

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（数理物質科学研究群）
教授	庄司 光男（数理物質科学研究群）
助教	堀 優太（数理物質科学研究群） R7.4.1 より金沢大学へ転出
助教	岡澤 一樹（数理物質科学研究群） R7.4.1 より化学域へ転出
教授	谷 一寿（生命環境科学研究群）
准教授	原田 隆平（生命環境科学研究群）
助教	Kowit Hengphasatporn（生命環境科学研究群）
研究員	森田 陸離（R6.9.30 まで）
研究員	宮川 晃一（R6.10.1 より）
研究員	Mrinal Kanti Si（R7.2.10 まで）
研究員	Sirin Sittivanichai（R7.1.31 まで）
研究員	Manussada Ratanasak
研究員	齋藤 一弥
学生	大学院生 8 名、学類生 5 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生体分子に注目し、その機能を分子構造と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6年度は、[1] PaCS-Q：並列カスケード選択法と QM/MM 分子動力学シミュレーションに基づく反応機構経路サンプリング法の開発、[2] 細胞内を模倣する環境モデルの開発と適用研究、[3] 光合成光化学系 II 水分解酸素発生中心に対する大規模高精度電子状態解析、[4] リゾチーム結晶を用いた $\text{Mn}(\text{CO})_3$ 分子の光反応過程の理論解明、[5] アミノ酸の異性体過剰率増幅機構解析、[6] 気相・固相の反応素過程に基づくホモキラリティー生成機構の解明、[7] 分子の自己組織化に関する理論的研究、[8] Computational study for drug discovery and design research を大きく進展させた。これらの研究では、計算科学研究センターのスパコン（Cygnus, Pegasus）、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、新しい研究に積極的に取り組んだ。

3. 研究成果

[1] PaCS-Q : 並列カスケード選択法と QM/MM 分子動力学シミュレーションに基づく反応機構経路サンプリング法

酵素触媒反応の機構解明において、量子力学/分子力学 (QM/MM) 分子動力学 (MD) シミュレーションは強力なツールとして認識されている。しかし、従来の強化サンプリング法、例えばアンブレラサンプリングやメタダイナミクスには、高い計算コスト、サンプリングの網羅性、そして事前に定義された反応座標 (RC) への依存性という課題が伴った。特に、化学結合の切断や形成を伴う高エネルギー障壁反応を直接観察することは困難であり、また、不適切な RC やシミュレーションパラメータが指定された場合、複雑な反応のサンプリングが非効率になる可能性もあった。これらの課題に対処するため、我々は Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS MD) と QM/MM を組み合わせた反応経路探索手法 (PaCS-Q) を開発した。フローチャートと得られる自由エネルギー曲面の概念図を図 1 に示す。

PaCS-Q の性能を検証するため、2つの異なる酵素反応に適用した。1つ目は、コリスミ酸ムターゼによる Claisen 転位である。この単段階の協奏的な反応では、PaCS-Q は C3-O7 距離 (RC1) と C1-C9 距離 (RC2) の二つの RC を追跡し、RC1=1.90 Å、RC2=2.23 Å 付近にある遷移状態 (TS) を自発的に特定した。シミュレーション結果は、RC2 の短縮と RC1 の伸長がほぼ同時に起こることを再現し、協奏的な一段階メカニズムを強く示唆している。

2つ目のケースは、ジカウイルス NS2B/NS3 セリンプロテアーゼにおけるペプチジルアルデヒド反応である。この反応はプロトン移動と求核攻撃が関与する多段階反応であり、PaCS-Q は4つの RC (H2-O3 距離の RC1、O3-C1 距離の RC2、O4-H2 距離の RC3、H2-N2 距離の RC4) を用いて解析を行った。その結果、まずプロトン移動が起こり、その後求核攻撃が続くという段階的なメカニズムが明らかにされた。特に、プロトン移動完了から求核攻撃までにごく短い時間間隔が存在し、従来のサンプリング手法では捉えられなかった過渡的な事象が捕捉された。

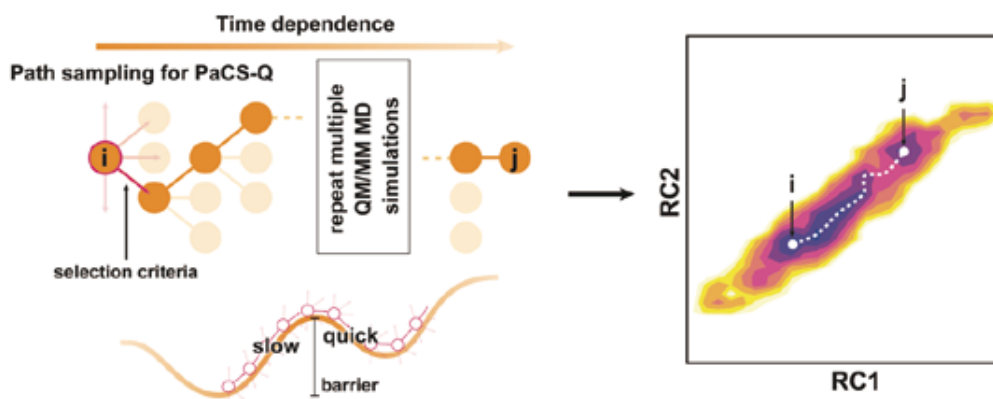


図 1. PaCS-Q のフローチャート.

[2] 細胞内を模倣する環境モデルの開発と適用研究

分子動力学計算（MD 計算）によりリボソームやシャペロンなどの分子内でとりうるタンパク質の立体構造を調べる場合、カーボンナノチューブやフラレンが用いられてきた。しかし、これらの単純なモデルは均一かつ疎水的であり、多様な化学的組成を示す生体内環境と比較して乖離が大きい。そこで本研究では、任意の化学特性を示す球形および円筒形モデルを生成するツールとして BEMM-GEN (Biomolecular Environment-Mimicking Model Generator, 図 2) [T. Yasuda et al, *J. Chem. Inf. Model.*, **64**, 7184-7188 (2024)] を開発し、細胞内環境でとりうる立体構造を調べた。BEMM-GEN は、細胞内環境を模倣した MD 計算を実行する際の初期構造を生成するオープンソースプログラムである。このツールを用いることで、ユーザが指定した化学的組成とタンパク質を入力し、環境モデルとタンパク質の複合体を構造情報として出力できるため、ユーザはこれらのファイルを用いて MD 計算を実行できる。また、BEMM-GEN ではデフォルトで異なる化学的性質を有する 16 種類の残基を用意しているが、ユーザが SMILES 形式で指定した残基を量子化学計算（QM 計算）に基づき追加する機能も備えている。なお、インストールについては、Github (<https://github.com/y4suda/BEMM-GEN>) から実行できる。

適用研究として、EMM-GEN を用いてリボソームトンネル内環境を模倣した REMM (Ribosome Environment Mimicking Model) [T. Yasuda et al, *J. Chem. Inf. Model.*, **64**, 6610-6622 (2024)] を作成し、トンネル内における 2 次構造形成を明らかにした。また、BEMM-GEN を用いてシャペロン内環境を模倣する CHEMM (Chaperone Environment Mimicking Model) を作成し、内部環境がタンパク質の立体構造形成に与える影響を明らかにした。

解析として、リボソーム内環境について REMM とカーボンナノチューブを用いて新生ペプチド鎖の立体構造を調べたところ、REMM の方がより正確に実験構造（トンネル内における新生ペプチド鎖の α ヘリックス形成）を再現できることがわかった。また、シャペロン内環境について、CEMM とフラレンを用いてタンパク質の立体構造形成を調べたところ、CEMM の方がより天然構造を安定化できることがわかった。以上により、BEMM-GEN で作成した REMM および CEMM は生体内環境をより正確に模倣できることが示された。現在は、本モデルを用いて他の細胞環境におけるタンパク質の構造動態を調べており、アプリケーションを進めている。

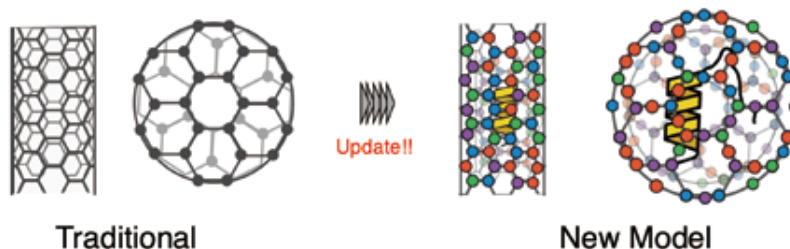


図 2. 細胞内環境モデリングツール (BEMM-GEN)

[3] 光合成光化学系 II 水分解酸素発生中心に対する大規模高精度電子状態解析

自然系の光合成は太陽エネルギーを効率的に化学エネルギーに変換しており、その仕組みの解明は学理解明としてのみならず、人工光合成系の設計指針としても極めて重要になっている。水分解酸素発生反応は光化学系 II の酸素発生中心(PSII-OEC)で行われており、近年の連続フェムト秒結晶構造解析(SFX)や電子顕微鏡 (Cryo-EM) の発展により、実験的解明が大きく進展している。しかしながら、反応における水分子の役割は実験には未だ断定が難しく、完全には解明ができない。そのため、富岳計算機を用いることで水分子の流入経路(O1 経路)からプロトンの流出経路(C11 経路)に関わる水分子を十分に取り入れた大規模モデル(550 原子、7000 軌道以上)を取り扱い、かつ高精度(double hybrid DFT レベル)な量子化学計算を実行することで自然系の水分解酸素発生機構を解き明かすことを試みた。

反応サイクルの始状態である S_1 状態において、開いたキュバン構造を持つ Oxo 状態が安定であることが判明し、構造や電子状態の解析結果から O1 経路方向に拡張した系による適切なモデル系の取り方の必要性が示された。これは S_3 状態から S_0 状態への解析でも有用なモデルであることが分かった。そのため、この系を用いて S_3 状態について理論的に考えられるプロトン化状態の異なる状態について以前の計算系での結果と比較し結果の妥当性について検討することが可能になった。

巨大 QM モデルでの最適化構造は、実験による高解像度の X 線構造やスピン状態を説明できる構造となり、O1 経路方向に拡張した構造も水分解反応の解析において有用となる可能性が高いことが分かった。酸素分子の生成に関わる前駆状態である S_3 状態において O1 経路のモデルを用いて S_3 状態におけるいくつかの異性体間の相対安定性の評価を行った。DLPNO の結合クラスター法は計算系の大規模化による計算コストの急激な増加が問題点となる。そのため、今後も double-hybrid DFT の手法の改良により大規模化かつ、高精度な計算が実施できると期待される。

[4] リゾチーム結晶を用いた $Mn(CO)_3$ 分子の光反応過程の理論解明

人工分子の反応を実時間かつ原子分解能で追跡することは、これまで非常に困難であった。一方で、タンパク質結晶は、時分割構造解析手法が適用でき、光照射後の反応動力学を時分割で直接構造解析することができている。東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系のマイティ・バスデブ特任助教と上野隆史教授、東北大学 多元物質科学研究所の南後恵理子教授らは、 $Mn(CO)_3$ 錯体をリゾチームタンパク質に固定化して結晶化することで、光照射により $Mn-CO$ 結合の段階的開裂反応過程を原子分解能で実時間観測することに成功した。我々は、この実験結果をより明確にするため、量子古典混合計算法を用いて、リゾチームタンパク質環境下での $Mn(CO)_3$ 錯体の光励起素反応を全て理論解析した (図 3-a)。位置選択的に結合開裂反

応が進行していること、主反応経路や中間体の生成しやすさについて詳しく理論解明した。
(*Nature Commun.* **2024**, 15, 5518)

[5] アミノ酸の異性体過剰率増幅機構解析

宇宙生命分野では、アミノ酸前駆体（アミノニトリル）では異性体過剰率増幅が起こりうるか明確でなかった。アミノニトリル二分子系で分子間相互作用を網羅探索することで、異性体過剰率増幅に重要な非対称な分子間相互作用を明らかにすることに成功した。アミノニトリルでは、アミノ基やニトリル基は電荷的分極が弱いため、分子キラリティに関わる相互作用は弱いことを明確にした。この結果は、アミノ酸分子ではアミノ基とカルボキシ基がイオン型で安定になり、電荷的に大きく分極しているのと対照的である（図 3-b）。これまでの理論解析結果と合わせると、アミノニトリルでの異性体過剰増幅は、アミノ酸分子種に比べて弱いことを明確に示ことができた。特に、アミノ酸のホモキラリティ生成機構は、アミノニトリルでの光分解による異性体過剰の創生と、加水分解後のアミノ酸種での異性体過剰率増幅機構の異なる 2 つの過程が共に重要であることが明確になった。（*Phys. Chem. Chem. Phys.* **2024**, 27, 340）

