

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 piRNA 機構の動作原理の統合的理解

東京大学・大学院理学系研究科・教授 塩見 みきこ 美喜子

研究課題番号：19H05466 研究者番号：20322745

キーワード：piRNA、トランスポゾン、PIWI、RNA サイレンシング、生殖

【研究の背景・目的】

生殖組織特異的小分子 RNA である piRNA は、トランスポゾンの利己的転移を抑制することによって生殖ゲノムを DNA 損傷から守る。piRNA 機能の欠失は、生殖組織の発生・分化阻害、卵子・精子の形成不全、ひいては不妊を引き起こす。piRNA の発見以降、piRNA 機構の動作原理を解明する研究は国内外で精力的に行われてきたが、その生殖組織特異性や作用機序の複雑さが研究の進展を阻み、未だ全容解明には至っていない。そこで本研究では「piRNA 機構の動作原理の統合的な理解」を目指す。これまでに培った知識や手法、発想などを十分に生かした研究を展開することによって piRNA 研究の集大成に挑む。本研究の成果は、piRNA 機構の統合的理解のみならず、生殖システムの包括的理解や自己・非自己の識別分子機構の理解、ひいては生殖医療へと繋がる。

【研究の方法】

トランスポゾンによる DNA 損傷から生殖ゲノムを守る piRNA 機構の動作原理を、生化学・細胞生物学・遺伝学・生物情報学・構造生物学などを駆使した学際的戦略によって統合的に理解することを目指す。本研究計画は、以下の 5 部構成とする。

- [RP-1]生殖系体細胞における piRNA 生合成機構の解明
- [RP-2]生殖細胞における piRNA 生合成機構の解明
- [RP-3]生殖系体細胞の piRNA による転写制御機構の解明
- [RP-4]piRNA 因子の立体構造解析
- [RP-5]マウス胎児期生殖細胞のクロマチン動態の解析

RP-1 及び RP-3 はショウジョウバエ卵巣由来体細胞株 OSC を用いてすすめる。RP-2 ではカイコ卵巣由来生殖細胞株 BmN4 を用いる。RP-5 においてはマウス精原細胞を用いる。

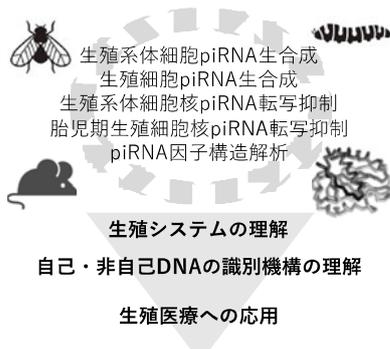


図 1. piRNA 機構の動作原理の統合的理解

【期待される成果と意義】

RNAi や miRNA による遺伝子発現制御機構は恒常的で全ての組織で起こるため、その研究は急進展した。一方、piRNA 機構は生殖組織特異的であり、この事実は piRNA の発見を遅らせたばかりか基礎研究の展開の要因となっており、今なお piRNA 機構の動作原理の理解は乏しい。我々は 2009 年、ショウジョウバエ卵巣由来体細胞株 OSC の樹立に成功し、それ以来 OSC を駆使した生化学的解析を通して成果を挙げてきている。また、CRISPR を OSC に応用して piRNA 増幅機構を獲得した新規細胞株の樹立にも成功した。本研究は、このような独創的な発想に基づいた研究基盤とともに、これまでに培った知識や新規技術を活かしつつさらに加速・進展させるものであり、目的は達成されると期待出来る。本研究の成果は、生殖幹細胞の形成・維持機構の解明をはじめとした生殖システムの包括的な理解、トランスポゾンのゲノム進化、ゲノムにおける自己・非自己の識別機構の解明へ繋がるのが期待され、よって本研究の意義は高い。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ishizu H, Kinoshita T, Hirakata S, Komatsuzaki C and *Siomi MC. Distinct and collaborative functions of Yb and Armitage in transposon-targeting piRNA biogenesis. *Cell Reports* 27:1-14. 2019
- Nishida KM, Sakakibara K, Iwasaki Y, Yamada H, Murakami R, Murota Y, Kawamura T, Kodama T, Siomi H and *Siomi MC. Hierarchical roles of mitochondrial PAPI and Zucchini in *Bombyx* germline piRNA biogenesis. *Nature* 555:260-264. 2018
- Matsumoto N, Nishimasu H, Sakakibara K, Nishida KM, Hirano T, Ishitani R, Siomi H, *Siomi MC and *Nureki O. Crystal structure of silkworm PIWI-clade Argonaute Siwi bound to piRNA. *Cell* 167:484-497. 2016
- Sumiyoshi T, Sato K, Yamamoto H, Iwasaki YW, Siomi H and *Siomi MC. Loss of l(3)mbt leads to acquisition of the ping-pong cycle in *Drosophila* ovarian somatic cells. *Genes & Development* 30:1617-1622. 2016

