

研究課題名： 核・ミトコンドリア遺伝子の網羅的トランスゲノム解析による心不全重症化機構の解明

所属機関 姫路日ノ本短期大学

研究者名 木原 裕

#### 《研究の概要》

1. 心不全の発症に関連する新規遺伝要因の探索を目的として、Affymetrix 社の約 90 万種の SNP を搭載したアレイを用いたゲノムワイド SNP タイピングを実施し、得られたデータを用いてゲノムワイド関連解析(Genome-Wide Association Study: GWAS)を実施した。具体的には、ケース群 60 検体、コントロール群 417 検体を用いた GWAS を実施した。ゲノムワイド有意水準 ( $P < 5 \times 10^{-8}$ ) を超える SNP は見られなかったが、 $P < 10^{-4}$  を示す SNP は 34 か所見られた。そのうちいくつかの SNP 近傍の遺伝子については、既に心不全との関連が示されているものが含まれていた。

GWAS による疾患関連遺伝要因の同定には至らなかったが、複数の候補 SNP が見出された。今後検体数を増やした解析、または独立の集団での解析を実施する事により、疾患関連遺伝要因の同定が進むことが期待される。

2. 心不全患者に特有のミトコンドリアゲノムの変異等を見つけることを目的とし、Affymetrix 社の GeneChip Human Mitochondrial Resequencing Array 2.0 を用いてミトコンドリアゲノム配列を決定した。

取得された 87 検体の平均 call rate は 97.08%となり、良好なデータの取得が出来た。塩基配列の出力方法として SNP view (図 3) と sequence view (図 4) が可能となっており、reference としては MITOMAP database (<https://www.mitomap.org/MITOMAP>) の Revised Cambridge Reference Sequence (RCRS)が採用されている。その為日本人とは異なる配列を持つ可能性があり、reference と異なる配列 (緑) については、日本人健常集団での配列を確認する必要がある。今回取得されたデータはすべて患者群となるため、患者群との比較はヒトミトコンドリアゲノム多型データベース (<http://mtsnp.tmig.or.jp/mtsnp/index.shtml>

) のデータを利用した。今回配列決定を行った検体について、n が多い個所を確認したところ、リピート配列部分に集中しており、タイピング上のエラーか実際に indel 等の存在があるかの区別は困難であった。ただし、患者群のみに存在する n は、患者群特有の構造を反映する可能性もあるため、今後解析の際に注意が必要と考えられる。また、2 種類以上の塩基を示した配列 (赤) についてはヘテロプラスミと考えられ、患者群でのみ特定の塩基についてヘテロプラスミとなっている可能性も考えられる。

3. Sirt4 はミトコンドリアに存在し ADP リボシル化反応を触媒し、TCA サイ

クルの調節にも関与している。これらのことから **Sirt4** には心筋の代謝回転と細胞死を直接結びつけ制御する重要な因子であることが示唆される。本研究においては **Sirt4** の構造モデリングを行い、この問題に取り組むことを目指した。実際にはホモロジーモデリング、**threading**, **Rosetta** 法を試し、得られた構造モデルを手法間で比較することにより、より正解に近いと予想されるモデルを選抜することを試みた。得られたフォールドに対して、補酵素 **NAD+** とのドッキング、さらに基質タンパク質であるグルタミン酸脱水素酵素とのドッキングシミュレーションを検討し、複合体モデルを得た (図 B)。このような複合体構造により、**Sirt4** は、グルタミン酸脱水素酵素を **ADP** リボシル化すると考えられる。

木原 裕	姫路日ノ本短期大学・学長・ 教授	全体の統括、核とミトコンドリアタンパクの高次構造解析
------	---------------------	----------------------------

徳永 勝士	東京大学大学院医学研究科 教授	核とミトコンドリア ゲノム <b>SNP</b> 解析
-------	--------------------	--------------------------------

小島 正樹	東京薬科大学生命科学部・ 教授	核とミトコンドリアタンパクの高次構造解析
-------	--------------------	----------------------

## 研究報告

### I. 研究目的

心不全(HF)は我国も含め、世界で最も死亡率が高く、患者の **QOL**、生命予後と医療財政を長期圧迫する最大病因である。特に我国では血管源性的脳梗塞や心筋梗塞は予防と治療の進歩で減少傾向にあるが、重症心不全 (**AdHF**) による死亡率は依然増加している。我国の **AdHF** は欧米と異なり、小児では最も予後の悪い拡張型心筋症(**DCM**)、中年以降では高血圧性心不全が好発する。心移植法改定後も需要が供給を上回り、依然、海外移植に依存する現状は国際的な鬻蹙を買っている。発症前診断、予防と治療に独自の戦略が

