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(数理物質系)
准教授	原田 隆平(生命環境系)
助教	庄司 光男(数理物質系)、堀 優太(数理物質系)
	Kowit Hengphasatporn (生命環境系)
研究員	三嶋 謙二、森田 陸離、宮川 晃一、下山 紘充、松井 正冬、
	宗井陽平、Mrinal Kanti Si、藤木 涼
学生	大学院生 5名、学類生 1名
教授	広川 貴次(学内共同研究員、医学医療系)
助教	吉野 龍之介(学内共同研究員、医学医療系)

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。令和四年度は、[1] 薬剤の膜透過プロセス抽出を可能にする計算手法の開発、【2】ロドプシンの構造変化に関す る理論的解明、【3】光捕集蛋白質における効率的エネルギー移動についての理論的解析、【4】 銅含有アミン酸化酵素におけるセミキノンラジカル生成機構の理論解明、【5】金属タンパク 質の構造と電子状態の解析、【6】宇宙生命連携、【7】MnBi 系磁性材料のマテリアルズイン フォマティクス、【8】3次元ドメインスワッピング現象の解析、【9】First-Principles studies of enhanced dielectric response in tetragonal and monoclinic ZrO₂ with Te substitution、【10】 Computational study for drug discovery and design research などの研究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)、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] 薬剤の膜透過プロセス抽出を可能にする計算手法の開発(原田、森田、重田)

生体膜を介して生体外から生体内へ化合物を取り込み、疾患原因となる標的分子を活性阻害 するプロセスにおいて膜透過性の評価は重要である。分子動力学計算(MD)は、膜透過に伴 う化合物の構造変化を詳細に追跡できるが、現実的な計算コストで膜透過を抽出することは 難しい。何故ならば、膜透過に要する時間スケールと比較して MD が追跡可能な時間スケー ルが極めて短いからである。通常の MD が到達不可能な時間スケールで誘起される生命現象 は生物学的レアイベントとみなされ、膜透過プロセスも該当する。到達時間スケールの限界 による探索不足を打破するため、構造サンプリング法が提案されてきた。本研究では、これ まで開発を進めてきた構造サンプリング法(レアイベントサンプリング法)から、 Parallel Cascade Selection MD (PaCS-MD) と Outlier Flooding Method (OFLOOD) を併用したハイブリ ッドサンプリング法に基づき、膜透過プロセスを抽出した。[R. Harada, R. Morita, Y. Shigeta, J. Chem. Inf. Model. (2023)] また、生成されるトラジェクトリを利用して膜透過に伴う自由エネ

ルギープロファイルと膜透過係数を見 積もり、膜透過性を議論した。

本手法の妥当性を検証するため、先 行研究で調べられている4つの化合物 (図1: DOM,LBT,LOP,DSP)に対し て脂質二重膜における膜透過プロセス を抽出した。さらに,膜透過に伴う自 由エネルギープロファイル及び膜透過 係数を計算し、実験値との相関関係を 調べた。図2は、PaCS-MDを適用して 抽出した4つの化合物の膜透過プロセ スを示す。図2が示すように、サイク ルが進むにつれて化合物の重心座標

(Z_{COM})が小さくなっていき、脂質二重 膜の上方から下方へ化合物が膜透過し ていく様子がわかる。次に、PaCS-MD により生成した初期膜透過プロセスをも とにOFLOODを適用して広域的な構造空 間を探索した。ここで、Z_{COM}に追加して化 合物の膜表面に対する配向を記述する変 数(Δz)を考慮し、2次元構造空間を定義 した。最終的に、探索した 2次元構造空間 から代表構造を選択し、OFLOOD により プロダクションランを実行した。図3は、







図 2. PaCS-MD を適用して抽出した化合物の膜透過プ ロセス



図3. 膜透過に伴う自由エネルギー

長時間 MD により生成されたトラジェクトリからマルコフ状態モデルを構築して計算した 2 次元構造空間における化合物の膜透過に関する自由エネルギープロファイルであり、化合物 が膜透過する経路を考察できる。より定量的な膜透過性評価として、化合物に対して構築し たマルコフ状態の固有値から膜透過係数を算出したところ、化合物に対する膜透過係数の計 算値と実験値との相関プロット(R²~0.89)であった。結論として、定量的な一致は難しいものの、定性的に高い相関を示すことが確認できた。以上より、本手法を適用することで化合物の膜透過に伴う自由エネルギープロファイル及び膜透過係数を定性的に算出できる。計算値の定量的な議論に関しては、計算の精度向上を目指すことで将来的に改善していく予定である。

[2] ロドプシンの構造変化に関する理論的解明(宮川、庄司、重田)

ロドプシンは光受容体の膜蛋白質であり、ヘリックスが 7 回膜貫通の構造を持ち蛋白質中 の発色団のレチナールが光を吸収しその異性化により機能を果たす。ヘリオロドプシンは、 通常のロドプシンと同様に7回膜貫通膜の構造を持ち中心部にレチナールを持つものの、ア ミノ酸配列が全く異なり、膜内での配向が逆転した構造となっていることが発見された。 (Shihoya et al. Nature, 2019)しかしながら機能がほとんど判明していないため、機能解明に向け た様々な取り組みが行われている中、ヘリオロドプシンに亜鉛イオンのみが特異的に結合し、 ヘリックスの構造が変化することが明らかとなった(Hashimoto et al., J. Phys. Chem. Lett., 2020)。 本研究では、名古屋工業大学の神取教授の研究室との共同研究により亜鉛の特異的な結合に よるヘリオロドプシンの構造の変化を、野生型と亜鉛が結合したヘリオロドプシンについて MD シミュレーションによる結果と実験結果との比較することで解析を行った。計算にはへ リオロドプシンの X 線構造(PDB ID: 6IS6)を用い、亜鉛の結合した状態は実験結果を考慮し、 150番目のグルタミン酸残基に亜鉛が結合した状態を用いた。シミュレーションの結果、膜貫 通ヘリックス(TM)のうち亜鉛が結合した E150 残基の含まれる TM4 と TM5 において構造が 変化していることが示唆された(図 4A)。特にヘリックス構造の分布について見ると、亜鉛が 結合した場合では、TM4の α ヘリックスの分布(図 4B)、および TM4 と TM5 の間の 3-10 へ リックスの分布(図 4C)が減少するという結果となり、実験と整合性のある結果が得られた。 また図 4D、E に示したように E150 への亜鉛の結合により E150、R105、E227 残基間の塩橋 部分の変化が起こり、それらの残基が含まれる TM1-TM3、TM7 間の水素結合ネットワーク の形も変化し、水分子の出入りも確認された。



図 4. (A)野生型のヘリオロドプシ ンと亜鉛が結合した状態の代表構 造の比較、(B) α ヘリックス構造と (C) 3-10 ヘリックス構造の分布、(D) 野生型での E150 周り水素結合ネッ トワークと(E) 亜鉛の結合した場合 の変化の様子。

[3] 光捕集蛋白質における効率的エネルギー移動についての理論的解析(三嶋)

光捕集蛋白質 C-フィコシアニン(C-PC)は高効率 に励起エネルギー移動(EET)を起こし、光エネルギー を反応中心に長距離移動させている。その時系列を 解析するため、励起エネルギー移動ダイナミックス を実施し、EET になんの因子が最も寄与しているか 理論的に検討した。その結果、色素分子の配置が重 要であることが示された。自然系では色素分子は 3 回回転対称性を持って積層している。この配列順序 を変更し、EET 速度を算出したところ、自然配列の



図 5. C-フィコシアニンにおける効 率的励起エネルギー移動の仕組み

EET 速度が最も速いことを示した。これらの研究から、C-PC では最も効率的に EET を起こ すように色素分子位置が制御されていることを理論的に示した(図 5)。

[4] 銅含有アミン酸化酵素におけるセミキノンラジカル生成機構の理論解明(庄司)

銅含有アミン酸化酵素(CAO)は種々の生理活性アミン類の酸化的脱アミノ反応を触媒し、 動植物や微生物に広く存在している。CAO は活性中心にトパキノン(TPQ)補酵素と銅イオン を保持し、特異的活性を発現している。還元的半反応の最終過程において TPQ から銅中心に 一電子移動することにより、TPQ はセミキノンラジカル(TPQsq)になる。TPQsq 生成で大きな 構造変化を伴うことが結晶構造解析から示唆されており(図6)、本反応は、古典的な酵素 反応、鍵と鍵穴モデル、のような活性中心が固定されている系とは異なり、動的な描像を与 える新しい酵素系となっている。また、二液混合法による時分割結晶構造解析に適する極め て稀な酵素反応系であり、動的構造解析が劇的に進展すると期待される。この非古典的な酵 素反応の仕組みについて量子古典混合計算により、詳細な反応機構を解明し、実験結果を再 現する結果が得られた。論文は RSC Chem Sci に掲載された。



図 6. CAO のセミキノンラジカル生成に伴う大きな TPQ_{sq}の構造変化

[5] 金属タンパク質の構造と電子状態の解析(堀)

高電位鉄硫黄タンパク質(HiPIP)は、光合成電子伝達系ではたらく電子運搬タンパク質で、 活性中心にキュバン型の[4Fe-4S]クラスターを持っている。HiPIP と同様に活性中心に[4Fe-4S] 構造を持つタンパク質としてフェレドキシン(Fd)があるが、HiPIP は Fd に比べて極めて酸化 還元電位が高い。この原因として、[4Fe-4S]クラスター周辺の構造が要因であることが指摘さ れている。したがって、クラスター周辺のアミノ酸は[4Fe-4S]の電子状態に影響を与えること が予想される。そこで本研究では、[4Fe-4S]クラスター周辺の環境を考慮した計算モデルを構 築することにより、第一原理計算により、[4Fe-4S]クラスターの幾何学的・電子的構造とその 周辺アミノ酸から受ける影響を検討した。

X線結晶構造解析から得られた還元状態の HiPIP 構造を用いて、モデル I(原子数:56)とモ デル II(原子数:283)の2つのモデルを構築した。考えられるスピン状態の中から、開殻一重 項状態に対応する12通りのスピン配置を考えた。計算には Gaussian 16を用い、密度汎関数 法の汎関数に B3LYP、基底関数に 6-31G*を使用した。また自然結合軌道(NBO)解析を行い、 各自然軌道の自然スピン密度、自然電荷を算出した。

12 通りの初期スピン配置に対して構造最適化を行ったところ、4 通りの初期スピン配置に ついて行った計算がエネルギー的に安定な構造・電子状態に収束した。得られた構造に対し て、NBO 解析を行ったところ、Fe1-Fe2 および Fe3-Fe4 でスピンの非局在化が観測された(図 7)。また、軌道エネルギーの解析から HiPIP の酸化還元反応は Fe1-Fe2 の面上で起こる可能 性があることがわかった。[4Fe-4S]クラスター周辺のアミノ酸を考慮した場合と考慮しない場 合の安定構造の計算結果を比較した結果、HiPIP ではその周辺のアミノ酸が[4Fe-4S]クラスタ ーの幾何学的・電子的構造を安定化していることが示された。タンパク質の機能を理解する ためには、その周辺環境を考慮することが重要であることが明らかとなった。HiPIP と Fd な どの金属タンパク質の電子状態の違いを詳細に理解するためには、単純なクラスターだけで なく周辺アミノ酸を考慮した電子状態計算が必須であると言える。



