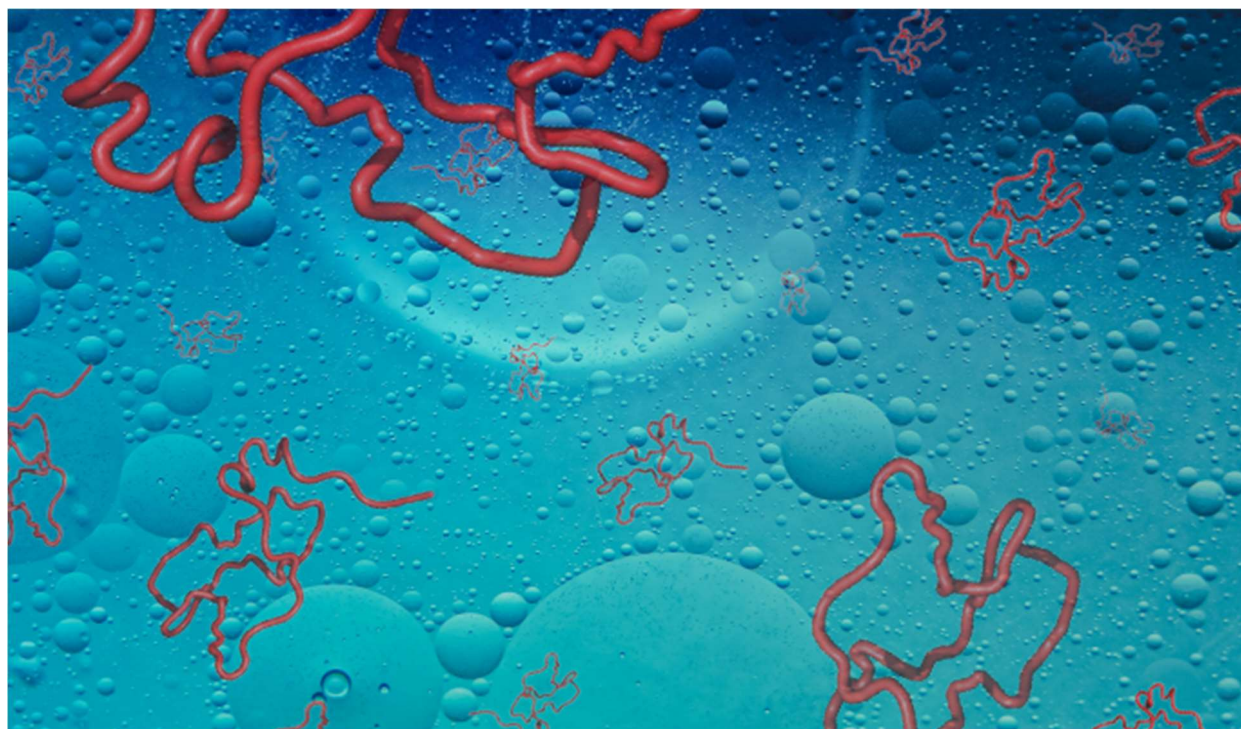


相分離がもたらす医療・創薬の新展開

講演要旨集



コーディネーター：

吉村 成弘 京都大学大学院生命科学研究科 分子情報解析学分野 准教授

森 英一郎 奈良県立医科大学 医学部 准教授

日時：2023年5月26日（金）10：00 ～ 18：30

会場：千里ライフサイエンスセンタービル5F

山村雄一記念ライフホール（WEB配信併用）

主催：公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

後援：バイオコミュニティ関西

表紙の図：

天然変性タンパク質とそのマイクロ相分離状態（液滴）のイメージ図

【吉村 成弘 准教授、森 英一朗 准教授 提供】

開催の趣旨

京都大学大学院生命科学研究科 分子情報解析学分野 准教授

よしむら しげひろ
吉村 成弘

奈良県立医科大学 医学部 准教授

もり えいいちろう
森 英一朗

液-液相分離の現象が生物学で注目され始めてから約 10 年が経過する。古典的な生化学・タンパク質科学を支えてきた「立体構造特異性」とは全く異なる原理が細胞の活動を支えているという事実は、生物学に大きな衝撃と変革をもたらした。これまで、多くの天然変性タンパク質および核酸が液-液相分離を起こすこと、また核小体や RNA 顆粒などの細胞内非膜オルガネラが液-液相分離により形成されることが示された。現在、このような現象の記述が一段落し、液-液相分離は新たなブレイクスルーを求めている。このセミナーでは、生物学における液-液相分離の歩みを振り返るとともに、ストレス応答、自然免疫などの細胞のホメオスタシスにおける役割やその破綻が引き起こす疾患等に関する最新の知見を紹介したい。また、そこで得られた知見に基づいた新しい医療・創薬への展開の可能性を議論したい。