求められる。

DCM の 3~4 割に遺伝子変異を認める(Hershberger et al., Nature, Review Cardiol, 2013)。iPS による心筋再生治療は自己細胞を用いるため、①変異遺伝子を保持したまま再生心筋を移植すること、②iPS 細胞の作製過程で変異を惹起し、その頻度は一部の固形ガンに匹敵する(Thurman et al., Nature, 2012)など、問題が山積している。これらの点から、iPS を次世代医療に活かすには遺伝子的に健全な細胞株を用いる必要がある。

AdHF は急性、慢性ともに地域差が大きい。従来 of HCM、DCM の他に HCM から DCM に移行する HDCM の報告は我国が大部分を占める。更に、ミトコンドリア(mt)のは酸化的磷酸化酵素の遺伝子変異による mtCM も AdHF を起こす(小沢ら、蛋白質・核酸・酵素、1990)。

核遺伝子同様、mt も独自のゲムを有し、自身が生産する活性酸素で後天的にも変異する。人類発生以来、変異と淘汰を繰り返して、現在 150 以上の haplogroup を示す。その結果、民族差が大きく、外国データを鵜呑みできない。東アジア系も中国や朝鮮半島に無い我国固有の遺伝子変異が多数存在し、容易に変異する事を示している(Shin, Toyo-oka et al., Am.J. Hum. Genet., 2000)。以上から、今回の研究目的を次の 3 点に要約する。

- I. 民族差を考慮して、日本人と白人との心不全関連遺伝子について、核と変異を起こし易い mt 遺伝子を同一患者で同時に解析して、transgenomics を完成する。
- II. sirtuin 類や translocator 類に代表される核遺伝子でタンパク合成後、細胞質から mt に移行して呼吸機能、アポトーシス、オートファジーやミトファジーを介して心機能を質的に、または量的に制御する機構と、その破綻から心不全に至る過程を高次構造から解明する。
- III. 核ゲムと mtゲムの相互補完、または相反性階層構造を生物物理的に立証して、最終的に iPS 細胞や遺伝子治療による次世代医療の基盤整備を目指す。

以下三つのテーマについて、それぞれ報告をまとめる。成果の報告は、最後にまとめて示している。

#### A. GWAS による心不全に関連する新規遺伝要因の探索 (徳永勝士)

## I. 研究目的

心不全の発症に関連する新規遺伝要因の探索を目的として、Affymetrix 社の約 90 万種の SNP を搭載したアレイを用いたゲノムワイド SNP タイピングを実施し、得られたデータを用いてゲノムワイド関連解析(Genome-Wide Association Study: GWAS)を実施した。

## II. 研究計画および材料と方法

心不全患者群 106 検体をケース群、健常者群 418 検体をコントロール群として GWAS を実施するため、Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0 を用いたゲノムワイド SNP タイピングを実施した。QC call rate>86%, contrast QC>0.4 の検体のみを解析対象とした (ケース群 92 検体、コントロール群 418 検体)。対象検体に対して HapMap データ (日本人、中国人、ヨーロッパ人、アフリカ人) と共に Principal Component Analysis (PCA) を実施し、ヨーロッパ人とクラスターを形成する 15 検体を除外した (図 1 A)。