図 7. Natural bond orbitals formed by Fe3-Fe4 and Fe1-Fe2 (A: Fe3-Fe4 bond orbital in model I, B: Fe3-Fe4 bond orbital in model II, C: Fe1-Fe2 bond orbital

[6] 宇宙生命連携(堀、庄司、重田)

生命体の構成要素分子であるアミノ酸は、化学的に合成すると左手型(L型)と右手型(D型) が同量生成されるが、地上の生命はL型アミノ酸のみで構成されている。このアミノ酸のホ モキラリティ化は、生命誕生の初期過程において必須な選択であり、その分子機構として「星 間空間の円偏光による不斉分解」及び「キラリティ増幅」が関わると考えられるが、具体的 な分子機構は未解明であった。前者の不斉分解では、アミノ酸の円偏光吸収特性(円二色性 吸収(CD)スペクトル)が重要な指標となるが、光の高いエネルギー領域では実験的測定が十 分になされていなかった。さらに、非天然アミノ酸であるイソバリンは、CDスペクトルが他 のアミノ酸の CD に比べると反転しており、アミノ酸共通のホモキラリティ化の機構は解決 していなかった。そのため、アミノ酸の CD スペクトルを量子化学計算で求めることで、ア ミノ酸のホモキラル問題の解決を試みた。

最安定構造を独自考案の構造探索法(RS法)で求め、高精度量子化学計算で CD スペクトル を求めたところ、低いエネルギー領域の CD スペクトルは実験値と良い一致が見られること を示した。イソバリンでは CD スペクトルが反転する傾向が見られ、アミノ酸化学種ではホ モキラリティを説明できないことが明確になった。そのため、アミノ酸前駆体において、同 様の CD スペクトル計算を行ったところ、アミノニトリル前駆体において CD スペクトルの 符号が共通する領域が 10-11 eV に存在することが明らかになった。この結果より、アミノニ トリルがホモキラリティ獲得に主な寄与を与えていたと考えられる。また、10.2 eV は銀河形 成初期において Lyα として強く放射されるピーキーな光であり、この円偏光化された光によ り、D型が光分解し、L型が過剰になったシナリオ (図 8) が考えられる。本研究成果は、論 文内容をプレスリリースした。

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 Viedma 熟成が提案されている(*J. Am. Chem. Soc.*, 130, 15274 (2008))。Viedma 熟成のキープロ セスとしてアミノ酸のラセミ化反応がある。しかしその反応機構の詳細については明らかで はない。そこで本研究では、アラニン (Ala) とアスパラギン酸 (Asp) を取り上げ、それぞれ のラセミ化反応の反応経路を密度汎関数理論(DFT)を用いて調べた。計算により、Ala と Asp のラセミ化反応経路において、ともに 10 個の反応中間体と 5 個の遷移状態が見つかった。得 られたポテンシャルエネルギープロファイルを比較すると、得られた Ala と Asp のラセミ化 反応の反応機構について大きな差はないことがわかった。また、どちらも最も活性化エネル ギーの高いプロセスは脱水反応であり、60 kcal mol⁻¹ を超える。一方で、ラセミ化が起こる反 応ステップでは、Ala と Asp の場合でそれぞれ活性化エネルギーが 30.8 kcal mol⁻¹ と 31.3 kcal mol⁻¹ となった。脱水反応では、反応周辺の水分子を考慮して計算を行うと、活性化エネルギ ーが大きく下がり、Ala と Asp の場合でそれぞれ 47.2 kcal mol⁻¹ と 46.9 kcal mol⁻¹ になった。こ れは、実験が 80-100 ℃で熱しながら行われたことから、妥当な活性化エネルギーであると 考えられる。以上より、アミノ酸のラセミ化反応は水分子が触媒することが DFT 計算により 明らかとなった。



図 8. アミノ酸の前生物的 L 体過剰生成機構概略図: ①銀河中心から円偏化されたライマン アルファ線が放射されることで、ダスト粒子上のアミノニトリル前駆体は選択的光分解反応 を起こし、②L 型のアミノニトリル前駆体が増加する(D 体のアミノニトリル前駆体がより減 少する)。③ダスト粒子が集積し、小惑星となり温度が上昇すると、 アミノニトリル前駆体は キラリティを保ったままアミノ酸に加水分解される。④小惑星間の衝突により、軌道が変わ り、地球に落下した小天体(隕石)により、地上にアミノ酸の L 型過剰がもたらされる。

[7] MnBi 系磁性材料のマテリアルズインフォマティクス(松井、重田)

MnBi は高温における磁気一次相転移を示す数少ない磁性材料として古くから知られてい る。現在、クリーンエネルギー化の社会的要請のもと、モータおよび発電機の高効率化に不 可欠な材料として高性能永久磁石の需要が拡大しているが、主流である Nd-Fe-B 系磁石は産 出量の少ない希土類資源の供給不安に悩まされている。本研究の対象である MnBi はその代 替永久磁石として期待されており、この系に対する高磁性新規化合物の設計指針を構築・達 成することは社会的に広い波及効果が期待できる。本研究では、周期系に対する第一原理計 算を用いて、MnBi 元素置換系の安定構造、および電子状態を求め、そのスピン構造変化から 磁化率や磁気異方性効果を計算し、様々なドーパントの効果を検証した。NiAs 構造 MnBi(図 9)の置換系において最適化格子定数・スピン状態の第一原理計算を行い、磁化・置換系生成 エネルギーを求めた(図 10)。Mn 置換では磁化向上は見られず、15,16 族元素(ニクトゲン, カルコゲン)による Bi 置換が、磁化向上・生成エネルギー的に有望であった。MnBi の磁気 異方性効果(MAE)の温度変化をスピン軌道相互作用を取り込んだ第一原理計算により求め た。Kuz'min 式による補正を導入することで、スピン軸が低温での結晶 ab 面内から高温での e 軸方向に変化し、500 K 程度でピークを持つ構造が良く再現できた(図 11)。ただし、実験 値と比べて過小評価の傾向があった。これらの計算データ・知見を活用し、NAIST 原嶋助教 との共同研究により、データ同化手法を用いて Cr-Sb ドープ系の各組成での磁化の温度変化 予測を行った。これにより、所望磁化・キュリー温度を与える最適組成の予測が可能となった。







図 11. Temperature dependence of magnetic anisotropic effect of MnBi.

[8] 3次元ドメインスワッピング現象の解析 (下山, 重田)

機能的蛋白質を人工的に設計する試みは 20 年以上試みられてきているが、意図した構造を 形成する蛋白質の設計はできても、意図した機能を果たす蛋白質の設計にはいまだに成功し ていない。そこで本研究では、生来機能的である蛋白質を組み合わせることで意図した機能 を果たす高次複合体を設計する技術の確立を目指して研究を行った。生体内での蛋白質の構 造は、温度や圧力といった熱力学的パラメータに応じた、自由エネルギー的安定構造である とされる(アンフィンセンのドグマ)。従って機能的高次複合体の形成に貢献する相互作用 などを特定するためには自由エネルギー解析が有効である。本年度の研究では電気伝導蛋白 質であるシトクロム c (Cyt c)の二量体形成を MD で再現した。

Cyt c の2量体形成は3次元ドメインスワッピング現象(3D-DS)と呼ばれる、同種タンパク 質が互いの構造の一部を入れ替えることで複合体を行う現象を通して実現できることが実験 的に知られている(図 12, S. Hirota *et al.*, PNAS, 2010)。3D-DS 現象は蛋白質の部分的無秩序 化/再秩序化(unfolding/refolding)、および、蛋白質同士の結合/解離が含まれるため比較的時 間スケールの長い現象になる。



図 12. Cyt *c* の 3D-DS 現象の概念図。それぞれ (a) 単量体構造、(b) 部分的無秩序構造、(c) b が 結合した構造、(d) 3D-DS 構造。S. Hirota *et al.*, PNAS, 2010 より改編して抜粋。

この様な長時間スケールを扱うために、構造対称性に基づいた近似的アミノ酸間相互作用 モデル(図 13, Symmetrized Go-like model, Yang *et al.*, PNAS, 2004)を用いた。本モデルではアミ ノ酸一つを1つの質点として扱っている。また 3D-DS 現象を起こすためにはドメインをつな ぐループ部分(図 12 で紐状の部分)の柔軟性が重要になる。そこでループ部分の結合角・二 面角相互作用と構造形成傾向の関係を明らかにするため、相互作用を 100%, 50%, 25%, 12.5%,



図 13. (a) Symmetrized Go-like
 model の概念図。鎖 A のアミノ酸
 (i, j)が相互作用する場合、鎖 A と B
 を跨いだ場合にも(i, j)に同様の相
 互作用が成立すると考える。(b)本研
 究における相互作用のマップ。赤い
 点は「単量体構造」から相互作用パ
 ラメータが得られるアミノ酸の組み
 合わせであり、青い点は対称性から
 推定された相互作用を示している。

0%と弱めて MD を行った。またサンプリング効率を上げるために拡張アンサンブル法を用いた。なおこれらの方法は2量体に限らず高次複合体にも応用することができる点が重要である。

本研究の結果、Cyt c の 3D-DS 構造を理論的に再現することに成功した(図 14a)。構造から2本の鎖が互いの一部を交換し合っている様子が確認できる。また鎖AとB各々の実験構造に対する RMSD に対して分布図を作成し、3D-DS 構造の形成傾向を調べた。3D-DS 構造は鎖AとBの RMSD が 15Å以下の領域に対応し、分布は左下と右上の2つの部分に分かれていた。ループ部分の相互作用が25%から12.5%へと変化させた際に、最も大きく3D-DS 構造が形成される確率が変化することがわかった(図 14b)。



図 14. (a) MD で得られた 3D-DS 構造。(b) ループ部分の相互作用の強さと確立分布の関係。横 軸、および縦軸は鎖 A, B それぞれの実験構造に対する RMSD であり、両者の RMSD が 15Å を切っ た部分のサンプルが 3D-DS 構造に対応している。

[9] First-Principles studies of enhanced dielectric response in tetragonal and monoclinic ZrO₂ with Te substitution (Mrinal, Shigeta)

We determine the dielectric response of tetragonal and monoclinic zirconia (ZrO₂) with TeO₂ doping at various concentration using first-principles density functional theory calculations based on pseudopotentials and a plane wave basis. The TeO₂ is highly stable structure, and it can exist as tetragonal and orthorhombic crystal structure. We find a significantly enhance dielectric response in zirconia with Te doping with lower concentration. The dielectric constant increases from 36.5 to 82 for tetragonal ZrO₂ and monoclinic 21 to 38. We have calculated the dielectric constant of ZrO₂ with PBE and PBE with U corrections which shows that the dielectric constant with PBE with U correction (U = 2 eV) is good agreement the experiment results. Further, we have applied same methods for calculating dielectric constant of doped ZrO₂. The band gap of both phase of ZrO₂ have been examined using PBE with numbers of U correction to determine the experimental band gap which shows band gap of tetragonal and monoclinic ZrO₂ is ~ 5.3 eV. This band gap is similar to the PBE0 method (5.43 eV) and experimental value of 5.5 eV. The Te doped tetragonal and monoclinic ZrO₂ shows the insulation properties after ~6% and ~3 % Te doping. Tellurium doping with smaller concentration in ZrO₂ increases the dielectric constant as well as showing the insulating properties which suggests that they can be used as good Gate oxide for transistor with low leakage current.

