

V. 生命科学研究部門

V-1. 生命機能情報分野

1. メンバー

教授	重田 育照
准教授	原田 隆平
助教	庄司 光男
助教	堀 優太
助教	原嶋 庸介
研究員	Kowit Hengphasatporn (AMED)
研究員	三嶋 謙二、森田 陸離、下山充紘 (CCS)
研究員	宮川 晃一 (新学術領域)
学生	大学院生 7名 (数理物質科学研究科後期課程 1名 (社会人)、前期課程 6名) 学類生 2名 (物理学類)

2. 概要

生命機能情報分野では、生体内で重要な働きをしている生体分子に注目し、その機能を分子構造、電子状態レベルからより詳細に解明することを目的としている。令和3年度は、【1】タンパク質立体構造サンプリング計算手法の開発、【2】光化学系IIの酸素発生中心(OEC)におけるS3状態の高精度計算による解析、【3】無水プロトン伝導物質中の伝導機構の解明に向けた理論解析、【4】高誘電率酸化物の不純物添加による結晶構造制御、【5】SARS-CoV-2に対するドラッグディスカバリー、【6】分子動力学計算によるメタロチオネインの構造多様性解析、【7】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、【8】星間空間におけるアミノ酸のホモキラリテー起源の理論解明、などの研究を大きく進展させることができた。これらの研究では、計算科学研究センターのスパコン (Cygnus)、および国内のスパコンを利用した。また、筑波大学内外の研究グループと共同研究し、新しい研究にも積極的に取り組んだ。

3. 研究成果

[1] タンパク質立体構造サンプリング計算手法の開発 (原田、重田)

生体内において、タンパク質は動的な物質として存在しており、その構造ゆらぎが生命機能を果たす上で重要である。つまり、タンパク質が取りうる立体構造やダイナミクスを調べることは生命機能の理解に直結する。全原子分子動力学計算 (MD: molecular dynamics simulation) は、生体分子を構成する原子について古典力学に基づきニュートンの運動方程式を繰り返し数値積分することで、その時間発展を追跡することができる。このように、MDはタンパク質や核酸をはじめとする生体分子のダイナミクスを追跡する上で強力な研究手段で

ある。しかしながら、MD を用いてタンパク質のとりうる立体構造を過不足なく探索することは非常に困難である。なぜなら、MD で追跡可能な時間スケールはタンパク質が機能を果たす時間スケールよりも遥かに短いためである。この問題を解決するために、ハードウェアおよびソフトウェア開発に加え、様々な計算手法が提案されてきた。ハードウェア面では MD 専用の計算機の開発が行われ、ソフトウェア面では様々な改良型 MD の開発が行われてきた。Parallel Cascade Selection MD (PaCS-MD) は拡張型 MD の一例であり、長時間 MD に代えて複数の短時間 MD を繰り返し実行することでタンパク質の長時間ダイナミクスを効率的に抽出する。具体的には構造変化する確率が高い初期構造をランキングし、短時間 MD を繰り返す。このサイクルを繰り返すことで、始構造と終構造の二構造間の遷移経路を効率的に探索することができる。PaCS-MD を効率的に実行するためには、構造ランキングに使用する指標（反応座標）を適切に選択しなければならないが、その選択は極めて難しく、対象とする系に依存して構造探索に影響を与えるという問題がこれまで指摘されてきた。しかしながら、反応座標が探索効率に与える影響の定量的な評価や、対象の系に依存しない反応座標の検討については不明な点が多かった。そこで本研究では、これらの問題を解決するため PaCS-MD に改良を加えることで、効率的にタンパク質の立体構造を探索する手法 (Ino-PaCS-MD, JCTC2021) を開発した。

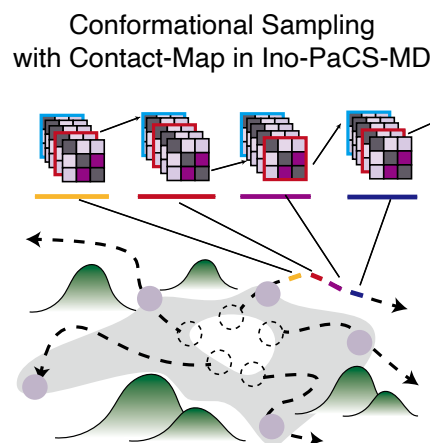


図 1: Ino-PaCS-MD の設計思

[2] 光化学系 II の酸素発生中心(OEC)における S3 状態の高精度計算による解析（庄司、三嶋、宮川）

天然光合成の水分解反応は光化学系 II の酸素発生中心 (OEC) において行われ (図 2a)、太陽光エネルギーを利用して水分子から電子とプロトンが取り出され、その結果として酸素分子が放出される。本反応は、OEC に存在する CaMn_4O_5 クラスタで触媒され、Kok サイクルと呼ばれる 5 段階のステップ ($\text{S}_0 \sim \text{S}_4$) を経て進行する。2011 年の高分解能の XRD による構造の発見からその反応過程の解明に向けた研究が行われているが、中間体間の相対エネルギーなどの定量的な評価には結合クラスター (CC) 法のような DFT を超えた精密な計算が可能となる手法が必要である。本研究では、これまで行ってきた解析結果に基づいて CaMn_4O_5 クラスタのコア構造に対して S_3 状態の水挿入後の異性体間の相対安定性についてのそれぞれ DFT と DFT を超えた手法の一つである DLPNO-CC 法を用いた構造異性体間の相対安定性について比較検討を行った (Chem. Phys. Lett., 793, 139439 (2022))。DFT、CC 法両方の結果で O(6)原子が OH 基でその OH 基が Mn1 と Ca とに配位しているグルタミン酸 189

に水素結合を形成している構造が安定（図 2b）であると示された一方、Oxo 状態や Peroxo 状態の相対安定性が DFT と DLPNO-CC 法で全く異なる傾向が示され、S3 状態から S0 状態に至る O-O 結合形成段階において CC 法のような post-DFT の手法が特に重要となると考えられる。また、HF 成分の異なる 3 つの DFT の結果を初期解に用いた DLPNO-CC 法の結果では HF パラメータに依存しない結果が得られ（図 2c）中間体間の相対安定性だけでなく反応過程の評価にも有効な手段となると考えられる。今回の結果をふまえて現在、水素結合ネットワークを考慮した巨大系に対する精密計算を行っている。

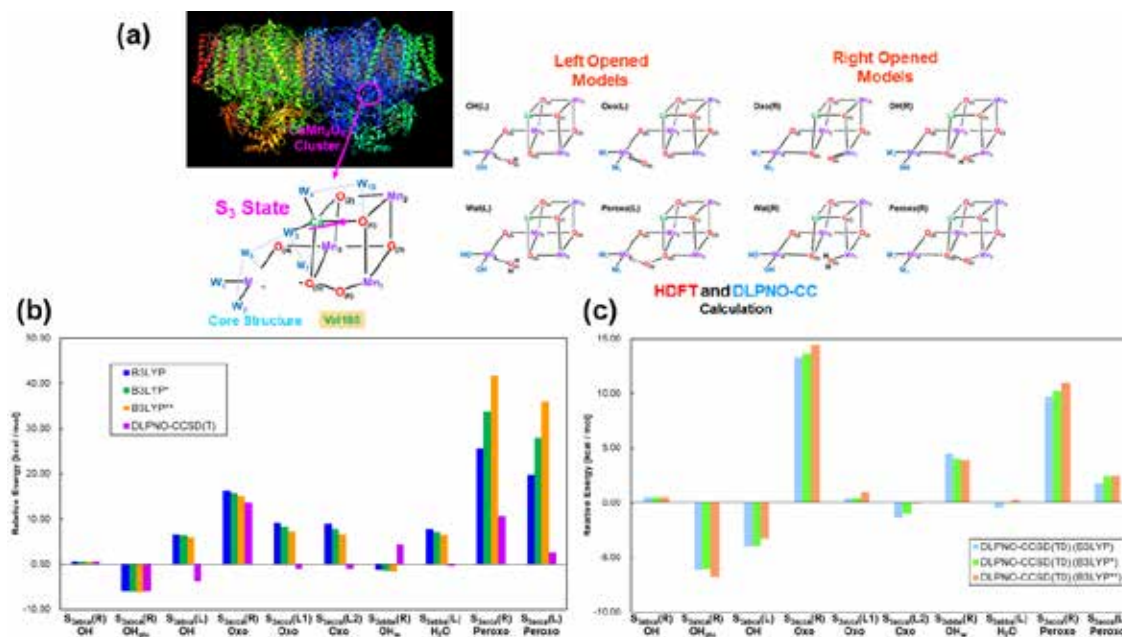


図 2 (a) PSII の OEC における $CaMn_4O_6$ クラスターの S_3 状態の計算モデルと(b),(c)相対エネルギーの手法による比較。

[3] 無水プロトン伝導物質中の伝導機構の解明に向けた理論解析（堀、重田）

無水のプロトン伝導物質は、100°C以上の温度領域でプロトン伝導性を示すため、固体燃料電池の次世代電解質材料として注目されている。コハク酸イミダゾリウム(Im-Suc)は無水の有機結晶であり、イミダゾール(Im)とコハク酸(Suc)が作る二次元の水素結合上をプロトンが伝導し、127°Cで $1 \times 10^{-3} \text{ S m}^{-1}$ のプロトン伝導度を示す。高性能なプロトン伝導物質を設計するためには、その伝導メカニズムを理解することが重要である。

本研究では、Im-Suc 中のプロトン伝導機構の解明を目指し、量子化学計算によって Im-Suc 中の水素結合構造、プロトン移動、分子運動を結びつけるためにポテンシャルエネルギーダイアグラムを構築した。

図3に量子化学計算によって得られた Im と Suc 間の分子間プロトン移動と Im の回転運動による、隣接する Im 間のプロトン輸送過程を仮定したポテンシャルエネルギーダイアグラムの結果を示す。図3の結果から、隣接する Im 間のプロトン輸送過程における構造変化は、まず Im が回転して隣接する Suc へプロトンを渡し、続いて Suc から隣接する Im へプロトンが移り、再び Im 分子が回転する。したがって、このプロセスが繰り返し起こることにより、プロトンが結晶内を伝導していくと予想され、プロトン移動と Im の回転運動がカップリングすることによりプロトン伝導が促進することが示唆された。また、隣接する Im 間のプロトン輸送過程における律速は、Im と Suc 間のプロトン移動過程であることがわかった。したがって、プロトン伝導度を向上させるためには、プロトンのドナーとアクセプターの強さを調整し、プロトン移動の活性化エネルギーを下げる事が重要であることが予想される。