プログラム

10:00～10:05

開会の挨拶 公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団 理事長 審良 静男

10:05～10:15

はじめに 京都大学大学院生命科学研究科 分子情報解析学分野 准教授 吉村 成弘

10:15～11:05 座長：吉村 成弘

演題1 生物学的相分離：最近の研究動向と創薬に向けた取り組み……………4

奈良県立医科大学 医学部 准教授 森 英一朗

11:05～11:55 座長：吉村 成弘

演題2 シャペロンによるタンパク質集合とフォールディングの制御機構……………8

徳島大学 先端酵素学研究所 分子生命科学分野 教授 齋尾 智英

11:55～13:00

休憩

13:00～13:50 座長：吉村 成弘

演題3 細胞内相分離への物質科学からのアプローチ……………12

広島大学大学院統合生命科学研究科 総合科学部 助教 渡邊 千穂

13:50～14:40 座長：吉村 成弘

演題4 光遺伝学を用いた TDP-43 の相転移操作で探る ALS 病態……………16

国立遺伝学研究所 発生遺伝学研究室 特命准教授 浅川 和秀

14:40～15:30 座長：森 英一朗

演題5 piRISC 機構における相分離依存的非膜オルガネラ形成とその機能……………20

東京大学大学院理学系研究科 生物科学専攻 教授 塩見 美喜子

15:30～15:50

休憩

15:50～16:40 座長：森 英一朗

演題6 相分離によるオートファジー制御……………24

北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野 教授 野田 展生

16:40～17:30 座長：森 英一朗

演題7 ユビキチン創薬の最新動向と LLPS 創薬の可能性……………28

東京大学医科学研究所 タンパク質代謝制御分野 教授 佐伯 泰

17:30～17:40

おわりに 奈良県立医科大学 医学部 准教授 森 英一朗

17:40～18:30

交流会

※講演の時間は質疑応答を含みます。ご注意ください。

..... MEMO

演題 1. 「生物学的相分離：最近の研究動向と創薬に向けた取り組み」

奈良県立医科大学 医学部 准教授
森 英一朗

住 所

〒634-8521 奈良県橿原市四条町 840 番地

学歴・職歴

2009 年	奈良県立医科大学 医学部 医学科 卒業
2015 年	奈良県立医科大学 大学院医学研究科 博士課程修了
2009 年	奈良県立医科大学附属病院 臨床研修センター 臨床研修医
2011 年	米国・テキサス大学 Southwestern Medical Center 研究員
2017 年	奈良県立医科大学 医学部 特任助教～特任講師
2019 年～現在	奈良県立医科大学 医学部 准教授・教室主任
2019 年～現在	奈良県立医科大学 国際交流センター 副センター長（兼任）
2020 年～現在	奈良県立医科大学 V-iCliniX 講座 准教授（兼任）
2022 年～現在	モルミル株式会社 代表取締役

学 位 博士（医学）

受賞歴

2009 年	奈良県立医科大学医学部医学科同窓会・厳檀賞
2017 年	日本ハイパーサーミア学会・優秀論文発表賞
2018 年	奈良県立医科大学・中島佐一学術研究奨励賞
2018 年	日本神経化学会・優秀発表賞
2020 年	日本ハイパーサーミア学会・研究奨励賞

所属学会 日本蛋白質科学会、日本神経学会、日本ハイパーサーミア学会

専門分野 生化学

主な著書

1. #Nanaura H, #Kawamukai H, #Fujiwara A, Uehara T, Aiba Y, Nakanishi M, Shiota T, Hibino M, Wiriyasermkul P, Kikuchi S, Nagata R, Matsubayashi M, Shinkai Y, Niwa T, Mannen T, Morikawa N, Iguchi N, Kiriyama T, Morishima K, Inoue R, Sugiyama M, Oda T, Kodera N, Toma-Fukai S, Sato M, Taguchi H, Nagamori S, Shoji O, Ishimori K, Matsumura H, Sugie K, Saio T*, Yoshizawa T*, **Mori E***. *C9orf72*-derived arginine-rich poly-dipeptides impede phase modifiers. *Nat Commun* 2021; 12(1): 5301.
2. Zhou X, Lin Y, Kato M, **Mori E**, Liszczak G, Sutherland LB, Sysoev LO, Murray DT, Tycko R, *McKnight SL. Transiently structured head domains control intermediate filament assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021; 118(8): e2022121118.
3. #Shi KY, #**Mori E**, Nizami ZF, Lin Y, Kato M, Xiang S, Wu LC, Ding M, Yu Y, Gall JG, *McKnight SL. Toxic PRn poly-dipeptides encoded by the *C9orf72* repeat expansion block nuclear import and export. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(7): E1111-E1117.
4. #Lin Y, #**Mori E**, #Kato M, #Xiang S, Wu L, *Kwon I, *McKnight SL. Toxic PR poly-dipeptides encoded by the *C9orf72* repeat expansion target LC domain polymers. *Cell* 2016; 167(3): 789-802.
5. #Puente BN, #Kimura W, Muralidhar SA, Moon J, Amatruda JF, Phelps KL, Grinsfelder D, Rothermel BA, Chen R, Garcia JA, Santos CX, Thet S, **Mori E**, Kinter MT, Rindler PM, Zacchigna S, Mukherjee S, Chen DJ, Mahmoud AI, Giacca M, Rabinovitch PS, Asaithamby A, Shah AM, Szweda LI, *Sadek HA. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response. *Cell* 2014; 157(3): 565-579.
6. Liu H, Galka M, **Mori E**, Liu X, Lin YF, Wei R, Pittock P, Voss C, Dhami G, Li X, Miyaji M, Lajoie G, Chen B, *Li SS. A method for systematic mapping of protein lysine methylation identifies functions for HP1 β in DNA damage response. *Mol Cell* 2013; 50(5): 723-735.

(*責任著者、#共同筆頭著者)

要 旨

「相分離」と定義される集合状態が、生体分子の機能発現において重要な役割を担うことが過去 10 年間で徐々に明らかになってきた。また、原因不明の難病とされていた疾患の病態発症において、相分離の異常がタンパク質凝集やアミロイド形成と関連していることも知られるようになった。こうした背景を受け、従来の分子シャペロンやタンパク質フォールディングの捉え方も、変わりつつある。細胞内小器官（オルガネラ）の中でも、膜によって囲まれない非膜オルガネラの形成に相分離が寄与していることや、細胞内の分子やオルガネラの分解に関わるユビキチン・プロテアソーム経路やオートファジーなどにおいても相分離が制御されていることも明らかになってきている。こうした最近の研究成果を踏まえ、近年相分離を標的とした創薬開発が世界中で活発に行われている。本講演では、最近の研究動向と創薬に向けた取り組みについて紹介したい。

参考文献

1. #Nanaura H, #Kawamukai H, #Fujiwara A, Uehara T, Aiba Y, Nakanishi M, Shiota T, Hibino M, Wiriyasermkul P, Kikuchi S, Nagata R, Matsubayashi M, Shinkai Y, Niwa T, Mannen T, Morikawa N, Iguchi N, Kiriya T, Morishima K, Inoue R, Sugiyama M, Oda T, Kodera N, Toma-Fukai S, Sato M, Taguchi H, Nagamori S, Shoji O, Ishimori K, Matsumura H, Sugie K, Saio T*, Yoshizawa T*, **Mori E***. *C9orf72*-derived arginine-rich poly-dipeptides impede phase modifiers. *Nat Commun* 2021; 12(1): 5301.
2. Zhou X, Lin Y, Kato M, **Mori E**, Liszczak G, Sutherland LB, Sysoev LO, Murray DT, Tycko R, *McKnight SL. Transiently structured head domains control intermediate filament assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021; 118(8): e2022121118.
3. #Shi KY, #**Mori E**, Nizami ZF, Lin Y, Kato M, Xiang S, Wu LC, Ding M, Yu Y, Gall JG, *McKnight SL. Toxic PRn poly-dipeptides encoded by the *C9orf72* repeat expansion block nuclear import and export. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(7): E1111-E1117.
4. #Lin Y, #**Mori E**, #Kato M, #Xiang S, Wu L, *Kwon I, *McKnight SL. Toxic PR poly-dipeptides encoded by the *C9orf72* repeat expansion target LC domain polymers. *Cell* 2016; 167(3): 789-802.