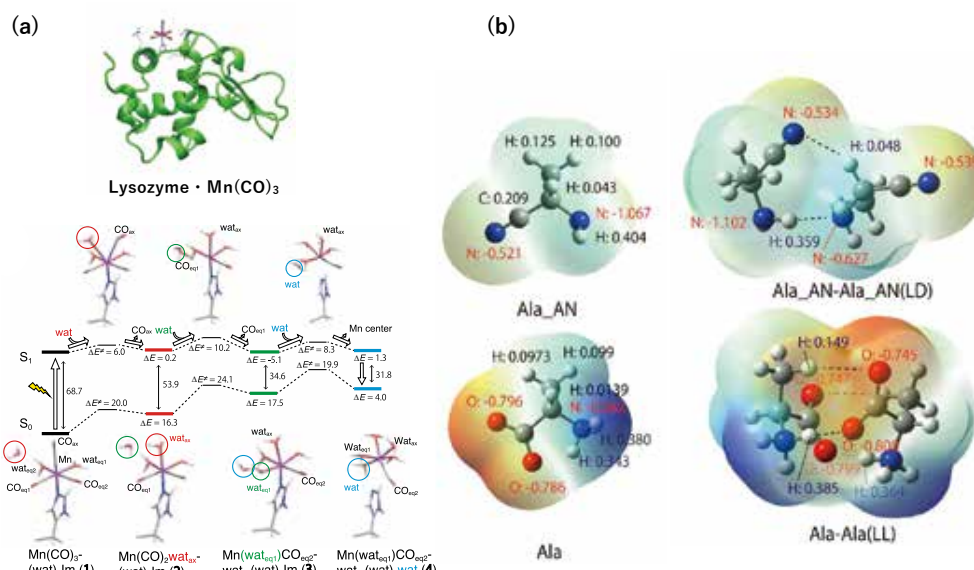


図 3. (a) リゾチーム・MnCO₃ と (b) アミノニトリル(Ala_{AN}) 分子間相互作用の理論解析.

[6] 気相・固相の反応素過程に基づくホモキラリティー生成機構の解明

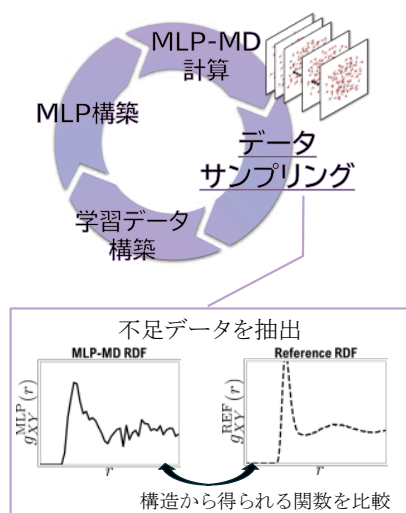
宇宙空間におけるアミノ酸生成を含む化学進化の過程を解明するためには、アモルファス氷(ASW)の構造的な特性およびその表面における化学反応機構の理解が不可欠である。本研究では、理論計算を用いて ASW の構造探索を行った。特に、第一原理計算に匹敵する精度と高

効率性を両立可能な手法として、機械学習ポテンシャル(MLP)を用いた分子動力学(MD)シミュレーションに注目した。

MLPを用いたMD計算では、学習データの不足により非物理的な挙動が生じるという課題がある。そこで本研究では、MLPの精度向上と安定性確保のため、動径分布関数(RDF)に基づく学習データサンプリング手法を新たに提案した。本手法では、MLPによりエネルギーや力の予測が困難な構造をRDFの異常として同定し、それらの構造に対して量子化学計算を実施して再評価した上で、新たな学習データとして反映させた。水分子クラスターを対象とし、量子化学計算を用いてエネルギーおよび原子間力を算出し、MLPを構築した(図4-a)。その結果、本手法を導入することで、RDFや角度分布、拡散係数といった物性が量子化学計算ベースのMD結果と良好に一致することを確認した。これにより、学習データ数を抑えつつも、信頼性の高いMLPの構築が可能であることを実証した(*J. Comput. Chem.* **2024**, 45, 2949–2958)。

さらに、宇宙におけるホモキラリティー発生機構の一端を解明するため、唯一観測されているキラル分子である酸化プロピレン(PO)に注目し、その光分解反応機構について量子化学計算を行った(図4-b)。その結果、POの光分解はジラジカル経路を経由して進行する可能性が高いことが示唆された。また、基底状態および励起状態のポテンシャルエネルギー面を解析した結果、基底状態における活性化障壁は高く、光励起を経由することで反応が効率的に進行する経路が存在することを明らかにした(*ACS Omega*, **2025**, 10, 17777–17782)。

(a) MLP-MD



(b) 酸化プロピレンの光分解

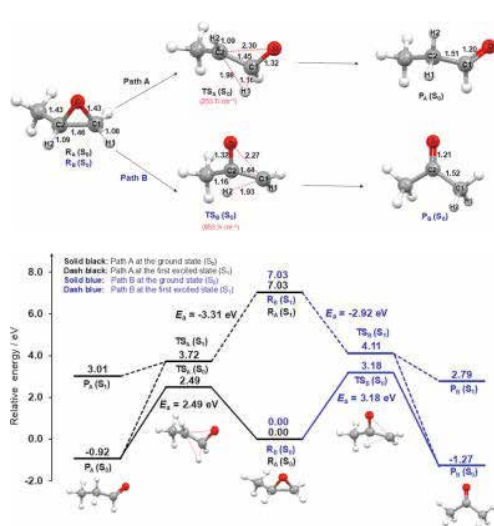


図 4. (a) MLP-MD 手法の概要と(b)酸化プロピレンの光分解の反応解析の結果。

[7] 分子の自己組織化に関する理論的研究

メゾスケールの階層構造（メゾヒエラルキー）は、分子間の異方的な相互作用によって形成され、バルク物質には見られない緻密かつ複雑な構造を示すことから注目されている。本

研究では、ナフタレン骨格の結合位置が異なる2種のパルビツール酸誘導体に着目し、それらが形成する環状六量体 (rosette) の積層構造の違いを、量子化学計算を用いて解析した。

ナフタレン修飾パルビツール酸誘導体 (以下モノマー) が自己集合して形成する超分子ポリマーが、ナフタレン部位の結合位置の違いによって異なるトポロジーを示す。矢貝らの研究によると、分子 **1** は J-type stacking (slip stacking) により toroid を、分子 **2** は H-type stacking (twist stacking) により nanorod を形成する (図 5 a, b)。slip stacking をとる分子集合体は、twist stacking しているものよりも高い柔軟性を有することが予想される。一般的に、自己集合構造の計算による予測は困難を伴うが、本研究では、効率的な構造探索手法である自動相互作用部位スクリーニング (aISS) を用いた。aISS は、フラグメントの電子状態から構築された分子間力場 (xTB-IFF)、及び遺伝的アルゴリズムに基づき、2つのフラグメント間の最安定なドッキング構造を自動的に探索する。我々は、単一の rosette と rosette n -mer ($n=2-8$) をフラグメントとして用い、八量体まで繰り返し計算を実行した。電子状態計算は GFN2-xTB を用いて実行した。aISS による構造探索の結果、分子 **1** における準安定構造間のエネルギー差は小さく、分子 **2** では大きいことが示された (図 5)。この違いは、それぞれのスタッキング様式の違いを反映していると考えられる。さらに、各分子の rosette 8-mer 構造を比較すると、分子 **1** では slip stacking が、分子 **2** は twist stacking が最も安定であることが明らかになった。これらの結果は、矢貝らにより得られた結果と良く一致した。

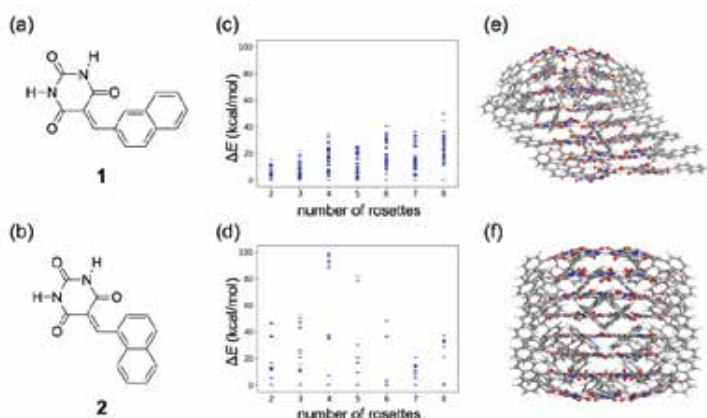


図 5. 分子 **1** 及び **2** の (a,b) 化学構造, (c,d) rosette n -mer のエネルギー分布及び rosette 8-mer の最安定分子構造. (e,f)

その他にも、per(5-carboxy-5-dehydroxymethyl)-cyclodextrins (per-COOH- β CD) の二量体をリング成分、二級アンモニウムカチオンをロッドとした擬 rotaxane に関する電子状態解析を行った。擬 rotaxane の形成は、per-COOH- β CD の COOH と二級アンモニウムカチオンの間に生じる水素結合によるものであることを密度汎関数理論に基づく量子化学計算から明らかにした (T. Nakamura et al., *J. Org. Chem.* **90**, 3603-3609 (2024))。

[8] Computational study for drug discovery and design research

Our research is dedicated to drug discovery and design, employing various computational tools, including molecular docking, molecular dynamics (MD) simulations, and quantum

mechanics/molecular mechanics (QM/MM) approaches. We advance this field by developing and applying integrative simulation techniques that enable the efficient identification of drug candidates and elucidation of biomolecular mechanisms. In one recent study, we combined virtual screening, MD simulations, and electrophysiological validation to identify a potent small-molecule inhibitor of TMEM16A, a calcium-activated chloride channel implicated in cancer and other diseases. Among nearly 90,000 screened compounds, the lead candidate N066-0059 exhibited nanomolar potency and significantly greater binding stability than existing inhibitors, offering a promising scaffold for future anticancer therapeutics (図 6 a) .

Our work also addressed the molecular basis of antibody light chain misfolding, a key factor in systemic light chain amyloidosis. By employing long-timescale MD simulations together with solvation-based principal component analysis (3D-RISM/PCA), he revealed that water-mediated destabilization of native hydrogen bonds within 3D domain-swapped dimers prevents tetramer formation and leads to structural collapse. These findings provide mechanistic insight into why such dimers are not observed in solution and contribute to efforts in designing more stable antibody structures (図 6 b) .

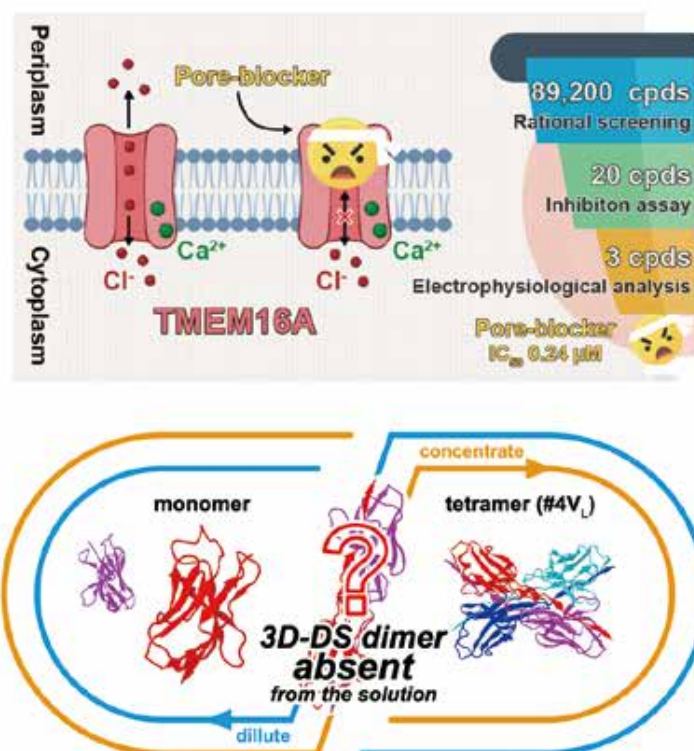


図 6. (a) Schematic of drug discovery study on a potent small-molecule inhibitor of TMEM16A and (b) Schematic view for equilibrium among protomer, 3D-DS dimer and 3D-DS tetramer.

