

Grant-in-Aid for Transformative Research Areas (B)

SUPRAMOLECULAR BEHAVIOR AND
DYNAMIC CAPTURE OF



META- AGGREGATES

2023~2025年度

文部科学省科学研究費・学術変革領域研究 (B)

メタアグリゲートの
超分子挙動と
動的キャプチャー



アミロイド超分子化学研究の変革を目指します。

本領域の代表を務めます、村上一馬と申します。2023年4月から学術変革領域研究(B)「メタアグリゲートの超分子挙動と動的キャプチャー」が始まりました。

アミロイドの凝集は、試験管内では単量体構造に基づいた鋳型依存的なメカニズムで説明されます。しかし、生体環境では試験管内と異なり、共局在する他の生体分子と共凝集することが明らかになりつつあります。現在、神経変性疾患においてアミロイドの凝集体を標的とした創薬戦略に決定的な効果が出ていない一因として、これらの不一致が挙げられます。本領域では、毒性本体として存在する不均一な凝集体は準安定(メタステーブル)であることから、他の生体分子と共凝集することで超分子挙動を示すという新しい視点を取り入れ、これら超分子を「メタアグリゲート」と定義しました。特に、異種アミロイド、核酸、タンパク質とのそれぞれの相互作用を俯瞰視野(メタ視点)で解析することで、アミロイドの超分子化学研究に変革をもたらします。

私たちの最終的なゴールは、「世界初の神経変性疾患の根本治療」です。多くの方々に本領域を知っていただき、基礎から応用まで協働の輪を広げていきたいと考えています。特に、若い研究者の参画をお待ちしておりますので、人どうしも集まって是非一緒にメタアグリしましょう!



領域代表

村上一馬

京都大学 農学研究科

Advancing The Field of Amyloid Supramolecular Chemistry through Transformative Breakthroughs

Thanks so much for visiting our website. The research project "Supramolecular Behavior and Dynamic Capture of MetaAggregates" in Grant-in-Aid for Transformative Research Areas (B) began in April 2023.

In vitro, the aggregation of amyloids is explained by a template-dependent mechanism based on monomeric structures. However, in a biological environment, unlike in test tubes, it has become evident that they co-aggregate with other biomolecules present in the same location. One of the reasons why drug discovery strategies targeting amyloid aggregates in neurodegenerative diseases have not shown decisive effects is probably the varying discrepancy between these contrasting environments. In this study, therefore, we have defined these heterogeneous aggregates that exist as toxic entities and exhibit supramolecular behavior through co-aggregation with other biomolecules as "MetaAggregates." By analyzing the interactions with different amyloids, nucleic acids, and proteins from a panoramic perspective (MetaView) in particular, We hope that we can bring about a profound transformation in the supramolecular chemistry research of amyloids.

Our ultimate goal is the "fundamental treatment for neurodegenerative diseases," which would be a world first. We would like to spread significance and awareness of this research field to many people and expand the circle of collaboration from basic research to applications. We are especially looking forward to the broader participation of young scientific researchers worldwide, so let's gather together and join forces in MetaAggregate!



OVERVIEW



メタアグリゲートって何？

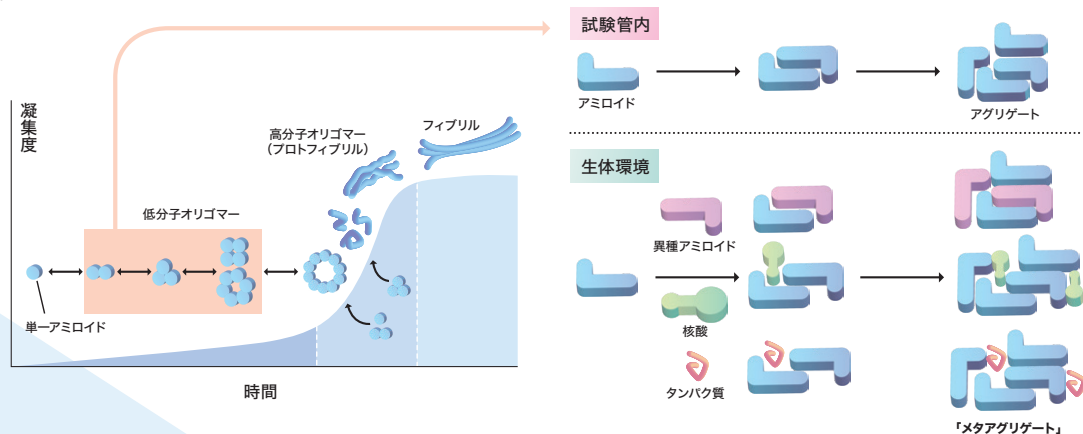
タンパク質は立体構造をとることによって生物学的な機能を示しますが、誤った立体構造をとると細胞内外で蓄積して不溶物(アミロイド凝集体)を形成し、様々な病気を引き起こします。1854年、アミロイドの発見はある一つの“誤解”から始まったとされています(諸説あり)。ドイツ人医師ウィルヒョーらは、ヒトの組織から取り出した沈着物がヨウ素デンプン反応を示したことから多糖類と考え、デンプンを意味するアミロイドと命名しました。現在では、このデンプンはアミロイドに付着していた物質だったとされ、アミロイドは凝集性の線維状タンパク質であると訂正されています。これまで50種以上のアミロイドが報告されており、特に脳に蓄積することで引き起こされる神経変性疾患はいずれも難治性であることから、超高齢社会の大きな課題になっています。