次に、HapMap データ (日本人、中国人) と共に PCA を実施し、

ケース・コントロール群および日本人のクラスターから外れた 11 検体を除外した (図 1 B)。

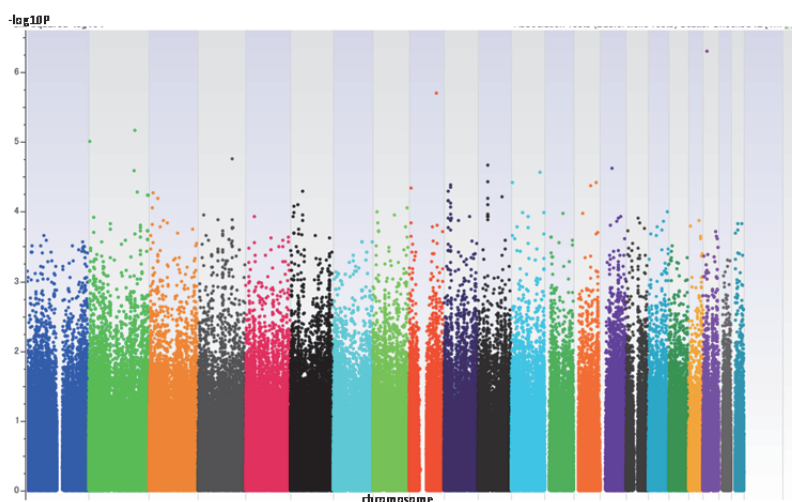


図2 Manhattan Plot

504,281SNP を最終的な解析対象とした。

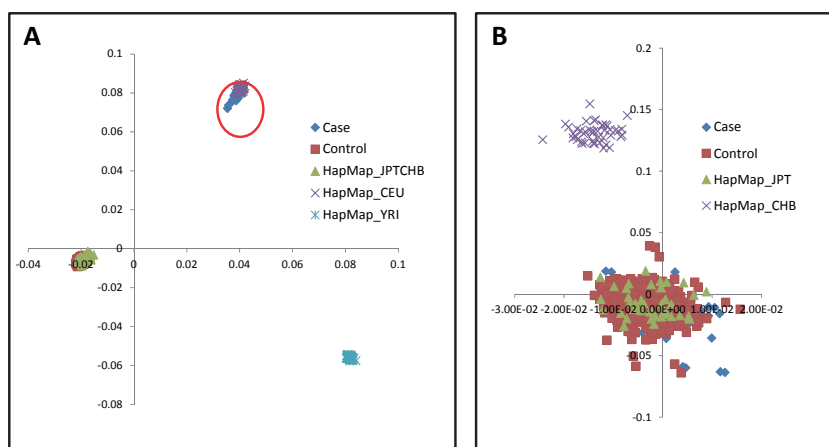


図1 Principal Component Analysis

A) 解析対象検体とHapMapサンプル(JPT, CHB, CEU, YRI)でPCAを実施。B) A)から15検体除外した解析対象検体とHapMapサンプル(JPT, CHB)でPCAを実施。

また Identity by Descent (IBD)テストを実施し、同一検体と思われる 6 検体および親族と思われる 1 検体の合計 7 検体を除外した。約 90 万種 SNP に対して、SNP call rate <0.98, Minor Allele Frequency (MAF) <0.05, Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) p-value <0.001 でフィルタリングを実施し、

### III. 研究成果

ケース群 60 検体、コントロール群 417 検体を用いた GWAS を実施した (図 2)。ゲノムワイド有意水準 ( $P < 5 \times 10^{-8}$ ) を超える SNP は見られなかったが、 $P < 10^{-4}$  を示す SNP は 34 か所見られた。そのうちいくつかの SNP 近傍の遺伝子については、既に心不全との関連が示されているものが含まれていた。

### IV. 考察

GWAS による疾患関連遺伝要因の同定には至らなかったが、複数の候補 SNP が見出された。今後検体数を増やした解析、または独立の集団での解析を実施する事により、疾患関連遺伝要因の同定が進むことが期待される。

## B. Human Mitochondrial Resequencing Array を用いたミトコンドリアゲノムデータ取得 (徳永勝士)

### I. 研究目的

心不全は、心筋梗塞・高血圧・弁膜症・心筋症などすべての器質的心疾患の末期像であり、心不全に陥った心筋では、リモデリングと呼ばれる心筋の構築・機能変化が認められ、その形成・進展にはミトコンドリア由来の酸化ストレスが密接に関係する。また、近年ではミトコンドリアの損傷による炎症反応を介した心不全の発症機序の 1 つが明らかになり (Nature, 2012)、BCL2L13 がミトコンドリアの形態変化を誘導し、ミトコンドリア特異的なオートファジーの受容体として機能する事も報告されている (Nature Communication, 2015)。こうした研究から、心不全には核ゲノムの遺伝要因のみならず、ミトコンドリアゲノムの遺伝要因も大きく関係している事が予想される。

本研究では、心不全患者に特有のミトコンドリアゲノムの変異等を見つけることを目的とし、Affymetrix 社の GeneChip Human Mitochondrial Resequencing Array 2.0 を用いてミトコンドリアゲノム配列を決定した。

### II. 研究計画および材料と方法

解析対象は心不全患者群 90 検体とし、Human Mitochondrial Resequencing Array 2.0 を用いた配列決定を実施した。このアレイは、1 枚のアレイで約 16kb のミトコンドリアゲノムの解析を可能とし、ヘテロプラスミの突然変異も検出できることから、本解析に適していると考えられる。3 セットのプライマーセットで全領域を PCR 増幅した後、精製・フラグメント化し、ラベルを付けた後にアレイにハイブリさせ、データを取得した。Call rate  $> 95\%$  の 87 検体のデータのみ採用した。

