

関連講演目次

2015年12月2日(水)

[2P] 細胞の構造と機能 - 細胞骨格、細胞運動、細胞接着、細胞外マトリックス

16:45 ~ 18:45 ポスター発表 ポスター会場1 (神戸国際展示場 1号館1F)

16:45 ~ 18:45 [2P0098] ARHGEF11を介したZO-1 ZU5ドメインによるRhoAシグナル調節機構の解析

○石原 将¹、天野 剛志²、谷口 諒³、廣明 秀一¹ (1.名古屋大学大学院創薬科学研究科、2.名古屋大学大学院理学研究科、3.神戸大学大学院医学研究科)

[2P] ゲノムと遺伝情報 - DNA複製、DNA組換え、DNAの変異と修復

16:45 ~ 18:45 ポスター発表 ポスター会場3 (神戸国際展示場 2号館1F)

16:45 ~ 18:45 [2P0709] 遺伝子修復因子FANCMの天然変性領域とRNase H1の相互作用の意義

○清水 沙紀¹、合田 名都子¹、山上 健²、石野 園子²、石野 良純²、兒玉 哲也¹、廣明 秀一^{1,3} (1.名大・院創薬、2.九大・院農、3.名大・院理・構造セ)

[2F19] キャリアパスを考えよう！～バイオ・ライフサイエンス系博士の活躍の仕方～

18:45 ~ 20:15 フォーラム 第19会場 (神戸国際会議場 5F 501会議室)

18:45 ~ 20:15 [2F19] キャリアパスを考えよう！～バイオ・ライフサイエンス系博士の活躍の仕方～

2015年12月3日(木)

[3P] バイオテクノロジー、新領域、進化 - ケミカルバイオロジー

16:45 ~ 18:45 ポスター発表 ポスター会場3 (神戸国際展示場 2号館1F)

16:45 ~ 18:45 [3P0877(4T26L-02)] 低分子化合物を使ったタイトジャンクションの調節

○天野 剛志¹、野田 翔太²、中倉 由香子²、合田 名都子²、廣明 秀一^{1,2} (1.名大・院理・構造生物学研究センター、2.名大・院・創薬科学)

16:45 ~ 18:45 [3P0878]

LNx-PDZ domain結合化合物NPL3007はタイト結合機能や細胞移動に影響を与える

○三上 翔平¹、矢藤 まり¹、野田 翔太²、廣明 秀一^{2,3}、伊藤 素行¹ (1.千葉大・薬、2.名古屋大・創薬、3.名古屋大・理学研究科附属構造生物学研究センター)

16:45 ~ 18:45 [3P0879]

タイトジャンクションの形成制御に関わるZO-1、LNx-1 PDZドメインのクロアインとの相互作用解析

○天野-合田 名都子¹、中倉 由香子¹、秋吉 由佳里²、天野 剛志³、廣明 秀一^{1,2,3} (1.名古屋大・院創薬、2.神戸大・院医、3.名古屋大・院理・構造生物学研究センター)

2015年12月4日(金)

[4T26L] バイオテクノロジー、新領域、進化 VI

11:45 ~ 13:45 一般口頭発表 第26会場 (神戸商工会議所 3F 神商ホールA)

11:55 ~ 12:05 [4T26L-02(3P0877)] 低分子化合物を使ったタイトジャンクションの調節

○天野 剛志¹、野田 翔太²、中倉 由香子²、合田 名都子²、廣明 秀一^{1,2} (1.名大・院理・構造生物学研究センター、2.名大・院・創薬科学)

ポスター発表 | 4.細胞の構造と機能 | 5) 細胞骨格、細胞運動、細胞接着、細胞外マトリックス

[2P] 細胞の構造と機能 - 細胞骨格、細胞運動、細胞接着、細胞外マトリックス

2015年12月2日(水) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場1 (神戸国際展示場 1号館1F)

16:45 ~ 18:45 (2015年12月2日(水) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場1)

[2P0098] ARHGEF11を介したZO-1 ZU5ドメインによるRhoAシグナル調節機構の解析

○石原 将¹、天野 剛志²、谷口 諒³、廣明 秀一¹ (1.名古屋大学大学院創薬科学研究科、2.名古屋大学大学院理学研究科、3.神戸大学大学院医学研究科)

キーワード : RhoA signaling, tight junction, ZO-1, protein-protein interaction, ARHGEF11