..... MEMO

演題 2. 「シャペロンによるタンパク質集合とフォールディングの制御機構」

徳島大学 先端酵素学研究所 分子生命科学分野 教授
齋尾 智英

住 所

〒770-8503 徳島県徳島市蔵本町 3-18-15
徳島大学 先端酵素学研究所 B 棟 2 階

学歴・職歴

2006 年 北海道大学薬学部総合薬学科卒業
2008 年 北海道大学生命科学院生命医薬化学コース修士課程修了
2011 年 北海道大学生命科学院生命医薬化学コース博士課程修了 博士(生命科学)
2011 年 北海道大学先端生命科学研究院, 博士研究員
2011 年 米国ラトガース大学, 博士研究員
2014 年 北海道大学大学院理学研究院, 助教
2014 年~2018 年 さきがけ研究員 (兼任)
2020 年 徳島大学先端酵素学研究所, 教授

学 位 博士(生命科学)

受賞歴

2014 年 日本蛋白質科学会若手奨励賞 受賞, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, 横浜
2018 年 平成 30 年度 日本化学会北海道支部奨励賞 受賞
2019 年 日本生化学会北海道支部 平成 31 年度若手奨励賞 受賞
2021 年 公益財団法人アステラス病態代謝研究会 最優秀理事長賞 受賞

所属学会 日本蛋白質科学会、日本核磁気共鳴学会、日本生物物理学会、日本生化学会、
日本化学会

専門分野 構造生物学

主な著書

1. Nanaura H., Kawamukai H., Fujiwara A., Uehara T., Aiba Y., Nakanishi M., Shiota T., Hibino M., Wiryasermkul P., Kikuchi S., Nagata R., Matsubayashi M., Shinkai Y., Niwa T., Mannen T., Morikawa N., Iguchi N., Kiriyama T., Morishima K., Inoue R., Sugiyama M., Oda T., Kodera N., Toma-Fukai S., Sato M., Taguchi H., Nagamori S., Shoji O., Ishimori K., Matsumura H., Sugie K., ***Saio T.**, *Yoshizawa T., *Mori E. C9orf72-derived arginine-rich poly-dipeptides impede phase modifiers. *Nat Commun.* 2021 Sep 6;12(1):5301. doi: 10.1038/s41467-021-25560-0.
2. ***Saio T.**, Hiramatsu S., Asada M., Nakagawa H., Shimizu K., Kumeta H., Nakamura T., *Ishimori K. Conformational ensemble of a multidomain protein explored by Gd³⁺ electron paramagnetic resonance. *Biophys J.* 2021 Aug 3;120(15):2943-2951. doi: 10.1016/j.bpj.2021.06.033.
3. ***Saio, T.**, Kawagoe, S., Ishimori, K., *Kalodimos, C.G. Oligomerization of a molecular chaperone modulates its activity. *eLife* 2018, 7, e35731. DOI: 10.7554/eLife.35731
4. Huang, C., Rossi, P., **Saio, T.**, *Kalodimos, C.G. Structural basis for the antifolding activity of a molecular chaperone. *Nature* 2016, 537, 202. DOI: 10.1038/nature18965
5. **Saio, T.**, Guan, X., Rossi, P., Economou, A., *Kalodimos, CG. Structural basis for protein anti-aggregation activity of the trigger factor chaperone. *Science* 2014, 344, 1250494. DOI: 10.1126/science.1250494

要 旨

これまでタンパク質フォールディングのための制御因子として認識されていたシャペロンの多くが、機能的な分子集合、特に液-液相分離における分子集合の制御にも関与していることが明らかにされている。シャペロンは、フォールディング途上のタンパク質や相分離タンパク質などの「基質タンパク質」との弱く動的な相互作用によって機能を発揮するが、その分子レベルでの実態は不明である。その主要な要因の一つは、シャペロン-基質複合体のような動的複合体に対する構造解析が困難であり、詳細な立体構造情報が欠如していたことである。本研究では、溶液中でのタンパク質の立体構造、相互作用、ダイナミクスを高分解能で解析することが可能な溶液 NMR 法を中心としたシャペロン-基質タンパク質の複合体構造解析について取り組んだ。セミナーでは、その研究成果を紹介し、特にタンパク質フォールディングにおけるシャペロンの新概念「キネティクス-活性相関」について解説する。さらに、セミナーでは、液-液相分離制御において機能する「相分離シャペロン」に対する研究についても紹介する。ここでは特に、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の関連因子である *C9orf72* 変異から産生されるリピートジペプチドが、相分離シャペロンの機能阻害をするメカニズムについて、NMR を中心とした解析から明らかになった知見を紹介する。

参考文献

1. Nanaura H., Kawamukai H., Fujiwara A., Uehara T., Aiba Y., Nakanishi M., Shiota T., Hibino M., Wiriyasermkul P., Kikuchi S., Nagata R., Matsubayashi M., Shinkai Y., Niwa T., Mannen T., Morikawa N., Iguchi N., Kiriyama T., Morishima K., Inoue R., Sugiyama M., Oda T., Kodera N., Toma-Fukai S., Sato M., Taguchi H., Nagamori S., Shoji O., Ishimori K., Matsumura H., Sugie K., ***Saio T.**, *Yoshizawa T., *Mori E. C9orf72-derived arginine-rich poly-dipeptides impede phase modifiers. *Nat Commun.* 2021 Sep 6;12(1):5301. doi: 10.1038/s41467-021-25560-0.
2. Kawagoe, S., Nakagawa, H., Kumeta, H., *Ishimori, K., ***Saio, T.** Structural insight into proline cis/trans isomerization of unfolded proteins catalyzed by the trigger factor chaperone. *J Biol Chem.* 2018, 293, 15095. DOI: 10.1074/jbc.RA118.003579
3. ***Saio, T.**, Kawagoe, S., Ishimori, K., *Kalodimos, C.G. Oligomerization of a molecular chaperone modulates its activity. *eLife* 2018, 7, e35731. DOI: 10.7554/eLife.35731
4. Huang, C., Rossi, P., **Saio, T.**, *Kalodimos, C.G. Structural basis for the antifolding activity of a molecular chaperone. *Nature* 2016, 537, 202. DOI: 10.1038/nature18965
5. **Saio, T.**, Guan, X., Rossi, P., Economou, A., *Kalodimos, CG. Structural basis for protein anti-aggregation activity of the trigger factor chaperone. *Science* 2014, 344, 1250494. DOI: 10.1126/science.1250494