### III. 研究成果

取得された 87 検体の平均 call rate は 97.08% となり、良好なデータの取得ができた。塩基配列の出力方法として SNP view (図 3) と sequence view (図 4) が可能となっており、reference として

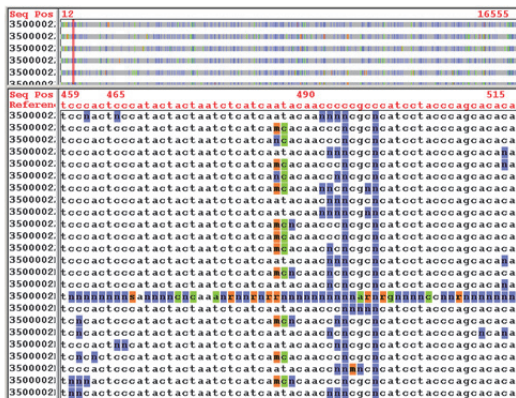


図4 sequence view  
緑はreferenceと異なる塩基、赤は2種類以上の塩基、青はnを示している。



図3 SNP view  
緑はreferenceと異なるSNP、赤は2種類以上のSNP、青はnを示している。縦はSNPポジション、横は検体名。

は MITOMAP database (<https://www.mitomap.org/MITOMAP>) の Revised Cambridge Reference Sequence (RCRS)が採用されている。その為日本人とは異なる配列を持つ可能性があり、reference と異なる配列 (緑) については、日本人健常集団での配列を確認する必要がある。今回取得されたデータはすべて患者群となるため、患者群との比較はヒトミトコンドリアゲノム多型データベース (<http://mtsnp.tmig.or.jp/mtsnp/index.shtml>) のデータを利用した。今回配列決定を行った検体について、nが多い個所を確認したところ、

リピート配列部分に集中しており、タイピング上のエラーか実際に indel 等の存在があるかの区別は困難であった。ただし、患者群のみに存在する n は、患者群特有の構造を反映する可能性もあるため、今後解析の際に注意が必要と考えられる。また、2種類以上の塩基を示した配列 (赤) についてはヘテロプラスミと考えられ、患者群でのみ特定の塩基についてヘテロプラスミとなっている可能性も考えられる。

### IV. 考察

今後は患者群にのみ蓄積されている n や変異、ヘテロプラスミ等に注目した解析を実施する。

### 3) Sittuin 類の研究 (小島 正樹, 木原 裕)

#### I. 研究目的

心臓病のうち約 8 割は虚血性心疾患であり、その多くがメタボリックシンドロームにより引き起こされる。虚血性疾患では心筋細胞が低酸素状態にさらされ細胞死を引き起こすことで心筋の機能障害が引き起こされ生命に重篤な危機を生じる。H9c2 cardiomyoblast cells (心筋芽培養細胞) を利用した実験で、Sirt4 は低酸素状態における細胞死に対して抵抗性を示すことが既に報告されている (Liu et al, 2013; Park et al., 2014)。Sirt4 はミトコンドリアに存在し ADP リボシル化反応を触媒し、TCA サイクルの調節にも関与している。

これらのことから **Sirt4** には心筋の代謝回転と細胞死を直接結びつけ制御する重要な因子であることが示唆される。したがって **Sirt4** の機能を制御することが虚血性心疾患の治療に重要な意義を持つことが予想されるが、**Sirt4** の立体構造が未解明であることからその分子機構が不明であり **Sirt4** 活性化薬剤の創薬上の 1 つの妨げとなっている。本研究においては **Sirt4** の構造モデリングを行い、この問題に取り組むことを目指した。

近年のタンパク質構造モデリングの手法の発展により、さまざまなモデリング手法を試すことが可能となっている。モデリング手法には鋳型構造に依存したもの（ホモロジーモデリング、**threading** 等）と、**de novo** モデリング（**Rosetta** 法等）に大別することができる。ホモロジーモデリングの場合には鋳型構造と 30%以上のアミノ酸相同性があるアミノ酸配列であれば、全体構造が正しいモデル構造を作成することが可能と言われている。またロゼッタ法が発表されて以来 **de novo** モデリングの正答率も高まり、近年では数個程度の最終解のうち少なくとも 1 つは正答を言い当てることが出来るほどに成熟している。

以上のような状況下においては、いくつかの手法により同時並行でモデリングを行い、得られた複数の手法由来の構造のうち、より共通性が高い構造モデルが正しい構造である可能性が高いと考えられる。

