

研究プロジェクト

生命活動を生体高分子への修飾から俯瞰する

Research Project:

Overlook of biological phenomena from various kinds of modifications to biopolymers such as proteins and DNAs.

1. 研究計画

実施期間： 2014～2016 年度（第 2 年次）

Term of the Project: 2014-2016 fiscal years (2<sup>nd</sup> year)

研究代表者： 岩井 一宏 京都大学大学院医学研究科教授

Project Leader: Dr. Kazuhiro IWAI,

Professor, Department of Molecular and Cellular Physiology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

研究目的要旨：

タンパク質、DNA、脂質などの生体高分子はいつも一様な機能を発現しているのではなく、修飾（化学修飾）によって機能が調節されている。それぞれの修飾による生体高分子の機能制御は関連する生命現象の研究者コミュニティ内のみで議論されていることがほとんどである。修飾する因子、様式には多様性があり、その違いによって機能制御メカニズムが異なる。しかし、生化学的な視点から見れば、種々の修飾には相違点だけでなく、多くの共通点も存在している。そこで本研究では、生体高分子の修飾に関与する研究者を一堂に会し、修飾の特徴、役割の観点から多様な生命現象の制御機構について議論して、生命科学に新たな視点を提供することを目指す。

Objectives:

Biopolymers including proteins, DNA and lipids are major functional molecules in our body. However, they do not always exhibit uniform functions but their functions are regulated by chemical modifications such as phosphorylation. Various chemical modifications of biopolymers are reported. However, roles of those modifications are often discussed among scientists who study biological phenomena related to the specific modifications. There exist diverse modifiers and mode of modifications. And the type of modifications determines the modes of regulation of functions of modified molecules. However, at the same time, those modifications share several common characteristics. In this research project, scientists who study multi-discipline biological phenomena related to modifications discuss regulatory mechanisms of many biological phenomena from the characteristics and roles of “chemical modifications” and try to provide new perspectives for biological sciences.

研究目的：

【研究の背景】

生物を構成する細胞は種々の化学物質から構成されている。なかでも、核酸、タンパク質、脂質、糖鎖などの生体高分子は特有の機能を持ち、生命活動に必須の役割を担っている。しかし、それらの生体高分子は絶えず様な機能を発現しているのではない。たとえば、遺伝情報を含むゲノム DNA の塩基配列は原則的にそれぞれの個体を構成する全ての細胞において同一であるが、多細胞生物では細胞種に応じて発現する遺伝子、すなわち DNA から読み取られる情報は異なっている。特定の細胞で遺伝情報が読み取られるゲノム DNA の領域を規定しているのは DNA やそれを取り巻くヒストンの修飾（ヒストンコード）であり、それらの修飾による遺伝子発現制御はエピジェネティック制御と呼ばれている。種々のサイズ、形を形成して多彩な機能を果たしている生体の主たる機能分子であるタンパク質も、存在すればいつも同じ機能を発揮しているのではなく、修飾を受けることで状況に応じて機能を変換して多彩な生命現象を惹起する。エネルギー貯蔵源、膜の構成成分である脂質も、修飾を受けることでタンパク質の膜へのリクルートを誘導するなど、生体高分子の修飾が生命現象の制御系として広く機能していることはよく知られている。

一概に修飾と言っても、修飾因子の種類、修飾様式は非常に多様である。低分子で電荷を持つリン酸、タンパク質であるユビキチンなどの多様な修飾因子が存在しているのに加え、修飾因子がモノマーで結合するだけでなく、修飾因子のポリマーが結合する場合がある。また、修飾している時間も DNA のメチル化に代表される様に長く持続する場合や、タンパク質への種々の修飾など短時間のみ修飾される場合もある。多くの修飾は可逆的であるが、コラーゲンのリジン残基のヒドロキシル化や tRNA の塩基の修飾など不可逆的な修飾も存在する。生物に多彩な修飾が存在するのは、多様な生命現象を制御するためには多様性が必要なためであろうと考えられている。

