**Tsubasa SATO** B2 – Faculty of Environmental Information, SFC, Keio University
Institute for Advanced Biosciences, TTCK, Keio University
Medical Research Institute, Institute of Science Tokyo
**Host Institution:** Georgia Institute of Technology
**Host Lab:** School of Chemistry and Biochemistry
**Mentor:** Allison K. Alterman **PI:** Amit R. Reddi

# I. ジョージア工科大学での研究活動

## A) 研究テーマ：カタラーゼのヘムによる活性化の仕組み

細胞内では，生命活動の過程で $H_2O_2$ が生じる．過剰な $H_2O_2$ は細胞にダメージを与えるため，カタラーゼという酵素がこれを $H_2O$ と $O_2$ に分解することで，細胞を酸化ストレスから守っている [1]．カタラーゼが働くためには，鉄を含むヘムという分子が重要である．しかし，タンパク質が存在することと，実際に化学反応を進められることは同じではない．そこで，本研究では，酵母の遺伝子欠失変異株を用いてカタラーゼのタンパク質量と酵素活性を調べ，ヘム依存的なカタラーゼの機能がどのような遺伝子や分子機能によって制御されるのかを明らかにすることを目指した．

## B) 研究の背景

### 1. 研究分野の紹介・重要性

生物の細胞内では，生命活動を維持するために，膨大な数の化学反応が絶えず進行している．これらの反応を効率よく進めるために重要な役割を担うのが，酵素と呼ばれるタンパク質である [2]．酵素の中には，タンパク質だけでは機能できず，金属イオンや金属を含む分子を必要とするものがある．このようなタンパク質は金属タンパク質と呼ばれ，エネルギー代謝，酸化還元反応，細胞内シグナル伝達など，幅広い生命現象に関与している [2,3]．

その代表例の一つが，ヘムという鉄を含む分子を利用するタンパク質である．ヘムは，$O_2$ の運搬に関わるヘモグロビンや，$H_2O_2$ を分解するカタラーゼなど，様々なタンパク質の機能に不可欠である．特にカタラーゼは，細胞内で生じる $H_2O_2$ を $H_2O$ と $O_2$ に分解し，過剰な酸化ストレスから細胞を保護する役割を担う [3,4]．

一方，ヘムは生命活動に不可欠であるにも関わらず，過剰に存在したり，適切に管理されなかったりすると，細胞に有害な影響を及ぼす可能性がある．そのため，細胞はヘムを必要な場所へ供給するとともに，その量や利用可能性を厳密に制御する必要がある．ヘムを必要とするタンパク質が，どのようにヘムを獲得し，機能できる状態になるのかを理解することは，細胞内の代謝制御や酸化還元バランスの仕組みを解明する上で重要である．

### 2. 研究分野における重要な未解決問題の紹介

ヘムの合成や分解については多くの知見が蓄積されている一方，ヘムを必要とするタンパク質が，どのような分子機構によって機能できる状態になるのかについては，未解明な部分が残されている．特に，ヘム依存性タンパク質の機能が，タンパク質の合成量だけで決まるのか，あるいは合成後のヘムの組み込みやタンパク質の安定性などにも左右されるのかは，重要な問題である [3,4]．

カタラーゼを例にすると，カタラーゼのタンパク質が細胞内に存在しても，必ずしも十分な酵素活性を示すとは限らない．そのため，カタラーゼのタンパク質量と酵素活性を区別し，それぞれがどのような遺伝子や分子機能によって制御されているのかを理解する必要がある [4].

また，カタラーゼの制御には転写調整因子 HAP1 が関与することが知られているが，HAP1 の活性だけでカタラーゼのタンパク質量や酵素活性の変化を全て説明できるとは限らない [5]．したがって，転写段階での制御に加え，タンパク質が合成された後の過程も含めて，カタラーゼの機能が成立する仕組みを明らかにすることが重要である．

3. その問題に対して次に解決できると嬉しい部分問題は何か

ヘム依存性タンパク質の機能が成立する仕組みをすべて解明することは大きな研究課題である．そのため，まずは特定のヘム依存性タンパク質に着目し，そのタンパク質量と機能がどのような遺伝子によって制御されているのかを明らかにすることが，有効な部分問題となる．

本研究では，ヘム依存性酵素であるカタラーゼを対象とした．カタラーゼは $H_2O_2$ を分解する酵素であり，そのタンパク質量と酵素活性をそれぞれ測定できるため，タンパク質の存在量と機能との関係を調べるモデルとして適している．

具体的には，酵母の遺伝子欠失変異株を用いて，カタラーゼのタンパク質量や酵素活性に変化をもたらす遺伝子を探索する．さらに，転写調節因子 HAP1 の活性も評価することで，カタラーゼの制御が転写段階で説明できるのか，あるいはタンパク質合成後の過程も関与するのかを検討する．

この部分問題を解決することで，カタラーゼの活性化に関わる遺伝子や制御段階を特定し，ヘム依存性タンパク質の機能制御機構を理解するための手掛かりを得ることができる．

4. その問題の構造的理解(仮説構成・技術要件)

本研究の問題は，カタラーゼのタンパク質量と酵素活性が，どのような遺伝子や分子機構によって制御されているのかという点にある．この関係を理解するためには，カタラーゼのタンパク質量，酵素活性，および転写調節に関わる HAP1 の活性を区別して評価する必要がある．

ここでは，いくつかの制御段階を想定できる．第一に，遺伝子の転写やタンパク質の合成量が変化することで，細胞内のカタラーゼ量が変化する可能性がある．第二に，カタラーゼのタンパク質量が同程度であっても，ヘムの組み込みやタンパク質の安定性など，タンパク質合成後の過程によって酵素活性が変化する可能性がある．

これらを区別するため，本研究では酵母の遺伝子欠失変異株を用いて，カタラーゼのタンパク質量をイムノブロットで評価し，酵素活性を比色定量法によって測定する [6]．さらに，HAP1 の活性を蛍光レポーターアッセイによって評価し，それぞれの結果を比較する．これにより，カタラーゼのタンパク質量や活性の変化が，HAP1 による転写制御とどの程度対応するのかを検討できる [3].

仮説として，HAP1 の活性が低下した場合には転写制御を介してカタラーゼの発現量が変化

する一方，HAP1 の活性に大きな変化がなくてもカタラーゼ活性が低下する場合には，タンパク質合成後の過程が関与している可能性が考えられる．ただし，この場合もヘムの組み込みやタンパク質の安定性など，どの過程が原因であるかを特定するには，追加の実験が必要となる．

以上のように，カタラーゼのタンパク質量，酵素活性，HAP1 活性を独立して評価し，それらの関係を比較することで，カタラーゼの機能がどの段階で制御されているのかを推定することができる．

## C) 研究のインパクト

本研究の学術的なインパクトは，ヘム依存性タンパク質の機能が成立する分子機構に対する理解を深め，細胞内におけるタンパク質の機能制御をより包括的に捉えるための知見を提供することにある．

特に，カタラーゼの活性化機構を明らかにすることはタンパク質の合成量だけでは酵素の機能を十分に説明できない場合があることを理解する上で重要である．本研究では，酵母の欠失変異株を用いてカタラーゼのタンパク質量と酵素活性を調べるとともに，HAP1 の活性を評価することで，カタラーゼの制御に関わる遺伝子や制御段階を探索した．その結果，HAP1 の活性が正常であってもカタラーゼ活性が低下する変異株が見つかり，HAP1 による制御だけでは説明できない仕組みが存在する可能性が示された．

この知見はカタラーゼの機能が転写やタンパク質合成の段階だけでなく，タンパク質が合成された後の家庭によっても制御される可能性を示唆している．例えば，ヘムの組み込みやタンパク質の安定性などが，カタラーゼの最終的な活性に影響する可能性が考えられる．今後，これらの変異株で生じている変化を詳しく調べることで，ヘム依存性タンパク質が機能を獲得する過程や，その過程を制御する遺伝子の役割を明らかにできると期待される．

## D) 戦略目標

1. カタラーゼのタンパク質量と酵素活性を制御する遺伝子を特定する．
   酵母の遺伝子欠失変異株をスクリーニングし，カタラーゼのタンパク質量や酵素活性に変化をもたらす遺伝子を探索する．
2. HAP1 による転写制御と，それ以外の制御機構を区別する．
   HAP1 の活性とカタラーゼのタンパク質量・酵素活性を比較し，HAP1 の転写制御だけでは説明できないカタラーゼの制御機構を明らかにする．
3. カタラーゼの活性化に関わる翻訳後制御の可能性を検討する．
   カタラーゼのタンパク質量と酵素活性が一致しない変異株に着目し，ヘムの組み込みやタンパク質の安定性など，タンパク質合成後の過程が活性制御に関与する可能性を調べる．

## E) 研究手法の概要

1. 酵母遺伝子欠失変異株のスクリーニング

酵母の遺伝子欠失変異株コレクションを用い，特定の遺伝子を欠失させた際にカタラーゼの活性がどのように変化するかを調べた．これにより，カタラーゼの機能制御に関与する可能性のある遺伝子を探索した．また，カタラーゼ活性を比色定量するアッセイを用い，多数の変異株を効率的に比較できるようにした．

2. カタラーゼのタンパク質量と酵素活性，HAP1 活性の測定と評価

カタラーゼのタンパク質量は，イムノブロット法によって評価した（Fig. 1）．

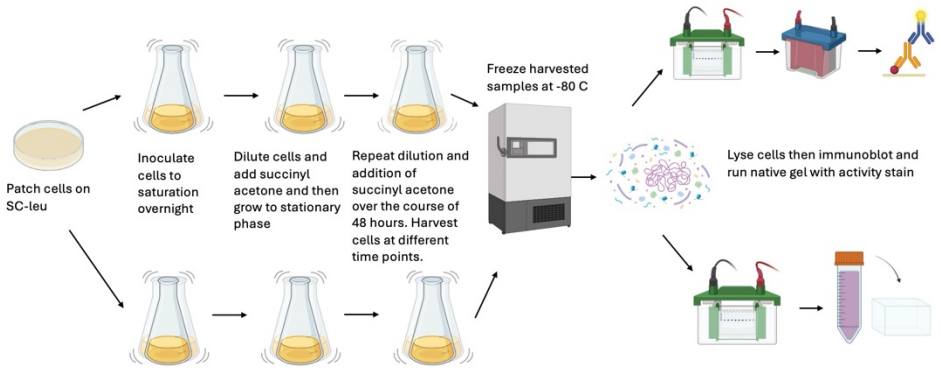


Fig. 1 酵母菌の培養・サンプリングおよびカタラーゼタンパク質量と酵素活性の解析フロー

酵母細胞を SC-leu 培地(例)に塗布し，一晩培養して飽和状態まで増殖させる．その後，細胞を希釈し，コハク酸およびアセトンを添加して定常期まで培養する．この希釈と添加の操作を 48 時間にわたって繰り返し，異なる培養時間における細胞を回収．回収した細胞は－80℃で凍結保存する．その後，細胞を破砕してタンパク質を抽出し，イムノブロット法によるカタラーゼタンパク質量の評価，およびネイティブゲル電気泳動と活性染色によるカタラーゼ酵素活性を評価する．

一方，酵素活性については，カタラーゼの過酸化酵素活性を利用し，過酸化水素の存在下で p-フェニレンジアミン(p-phenylenediamine)を酸化する反応を利用したアッセイによって測定した（Fig. 2）．この方法により，カタラーゼのタンパク質量と実際の酵素活性を区別して評価した．

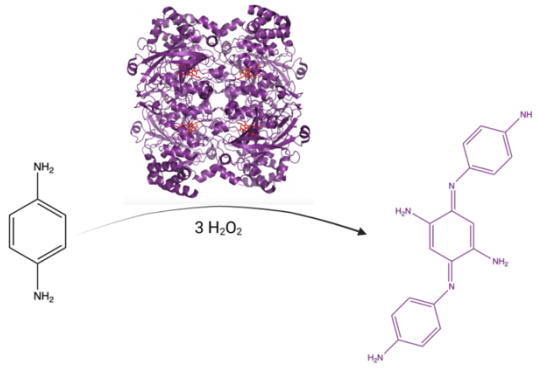


Fig. 2 カタラーゼのペルオキシダーゼ様活性を利用した p-フェニルジアミンの酸化反応

カタラーゼによる p-フェニレンジアミン（p-phenylenediamine：PPD)の酸化反応を示す．カタラーゼは通常，過酸化水素（$H_2O_2$)を水と酸素に分解する酵素として機能するが，基質の存在下ではペルオキシダーゼ様活性を示し，$H_2O_2$を酸化剤として利用することができる．本反応では，$H_2O_2$の存在下で PPD が酸化され，Bandrowski's base などの着色生成物が形成される．この反応を利用することで，カタラーゼのペルオキシダーゼ様活性を評価できる．

カタラーゼの発現制御に関わる転写調整因子 HAP1 に着目し，蛍光レポーターアッセイを用いてその活性を評価した（Fig. 3）．カタラーゼの制御が HAP1 による転写制御とどの程度対応するのかを検討した．

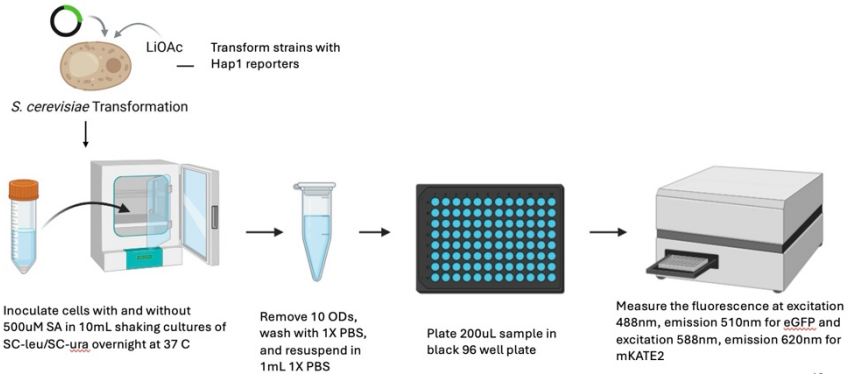


Fig. 3 HAP1 レポーター酵母を用いた蛍光測定による Hap1 活性の評価フロー

出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）に Hap1 レポーターコンストラクトを導入し，HAP1 の転写活性を蛍光によって評価する実験フローを示す．形質転換によってレポーター株を作製した後，500 μM の SA（スクシニルアセトン）を添加した条件および無添加条件で，SC-leu または SC-ura 培地を用いて 30℃で一晩培養した．培養後，OD に基づいて細胞を回収し，PBS で 1 回洗浄した後，1×PBS に再懸濁した．得られた細胞懸濁液 200 μL を黒色 96 ウェルプレートに分注し，蛍光プレートリーダーを用いて蛍光強度を測定した．

## 3. 各測定結果の比較と制御機構の推定

遺伝子欠失変異株ごとに，カタラーゼのタンパク質量，酵素活性，HAP1 活性を比較した（Fig. 4）．特に，HAP1 活性が正常であるにも関わらずカタラーゼ活性が低下する変異株に着目した．このような結果は，HAP1 による転写制御だけでは説明できない制御機構が存在する可能性を示すため，ヘムの組み込みやタンパク質の安定性など，タンパク質合成後の過程が関与している可能性を検討する手掛かりとなる．

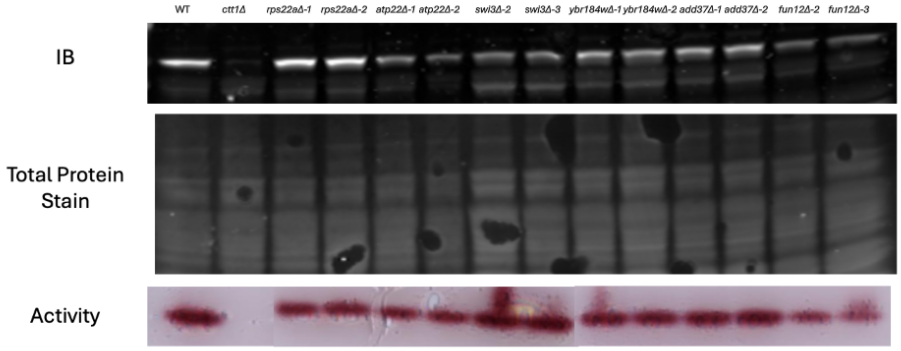


Fig. 4 酵母遺伝子欠失変異株におけるカタラーゼタンパク質量および酵素活性の比較

野生株（WT）および各遺伝子欠失変異株を用いて，カタラーゼのタンパク質量と酵素活性を比較した．各株から抽出したタンパク質を用いて，イムノブロット法（IB）によりカタラーゼタンパク質量を評価した．また，Total Protein Stain によって各サンプルの総タンパク質量を確認し，サンプル間のタンパク質量の違いを評価した．さらに，ネイティブゲル電気泳動後の活性染色（Activity）により，カタラーゼの酵素活性を評価した．

各パネルは上から，IB によるカタラーゼタンパク質の検出，Total Protein Stain による総タンパク質の染色，およびカタラーゼ酵素活性の染色結果がどのように見えるのかを示す．

## F）結果

### 1. カタラーゼのタンパク質量と酵素活性を制御する遺伝子の探索

まず，カタラーゼの発現量や酵素活性に関わる遺伝子を網羅的に探索するため，酵母(Saccharomyces cerevisiae)の遺伝子欠失変異株コレクションを用いた Genome-Wide Screening を実施した（Fig. 5）．このコレクションには，酵母のそれぞれの遺伝子を個別に欠失させた株が含まれており，特定の遺伝子がなくなったときにカタラーゼの発現量や活性がどのように変化するかを比較することで，カタラーゼの制御に関わる遺伝子を探索できる．

ラボでこれまでに行われてきた各遺伝子欠失株を用いた実験結果から，カタラーゼの発現量(Catalase Expression）と酵素活性（Catalase Activity)が示されている．野生株（WT）を基準として比較すると，例えば，hit1Δ，pac10Δ，pib2Δ ではカタラーゼの発現量が大きく低下していた．また，酵素活性についても，特に hit1Δ や pib2Δ では低い値が認められた．これらの遺伝子は CTT1 発現に直接関与しないにも関わらず，発現量を下げている可能性があるため，本研究で使用する変異株をこのデータを参考にして設定した．以降の実験では ctt1, pib2, ira2, hit1, pac10, atp12 の酵母遺伝子欠失変異株を使用して実験を行った．

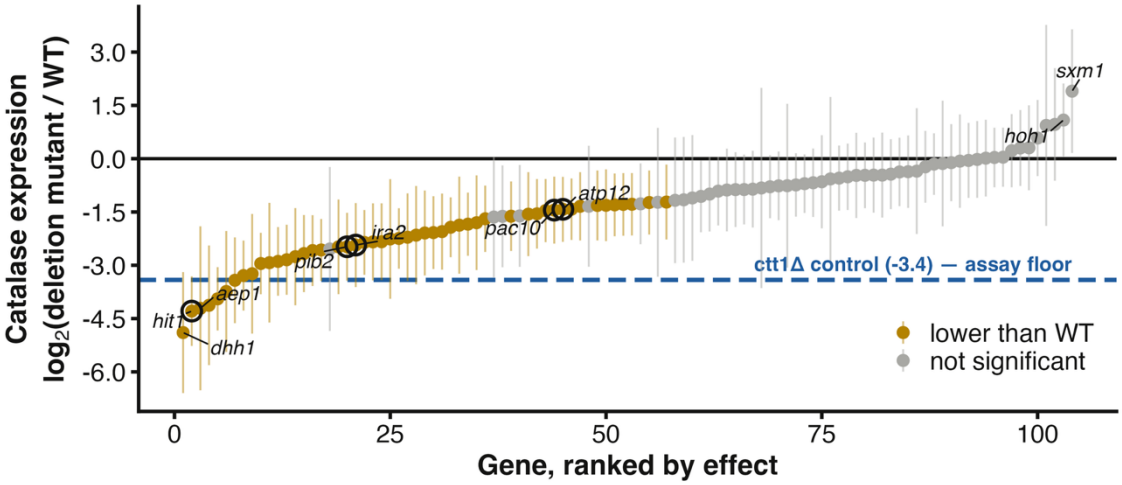


Fig. 5 酵母遺伝子欠失変異株におけるカタラーゼ発現量の網羅的スクリーニング

酵母の遺伝子欠失変異株を用いて，各遺伝子の欠失がカタラーゼの発現量に及ぼす影響を網羅的に評価した結果を示す．横軸はカタラーゼ発現量への影響の大きさに基づいて順位付けした遺伝子，縦軸は野生株（WT)に対する各遺伝子欠失株のカタラーゼ発現量の対数比（$\log_2$[deletion mutant / WT])を示す．

各点は個々の遺伝子欠失株におけるカタラーゼ発現量の変化を表し，縦線は測定値のばらつきを示す．黄色の点は野生株と比較してカタラーゼ発現量が有意に低下した変異株，灰色の点は有意な変化が認められなかった変異株を示す．また，青色の破線は ctt1Δ 株を用いた対照実験から設定された測定系の検出下限を示す．

2. HAP1 による転写制御と，それ以外の制御機構の区別

次に，カタラーゼの発現量や活性の変化が，転写調節因子 HAP1 の活性によって説明できるかを調べた．そのため，Genome-Wide Screening で見つかった低カタラーゼ変異株のうち，pib2Δ，hit1Δ，pac10Δ，atp12Δ などを対象に，蛍光レポーターアッセイによって HAP1 の活性を測定した．さらに，ira2Δ も比較対象に加えた．これらの株を用いた理由は，カタラーゼの発現量や活性が低い変異株において，HAP1 の活性も同時に低下しているのかを比較するためである（Fig. 6）.

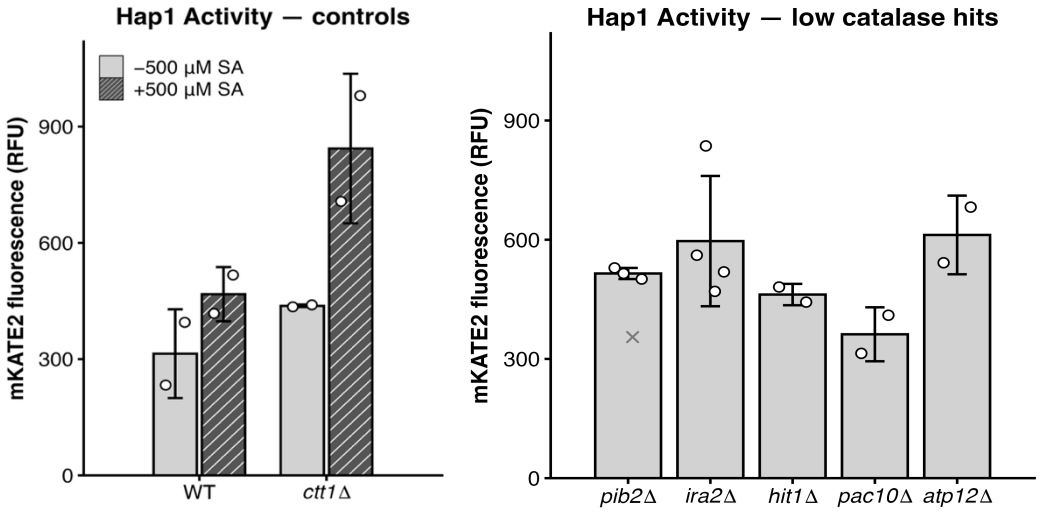


Fig. 6 カタラーゼ量が低下する遺伝子欠失株における Hap1 転写活性の評価

Hap1 レポーター酵母を用いて，カタラーゼ量の低下が認められた遺伝子欠失株における Hap1 転写活性を評価した．Hap1 の転写活性は，レポーター遺伝子である mKate2 の蛍光強度（RFU)を測定することで評価した．左図は野生株（WT)およびカタラーゼ欠失株（ctt1Δ)を用いた対照実験の結果を示す．スクシニルアセトン(SA，500 μM)の非添加条件（−500 μM SA)と添加条件（+500 μM SA)を比較した．右図は，カタラーゼタンパク質量の低下が認められた遺伝子欠失株（pib2Δ，ira2Δ，hit1Δ，pac10Δ，atp12Δ)における Hap1 レポーター活性を示す．縦軸は mKate2 の蛍光強度（RFU)を表し，各点は個々の測定値，エラーバーは測定値のばらつきを示す.

そこで，HAP1 の活性を蛍光強度（RFU）として評価した．左側のグラフでは，野生株（WT）と ctt1Δ について，SA を添加しない条件（−500 μM SA）と添加した条件（+500 μM SA）を比較している．右側のグラフでは，低カタラーゼ変異株である pib2Δ，ira2Δ，hit1Δ，pac10Δ，atp12Δ の HAP1 活性を比較している．その結果，これらの変異株ではカタラーゼの発現量が低下しているにもかかわらず，HAP1 レポーター活性は完全には失われておらず，正常に近い値を示す株も確認された.

さらに，Fig. 8 で統合した図では，横軸に野生株に対するカタラーゼ発現量の変化（$\log_2$ 比)，縦軸に HAP1 レポーター活性を示している．hit1Δ，pib2Δ，ira2Δ，atp12Δ，pac10Δ では，野生株と比べてカタラーゼ発現量が低下している一方，HAP1 レポーター活性は野生株と同程度まで低下していないことが分かる．この結果から，カタラーゼの発現量や活性の変化は，HAP1 による転写制御だけでは十分に説明できないことが示唆された.

3. カタラーゼの活性化に関わる翻訳後制御の可能性の検討

上記の結果から，カタラーゼの機能は HAP1 による転写制御だけでなく，タンパク質が合成された後の過程によっても影響を受ける可能性が考えられた．特に，HAP1 の活性が大きく低下していないにもかかわらず，カタラーゼの発現量や活性が低下する変異株が存在したことは，転写段階以外の制御機構を検討する根拠となった．

そこで，ctt1Δ 株に CTT1 遺伝子を導入した株（ctt1Δ[p415TEF-CTT1]）を用い，6，14，22，48 時間におけるカタラーゼ活性と発現量を比較した（Fig. 7）．また，−500 μM SA と +500 μM SA の条件を比較することで，処理条件によってカタラーゼ活性と発現量がどのように変化するかを調べている．両方のグラフで，時間経過に伴う低下が見られ，SA 添加条件では活性と発現量がさらに低い値を示している．この結果は，ヘムの利用可能性が低下した条件において，カタラーゼのタンパク質量と酵素活性の両方が低下することを示している．このことから，ヘムの不足はカタラーゼの酵素活性に影響するだけでなく，タンパク質量の維持にも関与している可能性が考えられる．例えば，ヘムが組み込まれていないアポ型カタラーゼの安定性が低下し，分解が促進される可能性がある．ただし，この機構を明らかにするには，タンパク質の安定性や分解速度を直接評価する必要がある．

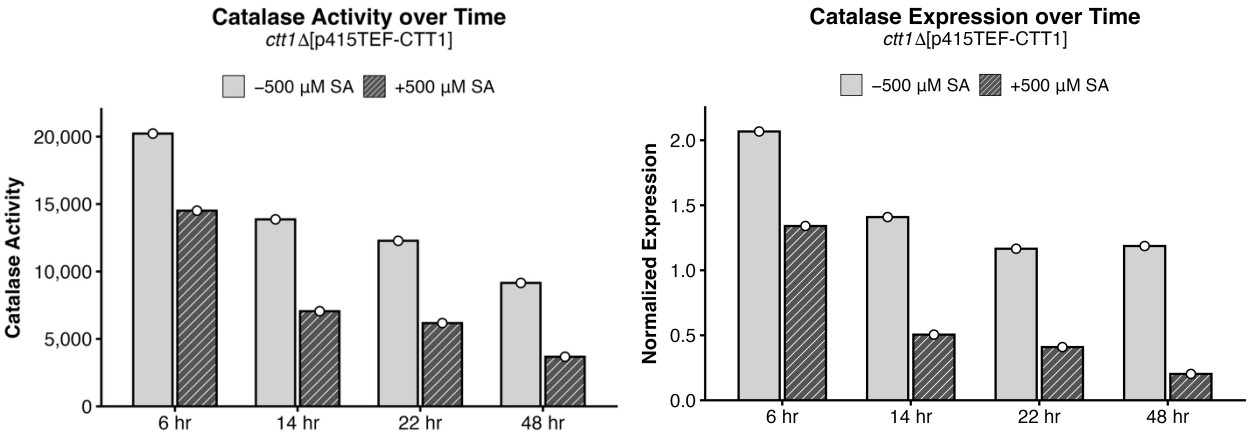


Fig. 7 SA 処理がカタラーゼの酵素活性および発現量の経時的変化に及ぼす影響

ctt1Δ 株にカタラーゼ遺伝子（CTT1）を導入した相補株（ctt1Δ[p415TEF-CTT1]）を用いて、SA 処理がカタラーゼの酵素活性および発現量に及ぼす影響を経時的に評価した．SA 500 μM の非添加条件（−500 μM SA）および添加条件（+500 μM SA）で培養し，6，14，22，48 時間後に測定を行った．

左図はカタラーゼの酵素活性（Catalase Activity），右図はカタラーゼの発現量（Catalase Expression）を示す．右図の発現量は，正規化された相対値（Normalized Expression）として示した．

その結果，SA 非添加条件と比較して，SA 添加条件ではカタラーゼの酵素活性および発現量の両方が低下した．また，培養時間の経過に伴い，両条件でカタラーゼ活性および発現量は低下する傾向を示したが，SA 添加条件ではその低下がより顕著であった．

## G) 考察

本研究では，酵母の遺伝子欠失変異株を用いた網羅的スクリーニングによって，カタラーゼのタンパク質量や酵素活性に影響を与える遺伝子の探索を行った．その結果，hit1Δ，pib2Δ，pac10Δ など，カタラーゼの発現量が低下する変異株が確認された．また，一部の変異株ではカタラーゼのタンパク質量だけでなく，酵素活性にも低下が見られた．このことから，カタラーゼの機能は単一の遺伝子によって制御されるのではなく，複数の遺伝子が関与する複雑な制御機構によって維持されている可能性が考えられる．

特に重要なのは，カタラーゼの発現量と HAP1 の活性が必ずしも相関しなかったことである．HAP1 は転写調節に関わる因子であるため，カタラーゼの発現量が低下した変異株では，HAP1 の活性も低下している可能性が考えられる．しかし，HAP1 のレポーター活性が比較的保たれているにもかかわらず，カタラーゼの発現量や酵素活性が低下する変異株が確認された．この結果は，カタラーゼの発現や機能の制御が HAP1 による転写制御だけでは説明できないことを示唆している．

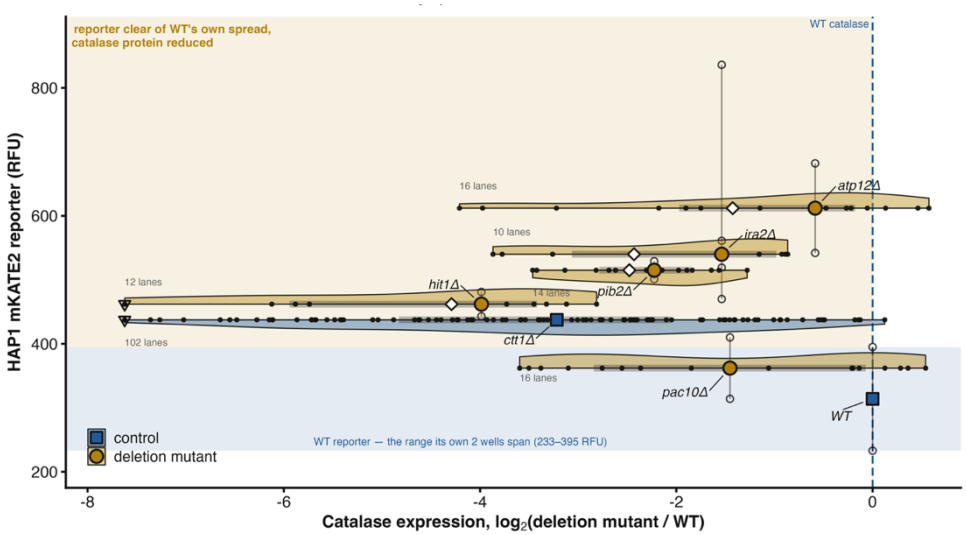


**Fig. 8 カタラーゼ発現量と Hap1 レポーター活性の関係**

野生株（WT)およびカタラーゼ量が低下した遺伝子欠失変異株において，カタラーゼタンパク質発現量と Hap1 転写活性の関係を解析した．横軸は野生株（WT)に対する各遺伝子欠失株のカタラーゼ発現量の対数比（$\log_2$[deletion mutant / WT])、縦軸は Hap1 レポーターである mKate2 の蛍光強度（RFU)を示す．
青色の破線は WT におけるカタラーゼ発現量を示し，青色の四角は対照株，黄色の円は遺伝子欠失変異株を表す．各変異株について，カタラーゼ発現量の低下に伴う Hap1 レポーター活性の変化を比較した．青色の領域は WT レポーター活性の測定範囲を示す．

このような結果から，カタラーゼの機能には，転写やタンパク質合成後の過程も関与している可能性が考えられる．例えば，カタラーゼにヘムが適切に組み込まれる過程や，合成されたカタラーゼタンパク質の安定性が変化することで，最終的な酵素活性が影響を受ける可能性がある．特に，ヘムはカタラーゼが機能するために必要な補欠分子族であるため，細胞内でのヘムの利用可能性やカタラーゼへの組み込みが，酵素活性を左右する要因の一つになり得る [3,4].

また，本研究で開発した比色定量法によって，多数の酵母変異株におけるカタラーゼ活性を効率的に比較できるようになったことも重要である．タンパク質量だけでなく酵素活性を独立して評価することで，タンパク質の存在量と実際の機能を区別して解析できるようになった．これは，ヘム依存性タンパク質の機能制御を理解する上で有用なアプローチであると考えられる．

以上より，本研究の結果は，カタラーゼの機能が HAP1 による転写制御だけでなく，ヘムの組み込みやタンパク質の安定性など，タンパク質合成後の過程によっても制御される可能性を示している．

## H) 議論

本研究は，ヘム依存性タンパク質の機能がどのように成立し，制御されるのかという大きな問題に対して，カタラーゼをモデルとしてアプローチしたものである．特に，酵母の遺伝子欠失変異株を網羅的に調べることで，従来想定されていた転写制御だけでは説明できないカタラーゼの制御機構が存在する可能性を示した点に意義がある．

一方で，本研究の結果だけでは，カタラーゼの活性低下がヘムの組み込みの異常によるものなのか，タンパク質の安定性や分解速度の変化によるものなのかを区別することはできない．また，HAP1 のレポーター活性は転写調節の一側面を示す指標であり，HAP1 によるすべての転写制御を完全に評価するものではない．したがって，HAP1 活性が保たれていることだけをもって，転写段階の影響が完全に否定されたとは言えない．さらに，遺伝子欠失による表現型が確認されても，その遺伝子がカタラーゼを直接制御しているのか，他の細胞内経路を介して間接的に影響しているのかは，追加の検証が必要である [3,4].

今後は，今回見つかった変異株について，カタラーゼのタンパク質量と酵素活性をさらに詳細に比較するとともに，ヘムの細胞内量や利用可能性，カタラーゼへの組み込み状態を直接評価することが重要である．また，カタラーゼタンパク質の安定性や分解速度を調べることで，活性低下の原因がヘムの組み込みにあるのか，タンパク質自体の維持にあるのかを区別できると考えられる．加えて，候補遺伝子を再導入して表現型が回復するかを調べることで，それぞれの遺伝子とカタラーゼの制御との因果関係を検証できる．

さらに，本研究で確立したカタラーゼ活性の比色定量法と遺伝子欠失株を用いたスクリーニングを，カタラーゼ以外のヘム依存性タンパク質にも応用することで，ヘムを必要とするタンパク質に共通する機能制御機構の解明につながる可能性がある．ヘムは酸素運搬，エネルギー代謝，酸化還元反応など，多様な生命現象に関わるため，その利用とタンパク質機能の関係を理解することは，細胞内の恒常性維持機構を理解する上でも重要である．

以上のことから，本研究はカタラーゼの活性化機構の解明に向けた基盤を提供するとともに，ヘム依存性タンパク質の機能が転写後・翻訳後の複数の段階で制御される可能性を考えるための手掛かりとなる．

## I) 参考文献


1. Gebicka L, Krych-Madej J. The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. J Inorg Biochem. 2019;197:110699. doi:10.1016/j.jinorgbio.2019.110699.
2. Goyal MM, Basak A. Human catalase: looking for complete identity. Protein Cell. 2010;1(10):888-897. doi:10.1007/s13238-010-0113-z.
3. Hanna DA, Hu R, Kim H, Martinez-Guzman O, Torres MP, Reddi AR. Heme bioavailability and signaling in response to stress in yeast cells. J Biol Chem. 2018;293(32):12378-12393. doi:10.1074/jbc.RA118.002125.
4. Fleischhacker AS, Sarkar A, Liu L, Ragsdale SW. Regulation of protein function and degradation by heme, heme responsive motifs, and CO. Crit Rev Biochem Mol Biol. 2022;57(1):16-47. doi:10.1080/10409238.2021.1961674.
5. Winkler H, Adam G, Mattes E, Schanz M, Hartig A, Ruis H. Co-ordinate control of synthesis of mitochondrial and non-mitochondrial hemoproteins: a binding site for the HAP1 (CYP1) protein in the UAS region of the yeast catalase T gene (CTT1). EMBO J. 1988;7(6):1799-1804. doi:10.1002/j.1460-2075.1988.tb03011.x.
6. Giaever G, Chu AM, Ni L, Connelly C, Riles L, Véronneau S, *et al.* Functional profiling of the Saccharomyces cerevisiae genome. Nature. 2002;418:387-391. doi:10.1038/nature00935.

## J） 謝辞

本研究の実施にあたり，多大なるご指導とご支援を賜りました Georgia Institute of Technology の Amit R. Reddi 教授に，心より御礼申し上げます．また，研究活動全般にわたり，実験手法や研究の進め方について丁寧にご指導いただいた Allison K. Alterman さんをはじめ，Reddi 研究室の皆様に深く感謝申し上げます．日々の研究活動を通じて，多くの知識や技術を学ぶとともに，研究に対する新たな視点を得ることができました．

さらに，本研究の機会を提供してくださった中谷財団の皆様に厚く御礼申し上げます．海外での研究活動を支援していただいたことで，異なる研究環境の中で実際に研究に取り組み，国際的な研究交流を経験する貴重な機会を得ることができました．

最後に，本研究を支えてくださったすべての関係者の皆様に心より感謝申し上げます（Fig. 9）．



**Fig. 9 研究でお世話になった皆様**

左上：ラボでルイジアナ料理を食べに行った際の写真，右上：ラボの集合写真を急遽撮った際の写真．学会と重なっており，全然人がいなかった，左下：ラボがあった IBB(建物)前でメンターの Allie と撮った写真，右下：現地でお世話になった中谷財団の小川さんとアラムナイの桑原涼歌さんと南出光悦さん．そして RIES の同期．

# II. 研究活動における日米の違い

今回の Georgia Institute of Technology での研究活動や，University of California, Berkeley および Stanford University の訪問を通じて，日米の研究環境の違いについて考える機会を得た．実際に米国の研究室で研究に取り組んでみると，研究室の運営体制や日常的な雰囲気については，自身がこれまで所属してきた日本の研究室と比べて，それほど大きな違いは感じなかった．研究室の雰囲気や研究の進め方は，国によって一律に決まるものではなく，研究室や PI の方針，所属するメンバーによる部分が大きいと感じた．

私が所属した Georgia Tech の Reddi Lab は，比較的リラックスした雰囲気の研究室であった．毎週のラボミーティングでは各メンバーが研究の進捗を報告していたが，メンバー同士の関係も非常に良好であった．特に印象に残っているのは，研究室のメンバーである Abby が毎週ケーキやクッキーを焼いて持ってきてくれたことである．研究に関する議論だけでなく，日常的な交流も大切にされており，非常に温かい環境で研究に取り組むことができた．また，自分がこれまで経験したことのない実験についても，研究室のメンバーが丁寧に教えてくれた．この経験から，研究を進める上で，研究設備だけでなく，互いに助け合い，知識や技術を共有できる環境も重要であると感じた（Fig. 10）．



**Fig. 10 Reddi Lab の様子**

左：Abby のクッキーとカップケーキ，中央：PhD のメンバーの卒業祝いブランチ，右：実験中の Allie

一方で，今回の滞在中に特に大きな違いを感じたのは，研究を取り巻く資金環境や，研究成果を新たな技術・産業へと発展させるためのエコシステムである．Berkeley では Bakar Labs を訪問し，ディレクターを務める David V. Schaffer 教授から話を聞く機会があった．その際に，米国では大手ベンチャーキャピタル（VC)による大規模な投資が行われており，新しい技術や未開拓の研究領域に対して積極的に資金が投入されていることを知った．自身が所属する慶應の研究所の周辺でもバイオ領域のスタートアップや企業との連携は盛んであるが，米国ではその市場規模や投資規模がさらに大きく，研究段階の技術を社会実装へとつなげるための資金や挑戦の機会が豊富に存在していることを実感した（Fig. 11）．

また，Stanford University を訪問した際には，研究設備についても印象的な違いを感じた．個々の実験機器や装置の性能自体は，日本の大学や研究機関に設置されているものと大きく変わらないように感じたが，利用可能な設備の数は日本と比較して数倍多いような印象を受けた．研究の質を高める上

で，必ずしも最先端の装置を保有していることだけが重要なのではなく，必要な設備を十分な数確保し，多くの研究者が利用できる環境を整えることも重要であると感じた．




**Fig. 11 ベイエリアの視察**

左上：バークレーにて．同期の中台，水上と，右上：Stanford University，左下：Bakar Lab にて，
右下：California にて Berkeley の学生と文化交流

今回の経験を通じて，日米の研究環境の違いは，研究室内の文化や研究者個人の姿勢だけでなく，研究を支える資金，人材，設備，そして産業とのつながりといった，より大きな仕組みにも存在することを学んだ．特に米国の大規模な投資環境や，研究成果を新たな産業へと発展させるための仕組みは，今後の日本の研究環境を考える上でも重要な参考になると感じた．一方で，今回所属した研究室のような，メンバー同士が互いに支え合い，安心して研究に取り組める環境の重要性も改めて認識した．今後は，こうした研究環境の違いを意識しながら，自身の研究を発展させるだけでなく，将来的には研究成果を社会に還元する方法についても考えていきたい．

# III.米国の文化・生活面での発見・苦労等

今回の米国滞在では，研究活動だけでなく，日常生活や現地の学生との交流を通じても，多くの発見があった．特に，食生活に関して，日本とは異なる生活習慣に適応することに，当初少し苦労した．

食生活については，渡米直後は飲食店での注文方法や食事の選択に戸惑うことがあった．例えば，Chick-fil-A や Panda Express などでは，メニューやトッピングなどを自分で選択して注文する形式に慣れておらず，最初はどのように注文すればよいか迷うこともあった．また，スーパーマーケットについても，日本とは商品の種類や陳列，販売単位などが異なっており，必要な食材を探すことにも時間がかかった．しかし，生活を続けるうちに，よく利用する店舗や商品の選び方が分かるようになり，最終的には日常の食事や買い物で大きく困ることはなくなった．

また，現地の学生との交流を通じて，米国の大学生活やコミュニケーションの文化についても知ることができた．RIES の参加者だけでなく，Georgia Tech に在籍する学生とも友人になることができ，実際に何度かその学生たちの自宅に招待してもらう機会もあった．そこで，授業の取り方や大学生活について話を聞くことができ，研究室やプログラムの中だけでは知ることのできない，現地学生の日常を知ることができた．また，大学内のイベントにも参加し，メンターやメンティーをはじめ，さまざまな学生と交流する機会を得た（Fig. 12）．



**Fig. 12 現地での交流の様子**

左上：わからなかったら White Rice，Teriyaki，Broccoli & Beef がおすすめ．後学のため，中央上：US Fellow の Jeanne とジョージア州サバンナに行った際の写真，右上：Week of Welcome イベントに参加した際の写真，左下：GT 近辺にある REAL tacos．ここのタコスを超えるタコスはあまりないというくらい美味しい，中央下：ボストンを訪問した際に Harvard University を案内してくれた Alex と Juliana，右下：Japan Fest in Atlanta でボランティアとして日本酒と扇子などの商品とイベントの広報をする私

# IV.本プログラムでの成果・意義

今回の Nakatani RIES プログラムを通じて得られた最も大きな成果は，海外で研究活動を行うことを具体的に経験し，自身の将来の研究者としてのキャリアを考える上で，新たな視点を得られたことである．

これまで海外大学院への進学や国際的な研究活動に関心を持っていたものの，実際に海外の研究室で生活し，研究に取り組む経験はなかった．今回，約 2 ヶ月にわたり Georgia Tech で研究活動を行ったことで，海外で研究することが単なる将来の選択肢ではなく，自分が実際に目指したい進路の一つとして具体的に感じられるようになった．特に，研究室のメンバーと日常的に議論しながら研究を進めた経験は，将来，米国の大学院で研究することへの意欲を一層高めるものとなった．

また，自分とは異なる専門分野や文化的背景を持つ人々と交流したことで，研究に対する考え方や価値観は一つではないことを実感した．異なる環境に身を置くことは，自分がこれまで当然と考えていたことを見直し，自身の研究や将来の方向性を客観的に捉え直す機会になると感じた．さらに，海外での研究生活を経験したことで，専門知識や実験技術だけでなく，英語で自分の考えを伝える力や，異なる価値観を持つ人々と協働する力の重要性も改めて認識した．

さらに，今回の滞在では，Nakatani RIES の参加者以外にも多くの人と交流することができた．大学内でのイベントや現地学生との交流に加え，他の Nakatani US Fellows との旅行などを通じて，さまざまな価値観や考え方に触れることができた．特に，同じ米国に滞在していても，それぞれ異なる研究室や大学で活動している学生と経験を共有することで，自分が所属する研究室や大学の環境を相対的に捉える機会にもなった．

本プログラムは，研究技術を習得するだけでなく，自分が将来どのような研究者になりたいのかを考える大きな契機となった．今回得られた経験や人とのつながりを今後の研究活動に生かし，将来的には国際的な研究コミュニティの中で，自ら研究課題を見つけ，異なる分野や背景を持つ研究者と協働しながら新しい知見を生み出せる研究者を目指していきたい．

今後は，自分自身が本プログラムを通じて得た経験やつながりを大切にしながら，アラムナイとして次世代の JP/US Fellows の交流や活動を支援し，このプログラムが生み出す研究・国際交流の輪をさらに広げていきたい．

# V. その他

最後に，Nakatani RIES の「RIES」は、Research and International Education and Exchange を意味している．本プログラムに参加する前は，海外の研究室で研究に取り組み，新たな知識や技術を身につけることが主な目的であった．しかし，実際に参加してみて，RIES の意義は研究活動そのものだけにあるのではなく，異なる文化や価値観を持つ人々との交流を通じて得られる経験や気づきを，どれだけ自分自身の成長につなげられるかという点にもあると感じた．研究室での活動はもちろん，現地の学生や他のフェローとの交流，日々の生活の中でのさまざまな経験の一つ一つが，自分の視野を広げ，これまでとは異なる視点から将来を考えるきっかけとなった（Fig. 13）．

今後は，本プログラムで得た経験を自分自身の中だけにとどめるのではなく，アラムナイとして，これから参加する日本・米国のフェローを支援する形でも還元していきたい．自分が先輩フェローや関係者から多くの支援を受けたように，今後参加する人々に対しても，自身の経験を共有し，それぞれが充実したプログラムを過ごせるよう貢献していきたいと考えている．また，今回の経験を将来の研究者としての成長につなげ，国際的な研究環境で活躍できる研究者を目指して努力を続けていきたい．

本プログラムへの参加は，自分自身の視野を大きく広げただけでなく，今後の進路や人生の方向性を考える上でも大きな転機となった．ここで出会った人々や得られた経験は．今後どのような道に進むとしても，自分の人生に長く影響を与え続ける大切な財産になると確信している．このようなかけがえのない機会を提供し，海外での研究活動と交流を支えてくださった中谷財団の皆様に，心より感謝申し上げる．本当にありがとうございました．



**Fig. 13 アトランタでの生活**

左上：帰国前の US Fellow たちとのご飯会，中央上：GT のアメフトを Joongho と応援しに行った際の写真，右上：Atlanta United の試合観戦，左下：GT での成果報告会前に毎日，同期の中台，水上，箕田と意見交換をしていた際に撮った一枚，中央下：たまたま Chick-fil-A で Joongho とあった際の写真，右下：GT 近くの Cook-Out に行った際の写真