そこで我々はホモロジーモデリング、**threading**、**Rosetta** 法を試し、得られた構造モデルを手法間で比較することにより、より正解に近いと予想されるモデルを選抜することを試みた。

## II. 研究計画および材料と方法

### 1. ホモロジーモデリング

ホモロジーモデリングのためのプログラムは複数知られているが、そのうち **Swiss-Model** と **Modeller**、**Robetta** を利用した。**Modeller** によりモデリングでは **Sir2** の結晶構造を鋳型構造として利用した。**Modeller** のスクリプトを利用して **Sir2** と **Sirt4** のアラインメントを行い、モデリングを行った。得られた 5 つのモデルのうち最小のエネルギーを持つモデルを代表構造と見なした。**Swiss Model** においては **Sirt5** を鋳型構造に用いてモデリングが行われた。**Robetta** サーバーにおけるホモロジーモデリングでも **Sir2** が鋳型として用いられた。

### 2. **threading**

**threading** 法のためのプログラムとして **I-Tasser** サーバーを利用した。デフォルトの条件と相同性 30%以上の鋳型構造を排除した条件の 2 条件で構造予測を行った。

### 3. **Rosetta** 法

まず **Ginzu** サーバーでドメイン予測を行った。その結果予測された構造ドメインの領域の配列 (314 残基) の構造予測を行った。数千 **decoy** を作成しクラスタリングによりモデル構造の分類とエネルギー計算を行い、上位クラスターの構造を観察した。また比較検討用に **Sirt4** のオーソログの構造モデリングも同様に行った。

### 4. 各手法で得られたモデル構造の比較検討

**RMSD** の計算によりモデル構造間の類似性について算出した。

### III. 研究成果

構造予測を行うために本助成金で専用サーバーを購入して、東京薬科大学生物情報科学研究室に設置した。ホモロジーモデリング、分子動力学計算、量子化学 (QM) 計算、複合体の構造予測計算のために、用途毎に計算環境をセットアップした。

#### 1. ホモロジーモデリング

試したすべてのホモロジーモデリングのプログラムでモデル構造を得ることに成功した。それらを手法間で比較した場合に Modeller によるモデルの構造が他のどのモデルと比べても 6.5 以上の RMSD 値を記録したため、のちの比較から Modeller 由来のモデルを外すことにした。Swiss-Model からは 3 個の構造モデルが得られたので、そのうちもっとも平均的な構造を求めた。Robetta からも複数の構造が得られたので、そのうちもっとも平均的な構造を求めた。

#### 2. threading

I-Tasser からも複数の構造モデルが得られたので、それらのうち平均構造モデルを決定した。

#### 3. Rosetta 法

Rosetta 法ではクラスタリングにより上位クラスターを決定した。

#### 4. 各手法で得られたモデル構造の比較

Rosetta 法で得られた複数の上位クラスターモデルを他の手法で得られたモデルと比較した場合、そのどれもが 10Å 以上の RMSD を示した。したがって Rosetta 法で得られた構造モデルは、他の手法で得られたモデルと異なるフォールドであることが示唆された。フォールド比較の判断の際には構造の重ね合わせの程度を目視でも確認したが、両者に似た部分があるとは認められず RMSD の算出により得られた結果を支持した。したがって Rosetta 法で得られたモデルについてはこののちの比較から除外した。Rosetta 法がうまくいかなかった理由は Sirt4 の構造モデルのアミノ酸残基数が多すぎたためかも知れない。今回モデリングを試みた配列は 300 残基を超えるサイズであるが、Rosetta 法は 150 残基を超えるタンパク質への適用はうまくいかないことが多いという記述が開発元の Web サイト上に見られた。

ひきつづき Swiss-Model, I-Tasser, Robetta から得られた平均構造モデル間での比較を行った。その結果 I-Tasser により作成されたモデルが最も平均的な構造を持つことが明らかになった。I-Tasser の平均構造は Swiss Model の平均構造との RMSD が 3.32Å、Robetta の平均構造とは 3.71Å であった。これらのモデルを重ね合わせた図を目視により確認したところ、確かに共通するフォールドを持つと認識できた (図)。このことは、異なる複数の手法による構造解が収束したことを意味する。ただし、その収束の程度が 3Å 台ということで、側鎖構造の正確性、収束の程度が低いループ部等の構造、あるいはその他の構造パラメータ (エネルギーや二面角等) について、さらに詳細な検討を重ねるべきである。現段階の知見から今回得られた Sirt4 モデル構造の信憑性について、フォールド (全体構造) のレベルでは非常に高いと考えられる。

