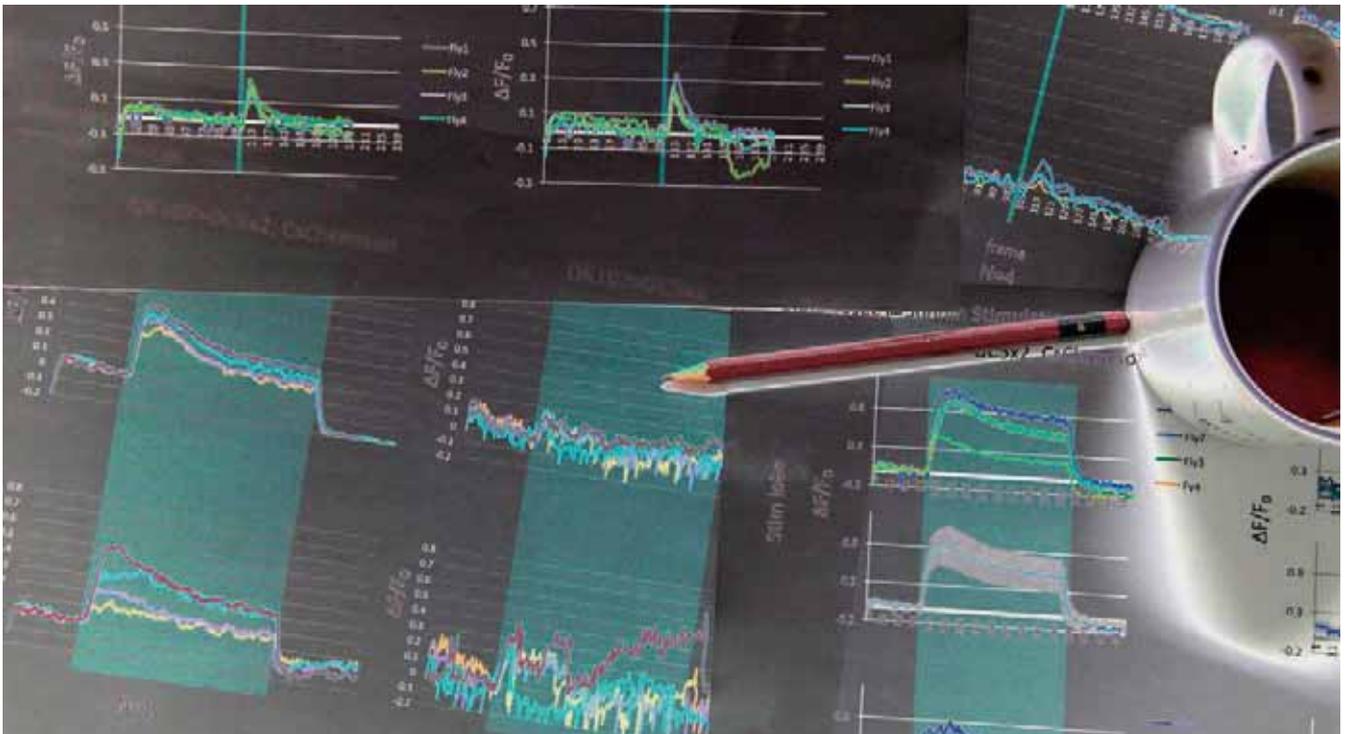


# 東京大学分子細胞生物学研究所

Institute of Molecular and Cellular Biosciences  
The University of Tokyo  
Overview 2017



<b>ご挨拶 Message from Director</b> .....	2
<b>組織図 Organization Chart</b> .....	3
<b>基幹部門 Core Research Laboratories</b>	
分子情報研究分野 Laboratory of Molecular and Genetic Information .....	4
神経生物学研究分野 Laboratory of Neuroscience .....	6
発生・再生研究分野 Laboratory of Cell Growth and Differentiation .....	8
発生分化構造研究分野 Laboratory of Developmental Biology .....	10
生体有機化学研究分野 Laboratory of Bioorganic Chemistry .....	12
RNA機能研究分野 Laboratory of RNA Function .....	14
神経ネットワーク研究分野 Laboratory of Neural Circuits .....	16
染色体動態研究分野 Laboratory of Chromosome Dynamics .....	18
<b>高難度蛋白質立体構造解析センター Center for Structural Biology of Challenging Proteins</b> .....	20
膜蛋白質解析研究分野 Laboratory of Membrane Proteins .....	22
高難度蛋白質生産研究分野 Laboratory of Protein Expression and Production .....	24
蛋白質複合体解析研究分野 (放射光分野融合国際卓越拠点兼務) Laboratory of Macromolecular Complexes .....	26
<b>エピゲノム疾患研究センター Research Center for Epigenetic Diseases</b> .....	28
ゲノム情報解析研究分野 Laboratory of Genome Structure and Function .....	30
ゲノム再生研究分野 Laboratory of Genome Regeneration .....	32
癌幹細胞制御研究分野 Laboratory of Cancer Stem Cell Biology .....	34
幹細胞制御研究分野 Laboratory of Stem Cell Regulation .....	35
治療戦略研究分野 Laboratory of Drug Discovery Strategy .....	36
病態発生制御研究分野 Laboratory of Pathology and Development .....	38
<b>論文紹介 Articles</b> .....	40
<b>資料 Data</b> .....	56
<b>アクセス Access</b> .....	58

## ご挨拶

2017年4月1日より分子細胞生物学研究所（分生研）所長を拝命しました。分生研は、19分野の精鋭研究室が、生命の神秘を解き明かすべく学際的研究に邁進しています。

私の大切にしている言葉に2002年にノーベル賞を受賞したSydney Brenner博士が科学の進歩について述べた以下の言葉があります。

Progress in science depends on new techniques, new discoveries and new ideas, probably in that order.

新しい技術革新は常に科学の新たな地平線を我々に示してくれます。この言葉通り、従来以上に、各研究者のフロンティアスピリットを尊重し、独自の技術開発やシーズにより生命現象を様々な角度から掘り下げ、新たな発見から、新規コンセプトやアイデアを生み出すような研究を推進していきます。そのため、「生体機能分子の構造と機能の解明」を共通のキーワードとし、これまでにままして構造生物学、生物情報学を駆使し、さらに数理、物理、人工知能研究なども柔軟に取り入れ、定量性を重視した新しい生命科学研究を展開します。

当研究所では染色体、noncoding RNA、膜タンパク、神経系、幹細胞、癌、希少疾患、など多様な研究が展開されています。この利を活かし、内外部の研究者間での分野横断的共同研究開発も活発に行っていくたいと考えています。既に、幾つかの世界に誇れる解析技術を背景に、国内の12の研究機関や大学、さらに欧米を中心とした8つの国の20の研究機関と質の高い国際共同研究が展開されています。特に、タンパク質の高次構造決定を基盤とした生命現象の解明の分野では、放射光分野国際融合卓越拠点とリンクし、物質科学と生命科学の融合した新たな学問として「電子場生物学」を目指すなど、本学の構造生物学のメッカとしての機能も果たしています。今後、これら最先端の研究成果を社会に還元すべく、創薬をはじめとした応用研究、企業との共同研究も活発に行っていきます。

また、最先端の研究の場を生かした教育こそが、次世代の研究者を育成するための最も有効な手段であるとの考えのもと、若手研究者や大学院生の受け入れも積極的に行います。若手研究者の育成ではテニュアトラック制度を最大限活用し、「孤立なき自立」を合言葉に全所一丸となって充実した研究環境と独立の機会をこれまで提供して参りました。年に3回、若手の研究交流会や研究倫理セミナー、統計学セミナーを開催するなど研究交流、教育にも従来通り力を入れていきます。

現在、日本の基礎科学研究が極めて厳しい状況にあることは言うまでもなく、研究の卓越性と多様性を維持することがますます困難な状況に陥っています。このような難局に対処すべく、コアラボの設置、ラボマネージャーの登用による研究の効率化、URAの登用による他大学との連携や企業連携、外部資金の円滑な導入、独自解析技術の一般への提供などを推し進め、研究の幅と予算選択肢の拡充化を図ります。また、優れた外国人研究者を含む外部運営委員会を設置し、定期的な助言を受けつつ、困難な状況下においても研究の卓越性の向上と若手の育成に取り組む所存です。この伝統ある研究所の長を任せられた方には、皆様のご指導を仰ぎながら、研究所の発展、改革、に誠心誠意取り組む覚悟です。また、このような取り組みがひいては日本の科学技術の発展につながればと思います。どうかよろしくお願ひします。

Effective April 1, 2017, I have been appointed as Director of the Institute of Molecular and Cellular Biosciences (IMCB). The IMCB has 19 leading laboratories that pursue interdisciplinary research aimed at elucidating the mysteries of life. I embrace the following statement made by Dr. Sydney Brenner, co-recipient of the 2002 Nobel Prize in Physiology or Medicine: "Progress in science depends on new techniques, new discoveries, and new ideas, probably in that order."

Technological innovation can open new horizons for science. At the IMCB, individual researchers are encouraged to explore new scientific frontiers and address biological phenomena from a variety of perspectives. Technological developments by IMCB scholars, as well as their unique expertise, will assist in new discoveries, which will in turn lead to new ideas and conceptual frameworks, as Dr. Brenner says. Our motto is "to elucidate biomolecular structure and functions." To pursue this goal, we take advantage of our expertise in structural biology and bioinformatics, and investigate new quantitative life science methodologies, incorporating mathematical, physical, and artificial intelligence techniques.

The IMCB hosts a variety of research projects on chromosomes, noncoding RNA, membrane proteins, neurons, stem cells, cancers, and rare diseases, among other topics. Taking advantage of our expertise, I will promote interdisciplinary joint research programs with external researchers. Currently, our world-class analytical platforms have given rise to high-quality joint projects in collaboration with 12 national research facilities, as well as 20 international research institutes located in eight leading countries. In our collaborative efforts with the Global Center of Excellence for Synchrotron Radiation Research on higher-order protein structure, we are seeking to establish a new discipline termed "electric field biology," which merges materials science and bioscience. These projects highlight the importance of our institute as the hub for structural biology research. To translate our cutting-edge research findings into social welfare and benefits, we will actively engage in drug discovery and other forms of applied science in partnership with industry.

The IMCB will proactively recruit junior researchers and graduate students based on the idea that a state-of-the-art research environment can provide the most effective education and training for the next generation of researchers. To promote "independence without isolation," we have maximized our junior researchers' chances to obtain tenure-track positions, by providing opportunities for creative independence in a full-fledged research environment. We will continue to support the academic development of junior researchers by hosting three workshops per year, on topics such as research ethics, statistical analytical methods, and research exchange. The Japanese Government's stringent funding for basic scientific research makes it increasingly difficult to maintain research excellence and diversity. To cope with this situation, we will take measures to expand the range of our research while exploring new avenues for funding. Such measures include: (i) streamlining research by establishing core laboratories and assigning laboratory managers; (ii) facilitating external funding through joint research projects with other academic institutions and private-sector partners under the leadership of the university research administrator; and (iii) providing contract analysis services that involve in-house technologies. In addition, the IMCB will establish an Independent Advisory Committee that includes one or more renowned overseas researchers among its members. This committee will regularly make recommendations and suggestions concerning the operations of the IMCB. In this challenging era for academic research organizations, I am determined to take necessary steps to maximize our research excellence while fostering young scientists.

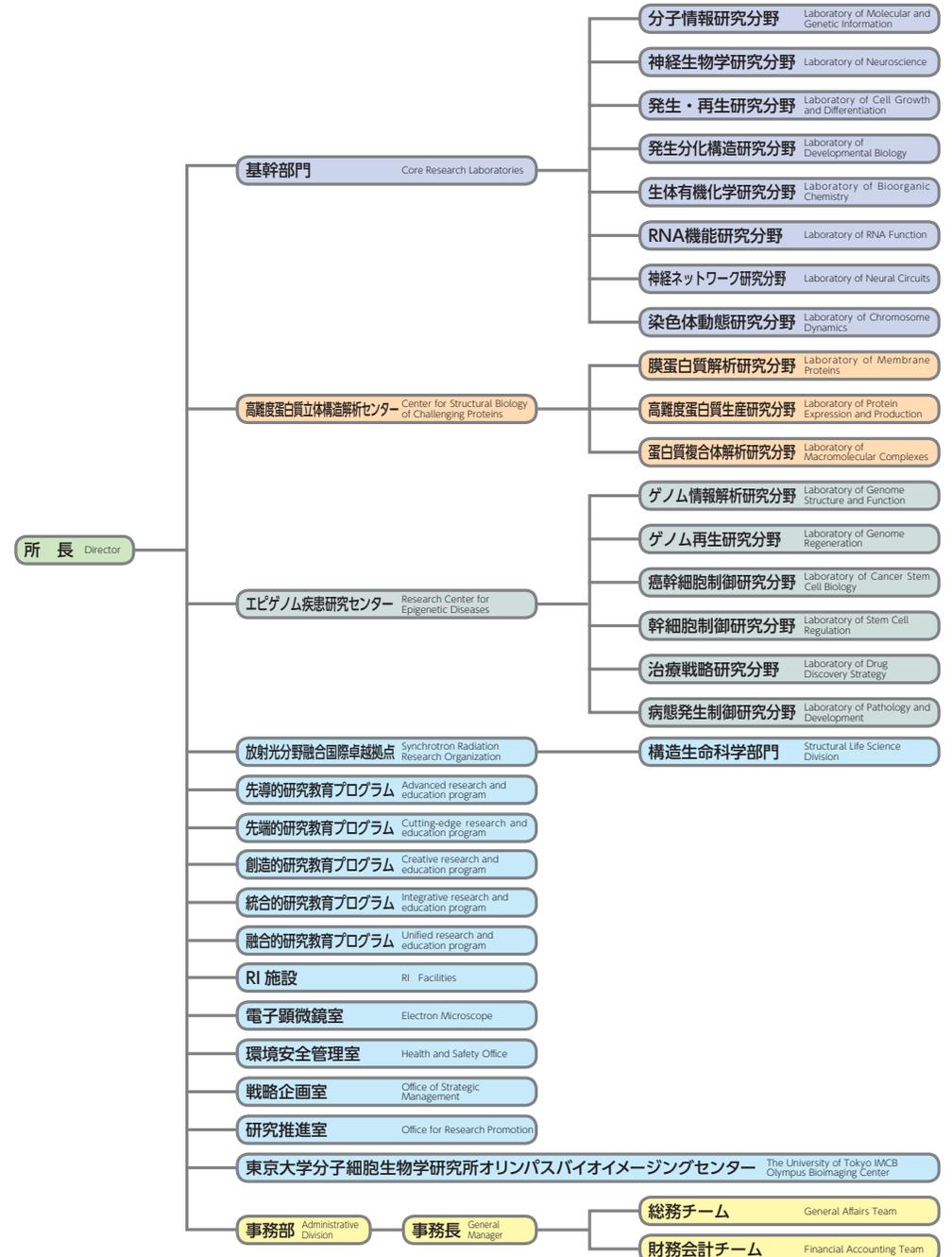
It is my honor to be appointed as Director of the IMCB, an institution with a distinguished history of scholarship and achievement. With your support and advice, I will do my best to advance and improve this organization. It is my hope that such efforts will contribute to scientific development in Japan. I cordially ask for your understanding and support.

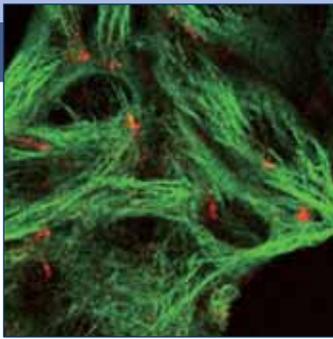
平成29年10月



東京大学分子細胞生物学研究所長 白髭 克彦

## 組織図





## 分子情報研究分野

細胞の増殖、分化、癌化の機構を明らかにすることを目的に研究を進めています。癌幹細胞が微小環境と相互作用して自己複製・分化する分子機構を明らかにし、新たな分子標的薬を開発するための基礎研究を行っています。

Most of our research is focused on the elucidation of the molecular mechanisms of cell growth, differentiation, tumorigenesis and cancer stem cell self-renewal and differentiation.

### 細胞の増殖・分化・癌化

細胞が癌化する仕組みは長い間謎でしたが、分子生物学が進歩した結果、癌は遺伝子の病気で癌遺伝子、癌抑制遺伝子、修復遺伝子に異常が生じることによって発症することが明らかになりました。さらに最近、癌細胞は均一でなく、ごく一部の癌幹細胞と呼ばれる細胞のみが強い造腫瘍性をもつと考えられるようになりました。本研究分野では、癌幹細胞が微小環境と相互作用して自己複製・分化する分子機構を明らかにし、分子標的薬を開発するための基礎研究を行っています。また、癌遺伝子や癌抑制遺伝子の機能を解析し、細胞の増殖、分化、発癌の機構を分子レベルで明らかにするための研究を進めています。さらに蛋白質だけでなく、蛋白質をコードしないRNAの細胞癌化における役割についても研究を進めています。

#### 癌幹細胞の解析

癌幹細胞は、薬剤や放射線に抵抗性で、強い造腫瘍能を維持したまま自己複製する能力があると考えられています。しかし、腫瘍を形成する細胞中に癌幹細胞が占める割合は少なく、ほとんどは（異常に）分化して造腫瘍能の低下した癌細胞として増殖します。化学療法や放射線治療によって一時的に癌が退縮しても再発してくるのは、大部分の造腫瘍能の低下した癌細胞が死滅しても一部の癌幹細胞が生き残っているからではないかと考えられています。癌幹細胞の実体を明らかにすることは現在の癌研究の最も重要な課題の一つであると考え、癌幹細胞が微小環境と相互作用して自己複製・分化する分子機構を明らかにすることを目的として研究を進めています。

#### 癌抑制遺伝子およびnon-coding RNAの異常と癌化

我々は、大腸がんの癌抑制遺伝子APCが、 $\beta$ -cateninの分解を誘導してWntシグナルを抑制すると同時にRac、Cdc42を標的とするGEF分子Asefを活性化して運動能の亢進を引き起こすことを見出しました。大腸癌で見出される変異型APCはAsefを活性化することにより腺腫の形成を促進します。また、Asefは癌の血管新生にも重要な役割を果たしています。APC、Asefなどの機能を解析し、大腸癌発症の分子機構を明らかにしようとしています。

p53遺伝子は、最も注目されている癌抑制遺伝子で、ほとんどのヒト腫瘍で高頻度に異常が見出されています。p53はターゲット遺伝子の転写を調節することにより細胞周期やア

ポトーシスを制御していることが知られています。p53によるアポトーシスの誘導に極めて重要な役割を果たす新規蛋白質を見出したので、その機能を分子、細胞、個体レベルで明らかにし、Non-coding RNAがこれらの過程で重要な役割を果たしていることも見出しているのであわせて解析しています。

#### 神経細胞における癌抑制遺伝子産物と記憶、学習、情動

シナプスに存在するイオンチャンネルや接着分子複合体中に含まれている癌抑制遺伝子産物およびその関連蛋白質の機能解析を通して、学習、記憶、情動の分子機構を明らかにしています。

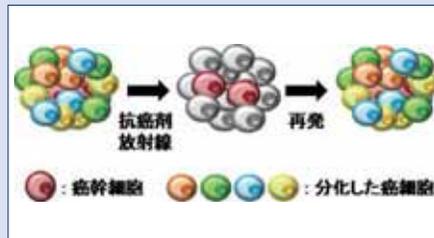


図1

図1  
癌幹細胞は抗癌剤耐性で癌の再発や転移の元凶です。  
Fig.1

Tumor stem cells are resistant to chemotherapy and possess the ability to metastasize to distant sites.

## Laboratory of Molecular and Genetic Information

Professor 授 Tetsu AKIYAMA, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
秋山 徹 (医学博士)  
Lecturer 助 山角 祐介 (博士(農学))  
Tsutomu NAKAMURA, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
講師 中村 勉 (博士(医学))  
先導的研究教育プログラム  
Research Associate Yuusuke YAMAZUMI, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
助 教 山角 祐介 (博士(農学))  
Technical Staff 技術職員 武田 泰子  
Yasuko TAKEDA

直通電話 : 03-5841-7834  
FAX : 03-5841-8482  
E-mail : akiyama@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/5ken/index.html

### Cell growth, differentiation and tumorigenesis.

Major research activities of this laboratory are concentrated on the elucidation of the molecular mechanisms of cell growth, differentiation and tumorigenesis.

#### Cancer stem cells

Recent studies suggest that only a small population within the tumor mass, called cancer stem cells, has true tumorigenic potential. Therefore, cancer stem cells could be critical targets for cancer chemotherapy. We are focusing our investigation on the elucidation of the

molecular mechanisms of cancer stem cell self-renewal and differentiation.

#### APC, p53 and non-coding RNA

Mutations of the tumor suppressor adenomatous polyposis coli (APC) are responsible for most colorectal tumors. We found that Axin associated with APC induces degradation of  $\beta$ -catenin. Furthermore, we found that truncated mutant APCs present in colorectal tumor cells activate the guanine nucleotide exchange factor Asef constitutively and cause aberrant migration and invasion. Our recent studies have revealed that Asef contributes to tumorigenesis both by inducing aberrant migration and invasion of tumor cells and by promoting tumor angiogenesis. We speculate that compounds that target Asef might be good candidates for novel anti-tumor reagents.

Gene expression is regulated by multiple mechanisms, including regulation of transcription and mRNA stability. In response to stress signals, the tumor suppressor p53 induces cell cycle arrest, DNA repair, senescence and apoptosis by regulating the transcription of target genes. We have recently found that p53 induces an RNA-binding protein, termed D8, which plays a critical role in p53-induced apoptosis by stabilizing mRNA. We are investigating the mechanism of D8-induced apoptosis.

#### Role of the tumor suppressor gene products in the central nervous system.



図2

図2  
大腸癌組織に存在するCD44陽性細胞は造腫瘍性が高く、癌幹細胞を多く含む細胞集団であると考えられます。矢印は腫瘍を示します。  
Fig.2

CD44+ population from human colon tumors are enriched in tumorigenic cancer stem cells. Arrowhead indicates a tumor in nude mouse.

## 神経生物学研究分野

ショウジョウバエをモデルとして、記憶形成のメカニズムを明らかにします。

The research in my laboratory focuses primarily on the question of how and where a memory is formed, stored and retrieved in the *Drosophila* brain.

## Laboratory of Neuroscience

Professor 授 Tetsuya TABATA, Ph.D. 多羽田哲也 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 Research Associate 助 教 Daisuke YAMAZAKI, Ph.D. 山崎 大介 (理学) 理学系研究科・生物科学専攻  
 Research Associate 助 教 Makoto HIROI, Ph.D. 廣井 誠 (博士(理学)、外国の博士号) 理学系研究科・生物科学専攻

先端的研究教育プログラム  
 Research Associate 助 教 Takashi ABE, Ph.D. 阿部 崇志 (博士(理学))

先端的研究教育プログラム  
 Research Associate 助 教 Kazumichi SHIMIZU, Ph.D. 清水 一道 (博士(理学))  
 Technical Specialist 技術専門職員 Yuko MAEYAMA, M.Sc. 前山 有子 (修士(理学))

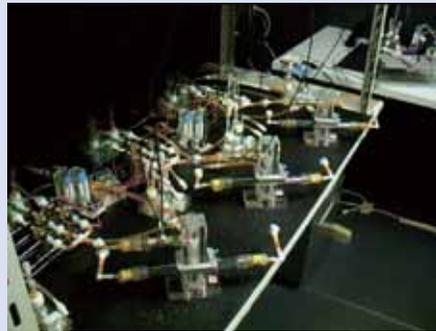
直通電話 : 03-5841-7886  
 FAX : 03-5841-8479  
 E-mail : ttabata@iam.u-tokyo.ac.jp  
<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/fly/>



### ショウジョウバエのキノコ体神経

#### ショウジョウバエの記憶メカニズムを探る

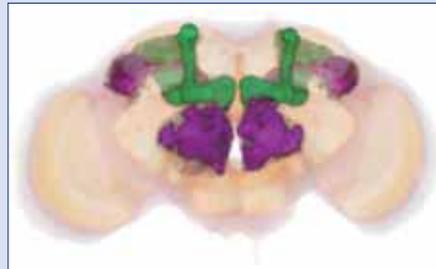
パプロフの犬で知られるような、2つの刺激を結びつける連合記憶学習は単純な記憶の一形態であり、昨日のできごとを思い出すこととメカニズムを共有していると考えられます。ショウジョウバエでは匂い記憶学習が広く研究され、本研究室ではこの匂い記憶の中枢であるキノコ体神経を中心として、神経回路形成と匂い記憶形成機構の統合的な理解をはかることを研究テーマとしています。記憶が、どのような分子を用いてどのような形で、どこに貯蔵されているのか、理解したいと考えています。ショウジョウバエを対象とすることで、個々の細胞、シナプスレベルで、このような記憶の分子が働く場を同定することが可能です。個々の神経細胞の活性を制御することで、記憶回路のロジックを探っています。また、顕微鏡下でショウジョウバエの記憶形成を再現し、その時に機能する神経系の働きを解析しています。Ca<sup>2+</sup>濃度変化、蛋白質のリン酸化あるいは転写活性などを指標として“記憶痕跡”を探ることにより1細胞レベルで、記憶する細胞を観察し、そこに働く分子メカニズムを理解したいと思っています。



図A1

### 脳における形(神経回路)と用(脳機能)

神経回路の基本設計はゲノムにコードされており、それは神経回路を作る発生過程を通して具現化されるといえます。言い換えれば、ゲノムに見ることができる脳の動きは、どのような神経回路をデザインし、そこにどのような神経細胞を配置するかという発生プログラムです。脳の動きによりその個体の行動が規定されているとするならば、長い進化の過程で脳機能による淘汰のフィードバックを受けており、それは脳の神経回路を作るメカニズムにも反映されているはずで、その情報は何らかの形でゲノムに書かれています。そこには、ついに、私たちの今日の思考、感情を支える脳を産み出すにいたった進化の痕跡が蓄積されているはずで、このように、神経回路(形)と機能(用)は、茶碗が茶を飲むという用途に従った形をしているように、表裏一体であり、脳機能発現の全貌を理解するためにはゲノムに統合されているこの形と用という情報を統合的に読み解くことが必要です。そのために、神経回路の機能と、それを形成するメカニズムの両者を理解することを目的にショウジョウバエをモデルとして記憶形成機構の研究を行っています。

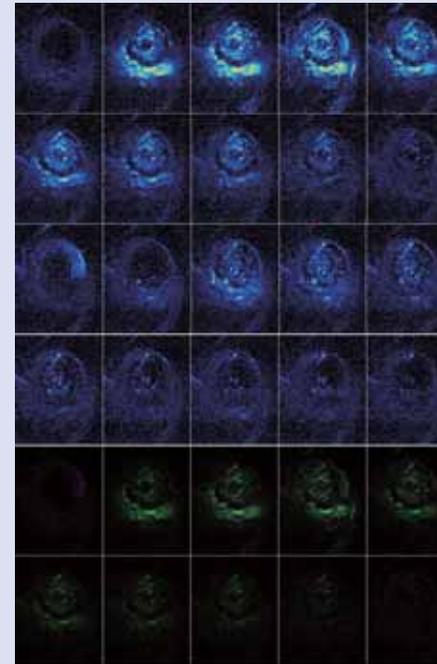


図A2

#### 図 記憶形成機構を探る

(A1) ショウジョウバエの匂い記憶学習における条件付けを半自動化する装置を作製した。これを用いることで再現性良く多くのサンプルを対象として記憶形成能を調べることができる。

(A2) ショウジョウバエの嗅覚中枢  
 (B) Ca<sup>2+</sup>イメージングによるキノコ体における神経活動の可視化。



図B

#### Fig. Memory formation

(A1) We have devised a semi-automated conditioning apparatus that permits the delivery of odor and shock to be computationally controlled. It can train multiple samples at a time, is low-cost and simple to build, and can induce short-term or long-term memory. (A2) Olfactory center of *Drosophila*  
 (B) Ca<sup>2+</sup> imaging of neural activities in the mushroom body.

### Drosophila memory formation

The brain function relies on its neural circuits, which are designed largely by developmental programs encoded in the genome. In other words, brain function is encoded in the genome as mechanisms that underlie circuit formation. In order to determine the molecular basis of brain function, both the physiological and developmental mechanisms of neural circuits must be studied. *Drosophila* can form an association between a particular odor and an electric shock, acquiring a conditional avoidance response to the odor. This is a simple form of memory termed aversive memory. Similarly, *Drosophila* can form a memory by associating an odor with the taste of sugar in a process called appetitive memory. The research in my laboratory focuses primarily on the question of how and where a memory is formed, stored and retrieved in the *Drosophila* brain. The study of *Drosophila* olfactory learning offers the advantages of simple neural circuits and advanced molecular genetics, allowing us to identify the synapses that provide plasticity and transduce critical signals. We are currently focusing on the neuropile called the mushroom body, which is thought to function as a coincidence detector during olfactory learning. The mushroom body consists of many types of neurons, of which major lobes called  $\gamma$ ,  $a/\beta$  and  $\alpha/\beta$  are thought to serve, at least in part, as units of the neuropile. Each plays a role in a different step of memory formation –for example, acquisition, consolidation and retrieval– indicating that memory formation can be divided into several stages and that each of these stages is performed by a distinct unit. In addition, these lobes develop in a sequential manner following the order of the stages of memory formation for which they are responsible. This ordered development prompts us to infer the possibility that each component of memory formation evolved independently and then became organized such that the organisms could form memories and improve their adaptive strategy.

Our projects include identification of the genetic mechanisms underlying aversive and appetitive memory formation and understanding the developmental mechanisms that form relevant neural circuits. To this end, we utilize various strategies and techniques, such as genome-wide RNAi screening, transcriptome and live imaging.

*J. Neuroscience*, 37, 5496-5510, 2017. *FEBS open Bio*, 7, 562-576, 2017. *Development*, 141, 4716-4728, 2014. *Genes Cells*, 18, 1070-1081, 2013. *J. Neuroscience*, 31, 4944-4954, 2011. *Development*, 137, 3303-3313, 2010. *Development*, 137, 3193-3203, 2010. *J. Neurosci. Methods*, 188 195-204, 2010. *Development*, 135, 1471-1480, 2008. *Developmental Biology*, 318, 247-257, 2008. *Development*, 134, 1539-1548, 2007. *Nature Neuroscience*, 9, 67-75, 2006. *Development*, 133, 791-800, 2006. *Development*, 132, 4587-4598, 2005. *Development*, 131, 703-712, 2004. *Development*, 131, 73-82, 2004. *Nature Reviews Genetics*, 2, 620-630, 2001. *Development*, 128, 67-74, 2001. *Mol. Cell*, 5, 59-71, 2000. *Nature*, 398, 242-246, 1999. *Nature*, 389, 627-631, 1997



## 発生・再生研究分野

肝臓の構成細胞の分離・培養および遺伝子改変マウスを基盤技術として肝臓の障害と再生のメカニズムの解析を行うとともに、iPS細胞から肝臓細胞および膵臓細胞への分化系を開発しています。

Mechanism of the liver inflammation and regeneration and generation of liver and pancreatic cells from human iPS cells.

