



文部科学省 科学研究費助成事業 学術変革領域研究(B) 令和3年～5年

核酸構造による生物種を超えた 多元応答ゲノムの機構の解明

Newsletter 02

MEXT Grant-in-Aid for Scientific Research on Transformative Research Areas (B)
Elucidation of the mechanism for dimensional response genome
across species regulated by nucleic acid structures

代表挨拶

Greeting



本領域研究「多元応答ゲノム」が発足してから、1年半が経過しました。編集をご担当頂いている京都大の今西先生と、初年度のニュースレターの打ち合わせしていた時を、ついこの間の時のように感じています。前回のニュースレターでは、領域研究の目的や今後の取り組みに紹介に焦点を当てていましたが、今回は、領域の研究進捗や活動を紹介するとともに、領域のメンバーそれぞれに焦点をあてて、研究内容及び領域研究としての展望を紹介いたします。

本領域研究では、環境に応答して多变的に変動する核酸構造に焦点を当て、生物種の枠組みにとらわれずに「多元応答」と位置づける遺伝子の発現調節を行う分子機構を物理化学的観点から解明することを目指しています。今年度の研究成果として、ヒト細胞内での多元応答機能を解明するため、DNAやRNAのG-四重らせん構造に着目し、遺伝子発現やタンパク質-核酸相互作用を制御する分子機構を実験によって解明する研究を行いました。また、様々な生物種内を対象に「多元応答」をし得る配列を情報科学的に検索し、物理化学および生化学的実験手法によって、特にイネ、シロイヌナズナ、ゼニゴケ、ウイルスなどの核酸の構造に注目した研究に着手し、研究成果を学術論文や国内外の学会で発表しました(詳細は、3ページ以降をご参照ください)。

本領域研究の内容や進捗に関して、よりハイレベルな議論を行えるよう日本生化学会大会での「非二重らせん核酸の多元機能」と題した企画シンポジウムや、学術変革領域研究(B)「糖化学ノックイン」のグループと領域横断研究会を開催しました。また、より多くの方々へ本領域研究を発信できるよう、学会だけでなく、市民講座や展示会においても研究の成果を紹介しました。次年度には、領域アドバイザーの先生方に1年半の領域の成果を発表し、助言を頂く機会を設け、先生方の助言を基に、残りの期間の研究、運営を推進したいと考えています。

本領域研究では、領域外の先生方とも積極的に共同研究を実施しました。多くの先生方にご支援を賜りましたこと、厚くお礼申し上げます。次年度は、様々な生物種における「多元応答」に関するより詳細な研究成果を紹介できるよう研究を推進いたしますので、今後ともご支援いただければ幸いです。



領域代表 建石寿枝

甲南大学
先端生命工学研究所
(FIBER)

CONTENTS

- | | | | |
|----|------------------------|----|------------------|
| 02 | 代表挨拶 | 07 | 論文紹介 (A02) 鶴岡 孝章 |
| 03 | 論文紹介 (A01) 遠藤 玉樹 | 08 | 論文紹介 (A03) 今西 未来 |
| 04 | 論文紹介 (A01) 凌 一葦、奥田 修二郎 | 09 | 論文紹介 (A03) 安喜 史織 |
| 05 | 論文紹介 (A02) 建石 寿枝 | 10 | 活動報告 |
| 06 | 論文紹介 (A02) 松本 咲 | 14 | 研究成果、今後の予定、編集後記 |



A01班

遠藤 玉樹 准教授

甲南大学先端生命工学研究所
多元応答に関与する核酸構造の実験的網羅解析

Endogenous G-quadruplex-forming RNAs inhibit the activity of SARS-CoV-2 RNA polymerase
Tamaki Endoh, Shuntaro Takahashi, and Naoki Sugimoto
Chemical Communications, 59, 872-875 (2023)

本領域研究では、細胞内在性の核酸分子(DNAおよびRNA)の、環境に応答して変動する構造に依存した多元的な機能に焦点をあてています。A01班では、多元的な機能を示し得る核酸構造の抽出を進めています。今回、特定のタンパク質と相互作用し得る細胞内在性の核酸を選別する技術の開発を行いました。

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)に限らず、人類が未知のウイルス感染症によって健康被害や経済損失を受ける危険性は常に存在しています。抗ウイルス活性を示す薬剤候補となる分子を開発するにあたり、ウイルスのタンパク質は格好の標的となります。

DNAから転写反応を経て合成されるRNAは、独特の高次構造を形成することで様々な機能を発揮します。一例として、特定の分子を認識して結合する機能が挙げられます。この機能は、抗体に代わる新たな分子標的治療薬の開発にも利用されています。特定の構造を形成するRNAが、ウイルスの感染や複製に重要な役割を担うタンパク質に強く結合できれば、その機能を抑制できると考えられます。そこで本研究では、SARS-CoV-2の複製を担うRNA依存性RNAポリメラーゼ(RdRp)を標的とし、RdRpに相互作用し得るRNAを選別しました。そのために本研究では、私たちが開発した、RNAキャッチャー微粒子群(R-CAMPs)と呼ばれる、個々の微粒子が個別のRNA配列を固定化した数百万種類の微粒子群を用いました。具体的には、SARS-CoV-2が感染すると重症化を引き起こす可能性のある肺組織に由来する細胞から精製したRNAを用いてR-CAMPsを調整しました。そして、蛍光標識したSARS-CoV-2のRdRpと混合し、RdRpが相互作用するRNAを固定化している微粒子の選別を行いました(図1A)。その結果、RdRpによるRNAの合成反応を抑制できるRNAを複数種類獲得することに成功しました。さらに、抑制効果を示したRNAの配列を解析したところ、グアニン塩基が豊富な配列を有していることが確認されました。そして、この配列がグアニン四重らせん構造を形成することでRdRpの働きを抑えていることが見出されました(図1B)。また、最も抑制効果が高かったRNAは、ラミニンと呼ばれるタンパク質をコードした領域のうち、DNAからRNAが作られた後に切り出される、不要な部分(イントロン)に存在していることが分かりました。本研究の成果は、これまで不要と思われていたRNA領域に、特定の構造を形成してタンパク質と相互作用し、さらにはその機能を調節する多元機能を備えたRNAが存在している可能性を示していると考えています。現在、A03班とも連携し、RNAに化学修飾を施すタンパク質なども用いて、特定のRNA構造に結合するタンパク質の相互作用相手を細胞内在性のRNAから選別する研究も進めています。