#### 5. ドッキングシミュレーション

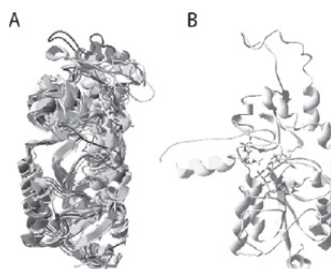
上記のフォールドに対して、補酵素 NAD<sup>+</sup>や、さらに基質蛋白質であるグルタミン酸脱



水素酵素との複合体構造を構築するため、ドッキングシミュレーションを行った。また分子動力学計算ソフト AMBER を用いて、NAD<sup>+</sup>との複合体構造モデルの分子動力学シミュレーションを行い、予想される酵素反応機構を構造学的基盤に基づいて解析した。

#### IV. 考察

本研究では、ミトコンドリアに存在する sirtuin タンパク質で、まだ立体構造の解明されていない SIRT4 の立体構造解析を行った。一般にタンパク質の立体構造予測では、ホモロジーモデリングと de novo デザイン、threading 法のいずれかの計算方法が用いられる。ホモロジーモデリングは配列同一性 (Identity で 30%以上) のある鋳型タンパク質構造の存在が前提となる。SIRT4 のアミノ酸配列を Protein Data Bank に対して BLAST 検索を行ったところ、最大 32%であった。30%以上の Identity を持つ SIRT5 等の立体構造を鋳型として、Modeller、Robetta、Swiss Model といった複数種のプログラムにより SIRT4 の立体構造モデルを構築したが、ホモロジーモデリング法を適用するには同一性が下限に近い。そのため、鋳型となるタンパク質構造を必要としない de novo デザイン、threading 法による構造予測も並行して検討を行った。



A) Threading 法とホモロジーモデリング法による複数のモデルの重ね合わせ。B) Sirt4-NAD<sup>+</sup>-基質タンパク質の三者複合体モデル

一般に de novo デザインや threading 法では、計算資源も大がかりとなるため、専用サーバー上に Rosetta (ワシントン大学) や I-TASSER (ミシガン大学) をインストールし、進捗状況によって、de novo デザインや threading 法にも対応可能な計算環境を実装した。これらの手法でホモロジーモデリングによる予測結果が再現されるかどうか確認したところ、threading 法により図 A に示すようにホモロジーモデルと共通のフォールドが得られた。このようにして得られたフォールドに対して、補酵素 NAD<sup>+</sup>とのドッキング、さらに基質タンパク質であるグルタミン酸脱水素酵素とのドッキングシミュレーションを検討し、複合体モデルを得た (図 B)。このような複合体構造により、Sirt4 は、グルタミン酸脱水素酵素を ADP リボシル化すると考えられる。

本研究で適用した方法は、他のタンパク質においても有用であると考えられる。SNP 解析の進行状況に応じて、今後も引き続き、同様の解析を進めていく予定である。

#### V. 研究成果の発表

##### V-1. A, B のテーマについて (徳永勝士)

1. Yuliwulandari R, Susilowati RW, Wicaksono BD, Viyati K, Prayuni K, Razari I, Kristin E, Syafrizal, Subagyo, Diana ES, Setiawati S, Ariyani A, Mahasirimongkol S, Yanai H, Mushiroda T, and Tokunaga K. NAT2 variants are associated with drug-induced liver injury caused by anti-tuberculosis drugs in Indonesian patients with tuberculosis. J. Hum. Genet. 61(6): 533-537, 2016.
2. Nishida N, Ohashi J, Khor S-S, Sugiyama M, Tsuchiura T, Sawai H, Hino K, Honda M, Kaneko S, Yatsushashi H, Yokosuka O, Koike k, Kurosaki M, Izumi N, Korenaga M, Kang J-H, Tanaka E, Akinobu Taketomi A, Eguchi Y, Sakamoto N, Yamamoto K, Tamori A, Sakaida I, Hige S, Itoh Y, Mochida S, Mita E, Takikawa Y, Ide T, Hiasa Y, Hiroto Kojima H, Yamamoto K,