#### 【研究の方向性と意義・方針】

これまで、生体高分子への修飾は関連する生命現象の研究者コミュニティ内でのみ議論されていることがほとんどであった。DNA のメチル化やヒストンのアセチル化、メチル化などはエピジェネティック制御の研究者間でその制御メカニズムの一部として議論されていることが非常に多い。また、タンパク質のリン酸化はシグナル伝達研究の枠組みの中で、タンパク質のユビキチン化は発見の経緯もありタンパク質分解系の研究者のコミュニティ内で議論されてきた。

しかし、修飾から生命現象を観察すると異なった視点から現象を理解できる。例えば、ユビキチンのポリマーであるポリユビキチン修飾がタンパク質分解のシグナルとして機能していることはよく知られている。このユビキチン依存性タンパク質分解系では分解シグナルとなるタイプのポリユビキチン修飾を受けたタンパク質は全て、分解酵素であるプロテアソームに識別されて分解される。ではなぜ、リン酸化ではなく、ポリユビキチン修飾が分解シグナルとして機能するのであろうか？おそらく、タンパク質であるユビキチンはモノマーでも修飾因子としてサイズが大きだけでなく、分解シグナルとなるポリユビキチン鎖はユビキチンのポリマーであり、修飾因子としては非常に大きい。それゆえ、どのタンパク質に結合した場合でも、ポリユビキチン鎖はそれのみでプロテアソームの識別シグナルとして機能できるぐらいに十分に大きいので、修飾されたタンパク質を漏れなく分解に導くシグナルとして最適の修飾であるからであろう。すなわち、制御対象となる生命現象に応じて、それに適した修飾因子、修飾様式が選択されていると考えられる。言い換えれば、修飾の役割が未知な場合には、修飾の特徴から制御している生命現象を類推できる可能性も想定できる。

そこで、本研究では修飾の視点から多彩な生命現象を俯瞰することで、生命科学に新たな視点を提供することを目指す。そのために、プロジェクトメンバーは専門を問わず、生体高分子に対する修飾が関与する種々の生命現象、種々の生体高分子の修飾、修飾による生体高分子の機能変換機構、種々の修飾の同定などの研究に従事している広範な分野の研究者から構成する。そして、修飾因子の種類、修飾様式、修飾される生体高分子の種類視点から話題を持ち寄り、なぜその修飾因子が対象となる生命現象の制御系として選択されているのか、なぜ対象となる生命現象を制御するためにはその修飾様式が必要なの

か、などを議論する。それらの議論を通して、生体高分子の修飾の生命現象の制御における役割を明確とし、生体高分子の時空間的制御様式と生命現象との関連を明確とすることを目指す。本研究によって、未だ制御する生命現象が解明されていない修飾の機能の解明に繋がる知見が蓄積されると考えられる。また、難治疾患の治療法の開発などを目指した、新規の人為的な生体高分子の制御方法の開発に繋がる可能性も想定される。

キーワード (日本語) : 修飾、DNA、タンパク質、脂質、糖鎖、構造変化、分子間相互作用

Key Word (英語) : modification, DNA, protein, lipid, sugar, conformational change, inter-molecular interaction

#### 研究計画・方法 :

本研究ではまず、修飾が関与する生命現象と、修飾がその生命現象の制御系として果たす役割や、修飾が生体高分子の機能を変換する分子基盤について参加研究者、話題提供者が話題を提示する。それらの話題を多様な研究者が修飾の視点から議論し、生命現象の制御における修飾の役割を構造的、機能的、細胞生物学的などから多角的に理解する。加えて、生体高分子の機能変換異常が関与する疾患などを情報収集し、修飾による人為的な分子機能変換の応用に関して模索する。以下に現在計画している年度別研究目標を記載する。

#### 2014年度

種々の生命現象における修飾の役割について議論する。また、修飾による分子機能変換の構造的基盤、修飾因子の多様性についても議論する。

生体内にはリン酸、ユビキチン以外にも多種類の修飾因子が存在している。メチル基、アセチル基などリン酸以外にも多くの低分子性の修飾因子も存在しているのに加え、修飾される分子であるタンパク質、脂質、糖鎖などの生体高分子やヌクレオチド誘導體も修飾因子となっていることも知られている。また、近年では代謝経路の低分子（コハク酸など）も修飾因子となることなども報告されている。また、修飾による分子機能変換機構も多様である。修飾によって分子表面の構造変化が生じ、他の分子との分子間相互作用を惹起する場合や、修飾因子が修飾した生体高分子と相互作用して修飾された分子のコンフォメーションを変化させる場合も知られている。タンパク質分解のシグナルとなるポリユビキチン鎖のように修飾因子のみが識別シグナルとなる場合や、修飾因子と修飾部位の周辺領域が分子間相互作用する分子表面になる場合など、修飾によって生じる変化は多様であることが知られているので、それらを多様な視点から議論する。

