

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 RNA を基盤とする合成生命システムの創成

京都大学・iPS細胞研究所・教授

さいとう ひろひで

齊藤 博英

研究課題番号： 20H05626 研究者番号：20423014

キーワード： 合成生物学、RNA、細胞制御、人工細胞

【研究の背景・目的】

RNA を基盤とする生命システムが、細胞の機能制御に果たす役割の多くは未知のままである。また RNA や RNA-Protein (RNP)相互作用は、生命の進化の過程で本質的な役割を果たしたと考えられるが、それらがいかに細胞や生命のシステムを形成するに至ったのか、その構築原理の解明には至っていない。本提案では独自の「RNA・RNP 分子デザイン技術」を活用し、(1) 細胞機能を制御する RNA や RNP 相互作用ネットワークを包括的に同定するとともに、(2) RNP による細胞内構造物 (オルガネラ) の作動原理を解明し、機能性人工 RNP オルガネラを構築する。さらに得られた知見を生かして、(3) 哺乳類細胞や個体で作用する人工の RNA・RNP システムを開発する。同時に、(4) 生命システムの創発原理の解明を目指し、RNA システムに基づく生命起源の探求と人工細胞モデルの創出に挑む。合成生物学、生命化学、細胞生物学、制御工学、生物物理学といった異分野の知識や技術を結集することで、RNA や RNP が司る生命現象を統合的に理解するとともに、医療応用や生命進化の考察に資する人工システムを開発することで、「合成生命システム創生分野」を新たに切り拓く。

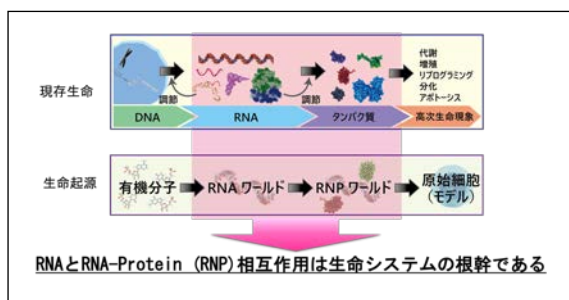


図1 RNA を基盤とする合成生命システム

【研究の方法】

本研究では、独自の RNA や RNP の分子デザイン技術を活用し、RNA や RNP 相互作用からなる未知の生命現象を解明し、その理解をもとに機能性人工オルガネラや人工細胞を創出する。まず、ゲノムから RNA 構造モチーフを抽出できる独自の RNA 構造ライブラリ作成技術を活用し、生命システム形成に寄与する RNP ネットワークや RNP オルガネラの構築原理を解明する。さらに、RNA や RNP を基盤とする人工遺伝子回路や人工オルガネラを設計、構築し、生命システムの進化や構築原理の解明につながる人工細胞モデルを創出する。

【期待される成果と意義】

細胞や個体における新規 RNA/RNP ネットワークを解明し、それらを人為的に改変することで、次世代の産業応用 (医療、ヘルスケア、環境問題など) に幅広く活用できる基盤システムの構築が期待できる。さらに、得られた知見を利用して、分子デザインした人工 RNA や RNP を基盤とする人工細胞を構築し、構成的な生命システムの創出を加速させる。本研究により、RNA/RNP を基軸に据えた「合成生命システム創生分野」を開拓する。

本提案で目指す RNA/RNP による生命システムの制御機構の解明と人工細胞の構築は、次世代産業の開拓に直結する。細胞運命を制御可能な機能性 RNP や人工細胞が創出できれば、次世代医療を担う技術となりえる。将来的には目的に応じて様々な機能を有した人工システムや人工細胞の構築が期待できる。RNA を基盤とする合成生命システムや人工細胞は、医療分野、診断分野、環境分野、農学分野等への幅広い応用が期待される (図2)。

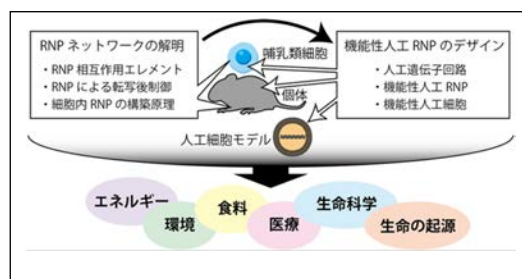


図2 RNA 合成生命システム分野の展望

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Endo K, Hayashi K, Saito H: Numerical operations in living cells by programmable RNA devices *Science Advances*, 5(8):eaax0835. 2019
- Matsuura S, Ono H, Kawasaki S, Kuang Y, Fujita Y, Saito H: Synthetic RNA-based logic computation in mammalian cells. *Nature Communications*, 9:4847, 2018

