

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

成果報告書

提出日：令和2年5月26日

【基本情報】

○申請者

採 択 年 度：平成30年度

部 局 名 等：理学研究科（白眉センター）

職 名：特定准教授

氏 名：宮崎 牧人

研究課題名：1分子・超分子集合体・生細胞の3階層を貫く細胞骨格研究モデル系の構築

○渡航先

国 名：フランス

研究機関名：キュリー研究所

研究室名等：〔研究室名〕 The Laboratory of Cytoskeletal Architecture and Cell Morphogenesis

〔職名等・氏名〕 Research Director・Phong Tran

渡 航 期 間：平成30年12月2日～平成31年2月24日（85日）

平成31年3月31日～令和2年3月17日（353日）

○渡航期間中の出張

出 張 先：京都大学

目 的：京都大学白眉センターの鈴木雄太特定助教と共同研究の打ち合わせをする

期 間：平成31年1月28日～平成31年2月6日

出 張 先：九州大学、京都大学、名古屋工業大学

目 的：新学術領域「発動分子」領域会議に参加し、当該研究課題に関する発表および最新の動向調査を行う、京都大学理学研究科講師市川正敏氏と共同研究の実験および議論をする、名古屋工業大学に滞在中の Dimitrios Vavylonis 教授（Lehigh Univ. USA）と共同研究の打ち合わせをする

期 間：令和1年5月20日～令和1年6月6日

出 張 先：京都大学

目 的：九州大学物理学科前多裕介准教授、坂本 遼 太 氏（D1の学生）と、京都大学で共同実験を行う

期 間：令和1年8月1日～令和1年8月14日

出 張 先：ケニア（Institute of Primate Research, PrideInn Paradise Beach Resort & Spa）

目 的：4th Africa International Biotechnology & Biomedical Conference AIBBC2019に参加し、当該研究課題に関する研究発表および情報収集を行う

期 間：令和1年8月25日～令和1年9月2日

出 張 先：京都大学

目 的：京都大学理学研究科講師市川正敏先生とジョン万プログラムに関連した共同実験を行う

期 間：令和1年9月6日～令和1年10月1日

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム 研究者派遣プログラム

- 出張先**：北海道大学、京都大学
- 目的**：化学部門液体化学研究室影山義之助教と当該研究に関する議論を行う、The 7th International Life Science Symposium (ILSS)に参加し、招待講演を行う、京都大学理学研究科講師市川正敏先生と共同実験を行う
- 期間**：令和1年10月29日～令和1年12月1日
- 出張先**：京都大学、千葉大学、東京工業大学附属科学技術高校
- 目的**：京都大学理学研究科講師市川正敏先生と共同実験を行う、新学術領域「発動分子」領域会議に参加し、当該研究課題に関する発表を行う、サイエンスワークショップの事前打ち合わせを行う
- 期間**：令和2年1月6日～令和2年1月25日

【成果】

○プロジェクトの成果及び今後の展開

・研究概要

細胞は、細胞骨格構造の動的組替えにより、運動や分裂など生命活動に必須な機能を実現している。申請者は、細胞骨格が司る細胞機能発現機構を解明するために、精製タンパク質及び細胞質抽出液を封入した人工細胞を用いて、細胞骨格が自己組織化される条件を探っている。これまでに細胞分裂装置（収縮環）や細胞質流動などの再構成に世界に先駆けて成功し、細胞骨格形成・機能制御の新しい仮説を提唱した。しかし実際の細胞でも同じ仕組みで細胞骨格が自己組織化され、細胞機能を制御しているのかを検証する手段・技術が今はない。そこで本研究では1分子・超分子集合体・生細胞の3階層における細胞骨格研究をすべて同一のモデル生物（分裂酵母）で行える実験系の確立を目標とする。キュリー研究所（仏、パリ）とペンシルベニア大学（米、フィラデルフィア）兼任のPhong Tran博士が持つ、膨大な数の分裂酵母の突然変異体ライブラリーと、Tran研が独自に開発した細胞の形態・細胞骨格・発現タンパク質それぞれの制御技術、そして申請者の細胞骨格再構成技術を組み合わせることで、トップダウン法とボトムアップ法の両方から細胞骨格動態に迫ることが世界で初めて可能となる。本派遣が終了した後も、日仏米の国際研究チームを維持し、お互いの研究室を細胞骨格研究の拠点として発展させて行く。