4. 教育

学位論文

1. 保田拓範、博士（理学）生物学学位プログラム 博士後期課程
「生体分子環境モデルを用いた細胞内におけるタンパク質立体構造に関する
計算科学的研究」
2. 岡本慶乃、修士（理学）生物学学位プログラム 博士前期課程
「アミノアシル tRNA 合成酵素を用いたハーフサイト活性が生じるメカニズムに
関する計算科学的研究」
3. 池田将太、学士（理学）理工学群 物理学類
「ビタミン D₃ 活性化酵素 CYP105A1 と阻害剤との結合能に関する理論的評価」
4. 岩田大宙、学士（理学）理工学群 物理学類
「レチナールの吸収波長変化についての理論的研究」
5. 豊島笑、学士（理学）理工学群 物理学類
「密度汎関数理論に基づくセサミン生合成の反応経路探索」
6. 稲葉鴻基、学士（理学）生命環境学群 生物学類
「分子シミュレーションで解明するヒト由来味覚受容体における味覚認識メカニズム」
7. 渡辺樹来、学士（理学）生命環境学群 生物学類
「計算科学的に解明する核輸送受容体 Hikeshi と Hsc70 の熱依存的な結合メカニズム」

集中講義

1. 重田育照、「生物物理学」（集中講義）、秋田大学大学院工学研究科、2024 年 8 月 30 日
2. 重田育照、「Quantum Chemistry」（英語による講義）、早稲田大学理工学術院、2024 年
9 月 28 日-2025 年 2 月 2 日
3. 重田育照、「計算化学」、早稲田大学理工学術院、2024 年 9 月 28 日-2025 年 1 月 26 日

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

受賞

1. 筑波大学若手教員奨励賞、堀 優太、2024 年 11 月
2. 第 5 回理論化学会奨励賞、堀 優太、「理論化学計算によるプロトン移動解析と材料設計
への展開」、2024 年 5 月
3. 第 64 回 UBE 学術奨励賞、原田隆平、「疾患原因となる分子間相互作用を特定する異常
検知システムの開発」、2024 年 6 月 19 日

外部資金

1. 日本学術振興会 科学研究費 若手研究、堀 優太、代表、2024-2026 年度、4,680 千円、「気相・固相の反応素過程に基づくアミノ酸ホモキラリティー生成機構の解明」
2. 物質・デバイス領域共同研究拠点 基盤共同研究課題、堀 優太（代表）、2024 年度、150 千円、「電子共役プロトン移動反応のための電子状態解析」
3. 物質・デバイス領域共同研究拠点 クロスオーバー共同研究、堀 優太（代表）、2024 年度、330 千円、「無水プロトン伝導物質の伝導機構の理解に基づく物質設計」
4. 豊田理研スカラー共同研究 (Phase1)、堀 優太（代表）、2024 年度、1,000 千円、「合成化学と理論計算の融合を起爆剤とする精密設計タンパク質工学の開拓」
5. TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」、堀 優太（代表）、2024 年度、850 千円、「有機柔粘性結晶のナノサイズ化による分子ダイナミクスの制御と機能探索」
6. 産業技術総合研究所 覚醒プロジェクト、堀 優太（代表）、2024 年度、3,000 千円、「メタン酸化触媒の設計に向けた量子化学とデータ駆動型触媒インフォマティクス」
7. TRiSTAR、堀 優太（代表）、2024 年度、1,500 千円、「理論先導型次世代クリーンエネルギーシステムの構築」
8. 小柳財団 研究助成金、原田 隆平（代表）、2024 年度、1,000 千円、「病原菌においてヘム濃度を感知・調整するタンパク質ダイナミクスの解明」
9. 豊田理化学研究所 豊田理研スカラー (Phase1)、原田 隆平（代表）、2024 年度、1,000 千円「分子凝集をトリガーとする酵素阻害の現象解明と新規創薬分野への展開」
10. G-7 奨学財団 令和6年度研究開発助成事業定期公募 (IT)、原田 隆平（代表）、2024 年度、1,000 千円「疾患原因につながる相互作用を特定する異常検知システムの開発」
11. カシオ科学振興財団 研究助成金 原田 隆平（代表）、2024 年度、1,000 千円「タンパク質と核酸の「揺らぎ」を考慮したフレキシブルドッキングに基づく複合体モデリング技術の開発」
12. 第3回 MOLSIS-CCG GRANT、原田 隆平（代表）、2024 年度、500 千円「分子間相互作用から疾患原因を推定する異常検知システムの構築」
13. 島津科学技術振興財団 研究開発助成、原田 隆平（代表）、2024 年度、1,000 千円「タンパク質の複合体と相互作用を高精度に計測する計算技術の開発」
14. UBE 学術振興財団、原田 隆平（代表）、2024 年度、1,000 千円「第64回 UBE 学術奨励賞 援助金」
15. 日本曹達（共同研究）、原田隆平（代表）、2024 年度、1,000 千円「拡張サンプリング手法 (PaCS-MD、OFLOOD 等) を用いた論理的創薬手法に関する研究」
16. 日本学術振興会 科学研究費 挑戦的研究 (萌芽)、原田 隆平（分担）、松村浩由（代表）、2023-2025 年度、750 千円「Rubisco を改良する構造的要因の決定」

17. 日本曹達との共同研究事業、重田育照（代表）、2023-2025 年度、1,800 千円 (間接経費 200 千円)「量子化学計算を用いた農薬特性の解析および各種シミュレーションを用いた材料特性の解析」
18. 文部科学省 科学研究費 学術変革領域研究 A「メゾヒエラルキーの物質科学」、重田育照（代表）、2023-2027 年度、100,400 千円「メゾヒエラルキー理論」計画研究
19. 文部科学省 科学研究費 学術変革領域研究 A、重田育照（分担）、矢貝史樹（代表）、期間、2023-2027 年度、300 千円「メゾヒエラルキーの学理構築」
20. 日本学術振興会 科学研究費 基盤研究 B、重田育照（分担）、守屋俊夫（代表）、2023-2025 年度、金額 1,500 千円「クライオ電顕による 1 分子構造解析に基づいた蛋白質構造の連続的なダイナミクスの解析」
21. 豊田理化学研究所・スカラー共同研究 (Phase 1 & Phase 2)、重田育照（分担）、田畑亮（代表）、2023-2025 年度、4,200 千円「植物空腹・指令シグナル分子の機能解明と高機能性成長調整剤の開発」
22. JSTCREST「自在配列システム」、重田育照（分担）、廣田俊（代表）、2020-2025 年度、金額 50,000 千円「3D ドメインスワッピングを利用したタンパク質の自在制御と機能化」
23. 文部科学省、光・量子飛躍フラッグシッププログラム(Q-LEAP)、重田育照（分担）、馬場 嘉信（代表）、2020 年度-、9,000 千円 (R5 年度以降研究費未定、最大 10 年間)「量子生命技術の創製と医学・生命科学の革新」
24. 東京エレクトロンとの共同研究事業、重田育照（分担）、櫻井徹也→伊藤雅英（代表）、2020-2024 年度、金額 18,700 千円 (次年度研究費未定、最大 5 年間) 8,058,836 円
25. 日本学術振興会 科学研究費 特別推進研究、庄司光男（分担）、沈建仁（代表）、2022-2026 年度、8,250 千円「光合成における光誘導水分解反応機構及び光エネルギー利用機構の解明」
26. 日本学術振興会 科学研究費 基盤研究 (A)、庄司光男（分担）、上野隆史（代表）、2022-2025 年度、350 千円、「XFEL-SFX による化学反応解明を目指した「反応追跡結晶」の構築」
27. 日本学術振興会 科学研究費 基盤研究 (C)、庄司光男（分担）、長友重紀（代表）、2023-2025 年度、200 千円、「ヘモグロビンの hinge と switch 領域構造の形成に関わる α 鎖と β 鎖の寄与の検証」
28. 科研費基盤 C、谷一寿、代表、2022 年度、600,000 円、光合成細菌由来コア光捕集複合体の光エネルギー変換最適化の構造基盤解明
29. 11. 科研費基盤 B、谷一寿、分担、2024 年度、400,000 円、ユビキチンリガーゼが制御する病原菌感染と生体防御応答の構造生物学的解析

30. AMED・生命科学・創薬研究支援基盤事業(BINDS)、谷一寿、分担、2021年度、14,900,000円、クライオ電子顕微鏡によるタンパク質等構造解析と細胞内微細構造観察の支援～生命科学・創薬研究・国際的人材育成への貢献

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. L. Duan, K. Hengphasatporn, R. Harada, Y. Shigeta, “PaCS-Q: Enhanced Sampling Techniques in QM/MM Molecular Dynamics Simulations”, *Journal of Chemical Theory and Computation* **21**(8), 4309–4318 (2025). DOI: 10.1021/acs.jctc.5c00169
2. N. Koyanagi, K. Hengphasatporn, A. Kato, M. Nobe, K. Takeshima, Y. Maruzuru, K. Maenaka, Y. Shigeta, Y. Kawaguchi, “Regulatory Mimicry of Cyclin-Dependent Kinases by Conserved Herpesvirus Protein Kinases”, *Proceeding of National American Society* **122**(16), e2500264122 (2025). DOI: 10.1073/pnas.2500264122
3. P. Yukhet, K. Faikhruca, R. Mowang, P. Nawee Wattana, M. Ratanasak, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, C. Aonbangkhen, T. Vilaivan, “A Mild and Catalyst-Free Strategy for the Synthesis of Cannabidiol Derivatives and Regioisomers Using Fluorinated Alcohols as Solvents”, *Chemistry: An Asian Journal*, e202401648 (13 pages) (2025). DOI:10.1002/asia.202401648
4. S. Sinsulpsiri, Y. Nishii, Q.-F. Xu-Xu, M. Miura, P. Wilasluck, K. Salamteh, P. Deetanya, K. Wangkanont, A. Suroengrit, S. Boonyasuppayakorn, L. Duan, R. Harada, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, L. Shi, P. Maitarad, T. Rungrotmongkol, “Unveiling the Antiviral Inhibitory Activity of Ebselen and Ebsulfur Derivatives on SARS-CoV-2 Using Machine Learning-based QSAR, LB-PaCS-MD, and Experimental Assay”, *Scientific Reports* **15**, Article number: 6956 (12 pages) (2025). DOI:10.1038/s41598-025-91235-1
5. T. Nakamura, M. Kuwabara, H. Zhang, K. Okazawa, M., Boero, Y. Shigeta, T. Nabeshima, “Pseudo[3]rotaxane and [3]Rotaxane of Per-Carboxy Cyclodextrins Utilizing Carboxylic Acid Dimer as Recognition Units”, *The Journal of Organic Chemistry* **90**(12), 3603–3609 (2025). DOI:10.1021/acs.joc.4c02804
6. H. Zhang, J. Dong, X. Tang, N. Kishimoto, Y. Deng, H. Zhang, X. Yu, Y. Nakagawa, S. Zhang, Y. Kagotani, M. Adachi, Y. Zhou, Y. Kitahama, M. Marumi, L. Kacenauskaite, P.M. Pancorbo, Y. Shigeta, A. Iwasaki, Y. Ma, T.-H. Xiao, K. Goda, “Rational design and engineering of chemical

- enhancement in Raman scattering”, *Advanced Optical Materials* **13**(8), 2402673 (2025). DOI:10.1002/adom.202402673
7. G. Novientri, K. Takeda, L. Duan, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, C. Xie, T. Mashima, S. Hirota, “Apoprotein Intermolecular Interactions and Heme Insertion for 3D Domain Swapping in Heme Proteins”, *ACS Omega* **10**(7), 7039–7047 (2025). DOI:10.1021/acsomega.4c09948
 8. K. Yoneda, C. Kobayashi, H. Araie, R. Morita, R. Harada, Y. Shigeta, H. Endo, Y. Maeda, I. Suzuki, “Characterization of delta-7 alkenone desaturase in haptophytes *Emiliania huxleyi* through the heterologous expression in *Tisochrysis lutea*”, *Marine Biotechnology* **27**, Article No. 44 (8 pages) (2025). DOI:10.1007/s10126-025-10427-y
 9. C. Chandit, K. Hengphasatporn, P. Donsuy, Y. Shigeta, K. Wangkanont, “Structure and catalytic activity of a dihydrofolate reductase-like enzyme from *Leptospira interrogans*”, *International Journal of Biological Macromolecules* **298**, 139931 (8 pages) (2025). DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.139931
 10. K. Sanachai, K. Hengphasatporn, S. Chamni, K. Suwanborirux, P. Mahalapbutr, Y. Shigeta, S. Seetaha, K. Choowongkamon, T. Rungrotmongkol, “Exploring Mimosamycin as a Janus Kinase 2 Inhibitor: A Combined Computational and Experimental Investigation”, *Computational Biology and Chemistry* **115**, 108346 (2025). DOI:10.1016/j.compbiolchem.2025.108346
 11. N. Watanabe, Y. Komatsu, Y. Hori, Y. Shigeta, M. Shoji, “Enantioselective interactions of aminonitrile dimers”, *Physical Chemistry Chemical Physics* **27**, 340-345 (2025). DOI: 10.1039/D4CP02579B
 12. S. Kongkaew, M. Ratanasak, Y. Shigeta, J. Hasegawa, V. Parasuk, “Theoretical investigation of sustainable CO₂ electroreduction to high-value products utilizing N-doped/BN-modified Triphenylene-Graphdiyne”, *Fuel* **379**, 133102 (11 pages) (2025). DOI: 10.1016/j.fuel.2024.133102
 13. A. Nishimura, S. Ogata, X. Tang, K. Hengphasatporn, K. Umezawa, M. Sanbo, M. Hirabayashi, Y. Kato, Y. Ibuki, Y. Kumagai, K. Kobayashi, Y. Kanda, Y. Urano, Y. Shigeta, T. Akaike, M. Nishida, “Polysulfur-based bulking of dynamin-related protein 1 prevents ischemic sulfide catabolism and heart failure in mice”, *Nature Communications* **16**, 276 (17 pages) (2025). DOI:10.1038/s41467-024-55661-5
 14. M.A. Elhinnawi, Y. Okita, K. Shigematsu, M. Abdelaziz, R. Shiratani, K. Kawanishi, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, M. Kato, “GPNMB is a novel binding partner of FGFR1 that affects tumorigenic potential through AKT phosphorylation in TNBC”, *Cancer Science* **116**(2), 432-443 (2024). DOI:10.1111/cas.16419