Table 1. Dielectric constant (ϵ^{0})	of Te doped tetrago	hal and monoclinic	ZrO ₂ with	concentration
of 3.1%, 6.2%, 12.5% and 25%				

		PBE (ZrO ₂)			$PBE+U (2 eV) (ZrO_2)$		
	Te doped	Te doped Tetragonal Monoclin		Tetragonal	Monoclinic		
	ZrO_2	ZrO ₂	ZrO ₂	ZrO ₂	ZrO_2		
	0 %	42.94	21.27	36.56	18.57		
	3.1 %	73.8	-	62.52	-		
	6.2%	85.37	27.95	80.80	32.64		
	12.5%	82.00	25.00	76.81	38.37		
6 4 2 -0 -2			4 3 2 1 1 0				
GAMA	X S Y GAMA	Z UR T		CSY rZU	J R T Z X U Y '		
	Band structure	e of tetragonal Z	ZrO ₂ B	and structure of	f Te-doped tetra		

[10] Computational study for drug discovery and design research (Kowit Hengphasatporn, Yasueru Shigeta)

We focused on antiviral research by searching for potential antiviral agents against SAR-CoV 2 and Dengue viruses. For the SAR-CoV 2, natural compounds from mangosteen, and Piperine have been elucidated for the antiviral activity towards SAR-CoV 2 3CL protease. LB-PaCS-MD/FMO helped sample the ligand/binding conformations, which is necessary for accurately predicting complex structures and binding affinities using quantum mechanics (QM)-based calculations. The pocket shape analysis indicated that the LB-PaCS-MD could generate a suitable complex structure based on the given ligand by modifying the residue selection. A ligand interacted with the protein receptor, and the binding event could improve the program prediction accuracy. Thus, LB-PaCS-MD/FMO can be utilized to generate a customized binding conformation for potent compounds and increase the binding score accuracy, which is necessary for discovering and developing drugs (Fig.15). New N-containing xanthone analogs of α -mangostin were synthesized via one-pot Smiles rearrangement. These showed several bioactivities. For compound 2, this gave potent SARS-CoV-2 main protease inhibition by suppressing 3CL protease activity approximately threefold better than that of 1. The fragment molecular orbital method (FMO–RIMP2/PCM) indicated the improved binding interaction of 2 in the 3CL active site regarding an additional ether moiety.



Figure 15 (A) Work flow for LB-PaCS-MD/FMO technique and (B) the summary of flavone analogs as a potential inhibitor for Dengue virus.

For the Dengue virus, we have done the flavone analogs as a potential inhibitor for Dengue virus. The tri-ester 5d and di-ester 5e exhibited low toxicity against normal cells, and exceptional DENV2 inhibition with the EC50 as low as 70 and 68 nM, respectively, which is over 300-fold more active

compared to the original baicalein reference. The viral targets for these potent flavone analogs were predicted to be NS5 MTase and NS5 RdRp, as suggested by the likelihood ratios from the molecular docking study. The great binding interaction energy of 8-bromobaicalein (5f) confirms the anti-dengue activity at atomistic level.

We have also worked on anticancer research. JAKs and EGFR are nonreceptor protein tyrosine kinases that play a role in a broad range of cell signaling related to cancer. Thus, inhibition of both JAKs and EGFR can be a potent strategy to reduce the risk of these diseases. The pharmacophore models built based on the commercial drug tofacitinib and the JAK2/3 proteins derived from MD trajectories were employed to search for a dual potent JAK2/3 inhibitor by a pharmacophore-based virtual screening of 54 derivatives. Twelve selected compounds from the virtual screening procedure were then tested for their inhibitory potency against both JAKs in the kinase assay. Similar to EGFR, we designed sulfonylated Indeno[1,2-c]quinoline derivatives as potent EGFR-TK inhibitors using the integrated QM and MM calculation. The efficacy and cytotoxicity of potent compounds are evaluated by in vitro assay.

4. 教育

学位論文

(1) 卒業研究発表

- 松岡大河 「ポリフェノール類の酸化還元電位の予測のための計算方法の検討」
 (2)修士修了研究発表
- 1. 工藤玄己 「共溶媒分子動力学シミュレーションを用いたタンパク質相互作用ペプチ ドの構造活性相関解析」
- 2. 渡辺七都稀 「隕石中におけるアミノ酸鏡像異性体の不斉増幅機構についての理論的 研究」

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

受賞

- 優秀講演賞 受賞、「光合成水分解酸素発生における Mn の自然選択の理由」、庄司 光男、量子生命科学会 第4回大会、2022 年 5 月 26 日。
- 優秀ポスター賞 受賞、アミノ酸ホモキラリティ起源を紐解く結晶形成過程についての量子化学研究、渡辺 七都稀、量子生命科学会 第4回大会、2022年5月27日。
- Best Poster Award at the 2nd International Symposium "Hydrogenomics", Yuta Hori、2022 年 5 月 19 日。
- 4. 構造活性相関シンポジウム 優秀発表賞(SAR Presentation Award) 日本薬学会 構造 活性相関部会、原田隆平、2022 年 11 月 11 日。

外部資金

(1)研究代表

- 1. 新学術領域研究(研究領域提案型) 「生命金属科学」、重田育照、「加齢ミトコンド リア DNA 説における金属タンパク質動態に関する理論的研究」 (R4-R5)
- 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 学反応の機構解明」(R01-R04)
- 3. 新学術領域研究「ハイドロジェノミクス」公募研究、堀 優太、「水素活性と輸送に 立脚した生体内ハイドロジェノミクスの理論展開」(R3-R4)
- 学術変革領域研究(A)「次世代アストロケミストリー」公募研究、堀 優太、「星間空間におけるアミノ酸ホモキラリティー生成過程の量子化学的探求」(R3-R4)
- 5. 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」(R3-R4)
- 6. 日本学術振興会 基盤研究(C)、原田隆平、「分子動力学計算と機械学習を援用してタンパク質の構造変化を予測する」(R3-R5)
- 7. 公益財団法人 三島海雲記念財団 学術研究奨励金、原田隆平、「分子シミュレーションに基づくヒト由来味覚受容体の味物質認識メカニズムの解明」(R4-R5)
- 8. 公益財団法人 住友財団 基礎科学研究助成、原田隆平、「中分子環状ペプチドの生体 膜透過プロセスを抽出・評価する計算技術の開発」(R4-R5)
- 9. 公益財団法人 日揮・実吉奨学会 研究助成制度、原田隆平、「生物学的相分離を予 測・体系化する分子シミュレーション技術の開発と応用」(R4-R6)
- 公益財団法人 日立財団 倉田奨励金、原田隆平、「先端インシリコ創薬技術で実現する化合物のフレキシブルドッキングと結合ポケットのテーラーメイドデザイン」(R4-R6)
- 11. 群馬大学生体調節研究所「内分泌・代謝学共同研究拠点」通常課題、森田陸離、「プリン 生合成を制御する細胞内構造体プリノソームの形成機構と役割の解明」(R4-R5)
- 第1回 MOLSIS-CCG GRANT、森田陸離、「任意のタンパク質に蛍光能を付加する 分子設計」 (R4-R5)

(2)分担研究

- 1. 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)
- 2. 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)

- 3. 東京エレクトロン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)
- 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)、「分 子シミュレーションによるタンパク質化学反応ダイナミクスの解明」宮下治(研究 代表者) (R02-R05)
- 5. 特別推進研究「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」、庄司光男(研究分担者)、宮下治(研究代表者) (R04-R08)
- 6. 基盤研究(A)「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」、 庄司光男(研究分担者)、上野隆史(研究代表者) (R04-R07)
- 学術変革領域研究(A)「Gタンパク質の超硫黄化による新奇シグナル制御とその生理的意義の解明」、Kowit Hengphasatporn(研究分担者)、西田基宏(研究代表者) (R04-R07)

6. 研究業績

(1) 研究論文

A) 査読付き論文

- D. Lian, Y. Shigeta, Y. Takano, "Evaluation of an Appropriate Standard Hydrogen Electrode Potential for Computing Redox Potentials of Catechins with Density Functional Theory", Chemistry Letters, 51(7), 673-677 (2022).
- T. Motoyama, Y. Yamamoto, C. Ishida, F. Hasebe, Y. Shigeta, S. Ito, S. Nakano, "Reaction Mechanism of Ancestral l-Lys alpha-Oxidase from Caulobacter Species Studied by Biochemical, Structural, and Computational Analysis", ACS Omega, 7, 44407-44419 (2022).
- A. Uedono, N. Takahashi, R. Hasunuma, Y. Harashima, Y. Shigeta, Z. Ni, H. Matsui, A. Notake, A. Kubo, T. Moriya, K. Michishio, N. Oshima, S. Ishibashi, "Vacancy-type defects in TiN/ZrO₂/TiN capacitors probed by monoenergetic positron beams", Thin Solid Films, 762, 139557 (8 pages) (2022).
- Y. Mitsuta, T. Asada, Y. Shigeta, "Calculation of Permeation Coefficients of Small Molecules Through Lipid Bilayers Using Free Energy Reaction Network Analysis with An Explicit treatment for Internal Rotations", Physical Chemistry Chemical Physics, 24, 26070–26082 (2022).
- Y. Yamamoto, S. Nakano, Y. Shigeta, "Development interaction analysis of proteins based on machine learning method and application to Src tyrosine kinase", Bulletin of the Chemical Society of Japan, 96(1), 42-47 (2023).