これはある観光地のある日の写真ですが、とても「混雑」しているように見えます。しかし、よく見ると家族連れ、修学旅行生、外国人、カップルなどそれぞれ属性が異なることから、正しくは「混淆」状態にあると言えます。正確には、「混雑」と「混淆」は意味が異なり、秩序がない混雑に対して、混淆には何らかの規則性が存在することを意味しています。この現象をアミロイドーシスに置き換えてみました。これまで試験管内ではアミロイド凝集は単一のアグリゲート形成によって説明されていましたが、in cellでは生体分子と共凝集したメタステーブルな混淆状態を、俯瞰的に眺めるメタ視野が今後のアミロイド疾患の統合理解に不可欠ではないかと考えました。そこで「メタアグリゲート」研究領域を立ち上げ、小目標としては共局在や生体分子凝縮による異種アミロイド、核酸、タンパク質とのメタアグリゲートの構造および動態を1分子レベルで明らかにします。大目標としては、生体物質3つの観点から新たな創薬リードの開発を目指します。



- 混雑** 事柄が雑然と混じる様子。無秩序。
- 混淆** 異なるものが入り混じる様子。規則がある。

これまでアミロイド解析法と言えば、福井大学の内木宏延博士(本領域アドバイザー)らが1980年代に開発したチオフラビンが世界的スタンダードでした。しかし、メタアグリゲートを特異的に解析(可視化)する手段がないのが現状の課題ですので、まず解析法から課題解決に取り組みます。高速原子間力顕微鏡(高速AFM)は1分子の構造と動態を同時に可視化できる強力な解析ツールです。本領域では、高速AFMを用いて、生体環境下でメタアグリゲートがどのような分子挙動を示すのか?(XY方向の伸展やZ方向の起伏形成等)という次代の研究課題にたどり着きました。高速AFM研究はわが国が世界を先導している分野の一つであり、今後もさらに研究速度を加速させて世界をリードし続けます。単一アミロイドからメタアグリゲートへと解析対象を拡大することは、様々な研究領域での研究フェーズの変革を訴求するものであり、新しい融合分野の創成などが期待されます。



