

## 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
准教授	原田 隆平
助教	庄司 光男
助教	西澤 宏晃
助教	堀 優太
助教	原嶋 庸介 (2021年1月着任)
研究員	三嶋 謙二 (CCS)
研究員	鬼頭-西岡 宏任 (JST-PRESTO) (2020年10月より神戸大学准教授)
研究員	満田 祐樹 (JSPS 特別研究員) (2021年4月より大阪府立大助教)
研究員	Kowit Hengphasatporn (AMED)
研究員	森田 陸離 (CCS)
研究員	宮川 晃一 (新学術領域) (2020年10月着任)
学生	大学院生 5名 (数理工学物質科学研究科後期課程1名 (社会人)、前期課程6名) 学類生 2名 (物理学類)、4名 (生物学類)

#### 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生体分子に注目し、その機能を分子構造、電子状態レベルからより詳細に解明することを目的としている。令和2年度は、【1】中分子環状ペプチドの膜透過プロセスの解明、【2】金属タンパク質の酵素反応機構の解明、【3】DFTB-MD 計算手法の開発、【4】無水プロトン伝導物質の伝導機構の解明、【5】生体内電子移動反応解析手法の開発、【6】宇宙生命連携、【7】マテリアルズインフォマティクス (企業連携)、【8】機械学習 (異常検知) と分散型分子動力学計算を援用した生体分子レアイベントサンプリング法の開発などの研究を大きく進展させることができた。これらの研究では、計算科学研究センターのスパコン (Cygnus)、および国内のスパコンを利用した。また、筑波大学内外の研究グループと共同研究し、新しい研究にも積極的に取り組んだ。

### 3. 研究成果

#### 【1】中分子環状ペプチドの膜透過プロセスを抽出する計算手法の開発(原田、Hengphasatporn、重田)

中分子環状ペプチドは、合成上のコストが安価(中分子)であることに加え、構造が環状であることから、生体内に取り込まれた際に分解されにくく、標的分子と相互作用して効率的に活性を阻害可能であるため、創薬研究において注目を浴びている。本年度は、現実的な計算コストで膜透過プロセスを抽出するために、生体分子の機能発現に重要な長時間ダイナミクス(レアイベント)を効率的に抽出することを可能にする Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS-MD)および Outlier Flooding (OFLOOD)法を適用し、その抽出を試みた。具体的には、中分子環状ペプチドの膜透過プロセスをレアイベントと見なして、まず PaCS-MDにより透過経路を抽出した。その経路に対して、OFLOOD法によりより広い空間の探索を行い、PaCS-MDの構造サンプリングを補強した。また、マルコフ状態モデルを構築し、膜透過に伴う自由エネルギーを計算した。自由エネルギー情報から、膜透過時の特徴的な構造変化を抽出すると共に、膜透過を実現するにはどれ程の自由エネルギー障壁が存在するのか、また、設計した環状構造(アミノ酸配列)と相関があるのかを考察した。これにより、合理的な中分子医薬を実現する設計情報を提供可能な方法論を構築することが可能となる。具体的な計算として、モデル環状ペプチドの膜透過プロセスの抽出に適用し、膜透過の自由エネルギー計算を実行した。自由エネルギープロファイルにより、テストに用いた分子の膜透過には複数の反応経路があることが見出された。

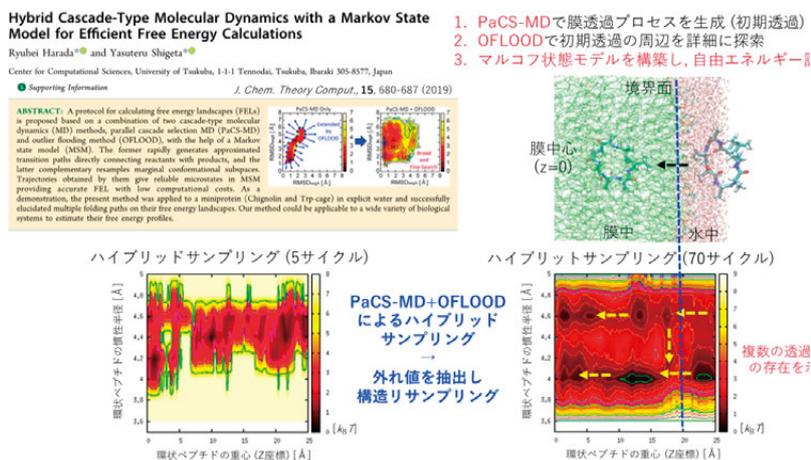


図 1: PaCS-MD+OFLOOD 法に基づく膜透過プロセス抽出

**【2】光化学系 II 酸素発生中心(PSII-OEC)における水分解反応機構の理論的解明(庄司、三嶋、宮川)**

本研究では大規模電子状態計算(量子化学計算(QM)及び量子古典混合計算法(QM/MM))を用いて、生体系で重要な働きを担っている系(1)光合成、(2)銅アミン酸化酵素について理論的解明を行う。(1)光合成については、光捕集タンパク質である C-フィコシアニンについての理論解析を進めた。新学術領域高速分子動画 A01 計画班の梅名泰史先生との共同研究体制により、光励起後の初期構造変化について理論研究を進めた(BCSJ2020)。銅アミン酸化酵素については、大阪医科大学の村川武史先生、阪大産研の岡島俊英先生との共同研究により、高分解能結晶構造解析結果について理論的検証を行い、反応に重要なプロトンの状態や構造揺らぎについて、実験と理論の両アプローチによる解明を進めた(PNAS2020, RSC Adv. 2020)。理論研究により水素や電子の違い1つだけでも明確に区別することができた。

単量体サルコシンオキシダーゼ(MSOX)における反応機構については、理論研究で大きな進展が得られた。MSOX はサルコシン(*N*-methylglycine)やアミノ酸を酸化的に分解する役目を担っており、微生物の代謝作用に深く関わっている。様々なアミン酸化酵素の中でも、活性中心にフラビンを持つ MSOX は古くから知られており、産業利用もなされているが、反応機構については不明な点が多かった。特にこれまで、3つの反応機構、(1)single electron transfer(SET), (2)polar, (3)hydride transfer (HT)が提唱されてきたが、基質によって異なる反応機構が妥当とされてきており、その分類も明確ではなかった。以前の我々の QM/MM 計算では、サルコシン基質については HT に類似した HACET 機構であることを明らかにしたが(PCCP2017)、今回、シクロプロピルグリシン(CPG)基質について検討したところ、最有力とされていた SET 機構ではなく、polar 機構である事を解き明かした(PCCP2020)。反応サイクルにおけるエネルギープロファイルを全て解明したのみならず、反応中間体の可視紫外吸収スペクトルも良く帰属することができたので、本理論解析結果は間違い無い。現在、他の重要な酵素系についても共同研究を実施している。個々の酵素系の反応機構を解明する事のみならず、多くの酵素に当てはまる普遍的ルールを見出し、人工触媒の設計まで理論的検討を進展させる。

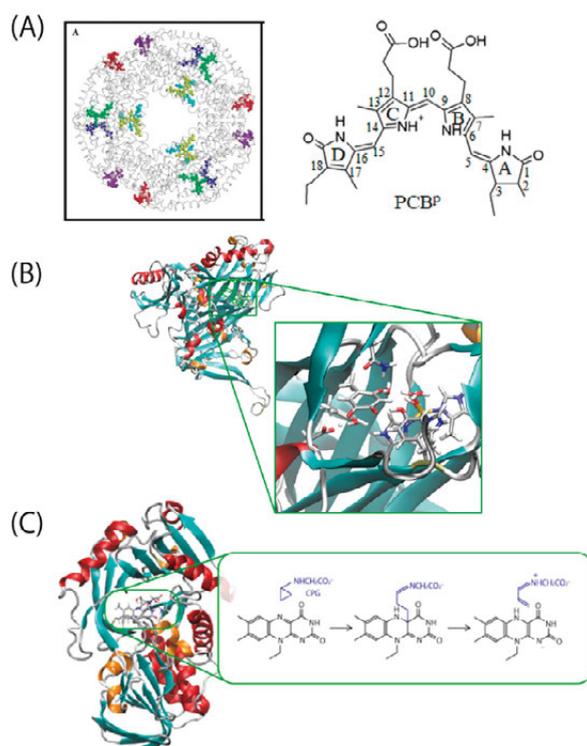


図2 (A)光合成の光捕集を担う C-フィコシアニンにおける光吸収特性、(B)銅含有アミノ酸化酵素のプロトン化状態と構造変化、(C)サルコシンオキシダーゼの反応機構解明。

### 【3】DFTB-MD 計算におけるエネルギー保存と拘束手法の検証（西澤）

分子動力学 (MD) シミュレーションは生体分子の安定性などを求める際に広く用いられ、成功を収めている。しかし、原子間の相互作用を古典的なパラメーターを用いて求めるために、結合変化を伴う反応を取り扱うことができない。このような電子状態の変化を取り扱うには量子化学計算が適しているが、計算コストの大きさが問題であった。そこで近年、計算コストが低く、比較的精度の良いという理由から半経験的手法の 1 つである密度汎関数強束縛 (DFTB) 法を用いた MD シミュレーション (DFTB-MD) が行われるようになってきた。

これまでに DFTB-MD シミュレーションが正しく統計量を得られる理論であることを示すために、エネルギー保存性の検証を行ってきた。量子化学計算では MD シミュレーションで必要な力として、Hellmann-Feynman 力に加えて Pulay 力がある。この Pulay 力をより正確に求めることによってメタノール 64 分子の計算では、500 ps の間エネルギーを保存させることが示された。しかし、時間刻みを 1.0 fs より大きくするとエネルギーは保存しなくなり、拘束手法などを合わせて用いる必要があることが分かった。

さらに DFTB のパラメーター作成も行った。DFTB のパラメーターは中性の分子を基本として作られており、イオンではあまりよい結果を得られないことが知られている。量子化学計算に基づく MD シミュレーションでは化学反応を取り扱うことが可能であるが、その際に分子からイオンになることも多くこれまでのパラメーターでは取り扱いが不十分である。そこでイオンを取り扱うために、1つの原子に対して2つのパラメーターを用意することで原子とイオンを同時に扱うことを試みた。最初の段階として、酸素アニオンに対してパラメーターを作成する手続きを行い、基底となる関数の作成を行った。図3に結果を示す。最外殻の 2p 軌道が原子核に近い側の密度が減り、より遠方まで広がっていることがわかる。この軌道の広がりを利用して、酸素アニオンの電子状態をより正確に行うことができるようになると思われる。

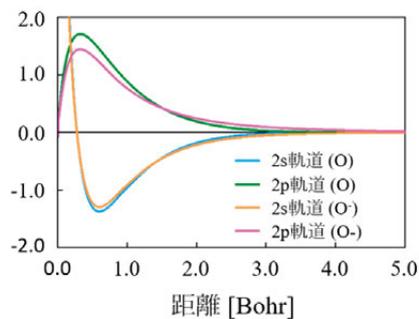
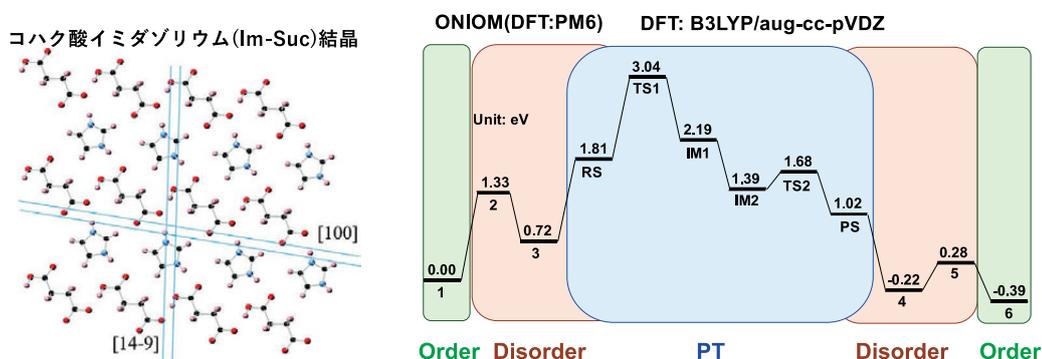