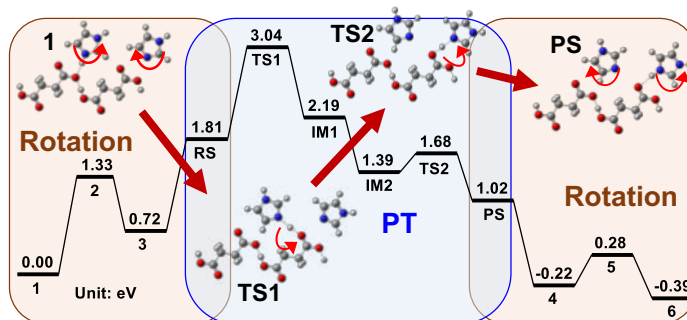


図3 分子回転と2つのプロトン移動遷移状態を含む、隣接する Im へのプロトン移動のポテンシャルエネルギー図を計算したもの。

[4] 高誘電率酸化物の不純物添加による結晶構造制御（原嶋、重田）

Metal-Oxide-Semiconductor Field-Effect Transistor(MOSFET)はスイッチング素子などに利用される、特に重要な半導体デバイスの1つである。MOSFETでは半導体の上に酸化絶縁膜を積層し、そこにさらに金属電極を接触させている。この酸化絶縁膜および金属電極がゲートとして働き、ここにかかる電圧によってチャネルを流れる電流のONとOFFが切り替わる。MOSFETの性能は酸化絶縁膜に高い誘電率を持つ化合物を用いることで向上する。HfO₂やZrO₂は高誘電率酸化膜の候補として注目されているが、いくつかの結晶構造をとり、構造によって誘電率が異なるため、その構造の制御が重要な課題となっている。本研究では不純物添加による結晶構造の制御に着目した。不純物添加による安定性への寄与は(i)生成エネルギーに加えて、(ii)不純物配置のエントロピーと(iii)格子振動モードの変化が考えられる。(i)+(ii)および(i)+(iii)はこれまで通常の第一原理計算を使った解析でもよく研究されているが、(ii)と(iii)を同時に考慮するのは難しい。そこで我々はこれらを同時に考慮した自由エネルギーを定

式化し、 HfO_2 に対する Si 置換の場合に適用した。Si の置換量は 6.25% である。図 1 は tetragonal 構造と monoclinic 構造のそれぞれで計算した自由エネルギーの差をとったものである。Si を 6.25% 置換した場合、0K では monoclinic が安定だが、室温程度まで昇温すると tetragonal 構造が安定化する。この結果は、ターゲットの温度(室温)において、高誘電率な tetragonal 構造を実現させるための重要な示唆を与え、また、基本的に 0K の系を対象にしている第一原理計算のみでは得られない帰結である。

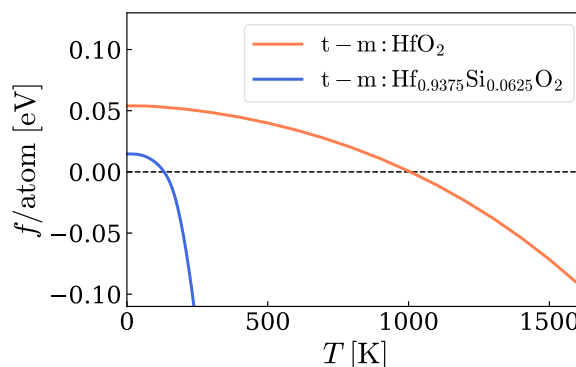


図 4: Tetragonal 構造と monoclinic 構造のそれぞれで計算した自由エネルギーの差を温度に対してプロットしたもの。正值は monoclinic、負値は tetragonal が安定であることを意味する。自由エネルギーには不純物配置と格子振動の自由度が考慮されている。

[5] SARS-CoV-2 に対するドラッグディスカバリー (Hengphasatporn、重田)

Since the crystal structure of SARS-CoV-2 main protease in complex with baicalein is available in the protein Data Bank, the antiviral activity inhibition of halogenated compound has been reported. This study would like to evaluate the inhibitory effect against SARS-CoV-2. The brominated baicalein screened from the FMO-based technique has been proposed as a promising antiviral that can inhibit 3CL pro. Significant interaction stabilized this compound in the binding site is the halogen-hydrogen interaction disclosed by FMO-RIMP2/PCM and the single-point calculation at the M06-2X/def2TZVPP/PCM level, which could describe the enzymatic reaction, catalytic rate constant, and crucial residues in a more accurate way. Besides, brominated baicalein did not demonstrate significant toxicity in either in vitro or in vivo studies. These results suggested that the brominated baicalein could be further developed into novel SARS-CoV-2 protease inhibitors.

We explored using the fluorescent probe 8-anilino-naphthalene-1-sulfonate (ANS) as an alternative assay for inhibitor identification. Fluorescence enhancement upon binding of ANS to 3CLPro was observed, and this interaction was competitive with a peptide substrate. The utility of ANS-based competitive binding assay to identify 3CLPro inhibitors was demonstrated with the flavonoid natural products baicalein and rutin. The molecular nature of ANS and rutin interaction with 3CLPro was explored with molecular modeling. Our results suggested that ANS could be employed in a competitive binding assay to facilitate the identification of novel SARS-CoV-2 antiviral compounds.

The use of chemical-tagged also can elucidate the possible target by tracking the location of cellular fluorescent. The anti-dengue activity of Apigenin has been reported, but the compound's target is unknown. Thus, this active compound is tagged by alkyne that will emit the fluorescent when this

compound binding to the target protein. However, according to the cellular fluorescent study, many proteins are located in the same area. Therefore, the computational target identification using molecular docking and simulation elucidated the possible target of Apigenin that could be the viral protein and also cellular targets.

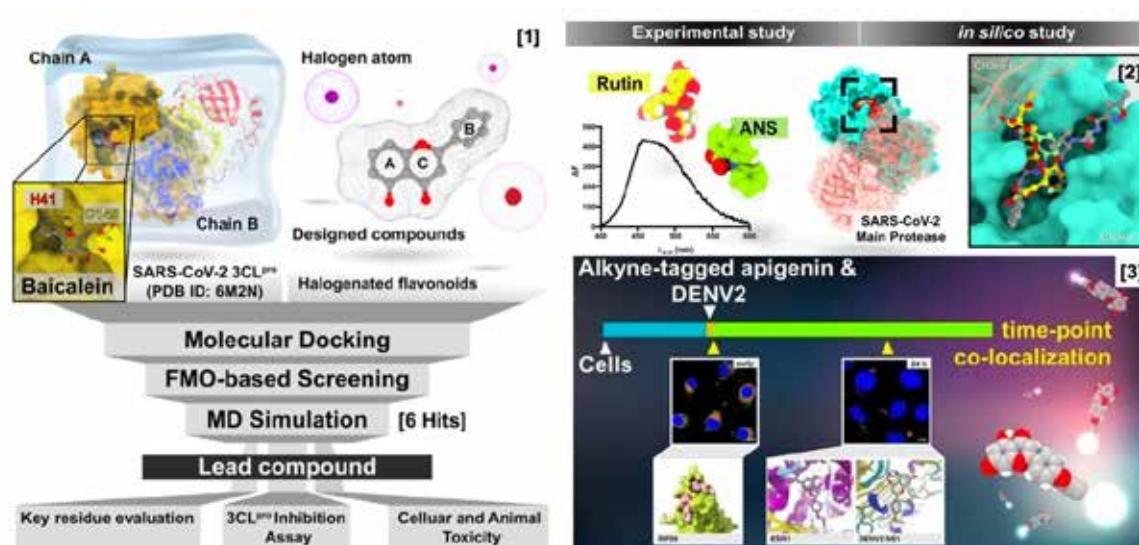


図5 薬剤スクリーニングのプロトコル、SARS-CoV-2 メインプロテアーゼに対する実験・計算研究結果、および、デング熱関連酵素に関する実験・計算結果

[6] 分子動力学計算によるメタロチオネインの構造多様性解析（森田、重田、原田）

金属結合タンパク質であるメタロチオネイン (MT) は(1)金属の貯蔵、(2)有害金属の解毒、(3)抗酸化作用にはたらく。本研究では分子動力学計算 (MD) を用いて異なる環境における MT の多様な構造をサンプリングした。得られた構造群を階層的クラスタリングによって分類することで主要な構造を取得した。まず、亜鉛イオンを豊富に含む条件では MT は NMR 構造に類似した球状の構造を取った。NMR 構造と異なる点としては、複数の短い α ヘリックスを形成した点である。NMR 構造では 3 個の金属イオンを配位しているが、MD における金属の結合数は平均で 1.55 個であった。MT は 9 個のシステイン残基を持つが、そのうち 2 番目、3 番目のシステインによく結合が見られた。次に、亜鉛イオンを含まない条件では伸展した β シート構造が主要に見られた。この構造は実験的に報告されておらず新規の構造であり、金属イオンに対する応答性に関わることが予想される。また、亜鉛イオンの代わりにナトリウムイオンを豊富に含む条件では同様に伸展した β シート構造を取った。このことから塩濃度による影響ではなく金属イオンが存在することが重要であると考えられる。また、亜鉛イオンによく結合したシステインをチオール基 (SH 基) とするだけで球状の構造をとった。この結果からこれらのシステインがキャップされることが構造形成に重要であることが示唆され

る。今後の展開としてはよりサイズの大きい柔軟なタンパク質についても構造計算に取り組むことが期待される。

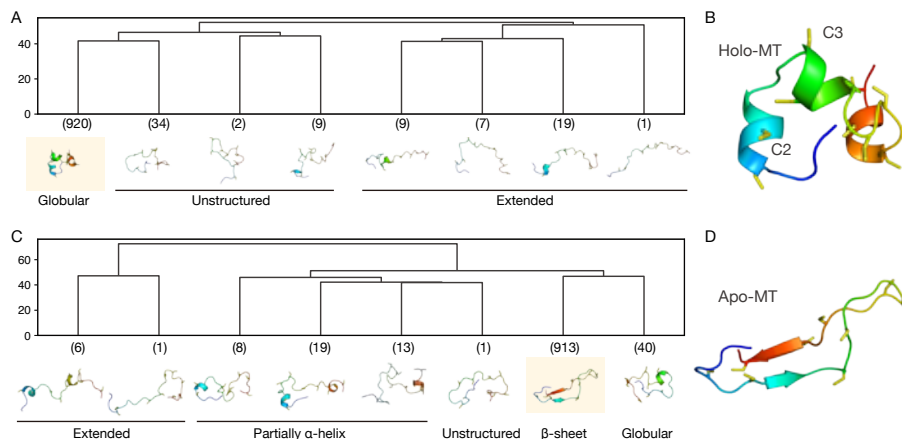


図 6 MD 計算によって得られたメタロチオネインの構造クラスタリング (A(ホロ体), C(アポ体)) および代表構造 (B(ホロ体), D(アポ体))

[7] 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、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。