混合型認知症における メタアグリゲート形成と毒性発現

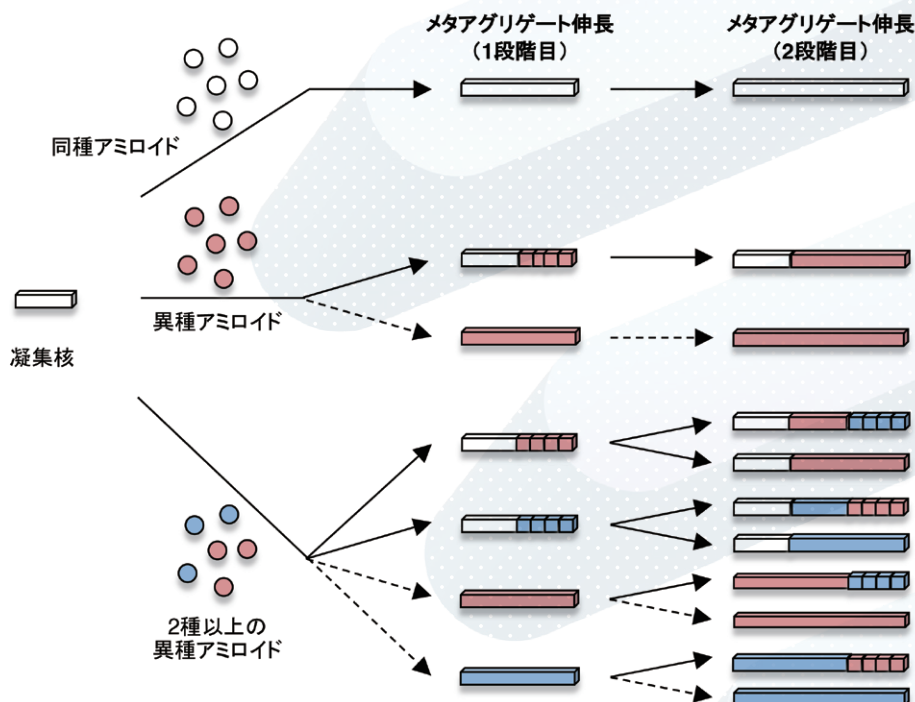
アミロイド病の中でも認知症に関わるアミロイドβ (Aβ)とtau、αシヌクレイン(αSyn)のメタアグリゲート形成機構の解明を目的とします。複数の組み合わせ(単独または2、3種)からなる共凝集体の凝集能(オリゴマー形成能を含む)と細胞毒性を評価します。特に、細胞環境におけるオリゴマー形成をPICUP(光化学架橋)法で調べ、高い活性を示したメタアグリゲートについては生体高速AFM解析に供します。またアルツハイマー病(AD)患者やパーキンソン病(PD)患者の生体試料存在下における、複数の組み合わせのメタアグリゲートの形成速度や形態観察を行うとともに、毒性発現との関連を調べることによって、真の毒性本体である病態メタアグリゲートの発見を目指します。最近、ADやPDなどの混合病理の存在と症状の多様性が注目されており、本研究成果は、神経変性疾患の新たなバイオマーカーの確立や疾患修飾療法の開発につながることを期待されます。



▶ 研究代表者
金沢大学医薬保健
研究域医学系
脳神経内科学
教授
小野 賢二郎
Kenjiro Ono



▶ 研究分担者
学校法人昭和大学
薬理科学研究センター
教授
辻 まゆみ
Mayumi Tsuji



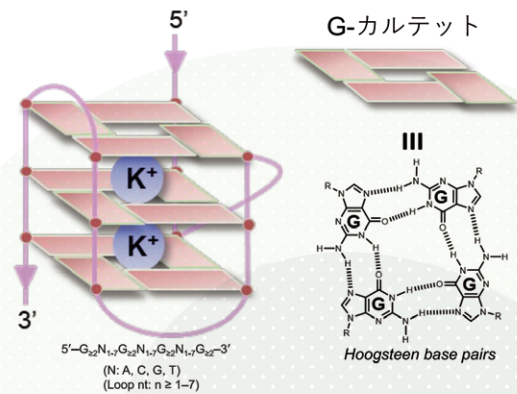
RNA相転移による メタアグリゲート形成と伝播

DNAは二重らせん構造、RNAは一本鎖というのが一般的な理解かと思いますが、実は細胞内においてDNA/RNAはそれぞれ多彩な高次構造をとり、生体機能調節に関与することがわかってきました。中でもグアニンが豊富な一本鎖DNA/RNAではグアニン四重鎖(G4)構造と呼ばれる核酸高次構造体が形成されます。私達の研究グループでは、これまでにグアニンリッチなリピート伸長病において形成されるRNAグアニン四重鎖(G4RNA)が疾患発症に寄与すること(Sci Adv. 2021. 7(3):eabd9440.)、細胞ストレス時に神経細胞で形成される液相顆粒にG4RNAが必須の役割を担っていること(Sci Adv. 2023. 9(8):eade2035.)を明らかにしました。また、最近ではパーキンソン病やアルツハイマー病などの神経変性疾患に関与するアミロイド形成のキーファクターがG4RNAであることを突きとめました(bioRxiv. 2023 & 論文投稿中)。本研究では、G4RNAを起点とした『G4メタアグリゲート』が神経変性疾患発症の中核であるという新しい概念と新規治療法の提唱を目指します。