15. W. Fitriana, T. Sakai, L. Duan, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, T. Mashima, T. Uda, E. Hifumi, S. Hirota, “Experimental and Computational Studies on Domain-Swapped Structure Stabilization of an Antibody Light Chain by Disulfide Bond Introduction”, *Journal of Medicinal Chemistry* **67**(24), 22313–22321 (2024). DOI:10.1021/acs.jmedchem.4c02570
16. Y. Okamoto, T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “Structural Fluctuation in Homodimeric Aminoacyl-tRNA Synthetases Induces Half-of-the-sites Activity”, *Journal of Physical Chemistry B* **128**(44), 10823–10830 (2024). DOI:10.1021/acs.jpccb.4c05191
17. T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “BEMM-GEN: A Toolkit for Generating a Biomolecular Environment-Mimicking Model for Molecular Dynamics Simulation”, *Journal of Chemical Information and Modeling* **64**(19), 7184–7188 (2024). DOI: 10.1021/acs.jcim.4c01467
18. L. Duan, K. Hengphasatporn, T. Sakai, R. Fujiki, N. Yoshida, S. Hirota, Y. Shigeta, “Why is dimeric 3D domain swapping in antibody light chains missing from the solution? Atomistic insights mechanisms”, *Journal of Physical Chemistry B*, **128**(38), 9086–9093 (2024). DOI: 10.1021/acs.jpccb.4c03234
19. M.A. Ur Rehman, H. Chuntakaruk, S. Amphan, A. Suroengrit, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, K. Krusong, S. Boonyasuppayakorn, C. Aonbangkhen, T. Khotavivattana, "Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Darunavir Analogs as HIV-1 Protease Inhibitors", *ACS Bio & Med Chem Au* **4**(5), 242–256 (2024). DOI: 10.1021/acsbiomedchemau.4c00040
20. M.K. Si, Y. Shigeta, “Rational design of Cyclopentadiene-based Super- and Hyperacids based on Aromaticity”, *Journal of Physical Chemistry A*, **128**(35), 7384–7395 (2024). DOI: 10.1021/acs.jpca.4c03786
21. N. Watanabe, Y. Hori, H. Sugisawa, T. Ida, M. Shoji, Y. Shigeta, “A Machine Learning Potential Construction based on Radial Distribution Function Sampling”, *Journal of Computational Chemistry* **45**, 2949-2958 (2024). DOI: 10.1093/bulcsj/uoe087
22. R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “Structural Generation by Inverse Transformation Driven from Principal Component Analysis Enhances Conformational Sampling of Protein”, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **97**(8), uoe087 (8 pages) (2024). DOI:10.1093/bulcsj/uoe087
23. T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “Ribosome Tunnel Environment Drives the Formation of α -helix During Co-Translational Folding”, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **64**(16), 6610–6622 (2024). DOI:10.1021/acs.jcim.4c00901
24. T Sugimoto, K Miyagawa, M Shoji, K Katayama, Y Shigeta, H Kandori, “Calcium Binding Mechanism in TAT Rhodopsin”, *Journal of Physical Chemistry B* **128** (29), 7102-7111 (2024). DOI: 10.1021/acs.jpccb.4c02363

25. B. Toopradab, W. Xie, L. Duan, K. Hengphasatporn, R. Harada, S. Sinsulpisiri, Y. Shigeta, L. Shi, P. Maitarad, T. Rungrotmongkol, “Machine learning-based QSAR and LB-PaCS-MD guided design of SARS-CoV-2 main protease inhibitors”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **110**, 129852 (5pages) (2024). DOI:10.1016/j.bmcl.2024.129852
26. S. Sittivanichai, C. Archapraditkul, D. Japrun, Y. Shigeta, T. Mori, P. Pongprayoon, “The aggregation of apo/glycated human serum albumins and aptamer-saturated graphene quantum dot: Simulation studies”, *Biochemistry* **63**(13), 1697–1707 (2024). DOI: 10.1021/acs.biochem.4c00155
27. B. Maity, M. Shoji, F. Luo, T. Nakane, S. Abe, S. Owada, J. Kang, K. Tono, R. Tanaka, T. T. Pham, M. Kojima, Y. Hishikawa, J. Tanaka, J. Tian, M. Nagama, T. Suzuki, H. Noya, Y. Nakasuji, A. Asanuma, X. Yao, S. Iwata, Y. Shigeta, E. Nango, and T. Ueno, “Real-time observation of a metal complex-driven reaction intermediate using a porous protein crystal and serial femtosecond crystallography”, *Nature Communications* **15**, 5518 (12pages) (2024). DOI: 10.1038/s41467-024-49814-9
28. A. Suroengrit, V. Cao, P. Wilasluck, P. Deetanya, K. Wangkanont, K. Hengphasatporn, R. Harada, S. Chamni, A. Leelahavanichkul, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, S. Hannongbua, W. Chavasiri, S. Wacharapluesadee, S. Boonyasuppayakorn, “Alpha and gamma mangostins effectively inhibited wild-type B SARS-CoV-2 and should integratively target multiple viral and host proteins”, *Heliyon* **10**, e31987 (14 pages) (2024). DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e31987
29. S. Ali, A. Aman, K. Hengphasatporn, R. Fujiki, R. Harada, Y. Shigeta, K. Krusong, W. Chavasiri, P. Wolschann, P. Mahalapbutr, T. Rungrotmongkol, "Evaluating Solubility, Stability, and Inclusion Complexation of Oxyresveratrol with Various β -cyclodextrin Derivatives Using Advanced Computational Techniques and Experimental Validation", *Computational in Biology and Chemistry* **112**, 108111 (14 pages) (2024). DOI:10.1016/j.compbiolchem.2024.108111
30. A. Danova, K. Pattanapanyasat, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, E. Hermawati, W. Chavasiri, “Unlocking E-arylidene Steroid Derivatives as Promising α -Glucosidase Inhibitors”, *ChemistrySelect* **9**(9), e202303887 (2024). DOI: 10.1002/slct.202303887
31. N. Kongkaew, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, R. Harada, “Preferential Door for Ligand Binding and Unbinding Pathways in Inhibited Human Acetylcholinesterase”, *the Journal of Physical Chemistry Letters*, **15**, 5696–5704 (2024). DOI:acs.jpcl.4c00514
32. G. Kudo, T. Hirao, R. Harada, T. Hirokawa, Y. Shigeta, R. Yoshino, “Prediction of the Binding Mechanism of a Selective DNA Methyltransferase 3A Inhibitor by Molecular Simulation”, *Scientific Reports* **14**, Article number: 13508 (9 pages) (2024). DOI:10.1038/s41598-024-64236-9
33. M. Inukai, H. Sato, K. Miyanishi, M. Negoro, A. Kagawa, Y. Hori, Y. Shigeta, T. Kurihara, K. Nakamura, “Cocrystalline Matrices for Hyperpolarization at Room Temperature Using

- Photoexcited Electrons”, *Journal of the American Chemical Society* **146**(21), 14539–14545 (2024). DOI: 10.1021/jacs.4c01050
34. Q. Liu, T. Zhang, Y. Ikemoto, Y. Shinozaki, G. Watanabe, Y. Hori, Y. Shigeta, K. Harano, Y. Sagara, “Grinding-induced Water Solubility Exhibited by Mechanochromic Luminescent Supramolecular Fibers”, *Small* **20**, 2400063 (10 pages) (2024). DOI: 10.1002/smll.202400063
35. G. Kudo, T. Hirao, Y. Shigeta, R. Yoshino, T. Hirokawa, “Site Identification and Next Choice Protocol for Hit-to-Lead Optimization”, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **64**(11), 4475–4484 (2024). DOI:10.1021/acs.jcim.3c02036
36. T. Ji, S. Su, S. Wu, Y. Hori, Y. Shigeta, Y. Huang, W. Zheng, W. Xu, X. Zhang, R. Kiyanagi, K. Munakata, T. Ohhara, T. Nakanishi, O. Sato, “Development of an FeII complex Exhibiting Intermolecular Proton Transfer Coupled Spin-Crossover”, *Angewandte Chemie International Edition* **63**(25), e202404843 (6 pages) (2024). DOI:10.1002/anie.202404843
37. K. Kikkawa, Y. Sumiya, K. Okazawa, K. Yoshizawa, Y. Itoh, T. Aida, “Thiourea as a “Polar Hydrophobic” Hydrogen-Bonding Motif: Application to Highly Durable All-Underwater Adhesion” *Journal of the American Chemical Society* **146**, 21168–21175 (2024). DOI: 10.1021/jacs.4c07515
38. A. Shrestha, Y. Sumiya, K. Okazawa, Y. Tsuji, K. Yoshizawa,* “Density Functional Theory Study of Adhesion Mechanism between Epoxy Resins Cured with 4,4’-Diaminodiphenyl Sulfone and 4,4’-Diaminodiphenylmethane and Carboxyl Functionalized Carbon Fiber” *Langmuir*, **40**, 21573–21586 (2024). DOI: 10.1021/acs.langmuir.4c02473
39. Y. Tsuji, K. Okazawa, T. Tatsumi, K. Yoshizawa, “ σ Interference: Through-Space and Through-Bond Dichotomy” *Journal of the American Chemical Society* **146**, 32506–32518 (2024). DOI: 10.1021/jacs.4c09771
40. K. Tani, S. Maki-Yonekura, R. Kanno, T. Negami, T. Hamaguchi, M. Hall, A. Mizoguchi, B.M. Humbel, T. Terada, K. Yonekura, T. Doi, “Structure of endothelin ETB receptor–Gi complex in a conformation stabilized by unique NPxxL motif”, *Communications Biology*, **7**, 1303 (2024). DOI:10.1038/s42003-024-06905-z
41. Y. Kimura, R. Kanno, K. Mori, Y. Matsuda, R. Seto, S. Takenaka, H. Mino, T. Ohkubo, M. Honda, Y.C. Sasaki, J. Kishikawa, K. Mitsuoka, K. Mio, M. Hall, E.R. Purba, T. Mochizuki, A. Mizoguchi, B.M. Humbel, M.T. Madigan, Z.-Y. Wang-Otomo, K. Tani, “The Thermal-Stable LH1–RC Complex of a Hot Spring Purple Bacterium Powers Photosynthesis with Extremely Low-Energy Near-Infrared Light”, *Biochemistry*, **64**, 170–179 (2025). DOI:10.1021/acs.biochem.4c00506.
42. K. Tani, R. Kanno, K.V.P. Nagashima, M. Kawakami, N. Hiwatashi, K. Nakata, S. Nagashima, K. Inoue, S. Takaichi, E.R. Purba, M. Hall, L.-J. Yu, M.T. Madigan, A. Mizoguchi, B.M. Humbel, Y.