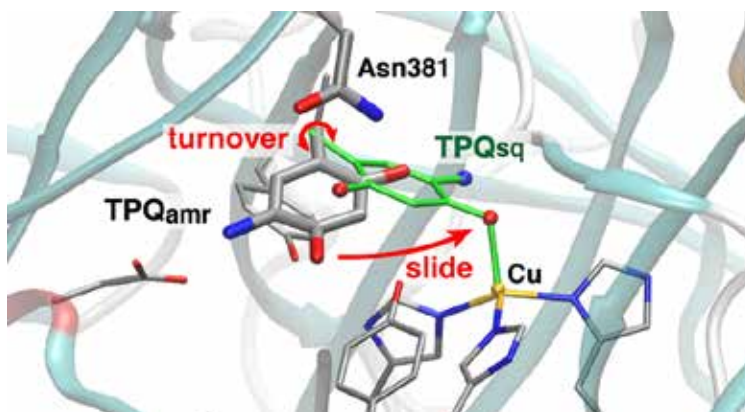


図 7. CAO のセミキノンラジカル生成における大きな TPQsq の構造変化

[8] 星間空間におけるアミノ酸のホモキラリテー起源の理論解明（堀、庄司、重田）

生体を構成するキラルなアミノ酸は、星間空間で生成される可能性が十分にあるが未だ直接観測されるに至っていない。星間空間における希薄な空間での分子検出は極めて難しいと考えられるが、はやぶさ2のサンプルリターンのように、隕石を直接採取して精密地上分析ができる時代が到来している。星間空間でのアミノ酸のホモキラリテー化が成されれば、生命誕生時のL体アミノ酸の起源となる可能性がある。アミノ酸のホモキラリテー起源を分子物性の観点から紐解くことを試みた。Minimum Energy Principleによれば、異性体間の相対安定性を評価することで分子の安定性を定量化することができる。本法則を用いることで、アラニン及び全てのアラニン前駆体の安定性を評価した。その結果、アミノニトリル前駆体（2-アミノプロパンニトリル）が最安定種であることを第一原理計算により示すことができた。今度は光吸収特性についての高精度計算で評価し、論文化を進める。

4. 教育

＜卒業研究発表＞

（物理学類）

1. 佐藤綾香、「高電位鉄硫黄タンパク質の活性中心の構造と電子状態についての理論的解析」
2. ハツ井俊希、「機械学習ポテンシャルの生成とその応用」

＜修士修了研究発表＞

（物理学専攻）

1. 高岡健太、「分子動力学法を用いた 環状ペプチドの膜透過過程における 溶媒和自由エネルギーの評価」
2. 吉岡耕作、「計算を用いた Protein Arginine Deiminase 4 選択的阻害剤の結合の解析」

（生物学専攻）

1. 曾田勇斗、「天然変性タンパク質の配列機能相関を記述する新規計算手法」
2. 保田拓範、「タンパク質の立体構造を効率的に探索する分子シミュレーション手法の開発」

＜博士修了研究発表＞

1. 高橋輝行、「Computational studies of effects of surface charge on biomembrane and membrane permeability of molecules」

＜集中講義＞

1. 重田育照、「生物物理学」、8th Sep. 2021、秋田大学大学院工学研究科.

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

受賞

1. 原田隆平、令和3年度 科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞
2. 原田隆平、令和3年度 筑波大学 若手教員特別奨励賞
3. 森田陸離、新学術領域研究「生命金属科学」領域会議 第4回地方巡業（東京）若手優秀研究発表賞、2021年7月3日
4. 庄司光男、量子生命科学会第3回大会講演賞、「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」、2021年9月16日

外部資金

（研究代表）

1. 新学術領域研究「生命金属科学」公募研究、重田育照、「生命金属動体解明のための量子生体エネルギー論」（R02-R03）
2. LG Japan との共同研究、重田育照（研究代表）、原嶋庸介（研究分担）（R03-R04）
3. 基盤研究(C)、「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」原田隆平（代表）、（R03-R05）
4. 新学術領域研究「光合成分子機構の学理解明と時空間制御による革新的光一物質変換系の創製」公募研究、庄司光男、「光化学系 II 酸素発生中心における再活性化機構についての理論的解明」（R02-R03）
5. さきがけ（日本学術振興機構）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」（H31-R03）
6. 若手研究、堀 優太、「理論計算に基づく酸塩基複合体中のプロトン伝導機構の解明」（H31-R03）
7. 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、「プロトン移動を伴う機能性材料開発のための電子状態解析」（R03）、11万円
8. 公益財団法人マツダ財団、第36回マツダ研究助成、堀 優太（代表）、「無水プロトン伝導材料設計に向けた計算化学による機能解析」（R02-R03）
9. 学術変革領域研究(A)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」（R03-R04）
10. 新学術領域研究（研究領域提案型）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」（R03-R04）
11. 群馬大学生体調節研究所「内分泌・代謝学共同研究拠点」共同研究公募、森田陸離（R03）

(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. AMED「難治療性実用化事業」、重田育照（研究分担者）「チトクロム C オキシダーゼを標的としたミトコンドリア病の新規治療薬開発」、（研究代表者）新谷泰範、（R03-R05）
4. 新学術領域研究(研究領域提案型)「高速分子動画」、庄司光男（研究分担者）、「時分割実験のための多様な反応誘起システムの開発」南後 恵理子（研究代表者）（R01-R05）
5. 東京エレクトロンとの共同研究、重田育照（研究分担者）、櫻井鉄也（研究代表者）（R02-R04（予定））

6. 研究業績

(1) 研究論文

A) 査読付き論文

1. K. Hengphasatporn, P. Wilasluck, P. Deetanya, K. Wangkanont, W. Chavasiri, P. Visitchanakun, A. Leelahavanichkul, W. Paunrat, S. Boonyasuppayakorn, T. Rungrotmongkol, S. Hannongbua, Y. Shigeta, “Halogenated baicalein as a promising antiviral agent toward SARS-CoV-2 main protease”, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 62(6), 1498–1509 (2022). DOI: 10.1021/acs.jcim.1c01304, March 4, 2022, IF: 4.956
2. H. Aida, Y. Shigeta, R. Harada, “Ligand-binding Path Sampling Based on Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics: Id-PaCS-MD”, *Materials* 15, 1490 (16 pages) (2022). DOI: 10.3390/ma15041490, 2022 Feb 17, IF: 3.623
3. Z. Li, Y. Yang, T. Xu, Y. Shigeta, M. Paterson, H. Fruchtl, T. van Mourik, S. Kirk, S. Jenkins, “Next Generation QTAIM for the Design of Emitters Exhibiting Thermally-Activated Delayed Fluorescence (TADF) with Laser Irradiation”, *Journal of Computational Chemistry*, 40(3), 206-214 (2022). DOI:10.1002/jcc.26783, 2022 Jan 30, IF: 3.376
4. T. Aoyagi, R. Yoshino, Y. Mitsuta, R. Morita, R. Harada, Y. Shigeta*, ”Integrated in silico studies on the role of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) binding in activating C-terminal binding protein 2 (CtBP2)”, *Chemistry Letters*, 51(1), 1-4 (2022). DOI:10.1246/cl.210548, 2022 Jan 1, IF: 1.291

5. T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “Histone H3 Inhibits Ubiquitin-Ubiquitin Intermolecular Interactions to Enhance Binding for DNA Methyl Transferase 1”, *Journal of Molecular Biology*, 434(2), 167371 (2022). DOI:10.1016/j.jmb.2021.167371, 2022 Jan 30, IF: 5.469
6. S. Ashida, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “Phosphorylation in the Accessory Domain of Yeast Histone Chaperone Exposes the Nuclear Export Sequence”, *Proteins* 90, 317-321 (2022). DOI: 10.22541/au.161550022.24032527/v1, February 2022, IF: 3.123
7. R. Fujiki, T. Matsui, Y. Shigeta, H. Nakano, N. Yoshida, “Recent developments of computational methods for pKa pre-diction based on electronic structure theory with solvation models”, *Multidisciplinary Scientific Journal* 4(4), 849-864 (2021). DOI:10.3390/j4040058, 10 December 2021, IF:Not available
8. V. Sladek, R. Harada, Y. Shigeta, “Residue Folding Degree - Relationship to Secondary Structure Categories and use as Collective Variable”, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 13042 (2021). DOI:10.3390/ijms222313042, 2 December 2021, IF: 5.924
9. H. Shimoyama, Y. Shigeta*, “A Free Energy Landscape Analysis of Calmodulin Obtained from an NMR-data Utilized Multi-scale Divide-and-conquer Molecular Dynamics Simulation”, *Life*, 11(11), 1241 (2021). DOI:10.3390/ life11111241, 16 November 2021, IF: 3.817
10. C. Xie, H. Shimoyama, M. Yamanaka, S. Nagao, H. Komori, N. Shibata, Y. Higuchi, Y. Shigeta*, S. Hirota*, “Structural and theoretical study on designing myoglobin to a domain-swapped dimer with an increased hydrogen bonding network at the hinge region”, *RSC Advances*, 11, 37604-37611 (2021). DOI:10.1039/d1ra06888a, 23 Nov 2021, IF: 3.119
11. K. Henghasatporn, B. Kaewmalai, S. Jansongsaeng, V.N. Badavath, T. Saelee, T. Chokmahasarn, T. Khotavivattana, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, S. Boonyasuppayakorn, “Alkyne-tagged apigenin, a chemical tool to navigate potential targets of flavonoid anti-dengue leads”, *Molecules*, 26(22), 6967 (2021). DOI:10.3390/molecules26226967, 18 November 2021, IF: 4.412
12. R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “Structural Variations of Metallothionein with or without Zinc Ions Elucidated by All-Atom Molecular Dynamics Simulations”, *Journal of Physical Chemistry B*, 125(46), 12712–12717 (2021). DOI:10.1021/acs.jpcb.1c07928, November 11, 2021, IF: 2.958
13. K. Yanagi, Y. Mitsuta, K. Takaoka, T. Takahashi, K. Hengphasatporn, R. Harada, Y. Shigeta*, “Solubility and Membrane Permeability of Cyclic Dipeptides Approximately Estimated by Quantum Chemistry and Molecular Dynamics Simulations”, *Chemistry Letters*, 50(12), 1964-1967 (2021). DOI: 10.1246/cl.210488, Dec 1, 2021, IF: 1.291

14. S. Dekura, Y. Sunairi, K. Okamoto, F. Takeiri, G. Kobayashi, Y. Hori, Y. Shigeta, H. Mori, "Effects of mechanical grinding on the phase behavior and anhydrous proton conductivity of imidazolium hydrogen succinate single crystals", *Solid State Ionics*, 372, 115775 (2021). DOI: 10.1016/j.ssi.2021.115775, 19 October 2021, IF: 3.785
15. R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Post-string Method: Estimation of Minimal Free Energy Path", *Chemical Physics Letters*, 782, 139003(2021). DOI: 10.1016/j.cplett.2021.139003, 6 September 2021, IF: 2.328
16. H. Aida, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Different Ligand-Binding Abilities Between Heterodimer of Medaka Fish Taste Receptor Type 1 Essential for Discriminating Taste Substances", *Physical Chemistry Chemical Physics* 23, 20398-20405 (2021). DOI: 10.1039/D1CP02876F, 20 Aug 2021, IF: 3.676
17. T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Independent Non-targeted Parallel Cascade Molecular Dynamics (Ino-PaCS-MD) to Enhance Conformational Sampling of Proteins", *Journal of Chemical Theory and Computation*, 17(9), 5933-5943 (2021). DOI: 10.1021/acs.jctc.1c00558, August 19, 2021, IF: 6.006
18. Z. Li, X. Nie, T. Xu, Y. Yang, H. Früchtl, T. van Mourik, S. R. Kirk, T. R. Paterson, Y. Shigeta, S. Jenkins, "Control of Chirality, Bond flexing and Anharmonicity in an Electric Field", *International Journal of Quantum Chemistry* 2021, e26793 (2021). DOI:10.22541/au.162400988.85572499/v1, 15 Nov 2021, IF: 2.444
19. K. Mishima, M. Shoji, Y. Umena, M. Boero, Y. Shigeta, "Estimation of the relative contributions to the electronic energy transfer rates based on Förster theory: The case of C-phycocyanin chromophores", *Biophysics and Physicobiology*, 18, 196-214 (2021). DOI:10.2142/biophysico.bppb-v18.021, July 30, 2021, IF: Not available
20. Y. Saeki, M. Kayanuma, A. Nitta, Y. Shigeta, I. Kawamura, T. Nakagawa, T. Ubukata, Y. Yokoyama, "On-Demand Chirality Transfer of Human Serum Albumin to Bis(thiophen-2yl) hexafluorocyclopentenes through Their Photochromic Ring Closure", *Journal of Organic Chemistry (supplemental cover)*, 86(18), 12549–12558 (2021). DOI:10.1021/acs.joc.1c00849, July 29, 2021, IF: 4.354
21. T. Xu, X. Nie, Y. Yang, H. Früchtl, T. van Mourik, S. R. Kirk, Y. Shigeta, S. Jenkins, "Chirality without Stereoisomers: Insight from the Helical Response of Bond Electrons", *ChemPhysChem* 22(19), 1989-1995(2021). DOI:10.1002/cphc.202100397, October 5, 2021, IF: 3.102
22. H. Yamagishi, M. Tsunoda, K. Iwai, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, H. Sato, Y. Yamamoto, "Solvophobicity-directed Assembly into Microporous Molecular Crystal", *Communications*