図 3. 酸素原子と酸素アニオンの波動関数

#### 【4】無水プロトン伝導物質中の伝導機構の解明に向けた理論解析（堀）

イミダゾール(Im)を含む酸塩基高分子複合体(PVPA-xIm)と水素結合性有機結晶(Im-Suc)を取り上げて、その伝導機構の解明に向けた理論解析を行った。分子動力学計算により PVPA-xIm 中の水素結合構造や Im の分子ダイナミクスを調べることで、複合体中で起こるプロトン伝導機構について考察した。その成果は論文として採択された(Y. Hori, et al., *Chem. Lett.*, 50, 17 (2021); *J. Comp. Chem., Jpn.*, accepted.). また、Im-Suc の結晶構造を用いて、Im の分子運動と分子間プロトン移動(PT)のポテンシャルエネルギーを量子化学計算により求め、プロトン伝導機構について議論した。計算により、Im の PT と分子運動のカップリングによりプロトン伝導が生じることが明らかとなった (図4)。



[100]軸方向で高いプロトン伝導性を示す 分子間プロトン移動とImの回転運動の結合によりプロトン伝導が発現

図 4(左) コハク酸イミダゾールの結晶構造と(右)プロトン移動反応ダイアグラム

## 【5】生体内電子移動反応解析手法の開発（鬼頭）

生体内の電子移動(ET)反応は、タンパク質中を電子が長距離トンネル移動することで起こっていることが分かっている。しかし、電子トンネル移動を媒介するタンパク質環境の役割については、未だ明らかになっていない点が多い。その理論研究における課題として、巨大分子であるタンパク質の電子状態を高精度に解く必要性が挙げられる。本研究では、フラグメント分子軌道(FMO)法を用いてタンパク質中の ET 経路を高精度かつ低計算コストで解析する手法の開発を行った。

FMO を用いた ET 計算の性能の妥当性を、Ru 修飾アズリン誘導体のモデルとして、ポリグリシンリンカーによって共有結合的に架橋されたルテニウム (Ru) と銅(Cu)錯体間の正孔移動のリンカー伸長依存性を検討した。図 5 に、電子移動反応に関わる T1 銅のサイト付近のドナー軌道 ( $\text{Cu}(3d_{x^2-y^2})$  と  $\text{S}_{\text{Cys}}(3p)$  の  $d-\pi$  混成軌道)、および、Ru のアクセプター軌道 (3つのほぼ縮退する  $t_{2z}$  軌道) を示した。また、サイトエネルギー、 $|T_{\text{DA}}|$  値も示した。この3つの軌道では、エネルギー的に最も高い  $t_{2z}$  軌道 ( $4d_{x^2-y^2}$ ) が最も大きな  $|T_{\text{DA}}|$  値を示す。これらの結果はより計算負荷の大きな GMH 法をよく再現しており、FMO によって遷移金属を含む巨大タンパク質における電子移動解析を行う上で、極めて有力な計算手法を確立することに成功した。

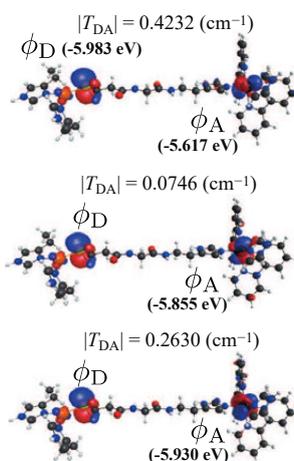


図 5 電子移動に関わる局在軌道と電子カップリングの値

## 【6】宇宙生命連携（堀、庄司、重田）

生命体の基本分子であるアミノ酸は、実験室で作成すると左巻き(L型)と右巻き(D型)が同量生成されるが、地上の生命のアミノ酸は基本的にL型しか使われていない。これはアミノ酸のホモキラリティと呼ばれており、その発生機構として「宇宙空間での円偏光波による不斉分解」や「キラル増幅過程による異性体過剰生成」が提案されている。

これまでに「いて座 B2 分子雲」で酸化プロピレン( $c\text{-C}_3\text{H}_6\text{O}$ )というキラル有機分子が星間空間で初めて観測された (*Science*, **352**, 1449 (2016).)。そこで本研究では、円偏光波による不斉分解のシナリオの探求するために、 $c\text{-C}_3\text{H}_6\text{O}$ の生成過程およびその円偏光吸収特性を量子化学計算により調べた。種々の  $c\text{-C}_3\text{H}_6\text{O}$  の生成経路を予測し、ポテンシャルエネルギーによる解析からその妥当性を検証した。計算により、エネルギー的に妥当な 2 つの生成経路が明らかとなった。

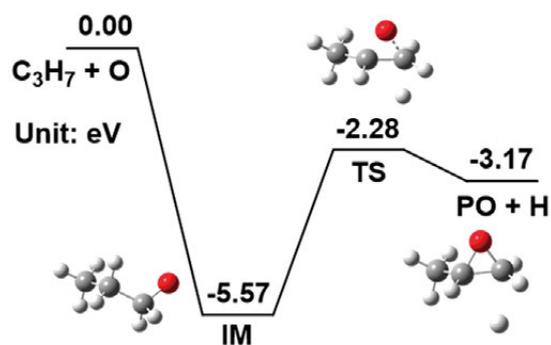


図 6-1: A computed potential energy profile for the formation of propylene oxide by CCSD(T)/6-311++G(d,p) level of theory after the optimization by B3LYP/6-311++G(d,p) level of theory.

その 1 つの生成経路のポテンシャルエネルギーダイアグラムを図 6-1 に示す。さらに、 $c\text{-C}_3\text{H}_6\text{O}$  とその生成過程における前駆体に対する円偏光吸収スペクトル解析から、星形成領域における強い輝線放射である  $\text{Ly } \alpha$  波長(121.6 nm)付近の円偏光に対して、特徴的な吸収特性を示した。したがって、右巻きまたは左巻きのどちらか一方の円偏光領域において、 $c\text{-C}_3\text{H}_6\text{O}$  が異性体過剰を形成する可能性が示唆された。

次に、アミノ酸のキラル増幅機構について注目した。アミノ酸のキラル増幅機構として分晶の結晶成長が提案されている (*Chem. Rev.*, **120**, 4660 (2020).)。そこで本研究では、ラセミ結晶を形成するアラニン(Ala)と分晶を形成するアスパラギン酸(Asp)を取り上げ、各分子クラスターの安定構造とそのエネルギーを量子化学計算により求め、キラル認識の違いについて考察した。Ala と Asp に対して、L-体のみとラセミ体からなる 4 量体クラスターの構造とエネルギーを比較すると、Asp 4 量体では L-体クラスターとラセミ体クラスターでエネルギーに有意差が現れた(図 6-2)。各構造を比較すると、Ala と Asp では水素結合の形成様式に違いが見られた。したがって、水素結合の数や強さの差による安定性の違いが分晶とラセミ結晶形成のメカニズムに関与することが示唆された。

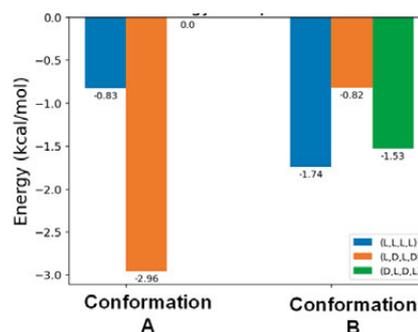


図 6-2: Asp 四量体の各クラスター構造の相対エネルギー

## 【7】マテリアルズインフォマティクスによる半導体組成解析（原嶋、重田）

Metal-Oxide-Semiconductor Field-Effect Transistor(MOSFET)はスイッチング素子などに利用される、特に重要な半導体デバイスの 1 つである。MOSFET では半導体の上に酸化絶縁膜が乗せられ、そこにさらに金属電極が接続されている。この酸化絶縁膜および金属電極がゲートとして働き、ここにかかる電圧によってチャネルを流れる電流の ON と OFF が切り替わる

(図 7-a)。MOSFET の性能は酸化絶縁膜に高い誘電率を持つ化合物を用いることで向上する。HfO<sub>2</sub> および ZrO<sub>2</sub> は高誘電率酸化膜の候補として注目されているが、単斜晶 (monoclinic)、正方晶 (tetragonal)、立方晶 (cubic) など、温度に応じていくつかの結晶構造をとり (図 7-b)、構造によって誘電率が異なるため、その構造の制御が重要な課題となっている。本研究では HfO<sub>2</sub> に不純物 Si を添加した系および ZrO<sub>2</sub> に不純物 Y を添加した系のエネルギーを第一原理計算から求め、構造安定性に対する不純物の効果を調べた。不純物は様々な配置を取るため、超格子中で取りうる各々の不純物配置のエネルギーを計算し、もっとも安定な不純物配置を抽出した。正方晶と単斜晶構造でエネルギーを比較した結果、HfO<sub>2</sub> 中の Si と ZrO<sub>2</sub> 中の Y で共に単斜晶構造が安定であることを示した。一方で、不純物濃度を上げると正方晶構造が安定に近づく傾向があることがわかった (図 7-c)。正方晶構造は単斜晶構造より誘電率が高いと予想されているので、これらの不純物が酸化絶縁膜の性能向上に有効である可能性を示唆している。

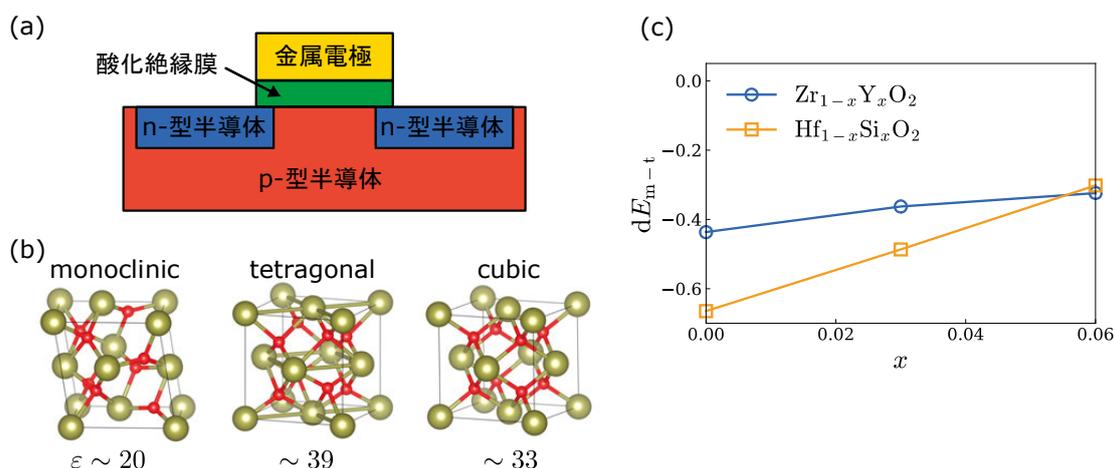


図 7: (a) MOSFET の模式図。(b) HfO<sub>2</sub> の結晶構造の種類とそれぞれの誘電率。(c) 単斜晶と正方晶のエネルギー差の計算結果。横軸は添加した不純物濃度。ZrO<sub>2</sub> には Y を、HfO<sub>2</sub> には Si を添加している。

## 【8】異常検知に基づくレアイベントサンプリング法の開発 (原田、重田)

生体機能を解明するうえで、構造変化の抽出は不可欠である。例えば、フォールディングやアロステリック転移は機能に関係する構造変化であり、マイクロ秒以上の長時間スケールで稀に観測される「レアイベント」である。分子動力学計算 (MD) はフェムト秒スケールの時

間分解能で構造変化を追跡できるが機能発現の時間スケールに到達困難であり、レアイベントを抽出できない。以上より、機能と密接に関係しているレアイベントを抽出する構造変化予測法の開発が望まれている。本研究では、独自開発によるレアイベントサンプリング法の代表例である nt-PaCS-