【研究期間と研究経費】

令和元年度—令和 5 年度
417,300 千円

【ホームページ等】

<http://www-siomi-lab.biochem.s.u-tokyo.ac.jp/index.html>

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 発達障害に関わる神経生物学的機構の霊長類的基盤の解明

京都大学・霊長類研究所・教授

たかだ まさひこ
高田 昌彦

研究課題番号：19H05467 研究者番号：00236233

キーワード：発達障害、社会的行動、神経ネットワーク、認知ゲノム、霊長類

【研究の背景・目的】

我々が適応的な社会生活を営むために作用し、他方では社会そのものを創出するもの、それがソーシャルマインドである。ソーシャルマインドを育むことは、社会的・集団的行動を通して、自己と他者の関係を良好に保ち、日常を快適に過ごすうえで必要不可欠である。科学技術の長足の進歩による社会環境の劇的な変化を特徴とする現代社会において、ソーシャルマインドおよびその破綻としての発達障害（自閉スペクトラム症や統合失調症など）の神経メカニズムを明らかにし、得られた知見を社会実装していくことは、社会性を巡る問題の多くが関連する社会的行動とその根底にある認知機能や精神機能を統合的に理解するうえで喫緊の課題である。

本研究では、ヒトに近縁のサル類（マカクザル、マーモセット）を対象にして、研究のパラダイムシフトにより、従来の「個体レベルの生命科学」から「社会・集団レベルの生命科学」への転換を図り、ソーシャルマインドおよびその破綻としての発達障害に関わる神経生物学的機構の霊長類的基盤の解明を目指す。本研究の目的は、ソーシャルマインドを醸成し、その制御に関与する遺伝子と神経回路の同定および機能解明に重点をおき、集団もしくは集団の中の個体による社会的行動（集団行動、個体間交渉）、社会的行動を規定する神経ネットワーク活動、更に、神経ネットワーク活動を支配する認知ゲノム発現の生物学的トライアングル関連のメカニズムを明らかにすることである。

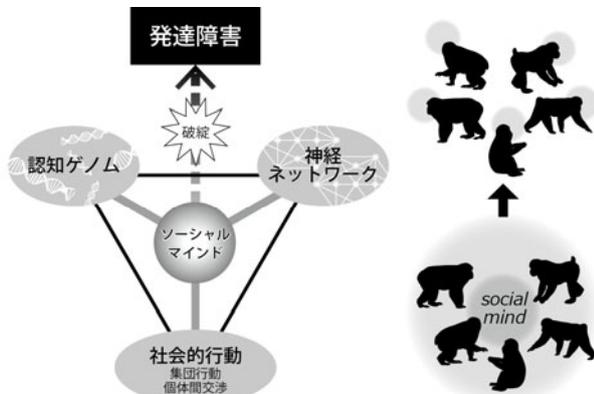


図1 ソーシャルマインドと発達障害

【研究の方法】

本研究にはマカクザル（ニホンザル、アカゲザル）およびコモンマーモセットを使用する。本研究では京都大学霊長類研究所の優れた研究環境（集団ケージ、放飼場）を利用するとともに、自閉スペクトラ