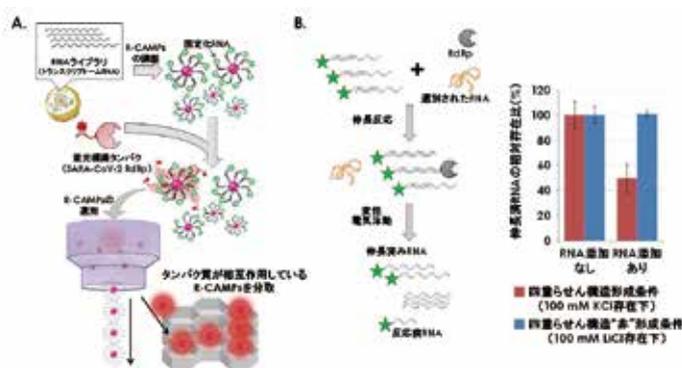


図1: R-CAMPsを用いたRdRpに相互作用するRNAの選別手法(A)、および選別されたRNAによるRdRp活性の抑制効果の評価結果(B)。選別されたRNAは、グアニン四重らせん構造が形成される100 mM KCl存在下でRdRpによるRNA合成を抑制できる。



A01班

凌一葦 助教、奥田修二郎 教授

新潟大学医学部メディカルAIセンター
多元応答に関する核酸構造の情報科学解析

Unveiling microbiome profiles in human inner body fluids and tumor tissues with pancreatic or biliary tract cancer

Shujiro Okuda, Yuki Hirose, Hayato Takihara, Akiko Okuda, Yiwei Ling, Yosuke Tajima, Yoshifumi Shimada, Hiroshi Ichikawa, Kazuyasu Takizawa, Jun Sakata, Toshifumi Wakai
Scientific Reports, 12, 8766 (2022)

癌という疾患はDNAに異常が蓄積することで発症することが一般には信じられています。紫外線や喫煙などDNAに異常を生じさせる原因にさらされることで癌という病気が始まります。しかしながら、近年、癌の組織内部に細菌が共生していること、さらに、その共生している細菌が癌の発症や抗癌剤の抵抗性に関与している可能性が示されてきています。すでにイスラエルの研究グループは、あらゆる固形癌組織の内部に細菌が共生していること(D. Nejman, et al. *Science* 2020,368:973-980)を示しており、私達のグループでも大腸癌組織内部に共生する細菌叢について癌の原因になりうる特徴を報告してきました(S. Okuda, Y. Ling, et al. *Comput Struct Biotechnol J* 2021,19:3330-3338)。では、この癌組織の内部に共生する細菌はどこからやって来たのか、という問いに答えるのは現時点では非常に難しい問題です。そこで、私達は新潟大学病院の外科学分野の先生方との共同研究で、膵臓癌や胆道癌の患者から癌の組織検体に加えて、唾液、胃液、膵液、胆汁、便汁等の体液成分を取得し、それぞれのサンプル内から得られる細菌叢のDNA解析を実施しました。癌組織内部に見つかる細菌は、種や属すら決めることが出来ないような未知の細菌が圧倒的に多いことがわかりました(図1)。また、癌組織内の細菌叢のパターンは、便汁や膵液と比較的によく似ていることもわかりました。しかしながら、それぞれの体液中の環境が特殊であり、癌組織内部に共生する細菌の由来を明確にするには至りませんでした。今回の研究で使われた癌組織の内部に共生する細菌は、一般に知られているような種が非常に少なく、そもそも解析が困難であることが判明したことから、今後は、これらの細菌DNAを網羅的に取得し、ゲノム構造の解析が必要であることを実感しました。

我々の研究分野であるバイオインフォマティクスは、上記のような大量のDNA配列の解析等、大規模で手作業ではできないような規模のものを計算機で扱う分野になります。学術変革領域研究においては、多種多様な生物のゲノム配列中に見いだされるG4構造の予測やそのデータの解釈のためのデータベース構築など、大規模なDNA配列を利用したデータ解析を実施します。我々バイオインフォマティクスが得意とする情報解析から、多元応答のメカニズムの一端を解明できればと考えています。

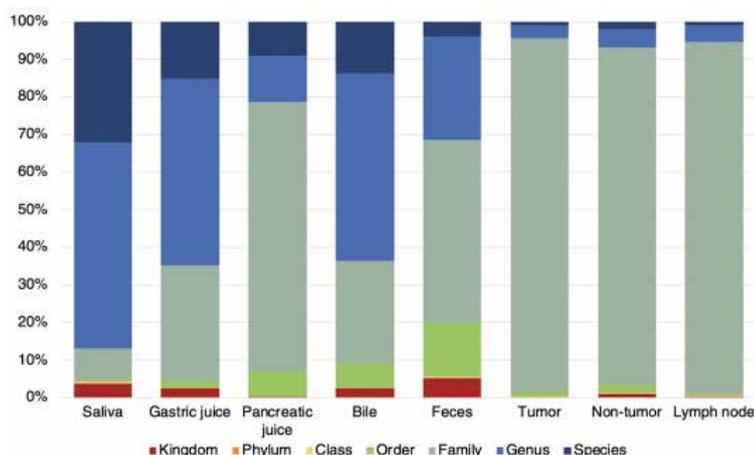


図1:各体液・癌組織における系統分類のカバー率。



A02班

建石 寿枝 准教授

甲南大学 先端生命工学研究所 (FIBER)

細胞内環境評価系を用いた多元応答機構の解明と多元応答ゲノムバンクの開発

High-temperature adaptation of an OsNRT2.3 allele is thermoregulated by small RNAs

Yong Zhang, Hisae Tateishi-Karimata, Tamaki Endoh, Qiongli Jin, Kexin Li, Xiaoru Fan, Yingjun Ma, Limin Gao, Haiyan Lu, Zhiye Wang, Art E. Cho, Xuefeng Yao, Chunming Liu, Naoki Sugimoto, Shiwei Guo, Xiangdong Fu, Qirong Shen, Guohua Xu, Luis Rafael Herrera-Estrella, Xiaorong Fan, *Science Advances*, 8, eadc9785 (2022) など

本領域研究では、様々な生物種において核酸の多元応答機構を解明する研究を行っています。これまで私たちはこれまで、核酸の構造が周辺環境によって大きく変化することを見出し、このような構造変化が生命現象に及ぼす影響について解析をしてきました。例えば、ヒトのがん遺伝子などにおいては、転写のプロモーターのDNAの構造が二重らせんから四重らせん構造に変化する、またはノンコーディングRNA(ncRNA)が二重らせんに結合し、三重らせん構造が形成されると転写が阻害されることが明らかになっています(H. Tateishi-Karimata and N. Sugimoto, *Nucleic Acids Res*, 49, 7839 (2021))(図1A)。試験管内の実験において、温度の変化に顕著に反応して核酸が構造を解離・形成させることが知られています。しかし、ヒトの体温は、ほぼ一定に保たれているため核酸構造の変化は温度以外の因子(ncRNAなどの核酸、イオン濃度、pHの変化など)が核酸の構造に及ぼす影響を解析する研究が世界的に行われています。

