

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：平成 28 年 10 月 14 日

【基本情報】

○申請者

採 択 年 度：平成 27 年度
部 局 名 等：大学院農学研究科農学専攻
職 名：助教
氏 名：増田 太郎
研究課題名：金属含有酵素の活性中心形成機構に関する研究

○渡航先

国 名：アメリカ合衆国
研究機関名：米国国立衛生研究所(NIH), National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK)
研究室名等：Genetics and Metabolism Section
Dr. Caroline C. Philpott
渡 航 期 間：平成 27 年 10 月 1 日～平成 28 年 9 月 30 日 (365 日)

○渡航期間中の出張

出 張 先：ニューヨーク血液センター
目 的：East-to-West Iron Club (EWIC)2015 大会への出席、聴講
期 間：平成 27 年 10 月 29 日から 10 月 30 日

出 張 先：Big Sky Conference Center
目 的：FASEB meeting (Trace Elements in Biology and Medicine) における発表と聴講
期 間：平成 28 年 6 月 5 日から 6 月 10 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

【成果】

○プロジェクトの成果及び今後の展開

・研究概要

鉄は全ての生物にとって、その生命維持に不可欠な遷移金属元素である。このような必須性の反面、鉄は酸化還元反応性に富むため、生体内に過剰量存在した場合、酸化ストレスを惹起し生体に害を及ぼす。従って、生命は必須と害毒という二面性を持つ鉄を有効に利用し、生体内の鉄の恒常性を保つための精緻な機構を発達させてきた。フェリチンはほぼ全ての生物種に存在する鉄貯蔵蛋白質であり、一分子あたり数千に及ぶ鉄イオンを無毒な形で貯蔵する。しかし、巨大な多量体を形成する蛋白質であるフェリチンが、多量の鉄を取込む作用機作については、未だ不明な点が多い。この度の渡航先である、国立衛生研究所の Caroline Philpott 博士の研究室では、フェリチンに対して効率的に鉄を導く蛋白質分子 (Iron Chaperone) として、Poly r(C) binding Protein (以下 PCBP) を見いだした (Shi et al. Science 2008)。PCBP は、その名が示すように核酸結合蛋白質として同定され、様々な遺伝子の発現調節に関与することが知られる蛋白質である。この PCBP がフェリチンに対して、どのように働きかけ、如何にして鉄を受け渡すのか、その機構については全く不明であった。報告者は、長年にわたりフェリチンの構造と機能に関する研究を行ってきたことから、本共同研究において、ヒトフェリチンと Iron Chaperone である PCBP1 の相互作用機構の解析を担当した。その結果、PCBP はヒトに存在する二種類のフェリチン (H, L) と等しく相互作用し、その分子認識は、フェリチン分子表面に存在する保存性の高い数カ所のアミノ酸残基において行われることを明らかにした。また、PCBP を構成する複数のドメインの内、KH-3 ドメインがフェリチンとの相互作用に主体的な役割を担っていることを示した。

・国際共同研究の立上げ・ネットワークの構築

報告者は、平成 27 年度ジョン万プロジェクトの支援により、鉄代謝研究、特に鉄含有酵素の活性中心形成機構の研究に関する第一人者である Philpott 博士の研究室に一年間所属した。当該研究室において、報告者は自らのこれまでの研究成果と知見を元に研究計画を立案し、当初の予想を超える結果を出すことが出来たと考えている。研究室主宰者である Philpott 博士からも、滞在予定である一年に差し掛かろうとするとき、報告者の滞在延長の打診をいただいた。今回の滞在は当初の予定に従い一年となったが、今後も本研究に関する共同研究を続け、事情が許せば再び Philpott 博士の研究室において研究を行うことで一致している。今後は、まず、京都大学に戻った状況を最大限に生かし、渡航先で得られた研究成果の精査・追試と追加実験を行い、次に必要な実験・データと研究展開を模索する。続いて、一年以内を目処に、再び NIH の Philpott 博士の研究室に短期滞在し、追加実験を実施、完全な形での論文投稿を目指す。この際、再び渡航先に戻り国際共同研究を深化させるため、京都大学ジョン万プロジェクトの他、日本学術振興会・科学研究費補助金国際共同研究加速基金、或いは二国間交流事業・共同研究への応募を検討している。

また、渡航先である国立衛生研究所の他、学会で Philpott 博士の共同研究者と交流を持つことが出来、必要に応じて更なる共同研究ネットワークの形成が可能である。更に、渡航先研究室で報告者が同僚として働いた複数の博士研究員が来年から米国内の大学・研究期間で職を得ることとなったため、互いの研究室の学生の交換留学など将来的な研究交流について約束を交わした。このように、直接の共同研究以外にも、研究ネットワークを深化させる下地も作ることが出来、この上なく実りの多い海外渡航、共同研究であったと考えている。

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]

※ 学会

FASEB Meeting

Trace Elements in Biology and Medicine

June 5-10, 2016

"The molecular basis of the recognition of ferritin by poly (C) binding protein 1."