- Kimura, Z.-Y. Wang-Otomo, “A Native LH1–RC–HiPIP Supercomplex from an Extremophilic Phototroph”, *Communications Biology*, 8, 42 (2025). DOI:10.1038/s42003-024-07421-w
43. K. Tani, K.P.V. Nagashima, R. Kojima, M. Kondo, R. Kanno, I. Satoh, M. Kawakami, N. Hiwatashi, K. Nakata, S. Nagashima, K. Inoue, Y. Isawa, R. Morishita, S. Takaichi, E.R. Purba, M. Hall, L.-J. Yu, M.T. Madigan, A. Mizoguchi, B.M. Humbel, Y. Kimura, Y. Nagasawa, T. Dewa, Z.-Y. Wang-Otomo, “A distinct double-ring LH1–LH2 photocomplex from an extremophilic phototroph”, *Nature Communications*, 16, 1410 (2025). DOI:10.1038/s41467-024-55811-9

B) 査読無し論文

なし

(2) 国際会議発表

A) 招待講演

1. M. Ratanasak, Y. Hori, K. Sato, Y. Shigeta, “Revisiting the Mechanism of Fluoroacetate Dehalogenase-Catalyzed Degradation of Fluorocarboxylic Acids using DFT Calculations”, *PACCON 2025*, Thailand, 2025/2/13.
2. K. Hengphasatporn, N. Kongkaew, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, and R. Harada, "Ligand Binding/Unbinding Pathways toward Organophosphate-Inhibited HuAChe" *ANSCSE27*, Bangkok, Thailand, 2024/7/31-8/2.
3. K. Hengphasatporn, “Molecular Dynamics Insights into 3D Domain Swapping in Human Antibody Light Chain”, *The 1st U Tsukuba- IISc Joint Workshop for Computer Sciences (HPC)*, Tsukuba, Japan, 2025/3/26.
4. Y. Shigeta, “Dynamical Interaction Analysis of Protein Interaction by Machine Learning Method”, *27th International Annual Symposium on Computational Science and Engineering*, Bangkok, Thailand, 2024/7/30-8/2.
5. Y. Shigeta, “Theoretical investigations on singlet fission and triplet-triplet annihilation up-conversion”, *2024 International Symposium on Quantum Dynamics of Complex Systems*, Shanghai, China, 2024/7/2.
6. Y. Shigeta, “Dynamical Interaction Analysis of Protein Interaction by Machine Learning Method”, *2024 International Symposium on Computational Molecular Science and Machine Learning*, Shanghai, China, 2024/6/29-7/1.
7. M. Shoji, “Homochirality and the Origin of Life”, *Astrobiology Center Symposium Reiwa-6th*, Tokyo, Japan, 2024/12/2.

8. K. Tani, “The variety of Cryo-EM techniques: 2D crystals and Single Particle Analysis for Membrane proteins”, *Series on Structural Biology of BRIN*, Indonesia (May 16, 2024)

B) 一般講演

1. Y. Hori, M. Ratanasak, K. Sato, T. Yamamoto, T. Narumi, N. Mase, Y. Shigeta, “Thioester hydrolysis mechanism catalyzed by boric acid and its derivative”, *International Conference on Catalysis and Reaction Engineering (CRE-2025)*, Boston, United States, 2025/2/11.
2. M. Shoji, T. Nakazono, H. Isobe, K. Yamaguchi, T. Wada, “O-O bond formation promoted by a phenol radical in a ruthenium complex”, *IPS24 ICARP2024 Young*, Hiroshima, Japan, 2024/7/28.

(3) 国内学会・研究会発表

A) 招待講演

1. 岡澤一樹、「逆減衰単一分子ワイヤーの分子設計、超分子集合体の構造予測」、『凝縮系の理論化学 2025』、沖縄県市町村自治会館、2025 年 3 月 11 日
2. 堀優太、「理論計算による酵素触媒反応機構の解析」、『分子科学会アジア国際シンポジウム』、関西大学千里山キャンパス、2025 年 3 月 26 日
3. 堀優太、「量子化学計算による化学反応解析」、『グリーン科学技術研究所 グリーン分子創造技術コア 特別セミナー』、2024 年 7 月 29 日、静岡大学浜松キャンパス
4. 原田 隆平、「生体機能を紐解く新しい分子シミュレーション手法の開発」、『筑波ミニワークショップ 「計算・分光・情報・合成が拓く分子設計の最前線」』、筑波大学、2024 年 11 月 14 日
5. 庄司光男、「アミノ酸ホモキラリティ増幅機構」『研究会「宇宙線学」の共創』、関西セミナーハウス、2024 年 12 月 16-17 日
6. 庄司光男、「銅含有アミン酸化酵素のプロトン化状態についての中性子構造と理論計算(QM/MM)比較」、『第二回中性子生命科学連携強化研究会』、京都大学複合原子力科学研究所、2024 年 11 月 21 日
7. 庄司光男、「VR(Virtual Reality)における分子構造表示」、『CAMM フォーラム』、ビジョンセンター田町、2024 年 11 月 1 日
8. 庄司光男、「アミノ酸ホモキラリティ起源についての理論探究」、『研究会「宇宙線学」の共創』、大阪公立大学杉本キャンパスサイエンスホール、2024 年 5 月 9 日
9. 谷一寿、紅色細菌由来の光合成膜タンパク質複合体とクライオ電子顕微鏡の相性、第 31 回光合成セミナー、2024 年 6 月 29 日、龍谷大学

10. 谷一寿、創薬・生命科学研究へ向けたクライオ電子顕微鏡の出力データ、情報処理、計算科学研究センター・機械学習 AI 入門シリーズ, 2024 年 07 月 29 日、オンライン
11. 谷一寿、多様なクライオ電子顕微鏡技術ー膜タンパク質のため電子線結晶学と単粒子解析ー、シリーズ第 7 回 CRYO ARM 講座、2024 年 8 月 1 日、オンライン

B) その他の発表

1. Kowit Hengphasatporn “Dealing with the Complexity: Insights into Protein-Ligand and Supramolecular Systems through Fragment Molecular Orbital Calculations” *Faculty of Chemistry's Seminar*, Mahidol University, Thailand, 2024/11/6
2. Kowit Hengphasatporn “Molecular docking on the cloud”, *Global and Frontier Research University Program & Center of Excellence for Natural Health Product Innovation*, Naresuan University, Thailand, 2024/11/7-8
3. Kowit Hengphasatporn “Molecular visualization”, Chulalongkorn University, Thailand, 2024/11/11
4. K. Hengphasatporn, “FMO-guided application for drug discovery and design”, *2024 China-Thailand-Japan Joint Seminar*, Tongji University, China, 2025/1/1
5. K. Hengphasatporn, “Molecular Dynamics Insights into 3D Domain swapping of human antibody light chain”, *Nexus Thailand-Japan Bilateral Research Exchange Symposium*, Tohoku University, 2025/1/16
6. K. Hengphasatporn, “Bridging Experiment and Computation: Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulation for Computer-Aided Drug Discovery”, Chiangmai University, Thailand, 2025/03/3
7. K. Hengphasatporn, “Everyone Can Dock, Everyone Can Do: A Practical Guide to Molecular Docking for All”, Mahidol University, Thailand, 2025/03/5
8. Mitsuo Shoji, Koichi Miyagawa, Yasuteru Shigeta, “QM and MM simulations of the biomolecular chemical reactions”, *CCS MCRP 2023*, Tsukuba, Japan, 2024/10/8 (Poster).
9. Mitsuo Shoji, Koichi Miyagawa, Yasuteru Shigeta, Kizashi Yamaguchi, “Reaction mechanisms of water oxidation in natural and artificial photosynthesis”, *2nd AOICP2024*, Kobe, Japan, 2024/9/18-21 (Poster).
10. Mitsuo Shoji, Takashi Nakazono, Hiroshi Isobe, Kizashi Yamaguchi, Tohru Wada, “Reaction mechanism of an efficient water oxidation catalyzed by a ruthenium complex with a phenolic group”, *IPS24 ICARP2024*, Hiroshima, Japan, 2024/7/30 (poster).

11. Mitsuo Shoji, Takashi Nakazono, Hiroshi Isobe, Kizashi Yamaguchi, Tohru Wada, “O-O bond formation promoted by a phenol radical in a ruthenium complex”, *IPS24 ICARP2024 Young*, Hiroshima, Japan, 2024/7/27 (poster).
12. 庄司光男, 「アミノ酸ホモキラリティの起源と増幅についての理論化学的探求, 第 26 回理論化学討論会」、筑波大学大学会館、2024 年 5 月 22 日、ポスター発表.
13. 渋谷綾音、堀越直樹、谷 一寿、胡桃坂仁志、岩崎憲治、「ヌクレオソームリンカー DNA と H1 存在下での SSX2RD 構造」、2024 年度 TARA セミナー・生理研研究会、2024 年 10 月 29 日、筑波大学
14. 原田彩佳、谷一寿、菅野亮、岩崎憲治、木村行宏、大友征宇、「High-resolution structural analysis of a membrane protein using a CRYO ARM300 II equipped with an omega filter」、第 24 回日本蛋白質科学会年会、2024 年 6 月 11 日、札幌コンベンションセンター
15. 森凱世、木村行宏、三野広幸、瀬戸隆太、松田佳樹、竹中慎治、Endang R. Purba、Michael T. Madigan、大友 征宇、谷一寿、「紅色非硫黄細菌 *Blastochloris tepida* における LH1-RC 複合体の構造機能解析」、第 31 回光合成セミナー、2024 年 6 月 29 日、龍谷大学
16. 南野朱音、竹中慎治、Endang R. Purba、Michael T. Madigan、大友征宇、谷一寿、木村行宏、「好熱性紅色硫黄細菌 *Caldichromatium japonicum* における LH1-RC 耐熱化の分子機構」、第 31 回光合成セミナー、2024 年 6 月 29 日、龍谷大学

(4) 著書、解説記事等

1. R. Harada, Y. Mitsuta, Y. Shigeta, “Development of Membrane Permeability Coefficient by Means of Novel Molecular Dynamics Methods”, *YAKUGAKU ZASSHI*, 144, 545-551 (2024).
2. 庄司光男、「特集:宇宙化学」、理論化学会会誌「フロンティア」7月号 (第6巻3号)、通巻23号、page 79、2024年7月31日
3. 庄司光男、「第26回理論化学討論会開催報告」、理論化学会会誌「フロンティア」7月号 (第6巻3号)、通巻23号、page 116-118, 2024年7月31日
4. 庄司光男、「第26回理論化学討論会のご案内」、理論化学会会誌「フロンティア」1月号 (第6巻1号)、通巻21号、2024年1月31日
5. 庄司光男、「銅含有アミン酸化酵素における動的酵素反応機構」、生体の科学、75(3), 213-218, 2024. 2024年6月15日、ISSN 0370-9531
6. 庄司光男、「量子分子特性からアミノ酸ホモキラリティ起源に挑む」、分子シミュレーション学会誌アンサンブル、106(26), 175-181, 2024. 2024年4月30日、ISSN 0370-9531

7. 谷一寿, 木村 行宏, 大友 征宇, 紅色硫黄細菌の光合成と Ca^{2+} : カルシウムイオン欠乏環境での光合成戦略—特集 光合成技術の最新の研究, 光アライアンス/ 光アライアンス編集委員会 編 35(9) 22-25 2024 年 9 月
8. 木村 行宏, 谷 一寿, 大友 征宇, 極限環境に生息する紅色光合成細菌由来 LH1-RC 複合体の構造と機能, 低温科学 83 9-22 2025 年 3 月
9. 谷一寿、高濃度・高アルカリ環境に生息する紅色硫黄細菌の光合成機構を解明、科学新聞、2025 年 3 月 14 日

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）

- ・計算メディカル推進事業
- ・学際ハブ拠点
- ・宇宙生命連携

産学官連携

- ・豊田理研
- ・日本曹達との共同研究
- ・東京エレクトロンとの共同研究

国際連携・国際活動

- ・ Chularongkorn University 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. 岡澤 一樹、第 4 回理論化学若手セミナー、筑波大学計算科学研究センターワークショップ室、2024 年 5 月 20 日
2. 庄司光男(実行委員長)、重田 育照(副実行委員長)、松井 亨、原田隆平、堀 優太、Hengphasatporn Kowit、藤木涼、岡澤 一樹、第 26 回理論化学討論会、筑波大学大学会館、2024 年 5 月 21-23 日
3. 望月俊昭、谷一寿、Cryo-EM コース、2025 年 1 月 27 日～31 日、沖縄科学技術大学院大学(OIST)

9. 管理・運営

重田育照

筑波大学 副学長・理事（研究担当）

原田隆平

筑波大学計算科学研究センター 一般利用委員会

生命環境学群 生物学類 クラス担任

10. 社会貢献・国際貢献

なし

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
助教	中山卓郎
学生	大学院生 5名（前期課程在学5名）、学類生 2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 (Yazaki et al. 2021 *Parasitol Internat* 83:102364)、⑨*Microheliella maris* の系統的位置の解明とメガ生物群 CAM クレードの提唱 (Yazaki et al. 2022 *Open Biol* 12:210376)、⑩ミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼ (DNAP) の初期進化に伴う 340 遺伝子データに基づく真核生物大系統の推測 (Harada et al. 2024 *Mol Biol Evol* 41:msae014) を行ってきた。本稿では、現在プレプリントとして公開している *Glissandra oviformis* SRT312 株に関する解析結果を報告する (Yazaki et al. 2025 *bioRxiv* DOI: 10.1101/2025.03.26.645259)。

