

## ● 中村 秀樹 特定准教授

Hideki NAKAMURA (Associate Professor)

研究課題: タンパク質の動的集合・離散を介した代謝制御機構への多角的アプローチ

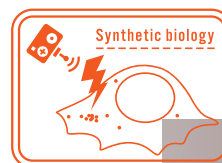
(Multi-disciplinary investigation into novel roles of dynamic protein assembly in cell metabolism)

専門分野: 合成生物学・細胞生物学・生物物理学 (Synthetic Biology, Cell Biology, Biophysics)

受入先部局: 工学研究科 (Graduate School of Engineering)

前職の機関名: 京都大学工学研究科

(Graduate School of Engineering, Kyoto University)



非平衡物理学からスタートし、分子生物学・生化学、神経科学、細胞生物学といった分野を渡り歩いた結果、「合成生物学」という分野に流れ着きました。生きた細胞内のタンパク質を外から「操作」する技術を基盤に、生命現象を『「操る」ことで「理解」する』ことを目指しています。

白眉プロジェクトでは、細胞のおもなエネルギー獲得手段であるグルコース (ブドウ糖) 代謝に関わるタンパク質群に注目します。特に、酸素を必要としない経路である解糖系の酵素群が、環境に応じてダイナミックに集合・離散する現象に着目し、この振る舞いを「操る」技術を開発します。さらに、この集合・離散がいつ・どこでどのように起こるかを直接「見る」実験系と、できあがった集合体にはどんな分子が含まれているかを網羅的に「知る」技術の確立を目指します。これら「見る」・「知る」・「操る」多角的アプローチによって、タンパク質のダイナミックな振る舞いが細胞にとって最も重要な代謝経路の機能に果たす役割の解明を目指します。

After experiencing several research fields, my current background is “synthetic biology”, which aims at understanding biological phenomena by “arbitrarily manipulating” them. My recent research interest has been developing tools to manipulate protein dynamics, such as diffusion, assembly and disassembly, inside living cells.

My research aim through Hakubi project is to elucidate the biological roles of dynamic assembly/disassembly of proteins involved in glycolysis. Glycolysis is a part of glucose metabolism pathway, which is the major source of biochemical energy. Relative activity of glycolysis is significantly altered in various diseases including cancer, underpinning the physiological importance of appropriate glycolysis regulations. Conventionally, glycolytic proteins were believed to be uniformly distributed throughout the cytosol. However, recent reports suggest that the proteins dynamically assemble and disassemble in response to environmental cues, such as hypoxic conditions or change in metabolite concentrations. This newly-found behavior may thus provide a novel mechanism of glycolytic regulation.

Currently, however, lack in methodologies to manipulate the assembly/disassembly, as well as in detailed and comprehensive description of the phenomenon, hinders our understanding of potential biological roles. I will therefore apply tools I developed to arbitrarily manipulate the assembly/disassembly of glycolytic proteins. Moreover, I will establish methods to image the protein dynamics inside living tissues, and to comprehensively identify the proteomes included in the protein assembly. This multi-disciplinary approach to dynamic protein assembly/disassembly will reveal the novel regulation mechanism of glucose metabolism pathway, potentially contributing to novel therapeutics for diseases including cancer.

### タンパク質の集合・離散を「操る」合成生物学技術

私は、生命現象を『「操る」ことで「理解」する』ことをめざす合成生物学 (synthetic biology) という分野に身をおいています。これまでの研究の技術的基盤は、生きた細胞内の特定のタンパク質間の結合・解離を、細胞の外から「操る」技術です。操るための刺激として小分子化合物を使うものを CID、光刺激を使うもの

を LID と呼びます。これらは細胞に大きな影響を与えず、1分以内という高い時間分解能で生きた細胞内のタンパク質を「操る」ことができるため、さまざまなタンパク質に応用され一定の成果をあげています。つまり CID・LID は細胞内のさまざまな生命現象を「操る」ための、いわば“スイッチ”である、といえます (図1a) (参考文献1)。

この CID・LID を基に、タンパク質の集合・離散

を「操る」技術の開発に成功しました。そのひとつが iPOLYMER で、これは CID・LID でつかうタンパク質 2 種類を、それぞれタンデムにつなげたものを用います。CID・LID はひとつひとつのタンパク質同士を“くっつける”技術ですが、iPOLYMER はくっつく部分が複数あることで、多くのタンパク質分子の“集合・離散”を「操る」ことができます (図 1b) (参考文献 2, 3)。

iPOLYMER は人工的に細胞に発現させたタンパク質の集合・離散を「操る」技術ですが、細胞の中で自然に集合してしまったタンパク質を離散させる技術の開発にも成功しました。この技術を ActuAtoR と名づけ、現在さらに発展させるべく検討を続けています。