Taro Masuda, Pam Smith, Olga Protchenko and Caroline Philpott

投稿論文：準備中

・在外研究経験によって習得した能力等

主として蛋白質の相互作用解析実験を担当し、これまで用いてこなかった新たな研究手法を習得した。具体的には、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた複数蛋白質の共発現系を最適化し、用いたことから非常に応用範囲の広い実験系である *S. cerevisiae* について、その培養、遺伝学的実験法について広く学ぶことが出来た。また、相互作用解析に用いる機器として、マイクロ等温滴定カロリメトリー (Micro ITC) を用いたことから、この装置の測定原理、相互作用解析全般に対する汎用性、データ解析について広く知識と技術を習得した。

日本では非常に敷居の高い実験手法である放射性同位元素を用いた実験が、米国の研究室では必要に応じてごく普通に行われており、特定の実験については大幅に進捗の速度が増大したと考えている。

NIH は、国立の研究機関であり、研究室におけるデータ管理、実験材料の管理などが非常に行き届いていた印象である。実験データが研究室の共有財産であるとの認識から、克明且つ理解しやすい実験記録の作成について深く考える非常に良い機会となった。

研究室全体のミーティングが週に一回二時間程度、研究室主宰者と各研究者の話し合いの場が各人週に一度 1-2 時間程度確保されており、データの共有と進捗管理法、更には若手研究者の育成法について参考になるところが大きかった。

・在外研究経験を活かした今後の展開

前述のように、研究室主宰者との間に、強固な信頼関係を得ることができ、報告者自らが高い関心を持つ研究分野において極めて重要な人脈形成を行うことが出来た。今後は、共同研究を継続することにより、本在外研究の結果を揺るぎのない形で論文発表し、次のステージに向けて共同研究を継続する所存である。また、ここで得られた技術は、自らの農学研究科における研究の目標達成に向けて直接応用可能なものが非常に多いため、農学研究科農学専攻の研究者として、重要な食糧作物を研究対象とした 鉄代謝機構の解明に資するところが極めて大きい。研究対象を、在外研究中の「ヒト」から「植物」に換えることになっても、微量元素の生物学という大きな研究題目は不変であるため、在外研究中の上司である Philpott 博士との交流は継続し、研究上の相談と情報交換は今後も活発に続けることが出来る。また、在外研究中に多くの若手研究者との交流を持つことが出来た。この交流は、報告者の生涯の研究課題である作物の金属代謝研究を進める上で、極めて重要な財産になると考えている。

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

英文成果報告書

○申請者情報

部 局 名 : Graduate School of Agriculture

職 名 : Assistant Professor

氏 名 : Taro MASUDA

研究課題名 : Investigation on the mechanism of active site formation in metalloenzymes.

渡航期間 : From October 1st, 2015 to September 30th, 2016

○渡航先情報

国 名 : The United States of America

研究機関名 : National Institute of Health

研究室名等 : Genetics and Metabolism section, Liver disease branch, in National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases

受入研究者名 : Dr. Caroline C. Philpott

○渡航報告

I've been working at National Institute of Health (NIH) in the US from October 2015 to September 2016 for 1 year. The laboratory I belonged to was 'Genetics and Metabolism section, Liver disease branch, in National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK)'. In contrast, my affiliation in Kyoto University is Graduate School of Agriculture. So, judging from names of the affiliations, it does not seem to suit me perfectly, does it? Well, why did I choose the laboratory? The reason was absolutely my interest. I would like to mention how and why I chose the laboratory.

The principal investigator of the laboratory I chose is Dr. Caroline Philpott, who has been investigated the iron metabolism in budding yeast and human for long years. One of her representative works is "A cytosolic iron chaperone that delivers iron to ferritin." (Shi et al., 2008, Science), which unveiled the function of a specific protein for delivering iron to an iron storage protein ferritin. At that time, as a researcher who is interested in iron metabolism and this iron storage protein ferritin, I had been suspecting that there should have been a factor called iron-chaperone, which supports the iron delivery to ferritin. So, her paper, which discovered such factor called iron-chaperone for the first time, deeply impressed me and it became an unforgettable literature for me. Several years have passed since then, it was when I got to know about the John Mung Program Kyoto University, which supports the young scientists in performing a research abroad, that I decided to send a letter of proposal to join Dr. Caroline Philpott's laboratory at NIH. She kindly accepted it.