TJ(Tight Junctions)は細胞間結合の一つであり、TJを制御することができれば、血液脳関門の透過性調節によるドラッグデリバリーへの応用などが期待できる。TJは様々なタンパク質によって調節されており、その中のZO-1、ZO-2、ZO-3はTJの構成要素であるクローニンC末端に結合することでTJの形成を促す。ZO-1、2、3の構造には共通の部分が多いが、ZO-1のみC末端側にZU5と呼ばれるドメインをもっている。ZU5ドメインはZO-1以外ではUNC5bやankyrinといったタンパク質で見つかっており、タンパク質間相互作用を行う装置として働いているが、ZO-1 ZU5ドメインに関する知見はほとんどなく、その機能は分かっていない。今研究の目的は、このZU5ドメインと相互作用を行うタンパク質を探索することで、ZU5の機能を解明することにある。ZO-1 ZU5ドメインと相互作用を行う可能性のあるタンパク質として、RhoAの活性制御因子であるARHGEF11が報告されており、ZO-1のC末端側約200アミノ酸とARHGEF11のC末端側約250アミノ酸の領域が相互作用を行うことがすでに分かっている。この二つのタンパク質間相互作用において、ZO-1側での相互作用領域にはZU5ドメインが含まれていることから、ZU5ドメインを介して相互作用が行われているのではないかと仮定した。ARHGEF11のタンパク質断片を複数作成し、ZO-1 ZU5ドメインとの相互作用を評価することで、ARHGEF11の約40アミノ酸断片がZO-1 ZU5と相互作用を行っていることを明らかにした。また、NMR滴定実験の結果よりZO-1 ZU5ドメイン内の1枚のベータストランドが相互作用に深く関わっていることも示すことができた。これらの結果より、ARHGEF11はZO-1 ZU5ドメインとの相互作用を介することで、RhoAシグナル経路を調節していることが推測される。



ポスター発表 | 6.ゲノムと遺伝情報 | 3) DNA複製、DNA組換え、DNAの変異と修復

[2P] ゲノムと遺伝情報 - DNA複製、DNA組換え、DNAの変異と修復

2015年12月2日(水) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場3 (神戸国際展示場 2号館1F)

16:45 ~ 18:45 (2015年12月2日(水) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場3)

[2P0709] 遺伝子修復因子FANCMの天然変性領域とRNase H1の相互作用の意義

○清水 沙紀¹、合田 名都子¹、山上 健²、石野 園子²、石野 良純²、兒玉 哲也¹、廣明 秀一^{1,3} (1.名大・院創薬、2.九大・院農、3.名大・院理・構造セ)

RNase H1はDNA/RNAハイブリット鎖のRNA鎖のみを特異的に分解する酵素であり、原核生物からヒトまで広く存在する。RNase H1欠損マウスでは、胚性致死になることから、RNase H1は哺乳類において必須な酵素であると示唆されている。しかし研究例は非常に少なく、その生理機能は未だ解明されていない。ヒトRNase H1はN末端側からDNA/RNA結合ドメインであるHBD、天然変性領域であるCD、酵素活性を担うH-domainの領域からなる。我々はこれまでに酵母ツーハイブリット法により、ヒトRNase H1のCD領域と遺伝子修復因子FANCMの相互作用を発見した。本研究ではCD領域に着目したRNase H1の機能解析を行うことによって、RNase H1の生理機能を解明することを目的とした。そこで我々は、ヒトRNase H1のH-domainについてCD領域を含むものと含まないもの2種類の発現精製を試みた。その結果、CD領域の付加によりH-domainを含むRNase H1の部分タンパク質の溶解度が向上した。一方、H-domainのみでは溶解度が低く、核酸の非特異的な結合も多かった。これらのことからCD領域がH-domainの核酸結合部位に巻きつくように結合し、自己阻害していることが示唆された。FANCM (1501-1600)については自己阻害プロテアーゼ融合発現系を用いて、封入体に目的タンパク質を発現させて精製を行った。そして、この部分ペプチドがRNase H1のCD領域とH-domainを含む領域が試験管内で結合することを確認した。更に、RNase H1とFANCMの添加により、RNase H1の酵素活性が上昇した。FANCM (1501-1600)にはFANCMの長い天然変性領域のうち、種間で保存性の高いmotif3 (M3)が含まれる。これらのことから、RNase H1をリクルートするのではなく、修復複合体中でRNase H1の機能を制御している可能性が考えられた。このことから、RNase H1がDNA損傷時にFANCMと共に機能していると考察され、RNase H1の生理機能解明が期待される。あわせて、CD領域の有無によってRNase H1の酵素活性に与える影響についても報告する。