本研究では、植物が外界温度の変動によって大きく生育を変化させることに注目し、温度に依存した核酸の構造変化が、個体の生育に及ぼす影響を解析しました。

気候変動による干ばつと熱ストレスの発生は、植物の成長に関与する窒素(N)の吸収と利用効率に深刻な影響を及ぼします。特に、イネ(*Oryza sativa*)においては、夜間の温度が生育過程と収穫量に大きな影響を与えることが知られています。本研究では、イネのゲノム解析および遺伝子の発現解析により、イネの生長に関与する遺伝子(高親和性硝酸イオントランスポーター-OsNRT2.3)は、3つの主要な対立遺伝子4)(HTNE-1, HTNE-2, HTNE-3)をもつことが示されました。また、HTNE-2をもつ品種は、夜間の温度が高い場合でも、窒素利用効率と収穫量を低下させないことが明らかになりました。OsNRT2.3の遺伝子から転写されるmRNA(OsNRT2.3aおよびOsNRT2.3b)の転写量を解析した結果、高温で生育されたイネはOsNRT2.3aおよびOsNRT2.3bの転写レベルが低下していることが示されました。さらに、これらのmRNAに結合する小さなncRNA(sNRT2.3-1およびsNRT2.3-2)を新規に発見し、ncRNAによってOsNRT2.3の発現が制御され、イネの生育に影響していることも見出しました。興味深いことに、これらの小さなncRNAは、周辺の温度依存的に自身の構造を変化させ、mRNAへの結合を制御していることが示されました(図1B)。

これまで、ncRNAによるタンパク質の生産制御の機構は、mRNAとncRNAの塩基配列に依存した親和性が重要視されてきました。一方で本研究では、ncRNAの構造に依存した親和性の変化によってタンパク質の生産が制御されるという新しい知見が得られました。この結果は、窒素利用効率や収穫量に大きな影響を与えるOsNRT2.3の発現に対する複雑な制御機構を明らかにし、高温下でも収穫量の高いイネの育種に関して、新しい指針を与えることが期待されます。現在は、A01班の情報解析を基に、A03班と協力してイネ以外の植物に関する多元応答機能を解析しています。

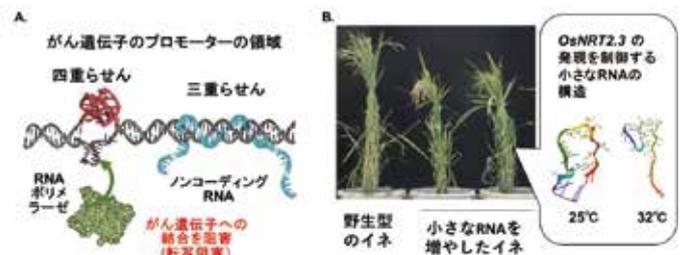


図1:核酸の多元応答による遺伝子発現の制御。(A)ヒト細胞内における核酸構造変化による転写制御、(B)イネの小さなncRNAの構造によって制御されるOsNRT2.3の発現変化がイネの生長に及ぼす影響。

(本研究は、甲南大学先端生命工学研究所(FIBER)の杉本直己所長・教授、中国南京農業大学のXiaorong Fan(范晓荣)教授らの研究グループと共同で実施されました。)



A02班

松本 咲 特任助教

甲南大学 先端生命工学研究所
核酸の非二重らせん構造の定量的解析

DNA methylation is regulated by both the stability and topology of G-quadruplex
Saki Matsumoto, Hisae Tateishi-Karimata, Naoki Sugimoto
Chemical Communications, 58, 12459-12462 (2022)

本領域では、核酸の非二重らせん構造に制御されるゲノムの多面的な発現制御機構を解明することを目的としています。本研究では核酸の非二重らせん構造が遺伝子発現制御機構の1つであるDNAのメチル化に及ぼす影響について系統的に調べました。

DNAのメチルは、遺伝子発現の制御を通じて、発生、分化、細胞特性の維持に重要な役割を果たしています。ヒトでは、メチル化が起こるCpGアイランドでは、加齢に伴いメチル化が進行しやすいことや、がんなどの細胞でメチル化していることが報告されていますが、これらのメチル化制御機構は未だ明らかになっていません。

CpGアイランドはグアニン(G)とシトシン(C)に富む配列を持ち、グアニン四重らせん(G4)やiモチーフのような非標準構造を形成します。G4の形成は、複製、転写、翻訳などの制御を通じて、遺伝子発現やゲノムの安定性を制御していることが明らかになっています。DNAメチル化も核酸を基質とする生体反応であることから、DNA上のG4形成によって制御されている可能性があります(図1a)。しかし、G4の形成がメチル化に及ぼす影響についての定量的かつ系統的な知見は未だ乏しいのが現状です。DNAメチル化はがんや老化などにも寄与するため、G4の安定性とトポロジーの観点からG4によるメチル化の制御機構を解明することは、がんや老化関連疾患の治療戦略の開発の促進にも繋がります。

本研究では、G4の形成がメチル化に及ぼす影響について系統的に検討しました。様々な熱安定性とトポロジーのG4形成配列を持つDNAを基質としてメチル化反応を行いました。その結果、基質DNAが安定なG4を形成するほど、メチル化効率の低下が観測されました(図1b)。さらに、メチル化反応はG4の安定性だけでなく、G4のトポロジーによっても制御されることが明らかになりました。 $-\Delta G^{\circ}_{37}$ の値(37°Cでの安定性)が5.96 kcal mol⁻¹のハイブリッドG4は69.1%のメチル化阻害を示しましたが、同様の安定性($-\Delta G^{\circ}_{37} = 5.95$ kcal mol⁻¹)を持つアンチパラレルG4は46.1%の阻害を示しました(図1b)。これは、トポロジーによってG4のアンフォールディングプロセスが異なることが原因であると推察されます。G4は周辺環境の変化によってその安定性やトポロジーを変化させることから、本研究成果により細胞内環境変化にตอบสนองして変化するG4の安定性及びトポロジーがメチル化を制御していることが示唆されました。本研究成果は、細胞内を模倣した環境下における核酸の構造や機能を予測するための重要な知見を提供するものであると考えられます。今後、この知見を活かし、本領域の目的である、ゲノム塩基配列から、遺伝子発現を制御する配列を予測するDiR-GBの構築を進めていく予定です。