- R. Wansri, A.C.K. Lin, J. Pengon, S. Kamchonwongpaisan, Nitipol Srimongkolpithak, P. Wilasluck, P. Deetanya, K. Wangkanont, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, J. Liangsakul, T. Chuanasa, T. Rungrotmongkol, S. Chamni, "Semi-synthesis of N-Aryl Amide Analogs of Piperine from Piper nigram and In-vitro Evaluation of Anti-trypanosomal, Anti-malarial, and anti-SARS-CoV-2 Main Protease Activities", Molecules, 27, 2841 (2022).
- H. Aida, Y. Shigeta, R. Harada, "The Role of ATP in Solubilizing RNA-binding Protein Fused in Sarcoma", Prot. Struct. Funct. Bioinformat., 90(8), 1606-1612 (2022). DOI:10.1002/prot.26240
- T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "The Structural Validation by G-factor Regulates Boost Potentials Employed in Conformational Sampling of Proteins", J. Chem. Inf. Model., 62(14), 3442-3452 (2022). DOI:10.1021/acs.jcim.2c00573
- T. Taketomi, T. Yasuda, R. Morita, J. Kim, Y. Shigeta, C. Eroglu, R. Harada, F. Tsuruta, "Autism-Associated Mutation in Hevin Induces Endoplasmic Reticulum Stress Through Structural Instability", Sci. Rep., 12, 11891 (2022). DOI:10.1038/s41598-022-15784-5
- K. Hengphasatporn, R. Harada, P. Wilasluck, P. Deetanya, E. R. Sukandar, W. C., A. Suroengrit, S. Boonyasuppayakorn, T. Rungrotmongkol, K. Wangkanont, Y. Shigeta, "Promising SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitor Ligand-Binding Modes Evaluated Using LB-PaCS-MD/FMO", Sci. Rep., 12, 17984 (2022). DOI:10.1038/s41598-022-22703-1
- Y. Nishida, S. Yanagisawa, R. Morita, H. Shigematsu, K. Shinzawa-Itoh, H. Yuki, S. Ogasawara, K. Shimuta, T. Iwamoto, C. Nakabayashi, W. Matsumura, H. Kato, T. Nagao, T. Qaqorh, Y. Takahashi, S. Yamazaki, K. Kamiya, R. Harada, N. Mizuno, H. Takahashi, Y. Akeda, M. Ohnishi, T. Kumasaka, T. Murata, K. Muramoto, T. Tosha, Y. Shiro, T. Honma, Y. Shigeta, M. Kubo, S. Takashima, Y. Shintani, "Identifying Antibiotics based on Structural Differences in the Conserved Allostery from Mitochondrial Heme-copper Oxidases", Nat. Commun., 13, 7591 (2022). DOI:10.1038/s41467-022-35600-y
- T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Protein Structure Validation Derives a Smart Conformational Search in a Physically Relevant Configurational Subspace", J. Chem. Inf. Model., 62(23), 6217-6227 (2022). DOI:10.1021/acs.jcim.2c01173
- M. Shoji, T. Murakawa, S. Nakanishi, M. Boero, Y. Shigeta, H. Hayashi, T. Okajima, "Molecular mechanism of a large conformational change of the quinone cofactor in the semiquinone intermediate of bacterial copper amine oxidase", Chemical Science, 13(36), 10923-10938 (2022). open access, DOI:10.1039/D2SC01356H

- M. Shoji, N. Watanabe, Y. Hori, K. Furuya, M. Umemura, M. Boero, Y. Shigeta, "Comprehensive Search of Stable Isomers of Alanine and Alanine Precursors in Prebiotic Syntheses", Astrobiology, 22(9), 1129-1142 (2022). open access, DOI:10.1089/ast.2022.0011
- S. Nagatomo, M. Shoji, T. Terada, K. Nakatani, Y. Shigeta, S. Hirota, S. Yanagisawa, M. Kubo, T. Kitagawa, M. Nagai, M. Ohki, S.-Y. Park, N. Shibayama,"Heme-bound tyrosine vibrations in hemoglobin M: Resonance Raman, crystallography, and DFT calculation", Biophysical Journal, 121(14), 2767-2780 (2022). DOI:10.1016/j.bpj.2022.06.012
- Y. Hori, H. Nakamura, T. Sakawa, N. Watanabe, M. Kayanuma, M. Shoji, M. Umemura, Y. Shigeta, "Theoretical Investigation into a Possibility of Formation of Propylene Oxide Homochirality in Space", Astrobiology, 22(11), 1330–1336 (2022). DOI: 10.1089/ast.2022.0005
- 17. 渡辺 七都稀, 庄司 光男, 堀 優太, 重田 育照, "有機分子触媒を用いたアミノ酸ラセミ 化反応の理論的研究", J. Comp. Chem., Jpn., 21(4) 80–81 (2022). DOI: 10.2477/jccj.2023-0004
- 宗井 陽平, 堀 優太, Kowit Hengphasatporn, 原田 隆平, 重田 育照, "4hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD)における金属活性中心の力場パラメータの 構築とその評価", J. Comp. Chem., Jpn., 21(4) 82–84 (2022). DOI: 10.2477/jccj.2023-0003
- Y. Hori, A. Sato, Y. Shigeta, "Theoretical Characterization of the Electronic and Spin Structures for Iron–Sulfur Cubane in Reduced High-Potential Iron–Sulfur Proteins Using Density Functional Theory", J. Comp. Chem., Jpn., 21(4) 77–79 (2022). DOI: 10.2477/jccj.2023-0008
- K. Sanachai, P. Mahalapbutr, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, S. Seetaha, L. Tabtimmai, T. Langer, P. Wolschann, T. Kittikool, S. Yotphan, K. Choowongkomon, T. Rungrotmongkol, Thanyada, "Pharmacophore-Based Virtual Screening and Experimental Validation of Pyrazolone-derived Inhibitors toward Janus Kinases", ACS Omega, 7(37), 33548–33559 (2022).
- T. Aizawa, M. Kawaura, T. Kajitanib, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, S. Yagai, "Supramolecular polymerization of thiobarbituric acid naphthalene dye", Chemical Communications 58 (2022) 9365-9368.
- R. Harada, R. Morita, Y. Shigeta, "Free-energy Profiles for Membrane Permeation of Compounds Calculated Using Rare-Event Sampling Methods", J. Chem. Inf. Model., 63(1), 259-269 (2023). DOI:10.1021/acs.jcim.2c01097

- R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Efficient Screening of Protein-Ligand Complexes in Lipid Bilayers Using LoCoMock Score", J. Comput. Aided Mol. Des., 37, 217-225 (2023). DOI:10.1007/s10822-023-00502-8
- M. Hashimoto, K. Miyagawa, M. Singh, K. Katayama, M. Shoji, Y. Furutani, Y. Shigeta, H. Kandori, "Specific zinc binding to heliorhodopsin", Physical Chemistry Chemical Physics, 25, 3535-3543 (2023). DOI:10.1039/D2CP04718G
- 25. K. Mishima, M. Shoji, Y. Umena, Y. Shigeta, "Biological advantage of the arrangements of C-phycocyanin chromophores in phycobilisome from the electronic energy transfer viewpoint", Bulletin of the Chemical Society of Japan, 96(4), 381-393 (2023). open access, DOI:10.1246/bcsj.20220334
- 26. M. Shoji, K. Kitazawa, A. Sato, N. Watanabe, M. Boero, Y. Shigeta, M. Umemura, "Enantiomeric Excesses of Aminonitrile Precursors Determine the Homochirality of Amino Acids", The Journal of Physical Chemistry Letters, 14(13), 3243-3248(2023). open access, DOI:10.1021/acs.jpclett.2c03862
- A. Sato, Y. Hori, Y. Shigeta, "Characterization of the Geometrical and Electronic Structures of the Active Site and its Effects on the Surrounding Environment in Reduced High-Potential Iron–Sulfur Proteins Investigated by the Density Functional Theory Approach", Inorg. Chem., 62(5), 2040–2048 (2023). DOI: 10.1021/acs.inorgchem.2c03617
- 28. H. Shimoyama and Y. Shigeta, "Molecular Dynamics Study of 3-Dimensional Domain Swapping Process of Cytochrome c", J. Comp. Chem. Jpn., accepted.
- S. Sugiura, T. Kubo, Y. Haketa, Y. Hori, Y. Shigeta, H. Sakai, T. Hasobe, H. Maeda, "Deprotonation-Induced and Ion-Pairing-Modulated Diradical Properties of Partially Conjugated Pyrrole-Quinone Conjunction", J. Am. Chem. Soc., in press (2023). DOI: 10.1021/jacs.3c01025
- N. Loeanurit, T. Tuong, K. Nguyen, V. Vibulakhaophan, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, S. Ho, J. Chu, T. Rungrotmongkol, W. Chavasiri, S. Boonyasuppayakorn, "Lichen-derived diffractaic acid inhibited dengue virus replication in a cell-based system", Molecules, 28(3), 974 (2023).
- N. Pyae, A. Maiuthed, W. Phongsopitanun, B. Ouengwanarat, W. Sukma, N. Srimongkolpithak, J. Pengon, R. Rattanajak, S. Kamchonwongpaisan, Z. Ei, P. Chunhacha, P. Wilasluck, P. Deetanya, K. Wangkanont, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, S. Chamni, "N-Containing α-Mangostin Analogs via Smiles Rearrangement as the Promising Cytotoxic, Antitrypanosomal, and SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitory Agents", Molecules, 28(3), 1104 (2023).

- S. Boonyasuppayakorn, T. Saelee, T.N.T. Huynh, K. Hengphasatporn, N. Loeanurit, V. Cao, P. Siripitakpong, P. Kaur, J.J.H. Chu, C. Tunghirun, O. Choksupmanee, S. Chimnaronk, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, W. Chavasiri, "8-bromobaicalein targets flaviviral RNAdependent RNA polymerase of dengue and Zika viruses", Scientific Reports, 13(1), 4891 (2023).
- A. Patigo, K. Hengphasatporn, V. Cao, W. Paunrat, N. Vijara, T. Chokmahasarn, P.Maitarad, T. Rungrotmongkol, Y. Shigeta, S. Boonyasuppayakorn, T. Khotavivattana, "Design, Synthesis, in vitro, in vivo, and in silico Studies of Flavone Analogs towards Anti-Dengue Activity", Scientific Reports, 12(1), 21646 (2023).
- P. Ounjai, K. Boonthaworn, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, W. Chavasiri, T. Rungrotmongkol, "In Silico Screening of Chalcones and Flavonoids as Potential Inhibitors against Yellow Head Virus 3C-like Protease", PeerJ (2023) 11:e15086.
- S. Negoro, N. Shibata, D. Kato, Y. Tanaka, K. Yasuhira, K. Nagai, S. Oshima, Y. Furuno, R. Yokoyama, K. Miyazaki, M. Takeo, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, Y.-H. Lee, J. Michener, S. Chen, Y. Higuchi, FEBS Journal (2023). DOI:10.1111/febs.16755.
- K. Hengphasatporn, T. Aiebchun, P. Mahalapbutr, A. Auepattanapong, O. Khaikate, J. Meesin,
 C. Kuhakarn, Y. Shigeta, K. choowongkomon, T. Rungrotmongkol, "Sulfonylated Indeno[1,2-c]quinoline Derivatives as Potent EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors", ACS Omega (2023) DOI: 10.1021/acsomega.3c01195.
- B) 査読無し論文

なし

(2) 国際会議発表

A)招待講演

- Y. Shigeta, "Computational studies on the structures and functions of metalloproteins", 10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC), Kobe, Japan, Nov. 28th-Dec. 3rd (2022) (invited)
- Y. Shigeta, "Integrated drug discovery simulations for Covid-19 main protease", Bioinformatics in Torun, Nicolas Copernicus University, Torun, Poland, June 23rd-25th (2022).
- Y. Shigeta, "Integrated in silico drug modeling for viral proteins", 25th International Workshop on Quantum Systems in Chemistry, Physics and Biology (QSCP-XXV), Nicolas Copernicus University, Torun, Poland, June 19th-24th (2022).