..... MEMO

演題 3. 「細胞内相分離への物質科学からのアプローチ」

広島大学大学院統合生命科学研究科 助教

渡邊 千穂

住 所

〒739-8521 広島県東広島市鏡山一丁目7番1号

学歴・職歴

2010年	東京農工大学工学部有機材料化学科卒業
2012年	東京農工大学大学院生物システム応用科学府博士前期課程修了
2015年	パリ第七大学 École Doctorale Physique en Île-de-France (ED564) 博士課程修了 博士 (Doctrat Matière condensée et interfaces)
2016年	東京農工大学工学府・工学部 博士研究員 (柳澤実穂 研究室)
2019年	東京大学先進科学研究機構 特任助教 (柳澤実穂 研究室)
2020年～現在	広島大学大学院統合生命科学研究科、総合科学部 助教

学 位 博士 (Doctrat Matière condensée et interfaces)

受 賞 歴

- International Symposium on Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2017(SFS2017) Best Poster Award for Young Researcher (2017.11)
- 第8回ソフトマター研究会 ポスター賞 (2018.12)
- The emerging science lecture prize at the 17th Australia-Japan Colloids Symposium Australasian Colloids and Interface Society (2020.9)
- 第72回コロイドおよび界面化学討論会 若手口頭講演賞 (2021.9)
- 第17回 日本生物物理学会若手奨励賞 日本生物物理学会 (2021.11)
- 第73回コロイドおよび界面化学討論会 ポスター賞 (2022.9)

所属学会 日本生物物理学会、日本物理学会、日本化学会コロイドおよび界面化学部会

専門分野 生物物理、物理化学、ソフトマター科学

主な著書

1. Watanabe C, Furuki T, Kanakubo Y, et al. Cell-Sized Confinement Initiates Phase Separation of Polymer Blends and Promotes Fractionation upon Competitive Membrane Wetting. *ACS Materials Lett.* 4(9):1742-1748. 2022.
2. Watanabe C, Tanaka S, Löffler RJG, Hanczyc MM, Górecki J. Dynamic ordering caused by a source-sink relation between two droplets. *Soft Matter* 18(34):6465-6474. 2022.
3. Watanabe C, Yanagisawa M. Evaporation Patterns of Dextran–Poly(Ethylene Glycol) Droplets with Changes in Wettability and Compatibility. *Life* 2022;12(3):373. doi:10.3390/life12030373
4. Harusawa K, Watanabe C, Kobori Y, et al. Membrane Surface Modulates Slow Diffusion in Small Crowded Droplets. *Langmuir* 37(1):437-444. 2021.
5. Watanabe C, Kobori Y, Yamamoto J, Kinjo M, Yanagisawa M. Quantitative Analysis of Membrane Surface and Small Confinement Effects on Molecular Diffusion. *J Phys Chem B.* 124(6):1090-1098. 2020.
6. Watanabe C, Seigneuret M, Staneva G, Puff N, Angelova MI. On the possible structural role of single chain sphingolipids Sphingosine and Sphingosine 1-phosphate in the amyloid- β peptide interactions with membranes. Consequences for Alzheimer's disease development. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 510:317-327. 2016.

要 旨

相分離現象は物質科学分野では古くから研究されており、温度や圧力、濃度や組成といった条件によって、均一相または二相共存（相分離）となることが知られてきた。一方で、これらの相分離条件の多くはマイクロリットルからミリリットル以上のバルク量についての知見であり、近年着目されている細胞内相分離のような、膜構造がつくるミクロな空間中における相分離についてはほとんど調べられてこなかった。そこで我々は、脂質一分子膜で覆われた、細胞と同程度の濃度の高分子溶液を内包した液滴を人工細胞として用い、相分離現象に対する細胞サイズ程度のミクロな空間閉じ込めの効果を系統的に調査した¹。その結果、マイクロリットル以上のバルク量では相分離を示さない組成の溶液であっても、数十マイクロメートル程度以下のミクロな細胞サイズ空間に閉じ込めることで相分離を示す場合があることが明らかになった。さらに、細胞サイズ空間に閉じ込めても相分離を示さない組成の溶液も、その中での分子拡散は、バルク溶液に比べて低下することが明らかになった。このようなバルク中では見られないサイズに依存した相分離や分子拡散の低下は、溶液中に存在する多様な高分子のうち、膜に対する親和性が高い一部の高分子が膜へと局在することによって誘起されると解釈している。本セミナーでは、これらの結果の詳細とともに、我々が「細胞サイズ空間効果」と呼んでいる、細胞サイズと同程度のミクロな空間中において高分子によって混雑した溶液がみせる特異な現象について紹介し²⁻⁵、細胞内相分離への物質科学からのアプローチ例をお話ししたい。

参考文献

1. Watanabe, C. *et al.* Cell-Sized Confinement Initiates Phase Separation of Polymer Blends and Promotes Fractionation upon Competitive Membrane Wetting. *ACS Materials Lett.* **4**, 1742–1748 (2022).
2. Watanabe, C. & Yanagisawa, M. Cell-size confinement effect on protein diffusion in crowded poly(ethylene)glycol solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20**, 8842–8847 (2018).
3. Watanabe, C., Kobori, Y., Yamamoto, J., Kinjo, M. & Yanagisawa, M. Quantitative Analysis of Membrane Surface and Small Confinement Effects on Molecular Diffusion. *J. Phys. Chem. B* **124**, 1090–1098 (2020).
4. Harusawa, K. *et al.* Membrane Surface Modulates Slow Diffusion in Small Crowded Droplets. *Langmuir* **37**, 437–444 (2021).
5. Yanagisawa, M., Watanabe, C., Yoshinaga, N. & Fujiwara, K. Cell-Size Space Regulates the Behavior of Confined Polymers: From Nano- and Micromaterials Science to Biology. *Langmuir* **38**, 11811–11827 (2022).