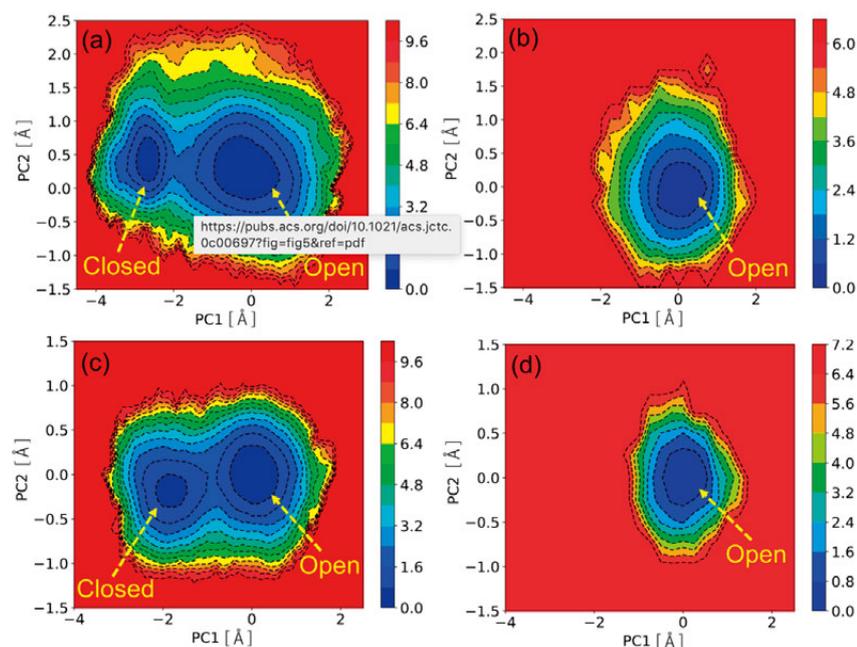


図 8: ad-PaCS-MD に基づき計算した自由エネルギー地形  
(a,c) ad-PaCS-MD (b,d)通常の MD

MD を拡張し、出発構造の周囲に存在する準安定構造に向かい構造変化する遷移経路の自動予測に挑戦し、タンパク質の機能解析を進めた。

nt-PaCS-MD は遷移確率が高い初期構造を選択し、短時間 MD を繰り返すことで、遷移先の構造が未知の場合でも遷移経路を予測することができる。しかし、遷移確率が高い重要な初期構造をどうやって特定するかが問題となる。そこで、より汎用的な選択指標を提案した。選択指標の定義にあたり、「構造変化のし易さ」と「構造の異常さ」を機械学習 (異常検知) により対応付け、異常度が高い構造を特定する。その後、nt-PaCS-MD の構造探索サイクルとして「異常度が高い構造 = 遷移確率が高い構造」から短時間 MD を再開する。以上より、nt-PaCS-MD を拡張させ、異常度が高い構造から短時間 MD を繰り返すことで構造遷移を誘起し、構造変化を自動的に予測する anomaly detection PaCS-MD (ad-PaCS-MD)を開発した。異常検知は正常データを事前に学習させておき、入力データの中に異常データが含まれているかを検知するアルゴリズムである。本研究では、入力データとして 構造の距離マップを採用した。距離マップはタンパク質の残基間距離を成分とする行列 (画像データ) であり、ターゲットに依存せず一意的に定義できるため、入力データとして最適である。準備計算として、対象とする出発構造から通常の MD を実行し構造生成後、距離マップを作成し、正常な画像データとして学習させ、異常検知システムを構築する。異常検知システムは、出発構造の近傍構造が示す距離マップと比較し異常度が高い (周囲の準安定構造に向かい遷移し易い) 距離マップを示す異常構造を特定できる。ad-PaCS-MD の各サイクルで異常度の高い構造を特定・

選択し、短時間 MD を再開するサイクルを繰り返すことで、周囲に存在する準安定構造へ自動的に構造遷移させる。

ad-PaCS-MD の性能評価として準安定構造と遷移経路が既に明らかになっているタンパク質に適用し、準安定構造間の構造遷移を予測できるか確認することで有用性を検証した。最初に、タンパク質の大規模ドメイン運動を予測可能か検証した。具体的には、先行研究で既に適用経験のあるタンパク質 (加水分解酵素 T4 リゾチーム・マルトース結合型タンパク質) をターゲットに採用し、Open-Closed 構造遷移を予測可能か検証した。両ターゲット構造に関して遷移先の構造を参照することなく Open-Closed 構造変化を予測することができ、マルコフ状態モデルと合わせた自由エネルギー計算により遷移経路が妥当であることを確かめた。また、計算コストにしてナノ秒オーダーで大規模構造変化を捉えることに成功した。(図 8)

#### 4. 教育

##### <卒業研究発表>

(物理学類)

工藤玄己 「DNA メチル基転移酵素阻害剤のアイソフォーム選択性の解明」

丸澤賢司 「MPS 法と赤血球ばねモデルを用いた二次元赤血球膜運動シミュレーション」

渡辺七都稀 「L-アミノ酸キラル増幅機構の理論的探究」

(生物学類)

芦田星 「ヒストンシャペロン yNap1 の核外輸送機構への計算科学的アプローチ」

今村彩子 「シナプス足場タンパク質 PSD-95 の局在を調節するメカニズムの計算科学的  
研究」

保田拓範 「分子動力学計算で解明する維持メチル化酵素 DNMT1 の活性化メカニズム」

##### <修士修了研究発表>

(物理学専攻)

柳 昂輝 「環状ジペプチドの溶媒和自由エネルギー計算から見る膜透過性評価」

青柳 司 「分子動力学法を用いた C 末端結合タンパク質(CtBP2) の分子機構解析」

##### <集中講義>

1. 重田育照、「生物物理学」、4<sup>th</sup> Sep. 2020、秋田大学大学院工学研究科.
2. 重田育照、「物質基礎科学特殊講義 IV、IX」、21<sup>st</sup> -26<sup>th</sup> Jan. 2021、東京大学大学院総合文化研究科.

## 5. 受賞、外部資金、知的財産権等

### 受賞

1. 2020年12月23日、優秀発表者賞 受賞（ポスター発表）「銅含有アミン酸化酵素のプロトン化状態についてのQM/MM解析」、庄司光男、村川武志、重田育照、林秀行、岡島俊英、量子生命科学会 第二回大会
2. 2020年12月23日、優秀発表者賞 受賞（ポスター発表）「酸化型[NiFe]ヒドロゲナーゼの活性中心についての理論的研究」、堀優太、石川航平、庄司光男、重田育照、量子生命科学会 第二回大会
3. 2020年10月26日、令和二年度 筑波大学若手教員奨励賞、原田隆平
4. 2021年 3月25日、令和二年度 筑波大学学長表彰、保田拓範
5. 2021年 3月25日、令和二年度 筑波大学茗溪会賞、今村彩子
6. 2021年 3月25日、令和二年度 筑波大学理工学群長賞、丸澤賢司
7. 2021年 3月25日、令和二年度 筑波大学物理学類長賞、渡辺七都稀

### 外部資金

#### (研究代表)

1. 新学術領域研究「ハイドロジェノミクス」公募研究、重田育照、「生体ハイドロジェノミクスの理論解析」(H31-R02)
2. 新学術領域研究「生命金属科学」公募研究、重田育照、「生命金属動体解明のための量子生体エネルギー論」(R02-R03)
3. 新学術領域研究「光合成分子機構の学理解明と時空間制御による革新的光-物質変換系の創製」公募研究、庄司光男、「光化学系 II 酸素発生中心における再活性化機構についての理論的解明」(R02-R03)
4. さきがけ(科学技術振興機構; JST) 庄司光男、「生体内量子多体系における特異的化学反应の機構解明」(H31-R03)
5. さきがけ(科学技術振興機構; JST)、鬼頭-西岡宏任、「量子シミュレーション技術による未知の生体電子移動/機能発現の探索」(H29-R02)
6. 若手研究、堀 優太、「理論計算に基づく酸塩基複合体中のプロトン伝導機構の解明」(H31-R03)
7. 基盤共同研究課題/物質・デバイス領域共同研究拠点、堀 優太(代表)、「プロトン移動共役型スピン転移反応の理論的解析」(R02)
8. 公益財団法人マツダ財団、第36回マツダ研究助成、堀 優太(代表)、「無水プロトン伝導材料設計に向けた計算化学による機能解析」(R02-R03)

(分担研究)

1. AMED 次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業・革新的中分子創薬技術の開発・中分子シミュレーション技術の開発、重田育照（研究分担者）「立体構造を基盤とする中分子創薬の合理的設計」 前仲勝実（研究代表者）、（H31-R02）
2. CREST「自在配列」、重田育照（研究分担者）「3D ドメインスワッピングを利用したタンパク質の自在配列と機能化」 廣田俊（研究代表者）、（R02-R07）
3. 光・量子飛躍フラッグシッププログラム（Q-LEAP）、重田育照（研究分担者）「量子生命技術の創製と医学・生命科学の革新」、（研究代表者）馬場嘉信、（R02-R12）
4. 新学術領域研究(研究領域提案型)「高速分子動画」、庄司光男（研究分担者）、「時分割実験のための多様な反応誘起システムの開発」南後 恵理子（研究代表者）（R01-R05）
5. 東京エレクトロデバイスとの共同研究、重田育照（研究分担者）、櫻井鉄也（研究代表者）（R02-R04（予定））

知的財産権

なし

6. 研究業績

(1) 研究論文

A) 査読付き論文

1. S. Fujimura, K. Mio, M. Kuramochi, H. Sekiguchi, K. Ikezaki, M. Mio, Y. Shigeta, T. Kubo, Y.C. Sasaki, "Agonist and antagonist diverted twisting motions of single TRPV1 channel", *Journal of Physical Chemistry B (Front Cover)* **124**(51), 11617-11624 (2020). DOI:[10.1021/acs.jpcc.0c08250](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c08250)
2. Y. Hori, T. Suetake, Y. Shigeta, T. Iida, M. Mizuno, "Molecular Motions of Imidazole in Poly(vinylphosphonic acid)-imidazole Composites Investigated by Molecular Dynamics Simulations", *Chemistry Letters* **50**, 17-20 (2021). DOI:[10.1246/cl.200635](https://doi.org/10.1246/cl.200635)
3. R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Random Rearrangements of Water Molecules in Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics Enhance Structural Explorations of Proteins", *Bulletin of Chemical Society of Japan* **94**, 97-105 (2021). DOI:[10.1246/bcsj.20200174](https://doi.org/10.1246/bcsj.20200174)
4. K. Mishima, M. Shoji, Y. Umena, M. Boero, Y. Shigeta, "Roles of the Side-Chain Interactions of C-Phycocyanin Chromophores in the Excited States", *Bulletin of Chemical Society of Japan*, **93**(12), 1509-1519 (2020). DOI:[10.1246/bcsj.20200187](https://doi.org/10.1246/bcsj.20200187)
5. M. Shoji, T. Murakawa, M. Boero, Y. Shigeta, H. Hayashi, K. Tanizawa, T. Okajima, "Unique Protonation State of the Active Site Aspartate and Topaquinone in Copper Amine Oxidase", *RSC Advances*, **10**, 38631-38639 (2020) DOI:[10.1039/D0RA06365G](https://doi.org/10.1039/D0RA06365G)
6. R. Harada, K. Yamaguchi, Y. Shigeta, "Enhanced Conformational Sampling Method Based on Anomaly Detection Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics: ad-PaCS-MD", *Journal of Chemical Theory and Computation* **16**(10), 6716-6725 (2020). DOI:[10.1021/acs.jctc.0c00697](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.0c00697)
7. R. Morita, K. Nakano, Y. Shigeta, R. Harada, "The Molecular Mechanism on the Actin-Binding Domain of the Alpha-Actinin Ain1 Studied by Molecular Dynamics Simulations and