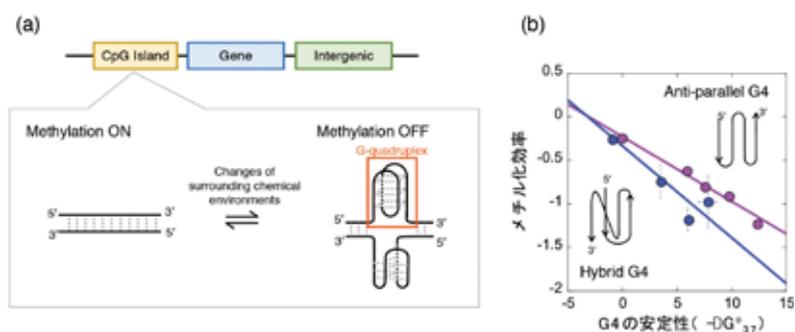


図1: CpGアイランドに形成したグアニン四重らせん構造によりメチル化反応が制御される可能性を示す概略図



A02 班

鶴岡 孝章 准教授

甲南大学フロンティアサイエンス学部

MOF微細空間内における核酸分子の安定性評価

Two-dimensional metal-organic framework-based cellular scaffolds with high protein adsorption, retention, and replenishment capabilities

Tokitaka Katayama, Shintaro Tanaka, Takaaki Tsuruoka, Koji Nagahama

ACS Appl. Mater. Interfaces, 14, 34443-34454 (2022)

金属有機構造体(MOF)は、高い比表面積と大きな細孔容積をもつことから分子貯蔵・分離などへの応用展開が期待されている多孔性物質です。近年では、細孔内に薬剤を担持させることも可能であることからドラッグデリバリーシステムにおけるキャリアとしての研究も行われています。基本的には低分子の内包をターゲットとした研究が多いなか、タンパク質などの高分子もMOFに吸着することが報告されており、MOFが細胞培養における足場として機能することが示唆されています。しかし、MOFを二次元上に展開する研究は少なく、細胞培養における二次元足場としての研究は皆無です。そこで本研究では、既に我々が報告してきた高分子基板上でのMOF薄膜作製技術を利用し、MOF薄膜におけるタンパク質吸着・保持・補充能を評価するとともに、細胞培養を試みました。

作製したMOF薄膜[fMIL-53(Al)]を用いて、FBSタンパク質の吸着・保持・補充能を評価したところ、従来の細胞培養基材と比較して、高い血清タンパク質吸着・保持・補充能を示しました。MOF薄膜に吸着したタンパク質の活性が保持されていることを確認するため、モデルタンパク質としてβ-ガラクトシダーゼを吸着させ、酵素活性を調べた結果、溶液分散したβ-ガラクトシダーゼより酵素活性は低下するものの、酵素活性を保持しており、タンパク質が吸着過程において変性していないことが明らかとなりました。この結果をもとに、fMIL-53(Al)上にてマウス筋芽細胞(C2C12)の培養を試みました。fMIL-53(Al)上で培養したC2C12の生存率は100%であり、MIL-53(Al)の細胞適合性が示されました。また興味深いことに、血清タンパク質をあらかじめ吸着させたfMIL-53(Al)上でもC2C12細胞の培養が可能であり、血清タンパク質を含まない培地においても長期的に優れた接着性、形態、増殖を示すことが分かりました。従来の細胞培養基材では、安定した細胞接着と増殖を保持するために血清含有培地を必要とすることからfMIL-53(Al)が細胞培養基材として有用であることを示しています。MOFの細胞培養基材としての応用は本報告が初めてであり、新たな細胞培養システム構築に向けて有用な知見になると考えています。現在、A02班内にて他の生体分子(DNAや植物ホルモンなど)の吸着・脱着評価を行い、MOF微細空間内や表面に存在する生体分子の構造安定性や活性評価を進めています。

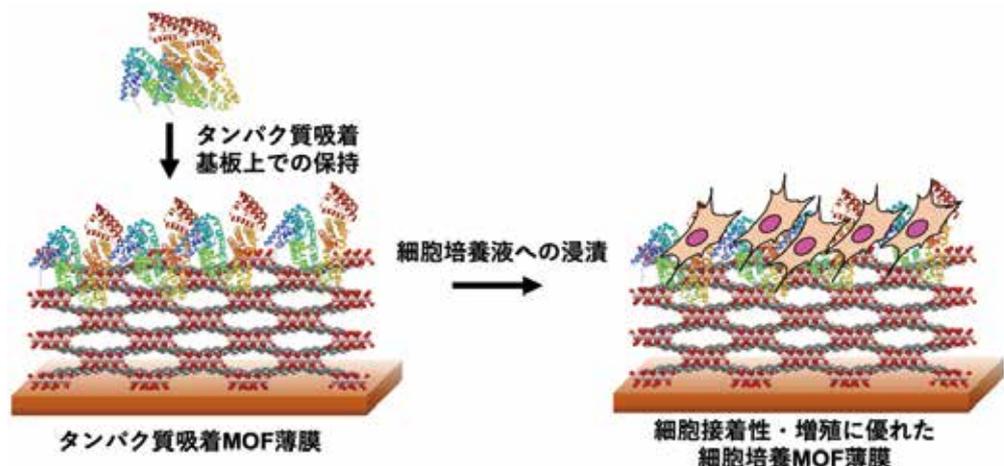


図:MOF薄膜上での細胞培養システムの模式図

グアニン四重鎖構造を介したRNAアデノシンメチル化



A03班

今西 未来 准教授

京都大学化学研究所
細胞内での核酸高次構造の役割の解明

Recognition of G-quadruplex RNA by a crucial RNA methyltransferase component, METTL14
Atsuhiro Yoshida, Takanori Oyoshi, Akiyo Suda, Shiroh Futaki, Miki Imanishi
Nucleic Acids Research, 50, 449-457 (2022)