#### 2015年度

同一の修飾が多様な生命現象の制御系に利用可能な分子メカニズム、種々の修飾が階層的に協調して特定の生命現象の制御に関与できるメカニズム、修飾の検出系、修飾酵素系の同定法などについて議論し、修飾が織りなす生体制御メカニズムの包括的な理解を進める。また、生体高分子の機能変換異常が関与する疾患などについて議論する。

#### 2016年度

生体高分子の修飾による生命現象の制御メカニズムについて統合的な概念の提唱を目指すとともに、新規の人為的な生体高分子の制御の方法論について提唱を目指す。

参加研究者リスト：13名（◎研究代表者）

氏名	所属	職名	専門分野
◎ 岩井 一宏	京都大学大学院医学研究科	教授	ユビキチン修飾系
五十嵐 和彦	東北大学大学院医学系研究科	教授	エピジェネティック制御
石濱 泰	京都大学大学院薬学研究科	教授	修飾プロテオミクス
稲田 利文	東北大学大学院薬学研究科	教授	RNA 制御
大隅 良典	東京工業大学フロンティア研究機構	特任教授	ユビキチン様修飾系 オートファジー
木下 タロウ	大阪大学免疫学フロンティア研究センター	教授	糖鎖修飾
白川 昌宏	京都大学大学院工学研究科	教授	修飾因子の構造生物学
鈴木 聡	九州大学生体防御医学研究所	教授	脂質修飾
田中 啓二	(公財) 東京都医学総合研究所	所長	ユビキチン-プロテアソーム
仲野 徹	大阪大学大学院生命機能研究科	教授	脂質修飾
西田 栄介	京都大学大学院生命科学研究科	教授	リン酸化によるシグナル伝達 制御
山本 雅	沖縄科学技術大学院大学	教授	リン酸化による生体機能制御
吉田 稔	理化学研究所吉田化学遺伝学研究室	主任研究員	タンパク質の翻訳後修飾

**2015年度 研究計画・方法：**

2014年度で主要な生体高分子の修飾とその現況を把握すること、修飾の観点から生命現象制御を再検討することで修飾の種類と意義の理解を進めることを踏まえ、2015年度には以下の研究計画の推進を目指す。

1. 同一の修飾が多様な生命現象の制御系に利用可能な分子メカニズム、種々の修飾が階層的に協調して特定の生命現象の制御に関与できるメカニズム、修飾の検出系、修飾酵素系の同定法などについて議論し、修飾が織りなす生体制御メカニズムの包括的な理解を進める。
2. 修飾によって新規機能を付与させる可能性について考察する。
3. 生体高分子の機能変換異常に関与する疾患などについて議論する。

上記の項目を推進するために、質量分析、構造生物学などを用いてユニークな視点で生体高分子の修飾を解析している研究者を話題提供者に招へいして議論を進める。また、「修飾がどのように生命現象を制御するか？」についての理解を深めるために、修飾に関与する生命現象制御に関して世界レベルの研究を推進している研究者を招へいする。さらに、生体高分子に人為的に修飾を加え、新たな機能を付与させるような試みを推進している研究者、疾患研究者を話題提供者として招へいすることも計画する。これらの計画を推進することで、生体高分子の修飾を制御、創成することで生命現象を制御する方法を模索する。