- Mutagenesis Experiments”, *Journal of Physical Chemistry B* **124**(39), 8495-8503 (2020). DOI:[10.1021/acs.jpccb.0c04623](https://doi.org/10.1021/acs.jpccb.0c04623)
8. S. Boonyasuppayakorn, T. Saelee, P. Visitchanakun, A. Leelahavanichkul, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, T. N. T. Huynh, J. J. H. Chu, T. Rungrotmongkol, W. Chavasiri, “Dibromopinocembrin and dibromopinostrobin are potential anti-dengue leads with mild animal toxicity”, *Molecules* **25**(18), 4154 (2020). DOI:[10.3390/molecules25184154](https://doi.org/10.3390/molecules25184154)
  9. H. Kitoh-Nishioka, Y. Shigeta, K. Ando, "Tunneling Matrix Element and Tunneling Pathways of Protein Electron Transfer Calculated with a Fragment Molecular Orbital Method", *Journal of Chemical Physics (invited article)*, **153**, 104104 (2020). DOI:[10.1063/5.0018423](https://doi.org/10.1063/5.0018423)
  10. Y. Haketa, M. Miyasue, Y. Kobayashi, R. Sato, Y. Shigeta, N. Yasuda, N. Tamai, H. Maeda, "Self-Associating Curved  $\pi$ -Electronic Systems with Electron-Donating and Hydrogen-Bonding Properties", *Journal of the American Chemical Society*, **142** (38), 16420–16428 (2020). DOI:[10.1021/jacs.0c07751](https://doi.org/10.1021/jacs.0c07751)
  11. T. Yasuda, Y. Shigeta, R. Harada, "Efficient Conformational Sampling of Collective Motions of Proteins with Principal Component Analysis Based Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics", *Journal of Chemical Information and Modeling*, **60**(8), 4021-4029 (2020). DOI:[10.1021/acs.jcim.0c00580](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00580)
  12. M. Shoji, K. Abe, M. Boero, Y. Shigeta, Y. Nishiya, "Reaction Mechanism of N-cyclopropylglycine Oxidation by Monomeric Sarcosine Oxidase", *Physical Chemistry Chemical Physics*, **22**, 16552-16561 (2020). DOI:[10.1039/D0CP01679A](https://doi.org/10.1039/D0CP01679A)
  13. Y. Mitsuta, Y. Shigeta, "Analytical Method Using a Scaled Hypersphere Search for High-Dimensional Metadynamics Simulations", *Journal of Chemical Theory and Computation* **16**(6), 3869-3878 (2020). DOI:[10.1021/acs.jctc.0c00010](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.0c00010)
  14. Y. Ito, M. Kayanuma, Y. Shigeta, J. Fujita, Y. Tanabe, "Understanding of detection mechanisms of hydrogen molecule on three-dimensional bicontinuous nanoporous reduced graphene oxide", *Materials* **13**(10), E2259(12 pages) (2020). DOI:[10.3390/ma13102259](https://doi.org/10.3390/ma13102259)
  15. T. Yasuda, Y. Shigeta, R. Harada, “The Dynamics of S-adenosyl-methionine and S-adenosyl-homo-cysteine in Mouse Dnmt1 is Driven from their Structural Flexibilities”, *Chemistry Letters* **49** (7), 785-788 (2020). DOI:[10.1246/cl.200223](https://doi.org/10.1246/cl.200223)
  16. H. Aida, Y. Shigeta, R. Harada, "Regenerations of Initial Velocities in Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS-MD) Enhance the Conformational Transitions of Proteins", *Chemistry Letters* **49** (7), 798-801 (2020). DOI:[10.1246/cl.200196](https://doi.org/10.1246/cl.200196)
  17. T. Murakawa, K. Kurihara, M. Shoji, C. Shibazaki, T. Sunami, T. Tamada, N. Yano, T. Yamada, K. Kusaka, M. Suzuki, Y. Shigeta, R. Kuroki, H. Hayashi, T. Yano, K. Tanizawa, M. Adachi, and T. Okajima, "Neutron crystallography of copper amine oxidase reveals a keto form cofactor and proton sharing", *Proceedings of National Academy of Science U.S.A.* **117**, 10818-10824 (2020). DOI:[10.1073/pnas.1922538117](https://doi.org/10.1073/pnas.1922538117)
  18. B. Nutho, P. Mahalapbutr, K. Hengphasatporn, N.C. Pattarangoon, N. Simanon, Y. Shigeta, S. Hannongbua, T. Rungrotmongkol, "Why are lopinavir and ritonavir effective against the newly emerged Coronavirus 2019?: Atomistic insights into the inhibitory mechanisms", *Biochemistry*, **59**(18), 1769-1779 (2020). DOI:[10.1021/acs.biochem.0c00160](https://doi.org/10.1021/acs.biochem.0c00160)
  19. K. Hengphasatporn, K. Plaimas, A. Suratane, P. Wongsriphisan, J.-M. Yang, Y. Shigeta, W. Chavasiri, S. Boonyasuppayakorn, T. Rungrotmongkol, "Target Identification using Homopharma and Network-based Method for Predicting Compounds against Dengue Virus-Infected Cell", *Molecules* **25**, 1883 (18pages) (2020). DOI:[10.3390/molecules25081883](https://doi.org/10.3390/molecules25081883)
  20. Y. Hori, T. Suetake, Y. Shiota, K. Yoshizawa, Y. Shigeta, T. Ida, M. Mizuno, "Local Hydrogen Bond Structures and Dynamics of Imidazole Molecules in Poly(vinylphosphonic acid)-Imidazole Composite Material: A Molecular Dynamics Study", *ACS Applied Polymer Materials (front cover)* **2**, 1561–1568 (2020). DOI:[10.1021/acsapm.9b01222](https://doi.org/10.1021/acsapm.9b01222)
  21. V. Sladek, R. Harada, Y. Shigeta, “Protein Dynamics and Folding Degree”, *Journal of Chemical Information and Modeling* **60**(3), 1559-1567 (2020). DOI:[10.1021/acs.jcim.9b00942](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00942)

22. T. Takahashi, R. Harada, Y. Shigeta, "Distribution of Counter Ions in Negatively-charged Lipid/Water/Air Interface: Molecular Dynamics Study", *Chemistry Letters* **49** (4), 361-363(2020). DOI:10.1246/cl.200043
23. K. Hengphasatporn, T. Matsui, Y. Shigeta, "Estimation of Acid Dissociation Constants ( $pK_a$ ) of N-containing Heterocycles in DMSO and Transferability of Gibbs Free Energy in Different Solvent Conditions", *Chemistry Letters* **49** (3), 307-310 (2020). DOI:10.1246/cl.190946
24. T. Tian, T. Xu, S. Kirk, I.T. Rongde, S. Manzhos, Y. Shigeta, S. Jenkins, "Intramolecular Mode Coupling of the Isotopomers of Water: A Non-Scalar Charge Density-Derived Perspective", *Physical Chemistry Chemical Physics*, **22**, 2509-2520 (2020). DOI:10.1039/c9cp05879f
25. H. Kitoh-Nishioka, Y. Shigeta, S. Ito, A. Kimura, "Excitonic Couplings in Heliobacterial Type I Homodimeric Reaction Center", *J. Physical Chemistry B*, **124**, 389-403 (2020). DOI:10.1021/acs.jpcc.9b11290
26. K. Hengphasatporn, A. Garon, P. Wolschann, T. Langer, Y. Shigeta, T. Nguyen Thanh Huynh, W. Chavasiri, T. Saelee, S. Boonyasuppayakorn, T. Rungrotmongkol, "Multiple Virtual Screening Strategies for the Discovery of Novel Compounds Active Against Dengue Virus: A Hit Identification Study", *Scientia Pharmaceutica* **88**(1), 2 (19 pages) (2020). DOI:10.3390/scipharm88010002
27. Y. Machida, T. Murakawa, A. Sakai, M. Shoji, Y. Shigeta, H. Hayashi, "Reaction of threonine synthase with the substrate analogue 2-amino-5-phosphonopentanoate: Implications into the proton transfer at the active site", *Journal of Biochemistry*, **167**, 357-364 (2020). DOI: 10.1093/jb/mvz100
28. T. Nakanishi, Y. Hori, S. Wu, H. Sato, A. Okazawa, N. Kojima, Y. Horie, H. Okajima, A. Sakamoto, Y. Shiota, K. Yoshizawa, O. Sato, "Three-Step Spin State Transition and Hysteretic Proton Transfer in the Crystal of an Iron(II) Hydrazone Complex", *Angewandte Chemie International Edition*, **59**, 14781-14787 (2020). DOI: 10.1002/anie.202006763

## B) 査読無し論文

なし

## (2) 国際会議発表

### A) 招待講演

M. Shoji, "Recent Progress in the Reaction Mechanism of Water-Splitting in Photosystem II", 70th Conference of Japan Society of Coordination Chemistry, Online 開催, 2020/9/28.

### B) 一般講演

なし

## (3) 国内学会・研究会発表

### A) 招待講演

1. 重田育照, "Covid-19 関連タンパク質に対する統合的インシリコリポジショニング", HPCI オープンセミナー「スーパーコンピュータと COVID-19」, Jan. 19<sup>th</sup> 2021, Online 開催.

2. 重田育照, "Covid-19 関連タンパク質に対する統合的インシリコリポジショニング", 第9回 JCAHPC セミナー (第4回 OFP 利用活用報告会) 「人類と地球を守るスーパーコンピューティング」, Oct. 15<sup>th</sup> 2020, Online 開催.
3. 重田育照, 日本生化学会大会、シンポジウム「学際研究で切り拓く脂質とアミノ酸のメタボダイナミズム」、Sep. 15<sup>th</sup> 2020、Online 開催.
4. 庄司光男、今日から使えるガウシアン(Gaussian), CSJ 化学フェスタ, 2020/10/22.
5. 庄司光男、”QM/MM で見えてきた酵素反応の特徴”、高速分子動画領域会議、兵庫県、淡路市、淡路夢舞台国際会議場, 2020/10/20.
6. 庄司光男、”サルコシンオキシダーゼにおけるシクロプロピルグリシンの反応機構についての理論的解明”、第93回日本生化学会年会, 2020/9/14, Online 開催.
7. 庄司光男、構造探索手法(GLAS)による酵素反応機構の解明、シンポジウム化学反応経路探索のニューフロンティア 2020, 2020/9/13, Online 開催.

## B) その他の発表

1. 保田拓範, 重田育照, 原田隆平, “The Analyses of Dynamic Properties of Dnmt1 and Cofactors Based on All-atom Molecular Dynamics Simulations”, 第20回 日本蛋白質科学会 年会 (ポスター発表)
2. 會田勇斗, 重田育照, 原田隆平, “Development of de novo Method for Searching Protein-Ligands Binding Pathway: Ligand-Docking Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (ld-PaCS-MD)”, 第20回 日本蛋白質科学会 年会 (ポスター発表)
3. Takunori Yasuda, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada, “Theoretical Analyses on Dynamic Properties of DNA methyltransferase 1 and its Cofactors Based on All-atom Molecular Dynamics Simulations”, 第58回 日本生物物理学会 年会 (ポスター発表)
4. Hayato Aida, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada, “A Development of Ligand Docking Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (ld-PaCS MD) and its Applications”, 第58回 日本生物物理学会 年会 (ポスター発表)
5. 原田隆平, 山口孝太, 重田育照, “PaCS-MD と異常検知を援用したレアイベントサンプリング法の開発”, 第34回 分子シミュレーション討論会 (ポスター発表)
6. 森田陸離, 重田育照, 原田隆平, “モーフィングを利用してタンパク質の構造遷移を効率よく評価する”, 第34回 分子シミュレーション討論会 (ポスター発表)
7. 會田勇斗, 重田育照, 原田隆平, “ld-PaCS-MD : PaCS-MD に基づくタンパク質-リガンド結合経路探索”, 第34回 分子シミュレーション討論会 (ポスター発表)

8. 保田拓範, 森田陸離, 重田育照, 原田隆平, “マルチウオーカーの再配置に基づく効率的なタンパク質構造サンプリング法の開発”, 第 34 回 分子シミュレーション討論会 (ポスター発表)
9. 堀優太, 石川航平, 庄司光男, 重田育照, “酸化型[NiFe]ヒドロゲナーゼの活性中心についての理論的研究”, 量子生命科学会 第二回大会 (ポスター発表)
10. 堀優太, 末武鋭也, 井田朋智, 水野元博, 重田育照, “分子動力学計算によるプロトン伝導性 PVPA-xIm 複合体の局所構造と分子ダイナミクス”, 日本化学会 第 101 春季年会 (口頭発表)
11. 堀優太, 末武鋭也, 井田朋智, 水野元博, 重田育照, “プロトン伝導性 PVPA-xIm 複合体の分子ダイナミクス”, 日本コンピュータ化学会 2020 年秋季年会 (口頭発表)

#### (4) 著書、解説記事等

1. H. Kitoh-Nishioka, R. Sato, Y. Shigeta, K. Ando, “Liner Combination of Molecular Orbitals of Fragments (FMO-LCMO) Method: Its Application to Charge Transfer Studies”, pp. 391-405, in *Recent advances of the fragment molecular orbital method Subtitle: Enhanced performance and applicability*, Ed. Y. Mochizuki, S. Tanaka, and K. Fukuzawa, Springer Japan (2021).
2. T. Tokiwa, S. Nakano, H. Tokiwa, Y. Shigeta, “AnalysisFMO toolkit: PyMOL plugin module to 3D-visualize interaction energies in protein (3D-VIEP) generated by fragment molecular orbital calculation”, pp. 357-370, in *Recent advances of the fragment molecular orbital method Subtitle: Enhanced performance and applicability*, Ed. Y. Mochizuki, S. Tanaka, and K. Fukuzawa, Springer Japan (2021).
3. H. Kitoh-Nishioka, H. Umeda, Y. Shigeta, “Open-Architecture Program of Fragment Molecular Orbital Method for Massive Parallel Computing (OpenFMO) with GPU Acceleration”, pp. 77-90, in *Recent advances of the fragment molecular orbital method Subtitle: Enhanced performance and applicability*, Ed. Y. Mochizuki, S. Tanaka, and K. Fukuzawa, Springer Japan (2021).
4. Y. Hori, T. Abe, “Theoretical Approach to Homogeneous Catalyst of Methane Hydroxylation: Collaboration with Computation and Experiment”, In *Direct Hydroxylation of Methane: Interplay Between Theory and Experiment*, Ed. K. Yoshizawa, Springer, (2020).
5. 堀 優太, 塩田 淑仁, 吉澤 一成, 「(15 章) 計算化学が先導する酵素触媒反応の設計」 CSJ カレントレビュー (37)、高機能性金属錯体が拓く触媒科学—革新的分子変換反応の創出をめざして、日本化学会編、化学同人 (2020 年 4 月刊行)
6. 庄司光男、量子化学計算ビギナーズガイド, 環境技術, 49(6), 45-49, 2020/10/20.