Glissandra は真核生物主要系統の一つである CRuMs クレードのメンバーである

原生生物 (動物・陸上植物・菌類を除く真核生物) は、真核生物の系統樹 (eukaryotic Tree of Life ; eToL) の大部分を構成しており、原生生物の多様性の解明は、真核生物の進化を理解する上で重要な鍵となる。しかし、原生生物のほとんどは肉眼では見えない単細胞生物であることから、動物や陸上植物などの多細胞生物に比べ、その理解は依然として不十分である。分類群として記載されている原生生物の中には、自然環境中の現存量が極めて少ないことや、実験室内での培養が困難であるために、詳細な顕微鏡観察や遺伝子・ゲノムデータを用いた研究の対象となっていない種が数多く存在する。我々は、存在は認識されていないが eToL の中での系統的な位置付けが不明な原生生物を、系統的帰属不明原生生物 (protists with uncertain phylogenetic affiliations ; PUPA) と呼称している。eToL の全体像を解明するためには PUPA を形態的・系統的に特徴付けていくことが不可欠だが、そのほとんどは実験室内での培養が行われておらず研究を進めることができていない。従って、PUPA を再度自然環境中から単離し、顕微鏡下での観察と遺伝子配列、さらに最近ではゲノム配列まで解析する必要がある。

我々は 2013 年にパラオ共和国の海水湖から採集した海藻の表面のサンプルから単細胞の鞭毛虫を単離し、その培養株を確立することに成功した。本生物は体長約 5 μm ほどの楕円形で、光学顕微鏡による観察から、二本の鞭毛を持ち、基質上をゆっくりと滑走する様子が観察された (図 1A)。滑走時には、一本の鞭毛は前方に、もう一本は後方に一直線に伸びていた。後方に伸びた鞭毛は全長に渡って基質に接着していたが、前方に伸びる鞭毛では先端だけ基質から離れて前後に振れる様子が観察された。この特徴的な鞭毛の運動から、本生物は PUPA の一つである *Glissandra* 属の原生生物であると判断された。一方で、細胞の形状や鞭毛の根元の構造などが、これまでに知られている *Glissandra* 属のどの種とも一致しなかったため、本生物を *Glissandra* 属の新種 *Glissandra oviformis* (*G. oviformis*) として記載することとした。

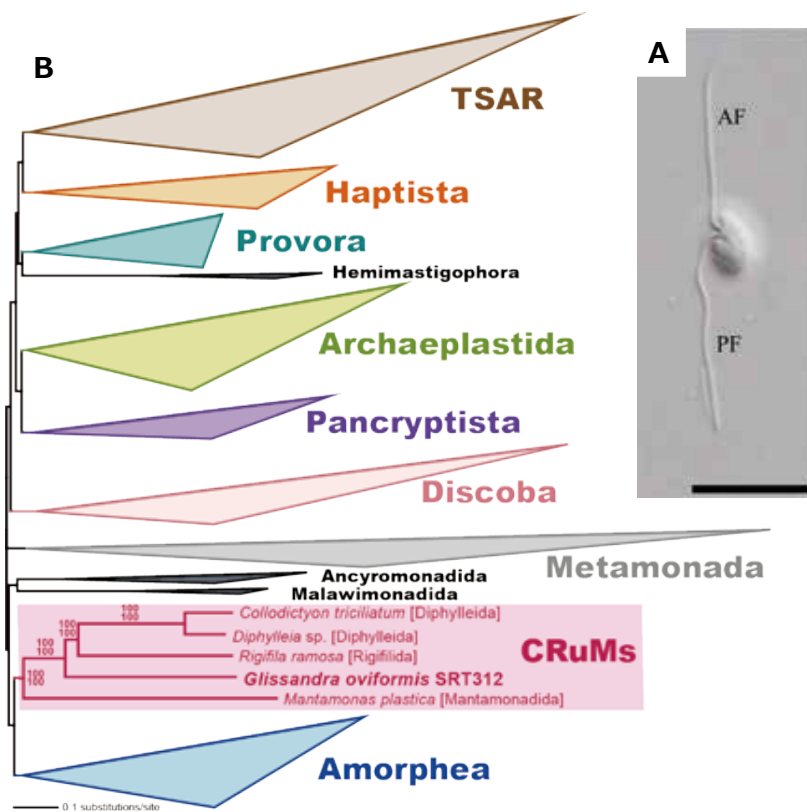


図 1. *Glissandra oviformis* の光学顕微鏡写真 (A) と 340 タンパク質配列に基づく系統樹 (B) .

(A) 基質表面を滑走する *G. oviformis* 細胞. AF, 前鞭毛. PF, 後鞭毛. 黒線は 10 μm のスケールバー. (B) 340 タンパク質配列に基づく最尤法系統樹. *G. oviformis* の系統的位置に主要な二分岐については、最尤法によるノンパラメトリックブートストラップ値 (上) とウルトラファストブートストラップ値 (下) を表示した.

次に、*G. oviformis* の系統的位置を明らかにするために、小サブユニットリボソーム RNA 遺伝子配列を用いた分子系統解析を行ったが、本生物の eToL における系統的位置を確定することはできなかった。そこで *G. oviformis* に対して RNA-seq 解析を行い、タンパク質遺伝子転写物を網羅的に決定した。さらに、その RNA-seq データを基盤として 132 生物種、340 個のタンパク質に基づく大規模分子系統解析を行った。その結果、*G. oviformis* は真核生物の主要な系統の一つである CRuMs (クルムス) の新規系統であることが明確に示された (図 1B)。CRuMs は 2018 年に分子系統解析の結果から提唱された系統群であり、形態的に多様な原生生物によって構成されている。しかしこの系統群に含まれる原生生物に対する細胞内微細構造観察等は十分ではなく、CRuMs クレードの進化における形態形質の進化は推測されていなかった。

電子顕微鏡を用いて *G. oviformis* の微細構造観察を実施した。その結果、*G. oviformis* は一部の CRuMs で報告されているペリクルや鞭毛移行帯に中心対微小管を囲むスリーブなどを持つことが分かり (図 2)、これらの特徴が少なくとも *G. oviformis* を含む CRuMs 内の特定の系統で保存されていることが示された。すなわち、CRuMs に属する生物種が共通して保持する可能性がある細胞微細構造を特定することに、世界で初めて成功した。

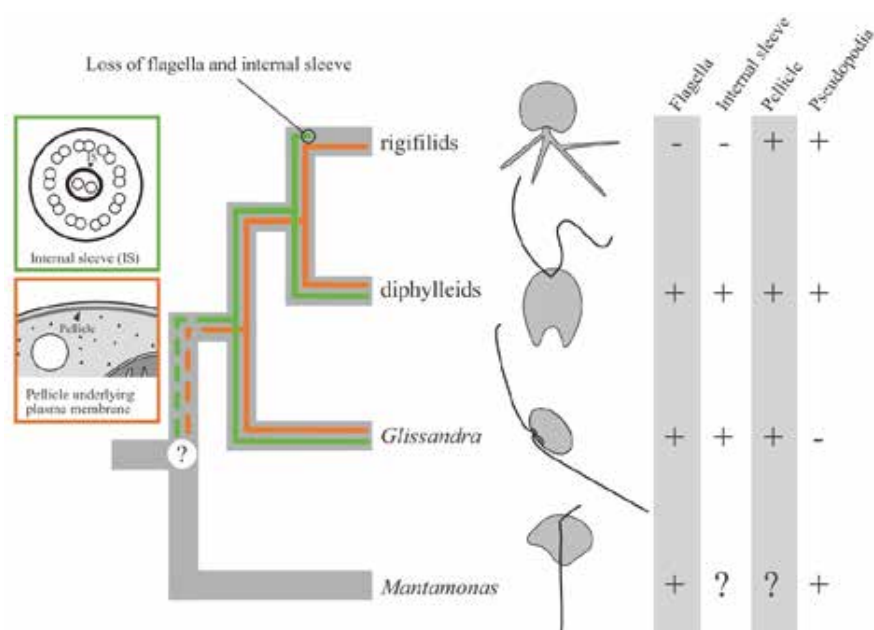


図 2. CRuMs クレード内での形質進化。図中左側に、これまで確認された CRuMs クレードにふくまれる 4 系統の系統関係を模式的に示し、各系統における鞭毛 (Flagella) の有無, 中心対微小管を囲むスリーブ (Internal sleeve) の有無, 細胞膜直下の膜構造であるペリクル (Pellicle) の有無, 偽足 (Pseudopodia) の有無を, + と - で示した。マンタモナスの細胞内微細構造データがないため, Internal sleeve と Pellicle の有無は不明である。左側の模式的系統樹中の緑とオレンジの線は, これまでの電子顕微鏡観察データから推測される Internal sleeve と Pellicle の起源を示す。rigifilids, diphyllaeids および *Glissandra* の共通祖先では両形質をもっていたと推測できる。

未記載真核微生物 SRT308 株 (2016 年度年次報告書参照) および未記載真核微生物 SRT706 株については (2022 年度年次報告書参照)、矢吹彬憲博士 (海洋研究開発機構) および Dalhousie 大学 (カナダ) の Alastair G. B. Simpson 教授と Andrew J. Roger 教授との共同研究として解析が進んでおり、今後論文作成を行う予定である。また 2023 年度年次報告で報告した一次植物を構成する 3 つのサブクレード間の系統関係の検証は終了しており、磯貝龍昌氏 (生命地球科学研究群生物学学位プログラム前期課程 2 年) を中心に投稿論文を取り纏め、プレプリントとして公開した (Isogai et al. 2025 *bioRxiv* DOI: 10.1101/2025.05.06.652364)。

【2】各種トランスクリプトーム・ゲノム解析

原生生物に共生するバクテリアのゲノム解析

自然環境において、多くの細菌が様々な真核生物と共生関係を築いている。こうした共生関係はそれら共生細菌の進化に影響しており、中でもゲノムに与える進化的影響は明確である。共生細菌の中にはゲノムサイズが 1Mbp 以下と極端に縮小したものも散見され、このように縮小した共生細菌ゲノムを調査することは、個々の共生メカニズムを理解する上で重要なだけでなく、細菌の生存に必要な不可欠な遺伝子セットの同定や生物学的プロセスの根幹を理解するためのモデルとしても有用である。

上記のような基本原理を推測するためには、ゲノム縮退を起こした共生細菌を幅広く調べることが重要である。これまでの研究において、系統的に多様な共生細菌のゲノムが解析されてきたが、ほとんどの研究は動物を宿主とする共生細菌に焦点を当てたものである。一方、動物を含む多細胞系は真核生物の多様性全体のごく一部であり、単細胞真核生物がその大部分を占めていることが近年広く知られるようになった。単細胞真核生物にも共生細菌が遍在的に存在することが知られているが、単細胞真核生物における共生細菌の系統のおよびゲノムの多様性についての研究は、動物の共生細菌に比べ大きく立ち遅れている。

本年度において我々は、海洋渦鞭毛藻 *Citharistes regius* に共生する2種類のプロテオバクテリア RS3 および XS4 について、昨年度までに明らかにした極端なゲノム縮小とそれに伴う遺伝暗号の特異性、そして広範な代謝系の縮退といった基本的なゲノム特性に加え、これらの細菌が寄生的な生活様式へ適応進化する上で鍵となった可能性のある分子基盤と進化的イベントについて、より詳細な解析を行った。

昨年度までの研究で、*C. regius* の単一細胞から得られたメタゲノム情報から、2種の新規ガンマプロテオバクテリア RS3 および XS4 の完全長ゲノム (RS3: 529 Kbp, XS4: 436 Kbp) の解読に成功した。これらのゲノムサイズは既知の自由生活性細菌と比較して著しく小さく、GC 含量も RS3 で 33%、XS4 では 28%と低い値を示した。系統解析の結果、RS3 と XS4 は *Fastidiosibacteraceae* 科に属するものの、その中で独立した系統群を形成することが示された。比較ゲノム解析からは、これらの細菌はアミノ酸合成経路やヌクレオチド合成経路、ペプチドグリカン合成経路など、独立栄養細菌にとって必須な多くの代謝経路を欠損しており、宿主への栄養的な依存度が極めて高いことが示唆されていた。特に XS4 では、一般的な終止コドンである UGA がトリプトファンをコードするという遺伝暗号の改変が推定されていた。

本年度は、これらの知見をさらに深化させ、特に XS4 における遺伝暗号改変の分子的基盤の解明、および RS3 と XS4 が共通して獲得したと考えられるエネルギー寄生という生存戦略とその進化的背景の解析に注力した。

1. XS4 における UGA コドン再割り当てに関する分子的基盤の推定 昨年度の解析により、XS4 ゲノムにおいて終止コドン UGA がトリプトファンをコードしている可能性が強く示唆されたが、本年度はその分子的基盤について詳細な解析を行った。一般に、UGA コドンをトリプトファンとして翻訳するためには、UGA コドンを認識できる tRNA^{Trp}が必要となる。RS3 と XS4 のゲノム上の tRNA 遺伝子を再検討したところ、両生物ともにトリプトファンに対応する tRNA (tRNA^{Trp}(CCA)) は1コピーのみ存在した。この tRNA^{Trp}(CCA)の二次構造を詳細に比較した結果、標準的な遺伝暗号を用いる RS3 では、より一般的な長さである5塩基対のアンチコドンシステムを持っていたのに対し、XS4 の tRNA^{Trp}(CCA) では、短い4塩基対の

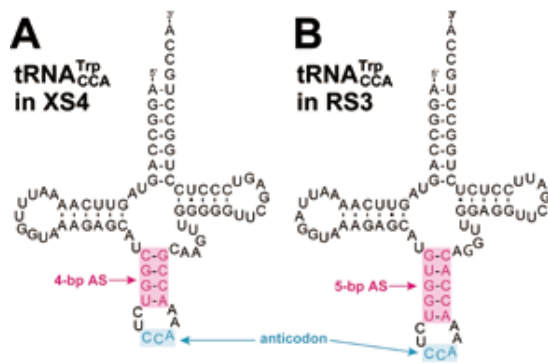


図 3. XS4 および RS3 における tRNA^{Trp}(CCA)の予測二次構造.