..... MEMO

演題4. 「光遺伝学を用いた TDP-43 の相転移操作で探る ALS 病態」

国立遺伝学研究所 発生遺伝学研究室 特命准教授
浅川 和秀

住 所

〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111

学歴・職歴

1997年 京都大学理学部 卒業
2002年 東京大学大学院理学系研究科 博士課程修了 博士(理学)
2002年 英国 Cancer Research UK リサーチフェロー
2004年 国立遺伝学研究所 研究員
2006年 国立遺伝学研究所 JSPS 特別研究員 PD
2009年 国立遺伝学研究所 助教
2019年 東京医科大学 准教授
2022年～現在 国立遺伝学研究所 特命准教授

学 位 博士(理学)

受賞歴

第1回「せりか基金」賞
第4回「せりか基金」賞

所属学会 日本神経科学学会、日本分子生物学会、日本発生生物学会

専門分野 神経科学・細胞生物学・遺伝学

主な著書

1. Asakawa K, Handa H, Kawakami K: Optogenetic modulation of TDP-43 oligomerization accelerates ALS-related pathologies in the spinal motor neurons. *Nature Communications* 11:1004, 2020.
2. Asakawa K, Kawakami K: Protocadherin-mediated cell repulsion controls the central topography and efferent projections of the abducens nucleus. *Cell Reports* 24:1562-1572, 2018.
3. Asakawa K, Suster ML, Mizusawa K, Nagayoshi S, Kotani T, Urasaki A, Kishimoto Y, Hibi M and Kawakami K: Genetic dissection of neural circuits by *Tol2* transposon-mediated Gal4 gene and enhancer trapping in zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:1255-1260, 2008.

要 旨

呼吸をする、あるいは、食べ物を飲み込む、といった生命活動に欠かすことができない体の動きは、筋肉の伸び縮みを、脳がコントロールすることで生み出されている。筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) は、このような脳が発する運動の指令を、最終的に筋肉に手渡す役目を担う神経細胞である「運動ニューロン」が失われ、その結果、筋肉が衰退する神経変性疾患である。本邦では、およそ 9,000 人がこの難病を患っていると推計されており、その 90%以上は、遺伝しない「孤発性」とよばれるタイプである。孤発性 ALS の運動ニューロンには、健康な細胞にはみられない、異常な物質の集積(凝集体)が含まれることが知られていたが、この凝集体の主成分が、TDP-43 と呼ばれるタンパク質であることが 2006 年に見出された(1, 2)。この発見が契機となり、TDP-43 が孤発性 ALS の発症に深く関与している、と考えられるようになった。

TDP-43 は、天然変性領域を含む RNA/DNA 結合タンパク質であり、健康な細胞においては細胞核に豊富に含まれている。一方で、ALS では、TDP-43 は細胞核から消失し、細胞質に移行して凝集体を形成する。細胞核に局在する TDP-43 が、細胞質に移行し凝集するメカニズムは、ほぼ未解明であるが、このメカニズムを詳しく理解できれば、正常に機能していた運動ニューロンが ALS において徐々に機能を失う仕組みを理解できるだけでなく、運動ニューロンの変性を抑制するための手がかりが得られるのではないかと期待されている。

近年、タンパク質の天然変性領域を光操作によって近接させ、相転移させる光遺伝学技術が開発された(3)。この技術を応用して TDP-43 を光操作によって自己会合させると、TDP-43 が、次第に細胞質の濃度を上昇させて、やがて凝集する、といったあたかも ALS で想定されているような現象が再現できることが明らかになった(4-6)。本セミナーでは、この光遺伝学を用いた相転移技術によって新たに見えてきた、運動ニューロンにおける TDP-43 の相転移の仕組みと、TDP-43 の異常な相転移が発揮する細胞毒性のメカニズムについて紹介し、未だ明らかにされていない ALS 病態について議論したい。

参考文献

1. Arai T, et al.: TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 351, 602–611, 2006.
2. Neumann M, et al.: Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. **Science** 314, 130–133, 2006.
3. Shin, Y. et al.: Spatiotemporal control of intracellular phase transitions using light-activated optoDroplets. **Cell** 168, 159–171 e114, 2017.
4. Mann, J. R. et al.: RNA Binding antagonizes neurotoxic phase transitions of TDP-43. **Neuron** 102, 321–338 e328, 2019.
5. Zhang, P. et al. : Chronic optogenetic induction of stress granules is cytotoxic and reveals the evolution of ALS-FTD pathology. **Elife** 8, e39578, 2019.

6. Asakawa K, et al.: Optogenetic modulation of TDP-43 oligomerization accelerates ALS-related pathologies in the spinal motor neurons. *Nature Communications* 11:1004, 2020.

• • • • • MEMO • • • • •

演題 5. 「piRNA 機構における液液相分離現象」

東京大学大学院理学系研究科 生物科学専攻 教授

塩見 美喜子

住 所

〒113-0032 東京都文京区弥生 2-11-16

学歴・職歴

1984 年	岐阜大学農学部農芸化学科卒業
1988 年	京都大学大学院農学研究科修士課程修了
1990 年	ペンシルバニア大学ハワードヒューズ医学研究所 研究員
1994 年	農学博士（京都大学）
1994 年	ペンシルバニア大学ハワードヒューズ医学研究所 博士研究員
1997 年	日本科学技術振興機構 長期海外研究員
1999 年	ペンシルバニア大学医学部生物物理学科 博士研究員
1999 年	徳島大学ゲノム機能研究センター分子機能解析分野 助手
2000 年	徳島大学ゲノム機能研究センター分子機能解析分野 講師
2001 年	徳島大学ゲノム機能研究センター分子機能解析分野 助教授
2003 年	医学博士（徳島大学）
2008 年	慶應義塾大学医学部大学院医学研究科総合医科学研究センター 准教授
2009 年	慶應義塾大学医学部分子生物学教室 准教授
2012 年～現在	東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 教授 (2014年4月より生物科学専攻に改名)
2018 年	EMBO Associate Member