7. 庄司光男、フリーソフトで始める分子モデリング、Amazon Kindle direct publishing, 2020/4/28.

## 7. 異分野間連携・産学官連携・国際連携・国際活動等

### 異分野間連携（センター内外）

1. 宇宙生命連携（CAB）
2. 生命部門内連携
3. 計算メディカルサイエンス推進部

### 産学官連携

1. 量子科学技術開発機構（QST）との共同研究
2. 東京エレクトロデバイスとの共同研究

## 8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

1. 庄司光男、「30年後の夢をかなえる理論化学」、第101回日本化学会、Online開催、2021/03/21
2. Mitsuo Shoji、12th CCS international Symposium, Session 5 (Life Science, Chemistry) convenor, Online開催、2020/10/6.
3. 庄司光男、久保稔、第58回生物物理学会、シンポジウム：1S-1 生体機能の分子動画を撮像する革新的アプローチ、高速分子動画共催、Online開催、2020/9/16.

## 9. 管理・運営

重田育照

筑波大学経営改革会議委員、教学デザイン室員、チュートリアル教育タスクフォース委員、理工学群総合政策室会議委員、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生命科学研究部門長、計算科学研究センター広報戦略室室長、拡大物理学専攻運営委員会委員、物理学域理論生命物理グループ長

原田隆平

筑波大学先導的研究者体験プログラム（ARE）運営委員

## 10. 社会貢献・国際貢献

重田育照

- ・量子科学技術研究開発機構(QST) 客員研究員（2019-2022）

- ・大阪大学 大学院基礎工学研究科 招聘教授 (2015-)
- ・ポスト K 課題 7 コデザイン WG 主査 (2018-2021)
- ・生物物理学会代議員 (2018-2020)
- ・日本化学会 理論化学・情報化学・計算化学ディビジョンレポート 幹事 (2019-)
- ・分子科学会第 6 期運営委員会委員 (2018-2020)
- ・理論化学会幹事 (2019-2020)

原田隆平

- ・分子シミュレーション学会 学会誌「アンサンブル」編集委員 (2020-)

庄司光男

- ・理論化学会 学会誌「フロンティア」編集委員 (2020-)

## 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、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～9月30日；10月1日付けで山口大学に転出）
研究員	石谷佳之
学生	大学院生 5名（後期課程0名、前期課程在学5名）、学類生 3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。

#### 新奇真核微生物の系統的位置の検討

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・培養株化し、100以上の遺伝子データから構成される大規模分子系統解析によりその系統的位置を確定する。

#### 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、培養とトランスクリプトームおよびゲノムデータの取得を進めている。これら大規模配列データを基に、核ゲノム解析、オルガネラゲノム解析等を行う。

#### 系統解析における方法論研究およびタンパク質立体構造と分子進化を統合した研究

解析する配列データの特徴、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が、その偏りは複数遺伝子解析ではより顕著になる。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、系統解析プログラムの高速化をふくむ各種の方法論的研究を行う。また、タンパク質の進化過程で一次配列（アミノ酸配列）の変化パターンは、機能と立体構造の両者に強く影響されると考えられる。そこで立体構造的知見を取り入れ、新たな側面からタンパク質の分子進化を研究する。

### 3. 研究成果

#### [1] 新奇真核微生物の系統的位置の検討

我々はこれまでの大規模分子系統解析により①*Tsukubamonas globosa* および②*Palpitomoans bilix* の系統的位置の解明（Kamikawa et al. 2014 *Genome Biol Evol* 6:306-315; Yabuki et al. 2014 *Sci Rep* 4:4641）、③キネトプラスト類内部の系統関係の解明（Yazaki et al. 2016 *Genes Genet*

*Syst* 92:35-42)、④フォルニカータ生物群内部の系統関係の解明 (Leger et al. 2017 *Nat Ecol Evol* 1:0092)、⑤“CRuMs クレード”の提案 (Brown et al. 2018 *Genome Biol Evol* 10:427-433)、⑥渦鞭毛藻内部系統関係の解明 (Sarai et al. 2020 *Proc Nat Acad Sci USA* 117:5364-5375)、⑦真核微生物バルセロナ類 (PAP020 株を含む) の系統的位置の解明 (Yazaki et al. 2020 *Proc R Sci B* 287:20201538)、⑧アピコンプレクサ門グレガリン類内部系統関係の解明を行った (Yazaki et al. 2021 *Parasitol Internat* in press)。SRT308 株 (2016 年度年次報告書参照) については、新たに発見された近縁種のデータを追加し投稿論文を執筆することになった (現在追加実験データを取得中)。2018-2019 年度では 338 遺伝子データの系統解析により *Microheliella maris* が本生物がクリプチスタ生物群の基部に位置すること、*M. maris* とクリプチスタ生物が一次植物類と近縁関係にあることが明らかになったが、これらの結果について現在論文を執筆中である。

#### 148 遺伝子データに基づく *Barthelona* sp. PAP020 の系統的位置の検討

我々は、これまで光学顕微鏡による研究の対象にしかなくなっていたバルセロナ類の系統的位置を検討した。まず、バルセロナ類を地理的に離れた複数地点から単離し 5 つの培養株を確立した。そのうちの 1 株である PAP020 株から網羅的転写物データを取得し、大規模分子系統解析を行った。その結果、PAP020 株はフォルニカータ類の基部から分岐することが高い統計的支持のもと推測された。この結果は 2015 年度年次報告書に報告した結果と同一であるが、図 1A に最終的な 148 遺伝子データに基づく Phylogenomic 解析の結果を示した。また投稿論文ではトランスクリプトームデータに基づき、PAP020 株の縮退ミトコンドリア (mitochondrion-related organelle/MRO) の代謝機能を推測した。バルセロナ類の電子顕微鏡観察によると、細胞内に MRO が認められた (図 1B)。そこで転写物データを基に PAP020 株 MRO に局在する代謝経路を予測したところ、この MRO 内部にはピルビン酸の合成する malic enzyme/ME とそれに続く基質レベルのリン酸化による ATP 産生に必要な酵素 (acetate:succinate CoA transferase/ASCT および succinyl-CoA synthase/SCS) をコードする転写物が検出できなかった (図 1C)。従ってバルセロナ類は MRO で ATP 産生を二次的に失い、細胞質に局在する酵素が産生する ATP に依存していると考えられる。一方、細胞質中で ATP 合成を行う acetyl-CoA synthase/ACS が 2 種類発見された。これらの知見を総合し、フォルニカータ生物群の進化において、MRO における基質レベルのリン酸化は独立に少なくとも 2 回欠失したと提唱した。上記の研究はカナダ Dalhousie 大学の Alastair G. B. Simpson 教授の研究グループとの共同研究である。

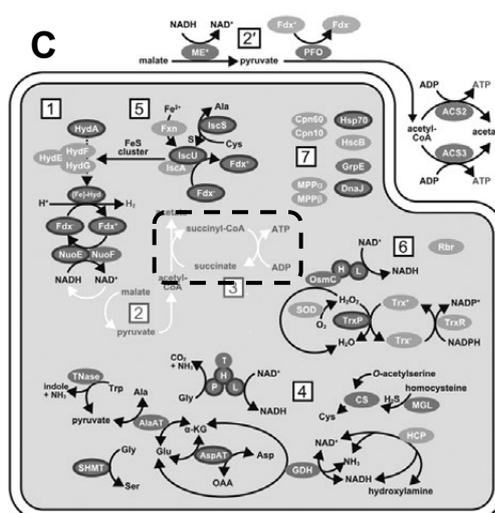
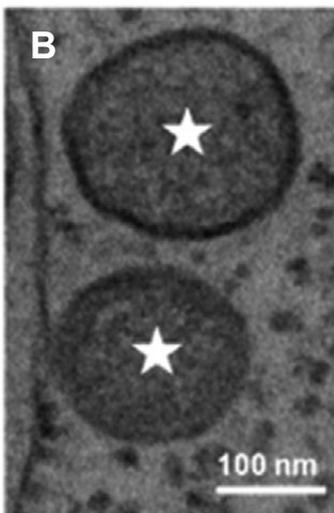
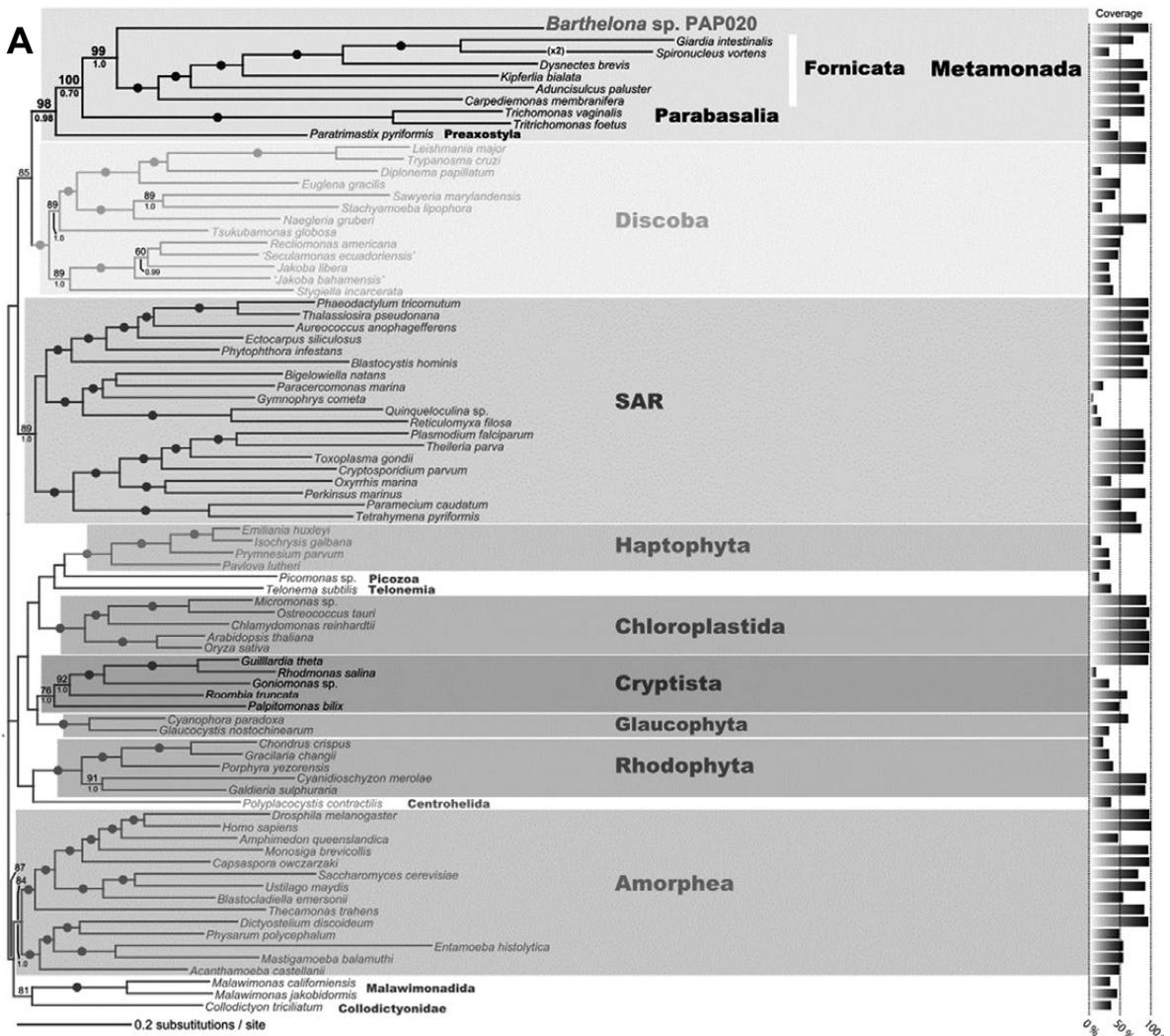


図 1. A. 148 遺伝子データに基づく最尤系統樹. *Barthelona sp. PAP020* は Fornicata (フォルニカタ生物群) の基部から分岐することが、強い統計的サポートで支持された. B. *Barthelona sp.* 細胞内微細構造の一部. 星印で示した構造は縮退ミトコンドリアと考えられる. C. トランスクリプトームデータから予測された *Barthelona sp.* の縮退ミトコンドリア内の代謝マップ. 点線で囲った ATP 産生反応が欠失している.