・国際共同研究の立上げ・ネットワークの構築

分裂酵母研究に必要な不可欠であるクローニング技術を一通り習得し、細胞分裂に関与しているタンパク質の遺伝子を次々に削除していくことが可能になった。また、クローニング技術の習得と並行して、キュリー研究所の誇る最先端のイメージング施設を活用し、専属の顕微鏡技術者の指導の元、分裂酵母のライブイメージング技術を習得した。当該研究者派遣プログラムをきっかけとして生まれたPhong Tran氏との共同研究を基盤として、研究課題「1分子から生細胞までの階層を貫く細胞骨格研究モデル系を用いた細胞分裂機構の解明」を提案し、科研費国際共同研究強化(A)に採択された（令和元年度～令和3年度）。また、キュリー研究所滞在中にソルボンヌ大学（パリ市内）のFrançois Robin氏と議論を深め、研究課題「細胞形態転移メカニクスの包括的理解に向けた国際連携基盤の構築」を提案し、京都大学「知の越境」融合チーム研究プログラムSPIRITS（国際型）（令和2年度～令和3年度）の採択へと繋がった。将来的には、Tran氏およびRobin氏とHFSP (Human Frontiers Science Program) Program Grantsなどの国際研究グラントへの応募を計画している。

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム 研究者派遣プログラム

・国際共著論文の投稿・発表等の状況、国際学会等での発表状況 [予定を含む]

ジョン万プログラムの支援のもと、キュリー研究所に滞在中に得られた成果の一部は、The 4th Africa International Biotechnology & Biomedical Conference AIBBC 2019 (ケニア 2019.8.26-31) や The 7th International Life Science Symposium (ILSS) (札幌) (2019.11.1)で講演した。今後は国際共同研究強化 (A) の支援のもと、引続き Phong Tran 氏の研究室と国際共同研究を進める。研究成果は、分裂酵母研究の国際大会 (次は 2021 年に広島で開催) や、米国細胞生物学会 (ASCB、毎年開催) などの分野を牽引する国際学会および、国内の主要な学会で発表を行う予定である。また、申請者が所属する日本生物物理学会で Tran 氏らを招いた国際シンポジウムを開催することを検討している。今、申請者が主体となって進めている研究は、申請者が筆頭著者、Tran 氏が最終著者、共に責任著者として論文を執筆する予定である。さらに、Tran 研究室および申請者の研究室の学生やポスドクなどと連携して共同研究を推進し、複数の論文を国際共著論文として発表したい。

・在外研究経験によって習得した能力等

Tran 氏はキュリー研究所とペンシルベニア大学 (米、フィラデルフィア) を兼任しており、キュリー研究所で不在の期間がそれなりにある。その間、遠隔地から学生を指導する方法、研究を統括する方法について学ぶことができた。Tran 氏と交流を深める中で特に印象的であったのは、忙しい中でも時間を割き、自ら手を動かして実験・データ解析を行い、学生やポスドクと同じように持ち回りのラボミーティングで進捗の発表をする、というサイエンスを楽しむ姿勢であった。研究室の主催者として忙しくなっても、実験する時間を意識的に持つということが、学生やポスドクの実験データに鋭い指摘が出来たり、新しい現象の発見や斬新な発想に繋がっているということを実感した。

・在外研究経験を活かした今後の展開

ジョン万プログラムによるキュリー研究所への長期滞在をきっかけとして、国際的に活躍している多くの若手研究者と知り合うことができた。滞在中に培った人脈を最大限に活かして、国際共同研究を積極的に推進して行きたい。将来的には、申請者の研究室の学生・ポスドクと、キュリー研究所などの海外のトップレベルの研究室の学生・ポスドクが、お互いに数ヶ月単位で行き来して、国際共同研究を進めるような環境を整備したいと考えている。そのために、まずは申請者オリジナルの実験技術を磨き、共同研究先として魅力のある研究チームを作って行きたい。