### 肝臓の前駆細胞と肝再生

胎生中期に前腸上皮細胞から発生する肝芽細胞は、肝臓の諸機能を担う肝細胞と胆管に分化する肝臓の前駆細胞であり、内皮細胞や間葉系細胞と共に肝臓原基を形成します。当研究室では、肝芽細胞はじめ肝臓を構成する各種の細胞を分離・培養するシステムを開発し、それらが有機的に相互作用しながら成熟肝臓を形成する機構、病態と再生機構の解明に取り組んでいます。

成体肝臓は再生能力を備えたユニークな臓器であり、外科的に肝臓の一部を切除した場合には、残存肝細胞の肥大と増殖により肝臓は元の大きさに戻ります。一方、薬剤などによる慢性肝障害においては、門脈周囲にて肝前駆細胞様の細胞が増殖する胆管増生や細胆管反応 (ductular reaction) と呼ばれる現象が知られています。当研究室では、この前駆細胞の分離法や胆管構造の可視化法の開発などにより、その出現と増殖に関する因子の同定や、障害により胆管構造が著しくリモデリングを起こすことなどを明らかにしており、この胆管リモデリングの生理的意義の解明に取り組んでいます。また、肝臓はウイルス感染や代謝異常など様々な原因による肝炎が慢性化すると、線維化、肝硬変を経てしばしば肝臓癌へと移行します。肝線維化はこのような肝疾患の進行における非常に重要なステップであり、そのメカニズムの解明を目指しています。

### iPS細胞の分化誘導系

iPS細胞を使った再生医療や創薬研究には、細胞分化誘導系の開発が必須です。当研究室では、肝臓や膵臓の発生過程を模倣した機能的な肝臓細胞や膵臓細胞の分化誘導系の開発を行っています。すでに、増殖性の肝前駆細胞をヒトiPS細胞から誘導して、それを機能的肝細胞へと分化成熟させるシステムやインスリン産生細胞を分化誘導することに成功しており、こうした技術を使った創薬研究や再生医療への展開を目指しています。

### Liver Development, Pathogenesis and Regeneration

The liver consists of parenchymal hepatocytes with various non-parenchymal cells, including endothelial cells, mesenchymal cells, mesothelial cells and blood cells. We have developed methods to isolate each type of liver cells and used them to dissect cellular interactions during development, pathogenesis and regeneration. During development, hepatoblasts emerge from the foregut endoderm and differentiate to hepatocytes and bile ducts and are considered liver stem/progenitor cells. In adult, the liver is known as a unique organ capable of regeneration. Upon surgical removal of a portion of the liver, the remaining hepatocytes enlarge and replicate to repair, whereas liver progenitor cells, also known as oval cells, emerge in response to several kinds of severe liver injury. We have been characterizing those liver progenitors and dissecting the mechanism of their development. Moreover, chronic liver injury often leads to fibrosis, cirrhosis and carcinogenesis. We are also interested in molecular mechanisms underlying pathogenesis and regeneration.

### Differentiation of iPS cells to liver and pancreatic cells

Development of a system to prepare sufficient quantity of functional cells is essential for the application of iPS cells. We have developed culture systems to generate functional hepatocytes and insulin-producing pancreatic  $\beta$  cells from human iPS cells. We are currently trying to apply those cells for regenerative medicine and drug discovery.

## Laboratory of Cell Growth and Differentiation

Professor 教授 Atsushi MIYAJIMA, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
宮島 篤 (理学博士) 新領域創成科学研究科・メデイカル情報生命専攻

Associate Professor 准教授 Takuru ITOH, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
伊藤 暢 (博士(理学))

Research Associate 助教 Taketomo KIDO, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
木戸 丈友 (博士(農学))

Technical Specialist 技術専門職員 Eiko SAJIJOU, Ph.D. 西條 栄子 (博士(理学))

直通電話 : 03-5841-7884, 7889  
FAX : 03-5841-8475  
E-mail : miyajima@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/cytokine/

- Enomoto Y, et al. HBV-induced exosomal miRNAs down-regulated expression of IL-21 mRNA by targeting its 3' UTR sequences. *Scientific Reports*, 2017 Aug 10;7(1):7780.
- Katsumata L, Miyajima A, and Itoh T. Portal fibroblasts marked by the surface antigen Thy1 contribute to pathogenesis of liver fibrosis in mouse models of cholestatic liver injury. *Hepatology Communications*. 22 March 2017. Vol:1,198-214
- Kouji Y, Kido T, et al. An in vitro human liver model by iPSC-derived parenchymal and non-parenchymal cells. *Stem Cell Rep*. 9, 1-9, 2017.
- Miyamura N, et al. YAP determines the cell fate of injured mouse hepatocytes in vivo. *Nature Comm*. 2017. Jul 6:8:16017.
- Kiniwa T et al. NK cells activated by Interleukin-4 in cooperation with Interleukin-15 exhibit distinctive characteristics. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 113.10139-10144, 2016.
- Kamimoto K et al. Heterogeneous and stochastic growth regulation of biliary epithelial cells dictate dynamic epithelial tissue remodeling. *eLife* 2016;5:e15034
- Kido T et al. CPM is a useful cell surface marker to isolate expandable bi-potential liver progenitor cells derived from human iPS cells. *Stem Cell Reports* 5, 508-515, 2015.
- Kaneko K, et al. Adaptive remodeling of the biliary architecture underlies liver homeostasis. *Hepatology* 61, 2056-2066, 2015.
- Miyajima A, et al. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration and reprogramming. *Cell Stem Cell* 14, 561-574, 2014.

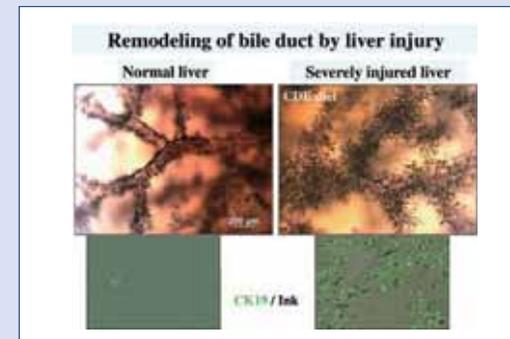


図1  
薬剤などによる肝障害時には、門脈周囲に胆管のマーカーを発現する肝前駆細胞が出現する胆管増生という現象が組織切片での解析から指摘されていた。当研究室では、胆管の可視化により胆管増生は胆管のリモデリングであることを示した。上段：インクを胆管に注入して胆管を可視化。肝障害により胆管の形態変化が誘導されている。下段：胆管マーカーのCK19を発現している細胞には胆管に注入したインクが到達している。すなわち、2次元元のCK19スポットは全て胆管に接続していることを示している。  
Fig. 1

In liver injuries caused by hepatotoxin, duct marker positive liver progenitors appear around the portal vein, which is known as ductular reaction. By injecting ink through common bile duct, fine ductular structures are observed. After injury branching of bile ducts is dramatically increased. CK19 is a bile duct marker and those CK19 positive cells are stained with ink, indicating the CK19 cells on 2 dimensional analysis is indeed connected to bile ducts.

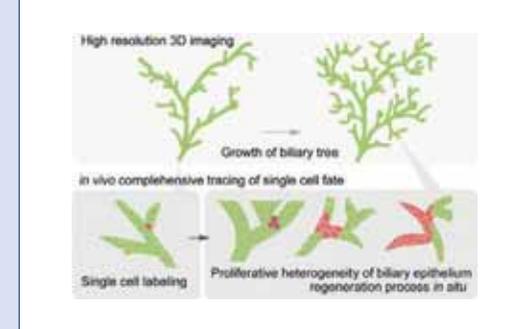


図2  
胆管増生において、細胞の挙動を単一細胞の標識により追跡することで、増殖能の高い細胞とほとんど増殖しない細胞が混在するheterogeneityが明らかになった。さらに、増殖性細胞は胆管樹枝構造の末端部に存在していた。  
Fig. 2

In ductular reaction, cell fate tracking by single cell labeling revealed that biliary cells are heterogeneous in their proliferation potential and that highly proliferative cells are present in the periphery of the biliary tree.



# 発生分化構造研究分野

# Laboratory of Developmental Biology

増殖・発生・分化などの生命現象は細胞の維持・変換の上に成立し、それら事象は、DNA複製やRNA合成が基盤になっている。真核生物では、その制御にヒストンが加わり、セントラルドグマにおける新しい枠組みが必要となりました。 Biological phenomena are mainly regulated through the maintenance and conversion of cell function based on replication and transcription. Since these are regulated by nucleosome structure, novel theoretical frameworks are desirable.

Associate professor Masami HORIKOSHI, Ph.D. Pharmaceutical Sciences  
准 教授 堀越 正美 (薬学博士) 薬学系研究科・薬科学専攻

内線 : 28469, 28470, 27857  
直通電話 : 03-5841-8469  
03-5841-8470  
03-5841-7857  
FAX : 03-5841-8468  
E-mail : horikoshi@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/homasami/index.html

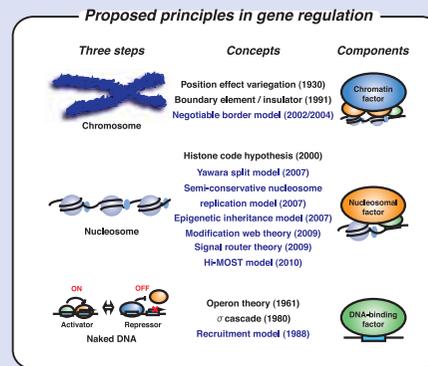
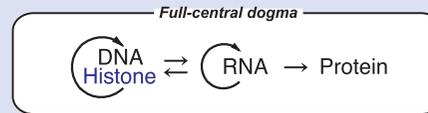
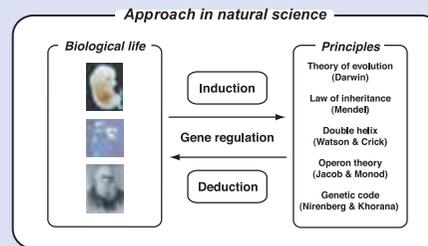
## 真核生物の遺伝情報制御機構に関する概念的枠組みの解明に向けての取組み

細胞の運命は遺伝情報の維持及び発現変換により決定されています。二重らせんDNA構造 (Nature, 171, 737 (1953)), オペロン説 (J. Mol. Biol., 3, 318 (1961)), 遺伝暗号 (PNAS, 47, 1588 (1961)) など生命情報の維持・変換の原理が見出され、それら原理に基づいた各論研究がその後主流になりました。今後、生命現象に関する基本原理の発見は行われるのでしょうか? 研究分野主任の堀越は、真核生物の転写制御機構研究を行い、世界をリードする経験を重ね、未踏分野であったクロマチン研究に着手しました。真核生物DNAはヌクレオソームが基本構造単位であるため (Science, 184, 868 (1974)), ヒストンの出現により、遺伝情報制御の基本的枠組みはどうなったのでしょうか?

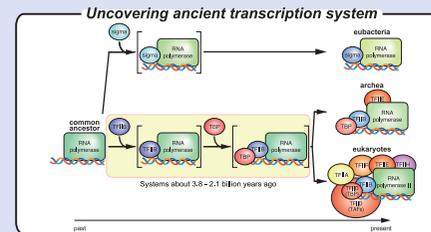
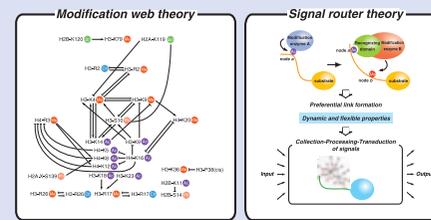
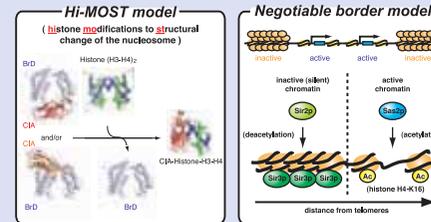
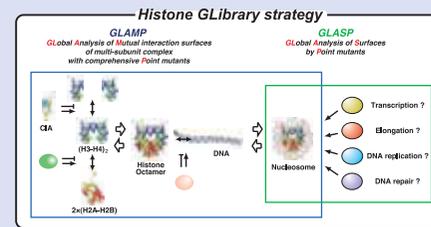
新しい枠組みを担う因子を得るため、ヒストンフォールドを有するTFIIDの機能未知ドメインを用い、類を見ない種類の新規相互作用因子の単離・機能解析に成功しています。それら因子を用いて、染色体機能領域・境界領域の決定機構モデル "Negotiable border model" (Nature Genet., 32, 370 (2002)), (H3-H4)<sub>2</sub> 四量体からH3-H4二量体への分割活性を見出した上で、"Yawara split model" "Semi-conservative nucleosome replication model" "Epigenetic inheritance model" (Nature, 446, 338 (2007)), ヒストン化学修飾からヌクレオソーム構造変換を通しての転写活性化モデル "Hi-MOST model" (PNAS, 107, 8153 (2010)) を相次いで提唱することができました。

遺伝情報制御の中心因子ヒストンの全アミノ酸に点変異を導入し、機能解析する戦略をとり (Genes Cells, 12, 13 (2007), Genes Cells, 14, 1271 (2009)), 網羅的 point 変異体解析からテイル領域の化学修飾残基が細胞増殖に影響を与えないという, "Histone code hypothesis" に大きく矛盾する知見を得、ヒストン化学修飾システムが頑強性を有する構造であることを見出しました ("Modification web theory")。また、"Modification web" の基盤となる不定形構造が、情報の受容、処理、伝達を一括し、"web" 構造の形成、成長、進化を担う "Signal router theory" を提唱し、真核生物蛋白質の約50%以上を占める不定形構造の生理的機能意義を明らかにしました (Genes Cells, 14, 789 (2009))。

競合研究者 (P. Chambon, R.M. Evans, G. Felsenfeld, M. Grunstein, L. Guarente, S.P. Jackson, R.D. Kornberg, M. Ptashne, R.G. Roeder, P.A. Sharp, B. Stillman, K.R. Yamamoto) の外部評価では、オリジナリティー溢れる成果と評価され、科学界が社会である欧米と科学追随社会である日本では評価内容に温度差がありました (分生研ホームページに評価の一部が掲載されています)。



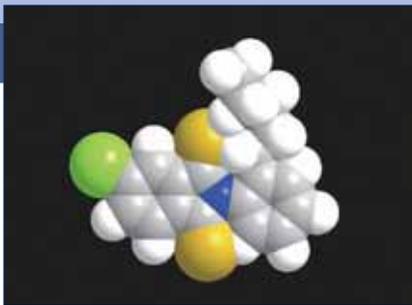
(上図) 自然科学の基本原則 (例: 進化論、遺伝の法則、セントラルドグマ) を見出すための根本的な戦略  
(中図) 生物学のセントラルドグマの仕組みの完成に向けて (ヒストンの登場によって生まれたであろう仕組みの解明)  
(下図) 遺伝子制御研究により見出された基本原理と当研究分野の貢献 (根本的な原理を生み出す戦略によって生み出された研究成果: 青色が当研究分野の成果)



## Establishment of novel frameworks on gene regulation

Horikoshi was devoted to the leading-edge study on eukaryotic transcription in his early days as a scientist. Then, his focus was shifted to chromatin, which recently drew the attention of researchers and has been actively studied. He was far ahead of his time. In the chromatin study, he tried to obtain novel components that would play roles in eukaryotic gene regulation. He was and has been eager for novel principles and concepts that can illustrate gene regulation at nucleosome, chromatin, and chromosome levels. Using the functionally unidentified domains of TFIID and GTF subunits, he succeeded in isolation and functional analyses of numerous kinds of novel factors, yielding important structural, functional, mechanistic, and phylogenetic principles.

(References for further understanding)  
1. Sci. Rep., 6, 27922 (2016) 2. J. Biol. Chem., 290, 28760-28777 (2015) 3. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 111, 699-704 (2014) 4. Curr. Pharm. Design, 19, 5019-5042 (2013) 5. Genes Cells, 17, 65 (2012) 6. Genes Cells, 16, 1050 (2011) 7. J. Biol. Chem., 286, 30504 (2011) 8. EMBO J., 30, 3353 (2011) 9. Genes Cells, 16, 590 (2011) 10. Genes Cells, 15, 945 (2010) 11. Genes Cells, 15, 553 (2010) 12. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 107, 8153 (2010) 13. Genes Cells, 14, 1271 (2009) 14. Genes Cells, 14, 789 (2009) 15. J. Mol. Biol., 378, 987 (2008) 16. Mol. Cell. Biol., 28, 1171 (2008) 17. J. Biol. Chem., 282, 9895 (2007) 18. Nature, 446, 338 (2007) 19. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 104, 4285 (2007) 20. J. Biol. Chem., 282, 4193 (2007) 21. J. Mol. Biol., 365, 1047 (2007) 22. Genes Cells, 12, 13 (2007) 23. Nature Struct. Mol. Biol., 13, 331 (2006) 24. J. Biol. Chem., 280, 12123 (2005) 25. Genes Cells, 9, 499 (2004) 26. Nature Struct. Mol. Biol., 11, 275 (2004) 27. J. Biol. Chem., 279, 9615 (2004) 28. J. Biol. Chem., 279, 1546 (2004) 29. Mol. Cell. Biol., 23, 8528 (2003) 30. J. Biol. Chem., 278, 35660 (2003) 31. J. Biol. Chem., 278, 28758 (2003) 32. Nature Genet., 32, 370 (2002) 33. J. Biol. Chem., 277, 35688 (2002) 34. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 99, 9334 (2002) 35. Mol. Cell. Biol., 22, 4815 (2002) 36. Genes Cells, 6, 1043 (2001) 37. Cell, 102, 463 (2000) 38. Genes Cells, 5, 221 (2000) 39. Genes Cells, 5, 29 (2000) 40. FEBS Lett., 431, 131 (1998) 41. J. Biol. Chem., 272, 30595 (1997) 42. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 94, 85 (1997) 43. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92, 8195 (1995) 44. Nature, 369, 252 (1994) 45. Nature, 367, 484 (1994) 46. Science, 261, 463 (1993) 47. Nature, 363, 744 (1993) 48. Genes Dev., 7, 1033 (1993) 49. Nature, 362, 179 (1993) 50. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 89, 11809 (1992) 51. Nature, 360, 40 (1992) 52. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 89, 2844 (1992) 53. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 89, 1060 (1992) 54. Cell, 67, 1241 (1991) 55. Nature, 354, 401 (1991) 56. Nature, 354, 398 (1991) 57. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88, 9553 (1991) 58. Science, 251, 1476 (1991) 59. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87, 9163 (1990) 60. Nature, 348, 86 (1990) 61. Nature, 346, 390 (1990) 62. Nature, 346, 387 (1990) 63. Cell, 61, 1171 (1990) 64. Cell, 61, 475 (1990) 65. Nature, 341, 299 (1989) 66. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 86, 4843 (1989) 67. Cell, 54, 1043 (1988) 68. Cell, 54, 1033 (1988) 69. Cell, 54, 665 (1988) 70. J. Biol. Chem., 262, 3322 (1987) 71. J. Biol. Chem., 260, 5739 (1985) 72. J. Biol. Chem., 259, 608 (1984)



## 生体有機化学研究分野

医薬化学、ケミカルバイオロジーの領域に貢献する多標的／多機能型小分子化合物の創製：その手法としてのマルチテンプレートならびにドラマタイプアプローチ

Molecular design, synthesis and structural development studies of bioresponse modifiers based on multi-template and dramatype approaches.

### 多標的／多機能生体活性物質の創製

医薬に代表される生体活性物質の主な標的（薬物受容体）はタンパク質です。本研究分野ではこれまでに、生体活性物質の創製手法として、マルチテンプレート法ならびにドラマタイプ法を発信してきました。

#### 【ドラマタイプ (dramatype) アプローチ】

ドラマタイプ法は、タンパク質の動的状態の制御に基盤をおいたアプローチです。応用的側面としては念頭に、ニーマン・ピック病C型や網膜色素変性症をはじめとする幾多のフォールド異常症があります。これらの疾病は、特定の疾患関連タンパク質の細胞内／膜での局在や寿命（存在時期・時間や、蓄積・消失）が異常なために引き起こされる疾病です。そこで、(1) タンパク質のフォールド異常（位置／トポロキシングや機能の異常）を正常化・修正する小分子生体活性物質、(2) タンパク質の細胞内分解を促進または遅延する小分子生体活性物質（時間的異常の修正）、等の創製研究を行っています。このことによって、単に酵素・受容体などの阻害剤というカテゴリーを超えて、タンパク質の位置的・時間的制御に基づく治療戦略・創製法を確立するのが最終到達目標です。

#### 【マルチテンプレート (multi-template) アプローチ】

ヒトのタンパク質は5～7万種存在するといわれています。しかし、それらのドメイン構造を、化学的性質（アミノ酸配列）を無視した形状（フォールド構造）に着目すると、基本構造は1000種程度に限られるとされています。マルチテンプレート法は、特定のフォールド構造が、複数のタンパク質に化学的な性質を変えて分布することに基盤をおいたアプローチです。あるフォールド構造に注目し、これに適合する小分子骨格をテンプレートに設定し、さまざまな化学修飾を施せば、多種多様なタンパク質に対して選択性的なリガンドを創製することができます。このアプローチは生体活性物質を探索・創製する際に有用な、質の高い化合物ライブラリーの構築法の基盤技術の一つになると考えています。ごく最近、医薬開発に領域で、複数の薬物受容体を同時に標的とする創製手法が注目されだし、ショットガンアプローチ、あるいは多重薬理 (polypharmacology) 技術と呼ばれています。マルチテンプレート法は、特にこうした新技術に威力を発揮します。また現在、マルチテンプレート手法に元素化学のアプローチを応用した、独創的かつ合理的な生体活性分子創製法の提案を行っています。

### Multi-target/function bio-active compounds

The aims of this laboratory are to discover and produce new bio-active compounds based on bio-organic and medicinal chemistry, and to use them to gain an understanding of life phenomena. As methodology, two approaches named “multi-template approach” and “dramatype approach” are being applied.

“Dramatype approach” : Many life phenomena are controlled by the expression, localization, and degradation of proteins. Thus far, research on chemical control of the expression of proteins has succeeded in discovering and producing various nuclear receptor ligands. At the same time, functional molecules that regulate life phenomena through modification of proteolysis have been designed and produced. It has become possible to destroy target proteins at any time, and this is expected to serve as a new technique for the functional analysis of proteins within cells. Our objective is to use the tools we have discovered to elucidate the bioresponse network. In addition, we are designing and synthesizing molecules that control the folding process of proteins. These are compounds that control dynamic structure-based function of proteins, and they will open up new domains in medicinal chemistry of bioresponse modifiers.

“Multi-template approach” : Almost all of the target molecules of bio-active compounds are proteins. There exists fifty to seventy thousands different proteins in our body. Although the number of the human proteins are such a so large, their fold structures, *i.e.*, three-dimensional spatial structures ignoring chemical nature of amino acid side chains, are thought to be far better conserved in evolution than the amino acid sequences. Progress in structural biology and molecular evolution researches concluded that, the number of the fold structure types are quite limited to as few as approximately only one thousand. Therefore, a given single fold structure might be characteristic of, and distributed to, 50 to 70 human proteins on average, and one might expect that a single scaffold structure which is spatially complementary to one fold structure might serve as a multi-template for structural development of ligands that would specifically interact with 50 to 70 different human proteins. The multi-template approach should be applicable to recently evolving technique called shotgun approach and/or polypharmacology.

## Laboratory of Bioorganic Chemistry

Professor 授 Yuichi HASHIMOTO, Ph.D. 薬学系研究科・薬学専攻  
 橋本 祐一 (薬学博士)  
 Lecturer 師 Shinya FUJII, Ph.D. 薬学系研究科・薬学専攻  
 藤井 晋也 (博士(薬学))  
 Lecturer 師 Tomomi YACHIDE, Ph.D. 薬学系研究科・薬学専攻  
 講 師 谷内出友美 (博士(薬学))  
 先導的研究教育プログラム  
 Research Associate 助 教 Kenji OHGANE, Ph.D. 薬学系研究科・薬学専攻  
 大金 賢司 (博士(薬学))

Synthesis and evaluation of novel dual BRD4/HDAC inhibitors. Amemiya, S., Yamaguchi, T., Hashimoto, Y. and Noguchi-Yachide, T.: *Bioorg Med Chem.* 15, 3677-3684 (2017).

Development of N6-(heteroarylcarbonyl) adenines as BRD4 inhibitors. Amemiya, S., Yamaguchi, T., Hashimoto, Y. and Noguchi-Yachide, T.: *Heterocycles* 94, 1107-1114 (2017).

Switching subtype-selectivity: Fragment replacement strategy affords novel class of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha/\delta$  (PPAR $\alpha/\delta$ ) dual agonists. Shioi, R., Okazaki, S., Noguchi-Yachide, T., Ishikawa, M., Makishima, M., Hashimoto, Y. and Yamaguchi, T.: *Bioorg Med Chem Lett.* 27, 3131-3134 (2017).

Development of nonsteroidal glucocorticoid receptor modulators based on N-benzyl-N-(4-phenoxyphenyl) benzenesulfonamide scaffold. Yoshioka, H., Yamada, A., Nishiyama, Y., Kagechika, H., Hashimoto, Y. and Fujii, S.: *Bioorg Med Chem.* 25, 3461-3470 (2017).

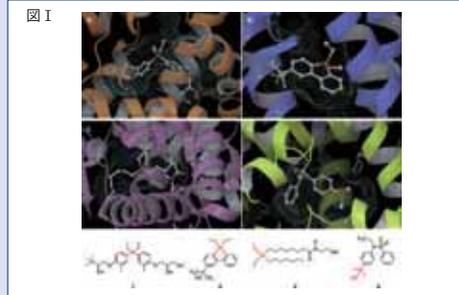
直通電話 : 03-5841-7847  
 FAX : 03-5841-8495  
 E-mail : hashimoto@iam.u-tokyo.ac.jp  
 http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chem/  
 IMCB-8ken-HP/Index.html

Phenanthridin-6-one derivatives as the first class of non-steroidal pharmacological chaperones for Niemann-Pick disease type C1 protein. Fukuda, H., Karaki, F., Dodo, K., Noguchi-Yachide, T., Ishikawa, M., Hashimoto, Y. and Ohgane, K.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27, 2781-2787 (2017).

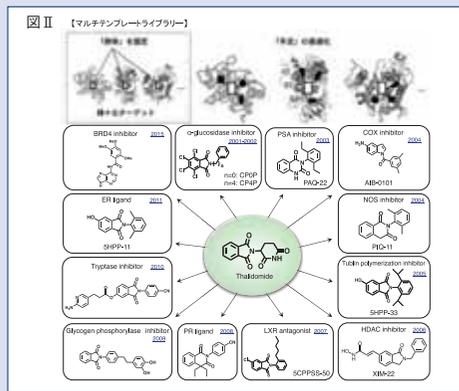
Progress in the medicinal chemistry of silicon: C/Si exchange and beyond. Fujii, S. and Hashimoto Y.: *Future Med Chem.* 9, 485-505 (2017).

Structural Development Studies of Pyrazoloketone-Derived Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors. Okazaki, S., Sakai, T., Ishikawa, M., Hashimoto, Y. and Yamaguchi, T.: *Heterocycles* 95, 595-607 (2017).

Design and Synthesis of 1,3,5-Triazine Derivatives as Novel Inverse Agonists of Nuclear Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor- $\gamma$ . Kaitoh, K., Toyama, H., Hashimoto, Y. and Fujii, S.: *Heterocycles* 95, 547-556 (2017).



I : 多元素創薬化学の観点から創製された、ケイ素原子を含有する新規生体活性化合物の例  
 A. ケイ素原子の導入により標的選択性が向上したアンドロゲン受容体 (AR) アンタゴニスト1とARのドッキングシミュレーション  
 B. 含ケイ素複素環ジベンゾシロールを基盤骨格とする新規レチノイン酸受容体関連オーファン受容体  $\gamma$  (ROR $\gamma$ ) インバーサゴニスト2とROR $\gamma$ とのドッキングシミュレーション  
 C. ヘルオキシゾーム増殖剤応答性受容体 (PPAR)  $\alpha$  および  $\delta$  アゴニスト活性を有するケイ素含有エタノールアミド脂質3とPPAR $\delta$ とのドッキングシミュレーション  
 D. 水素結合性構造としてシラノール基を有するプレグナンX受容体 (PXR) アゴニスト4とPXRとのドッキングシミュレーション  
 I: Development of silicon-containing bio-active compounds



II : サリドマイドをテンプレートに設定したマルチテンプレートライブラリー  
 II: Biological modifiers derived from thalidomide based on the “multi-template” approach

## RNA機能研究分野

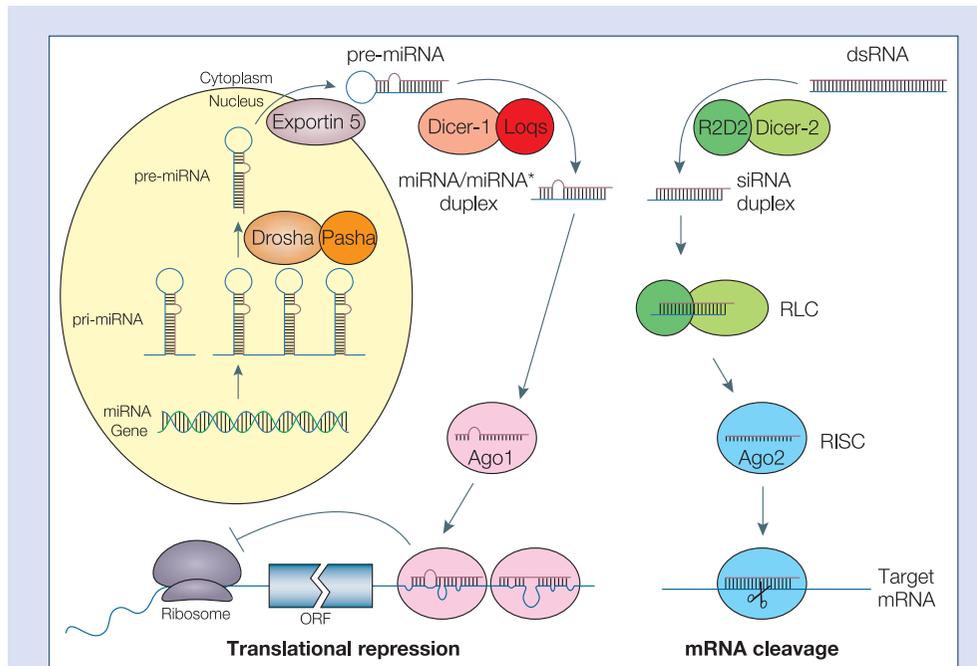
小さなRNAの一種であるsiRNA(くし)は、RISCと呼ばれるエフェクター複合体(お盆)を形成することにより、自身と相補的な配列を持つ標的mRNA(組みひも)を切断(はさみ)し、その発現を抑制します。  
 siRNAs (combs), a major class of small RNAs, silence their target mRNAs (cord) by cleaving (scissors) the complementary sequences via the effector complex, termed RISC (tray).



### RNAが働くしくみを解明する

私たちのゲノムDNAにコードされた遺伝情報の多くは、転写によってmRNA (messenger RNA) へと写し取られたのちに、タンパク質へと翻訳されることで発現します。1958年にクリックによって提唱されたこのセントラルドグマの概念は、生命の根幹を成す基本原理として広く受け入れられてきました。しかし現在では、この概念には数多くの例外が存在していることがわかっています。私たちの研究室ではそのような例外の代表格である、非コードRNA (non-coding RNA; ncRNA) と呼ばれる「タンパク質に翻訳されずにはたらくRNA」に注目し、その機能と動作原理の解明を目指して研究を行っています。

非コードRNAの代表例としては、分子生物学の黎明期に発見されたrRNA (ribosomal RNA)、tRNA (transfer RNA)、snRNA (small nuclear RNA) などがよく知られています。これらのRNAは、mRNAの成熟やタンパク質への翻訳といったセントラルドグマの基本過程に必須であることから、長年にわたって詳細な解析が進められてきました。一方最近の研究からは、細胞の中にはこれらの古典的なRNAだけでなく、もっと多種多様な非コードRNAが存在していることが明らかとなっています。1990年代以降になって次々と発見されたmiRNA (microRNA) や siRNA (small interfering RNA)、piRNA (PIWI-interacting RNA) などの20~30塩基の小分子RNA (small RNA) は、自身と相補的なRNAを選択的に認識し、その分解や翻訳抑制を引き起こすことで、遺伝子の発現を負に制御しています。また近年、long non-coding RNA (lncRNA) と呼ばれる長い非コードRNAが、核内でクロマチン動態や転写のエピジェネティックな制御に関わるなど、多様な役割を果たしていることが明らかになって来ています。これらの非コードRNAは、遺伝子発現を緻密に制御することで、複雑で高次元生命現象を支えていると考えられています。しかしこれらの非コードRNAが、どのようにして生み出され、どのような原理で機能しているのかについては、まだほとんどわかっていません。私たちの研究室では、生化学、生物物理学、細胞生物学、遺伝学などを組み合わせることにより、非コードRNAを中心としたRNAワールドの不思議に挑戦しています。



ショウジョウバエにおけるsiRNA経路(右)とmiRNA経路(左)のモデル。  
 A model for siRNA (left) and miRNA (right) pathways in *Drosophila*.