【研究期間と研究経費】

令和2年度～6年度 289,100千円

【ホームページ等】

<https://sites.google.com/view/hirohidesaitolabjp>

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 常在細菌叢の動作原理理解に基づく微生物製剤の開発

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授

ほんだ けんや

本田 賢也

研究課題番号： 20H05627 研究者番号：60334231

キーワード： 常在細菌、ワクチン、大腸がん、抗生物質耐性菌、代謝疾患

【研究の背景・目的】

マイクロバイオーームは基礎臨床双方に極めて重要な研究対象である。細菌培養によらない次世代シーケンス解析が盛んに行われているが、その結果は関連する細菌種を同定するに過ぎない。我々は、こうした「相関関係」解析から一線を画し、細菌培養とノトバイオート技術を組み合わせ、より詳細な「因果関係」の理解を進め、エフェクターとなる菌株コンソーシアムを分離選択する方法を構築してきた。本研究課題ではこれまでの手法を応用し、**1. 免疫疾患・ワクチン**、**2. 多剤耐性菌感染**、**3. 代謝疾患**、**4. がん**、**5. 健康長寿**、に焦点をあてて、細菌叢のなかでどの細菌メンバーが、どのような宿主細胞集団に影響を与えるのかを明らかにする。更に細胞分子メカニズムにまで踏み込むため、本研究では**6. マイクロバイオーーム基盤技術の開発**も進める。特に、難培養菌培養技術を進化させるとともに、常在菌の遺伝子変異株作成のためのツールの開発をすすめる。それによって細菌遺伝子代謝産物をリンクさせ、細菌の動作原理を明らかにする。長期的にはマイクロバイオーームの制御、或いは宿主に作用する機能性分子に着目した予防・治療技術を開発する。

【研究の方法】



図1 エフェクター菌株コンソーシアム分離同定

- 1. ワクチン**: SARS-CoV2 に対する抗体応答・ワクチンレスポンスを増強できる腸内細菌株の同定を目指す。そのため、SARS-CoV2 感染回復者の便と血清を収集する。効果的な特異的抗体応答を示した回復者の便を無菌マウスに投与し、不活化 SARS-CoV2 (すなわちワクチン) を接種し、抗体応答を確認する。抗体応答を増強する細菌株を単離・選択する。
- 2. 多剤耐性菌感染**: 健康者の便サンプルから、多剤

耐性菌クレブシエラ菌に対して腸管定着防御に働く 37 菌株を同定したので、そこから、有効な最小菌株サブセットを得る。

3. 代謝疾患: 食事への介入が、腸内細菌依存的に、白色脂肪組織において Beige 細胞を強力に誘導することを見出した。この現象に関わる腸内細菌種を同定し、そのメカニズムを明らかにする。

4. がん: 大腸がん切除組織の上皮層から 40 菌株分離した。これらの細菌株が、大腸がん発症に影響を与えるのかを、無菌 APC/K-ras マウスに投与して検討する。

5. 健康長寿: 百寿者の便には、特殊な二次胆汁酸を代謝合成する細菌種が多く存在する事がわかった。そこで、その責任細菌種を同定する。さらにその胆汁酸の、宿主恒常性維持における機能を解析する。

6. マイクロバイオーーム基盤技術の開発: 常在菌の遺伝子変異株作成のためのツールを開発する。宿主の制限酵素に切断されないようなプラスミド配列や、CRISPR-Cas システムを用いる。また、難培養菌単離プロジェクトを促進する。

【期待される成果と意義】

微生物叢は多種多様であるが、宿主との相互作用においてカギとなる微生物はある程度絞られる。ある表現型を指標として、その関連性が強く示唆される微生物集団をノトバイオート技術によって絞り込んだ上で培養するというアプローチが、微生物叢理解を進める上で非常に有効である。本研究では、細菌-宿主間の関係性における詳細な分子細胞メカニズムの理解を進め、細菌コンソーシアムに由来する責任生理活性物質の同定を進める。マイクロバイオータ構成メンバーの動作原理の分子的基盤を明らかにできれば、ヒューマンバイオロジーを人為的に操作することを可能にし、疾患の予防・治療において強力な方法を得ることに繋がる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Tanoue T, Nature. 565(7741): 600-605. (2019)
- ・ Atarashi K, Science. 358:359-365 (2017)
- ・ Honda K, Nature. 535:75-84 (2016)
- ・ Atarashi K, Cell. 163(2):367-80 (2015).