フォーラム

[2F19] キャリアパスを考えよう！～バイオ・ライフサイエンス系博士の活躍の仕方～

オーガナイザー: 廣明 秀一(名古屋大学 大学院創薬科学研究科)、オーガナイザー: 玉井 克幸(名古屋大学 学術研究・産学官連携推進本部)

2015年12月2日(水) 18:45 ～ 20:15 第19会場 (神戸国際会議場 5F 501会議室)

18:45 ～ 20:15 (2015年12月2日(水) 18:45 ～ 20:15 第19会場)

[2F19] キャリアパスを考えよう！～バイオ・ライフサイエンス系博士の活躍の仕方～

博士の活躍の場は多様です。アカデミアは勿論のこと、産業界、公的機関、教育界など様々な場で博士が活躍しています。産業界をとってみても、研究開発部門だけでなく、研究職でない場でも、博士としての経験・スキルを大いに生かした活躍をしています。本フォーラムでは、多くの博士人材を採用し企業の発展に活かしている企業より、博士人材の活躍状況や今後求められる人財についてお話しいただきます。さらにアカデミア以外で活躍するバイオ・ライフサイエンス系博士から、いかにキャリアをデザインし今の活躍に繋げたか、ご自身の経験を紹介いただきます。この先のキャリアをどのようにデザインすればいいか思案中の方、アカデミア以外のキャリアパスの実際を知りたい方は、是非、先輩博士の経験談に耳を傾けてください。また、大学における博士学生やポスドクを対象とするキャリア支援の取組についても紹介します。

本フォーラムをキャリアの可能性を広げ活躍の場を見つけるきっかけにしてください。

(本フォーラムは、「ポストドクター・キャリア開発事業」の一環として開催するものです。)

18:45～19:00 博士の多様なキャリアパス ～ロールモデルの紹介～

森 典華 (名古屋大学 学術研究・産学官連携推進本部)

19:00～19:30 博士の活躍状況と企業が博士に求めること

八木 崇 (協和発酵キリン株式会社 人事部)

19:30～20:00 基礎生物学の学位を異分野で活かす

上原 雅行 (セイコーエプソン株式会社 新規事業領域担当)

20:00～20:10 名大&静大の博士のキャリア開発支援体制について

村井 久雄 (静岡大学 博士キャリア開発支援センター)

20:10～20:15 質疑応答



ポスター発表 | 12. バイオテクノロジー、新領域、進化 | 7) ケミカルバイオロジー

[3P] バイオテクノロジー、新領域、進化 - ケミカルバイオロジー

2015年12月3日(木) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場3 (神戸国際展示場 2号館1F)

16:45 ~ 18:45 (2015年12月3日(木) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場3)

[3P0877(4T26L-02)] 低分子化合物を使ったタイトジャンクションの調節

○天野 剛志¹、野田 翔太²、中倉 由香子²、合田 名都子²、廣明 秀一^{1,2} (1. 名大・院理・構造生物学研究センター、2. 名大・院・創薬科学)

キーワード：タイトジャンクション, PDZドメイン, 低分子化合物

上皮細胞の強固な細胞接着であるタイトジャンクション (TJ) は、接着タンパク質のクローディンの細胞内C末端が細胞内足場タンパク質であるZO-1のPDZ1ドメインに相互作用することで、細胞の頂端部に形成される。一方、2009年にクローディンをユビキチン化して内在化させる、すなわち、TJを消失させる因子として同定されたLNX1も4個のPDZドメインをもつタンパク質であり、我々はPDZ2ドメインがクローディンを認識していることをつきとめた。このように、TJの形成及び消失のどちらもクローディンC末端とPDZドメインとの相互作用が重要であることから、我々は両タンパク質のPDZドメインがクローディンC末端に対して競争的な相互作用をすることで、TJの形成と消失が同時進行している、すなわちTJは動的平衡状態にあるという仮説を立てた。この仮説が正しいければ、LNX1 PDZ2ドメインとクローディンC末端との相互作用を阻害すれば、TJが増強し、一方、ZO-1 PDZ1ドメイン側を阻害すれば、TJが消失することになる。