## Laboratory of RNA Function

Professor 教授 Yukihide TOMARI, Ph.D. 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
 教 授 泊 幸秀 (博士(工学))  
 Research Assistant Professor 助 教 Yuichiro MISHIMA, Ph.D. 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
 助 教 三嶋雄一郎 (博士(理学)) Hiro-oki IWAKAWA, Ph.D. 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
 助 教 岩川 弘宙 (博士(農学))  
 先進的教育プログラム  
 Research Associate 助 教 Natsuko IZUMI, Ph.D. 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
 助 教 泉 奈津子 (博士(医学)) Research Associate Hotaka KOBAYASHI, Ph.D. 先進的教育プログラム  
 助 教 小林 穂高 (博士(生命科学))  
 Research Associate 助 教 Masahiro NAGANUMA, Ph.D. 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
 助 教 永沼 政広 (博士(理学))  
 Project Research Associate 特任 助 教 Eriko MATSUURA, Ph.D. 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
 特任 助 教 松浦絵里子 (博士(農学))

直通電話 : 03-5841-7839  
 FAX : 03-5841-8485  
 E-mail : tomari@iam.u-tokyo.ac.jp  
 http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/tomari/

### Dissecting how RNAs function

Most genetic information encoded by the genomic DNA is first transcribed as messenger RNAs (mRNAs), followed by translation to proteins to exert their functions. Coined by Francis Crick in 1958, this flow of genetic information—called the Central Dogma—has been widely accepted as a basic principle in molecular biology. However, recent studies have revealed many important exceptions to this principle. Our laboratory is investigating one such exception called non-coding RNAs (ncRNAs), which act as functional RNA molecules without being translated to proteins.

Well-known ncRNAs such as rRNAs (ribosomal RNAs), tRNAs (transfer RNAs) and snRNAs (small nuclear RNA) were all discovered at the dawn of molecular biology. These canonical ncRNAs play pivotal roles in fundamental processes of the Central Dogma including mRNA processing and translation, and as such, their functions and actions have been studied extensively. However, recent studies revealed that a much wider variety of ncRNA species are in fact expressed in eukaryotic cells. For instance, miRNAs (microRNAs), siRNAs (small interfering RNAs) and piRNAs (piwi-interacting RNAs) are tiny ncRNAs of 20-30 nucleotides discovered from the 1990's onward. These small RNAs recognize their target mRNAs through base pairing and regulate the fundamental flow of the Central Dogma at post-transcriptional and transcriptional levels. More recently, transcriptome analyses have identified numerous long non-coding RNAs (lncRNAs) with diverse functions including epigenetic regulation. These newly discovered ncRNAs are thought to play essential roles in complex biological processes by dynamically and finely modulating gene expression. Yet, our knowledge on production and function of these ncRNA species is still very limited. We are challenging this new frontier of the RNA world by combining biochemistry, biophysics, cell biology and genetics.

Codon usage and 3' UTR length determine maternal mRNA stability in zebrafish.  
 \*Mishima Y, Tomari Y, *Mol Cell*. 2016 Mar 17; 61(6): 874-85.

Identification and functional analysis of the pre-piRNA 3' Trimmer in silkworms.  
 Izumi N, Shoji K, Sakaguchi Y, Honda S, Kirino Y, Suzuki T, Katsuma S, \*Tomari Y, *Cell*. 2016 Feb 25; 164(5): 962-73.

Single-molecule analysis of the target cleavage reaction by *Drosophila* RNAi enzyme complex.  
 Yao C, Sasaki HM, Ueda T, \*Tomari Y, \*Tadakuma H, *Mol Cell*. 2015 Jul 2; 59(1): 125-32.

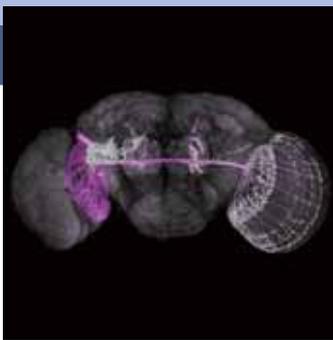
Defining fundamental steps in the assembly of the *Drosophila* RNAi enzyme complex.  
 Iwasaki S, Sasaki HM, Sakaguchi Y, Suzuki T, \*Tadakuma H, \*Tomari Y, *Nature*. 2015 May 28; 521(7553): 533-6.

microRNAs block assembly of eIF4F translation initiation complex in *Drosophila*.  
 Fukaya T, Iwakawa HO, \*Tomari Y, *Mol Cell*. 2014 Oct 2; 56(1): 67-78.

## 神経ネットワーク研究分野

精緻な処理を行なう割に小さくシンプルな脳を持ち、最先端の遺伝子工学的技術を駆使できるモデル生物ショウジョウバエを用いて、脳の神経回路を網羅的体系的に同定してその全貌を理解します。

We aim at understanding the entirety of the neural circuit networks of the brain, using a simple but elaborated model system of *Drosophila* with advanced molecular genetic techniques.



### 脳の神経回路構造と機能の全貌解析

細胞内の分子の機能を調べるだけでは、脳は分かりません。脳は論理演算子である神経細胞が無数に結合した情報処理回路であり、その回路構造を正確に把握することが、脳の機能と動作原理を理解する大前提です。現在の脳研究ではとくく学習や論理思考などの高度な機能に関心が向きがちですが、現状ではもっと単純な情報処理の本質すら、分かっているとはとても言いがたいです。こうした基礎的な脳の原理を知るには、膨大すぎて全貌の把握が難しい高等脊椎動物の脳よりも、精緻な処理を行なう割に小さくシンプルな脳を持ち、ゲノムプロジェクトや遺伝子工学の成果を最大限に駆使できるモデル生物ショウジョウバエを用いて、神経回路の構造と動作の全体像を解析するのが効果的です。

従来の組織解剖学的手法では、神経をラベルしてもその形態を調べる以外の情報を得ることはできませんでした。しかし、高度な遺伝子発現誘導法を利用して細胞をラベルすると、ラベルされた特定の細胞群でGFPなどの蛍光タンパクを発現させればその細胞の形態や投射パターンを、神経活動に応じて蛍光強度が変化するタンパクを発現させて生体脳で観察すれば、刺激に対するその細胞の応答を、また細胞を殺したり、シナプス伝達機能を阻害したり、光や温度変化で神経機能を活性化させるような各種のタンパクを発現させて行動への影響を観察すれば、その細胞が脳機能に果たす役割を、解析することができます。こうして解剖学的な解析と機能的な解析を統合することで、脳神経回路の構造と動作を効率よく明らかにできます。

我々は4,500系統を越える世界最大規模のGAL4エンハンサートラップ系統と新たに作成したLexAエンハンサートラップ系統、さらに単一幹細胞に由来する子孫細胞群をラベルする手法を組み合わせ、さまざまな神経で特異的に遺伝子発現を誘導し、高度な画像処理やネットワーク解析の手法を応用して、視覚・嗅覚・味覚・聴覚の感覚神経から低次・高次の感覚中枢を経て運動制御領域へと情報の流れを追って、脳神経回路の構造と機能の体系的な解析を進めています。

### Comprehensive analysis of the neural circuit architecture of the brain

Brain cannot be understood by the analyses of the molecular mechanisms within the neural cells. Because the brain is a complex of information circuits that consist of numerous logical elements, i.e. the neurons, understanding the architecture of the neural circuits is the prerequisite for the understanding of the functional organization of the brain. Though modern brain science tends to focus on higher functions of the brain such as learning and logical thinking, our current knowledge is far from enough to explain even simple brain functions such as basic sensory recognition. To understand the basic rules by which elaborate neural circuits develop and function, it is effective to analyze the entirety of a simple and easily accessible neural systems like an insect brain rather than to analyze a fraction of a vastly complex and inaccessible mammalian brains.

Conventional histological techniques could reveal only the structure of the labeled neurons. Thanks to the advanced expression induction systems of the fruit fly *Drosophila melanogaster*, it is easy to drive expression of 1) fluorescent proteins like GFP to reveal the morphology of the labeled cells, 2) activity dependent fluorescent reporters to analyze the physiological responses of the labeled neurons, and 3) proteins that kill, block synaptic transmission, or trigger neural activity with heat or light to alter neural functions and investigate the roles of these neurons in the brain. Such tight integration of anatomical and functional analyses is a very effective way to reveal the architecture and functional principle of the brain.

Taking the advantage of our world-largest collection of more than 4,500 GAL4 enhancer-trap expression driver strains and newly established LexA enhancer-trap expression drivers, together with the techniques to specifically visualize the whole circuit structures made by the progeny of a single neural stem cell, we are systematically identifying and mapping neurons in order to trace the information pathway of various sensory modalities (visual, olfactory, gustatory, auditory, etc.) from the peripheral sensory cells to higher-order associative centers to motor output centers, and analyzing their neural architecture using sophisticated three-dimensional image analyses and network informatics.

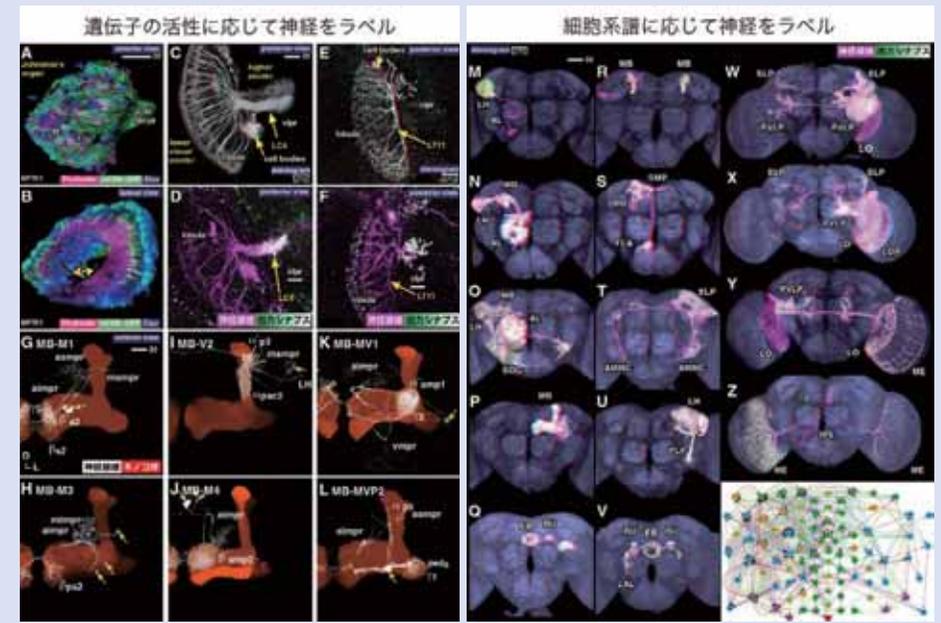
- Ito, K., Shinomiya, K., Ito, M., Armstrong, D., Boyan, G., Hartenstein, V., Harzsch, S., Heisenberg, M., Homberg, U., Jenett, A., Keshishian, H., Restifo, L., Rössler, W., Simpson, J., Strausfeld, N.J., Strauss, R., and Vossahl, L.B.: The Insect Brain Name Working Group. A systematic nomenclature for the insect brain. *Neuron*, 81: 755-765, 2014.
- Ito, M., Masuda, N., Shinomiya, K., Endo, K., and Ito, K.: Systematic analysis of neural projections reveals clonal composition of the *Drosophila* brain. *Curr. Biol* 23, 644-655, 2013.
- Tanaka, N.K., Endo, K. and Ito, K.: The organization of antennal lobe-associated neurons in the adult *Drosophila melanogaster* brain. *J Comp Neurol* 520: 4067-4130, 2012.
- Endo, K., Karim, M.R., Taniguchi, H., Krejci, A., Kinameri, E., Siebert, M., Ito, K., Bray, S.J. and Moore, A.W. Chromatin modification of Notch targets in olfactory receptor neuron diversification. *Nat Neurosci* 15, 224-233, 2012.
- Shinomiya, K., Matsuda, K., Oishi, T., Otsuna, H., and Ito, K. Flybrain Neuron Database, a comprehensive database system of the *Drosophila* brain neurons. *J Comp Neurol* 519, 807-833, 2011.
- Kamikouchi, A., Inagaki, H.K., Effertz, T., Fiala, A., Hendrich, O., Gopfert, M.C. and Ito, K.: The neural basis of *Drosophila* gravity sensing and hearing. *Nature* 458, 165-17, 2009.

## Laboratory of Neural Circuits

Associate Professor Kei ITO, Ph.D.  
准教授 伊藤 啓 (理学博士)

新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
総合文化研究科・広域科学専攻

直通電話 : 03-5841-2435  
FAX : 03-5841-7837  
E-mail : itokei@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://jfly.iam.u-tokyo.ac.jp/lab/



A-L : GAL 4 発現誘導系統でラベルされた、聴覚感覚器 (A, B)、低次視覚中枢と高次視覚中枢を結ぶ視覚投射神経 (C-F)、高次嗅覚中枢と他を結ぶ入出力神経 (G-L)。M-Z : 単一の神経幹細胞の子孫細胞が作る神経回路ユニットの構造。挿図 : 脳の領域間を結ぶ全神経回路接続 (プロジェクトーム) 図。C, E, M-Z はステレオ立体画像 (左目に赤、右目に青のセロファンをかけると立体に見える)。D, F, M-Z は神経線維全体をDsRed (紫) で、出力シナプスの分布をn-syb::GFP (緑〜白) でラベル。

A-L: Neural circuits visualized with expression driver strains. Auditory receptors (A, B), visual projection neurons connecting lower and higher visual centers, and input/output neurons connecting the higher order olfactory center and surrounding areas (G-L). M-Z: Neural circuits made by the clonally related neurons deriving from single stem cells (M-Z). Insets show the entire projection patterns between brain regions ("projectome"). C, E, M-Z: 3D stereogram. D, F, M-Z: Overall projections (magenta) and distribution of the presynaptic sites (green-white).

# 染色体動態研究分野

染色体の分配に本質的な役割を担うシュゴシンは、2004年に当研究室で発見されたタンパク質です。染色体分配の基本メカニズムの解明に向けて日夜、研究を楽しんでいます。

In 2004, our laboratory discovered shugoshin, the protein that plays an essential role in chromosome segregation. We enjoy the research to reveal the basic mechanisms of chromosome segregation.

# Laboratory of Chromosome Dynamics

Professor Yoshinori WATANABE, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
 教 授 渡邊 嘉典 (理学博士)  
 Associate Professor Takeshi SAKUNO, Ph.D. 理学系研究科・生物科学専攻  
 准 教 授 作野 剛士 (博士(薬学))

直通電話：03-5841-1466  
 FAX：03-5841-1468  
 E-mail：ywatanab@iam.u-tokyo.ac.jp  
 http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/watanabe-lab/watanabe\_lab/Home.html

## 生物に普遍的にみられる ゲノム継承様式を探る

生物のゲノム情報を担う染色体は、有性生殖により父親と母親から半分ずつ子へと受け継がれ、相同染色体のペアとして保持されます。体細胞分裂過程では、染色体の複製とそれに続く均等分裂によって相同染色体のペアは正確に娘細胞へ受け継がれていきます。この過程に間違いが起きると、細胞はアポトーシスにより死滅するか、あるいは癌化して個体の生命を脅かすこととなります。一方、次の世代を生み出す生殖細胞では、減数分裂という特殊な染色体分配によって、最終的に一組の染色体の組み合わせをもつ半数体の配偶子（卵および精子）が形成されます。ヒトの先天性疾患であるダウン症候群および早期流産の多くが、減数分裂の染色体分配異常に起因することが知られています。染色体分配の制御機構を分子レベルで理解することは、生物学および医学いずれの見地からもきわめて重要な研究課題であると考えられます。本研究分野では、真核生物の染色体分配の基本原則（実に多くのおもしろい基本原則があるので、そこには！）を分子レベルで解き明かすことを目的として研究を進めています。研究材料は、分裂酵母、マウス、ヒト培養細胞を用いています。我々の基礎研究の成果は、ヒトのダウン症の原因解明および癌細胞の発生のメカニズムの解明に大きく貢献しています。現在、以下の課題を中心に研究を進めています。

- 1) 均等分裂と還元分裂の違いを作り出す新たな動原体タンパク質の探索とその機能解析。
- 2) 染色体分配のときに動原体の方向を決める分子メカニズムの解析。
- 3) マウス卵細胞のスピンデル形成の分子メカニズムの解析。
- 4) マウスの生殖細胞でのテロメアの解析。
- 5) 動原体タンパク質シュゴシンの機能および局在の制御機構の解析。
- 6) 細胞の癌化とシュゴシンの機能不全との関係。

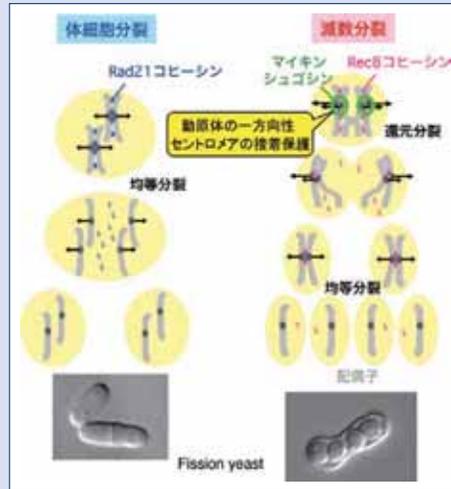


図1

図1. 体細胞分裂と減数分裂における染色体分配の制御機構。Rad 21とRec 8は染色体接着因子コヒーシン、Shugoshin (Sgo 1)とMeikin (Moa 1)は減数分裂期特異的なセントロメア・動原体の制御因子。

図2. シュゴシンの発現をRNAiで抑制したHeLa細胞では、分裂期に染色体の未成熟な分離が起きる。

図3. マウス精母細胞におけるテロメア・タンパク質TERB 1の局在。

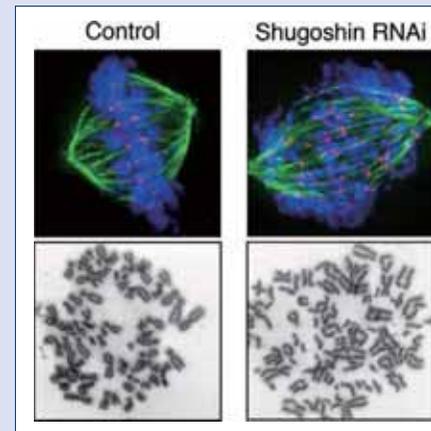


図2



図3

図1 The regulations of chromosome segregation during mitosis and meiosis. Cohesin Rad21 and Rec8 responsible for sister chromatid cohesion and meiosis-specific kinetochore-centromere proteins Meikin (Moa1) and shugoshin (Sgo1) are indicated.

図2 Shugoshin is required for centromeric protection in HeLa cells.

図3 Localization of meiosis-specific telomere protein TERB1 in mouse spermatocytes.

## Study of Fundamental Mechanisms of Chromosome Segregation

Chromosomes, the identity of the genome, are maintained as homologous pairs, as they derive from dad and mum. During mitosis, all copies of chromosomes are accurately transferred to daughter cells by equational division. Any mistakes in this process frequently lead to apoptotic cell death or cancer that causes lethal defects to the organism. In the germ cells, a specific nuclear division called meiosis generates the gametes (eggs and sperms), which carry a single set of chromosomes. Down, syndrome and most early miscarriages in humans stem from a disorder of chromosome segregation in meiosis. Thus, it is very important for biology and medical science to understand the regulatory mechanisms of chromosome segregation. We aim to elucidate the fundamental principles of chromosome segregation (there are indeed many interesting principles) in eukaryotes. We study fission yeast, mouse and human cells. Currently, our studies are concentrated in the following topics.

- 1) Identification of novel kinetochore factors that provide the difference between equational and reductional divisions.
- 2) Studies on the mechanisms which determine kinetochore orientation.
- 3) Studies on the molecular mechanisms to regulate spindle assembly in mouse oocytes.
- 4) Analysis of telomeres in mouse germ cells.
- 5) Analysis of the regulatory mechanisms of the function and localization of the kinetochore protein shugoshin.
- 6) Studies on the causal relationship between tumorigenesis and dysfunction of shugoshin in humans.

- 1) Tanno, Y., Susumu, H., Kawamura, M., Sugimura, H., Honda, T., and Watanabe, Y. The inner centromere-shugoshin network prevents chromosomal instability. *Science* 349, 1237-1240 (2015)
- 2) Akera, T., Goto, K., Sato, M., Yamamoto, M., and Watanabe, Y. Mad1 promotes chromosome congression by anchoring a kinesin motor to the kinetochore. *Nat. Cell Biol.* 17, 1124-1133 (2015)
- 3) Sakuno, T. and Watanabe, Y. Phosphorylation of cohesin Rec11/SA3 by casein kinase 1 promotes homologous recombination by assembling the meiotic chromosome axis. *Dev. Cell* 32, 220-30 (2015)
- 4) Kim, J., Ishiguro, K., Nambu, A., Akiyoshi, B., Yokobayashi, S., Kagami, A., Ishiguro, T., Pendas, A.M., Takeda, N., Sakakibara, Y., Kitajima, T.S., Tanno, Y., Sakuno, T., and Watanabe, Y. Meikin is a conserved regulator of meiosis-I-specific kinetochore function. *Nature* 517, 466-471 (2015)
- 5) Shibuya, H., Ishiguro, K., and Watanabe, Y. The TRF1-binding protein TERB1 promotes chromosome movement and telomere rigidity in meiosis. *Nat. Cell Biol.* 16, 145-156 (2014)
- 6) Ishiguro, K.-I., Kim, J., Shibuya, H., Hernández-Hernández, A., Suzuki, A., Fukagawa, T., Shioi, G., Kiyonari, H., Li, X.C., Schimenti, J., Höög, C., and Watanabe, Y. Meiosis-specific cohesin mediates homolog recognition in mouse spermatocytes. *Genes Dev.* 28, 594-607 (2014)



**膜蛋白質解析研究分野**  
Laboratory of Membrane Proteins

教授 豊島 近 [理学博士]  
Professor Chikashi TOYOSHIMA, D.Sc.



**高難度蛋白質生産研究分野**  
Laboratory of Protein Expression and Production

准教授 小川 治夫 [博士(理学)]  
Associate Professor Haruo OGAWA, D.Sc.



**蛋白質複合体解析研究分野**  
(放射光分野融合国際卓越拠点兼務)  
Laboratory of Macromolecular Complexes

准教授 深井 周也 [博士(理学)]  
Associate Professor Shuya FUKAI, D.Sc.

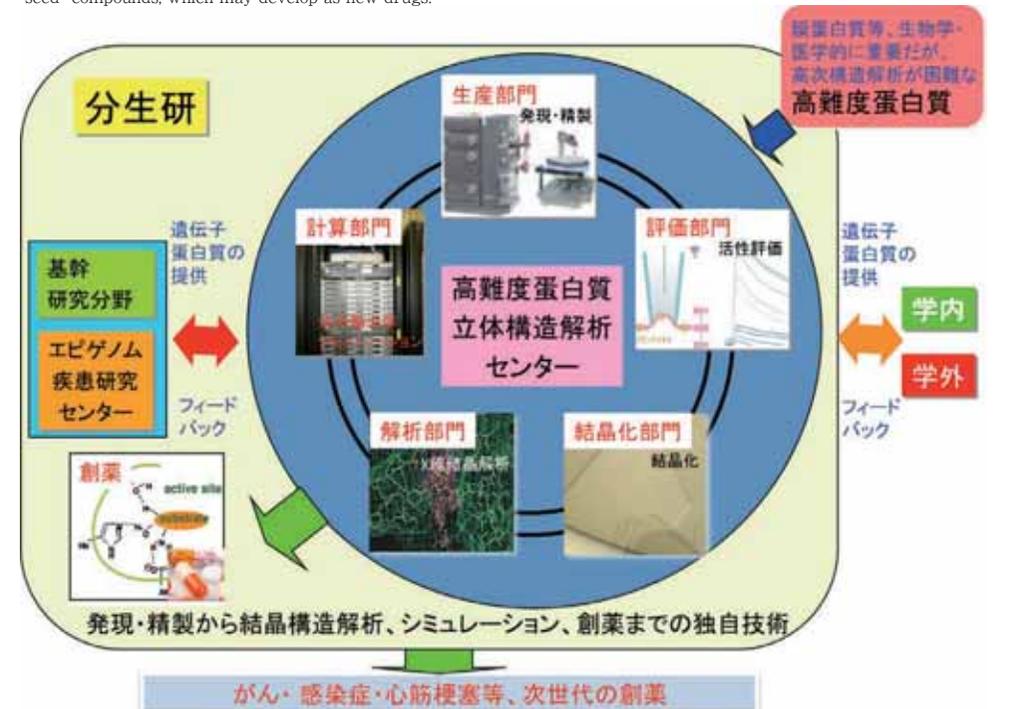
# 高難度蛋白質立体構造解析センター

## Center for Structural Biology of Challenging Proteins

現在使用されている医薬品の過半数が膜蛋白質を標的とした薬剤であることからわかるように、次世代医薬品の合理的な設計には、膜蛋白質の構造を主体とした研究を集中的に行うことが必要とされています。しかし、一般に膜蛋白質の構造決定は極めて難しいです(高難度蛋白質)。そこで、分生研では、高等動物の大型蛋白質の生産からX線・電子線結晶解析、計算機シミュレーション、創薬までの高度な経験知見を集約蓄積し、継承することを可能にする「高難度蛋白質立体構造解析センター」を設置しました。本センターは、学術的・社会的に重要で、知的財産としても大きな価値を持つ高難度蛋白質の構造研究を行い、関連分野に学術的革新をもたらすことを目的とします。また、がん・感染症・心筋梗塞等に対する次世代の創薬など医療の進展に寄与するとともに、高度な技術を継承すべく次世代の研究者の育成を進めます。

- A. 膜蛋白質や薬剤との複合体等、学術的・社会的に重要だが難度が高い高難度蛋白質の構造解析を目指し、大量発現・精製システムを確立します。
- B. 発現・精製を行なった高難度蛋白質の活性評価等を行うシステムを立ち上げ、立ち上げたシステムを用い、開発した薬剤等を評価します。
- C. 分生研がこれまでに蓄積してきた膨大な知見・独自技術を活用し、高難度蛋白質の結晶化を行ないます。
- D. 実験室のX線回折装置、及び、放射光施設で回折データの収集を行い、立体構造を決定します。
- E. 構造を基に計算機による分子動力学計算や、設計薬剤とのドッキング等のシミュレーションを行い、薬剤開発に結びつけます。また、設計・合成した薬剤に関しては、活性評価や結晶構造解析を繰り返し行ない密なフィードバックを実現します。
- F. 非専門家の構造解析のニーズに対し、必要な技術や設備を供与するとともに、高度な技術を継承すべく次世代の研究者を育成します。

Membrane proteins are known to be involved in a diverse array of diseases and are good therapeutic targets. Indeed, more than a half of pharmaceutical drugs in the market target membrane proteins. Therefore, to facilitate the rational designing of the next generation therapeutic drugs, intensive analyses of membrane protein structures are required. However, the determination of the three-dimensional structures of membrane proteins still remains extremely difficult. To accelerate the structural analyses of membrane proteins and complexes, IMCB has established "The Center for Structural Biology of Challenging Proteins". This center undertakes a comprehensive research on the structures of important and challenging proteins by X-ray crystallography, electron microscopy and computational and theoretical studies, and aims at designing "seed" compounds, which may develop as new drugs.



## 膜蛋白質解析研究分野

豊島教授の「生体膜を介した、ATP駆動イオン能動輸送機構の構造的な理解に対する本質的な貢献」に対し、スウェーデン王立科学アカデミーより2016年グレゴリー・アミノフ賞が授与されました。

This year Professor Toyoshima received the Gregori Aminoff Prize 2016 from the Royal Swedish Academy of Sciences, "for their fundamental contributions to understanding the structural basis for ATP-driven translocation of ions across membranes".