My research in NIH began on October 5, 2015, when I have done the registration procedures. Although there were a lot of things which made me embarrassed initially, all members of the laboratory kindly supported me and regarded me as an expert on the structure and function of ferritin, which is one of the most important research targets in the laboratory. One or two months after my joining to the laboratory, I realized that I would be a true member of the Dr. Philpott's group. Since then, my pleasant days have started. Because NIH is not a university, almost all the members are basically well-experienced post doctoral research fellows. I worked together with 4 such post doctoral

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

researchers as discussing our researches each other. This situation of the laboratory enhanced my knowledge of interest and friendship with them. In addition to the free discussion with the colleagues, there was one to two-hours' discussion with the supervisor once a week and one to two-hours' presentation at a lab meeting. Additionally, there was another opportunity of presentation at a journal club. These opportunities enhances my knowledge and interests on the research area, as well as an English speaking and listening skills. During my stay at Dr. Philpott's laboratory, I did not have to do something other than my own research and experiments, though I sometimes supported various laboratory matters of Lab manajor. Generally, in the US, researchers should primarily do their own research. It is the most important and significant basis there, I think.

The main objective of my research there was to figure out the molecular basis of the physical interaction between iron storage protein ferritin and iron-chaperone PCBP1. First, I've established the evaluation system for the interaction using budding yeast experimental system. I learned so many things about the background knowledge of yeast biology from Dr. Philpott in person, because she is an authority in the genetics of the budding yeast. After the establishment of the experimental system, I've started the experiments to figure out the molecular basis of the interaction between these proteins. My supervisor Dr. Philpott interested in my results, and recommended me to make a presentation at a research conference.

The conference we attended was FASEB meeting (Trace Elements in Biology and Medicine) which was held in Big Sky mountain resort (Montana State) from June 5th to 10th (Photo 1, The reporter Taro Masuda in front of the conference venue), and my presentation was 'The molecular basis of the recognition of ferritin by poly (C) binding protein 1' (Photo 2, The reporter with his supervisor Dr. Caroline Philpott in front of his poster). There is few conference specified to the subject concerning to the relationship between life and the trace elements in Japan. This meeting and 'Metals in Biology in Gordon Research Conferences' are two major conferences of this research field. Many researchers were interested in and visited my poster. Since all the attendees were familiar to the researches on metal biology, all visitors of my poster could comprehend the essence of my presentation and we could discuss deeply. For examples, I got to know Prof. Jerry Kaplan (Utah Univ.), who is an authority of mitochondrial iron transporter (mitoferrin). We discussed not only iron metabolism, but an important hobby of our common interest, 'trout fishing'. He kindly invited me to his place to go fishing together. However, I could not make time for the trip, unfortunately. Attending to this FASEB meeting gave me many opportunities to make friend with researchers who share common interest. I had booked a shared room for 5-days stay during the conference. The roommate was Dr. Amit Reddi from Georgia Institute of Technology, who is studying about the development of the methods for heme sensing. During the conference, we stayed together and talked much about researches, future perspectives and our families. Although it was like an unexpected meeting with him, it was really precious one, because we established a friendship which also affected me deeply as a researcher.

I sincerely thank everyone for letting me do the research of my own interest at the laboratory best for me. Frankly speaking, one-year stay is a little too short to complete an independent research. I thought I've been doing best during the stay. However, now, I'm thinking that I could have done much

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

better and completed my research there. Fortunately, Dr. Philpott, my supervisor, appreciates my jobs at her laboratory and is willing to continue the collaboration with me in terms of the research I had started at her place. On the last day of my stay, she planned to hold 'Taro's going away lunch party' with all members of her laboratory (Photo 3, Going away lunch party). It was very wonderful lunch time for me. As the final speech, she talked about the story of our meeting and expressed her gratitude for me and said, "I look forward to continuing our collaborations and would welcome you back to my laboratory again, if your university's schedule would permit this. You are an excellent scientist and colleague and I am fortunate to have the opportunity to work with you." I could not help crying and did not have anything but the appreciation.

The following is my message on the facebook page writing on my way back to Japan.

Now, I'm leaving.

This one-year-stay at NIH was the most precious one for me both professionally and personally.

I sincerely thank Dr. Caroline Philpott, my supervisor at NIH, and all the members of the Lab. I'm also really grateful to everyone who I met during my stay in the US.

The pleasant time has been flying in a twinkle and it's time to return to usual.

However, I don't think it's the farewell, because, I dare say, I shall return.

I would like to be a friend of everyone whom I've gotten to know there, in future, too.

Thank you so much! And, I hope everyone's good luck.

Taro Masuda, on a way to Japan