学 位 農学博士・医学博士

受 賞 歴

第 29 回猿橋賞（一般財団法人女性科学者に明るい未来をの会）

所属学会 日本分子生物学会、日本 RNA 学会、RNA Society

専門分野 RNA 生物学

主な著書

1. Yamada H, Nishida KM, Iwasaki YW, Isota Y, Negishi L, Siomi MC. Siwi cooperates with Par-1 kinase to resolve the autoinhibitory effect of Papi for Siwi-piRISC biogenesis. *Nature Commun.* 13:1518, 2022
2. Nishida KM, Sakakibara K, Iwasaki YW, Yamada H, Murakami R, Murota Y, Kawamura T, Kodama T, Siomi H, Siomi MC. Hierarchical roles of mitochondrial Papi and Zucchini in *Bombyx* germline piRNA biogenesis. *Nature* 555:260-264, 2018
3. Saito K, Inagaki S, Mituyama T, Kawamura Y, Ono Y, Sakota E, Kotani H, Asai K, Siomi H, Siomi MC. A regulatory circuit for *piwi* by the large Maf gene *traffic jam* in *Drosophila*. *Nature* 461:1296-1301, 2009
4. Kim NV, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 10:126-139, 2009
5. Gunawardane LS, Saito K, Nishida KM, Miyoshi K, Kawamura Y, Nagami T, Siomi H, Siomi MC. A Slicer-mediated mechanism for repeat-associated siRNA 5' end formation in *Drosophila*. *Science* 315:1587-1590, 2007

要 旨

トランスポゾン（Transposon）はウイルスを起源とする外来性 DNA 鎖であり、大腸菌からヒトに至る様々な生物のゲノムに見出される。ヒトゲノムのトランスポゾン占有率は4割強と高く、今なお転移可能な完全長の活性型トランスポゾンも多数含まれる。生殖細胞におけるトランスポゾンの無作為なゲノム内転移は、DNA 損傷を引き起こし、卵子・精子形成不全ひいては不稔の原因となる。万が一稔性が保たれたとしても、次世代へ誤った遺伝情報を継承してしまうため、種の保存を脅かす。そのため有性生殖を伴う生物は、生殖組織特異的なトランスポゾン抑制機構を進化の過程で獲得した。その主機構として piRNA 機構 (Yamashiro and Siomi 2018) が知られる。piRNA 機構は、ヒトを含む多くの生物で高く保存されている。我々はこれまで、当研究室で樹立したショウジョウバエ卵巣由来体細胞株 OSC (Saito et al. 2009) と、カイコ卵巣由来生殖細胞株 BmN4 を駆使し piRNA 研究を進めてきた（ちなみに、卵巣由来生殖細胞株はカイコ以外では未だ樹立されていない）。OSC も BmN4 も今なお piRNA 機構に依存してトランスポゾンを抑制しており、piRNA 機能が破綻するとトランスポゾンが脱抑制される (Nishida et al. 2015)。また、両者とも継代が容易な細胞株で、培養の大量化が可能である。実際、我々は、大量培養した OSC および BmN4 から、piRNA とその機能性パートナー分子 PIWI タンパク質からなる RNP 複合体 piRISC を精製し、その立体構造を決定した (Matsumoto et al. 2016; Yamaguchi et al. 2020)。この様に、OSC も BmN4 も piRNA 研究にとって欠かせない存在で、その発展に大きく貢献してきている (Nishida et al. 2018)。これまでの我々の解析から、OSC の piRNA 機構では Yb body と名付けられた細胞質オルガネラが、また、BmN4 の piRNA 機構においては nuage という細胞質オルガネラが必須であること、また、Yb body も nuage も核周辺に位置する非膜性オルガネラであり、その形成は、Yb や Vasa といった piRNA 生合成因子の液液層分離を引き起こす性質に依存するものであることが分かってきた (Hirakata et al. 2019; Nishida et al. 2020; Namba et al. 2022)。これらの因子はいずれも Intrinsically Disordered Region (IDR) を持ち、それは自己会合能を発揮するが、液液層分離の誘導には IDR のみでは不十分で、その他のドメインによる RNA 結合能も不可欠であることが見だされてきている (図1) (Yamazaki et al. revised)。本セミナーでは、piRNA 機能および piRNA 生合成機構のアウトラインを紹介すると共に、piRNA 生合成因子 Vasa の液液層分離を介した nuage 形成に関する我々の最新の研究成果を発表する。

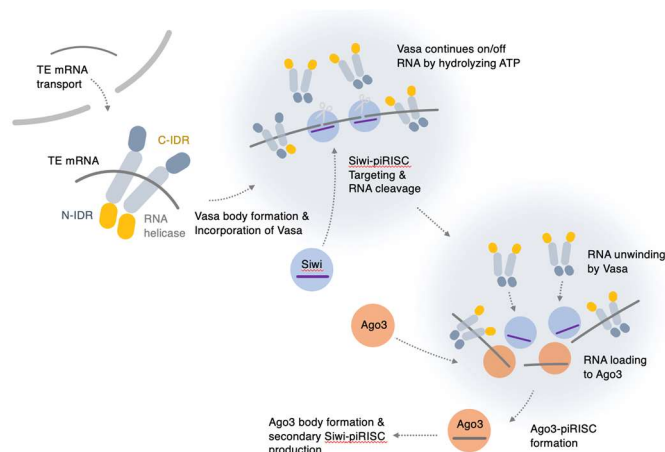


図1：Vasa IDR および RNA helicase ドメインを介した液-液層分離による nuage 形成と piRNA によるトランスポゾン転写後抑制機構のモデル図

参考文献

1. Yamashiro, H. and Siomi, MC. PIWI-interacting RNA in *Drosophila*: biogenesis, transposon regulation, and Beyond. *Chemical Reviews* 118:4404-4421, 2018
2. Saito, K. et al. A regulatory circuit for *piwi* by the large Maf gene *traffic jam* in *Drosophila*. *Nature* 461:1296-1301, 2009
3. Nishida, KM. et al. Respective functions of two distinct Siwi complexes assembled during PIWI-interacting RNA biogenesis in *Bombyx* germ cells. *Cell Reports* 10:193-203, 2015
4. Matsumoto, N. et al. Crystal structure of silkworm PIWI-clade Argonaute Siwi bound to piRNA. *Cell* 167:484-497, 2016
5. Yamaguchi, S. et al. Crystal structure of *Drosophila* Piwi. *Nature Commun.* 11:858, 2020
6. Nishida, KM. et al. Hierarchical roles of mitochondrial Papi and Zucchini in *Bombyx* germline piRNA biogenesis. *Nature* 555:260-264, 2018
7. Hirakata, S. et al. Requirements for multivalent Yb body assembly in transposons silencing in *Drosophila*. *EMBO Reports* e47708, 2019
8. Nishida, KM. et al. Reversible regulation of secondary Siwi-piRISC biogenesis in response to Siwi levels in germ cells. *EMBO Journal* 39:e105130, 2020
9. Namba, Y. et al. Maelstrom functions in the production of Siwi-piRISC capable of regulating transposons in *Bombyx* germ cells. *iScience* 25:103914, 2022
10. Yamazaki, H. et al. *Bombyx* Vasa sequesters transposon mRNAs in nuage via phase separation requiring RNA binding and self-association. *Nat. Commun.* In press