### 73 遺伝子データに基づく節足動物に感染するグレガリン類の系統的位置の検討と縮退色素体の進化

アピコンプレクサ門に所属する大多数の生物種は寄生性であり、その一部はヒト・家畜に深刻な病原性をもつため盛んに研究されてきた。一方アピコンプレクサ門は二次的な光合成の欠失とそれに伴う進化の研究対象となってきた。真核生物大系統と生活様式に基づくと、現存するアピコンプレクサ生物は光合成能力を失った色素体をもつ共通祖先をもつと推測されている。アピコンプレクサ生物はヒトや家畜をふくむ脊椎動物だけではなく無脊椎動物にも感染するが、公衆衛生的・産業的重要性が低い後者に対する研究は遅れている。グレガリン類は系統的に広い無脊椎動物に感染するアピコンプレクサ生物であり、近年の研究により一部のグレガリン類には非光合成性色素体が存在すると考えられている。本研究では3種の節足動物、すなわちセシジアカムカデ、キシヤヤスデおよびヤケヤスデの消化管中からグレガリン様細胞（GLO）を単離し、トランスクリプトーム解析を行った（図2）。

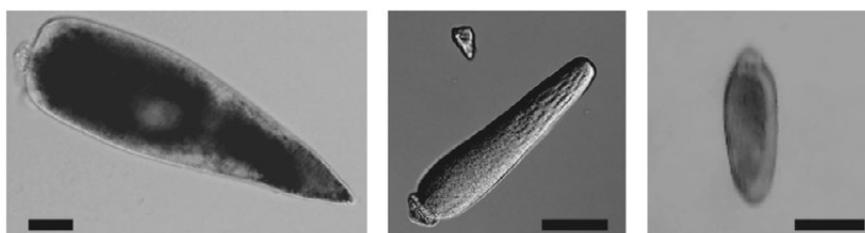


図2. 左から、セシジアカムカデ、キシヤヤスデ、ヤケヤスデの消化管中から単離されたグレガリン様生物。スケールバーは50 μm.

3種のGLOについてトランスクリプトーム解析を行い、それらのデータをもとに73遺伝子データから構成されるPhylogenomicアライメントを作成した。このPhylogenomicアライメントを最尤法とベイズ法により系統解析したところ、3種のGLOはともにグレガリン、とくにeugregarinesであることが明らかとなった（図3A）。長野県で採集されたキシヤヤスデに感染していたグレガリンと、パラオ共和国で採集されたヤケヤスデに感染していたグレガリンは互いに最も近縁と推測された。一方ムカデ感染性グレガリンと2種のヤスデ感染性グレガリンは系統的に近縁とはならなかった。

グレガリンをふくむアピコンプレクサ生物は非光合成性色素体をもつ共通祖先をもつと考えられる。実際、これまで研究されたグレガリンの一部では色素体が残存していると提案されており、その根拠の1つはグレガリンのトランスクリプトームデータ中に検出された葉緑体で働くと考えられる代謝系酵素遺伝子である。通常光合成性色素体をもつ真核生物では、色素体で働く各種タンパク質の大多数は核ゲノムにコードされている。これらの色素体関連タンパク質は核ゲノムから転写され細胞質で翻訳された後、細胞質から葉緑体に輸送される。このような核ゲノムコード色素体局在タンパク質は、光合成のほかにイソプレノイド合成、ヘム合成、脂肪酸合成にかかわることが知られている。アピコンプレクサ生物のうちマラリア原虫やトキソプラズマ原虫の研究により、これらの生物が持つ色素体は光合成能を失っているが、イソプレノイド合成、ヘム合成、脂肪酸合成能力を保持していることが分かっている。

る。従って、あるグレガリンから色素体に局在するイソプレノイド合成、ヘム合成、脂肪酸合成に関連する酵素遺伝子が検出された場合、その細胞内に非光合成性色素体が存在する可能性が高い。本研究で取得した 3 種の GLO のトランスクリプトームデータを精査したところ、ムカデ感染性グレガリンのトランスクリプトームデータから、イソプレノイド合成に必要な 3 つ酵素遺伝子とヘム合成に必要な 1 つの酵素遺伝子を検出した。このデータに基づき、我々はムカデ感染性グレガリンには非光合成性色素体が残存しており、この構造体内で少なくともヘムとイソプレノイド合成を行っている結論付けた。一方、2 種のヤスデ感染性グレガリンからは色素体関連遺伝子が一切検出できなかった。色素体関連遺伝子が検出されないグレガリンには色素体構造自体が欠失したとすると、グレガリン類の進化の過程で色素体構造の欠失が少なくとも 3 回起こったと考えられる (図 3B)。

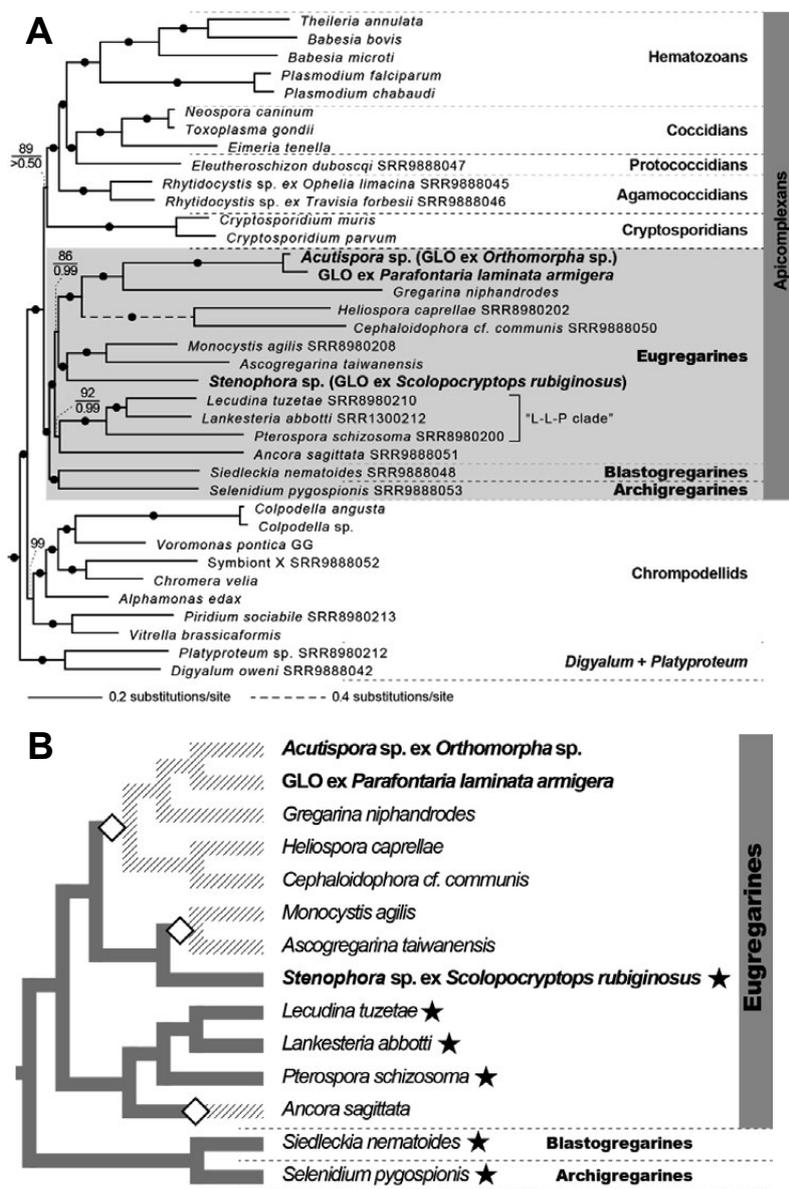


図 3. A. 73 遺伝子アライメントから推測されたアピコンプレクサ生物の系統関係。グレガリンクレードは灰色でシェードしてある。セシジアカムカデ感染性グレガリンは *Stenophora* sp., ヤケヤスデ感染性グレガリンは *Acutispora* sp.として記載されている。キシヤスデ感染性グレガリンは *GLO* ex *Parafontaria lamina armigera* である。枝上の黒丸は最尤法ブートストラップ値 100%, ベイズ事後確率 1.0 でサポートされたことを示す。B. グレガリンにおける非光合成性色素体の分布と 2 次的欠失。グレガリンの系統関係は 73 遺伝子データに基づく (A 参照)。非光合成性色素体をもつと考えられる種は★で示した。非光合成性色素体はグレガリンの共通祖先から★で示した非光合成性色素体をもつ種へ垂直的に伝播したと考えられる。一方、図中で◇で示した色素体構造の欠失が、少なくとも独立に 3 回起こったと考えられる。

## [2] 各種トランスクリプトーム・ゲノム解析

## 色素体ゲノム解析

我々は、これまでに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)の色素体(葉緑体)ゲノム配列を決定した(Kamikawa et al. 2015 *Genome Biol Evol* 7:1133-1140; H27年度年次報告書; H28年度年次報告書)。また、京都大学・神川龍馬博士を中心に、非光合成化した珪藻の色素体ゲノム解読を進めてきた(Kamikawa et al. 2015 *Phycol Res* 63:19-28; Kamikawa et al. 2015 *Mol Biol Evol* 32:2598-2604; Kamikawa et al. 2017 *Mol Biol Evol* 34:2355-2366)。並行して国立科学博物館・谷藤吾郎博士と共同で、非光合成化したクリプト藻の色素体ゲノムの解読を行った(Tanifuji et al. 2020 *Genome Biol Evol* 12:3926-3937)。

渦鞭毛藻MRD-151株およびTRD-132株の色素体ゲノムの解読は完了している(2015年、2016年年次報告書参照)が、現在共同研究者(東京大学アジア生物資源環境研究センター・岩滝光儀、高橋和也博士)が主導し、MRD-151株およびTRD-132株の正式な記載論文を執筆中である。諸所の事情によりこの論文の執筆が遅れているため、当該渦鞭毛藻2種の色素体ゲノムに関する論文の執筆にも遅れが出ている。2018年度からは第4の緑色渦鞭毛藻 *Oxytoxum* sp. SG-436株の色素体ゲノムおよびヌクレオモルフゲノム(共生ペディオ藻の痕跡核)の解読を開始したが、本年度はヌクレオモルフゲノムに関して予備的なデータを取得できたので報告する。

緑色渦鞭毛藻 *Oxytoxum* sp. SG-436株に共生した緑藻の痕跡核ゲノム

クリプト藻とクロララクニオン藻の色素体に付随する共生藻痕跡核(ヌクレオモルフ)は、真核藻類が細胞内共生において細胞小器官として宿主細胞に統合される進化過程を解明する上で貴重なモデルとして研究されてきた。クリプト藻およびクロララクニオン藻の色素体およびヌクレオモルフの起源となった共生藻はそれぞれ紅藻と緑藻であるが、独立した2系統のヌクレオモルフゲノムには共通した縮退的特徴が知られている。一方、我々は2020年に新たに2種の渦鞭毛藻(MRD-151株およびTRD-132株)がヌクレオモルフをもつことを報告し

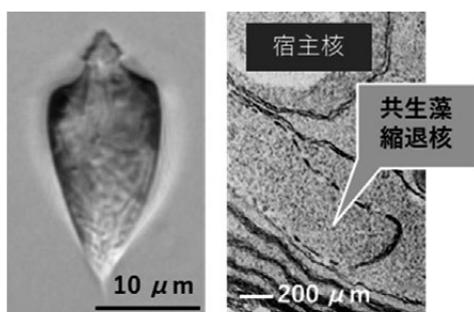


図4. 左: SG-436株の細胞像. 右: SG-436株の細胞内微細構造. 葉緑体と同一区画に、縮退核構造が残存する. 写真提供: 高橋和也(東京大)

た(Sarai et al. 2020 *Proc Nat Acad Sci USA* 117:5364-5375; ; 2019年度年次報告書参照)。光合成性の渦鞭毛藻は紅藻の2次共生に由来する色素体を持つが、渦鞭毛藻MRD-151株およびTRD-132株では緑藻の特定の系統を細胞内共生させることで色素体を獲得し、祖先型色素体を置換したと考えられている。しかし、それら2種のヌクレオモルフゲノムの塩基配列情報は未知である。

渦鞭毛藻 MRD-151 株および TRD-132 株とは別に、同じく渦鞭毛藻 *Oxytoxum* sp. SG-436 株の細胞内にも透過型電子顕微鏡観察により色素体とヌクレオモルフを含む細胞内区画が確認された（東京大学・岩滝光儀・高橋和也博士未発表データ；図 4）。そこで本研究では *Oxytoxum* sp. SG-436 株を対象に DNA-seq データを行い、ヌクレオモルフゲノム配列の探索を行った。