2015年度研究活動予定：

① 研究会開催予定：

第1回： 2015年8または9月頃 1泊2日（於 高等研）20名程度

第2回： 2016年2月頃 1泊2日（於 高等研）20名程度

②話題提供予定者：10名

第1回、第2回ともに5名の招へいを予定しております。ただし、招へい研究者の詳細は未定です。

## 2.研究活動実績

タンパク質、DNA、脂質などの生体高分子はいつも一様な機能を発現しているのではなく、修飾（化学修飾）によって機能が調節されている。それぞれの修飾による生体高分子の機能制御は関連する生命現象の研究者コミュニティ内のみで議論されていることがほとんどである。修飾する因子、様式には多様性があり、その違いによって機能制御メカニズムが異なる。しかし、生化学的な視点から見れば、種々の修飾には相違点だけではなく、多くの共通点も存在している。そこで本研究では、生体高分子の修飾に関与する研究者を一堂に会し、修飾の特徴、役割の観点から多様な生命現象の制御機構について議論して、生命科学に新たな視点を提供することを目指している。

### 1. 研究プロジェクト状況

2014年度は「なぜ、ある生命機能の制御には、ある特定の修飾が適しているのか？」との基本的な疑問に迫るべく、種々の生命現象における修飾の役割について議論している。加えて、修飾による分子機能変換の構造的基盤、修飾因子の多様性についても議論している。2014年9月9～10日に2014年度第1回研究会を開催した。佐々木雄彦（秋田大・医）を話題提供者に招へいし、プロジェクトメンバーからの発表も加えて計6件の発表があり、タンパク質、RNA、脂質への修飾、種々の修飾の検出法、修飾による構造機能変換などを討議した。何れの話題提供も当初設定した発表討議時間を大幅に超過して、白熱した議論が行われた。

2014年度第2回研究会は2015年2月10～11日開催予定である。第1回研究会の総合討論を踏まえ、長谷耕二（慶應大・薬）、キムミンス（東大・医科研）、斎藤通紀（京大・医）、鈴木匡（理研）を話題提供者として招へいし、病原微生物による宿主のタンパク質修飾機構を利用した感染戦略、生殖系列におけるエピゲノム修飾、タンパク質の糖鎖修飾等について討議し、それらを踏まえて次年度の研究方針を最終決定する予定である。

### 2. 研究実績

第1回研究会では、ヒストンのメチル化修飾、タンパク質のユビキチン修飾、質量分析による網羅的な修飾検出方法とその現状、脂質修飾による生命現象制御、RNAの修飾、RNA品質管理におけるRNA、タンパク質修飾の役割などについて討議した。それらの討議のうちでユビキチン修飾の意義についての討議を簡単に紹介したい。

修飾による機能変換機構の分子基盤は修飾によって新たな分子構造が形成され、その構造を特異的なタンパク質に認識されることで修飾された分子の機能を変換できることである。リン酸化をはじめとした種々の修飾因子はサイズが小さいために修飾因子とその修飾部位の周囲の構造を統合して認識される場合がほとんどである。それゆえ、リン酸化の場合には修飾部位がタンパク質機能変換様式に大きな影響を与える。一方、ユビキチンはタンパク質性の翻訳後修飾因子であり、他の修飾因子と比べてサイズが大きい。しかも、ユビキチンはほとんどの場合、ユビキチンのポリマーであるポリユビキチン鎖としてタンパク質を修飾してその機能を変換している。ユビキチンはタンパク質に結合していない場合には原則的にモノマーで存在しているので、ユビキチンのモノマーがタンパク質に修飾した場合は遊離のユビキチンとタンパク質に結合したユビキチンの識別は容易ではない。しかし、主たるタンパク質への修飾様式であるポリユビキチン鎖はモノユビキチンとは異なった構造を有するので、容易にモノユビキチンと区別できる。すなわち、サイズ、特異性の観点から鑑れば、ユビキチン修飾は修飾因子だけを認識することによって修飾されたタンパク質の機能変換を導くことが可能である。ポリユビキチン鎖が分解シグナルとして機能できるのは、修飾したタンパク質の種類に関わらず、また修飾部位に拘わらず、ポリユビキチン鎖だけで結合タンパク質が特異的に認識されるためである。ユビキチンモノマーは非常