## 膜輸送体の機能をその原子構造から理解する

蛋白質はその構造を変化させて機能しているのですから、立体構造情報無しに生命現象を理解することは不可能です。本研究分野では、X線結晶解析を主要な手段として生理的に重要な膜蛋白質の原子構造に基づく機能の解明を目指しています。中心課題は、イオン能動輸送機構の構造的な理解です。筋肉の弛緩を担うカルシウムポンプに関しては、2000年にイオンポンプとして最初の結晶化に成功して以来、全反応過程をほぼカバーする10個の状態での結晶構造を決定しました(文献1-4)。ポンプ蛋白質を取り巻く脂質二重膜の可視化にも成功しました(文献5)。この結果、イオンポンプのメカニズムの大略は原子構造に基づいて理解できたともいえます。しかし結晶構造は反応過程の幾つかの点を表しているに過ぎないし、X線では見えないプロトンが構造変化や機能発現に重要な役割を果たすことがわかってきました。そのため、理論計算を取り入れた構造研究を行っています。また、高等動物細胞による発現系を用いて変異体の結晶構造解析にも成功していますが、そのような技術は独自のものであり今後ますます重要になるでしょう。もう一つの主要な研究対象はナトリウム・カリウムポンプで(図)、デンマークグループと共同研究を行っています(文献6-7)。このポンプはジギタリスに代表される強心剤の標的ですが、全ての動物細胞に発現しており、より複雑で高血圧や多くの神経疾患にも深く関わっており、カルシウムポンプ以上に重要な蛋白質です。イオンポンプは生体の恒常性維持に必須であり、その攪乱は細胞死につながるため病原菌やがん細胞を攻撃する良い標的としても注目されています。一連の研究は国際的に高く評価され、既に多くの教科書に紹介されているほか、豊島教授は名誉ある米国科学アカデミー-外国人会員、カリフォルニア大学バークレー校のヒッチコック教授に選出されています(インタビューと講義はYouTubeで見ることができます)し、2009年度の朝日賞、2015年度紫綬褒章、2016年度Gregori Aminoff賞を授与されました。

本研究分野では、細胞が環境からの刺激を検知し応答するためのシグナル伝達経路についても研究しています。特に、環境のpH・栄養状態・浸透圧に対する経路に焦点を置いています。ホルモンや増殖因子等の検知機構がリガンドと受容体の特異的な相互作用に還元できるのに対し、これら「非リガンド性」とも称されるべき刺激の検知機構は新しい課題を提示するものです。

## Laboratory of membrane proteins

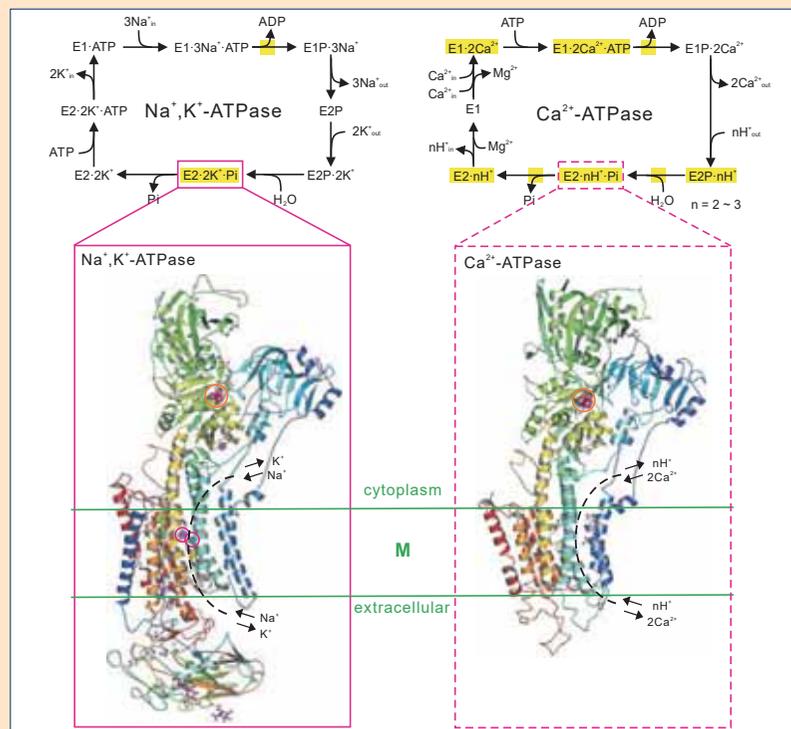
Since proteins have to change their three-dimensional structures to achieve their functions, it is impossible to understand how they work without knowing their 3D structures. We aim at understanding the functions of important proteins based on the atomic structures using X-ray crystallography as the principal tool. We focus on the structural basis of active ion transport and have already succeeded in determining the atomic structures for 10 different states that nearly cover the entire reaction cycle of the calcium pump (1-3). As a result, we now roughly understand how ion pumps work and can answer fundamental questions, e.g. what ATP and phosphorylation do. Crystal structures represent, however, only a few points in the reaction cycle and protons, which play important roles in structural changes and functions, are invisible to X-ray. Therefore, theoretical calculations are also important in our study. We have also established an expression system using mammalian cell culture and succeeded in crystal structure analysis of a mutant. Such technology is unique and will become more and more important. Another principal target of our study, in collaboration with a Danish group, is the sodium pump (5-6), which is expressed in all animal cells and deeply implicated in many diseases. These results have been recognized world-wide and Prof. Toyoshima was elected to prestigious Foreign Associate of the National Academy of Science, U.S.A. and a Hitchcock Professor at UC Berkeley. His lectures and interview can be seen on YouTube. He was also awarded a Medal with Purple Ribbon in 2015 and Gregori Aminoff prize in 2016. We are also studying signal transduction pathways, through which cells sense and respond to environmental stimuli, e.g. pH, nutrient, and ionic status. The pathways to these "non-ligand" stimuli are evolutionally conserved and allow us to use yeast as well as mammalian cells to study the basic mechanisms and the generality of the regulation.

1. C. Toyoshima, M. Nakasako, H. Nomura and H. Ogawa: Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution. *Nature* **405**, 647-655 (2000)
2. C. Toyoshima and T. Mizutani: Crystal structure of the calcium pump with a bound ATP analogue. *Nature* **430**, 529-535 (2004)
3. C. Toyoshima, H. Nomura and T. Tsuda: Luminal gating mechanism revealed in calcium pump crystal structures with phosphate analogues. *Nature* **432**, 361-368 (2004)
4. C. Toyoshima, S. Iwasawa, H. Ogawa, A. Hirata, J. Tsueda and G. Inesi: Crystal structures of the calcium pump and sarcoplipin in the Mg<sup>2+</sup>-bound E1 state. *Nature* **495**, 260-264 (2013)
5. Y. Norimatsu, K. Hasegawa, N. Shimizu and C. Toyoshima: Protein-phospholipid interplay revealed with crystals of a calcium pump. *Nature*, **545**, 193-198 (2017)
6. T. Shinoda, H. Ogawa, F. Cornelius and C. Toyoshima: Crystal structure of the sodium-potassium pump at 2.4 Å resolution. *Nature* **459**, 446-450 (2009)
7. R. Kanaai, H. Ogawa, B. Vilsen, F. Cornelius and C. Toyoshima: Crystal structure of a Na<sup>+</sup>-bound Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase preceding the E1P state. *Nature* **502**, 201-206 (2013)

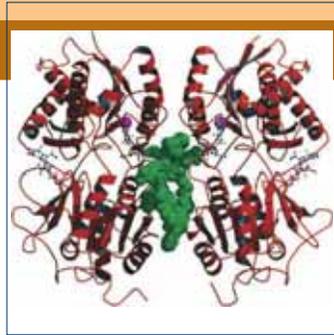
## Laboratory of Membrane Proteins

Professor 豊島 近 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 准教授 豊島 近 (理学博士) 理学系研究科・物理学専攻  
 Associate Professor 前田 達哉 (理学博士) 農学生命科学研究科・応用生命工学専攻  
 Associate Professor 小川 治夫 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 Research Associate 富岡 茂雄 (農学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 助教授 三村 久敏 (農学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 統合的研究教育プログラム  
 Research Associate 金井 隆太 (博士(理学))  
 助教授 金井 隆太 (博士(理学))  
 先進的研究教育プログラム  
 Research Associate 花島 佳樹 (博士(情報工学))  
 助教授 花島 佳樹 (博士(情報工学))  
 Technical Staff 枝田 淳子 (修士(農学))  
 技術職員 枝田 淳子 (修士(農学))

直通電話 : 03-5841-8492 (豊島)  
 03-5841-7820 (前田)  
 03-5841-1916 (小川)  
 03-5841-8491 (豊島)  
 03-5841-7899 (前田)  
 03-5841-1916 (小川)  
 E-mail : ct@iam.u-tokyo.ac.jp (豊島)  
 maeda@iam.u-tokyo.ac.jp (前田)  
 haru@iam.u-tokyo.ac.jp (小川)  
 http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/StrBio/



Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPaseとCa<sup>2+</sup>-ATPaseの反応サイクル、結晶構造の比較。両者はATPをエネルギー源とするイオンポンプであり、それぞれ膜を隔てたNa<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>、或いはCa<sup>2+</sup>の濃度勾配を作る。この濃度勾配は多くの重要な生物学的反応に利用されるため、イオンポンプは生命活動に必須の分子である。実際、Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPaseの発見に対し、1997年度のノーベル化学賞がJens C. Skouに与えられた。図の黄色の棒は対応する状態の結晶構造が当研究室で決定されたことを示す。The reaction cycle and a crystal structure of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in comparison with those of Ca<sup>2+</sup>-ATPase. They are ATP-powered ion pumps that are responsible for establishing concentration gradients for Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup>, respectively, across membranes. These concentration gradients are used for many biological processes. Therefore, ion pumps are vital in our activities, and a Nobel Prize was given to Skou in 1997 for his finding of the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase. Yellow bars show that the crystal structures of the corresponding states have been determined in our laboratory.



## 高難度蛋白質生産研究分野

心房から分泌されるホルモンANPは、心循環器系の調節に中心的な働きをします。膜1回貫通型受容体のANP受容体は2量体として機能します。ANPの結合により、受容体が4次構造変化を引き起こし、シグナルを伝達します。

ANP is a peptide hormone secreted from heart atrium, which plays a crucial role in regulating blood pressure and volume. Quaternary structural change has occurred upon ANP binding.

### 高難度蛋白質の発現と生産・ANP受容体の構造解析

蛋白質の立体構造は生命情報の理解に不可欠な情報です。1958年のミオグロビンの構造以降、これまで数々の蛋白質立体構造が明らかにされ、生命の神秘が明らかにされてきました。近年では立体構造を元にしたドラッグデザインの観点からも、その構造情報の重要性が増しています。また、これからの医薬品の標的の大部分は膜蛋白質（特に人間の）であると言われ、その構造情報は知的財産として大きな価値を持つのは明らかです。一方、これまで行われてきた構造解析は、高等動物の蛋白質構造を直接解く代わりに、その取り扱いの簡便性から大腸菌等の下等生物種のホモログを用いて行われて来たものが殆どです。高等動物の蛋白質（特に膜蛋白質）の簡便かつ万能な大量発現系が存在しないためでもありますが、高等動物由来の膜蛋白質等の構造は皆無に等しいです。そこで、本研究分野では、「膜蛋白質や薬剤の複合体等、学術的・社会的に重要だが、立体構造解析が困難な蛋白質」の構造解析に必須な高等動物由来の蛋白質の新規大量発現手法の開発に主眼を置いています。具体的には、アデノウイルスを用いた発現手法や、高発現ステابل細胞株を高効率で樹立する技術の確立などを積極的に進めています。特に現在力を注いでいるのは、ANP受容体です。ANP受容体は分子量約13万の膜1回貫通型の受容体であり、2量体として働きます。心房より分泌され、血圧・体液量のバランス維持に不可欠なホルモンである心房性利尿ペプチド（ANP）の受容体です。ANPはそれ自身が急性心不全の薬として用いられていますが、血中での寿命は高々30分程度と安定性に乏しく、より安定な誘導体の登場が待たれています。我々は、既にANP受容体とANPとの複合体構造を決定しており、ANPの受容体への結合様式を明らかにしましたが、これは新規心不全薬の開発へも繋がる大きな成果です。ANP受容体ファミリーの受容体の構造解析も積極的に進めており、最終的には、1回膜貫通型受容体のリガンド認識機構とシグナル伝達機構の解明を行なうことが当面の目標です。

### Expression and production of challenging proteins

One of our long-term goals is to determine three-dimensional structures of proteins, which have great importance in both academic research and industrial application. The importance of structure determination of these proteins, such as membrane proteins or their complex with drugs, is evident. For example, understanding of receptor/ligand interactions should help researchers design drugs targeting receptors whose functions affect human disease. However, most of structures of these proteins are difficult to determine. One of the reasons is that there is no easy as well as versatile system for the protein production of membrane proteins. Another critical reason is that there are few laboratories to tackle these proteins, because determination of these structures is a high-risk and highreturn investment. To promote this important mission further, we are developing new expression methods, such as adenovirus expression system and direct selection of stable mammalian cell lines that express desired proteins in high yield.

One of our current researches focuses on the atrial natriuretic peptide (ANP) receptor. ANP plays a major role in blood pressure regulation and volume balance of our body. ANP activities are mediated by a single-span transmembrane receptor coupled to guanylate cyclase (GC). The ANP receptor is a member of GC-coupled receptors that share a similar overall molecular configuration and, presumably, a common signal transmission mechanism. Although ANP is used in clinical treatment of acute heart failures, its degradation in plasma is critical. Therefore, more stable derivatives for an ANP receptor agonist are awaited. Recently we have succeeded in determining a structure of the ANP receptor complexed with ANP. The structure explains how the ANP receptor recognizes ANP, and should be useful for designing new drugs for acute heart failures. We are also interested in solving other GC-coupled receptors. Comparison of the structures of the GC-coupled receptors with and without ligands will guide us to the understanding of the mechanism of signal transmission by the GC-coupled receptors. We are also interested in establishing or developing new expression systems for membrane proteins.

## Laboratory of Protein Expression and Production

Associate Professor Haruo OGAWA, D.Sc.  
 准教授 小川 治夫 [博士(理学)] 理学系研究科・生物科学専攻  
 統合的研究教育プログラム  
 Research Associate Tomoatsu HAYASHI, Ph.D.  
 助教 林 寛敦 [博士(農学)] Project Research Associate Lumi NEGISHI, Ph.D.  
 特任助教 根岸 瑠美 [博士(工学)]

直通電話 : 03-5841-1916  
 FAX : 03-5841-7841  
 E-mail : haru@iam.u-tokyo.ac.jp

Ogawa, H., Qiu, Y., Ogata, C.M., Misono, K.S.: Crystal structure of hormone-bound natriuretic peptide receptor extracellular domain: Rotation mechanism for transmembrane signal transduction. *J. Biol. Chem.* 279, 28625-28631 (2004)

Ogawa, H., Qiu, Y., Huang, L., Tam-Chang, S.W., Young, H.S., Misono, K.S.: Structure of the atrial natriuretic receptor extracellular domain in the unbound and hormone-bound states by single-peptide electron microscopy. *FEBS J.* 276, 1347-1355 (2009)

Shinoda, T., Ogawa, H., Cornelius, F., Toyoshima, C.: Crystal structure of the sodium-potassium pump at 2.4 Å resolution. *Nature* 459, 446-450 (2009)

Ogawa, H., Shinoda, T., Cornelius, F., Toyoshima, C.: Crystal structure of the sodium-potassium pump (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase) with bound potassium and ouabain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106, 13742-13747 (2009)

Ogawa, H., Qiu, Y., Philo, J.S., Arakawa, T., Ogata, C.M., Misono, K.S.: Reversibly bound chloride in the atrial natriuretic peptide receptor hormone-binding domain: possible allosteric regulation and a conserved structural motif for the chloride-binding site. *Protein Sci.* 19, 544-557 (2010)

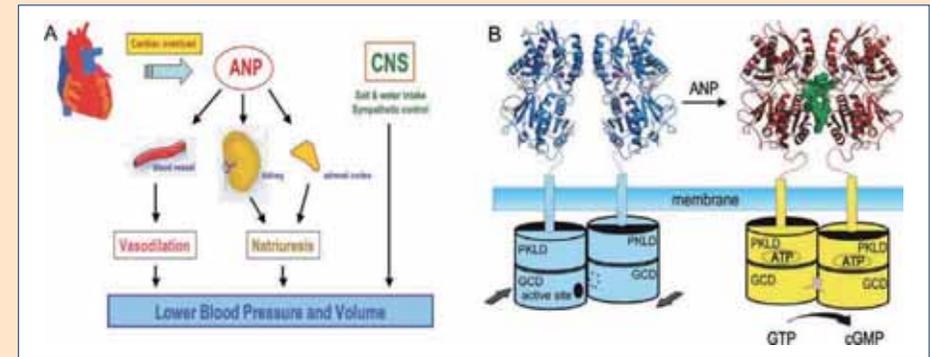
Misono, K.S., Philo, J.S., Arakawa, T., Ogata, C.M., Qiu, Y., Ogawa, H., Young, H.S.: Structure signaling mechanism and regulation of the natriuretic peptide receptor guanylate cyclase. *FEBS J.* 278, 1818-29 (2011)

Okamoto, N., Ogawa, H., Toyoshima, C.: A new method for establishing stable cell lines and its use for large-scale production of human guanylyl cyclase-B receptor and of the extracellular domain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 426, 260-265 (2012)

Toyoshima, C., Iwasawa, S., Ogawa, H., Hirata, A., Tsueda, J., Inesi, G.: Crystal structures of the calcium pump and sarcolipin in the Mg<sup>2+</sup>-bound E1 state. *Nature* 495, 260-264 (2013)

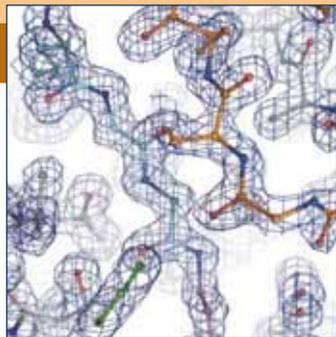
Kanai, R., Ogawa, H., Vilsen, B., Cornelius, F., Toyoshima, C.: Crystal structure of a Na<sup>+</sup>-bound Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase preceding the E1P state. *Nature* 502, 201-206 (2013)

Ogawa, H., Cornelius, F., Hirata, A., & Toyoshima, C.: Sequential substitution of K<sup>+</sup> bound to Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase visualized by X-ray crystallography. *Nat. Commun.* 6, 8004 (2015)



(A) ANPの生理的意義。ANPは心房で生産される28残基のペプチドホルモンで、心房の膨張に応じ血中に分泌される。ANPはナトリウム排出と血管の弛緩を引き起こし、血圧と体液バランスは一定に保たれる。(B) ANP受容体のANP結合に伴う構造変化と信号伝達メカニズム。ANP受容体は分子量約13万の膜1回貫通型の受容体で、ホモダイマーとして働く。ANPの結合に伴い、ANP受容体の細胞外ドメインはtwist運動を起こし、GCドメインを含む膜内の再配置を引き起こす。その結果、GCの酵素活性が上昇する。

(A) Physiological function of ANP. ANP is a peptide hormone produced in the heart atrium and secreted into the circulation in response to atrial distension. ANP has potent natriuretic and vasorelaxant activities. Through these actions, ANP regulates blood pressure and volume. (B) Structural changes induced in the ANP receptor by ANP and proposed mechanism of signal transmission. ANP binding causes a twist motion of the two extracellular domain. This motion reorients the two intracellular domains. The reorientation of the intracellular domains brings two active sites of GC domains to optimal proximity and orientation, thereby giving rise to the GC catalytic activity.



## 蛋白質複合体解析研究分野 (放射光分野融合国際卓越拠点兼務)

X線結晶構造解析と生化学・分子細胞生物学の手法を組み合わせ、細胞の形・機能・運命を決定する分子シグナリングを制御するタンパク質複合体の形成原理と機能発現メカニズムを原子分解能レベルで理解します。

Our laboratory elucidate mechanisms of molecular signaling and reactions at atomic resolution by X-ray crystallography of protein complexes.

### タンパク質複合体の形成と機能の分子メカニズム

タンパク質や核酸などの生体高分子は一定の立体構造に折り畳まれて機能します。したがって、生体高分子が動くメカニズムを解明するためには立体構造決定が不可欠です。X線結晶構造解析は、分解能の高さと解析可能な分子量の点において強力な立体構造決定法です。本研究分野では、複数の生体高分子が特異的に相互作用して形成される複合体のX線結晶構造解析を行なうことによって、複合体が担う細胞内外の分子シグナリングや反応の制御メカニズムを原子分解能レベルで明らかにします。さらに、複合体の立体構造から明らかとなる複合体の形成原理と機能発現メカニズムを、変異体を用いた *in vitro* および *in vivo* の機能解析によって裏付けます。

#### 1. 構造神経科学

中枢シナプス形成を誘導する膜受容体複合体 (シナプスオーガナイザー) と下流シグナル複合体の立体構造解析と機能解析によって、シナプス形成を誘導するメカニズムを原子の解像度で明らかにする研究を行っています。さらに、シグナル伝達を調節するペプチドや低分子化合物の探索と疾患モデルマウスの行動への影響を解析することで神経発達障害への創薬標的を提示する共同研究を進めています。また、神経細胞が機能する上で重要な膜タンパク質や脂質の細胞内輸送に関わるタンパク質複合体の立体構造解析と機能解析も行っています (Fukai et al., *EMBO J.*, 2003; Sato et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2007; Yamashita et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010; Yamagata et al., *Sci. Rep.*, 2015; Yamagata et al., *Nat. Commun.*, 2015; Kimura et al., *Sci. Rep.*, 2016; Chen et al., *Sci. Rep.*, 2017; Goto-Ito et al., *Sci. Rep.*, 2017など)。

#### 2. ユビキチンシグナリング

ユビキチンは76アミノ酸残基からなる小さなタンパク質で、プロテアソームによるタンパク質分解シグナルとしての機能が有名ですが、タンパク質分解以外にも様々な細胞機能の制御シグナルとしてはたらくことが近年の研究により明らかになっています。ユビキチンは自身のリジン残基またはN末端のメチオニン残基 (M1) とC末端のグリニン残基 (G76) がイソペプチド結合あるいはペプチド結合を介してつながることでユビキチン鎖を形成しますが、48番目のリジン (K48) を介してつながったユビキチン鎖がプロテアソームによる分解シグナルとしてはたらくのに対して、M1やK63を介してつながったユビキチン鎖 (M1鎖、K63鎖) はプロテアソームに依存しないシグナルとしてはたらくします。私たちは、M1鎖やK63鎖が重要な役割を担っているDNA損傷応答や炎症シグナルなどに注目し、そのシグナル制御メカニズムを立体構造解析と機能解析により明らかにしています。DNA損傷や炎症は細胞のがんに非常に密接に関わっており、得られた知見をもとにがん抑制のための創薬基盤の提示を行っています (Sato et al., *Nature*, 2008; Sato et al., *EMBO J.*, 2009a; Sato et al., *EMBO J.*, 2009b; Sato et al., *PNAS*, 2011; Sato et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2015など)。

### Molecular mechanisms for assembly and functions of protein complexes

Biological macromolecules are folded to exert their specific functions. Therefore, three-dimensional structure determination is necessary to elucidate how biological macromolecules work. X-ray crystallography is a powerful structure determination technique in terms of resolution and applicable molecular weight. The mission of our laboratory is elucidation of regulatory mechanisms for molecular signaling and reactions inside or outside cells at atomic resolution by X-ray crystallography of biological macromolecular complexes. We further perform functional analyses using site-directed mutants *in vitro* and/or *in vivo* to support the principle of the complex formation and functional mechanism revealed by three-dimensional structures of macromolecular complexes.

#### 1. Structural neuroscience

We elucidate molecular mechanisms for synapse formation at atomic resolution by structural and functional analyses of synapse-inducing cell adhesion complexes (termed "synapse organizers") and their downstream effectors. Further, we will develop methods for controlling synapse formation, based on the structural information. Since dysfunctions of the synapse formation are closely related to neurodevelopmental disorders, expected results might lead to an innovation of therapeutic methods for neurodevelopmental disorders. We also investigate membrane proteins and molecular complexes that play important roles in neuronal functions.

#### 2. Ubiquitin signaling

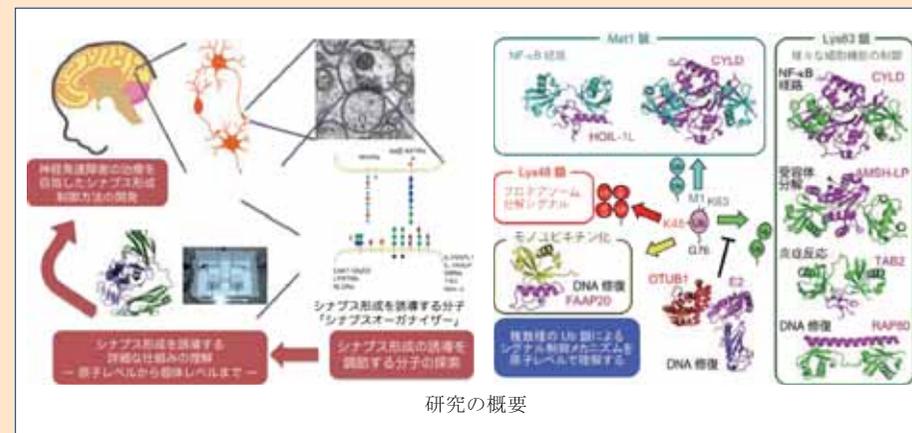
Ubiquitin is a conserved 76-residue protein, which is well known as a signaling molecule for the proteasomal degradation. Further, recent researches have revealed that ubiquitin controls various cellular functions besides the protein degradation. Ubiquitin can form ubiquitin chains through the conjugation between its C-terminal glycine residue (G76) and lysine residues or terminal methionine residue (M1). Ubiquitin chains linked through Lys at position 48 (K48) are served as the proteasomal degradation signal, whereas those linked through M1 and K63 function in proteasome-independent contexts such as DNA damage and inflammatory responses. We focus on M1- and K63-chain-mediated processes and elucidate their structural basis by using techniques of X-ray crystallography, enzymology, biophysics and cell biology. DNA damage and inflammation are closely related to tumorigenesis. We present a basis for design of antitumor drugs.

## Laboratory of Macromolecular Complexes

Associate Professor Shuya FUKAI, D.Sc.  
准教授 深井 周也 (博士(理学)) 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
Research Associate Atsushi YAMAGATA, Ph.D.  
助 教 山形 敦史 (博士(理学)) 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
Research Associate Yusuke SATO, Ph.D.  
助 教 佐藤 裕介 (博士(理学)) 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻  
先進的研究教育プログラム  
Research Associate Sakurako ITO, Ph.D.  
助 教 伊藤 桜子 (博士(理学))

直通電話 : 03-5841-7807  
FAX : 03-5841-0706  
E-mail : fukai@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/srro/

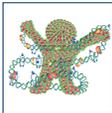
1. Yamagata et al., "Mechanisms of splicing-dependent *trans*-synaptic adhesion by PTP $\delta$ -ILIRAPL1/IL-IRAcP for synaptic differentiation", *Nat. Commun.*, **6**, 6926 (2015)
2. Sato et al., "Structures of CYLD USP with Met1- or Lys63-linked diubiquitin reveal mechanisms for dual specificity", *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 222-229 (2015)
3. Yamashita et al., "Structural basis for the Rho- and phosphoinositide-dependent localization of the exocyst subunit Sec3", *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 180-186 (2010)
4. Sato et al., "Structural basis for specific cleavage of Lys 63-linked polyubiquitin chains.", *Nature*, **455**, 358-362 (2008)



研究の概要

### 研究の概要 (Schematic drawing of our research)

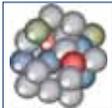
# エピゲノム疾患研究センター Research Center for Epigenetic Diseases



**ゲノム情報解析研究分野**  
Laboratory of Genome Structure and Function  
教授 白髭 克彦 [博士(医学)]  
Professor Katsuhiko SHIRAHIGE, Ph.D.



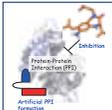
**ゲノム再生研究分野**  
Laboratory of Genome Regeneration  
教授 小林 武彦 [理学博士]  
Professor Takehiko KOBAYASHI, Ph.D.



**癌幹細胞制御研究分野**  
Laboratory of Cancer Stem Cell Biology  
教授 秋山 徹 [医学博士]  
Professor Tetsu AKIYAMA, Ph.D.



**幹細胞制御研究分野**  
Laboratory of Stem Cell Regulation  
准教授(委嘱) 田中 稔 [博士(農学)]  
Associate Professor Minoru TANAKA, Ph.D.



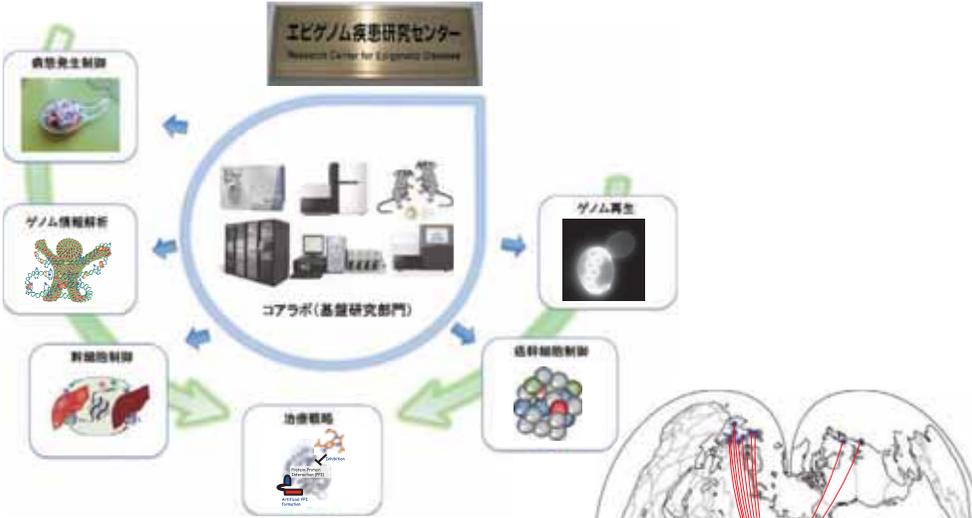
**治療戦略研究分野**  
Laboratory of Drug Discovery Strategy  
教授 橋本 祐一 [薬学博士]  
Professor Yuichi HASHIMOTO, Ph.D, Pharm.



**病態発生制御研究分野**  
Laboratory of Pathology and Development  
准教授 岡田 由紀 [博士(獣医学)]  
Associate Professor Yuki OKADA, Ph.D.

エピゲノム疾患研究センターでは第2の遺伝暗号と呼ばれる「エピゲノム修飾」、すなわちタンパクやDNAの種々の修飾の組み合わせによる、生命機能制御の分子メカニズムに特化した研究を行うべく、幹細胞制御、発生、分化研究、エピゲノム制御の破綻による、がん、生活習慣病、染色体異常を含めた様々な疾病、老化に関する研究をテーマとする研究室を集約し、2010年に分生研の附置研として設置されました。さらに、2011年よりエピゲノム研究を支える基盤技術である最先端の次世代シーケンサー、質量分析装置、電算機を縦横無尽に使用可能なコアラボを設置し、所内はもとより国内外の研究機関と多数の共同研究を行ってきました。これらの成果を臨床診断、治療、創薬にフィードバックすることを目指して研究を進めています。

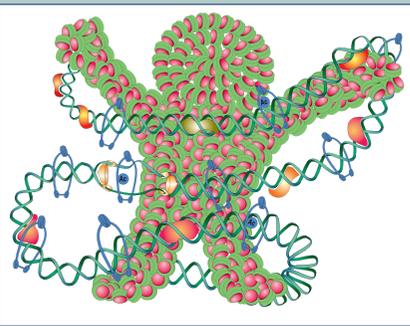
Epigenetic alterations, namely chemical modification of both the DNA itself and the proteins that interact with eukaryotic DNA to build chromosome, are critical for gene regulation and therefore play crucial roles in development and cell differentiation. Furthermore, aberrant epigenetic alterations are increasingly recognized as being involved in the development of various diseases such as cancer, lifestyle disease, aging, and chromosome aberration linked disease. The Research Center for Epigenetic Diseases of the Institute of Molecular and Cellular Biosciences was established in 2010 to focus on studies on epigenetics. Outstanding laboratories in the fields of development, cell differentiation, cancer, aging, and genomics have been brought together to perform multidisciplinary studies for this purpose. In 2011, a core laboratory service department has been launched to support activities of epigenetic studies world-wide. In addition to its own discoveries and development of new technologies related to epigenetic studies, it provides mass spectrometry technology, next generation sequencing technology, and computational tools of broad general application to the scientific community. Our ultimate goal is to help develop therapeutic applications in regenerative medicine as well as in the treatment of cancer and metabolic bone diseases.



【上】  
エピゲノム疾患研究センターは応用研究部門と基盤研究部門から構成されています。応用研究部門には7つの研究室が属し、病院、企業との連携の元に疾患治療、創薬等につながる応用的な研究を行っています。基盤研究部門はマスペクトル、マイクロアレイ、次世代シーケンサー解析技術を所内外に広く提供し、解析のサポートを行っています。

【右】  
基盤研究部門では国際共同研究も推進しており、国外の9つの国、計13の研究施設と共同研究を行っています。

コアラボの共同研究先



# ゲノム情報解析研究分野 Laboratory of Genome Structure and Function

ゲノム学的手法を駆使し、染色体がもつ遺伝情報の維持・継承のための精妙な制御ネットワークを明らかにします。  
Genomic approaches open up the way to understand how various chromosomal functions are connected to make a network for faithful maintenance of the genome.

