

課題番号	LS129
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 25 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	アミロイドの総合的理解によるその形成と伝播の制御
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人理化学研究所・タンパク質構造疾患研究チーム・チームリーダー
氏名	田中 元雅

1. 当該年度の研究目的

不溶性の線維状タンパク質凝集体（アミロイド）の生成機構を解明するために、酵母プリオン蛋白質 Sup35NM のモノマーの局所構造や揺らぎを NMR や他の生物物理的手法で明らかにする。また、神経変性疾患の一つであるハンチントン病患者に見られる精神障害機構を解明する目的で、線条体における cAMP シグナリングの役割を解明する。さらにより一般的に、多くの神経変性疾患に見られる精神障害の発現機序についても検討する。一方、新たな定量性のあるプロテオミクス的手法を確立させ、酵母や哺乳細胞を用いて新規な機能性プリオンを探索する。また、抗ウイルス活性示す細胞質遺伝現象において RNA キラーウイルスに特異的に変異が入る機構を解明する。

2. 研究の実施状況

(1) オリゴマーやアミロイドの構造多形とその生成機構の解明 Sup35NM のモノマーの局所構造を常磁性 NMR から検討した。その結果、凝集形成に必須なドメイン内における静電的な相互作用がモノマーの揺らぎを抑制してコンパクトな局所構造を取り、その後生じるアミロイド構造を決定することを明らかにした。一方、アミロイド構造が野生型と異なる Sup35NM 変異体のモノマーは、より変性しているため異なるアミロイド構造を取ることが分析用超遠心の結果から示唆された。

(2) オリゴマーやアミロイドの伝播機構の解明とアミロイドがもたらす精神疾患の解明 ハンチントン病に見られる精神障害が、cAMP 分解酵素活性を低下させる酵素をマウス脳へ導入することで回復するかを *in vivo* で検討するため、アデノ随伴ウイルス(AAV)を作成し、マウス脳の線条体へ導入し、行動解析を行う系を確立させた。さらに、AAV の系を用いて、精神障害を示す神経変性疾患マウスに見られる精神障害が精神疾患危険因子の凝集によることを *in vivo* の系で示唆された。

(3) 新規な機能性アミロイドやプリオンの探索とその解析 既知の酵母プリオンをコントロールとして、タンパク質凝集体の解析に特化した定量的プロテオミクス法を確立させた。その手法で、野生酵母株を用いた実験から、複数の新規酵母プリオンの候補を見出した。また、哺乳細胞の系へも応用し、定量的なプロテオミクス法をほぼ確立させた。非メンデル型の細胞質遺伝を示す[KIL-d]酵母が二本鎖 RNA キラーウイルス M に特異的に変異を導入することをウイルス交換実験等から証明した。また、そのキラー活性を無毒化する分子機序として、タンパク質凝集体と LA-RNA ウイルスがコードするポリメラーゼとの相互作用による遺伝子複製の正確性低下が示唆された。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 1 件 (1) Nilsson P., Loganathan K., Sekiguchi M., Matsuba Y., Hui K., Tsubuki S., Tanaka M., Iwata N., Saito T., and Saido T.C. Aβ secretion and plaque formation depend on autophagy. <i>Cell Reports</i>, 5, 61-69 (2013).</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件 (2) 田中元雅 (訳)、Seeds of Dementia (認知症のタネをまくタンパク質)、日経サイエンス、1月号, 74-81 (2014).</p> <p>(未掲載) 計 2 件 (3) Self-propagating amyloid as a critical regulator for diverse cellular functions. Sugiyama S, Tanaka M. <i>J. Biochem.</i>, <i>in press</i>. (4) 志田俊信、田中元雅、酵母プリオンを用いたアミロイドの構造多形と伝播機構の解明、<i>Dementia Japan</i>, <i>in press</i>.</p>
<p>会議発表 計 4 件</p>	<p>専門家向け 計 4 件 (1) Structural basis of the diversity of prion strain conformations in yeast. <u>Motomasa Tanaka</u>, Yumiko Ohhashi, Yoshiki Yamaguchi, Yuji Kamatari, Shinya Hanashima, Kazuo Kuwata. FASEB meeting, 2013/6/23-28, Big Sky, Montana (USA). (2) Structural basis for conformational plasticity of yeast prion amyloid. <u>Motomasa Tanaka</u>, Yumiko Ohhashi, Yoshiki Yamaguchi, Yuji Kamatari, Shinya Hanashima, Kazuo Kuwata. Asian Pacific Prion Symposium 2013, 2013/7/21-22, Nagasaki (Japan). (3) 酵母プリオンを用いたアミロイドの構造多形と伝播機構の解明、<u>田中元雅</u>、2013/11/8-10, 第32回日本認知症学会学術集会シンポジウム、松本市 (日本) . (4) Molecular basis for asymmetric segregation of yeast prions during cell division. <u>Motomasa Tanaka</u>, Genjiro Suzuki, Keystone Symposia, 2014/1/12-17, Steamboat Springs, Colorado (USA).</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>ウェブサイトの名称: 理研 脳科学総合研究センター タンパク質構造疾患研究チーム http://www.motomasalab.brain.riken.jp/index.html</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>2013/4/20 理研・一般公開日で、アミロイドと精神・神経変性疾患に関するポスター掲示と説明(場所: 理研 脳科学総合研究センター 中央棟 5F セミナー室、対象者: 一般、人数: 約 100 人) 2013/7/17 三井住友銀行御一行様へのアミロイドと精神・神経変性疾患に関する講演(場所: 理研 脳科学総合研究センター 中央棟 5F セミナー室、対象者: 一般、人数: 5 人)</p>

様式19 別紙1

新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	116,000,000	78,100,000	37,900,000	0	0
間接経費	34,800,000	23,430,000	11,370,000	0	0
合計	150,800,000	101,530,000	49,270,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	8,790,890	37,900,000	0	46,690,890	46,690,869	21	0
間接経費	0	11,370,000	0	11,370,000	11,370,000	0	0
合計	8,790,890	49,270,000	0	58,060,890	58,060,869	21	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	44,622,620	試薬・消耗品、イメージアナライザー等
旅費	22,260	学会旅費等
謝金・人件費等	1,995,489	研究補助者派遣料等
その他	50,500	学会参加費等
直接経費計	46,690,869	
間接経費計	11,370,000	
合計	58,060,869	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
細胞イメージア ナライザー装置	Thermo Scientific	1	17,857,646	17,857,646	2013/5/31	独立行政法人理 化学研究所
Bright Field Module	Thermo Scientific N01-	1	1,436,104	1,436,104	2013/5/31	独立行政法人理 化学研究所
分析用超遠心機	Beckman Coulter ProteomeLab XL-A	1	8,336,826	8,336,826	2013/11/26	独立行政法人理 化学研究所
分析用ローター	Beckman Coulter An-60Ti	1	1,304,084	1,304,084	2013/11/26	独立行政法人理 化学研究所
スターターキット3 点他1点	Beckman Coulter	1	1,376,740	1,376,740	2013/11/26	独立行政法人理 化学研究所
ルミノ・イメージア ナライザー	GE, Image Quant LAS4000miniシステ ム	1	3,898,710	3,898,710	2013/12/6	独立行政法人理 化学研究所
Epi-B Set 他1点	GE	1	1,601,190	1,601,190	2013/12/6	独立行政法人理 化学研究所
蛍光相互相関分光 測定装置	Nikon	1	8,190,000	8,190,000	2014/2/28	独立行政法人理 化学研究所