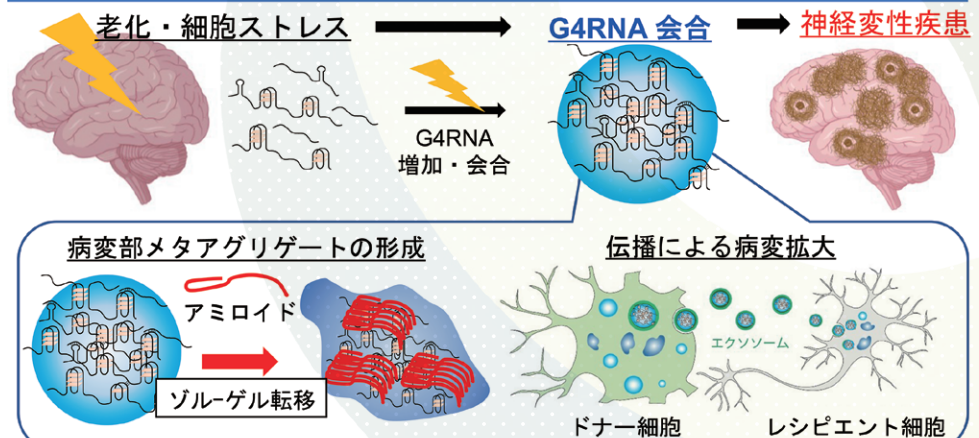


▶ 研究代表者
熊本大学
発生医学研究所
助教
矢吹 悌
Yasushi Yabuki

RNAグアニン四重鎖(G4RNA)の構造



アミロイドと核酸高次構造体『G4メタアグリゲート』の概要





分子進化法によるメタアグリゲートの網羅的探索と検証

新しいメタアグリゲートの発見を、A03班は目指します。メタアグリゲートの網羅的探索では、RNA結合タンパク質(RBP)を鍵分子とします。生理的条件下では、RBPは細胞質でRNAに結合することでタンパク質への翻訳調節を担いますが、何かを契機として凝集性を獲得すると神経変性を引き起こすのではないかと仮説を立てました。本研究では、RBPとの関連が指摘されている筋萎縮性側索硬化症(ALS)に着目して、生体内分子進化実験によってALS病因メタアグリゲートを網羅的に探索します。これまでに私たちは分子進化実験によって各種アミロイドに対する核酸アプタマーを開発してきたので、このノウハウを活用します。新しいメタアグリゲートの神経細胞毒性や形成機構を原子レベルで明らかにすることで、RBPを起点にした核酸生物化学に変革を起こします。