### グルコース代謝経路間のバランス調節 – 生理学的重要性・疾患との関連 –

細胞は、おもにグルコース (=ブドウ糖) 代謝反応から必要なエネルギーを得ます。この代謝経路は、酸素を必要とする好氣的代謝と、酸素を必要としない解糖系に分けられます。細胞はさまざまな環境の変化に応じて、これら二つの経路の間のバランスを緻密に制御しています。

好氣的代謝と解糖系のあいだのバランスの重要性は、このバランスがさまざまな疾患において大きく崩れることから示唆されます。たとえばガン細胞では、酸素が豊富な環境においても解糖系の活動が好氣的代謝に比べて高いレベルを保ち、この解糖系優位の代謝がガン細胞の生存に有利に働くと考えられています。

しかし、このように重要な好氣的代謝と解糖系のバランスが、実際にどのような機構で調節されているのかは、数多くの研究者による長年の探究をもってしてもなお、十分に解明されていません。

### 解糖系タンパク質はダイナミックに集合・離散する？その意味は？

好氣的代謝と解糖系は、細胞内の別々の場所で行われます。好氣的代謝はミトコンドリアで行われるのに対し、解糖系は細胞質全体で一様に進行すると考えられてきました。しかし最近、解糖系タンパク質がダイナミックに集合・離散して集合体をつくるという報告が相次ぎました。これらはさまざまな生物で報告され、

生き物にとって普遍的な現象であることを予感させます。さらに、低酸素環境やグルコース代謝産物の増加で集合・離散が制御される例もあり、私はこの現象がグルコース代謝経路間のバランス調節に関係する可能性が高い、と考えています。

しかし現段階では、解糖系タンパク質の集合・離散を自在に操作する技術がないことから、この振る舞いがどのような意味を持つかは不明です。そこで私は、タンパク質の集合・離散を「操る」技術を解糖系タンパク質に応用し、解糖系タンパク質のダイナミックな集合・離散がグルコース代謝において果たす役割を明らかにすることを目指します。

さらに、この集合・離散がいつ・どこで・どのように起こるかを直接、顕微鏡を通して「見る」方法論と、プロテオミクス解析という手法を用いて、できあがった集合体に含まれるタンパク質を網羅的に「知る」方法論を確立します。細胞内タンパク質のダイナミックな集合・離散に、「見る」・「知る」・「操る」という多角的アプローチで迫り、細胞が生きていく上で必要なエネルギー獲得経路の新しい調節機構を明らかにします。

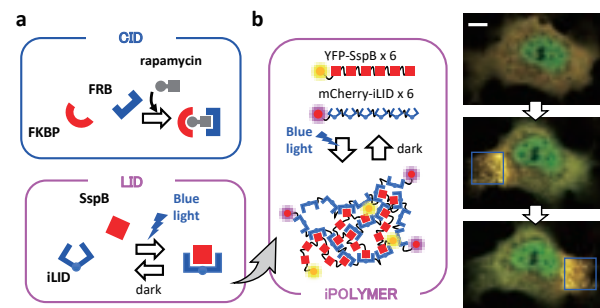


図 1 生きて細胞内のタンパク質を「操る」合成生物学技術 (参考文献 3)。a) 小分子化合物および光刺激で、特定のタンパク質間の結合・離散を「操る」CID・LID。b) LID を基に開発した iPOLYMER。細胞内の一部 (青い正方形) に光刺激を与えると、刺激した場所でのみタンパク質 (赤・緑の 2 種類) が集合し、刺激をやめると離散する。

### 参考文献

- [1] Kim A.K., DeRose R., Ueno T., Lin B., Komatsu T., Nakamura H., Inoue T., *Sci. Signal.* (2016), 9 (414): re1.
- [2] Nakamura H.\*, Lee A.A.\*, Afshar A.S., Watanabe S., Rho E., Razavi S., Suarez A., Lin Y.-C., Tanigawa M., Huang B., DeRose R., Bobb D., Hong W., Gabelli S.B., Goutsias J., Inoue T. (\*equally contributed), *Nature Materials* (2018), 17(10): 79-89.
- [3] Nakamura H., *Methods Mol. Biol.* (2021), 2312: 253-276.