- 4. Y. Shigeta, Triplet-Triplet Annihilation Up-conversion Processes of 9,10-diphenylanthracene in solution and solid phases", Materials Science, Engineering and Technology Singapore, Amara Singapore Hotel, Sep. 7th-9th (2022).
- Y. Shigeta, "Theoretical analysis on 3D domain-swapped artificial proteins", Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON) 2023, Mae Fah Luang University, Thailand, Jan. 20th-21st (2023).
- K. Hengphasatporn, "Ligand-Binding Mode Evaluation of Potential SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitors: LB-PaCS-MD/FMO method" The 25th International Annual Symposium on Computational Science and Engineering (ANSCSE), Department of Physics, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand, on-line, 2022/6/10, oral.
- M. Shoji, "Natural selection of the Mn cluster in the photosynthetic water oxidation", Satellite Meeting to 18th International Congress on Photosynthesis Research (WOX-ICPR2022), University of Otago, Dunedin, New Zealand, on-line, 2022/8/7, oral.
- M. Shoji, "QM/MM-MD study of the role of valine 185 in the oxygen-evolving complex of photosystem II", 60th Annual Meeting of BSJ, on line2022/9/30, oral.
- M. Shoji, "A Large Conformational Change of the Quinone Cofactor in Bacterial Copper Amine Oxidase", ICPAC Kota Kinabalu 2022, on-line, 2022/11/25, oral.
- M. Shoji, "Unique reaction mechanism of copper amine oxidase revealed by theoretical QM/MM and experimental approaches", CCS-KISTI workshop, CCS, U.Tsukuba, 2023/2/22, oral.
- Y. Hori, "Computational Chemical Approaches to the Microscopic Mechanism of Anhydrous Proton Conduction Materials", Asia Pacific Conference of Theoretical and Computational Chemistry APATCC-10, Quy Nhon (Vietnam), 2023/2/22.

B) 一般講演

- 1. Y. Shigeta, "QM/MM studies on structure and function of metalloenzymes", International Symposium in Chemistry, Chiang Mai University, Nov. 7th (2022).
- R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Molecular Dynamics Simulation Reveals Structural Variations of Metallothionein with or without Zinc Ions", The 8th International Symposium on Metallomics, 2022/7/12.
- K. Hengphasatporn, R. Harada, Y. Shigeta "Evaluation of the Potent SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitors using LB-PaCS-MD/FMO Technique", The 60th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, 2022/9/30.

- M. Shoji, "Theoretical insights into the molecular mechanisms of dynamical biochemical reactions", Molecular Movies International Symposium 2022, Riken Yokohama, 2022/5/13, oral+poster.
- M. Shoji, K. Miyagawa, H. Isobe, Y. Shigeta, K. Yamaguchi, "QM/MM study of the role of valine 185 in the oxygen-evolving center of photosystem II", 18th International Congress on Photosynthesis Research (ICPR2022), Dunedin, New Zealand, 2022/8/4, on-line, poster.
- 6. K. Miyagawa, M. Shoji, T. Kawakami, H. Isobe, K. Yamaguchi, and Y. Shigeta, Relative stability and electronic states in the S1 state of the CaMn4O5 cluster of the OEC of the PSII by DFT and DLPNO-CC calculations, International Congress on Photosynthesis Research 2022, 2022 Jul. 31st ~ Aug. 5th, Hybrid at the Dunedin Centre, New Zealand, online (Poster)
- 7. K. Miyagawa, M. Shoji, T. Kawakami, K. Yamaguchi, and Y. Shigeta, Exchange Coupling Calculations for M-O-M Systems by Coupled Cluster Method, The 73rd Yamada Conference, Oct. 8th~11th, 2022, 東北大学片平さくらホール, 仙台市青葉区 (Poster)
- H. Shimoyama, Y. Shigeta, "3 Dimensional Domain Swapping (3D-DS) Studied by Advanced Molecular Dynamics Simulation", The 60th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan 2022/9/29. (poster)

(3) 国内学会·研究会発表

A) 招待講演

- 1. 庄司光男, 銅含有アミン酸化酵素におけるトパキノン補酵素の構造変化機構, 第 22 回日本蛋白質科学会年会, つくば国際会議場, 2022/6/8.
- 庄司光男、GLAS アルゴリズムによる酵素反応機構の理論解明:新規反応経路探索手 法の開発と適用、物性研短期研究会「理論タンパク質物性科学の最前線:理論と実験 との密な協働」,東大物性研,2022/7/27,口頭発表.
- 3. 庄司光男, アミノ酸ホモキラリティ起源についての電子状態探査, 計算アストロバ イオロジー2022, CCS, 2022/11/10, 口頭発表.
- E司光男,酵素反応における構造変化の重要性,令和4年度新学術領域研究「高速分子動画」シンポジウム,淡路夢舞台国際会議場,2022/11/21,口頭発表.
- 5. 堀優太、重田育照、理論計算による生体内水素機能メカニズムの解明、第 32 回日本 MRS 年次大会、2022 年 12 月 5 日、横浜.
- 堀優太、水素機能性物質・タンパク質のための計算化学によるアプローチ、ハイドロジェノミクス第9回若手育成スクール、2022年9月26日、分子研

- K. Hengphasatporn, "Computer-Aided Drug Design (CADD) for Antiviral Research", AMED e-ASIA/JSPS KAKENHI/JSPS Bilateral Programs/TIA KAKEHASHI Joint Symposium, 北 海道大学,函館, 2023/3/8,口頭発表.
- 8. K. Hengphasatporn, "Halogenated compound as a promising antiviral using FMO calculation", 凝縮系の理論化学 2023, 沖縄, 2023/3/10, 口頭発表.
- 9. K. Hengphasatporn, "Exploring Antiviral Drug Discovery through Computational Calculations and Fragment Molecular Orbital (FMO) Method", CCS LBNL Collaborative Workshop 2023, 2023/4/13, 口頭発表.

B) その他の発表

- 原田隆平、森田陸離、重田育照、"化合物の膜透過プロセスを紐解く自由エネルギー 計算手法の開発"、第50回 構造活性相関シンポジウム、ロ頭発表、2022年11月11 日、オンライン
- 森田陸離、重田育照、原田隆平、"脂質二重膜を考慮した膜タンパク質に対するドッキング手法の開発、第50回構造活性相関シンポジウム、ロ頭発表、2022年11月11日、オンライン
- 3. 高橋輝行、Kowit Hengphasatporn、原田隆平、重田育照、中分子の膜透過性に対する 計算手法の検討、口頭発表、日本コンピューター化学会 2022 年 秋季年会 2022 年 11月27日、信州大学
- 4. 保田拓範、森田陸離、重田育照、原田隆平、Enhanced Sampling における構造妥当性の評価は外部バイアスを適切に制御する、ポスター発表、第 36 回 分子シミュレーション討論会 2022 年 12 月 5 日、オンライン
- 5. 庄司光男、宮川晃一、三嶋謙二、堀優太、重田育照、光合成水分解酸素発生における Mnの自然選択の理由、量子生命科学会第4回大会、神戸大学,2022/5/26, ロ頭発表.
- ・渡辺七都稀、庄司光男、堀優太、重田育照、アミノ酸ホモキラリティ起源を紐解く結 晶形成過程についての量子化学研究、量子生命科学会第4回大会、神戸大学、
 2022/5/27、ポスター.
- 三嶋謙二,梅名泰史, Mauro Boero,重田育照,庄司光男、光合成励起電子エネルギー 移動効率とフィコビリソーム構造周期性との相関関係、量子生命科学会第4回大会、 神戸大学、2022/5/27,ポスター.
- E司光男, 酵素反応の QM/MM 解析、スーパーコンピュータワークショップ 2022「複 雑電子状態の理論・計算科学」, on-line, 2023/1/17, ポスター.

- 堀優太,重田育照,"第一原理計算によるコハク酸イミダゾリウム結晶中のプロトン 伝導異方性の解析",日本化学会 第103 春季年会(2023),口頭発表,2023 年3月24日, 千葉
- 10. 堀優太,重田育照,"理論計算による生体内水素機能メカニズムの解明",第32回日本 MRS 年次大会,口頭発表,2022 年 12 月 5 日,横浜
- 11. 堀優太, 佐藤綾香, 重田育照, "高電位鉄硫黄タンパク質の電子状態と周辺アミノ酸からの影響", 日本コンピュータ化学会 2022 年秋季年会, 口頭発表, 2022 年 11 月 26日, 信州大学
- 12. 宗井陽平, 堀優太, Kowit Hengphasatporn, 原田隆平, 重田育照, "分子動力学計算に基づくシロイヌナズナおよびエンバク HPPD-メソトリオン複合体の結合挙動解析", 日本コンピュータ化学会 2022 年秋季年会, 口頭, 2022 年 11 月 26 日, 信州大学
- 13. 渡辺七都稀, 庄司光男, 堀優太, 重田育照, "有機分子触媒を用いたアミノ酸ラセミ化 反応の理論的研究",日本コンピュータ化学会2022年秋季年会,口頭発表,2022年11月 26日, 信州大学
- 14. 井田朋智,小島穂夏,堀優太,"化学反応ネットワークと機械学習による生成物および 反応経路予測の可能性",第45回ケモインフォマティクス討論会,口頭発表,2022年 11月18日,九州大学筑紫キャンパス
- 15. 堀優太, "酸化プロピレンホモキラリティー発生の理論的予測", "計算アストロバイオ ロジー2022", 口頭発表, 2022 年 11 月 10 日, 筑波大学計算科学研究センター
- 16. 佐藤綾香, 堀優太, 重田育照, "高電位鉄硫黄タンパク質の鉄硫黄クラスターの電子 状態と周囲のアミノ酸からの影響の理論解析", 第16回分子科学討論会、口頭発表, 2022年9月19日, 横浜
- 17. 堀優太,佐藤綾香,重田育照,"高電位鉄硫黄タンパク質の[4Fe-4S]活性中心の構造と 電子状態についての理論的解析",第22回日本蛋白質科学会年会,口頭発表,2022年 6月8日,つくば
- 堀優太,重田育照, Theoretical characterization of the active site and its formation pathway in oxidized [NiFe]-hydrogenase,第60回日本生物物理学会年会,ポスター発表,2022 年9月28日,函館
- 19. 佐藤綾香, 堀優太, 重田育照, 高電位鉄硫黄タンパク質のクラスター周辺の構造が及 ぼす影響と電子状態についての理論的解析, 物性研短期研究会、理論タンパク質物性 科学の最前線:理論と実験との密な協働, ポスター発表, 2022 年 7 月 27 日, 東大物性 研