- Chemistry, 4, Article number: 122 (2021). DOI:10.1038/s42004-021-00561-8 , 20 August 2021, IF: 6.581
23. T. Takahashi, T. Matsui, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta*, “A Practical Prediction of LogPo/w through Semiempirical Electronic Structure Calculations with Dielectric Continuum Model”, Bulletin of Chemical Society of Japan, 94(7), 1807-1814 (2021). DOI: 10.1246/bcsj.20210035, July 1, 2021, IF: 5.488
 24. V. Sladek, Y. Yamamoto, R. Harada, M. Shoji, Y. Shigeta, “pyProGA - A PyMOL plugin for protein residue network analysis”, PlosOne, 16(7), e0255167 (17 pages) (2021). DOI: 10.1371/journal.pone.0255167, July 30, 2021, IF: 3.240
 25. T. Ikawa, Y. Yamamoto, A. Heguri, Y. Fukumoto, T. Murakami, A. Takagi, H. Aoyama, Y. Shigeta, H. Tokiwa, S. Akai, “London-Dispersion-Controlled Regioselective (2+2) Cyclodimerizations of Benzyne: Application to the Synthesis of Helical Biphenylenes”, Journal of the American Chemical Society (cover), 143(29), 10853-10859 (2021). DOI:10.1021/jacs.1c05434, July 1, 2021, IF: 15.419
 26. Y. Sasano, H. Tanaka, Y. Haketa, Y. Kobayashi, Y. Ishibashi, T. Morimoto, R. Sato, Y. Shigeta, N. Yasuda, T. Asahi, H. Maeda, “Ion-Pairing π -Electronic Systems: Ordered Arrangement and Non-covalent Interactions of Negatively Charged Porphyrins”, Chemical Science (inside cover), 12, 9645-9657 (2021). DOI:10.1039/D1SC02260A, 14 Jun 2021, IF: 9.825
 27. P. Deetanya, K. Hengphasatporn, Y. Shigeta, T. Rungrotmongkol, K. Wangkanont, “Interaction of 8-Anilinonaphthalene-1-Sulfonate with SARS-CoV-2 Main Protease and Its Application as a Fluorescent Probe for Inhibitor Identification”, Computational and Structural Biotechnology Journal, 19, 3364-3371 (2021). DOI: 10.1016/j.csbj.2021.05.053, 11 June 2021, IF: 7.271
 28. Y. Hori, Y. Sunairi, S. Dekura, T. Ida, M. Mizuno, H. Mori, Y. Shigeta, “A Proton Conduction Mechanism for Anhydrous Imidazolium Hydrogen Succinate: Relationship between Proton Conduction and Local structures and Molecular Dynamics”, The Journal of Physical Chemistry Letters (inside cover) 12(22), 5390-5394 (2021). DOI: 10.1021/acs.jpclett.1c01280, June 3, 2021, IF: 6.475
 29. R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, "Comprehensive Predictions of the Secondary Structures for Comparative Analysis in Different Species", Journal of Structural Biology, 213(2), 1077355 (2021). DOI:10.1016/j.jsb.2021.107735, 28 April 2021, IF: 2.867
 30. A. Kimura, H. Kitoh-Nishioka, Y. Shigeta, S. Ito, "Comparison of Light Harvesting Mechanisms of Photosynthetic Type-I Reaction Centers of Heliobacteria with Photosystem I.

- Pigments Site Energy Distribution and Exciton States", *Journal of Physical Chemistry B*, 125(15), 3727-3738 (2021). DOI:0.1021/acs.jpcc.0c09400, April 9, 2021, IF: 2.958
31. T. Fukazawa, H. Akai, Y. Harashima, T. Miyake, "First-principles investigation of Nd(Fe,M) 12 (M=K--Br) and Nd(Fe,Cr,Co,Ni,Ge,As)12: Possible enhancers of Curie temperature for NdFe12 magnetic compounds", *Acta Mater.* 226, 117597 (2022). March, 2022, IF: 8.203
32. Y. Harashima, T. Mano, K. Slevin, and T. Ohtsuki, "Analysis of Kohn-Sham Eigenfunctions Using a Convolutional Neural Network in Simulations of the Metal-insulator Transition in Doped Semiconductors", *J. Phys. Soc. Jpn.* 90, 094001 (2021). August 18, 2021, IF: 2.480
33. T. Miyake, Y. Harashima, T. Fukazawa, H. Akai, "Understanding and optimization of hard magnetic compounds from first principles", *Sci. Tech. Adv. Mater.* 22, 543 (2021). September 15 2021, IF: 8.090
34. K. Miyagawa, M. Shoji, H. Isobe, T. Kawakami, T. Nakajima, K. Yamaguchi, "DLPNO coupled cluster and hybrid DFT calculations. Proton transfer coupled spin transitions of the CaMn4Ox cluster in OEC of PSII", *Chemical Physics Letter* 790, 139357 (2022). DOI: 10.1016/j.cplett.2022.139357, IF: 2.328
35. K. Miyagawa, M. Shoji, H. Isobe, T. Kawakami, T. Nakajima, K. Yamaguchi, "Relative energies among S3 intermediates in the photosystem II revealed by DLPNO coupled cluster and hybrid DFT calculations. Possible pathways of water insertion in the S2 to S3 transition", *Chemical Physics Letter* 793, 139439 (2022). DOI: 10.1016/j.cplett.2022.139439, IF: 2.328

B) 査読無し論文

なし

(2) 国際会議発表

A) 招待講演

1. Y. Shigeta, "Computational Studies on Interaction between Viral Proteins and Small Molecules/Protein", 10th International Conference on Chemical and Biological Sciences, Tokyo University of Science, Feb. 28th-March 2nd (2022).
2. Y. Shigeta, "Computational Studies on Structure-Function of Metalloenzymes", The Fourth Asian Workshop for Experiment and Theory in Quantum Beam Molecular Science Sakura Science, Ibaraki University (Online 開催), November 11th 2021, Ibaraki Japan.
3. Y. Shigeta, "Theoretical Studies on Membrane Permeability", 24th International Annual Symposium on Computational Science and Engineering (ANSCSE24), Kasetsart University (Online 開催), April 28-30 2021, Thailand.

4. Y. Harashima, "First principles study on dislocation and impurity complexes in GaN", The 2nd International Symposium on Wide Gap Semiconductor Growth, Process and Device Simulation, 2022.01.20.

B) 一般講演

1. M. Shoji, QM/MM study of the large conformational change of quinone cofactor during the catalytic cycle of bacterial copper amine oxidases, 2022 LBNL/CSA - Tsukuba/CCS Collaboration Meeting, online (oral), 2022/3/24.

(3) 国内学会・研究会発表

A) 招待講演

1. 重田育照, “計算化学を用いた生体機能解析と創薬への展開”, CAMM フォーラム, November 5th 2021, Online 開催.
2. 重田育照, “計算化学と実験の協働による金属タンパク質の構造・機能解析”, October 26th-28th 2021, CBI2021 第2回量子構造生命科学研究所シンポジウム, 第25回 FMO 研究会『金属タンパク質解析における構造生物学と量子化学計算の融合』, Online 開催.
3. 重田育照, “タンパク質の構造機能-相関に対する計算科学的研究～応用篇～”, 生命金属科学 夏の合宿, September 4th-6th 2021, ルスツリゾート.
4. 重田育照, “統合的インシリコシミュレーションによる薬物-タンパク質動体解析”, 計算を中心としたバイオ分野の筑波大-KEK 連携セミナー, August 6th 2021, Online 開催.
5. 重田育照, “第一原理 QM/MM 計算による電子・プロトン移動解析”, 第10回高速分子動画オンラインセミナー Jun. 22nd 2021, Online 開催.
6. 重田育照, “計算科学に基づく金属タンパク質動態の理論解析”, 第21回日本蛋白質科学会, シンポジウム New frontier in biometal science, Jun. 16th-18th 2021, Online 開催 (招待講演)
7. 重田育照, "Covid-19 関連タンパク質に対する統合的インシリコリポジショニング", 新学術領域「高速分子動画」Web セミナー 「構造生物学・化学・計算科学を融合させたウイルス・パンデミックに対する取り組み」, Apr. 2nd 2021, Online 開催.
8. 原田隆平, ペプチドの膜透過性を評価する分子シミュレーション技術の創出, 原田隆平, CBI 学会 (情報計算化学生物学会) 2021 年度大会 フォーカストセッション「ペプチド創薬を指向した計算科学の最前線」 2021 年 10 月

9. 堀優太、堀優太、出倉駿、井田朋智、水野元博、森初果、重田育照、“量子化学計算による有機結晶中のプロトン伝導機構の理論解析”、第 15 回物性科学領域横断研究会(領域合同研究会)、オンライン、2021 年 11 月

B) その他の発表

1. 堀優太、出倉駿、井田朋智、水野元博、森初果、重田育照、“量子化学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機構解析”、日本化学会第 102 春季年会(2022)、オンライン、2022 年 3 月
2. 中西匠、堀優太、塩田淑仁、吉澤一成、佐藤治、“プロトン結合スピン転移錯体における熱誘起三状態変換”、第 15 回分子科学討論会、オンライン、2021 年 9 月
3. 堀優太、出倉駿、井田朋智、水野元博、森初果、重田育照、“コハク酸イミダゾリウム結晶中のプロトン伝導機構の理論的解析”、第 15 回分子科学討論会、オンライン、2021 年 9 月
4. 分子動力学計算で解明するメタロチオネインの構造多様性、森田陸離、重田育照、原田隆平、新学術領域研究「生命金属科学」領域会議 第 4 回地方巡業(東京) 2021 年 7 月
5. 庄司光男、村川武志、重田育照、林秀行、岡島俊英、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についての理論的解明、第 23 回理論化学討論会、online (poster), 2021/5/14.
6. 庄司光男、村川武志、重田育照、林秀行、岡島俊英、銅含有アミン酸化酵素のプロトン化状態についての QM/MM 解析、第 47 回生体分子科学討論会、online (poster), 2021/6/4.
7. 庄司光男、村川武志、重田育照、林秀行、岡島俊英、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、量子生命科学会第 3 回大会、online (口頭)、2021/9/16 (講演賞受賞).
8. 庄司光男、三嶋謙二、宮川晃一、堀優太、重田育照、GLAS 法による分子構造及び化学反応経路の探索、日本コンピュータ化学会 2021 年秋季年会、online (ポスター), 2021/11/2.
9. 庄司光男、村川武志、重田育照、林秀行、岡島俊英、銅アミン酸化酵素におけるドパキノン補酵素のコンフォメーション制御機構、量子生命科学先端フォーラム 2021 冬の研究会、online (ポスター), 2021/12/17.