## 染色体機能の制御異常と疾患

染色体（≡遺伝情報）は生命のプラットフォームです。生物の生存・増殖のためにはいわゆる染色体機能が正常に遂行される事が必須です。染色体機能（転写、複製、分配、染色体高次構造変換、修復、組換え等々）の破綻は癌、老化をはじめ、多くの疾患の原因である事が知られています。染色体機能はDNAと数百、数千のタンパク質因子の相互作用により制御されています、つまり染色体はこれら遺伝情報の発現、維持に関する数百、数千のタンパク質因子が活動する場です。

あるタンパク質因子が染色体のどこで機能しているのかを塩基レベルの解像度で決定する手法としてChIP-chip (chromatin immunoprecipitation on DNA chip) 法があります。白髭研究室は世界にさががけてこのChIP-chip法を実用化しました。そして、この手法を用いて染色体維持に関わる因子が染色体のどこで機能しているか、その局在は細胞周期や様々な疾患細胞中でどのように変化するか、という動態を明らかにしてきました(図1)。染色体上で機能している現場を直に可視化することで、それぞれの因子が果たしている役割の本質に肉薄することができます。また、様々な因子の結合プロファイルを比較することで、これまで予想されていなかった因子間の機能連関を明らかにすることも成功してきました(1)~(7)。ゲノム解析技術は「次世代DNAシーケンサー」の登場により今大きく様変わりしています。この大量並列型シーケンサーとChIP法を組み合わせる(ChIP-seq法)ことで、ヒトのような巨大で複雑な染色体でも正確に感度よくタンパク質局在を決定できることが分かってきました。私達の研究室では、今後このChIP-seq法の実験・解析技術を確認し、これまで解析の難しかった因子やヒトに特有の因子の機能解析をすすめていこうとしています。

現在、研究室の大きなテーマの一つはSMCタンパクによる染色体機能制御機構の解明です。SMCタンパク質複合体は現在までに3種類が報告されていますが(コヒーシン、コンデンシン、SMC5/6)、これら複合体はいずれも真核生物に高度に保存されており、少なくとも染色体の分配に必須の役割を持つ事が知られています。一方、これらの複合体は高等真核生物に特有の機能も有していると考えられており、特にコヒーシンの機能不全はCdLS (Cornelia de Lange Syndrome) と呼ばれる多発奇形症候群の原因となることが知られています(図2)。我々はコヒーシン複合体について、ChIP-seq法を用いてその局在を解析し、コヒーシンが転写因子複合体の一部として転写制御に寄与している事を明らかにしました(図3)。現在、様々なCdLS患者由来の細胞、ノックアウトマウスを用い、遺伝学、生化学、ゲノム学的解析を通してコヒーシンの転写制御の分子メカニズムを解明しています。他の二つのSMC複合体もそれぞれ転写制御に役割を持つと考えられるデータが得られており、現在、ヒト、マウス、酵母細胞を用い研究を行っています。



図1 染色体“素反応”の場としての染色体  
一本の染色体DNA上では転写、複製、修復などの複数の反応が同時並行的に進行しています。これら素反応の間の協調・連携を理解し、ゲノム維持のための機構を様々な階層レベルで理解するためには染色体を“まるごと”把握・理解するジェノミクス的手法が不可欠です。

図3 各種機能は統合して一つの染色体分子として機能します  
To understand the molecular mechanism that guarantees the genome integrity, it is essential to study process of chromosome dynamics (i.e., transcription, replication, recombination, repair, and partition) as a whole using genomic approaches.

Professor 教授 Katsuhiko SHIRAHIGE, Ph.D. 医学系研究科・分子細胞生物学専攻  
白髭 克彦 (博士(医学)) 総合文化研究科・広域科学専攻・生命環境科学系  
農学生命科学研究科・応用生命工学専攻

Lecturer 講師 Takashi SUTANI, Ph.D.(Science) 医学系研究科・分子細胞生物学専攻  
須谷 尚史 (博士(理学))

Research Associate 助 坂東 優篤 (博士(工学)) 医学系研究科・分子細胞生物学専攻

Research Associate 助 中戸 隆一郎 (博士(情報学)) 医学系研究科・分子細胞生物学専攻

Research Associate 助 森 由起 (博士(理学)) 医学系研究科・分子細胞生物学専攻

Research Associate 助 藤木 克則 (博士(学術))

Technical Specialist 技術専門職員 Naoko YOKOTA 横田 直子

直通電話 : 03-5841-0756  
FAX : 03-5841-0757  
E-mail : kshirahi@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/  
chromosomeinformatics/index.html

## Links between dysregulation of chromosome function and human disease

Our main interest is to understand molecular mechanisms for the regulation of chromosome functions (i.e. transcription, chromosomal replication, recombination, repair, and partition). Plenty of human diseases (including cancer and aging) are caused by dysregulation of chromosome functions. Our main method for the understanding of chromosome functions is genomic approaches. Genetic and biochemical approaches have so far identified hundreds of proteins involved in chromosome metabolisms. Now, genomic approaches let us know how these proteins are actually integrated into the process of chromosome metabolic pathways, and how each pathway is connected to make a huge network for the precise regulation of chromosome functions (Fig. 1). We are exploring dynamic aspects of chromosome functions in two yeast species (*Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*), mouse, and human by genomic approaches called ChIP-chip (Chromatin Immunoprecipitation combined with high resolution tiling genome chip technology) and ChIP-seq (ChIP combined with next generation sequencing technology) techniques.

For example, ChIP-chip and ChIP-seq enable us to monitor progression of DNA replication through precise mapping of replication machinery and newly synthesized DNA in the whole genome. Using these techniques, we have analyzed how DNA replication checkpoint proteins are integrated into the process of DNA replication, leading us to identification of Mre11 as a key player for DNA replication checkpoint cascade[2]. By applying the same technique to analysis of human chromosome, we have shown that cohesin, a protein complex that is essential for chromosome partitioning, plays also an important role in transcriptional regulation as an insulator protein (Fig. 2, 3, 4, 5). This function of cohesin is very special to metazoan and loss of transcriptional control by cohesin especially in human is known to cause multi-developmental system disorder called CdLS (Cornelia de Lange Syndrome) (Fig. 2 and 3). One of our research focuses now is to understand molecular mechanisms of transcriptional control mediated by cohesin and its related protein complex (condensin and SMC5/6 complex).

Major topics in our research are as follows

- ☆ Molecular mechanisms of transcriptional regulation by cohesin complex
- ☆ Molecular mechanisms of transcriptional regulation by condensin and SMC5/6 complex
- ☆ Molecular mechanisms of replication fork stalling and re-starting
- ☆ Molecular mechanisms of sister chromatid cohesion establishment

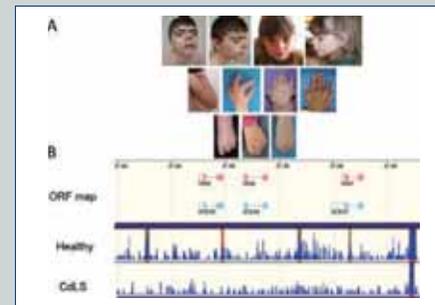


図2 (A) CdLS患者の臨床所見(イアン クラント博士提供)  
(B) ChIP-seqにより明らかとなったCdLS患者中の染色体からのコヒーシン局在部位の消失

Fig. 2  
Loss of Cohesin localization sites in CdLS patient cell line.  
A Clinical traits of CdLS patients (kindly provided by Dr. Ian Krantz)  
B Loss of Cohesin localization sites in CdLS as revealed by ChIP-seq.

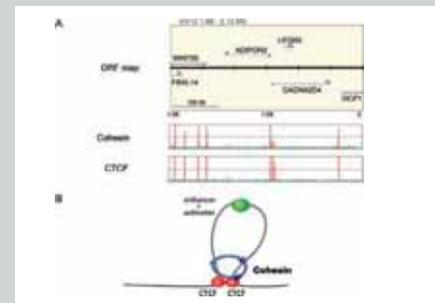


図3 コヒーシン複合体はCTCFを協調してインシュレータとして機能します  
(A) ChIP-seqにより可視化されたコヒーシンおよびCTCFの染色体結合位置プロファイル。  
(B) 研究より導かれたコヒーシン-インシュレータモデル。コヒーシンはCTCFと協調してDNA鎖にループ構造を形成し、エンハンサー・プロモーター間相互作用を調節しています。  
Fig. 3  
Cohesin co-localizes with CTCF and functions as a transcriptional insulator  
ChIP-seq profiles of Cohesin and CTCF  
A Cohesin insulator model deduced from our study  
B Cohesin together with CTCF, connects different sites on one DNA molecule, thereby creating DNA loops that can control enhancer-promoter interactions.

- 1) Lou H, Komata M, Katou Y, Guan Z, Reis CC, Budd M, Shirahige K, Campbell JL, Mre11 and DNA polymerase epsilon function together in linking DNA replication and the S phase checkpoint. *Mol Cell*. (2008) 32, 106-117.
- 2) Komata M, Bando M, Arai H, Shirahige K. The direct binding of Mre11, a checkpoint mediator, to Mcm6, a replication helicase, is essential for the replication checkpoint against methyl methanesulfonate-induced stress. *Mol Cell Biol*. (2009) 29, 5008-5019.
- 3) Wendt KS, Yoshida K, Itoh T, Bando M, Koch B, Schirghuber E, Tsutsumi S, Nagae G, Ishihara K, Mishiro T, Yahata K, Imamoto F, Aburatani H, Nakao M, Imamoto N, Maeshima K, Shirahige K, Peters JM. Cohesin mediates transcriptional insulation by CCCTC-binding factor. *Nature* (2008) 451, 796-801.
- 4) Liu J, Zhang Z, Bando M, Itoh T, Deardorff MA, Clark D, Kaur M, Tandy S, Kondoh T, Rappaport E, Spinner NB, Vega H, Jackson LG, Shirahige K, Krantz ID. Transcriptional dysregulation in NIPBL and cohesin mutant human cells. *PLoS Biol*. (2009) 7, e1000119.
- 5) HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle. Deardorff MA, Bando M, Nakato R, Watrin E, Itoh T, Minamino M, Saitoh K, Komata M, Katou Y, Clark D, Cole KE, De Baere E, Decroos C, Di Donato N, Ernst S, Francey LJ, Gyfodmou Y, Hirashima K, Hullings M, Isikawa Y, Jaulin C, Kaur M, Kiyono T, Lombardi PM, Hirashima Jaulin L, Morlier GR, Nozaki N, Petersen MB, Seimiya H, Su VM, Suzuki Y, Takayuki K, Wide JJ, Willems PJ, Prigent C, Gillissen-Kaesbach G, Christianson DW, Kaiser FJ, Jackson LG, Hirota T, Krantz ID, Shirahige K. *Nature*. 2012 Sep 13; 489(7415): 313-7. doi:10.1038/nature11316.
- 6) Sutani T, Kawaguchi T, Kanno R, Itoh T, Shirahige K. Budding yeast Wpl1(Rad61)-Pds5 complex counteracts sister chromatid cohesion-establishing reaction. *Curr Biol*. (2009) 19, 492-497.

## ゲノム再生研究分野

## Laboratory of Genome Regeneration

生物のデザインを決めるゲノム（遺伝情報）は地球上で最も重要な情報です。しかしその実体であるDNAは化学物質や放射線に対して極めて弱い物質です。生物は進化の過程でこの弱いゲノムを再生し、生命の連続性を維持する能力を獲得してきました。我々の研究室では、ゲノムの再生メカニズムとその不良が引き起こす細胞老化、がん化の機構を研究しています。

Genome is the most important information on the earth that determines the design of life while the material DNA is quite "fragile" to chemicals and radiations. During evolution, organisms got ability to repair and regenerate the genome. We are trying to reveal the molecular mechanism of genome maintenance and the relationship to cellular senescence and tumorigenesis.

Professor 教授 Takehiko KOBAYASHI, Ph.D.  
 小林 武彦 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 Research Associate 助 教 Yufuko AKAMATSU, Ph.D.  
 赤松由布子 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 Research Associate 助 教 Mariko SASAKI, Ph.D.  
 佐々木真理子 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 先進的教育プログラム  
 Research Associate 助 教 Tetsushi IIDA, Ph.D.  
 飯田 哲史 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 Research Associate 助 教 Chihiro HORIGOME, Ph.D.  
 堀籠 智洋 (理学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
 Technical Specialist 朝倉 智子  
 技術専門職員 朝倉 智子

直通電話 : 03-5841-7861  
 FAX : 03-5841-8472  
 E-mail : tako2015@iam.u-tokyo.ac.jp  
 http://lafula-com.info/kobayashiken/  
 CytoGen/

### ゲノムの維持と細胞老化の分子メカニズムに迫る

ヒトのゲノムDNAは約30億塩基対からなり、長さになると2メートルにも及びます。これが直径5マイクロメートル(200分の1ミリメートル)の核の中に押し込められています。その狭い空間の中で、細胞分裂の際にはゲノムを複製しないとけません。当然頻りにDNAがごんがらがり切れたりします。また酸素呼吸で発生する活性酸素、外からくる紫外線や放射線、化学物質でもDNAは傷つきます。ゲノムが激しく壊れた場合には「アポトーシス」を起こして細胞は死にますが、ゲノムの軽度の損傷は修復してそのまま使われます。ただ完全に直すことは不可能で、少しずつ「変異(異常)」が蓄積し、細胞は徐々に働きが悪くなり「老化」していきます。変異が細胞増殖に関わる遺伝子に生じた場合にはがん化することもあります。がん化はその細胞だけの問題ではなく、個体が死に追いやられることもあります。ヒトの体には約40兆個の細胞があり、それらすべてのゲノムDNAを健全に維持するのは大変な作業です。

ゲノムの維持が特に重要なのは寿命が長い生殖細胞や幹細胞です。生殖細胞は次世代へ命をつなぐ重要な細胞で、変異を大切な子孫にわたすわけにはいきません。また幹細胞も個体が生きていく限り分裂し、新しい細胞を供給し続けるため、変異の蓄積は極力避ける必要があります。これらの細胞ではゲノムの修復では追いつかず、「再生」レベルの維持・管理が必要となります。我々の研究室では酵母、マウス、ヒト細胞を用いて、ゲノム再生の分子機構を研究しています(図1)。

ゲノムと一口に言っても安定性は部位によってかなり異なります。我々の研究室ではゲノム中でも特に安定性が低い「反復配列」に注目しゲノムの再生機構の研究を行っています。

反復配列は異常な構造をとりやすくDNAの複製の妨げになります。中でもリボソームRNA遺伝子(rDNA)は最も危険な領域です(図2)。rDNAは酵母ゲノムの約10%、ヒトでは約0.5%の領域を占める最大派閥で、興味深いことに、酵母でリボソームRNA遺伝子の安定性を人為的に低下させると寿命が短縮し、逆に向上させると寿命は延長します。おそらくリボソームRNA遺伝子のような不安定で大きな領域は、いち早くゲノムの崩壊を感知し、細胞の増殖を減衰させる「老化シグナル」の発生源になっていると考えられます(図3)。

細胞老化には傷ついた細胞を排除し、がん化を抑制する働きがあります(図4)。我々は、この老化シグナルをうまく操ることで新しいがん予防法の開発にもつなげたいと考えています。

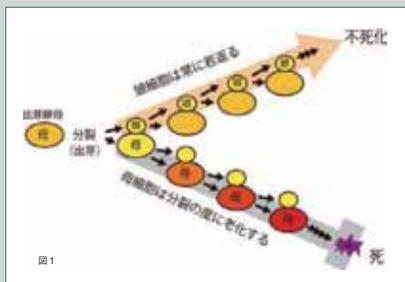


図1 生命の連続性の維持機構  
 酵母の母細胞(動物細胞の分化細胞に相当)は分裂のために老化してやがて死んでしまいますが、娘細胞(動物細胞の幹細胞に相当)は逆に分裂のために若返り永遠に生き続けます。そのときにゲノムは再生され元通りになります。同様の「若返り」現象が動物細胞の幹細胞や生殖細胞でも起こり、生命の連続性は維持されています。

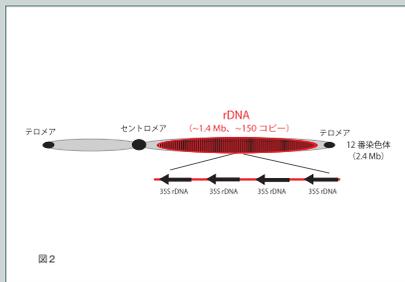


図2 出芽酵母のリボソームRNA遺伝子(rDNA)  
 出芽酵母のrDNAは12番染色体上に150コピーからなる巨大反復遺伝子群を形成しています。リピート間での組換えや遺伝子増幅によりコピー数の変動が常に起こる「ゲノム中で最も不安定な領域」です。

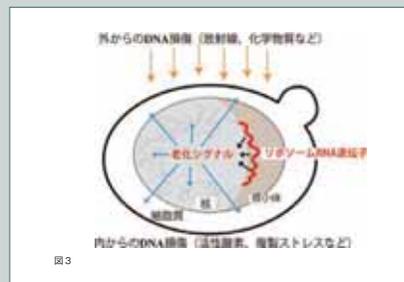


図3 rDNAは老化シグナルの発生源  
 リボソームRNA遺伝子は巨大反復遺伝子群を染色体上に形成しています。その繰り返し構造により、異常な高次構造やリピート間の組換え、複製ストレスや活性酸素の影響を受けやすく、また外部からのDNA損傷刺激(放射線、化学物質など)にも弱い極めて「脆弱(ぜいじゃく)な領域」となっています。そのためrDNAはゲノム中で「最初に壊れる領域」として老化シグナルの発生源となっています。

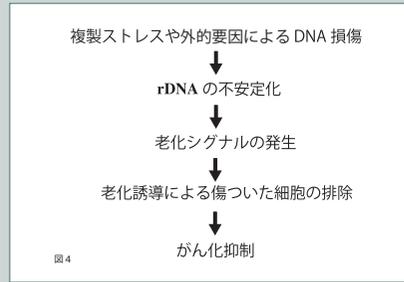


図4 細胞老化はがん化を防ぐ  
 DNA複製のストレス(複製阻害、切断、異常構造)や外部からの化学物質や放射線は、rDNAの安定性を低下させ、老化シグナルの発生を促します。老化シグナルにより細胞の老化スイッチが「オン」になると増殖が停止し、やがて細胞は死んでしまいます。このようにrDNAが率先して老化を誘導することにより、異常な細胞の増殖を防ぎ、がんの発生を予防しています。

### How is the genome integrity maintained?

Human genome has ~ 3 billions base pairs, corresponding to ~ 2 m in length. Such a long DNA is packed into the small nucleus (~ 5 μm diameters) and duplicated in mitosis. It is easy to imagine that the genome is entangled and broken in the small compartment. In addition, the genome gets damaged by ROS, UV and chemical modifications. Seriously damaged genome induces apoptosis to kill the cell. Slight damaged one activates the DNA repair system. But the some lesions on the genome may escape from the system and accumulate. The accumulation reduces cellular functions and induces senescence. It may cause cancer, too. As a human body has ~ 4 trillions cells, it is a quite tough job to maintain the genome integrity in all of them. Especially, long-life cells, such as germ line and stem cells need intensive care. We study how those cells regenerate genome and keep the integrity.

### What is the "Aging signal" from damaged genome?

In eukaryotic cells, the genome has several "fragile" sites that are especially unstable. The ribosomal RNA gene repeat (rDNA) is the biggest one. The repeat occupies ~ 10% of yeast and ~ 0.5 % of human genome. Recently, we found that rDNA stability determines yeast lifespan. Therefore, we speculate that the rDNA is a major source of "Aging signal" that induces cellular senescence and restrict the lifespan. We would like to identify the signal.



## 癌幹細胞制御研究分野

### Laboratory of Cancer Stem Cell Biology

癌根治療法の本質的な標的である「癌幹細胞」が腫瘍を形成する分子メカニズムを解明し、癌幹細胞を標的とした新しい治療戦略の創出を目指しています。

We investigate the molecular mechanisms by which cancer stem cells, essential targets for cancer therapy, drive the formation and growth of tumors and aim to develop new therapeutic strategies directed specifically against them.

Professor (兼任) Tetsu AKIYAMA, Ph.D. 秋山 徹 (医学博士) 理学系研究科・生物科学専攻  
Associate Professor Yoshihiro KAWASAKI, Ph.D. 川崎 善博 (博士(農学)) 理学系研究科・生物科学専攻

直通電話：03-5841-7835  
FAX：03-5841-8482  
E-mail：kawasaki@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/5ken/

### 癌幹細胞に関する概念と研究概要

成体内の様々な組織には自己複製能と多分化能を併せ持つ幹細胞が存在し、各々組織の一部をなす細胞へと分化して組織を形成していることが知られています。正常幹細胞システムと類似して、癌組織内においても不均一な細胞集団が階層性を形成しており、大多数を占める癌細胞は腫瘍を形成する能力が低く、微量しか存在しない癌幹細胞と呼ばれる細胞のみが強い造腫瘍性をもつと考えられるようになってきました。癌幹細胞は正常幹細胞と類似して分裂速度が非常に遅く、高い薬剤排出能を有すると考えられ、強い放射線耐性や抗癌剤耐性を示すと予想できます。その為、癌幹細胞は治療後の癌の再発や転移の大きな原因となっていると考えられ、少数集団にすぎないが癌幹細胞こそは癌根治療の本質的な標的であると考えられています。本研究分野では、癌幹細胞が腫瘍を形成する分子メカニズムを解析し、新たな診断法や分子標的治療法開発に資することを目指して研究を進めています。特に、医薬品への応用が期待できる膜蛋白質やエピゲノム制御因子を含む転写因子群に着目した研究を展開し、癌幹細胞の発生・未分化性維持に関わる分子機構の解明に取り組んでいます。

### Concept of Cancer Stem Cell and our Research Interests

Tissue stem cells found in various organs have been thought to maintain self-renewal and pluripotency and generate differentiated cells specific to the tissue in which they reside. It has recently been shown that tumors are also organized in a hierarchy of heterogeneous cell populations -mirroring a stem cell system- and that the capability to maintain tumor formation and growth specifically resides in a small population of cells called 'cancer stem cells (CSCs)'. CSCs display strong resistance to chemotherapy and radiotherapy. They would therefore be responsible for tumor recurrence and metastasis after cancer treatments and considered as the essential target for cancer therapy. We investigate the mechanisms by which CSCs drive the formation and growth of tumors, and aim to make contributions to cancer therapy and diagnosis. We are especially focusing on the molecular function of membrane proteins and transcription factors/epigenetic regulators crucially involved in the self-renewal and differentiation of CSCs.

## 幹細胞制御研究分野

### Laboratory of Stem Cell Regulation

幹細胞の増殖や分化は細胞外からの様々なシグナルにより厳密に制御されています。我々は細胞分離法を駆使することで、幹細胞やその制御に関わる細胞種を特定し、細胞レベルで幹細胞制御機構を明らかにすることを目指しています。

Stem cells are strictly regulated by various extracellular signals in vivo. We shed light on the mechanisms of stem cell regulation by using technology to identify stem cells and their supporting cells.

Associate Professor Minoru TANAKA, Ph.D. 田中 稔 (博士(農学)) 新領域創成科学研究科・メディカル情報生命専攻

本 務：国立国際医療研究センター研究所  
内 線：27884  
直通電話：03-5841-7884  
FAX：03-5841-8475  
E-mail：tanaka@iam.u-tokyo.ac.jp  
http://ncgm-regenerative-medicine.org/

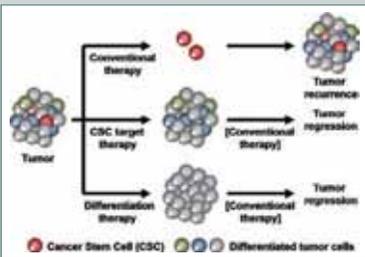


### 肝発生および肝疾患における細胞間相互作用に関わる分子メカニズムの解明

成体の肝臓は生命を維持する上で必須の代謝器官であり、その主要な機能を担う肝実質細胞(肝細胞)と肝非実質細胞(類洞内皮細胞、肝星細胞、胆管上皮細胞、血液細胞など)から構成されています。肝細胞と胆管上皮細胞は発生過程において、肝芽細胞と呼ばれる共通前駆細胞から分化してくるから、肝芽細胞は胎児期の肝幹/前駆細胞(LPC)と考えられています。一方、成体においても重篤な肝障害時にはLPCが出現し、肝再生に寄与すると考えられています。このようなLPCの増殖や分化は、肝臓を構成する様々な細胞群により厳密に制御されていると考えられますが、不明な点も多く残されています。本研究分野では、細胞間相互作用という視点から、「LPCによる肝臓の発生や再生」、「肝線維化や肝がん等の病態形成」のメカニズムを解明し、肝疾患の新規治療法の開発や再生医療への応用を目指します。最近では、肝障害時の死細胞から発信される情報「ダイニング・コード」と肝疾患との関連についても研究を進めています。

### Analysis of the molecular mechanisms of intercellular interactions involved in liver development and disease

Liver is composed of hepatocytes and non-parenchymal cells including endothelial cells, hepatic stellate cells, biliary epithelial cells (BECs), blood cells and so on. Because hepatoblasts proliferate and differentiate into both hepatocytes and BECs during liver development, they are considered as fetal liver stem/progenitor cells (LPCs). On the other hand, adult LPCs are known to contribute to regeneration in severely injured liver. Although the growth and differentiation of LPCs are supposed to be regulated by intercellular interactions among various liver cells, the precise mechanism underlying liver development and regeneration remains poorly understood. Our aim is to uncover the cell-cell interaction relevant to the liver regeneration as well as the pathogenesis of cirrhosis and carcinogenesis, which contributes to regenerative medicine. Recently, we are also focusing on the relationship between liver diseases and "Dying Code" derived from dying cells.



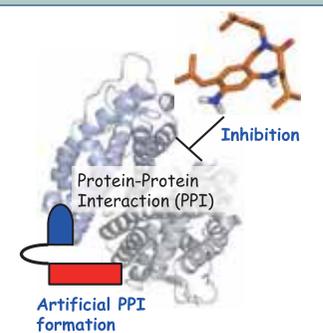
癌組織中には多様な分化段階の細胞や異なる分裂速度をもつ細胞が混在しています。現在の癌治療の多くは分化した癌細胞を標的として開発されており、治療抵抗性を示す癌幹細胞には効果が少ないと考えられています。治療によって大部分の癌細胞が死滅しても、ごく少数の癌幹細胞が生き残り、やがて癌の再発が起こると考えられます。今後、癌幹細胞を標的とする癌根治療法の開発が必須であり、癌幹細胞だけを狙った治療や癌幹細胞の分化を誘導し幹細胞としての性質を削ぐ治療が有効だと思われます。

Many cancers are maintained in a hierarchical organization of rare cancer stem cells and more differentiated tumor cells. Conventional therapies target proliferating differentiated cells and may preferentially spare cancer stem cells, which could lead to tumor recurrence. Therapies that are specifically directed against cancer stem cells are therefore expected to lead to tumor degeneration. Furthermore, it should be possible to treat cancers by inducing differentiation of cancer stem cells.



肝臓構成細胞の分化系譜と肝形成における細胞間相互作用のモデル図。これまでに我々が明らかにした肝発生における細胞系譜と細胞表面マーカー分子の変動を示しています。肝臓を構成する細胞はお互いにコミュニケーションを取り合っており、秩序のある細胞社会を形成しています。しかし、種々の肝障害により細胞社会が覆乱されると、肝炎や肝硬変、肝臓の発症につながります。

Model of cell lineages and intercellular interactions during liver development and diseases. The lineages of fetal liver cells are delineated based on the expression profiles of cell surface markers. Numerous cells constituting the liver have communication with each other to create an orderly "cellular society". However, the disruption of cellular society by various insults will lead to liver diseases such as hepatitis, cirrhosis and carcinogenesis.



## 治療戦略研究分野

### Laboratory of Drug Discovery Strategy

疾患の原因となるタンパク質が特定されているにもかかわらず、治療薬が存在しない疾患が多く存在します。私達は有機化学を基盤として、疾患原因タンパク質を制御する新しい手法を開発しています。

Many disease-related proteins are remained functionally un-controllable with small molecules. We are discovering the novel strategy for regulating proteins.

Professor Yuichi HASHIMOTO, Ph.D, Pharm.  
 教授 (兼任) 橋本 祐一 (薬学博士) 薬学系研究科・薬学専攻  
 Associate Professor Minoru ISHIKAWA, Ph.D, Pharm.  
 准教授 石川 稔 (博士(薬学)) 薬学系研究科・薬学専攻

直通電話 : 03-5841-7853  
 FAX : 03-5841-8495  
 E-mail : m-ishikawa@iam.u-tokyo.ac.jp  
<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chem/IMCB-strategy-HP/Index.html>

#### 低分子創薬に対する有機化学的な新手法の提案

低分子創薬は、酵素の阻害薬、また受容体の作動薬・拮抗薬など、疾患関連タンパク質の機能制御が主流であり、この関係は「鍵と鍵穴」に例えられています。「鍵と鍵穴創薬」の成功例が多い一方で、薬らしいリガンドが未発見のタンパク質や、鍵と鍵穴創薬が通用しないタンパク質(結合タンパク質・凝集性タンパク質・タンパク質複合体)については創薬成功例が少ないのが現状です。私達はこれら課題を解決すべく、有機化学を基盤とした低分子創薬の新手法を開発しています。

- 1) タンパク質ノックダウン法  
 疾患原因タンパク質(受容体・結合タンパク質・凝集性タンパク質)を低分子によって分解誘導する方法を開発しました。
- 2) 作動薬・拮抗薬とは異なる核内受容体リガンドの創製  
 転写因子以外の作用に選択的なりガンドや、核内受容体と補因子タンパク質の結合阻害薬を創製しました。
- 3) 化合物の水溶性を改善する分子設計  
 化合物の水溶性は、医薬に非常に重要な要素です。分子間相互作用を減少させる分子設計により、化合物の水溶性を改善できることを示しました。

#### Novel strategy for small molecule drug discovery

- 1) Protein knockdown: formation of artificial protein-protein complex  
 We have developed a new approach, named "protein knockdown", using small molecules to induce selective degradation of target proteins post-translationally. Protein knockdown would be useful for biological studies. It might also provide a new therapeutic strategy in cases where expression of target proteins is closely related to diseases.
- 2) Discovery of non-canonical nuclear receptor ligands  
 Inhibitors of the interaction of a nuclear receptor and coactivators, and transrepression-selective nuclear receptor ligands were generated.
- 3) Improvement in aqueous solubility of small molecules  
 Aqueous solubility is essential for drug candidates, and improvement of the aqueous solubility of bioactive compounds is a major issue for medicinal chemists. We proposed a strategy for improving aqueous solubility, that is, modification of molecules in ways that would disrupt molecular planarity or symmetry, which in turn results in a decrease of crystal packing.



【上】 不要なタンパク質は、タンパク質E3、IAPによって標識が付与され、分解される。IAPと疾患関連タンパク質の複合体を形成する化合物は、当該タンパク質を分解した。  
 【左下】 transrepression選択的な核内受容体リガンドを創製した。  
 【右下】 平面性・直線性を崩壊させる分子設計により、溶解性を向上させる方法を提案した。

(Above) Conjugated molecules of the IAP ligand with a ligand of the target protein induced formation of a complex of IAP and the target protein, and degradation of the target protein.  
 (Lower left) Transrepression-selective liver X receptor (LXR) ligand  
 (Lower right) Improvement in aqueous solubility in small molecule drug discovery programs

## 病態発生制御研究分野

遺伝情報を次世代に引き継ぐ生殖細胞では、情報の正しい伝達のために、DNAをとりまく環境も大きく変化します。本研究室では、クロマチンの動態変化が遺伝情報維持や消去にどのように貢献するかを調べています。

In germ cells, which are responsible to transfer the genetic information to their progeny, environment surrounding the DNAs is dramatically changed for precise transmission. In our laboratory, we are studying how chromatin dynamics contributes the maintenance and erasure of genetic information.