- Nakamura M, Saji H, Sasazuki T, Kanto T, Tokunaga K, and Mizokami M. Understanding of HLA-conferred susceptibility to chronic hepatitis B infection requires HLA genotyping-based association analysis. *Sci. Rep.* 6: e24767, 2016.
3. Yamasaki M, Miyagawa T, Toyoda H, Khor S-S, Liu X, Kuwabara H, Kano Y, Shimada T, Sugiyama T, Nishida H, Sugaya N, Tochigi M, Otowa T, Okazaki Y, Kaiya H, Kawamura Y, Miyashita A, Kuwano R, Kasai K, Tanii H, Honda Y, Honda M, and Tokunaga K. Evaluation of polygenic risks for narcolepsy and essential Hypersomnia. *J. Hum. Genet.* 61(10): 873–878, 2016.
  4. Liu J, Ye Z, Mayer JG, Hoch BA, Green C, Rolak L, Cold C, Khor SS, Zheng X, Miyagawa T, Tokunaga K, Brilliant MH, and Hebbbring SJ. Phenome-wide association study maps new diseases to the human major histocompatibility complex region. *J. Med. Genet.* 53(10): 681–689, 2016.
  5. Hoshino A, Saitoh M, Miyagawa T, Kubota M, Takanashi J, Miyamoto A, Tokunaga K, Oka A, and Mizuguchi M. Specific *HLA* genotypes confer susceptibility to acute necrotizing encephalopathy. *Genes Immun.* 17(6): 367–369, 2016.
  6. Sun Y, Irowanto A, Toyo-oka L, Hong M, Liu H, Andiappan A, Choi H, Hitomi Y, Yu G, Yu Y, Bao F, Wang C, Fu X, Yue Z, Wang H, Zhang H, Kawashima M, Kojima K, Nagasaki M, Nakamura M, Yang S-K, Ye BD, Denise Y, Rotzschke O, Song K, Tokunaga K, Zhang F, and Liu J. Fine-mapping analysis revealed complex pleiotropic effect and tissue-specific regulatory mechanism of *TNFSF15* in primary biliary cholangitis, Crohn's disease and leprosy. *Sci. Rep.* 6: e31429, 2016.
  7. Otowa T, Kawamura Y, Tsutsumi A, Kawakami N, Kan C, Shimada T, Umekage T, Kasai K, Tokunaga K, and Sasaki T. The first pilot genome-wide gene-environment study of depression in the Japanese population. *PLoS One* 11(8): e0160823, 2016.
  8. Smittipat N, Juthayothin T, Billamas P, Jaitrong S, Rukseree K, Dokladda K, Chaiyasirinroje B, Disratthakit A, Chaiprasert A, Mahasirimongkol S, Yanai H, Yamada N, Tokunaga K, Palittapongarnpim P. Mutations in *rrs*, *rpsL* and *gidB* in streptomycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Thailand. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 4: 5–10, 2016.
  9. Matsunami K, Nishida N, Kaneko N, Ikeo K, Toyo-oka L, Takeuchi H, Matsuura K, Tamori A, Nomura H, Yoshiji H, Imamura M, Masaki N, Hayakawa T, Ide T, Shimada N, Ikeda F, Hino K, Nishiguchi S, Okuse C, Nojiri S, Sawamoto K, Tokunaga K, Joh T, and Tanaka Y. Genome-wide association study identifies *ZNF354C* variants associated with depression by interferon-based therapy for chronic hepatitis C. *PLoS One* 11(10): e0164418, 2016.
  10. Wattanapokayakit S, Mushiroda T, Yanai H, Wichukchinda N, Chuchottawon C, Nedsuwan S, Rojanawiwat A, Denjanta S, Kantima T, Wongyai J, Suwankeawong W, Rungapiromnan W, Kidkeukarun R, Bamrungram W, Chaiwong A, Suvichapanich S, Mahasirimongkol S, and Tokunaga K. *NAT2* slow acetylator associated with anti-tuberculosis drug-induced liver injury in Thai patients. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 20(10): 1364–1369, 2016.