- 20. 堀優太, 重田育照, 酸化型[Ni-Fe]ヒドロゲナーゼの活性中心についての理論的研究, 物性研短期研究会、理論タンパク質物性科学の最前線:理論と実験との密な協働, ポ スター発表, 2022 年 7 月 27 日, 東大物性研
- 21. 佐藤綾香, 堀優太, 重田育照,高電位鉄硫黄タンパク質の鉄硫黄クラスター周辺の構造と電子状態についての理論的解析, 量子生命科学会第4回大会, ポスター発表, 2022年5月26日, オンライン
- 22. 堀優太, 重田育照, 酸化型[NiFe]ヒドロゲナーゼの生成過程と活性中心の構造についての理論的研究, 第24回理論化学討論会, ポスター発表, 5月20日, 金沢
- 23. 宮川晃一,川上貴資,庄司光男,磯部寛,山口兆,重田育照,光化学系 II における酸 素発生中心の S1 状態での中間体構造の DFT と CC 法による解析,量子生命科学会 第4回大会,2022 年 5 月 26 日~27 日,神戸大学百年記念館六甲ホール (口頭発表)
- 24. 宮川晃一,川上貴資,庄司光男,磯部寛,山口兆,重田育照,光化学系 II における酸素発生中心のS1状態でのプロトンシフト異性体間の電子状態と相対安定性の理論的解析,第48回生体分子科学討論会,2022年6月30日~7月1日,とりぎん文化会館(口頭発表)
- 25. K. Miyagawa, T. Kawakami, M. Shoji, H. Isobe, K. Yamaguchi, and Y. Shigeta, DFT and DLPNO-CC calculation of relative stability and electronic states in the S2 state of the CaMn4O5 cluster of the OEC of the PSII, 第60回 生物物理学会年会, 2022年9月28日 ~9月30日, 函館アリーナ・函館市民会館 (ポスター)
- 26. Y. Okamoto, T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "A Computational Study on the Half-Site Activity Mechanism of Homodimeric Tyrosyl tRNA Synthetase", 第 60 回 生物 物理学会年会, 2022 年 9 月 28 日 ~ 9 月 30 日, 函館アリーナ・函館市民会館 (ポスター)
- 27. R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "LogP-corrected Membrane Docking Score Screens Protein-Ligand-Membrane Complexes", 第 60 回 生物物理学会年会, 2022 年 9 月 28 日 ~ 9 月 30 日,函館アリーナ・函館市民会館 (ポスター)
- 28. T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Structural Validation by the G-factor Properly Regulates Boost Potentials Imposed in Conformational Sampling of Proteins", 第 60 回 生 物物理学会年会, 2022 年 9 月 28 日 ~ 9 月 30 日, 函館アリーナ・函館市民会館 (ポス ター)
- 29. 宮川晃一, 庄司光男, 川上貴資, 山口 兆, 重田育照, クロムダイマーおよび二核錯体の理論的研究, 日本コンピュータ化学会 2022 年秋季年会 in 長野, 23 年 11 月 25 日~27 日, 信州大学 長野キャンパス (ポスター)

- 30. K. Hengphasatporn, T. Rungrotmongkol, Y. Shigeta, Evaluation of brominated baicalein as a promising SARs-CoV-2 Mpro Inhibitor,物性研短期研究会「理論タンパク質物性科学の最前線:理論と実験との密な協働」,東大物性研,2022/7/27.(ポスター)
- 31. 下山 紘充, 重田 育照, "AAM と CGM のハイブリッドシミュレーションによる構造活性相関の研究", 第 16 回分子科学討論会, 9/22. (口頭)
- 32. 下山紘充, 重田 育照, "二次元 SWL 法による蛋白質複合体サンプリングの研究", 日本物理学会・秋季大会, 9/13. (口頭)

(4) 著書、解説記事等

庄司光男, 銅含有アミン酸化酵素における非古典的酵素反応機構、理論化学会誌フロンティア, 17(5), 29-34 (2023), published 2023/1/31.

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

8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

 世話人:梅村雅之、矢島秀伸 (Chair)、福島肇、重田育照、庄司光男、堀優太、高橋 淳一、計算アストロバイオロジー2022 開催, CCS (WorkShopRoom), 2022/11/10-11.

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

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-) 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-)

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

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(2020-2022)

V-2. 分子進化分野

1. メンバー

教授	稲垣 祐司、橋本 哲男(学内共同研究員、生命環境系)
助教	中山 卓郎
学生	大学院生 5名(後期課程1名、前期課程在学4名)、学類生 4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 レードの提唱を行った(Yazaki et al. 2022 *Open Biol* 12:210376)。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 とになり、追加実験データを取得中である。340 遺伝子データの系統解析によりマラウィモナ ス類に近縁であることが明らかとなった未記載真核微生物 SRT706 株については(2022 年度 年次報告書参照)、Dalhousie 大学(カナダ)の Alastair G. B. Simpson 教授と Andrew J. Roger 教授の実験データと合わせて論文作成を行うことになった。

一次植物類を構成する3つのサブクレード間の系統関係の検証

我々の詳細な検証(2022年度年次報告参照; Yazaki et al. 2022 Open Biol 12:210376)によっ て、一次植物類(Archaeplastida)が単系統であり、パンクリプチスタ(Pancryptista)と姉妹群 関係にあることには結論が出たと考えられる。ところが、Archaeplastida 内部の系統関係には 不明点がある。色素体タンパク質に基づく分子系統解析では、灰色藻類が最初に分岐したと 推測されることが多い。これらのデータは、Archaeplastida を構成する緑色植物類、紅藻類、 灰色藻類のうち、灰色藻類が最も原始的であることを示唆する。一方、これまでに実施され た核ゲノムコードタンパク質に基づく大規模分子系統解析のほとんどでは Archaeplastida 内 部で紅藻類が最初に分岐したと推測されている。従って、Archaeplastida 最原始系統群が何か、 なぜ色素体タンパク質と核ゲノムコードタンパク質に基づく解析結果で分岐順序が異なるの かについて十分理解されているとは言えない。こうした背景を踏まえ、本研究では Archaeplastida の3 つのサブグループ間の系統関係について詳細に検討することを目的とし、 暫定的に 220 タンパク質配列から構成されるアライメントデータの作成と予備的な大規模分 子系統解析を行なった。この解析では Yazaki et al. (2022) のアライメントデータにふくまれ る Archaeplastida の種数を 13 種から 45 種に増やし、主に Archaeplastida および Pancryptista か ら構成される 57 種類の真核生物からサンプリングした 157 タンパク質(合計 48,729 アミノ 酸座位)を解析した結果を報告する。

157 タンパク質アライメントを最尤法により解析したところ、Archaeplastida は単系統を形成し、最尤法によるブートストラップ値 (MLBP) 100%で支持された (図 1A)。Archaeplastida クレード中では緑色植物類 (Viridiplantae) と灰色藻類 (Glaucophyta) が姉妹群となり、MLBP =100%で支持された (図 1A)。紅藻類 (Rhodophyta) は非光合成系統であるロデルフィス類 (Rhodelphidia) とピコゾア類 (Picozoa) とともに、MLBP =100%で"Rhodophyta⁺⁺"クレード を形成した。従って、この解析では Rhodophyta⁺⁺クレードが Archaeplastida 内で最初に分岐し たと解釈できる (図 1A)。興味深いことに、ML 系統樹 (Tree 1) と、ML 系統樹を改変して

Viridiplantae と Rhodophyta⁺⁺が姉妹群となる系統樹 (Glaucophyta が初期分岐となる; Tree 2) あるいは Glaucophyta と Rhodophyta⁺⁺が姉妹群となる系統樹 (Viridiplantae が初期分岐となる; Tree 3) と比較し、有意な対数尤度差があるかどうかを AU 検定したところ、Tree 1 と Tree 2 の間では対数尤度差は 48.915、*p* 値は 0.0817 となり、有意水準 0.05 でも棄却出来なかった (図 1B)。従って AU 検定の結果は、Archaeplastida クレード内で Glaucophyta が初期分岐となる 可能性を棄却できなかった。



図 1. A 220 タンパク質配列に基づ く Archaeplastida の 3 つのサブク レード間の系統関係. 緑色植物類 (Viridiplantae) と 灰 色 藻 類 (Glaucophyta)は互いに近縁とな り,紅藻類(Rhodophyta)と紅藻類 に 近 縁 な 非 光 合 成 系 統 (Rhodelphidia と Picozoa)から構 成されるクレードが最も初期に分 岐したと推測された. これらの系統 関係は最尤法ブートストラップ値 100%で支持された. 三角形で示し たクレード内の数字は,各クレード を構成する生物種数を示す.

B. Archaeplastida の3つのサブク レード間の系統関係に対する仮説 検定. Tree 1 は最尤系統樹であり, 紅藻とそれに近縁な非光合成系統 (R⁺⁺)から構成されるクレードが 初期分岐となる系統樹である. Tree 2 は灰色藻(G)が, Tree 3 では緑 色植物類(V)が初期系統となる系 統樹である. 外群は"O"と表記して ある.最尤系統樹 Tree 1 と Tree2/3 の対数尤度差と AU 検定の AU 検定 の p 値は, それぞれ表の 2 行目と 3 行目に記載した.

Tree 1の樹形と枝長を鑑みると(図 1A)、復元された Viridiplantae と Glaucophyta とがロン グブランチアトラクションによるアーティファクト(LBA アーティファクト)により誤って 近縁と推測された可能性がある。もしこの作業仮説が正しければ、Rhodophytaの基部から分 岐する Rhodelphidia と Picozoa を解析から削除し、Rhodophyta に至る枝長を長くした場合、 Archaeplastida クレードの初期分岐が Rhodophyta⁺⁺クレードから Glaucophyta (あるいは Viridiplantae) に変わる可能性がある。そこでまず、Picozoa をアライメントデータから Picozoa を排除し、上記 Trees 1-3 をもちいた AU 検定を繰り返した。Picozoa を排除することで Rhodophyta と Rhodelphida を含む"Rhodophyta⁺"クレードに至る枝は若干長くなるため、AU 検 定において Tree 1 の Tree 2 に対する優位性が変化する可能性がある。実際、注目した 2 樹形 間の対数尤度差はわずか 3.6738、第二の AU 検定では Tree 2 に対する p 値は 0.465 であった。 従って、Picozoaを排除した後ではRhodophyta⁺クレードが初期分岐となるTree1とGlaucophyta が初期分岐となる Tree 2 間に有意な対数尤度差はないと解釈できる。Picozoa に加え Rhodelphida もアライメントデータから排除した場合、Rhodophyta に至る枝はさらに長くなり、 Tree 1 と Tree 2 の対数尤度差はより大きく変化する可能性がある。予想通り、第三の AU 検 定では Tree 2 の対数尤度は Tree 1 の対数尤度よりも大きくなった。以上の結果は、 Archaeplastida クレード内部では Viridiplantae が Glaucophyta あるいは Rhodophyta/Rhodophyta⁺⁺ のうち枝の長い方と姉妹群となることを示し、今回解析した 157 タンパク質アライメントに は Archaeplastida クレード内の 3 つのサブクレード間の系統関係を正確に復元することは難 しいことを示唆した。

Α	Picozoaのみを解析から排除			В	PicozoaとRhodelphidaを解析から排除		
AU検定 を行っ た樹形	Tree 1	Tree 2	Tree 3	AU検定 を行っ た樹形	Tree 1	Tree 2	Tree 3
対数 尤度差	NA	3.6738	80.237	対数 尤度差	49.593	NA	114.46
p値	NA	0.465	0.000604	p值	0.0828	NA	0.00133

図 2. 紅藻類に近縁な非光合成系統を排除したデータに基づく Archaeplastida の 3 つのサブ クレード間の系統関係に対する仮説検定. A. Picozoa のみを排除した AU 検定. B. Picozoa と Rhodelphidia を排除した AU 検定. Tree 1 は紅藻と Rhodelphidia をふくむクレード(R⁺) あ るいは紅藻(R) が初期分岐となる系統樹である. Tree 2 は灰色藻(G) が, Tree 3 では緑色植 物類(V) が初期系統となる系統樹である. 最尤系統樹とその他の対立系統樹間の対数尤度差と AU 検定の *p* 値は, それぞれ表の 2 行目と 3 行目に記載した. その他のサブクレードの表記は

図 1B と同じである. Picozoa のみを排除し検定(A)では Tree 1 が最尤系統樹, Picozoa と Rhodelphidia を排除した検定(B)では Tree 2 が最尤系統樹となった.