### 遺伝情報の伝達を支える エピジェネティクス

生殖細胞は自らの遺伝情報を次世代に継承するという命題の下、その形態や核内環境をダイナミックに変化させながら成熟します。例えば精子の核は長径がわずから5ミクロンで、内部はヒストンが除去されてクロマチンが高度に凝集した結果、転写翻訳といった核内イベントはほぼ完全に停止していると考えられています。しかし近年、精子の中にはヒストンとRNAが少なからず存在することが明らかになり、これらが受精や遺伝情報伝達に何らかの役割を有する可能性が示唆されています。さらに最近、オスの一過性のストレスがエピゲノムマークとなって子孫に遺伝することが実験的に証明されたことから、精子が自分のDNA以外の因子を次世代に受け渡している可能性が高く、益々関心が高まっています。

私たちの研究室では、生殖細胞のクロマチン動態に着目し、それらが細胞増殖や分化・受精にどのような機能を有するかについて研究を進めています。具体的には①精子幹細胞の幹細胞性維持に関わるクロマチン因子の同定と解析、②精子残存ヒストンの機能・生化学的構造解析、③受精におけるクロマチン修飾変化の解析と責任因子の同定、について解析を行っています。

### Epigenetics supports proper transmission of genetic information to progeny.

Germ cells undergo dynamic morphological and molecular changes in order to transfer their genetic information to the progeny. For example, in sperm nuclei, which major axis is only 5 micrometer due to the histone removal and intense chromatin condensation, most of the nuclear events such as transcription and translation are thought to be shut-off. However, recent studies indicate that small amount of histones as well as RNAs still exist in mature sperm, and suggest the possibility that these histones and RNAs play some roles during fertilization. More recently, it is demonstrated that transient stress occurs in male individuals causes epigenetic alteration, and the altered epigenetic marks are inheritable to progeny. These observations support the idea that sperm transfer something other than their genome to the progeny.

In our laboratory, we focus on the chromatin dynamics in germ cells, and examine how it contributes cell proliferation, differentiation and fertilization, and three specific projects are on-going: i) identification and analysis of chromatin modifiers important for spermatogonial stem cells (SSCs), ii) profiling of histones retained in sperm and

## Laboratory of Pathology and Development

Associate Professor Yuki OKADA, Ph.D.  
准教授 岡田 由紀 (博士(獣医学)) 総合文化研究科・広域科学専攻  
先導的研究教育プログラム  
Research Associate Yoshinori MAKINO, Ph.D.  
助 教 牧野 吉倫 (博士(医学))

直通電話 : 03-5841-7831  
FAX : 03-5841-7852  
E-mail : ytkada@iam.u-tokyo.ac.jp

functional analysis of sperm histone variants, and iii) examination of chromatin dynamics during fertilization. Figure legend) A model of histone modification dynamics in sperm and early embryo for transcriptional regulation.

TH2A is phosphorylated at meiotic centromere by Haspin, Hada M, Kim, JH, Inoue E, Fukuda Y, Tanaka H, et al. Chromosoma 2017, Aug 12. doi: 10.1007/s00412-017-0638-5.

Epigenetic modifications and reprogramming in paternal pronucleus: sperm, preimplantation embryo, and beyond.

Okada Y, Yamaguchi K. Cell Mol Life Sci. 2017 Jun; 74(11): 1957-1967. doi: 10.1007/s00018-016-2447-z. Epub 2017 Jan 3.

Identification of a variant-specific phosphorylation of TH2A during spermiogenesis.

Hada M, Masuda K, Yamaguchi K, Shirahige K, Okada Y. Sci Rep. 2017 Apr 7; 7: 46228. doi: 10.1038/srep46228.

Testis-Specific Histone Variant H3t Gene Is Essential for Entry into Spermatogenesis.

Ueda J, Harada A, Urahama T, Machida S, Maehara K, Hada M, et al, Cell Rep. 2017 Jan 17; 18(3): 593-600. doi: 10.1016/j.celrep.2016.12.065.

Use of Histone K-M Mutants for the Analysis of Transcriptional Regulation in Mouse Zygotes.

Aoshima K, Kimura T, Okada Y. Methods Mol Biol. 2017; 1605: 259-270. doi: 10.1007/978-1-4939-6988-3\_18.

Paternal H3K4 methylation is required for minor zygotic gene activation and early mouse embryonic development.

Aoshima K, Inoue E, Sawa H, Okada Y. EMBO Rep. 2015 Jul; 16(7): 803-12. doi: 10.15252/embr.201439700.

Generation of a dual-color reporter mouse line to monitor spermatogenesis in vivo.

Makino Y, Inoue E, Hada M, Aoshima K, Kitano S, Miyachi H, Okada Y. Front Cell Dev Biol. 2014 Jul 23; 2: 30. doi: 10.3389/fcell.2014.00030. eCollection 2014.

Establishment of alternative culture method for spermatogonial stem cells using knockout serum replacement.

Aoshima K, Baba A, Makino Y, Okada Y. PLoS One. 2013 Oct 28; 8(10): e77715. doi: 10.1371/journal.pone.0077715. eCollection 2013.

Understanding paternal genome demethylation through live-cell imaging and siRNA.

Yamagata K, Okada Y. Cell Mol Life Sci. 2011 May; 68(10): 1669-79. doi: 10.1007/s00018-010-0623-0. Epub 2011 Jan 15.

A role for the elongator complex in zygotic paternal genome demethylation.

Okada Y, Yamagata K, Hong K, Wakayama T, Zhang Y. Nature. 2010 Jan 28; 463(7280): 554-8. doi: 10.1038/nature08732.

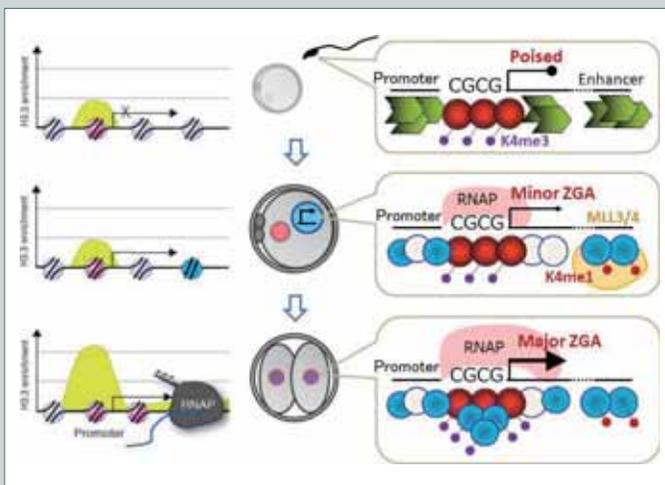


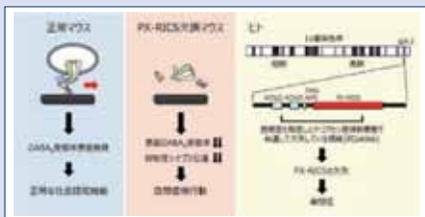
図1: 精子残存ヒストンのプロファイリングと、受精におけるクロマチンダイナミクスの解析。A) 成熟精子には少量のヒストンやRNAが残存しており、それらが受精卵に持ち込まれる可能性がある。B) 受精後の精子核では速やかにプロタミンからヒストンへの置換が起こり、クロマチン修飾も除去されるが、一部のエピジェネティックマークは初期化から免れる。C) 前核後期では雌雄の前核で独立して転写が起こる。Fig 2. Profiling of sperm histones and analysis of chromatin dynamics during fertilization. A) There are histones and RNAs remained in mature sperm, that could be transferred to fertilized eggs. B) After fertilization, protamines in sperm nuclei are quickly replaced by histones, and the epigenetic marks are also removed. However some of the epigenetic marks are retained. C) In the late pronuclear stage, zygotic transcription starts in male and female nucleus independently.

## 分子情報研究分野

### 自閉症発症の分子基盤GABA<sub>A</sub>受容体輸送の障害が自閉症に関連

Nakamura T, Arima-Yoshida F, Sakae F, Nasu-Nishimura Y, Takeda Y, Matsuura K, Akshoomoff N, Mattson SN, Grossfeld PD, Manabe YT, Akiyama T. PX-RICS-deficient mice mimic autism spectrum disorder in Jacobsen syndrome through impaired GABA<sub>A</sub> receptor trafficking. *Nat. Commun.* 2016 Mar 16; 7: 10861. doi: 10.1038/ncomms10861.

自閉症は、対人関係の障害、コミュニケーションの障害、限定的な興味や強いこだわり等を核症状とする発達障害の一種である。脳の興奮/抑制バランスの異常による社会認知機能の障害が原因であると考えられているが、詳しい発症機構は分かっていない。私たちはこれまで、大脳皮質・海馬・扁桃体などの神経細胞に豊富に発現しているPX-RICSの細胞機能を解析してきた。本研究では、PX-RICS欠損マウスが、新規個体に対する興味の減少、他個体からのアプローチに対する応答の減少、超音波啼鳴の減少、習慣への強いこだわり、協調運動障害、てんかん高感受性など、自閉症症状に類似した多彩な行動異常を示すことを見出した。さらに、PX-RICSがGABARAPおよび14-3-3と結合してダイニンとGABA<sub>A</sub>受容体を繋ぐアダプター複合体を形成し、GABA<sub>A</sub>受容体を神経細胞表面へ輸送することを示した。ヤコブセン症候群は11番染色体長腕末端部の欠失に起因する先天性疾病で、半数以上の症例で自閉症を発症する。自閉症を有するヤコブセン症候群患者の共通欠失領域に位置する4つの遺伝子のうち、PX-RICSのみが組織発現・細胞機能ともに脳に関連する。さらに本研究により、PX-RICSの機能が失われると自閉症様行動が惹起されることが明らかとなり、ヤコブセン症候群患者に発症する自閉症の原因遺伝子はPX-RICSであると特定した。GABAシナプスのポスト側の異常による自閉症発症は新しい知見である。この輸送システムを標的とする薬剤の創製、GABA<sub>A</sub>受容体アゴニストの適用など、自閉症の新たな治療戦略を拓くものと期待される。



PX-RICS欠損マウスでは、輸送複合体が形成できずGABA<sub>A</sub>受容体の表面発現が低下し、自閉症様行動が現れる。ヒトでは、11番染色体長腕末端部がPX-RICSを含んで欠失すると、ヤコブセン症候群に自閉症を合併する。

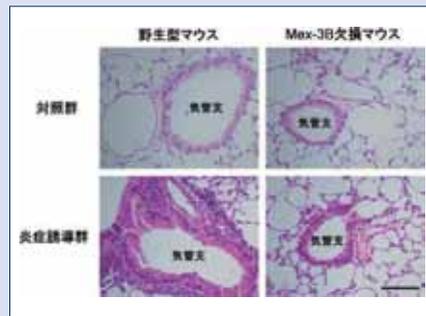
## 分子情報研究分野

### 気管支喘息を制御する新しい分子機構を解明

Yamazumi Y, Sasaki O, Imamura M, Oda T, Ohno Y, Shiozaki-Sato Y, Nagai S, Suyama S, Kamoshida Y, Funato K, Yasui T, Kikutani H, Yamamoto K, Dohi M, Koyasu S, Akiyama T. The RNA-binding protein Mex-3B is required for IL-33 induction in T development of allergic airway inflammation. *Cell Reports* 2016

気管支喘息の発症メカニズムは近年活発に研究されており、インターロイキン33 (IL-33) が重要な役割を担っていることが明らかになっている。しかしながら、IL-33の発現量を制御する機構に関しては十分明らかになっていない。我々は、気管支喘息マウスモデルを用い、RNA結合タンパク質Mex-3BがIL-33の発現を促進することによって気道炎症を促進していることを見いだした。また、その制御機構を詳細に解析したところ、Mex-3BはIL-33 mRNAに直接結合し、miRNAの機能を阻害することによりIL-33のタンパク質量を増やしていることが判明した。さらに、Mex-3Bに対するアンチセンス核酸の噴霧・吸入により気道におけるMex-3Bの働きを抑えることで、気道炎症を抑制できることも明らかとなった。

Mex-3B遺伝子を欠損したマウスは正常に発育し、成体でも異常が認められないことから、Mex-3Bを標的とした薬剤は副作用の少ない新機序の気管支喘息治療薬となることが期待される。



Mex-3B欠損マウスでは気管支喘息モデルに伴う気道の肥厚、炎症症の免疫細胞の増加が抑制されている。

## 神経生物学研究分野

### ショウジョウバエの忌避記憶の2つのコンポーネント、麻酔感受性記憶と麻酔耐性記憶は、それぞれ、小分子GTPase、RGK1の異なる部位を必要とする。

村上智史、南一太郎、廣井誠、中戸隆一郎、白髭克彦、多羽田哲也  
Two components of aversive memory in *Drosophila*, anesthesia-sensitive and anesthesia-resistant memory, require distinct domains within the Rgk1 small GTPase. *J. Neurosci.* 37, 5496-5510, 2017

ショウジョウバエの匂い忌避記憶は様々なコンポーネントを持つことが知られており、それらは遺伝学的にも定義されている。1度の学習で形成される中期記憶は麻酔感受性記憶と麻酔耐性記憶で構成されている。麻酔耐性記憶は学習後の低温ショックでも阻害されない比較的安定な記憶成分と定義される。本論文で、麻酔感受性記憶と麻酔耐性記憶の形成には小分子GTPase、RGK1を必要とすること及び麻酔感受性記憶形成にはN末を欠いたRGK1の活性で十分であるが、麻酔耐性記憶形成には全長RGK1の活性が必要であることを報告した。RGK1は記憶形成の場と考えられているキノコ体ケニオン細胞 (KCs) のシナプスに局在する。麻酔感受性記憶の積極的な忘却はRac1依存性であることが知られている。RGK1はこのRac1依存的な忘却を抑制することによって記憶レベルを維持していることがわかった。RGK1をKCsで過剰発現すると記憶が亢進することも見出した。ショウジョウバエのRGK1は哺乳類の相同分子と同様に電位作動型カルシウムチャンネルを制御することが知られていることから、RGK1の記憶形成における機能の少なくとも一部はカルシウムチャンネルの制御にあることが示唆される。



図 RGK1はKCsシナプスに局在する  
a. 抗RGK1抗体によるショウジョウバエ脳染色像。一部のKCsに特異的に蓄積されている。  
b. 体細胞クローン形成を用いたRGK1のKCsシナプスの局在の可視化。GFP融合RGK1 (緑) とシナプスマーカーのシナプトタグミン (マゼンタ) との共局在が観察される。

## 神経生物学研究分野

### ショウジョウバエの1対のキノコ体出力神経の抑制は忌避学習を惹起する

上岡雄太郎、廣井誠、阿部崇志、多羽田哲也  
Suppression of a single pair of mushroom body output neurons in *Drosophila* triggers aversive associations. *FEBS Open Bio*, 7, 562-576, 2017

ショウジョウバエをモデルに用いた匂い忌避学習のパラダイムでは匂い (CS+) を呈示している間に電気ショック (US) を与え、次に電気ショックなしに別の匂い (CS-) を呈示すると、CS-に比べてCS+の匂いを忌避する行動を記憶できるようになる。この時に匂いを弁別するキノコ体ケニオン細胞 (KCs) がCS+とUSの同時検出器として働き、キノコ体出力神経 (MBON) 群の活性を制御することにより記憶を司っていると考えられている。またUSはドーパミン神経群 (DANs) によりキノコ体に伝達されると理解されている。本論文においてMBONの機能を新たに発見したので報告する。学習時、CS-を呈示している時にGABA作動性のMBON-γ1pedcの働きを抑制すると学習が阻害されることを見出した (CS+を呈示している時にはこのようなことは起こらない)。この時に同時にDANsを抑制するとこの阻害から回復することから、CS-を呈示している時にはMBON-γ1pedcがDANsの作用を抑制することが必要であることを示唆している。DANsはUSを仲介していることからCS+を呈示する時に必要であるが、それ以外にも外界及び生理学的な条件により様々な応答することが観察される。したがって、CS-を呈示している時にDANsが活性化されるとそれはUSと解釈され、CS+と干渉し、記憶の阻害が起これると考えられる。事実、匂いを呈示する時にMBON-γ1pedcを抑制するとUSが無いにも関わらず当該の匂いに対する忌避学習が形成された。近年、情報はDANs>KCs>MBONsと一方向に流れるのではなく双方向性で、これらの神経群は複雑なネットワークを形成していることがわかって来ている。本論文の結果もこの文脈で理解されるべきものの一つであるかもしれない。

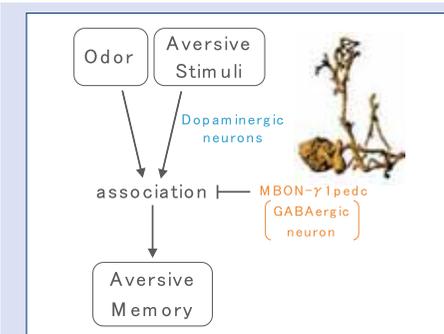


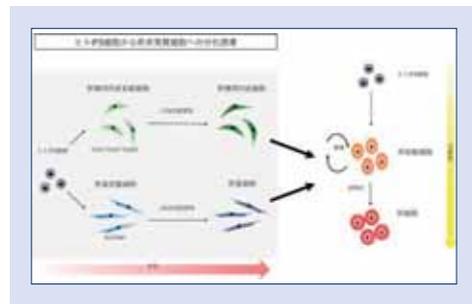
図 MBON-γ1pedcにはDANsの作用を抑制し、不用意な忌避学習が成立することを抑える働きがある。

## 発生・再生研究分野

### iPS細胞からヒト肝臓モデルを開発

厚井悠太、木戸文友、伊藤利将、大山裕樹、Shin-Wei Chen、加藤由起、白髭克彦、宮島篤  
*An in vitro human liver model by iPSC-derived parenchymal and non-parenchymal cells*  
 Stem Cell Reports vol.9, 490-498, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.06.010>

肝非実質細胞（肝類洞内皮細胞や肝星細胞など）は、肝細胞の分化や機能維持に寄与するだけでなく、様々な肝疾患において重要な役割を果たしています。そのため、創薬研究への応用を目的とした多様な肝機能を備えた肝組織や*in vitro*肝疾患モデリングの開発において、肝非実質細胞は必須の細胞です。我々は、マウス肝発生過程を解析し、肝類洞内皮細胞、肝星細胞の前駆細胞の同定・分取に成功し、さらに、その分化・成熟には、それぞれTGFβシグナル、Rhoシグナルが関与することを見出しました。また、このマウス肝発生過程の解析から明らかとなった各非実質細胞の前駆細胞の分離法や増幅・成熟化培養系をヒトiPS細胞からの分化誘導に応用し、ヒトiPS細胞由来の肝類洞内皮細胞、肝星細胞の樹立に成功しました。ヒトiPS細胞由来の肝類洞内皮細胞、肝星細胞は肝成熟化に関与する分泌因子や細胞外マトリクス等を高発現し、iPS細胞由来肝前駆細胞との共培養系（ヒト肝臓モデル）において、肝前駆細胞の増殖や肝細胞への分化を支持することを明らかにしました。今後は、構築したヒト肝臓モデルを肝炎ウイルス感染などの肝疾患モデルへ応用し、肝疾患に対する新たな予防・診断・治療薬の開発を目指します。



## 発生・再生研究分野

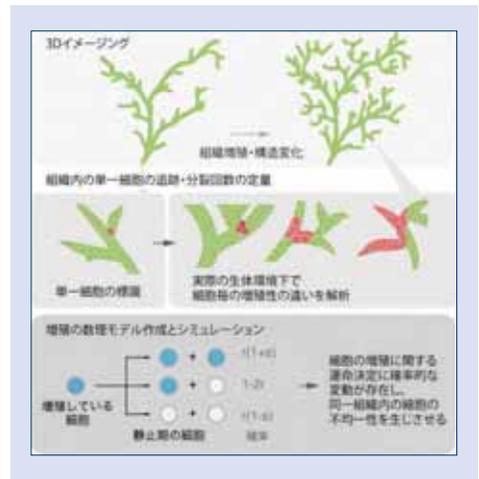
### 肝臓への障害に応じて誘導される胆管上皮組織リモデリングのメカニズム

神元健児、金子洗太、Cindy Kok、岡田 甫、宮島 篤、伊藤 暢  
*Heterogeneity and stochastic growth regulation of biliary epithelial cells dictate dynamic epithelial tissue remodeling.*  
*eLife*, 5:e15034, 2016.

胆管は、肝臓の肝細胞が分泌する胆汁を腸へと運搬するための管状の上皮組織で、肝内では門脈とよばれる血管に併走して複雑に枝分かれした構造を形作っています。肝臓が様々な障害を受けた場合に、これに応じて胆管の組織構造の劇的な変化（リモデリング）が誘導されることが、最近になり明らかとなってきました。そうした現象は、障害を受けた肝臓が機能を回復し、元通りに再生する上できわめて重要だと考えられているものの、胆管の組織構造の変化がどのようにして起こるのかは不明でした。

今回我々は、胆管を構成する胆管上皮細胞の挙動をマウス肝臓中において1細胞レベルで追跡可能な観察手法と、数理モデリングによるシミュレーション解析とを組み合わせることで、胆管の組織構造変化を支える細胞増殖の仕組みに迫りました。その結果、胆管組織全体の劇的な増殖・構造変化の背後では、その構成細胞の大半は増殖能を示さず留まる一方で、一部の細胞の旺盛な増殖が鍵となる動きを担うことが判明しました。さらに、そうした高増殖性の特徴な細胞は初めから決定付けられているのではなく、集団の中から確率的に生じてくることを明らかにしました。

本研究成果は、生体を構成する様々な組織が形作られたり、環境からの刺激に応じて変化したりする仕組みについての重要な知見を与えるものです。今回発見した特殊な細胞の性質や、その振る舞いを制御する仕組みを詳しく調べていくことで、種々の肝疾患の発症機構の理解へとつながることも期待できます。



## 発生分化構造研究分野

### 複数のマルチサブユニット複合体中に存在する共通サブユニットの機能解析法の確立

Nakabayashi Y., Kawashima S., Enomoto T., Seki M. & Horikoshi M.  
*Roles of common subunits within distinct multisubunit complexes.*  
*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 111, 699-704 (2014)

過去100年に及びタンパク質の構造と機能の解析は、1) 酵素と基質に関わるLock and keyモデル、2) 酵素・ウイルス粒子を含む様々な生体分子の結晶化、3) 一次構造決定法の開発、4) α-ヘリックスやβ-シートといった二次構造の発見、5) 三次構造決定法の開発、6) タンパク質機能決定のための*in vitro*点変異導入法の開発等といった経緯を経て、現在に至っている。生体反応の中心因子であるタンパク質は、単量体として存在するだけでなく、他のタンパク質と複合体を形成し、マルチサブユニット複合体としても存在する。単量体タンパク質の機能解析は、上述の方法により広く行われてきた。しかしながら、複合体の場合には、三次構造が解明されていても、サブユニットの動きの多くは未解明のままであった。その上、複数の複合体中に存在する共通サブユニットの動きは不明であった。共通サブユニットの生体内での動きを調べるために、変異を導入して機能欠損を起こした表現型を観察しても、いずれの複合体の共通サブユニットの機能欠損に依るものかを判定できない。試験管内の動きを調べる方法はあるものの、様々な困難を伴い、頓挫したまま、或いは挑戦しないままであった。

共通サブユニットの例として、RNAポリメラーゼI、II、IIIにはRpb5、6、8、10、12、転写開始複合体SL1、TFIID、TFIIIBにはTBP、ヒストンAセチル化酵素NuA4とヒストン脱Aセチル化酵素Rpd3IにはEaf3、NuA4、クロマチンリモデリング複合体SWR1とINO80にはAct1、Arp4が存在する。ヌクレオソームは、ヒストンH2A、H2B、H3、H4が2個ずつの八量体にDNAが1.75回転巻き付いた構造をとり、通常は遺伝子の動きを抑える役割を担う。出芽酵母では、バリエーションHtz1があり、主要ヌクレオソーム及びHtz1バリエーションヌクレオソームが存在する。共通サブユニットH2B(或いはH3やH4)に変異を導入した場合には、得られる表現型が異なるヌクレオソームに由来するものを特定できなかった。

共通サブユニットの動きを解析する方法（FALC法：Functional Analysis of Linker-mediated Complex）をヌクレオソームを用いて開発した。研究の進展を支えた発想は、共通サブユニットを異なる因子にすることであった。共通サブユニットH2Bを特有サブユニットであるH2A或いはHtz1に繋げることで、融合タンパク質H2A+H2BとHtz1+H2Bを製作し、2種類の異なるタンパク質に変えた。その上で、融合タンパク質の共通要素H2B内に変異を導入し、個々のヌクレオソーム内のH2Bの動きを解析し、主要ヌクレオソーム、バリエーションヌクレオソーム内のH2Bの動きを特定化することに成功した。開発した方法は、タンパク質複合体中に存在する共通サブユニットの機能を解析する一般的な方法となり得るため、あらゆる生物現象で活躍するマルチサブユニット複合体に含まれる共通サブユニットの機能解析に役立つと期待される。

## 発生分化構造研究分野

### 分子進化における新解析法の発見による数十億年前の遺伝子制御システムの解明

Adachi N., Senda T. & Horikoshi M.  
*Uncovering ancient transcription systems with a novel evolutionary indicator.*  
*Scientific Reports*, 6, 27922 (2016)

DNAが化石として残ることは殆どないため、化石から得られる情報を基に太古の分子進化を探ることは不可能であるとされる。分子進化では、配列比較・進化的距離・分子系統樹と呼ばれる手法が駆使されるが、3つの弱点がある。第一に、古代生物の遺伝子の入手が不可能なため、祖先遺伝子と現存遺伝子の比較ができない。第二に、祖先遺伝子と現存遺伝子間の進化的距離を測ることができないため、使用されている進化的距離の計算は、現存生物の相同遺伝子間の進化的距離の計算に基づいている。第三に、現存生物の遺伝子グループを比較する場合、グループ内の一部の生物種の遺伝子を外部標準として選択する必要があるため、外部標準として用いた遺伝子は解析対象から除外しなくてはならず、グループ全体の進化を一度に知る事ができない。既存の方法では、古細菌と真核生物の遺伝子グループ全体がどのように進化してきたのか、更にはいずれの生物の遺伝子が祖先遺伝子に最も近いのかは解析不能であった。

遺伝子重複が起こった直後、重複した部分の塩基配列は同一だが、時間経過と共に繰り返し配列の各々に変異が蓄積する。そこで、1つの遺伝子内に起こった重複により生じた繰り返し配列に注目し、その配列の差 ( $d_{DR}$ と名付けた) を調べることで重複が起こってから経過した時間を予測できることに気づいた。この方法により、 $d_{DR}$ の数値が大きい遺伝子ほど祖先遺伝子からの進化的距離は大きくなっていることがわかる。更にこの方法は内部標準を用いているので外部標準を必要せず、対象とする遺伝子グループ全体を一度に比較できる。今回開発した新解析法は、分子進化の弱点を克服でき、以下の新しい知見を得た。

1) 真核生物のTBPやTFIIIBよりも古細菌のTBPやTFIIIBの $d_{DR}$ 値が小さく、古細菌のTBPやTFIIIBが祖先型に近い性質を持つことが分かった。2) メタン菌のTBPやTFIIIBが最も小さい $d_{DR}$ 値を持つため、約30億年前に誕生したと推定される祖先型に最も近い性質を持つことが分かった。3)  $d_{DR}$ 値を大きい順に並べると、TBPの祖先は酸性度が高く、徐々に塩基性度が増し、真核生物のTBPが誕生したと推定された。4) TBPの推定 $d_{DR}$ 値がゼロの時にTFIIIBのそれは正の値であったこと、すなわちTBP誕生時に、TFIIIBには点変異がすでに蓄積していたことから、TFIIIBがTBPよりも早い時期に転写システムに加わったと推定され、約30億年前の古細菌及び真核生物の祖先生物の転写システムは、DNA上にTBPが先に結合して転写が起こるといった現存生物の転写システムとは異なり、RNAポリメラーゼにTFIIIBが先に結合して転写を引き起こしていることが分かった。この結果は、現存生物にとって基盤となるシステムは、多様な種であっても保存されていることから、太古のシステムは現存のシステムとほぼ同一であろうと長い間想像されていた考えを覆し、転写システムは約30億年前において劇的な進化的変遷を起こしているかと推定できた。

## 生体有機化学研究分野

### ニーマンピック病C型に対する初の非ステロイド性シャペロン化合物

H Fukuda, F Karaki, K Dodo, T Noguchi-Yachide, Y Hashimoto, K Ohgane  
Phenanthridin-6-one derivatives as the first class of non-steroidal pharmacological chaperones for Niemann-Pick disease type C1  
*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27, 2781-2787 (2017)

ニーマンピック病C型は難治性・遺伝性・進行性の神経変性疾患です。その主な原因はNPC1遺伝子の変異による、細胞内でのコレステロール輸送に必須な膜タンパク質NPC1の機能欠損です。たった一つのアミノ酸の点変異で機能低下がおきますが、このような変異は直接的にタンパク質の機能を損なうのではなく、NPC1の安定性やフォールディングの効率を低下させていることが分かっています。つまり、NPC1の分解が速く供給が遅いため、量的にNPC1が減少し、結果的に機能低下が起こることです。

私たちはこれまでに、オキシステロール誘導体がNPC1変異体に直接結合することで、NPC1変異体のフォールディング効率を改善し、変異による不安定性を緩和すること、そしてNPC1機能の低下を改善できることを報告しています。このような「シャペロン化合物」には治療候補としての可能性はあるものの、ステロール骨格に由来する代謝不安定性などの問題が予期されること、ステロール骨格をベースとした構造展開・最適化では、十分にケミカルスペースを探索しきれないことから、より優れた「ドラッグライク」な構造の化合物の探索を進めてきました。

本研究では、ステロール骨格以外の新たな骨格の探索を行うため、他のステロール認識タンパク質に対する合成リガンドの中からNPC1に結合する化合物の探索を行いました。その結果、非ステロイド性化合物として初めてのNPC1に対するシャペロン化合物を見出しました。得られた化合物には活性の強さという面で課題は残っているものの、このようなシャペロン化合物の探索研究は、ニーマンピック病C型の治療薬開発の進展に寄ることが期待されます。

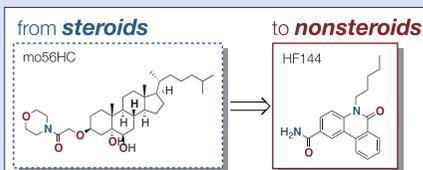


図1 NPC1に対するシャペロン化合物として、初の非ステロイド性化合物  
医薬化学ではリードの良し悪しは重要である。新たな骨格を有するリード化合物の発見は、その後の最適化で優れた化合物が得られるかどうか大きく影響する。

## 生体有機化学研究分野

### エピジェネティクス制御化合物の創製研究

Synthesis and evaluation of novel dual BRD4/HDAC inhibitors.  
Amemiya S., Yamaguchi T., Hashimoto Y. and Noguchi-Yachide T.:  
*Bioorg Med Chem.* 15, 3677-3684 (2017).  
Development of N6-(heteroarylcarbonyl) adenines as BRD4 inhibitors.  
Amemiya S., Yamaguchi T., Hashimoto Y. and Noguchi-Yachide T.:  
*Heterocycles* 94, 1107-1114 (2017).