ム症や統合失調症のリスク遺伝子の網羅的探索と機能解析、ウイルスベクターシステムを駆使した脳内遺伝子導入による発達障害モデル開発、レーザーレーダやビジネス顕微鏡を応用した多個体行動同時トレース、社会的認知機能を評価する2個体同時神経活動計測など、霊長類動物を対象にしたさまざまな革新的技術により、次の6つの研究項目を包括的に推進する：(1) 神経路選択的な光遺伝学的／化学遺伝学的活動操作を同時適用できる新規介入手法の開発；(2) 全脳的かつ全ニューロンの遺伝子導入技術の開発；(3) 神経回路操作による発達障害霊長類モデルの作出と行動・神経活動解析；(4) 全脳的遺伝子操作による発達障害霊長類モデルの作出と行動・神経活動解析；(5) 集団行動特性解析システムの構築；(6) 発達障害霊長類モデルの集団行動特性解析。

【期待される成果と意義】

本研究によって発信される成果は、集団的視座から認知行動や精神活動を包括的に捉え、その一様態としての自閉スペクトラム症や統合失調症などの発達障害における行動特性の理解と、発達障害者の集団内における行動の理解に繋がるだけでなく、いじめや自殺など、青少年における重大な社会問題に対して、システム神経科学と精神医学の面から切り込み、問題の早期発見や介入・治療法の開発にも繋がることが期待される。また、ヒトと霊長類モデルの双方から得られるデータを相互補完的に活用することにより、発達障害の神経回路基盤やゲノム基盤の解明を通して介入・治療ターゲットの同定や臨床的検証に資することが期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Nagai Y, Inoue K, Takada M, Minamimoto T et al. (2016) PET imaging-guided chemogenetic silencing reveals a critical role of primate rostromedial caudate in reward evaluation. *Nature Communications* 7:13605.
Inoue K, Takada M, Matsumoto M (2015) Neuronal and behavioral modulations by pathway-selective optogenetic stimulation of the primate oculomotor system. *Nature Communications* 6:8378.

【研究期間と研究経費】

令和元年度－令和5年度
391,400 千円

【ホームページ等】

http://www.pri.kyoto-u.ac.jp/sections/systems_neuroscience/index.html
takada.masahiko.7x@kyoto-u.ac.jp

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 生体機能構築基盤としての上皮バリア学の新展開

大阪大学・大学院生命機能研究科・特任教授 つきた さちこ
月田 早智子

研究課題番号：19H05468 研究者番号：00188517

キーワード：上皮バリア、タイトジャンクション、アピカル膜、細胞接着、細胞骨格

【研究の背景・目的】

生体は大小様々な区画に分かれ、各区画は、上皮細胞シートによる「上皮バリア」により、内部環境を外部からの摂動に適応させ種々の生体機能を構築している。上皮バリアは、タイトジャンクション (TJ) による上皮細胞間バリアと上皮細胞アピカル膜によるアピカル面バリアとで形成され、物質移動の制限と選択的透過を行っている。我々は、分子、細胞、個体レベルの TJ 研究を推進し、近年 TJ の接着分子クローデインの構造解析から細胞間バリアの分子構築仮説を提示するなど、TJ 細胞間バリア研究を牽引してきた。最近、細胞間バリアとアピカル面バリアを構造的・機能的に連携させるシステムとして「TJ-アピカル複合体」を同定した。

本研究では、次世代クライオ電子顕微鏡を導入した構造解析により、細胞間バリアの分子構築を生体内実態に即して解明する。また、上皮バリアが、「TJ-アピカル複合体」により、時々刻々と変化する生体機能を構築・制御する機構を解明する。これらを軸に、上皮バリア学の新展開および操作法の開拓を目指す。