今回は 157 タンパク質から構成されたアライメントデータを使用した。今後より多数のタ ンパク質配列をふくむアライメントデータを作成し、最尤系統樹において、Archaeplastida ク レード内の 3 つのサブクレード間の系統関係がどのように推測されるのかをさらに厳密に検 討する予定である。

[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シアノバクテリアのゲノム解析

シアノバクテリアは地球生態系を下支えする重要な一次生産者の一つである。その生態学 的な重要性から、シアノバクテリアの多様性は非常に詳細に調査されてきた。しかしながら、 従来の解析では認識されてこなかった系統のシアノバクテリアが、渦鞭毛藻などの原生生物 との共生関係の中から見つかってきている。このような例は年々報告されつつあり、海洋に 生息するシアノバクテリアの真の多様性を理解するためには、他の生物と共生するシアノバ クテリアのさらなる調査が必要であることが示唆される。

Dinophysis 目渦鞭毛藻は葉緑体を二次的に失った従属栄養性の系統である。そのうち、貧栄 養な海域に分布する Ornithocercus や Histioneis, Parahistioneis, Amphisolenia, Citharistes といっ た属はシアノバクテリアと共生関係を結んでいることが知られる。我々はこれら Dinophysis 目の渦鞭毛藻類に共生するシアノバクテリアの多様性や特徴について研究を進めている。こ れまでの研究の中で海洋渦鞭毛藻 Ornithocercus magnificus の共生シアノバクテリア(OmCyn) が、海洋シアノバクテリアにおける新規系統であることを突き止めた。さらに O. magnificus と OmCyn の共生関係は非常に強固であり、海洋環境中において OmCyn は単独で生育するこ とはないと予想された。また OmCyn には共生関係への適応の結果と見られるゲノム縮退が 確認されている。

本年度、我々は Ornithocercus 属とは異なる Dinophysis 目渦鞭毛藻 Citharistes regius に共生 するシアノバクテリア(以降 CregCyn と記す)のゲノムを解析したためこの結果について報 告する。我々は静岡県下田沖の海水サンプル中から Citharistes regius の個体を発見し、そこに 共生するシアノバクテリアのゲノムを完全に解読することに成功した。このゲノムは 1.94 Mbp の一つの環状染色体によって構成されていることが明らかとなり、それに加えて約 17 Kbp のプラスミドの存在も示唆された。

143 タンパク質遺伝子を用いた多遺伝子系統解析を実施したところ、CregCyn は既に明らか となっている Ornithocercus magnificus の共生シアノバクテリア OmCyn の系統と同様に海洋 Synechococcus 属シアノバクテリアに属する系統であるものの、その内部系統において互いに 明らかに異なる系統であることが明らかとなった。この結果は OmCyn と CregCyn がそれぞ れ独立に渦鞭毛藻と共生関係を築いたことを示している。



図 3. Citharistes regius 共 生シアノバクテリア(CregCyn) の系統解析及び存在様式の推定 (A) 143 のタンパク質アミノ酸 配列を用いた最尤系統樹. 太い 枝はブートストラップ値 100 を 示す. CregCyn (二重矢頭) は OmCyn (矢頭) とは異なる系統で あることが示された. (B) サイ ズ画分ごとのメタゲノムを用い た存在量推定. CregCyn は 0mCyn 同様, 宿主渦鞭毛藻と常に共生 していると予想される.

次に、自然環境下における CregCyn と宿主との相互作用を検証するため、世界中の海洋に おけるメタゲノム解析を行った Tara Oceans のデータを用いて出現パターンの解析を行った。 自由生活性のピコシアノバクテリアおよび OmCyn そして CregCyn のゲノム配列に対して、 幅広い海洋に散在する 57 の Tara Oceans サンプリングステーションから得られた、連続的な サイズ画分(0.8–5µm, 5–20µm, 20–180µm and 180–2,000µm)のメタゲノムショートリードをマ ッピングしたところ、自由生活性のピコシアノバクテリアのゲノムに対応するリードのほと んどは最も小さなサイズ画分(0.8–5µm)から得られた。この結果はピコシアノバクテリアの 細胞サイズが直径 2µm に満たないことを踏まえると必然的である。これに対して 2 つの渦鞭 毛藻に共生するシアノバクテリアのゲノムには、このサイズ画分から対応するリードはほと んど得られなかった。CregCyn ゲノムおよび OmCyn ゲノムに相同な配列は 20-180µm のサイ ズ画分から最も多く得られた。20-180µm は渦鞭毛藻等の真核微生物に対応するか区分である ため、Nakayama et al. (2019)が論じるようにこの出現パターンはこれらの共生シアノバク テリアが自然環境下でそれぞれの宿主細胞と常時物理的に強く結びついていると考えること ができ、CregCyn も OmCyn と同様に環境中で自由生活を行うことはせず、宿主の世代を越え 活を行うことはせず、宿主の世代を越えて垂直に遺伝するものであることが示唆される。 OmCyn ゲノムに対応するリードが 20–180µm のサイズ画分に集中しているのに対し、CregCyn ゲノムのリードが 5–20µm のサイズ画分にも検出されたのは、宿主渦鞭毛藻のサイズに起因 すると考えられる。Ornithocercus magnificus の細胞サイズは 75–115µm 程度であるが、今回実 際にゲノム増幅に用いた Citharistes regius の細胞の大きさは、楕円形の細胞の最も長い軸にお いても 40–50µm である。

系統的に独立であるという示唆が得られた一方で、CregCyn と OmCyn には同様のゲノム縮 小が確認された。先行研究で OmCyn は自由生活生の Picocyanobacteria ゲノムに対して縮小し たゲノムを持つことが示されていたが、本研究で行った比較ゲノム解析では CregCyn も OmCyn と同程度の、コンパクトな規模のタンパク質レパートリーを持つことが明らかとなっ た。他の subcluster5.1 の自由生活生 Synechococcus のタンパク質レパートリーは 2,000-2,400 の 範囲に分布するのに対して、2 つの共生体のそれはいずれも 1,500 強であり、近縁な自由生活 生 Synechococcus の 1/4-1/3 程度しか保持していなかった。これは自由生活生バクテリアにお いて最も小さなゲノムを持つと言われる Prochlorococcus のゲノムと比較しても少ないレパー トリーである。2 つの共生体が独立に獲得されたことを踏まえるとこのタンパク質レパート リーの縮小も独立に起きたと考えられる。それぞれのタンパク質グループを、その系統的な



図4. シアノバクテリアゲノ ムにコードされるタンパク質 レパートリーの比較 CregCyn (二重矢頭)のタンパ ク質レパートリーは OmCyn (矢頭)のそれと同程度に縮 小している.

保存の程度を基準に'core proteins', 'Picocyanobacterial ancestral proteins'および'Accessory proteins'に分け、それぞれのゲノムのタンパク質レパートリーを精査したところ、CregCyn の タンパク質レパートリーに見られる減少はやはり OmCyn のそれと同じ傾向を持っており、 タンパク質の減少はほぼ全て Picocyanobacterial ancestral proteins および Accessory proteins の区 分のタンパク質において起きていることが明らかとなった。

CregCyn および OmCyn の分子系統解析結果は、この2つのシアノバクテリアが明らかに異なる系統であることを示すのに加えて、それぞれの宿主との共生成立時期についても示唆を与えるものである。OmCyn は subcluster5.1 の基部から分岐する系統であり、現在までにこの

系統には自由生活性種が含まれていることを支持するデータは得られていない。これまでの 自由生活性種を前提とした海洋 picocyanobacteria の網羅的な多様性解析において OmCyn が発 見されてこなかったことを踏まえると、OmCyn の系統はすべて真核生物との共生関係にある と予想でき、OmCyn と渦鞭毛藻共生関係の成立は海洋 Synechococcus の多様化が始まる前に 遡る可能性がある。一方で、CregCyn は海洋性 Synechococcus の subcluster5.1 clade IV の種と 単系統を形成するため、少なくともこの共生シアノバクテリアは現在見られる海洋 Synechococcus の多様性が生じた以降に共生関係を結んだものと予想できる。

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の葉緑体ゲノムの解読を試みた。解析対象とし た種は、*Kareina mikimotoi* LMK17、*Karenia selliformis* MoKr600、*Karenia papillionacea* NGDr675、 *Karenia longicanalis* AmKr650、*Takayama helix* AmTk649、*Takayama* cf. *xiamenensis* NGTk657、 *Karlodinium zhouanum* clade 1 LKaK135、*Karlodinium decipiens* clade3 HrKl653、*Karlodinium australe* clade2 LKaK136、*Karlodinium ballantinum* の 10 種である。そのうち *T. xiamenensis* と *Karlodinium ballantinum* については完全解読に成功したと考えられる。今後これらのデータは、 2023 年度から始まるチェコ共和国科学アカデミー・Hehenberger 博士との二国階共同事業共 同研究の一環として解析する。

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: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)。 クリプチスタ生物群の基部から分岐した *Microheliella maris* の Mt ゲノムを解読し、*Front Ecol Evol* 誌(2022 10:1030570)に出版された。本稿ではその詳細を報告する。

Microheliella maris ミトコンドリアゲノムにコードされる遺伝子レパートリー

ミトコンドリアゲノムは多様 性に富むが、どのようにその多様 性が確立したのかは十分に解明 されていない。これは真核生物の 多様性の大部分を占める単細胞 生物種の Mt ゲノムに対する研究 が少ないためである。クリプチス タはクリプト藻、ゴニオモナス 類、カタブレファリス類および Palpitomonas bilix から構成され る。本研究では、最近クリプチス タの基部から分岐することが判 明した M. maris の Mt ゲノムを決 定した。*M. maris* Mt ゲノムは 61.2 Kbp の環状ゲノムである。この Mt ゲノムは 12.9 Kbp の逆位反復配 列をふくみ、53個のタンパク質遺



図 5. *Microheliella maris* の Mt ゲノムマップ. タンパク 質遺伝子は濃い灰色, リボソーム RNA 遺伝子は薄い灰色, tRNA 遺伝子は線で示した.