N6-メチルアデノシン(m6A)は、メッセンジャーRNAに最も多く存在する修飾塩基であり、RNAの安定性や局在、スプライシングや翻訳など様々なRNA代謝に関わり、発生や分化、がん化、体内時計の制御やウイルスの生活環など種々の生命現象に影響を与えることが明らかになってきました。m6A修飾は、METTL3/METTL14ヘテロダイマーとその相互作用タンパク質からなるm6A writer複合体によって触媒されます。また、脱メチル化酵素FTOおよびALKBH5によってもアデノシンのメチル化状態は制御されます。m6Aは様々な転写産物の5'-RRACH-3'(R=G/A, H=A/C/U)配列中に存在しますが、このコンセンサス配列のうち実際にメチル化されているのはごく一部です。この理由として、ごく最近、エキソジャンクション複合体によるメチル化の分布制御の重要性が相次いで報告されました(Yang, et al., Nat. Commun. (2022) 13, 7904; Uzonyi, et al., Mol. Cell (2023) 83, 1; He, et al., Science (2023) DOI: 10.1126/science.abj909)。一方、METTL3/METTL14ヘテロダイマーとその相互作用タンパク質を介したメチル化制御や、RNAメチル化酵素自体のRNAとの相互作用もエピトランスクリプトーム形成に寄与していると考えられます。そこで本研究では、METTL3/METTL14ヘテロダイマー自身のRNA結合特性を明らかにすることを目的としました。バイオインフォマティクス解析により、ウイルス(ZIKVやHIV)のゲノムRNAにおいて、m6Aがグアニンに富んだ配列によって形成される非標準な四重鎖構造であるG-quadruplex(rG4)を形成するRNA配列近傍に存在することが指摘されています。そこで、METTL3/METTL14ヘテロダイマーのRNA結合特性、特にMETTL14のRNA結合ドメインであるアルギニン-グリシン-グリシン(RGG)反復配列のrG4に対するRNA結合特異性に関する検討を行いました。

その結果、rG4構造を安定化するカリウムイオン存在下で、METTL14はRGG反復配列領域を介してG4 RNAに高い親和性で結合することが明らかになりました。また、m6A感受性RNA切断酵素MazFを用いたin vitroにおけるRNAメチル化解析から、夾雑RNAが過剰に存在する条件においても、METTL3/14はG4 RNAを特異的にメチル化しました。これらの結果は、RNAのG4構造がアデノシンメチル化部位の決定に関わっていることを示唆するものであり、エピトランスクリプトーム制御におけるrG4の新たな知見を提供するものだと考えています(図1)。今後、細胞内におけるrG4とRNAメチル化および脱メチル化との関連性を明らかにしていきたいと考えています。また現在、A01班と連携し、このメチル化酵素が相互作用する細胞内由来のRNA配列の選別および、メチル化との関連性のバイオインフォマティクス解析を進めています。

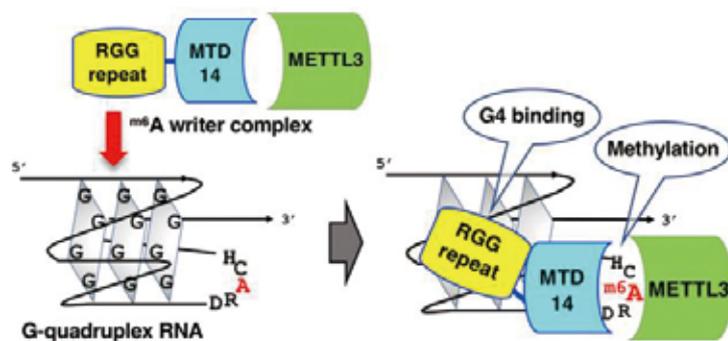


図1:グアニン四重鎖構造は、メチル基転移酵素複合体中のMETTL14を介してエピトランスクリプトーム制御に関与する



A03班

安喜 史織 助教

奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域
植物におけるG4構造の役割およびストレス応答性の解析R2R3-MYB transcription factor GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1 mediates the cytokinin signal to achieve proper organ development in *Marchantia polymorpha*

Shiori S Aki, Tomoyo Morimoto, Taiki Ohnishi, Ayumi Oda, Hiroataka Kato, Kimitsune Ishizaki, Ryuichi Nishihama, Takayuki Kohchi, Masaaki Umeda

Scientific Reports, 12, 21123 (2022)

サイトカニンは植物の細胞分裂、器官形成、老化などを制御する植物ホルモンであり、リン酸リレーにより情報伝達されます。苔類ゼニゴケは陸上植物進化の基部に位置するという点で近年注目されていますが、ゼニゴケにおけるサイトカニンの生理的役割は不明でした。私達はこれまでに、サイトカニン不活化酵素MpCKXの過剰発現株やサイトカニン応答を統御する転写因子MpRRBのノックアウト株、サイトカニン情報伝達を抑制するMpRRAの過剰発現株をもちいた表現型解析により、サイトカニンが無性生殖器官である杯状体の形成を促進する一方で、個体の支持を担う仮根の形成を阻害するなど、ゼニゴケの主体である葉状体の様々な器官形成を制御することを明らかにしてきました。ゼニゴケは葉状体先端のくぼみ(ノッチ)に幹細胞を1つ有しており、個体を構成するすべての細胞は幹細胞から生まれる4つの系譜(背側、腹側、両側方)に由来します。したがって、サイトカニンの変異体で見られた器官形成の異常は、ノッチにおいてサイトカニンが正常に機能できなくなった結果であると考えられます。MpRRBはノッチ付近で発現しており、また、MpCKXの過剰発現株のノッチ付近を詳細に観察したところ、幹細胞から腹側方向に数細胞進んだところで起こる杯状体原基の形成が行われていないことが明らかになったことから、サイトカニンはゼニゴケにおいて幹細胞由来の前駆細胞の増殖あるいは分化を制御することで、新規の器官形成に重要な役割を担っていることが示唆されました。しかしながら、サイトカニンがどのように器官形成を制御するのか、その分子メカニズムは不明でした。

そこで本研究では、サイトカニンによる杯状体形成の促進に着目し、MpRRBの下流因子の探索を行いました。その結果、R2R3型MYB転写因子であるGEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1(MpGCAM1)を同定しました。MpGCAM1とMpRRAの二重変異体では、MpRRAの欠損によりサイトカニンシグナルが上昇しているにもかかわらず、杯状体形成が見られませんでした。このことから、MpGCAM1はサイトカニンシグナルの下流で機能することが示唆されました。MpGCAM1の誘導型過剰発現株は未分化な細胞塊を形成しますが、これは野生株、MpRRBのノックアウト株の両方で観察されました。しかしながら、MpGCAM1の誘導を止めた後に形成される葉状体のサイズがMpRRBのノックアウト株背景では野生株よりも小さく、これらの結果から、サイトカニンシグナルがMpGCAM1を介して杯状体の形成と細胞のリプログラミングを促進する一方で、葉状体の発達中に細胞分裂を促進することが明らかになりました(図1)。これは、植物が陸上進化した際にはすでにサイトカニンが細胞分裂制御の一旦を担っていたという、重要な知見だといえます。今後、DNA高次構造と植物ホルモン、植物進化との関係についても検討していきたいと考えています。