に安定なタンパク質で96℃でも変性しない。しかし、ユビキチンはポリマー化すれば不安定化し易凝集性になる。すなわち、ユビキチンのポリマー化はユビキチンの修飾因子としての優位性の大きな特徴であるが、逆に欠点でもある。実際、ユビキチンはタンパク質凝集塊に集積している。凝集したタンパク質をプロテアソームで処理することができない。それゆえ、ポリユビキチン鎖は選択的なオートファジーのシグナルとして機能し、プロテアソームでは処理できない凝集塊をオートファジー経路で処理することを可能にしている。細胞内に多種存在するポリユビキチン鎖はそれぞれのユビキチン鎖に特異的なユビキチン結合タンパク質(UBD)に認識されて機能を発現する。ユビキチン鎖の不安定性を鑑みれば、UBDはポリユビキチン鎖が形成されれば変性する前に結合してその情報をデコードすると考えられる。UBDのポリユビキチン鎖への結合がポリユビキチン鎖の安定化に寄与するか否か、興味が持たれる。

第1回研究会ではすべての話題提供終了後に総合討議を行った。その結果、第2回研究会では修飾に関連しつつ種々の生命現象の解析を進めている研究者を招聘して、「修飾がどのような様式で生命現象の制御に関与しているのか？」を中心に討議を進めるのに加え、まだ討議していない糖鎖修飾等の役割に関しても討議をして、2015年の活動方向を決定するとの研究方針が打ち出された。また、本研究プロジェクトでは取り扱っている研究内容を鑑み、今後の研究会ではそれぞれの話題提供に十分な発表・討議時間を配分することで同意を得た。

2014年度第2回研究会終了後にも総合討論を行い、次年度以降の研究方針を討議する予定である。

## 2014年度：

### 研究会開催実績：

第1回 2014年9月9日～9月10日（於：高等研）

第2回 2015年2月10日～2月11日（於：高等研）

### 話題提供者：5名

斎藤 通紀	京都大学大学院医学研究科教授
佐々木 雄彦	秋田大学大学院医学系研究科教授
鈴木 匡	理化学研究所グローバル研究クラスターマックスプラットフォーム研究所連携 研究センターシステム糖鎖代謝学研究チームチームリーダー
長谷 耕二	慶應義塾大学大学院薬学研究科教授
きむ みんす 金 玫秀	東京大学医科学研究所特任准教授

### その他参加者：2名

清水 覚司	京都大学大学院医学研究科博士課程2年
山本 林	東京工業大学フロンティア研究機構特任助教

### オブザーバー：1名

山尾 文明	国際高等研究所所長補佐
-------	-------------

国際高等研究所 研究プロジェクト  
「生命活動を生体高分子への修飾から俯瞰する」  
2014年度第1回（通算第1回）研究会プログラム

日 時：2014年 9月 9日（火） 13：00～17：50  
9月10日（水） 9：15～12：30

場 所：国際高等研究所 セミナー1号室（1F）

出席者：（12人）

研究代表者	*	岩井 一宏	京都大学大学院医学研究科教授
参加研究者	*	五十嵐 和彦	東北大学大学院医学系研究科教授
	*	石濱 泰	京都大学大学院薬学研究科教授
	*	稲田 利文	東北大学大学院薬学研究科教授
		大隅 良典	東京工業大学フロンティア研究機構特任教授
		木下 タロウ	大阪大学免疫学フロンティア研究センター教授
	*	白川 昌宏	京都大学大学院工学研究科教授
		鈴木 聡	九州大学生体防御医学研究所教授
		西田 栄介	京都大学大学院生命科学研究科教授
		山本 雅	沖縄科学技術大学院大学教授

\*：スピーカー

話題提供者（ゲストスピーカー）

佐々木 雄彦 秋田大学大学院医学系研究科教授

その他参加者 山尾 文明 国際高等研究所所長補佐

プログラム

9月9日

13:00～13:30

「本プロジェクトの狙いと概要」

岩井 一宏 (京都大学・大学院医学研究科)

13:30～14:00

「プロジェクトの全容に関して意見交換」

14:00～14:45

「ユビキチン修飾系が制御する生命現象はなぜユビキチン修飾系で制御されているのか？」

岩井 一宏 (京都大学・大学院医学研究科)

14:45～15:30

「核内メチル化反応における地産地消機構」

五十嵐 和彦 (東北大学・大学院医学系研究科)

15:30～16:00

コーヒーブレイク

16:00～16:45

「翻訳後修飾プロテオミクスの新展開」

石濱 泰 (京都大学・大学院薬学研究科)