(4) 著書、解説記事等

1. 重田育照, “2021 秋季年会を終えて”, Journal of Computer Chemistry Japan, 20(4) A51 (2022).
2. 宮川晃一, “分子動力学計算によるグアニンバルジ DNA に結合する小分子に関する理論的研究”, アンサンブル, 23, 143-147 (2021). DOI: 10.11436/mssj.23.143
3. K. Yamaguchi, K. Miyagawa, H. Isobe, M. Shoji, T. Kawakami, S. Yamanaka, “Isolobal and isospin analogy between organic and inorganic open-shell molecules—Application to oxygenation reactions by active oxygen and oxy-radicals and water oxidation in the native and artificial photosynthesis” pp. 425-564, in Advances in Quantum Chemistry, Volume 84, Ed. E.J. Brändas, Elsevier, (2021). DOI: 10.1016/bs.aiq.2021.10.001. 8 December 2021.
4. K. Yamaguchi, S. Yamanaka, H. Isobe, M. Shoji, T. Kawakami, K. Miyagawa, “Mechanism of Water Oxidation in Photosynthesis Elucidated by Interplay Between Experiment and Theory” pp. 39-80, in Photosynthesis: Molecular Approaches to Solar Energy Conversion. Advances in Photosynthesis and Respiration (Including Bioenergy and Related Processes), vol 47, Ed. J.-R. Shen, K. Satoh, S.I. Allakhverdiev. Springer, Cham. (2021). DOI: 10.1007/978-3-030-67407-6_2. September 2021.

7. 異分野間連携・産学官連携・国際連携・国際活動等

異分野間連携（センター内外）

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

産学官連携

1. 量子科学技術開発機構（QST）との共同研究
2. 東京エレクトロンとの共同研究
3. LG Japan との共同研究
4. 第一三共ノバーレ R&D 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

該当なし

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、総合智教育推進委員会委員、学群共通科目部会長、教育戦略会議オブザーバー、

学群教育会議オブザーバー、計算科学研究センター運営委員会委員、人事委員会委員、生命科学研究部門長、広報戦略室室長、拡大物理学専攻運営委員会委員

原田隆平

筑波大学先導的研究者体験プログラム (ARE) 運営委員
筑波大学大学院 理工情報生命学術院 生命地球科学研究群 生物学学位プログラム
早期修了委員
筑波大学 計算科学研究センター 一般利用委員会

10. 社会貢献・国際貢献

重田育照

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-)
理論化学会幹事 (2021-)
分子科学会プログラム委員 (2016-)
日本コンピュータ化学会役員 (2021-)
量子生命科学会評議員 (2021-)
NISTEP 専門調査員 (2020-)
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-)
日本コンピュータ化学会 2021 年度 秋季年会 実行委員長

原田隆平

東京大学 物性研究所附属物質設計評価施設 スーパーコンピュータ共同利用課題審査委員会委員
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
第 10 回 茨城県高校生科学研究発表会 審査員
日本コンピュータ化学会 2021 年度 秋季年会 実行委員
American Chemical Society Journal of Chemical Information and Modeling (ACS, JCIM)
Editorial Advisory Board

庄司光男

日本コンピュータ化学会 2021 年度 秋季年会 実行委員
理論化学会 学会誌「フロンティア」編集委員 (2020-)

堀優太

日本コンピュータ化学会 2021 年度 秋季年会 実行委員
日本生物物理学会 分野別専門委員 (2021-)

原嶋庸介

日本コンピュータ化学会 2021 年度 秋季年会 実行委員
ISWGPDs 2022 Program Committee

11. その他

1. 共同プレスリリース(筑波大学、金沢大学)、「有機固体電解質中のプロトン伝導メカニズムを解明～高効率な燃料電池の設計指針に～」 (2021 年 6 月 8 日)
2. 日本生物物理学会、「複雑な生体内の酵素触媒反応を分子レベルで理解する」『C-18:

酵素機能（生物物理のテーマ）』（2022 年 3 月）

<https://www.biophys.jp/highschool/C-18.html>

V-2. 分子進化分野

1. メンバー

教授	稲垣祐司、橋本哲男（共同研究員、生命環境系）
助教	中山卓郎
学生	大学院生 6名（後期課程1名、前期課程在学5名）、学類生 0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*Palpitomans 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った (現在追加実験データを取得中)。また 2021 年度の学際共同利用プログラムでは、340 遺伝子データの系統解析により未記載真核微生物 SRT706 株の系統的位置を検討した。

***Microheliella maris* をふくむ解析による一次植物類の最近縁系統の同定**

系統的所属が不明な真核微生物の 1 つである *Microheliella maris* は Heliozoa 門の一員とみなされていたが、これまでに発表された大規模系統解析ではこの生物がどのような真核生物系統に近縁となるか不明であった。本研究では 319 遺伝子から構成されるアラインメントを系統解析し、*M. maris* が真核生物の主要系統 Cryptista の基部から分岐することを明らかにし、Cryptista に *M. maris* を加えた単系統群を Pancryptista と呼称すること提案した。さらに本解析では一次植物類の単系統性と一次植物類と Pancryptista の姉妹関係が頑健に復元され、CAM クレードと呼称することを提案した。これまで、一次植物の単系統性は分子系統解析により安定に復元されず、大きな議論の的となっていた。一次植物類の単系統性を頑健に復元した本解析と、同じ系統関係を復元できなかった過去の解析とは“何が違っていたのか”を検証した。まず、過去の解析では入っていなかった *M. maris* を含む複数の初期分岐系統 (例えば紅藻類の原始系統である Rhodelphidia) を除いた解析を行ったところ、一次植物類は単系統にならないあるいはなりにくい傾向があることが確認できた。これは *M. maris* や Rhodelphidia が持つ系統シグナルが、一次植物類の単系統性を復元するために重要であることを示している。次に、本来単系統である一次植物類がなぜ単系統を復元されにくかったのか、その要因を解明するために遺伝子数と含まれる生物種が異なる複数のデータセットを作成し解析した。その結果、*M. maris* や Rhodelphidia を含まないアラインメントデータを解析する場合、Cryptista の一系統であるクリプト藻類と紅藻類との姉妹群関係が誤って復元される傾向があり、このクリプト藻遺伝子配列が持つシグナルが、これまでの大規模分子系統解析において一次植物類の単系統の復元を妨げていた可能性が高いことが示唆された。

A

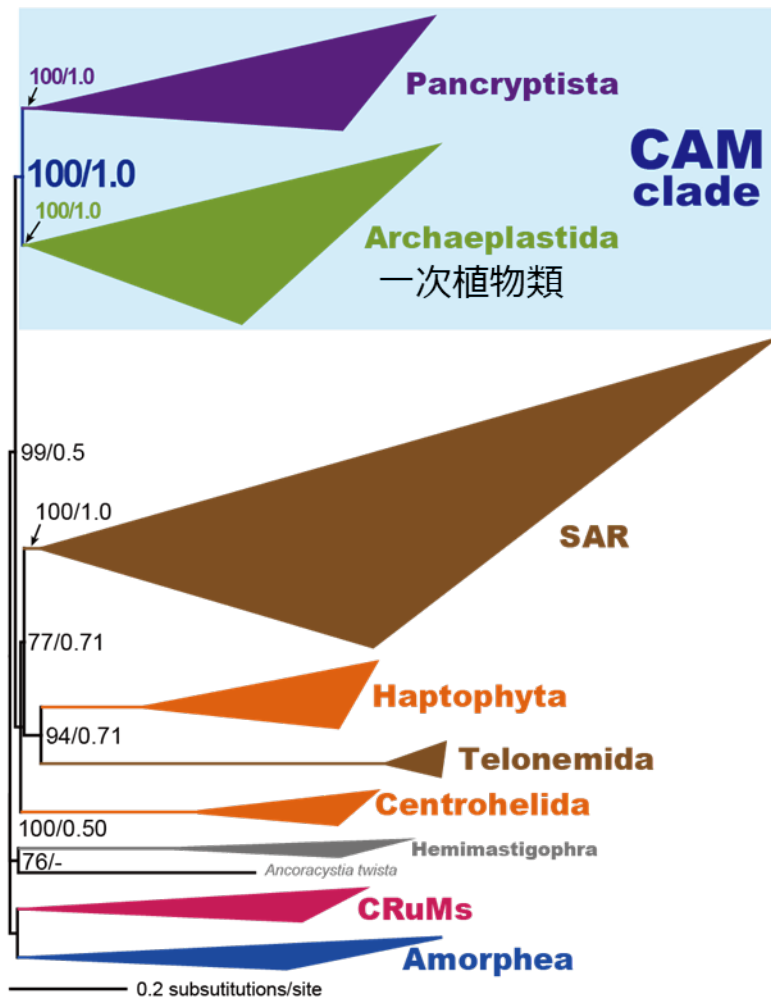
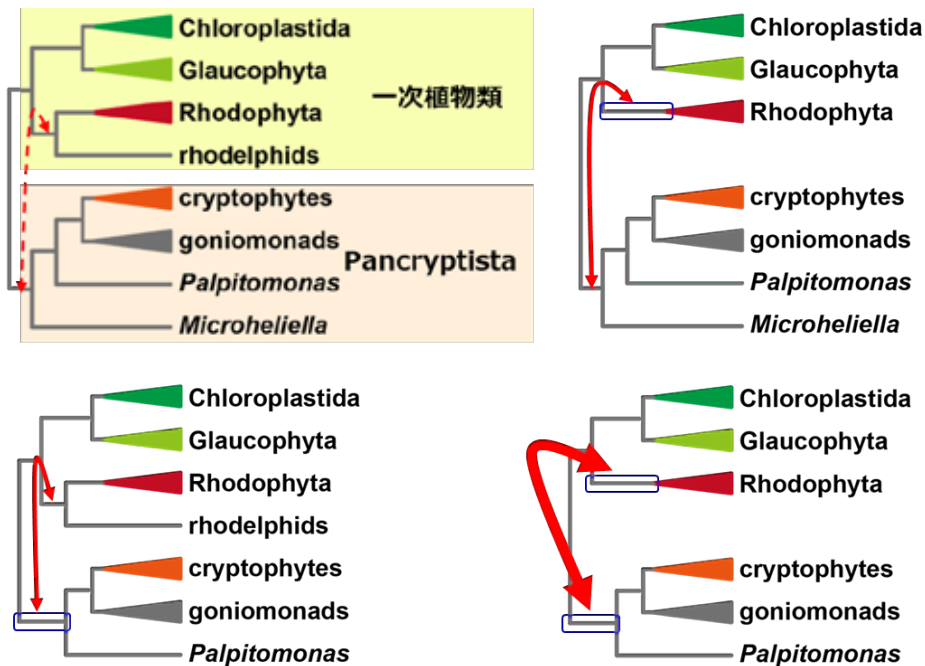