【研究の方法】

1. TJ 細胞間バリアの生体内での分子構築

細胞間バリアの深い理解とその操作法の開拓には、その分子構造レベルでの精度の高い情報が有用である。本研究の単粒子解析は、結晶を作る必要がないため生体試料を含む分子と分子複合体の構造解析が可能である。我々がこれまでに蓄積した TJ 精製の予備知見は、単粒子解析に利用可能なサンプルの調製に活かすことができる。使用する機器は、原子モデルが決定できる、第 8 世代のクライオ電子顕微鏡である。

2. TJ-アピカル複合体の階層縦断的な解析

本研究では、我々の提唱した TJ-アピカル複合体を細胞、組織、個体レベルで階層縦断的に解析する。具体的には、TJ-アピカル複合体において TJ とアピカル骨格に結合する蛋白質を探索した際に特定した、微小管の結合蛋白質である 4 種類の TJ 構成分子 TJMAPs (TJ microtubule-associated Proteins) について

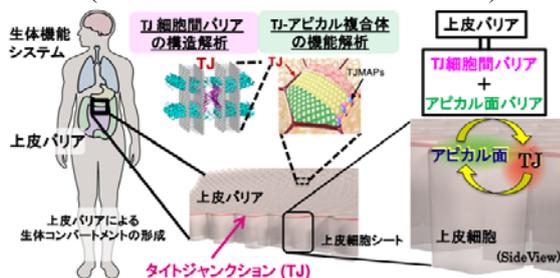


図1 生体構築基盤としての上皮バリアと本研究課題

解析を進める。

TJMAPs を介する TJ と、細胞内シグナルやアピカル骨格、膜蛋白質との連携について検討を進め、組織機能と個体機能での TJ-アピカル複合体の役割を解明し、新規生体機能構築・操作基盤を開拓する。

【期待される成果と意義】

本研究により、上皮バリア機能を統合的に理解する「上皮バリア学」が展開される。「TJ 細胞間バリア」と「TJ-アピカル複合体による細胞間・アピカル面バリア」とが連携した、統合的上皮バリア構築原理が明らかになると期待される。その結果、生体機能を制御する巧妙な上皮バリア操作基盤が構築されれば、上皮バリア変調に起因する病態に対し、従来とは異なる方策を提示できる可能性がある。

本研究の意義は、「クローデインによる TJ 細胞間バリアの生体内分子構築の解明」と、「TJ-アピカル複合体を軸とした新アプローチによる上皮バリア研究」とを軸として、「上皮バリアの統合的理解を深め、上皮バリアによる生体機能の制御機構に迫ること」である。

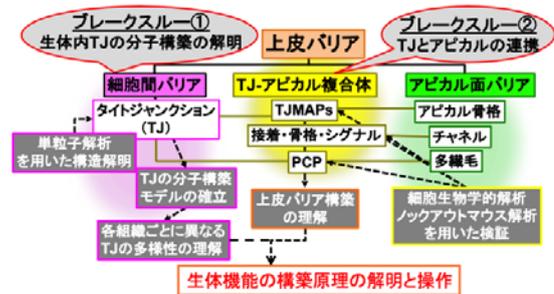


図2 階層縦断的研究進行の概要

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kunimoto, K., , and Tsukita, S. Coordinated ciliary beating requires *Odf2*-mediated polarization of basal bodies via basal feet. *Cell* 148, 189-200 (2012).
- Saitoh, Y., Suzuki, S., Tani, K., , Tsukita, S., and Fujiyoshi, Y. Structural insight into tight junction disassembly by *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Science* 347, 775-778 (2015).
- Tsukita, S., Tanaka, H., and Tamura, A. The claudins: from tight junctions to biological systems. *Trends in Biochem. Sci.* 44, 141-152 (2019).

【研究期間と研究経費】

令和元年度—令和5年度
431,000 千円

【ホームページ等】

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/tsukita/>
tsukiweb@biosci.med.osaka-u.ac.jp