• • • • • MEMO • • • • •

演題 6. 「相分離によるオートファジー制御」

北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野 教授

野田 展生

住 所

〒060-0815 北海道札幌市北区北 15 条西 7 丁目

学歴・職歴

1996 年	東京大学薬学部卒業
1998 年	東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了
2001 年	東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了 博士（薬学）
2001 年	北海道大学大学院薬学研究科 博士研究員
2005 年	北海道大学大学院薬学研究科 助手
2008 年	北海道大学大学院薬学研究院 講師
2011 年	公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 主席研究員
2017 年	公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 部長
2022 年～現在	北海道大学 遺伝子病制御研究所 教授

学 位 博士（薬学）

受 賞 歴

2012 年度 日本生化学会奨励賞
第 38 回（2021 年度）井上学術賞

所属学会 日本生化学会、日本分子生物学会、日本薬学会、日本癌学会

専門分野 生化学・構造生物学

主な著書

1. Maruyama T, Alam JM, Fukuda T, Kageyama S, Kirisako H, Ishii Y, Shimada I, Ohsumi Y, Komatsu M, Kanki T, Nakatogawa H, Noda NN: Membrane perturbation by lipidated Atg8 underlies autophagosome biogenesis. *Nature Structural & Molecular Biology* 28: 583-593, 2021.
2. Fujioka Y, Alam JM, Noshiro D, Mouri K, Ando T, Okada Y, May AI, Knorr RL, Suzuki K, Ohsumi Y, Noda NN: Phase separation organizes the site of autophagosome formation. *Nature* 578: 301-305, 2020.
3. Yamasaki A, Alam JM, Noshiro D, Hirata E, Fujioka Y, Suzuki K, Ohsumi Y, Noda NN: Liquidity is a critical determinant for selective autophagy of protein condensates. *Molecular Cell* 77: 1163-1175, 2020.
4. Matoba K, Kotani T, Tsutsumi A, Tsuji T, Mori T, Noshiro D, Sugita Y, Nomura N, Iwata S, Ohsumi Y, Fujimoto T, Nakatogawa H, Kikkawa M, Noda NN: Atg9 is a lipid scramblase that mediates autophagosomal membrane expansion. *Nature Structural & Molecular Biology* 27: 1185-1193, 2020.
5. Osawa T, Kotani T, Kawaoka T, Hirata E, Suzuki K, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Noda NN: Atg2 mediates direct lipid transfer between membranes for autophagosome formation. *Nature Structural & Molecular Biology* 26: 281-288, 2019.

要 旨

オートファジーは細胞内の主要な分解系であり、二重膜オルガネラであるオートファゴソームの新生を通してその中に細胞質成分を隔離し、リソソームへと輸送することで分解を行う。栄養飢餓になると約20種類のオートファジー関連 (Atg) タンパク質が集積して pre-autophagosomal structure (PAS)を形成し、オートファゴソーム新生に働くが、PASがどのような構造体であるのか長年の謎であった。我々はオートファジー始動を担う Atg1 複合体がその構成因子 Atg13 の脱リン酸化依存的に液-液相分離すること、その結果形成された液滴が PAS の実体であることを突き止めた (1, 2)。PAS は液体の性質を使ってオートファゴソーム形成に必要な酵素反応を促進する反応場として機能する。液-液相分離は PAS の形成以外に、オートファジーの分解基質タンパク質の制御にも働く。我々は試験管内再構成実験を通して、隔離膜が液-液相分離したタンパク質液滴の選択的隔離に秀でている一方、固体状に凝集したタンパク質の隔離を不得手としていることを明らかにした (2, 3)。本セミナーでは、液-液相分離がオートファジーに果たすこれら2つの役割について、最新の知見を交えて紹介したい。

参考文献

1. Fujioka, Y., Alam, J. M., Noshiro, D., Mouri, K., Ando, T., Okada, Y., May, A. I., Knorr, R. L., Suzuki, K., Ohsumi, Y. & Noda, N. N. Phase separation organizes the site of autophagosome formation. *Nature* **578**, 301-305, (2020).
2. Fujioka, Y. & Noda, N. N. Biomolecular condensates in autophagy regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* **69**, 23-29, (2021).
3. Yamasaki, A., Alam, J. M., Noshiro, D., Hirata, E., Fujioka, Y., Suzuki, K., Ohsumi, Y. & Noda, N. N. Liquidity is a critical determinant for selective autophagy of protein condensates. *Mol. Cell* **77**, 1163-1175, (2020).

..... MEMO

演題 7. 「ユビキチン創薬の最新動向と LLPS 創薬の可能性」

東京大学医科学研究所 タンパク質代謝制御分野 教授
佐伯 泰

住 所

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1

学歴・職歴

1998 年 北海道大学薬学部卒業
2003 年 北海道大学大学院薬学研究科博士課程修了 博士（薬学）
2003 年 日本学術振興会特別研究員（PD）
2007 年 東京都臨床医学総合研究所 研究員
2013 年 東京都医学総合研究所 副参事研究員
2018 年 東京都医学総合研究所 蛋白質代謝研究室室長
2018 年 筑波大学大学院人間総合科学研究科 客員教授
2020 年 東京都医学総合研究所 参事研究員
2021 年～現在 東京大学大学院新領域創成科学研究科 客員教授
2023 年～現在 東京大学医科学研究所 教授

学 位 博士（薬学）

受賞歴

平成 25 年度 科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞
平成 26 年度 日本生化学会奨励賞
令和 4 年度 科学技術分野の文部科学大臣表彰 科学技術賞(研究部門)