図 1. A 319 遺伝子系統解析により復元された Pancryptista と一次植物類の姉妹群関係。この姉妹群関係 (CAM クレード) は最尤法ブートストラップ値 100% およびベイズ法事後確率 1.0 により支持された。

B Rodelphids および Microheliella が Pancryptista と一次植物類の姉妹群関係に与える影響の模式図。Rhodelphis と Microheliella がふくまれた解析では、一次植物類と Pancryptista が単系統となる (左上)。Rhodelphis あるいは Microheliella を解析から除くと、紅藻類 (Rhodophyta) と Pancryptista が誤って「引き寄せ」あうアーティファクト (赤矢印) が生じる (右上 & 左下)。Rhodelphis と Microheliella を解析から除くと、紅藻類と Pancryptista 間のアーティファクト (太い赤矢印) が増幅される (右下)。

B



340 遺伝子データに基づく未記載真核微生物 SRT706 株の系統的位置の検討

我々のグループは大規模系統解析とは独立に、我々は系統的に広範な真核生物系統を対象にしたミトコンドリア DNA の複製・修復にかかわる DNA ポリメラーゼ（ミトコンドリア局在 DNAP）の研究を行ってきた（Harada et al. 2020 *Pathogens* 9:257; Harada & Inagaki 2021 *Genome Biol Evol* 13:eval003）。これまでの研究により異なる複数タイプのミトコンドリア局在 DNAP が発見され、真核生物の系統ごとに異なるタイプのミトコンドリア局在 DNAP を使用していることが判明している。また未発表データであるが、ユーグレノゾアを除くディスコバ生物群、アンキロモナス類、マラウイモナス類は、共通してこれまで報告されていないタイプの DNA ポリメラーゼを持ち、それをミトコンドリア DNA の複製・修復に使用していることが判明した（heterotrophic eukaryote-specific mitochondrion-localized DNA polymerase/heMP と仮称）。このデータは、アンキロモナス類、マラウイモナス類およびディスコバ生物群は、heMP をミトコンドリア局在 DNAP として使用する共通祖先から進化したこと、すなわち上記 3 系統はこれまで見過ごされてきた「スーパーグループ」を形成する可能性を示している。

これまで実施してきた大規模系統解析とミトコンドリア局在 DNAP の探索と並行し、我々は未記載真核微生物 SRT706 株の RNA-seq データを取得・解析した。標準的な系統解析マーカーである小サブユニットリボソーム RNA 配列による系統解析では、SRT706 株の系統的位置は確定できなかった（未発表データ）。興味深いことに、SRT706 株 RNA-seq データ中に heMP

A



B

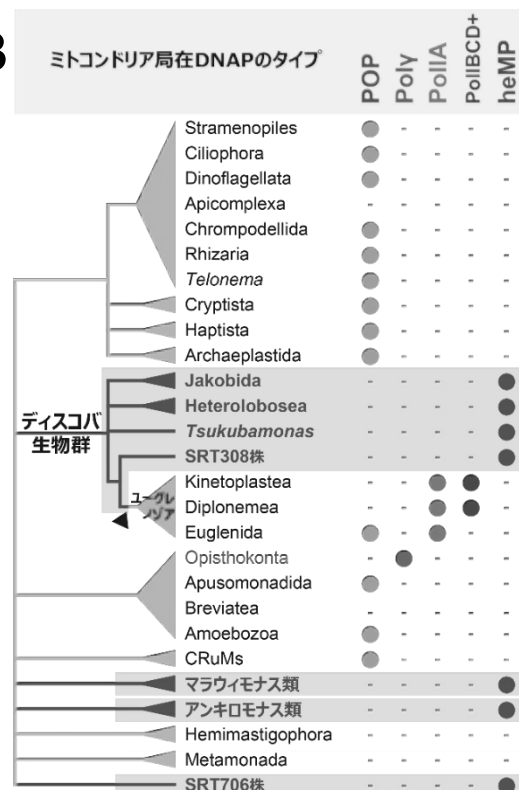


図 2. A 未記載真核微生物 SRT706 株の光学顕微鏡写真。写真提供 白鳥峻志博士（筑波大学）

B 真核生物におけるミトコンドリア局在 DNAP の分布。図の左側に示した系統樹は、主要グループ間の系統関係を模式的に示す。系統樹の右側の丸はミトコンドリア局在 DNAP のタイプを示す。ダッシュは特定のタイプが存在しない／検出されないことを示す。ユーグレノゾアを除くディスコバ生物群、マラウイモナス類、アンキロモナス類に加え、未記載真核微生物 SRT706 株もミトコンドリア局在 DNAP として heMP を使用する。ユーグレノゾアはディスコバ生物群にふくまれるが、heMP とは異なるミトコンドリア局在 DNAP を使用している。これはユーグレノゾアの共通祖先が未記載真核微生物 SRT308 株と分岐後（矢頭でハイライトした部分）、ミトコンドリア局在 DNAP が異なるタイプに置換されたと考えられる。

をコードする転写物を同定したが、既知タイプのミトコンドリア局在 DNAP は検出できなかった。従って、SRT706 株は、アンキロモナス類、マラウィモナス類、ディスコバ生物群のいずれかに近縁となる可能性が高い。そこで、SRT706 株からのデータを追加した 340 遺伝子データを最尤法による系統解析を行い、heMP を保持するアンキロモナス類、マラウィモナス類、ディスコバ生物群のうちいずれと SRT706 株が近縁かを推測した。まだ最終的な解析結果は出ていないが、図 2 に 340 遺伝子データにもとづく最尤系統解析結果を示した。その結果、SRT706 株はマラウィモナス類の基部から分岐し、この系統関係はウルトラファストブートストラップ値 99% で支持された。従って、自然環境にはこれまで見過ごされてきたマラウィモナス類と近縁な SRT706 株をふくむ生物群が存在ことを示唆する。

本解析の結果は M. Eliáš 博士（Ostrava 大学・チェコ共和国）との共同で進めているオルガネラ DNA ポリメラーゼの多様性と進化についての研究の一部であり、全体の研究成果は 2022 年度中に英文投稿論文として投稿することを目指す。

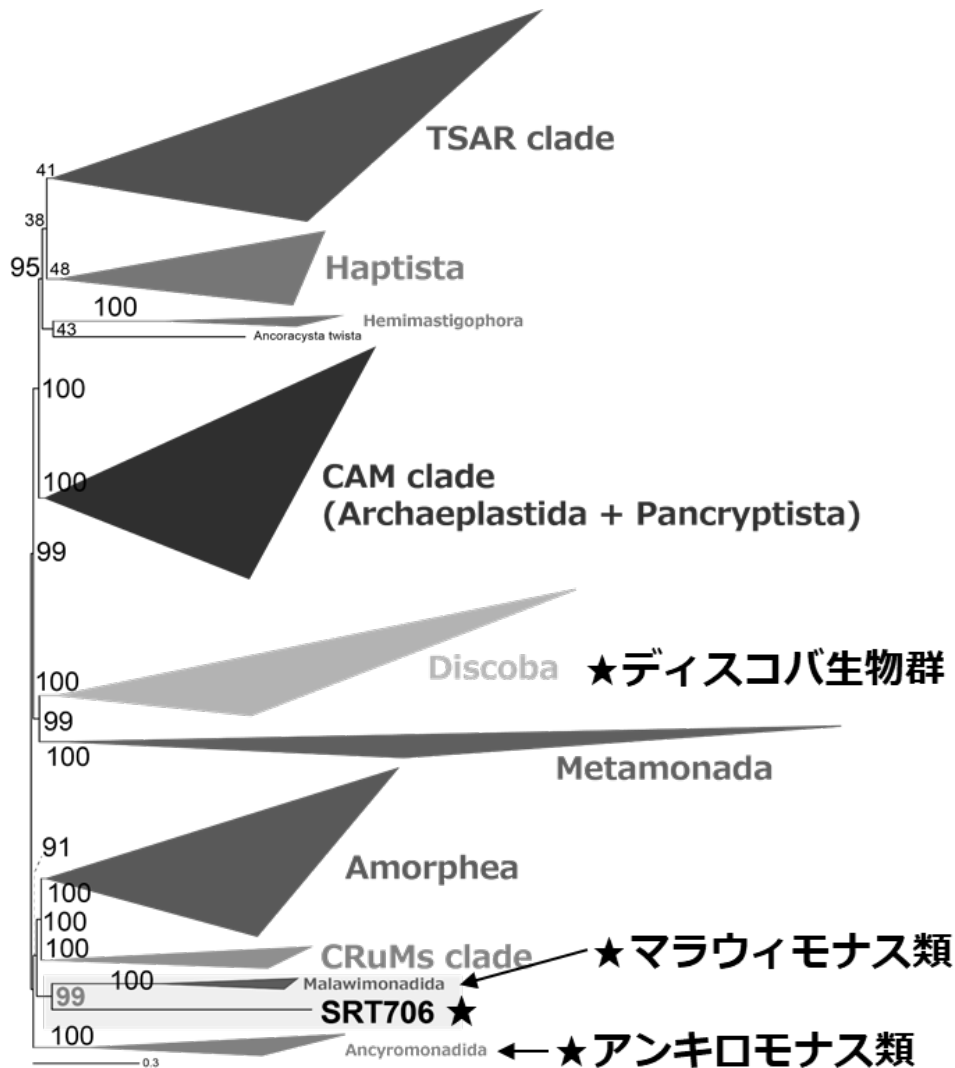


図 3. 340 遺伝子データから推測された未記載真核微生物 SRT706 株の系統的位置。真核生物の主要クレードは三角形で示した。各分岐に示した数値は IQ-TREE プログラムによる ultra-fast ブートストラップ (UFBP) 値である。SRT706 株はマラウィモナス類の基部から分岐し、この関係は UFBP = 99% で支持された。星印でハイライトした系統はミトコンドリア局在 DNAP として heMP を共通して持つ系統である。

[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

我々はこれまで *Dinophysis* 目渦鞭毛藻類に外部共生するシアノバクテリアについての研究を行ってきた (Nakayama et al. 2019 *Proc Nat Acad Sci USA* 116:15973-15978)。その中で海洋渦鞭毛藻 *Ornithocercus magnificus* の共生シアノバクテリア (OmCyn) が、*Synechococcus/Prochlorococcus* グループに含まれ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。本報告では *O. magnificus* とは異なる渦鞭毛藻種である *Histioneis depressa* に共生するシアノバクテリアのゲノム解析によって明らかになった知見を報告する。

Histioneis depressa に共生するシアノバクテリア HdCynA のゲノム解析

Histioneis 属渦鞭毛藻は *Ornithocercus* 属と同様に *Dinophysis* 目に分類され、シアノバクテリアを細胞外に共生させる点も共通している。*Histioneis* 属渦鞭毛藻に共生するシアノバクテリアについては顕微鏡観察による形態的な研究は行われていたものの、OmCyn で実施されたような分子データに基づく詳細な研究は行われて来なかった。*Histioneis* 属渦鞭毛藻の共生シアノバクテリアにおいて、*Ornithocercus* 属渦鞭毛藻共生シアノバクテリアと大きく異なる点