スキュッフォールド #	Length(bp)	GC(%)
77	339,308	32.34
519	55,849	33.17
131	223,372	32.19
335	91,832	32.23
89	303,233	32.14
118	236,434	31.98
129	225,255	32.65
282	108,030	31.48
592	37,978	32.23

表 1. 渦鞭毛藻 *Oxytoxum* sp. SG-436 株の DNA-seq データから選抜されたヌクレオモルフゲノム断片候補。

本株の色素体遺伝子の系統解析の結果、現在の葉緑体の起源となった共生藻は緑藻であることが明らかとなっている（岩滝・高橋博士未発表データ）。そこで、本株の DNA-seq データから復元したゲノムスキュッフォールドから既知の緑藻配列と相同性の高い遺伝子をコードするヌクレオモルフゲノム断片候補を選抜した。

最終的に選抜された 9 本のゲノムスキュッフォールドは全て GC 含量が~32%と低く、多数のスプライソソーマルイントロンが検出された（表 1）。取得したヌクレオモルフゲノム断片候補のうち、最長のゲノム断片（~339 Kb）についてアノテーションを行ったところ（図 5）、158 のタンパク質コード領域（ORFs）が同定され、機能が推測できたものはそのうち 102 個であった。また、イントロンが本ゲノム断片（~339kb）において約 1300 個同定された。機能が推測されたタンパク質遺伝子の中には、これまでに解析されたクリプト藻やクロララクニオン藻のヌクレオモルフゲノムには発見されなかった光合成に直接関与する光化学系 I サブユニットや集光アンテナタンパク質の遺伝子が同定された。また、9 本のゲノムスキュッフォールドの合計は 1.3 Mb となった。*Oxytoxum* sp. SG-436 株のヌクレオモルフゲノムが今回取得した 9 本のゲノムスキュッフォールドで完全にカバーされているとは考え難いが、その合計長は既知のヌクレオモルフゲノム（~1 Mb）を超えている。従ってクリプト藻・クロララクニオン藻のヌクレオモルフゲノムと比べ、*Oxytoxum* sp. SG-436 株のヌクレオモルフではゲノム縮退が進んでいないと解釈できる。

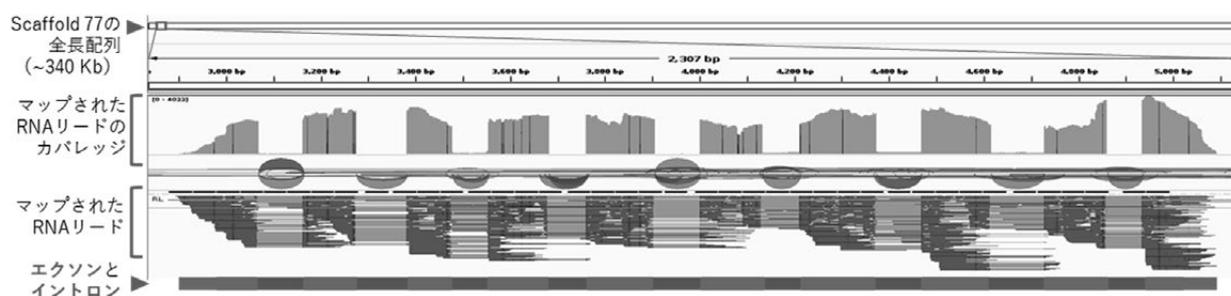


図 5. 約 340Kb のゲノム断片（スキュッフォールド 77）上に 158 遺伝子を発見し、その中に合計約 1,300 個のイントロンを同定した。上手で詳細を模式的に示した領域は、全長 340 Kb のスキュッフォールド 77 の N 末端にあたる約 5 Kb の領域である。

今後ヌクレオモルフゲノム断片と考えられる残り 8 本のゲノムスキュッフォールドの解析を行う。

### ミトコンドリアゲノム解析

我々は、これまで系統的に広範なミトコンドリア (Mt) ゲノムを解読し、真核生物進化における Mt ゲノムの構造、遺伝子組成、可動性イントロンの進化について研究を行ってきた (Masuda et al. 2011 *Harmful Algae* 10:130-137; Nishimura et al. 2012 *PLOS ONE* 7:e37307; Kamikawa et al. 2014 *Genome Biol Evol* 2:306-315; Nishimura et al. 2014 *Mob Genet Elements* 4:e29384; Takeuchi et al. 2015 *PLOS ONE* 10:e000132030; Nishimura et al. 2016 *Genome Biol Evol* 8:3090-3098; Nishimura et al. 2019 *Sci Rep* 9:4850; Nishimura et al. 2020 *Front Ecol Evol* 8:140)。

2019 年度年次報告書で報告した通り、*Microheliella maris* はクリプスタ生物群に極めて近縁であり、海洋研究開発機構・矢吹彬憲博士と共同で *M. maris* の Mt ゲノムを解読した。*M. maris* の Mt ゲノムについては、Phylogenomic 解析結果と合わせて英文論文として投稿する。

Mt ゲノム解析だけではなく、我々は Mt ゲノムを複製する DNA ポリメラーゼ (Mt 局在 DNAPs) についても、その多様性と起源について解析を開始した。本報告書では 2020 年度に英文論文として発表した Mt 局在 DNAPs に関する成果について報告する。

### ユーグレノゾア生物群におけるミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼの多様性と進化

ミトコンドリアは細胞内共生した細菌が細胞小器官として真核細胞に統合されたため、独自の細菌型ゲノムを保持している。しかし、これまでに解析された Mt ゲノムには、DNA 複製や修復のためのタンパク質をコードする遺伝子はほとんど発見されておらず、核ゲノムコードのタンパク質が Mt ゲノムを維持している。ミトコンドリアプロテオームには多様な進化の起源を持つタンパク質が数多く含まれており、核ゲノムにコードされた Mt ゲノム維持機構についても、遺伝子水平伝播等の影響があると予想できる。

これまでに真核生物の間で複数のタイプの Mt 局在 DNAP が確認されているが、その正確な起源はまだ明らかにされていない。トリパノソーマ原虫 (*Trypanosoma brucei*) では、細菌 DNA ポリメラーゼ I (PolI) に関連する 4 種類の DNAP (PolIA、PolIB、PolIC、PolID) がミトコンドリアに局在していることが実験的に示された。これらのトリパノソーマ原虫の Mt 局在 DNAP は、ヒトや酵母の Mt 局在 DNAP である Poly、多様な真核生物で発見されている Mt 局在 DNAP である POP とは、進化的に近縁ではない。しかし、トリパノソーマ原虫をふくむキネトプラスト綱、キネトプラスト綱とともにユーグレノゾア生物群を構成するディプロネマ綱、ユーグレナ綱においてどのような種類の DNAP が Mt ゲノムの維持に使用されているのか十分に理解されているとは言えなかった。本研究では、ユーグレノゾア生物群を構成するキネトプラスト綱、ディプロネマ綱、ユーグレナ綱において Mt 局在 DNAP を探索した。その結果、①PolIA はユーグレノゾア生物群全体に分布していること、②PolIB、PolIC、PolID はキネトプラスト綱に限定的に分布しており、系統的には互いに関連していること、③PolIBCD と密接な関係にある新しいタイプの Mt 局在 DNAP (PolI-Perk1/2, PolI-dipl) がキネトプラスト綱の初期分岐系統とディプロネマ綱に存在すること、④ユーグレナ綱では進化的

に異なるタイプの POP が発見された。本研究の成果は、チェコ共和国のチャールズ大学 Vladimír Hampl 博士の研究グループと共同研究であり、*Pathogens* 誌に公開された (Harada et al. 2020 *Pathogens* 9:257)。

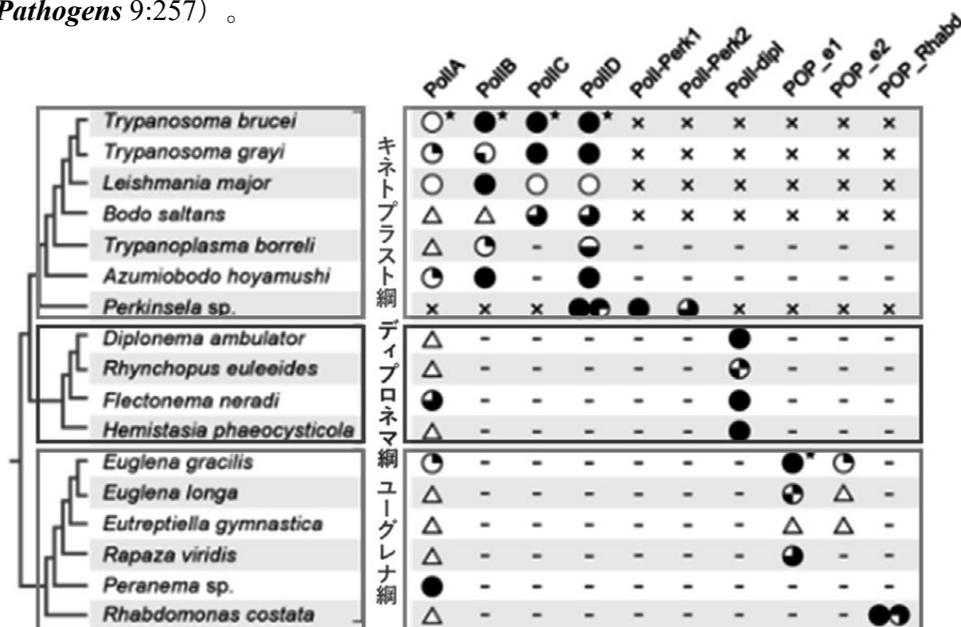


図6. ユーグレノゾア生物群を構成するキネトプラスト網, ディプロネマ網, ユーグレナ網における Mt 局在 DNAP のレパートリー. 各 Mt 局在 DNAP の有無は丸/三角で示した. ダッシュはトランスクリプトームデータで検出されなかった場合, xはゲノムデータで検出されない場合を示す. 図中の生物種の系統関係は Yazaki et al. 2016 *Genes Genet Syst* 92:35-42 を参考に作成した. ユーグレノゾア生物群構成する3つの網多様化に伴い, Mt 局在 DNAP のレパートリーが段階的に変遷していることがわかる.

次年度以降、以下の真核微生物の Mt ゲノム解読を予定している: ①新奇真核微生物 SRT605 株、② *Glissandra sp.* SRT312 株、③ SRT706 株、④有孔虫 *Ammonia berccarii*、⑤放散虫 (*Didymocytis tetrathulumus* と *Acanthodesmia viniculata*)、⑥ *Fabomonas sp.* SRT902 株

### [3] 系統解析における方法論研究およびタンパク質立体構造と分子進化を統合した研究

#### 翻訳終結因子 eRF1 C 末端ドメインの部分欠失のタンパク質立体構造への影響の検証

翻訳終結因子 eRF1 は、リボソーム A 位の終止コドン認識し、tRNA と新生ポリペプチド間の結合を加水分解することで翻訳を終結させるタンパク質である。真核生物間で eRF1 のアミノ酸配列は高度に保存されているが、微胞子虫類 eRF1 には C 末端ドメインに比較的大きな部分的欠失が見られる (図 7)。また古細菌の翻訳終結因子 aRF1 の一部にも、微胞子虫タンパクと相同な部分的欠失が発見できる。翻訳終結因子 eRF1/aRF1 の C 末端ドメインで繰り返し起こった部分的欠失は、機能的にも立体構造的にも中立である可能性が高

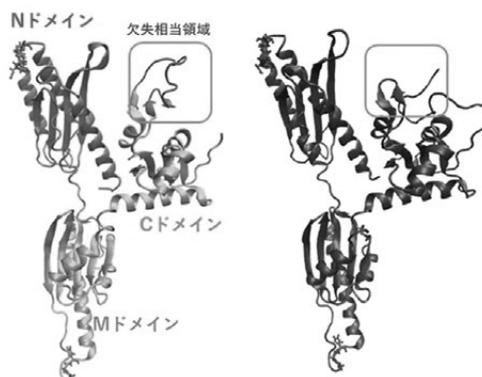


図7. eRF1 の立体構造, 左: 酵母 eRF1. 右: 微胞子虫 eRF1 (モデル). 囲った部分が微胞子虫タンパクにおける C 末端ドメインの部分的欠失相当領域である.