11. Thiri M, Honda K, Kashiwase K, Mabuchi A, Suzuki H, Watanabe K, Nakayama M, Watanabe T, Doi K, Tokunaga K, and Noiri E. High-density association mapping and interaction analysis of *PLA2R1* and *HLA* regions with idiopathic membranous nephropathy in Japanese. *Sci. Rep.* 6: 38189 Epub, 2016.
12. Kawashima M\*, Hitomi Y\*, Aiba Y\*, Nishida N\*, Kojima K\* (equal contribution), Kawai Y, Nakamura H, Tanaka A, Zeniya M, Hashimoto E, Ohira H, Yamamoto K, Abe M, Nakao K, Yamagiwa S, Kaneko S, Honda M, Umemura T, Ichida T, Seike M, Sakisaka S, Harada M, Yokosuka O, Ueno Y, Senju M, Kanda T, Shibata H, Himoto T, Murata K, Miyake Y, Ebinuma H, Taniai M, Joshita S, Nikami T, Ota H, Kouno H, Kouno H, Nakamuta M, Fukushima N, Kohjima M, Komatsu T, Komeda T, Ohara Y, Muro T, Yamashita T, Yoshizawa K, Nakamura Y, Shimada M, Hirashima N, Sugi K, Ario K, Takesaki E, Naganuma A, Mano H, Yamashita H, Matsushita K, Yamauchi K, Makita F, Nishimura H, Furuta K, Takahashi N, Kikuchi M, Masaki N, Tanaka T, Tamura S, Mori A, Yagi S, Shirabe K, Komori A, Migita K, Ito M, Nagaoka S, Abiru S, Yatsushashi H, Yasunami M, Shimoda S, Harada K, Egawa H, Maehara Y, Uemoto S, Kokudo N, Takikawa H, Ishibashi H, Chayama K, Mizokami M, Nagasaki M, Tokunaga K, and Nakamura M. Genome-wide association studies identify *PRKCB* as a novel genetic susceptibility locus for primary biliary cirrhosis in the Japanese population. *Hum. Mol. Genet.* 26(3): 650-659, 2017.

## V-2. C のテーマについて (小島正樹, 木原 裕)

- (1) 2015年2月に「姫路日ノ本短期大学ライフサイエンス研究センター医療講演会-先端医療がめざす現代医療への貢献」にて、「タンパク質構造予測研究の健康科学への応用」を発表した。
- (2) 2015年6月に東京薬科大学にてワークショップ「標的タンパク質の構造と機能予測による創薬の開発」を開催した。
- (3) 2016年2月に徳島大学酵素科学研究所の福井清教授との共催で「シンポジウム-タンパク質の構造と病態」を開催し、「蛋白質の構造と疾患」を発表した。
- (4) 2017年3月に東京大学伊藤国際学術研究センターでの「心不全重症化研究会」にて、「Sirt4-NAD<sup>+</sup>-GDH 三者複合体の構造モデル」を発表した。
- (5) 小島正樹、加藤有介、木原裕 (2015) Sirt4 複合体構造モデリング, 第24回日本バイオイメーjing学会
- (6) 3. 鈴木貴裕, 清野翔平, 加藤有介, 谷佳津子, 小島正樹 Abl-Abi 複合体の構造モデリング, 日本バイオイメーjing学会, 2015/9, 東京
- (7) 上記研究成果は、現在学術雑誌に投稿中である。

## その他の文献

(木原裕)

1. Nishii W, Kukimoto-Niino M, Terada T, Shirouzu M, Muramatsu T, Kojima M, Kihara H, Yokoyama S. (2015) A redox switch shapes the Lon protease exit pore to facultatively regulate

- proteolysis. *Nat Chem Biol.* 11, 46–51.
2. Ohtomo H, Ohtomo M, Sato D, Kurobe A, Sunato A, Matsumura Y, Kihara H, Fujiwara K, Ikeguchi M. (2015) A Physicochemical and Mutational Analysis of Intersubunit Interactions of *Escherichia coli* Ferritin A. *Biochemistry* 54, 6243–51.
  3. K. Takemoto, M. Yoshimura, A. Yamamoto, S. Ichise, H. Namba and H. Kihara, (2016) Imaging of musty-odor producing filamentous cyanobacteria by various microscopies, AIP Conference Proceedings, 1696, 020024.
  4. Kuniko Takemoto, Masashi Yoshimura, Hidetoshi Namba and Hiroshi Kihara (2016), Soft X-ray Microscopy Observation of Filamentous Cyanobacteria at Various Growth Curve Phase, Memoirs of the SR Center Ritsumeikan University, 18.

(小島 正樹)

1. Nishii W, Kukimoto-Niino M, Terada T, Shirouzu M, Muramatsu T, Kojima M, Kihara H, Yokoyama S. (2015) A redox switch shapes the Lon protease exit pore to facultatively regulate proteolysis. *Nat Chem Biol.* 11, 46–51.
2. Koizumi, T., Terada, T., Nakajima, K., Kojima, M., Koshihara, S., Matsumura, Y., Kaneda, K., Asakura, T., Shimizu-Ibuka, A., Abe, K., Misaka, T (2015) Identification of key neoculin residues responsible for the binding and activation of the sweet taste receptor. *Sci. Rep.* 5,12947.
3. Sekino S, Kashiwagi Y, Kanazawa H, Takada K, Baba T, Sato S, Inoue H, Kojima M, Tani K. (2015) The NESH/Abi-3-based WAVE2 complex is functionally distinct from the Abi-1-based WAVE2 complex. *Cell Commun Signal.* 13:41.