ヒストンのアセチル化は、重要なエピジェネティック遺伝子発現制御機構であり、ヒストンアセチル基転移酵素 (HAT) に代表される'writer'、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) に代表される'eraser'、そしてプロモドメイン (BRD) 含有タンパク質に代表される'reader'の三者に因って可逆的に制御される。BRD含有タンパク質の代表としてbromodomain and extra-terminal domain (BET) ファミリータンパク質 (BRD2、BRD3、BRD4、BRDTの4種) があり、転写やクロマチンリモデリングなどの細胞内プロセス制御に関与している。その阻害剤は抗がん剤として臨床試験段階にある。HDACもまた、その阻害剤に同様の効果が報告されており、実際Vorinostat (SAHA) などが抗がん剤として承認されている。一方、医薬品開発の新戦略として疾患原因となる複数の因子群を同時に標的とするポリファーマコロジー医薬が注目されている。そこで、ポリファーマコロジー医薬としての新規BRD4/HDAC二重阻害剤の創製、及びがん細胞における有用性を検証した。その結果、構造活性相関研究から得られた情報を基にN<sup>6</sup>-ベンゾイルアデニン骨格を有する新規HDAC/BRD4二重阻害剤を創製することに成功した。創製化合物は抗がん活性を有することが期待でき、さらに、BRD4阻害剤耐性がん細胞における二重阻害剤の有用性が明らかとなった。

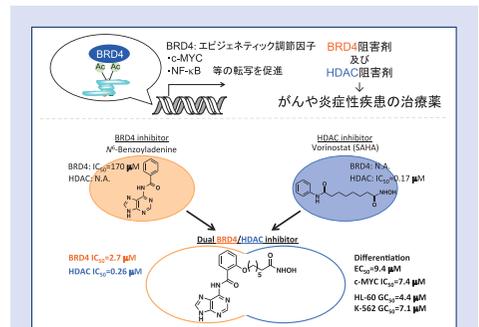


図2 BRD4/HDAC二重阻害剤の創製研究

## RNA機能研究分野

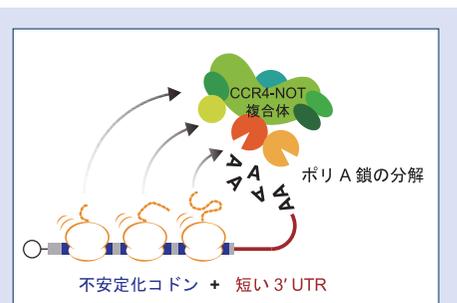
### コドン組成と3' UTRの長さによる母性mRNAの安定性制御

Codon usage and 3' UTR length determine maternal mRNA stability in zebrafish.  
Mishima Y. and Tomari Y  
*Mol Cell.* 2016 Mar 17; 61(6): 874-85.

動物の受精卵には母親に由来するmRNA (母性mRNA) が蓄えられており、これを鋳型として合成されるさまざまなタンパク質が、受精直後の生命現象を支えています。しかし受精後一定の時間が経つと、一部の母性mRNAは速やかに分解され、胚自身の新しいmRNAに置き換わります。個体発生における母親離れとも言うべきこの時期において、どのような規則に基づいて母性mRNAが分解されるのかは、これまであまり分かっていませんでした。

私たちは、ゼブラフィッシュという小型熱帯魚の受精卵を用いて、母性mRNAの安定性を決定する要因を解析しました。安定な母性mRNAと不安定な母性mRNAを網羅的に区別し、さらに情報解析によってそれらの持つ特徴を詳細に比較した結果、両者では遺伝暗号であるコドンの組成に偏りがあることが分かりました。またコドンの組成を改変した人工遺伝子を合成し、コドンの組成がmRNAの3'末端にあるポリ(A)鎖の長さに影響を与えることでmRNAの安定性の差を生み出すことを実験的に証明しました。さらにこの分解現象には3' UTRの長さが補助的な役割を果たしていました。以上の結果から、タンパク質のアミノ酸配列を指定する遺伝暗号であるコドンに、母性mRNAの安定性を規定する役割があることが明らかとなりました。

この発見は、これまでの遺伝暗号の古典的概念を覆し、隠されていたmRNAの安定性情報を読み取ることを可能にする画期的なものです。今後はこの発見をもとに、動物の胚発生における遺伝子発現の理解がさらに深まることが期待されます。



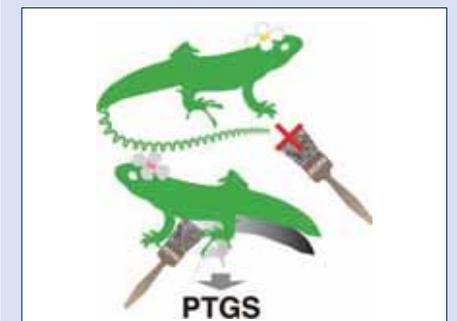
不安定化コドンが多く、かつ3' UTRが短い母性mRNAは、受精後にCCR4-NOT複合体による翻訳依存的なポリA鎖の短縮を受けて分解される。

## RNA機能研究分野

### 植物が「異常」なRNAと「正常」なRNAを見分けるしくみの解明

The poly(A) tail blocks RDR6 from converting self mRNAs into substrates for gene silencing  
Baeg K, Iwakawa HO and Tomari Y  
*Nature Plants.* 2017, Mar 20; 3: Article number: 17036.

植物はウイルスRNAや人為的に導入した遺伝子から生まれたRNAなどを「異常」な非自己RNAと認識し、転写後ゾーンサイレンシング (PTGS) と呼ばれる遺伝子制御機構を介して迅速に分解することが知られています。PTGSは複数の反応から成り立つ複雑な制御機構ですが、引き金となるのはRNA依存性RNAポリメラーゼ6 (RDR6) が一本鎖のRNAから二本鎖RNAを合成する反応です。PTGSが「正常」なmRNAに作用してしまうとタンパク質が作られなくなり、細胞機能が破綻するため、植物には自身の「正常」なmRNAがPTGS機構の標的にならないようする何らかのしくみがあると考えられます。これまで植物を用いた研究で「正常」なmRNAがもつポリA配列が自身のmRNAに対してPTGSが作動することを防ぐ目印となっているのではないかと示唆はされていたものの、何がその目印を見分けているのかは分かっていませんでした。今回我々はPTGSの引き金となる二本鎖RNAを合成する酵素であるRDR6自身が「異常」なRNAと「正常」なmRNAを見分けているのではないかとこの仮説を立て、精製したRDR6の性質を試験管内で解析しました。その結果、RDR6はmRNAの末端にあるポリA鎖をチェックすることで正常なmRNAであると判断し二本鎖化を見逃す一方で、ポリA鎖を持たないRNAは二本鎖化しPTGSに導くという特殊な性質をもつことが明らかになりました。本研究で明らかになったRDR6の性質は「なぜ正常なmRNAはPTGSの標的にならないのか」という四半世紀近くにおよぶ謎を説明することができます。



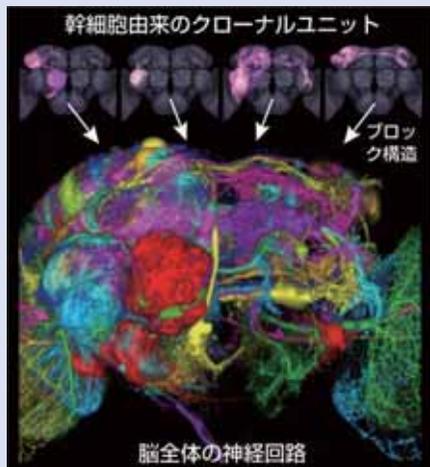
正常なmRNA (トカゲ) はポリA鎖 (尻尾) がRDR6 (ブラシ) から逃れる目印となりPTGSによる分解から免れるが (上)、ポリA鎖を欠いた異常なmRNAはRDR6によって二本鎖化されPTGS機構によって分解される (下)。

## 神経ネットワーク研究分野

細胞系譜に基づくショウジョウバエ脳全神経投射回路のマップ

伊藤正芳、増田直紀、四宮和範、遠藤啓太、伊藤 啓  
*Curr Biol* (23) 644-655, 2013

脳にある無数の神経細胞は、全て神経幹細胞が分裂を繰り返して作られる。産み出された神経は、「どの幹細胞から産まれたか」という出自に関係なく、それぞれが独自に分化してさまざまな神経回路を作る」と「出自ごとに決まった神経回路を作る」という2つの可能性があるが、実際の脳でどうなっているかは不明だった。そこで神経幹細胞の1つとそれが作る子孫細胞を染め出す実験を繰り返した結果、約100個ある神経幹細胞から作られる子孫細胞群のほとんどが、出自ごとに脳内の決まった場所だけに神経突起の枝を伸ばす特徴的な「クローナルユニット」を形成することが分かった。キノコ体や中心複合体といった特徴的な脳構造や、脳の離れた場所を結び神経線維の束は、特定のクローナルユニットが組み合わさって作られていた。脳全体の神経回路は、このユニットがブロックのように組み合わさって作られている。今回の研究で、ショウジョウバエ脳の全ての場所について、どのユニットがどこに投射し、どのような神経回路構造を作っているかを解明し、複雑な脳構造を持つ生物の神経回路の全体構造を始めて明らかにした。

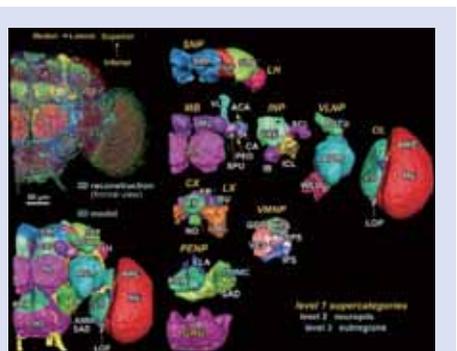


## 神経ネットワーク研究分野

昆虫脳のコネクトミクスを理解する枠組みの確立

Ito, K., Shinomiya, K., Ito, M., Armstrong, D., Boyan, G., Hartenstein, V., Harzsch, S., Heisenberg, M., Homberg, U., Jenett, A., Keshishian, H., Restifo, L., Rössler, W., Simpson, J., Strausfeld, N.J., Strauss, R., and Vossahl, L.B.; The Insect Brain Name Working Group. *Neuron* (81) 755-765, 2014.

脳の研究は視覚中枢や学習中枢など限られた場所に着目したものが多かったが、近年になって、全ての神経の結合を網羅的に解明するコネクトミクス研究が注目されている。しかしこの結果、従来研究が盛んでなかった脳の領域では名称や境界の定義がきちんと定まっていないという問題が表面化してきた。研究が盛んな脳領域でも、研究者によって命名が微妙に違うために混乱が生じている。昆虫脳では2007年の国際会議でこの問題が議論され、4カ国15研究室のワーキンググループで解決策を作ることになった。脳の一部でなく全域を研究している研究者は世界でも少ないため、我々が先頭に立って自身の研究成果をベースに様々な意見をまとめ、ショウジョウバエだけでなく幅広い昆虫脳の構造を理解する体系を確立した。日本は個別の研究は盛んでも、国際的な研究の枠組みでリーダーシップを取ることが少ない。今回は、我々が昆虫脳構造研究の第一人者として世界的に認知されている実績を活かし、対立する意見を仲裁し、世界中の大規模脳情報データベースに新しい枠組みをいち早く基盤として組み込ませるなど、高度な外交努力を駆使して共通の体系をまとめ上げた。



## 染色体動態研究分野

細胞のがん化につながる染色体不安定性の分子メカニズムの解明

Yuji Tanno, Hiroaki Susumu, Miyuki Kawamura, Haruhiko Sugimura, Takashi Honda & Yoshinori Watanabe "The inner centromere-shugoshin network prevents chromosomal instability" *Science* 349, 1237-1240 (2015)

ヒトの正常細胞では46本の染色体が安定に維持されているのに対して、がん化した細胞では染色体の異数性が頻繁に見られることが知られています。細胞分裂のときの染色体分配の異常は、染色体数およびゲノムの不安定性を誘発し、細胞のがん化およびその悪性化を促進すると考えられています。この染色体の分配異常を引き起こす分子機構については、種々の可能性が指摘されてきましたが、その主要な分子機構は分かっていませんでした。本研究では、染色体分配異常を示すがん組織由来の細胞株の多くで、染色体のセントロメアの特異的な制御機構インナーセントロメア・シュゴシン(ICS)ネットワークが不安定になっていることを見出しました。本研究は、細胞のがん化の鍵となるゲノムの不安定性を引き起こす普遍的な分子機構を明らかにした可能性が高く、制がん剤の開発に新たな方向性を与える成果といえます。

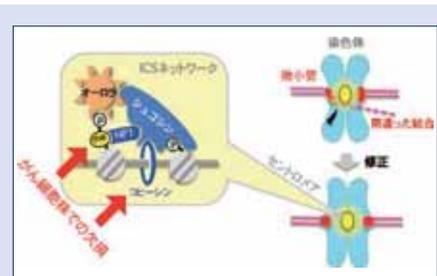


図1 ICSネットワーク  
 染色体のセントロメアにシュゴシン・オーロラキナーゼの複合体が局在し、ICSネットワークが形成される。オーロラキナーゼは、間違った微小管と動原体の接続を修正する働きがある。コヒーシント(ヒストンH3K9のメチル化に結合して局在する)HP1が、直接シュゴシンと結合してこのネットワークの安定性を支えている。がん細胞株の多くで、これらの安定化経路に欠損が見られる。

## 染色体動態研究分野

減数分裂期テロメアの分子構造を解明

Shibuya H, Hernández-Hernández A, Morimoto A, Negishi L, Höög C, Watanabe Y. MAJIN Links Telomeric DNA to the Nuclear Membrane by Exchanging Telomere Cap *Cell* 163, 1252-1266 (2015)

遺伝情報が子孫へと伝わる背景には、両親のそれぞれの生殖細胞(精子や卵子)で染色体が正確に半分に分かれた後、受精により、分配された染色体が再び組み合わさる仕組みがあります。この染色体の数を減らす特殊な染色体分配の過程(減数分裂)では、染色体の末端「テロメア」が中心的な役割を担っていると考えられていますが、その分子メカニズムの理解は進んでいませんでした。本研究では、マウスの生殖細胞において、テロメアの構造を減数分裂に特化した構造へと変化させる特殊なタンパク質MAJINとTERB2を発見しました(図)。通常、テロメアを構成するDNAはシェルタリンと呼ばれるタンパク質に覆われていますが、MAJIN-TERB2は、このシェルタリンをDNAから外すことで直接テロメアDNAに結合し、テロメアDNAを核膜に融合させる活性を持つことが明らかになりました。さらに、MAJINおよびTERB2遺伝子のノックアウトマウスの解析から、MAJIN-TERB2が形作るテロメア構造が生殖細胞の形成に必要な不可欠な構造であることを証明しました。本研究により50年来の謎であった減数分裂に特化したテロメアの分子構造が明らかになりました。

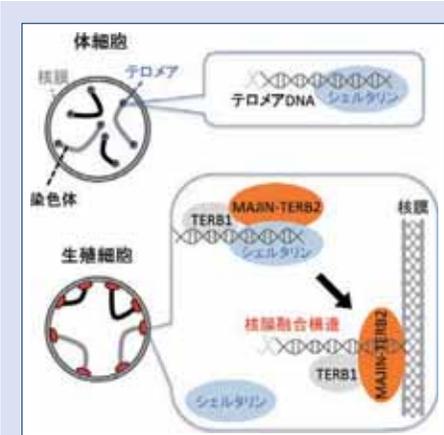


図 体細胞と生殖細胞のテロメア分子構造の違い

## 膜蛋白質解析研究分野

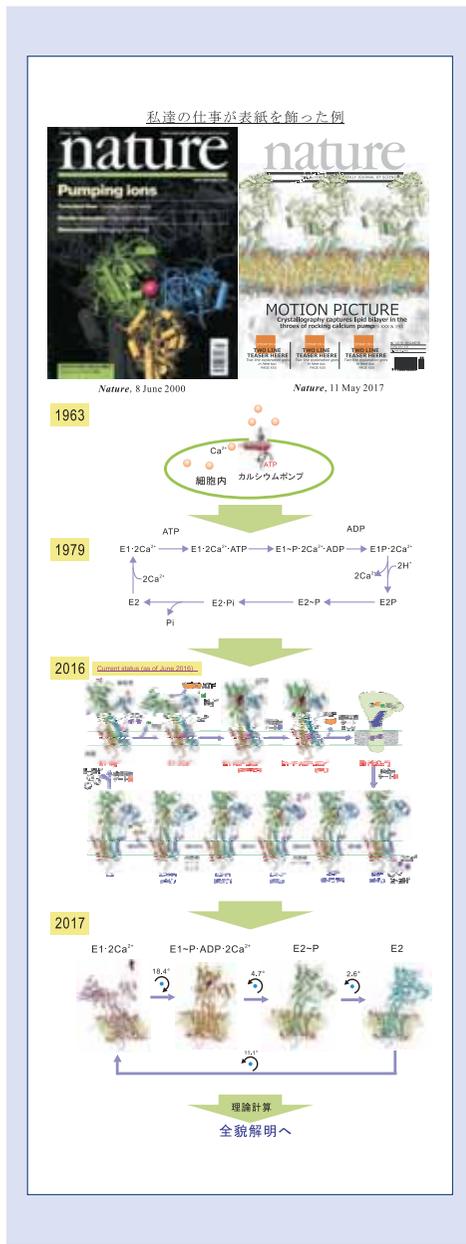
### イオンポンプによる能動輸送機構の解明

1. Norimatsu, Y., Hasegawa, K., Shimizu, N. and Toyoshima, C.: Protein-phospholipid interplay revealed with crystals of a calcium pump. *Nature*, **545**, 193-198 (2017)
2. Kanai, R., Ogawa, H., Vilsen, B., Cornelius, F. and Toyoshima, C.: Crystal structure of a Na<sup>+</sup>-bound Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase preceding the E1P state. *Nature* **502**, 201-206 (2013)
3. Toyoshima, C., Iwasawa, S., Ogawa, H., Hirata, A., Tsueda, J. and Inesi, G.: Crystal structures of the calcium pump and sarcolipin in the Mg<sup>2+</sup>-bound E1 state. *Nature* **495**, 260-264 (2013)
4. Shinoda, T., Ogawa, H., Cornelius, F. and Toyoshima, C.: Crystal structure of the sodium-potassium pump at 2.4 Å resolution. *Nature* **459**, 446-450 (2009)

生体は細胞内外のイオンの濃度勾配を信号伝達などに非常に巧みに使っている。その濃度勾配を維持するのはイオンポンプ蛋白質であり、筋小胞体カルシウムATPase (ATP水解酵素) はその中で最も研究の進んだ分子量11万の膜蛋白質である。Ca<sup>2+</sup>-ATPaseはATPの加水分解に伴う化学エネルギーを用い、1個のATPあたり、2個のカルシウムを濃度勾配に逆らって運搬できるが、そのエネルギー利用効率は殆ど100%に達する。この蛋白質は1963年に江崎とHasselbachによって独立に発見され、1970年代に生化学的反応過程が確立された。すなわち、Ca<sup>2+</sup>に対し強い親和性をもつE1状態でCa<sup>2+</sup>を結合したのち、ATPの加水分解とポンプ蛋白質の磷酸化にともなう構造変化によって、Ca<sup>2+</sup>に対し弱い親和性しか持たないE2状態に結合部位を変化させることでイオンを運搬するというものである。この構造変化の実態を原子レベルで明らかにすることが我々の課題である。

そのために、X線結晶解析に取り組んできたが、最初の構造 (Ca<sup>2+</sup>結合状態: E1·2Ca<sup>2+</sup>) を2000年に、Ca<sup>2+</sup>なしの構造 (E2) を2002年にNatureに発表し、多大なインパクトを与えることができた。さらに他の8つの状態の構造決定にも成功し、ATPや磷酸化は何をしているのか、どうやって磷酸化部位での変化が5nmも離れたCa<sup>2+</sup>結合部位に伝えられ、イオンの親和性を変えるのか、また、何のためにH<sup>+</sup>の対向輸送をしているのかといった本質的問題に今や答えられるようになった。

要するに、A、N、Pと3つある細胞質ドメインの配置を変えてCa<sup>2+</sup>結合部位を構成する膜貫通ヘリックスを制御しているのであり、ATPはその配置を変えるための制御因子であるのだが、そのような精妙な動きが、非常に大きな熱運動の中で確実に起こっていることには驚異としかいいようがないものを感じる。さらに2017年には独自手法を開発して結晶中の脂質二重膜の可視化に成功し、その結果、ポンプ蛋白質はリン脂質をもイオン輸送メカニズムの重要な部品として組み入れていることが判明し、膜蛋白質の脂質二重膜に対する配向を決めているものが何なのか、その一般則が理解されるに至った。この蛋白質の運動の一端は研究室のホームページの動画で、また、豊島教授がカリフォルニア大学パークレー校で行った講義はYouTubeで見ることが出来る。最新の成果と総説に関しては上記を参照していただきたい。

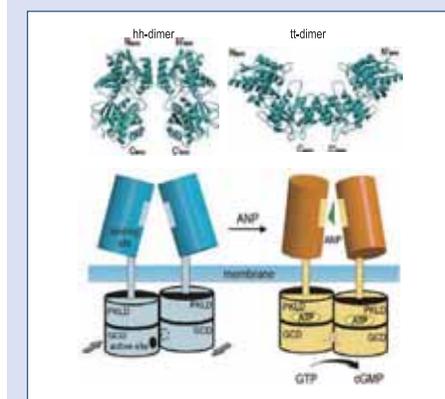


## 高難度蛋白質生産研究分野

### ANP受容体のホルモン結合に伴う構造変化

- Ogawa et al. (2004). *J. Biol. Chem.*, **279**: 28625-28631.  
Ogawa et al. (2009). *FEBS J.*, **276**: 1347-1355.

心房より分泌されるANP (心房性利尿ペプチド) は、血圧・体液量の調節等、心循環器系の調節に不可欠な働きを行う。強力な水・ナトリウム利尿作用、血管拡張作用を引き起こし、結果、我々の血圧や体液量は一定に保たれる。ANP受容体は分子量約13万の膜1回貫通型の受容体であり、細胞外にリガンド結合ドメインを、細胞内にグアニリル酸シラーゼ (GCase) ドメインを持つ。2量体として機能し、細胞外のANPの結合に伴い、細胞内でGTPをcGMPに変換する。我々は、ANP受容体の膜を隔てた信号伝達メカニズムを明らかにすべく、ANP受容体のX線結晶解析を行なっている。これまでにANP受容体の細胞外ホルモン結合ドメインのANP結合状態と非結合状態の構造の比較から、ANP1分子は受容体2分子の間に挟まれて結合し、ANPの結合に伴い受容体分子がtwist運動を起こすことを明らかにした (Ogawa et al., 2004)。一方、ANP非結合状態の結晶格子中には、2量体として分子の頭同士が接触したもの (hh-dimer) と、分子の末尾同士が接触したもの (tt-dimer) の2つの組み合わせが考えられ、上記のtwist運動を疑問視する声もあった。そこで電子顕微鏡による単粒子解析を行い、結晶格子に左右されない構造の決定を試み、ANP非結合状態ではhh-dimerをとることを明らかにした。またhh-dimerの界面にあるTrp74の挙動を蛍光で調べた所、ANP非結合時では分子内に埋もれているが、ANP結合時には溶液に露出することが明らかになった。この結果はX線結晶構造解析で見出された構造変化を支持するものである (Ogawa et al., 2009)。以上のことから、ANP結合に伴うtwist運動が膜を通じ細胞内ドメインに伝播され、受容体の活性化を引き起こすことが膜を隔てた信号伝達の本質ではないかと考えられる。



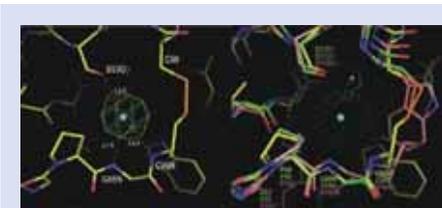
(上) 結晶格子からとり得る2種類の2量体の可能性 (ANP非結合時の構造)。(下) ANP結合に伴う構造変化。

## 高難度蛋白質生産研究分野

### ANP受容体の塩素イオンによる制御機構

- Ogawa et al. (2010). *Protein Sci.*, **19**: 544-557.

我々はANP受容体の生化学実験から、ANPの結合が塩素イオン濃度依存的であることを明らかにした。X線結晶解析から得られた構造では1分子の塩素イオンがANP結合部位の近傍に存在することから、この塩素イオンがANP結合の制御に関与すると推測された。だが、結合した塩素イオンは受容体分子内に完全に埋まっているために受容体からの脱着が困難と考えられ、分子の構造保持のために存在するとの考え方が大勢であった。一方、我々は塩素イオンを臭素イオンに置換した受容体はANPを結合するが、フッ素イオンに置換したものは活性を持たないことを明らかにした。そこで、塩素イオンを臭素イオンへ置換した受容体の結晶構造解析を行い、ANP結合活性に必須な臭素イオンの同定を試みた。臭素の異常分散効果を利用し結合した臭素イオンの場所を探索した所、ANP非結合状態・結合状態共に、受容体の塩素イオン結合部位のみに臭素イオンが存在することが判明した。この結果は、受容体の塩素イオンが脱着可能であることを意味するが、この塩素イオンがANPの結合を制御している可能性も示唆する。一方、GCase受容体の塩素イオン結合部位の1次配列は受容体間で保存されており、共通の3次構造を持ち、それぞれ塩素イオンを結合すると予想されるが、この配列・構造が代謝型グルタミン酸受容体でも保存されていることは興味深い。以上の様に、(1) ANP受容体でANP結合能が塩素イオン濃度依存性であること、(2) 脱着可能な塩素イオンが受容体内に存在すること、(3) 高度に保存された塩素イオン結合モチーフが存在することは、受容体に結合した塩素イオンがリガンドの結合をアロステリックに制御する可能性を示唆するものであると考えられる。



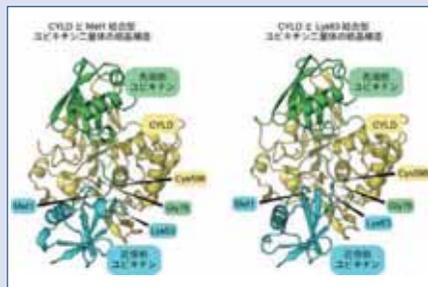
(左) 臭素イオン (緑ネット) は、塩素イオン (水色球) と同じ場所に存在した。(右) 塩素イオン結合モチーフを持つ構造の重ね合わせ (黄: ANP受容体、緑: NPRクリアランス受容体、桃: 代謝型グルタミン酸受容体)。

蛋白質複合体解析研究分野  
(放射光分野融合国際卓越拠点兼務)

CYLD-Ub鎖複合体の構造解析による二重特異性の分子機構の解明

Yusuke Sato, Eiji Goto, Yuri Shibata, Yuji Kubota, Atsushi Yamagata, Sakurako Goto-Ito, Keiko Kubota, Jun-ichiro Inoue, Mutsuhiro Takekawa, Fuminori Tokunaga, Shuya Fukai "Structures of CYLD USP with Met1- or Lys63-linked diubiquitin reveal mechanisms for dual specificity." *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 222-229 (2015)

ユビキチンが複数繋がったポリユビキチン鎖は様々な細胞内シグナル伝達経路を制御するが、どの残基を用いてポリユビキチン鎖を形成するのにかよって、その構造と機能は異なる。例えば、TNF $\alpha$ などの炎症性サイトカインによる刺激により、Met1やLys63を介して結合したポリユビキチン鎖(M1鎖およびK63鎖)が形成されるが、これは炎症シグナル伝達経路の活性化因子として働く。がん抑制遺伝子産物であるCYLDは、USPファミリーに属する脱ユビキチン化酵素(DUB)であり、M1鎖およびK63鎖を特異的に切断することで炎症シグナルを抑制する。本研究では、ゼブラフィッシュ由来のCYLDについて、M1鎖およびK63鎖のそれぞれに対する活性状態の結晶構造とM1鎖に対する前活性状態の結晶構造を決定した。その結果、USPファミリーのなかでもCYLDのみに存在する柔軟な挿入領域が、M1鎖とK63鎖の構造の違いに対応して動くことがわかった。また、変異体の反応速度論解析と細胞レベルでのアッセイと合わせて、M1鎖およびK63鎖に対する二重特異性のメカニズムを明らかにした。多重の特異性をもつDUBの基質選択機構が初めて明らかとなった。本成果は、ポリユビキチン鎖により引き起こされる免疫応答や炎症反応、腫瘍の形成、細胞の癌化の原因を解明する今後の研究の基盤となると期待される。



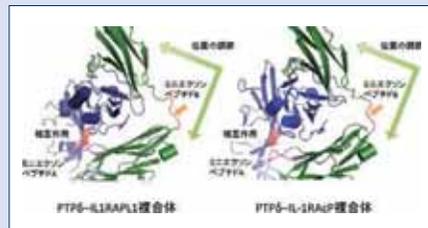
CYLDとUb鎖との複合体の立体構造

蛋白質複合体解析研究分野  
(放射光分野融合国際卓越拠点兼務)

神経発達障害に関連するタンパク質が神経細胞同士を適切に繋ぐ仕組み

Atsushi Yamagata, Tomoyuki Yoshida, Yusuke Sato, Sakurako Goto-Ito, Takeshi Uemura, Asami Maeda, Tomoko Shiroshima, Shiho Iwasawa-Okamoto, Hisashi Mori, Masayoshi Mishina, Shuya Fukai "Mechanisms of splicing-dependent trans-synaptic adhesion by PTP $\delta$ -IL1RAPL1/IL-1RACp for synaptic differentiation." *Nat. Commun.*, **6**, 6926 (2015)

神経細胞間のシナプスの形成と再編は、神経回路の形成や記憶学習の際に起きる極めて重要なステップであり、その調節機構の破綻は様々な神経発達障害の発症と密接に関連することが示唆されている。自閉症などの神経発達障害に関連するタンパク質であるPTP $\delta$ とIL1RAPL1/IL-1RACpは、それぞれ軸索終末と樹状突起に発現し、選択的に相互作用することでシナプス前終末と後終末への分化誘導を促す。この選択的相互作用は、PTP $\delta$ 遺伝子の選択的スプライシングの結果として二箇所に挿入される短いペプチド(ミニエクソンペプチドAおよびB)により調節される。これらのミニエクソンペプチドはシナプス標的認識の暗号として機能すると考えられるが、その仕組みの詳細は不明だった。本研究では、PTP $\delta$ とIL1RAPL1及びPTP $\delta$ とIL-1RACpとの複合体の立体構造をX線結晶構造解析の手法で決定し、ミニエクソンペプチドAはIL1RAPL1及びIL-1RACpとの結合面を構成すること、また、ミニエクソンペプチドBは2つのイムノグロブリン様ドメインの間に挿入され、ドメイン間の位置関係を調節するリンカーとしてIL1RAPL1及びIL-1RACpとの結合に寄与することを明らかにした。これらのメカニズムは、部位特異的変異体の分子間相互作用解析とシナプス誘導能の解析によって、機能的にも裏付けられた。即ち、2つのミニエクソンペプチドはシナプスオーガナイザー複合体形成の特異性保持において異なる役割を担うことが明らかになった。



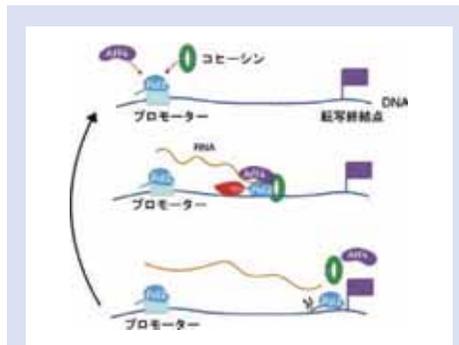
PTP $\delta$ によるIL1RAPL1およびIL-1RACpの認識

ゲノム情報解析研究分野

転写伸長反応を制御するコヒーシオン-Aff4複合体

泉幸佑, 白髭克彦  
*Nature Genetics* 2015

CHOP症候群はコヒーシオン病であるCdLSと臨床的にも、転写プロファイルという観点からも似通っており、当講座の泉助教とフィラデルフィアこども病院のクランツ博士らにより発見された新規稀少疾患である。この疾患はAFF4遺伝子の機能獲得型変異により発症することが明らかとなった。AFF4タンパクはSEC (Super Elongation Complex) のサブユニットとして、転写の伸長反応を活性化する役割を担っているが、患者細胞では通常は速やかに分解されるAFF4タンパクが、変異により分解されず大量に細胞中に存在しており、転写伸長反応が部分的に亢進していると考えられた。同時に、コヒーシオンのあるタイプのものがAFF4、CDK9、活性化型RNAPolIIIと複合体を形成し、転写の伸長反応の活性化に寄与していることも判明した。転写伸長反応のコヒーシオンによる詳細な制御機構については今後の課題であるが、コヒーシオンが直接的に転写伸長反応に寄与していることを分子実態として示した本論文は転写制御の新たな側面に切り込む大きな成果となった。