16:45～17:30

「細胞膜リン脂質の修飾」

佐々木 雄彦 (秋田大学・大学院医学系研究科)

17:30～17:50

意見交換

18:00～20:30

懇親会



9月10日

9:15～10:00

「ユビキチン化による細胞内タンパク質の物理化学的排除」

白川 昌宏（京都大学・大学院工学研究科）

10:00～10:45

「リボソーム修飾による翻訳伸長複合体の運命決定機構」

稲田 利文（東北大学・大学院薬学研究科）

10:45～ 11時30分頃から昼食も配ります。

総合討論

お茶を飲みながら、第2回研究会以降で修飾から生命現象を語るには、どんな視点が必要か？提供すべき話題と適切な話題提供者は？メンバーに加えると良い若手人材の推薦などを議論する。

12:00～12:30頃 解散

国際高等研究所 研究プロジェクト  
「生命活動を生体高分子への修飾から俯瞰する」  
2014年度第2回(通算第2回)研究会プログラム

日時: 2015年 2月10日(火) 13:00~18:50  
2月11日(水) 9:00~13:00

場所: 国際高等研究所 セミナー1号室(1F)

出席者: (18人)

研究代表者	* 岩井 一宏	京都大学大学院医学研究科教授
参加研究者	五十嵐 和彦	東北大学大学院医学系研究科教授
	石濱 泰	京都大学大学院薬学研究科教授
	稲田 利文	東北大学大学院薬学研究科教授
	大隅 良典	東京工業大学フロンティア研究機構特任教授
	木下 タロウ	大阪大学免疫学フロンティア研究センター教授
	白川 昌宏	京都大学大学院工学研究科教授
	鈴木 聡	九州大学生体防御医学研究所教授
	* 仲野 徹	大阪大学大学院生命機能研究科教授
	山本 雅	沖縄科学技術大学院大学教授
	* 吉田 稔	理化学研究所吉田化学遺伝学研究室主任研究員

\*: スピーカー

話題提供者

齋藤 通紀	京都大学大学院医学研究科教授
鈴木 匡	理化学研究所 グローバル研究クラスター 理研-マックスプランク研究所連携研究センター システム糖鎖代謝学研究チーム チームリーダー
長谷 耕二	慶應義塾大学大学院薬学研究科教授
<small>きむ みんす</small> 金 玫秀	東京大学医科学研究所特任准教授

その他参加者

清水 覚司	京都大学大学院医学研究科博士課程2年
山本 林	東京工業大学フロンティア研究機構特任助教

オブザーバー 山尾 文明 国際高等研究所所長補佐

## プログラム

### 2月10日

13:00~13:10

「本プロジェクトの狙いと概要」

岩井 一宏 (京都大学大学院医学研究科教授)

13:10~14:30

「タンパク質リジン残基におけるアセチル化、アシル化、アルキル化修飾の生理的意義とその制御」

吉田 稔 (理化学研究所吉田化学遺伝学研究室主任研究員)

14:30~15:50

「小分子 RNA による遺伝子サイレンシングとエピジェネティック遺伝」

仲野 徹 (大阪大学大学院生命機能研究科教授)

15:50~16:10

コーヒーブレイク

16:10~17:30

「病原細菌がハイジャックする宿主ユビキチン修飾経路」

金玟秀 (東京大学医科学研究所特任准教授)

17:30~18:50

「腸内代謝環境による生命機能調節」

長谷 耕二 (慶應義塾大学大学院薬学研究科教授)

19:00~21:00

懇親会

### 2月11日

9:00~10:20

「生殖系列におけるエピゲノム修飾制御過程の試験管内再構成」

斎藤 通紀 (京都大学大学院医学研究科教授)

10:20~11:40

「タンパク質の糖鎖修飾-新しい代謝機構の発見とその生物学的重要性」

鈴木 匡 (理化学研究所 グローバル研究クラスター 理研-マックスプランク研究所連携研究センター システム糖鎖代謝学研究チームチームリーダー)

11:40~ 総合討論

昼食を食べながら、次年度以降の提供すべき話題と適切な話題提供者は？メンバーに加えると良い若手人材の推薦などを議論する。

12:30~13:00 頃 解散