伝子をコードしている。*M. maris* Mt ゲノムにコードされるタンパク質遺伝子数は、これまで に解読された一次植物類 (Archaeplastida)、クリプチスタ (Cryptista)、ハプチスタ (Haptista)、 SAR 等から構成される Diaphoretickes の Mt ゲノム中で最大である。

これまでに解読されている Diaphoretickes の Mt ゲノムデータと本研究で解読した *M. maris* Mt ゲノムにコードされるタンパク質レパートリーを比較したところ、共通祖先のもっていた Mt ゲノムにコードされていたタンパク質が段階的に減少してきたと推測できる。 Diaphoretickes の共通祖先では 56 タンパク質遺伝子が Mt ゲノムにコードされており(図 6 中 の①)、*M. maris、*クリプチスタ、一次植物類(Archaeplastida)から構成される CAM クレードの共通祖先では 1 遺伝子の欠失が起こったはずである(図 6 中の②)。*M. maris* とクリプチスタの共通祖先が一次植物類の共通祖先と分岐後、前者では遺伝子欠失が起こらなかったが、後者で 7 遺伝子の欠失が起こったと予想される(図 6 中の③および④)。最終的に *M. maris* がクリプチスタの共通祖先と分岐後、それぞれ 2 遺伝子と 8 遺伝子の欠失が起こったと推測された(図 6 中の⑤および⑥)。



図 6. Diaphoretickes における Mt ゲ ノムにコードされるタンパク質のレパ ートリーの変化. 団は Diaphoretickes の 共通祖先, 図は CAM クレードの共通祖 先、団は一次植物類 (Archaeplastida)の 共通祖先, 回は *M. maris* とクリプチスタ (Cryptista)の共通祖先, 団はクリプチ スタの共通祖先を示す.それぞれの共通 祖先で,予想される Mt ゲノムにコード される違伝子を四角内に示した. 日に付 随する四角内には *M. maris* の Mt ゲノム にコードされるタンパク質数と、*M. maris* がクリプチスタの共通祖先と分岐 した後に欠失した遺伝子を示した.

本稿では詳細に触れないが、マラウィモナス類に近縁であることが判明した SRT706 株と アンキロモナス類 Fabomonas sp. SRT902 株の Mt ゲノムは解読済みである。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、②Glissandra sp. SRT312 株、③有孔虫 Ammonia berccarii、④放散虫(Didymocyrtis tetrathulumus と Acanthodesmia viniculata)

[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 eRF1C 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. 岸田雄真,修士(理学),嫌気微好気性の自由生活性鞭毛虫 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.
- 2. 若島朋幸,修士(理学),嫌気微好気性の自由生活性鞭毛虫 Dysnectes brevis におけるミトコンドリア関連オルガネラのプロテオーム解析.
- 3. 厳翼,修士(理学),寄生性の祖先から自由生活性に転じたディプロモナス類におけ る自由生活関連タンパク質の探索.
- 4. 小金丸利隆,修士(理学),嫌気微好気性の寄生虫トリコモナスのアシル Co 合成酵素様タンパク質の特徴づけ.
- 5. 磯貝龍邑,学士(理学),大規模分子系統解析による Archaeplastida 内部系統関係の 再評価.
- 6. 番場浩平,学士(理学),Form I/I型ルビスコに関連する新規タンパク質群の発見.
- 7. 宮本知世,学士(理学),細胞サイズ別環境 DNA を用いた共生性シアノバクテリアの探索.
- 8. 浅賀巧匠,学士(理学), Histioneis 属渦鞭毛藻に共生するシアノバクテリアのゲノ ム解析および系統解析.

集中講義など

- 1. 中山卓郎: 計算科学リテラシー(集中講義,科目番号: 0AH0206)
- 2. 中山卓郎: Computational Science Literacy (集中講義, 科目番号: 0AH0207)

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

受賞

- 令和4年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞、中山卓郎、2022年4月 20日
- 2. 令和4年度筑波大学若手教員特別奨励賞(筑波大学),中山卓郎,2022年4月20日

外部資金

- 科学研究費補助金 基盤研究(B),稲垣祐司(代表),2019-2022 年度,交付額: 全年度直接経費 13,100 千円(2022 年度直接経費 2,300 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)
- 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),2018-2022 年度,交付額:全年度直接経費13,700 千円(2022 年度直接経費1,800 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)

- 科学研究費補助金 基盤研究(B),中山卓郎(代表),2020-2023 年度,交付額: 全年度直接経費 13,600 千円(2021 年度直接経費 3,120 千円),海洋微生物多様性の 盲点―-真核微生物に潜在する原核微生物叢の実態を探る(課題番号 20H03305)
- 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 2,200 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),中山卓郎(分担),2019-2024 年度,交付額: 全年度直接経費 13,300 千円(2021 年度直接経費 2,200 千円),光合成補助色素フコ キサンチンの未知なる生合成系の解明とその誕生の謎を紐解く(課題番号 19H03274)
- 6. 科学研究費補助金 挑戦的研究(萌芽),中山卓郎(分担),2021-2023年度,交付額:全年度直接経費4,900千円(2021年度直接経費2,600千円),非光合成生物の産生する光毒性色素の機能と地理的分布の解明(課題番号21K19303)

6. 研究業績

- (1)研究論文
- A) 査読付き論文
- Ishitani Y, Caterina C, Ujiie Y, Tame A, Tiboni M, Tanifuji G, <u>Inagaki Y</u>, Frontalini F. 2023 Fascinating strategies of marine benthic organisms to cope with emerging pollutant: Titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Pollution* in press.
- Yuyama I, Kume K, Tamura T, <u>Inagaki Y</u>, <u>Hashimoto T</u>. Draft genome sequence of *Aduncisulcus paluster*, a free-living microaerophilic eukaryote belonging to Fornicata. 2023 *Microbiology Resource Announcements* 12(2):30053922.
- Yazaki E, Yabuki A, Nishimura Y, Shiratori T, <u>Hashimoto T</u>, <u>Inagaki Y</u>. *Microheliella maris* possesses the most gene-rich mitochondrial genome in Diaphoretickes. 2022 Frontiers in Ecology and Evolution 10:30570.
- 矢崎裕規,矢吹彬憲,<u>稲垣祐司</u>. Microheliella maris が繋ぐクリプチスタと一次植物の絆. 藻類 The Japanese Journal of Phycology 70:191-196.
- Yoshinaga M, <u>Nakayama T</u>, <u>Inagaki Y</u>. A novel structural maintenance of chromosomes (SMC)-related protein family specific to Archaea. 2022 *Frontiers in Microbiology* 13:913088.
- Matsuo E, Morita K, <u>Nakayama T</u>, Yazaki E, Takahashi K, Sarai C, Iwataki M, <u>Inagaki Y</u>. Comparative plastid genomics of green-colored dinoflagellates unveils parallel genome compaction and RNA editing. 2022 *Frontiers in Plant Science* 13:91543.

- Yazaki E, Yabuki A, Imaizumi A, Kume K, <u>Hashimoto T</u>, <u>Inagaki Y</u>. The closest relative of Archaeplastida is revealed by phylogenomic analyses that include *Microheliella maris*. 2022 *Open Biology* 12:210376.
- Kamikawa R, Mochizuki T, Sakamoto M, Tanizawa Y, <u>Nakayama T</u>, Onuma R, Cenci U, Moog D, Speak S, Sarkozi K, Toseland A, van Oosterhout C, Oyama K, Kato M, Kume K, Kayama M, Azuma T, Ishii K, Miyashita H, Henrissat B, Lombard V, Win J, Kamoun S, Kashiyama Y, Mayama S, Miyagishima S, Tanifuji G, Mock T, Nakamura Y. Genome evolution of a nonparasitic secondary heterotroph, the diatom *Nitzschia putrida*. 2022 *Science Advances* 8(17):eabi5075.

B) 査読無し論文

なし

(2) 国際会議発表

A) 招待講演

- Yuji Inagaki. Serial secondary and serial tertiary endosymbioses in dinoflagellates. ICG Seminar, Mar. 21, 2023, Dalhousie University, Halifax, Canada.
- 2. <u>Yuji Inagaki</u>. Recent progress in resolving the diversity and evolution of deep eukaryotic phylogeny. Jan. 20, 2023, ISEP2023 On-line, On-line.

B) 一般講演

- Yuji Inagaki. A factor that hinders the accurate phylogenetic inferences: The monophyly of Archaeplastida as a case study. EPCC-CCS Joint Workshop, Dec. 14-15, 2022, University of Edinburgh, Edinburgh, UK.
- Ryo Harada, <u>Yuji Inagaki</u>. Endosymbiotic origin of the DNA polymerase localized in euglenid plastids. 2nd Annual International Congress of Euglenoids, Nov. 77-10, 2022, On-line.
- <u>Yuji Inagaki, Takuro Nakayama</u>, Takashi Kawakubo, Eriko Matsuo, Kazauya Takahashi, Mitsumori Iwataki. Nucleomorph genomes of green-colored dinoflagellates. 21st Symposium of the International Society of Endocytobiology, Jul. 19-22, 2022, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

(3) 国内学会 研究会発表

A) 招待講演

- 稲垣祐司. 真核生物の大系統:最近の研究成果から見る多様性の広がり、まとまり、 今後の展望. 第92回寄生虫学会大会サテライトシンポジウム 第17回原生生物・寄 生虫・進化セミナー, March 29, 2023,石川県 金沢市 金沢歌劇座.
- 2. 中山卓郎. 現在進行中の細胞内共生進化を観察する:配列データから得た進化のス ナップショット. 第25回デジタル進化生物セミナー, September 1, 2022, オンライ ン.

B)その他の発表

- 厳翼,久米慶太郎,阿部一貴,矢崎裕規,小松崎洋志,谷藤吾朗,神川龍馬,稲垣祐 司,橋本哲男.寄生性の祖先から自由生活性に転じたディプロモナス類における自 由生活関連タンパク質の探索.第92回寄生虫学会大会,Mar 30-31,2020,石川県 金 沢市 金沢歌劇座
- 2. 原田亮, Marek Eliáš, 稲垣祐司. ユーグレナ類はピラミモナス緑藻由来の色素体局在 DNA ポリメラーゼをもつ. 第 81 回日本寄生虫学会東日本支部大会・日本共生生物 学会第6回大会, Oct. 1-2, 2022, 東京都 文京区 東京医科歯科大学キャンパス
- 3. 原田亮, Marek Eliáš, 中野健太郎, 白鳥隆志, 矢吹彬憲, Eunsoo Kim, 石田健一郎, 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 ポリメラーゼはファージ起源である. 第81回日本寄生虫学会東日本支部大会・ 日本共生生物学会第6回大会, Oct. 1-2, 2022, 東京都 文京区 東京医科歯科大学キャ ンパス
- 4. 中山卓郎. 栽培される共生体: 海洋渦鞭毛藻とシアノバクテリアの共生関係. 日本植物学会第 86 回大会 企画シンポジウム, Sep. 17,2022, 京都府 京都市 京都府立大学
- 5. 野村真未,中山卓郎,中村桂一郎,太田啓介. 栽培される共生体:海洋渦鞭毛藻とシ アノバクテリアの共生関係.日本植物学会第86回大会 企画シンポジウム, Sep. 17, 2022,京都府京都市京都府立大学
- 原田亮,稲垣祐司.アピコンプレクサとその近縁系統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起源の解明.第91回日本寄生虫学会,May 28-29,2022, 北海道 十勝市 とかちプラザ
- (4) 著書、解説記事等

なし

筑波大学 計算科学研究センター 令和四年度 年次報告書

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

- 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
- 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

国際連携·国際活動等

- 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 ア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. 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
- 5. 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

中山卓郎:シンポジウムオーガナイザー. 共生したら葉緑体になった件,ならなかった件: 細胞生態学的視点から見た光合成微生物の個性と生存戦略.日本植物学会第86回大会,Sep. 17,2022,京都府京都市京都府立大学

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:なし