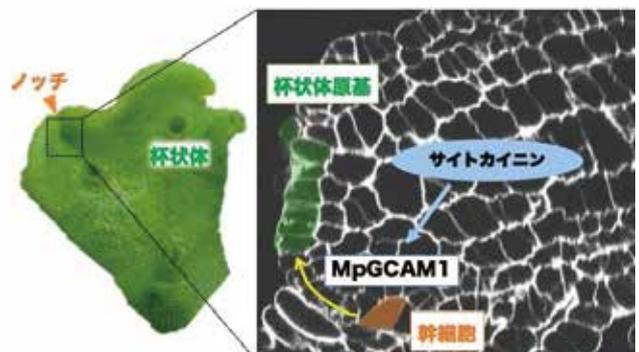


図1: サイトカニンシグナルはMpGCAM1を介して杯状体の形成を促進する

■ 領域会議

2022年4月15日に 甲南大学ポートアイランドキャンパスとオンライン(Zoom)のハイブリッド形式にて、第3回領域会議を開催しました。本会議には領域研究メンバーを含む7名が参加しました。領域研究の進捗、特に様々な生物種における四重らせん構造の配列解析に関する研究の進捗を共有しました。非常に熱く活発な意見交換が行われ有意義な会議となりました。



これまでは、感染拡大防止対策のため、オンラインで打ち合わせをしていました。今回は、何名かの先生とは対面でお会いすることができ、よりスムーズに打ち合わせをすることができたと思います。多様な生物種のゲノム上のG-四重らせん構造を解析する上で、どのような比較が最適かなど課題がたくさん見つかりましたが、領域内でディスカッションして研究を進めていきたいと思っています。(建石)

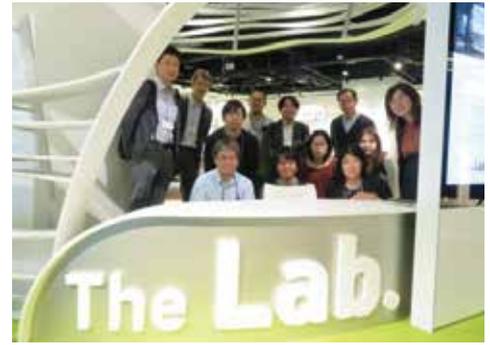
2022年6月24日にAP大阪茶屋町 とオンライン(Zoom)のハイブリッド形式にて第4回領域会議を開催しました。本会議には領域研究メンバー7名が参加しました。会議では、各班研究の進捗状況や領域内の最新研究について発表し、今後の研究に関する打合せを行いました。核酸化学、情報科学、植物科学など専門分野が異なるメンバーが多様な視点から意見を交換し、非常に熱いディスカッションが続きました。領域研究メンバー間の連携を深め、大変有益な会議となりました。



今回は、班員それぞれが、研究の進捗をプレゼンする形式で領域会議を行い、よい意見交換ができました。開催場所は、大阪梅田の会議室で行いました。この領域の研究以外の特徴としては、“お母さん”が多いことですので、アクセスのよい会場を選びました。(建石)

■ 学術変革領域研究(B)「多元応答ゲノム」「糖化学ノックイン」 領域横断小規模研究会

2022年10月17-18日に「糖化学ノックイン」領域(生長幸之助 領域代表)との領域横断研究会をグランフロント大阪および大阪市中央公会堂で開催しました。「多元応答ゲノム」領域からは7名、「糖化学ノックイン」領域からは5名が参加しました。まず、両領域代表が領域の紹介を行い、その後、参加者全員が2日間にわたり、研究発表を行いました。お互いの研究を知ってもらい、共同研究の可能性を探るという目的を持って、交流を深めました。研究会は深夜にまでおよび、活発な議論が繰り広げられました。また、領域内の共同研究の進捗状況や計画についても深く議論できる機会となりました。



同時期に採択された学術変革領域研究(B)の研究グループとの初めての交流会を開催しました。参加者全員が自身の研究について講演し、すべての講演に対して、質疑応答が繰り返され、白熱したディスカッションをすることができました。参加者それぞれの領域研究への意気込み、今後の展望を聞くことができ、大変、楽しい時間を過ごすことができました。改めて、私たちの領域研究を開始できたことに感謝し、熱意をもって研究を遂行しようと思えました。(建石)

■ 第95回日本生化学会大会シンポジウム 「非二重らせん核酸の多元機能」

2022年11月10日に、第95回日本生化学会大会(名古屋国際会議場)において、学術変革領域研究(B)「多元応答ゲノム」共催シンポジウム「非二重らせん核酸の多元機能」を開催しました。領域内からは各班の代表が、領域外からは関連する分野で精力的な研究を進めておられる3名がシンポジストとして発表を行いました。分子レベルでの物理化学から生体レベルでの病態学まで、幅広い分野から核酸構造の多元機能を議論するシンポジウムとなりました。



講演者

- ・建石 寿枝(甲南大学先端生命工学研究所(FIBER))
「生物種を超えた多元応答機構の解明を目指した核酸構造の解析」
- ・長門石 暁(東京大学医科学研究所)
「生命分子に対する多元機能解明のための物理化学的相互作用解析」
- ・遠藤 玉樹(甲南大学先端生命工学研究所(FIBER))
「環境応答性を示す非二重らせん核酸構造のスクリーニング法の構築」
- ・大吉 崇文(静岡大学創造科学技術大学院)
「グアニン四重鎖結合タンパク質によるエピジェネティクス制御機構」
- ・今西 未来(京都大学化学研究所)
「グアニン四重鎖RNAのエピトランスクリプトーム制御への関与」

日本生化学会 第95回日本生化学会大会シンポジウム 非二重らせん核酸構造の多元機能	
Introduction	生物種を超えた多元応答機構の解明を目指した核酸構造の解析 建石 寿枝(甲南大学先端生命工学研究所(FIBER))
知る	生命分子に対する多元機能解明のための物理化学的相互作用解析 長門石 暁(東京大学医科研, 医薬基盤研) 環境応答性を示す非二重らせん核酸構造のスクリーニング法の構築 遠藤 玉樹(甲南大学先端生命工学研究所(FIBER))
制する	グアニン四重鎖結合タンパク質によるエピジェネティクス制御機構 大吉 崇文(静岡大学グリーン科学技術研究所, 静岡大学創造科学技術大学院) グアニン四重鎖 RNAのエピトランスクリプトーム制御への関与 今西 未来(京都大学化学研究所)
示す	RNA 相転移に着目した神経変性疾患発症メカニズムの解明 矢吹 博(熊本大学発生病学研究所ゲノム神経学分野, 熊本大学薬学部)
Closing Remarks	