【研究期間と研究経費】

令和2年度-7年度 492,900 千円

【ホームページ等】

<http://www.microbiolimmunol.med.keio.ac.jp/home.html>

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 細胞外足場タンパク質によるシナプス・非シナプス機能制御機構の解明

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授

ゆざき みちすけ

柚崎 通介

研究課題番号： 20H05628 研究者番号：40365226

キーワード： ニューロン、シナプス、神経回路

【研究の背景・目的】

神経細胞は「シナプス」と呼ばれる接着構造によってお互いに結合してさまざまな神経回路を構成する。多くの精神・神経疾患ではシナプスに異常がみられることから、シナプス形成を担う分子群の解明は基礎・臨床神経科学における最重要課題の一つである。

近年、私たちは新しいシナプス形成分子として、細胞外足場タンパク質 (Extracellular Scaffolding Proteins: ESP) という概念を確立した。ESP は神経細胞やグリア細胞から分泌されて、シナプスにて足場として働く。ESP は従来のシナプス形成分子とは異なり、生涯にわたって、神経活動に応じてシナプス再編やシナプス機能を制御する。さらに、神経細胞間や、神経細胞と非神経細胞の間には典型的なシナプスとは異なった接着構造が存在し、ESP はこのような非シナプス性接着構造にも関与することがわかってきた。

本研究では、シナプスおよび非シナプス性接着構造において機能するさまざまな ESP のシグナル伝達機構の解明を進め、さらに ESP の結晶構造を元にして人工的コネクターを開発することによって、神経回路網や非シナプス性接着構造の生理的機能を明らかにし、新しい観点から脳の動作原理および精神・神経疾患の病態の解明を進める。

【研究の方法】

ESP に属するシナプス形成分子として、補体ファミリー分子 (C1q, Cbln1-4, C1ql1-4) や神経ペントラキシン (NPs: NP1, NP2, NPR) が分かっている。本研究では ESP の中でも重要な役割を果たすにもかかわらず、シグナル伝達機構の解明が遅れている C1q、Cbln2、Cbln4、NPs に焦点を当て、それぞれの受容体を同定し機能発現機構を解明する。

また、これまでに非シナプス性接着構造を見出した3つの脳部位 (扁桃体延長領域・線条体・小脳) に焦点を当て、それぞれの接着構造に関与する分子を同定し、非シナプス性接着構造がもつ生理的意義を、神経回路および個体行動レベルにおいて解明する。

これまでに Cbln1 と NP1 の構造的特徴を活かした人工シナプスコネクターCPTXを開発した (図1)。CPTXを小脳失調・アルツハイマー病・脊髄損傷のモデルマウスに投与すると、急速にシナプス形成を誘導することによって、それぞれの病態を回復させた。さらに他の ESP の機能と構造の解明を進めることによって新たな人工シナプスコネクター分子の開発を進め、シナプスや非シナプス性接着構造を特異的に操作することにより、精神・神経疾患や発達障害モデ

ルマウスの病態解明と治療方法の探索を進める。

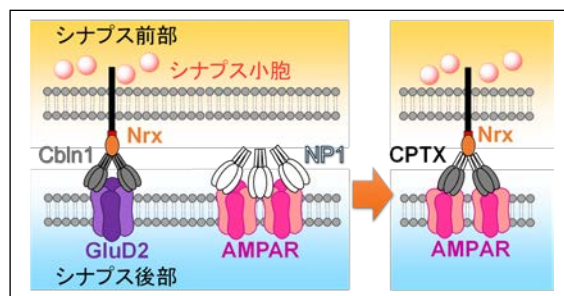


図1 人工シナプスコネクターCPTXの開発

【期待される成果と意義】

近年多くの ESP が報告されているが、その作用や分子機構には不明な点が多い。ESP の受容体や機能の解明を進める本研究によって、シナプス形成・維持機構の理解が大きく進むことが期待される。

非シナプス性接着構造は、中枢神経系におけるアセチルコリン、ドーパミン、セロトニンなどによる遅い神経伝達経路や、腸管や心臓など多彩な効果器を支配する自律神経系にもみられる。シナプスにおいて確立した ESP 研究技術基盤を活かして、これらの非シナプス性接着構造の解明を進めることにより、多くの関連領域に大きなインパクトを与えることができる。と期待される。

また、多くの ESP の構造的知見を蓄積することによって、多彩なシナプス・非シナプス性接着に対する特異性を有する人工コネクターのツールキット開発を進めることによって、精神・神経疾患に対する新しい治療法の開発に繋がることを期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Suzuki K, Elegheert J, Song I, Sasakura H, (他 18 名), Yuzaki M. A synthetic synaptic organizer protein restores glutamatergic neuronal circuits. *Science* 369, eabb4853, 2020.
- ・ Yuzaki M. Two Classes of Secreted Synaptic Organizers in the Central Nervous System. *Annu Rev Physiol* 80:243-262, 2018.

【研究期間と研究経費】

令和2年度-6年度 463,200千円

【ホームページ等】

<http://www.yuzaki-lab.org>