所属学会 日本生化学会、日本分子生物学会、日本細胞生物学会、
日本ケミカルバイオロジー学会

専門分野 生化学

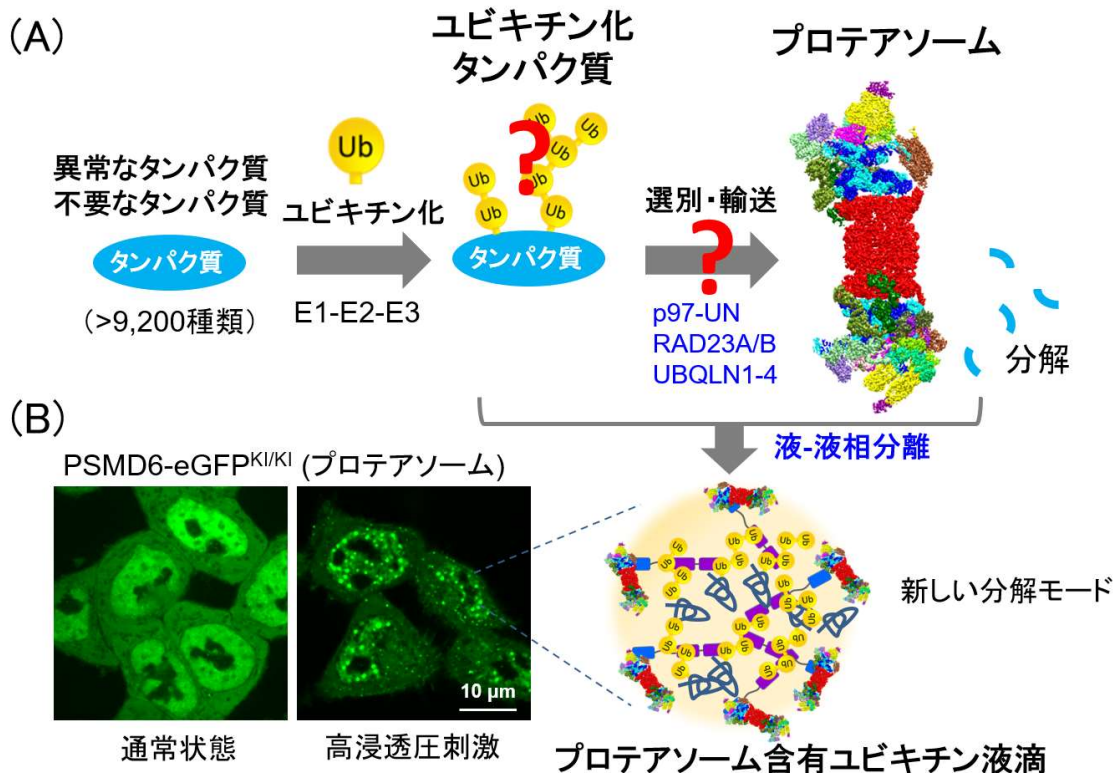
主な著書

1. Yasuda S, Tsuchiya H, Kaiho A, Guo Q, Ikeuchi K, Endo A, Arai N, Ohtake F, Murata S, Inada T, Baumeister W, Fernandez-Busnadiego R, Tanaka K, Saeki Y: Stress- and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome. *Nature* 578: 296-300, 2020.
2. Sato Y, Tsuchiya H, Yamagata A, Okatsu K, Tanaka K, *Saeki Y, *Fukai S: Structural insights into ubiquitin recognition and Ufd1 interaction of Npl4. *Nat Commun* 10: 5708, 2019.
3. Tsuchiya H, Burana D, Ohtake F, Arai N, Kaiho A, Komada M, Tanaka K, Saeki Y: Ub-ProT reveals global length and composition of protein ubiquitylation in cells. *Nat Commun* 9: 524, 2018.
4. Tsuchiya H, Ohtake F, Arai N, Kaiho A, Yasuda S, Tanaka K, Saeki Y: In vivo ubiquitin linkage-type analysis reveals that the Cdc48-Rad23/Dsk2 axis contributes to K48-linked chain specificity of the proteasome. *Mol Cell* 66: 488-502, 2017.
5. Saeki Y, Toh-e A, Kudo T, Kawamura H, Tanaka K: Multiple proteasome-interacting proteins assist the assembly of the yeast 19S regulatory particle. *Cell* 137: 900-913, 2009.


要 旨

ユビキチン・プロテアソーム系（UPS : ubiquitin-proteasome system）はほぼ全ての生命現象を制御する生体に必須のタンパク質分解経路であり、UPS の異常は、がん、自己免疫疾患、神経変性疾患などのさまざまな疾患の原因となる。そのため、UPS を標的とした創薬研究が大きく進展しているが、特に、PROTAC に代表される標的タンパク質分解誘導法（化合物で UPS をハイジャックして狙ったタンパク質を分解誘導する方法）が新しい創薬モダリティとして注目を集めており、現在、UPS 研究は第 2 の拡大のフェーズに入っている。しかし、UPS は 1,300 種類以上の制御分子が存在し、さらにユビキチン化される基質タンパク質も多様（約 1 万種類）であるため、まだまだ基本的な分子メカニズムが不明である。私たちは、プロテオームワイドな UPS 研究を進める過程で、プロテアソーム基質の選別と輸送に関与する仲介分子群を見出すとともに、様々なストレス条件下において UPS が液-液相分離（LLPS）を利用することを発見した（Tsuchiya et al, Mol Cell 2017 ; Yasuda et al, Nature 2020）。つまり、プロテアソーム基質はユビキチン化されれば一義的に分解されるわけではなく、様々な仲介分子を介した時空間的な制御が存在することが明らかとなってきた。本講演では、まず、UPS の作動原理とユビキチン創薬について最新の研究動向を概説し、次いでユビキチン依存的な LLPS のバイオロジーに関して私たちの研究成果を中心に紹介する。最後に、ユビキチン依存的な LLPS を利用した疾患治療戦略について議論したい。

UPSによるタンパク質分解と時空間的制御



..... MEMO



公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団
〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町1-4-2
千里ライフサイエンスセンタービル20階
TEL:06-6873-2006 FAX:06-6873-2002
E-mail: smp-2022@senri-life.or.jp
URL: <https://www.senri-life.or.jp/>