は、形態的特徴が著しく異なる 2 つのタイプのシアノバクテリアが一つの渦鞭毛藻細胞に共生することである。そのうちの 1 つのタイプについては、OmCyn に認められない窒素固定能が存在する可能性が示唆されていた (Foster et al. 2006 *J Phycol* 42:453–463)。我々は同タイプの共生シアノバクテリアを海洋サンプル中に発見した *Histioneis depressa* より分離し、高精度なドラフトゲノムを取得することに成功した。

H. depressa のシアノバクテリア共生体 (以下 HdCynA) のゲノムサイズは 5.38 Mbp と推定され、6,064 のタンパク質がコードされていることが予想された。複数のオーソログタンパク質を連結したデータセットを用いた系統解析によって、HdCynA は OmCyn とは全く異なる系統のシアノバクテリアである *Crocospaera* 属に近縁であることが明らかとなった (図 4)。また近縁なシアノバクテリアとの詳細な系統関係について *nifH* 遺伝子を用いて解析を行った

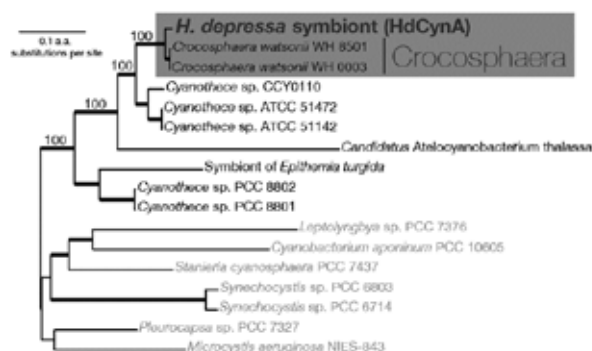


図 4. 33 タンパク質配列データセットから推定された HdCynA の系統的位置 LG+C60+F+G モデルに基づく最尤法によって推定された。各分岐に示すのは non-parametric bootstrap 値. HdCynA は *Crocospaera* 属シアノバクテリアと単系統を形成する。

結果、自由生活性の *Crocospaera watsonii* 種と遺伝的にごく近縁であることも示された（図 5）。この点においても自由生活種と遺伝的に離れている OmCyn と対比的である。

HdCynA のゲノムにコードされるタンパク質を精査したところ、窒素固定を行う酵素であるニトロゲナーゼのサブユニットタンパク質がすべてコードされていることが明らかとなり、HdCynA は *H. depressa* の共生チャンバーの中で窒素固定を行っていることがゲノムレベルで支持された。また、HdCynA のゲノムには OmCyn で見られたようなゲノム縮小は見られなかった。近縁な自由生活性のシアノバクテリアとのタンパク質レパートリーの比較では OmCyn が近縁な *Synechococcus* 属シアノバクテリアと比較してタンパク質レパートリーの減少が確認されるのに対し、HdCynA では近縁な自由生活性シアノバクテリアと同程度のレパートリーを保持していることが明らかとなった。

Tara Oceans プロジェクト（Sunagawa et al. 2015 *Science* 348:1261359）による海洋メタゲノムデータを用いて HdCynA がどのように環境中に存在しているかを解析した。細胞サイズ画分毎のメタゲノムデータから HdCynA のゲノムに一致する配列を検索したところ、確認された HdCynA 類似配列のうち約 90%がシアノバクテリアサイズ（ $<5\mu\text{m}$ ）の画分から検出された。この出現パターンは自由生活性の *Crocospaera* 属シアノバクテリアと類似しており、宿主である *H. depressa* の核コードリボソーム小サブユニット RNA 遺伝子類似配列の類似パターンとは一致しなかった。

以上の結果から HdCynA と *H. depressa* の共生関係について下記の考察が可能である。分子系統解析の結果から HdCynA は自由生活性のシアノバクテリアと遺伝的にごく近縁であり、それらと比較してゲノム縮退などの特徴は見られなかった。これらのことから HdCynA と *H. depressa* の共生関係は *O. magnificus* と OmCyn との共生関係と比較して、比較的最近に成立したものであると推定できる。細胞画分ごとのメタゲノムデータを用いた出現パターン解析では HdCynA は宿主である *H. depressa* と異なる画分に多く出現することが示唆された。これは HdCynA の多くが環境中で自由生活を行っていることを支持する結果である。しかしながら HdCynA が近縁な自由生活性シアノバクテリア種と遺伝的にごく近縁であることを踏まえる

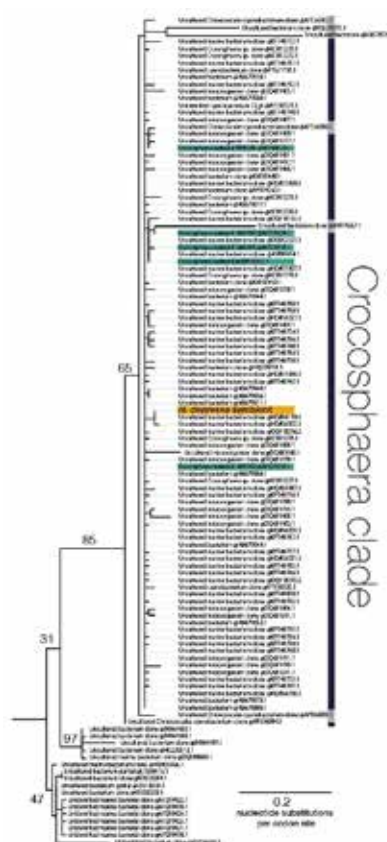


図 5. *nifH* 遺伝子コドンデータセットに基づく HdCynA と自由生活性シアノバクテリアの系統関係。MGK+F3X4+R3 モデルに基づく最尤法によって推定された。各分岐に示すのは non-parametric bootstrap 値。黄色で示される配列が HdCynA、青緑で示される配列は自由生活性と確認されている *Crocospaera* 属シアノバクテリアを示す。

と、HdCynA 以外の自由生活性シアノバクテリア配列を誤検出している可能性も残されているため、この点についてはさらなる解析と慎重な議論が必要である。

さらに本解析によって *Histioneis depressa* と *O. magnificus* には全く別の系統のシアノバクテリアが共生することが明確に示された。この結果は *Dinophysis* 目渦鞭毛藻においてシアノバクテリアとの共生関係の構築が複数生じたことを示している。現在、*Histioneis* 属渦鞭毛藻における HdCynA とは異なるタイプのシアノバクテリアについてゲノム研究を進めており、*Dinophysis* 目渦鞭毛藻とシアノバクテリアとの共生関係の多様性理解がさらに深まるものと期待される。今後 C. de Vargas 博士 (CNRS/ロスコフ海洋研究所・フランス) と協力し、*Tara Oceans* プロジェクト (Sunagawa et al. 2015 *Science* 348:1261359) による海洋メタゲノムデータと参照することにより HdCynA の海洋環境中での分布等を精査し、英文投稿論文の作成を目指す。

色素体ゲノム解析

我々は、これまでに 3 種の渦鞭毛藻、*Lepidodinium chlorophorum*、未記載渦鞭毛藻 2 種 (MRD-151 株および TRD-132 株) の色素体 (葉緑体) ゲノム配列を決定した (Kamikawa et al. 2015 *Genome Biol Evol* 7:1133-1140 ; H27 年度年次報告書 ; H28 年度年次報告書)。また、京都大学・神川龍馬博士を中心に、非光合成化した珪藻の色素体ゲノム解読を進めてきた (Kamikawa et al. 2015 *Phycol Res* 63:19-28; Kamikawa et al. 2015 *Mol Biol Evol* 32:2598-2604; Kamikawa et al. 2017 *Mol Biol Evol* 34:2355-2366)。並行して国立科学博物館・谷藤吾郎博士と共同で、非光合成化したクリプト藻の色素体ゲノムの解読を行った (Tanifuji et al. 2020 *Genome Biol Evol* 12:3926-3937)。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、現在も解析を継続している。

本年度の報告書ではすでに年次報告書では報告済みである渦鞭毛藻 MGD 株 (MRD-151 株) および TGD 株 (TRD-132 株) の色素体ゲノムの解読は完了していた (2015 年、2016 年年次報告書参照)。これらの葉緑体ゲノムについて査読付き英文論文を作成し、*Frontiers in Plant Science* 誌に投稿中である。この論文作成時に判明した新しい知見について報告する。

緑色渦鞭毛藻 MGD および TGD 株の色素体遺伝子転写物に対する RNA エディティング

我々のこれまでの研究により、渦鞭毛藻 *Lepidodinium chlorophorum*、未記載 2 株 (MGD 株、TGD 株) は緑藻の一系統であるペディノ藻、特にペディノモナス属に属する種 (あるいはペディノモナスにごく近縁な種) を細胞内共生させオルガネラ化したことが分かっている (Sarai et al. 2020 *Proc Nat Acad Sci USA* 117:5364-5375)。緑色渦鞭毛藻 3 種の色素体となった共生緑藻は極めて近縁だと考えられる一方、宿主系統は互いに近縁とはならなかった。従って、ペディノモナス属緑藻の細胞内共生とそれに続く色素体化が渦鞭毛藻の進化中で独立に起こったと考えざるを得ない。緑色渦鞭毛藻 3 系統による独立したオルガネラ化の過程で、元々同

一あるいは極めて近縁ペディノモナス属緑藻の色素体ゲノムはどんな進化をとげたのか興味深い。これまでに *L. chlorophorum* 色素体ゲノムは解読され (Kamikawa et al. 2015 *Genome Biol Evol* 7:1133-1140)、MGD 株と TGD 株の色素体ゲノムもすでに解読済みであったが論文としては発表していなかった (2015 年、2016 年年次報告書参照)。TGD 株・MGD 株色素体ゲノムをアノテーションし、ペディノ藻葉緑体および *L. chlorophorum* 色素体ゲノムと比較した。この過程で、緑色渦鞭毛藻 3 種の色素体ゲノムからの遺伝子転写物 (メッセンジャー RNA) は転写後編集 (RNA エディティング) を受けることが判明した。*L. chlorophorum*、TGD 株、MGD 株それぞれでは、色素体遺伝子転写物中で合計 188 か所、177 か所、18 か所で塩基置換型 RNA エディティングを同定した (図 6; 星印でハイライトした遺伝子)。また TGD 株の *psaA* 遺伝子転写物では塩基置換型に加え塩基挿入型 RNA エディティングも発見した (図 6 左; ジグザグ線で表示した)。