XS4 の tRNA^{Trp}(CCA) (A) のアンチコドンステムが 4 塩基対によって構成されるのに対し、RS3 の tRNA^{Trp} (B) では 5 塩基対で構成される。(出典: Nakayama et al., 2025, *bioRxiv*, doi:10.1101/2025.01.03.631278. CC BY 4.0.)

アンチコドンステムを有していた (図 3A および B)。寄生性原生生物 *Blastocrithidia nonstop* は UGA コドンをトリプトファンとして翻訳することが知られるが、近年の研究により *B. nonstop* は XS4 と同様に短い 4 塩基対のアンチコドンステムを持ち、この構造が UGA コドンの翻訳に重要であることが実験的に示されている。このことから、XS4 においても、tRNA^{Trp}(CCA)のアンチコドンステムの長さの違いが UGA コドンのトリプトファンへの効率的な翻訳や認識に関与している可能性が示唆された。

2. ADP:ATP アンチポーター遺伝子の水平伝播の発見 RS3 および XS4 はアミノ酸やビタミン、ヌクレオチドといった多数の必須代謝産物の生合成経路を欠損しており、これらの栄養素を宿主に依存して獲得していると示唆されていた。本年度の解析により、これらの細菌が栄養素の獲得に留まらず、エネルギー通貨である ATP そのものを宿主細胞から直接獲得する「エネルギー寄生」という戦略をとっている可能性が明らかとなった。この議論の直接的な根拠は、RS3 および XS4 両ゲノムからの ADP:ATP アンチポーター遺伝子の発見である。ADP:ATP アンチポーターは、細胞膜上に存在し、細胞内外の ATP と ADP を交換輸送する役目を担う。この輸送体遺伝子は、RS3 および XS4 が属する *Fastidiosibacteraceae* 科の他の近縁な細菌 (*Fangia* 属、*Facilibium* 属、*Cysteiniphilum* 属、*Caedibacter* 属、*Fastidiosibacter* 属など) のゲノムには保存されていない。この遺伝子の系統解析を行ったところ、RS3 と XS4 の配列は単系統群を形成し、他のプロテオバクテリア配列との近縁性は支持されなかったことから、この遺伝子は RS3 と XS4 の共通祖先が、他の細菌系統からの水平伝播によって獲得したものであると強く推定された。

ADP:ATP アンチポーター遺伝子の獲得は、RS3 および XS4 の祖先が、エネルギー寄生というニッチを確立する上で重要な進化的イベントであったと考えられる。*Chlamydia* や *Rickettsia* といった偏性細胞内寄生細菌も、同様に遺伝子水平伝播によって獲得された ADP:ATP アンチポーターを利用して宿主から ATP を収奪していることが知られている。RS3 および XS4 においても、この遺伝子の獲得が自身の ATP 合成経路を縮小させ、結果として極端なゲノム縮小をさらに促進する要因の一つとなった可能性が考えられる (図 4)。

昨年度の研究結果も含めた本研究の成果を論文として取り纏め、プレプリントとして公開した (Nakayama et al. 2025 *bioRxiv* DOI: 10.1101/2025.01.03.631278)。

色素体ゲノム解析

我々は、これまでに3種の緑色渦鞭毛藻、*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; Matsuo et al. 2022 *Front Plant Sci* 13:918543)。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、国立科学博物館・谷藤吾郎博士と共同でクリプト藻の色素体ゲノム解読を行った(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; Tanifuji et al. 2020 *Genome Biol Evol* 12:3926-3937)。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(共生ペディノ藻の痕跡核)の解読を開始した。また未記載渦鞭毛藻 TRD-132株についてもヌクレオモルフゲノムの解読を目指し、シーケンス解析を開始した。2022年度には、東京大学アジア生物資源環境研究センター・岩滝光儀博士と高橋和也博士との共同研究として、カレニア科渦鞭毛藻類10種の葉緑体ゲノムの解読を試み、そのうち2種(*Takayama* cf. *xiamenensis* NGTk657 および *Karlodinium ballantini*)の色素体ゲノムを完全解読した(2023年度年次報告書参照)。これらの色素体ゲノムデータは、2023年度から始まったチェコ共和国科学アカデミー・Elisabeth Hehenberger博士との二国間共同事業共同研究の一環として英文論文を執筆中である。

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:e373707; 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; Yazaki et al. 2022 *Front Ecol Evol* 10:1030570)。2025年度はアンキロモナス類に属する複数種のMtゲノムを解読したので報告する(Harada et al. 2025 *bioRxiv* DOI:0.1101/2025.03.26.645259)。

【アンキロモナス類 Mt ゲノム解析】真核生物の主要系統群間の系統関係を解明するため、大規模分子系統解析が盛んに行われている。しかし未だに系統的帰属がはっきりとしない真核生物系統が存在する。近年の解析でアンキロモナス類とマラウイモナス類間で姉妹群関係が示唆されてきているが、真核生物系統樹中でアンキロモナス類がどのような系統と近縁となるかについて結論は出ていない。しかし大規模解析でもアンキロモナス類の系統的位置を解明できないこれまでの研究結果は、本生物群が真核生物進化の比較的初期に分岐した系統であることを示唆するともいえる。本研究で我々はアンキロモナス類に属する3種(4培養株)に注目し、*Ancyromonas sigmoides*、*Nutomonas longa*、*Fabomonas tropica*(NYK3C株およびSRT902株)のミトコンドリアゲノムを解読した。

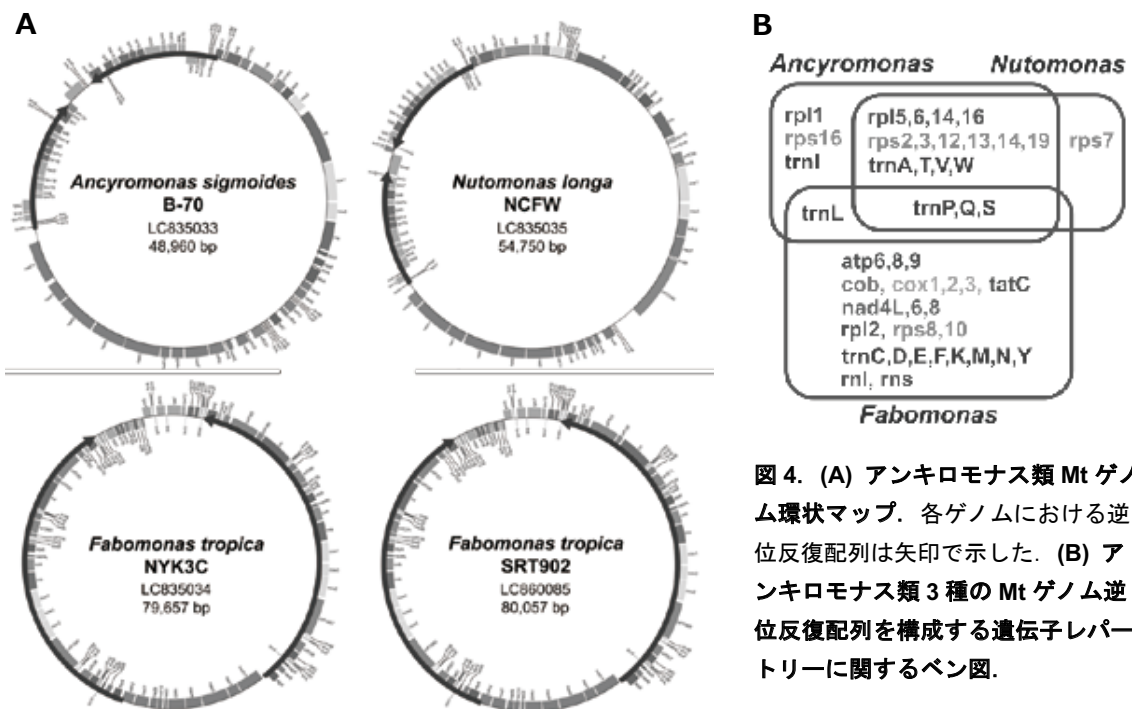


図 4. (A) アンキロモナス類 Mt ゲノム環状マップ。各ゲノムにおける逆位反復配列は矢印で示した。 (B) アンキロモナス類 3 種の Mt ゲノム逆位反復配列を構成する遺伝子レパートリーに関するベン図。

アンキロモナス類 3 種 4 株の Mt ゲノムは、共通してタンパク質遺伝子をふくむ逆位反復配列を持つ環状分子であった（図 4A；逆位反復配列は矢印で示した）。ただし逆位反復配列を構成する遺伝子は、アンキロモナス類 3 種間で異なっていた（図 4B）。従って、アンキロモナス類の共通祖先の Mt ゲノムでは既に逆位反復配列をもっていたが、アンキロモナス類の多様化と共に逆位反復配列を構成する遺伝子レパートリーも変化したと考えられる。逆位反復配列構造は系統的に近縁ではない複数の真核生物の Mt ゲノムでも観察されている。従って真核生物における Mt ゲノム進化上、逆位反復配列の獲得が独立に複数回起こったと考えざるを得ない。

アンキロモナス類 Mt ゲノムには、これまで解析された Mt ゲノムからは検出されていなかったリボソームタンパク Rps5 がコードされていた。またアミノ酸配列の相同性ではアノテーションできなかった *N. longa* ゲノム上の *orf198*、*F. tropica* NYK3C 株ゲノム上の *orf188* および *F. tropica* SRT902 株ゲノム上の *orf189* については、AlphaFold3 による予測 3 次構造とその相同性解析を行った。その結果、上記遺伝子はリボソームタンパク Rps5 および Rpl10 をコードしている可能性が高いことを明らかとなった（図 5A および B）。

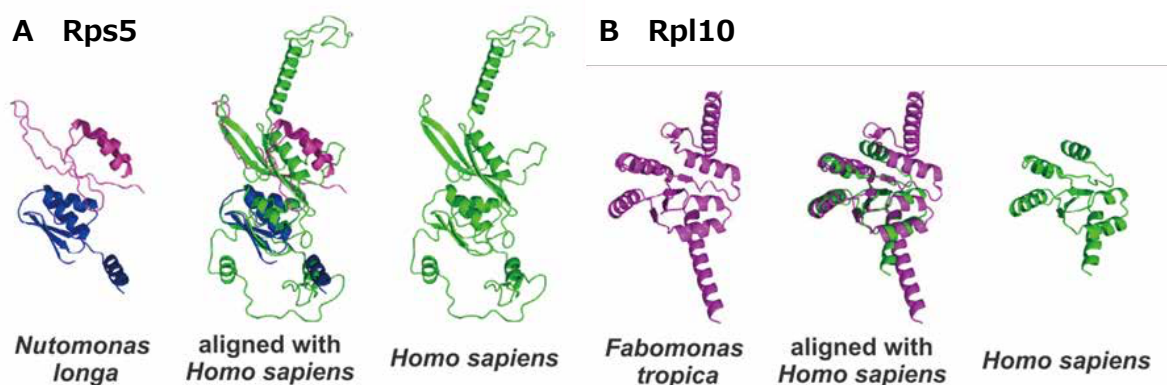


図5. 予測三次構造に基づくリボソームタンパクの同定. (A) Rps5. 左は *N. longa* Orf198 の予測構造, 右は実験的に決定されたヒト (*Homo sapiens*) ミトコンドリア Rps5 の三次構造, 中央は *N. longa* タンパクとヒトタンパク質構造の重ね合わせ. (B) Rpl10. 左は *F. tropica* NYK3C 株 Orf188 の予測構造, 右は実験的に決定されたヒトミトコンドリア Rpl10 の三次構造, 中央は *F. tropica* タンパクとヒトタンパク質構造の重ね合わせ.