- ・矢吹 梯(熊本大学発生医学研究所)
「RNA相転移に着目した神経変性疾患発症メカニズムの解明」

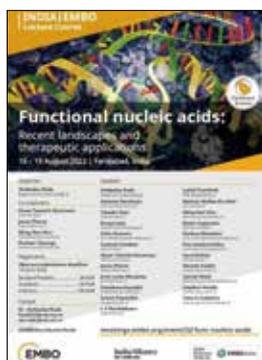


領域研究を知っていただくため、日本生化学会大会での「非二重らせん核酸の多元機能」として、シンポジウムを企画しました。今回は、非二重らせん構造の機能を「知る」ための研究、機能を「制す(制御する)」研究、生体内での非二重らせんの重要性を「示す」研究に関連する分野の先生を招聘し、領域メンバーと共に、講演を行いました。

招待講演等

2022/8/16-19

「INDIA-EMBO Lecture Course 'Functional nucleic acids」にてCo-organizersを務め、招待講演を行いました(A02班 建石)。



2022/9/26

大阪大学産業科学研究所が主催する「次世代有機化学セミナー」に招待され、「疾患細胞内における非二重らせん核酸の機能解析」に関する講演を行いました(A02班 建石)。

2022/10/17-19

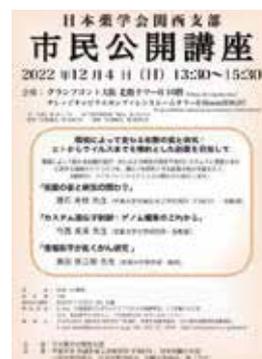
Ljubljana Castle, Sloveniaで開催された「Advances in Noncanonical Nucleic Acids 2022 "ANNA2022"」に招待され、「DNA methylation depending on stability and topology of G-quadruplex」に関する講演を行いました(A02班 松本、建石)。

2022/11/2

弘前大学大学院理工学研究科「生物有機化学特論」にて「RNAメチル化の検出と配列特異的制御」に関する講義を行いました(A03班 今西)。

2022/12/4

公益社団法人日本薬学会関西支部が主催する「市民公開講座」に領域研究メンバーが招待され講演を行いました(A01班 奥田、A02班 建石、A03班 今西)。「環境によって変わる核酸の姿と病気: ヒトからウイルスまでを標的とした創薬を目指して」というテーマのもと、環境によって変わる核酸の姿が、がんなどの病気の発症や進行にどのように関連するかに関する最新のトピックスを、遺伝子を標的とする創薬の視点を踏まえて、実験科学、バイオインフォマティクスの観点から紹介しました。



「市民公開講座」で講演させていただきました。一般の方や、日本薬学会関連の先生方にお越しいただき、貴重なご意見いただきました。

その他学会発表等(2022年3月~2023年2月)

【A02班】第14回日本女性科学者の会(SJWS)学術会議, 月生雅也, 李先民, Yemima Suryani Budirahardja, 鶴田充生, 橋本佳樹, 高宮渚, 木下菜月, 建石寿枝, 杉本直己, 三好大輔, 川内敬子, グアニン四重らせん構造による転移因子 LINE-1 の発現抑制, オンライン開催, 2022年12月4日

【A02班】第45回日本分子生物学会年会, 取井 猛流, 杉本 渉, 建石 寿枝, 木下 菜月, 鶴田 充生, 月生 雅也, 村嶋 貴之, 西方 敬人, 杉本 直己, 三好 大輔, 川内 敬子, 核小体LLPSにおけるrDNA由来G-quadruplexの役割, 幕張メッセ ※一部オンライン併用開催, 2022年11月30日~12月2日

【A02班】第45回日本分子生物学会年会, 川内 敬子, 取井 猛流, 谷口 慎也, 木下 菜月, 建石寿枝, 杉本 直己, 三好 大輔, 液-液相分子により形成されるグアニン四重らせん構造集合体の役割, 幕張メッセ ※一部オンライン併用開催, 2022年11月30日~12月2日

【A02班】第45回日本分子生物学会年会, 李 先民, 月生雅也, Budirahardja Yemima Suryani, 木下 菜月, 谷口 慎也, 橋本 佳樹, 建石 寿枝, 杉本 直己, 三好 大輔, 川内 敬子, グアニン四重らせん構造による転移因子LINE-1の発現制御, 幕張メッセ ※一部オンライン併用開催, 2022年11月30日~12月2日

【A02班】第45回日本分子生物学会年会, 鳥居 柊平, 後藤 俊志, 建石 寿枝, 杉本 直己, 西方 敬人, ホヤ卵の胚軸形成におけるRNAのG-quadruplex(G4)の局在, 幕張メッセ ※一部オンライン併用開催, 2022年11月30日~12月2日

【A02班】核酸化学若手フォーラム2022, 大山達也, 高橋俊太郎, 建石寿枝, 田中成典, 杉本直己, 分子シミュレーションを用いた高圧環境における核酸の安定性の解析, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022年11月5日

【A01班】第49回国際核酸化学シンポジウム, T. Endoh, J.-H. Tan, S.-B. Chen, N. Sugimoto, Fluorometric detection of multiple small molecules using orthogonal light-up signaling aptamers in cells, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022年11月2日~4日

【A02班】第49回国際核酸化学シンポジウム, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Quantitative analysis for G-quadruplex and i-motif formations in malignant cancers, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022年11月2日~4日

【A02班】第49回国際核酸化学シンポジウム, S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, The effect of stability and topology of G-quadruplex on DNA methylation, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2022年11月2日~4日

【A03班】第16回バイオ関連化学シンポジウム, 今西未来, 吉田敦裕, 大吉崇文, 二木史朗, グアニン四重鎖構造を介したRNAアデノシンメチル化, 名古屋大学東山キャンパス, 2022年9月10日~12日

【A01班】第16回バイオ関連化学シンポジウム, 遠藤玉樹, Sagar Satpathi, 杉本直己, RNAシュードノット構造の安定性予測のための最近接塩基対モデルの検証, 名古屋大学東山キャンパス, 2022年9月10日~12日

【A02班】第16回バイオ関連化学シンポジウム, 松本咲, 建石寿枝, 杉本直己, グアニン四重らせん構造の安定性とトポロジーによるDNAメチル化制御, 名古屋大学東山キャンパス, 2022年9月10日~12日

