photosynthetic oxygen-evolving complex" (poster, **Invited**), *VUVX satellite workshop*, Jul. 1st 2016, University of Zurich, Zurich, Switzerland.
- (6) R. Harada, Y. Shigeta, "Developments of Efficient Conformational Sampling Methods for Reproducing Biologically Rare Events" (**Invited**), *The 54th Annual Meeting of Biophysical Society of Japan*, Nov. 25th 2016, Tsukuba, Japan.

B) 一般講演

- (1) S. Maekawa, M. Krzysztow, Y. Shigeta, "Refractive Indices of Organo-Metallic and -Metalloid Compounds: A Long-Range Corrected DFT Study" (**Oral**), *Asian Photochemistry Conference*, Dec. 4th-8th 2016, Singapore.
- (2) Y. Shigeta, K. Kamiya, T. Sugimura, "Intramolecular Stereodynamic Effects on Ketene-Olefin [2 + 2] Cycloadditions of 2,4-Pentanediol Tether" (**Poster**), *Stereodynamics 2016*, Nov. 6th-11th 2016, Taipei, Taiwan.
- (3) K. Kamada, Y. Kitagawa, R. Kishi, M. Nakano, R. Sato, Y. Shigeta, "Control of multiple spin exciton states by synergetic studies of theory and experiment" (**Oral**), 1st *International Symposium on Photosynergetics*, June 2nd-4th 2016, Osaka, Japan.
- (4) M. Shoji, "A quantum chemical study of the glycine formation reactions in interstellar medium" (**Oral**), *ABC workshop*, Mar. 21-23 2017, Hiroshima, Japan.
- (5) M. Shoji, H. Isobe, K. Yamaguchi, "Large-Scale QM/MM study on the oxygen-evolving complex of photosystem II" (**poster**), *79th Harden Conference*, Apr. 16th-20th 2016, Innsbruck, Austria.
- (6) R. Sato, K. Kamada, R. Kishi, Y. Kitagawa, M. Nakano, Y. Shigeta, "Theoretical Studies on Photon-uoconversion of 9,10-Diphenylanthracene Derivatives via Triplet-triplet Annihilation

- Mechanism in Solvent" (**Poster**), *Asian Photochemistry Conference*, Dec. 4th-8th 2016, Singapore.
- (7) R. Sato, R. Harada, Y. Shigeta, "On the Flipping-out mechanism of the UV-induced DNA damage", (**Poster**), *The 54th Annual Meeting of Biophysical Society of Japan*, Nov. 27th 2016, Tsukuba, Japan
- (8) R. Sato, K. Kamada, Y. Kitagawa, M. Nakano, Y. Shigeta, "Theoretical Analysis of Triplet-Triplet Annihilation Based Photon Up-Conversion Mechanism in Solvent" (**Poster**), *1st International Symposium on Photosynergetics*, June 2nd-4th 2016, Osaka, Japan.
- (9) K. Kidachi, Y. Komatsu Y, A. Sato, M. Kayanuma, M. Shoji, Y. Shigeta, Y. Aikawa, M. Umemura, "A theoretical study of glycine formation reactions in interstellar medium" (**poster**), *the 57th Sanibel Symposium*, Feb. 19th-24th 2017, Georgia, USA.
- (10) B. My, J. Iwata, Y. Shigeta, "First principle analysis of ammonia adsorption and desorption on GaN surface" (**Poster**), *The 57th Sanibel Symposium*, Feb. 19th-24th 2017, Georgia, USA.
- (11) H. Kitoh-Nishioka and Y. Shigeta, "Singlet Fission Couplings Calculated with Complete-Active-Space Self-Consistent Field (CASSCF) Theory" (**Poster**) *The 57th Sanibel Symposium*, Feb. 19th-24th 2017, Georgia, USA.
- (12) A. Sato, "Ly alpha Irradiation in the Early Phase Milky Way Galaxy Responsible for Initiating Homochirality" (**Oral**), *Formation of the Solar System and the Origin of Life*, Feb. 20th-24th 2017, Leiden, Netherland.

(3) 国内学会・研究会発表

A) 招待講演

- (1) 庄司光男、「光合成酸素発生中心の電子・スピン状態の理論解析」(招待講演), SEST2016, 2016年11月11日、大阪市立大学、大阪.
- (2) 重田育照、「理論計算によるタンパク質の機能解析と制御：最近の進展」、分子研理論・計算領域セミナー、May 19th 2016、分子科学研究所、岡崎、愛知.

B) その他の発表

- (1) 庄司光男、磯部寛、山口兆、「光化学系 II 酸素発生中心(PSII-OEC)における S₂->S₃ 状態変化についての理論的研究」(**ポスター**)、第 89 回日本生化学会大会、2016年9月26日、東北大学、仙台.
- (2) 庄司光男、「星間ダスト上でのアミノ酸生成機構についての理論的研究」(**口頭**)、宇宙生命計算科学連携拠点第 2 回ワークショップ、2016年4月27日~28日、筑波大学、つくば.

- (3) 栢沼愛、「星間空間におけるアミノ酸生成反応の第一原理計算」、ポスト「京」萌芽的課題・計算惑星第 1 回公開シンポジウム: 惑星の起源・進化と環境変動の解明を目指して、2017 年 3 月 6 日、神戸大学、神戸.
- (4) 原田隆平、重田育照、「カスケード型分子動力学計算によるタンパク質の折りたたみ過程解析」(口頭)、第 43 回生体分子化学討論会、2016 年 5 月 24 日～25 日、名古屋大学、名古屋.
- (5) 原田隆平、鷹野優、重田育照、"Universality of protein folding investigated by a rare-event search method" (ポスター)、第 16 回蛋白質科学会、2016 年 5 月 7 日～9 日、福岡国際会議場、福岡.
- (6) 佐藤竜馬、鎌田賢司、岸 亮平、中野雅由、重田育照、「溶媒中における三重項-三重項消滅に基づくフォトン・アップコンバージョン機構に関する研究」、第 19 回理論化学討論会、2016 年 5 月 23 日～25 日、早稲田大学、東京.
- (7) 佐藤竜馬、鎌田賢司、岸 亮平、北河康隆、中野雅由、重田育照、「A Theoretical Studies on Up-conversion Mechanism via Triplet-Triplet Annihilation in Solution」、TIA"かけはし"ポスター交流会、2016 年 8 月 30 日.
- (8) 佐藤竜馬、鎌田賢司、岸 亮平、北河康隆、中野雅由、重田育照、「三重項-三重項消滅に基づくフォトン・アップコンバージョン機構に関する理論的研究」、第 10 回分子科学討論会、2016 年 9 月 13 日～15 日、東京大学、東京.
- (9) 佐藤竜馬、原田隆平、重田育照、「紫外線損傷 DNA における Flipping 機構」、第 54 回日本生物物理学会年会、2016 年 11 月 25 日～27 日、つくば国際会議場、つくば.
- (10) 佐藤竜馬、重田育照、「9,10-ジフェニルアントラセンおよびその誘導体に対する三重項-三重項消滅に基づくフォトン・アップコンバージョン機構の理論的研究」、高次複合応答分子システムの開拓と学理の構築 第 5 回公開シンポジウム・第 5 回若手セミナー、2017 年 1 月 20 日～21 日、大阪大学、大阪.
- (11) 佐藤皓允、「星間空間における円偏光吸収反応による L 型アミノ酸過剰生成の計算科学的検証」、宇宙生命計算科学連携拠点第 2 回ワークショップ、2016 年 4 月 27 日～28 日、筑波大学、つくば.
- (12) 鬼頭(西岡)宏任、「有機半導体のエキシトン/キャリア輸送現象の理論解析」(ポスター)、学際大規模情報基盤共同利用・共同研究拠点 (JHPCN) 第 8 回シンポジウム、会場: THE GRAND HALL, 2016 年 7 月 14 日～15 日、品川.
- (13) 鬼頭(西岡)宏任、「Studies on Charge Transfers in Bio-system and Organic Semiconductor by Using Fragment Molecular Orbital Methods」、TIA"かけはし"ポスター交流会、2016 年 8 月 30 日、エポカルつくば、つくば.
- (14) 鬼頭(西岡)宏任、重田育照、「有機ナノ結晶における励起状態ダイナミクスの理論研究」

(ポスター)、第 10 回分子科学討論会、2016 年 9 月 13 日～15 日、神戸ファッションマート、神戸。

(4) 著書、解説記事等

- (1) 原田隆平、最近の研究から「カスケード型超並列シミュレーションに基づく遷移経路探索法」、分子シミュレーション研究会誌「アンサンブル」、**18**, 159-167(2016).
- (2) 松井亨、喜屋武茜、庄司光男、重田育照、"プロトンの水和自由エネルギー：酸解離定数および標準水素電極電位の高精度計算"、量子水素の科学（特集号）、日本コンピュータ化学会誌 (**invited review**)、**15**(5)、184-191 (2016).

7. 異分野間連携・国際連携・国際活動等

1. 宇宙・生命・物性分野間連携（宇宙生命）
宇宙空間での L-アミノ酸生成に関する研究を物性・宇宙分野と連携して進展させた。
2. 生命情報・分子進化分野間連携
伸長因子 EF-1 α の立体構造に関する理論的研究を分子進化分野と連携して進展させた。
3. 生命-高性能計算機部門連携
フラグメント分子軌道法に DFT を利用可能にし、高性能計算機部門と連携して並列化対応を進展させた。

8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

1. 重田育照、第 77 回岡崎コンファレンス「Ultrafast dynamics in Molecular Science and Material Science」、牛山浩、重田育照、高橋聡、藤井幹也、山下雄史、斉藤真司、Mar 6th-8th 2017, 岡崎コンファレンスセンター。

9. 管理・運営

重田育照

計算科学研究センター 計算生命科学研究部門 部門主任

計算科学研究センター 運営委員会委員

計算科学研究センター 人事委員会委員

計算科学研究センター 運営協議会委員

計算科学研究センター 先端計算科学推進室員

理工学群物理学類 学務委員

理工学群物理学類 広報委員

理工学群物理学類 FD 委員

数理物質系物理学域 生命物理グループ長

数理物質系物理学域 評価委員

10. 社会貢献・国際貢献

集中講義

1. 重田育照、「量子化学に基づく化学反応理論」“大学院講義”、愛媛大学大学院医系研究科。 (2016 後期)
2. 重田育照、「量子化学に基づく化学反応理論」“大学院講義”、東京大学大学院工学系研究科。 (2016 後期)
3. 重田育照、「量子化学に基づく化学反応理論」“大学院講義”、九州大学大学院理学研究科。 (2016 前期)

その他

1. Yasuteru Shigeta, Outstanding Reviewers for Physical Chemistry Chemical Physics in 2016. Royal Chemical Society (2016).
Royal Chemical Society の発刊している「Physical Chemistry Chemical Physics」において、数多くの査読を行い、2016 年度の Outstanding Reviewers として PCCP 誌に掲載された (*Phys. Chem. Chem. Phys.* 2017, **19**, 8140)。

11. その他

なし

V-2. 分子進化分野

1. メンバー

教授 稲垣 祐司

研究員 中山 卓郎 (H28 年度 11 月 1 日付で東北大学に転出)

教授 橋本 哲男 (共同研究員・生命環境系)

特任助教 湯山 育子 (生命環境系 ; H28 年 12 月 1 日付で着任)

学生 大学院生 5 名 (後期課程在学 3 名、前期課程在学 2 名)、学類生 1 名

2. 概要

分子進化分野では、真核生物の主要グループ間の系統関係解明に向け、主に 3 つの「柱」を設定し研究を進めている。

【1】新奇真核微生物の発見 …… 真核生物の多様性の大部分は肉眼で認識することが難しい単細胞生物であるため、これまでの研究では真核生物多様性の全体像を十分に把握しているとは言い切れない。そこで自然環境からこれまでに認識されていない新奇真核微生物を単離・培養株化する。

【2】各種トランスクリプトーム・ゲノム解析 …… 真核生物の主要グループ間の系統関係を分子系統学的に解明するには、大規模遺伝子データが必須である。そこで系統進化的に興味深い生物種を選び、培養と遺伝子データの取得を進めている。そのデータを基に、大規模配列データ解析を行い正確な真核生物系統の推測を目指す。

【3】分子系統解析の方法論研究 …… 分子系統解析においては、解析する配列データの特長、使用する解析法・配列進化モデルなどにより、系統推定に偏りが生じることが知られている。これまでの方法論は単一遺伝子データに基づいて研究されてきたが、複数遺伝子から構成される大規模配列データを解析するための方法論の検討はそれほど進んでいない。また、現状では超並列計算機上で効率よく作動する解析プログラムも十分に普及しているとは言えない。そこで、大規模配列データ解析においてより偏りの少ない推測を目指し、方法論的研究と系統解析プログラムの並列化を行っている。

3. 研究成果

【1】大規模配列データに基づく真核生物大系統の推測

H25 年度末には、我々の研究グループが単離・同定し、正式に記載した *Tsukubamonas globosa* の大規模分子系統解析とミトコンドリアゲノムの完全解読結果を *Genome Biol Evol* 誌に (Kamikawa et al. 2014 *Genome Biol Evol* 6:306-315)、H26 年度初めには *Palpitomoans bilix* の大

規模分子系統解析の結果を *Sci Rep* 誌に (Yabuki et al. 2014 *Sci Rep* 4:4641)、H28 年度には大規模分子系統解析結果を基盤としてホヤ病原性寄生原虫 *Azumiobodo hoyamushi* をふくむキネトプラスト類中の生活様式の進化を発表した (Yazaki et al. 2016 *Genes Genet Systems in press*)。また 159 遺伝子データの系統解析により、嫌気性・微好気性真核微生物から構成されるフォルニカタ生物群の内部系統を頑健に再構築することに成功し、この系統樹を基盤にフォルニカタ生物の縮退ミトコンドリアの機能の進化過程を提案した論文が *Nature Ecology & Evolution* 誌に掲載された (Legar et al. 2017 *Nature Ecology & Evolution in press*)。これまでのところ未発表ではあるが、系統的帰属が未解明な真核微生物 (*Microheliella maris* および *Rigifila ramosa*)、H25 年度から継続して解析を進めている新奇真核微生物 PAP020 株の系統的位位置に関する大規模分子系統解析の結果を現在論文に取りまとめている。今回は H26 年度から解析準備を開始した新奇真核微生物 SRT308 株の系統的位位置に関する大規模分子系統解析の最終的な結果を中心に、SRT213 および SRT605 株についての研究の進捗も報告する。

(1) 新奇真核微生物 SRT308 株の系統的位位置の推測

2013 年にパラオ共和国の海水サンプルから新奇単細胞真核生物 SRT308 株が単離、好気環境下で培養株化された (図 1)。これまでの細胞形態観察においても、系統マーカー遺伝子である小サブユニットリボソーム RNA (SSU rRNA) 配列を用いた系統解析においても、SRT308 株はいかなる既知の真核生物と明らかな近縁性を示さず、本生物は真核生物における新奇系統であることが示唆された。H26 年度に SRT308 株のトランスクリプトームデータ取得、H27 年度には 116 遺伝子データを用いた予備的系統解析を行った。H28 年度には 153 遺伝子データを用いた大規模分子系統解析を行い、真核生物系統中での SRT308 株の系統的位位置について最終的な結論を得た (図 1)。この解析は、筑波大学計算科学研究センター学際共同利用プログラム REALPHYL (15a18; 代表・稲垣祐司) により実施した。153 遺伝子解析では、SRT308 株はキネトプラスト類、ユーグレナ類、ディプロネマ類からなる系統群である Euglenozoa 生物群の基部から分岐することが統計的に強く示され、SRT308 株と Euglenozoa からなる系統は、ヘテロロボサ類、ヤコバ類、ツクバモナス類とともにディスコバ生物群と呼ばれる大きな系統群を形成した (図 1)。今後、Euglenozoa の生物と SRT308 株の微細構造の比較解析によって、SRT308 株が① Euglenozoa 生物群のなかでも最も早期に分岐した系統なのか、② Euglenozoa の内部系統ではなくディスコバ生物群における新奇系統であるのかを明らかにしていく必要がある。H29 年度には、白鳥博士が取得した形態データと 153 遺伝子データに基づく大規模分子系統解析結果をふくむ投稿論文を作成し、投稿することを目指す。

Euglenozoa 生物群を構成するキネトプラスト類、ユーグレナ類、ディプロネマ類のミトコンドリアゲノムは、複数の環状/直鎖状 DNA からなる複雑な構造であることが知ら

れている。本生物群の進化過程でどのようにミトコンドリアゲノム構造が複雑化していったかを推測するためには、まず祖先的なミトコンドリアゲノムの構造を把握する必要がある。我々の大規模分子系統解析から SRT308 株は Euglenozoa 生物群の基部から分岐したことが明らかとなったため、SRT308 株のミトコンドリアゲノム構造の理解は、Euglenozoa 生物群のミトコンドリアゲノム構造の進化を推測する上で極めて重要である。我々は SRT308 株ミトコンドリアゲノム配列と構造の解明を目指し、H28 年度には本生物のゲノムデータを取得した。H29 年度にはこのゲノムデータからミトコンドリアゲノムを再構築することを目指す。

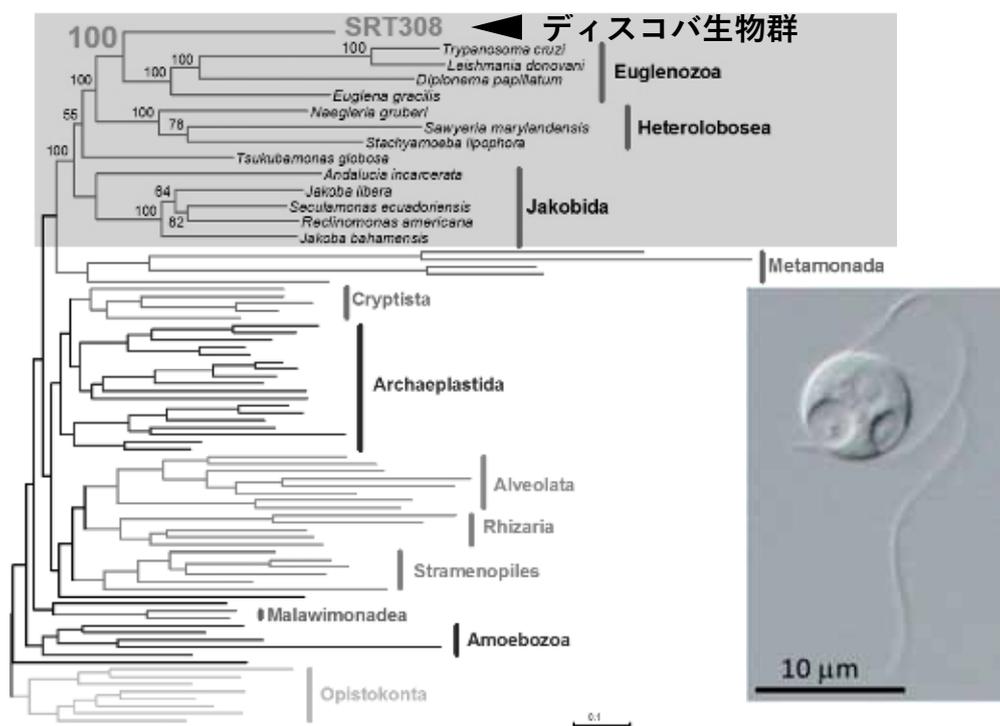


図 1. SRT308 株 [右下, 写真提供: 白鳥峻志 (筑波大)] と 153 遺伝子データに基づくその系統的位 (矢頭)。

(2) 新奇真核微生物 SRT605 株および SRT213 株の系統的位推測

SRT605 株 (図 2 左) は、白鳥峻志 (筑波大) 博士により静岡県沼津市千本浜公園付近で採取された海水サンプルから単離された真核微生物である。予備的な顕微鏡観察で把握された形態的特徴では、この生物の系統的位を確定することはできなかった。しかし、小サブユニットおよび大サブユニットリボソーム RNA 遺伝子配列の連結系統解析では、SRT605 株が、ヒトをふくむ多細胞動物と菌類 (とそれらと近縁となるいくつかの真核微生物系統) から構成されるオピストコンタ類の基部から分岐する可能性が示唆され

た。SRT605 株の位置が大規模分子系統解析により確定すれば、この真核微生物は最も祖先的オピストコンタ生物として、あるいはオピストコンタ類に最も近縁な生物として、極めて魅力的な研究対象となる。H28 年度の後半に、SRT605 株のトランスクリプトームデータを取得した。さらに、これまで発表されたオピストコンタに関する大規模系統解析で最もオピストコンタ生物種の多様性をカバーしている Torruella ら (2015 *Curr Biol* 25:2404-2410) の 93 遺伝子アライメントを入手し、SRT605 株のデータを追加している。SRT605 株からの配列データを含む大規模アライメントデータに基づき、H29 年度の筑波大学計算科学研究センター学際共同利用プログラム REALPHYL (17a25; 代表・稲垣祐司) の課題の下で COMA システム汎用 CPU 部にて分子系統解析を行う。

SRT213 株 (図 2 右) は、白鳥博士により 2011 年にパラオ共和国のマングローブ底泥より単離され、微好気条件のもと培養株化されたものである。SRT213 株はアメーバ状態と鞭毛をもち遊泳する状態の 2 形態を呈する、いわゆるアメーバ鞭毛虫である。また、予備的な電子顕微鏡観察を行った結果、SRT213 株からは典型的なミトコンドリアを欠き、代わりに二重膜を持つ電子密度の高い細胞小器官が検出された。系統的に広範な微好気および嫌気性真核微生物の細胞内に縮退したミトコンドリア (ミトコンドリア様小器官; Mitochondrion Related Organelles, MROs) が同定されていることから、SRT213 株の持つ二重膜細胞小器官は MRO である可能性が高い。系統マーカー遺伝子である SSU rDNA を用いた系統解析の結果、SRT213 株はヘテロロボサ類に含まれる可能性が示唆されたが、その系統関係は高い統計的サポートを受けず明確な結論が出なかった。我々は、H28 年度に SRT213 株から HiSeq2500 をもちいたトランスクリプトームデータを取得したので、H29 年はこのデータをもとに大規模分子系統解析を行い、SRT213 株の系統的位置を確定する。またトランスクリプトームデータを基盤に、SRT213 株の MRO 機能の全容解明を目指す。

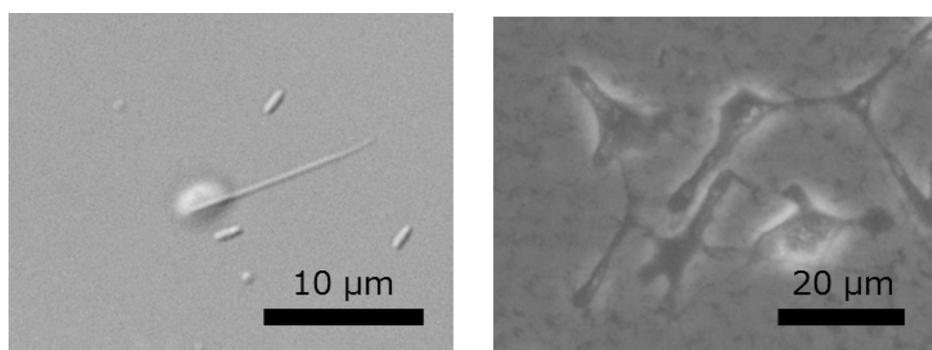


図 2. SRT605 および SRT213 株 (アメーバ状細胞)。写真提供: 白鳥峻志 (筑波大)

【2】各種トランスクリプトーム・ゲノム解析

(1) 窒素固定に特化したシアノバクテリア共生体（楕円体）を細胞内に保持するロパロディア科珪藻のゲノム解読

ロパロディア科珪藻は、ミトコンドリアや色素体に加え、独自のシアノバクテリア共生体を保持する（楕円体, spheroid body）。楕円体は窒素固定能力を持ち、窒素化合物を宿主細胞に供給していると考えられてきた。また楕円体は珪藻細胞外では生育できず、珪藻細胞の分裂とともに娘細胞に受け継がれる。しかし、楕円体が珪藻細胞にどの程度統合されているのか詳細は不明であり、我々はゲノム情報を軸に、珪藻と楕円体の共生関係機構の解明を目指している。これまでに我々はロパロディア科珪藻 *Epithemia turgida* の楕円体ゲノム全塩基配列を報告した (Nakayama et al. 2014 *Proc Nat Acad Sci USA* 111:11407-11412)。また H26 年度以降、さらに 2 種のロパロディア科珪藻 *Rhopalodia gibberula* のおよび *Epithemia adnata* の楕円体ゲノム全塩基配列を決定した。予備的な比較解析により *E. turgida* と *R. gibberula* の楕円体ゲノム間には明らかな違いがみられ、ロパロディア科珪藻の種間で楕円体ゲノム配列に進化的多様性があることが示唆された（未発表データ）。H29 年度には、この 2 つの楕円体ゲノム比較解析結果を取りまとめた論文の投稿を目指す。

H27 年度には、珪藻細胞がどのように細胞内共生体である楕円体を制御しているかの分子的知見を得るため、*E. adnata* の核ゲノムにコードされているタンパク質遺伝子の解析を行い、シアノバクテリアから水平転移によって獲得された遺伝子群を同定した。そのうち 2 つの遺伝子は珪藻細胞内において楕円体特異的に局在するペプチドグリカン壁の代謝に関わるものであり、これらの遺伝子が楕円体の制御に関わっている可能性が示唆された。H28 年度にはこの 2 つのタンパク質に対するマウス抗血清を作成した。H29 年度には、2 つのシアノバクテリア由来ペプチドグリカン代謝関連タンパク質に対する抗血清をもちいた免疫電子顕微鏡観察により、2 つのタンパク質が *E. adnata* 細胞内の楕円体に局在するかどうかを検証する予定である。

(2) 光合成性真核微生物の色素体ゲノム解析

我々は光合成性真核微生物における葉緑体置換、二次的な光合成能の欠失に伴う色素体ゲノム進化に興味を持ち、各種の真核藻類の色素体ゲノム解読を行っている。

多くの渦鞭毛藻は紅藻の二次共生によって獲得された色素体（ペリディニン色素体）をもつが、これまでの研究により 3 種の渦鞭毛藻、*Lepidodinium chlorophorum*、未記載渦鞭毛藻 2 種（MRD-151 株および TRD-132 株）では、祖先型のペリディニン色素体が、緑藻であるペディノ藻の三次共生に由来する緑藻型の色素体に置換されていることが判明している。興味深いことに上記 3 種は、互いに独立に細胞内共生させたペディノ藻を葉緑体化したと考えられる。従ってこれら 3 種の渦鞭毛藻細胞内のペディノ藻由来緑葉緑体と自由生活性ペディノ藻葉緑体のゲノムを比較することで、渦鞭毛藻細胞内での

共生とそれに引き続く葉緑体化過程における葉緑体ゲノム進化を検証することが可能である。

我々はこれまでに *L. chlorophorum* 色素体ゲノムを解読し論文として発表 (Kamikawa et al. 2015 *Genome Biol Evol* 7:1133-1140) するとともに、MRD-151 株の色素体の全ゲノム配列を解読した (H27 年度報告; 未発表)。H28 年度は TRD-132 株の葉緑体ゲノム配列の決定を目指し、同株のトータル DNA サンプルを次世代シーケンス解析した。その結果、約 71 Kbp の環状葉緑体ゲノム配列を再構築することに成功し、65 種類の機能既知タンパク質コード遺伝子を同定した。ゲノム比較解析の結果、*L. chlorophorum*、MRD-151 株、TRD-132 株の色素体ゲノムにはコードされる機能既知タンパク質遺伝子のレパートリーは、①互いによく似ていること、②自由生活性ペディノ藻 (例えば *Pedinomonas minor*) の色素体コードの機能既知タンパク質遺伝子レパートリーと比べ、共通して縮退的であることが判明した (図 3)。従って、渦鞭毛藻細胞内で互いに独立して葉緑体化したペディノ藻の色素体ゲノムには、共通してタンパク質遺伝子レパートリーに対して縮小圧がかかったこと、どのような遺伝子が色素体ゲノムから消失するかには何らかの共通した進化的背景が存在する可能性があることが示唆された。H29 年度には、これまで蓄積した MRD-151 株と TRD-132 株の色素体ゲノムデータと、既に論文として公開した *L. chlorophorum* 色素体ゲノムの比較解析結果を論文として取りまとめ、投稿することを目指す。

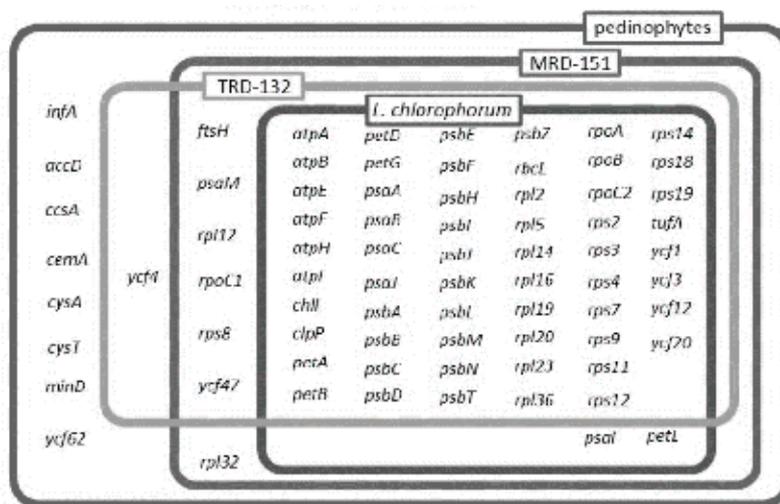


図 3. 渦鞭毛藻 *Lepidodinium chlorophorum*、MRD-151 株、TRD-132 株の色素体ゲノムにコードされる機能既知タンパク質遺伝子レパートリーを比較したベン図。渦鞭毛藻色素体にコードされたタンパク質遺伝子は、ペディノ藻 (pedinophytes) 色素体ゲノムにコードされるタンパク質遺伝子のサブセットであった。

(3) 各種真核微生物のミトコンドリアゲノム解析

ミトコンドリアは細胞内共生した α プロテオバクテリアが退化したオルガネラである。ミトコンドリアの成立は原始真核生物細胞に深く関連し、真核生物の細胞体制とゲノム構造に大きな影響を与えたと考えられている。また真核生物の進化過程で、ミトコンド

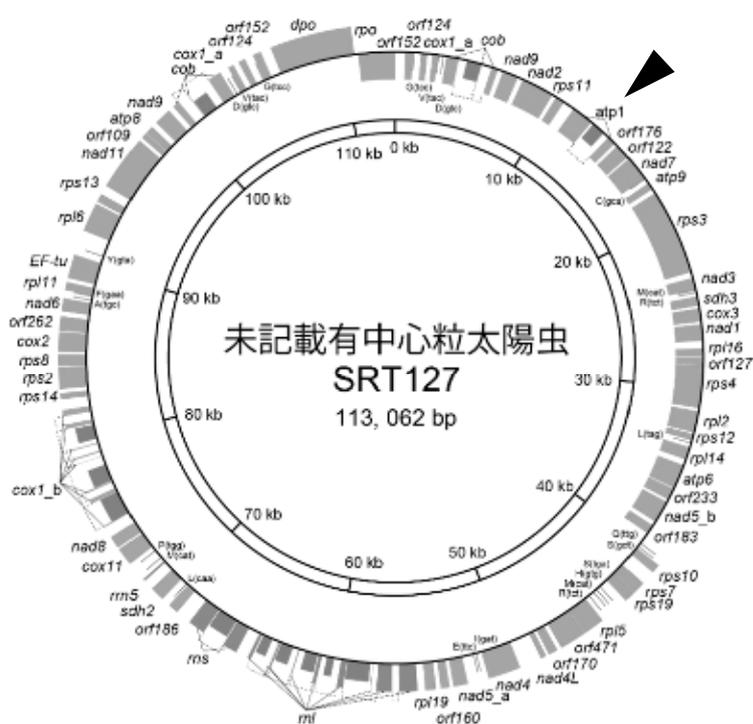
リアゲノムにコードされる遺伝子の種類や数、ゲノム構造などが大きく多様化してきた。我々は各種の真核微生物のミトコンドリアゲノムを解読し、その多様性と進化を解明しようと試みている。しかしこれまでに配列決定されたミトコンドリアゲノムの大部分は後生動物・菌類、陸上植物からのデータで占められており、真核生物の多様性を網羅しているとは言い難い。これまでに我々は多様な真核微生物のミトコンドリアゲノム解読を進めており、ディスコバ生物群のメンバーである *Tsukubamonas globosa* (Kamikawa et al. 2014 *Genome Biol Evol* 6:306-315)、カタブレファリス類 (*Leucocryptos marina* および *Roombia* sp. NY0200 株; 前者の部分配列は Nishimura et al. 2012 *PLoS ONE* 7:e37307 として発表済み、後者は未発表)、ハプト藻 *Chrysochromulina* sp. NIES-1333 (Nishimura et al. 2014 *Mobile Genet Elements* 4:e29384)、クリプスタ生物 *Paliptomonas bilix* のミトコンドリアゲノム (Nishimura et al. 2016 *Genome Biol Evol* 8:3090-3098) を決定した。H28 年度には、新たに未記載有中心粒太陽虫培養株 SRT127 のミトコンドリアゲノムを解読することに成功した (図 4)。

興味深いことに、SRT127 ミトコンドリアゲノムにはグループ I (gI) イントロンが多数含まれていた。gI イントロンは自己スプライシングを行うリボザイムの一種であり、スプライシング時にイントロン RNA が特徴的な高次構造を形成する。また gI イントロンは内部にコードしているホーミングエンドヌクレアーゼ (HE) が特定の塩基配列を認識・切断することによって、異なるゲノム間で水平伝播すると考えられている。多様な生物のゲノムに含まれる gI イントロンとその HE、及びイントロンの挿入部位について比較した結果、SRT127 株ミトコンドリアゲノムに含まれている gI イントロンの 1 つが、緑藻類の色素体ゲノム中のイントロンと進化的に近縁であることが判明した。有中心粒太陽虫類と緑藻類は進化的に離れた系統であることから、これらの gI イントロンは水平伝播によって緑藻類の葉緑体ゲノムから有中心粒太陽虫ミトコンドリアゲノム、あるいはその逆方向に伝わったものと考えられる。このような遠縁の生物の異なるオルガネラゲノム間における水平伝播は、タンパク質遺伝子に挿入されている gI イントロンとしては世界でも初めての報告例である。H29 年度には、この SRT127 株ミトコンドリアゲノムの解析結果を論文としてまとめ、投稿する。

(4) 色素体を置換した渦鞭毛藻類におけるクロロフィル *a*、ヘム、イソプレレン合成系を構成するタンパク質の起源の推測

典型的な光合成性渦鞭毛藻は紅藻由来ペリディニン色素体をもつが、渦鞭毛藻 *Lepidodinium chlorophorum* は緑藻由来色素体を保有する。この「緑色渦鞭毛藻」は祖先的 (紅藻由来) 葉緑体を喪失し、緑藻を細胞内共生体として獲得・色素体化したと考えられる。一般に細胞内真核藻が色素体化する過程では、細胞内共生体から宿主核ゲノムへの遺伝子水平転移 (EGT) が想定される。緑色渦鞭毛藻の宿主核ゲノムには元々のペリディニン色素体に局在し機能し

ていた色素体遺伝子がコードされたため、EGT により起源は異なるが機能が相同な色素体遺伝子が宿主核ゲノムに重複し、その後機能的相同遺伝子間の取捨選択が起こった予想できる。しかし現存する渦鞭毛藻細胞内での緑色色素体成立過程において、宿主-共生体間での EGT による遺伝子重複とその後の取捨選択の全体像は明らかにされていない。そこで、互いに独立にペリディニン色素体を緑色色素体に置換したと考えられる 3 つの系統、すなわち *L. chlorophorum* と未記載渦鞭毛藻 2 種 TRD-132 および MRD-151 株の発現遺伝子データを取得し、色素体に局在するクロロフィル *a* (Chl *a*) 合成系、イソプレネン (IPP) 合成系およびヘム合成系を構成するタンパク質コード遺伝子の探索と、系統解析による各タンパク質の起源推測を行った。興味深いことに、3 つの色素体代謝系に関して緑色渦鞭毛藻間でのタンパク質の進化的起源については共通の傾向を示した。IPP 合成系およびヘム合成系では宿主由来のタンパク質遺伝子発現が保存的であり、特に IPP 合成系では EGT 遺伝子が全く検出されなかった。一方 Chl *a* 合成系では緑藻由来の EGT 遺伝子とともに、とくにクロララクニオン藻との近縁性を示す遺伝子を複数検出した。これまで色素体置換に伴うゲノム・遺伝子の進化において特定の系統 (今回はクロララクニオン藻) からの大きな貢献は予想外であり、H29 年度にはこの研究成果を投稿論文として取りまとめてゆく予定である。



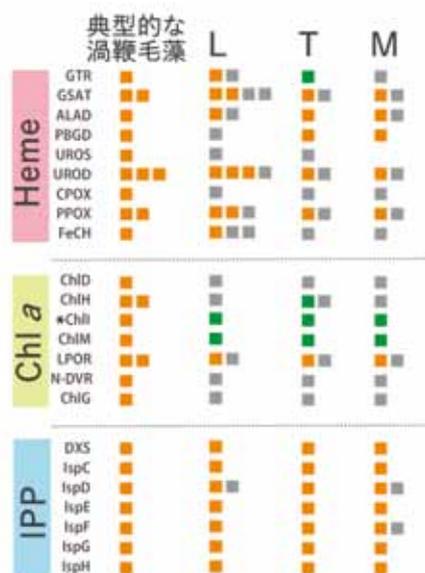


図 5. 互いに独立にペリディニン色素体を緑色色素体と置換したと考えられる 3 つの渦鞭毛藻における、3 つの葉緑体局在代謝系を構成するタンパク質の起源。"L"は *Lepidodinium chlorophorum*、"T"は TRD-132 株、"M"は MRD-151 株を示す。ヘム合成系 (Heme)、クロロフィル a 合成系 (Chl a)、イソプレネン (IPP) 合成系を構成するタンパク質の進化的起源を色分けで示した。オレンジ色はペリディニン色素体をもった祖先渦鞭毛藻から垂直伝播したと考えられるタンパク質、緑色は現在の緑色色素体の起源である緑藻から EGT により獲得したと考えられる遺伝子、灰色は祖先渦鞭毛藻からでも共生緑藻からでもない生物から水平的に獲得したタンパク質を示す。

【3】分子系統解析の方法論研究

(1) ミトコンドリアタンパク質予測プログラムの改良

ゲノム・トランスクリプトーム解析によって得られた大規模配列データを基にした研究では、タンパク質そのものを対象として個別に生化学的な実験を行うことは困難である。そのため、計算機によるバイオインフォマティクスの手法を用いた *in silico* 解析が必須となっている。そのような解析によく用いられるソフトウェアの 1 つとして、タンパク質配列のみを入力し、そのタンパク質がミトコンドリアに輸送されるか否かを予測するソフトウェアがある。これまでに存在したソフトウェアはほぼ全てが、モデル生物と呼ばれるごく一部のグループから得られたデータのみを学習データとして利用していたため、このソフトウェアによる予測をモデル生物以外の生物 (非モデル生物) に適用した場合、予測精度に問題が生ずることが分かっている。この問題点は特に嫌気環境に適応した真核微生物が持つ縮退的なミトコンドリア (MROs) に顕著である。この問題を解決するために、本研究では、①非モデル生物由来のデータを広範に取り入れたデータセットを構築して学習データとし、②学習方法として勾配ブースティング (GBM) を採用した分類器を提案した。

具体的には、①各種データベースから、真核生物系統を広範にカバーするように 12 の生物群を対象として、ミトコンドリアタンパク質か否かのラベル付けがされているタンパク質配列データを約 7500 レコード取得した。ラベルの正確性に疑問が残るものについては、その情報の基となっている原著論文において実験的な裏付けが為されているか精査することによって、学習データとして相応しい信頼性を確保した。②既存手法のうち最も高いパフォーマンスを示す分類器では学習手法としてサポートベクターマシン

(SVM) が用いられていたが、これに対して提案手法ではアンサンブル学習の 1 つである GBM を採用し高次元の特徴量ベクトル・大量のデータに対する学習への適応を図った。このようにして非モデル生物におけるミトコンドリアタンパク質の予測精度向上を図った分類器を作成した。

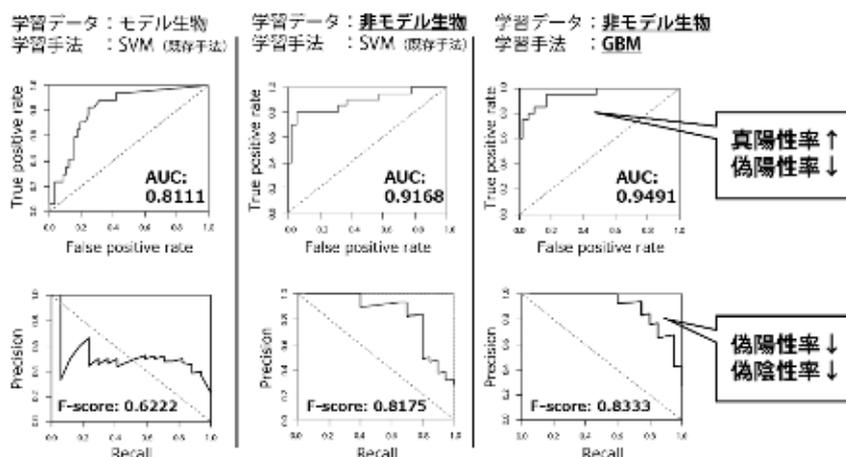


図 6. 既存研究と本研究との比較実験結果. GBM を用いて非モデル生物データを学習させたところ予測精度が向上した (右列).

この分類器のパフォーマンスを評価するため、既存手法との比較実験を行った。その結果、非モデル生物のミトコンドリアタンパク質の予測において提案手法は既存研究と同等以上の精度を示し、特に縮退ミトコンドリアタンパク質の予測において提案手法は既存研究を大きく上回る精度を達成したことが分かった (図 6 右列)。学習手法を既存研究のものから変更せず、学習データのみを提案手法のものに更新しても精度が向上していることから (図 6 中列)、①非モデル生物を取り入れた学習データの構築と更新および②GBM の採用の両方が予測精度向上に貢献していると言える。現在この成果を発表するため、論文執筆中である。本研究成果は、システム情報工学研究科コンピュータサイエンス専攻/生命環境科学研究科生物科学専攻 デュアルディグリープログラムの研究成果の一部である。

(2) 大規模遺伝子配列データに基づく分子系統解析の GPU 並列化

近年における大規模分子系統解析では数百以上の系統および遺伝子数からなる巨大アライメントが頻繁に用いられている。そのような解析では「系統間における遺伝子配列進化プロセスの不均一性」を考慮し、系統間で異なる進化プロセスをそれぞれ独立したパラメータとして推測する置換モデル (Non-Homogeneous モデル) の適用が推奨される。しかし、Non-Homogeneous モデルでは推測すべきパラメータ数が遺伝子配列データの配列数・座位数に応じて飛躍的に上昇し、実験室レベルの計算機では系統樹推測に数十日もの時間を要する問題が生じる。そのため、Non-Homogeneous モデルに基づく高速な分子系統解析を可能にするプログラムの開発は進化生物学における重要な計算科学的課題

である。そこで本研究では計算科学研究センター・高性能計算システム研究部門との連携のもと、HA-PACS システム上での分子系統解析プログラムの GPU 並列化を目指した。

本年度における研究では、既存のプログラムである「NHML」(Galtier & Gouy *Mol Biol Evol* 1998 15:871-879) を対象に、本プログラムを用いた系統樹の尤上記の並列化による性能向上を確認するため、COMA システムにて最大 32 ノード (512 コア) までを利用し、17 種 10,000 座位からなるシミュレーションデータを用い、評価試験を行った。結果、32 ノード使用時において、128 の MPI プロセスを 1 グループ 4 プロセス (16 スレッド) の計 32 グループに分割し、それぞれのグループで異なる提案樹形の尤度計算を並列に処理することで、1 コアでの逐次処理に比べ 187.3 倍の高速化を達成した (図 7)。また、上記スキームによる並列化を、MPI プロセスをグループ分割しない H26 年度までの並列スキームと比較したところ、512 コア使用時に 2.79 倍の高速化を達成できたことから、より多くの計算資源を必要とする大規模分子系統解析に適したものであると評価できる。本成果は H28 年度学際共同利用プログラム (16a-46, 代表: 石川) によるものである。H29 年度ではこれらの成果を論文として国際学会に投稿するとともに、更なる高速化のために①のアルゴリズムに GPU 並列計算技術を導入する予定である (H29 年度学際共同利用プロジェクト 17a-52)。

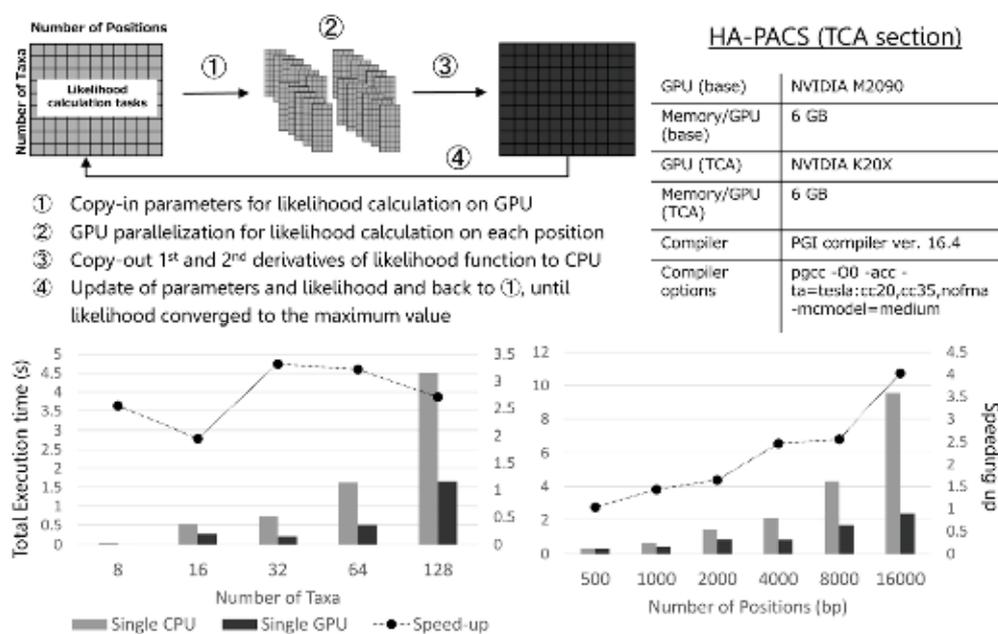


図 7. NONHOMO プログラムにおける系統樹の尤度計算アルゴリズムの GPU 並列化および HA-PACS システムにおける性能評価。

4. 教育

- (1) 博士論文

- A) 矢崎裕規 “Large-scale, Multi-gene Phylogenetic Analyses of Previously Overlooked Microeukaryotes: Toward Better Understanding of the Evolution and Diversity of Eukaryotes.” (生命環境科学研究科生物科学専攻)
- (2) 修士論文
- A) 井上貴史 「*Dysnectes brevis* のミトコンドリア関連オルガネラ機能の推測とフォルニカータ生物におけるミトコンドリアの縮退過程の解明」 (生命環境科学研究科生物科学専攻)
- B) 久米慶太郎 「機械学習を用いたミトコンドリア及び関連オルガネラタンパク質の予測手法」 (システム情報工学研究科コンピュータサイエンス専攻/生命環境科学研究科生物科学専攻 デュアルディグリープログラム)
- (3) 卒業論文
- A) 杉崎 真 「新規トランススプライシング機構を有する遺伝子の検索ツール開発と評価」 (生命環境学群生物学類)
- (4) 集中講義
- 橋本哲男 : 「核酸・タンパク質配列データにもとづく生物進化の推測」
計算科学リテラシー (日・英)

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

- (1) 受賞
- A) 矢崎裕規 (博士後期課程 3 年) 筑波大学大学院生命環境科学研究科 研究科長表彰.
- B) 矢崎裕規 (博士後期課程 3 年)、松尾恵梨子 (博士後期課程 2 年)、久米慶太郎 (博士後期課程 2 年)、宮田凌佑 (博士前期課程 1 年)、計 4 名 ICES 2016 トラベルアワード
- (2) 外部資金 (名称、氏名、代表・分担の別、採択年度、金額、課題名)
- A) 科学研究費補助金基盤研究 (B) 「新型分割イントロンのスプライシング機構と進化多様性の解明 (課題番号 15H04406)」, 橋本哲男 (分担; 稲垣祐司), 研究期間: 2015-2017 年度, 交付額: 直接経費 5,500 千円, 間接経費 1,650 千円.
- B) 科学研究費補助金基盤研究 (B) 海外学術「嫌気環境に生育する真核微生物の多様性の解明 (課題番号 15H05231)」, 橋本哲男 (分担; 稲垣祐司), 研究期間: 2015-2017 年度, 交付額: 直接経費 5,200 千円, 間接経費 1,560 千円.
- C) 科学研究費補助金基盤研究 (B) 「渦鞭毛藻細胞内に発見された新たな共生体痕跡核ゲノムの解析 (課題番号 16H04826)」, 稲垣祐司, 研究期間: 2016-2018 年度, 交付額: 直接経費 5,700 千円, 間接経費 1,710 千円.

- D) 科学研究費補助金基盤研究 (B) 「海洋バクテリアの長期炭素隔離機能に対する海洋酸性化の影響評価 (課題番号 16H02967)」, 濱健夫 (分担; 稲垣祐司), 研究期間: 2016-2019 年度, 交付額: 直接経費 14,000 千円, 間接経費 4,200 千円.
- E) 科学研究費補助金基盤研究 (C) 「マトリョーシカ型進化原理の展開 (16H01703)」 野崎智義 (分担; 稲垣祐司), 研究期間: 2016 年度, 交付額: 直接経費 3,000 千円, 間接経費 900 千円.
- F) 科学研究費補助金若手研究 (B) 「ケルコゾア生物における “ミトコンドリア型解糖系” の理解に向けた基礎的研究 (課題番号 23247038)」, 中山卓郎, 研究期間: 2014-2016 年度, 交付額: 直接経費 500 千円, 間接経費 150 千円.
- (3) 知的財産権 (種別、氏名、課題名、年月日)
なし

6. 研究業績

(1) 研究論文

A) 査読付き論文

- ① Leger MM, Kolisko M, Kamikawa R, Stairs CW, Kume K, Čepička I, Silberman JD, Andersson JO, Xu F, Yabuki A, Takishita K, Inagaki Y, Simpson AGB, Hashimoto T, Roger AJ. Organelles that illuminate the origins of *Trichomonas* hydrogenosomes and *Giardia* mitosomes. 2017 *Nature Ecology & Evolution* in press.
- ② Yazaki E, Ishikawa SA, Kume K, Kumagai A, Kamaishi T, Tanifuji G, Hashimoto T, Inagaki Y. Global Kinetoplastea phylogeny inferred from a large-scale multigene alignment including parasitic species for better understanding transitions from a free-living to a parasitic lifestyle. 2017 *Genes & Genetic Systems* in press.
- ③ Nishimura Y, Tanifuji G, Kamikawa R, Yabuki A, Hashimoto T, Inagaki Y. Mitochondrial genome of *Palpitomonas bilix*: Derived genome structure and ancestral system for cytochrome *c* maturation. 2016 *Genome Biology and Evolution* 8:3090-3098.
- ④ Nishimura Y, Amagasa T, Inagaki Y, Hashimoto T, Kitagawa H. A system for supporting phylogenetic analyses over alignments of next generation sequence data. *Proceedings for the 10th International Conference on Complex, Intelligent, and Software Intensive Systems (CISIS-2016)* 230-237.
- ⑤ Templeton T, Asada M, Jiratanh M, Ishikawa SA, Tiawsirisup S, Sivakumar T, Namangala B, Takeda M, Mohkaew K, Ngamjituea S, Inoue N, Sugimoto C, Inagaki Y, Suzuki Y, Yokoyama N, Kaewthamasorn M, Kaneko O. Ungulate malaria parasites. 2016 *Scientific Reports* 6:23230.

B) 査読無し論文

- ① 中山卓郎, 稲垣祐司. シアノバクテリアと真核藻類の細胞統合—「窒素固定オルガネラ」へ続く道? 2016 *生物の科学 遺伝* 70:176-180.
- ② 稲垣祐司. 共生体由来オルガネラにまつわるエトセトラ. 2016 *生物の科学 遺伝* 70:156-160.

(2) 国際会議発表 (発表者には*を付けた)

A) 招待講演

なし

B) 一般講演

- ① *Euki Yazaki, Takashi Shiratori, Tetsuo Hashimoto, Ken-ichiro Ishida, Yuji Inagaki. 153 genes phylogenetic analysis indicated a newly single-celled eukaryote, strain SRT308, as a deep-branching Euglenozoan. 2017年3月27日-3月29日 Genome Evolution at Mishima. National Institute for Genetics, Mishima, Japan.
- ② *Euki Yazaki, Takashi Shiratori, Tetsuo Hashimoto, Ken-ichiro Ishida, Yuji Inagaki. A phylogenomic study placed a previously undescribed eukaryote, strain SRT308, at the base of the Euglenozoa clade. 2016年9月11日-9月14日 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (ICES 2016). Inamori Memorial Hall in Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.
- ③ *Goro Tanifuji, Ryoma Kamikawa, Christa E. Moore, Tyler Mills, Yuji Inagaki, Tetsuo Hashimoto, John M. Archibald. Plastid comparative genomics elucidates multiple independent losses of photosynthesis in *Cryptomonas* (Cryptophyta). 2016年9月11日-9月14日 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (ICES 2016). Inamori Memorial Hall in Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.
- ④ Kevin Wakeman, *Takuro Nakayama, Goro Tanifuji, Eriko Matsuo, Brian Leander, Yuji Inagaki. Phylogenetic positions of marine gregarines *Selenidium terebellae* and *Lecudina tuzetae*, and molecular evidence of their remnant nonphotosynthetic plastids (apicoplasts). 2016年9月11日-9月14日 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (ICES 2016). Inamori Memorial Hall in Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.
- ⑤ *Eriko Matsuo, Yuji Inagaki. Differential impacts of plastid replacement on plastidal biosynthetic pathways in dinoflagellates with non-canonical plastids, *Karlodinium veneficum* and *Lepidodinium chlorophorum*. 2016年9月11日-9月14日 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (ICES 2016). Inamori Memorial Hall in Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.

- ⑥ *Ryosuke Miyata, **Takuro Nakayama**, Goro Tanifuji, Yasuhiko Chikami, Kensuke Yahata, **Yuji Inagaki**. Gregarine-like apicomplexan parasite isolated from the intestinal tract of a centipede *Scolopocryptops rubiginosus*. 2016 年 9 月 11 日-9 月 14 日 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (ICES 2016). Inamori Memorial Hall in Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.
- ⑦ *Ryoma Kamikawa, Stefan Zauner, Daniel Moog, Goro Tanifuji, Ken-ichiro Ishida, Shigeki Mayama, **Tetsuo Hashimoto**, John M Archibald, Andrew J Roger, Uwe-G Maier, Hideaki Miyashita, **Yuji Inagaki**. Loss of the Calvin Benson cycle in non-photosynthetic plastids. 2016 年 9 月 11 日-9 月 14 日 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (ICES 2016). Inamori Memorial Hall in Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.
- ⑧ *Mitsuhiro Matsuo, Atsushi Katahata, Soichirou Satoh, Motomichi Matsuzaki, Mami Nomura, Ken-ichiro Ishida, **Yuji Inagaki**, Junichi Obokata. Evolutionary roles of SL-*trans*-splicing in the primary endosymbiosis. 2016 年 9 月 11 日-9 月 14 日 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (ICES 2016). Inamori Memorial Hall in Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.
- ⑨ Yuki Nishimura, *Toshiyuki Amagasa, **Yuji Inagaki**, **Tetsuo Hashimoto**, Hiroyuki Kitagawa. A system for phylogenetic analyses over alignments of next generation sequence data. 2016 年 7 月 6 日-7 月 8 日 11th International Conference on Complex, Intelligent, and Software Intensive Systems (CISIS-2016). Fukuoka Institute of Technology, Fukuoka, Japan.
- ⑩ *Takashi Shiratori, Euki Yazaki, **Yuji Inagaki**, **Tetsuo Hashimoto**, Ken-ichiro Ishida. Characterization of strain SRT308; a new heterotrophic flagellate basal to Euglenozoa. 2016 年 6 月 6 日-6 月 10 日 Protist-2016. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.
- ⑪ *Eriko Matsuo, **Yuji Inagaki**. Trends in endosymbiotic gene transfer on plastid metabolic pathways in dinoflagellates with non-canonical plastids. 2016 年 6 月 6 日-6 月 10 日 Protist-2016. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.
- ⑫ *Goro Tanifuji, Sun Takabayashi, Keitaro Kume, Mizue Takagi, **Yuji Inagaki**, **Tetsuo Hashimoto**. The draft genome of *Kipferlia bialata* reveals that the gain of function contributes the massive reductive evolution in Metamonada. 2016 年 6 月 6 日-6 月 10 日 Protist-2016. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.
- ⑬ ***Takuro Nakayama**, **Yuji Inagaki**. Cyanobacterial genes in the nuclear genome of a diatom bearing N₂-fixing cyanobacterial endosymbionts: Potential factors involved in the

host-endosymbiont partnership. 2016 年 6 月 6 日-6 月 10 日 Protist-2016. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

(3) 国内学会・研究会発表（発表者には*を付けた）

A) 招待講演

- ① *稲垣祐司. 窒素固定珪藻と緑色渦鞭毛藻：一次共生と二次共生を解き明かす新しいモデルとして. 2017 年 3 月 21-22 日 蛋白研セミナー “真核細胞のオルガネラ研究最前線”. 大阪大学蛋白質研究所, 吹田市, 大阪.
- ② *矢崎裕規, 白鳥峻志, 久米慶太郎, 橋本哲男, 石田健一郎, 稲垣祐司. 真核生物進化の空白を埋める！分子系統解析が解き明かすプロティストの系統関係. 2016 年 8 月 25-28 日 日本進化学会第 18 回大会. 東京工業大学大岡山キャンパス, 目黒区, 東京.
- ③ *中山卓郎, 稲垣祐司. 窒素固定はじめました - Rhopalodia 科珪藻に見る細胞内共生進化. 2016 年 8 月 25-28 日 日本進化学会第 18 回大会. 東京工業大学大岡山キャンパス, 目黒区, 東京

B) その他の発表

- ① *松尾恵梨子, 高橋和也, 皿井千裕, 岩滝光儀, 稲垣祐司. 系統的に独立な緑色渦鞭毛藻における代謝系進化パターンの類似性とその進化的背景. 2017 年 3 月 24-25 日 日本藻類学会第 41 回大会, 高知大学朝倉キャンパス, 高知市, 高知.
- ② *宮田凌佑, 松尾恵梨子, 中山卓郎, 谷藤吾朗, 千頭康彦, 八畑謙介, 橋本哲男, 稲垣祐司. セスジアカムカデ中のグレガリナ様寄生虫における非光合成性色素体. 2017 年 3 月 24-25 日 日本藻類学会第 41 回大会, 高知大学朝倉キャンパス, 高知市, 高知.
- ③ *松尾充啓, 瀧端篤, 水口洋平, 野口英樹, 豊田敦, 藤山秋佐夫, 鈴木穰, 佐藤壮一郎, 中山卓郎, 神川龍馬, 野村真未, 稲垣祐司, 石田健一郎, 小保方潤一. 真核光合成生物はどのように生まれたか？- 光合成有殻アメーバのゲノム解析から見えてきた一次細胞内共生進化の初期プロセス. 2016 年 3 月 15 日 第 19 回植物オルガネラワークショップ 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島市, 鹿児島.
- ④ *中山卓郎, 稲垣祐司. 窒素固定シアノバクテリア共生体をもつ珪藻の核ゲノム解析: 核にコードされる共生体制御遺伝子の探索. 2016 年 3 月 19-20 日 第 80 回日本植物学会, 沖縄コンベンションセンター, 宜野湾市, 沖縄.
- ⑤ *久米慶太郎, 天笠俊之, 橋本哲男, 北原博之. 機械学習を用いた非モデル生物におけるミトコンドリア及び関連オルガネラタンパク質の予測手法. 2016 年 7 月 4-6 日 情報処理学会 第 108 回 MPS・第 46 回 BIO 合同研究発表会, 沖縄科学技術大学院大学, 沖縄.

(4) 著書、解説記事等

- ① 稲垣祐司, 中山卓郎. 第 17 章 現在も続く細胞内共生細菌のオルガネラ化. 2016 共生微生物 (化学同人) 大野博司編 p190-201. ISBN 9784759817287

7. 異分野間連携・国際連携・国際活動等

(1) 異分野連携

- A) 高性能計算システム研究部門との連携による分子系統解析プログラムの GPU 並列化
- B) 計算情報学研究部門・データ基盤分野との機械学習を用いたオルガネラタンパク質の予測手法の改良

(2) 国際連携

- A) A. J. Roger 博士 (Dalhousie 大・カナダ) および A. G. B. Simpson 博士 (Dalhousie 大・カナダ) との共同研究：フォルニカータ生物群における嫌気性ミトコンドリア機能の解析
- B) A. J. Roger 博士 (Dalhousie 大・カナダ)、A. G. B. Simpson 博士 (Dalhousie 大・カナダ)、M. W. Brown 博士 (アメリカ・ミシシッピ州立大) との共同研究：大規模遺伝子配列データに基づく真核生物大系統の推測
- C) M. Eliáš 博士 (Ostrava 大学・チェコ共和国) との共同研究：広範な真核生物系統における Rab-like 遺伝子の進化

(3) 国際活動

なし

8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

- (1) 蛋白研セミナー“真核細胞のオルガネラ研究最前線”。開催場所：大阪大学蛋白質研究所，吹田市，大阪，日時：2017 年 3 月 21-22 日，オーガナイザー：中井正人（大阪大学）、野崎智義（国立感染症研究所）、稲垣祐司。

9. 管理・運営

なし

10. 社会貢献・国際貢献

なし

11. その他

なし