そこで、我々はTJを調節する薬剤を創製するために、LNX1 PDZ2ドメインに結合する低分子化合物の探索を行った。マウスLNX1 PDZ2ドメインの結晶構造 (PDB: 3VQF) のC末端結合ポケットをターゲットとして、*in silico*スクリーニングを行い、候補化合物のMDCK II細胞間のTJに与える効果とPDZドメインへの相互作用を調べた。

化合物を培地に添加して48時間培養したMDCK II細胞を免疫染色したところ、細胞境界のクローディン2を蓄積させる化合物を複数発見した。そして、それらの化合物は、LNX1 PDZ2ドメインのC末端結合ポケットに相互作用していた。一方、驚いたことに、細胞境界のクローディン2を消失させる化合物も複数発見し、それらの化合物がZO-1 PDZ1ドメインのC末端結合ポケットへ相互作用することを確認した。これらの結果は、我々の立てた「TJが動的平衡状態にある」という仮説が正しいことを示唆しており、低分子化合物によるTJの調節も可能であることを示している。

16:45 ~ 18:45 (2015年12月3日(木) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場3)

[3P0878] LNX-PDZ domain結合化合物NPL3007はタイト結合機能や細胞移動に影響を与える

○三上 翔平¹、矢藤 まり¹、野田 翔太²、廣明 秀一^{2,3}、伊藤 素行¹ (1. 千葉大・薬、2. 名古屋大・創薬、3. 名古屋大・理科学研究科附属構造生物学研究センター)

キーワード：ケミカルバイオロジー, ゼブラフィッシュ

LNXはNotch シグナル抑制因子であるNumbをユビキチン化し分解を促進する。また近年の研究によってLNXがclaudinをユビキチン化し、分解を促進することでTight junctionを調節することが報告されている。我々は*in silico* screeningによりLNX-1 PDZ2 domain に結合する化合物を選定した。選定された化合物でMDCK II細胞を処理するとTight junction 制御タンパク質であるclaudin2の増加や減少が確認された。一方で特定の化合物では細胞扁平化を誘導するという予想外の結果が得られた。またこれらの化合物は既報のDishevelled (Dvl)-PDZ domain inhibitorに構造が類似していることが判明した。DvlはWnt シグナル活性化やRhoやRacを介したアクチン骨格の制御に関与しており、同定化合物がDvlの機能を制御する可能性が示唆された。そこで我々は、これらの化合物(NPL3007, NPL3009, Dvl-PDZ inhibitor)の*in vivo*活性をゼブラフィッシュで評価した。受精後4時間

(4hpf) 胚に化合物を暴露し発生段階の形態形成への影響を検討した結果、NPL3007暴露群では、5 μ M以上で全ての胚が11hpf以内に死亡した。他方、NPL3009とDvl-PDZ inhibitor 25 μ M暴露群は少なくとも24hpfまで正常に発生した。次に10hpfから5-10 μ MのNPL3007に暴露して観察した。その結果、尻尾の形成不全が観察された。この表現型はclaudin bをノックダウンした場合の表現型に類似していることから、claudin bタンパク質の機能阻害を介した機能を持つことが示唆された。さらに4-6hpfのみでNPL3007, Dvl-PDZ inhibitor 25 μ Mを暴露した。その結果、細胞の大きさに顕著な変化は認められなかったがNPL3007でエピボリ運動(細胞扁平化が関与)が遅れるという結果が得られた。この結果からNPL3007は発生段階の細胞移動に影響を与えることが判明した。これらの結果からNPL3007はclaudin b機能阻害によるTight junction崩壊やDvl機能阻害によりRhoや Racを介したアクチン骨格に影響を与えて尻尾の形成不全、細胞移動に異常が出ている可能性が示唆された。

16:45 ~ 18:45 (2015年12月3日(木) 16:45 ~ 18:45 ポスター会場3)

[3P0879] タイトジャンクションの形成制御に関わるZO-1、LNX-1 PDZドメインのクローディングとの相互作用解析

○天野-合田 名都子¹、中倉 由香子¹、秋吉 由佳里²、天野 剛志³、廣明 秀一^{1,2,3} (1.名古屋大・院創薬、2.神戸大・院医、3.名古屋大・院理・構造生物学研究センター)