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

英文成果報告書

○申請者情報

部 局 名 : The Hakubi Center for Advanced Research (Graduate School of Science)

職 名 : Program-Specific Associate Professor

氏 名 : Makito Miyazaki

研究課題名 : Development of a model system for the study of cytoskeletal dynamics to bridge the gaps between single-molecule, subcellular, and whole-cell levels

渡 航 期 間 : 2 Dec 2018 – 24 Feb 2019 & 31 Mar 2019 – 17 Mar 2020

○渡航先情報

国 名 : France

研究機関名 : Institut Curie

研究室名等 : The Laboratory of Cytoskeletal Architecture and Cell Morphogenesis

受入研究者名 : Phong Tran

○渡航報告

First of all, I greatly appreciate the John Mung program for giving me an opportunity to stay at the Institut Curie in Paris for 15 months in total to conduct international collaborative research.

I first met Dr. Phong Tran at the Gordon Research Conference “Motile and Contractile Systems” in 2015. During a one-week meeting in a relaxed atmosphere, we discussed several nights with beers in hands about possibilities of collaborations. Dr. Tran is expertise in molecular genetics and cell biology. His team uses the genetically tractable model organism *S. pombe*, or generally called fission yeast, to address how the microtubule and actin cytoskeletons regulate cell division processes, including spindle formation, chromosome segregation, and cytokinesis. On the contrary, I received a Ph.D. in physics and I have been studying mechanisms of cytoskeletal self-organization using an *in vitro* reconstitution approach. I have established methods to purify cytoskeletal proteins, prepare membrane-free cell extracts, and encapsulate purified proteins or cell extracts into cell-sized vesicles to mimic the cellular microenvironment. Since the areas of expertise, as well as the model systems we use, are very complementary to each other, we thought our collaboration could bring synergy and make us more effective and efficient. We thus believe that our collaboration will open a new era in the field of cytoskeletal dynamics and cellular morphogenesis.

During a long-term stay in the Laboratory of Cytoskeletal Architecture and Cell Morphogenesis (team leaders: Dr. Phong Tran and Dr. Anne Paoletti),

- 1) I learned standard methods to culture and handle fission yeast, a method for mating different strains to prepare double mutants, a method for extracting genomic DNA from fission yeast.
- 2) I learned both standard and modern methods in molecular genetics including Gibson assembly technology to design DNA sequences, as well as methods for transformation of designed DNA sequences into fission yeast. These techniques are essential for deleting or mutating genes of interest, or tagging proteins with fluorescent markers for live-cell imaging.

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

- 3) I learned live-cell imaging techniques using a spinning-disk confocal microscope. The imaging facility of the Institut Curie has many kinds of the state-of-the-art microscopes, many of which are co-founded and managed by Nikon.
- 4) I learned standard analysis methods for time-lapse microscope images of fission yeast.

Based on discussion with Dr. Tran and our preliminary results, I proposed an international collaborative research project as the principal applicant to the Fund for the Promotion of Joint International Research (Fostering Joint International Research (A)), supported by MEXT (the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, Japan). Fortunately, our research proposal was selected (grant no. 18KK0420), and thus we got a chance to deepen our studies for another three years.

Results of our collaborative research will be presented at an international scientific meeting such as the International Fission Yeast Meeting, which will be held in Hiroshima next year, or the ASCB/EMBO Annual Meeting organized by the American Society for Cell Biology (ASCB) and European Molecular Biology Organization (EMBO) held in USA. We plan to complete ongoing projects supported by the John Mung program and MEXT by the end of 2022, and we aim to publish several articles in high-impact international journals.

I greatly appreciate Dr. Phong Tran and his team members for fruitful discussion and encouragement. I also appreciate support from the Hakubi Project and Department of Physics, especially Dr. Akihiko Akamatsu, Dr. Masatoshi Ichikawa, and my team members in Kyoto.



With Dr. Phong Tran (the third person from right) and his team members