本稿では詳細に触れないが、マラウイモナス類の近縁系統だと判明した SRT706 株と TS011B 株の Mt ゲノムについては、前者は完全解読済み、後者からは一部分のゲノム配列を決定した（生物学類4年松浦真子の卒業研究）。2025 年度に生命地球科学研究群生物学学位プログラム博士前期課程に進学した松浦は、TS011B 株と並行して、新奇真核微生物 TS028 株、TS010A 株、ブレビアータ類に近縁性をもつ TS034 株の Mt ゲノム解読を進める。2025 年度に生命地球科学研究群生物学学位プログラム博士後期課程に進学する磯貝龍邑は、真核生物主要系統の一つである CRuMs を構成する真核微生物 SRT605 株、TS056 株 (*Glissandra* sp.)、TS051 株 (*Mantamonas* sp.)、TS054 株の Mt ゲノム解読を目指す。

【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

2020 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、2021 年度報告した翻訳終結因子 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（ともに生命科学研究部門生命機能情報分野との共同研究）については英文論文の作成を目指し、解析を行った。

4. 教育

1. 磯貝龍邑, 修士 (理学), 一次植物の内部系統関係に関する研究: 核コードおよび葉緑体コードタンパク質に基づく大規模分子系統解析間で生じる矛盾点の理解を目指して.
2. 番場浩平, 修士 (理学), AU 検定を援用した系統樹の二分岐を評価する新規手法の提案とソフトウェアの開発.
3. 宮本知世, 修士 (理学), 細胞サイズ別環境 DNA を用いたピコシアノバクテリアの新規系統探索.
4. 上西慧莉紗, 学士 (理学), *Thermoproteota* 門古細菌における PCNA 進化.

5. 松浦眞子，学士（理学），Malawimonadida に近縁な未記載真核微生物 SRT706 株 と TS011B 株のミトコンドリアゲノム解析.

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

受賞

1. 番場浩平（生物学学位プログラム前期2年；稲垣指導学生），生命地球科学研究群長表彰，2025年3月25日.
2. 磯貝龍邑（生物学学位プログラム前期2年；稲垣指導学生），生物学学位プログラムリーダー賞，2025年3月25日.
3. 番場浩平（生物学学位プログラム前期2年；稲垣指導学生），2024年10月20日，ベストプレゼンテーション賞，日本共生生物学会第8回大会.

外部資金

1. 科学研究費補助金 基盤研究（B），稲垣祐司（代表），2023-2026 年度，交付額：全年度直接経費 14,100 千円（2024 年度直接経費 3,700 千円），真核生物のゲノムデータに混入している原核共生体ゲノムの体系的探索（課題番号 23H02535）
2. 日本学術振興会 学術国際交流事業 二国間交流事業 チェコとの共同研究，稲垣祐司（代表），2023-2024 年度，交付額：全年度直接経費 5,000 千円（2024 年度直接経費 2,500 千円），3 次葉緑体をもつ渦鞭毛藻類における葉緑体進化（課題番号 BPI05044）
3. 科学研究費補助金 基盤研究（C），中山卓郎（代表），2024-2026 年度，交付額：全年度直接経費 3,500 千円（2024 年度直接経費 1,400 千円），二次共生の中間段階にある共生者ゲノムの解読（課題番号 24K09587）

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. Pánek T, Tice AK, Žihala D, Corre P, Hrubá P, Kamikawa R, Mirzoyan S, Jones R, Yazaki E, Shiratori T, Kume K, Hashimoto T, Ishida K, Zadrobílková E, Hradilová M, Silberman JD, Stairs CW, Roger AJ, Inagaki Y, Eliáš M, Brown MW, Čepička I. An expanded phylogenomic analysis of Heterolobosea reveals the deep relationships, non-canonical genetic codes, and cryptic flagellate stages in the group. 2025 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 204:108289. DOI: 10.1016/j.ympev.2025.108289

2. Bamba K, Harada R, Inagaki Y. AUTOEB: A software for systematically evaluating bipartitions in a phylogenetic tree employing an approximately unbiased test. 2024 情報処理学会論文誌 バイオ情報学 17:72-82. DOI: 10.2197/ipsjtbio.17.72
3. Yazaki E, Uehara T, Sakamoto H, Inagaki Y. Dinotoms possess two evolutionary distinct autophagy-related ubiquitin-like conjugation systems. 2024 *Protist* 175:126067-126067. DOI: 10.1016/j.protis.2024.126067
4. 原田 亮, 稲垣 祐司. 2024 新奇 DNA ポリメラーゼ rdxPolA は、古のミトコンドリア DNA 維持装置の遺産か? 藻類 72:104-117.
5. Nakayama T, Nomura M, Yabuki A, Shiba K, Inaba K, Inagaki Y. 2024 Convergent reductive evolution of cyanobacteria in symbiosis with Dinophysiales dinoflagellates. *Scientific Reports* 14:12774. DOI: 10.1038/s41598-024-63502-0

B) 査読無し論文

1. Yazaki E, Harada R, Isogai R, Bamba K, Ishida K, Inagaki Y, Shiratori T. *Glissandra ovi-formis* n. sp.: a novel predatory flagellate illuminates the character evolution within the eukaryotic clade CRuMs. 2025 *bioRxiv* DOI: 10.1101/2025.02.18.638917
2. Nakayama T, Harada R, Yabuki A, Nomura M, Shiba K, Inaba K, Inagaki Y. Drastic genome reduction driven by parasitic lifestyle: Two complete genomes of endosymbiotic bacteria possibly hosted by a dinoflagellate. 2025 *bioRxiv* DOI: 10.1101/2025.01.03.631278
3. Harada R, Shiratori T, Yabuki A, Inagaki Y, Roger AJ., Kamikawa R. Complete mitochondrial genomes of ancyromonads provide clues for the gene content and genome structures of ancestral mitochondria. 2024 *bioRxiv* DOI: 10.1101/2025.03.26.645259

(2) 国際会議発表

A) 招待講演

なし

B) 一般講演

1. Euki Yazaki, Tadaaki Uehara, Hirokazu Sakamoto, Yuji Inagaki. Two evolutionarily distinct autophagy-related ubiquitin-like conjugation systems in dinotoms. APCOP-V 2024. Nov.4-6.2024, The University of Queensland (UQ) St Lucia Campus, Australia.
2. Yazaki Euki, Uehara Tadaaki, Sakamoto Hirokazu, Yuji Inagaki. Dinotoms possess two evolutionary distinct autophagy-related ubiquitin-like conjugation systems. Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution 2024. July.7-11,2024, Puerto Vallarta Convention Center, Mexico.

3. Yuji Inagaki. Recent endosymbiosis between a haptophyte and a Kareniacean dinoflagellate and “Full-furnished apartment” hypothesis. 5th Asian Marine Biology Symposium. Oct.28-30,2024, The Emerald Hotel, Thailand.

(3) 国内学会・研究会発表

A) 招待講演

1. 中山卓郎. 珪藻に共生する窒素固定シアノバクテリアと「ニトロプラスト」. 藍藻の分子生物学 2024. Dec.13-14,2024, 千葉県木更津市 かずさアカデミアホール

B) その他の発表

1. 久米慶太郎, 若島朋幸, 巖翼, 岩本亮介, 井上貴史, 谷藤吾朗, 神川龍馬, 稲垣祐司, 橋本哲男. ディプロモナス類の寄生虫化に伴い失われた遺伝子と獲得された遺伝子の分子系統解析. 第94回日本寄生虫学会大会. Mar.18-19,2025, 大阪府大阪市 大阪大学コンベンションセンター (吹田キャンパス)
2. 番場浩平, 原田亮, 稲垣祐司. 大規模系統解析におけるブートストラップ値 100%は信頼できるのか? : AU 検定を応用した系統樹中の二分岐に対する新たな評価手法. 第57回日本原生生物学会大会. Nov.22-24,2024, 山口県山口市 KDDI 維新ホール
3. 矢崎裕規, 原田亮, 磯貝龍邑, 石田健一郎, 稲垣祐司, 白鳥峻志. 系統的所属不明真核生物 *Glissandra oviformis* が拡張する CRuMs クレードの多様性. 第57回日本原生生物学会大会. Nov.22-24,2024, 山口県山口市 KDDI 維新ホール
4. 原田亮, 西村祐貴, 野村真未, 矢吹彬憲, 稲垣祐司, 中山卓郎. 単細胞ゲノム増幅産物から発見された極小古細菌ゲノム. 日本微生物生態学会第37回大会. Oct.28-31,2024, 広島県広島市 広島国際会議場
5. 稲垣祐司, 原田亮. Myzozoa におけるオルガネラ局在 DNA ポリメラーゼの多様性と進化. 日本共生生物学会第8回大会. Oct.19-20,2024, 茨城県つくば市 筑波大学
6. 番場浩平, 原田亮, 稲垣祐司. AUTOEB: AU 検定により系統樹の二分岐を評価するソフトウェア. 日本共生生物学会第8回大会. Oct.19-20,2024, 茨城県つくば市 筑波大学
7. 矢崎裕規, 原田亮, 磯貝龍邑, 石田健一郎, 稲垣祐司, 白鳥峻志. CRuMs クレードの進化を解明する系統的所属不明真核生物 *Glissandra oviformis*. 日本共生生物学会第8回大会. Oct.19-20,2024, 茨城県つくば市 筑波大学
8. 磯貝龍邑, 原田亮, 矢崎裕規, 中山卓郎, 稲垣祐司, 矢吹彬憲. 原生生物の核ゲノム転写物における RNA Editing の探索. 日本共生生物学会第8回大会. Oct.19-20,2024, 茨城県つくば市 筑波大学

9. 白鳥峻志, 原田亮, 磯貝龍邑, 中山卓郎, 稲垣祐司. Metamonada との近縁性が示唆される好気性原生生物の系統分類学的研究. 日本共生生物学会第8回大会. Oct.19-20,2024, 茨城県つくば市 筑波大学
10. 藤代彩花, 磯貝龍邑, 鈴木重勝, 高橋和也, 岩滝光儀, 稲垣祐司, 中山卓郎. 緑色渦鞭毛藻 TGD 株にみられるヌクレオモルフのゲノム解析 — 既知ヌクレオモルフゲノムとの共通点・相違点を探る—. 日本共生生物学会第8回大会. Oct.19-20,2024, 茨城県つくば市 筑波大学
11. 久米慶太郎, 若島朋幸, 巖翼, 岩本亮介, 井上貴史, 谷藤吾朗, 神川龍馬, 稲垣祐司, 橋本哲男. 寄生虫化に伴うディプロモナス類の遺伝子レパートリーの変化. 日本共生生物学会第8回大会. Oct.19-20,2024, 茨城県つくば市 筑波大学
12. 稲垣祐司, 原田亮. アピコンプレクサおよびその近縁系統におけるオルガネラ局在 DNA ポリメラーゼの多様性と進化. 奄美医科学研究シンポジウム. Oct.2-4,2024, 児島県名瀬市 アマホーム PLAZA
13. 藤代彩花, 磯貝龍邑, 鈴木重勝, 高橋和也, 岩滝光儀, 稲垣祐司, 中山卓郎. 緑色渦鞭毛藻 TGD 株のヌクレオモルフゲノムの解析. 日本植物学会第88回大会. Sep.13-16.2024, 栃木県宇都宮市 宇都宮大学陽東キャンパス・ライトキューブ宇都宮
14. Bamba Kohei, Harada Ryo, Inagaki Yuji. AUTOEB: A software for systematically evaluating bipartitions in a phylogenetic tree employing an approximately unbiased test. 第79回バイオ情報学研究会. Sep.6.2024, 広島県広島市 広島工業大学五日市キャンパス

(4) 著書、解説記事等

1. 稲垣 祐司, 原田 亮. オルガネラ局在 DNA ポリメラーゼの多様性と進化：現状とこれからの課題. 2024 月刊アグリバイオ 8:43-47

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研究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. 筑波大学計算科学研究センター計算情報学研究部門データ基盤分野（天笠俊之教授）との共同研究：機械学習をもちいた真核生物ゲノム中のイントロン境界の予測

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 ポリメラーゼの多様性に関する研究
4. Elisabeth Hehenberger よび Martin Kolisko 博士（Institute of Parasitology, Czech Academy of Sciences・チェコ共和国）との共同研究：3次葉緑体をもつ渦鞭毛藻類における葉緑体進化

8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

日本共生生物学会第8回大会，2024年10月19－20日，筑波大学計算科学研究センターワークショップ室（参加者43名）

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人事委員、計算科学研究センター共同研究委員、計算科学研究センター学際計算科学連携室室長

中山卓郎：生物学学位プログラム広報・HP委員、生物系D棟サブネットワーク管理委員、生物学類大学説明会委員、計算科学研究センター研究員会議書記

10. 社会貢献・国際貢献

なし

11. その他

なし