い。この仮説を検証するため、eRF1 を構成する各アミノ酸の保存性の検証と分子動力学シミュレーションによる立体構造の安定性を検証した。本研究は、生命機能情報分野・重田教授、栢沼助教（現・産総研）との共同研究である。

まず系統的に広範な真核生物（ただし微孢子虫類以外）の eRF1 アミノ酸配列を選び、分子系統解析用アライメントを作成した。このアライメントを用いてアミノ酸座位毎の置換速度を推測した（図 8）。微孢子虫 eRF1 以外は C 末端ドメインに部分的欠失がないので、この部分の置換速度は推測可能である。胞子虫 eRF1 の部分的欠失相当領域の置換速度とその他の領域の置換速度を比較したところ、前者の置換速度が有意に高いことが判明した。これは C 末端ドメインの部分的欠失領域に対する機能的制約が低いことを示している。

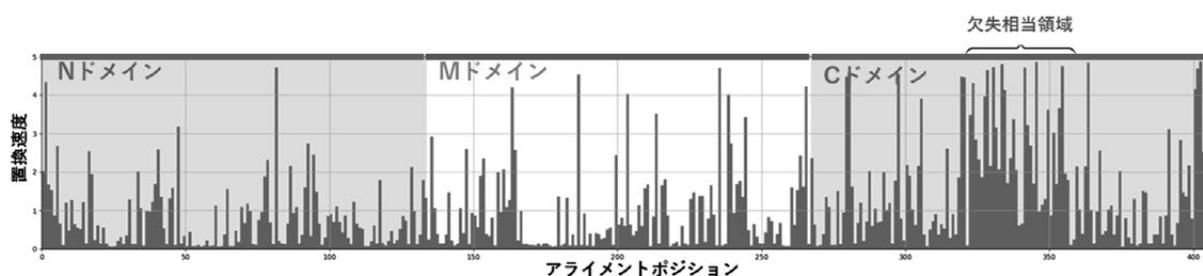


図 8. eRF1 のアライメント座位毎の置換速度の立体構造、微孢子虫 eRF1 の部分的欠失相当部位には置換速度が高い座位が集まっている。

C 末端ドメインに部分的欠失をもつ eRF1 の立体構造安定性を検証するため、酵母 eRF1 立体構造をもとに微孢子虫 eRF1 の立体構造モデルを作成し、分子動力学シミュレーションを 100 ナノ秒間行ったが、分子全体での RMSD 値は高かった。一方 eRF1 を構成する N 末端ドメイン、中間 (M) ドメイン、C 末端ドメイン毎の RMSD 値は低く、ドメイン毎の立体構造は安定していると考えられる。立体構造的安定性について eRF1 分子全体とドメイン毎で矛盾があるが、eRF1 が球状タンパクではないため 3 つのドメイン間の位置が安定しないことが原因であろう。従って C 末端ドメインにおける部分的欠失は、微孢子虫 eRF1 タンパクの機能に対して中立的であると推測できる。この研究を英文論文として投稿するため、現在も解析を引き続き行っている。

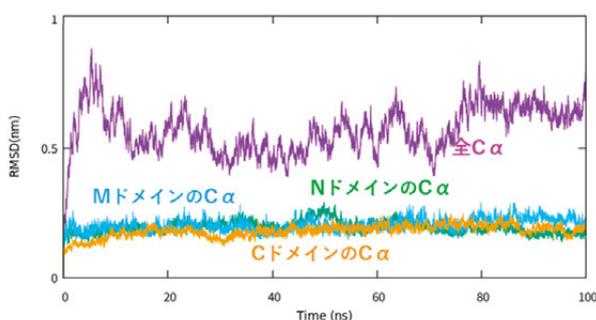


図 9. eRF1 タンパク (C 末端ドメインに部分的欠失あり) の分子動力学シミュレーションの結果、各ドメインの RMSD 値は安定しているが、全タンパクから計算された RMSD 値は高く、変動も大きい。

昨年度報告した CysN タンパクの全原子分子動力学シミュレーションについては、生命科学部門生命機能情報分野・原田隆平准教授と引き続き英文論文として投稿するために共同研究を続けている。

#### 4.教育

岸田雄真, 学士 (理学), 論文名: *Kipferlia bialata* におけるミトコンドリア関連オルガネラ候補タンパク質の局在解析

平田皓大, 学士 (理学), 論文名: サンゴ共生性褐虫藻の新規培養株の確立

若島朋幸, 学士 (理学), 論文名: 嫌気性真核微生物 *Dysnectes brevis* の縮退型ミトコンドリアのプロテオーム解析

岩本亮介, 修士 (理学), 自由生活性フォルニカータ鞭毛虫 *Kipferlia bialata* のミトコンドリア関連オルガネラのプロテオーム解析

川久保卓志, 修士 (理学), 緑色渦鞭毛藻 *Oxytoxum* sp. SG-436 株における共生藻痕跡核ゲノム配列の探索と解析

原田亮, 修士 (理学), Inventories and origins of mitochondrion-localized family A DNA polymerases in Euglenozoa

田村嘉孝, 修士 (教育学), メタモナス生物群における嫌氣的 ATP 合成に関わる酵素の分子進化

集中講義など

なし

#### 5.受賞、外部資金、知的財産権等

##### 受賞

1. 筑波大学大学院生命環境科学研究科 研究科長賞, 原田亮, 2021年3月25日
2. 筑波大学大学院生命環境科学研究科生物科学専攻 専攻長賞, 岩本亮介, 2021年3月25日
3. 筑波大学大学院生命環境科学研究科生物科学専攻 専攻長賞, 川久保卓志, 2021年3月25日
4. 筑波大学大学院生命環境科学研究科生物科学専攻 専攻長賞, 原田亮, 2021年3月25日

##### 外部資金

(名称、氏名、代表・分担の別、採択年度、金額、課題名)

1. 科学研究費補助金 基盤研究 (B), 稲垣祐司 (代表), 2019-2023 年度, 交付額: 全年度直接経費 13,100 千円 (2020 年度直接経費 4,500 千円), ミトコンドリア DNA ポリメラーゼの多様性と進化の全容解明 (課題番号 19H03280)

2. 科学研究費補助金 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)），稲垣祐司（代表），2018-2023 年度，交付額：全年度直接経費 13,700 千円（2020 年度直接経費 4,200 千円），海洋原生生物に共生する細菌多様性の実態解明（課題番号 18KK0203）
3. 科学研究費補助金 基盤研究（B），稲垣祐司（分担）（代表・谷藤吾朗），2017-2020 年度，交付額：全年度直接経費 17,420 千円（2020 年度直接経費 2,000 千円），非光合成生物の光適応進化の全容解明（課題番号 17H03723）
4. 科学研究費補助金 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)），橋本哲男（代表），2019-2022 年度，交付額：全年度直接経費 18,330 千円（2020 年度直接経費 4,700 千円），フォルニカータ生物群におけるミトコンドリア関連オルガネラの機能進化の解明（課題番号 19KK0185）
5. 科学研究費補助金 基盤研究（B），湯山育子（代表），2019-2021 年度，交付額：全年度直接経費 15,210 千円（2020 年度直接経費 4,100 千円），サンゴ-褐虫藻共生成立・不成立に関わる遺伝子発現ネットワーク情報の構築（課題番号 19H03026）
6. 科学研究費補助金 基盤研究（C），石谷佳之（代表），2018-2020 年度，交付額：全年度直接経費 4,420 千円（2020 年度直接経費 400 千円），大規模分岐年代推定－真核生物の誕生と進化を解き明かす！－（課題番号 18K03820）

## 知的財産権

なし

## 6.研究業績

### (1) 研究論文

#### A) 査読付き論文

1. Harada R, Inagaki Y. Phage origin of mitochondrion-localized family A DNA polymerases in kinetoplastids and diplomonads. 2021 *Genome Biology and Evolution* 13(2):evab003
2. Omori Y, Saeki A, Wada S, Inagaki Y, Hama T. Experimental analysis of diurnal variations in humic-like fluorescent dissolved organic matter in surface seawater. 2020 *Frontiers in Marine Science* 7:589064
3. Yazaki E, Kume K, Shiratori T, Eglit Y, Tanifuji G, Harada R, Simpson AGB, Ishida K, Hashimoto T, Inagaki Y. Barthelonids represent a deep-branching matamonad clade with mitochondrion-related organelles predicted to generate no ATP. 2020 *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287(1934):20201538

4. Nakayama T, Takahashi K, Kamikawa R, Iwataki M, Inagaki Y, Tanifuji G. Putative genome features of the relic green alga-derived nuclei in the dinoflagellates and the future perspectives as model organisms. 2020 *Communicative & Integrative Biology* 13(1):84-88
5. Nishimura Y, Kume K, Sonehara K, Tanifuji G, Shiratori T, Ishida K, Hashimoto T, Inagaki Y, Ohkuma M. Mitochondrial genomes of *Hemiarma marina* and *Leucocryptos marina* revised the evolution of cytochrome *c* maturation in Cryptista. 2020 *Frontiers in Ecology and Evolution* 8:140
6. Harada R, Hirakawa Y, Yabuki A, Kashiya Y, Maruyama M, Onuma R, Soukal P, Miyagishima S, Hampl V, Tanifuji G, Inagaki Y. Inventory and evolution of mitochondrion-localized family A DNA polymerases in Euglenozoa. 2020 *Pathogens* 9(4):257.

## B) 査読無し論文

1. Harada R, Inagaki Y. Phage origin of mitochondrion-localized family A DNA polymerases in kinetoplastids and diplomids. 2020 *bioRxiv* doi: 10.1101/2020.09.26.314351

## (2) 国際会議発表

### A) 招待講演

なし

### B) 一般講演

1. Yoshiyuki Ishitani, Erika Ujiie, Caterina Ciacci, Frontalini Fabrizio, Yuji Inagaki. Time-course analysis of gene expression of a benthic protist during exposure to titanium dioxide nanoscale particles. JpGU-AGU Joint Meeting 2020, Jul. 12-16, 2020, オンライン開催

## (3) 国内学会・研究会発表

### A) 招待講演

1. 原田亮, 中野賢太郎, 矢吹彬憲, 白鳥峻志, Ensoo Kim, 稲垣祐司. 新奇ミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼは新たな真核生物高次系統群を示唆するか? 第17回原生動物・寄生虫・進化セミナー, May 29, 2020, オンライン開催

### B) その他の発表

1. 中山卓郎, 野村真未, 高野義人, 柴小菊, 稲葉一男, 谷藤吾朗, 稲垣祐司, 河田雅圭. 外洋性ディオフィシス目渦鞭毛藻2種に見られる共生シアノバクテリアのゲノム解析. 日本植物学会第84回大会, Sep 19-21, 2020, オンライン開催

2. 吉永真理, 稲垣祐司. 真核生物における SMC タンパク質ファミリーの多様化と二次的欠失. 日本共生生物学会第4回大会, Oct 30-Nov 1, 2020, オンライン開催
3. 原田亮, 稲垣祐司. キネトプラスチダ類及びディプロネマ類に特異的なミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼはフェージ起源である. 日本共生生物学会第4回大会, Oct 30-Nov 1, 2020, オンライン開催

#### (4) 著書、解説記事等

なし

### 7.異分野間連携・産学官連携・国際連携・国際活動等

#### 異分野間連携

1. 筑波大学計算科学研究センター生命科学部門生命機能情報分野（重田育照教授・原田隆平准教授）との共同研究：立体構造情報と分子進化情報を統合したタンパク質機能進化に関する研究
2. 国立感染症研究所寄生動物部（永宗喜三郎室長・案浦健主任研究官）との共同研究：ミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼ候補タンパクのアピコンプレクサ寄生虫における細胞内局在解析

#### 産学官連携

なし

#### 国際連携・国際活動等

1. A. J. Roger 博士および A. G. B. Simpson 博士（ダルハウジー大・カナダ）との共同研究：メタモナス生物群の系統関係と嫌気性ミトコンドリア機能の解析
2. E. Kim 博士（アメリカ自然史博物館・アメリカ合衆国）との共同研究：カタブレファリス類のミトコンドリアゲノム解析，ユーグレノゾア基部から分岐する新奇系統に関する研究
3. M. Eliáš 博士（Ostrava 大学・チェコ共和国）等との共同研究：ヘテロロボサ類の系統関係と嫌気性ミトコンドリア機能の進化、オルガネラ DNA ポリメラーゼの進化
4. C. de Vargas 博士（CNRS/ロスコフ海洋研究所・フランス）との共同研究：海洋原生生物に共生する細菌多様性の実態解明

### 8.シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

なし

## 9.管理・運営

稲垣祐司：生命環境科学研究科教務委員、生物科学専攻カリキュラム委員、計算科学研究センター運営委員、計算科学研究センター共同研究委員

## 10.社会貢献・国際貢献

なし

## 11.その他

なし