【A02班】第16回バイオ関連化学シンポジウム, 建石 寿枝, 大山達也, 田中成典, 杉本 直己, 神経変性疾患に関わるリピートRNAとペプチドの相互作用解析, (ハイブリッド(12日のみオンライン)), 2022年9月10日~12日

【A02班】India/EMBO Lecture Course: Functional nucleic acids: Recent landscapes and therapeutic applications, H. Tateishi-Karimata, N. Sugimoto, Functions of nucleic acids regulated by the intracellular molecular environments, Regional Centre for Biotechnology, India, 2022年8月16日~19日(招待講演)

【A02班】日本核酸医薬学会第7回年会, 建石寿枝, 松本咲, 大山達也, Ye Teng, 田中成典, 杉本直己, 核酸構造の定量的解析を基にしたC9orf72由来のリピートRNAとペプチドの相互作用制御法の開発, 御茶ノ水ソラシティカンファレンスセンター, 2022年7月31日~8月3日

【A01班】日本化学会第102回春季年会, T. Endoh, Jia-Heng Tan, Shuo-Bin Chen, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (75): Development of RNA-ligand pairs for multicolor RNA imaging in cells, (オンライン開催), 2022年3月23日~26日

【A02班】日本化学会第102回春季年会, S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (74): Effect of DNA modifications on the transition between canonical and non-canonical DNA structures in CpG island, (オンライン開催), 2022年3月23日~26日

【A02班】日本化学会第102回春季年会, H. Tateishi-Karimata, K. Kawauchi, T. Ohyama, H. Masaki, A. Natsume, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (73): Effect of G-quadruplex stability change on transcriptional repression in cancer cells, (オンライン開催), 2022年3月23日~26日

【A01班・A02班】日本化学会第102回春季年会, S. Satpathi, T. Endoh, Y. Chen, S. Matsumoto, T. Ohyama, P. Podbevšek, J. Plavec, K. Onizuka, F. Nagatsugi, N. Sugimoto, Nucleic Acids Chemistry beyond the Watson-Crick Double Helix (76) : Structure-based Derivatization of Berberine to Improve the Potency for Targeting RNA Structures, (オンライン開催), 2022年3月23日~26日

展示会等

【A01班】イノベーションストリームKANSAI 6.0 (主催:うめきた未来イノベーション機構(U-FINO)), 遠藤玉樹 2023年2月21日~2月22日, グランフロント大阪北館

【A02班】関西9私大~環境・エネルギー、ライフサイエンス~新技術説明会(主催:科学技術振興機構)、建石寿枝 2023年3月2日、オンライン開催

原著論文・総説

【A01班】 Endogenous G-quadruplex-forming RNAs inhibit the activity of SARS-CoV-2 RNA polymerase, T. Endoh, S. Takahashi, and N. Sugimoto, *Chem. Commun.*, 59, 872-875 (2023)

【A01班】 Cladogenetic orthogonal light-up aptamers for simultaneous detection of multiple small molecules in cells, T. Endoh, J-H. Tan, S-B. Chen, and N. Sugimoto, *Anal. Chem.*, 95, 976-985 (2023)

【A03班】 R2R3-MYB transcription factor GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1 mediates the cytokinin signal to achieve proper organ development in *Marchantia polymorpha*, S. S. Aki, T. Morimoto, T. Ohnishi, A. Oda, H. Kato, K. Ishizaki, R. Nishihama, T. Kohchi, and M. Umeda, *Sci. Rep.*, 12, 21123 (2022)

【A01班・A02班】 High-temperature adaptation of an *OsNRT2.3* allele is thermoregulated by small RNAs, Y. Zhang, H. Tateishi-Karimata, T. Endoh, Q. Jin, K. Li, X. Fan, Y. Ma, L. Gao, H. Lu, Z. Wang, A. E. Cho, X. Yao, C. Liu, N. Sugimoto, S. Guo, X. Fu, Q. Shen, G. Xu, L. R. Herrera-Estrella, X. Fan, *Sci. Adv.*, 8, eadc9785 (2022)

【A02班】 DNA methylation is regulated by both the stability and topology of G-quadruplex, S. Matsumoto, H. Tateishi-Karimata, and N. Sugimoto, *Chem. Commun.*, 58, 12459-12462 (2022)

【A03班】 Mechanisms and strategies for determining m6A RNA modification sites by natural and engineered m6A effector proteins, M. Imanishi, *Chem. Asian J.*, 17, e202200367 (2022)

【A01班】 Unveiling microbiome profiles in human inner body fluids and tumor tissues with pancreatic or biliary tract cancer, S. Okuda, Y. Hirose, H. Takihara, A. Okuda, Y. Ling, Y. Tajima, Y. Shimada, H. Ichikawa, K. Takizawa, J. Sakata, T. Wakai, *Sci. Rep.*, 12, 8766 (2022)

【A01班】 Applicability of nearest-neighbour model for pseudoknot RNAs, S. Satpathi, T. Endoh, and N. Sugimoto, *Chem. Commun.*, 58, 5952-5955 (2022)

【A02班】 Rational and site-selective formation of coordination polymer consisting of d10 coinage metal ions with thiolate ligands using metal ion-doped polymer substrate, T. Tsuruoka, Y. Miyashita, R. Yoshino, M. Fukuoka, S. Hirao, Y. Takashima, A. Demessence, and K. Akamatsu, *RSC Adv.*, 12, 3716-3720 (2022)

【A02班】 Exploration of structural transition phenomenon in flexible metal-organic framework formed on polymer substrate, S. Hirao, R. Hamagami, T. Ohhashi, K. Eguchi, N. Kubo, Y. Takashima, K. Akamatsu, T. Tsuruoka, *CrystEngComm*, 23, 8498-8505 (2021)

今後の活動予定

Schedule

- 領域会議 (3月)
- 中間報告会 (春頃)
- 公開講演会 (2月、秋頃)
- 学会でのシンポジウム (企画中)
- 研究成果とりまとめシンポジウム (年度末)

編集後記

2022年度、コロナの波は浮き沈みがありましたが、本領域の研究は少々の波には動じない程度に共同研究体制が整ってきています。生化学会との共催でのシンポジウムも開催することができ、関連の研究分野で活躍されている先生方に「多元応答ゲノム」を宣伝する良い機会になりました。2022年のノーベル生理学医学賞はスバンテ・ペーボ教授が受賞しました。本領域では、生物種の枠組みを越えて「多元応答ゲノム」という分子機構が存在していると想定して研究を進めています。現生人類と古代人類、そこに違いを生み出す「多元応答ゲノム」が果たしてあるのか、興味をそそられつつ受賞ニュースを聞いていました(遠藤)。