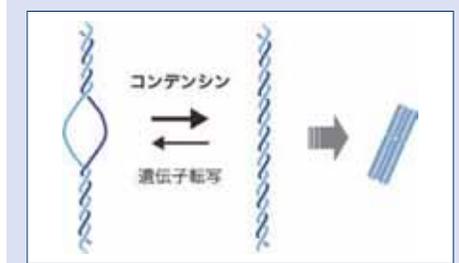
Aff4は転写を活性化する一方、コヒーシオン、Pol2と転写終末まで結合を維持する。その結果、一つのPol2がRNA合成をしている間は、次のポリメラーゼの活性化を許容しないという抑制的な役割も果たす。

ゲノム情報解析研究分野

DNA分子を染色体へと折り畳む際の重要な一過程を発見

須谷尚史, 坂田豊典, 白髭克彦  
*Nature Communications* 2015

染色体は、細胞がもつ遺伝情報の源であるDNA分子が高度に折り畳まれて形成される構造体です。細胞の分裂に際して染色体が形成されないと、子孫細胞へ遺伝情報がうまく受け渡されません。染色体の形成過程ではコンデンシンと呼ばれるタンパク質複合体が機能することが知られていましたが、どのようにDNA鎖の折りたたみを担当しているかはわかっていませんでした。我々は、染色体の中でコンデンシンが結合している部分のDNAを単離・分析することにより、単鎖DNAという特殊な構造のDNAにコンデンシンが結合していることを明らかにしました。単鎖DNAの量は遺伝子の読み取り反応(転写)によって増加し、逆にコンデンシンの機能によって減少しました。転写の際にDNAの二重らせん構造が巻き戻されることで単鎖DNAが生成し、コンデンシンはその構造を元の二重らせん状態に戻す役割をもつと考えられました。この成果は、DNA分子を制御する、今まで見過ごされていた仕組みを発見したものです。また、コンデンシンが関わるより高次な生命現象(免疫細胞の維持やがんの抑制)の理解も推し進めるものと期待されます。



DNAは二本の線状分子が絡みあった二重螺旋構造をとっている。遺伝子転写に寄って生じた螺旋の巻き戻りを解消し、元の二重らせんを再生することがコンデンシンの役割であることがこの成果により判明した。

## ゲノム再生研究分野

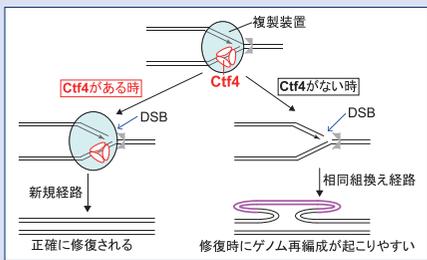
### 複製阻害時のDNA二重鎖切断からゲノム安定性を守る機構

Sasaki M and Kobayashi T.  
Ctf4 prevents genome rearrangements by suppressing DNA double-strand break formation and its end resection at arrested replication forks  
Molecular Cell, 66, 535-545, 2017

DNA複製は、遺伝情報を正確にコピーし娘細胞に受け渡すための生物の根源的機構です。しかし、鋳型となるDNA上には様々な障害が存在するため、複製装置は頻りに止まってしまいます。この障害を取り除き複製を再開できなければ、DNA二重鎖切断 (DNA Double-Strand Break, DSB) が生じてしまいます。DSBは誤って修復されるとゲノム再編成を誘導し、癌や多くの疾患の原因となります。そのため複製阻害時のDSB修復機構を明らかにすることは非常に重要です。

本研究では、出芽酵母のリボソームRNA遺伝子 (rDNA) 領域を用いて複製阻害時のDSB修復過程を解析し、DSB修復に必要な因子を調べました。これまで複製阻害時のDSBは、複製期以外においてDSB修復に必要な相同組換え経路によって修復されると信じられてきました。ところが、相同組換え因子は複製阻害時のDSB修復には必要ではありませんでした。つまり、複製阻害時には、これまで知られていない新規経路によってDSBが修復されることが判りました。一方で、複製装置の構成因子であるCtf4タンパク質が欠損すると、DSBは相同組換え経路によって修復されるようになりました。興味深いことに、Ctf4欠損細胞では反復配列であるrDNAのコピー数の異常な増加が観察されました。このことは複製阻害時のDSB修復において、相同組換え経路が使われると、ゲノム再編成が誘導されやすいことを示しています。

以上のことから、Ctf4タンパク質は複製装置の構成因子として、複製阻害時に生じたDSBを相同組換え経路とは別の経路によって、正確に修復し、ゲノム安定性を守る重要な役割を担っていることが明らかとなりました。



複製因子Ctf4は、複製阻害の結果生じたDSBを正確に修復するために必要である。Ctf4が欠損するとDSBはゲノム再編成を誘導しやすい相同組換え経路によって修復されるため、ゲノム不安定化を引き起こしやすくなる。

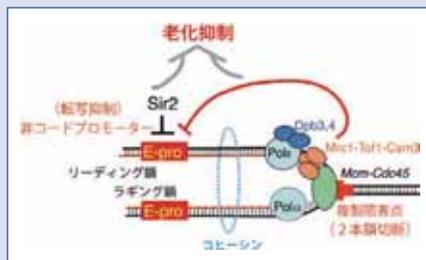
## ゲノム再生研究分野

### rDNAからの老化シグナルは非コードDNAの転写に関係する

Saka K, Takahashi A, Sasaki M, Kobayashi T. (2016) More than 10% of yeast genes are related to genome stability and influence cellular senescence via rDNA maintenance. *Nucleic Acids Res.* 44: 4211-21.

ゲノムの不安定化は、ヒトを含む多くの生物で細胞及び個体の老化を引き起こします。例えばヒトの遺伝病である早期老化症の多くは、ゲノムの修復に関わる遺伝子の変異が原因です。私たちのこれまでの研究で、ゲノムの中でも不安定になりやすいリボソームRNA遺伝子 (rDNA) が、老化誘導の中心的な役割を担っていることが判りました。酵母菌でリボソームRNA遺伝子を人為的に不安定化すると寿命が短縮し、逆に安定化させると延長します。つまりrDNAが老化を引き起こす「老化シグナル」の発生源となっていることを意味しています。

rDNAから発せられる老化シグナルの実体を解明するために、出芽酵母の遺伝子欠損変異株ライブラリー (4,800株) のrDNAの安定性を調べ、rDNA不安定株を単離しました。それらの内、寿命が調べられている株のほとんどは短寿命でしたが、意外にも数株の寿命が正常でした。「rDNAが不安定にも関わらず寿命が正常な株」はrDNAからの老化シグナルの発信に異常があると考えられます。それらの株の幾つかはDNA合成酵素に関係する遺伝子 (*DBP4*, *MRC1*) に欠損があり (図)、rDNAの遺伝子間の非コード領域に存在する非コードプロモーター (E-pro) の転写に影響を与えていました。さらに*SIR2* (サーチュイン) という酵母からマウスまで老化抑制に関わっている遺伝子の欠損をこれらの「老化シグナル」変異株が部分的に相補することも判りました。現在老化シグナルの実体についてさらに解析を進めています。



rDNAからの老化シグナルは、非コード領域に存在する複製阻害と転写活性に依存する。複製阻害点が複製が止められた後、DNAの二本鎖切断が起こります。その修復が、Sir2-Dpb4-Mrc1の非コードの転写抑制、その結果生じるコヒーシンの結合により促進されて老化シグナルの発生が減少します。

## 幹細胞制御研究分野

### Expression and localization of sterile alpha motif domain containing 5 is associated with cell type and malignancy of biliary tree

Yagai T, Matsui S, Harada K, Inagaki FF, Saijou E, Miura Y, Nakanuma Y, Miyajima A and Tanaka M. *PLoS One* 12(4): e0175355. (2017)

胆管癌は予後の極めて悪い難治性の癌であり、外科的切除以外に有効な治療法がないのが現状である。胆管癌は発生する部位によって、大きく分けて肝内胆管癌と肝外胆管癌に分類されるが、その正確な由来についてはよく分かっていない。我々は、マウス肝臓の幹/前駆細胞の研究をする過程で、Sterile alpha motif domain containing 5 (SAMDS5) という分子を見出した。SAMDS5はSAMと呼ばれるドメインを有するタンパク質であるが、その機能はほとんど分かっていなかった。そこで、肝幹/前駆細胞におけるSAMDS5の発現を調べた結果、肝内と肝外胆管癌でのSAMDS5の発現は認められなかったが、肝門部または肝外の胆管の付属線 (Peribiliary gland: PBG) でSAMDS5が発現していることを見出した (下図左)。PBGは肝外胆管の幹細胞が存在するとされている部位であり、肝外胆管癌の発生源としても注目されている。そこで、ヒト胆管癌の病理標本を調べた結果、肝門部胆管癌において5例中4例でSAMDS5が核内移行している像が得られた (下図右)。一方、正常な胆管細胞ではSAMDS5の発現はほとんど認められないか、細胞質にわずかに染色されるに留まり、SAMDS5の核内移行が癌化において何らかの役割を果たしていることが示唆された。そこで、ヒト胆管癌細胞株を用いてFlagタグを付したSAMDS5を強制発現させたところ、導入したSAMDS5は核内移行するとともに、細胞増殖は低下した。一方、siRNAを用いてヒト胆管癌細胞株のSAMDS5の発現を抑制した結果、細胞増殖が亢進した。以上の結果から、本来、細胞質に存在するSAMDS5は胆管細胞の増殖を自ら制御している可能性が示唆された。また、SAMDS5の核内発現は胆管癌の由来を知る上で新たな指標となる可能性が示された。



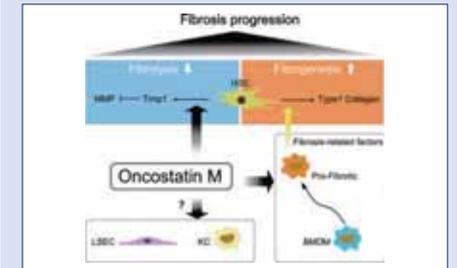
(左図) 増殖中の肝内の幹/前駆細胞 (矢印) ではSAMDS5 (緑) の発現は認められないが、肝門部胆管のPBG (矢頭) ではSAMDS5の発現が認められる。(右図) ヒト肝外胆管癌におけるSAMDS5の核内染色像

## 幹細胞制御研究分野

### Oncostatin M causes liver fibrosis by regulating cooperation between hepatic stellate cells and macrophages in mice

Matsuda M, Tsurusaki S, Miyata N, Saijou E, Okochi H, Miyajima A, and Tanaka M. *Hepatology*. In press (2017)

慢性肝炎が治癒せずに長い経過を辿ると、コラーゲン等の細胞外基質が肝臓内に蓄積する肝線維化が進行し、その終末像である肝硬変になると、生命の維持が困難となるだけでなく、肝がんの発生リスクが高まる。我々はIL-6ファミリーに属するサイトカインの一つであるオンコスタチンM (OSM) が肝線維化に重要な役割を果たしていることを見出した。まず、OSM KOマウスは慢性肝障害モデルにおいて野生型マウスに比べ、有意に肝線維化が軽減していた。反対に、野生型マウスの肝臓内にOSMを持続的に発現させることで、短期間で肝線維化に至る新規の肝硬変モデルマウスの作製にも成功した。以上の結果から、OSMは肝線維化において必要十分な作用を示す強力な線維化誘導因子であることが示された。さらに、肝線維化に至るメカニズムを調べた結果、慢性肝炎下で放出されるOSMは肝臓内でケモカインCCL2を誘導し、骨髄由来単核/マクロファージ (BMDM) をリクルートするとともに、それらに線維原性活性化を誘導することで、肝星細胞 (HSC) のコラーゲン産生を増強していることが分かった。このような作用は、CCL2の受容体であるCCR2のインヒビターの投与により完全にブロックされた。さらに、OSMは肝星細胞にも直接作用し、マトリクスメタロプロテアーゼ (MMP) の阻害因子であるTimp1を誘導することで、MMPによる線維の溶解を抑制していることも分かった。このように、OSMは線維の産生を増強するとともに、溶解を抑制する作用を示すことが明らかとなり、OSMを介したBMDMとHSCの細胞間相互作用が相乗的に肝線維化を進展させる仕組みを明らかにした。



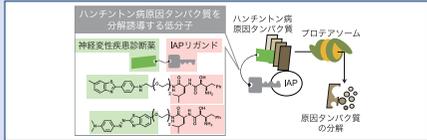
肝線維化におけるOSMの作用モデル  
OSMは肝臓内でCCL2を誘導し、BMDMをリクルートするとともに、線維原性活性化を誘導することでHSCによるコラーゲン産生を増強する。一方、OSMはHSCに直接作用することでTimp1を誘導し、MMPによる線維の溶解を抑制する。これらの相乗的な作用により、肝線維化が顕著に進展する。

## 治療戦略研究分野

凝集性のハンチントン病原因タンパク質を分解誘導する低分子

Tomoshige, S., Nomura, S., Ohgane, K., Hashimoto, Y., Ishikawa, M.: Discovery of small molecules that induce degradation of huntingtin *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11530-11533.

アルツハイマー病やハンチントン病などの神経変性疾患は、疾患原因タンパク質の異常凝集により発症すると考えられているが、根治療法は存在しない。我々は、神経変性疾患に対する新しい治療戦略を提案すべく、独自に開発したタンパク質ノックダウン法を用いる計画を立案した。この方法は、疾患関連タンパク質とユビキチンリガーゼIAP (inhibitor of apoptosis protein) の両方に結合する化合物が、疾患関連タンパク質とIAPからなる人工的な複合体を生理的な条件下で形成し、疾患関連タンパク質の特異的ユビキチン化・プロテアソームによる分解を誘導するものである。今回標的としたハンチントン病原因タンパク質であるハンチンチン (Htt) については、Httに対する低分子リガンドは知られていなかった。そこで代わりに、凝集タンパク質に特異的に結合する神経変性疾患診断薬を用いて、IAPリガンドとの連結低分子を2種類設計・合成した。これらの化合物は、ハンチントン病患者由来細胞中のHttを減少させることを見出した。メカニズム解析の結果、本低分子が凝集タンパク質に結合すること、IAPと凝集タンパク質の複合体形成を誘導すること、凝集Httをプロテアソーム依存的に減少させること、HttのmRNA発現量を減少させないこと、などを確認した。この論文は、ユビキチンプロテアソーム系の人工利用を誘導する低分子によって、神経変性疾患原因タンパク質を減少できることを報告したものであり、神経変性疾患に対する新しい治療戦略として注目される。



神経変性疾患のひとつハンチントン病の原因タンパク質を減少させる低分子を創製した。神経変性疾患診断薬とユビキチンリガーゼIAPリガンドを連結させた本低分子は、新しい神経変性疾患治療薬として期待される。

## 治療戦略研究分野

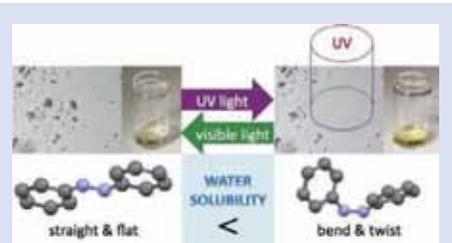
光により水溶性が向上する分子マシン

Ishikawa, M., Ohzono, T., Yamaguchi, T., Norikane, Y.: Photo-enhanced aqueous solubilization of an azo-compound *Scientific Reports* **2017**, *7*, 6909.

化合物の水溶性は、合成・精製容易性、生物活性、材料の機能、環境への影響などに関する重要な物理化学的性質である。医薬品の研究開発においても化合物の水溶性は、薬効・経口吸収性・安全性などに大きく影響する。我々は、分子間相互作用を低下させるように分子設計・合成した類縁体は、水溶性が向上すると一般則を示してきた。特に、直線上の分子構造を屈曲させた類縁体は、水溶性が向上することを発表した。

今回我々は、この水溶性向上のメカニズムを、分子マシン (外部刺激に応答して分子構造が変化する分子) にも応用できることを示した。分子マシンの1種アゾベンゼンは、特定の光照射により、直線・平面状のトランス体と、屈曲・非平面状のシス体へ構造変化する。我々は、アゾベンゼンを有する医薬候補化合物の水溶性が、UV照射により20倍向上することを見出した。この水溶性が、照射波長・光量・溶液中のシストランス比に応じて可逆的に変化することも確認した。また水溶性向上のメカニズムを確認したところ、少なくとも一部は固体状態でもシス異性化が進行して水溶性向上に寄与していることも示唆された。

アゾベンゼン分子マシンの応用例として、有機合成や機能材料、ケミカルバイオロジーが知られていたが、今回の結果はその応用を拡張するものと考えている。将来、経口吸収性に有利な構造に変化させた分子マシンを投与し、その後体内で薬効を発揮する構造に戻す、などの応用が可能になるかも知れない。



光照射により構造が変化する分子マシンは、有機合成、機能材料、ケミカルバイオロジーなどへの応用が期待されている。今回、特定の光を照射することにより、分子マシンの水溶性が可逆的に変化する例を見出した。

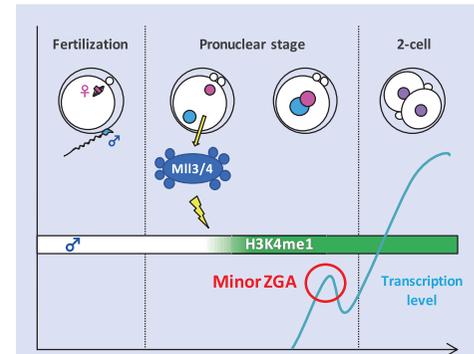
## 病態発生制御研究分野

マウス受精卵における雄性ゲノムのヒストンメチル化と転写制御・胚発生への影響

Aoshima K, Inoue E, Sawa H, Okada Y. (2015). "Paternal H3K4 methylation is required for minor zygotic gene activation and early mouse embryonic development". *EMBO Reports*. Jul; 16(7): 803-12. doi: 10.15252/embr.201439700.  
Okada Y, & Aoshima K. (2015). "KM mutant highlights enhancers in minor ZGA." *Cell Cycle*. Aug 18;14(16):2541-2. doi: 10.1080/15384101.2015.1060774.

マウス受精卵では1細胞期後期から受精卵自身の最初の転写マシナリーが活性化される。この時期の受精卵は、精子由来の核 (雄性前核) と卵子由来の核 (雌性前核) がひとつの細胞質内に独立して存在しているが、両者の転写コントロール状態は異なる。その大きな要因のひとつとして、両者のヒストン修飾形態の違いが注目されてきたが、特定のヒストン修飾のみを消去することが技術的に不可能であったため、その詳細は明らかではなかった。

近年、内因性のヒストンメチル化を人為的に消去するKM変異体が報告された。そこで我々はヒストンH3のN末端側テール部分に存在する4か所のメチル化リジン残基に対してこの変異体をそれぞれ適用し、どのヒストンメチル化が初期胚発生に影響を与えるかを検討した。その結果、4番目のメチル化を消去する変異体 (K4M) の導入が初期胚の発生停止を誘導することを見出した。K4M発現卵では1細胞期後期のK4メチル化が雄性前核特異的に減少し、さらに雄性前核特異的な転写抑制が認められた。さらにこのメチル化を触媒する酵素の同定を試みた結果、ヒストンメチル化酵素Mll3/4が責任分子であること、Mll3/4のノックダウンはK4M過剰発現と類似した表現型を誘導することが明らかとなった。Mll3/4は主にエンハンサー領域のメチル化に寄与することが知られていることから、1細胞期後期の雄由来ゲノム転写におけるエンハンサー活性化の重要性が示唆された。



受精後の雄性前核クロマチンはヒストンメチル化酵素Mll3/4によってメチル化され、これがminor ZGAと呼ばれる受精卵最初の転写活性化に寄与すると考えられる。

## 病態発生制御研究分野

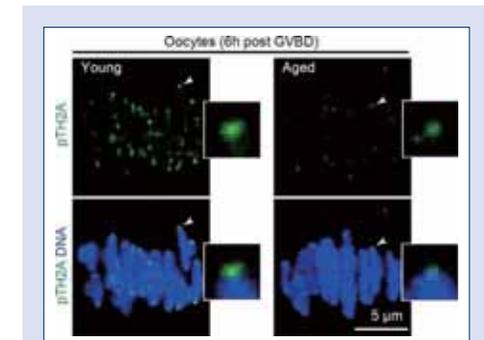
生殖細胞特異的TH2Aのリン酸化修飾の発見とその動態・機能解析

Hada M, Masuda K, Yamaguchi K, Shirahige K, Okada Y. (2017) "Identification of a variant-specific phosphorylation of TH2A during spermiogenesis." *Scientific Reports*. Apr 7; 7: 46228. doi: 10.1038/srep46228.  
Hada M, Kim, JH, Inoue E, Fukuda Y, Tanaka H, Watanabe Y, Okada Y. (2017) "TH2A is phosphorylated at meiotic centromere by Haspin." *Chromosoma*, Aug 12. doi: 10.1007/s00412-017-0638-5.

生殖細胞には多様なヒストンバリエントが存在し、その発現は生殖細胞の増殖・分化に応じて時空間的に制御されている。しかしヒストンバリエントはカノニカル (普遍的) ヒストンとの相同性が極めて高いため、一般的にバリエント特異的な修飾を同定することは困難である。

我々はH2Aの生殖細胞特異的バリエントTH2Aにおいて、バリエント特異的なリン酸化修飾を同定し、その動態解析、さらにリン酸化酵素の同定を試みた。その結果、TH2Aのリン酸化は分裂期特異的リン酸化酵素Haspinによって直接リン酸化され時期的・量的な制御を受けること、従って本リン酸化はHaspinが多く発現する減数分裂期、精子形成後期 (精子核凝集期)、および受精後第一分裂の染色体凝集部位に特異的に認められ、新たな染色体凝集マーカーになり得ることを見出した。

次にTH2Aのリン酸化スレオニンをアラニンに置換した変異マウスを作製し、本リン酸化の生理機能の解析を試みた。その結果、変異マウスの生殖細胞は雌雄とも正常に分化し、妊孕性も保たれていたことから、本リン酸化は生理学的には必須でないことが示された。一方で本リン酸化のレベルはマウス老化卵で著しく減少しており、卵子老化マーカーとしての有用性が示唆された。



老化したマウス卵においてリン酸化TH2Aは著しく減弱する。

職員 Academic and Administrative Staff

	男 Men	女 Women	計 Total
教授 Professors	9	0	9
准教授 Associate Professors	9	1	10
講師 Lecturers	3	1	4
助教 Research Associates	24	5	29
特任助教 Project Research Associates	0	2	2
非常勤講師 Part-time Lecturers	4	0	4
技術職員 Technical Support Staff	0	7	7
特定有期雇用教職員 Fixed-term Project Staff	9	24	33
(特定)短時間勤務有期雇用教職員 Part-time Staff	2	18	20
事務職員 Administrative Staff	7	8	15
計 Total	67	66	133

研究員及び研究生 Research Fellows and Students

	男 Men	女 Women	計 Total
日本学術振興会特別研究員 *JSPS Research Fellowship for Young Scientists	12	2	14

\*日本学術振興会特別研究員は次の様に分類されます。  
\*JSPS Research Fellowship for Young Scientists are divided into

特別研究員DC1(大学院博士課程在学者) DC1 for first-year Ph.D. students	5	2	7
特別研究員DC2(大学院博士課程在学者) DC2 for second-year Ph.D. students	3	0	3
特別研究員PD(大学院博士課程修了者等) PD for Ph.D.s	2	0	2
外国人特別研究員 Postdoctoral fellowship for Foreign Researchers	2	0	2
計 Total	12	2	14

DC1,DC2は全員大学院生のため、右上の表に含まれています。従って研究員、研究生の計には含まれません。  
Note: DC1s and DC2s are not included in the total below, as they are Postgraduate Students listed above right.

協力研究員 Researchers for Collaborate Research	1	1	2
博士研究員 Post Doctoral Fellows	2	0	2
研究員・研究生 計 Total	7	1	8

現在員数総合計 Grand Total Staff Member

合計 Grand Total	94	103	197
----------------	----	-----	-----

大学院生 Postgraduate Students

	男 Men	女 Women	計 Total
理学系 Science	8	14	22
新領域創成 Frontier Sciences	6	9	15
薬学系 Pharmaceutical Sciences	1	11	12
農学生命科学 Agricultural and Life Sciences	3	1	4
総合文化 Arts & Sciences	1	0	1
医学系 Medicine	0	0	0
その他外部受入	1	1	2
計 Total	20	36	56

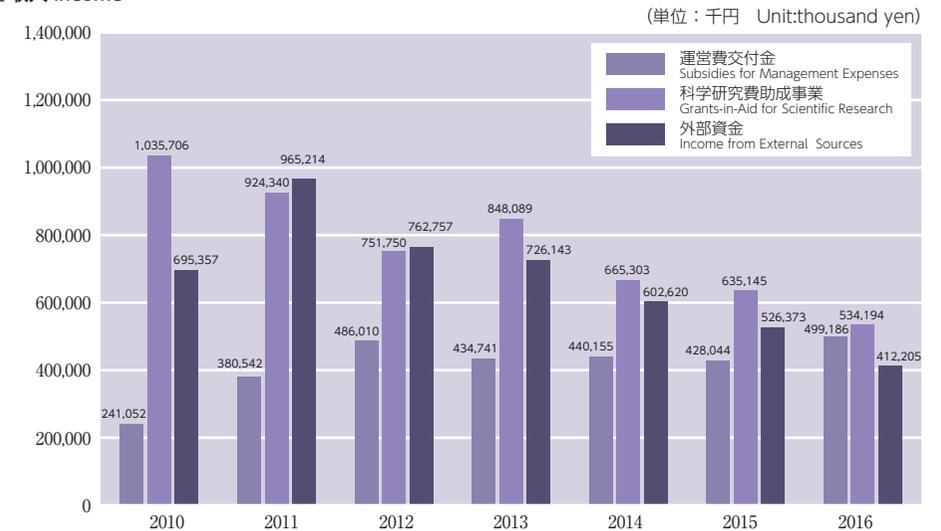
事務職員 Administrative Staff

事務長 General Manager	鈴木 和仁 Kazuhito SUZUKI
専門員 Senior Specialist	新井 千恵子 Chieko ARAI
主査 Chief	永嶋 智明 Satoaki NAGASHIMA
専門職員 Specialist	高田 益子 Masuko TAKADA
係長 Assistant Manager	油井 聡 Satoshi YUI
係長 Assistant Manager	高橋 秀二 Shuji TAKAHASHI
係長 Assistant Manager	定永 尚代 Hisayo SADANAGA
係長 Assistant Manager	高橋 元 Hajime TAKAHASHI
係長 Assistant Manager	青木 秀夫 Hideo AOKI

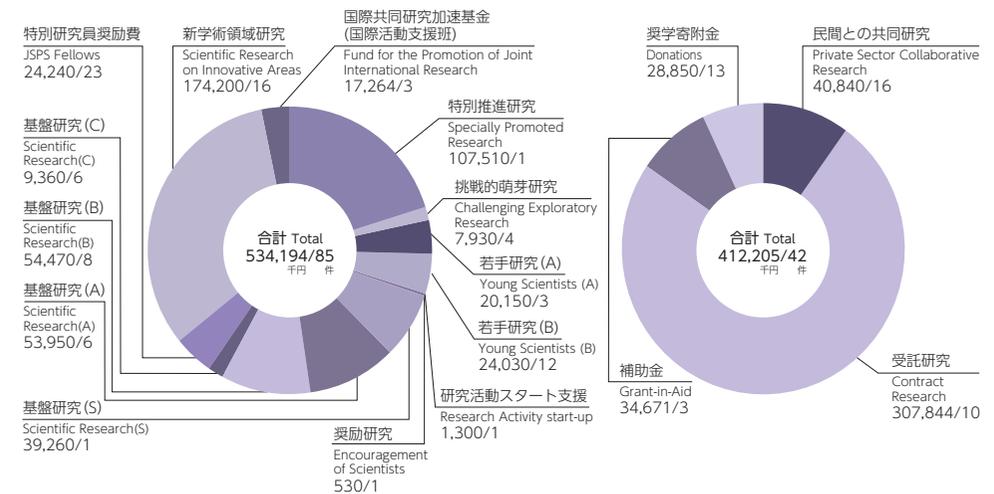
施設の状況 Facilities

建物延面積 12,800㎡  
 ・本館  
 ・総合研究棟2階  
 ・生命科学総合研究棟  
 ・生命科学総合研究棟B

収入 Income

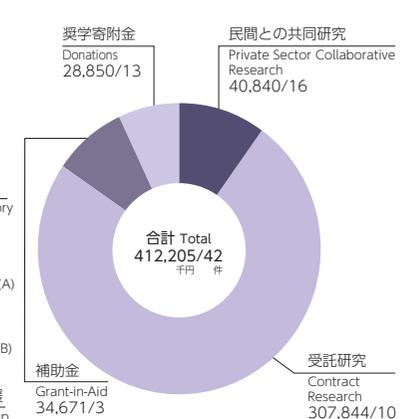


科学研究費助成事業 (平成28年度) Grants-in-Aid for Scientific Research in 2016 Academic Year



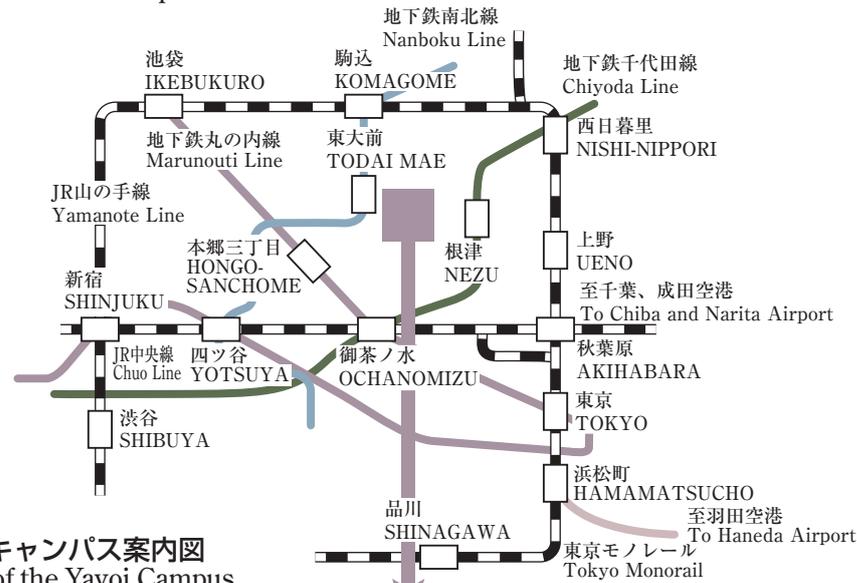
交付金額 / 件数  
Grant-in-Aid/Number of Projects Approved  
(単位:千円 Unit:thousand yen)

外部資金 (平成28年度) Income from External Sources in 2016 Academic Year



受入額 / 件数  
Income/Number of Projects Approved  
(単位:千円 Unit:thousand yen)

■ 所在地・交通機関  
Location and Transportation



■ 弥生キャンパス案内図  
Map of the Yayoi Campus



東京大学分子細胞生物学研究所

Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo

平成29年10月1日 発行

発行責任者 白髭 克彦

発行元 東京大学分子細胞生物学研究所 総務チーム

〒113-0032 東京都文京区弥生1丁目1番1号

TEL : 03-5841-7802

FAX : 03-5841-8465

H P : <http://www.iam.u-tokyo.ac.jp>



<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp>