

第12回 都医学研シンポジウム

日時 2023年3月8日(水) 13:00 ~ 17:00

場所 ウェブ・ハイブリッド (東京都医学総合研究所 講堂)

事前申込制 <https://www.igakuken.or.jp/public/sympo/sympo12.html>



QRコードはコチラ

参加費
無料

※都医学研シンポジウムは研究者や医療従事者などを対象としており、講演は専門的な内容になります。

時間タンパク質学と パラメトリク翻訳の融合

演者

吉種 光	東京都医学総合研究所 PL
土居 雅夫	京都大学 教授
八木田 和弘	京都府立医科大学 教授 オンライン発表
原田 慶恵	大阪大学蛋白質研 教授
向山 厚	分子科学研究所 助教
松尾 拓哉	名古屋大学 講師
岩崎 信太郎	理化学研究所 主任研究員
三宅 崇仁	京都大学薬学研究科 助教
戸田 浩史	筑波大学 助教

Hikari Yoshitane

学術変革領域研究班
「時間タンパク質学」領域代表

吉種 光

Member



Takuya Matsuo Tomoaki Muranaka Atsushi Mukaiyama Kazuhiro Yagita Hirofumi Toda Koji L Ode

Masao Doi

学術変革領域研究班
「パラメトリク翻訳」領域代表

土居 雅夫

Member



Shintaro Iwasaki Yoshie Harada Kohki Okabe Yoshiho Ikeuchi

TMiMS



Contact

(公財) 東京都医学総合研究所 第12回 都医学研シンポジウム事務局
E-mail : symp@igakuken.or.jp Tel : 03-5316-3109 (直通)

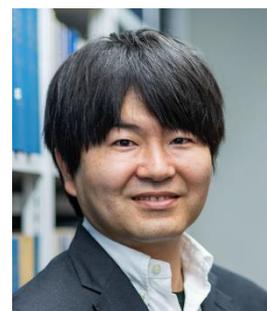
次 第

- 13:00 開会挨拶
正井 久雄（東京都医学総合研究所 所長）
- 13:05 はじめに
吉種 光（東京都医学総合研究所 プロジェクトリーダー）
- 13:15 学術変革領域 B「時間タンパク質学」
時計タンパク質の相互作用リズムと翻訳後修飾コード
吉種 光（東京都医学総合研究所 プロジェクトリーダー）
- 13:25 学術変革領域 B「パラメトリック翻訳」
翻訳速度調節機構を基盤としたパラメトリック生物学の創成へ
土居 雅夫（京都大学 教授）
- 13:45 学術変革領域 B「時間タンパク質学」
概日時計の発生と時計タンパク質動態
八木田 和弘（京都府立医科大学 教授） ※オンライン発表
- 14:05 休憩(20 分間)
- 14:25 学術変革領域 B「パラメトリック翻訳」
神経分化における細胞内温度計測
原田 慶恵（大阪大学蛋白質研究所 教授）
- 14:45 学術変革領域 B「時間タンパク質学」
周波数特性を備えたシアノバクテリア時計タンパク質の
分子機構解明
向山 厚（分子科学研究所 助教）
- 15:05 学術変革領域 B「時間タンパク質学」
巨大単細胞緑藻で探る1日を規定するタンパク質特性
松尾 拓哉（名古屋大学 講師）

- 15:25 休憩(20 分間)
- 15:45 学術変革領域 B「パラメトリク翻訳」
翻訳網羅解析
岩崎 信太郎 (理化学研究所 主任研究員)
- 16:05 学術変革領域 B「パラメトリク翻訳」
生理的な微小温度変化がもたらす mRNA 翻訳速度調節を介した
概日時計制御機構
三宅 崇仁 (京都大学 助教)
- 16:25 学術変革領域 B「時間タンパク質学」
睡眠誘引因子 Nemuri の複合体の理解
戸田 浩史 (筑波大学 助教)
- 16:45 おわりに
土居 雅夫 (京都大学 教授)
- 16:55 閉会挨拶
田中 啓二 (東京都医学総合研究所 理事長)

学術変革領域 B「時間タンパク質学」 時計タンパク質の相互作用リズムと 翻訳後修飾コード

吉種光
東京都医学総合研究所



寿命、季節応答、月周リズム、概潮汐リズム、概日リズム、心拍、神経発火など生体内には様々な時間スケールの生命現象が存在する。つまり、生物は何らかの仕組みで「時」を生み出している。これら時間情報の処理は転写ネットワークの枠組みで理解しようとされることが多いが、真に「時」を測る実体はなんだろうか。

様々な生理現象の中でも、時間情報を持った、または「時」を生み出すような生命現象に着目して、これを直接的に駆動する仕組みを理解したい。特に本領域が着目するのが分子間相互作用・翻訳後修飾・酵素活性・立体構造変化などのタンパク質ダイナミクスだ。タンパク質がもつ物性やそのダイナミクスが自律振動子としてさまざまな時間軸の「時」を生み出している可能性を検証する。このような研究領域を「時間タンパク質学(Chronoproteinoiology)」と名付けた。本シンポジウムでは私たちが解明を目指す研究の問いを背景から丁寧に説明するとともに、各領域メンバーの研究の最先端をご紹介したい。例えば、真核生物の概日時計は、時計遺伝子の転写翻訳を介した負のフィードバック制御が自律振動メカニズムであると考えられてきた。しかし様々な生物種において、時計遺伝子の転写リズムが停止する様な条件下でも様々な概日性リズム現象が報告されており、転写リズムに依らない真の時計振動子の存在が示唆されている。そこで真核生物においてもタンパク質複合体の生化学的性質が時計振動の本質であるという仮説のもと研究を進めている。内在の時計タンパク質複合体を単離・精製し、その時刻依存的な変化を定量した結果、時計タンパク質の複合体形成リズムは、転写リズムでは説明がつかないほど高度に同期していることを発見した。またこの時、時計タンパク質の翻訳後修飾状態は昼と夜でスイッチのようにその修飾部位が切り替わることも見出した。このような翻訳後修飾やタンパク質複合体形成、構造変化などのタンパク質ダイナミクスが時計振動を駆動している可能性を検証している。

学術変革領域 B「パラメトリック翻訳」 翻訳速度調節機構を基盤とした パラメトリック生物学の創成へ

土居雅夫
京都大学大学院薬学研究所



生物はゆるやかな変化に対応する能力として「パラメトリック型」分子機構を備えている。これは 0 か 1 の ON/OFF 制御ではなく、連続的な反応の「velocity の変化」が担う繊細な制御であり、これまでは往々にして見逃されてきた。私共の本学術変革領域 B「パラメトリック翻訳」ではパラメトリック生物学という新しい分野の中核として「翻訳速度の可変性」に着目している。技術としては、翻訳中のリボソームの数をリード数としてカウントする Ribo-Seq や、RNA の化学修飾を同定する次世代シーケンサー技術、概念としては、RNA-蛋白質集合体による液-液相分離による翻訳制御や細胞内局所翻訳制御という概念が、mRNA の制御を従来の「コピー数による制御」から翻訳速度の調節を介した「物理化学的なパラメトリック制御の場」へと変革させる知見をもたらしつつある。本発表では、翻訳調節を介したパラメトリック生命機構の理解に向けて、本領域のこれまでの取りくみと今後の課題について説明させていただきたい。さまざまな視点からご指導ご助言を賜れますと大変幸いです。

学術変革領域 B「時間タンパク質学」 概日時計の発生と時計タンパク質動態

八木田和弘
京都府立医科大学



概日時計は、約24時間周期の生体リズム(概日リズム)を駆動し、睡眠覚醒をはじめ多岐にわたる生理機能に1日周期のリズムを与えることで昼夜の環境サイクルへの適応を通じた動的恒常性を担っている。哺乳類の概日リズム中枢は視交叉上核だが、この中枢時計のみならず、全身の細胞にも広く概日時計が備わっており末梢時計と呼ばれている。末梢細胞の概日時計の生理的意義については未だに議論があり、個体レベルで観察される生理機能リズムには必ずしも不可欠ではないとの報告もある。では、なぜ全身の末梢細胞は、視交叉上核の概日時計と基本的に共通の計時機構を退化喪失させることなく保存し続けてきたのか？言い換えれば、細胞時計とは何か？この問いに対する答えは、現在でも十分に解明されているとは言えない。

我々は、この問題に答えを出すべく、普遍的細胞機能としての概日時計の意義について検討を重ねてきた。その中で、ES細胞には概日時計がなく、*in vitro* 分化誘導によって細胞自律的に約24時間周期の時計が形成されること、さらにiPS細胞へのリプログラミングにより再び概日時計が消失すること、を発見し概日時計と細胞分化の共役関係を明らかにした。この系を利用し、概日時計がないES細胞および分化誘導によって概日時計が形成されていく過程において、細胞に時間秩序が生み出されることを示してきた。さらに、概日時計の成立メカニズムに時計タンパク質の制御が深く関与していることが示唆され、現在、時計タンパク質の動態を詳細に解析している。今回、細胞の概日時計形成過程における時計タンパク質動態について紹介する。

学術変革領域 B「パラメトリク翻訳」 神経分化における細胞内温度計測

原田慶恵
大阪大学蛋白質研究所



我々は細胞内局所における翻訳速度の物理化学的制御因子として細胞内局所温度に着目して研究を行っている。これまでに、蛍光性高分子温度センサーと蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いて、単一生細胞内の温度分布をイメージングした実験から、細胞内の代謝が活発な G1 期では、核の温度が細胞質の温度よりもおよそ 1°C 高いことや、一部のミトコンドリアや、中心体の温度が高いことなどが、明らかになった。しかし、このような細胞内温度の不均一性を保つメカニズムや、その生理的意義はわかっていない。最近、RNA とタンパク質との凝集体の形成など、細胞内の局所加熱が引き金となって起こる生理現象のメカニズムが解明され始めた。このことから我々は、細胞自身が様々な代謝活性を制御することで、自発的な熱産生をコントロールし、細胞の機能を制御するメカニズムを、持っているのではないかと考えた。また、そのようなメカニズムを「温度シグナリング」とよび、細胞内情報伝達における新しい概念として提唱した。

我々は、細胞が遺伝子発現パターンおよび形態を劇的に変化させる「細胞分化」に着目し、細胞分化時の細胞内温度変化、赤外レーザー光による細胞内局所加熱による細胞分化への影響、転写や翻訳阻害による細胞内温度および細胞分化への影響について調べることにした。そこで分化の誘導が容易で、細胞の分化状態が細胞の形態変化(神経突起の伸長)から容易に判断できる、神経モデル(PC12)細胞を用いて実験を行った。PC12 細胞は神経成長因子(NGF)添加による分化誘導後 12 時間以上経過すると温度がおよそ 1°C 高くなった。また、転写や翻訳を阻害すると、細胞内温度が低下し、神経突起の伸長が阻害されることや、NGF 添加直後に細胞を局所加熱することで、突起の伸長が促進されることを見出した。さらに、NGF を添加しなくても、細胞内を局所加熱することで神経突起の伸長が誘導される現象を見出した。以上の結果は、細胞内の自発的熱産生が細胞内の転写や翻訳の活性化を介して神経突起の伸長に貢献している「温度シグナリング」の存在を示唆している。

学術変革領域 B「時間タンパク質学」
周波数特性を備えたシアノバクテリア
時計タンパク質の分子機構解明



向山厚
分子科学研究所

概日時計とは地球の自転に伴う昼夜サイクルに合わせて生物が自らの生命活動を約 24 時間周期で変調させる内因性の計時システムのことを指し、哺乳類から、植物、菌類そしてバクテリアにいたるまで幅広い生物種に存在する。気温や照度といった周期的に変動する環境下で、概日時計の存在は生存競争に有利に働くことが実証されているが、概日時計の 24 時間を生み出す因子がどこに、そしてどのようにして生体内に備わっているかは依然として謎に包まれている。

光合成細菌であるシアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 株の概日時計は試験管内に再構成可能な唯一の系であり、KaiA、KaiB、KaiC の 3 種類の時計タンパク質から構成される。これまでの研究から、24 時間に相当する周波数特性が KaiC だけ 1 種の時計タンパク質の中に内包されていることを突き止めた。KaiC は単独(KaiA、KaiB 非存在下)の条件下でも減衰型の振動を示し、その波形から見積もられる固有周波数は試験管内再構成系、ひいては細胞におけるリズムの周波数と 1 対 1 で対応する。KaiC は 2 つのリングが積み重なった構造をとり、周期調節に重要な ATPase を担う N 末端側リングと、自己リン酸化・自己脱リン化を介した化学状態の変化によって時刻情報を提示する C 末端側リングとの間の相互作用が振動に不可欠である。

本講演では、KaiC の構造変化を指標とした試験管内リズム計測系の高感度化、および分子進化的アプローチによる概日時計誕生の起源探究など、KaiC の分子内に刻み込まれた 24 時間の周波数特性の解明に向けた我々の最新の取り組みについて紹介する。

学術変革領域 B「時間タンパク質学」 巨大単細胞緑藻で探る1日を規定するタンパク質特性

松尾拓哉
名古屋大学 遺伝子実験施設

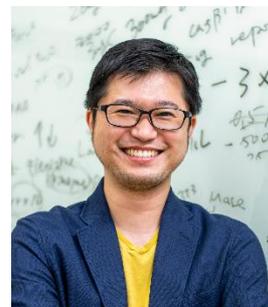


真核生物の概日時計は、「時計遺伝子の転写・翻訳の自己フィードバックループ」が基本骨格と考えられている。その一方で、転写の起こらない状況下でも概日リズムが観られる例が散見されている。よって、現行モデルの基本骨格に当てはまらない概日時計の存在が示唆される。私は、そのような「転写に依存しない概日時計」の実体の解明を目指している。カサノリは緑藻植物門アオサ藻綱に属する単細胞生物である。カサのような形をしており、全長は10 cm、カサの直径は1 cmにも達する巨大単細胞生物である。生活環の大半の時期において、核は細胞の基部(仮根)にひとつだけ存在する。かつてはその特長を活かした除核や接ぎ木(細胞融合)実験が盛んに行われ、核の役割の解明に多大な貢献をした生物である。概日時計に関しても、「核は必須ではない」という重要なメッセージを半世紀以上も前に残している。カサノリ研究は1970年代をピークとして急速に衰退してしまったが、そのユニークな特長は現代においても魅力的なままである。とりわけ、除核が容易に出来るという点は、転写を完全に切り離し、翻訳制御やタンパク質ダイナミクスなどの転写後のイベントに基づいた概日時計システムの解明を進める上で極めて有用と期待できる。そこで私はカサノリ研究の再興に取り組んできた。カサノリを沖縄県で採集し、研究室内の人工海水を用いた水槽で6世代以上に渡って自家受精による継代に成功した。クロロフィル遅延蛍光を指標とした概日リズムの測定法を用い、転写に依存しない概日リズムのハイスループット・高時空間分解能測定を可能にした。また、除核、核移植、接ぎ木といったカサノリ研究の基本的技術の再整備を行うと共に、形質転換系の整備やトランスクリプトーム・プロテオーム解析を進め、現代の生命科学のモデル生物として確立しつつある。本シンポジウムでは、カサノリ研究再興の現状に加え、各種阻害剤を用いた解析で明らかになった、転写に依存しない概日時計の特徴を紹介し、翻訳やタンパク質ダイナミクスが自律振動子として「時」を生み出す可能性について考察したい。

学術変革領域 B「パラメトリク翻訳」

翻訳網羅解析

岩崎信太郎
理化学研究所開拓研究本部

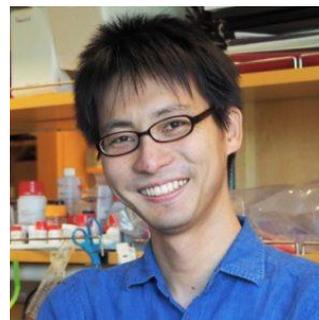


遺伝子の発現を知る、というのは生物学において常に重要な課題です。これまでの生物学の多くの研究では、遺伝子のオン・オフは DNA から RNA へ写し取られる、いわゆる転写の段階でおきており、RNA はタンパク質への単なる情報の運び屋としての機能しかないと広く考えられてきました。しかしながら近年の研究により 1) RNA の量は実は細胞内のタンパク質の量の 30–40%程度しか予想できないこと、2) RNA にはフレームシフト、複数の翻訳開始コドン、ストップコドンの read through などが存在し、最終的に作られるタンパク質の質を巧みに制御していることが明らかになり、量的にも質的にも単純に RNA から最終的に作られるタンパク質を予想することが難しいことが分かってきました。遺伝子の発現を正確に把握するためには、よりタンパク質合成過程である「翻訳」に着目して研究をする必要があります。

翻訳を網羅的に理解するために非常な有用な手法として ribosome profiling (Ribo-Seq)と呼ばれる技術があります。この手法は次世代シーケンサーを応用することで翻訳を網羅的、定量的、かつ 1 コドン分解能で解析することのできる画期的ものになります。我々の研究室ではこの手法を応用して、多様な生物種・生命現象における精巧な翻訳制御を明らかにしてきました。最近、この技術を更に発展させ、超微量試料を大量検体に応用可能な新手法 (HT-Thor-Ribo-Seq 法)を開発しました。本シンポジウムではその原理と応用例について最新の結果を紹介します。

学術変革領域 B「パラメトリック翻訳」 生理的な微小温度変化がもたらす mRNA 翻訳速度調節を介した概日時計 制御機構

三宅崇仁
京都大学大学院薬学研究科



生物時計は、地球の自転に伴う昼夜の規則正しい環境変動に体内の代謝応答等を同調させる、生命にとって最も根源的な「時間」の仕組みである。これまでの時間生物学分野では、「明と暗」「寒と熱」のような、二値化されたシグナルへの転写を介した生物時計リセット機構に着目した検討がなされてきた。一方、自然環境の変化は、連続的でゆるやかなものがほとんどである。実際、我々は、AI 技術とビデオサーモグラフィーを用いた体温行動同時連続測定により、マウスの体温が一日の中で連続的かつゆるやかに変化する様子をモニターすることを行った (Shimatani *et al.*, Plos One 2021)。温度は臓器を越え全身に伝播することから、体温変化は全身の末梢細胞時計の位相合わせを司る重要な時刻情報であると考えられている。にもかかわらず、このような連続的な生理的変化を介した体内時計制御機構の解明は進んでおらず、その根幹を担う体内時計角速度(パラメトリック)調節の実体はいまでもよくわかっていない。そのような中、我々は、生理的な微小温度変化が、体内時計遺伝子の mRNA 量だけではなくタンパク質の合成量も直接変化させるパスウェイを見出し、これが体内時計の角速度変化をもたらすものである可能性を見出した (Miyake *et al.*, 未発表)。我々はこれまでに、一日の中の休眠前の生理的な体温低下が睡眠を誘導するだけでなく、代謝を下げることで無駄なエネルギー消費を抑えることを見出している (Goda *et al.*, Genes Dev 2018)。本発表では、翻訳速度調節を介した体内時計のパラメトリック制御機構に関して、さまざまなご視点からのご意見やご提言を賜わることができると大変幸いです。

学術変革領域 B「時間タンパク質学」 睡眠誘引因子 Nemuri の複合体の理解

戸田 浩史
筑波大学



我々になじみの深い「睡眠」という生理現象は広く動物に保存されており、その重要性は我々が経験するところである。例えば、睡眠を剥奪(断眠)すると免疫、代謝、脳機能に多大な影響を及ぼす。しかし、睡眠の分子レベルでのメカニズムについては、ほとんど明らかになっていないというのが現状である。

睡眠は二つのシステムによって制御されている。一つは「体内時計」で、もう一つは「恒常性」である。「体内時計」は動物がいつ睡眠をするのか、覚醒をするのかのタイミングを決定し、「恒常性」はどのくらい深く・長く眠るのかを決定する。本来睡眠をするはずの時間に覚醒していると翌朝、眠くなるが、これは「恒常性」の仕組みが機能しているからである。あらゆる動物が睡眠をするが、その長さは種によっておおよそ決まっていることから、遺伝的な制御があるはずである。

どのような遺伝子によって睡眠が制御されているのかを調べるため、我々のグループはキロショウジョウバエを用い、ゲノム規模・無作為の大々的な睡眠誘引遺伝子の探索を行った。その結果、睡眠を減少させるいくつかの未知の遺伝子の他に、睡眠を誘引する新規の遺伝子”*nemuri*”を発見することに成功した。驚くことに *Nemuri* は抗菌活性のあるペプチドであることが判明した。本講演では、*Nemuri* の興味深い分子特性をご紹介しますと共に、*Nemuri* が細胞レベルでどのように機能しているのかを議論したい。

第 12 回都医学研シンポジウム 抄録

編集・発行 公益財団法人 東京都医学総合研究所
事務局 研究推進課 普及広報係
都医学研シンポジウム事務局
〒156-8506
東京都世田谷区上北沢 2-1-6
電話:03-5316-3109
<https://www.igakuken.or.jp>