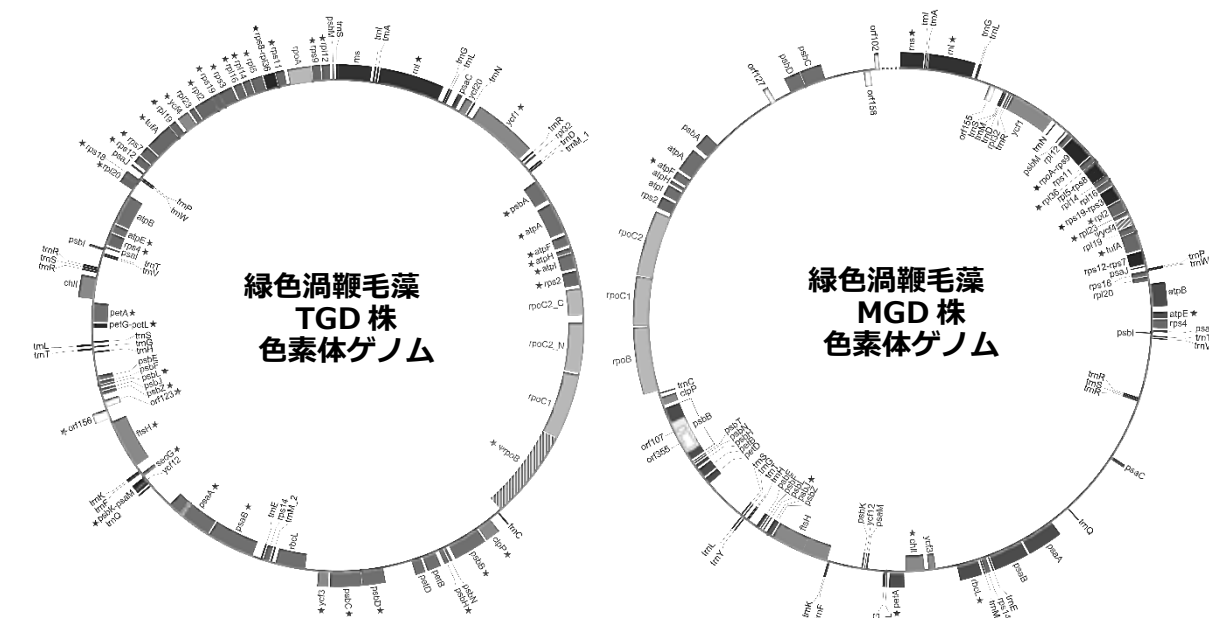


図 6. 緑色渦鞭毛藻 TGD 株 (左) および MGD 株 (右) の色素体ゲノムマップ. 転写物が塩基置換型 RNA エディティングを受ける遺伝子は星印で示した. TGD 株の *psaA* 遺伝子転写物で発見された塩基挿入型 RNA エディティングはジグザグ線で示した (左の図中の時計盤でいうと 7 時周辺) .

塩基置換型 RNA エディティングの「方向性」と頻度を比較すると、*L. chlorophorum* と TGD 株は RNA エディティングの頻度とアデニンからグアニン (A→G) への変換とウラシルからシトシンへの変換 (U→C) の塩基置換が大多数を占めている点で互いに類似している。一方、MGD 株は他 2 種の緑色渦鞭毛藻とは大きく異なり、A→G 型置換は検出できるが、U→C 型置換は検出できなかった。前述の *L. chlorophorum* と TGD 株における塩基置換型 RNA エディティングの「方向性」は、大多数の渦鞭毛藻の色素体 (ペリディニン型色素体) 遺伝子の転写物に見られる RNA エディティングの「方向性」と類似している。従って、*L. chlorophorum* と TGD 株で発見された塩基置換型 RNA エディティングは、ペディノ藻の細胞内共生以前に使用していたペリディニン型葉緑体で使われていた RNA エディティング機構を流用したと推

測することができる。一方 MGD 株においてどのような分子機構が RNA エディティングを行っているのかは不明である。

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: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)。クリプタスタ生物群の基部から分岐した *Microheliella maris* の Mt ゲノムを解読した (2020 年度年次報告書) がこの結果については英文論文を現在執筆中であり、来年度の年次報告書で報告する。

Mt ゲノム解析にくわえ、我々は Mt ゲノムを複製する DNA ポリメラーゼ (Mt 局在 DNAPs) の多様性と起源について研究を進めている (2020 年度年次報告書)。本報告書では 2021 年度に英文論文として発表した Mt 局在 DNAPs に関する成果について報告する。

ミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼ PolIIBCD+ はウィルス DNAP 起源である

共生細菌由来オルガネラであるが、ミトコンドリアプロテオームの大部分は様々な進化的起源をもつタンパク質から構成されている。進化的起源の異なる複数種類の Mt 局在 DNAP が同定されているが、何れも α プロテオバクテリアがもつ DNAP とは近縁性を示さない。したがってミトコンドリアの起源となった α プロテオバクテリアが使用していた DNAP は現在のミトコンドリアでは使用されていないと考えられる。しかし、各種のミトコンドリア局在 DNAP がいつ、どのように確立したのか解明されていない。

キネトプラスト綱とディプロネマ綱に属する生物では、単一 DNAP 分子から分岐した複数種類のミトコンドリア局在 DNAP が存在する (これ以降 PolIIBCD+ と総称する)。我々は細菌類とウィルスの DNAP のサンプリングを充実させた系統解析を行い、PolIIBCD+ とある特定の

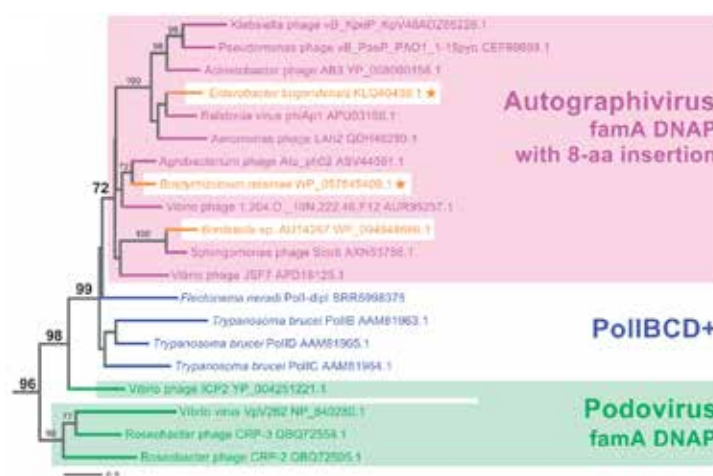


図 7. キネトプラスト綱とディプロネマ綱に所属する真核生物がもつ Mt 局在 DNAP (PolIIBCD+) と一部のウィルスがもつ DNAP との系統関係。最尤法をもちいた系統解析では、PolIIBCD+ は Autographiviruses の DNAP と強い近縁性を示した。各分岐に示した数値は IQ-TREE プログラムによるブートストラップ値を示す。

ファージがもつ DNAP との間に高い近縁性を発見した。この結果は、キネトプラスチド綱とディプロネマ綱の共通祖先はファージから DNAP を水平的に獲得し、Mt 局在 DNAP に改変したことを示唆する (Harada et al. 2021 *Genome Biol Evol* 13: evab003)。

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

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

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 (ともに生命科学部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

- 吉永真理, 修士 (理学), Diversity and Evolution of SMC Proteins in Archaea and Eukaryota.
- 星 康貴, 修士 (教育学), メタモナス生物群における嫌氣的 ATP 合成に関わる酵素の分子進化

集中講義など

なし

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

受賞

1. 令和 3 年度 日本植物学会奨励賞, 中山卓郎, 2021 年 9 月 18 日

外部資金

1. 科学研究費補助金 基盤研究 (B), 稲垣祐司 (代表), 2019-2023 年度, 交付額: 全年度直接経費 13,100 千円 (2021 年度直接経費 3,400 千円), ミトコンドリア DNA ポリメラーゼの多様性と進化の全容解明 (課題番号 19H03280)
2. 科学研究費補助金 国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化(B)), 稲垣祐司 (代表), 2018-2023 年度, 交付額: 全年度直接経費 13,700 千円 (2021 年度直接経費 3,900 千円), 海洋原生生物に共生する細菌多様性の実態解明 (課題番号 18KK0203)
3. 科学研究費補助金 基盤研究 (B), 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 4,100 千円), 海洋微生物多様性の盲点一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 3,100 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 2,300 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）

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. Yazaki E, Yabuki A, Imaizumi A, Kume K, Hashimoto T, Inagaki Y. The closest relative of Archaeplastida is revealed by phylogenomic analyses that include *Microheliella maris*. 2022 Open Biology in press
2. Yoshinaga M, Inagaki Y. Ubiquity and origins of structure maintenance of chromosomes (SMC) proteins in eukaryotes. 2021 Genome Biology and Evolution 13(12):evab256.
3. Yuyama I, Ugawa N, Hashimoto T. Transcriptome analysis of *Durusdinium* associated with the transition from free-living to symbiotic. 2021 Microorganisms 9(8):1560
4. Kanamori S, Cádiz A, Diaz L, Ishii Y, Nakayama T, Kawata M. Detection of genes positively selected in Cuban Anolis lizards that naturally inhabit hot and open areas and currently thrive in urban areas. 2021 Ecology and Evolution 11(4):1719-1728
5. Kawachi M, Nakayama T, Kayama M, Nomura M, Miyashita H, Bojo O, Rhodes L, Sym S, Pianaar RN, Porbert I, Inouye I, Kamikawa R. Rappemonads are haptophyte phytoplankton. 2021 Current Biology 31(11):2395-2303

B) 査読無し論文

1. Yazaki E, Yabuki A, Imaizumi A, Kume K, Hashimoto T, Inagaki Y. Phylogenomics invokes the clade housing Cryptista, Archaeplastida, and *Microheliella maris*. 2021 bioRxiv doi: 10.1101/2021.08.29.458128
2. Kamikawa R, Mochizuki T, Sakamoto M, Tanizawa Y, Nakayama T, 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, Ishida K, Miyashita H, Henrissat B, Lombard V, Win J, Kamoun S, Kashiyama Y, Mayama S, Miyagishima S, Tanifuji G, Mock T, Nakamura Y. 2021 Genome evolution of a non-parasitic secondary heterotroph, the diatom *Nitzschia putrida*. bioRxiv doi: 10.1101/2021.01.24.427197

(2) 国際会議発表

A) 招待講演

なし

B) 一般講演

なし

(3) 国内学会・研究会発表

A) 招待講演

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

B) その他の発表

1. 中山卓郎, 野村真未, 高野義人, 柴小菊, 稲葉一男, 谷藤吾朗, 稲垣祐司, 河田雅圭. 外洋性ディノフィシス目渦鞭毛藻 2 種に見られる共生シアノバクテリアのゲノム解析. 日本植物学会第 84 回大会, Sep 19-21, 2020, オンライン開催
2. 吉永真理, 稲垣祐司. 真核生物における SMC タンパク質ファミリーの多様化と二次的欠失. 日本共生生物学会第 4 回大会, Oct 30-Nov 1, 2020, オンライン開催
3. 原田亮, 稲垣祐司. キネトプラスチダ類及びディプロネマ類に特異的なミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼはファージ起源である. 日本共生生物学会第 4 回大会, Oct 30-Nov 1, 2020, オンライン開催

(4) 著書、解説記事等

なし

7. 異分野間連携・産学官連携・国際連携・国際活動等

異分野間連携

1. 筑波大学計算科学研究センター生命科学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. 国立感染症研究所寄生動物部（永宗喜三郎室長・案浦健主任研究官）との共同研究：ミトコンドリア局在 DNA ポリメラーゼ候補タンパクのアピコンプレクサ寄生虫における細胞内局在解析

産学官連携

なし

国際連携・国際活動等

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

8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

なし

9. 管理・運営

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

10. 社会貢献・国際貢献

なし

11. その他

なし