▶ 研究代表者
京都大学
農学研究科
准教授

村上 一馬
Kazuma Murakami



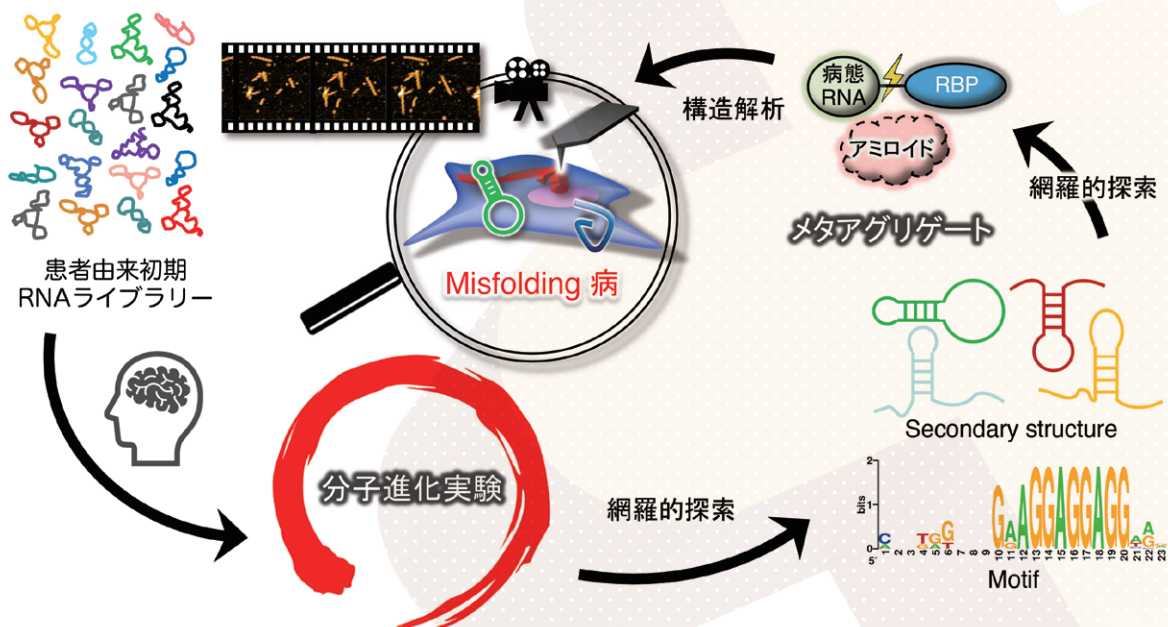
▶ 研究分担者
大阪大学蛋白質
研究所
計算生物学研究室
教授

水口 賢司
Kenji Mizuguchi



▶ 研究分担者
金沢大学附属病院
脳神経内科
助教

坂下 泰浩
Yasuhiro Sakashita



高速原子間力顕微鏡を用いた ナノ顕微観察の対象の バリアフリー化と応用

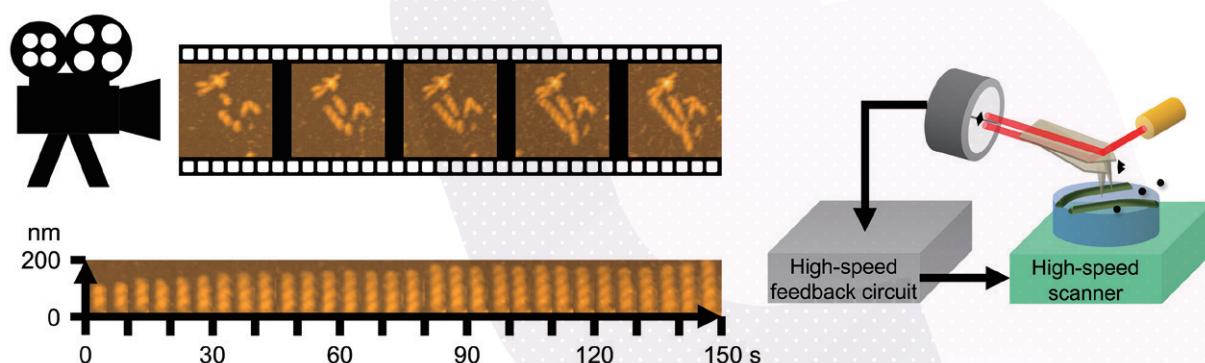
神

経変性疾患などに関連するアミロイドタンパクのメタアグリゲート形成過程は、多様な分子種が存在するため、その構造動態はボールに包まれたままです。他方、高速原子間力顕微鏡（高速AFM）の登場により、液中で観察視野内の生体高分子すべて、一分子レベルでその構造と経時変化をナノメートル空間分解能、サブ秒時間分解能で撮影できるようになりました。この高速AFMの特徴は、メタアグリゲート形成過程における1つ1つの凝集体の構造動態を明らかにすることです。本研究では、様々なアミロイドタンパクのメタアグリゲート形成過程を明らかにするとともに、メタアグリゲート形成に干渉する薬剤が各凝集分子種の構造動態に及ぼす影響を明らかにします。



▶ 研究代表者
金沢大学
ナノ生命科学研究所
准教授

中山 隆宏
Takahiro Nakayama



朽尾 豪人 (Hidehito Tochio)

京都大学 大学院理学研究科 生物科学専攻生物物理学教室 教授

藤本 豊士 (Toyoshi Fujimoto)

順天堂大学 大学院医学研究科 老人性疾患病態・治療研究センター 分子細胞学分野 特任教授

評価班

内木 宏延 (Hironobu Naiki)

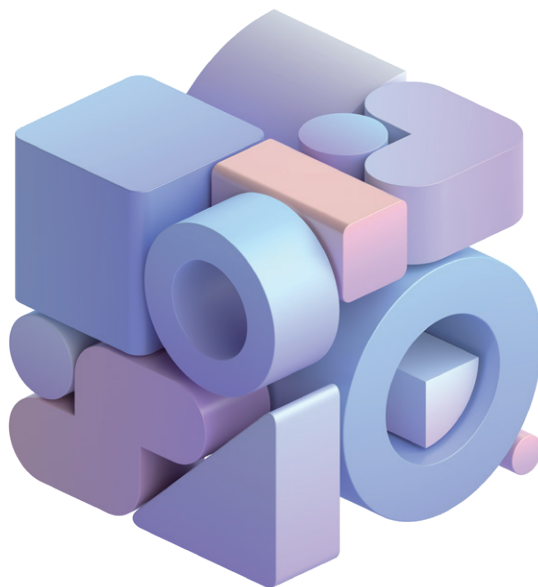
福井大学 学術研究院医学系部門 分子病理学分野 教授

David B. Teplow

Department of Neurology, David Geffen School of Medicine at UCLA Professor

Yuri L. Lyubchenko

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Nebraska Medical Center Professor



2023~2025年度 文部科学省科学研究費・学術変革領域研究 (B)

「メタアグリゲートの超分子挙動と動的キャプチャー」

領域代表者 村上一馬 京都大学農学研究科

〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

総括班事務局 metaaggregate@med.kanazawa-u.ac.jp

領域ホームページ

<https://www.metaaggregate.kais.kyoto-u.ac.jp/>