キーワード：PDZ, ZO-1, LNX-1, Claudin, tight junction

上皮細胞の頂端部に位置する細胞間接着結合をタイトジャンクション(TJ)と呼ぶ。TJは細胞極性を維持すると同時に、水やイオンの透過性を調節するバリア機能を担っている。TJを構成する接着分子クローディング(CLDs)のC末端と、その裏打ちタンパク質ZO-1のPDZドメインが結合することでTJ形成を促進する。それに対し、LNX-1のPDZドメインがCLDsと結合することでCLDsのエンドサイトーシスが促進しTJの分解を促進する。従って、CLDsとの相互作用においてLNX-1とZO-1のPDZドメインが拮抗し、TJの動的平衡を保っていると考えられる。

CLDsは複数種類が存在し、PDZドメインが結合するC末端領域のアミノ酸配列にもバリエーションがあるが、ZO-1、LNX-1のPDZドメインがそれぞれのCLDsとどのくらいの強さで結合するのかは明らかとなっていない。そこで我々は、複数のCLDsとZO-1、LNX-1のPDZドメインとの結合の強さを決定した。その結果ZO-1とCLDsの結合の強さにはあまり差がないが、LNX-1はCLDsの配列によって結合の強さに差があることが分かった。また、我々はインシリコスクリーニングにより、それぞれのPDZドメインに結合する低分子化合物をいくつか得た。これらの化合物がTJ形成に影響を与えることをはこれまでの年会で報告済みである。現在、これらの化合物と各PDZドメインの結合の強さの測定、CLDsとの結合を阻害する効果についての評価を進めている。



一般口頭発表 | 12. バイオテクノロジー、新領域、進化 | バイオテクノロジー、新領域、進化 VI

[4T26L] バイオテクノロジー、新領域、進化 VI

オーガナイザー: 田端 和仁(東京大学)、オーガナイザー: 津本 浩平(東京大学)

2015年12月4日(金) 11:45 ~ 13:45 第26会場 (神戸商工会議所 3F 神商ホールA)

11:55 ~ 12:05 (2015年12月4日(金) 11:45 ~ 13:45 第26会場)

[4T26L-02(3P0877)] 低分子化合物を使ったタイトジャンクションの調節○天野 剛志¹、野田 翔太²、中倉 由香子²、合田 名都子²、廣明 秀一^{1,2} (1. 名大・院理・構造生物学研究センター、2. 名大・院・創薬科学)

キーワード: タイトジャンクション, PDZドメイン, 低分子化合物

上皮細胞の強固な細胞接着であるタイトジャンクション (TJ) は、接着タンパク質のクローデインの細胞内C末端が細胞内足場タンパク質であるZO-1のPDZ1ドメインに相互作用することで、細胞の頂端部に形成される。一方、2009年にクローデインをユビキチン化して内在化させる、すなわち、TJを消失させる因子として同定されたLNX1も4個のPDZドメインをもつタンパク質であり、我々はPDZ2ドメインがクローデインを認識していることをつきとめた。このように、TJの形成及び消失のどちらもクローデインC末端とPDZドメインとの相互作用が重要であることから、我々は両タンパク質のPDZドメインがクローデインC末端に対して競争的な相互作用をすることで、TJの形成と消失が同時進行している、すなわちTJは動的平衡状態にあるという仮説を立てた。この仮説が正しいければ、LNX1 PDZ2ドメインとクローデインC末端との相互作用を阻害すれば、TJが増強し、一方、ZO-1 PDZ1ドメイン側を阻害すれば、TJが消失することになる。

そこで、我々はTJを調節する薬剤を創製するために、LNX1 PDZ2ドメインに結合する低分子化合物の探索を行った。マウスLNX1 PDZ2ドメインの結晶構造 (PDB: 3VQF) のC末端結合ポケットをターゲットとして、*in silico*スクリーニングを行い、候補化合物のMDCK II細胞間のTJに与える効果とPDZドメインへの相互作用を調べた。

化合物を培地に添加して48時間培養したMDCK II細胞を免疫染色したところ、細胞境界のクローデイン2を蓄積させる化合物を複数発見した。そして、それらの化合物は、LNX1 PDZ2ドメインのC末端結合ポケットに相互作用していた。一方、驚いたことに、細胞境界のクローデイン2を消失させる化合物も複数発見し、それらの化合物がZO-1 PDZ1ドメインのC末端結合ポケットへ相互作用することを確認した。これらの結果は、我々の立てた「TJが動的平衡状態にある」という仮説が正しいことを示唆しており、低分子化合物によるTJの調節も可能であることを示している。

