



領域代表者	京都大学・理学研究科・助教	
	関山 直孝 (せきやま なおたか)	研究者番号:50758810
研究領域情報	領域番号: 22B308 キーワード: 液-液相分離、アミロイド線維化、溶液環境、神経変性疾患	研究期間: 2022年度~2024年度

なぜこの研究を行おうと思ったのか (研究の背景・目的)

●研究の全体像

相分離とは、水に浮く油のように2つの物質が混ざり合わず2相に分かれてしまう現象のことである。近年、この相分離現象が細胞の中でも起こっていることが明らかとなってきた。液-液相分離と呼ばれるこの現象は、特定の立体構造を持たない天然変性タンパク質が自己凝縮し、液体の性質をもつ凝縮体 (膜なしオルガネラ) を形成する現象である。さらに、この液-液相分離は、神経変性疾患と関連のあるアミロイド線維化にも関係があることが明らかになりつつあり、生物学や医学の分野から注目されている。しかし、これらタンパク質の自己凝縮過程を何がどのように制御しているのかについては不明な点が多かった。

ところが最近、生体内の溶液環境がタンパク質の自己凝縮過程に影響を及ぼすことが示唆されてきた。本領域では、化学的・物理的な状態が時間や場所によって変動する動的溶液環境に着目し、(1)自己凝縮過程を制御する動的溶液環境の候補因子の同定、(2)膜なしオルガネラやアミロイド線維化の原子モデルの構築を行い、動的溶液環境が天然変性タンパク質の自己凝縮過程を制御する機構の解明を目指す。(図1)

●研究の背景

我々生物は食事により栄養素を摂取し、運動によりそれらを消費する。このような生命活動の中で、例えば血糖値は3~9mMの間で変動し、さらに糖からつくられるアデニン三リン酸 (ATP) も細胞内で5~10mMと変動する。アミノ酸や代謝物など他の化学物質も同様に大きく変動する。また生物の生命活動の中には、血流や神経細胞の電場など物理的な摂動も存在する。すなわち、生体内は化学的・物理的な状態が時間や場所によって変動する動的な溶液環境と言える (図2)。興味深いことに、近年この動的溶液環境を、天然変性タンパク質と呼ばれる柔軟な構造を持つタンパク質が感知・応答していることがわかってきた。

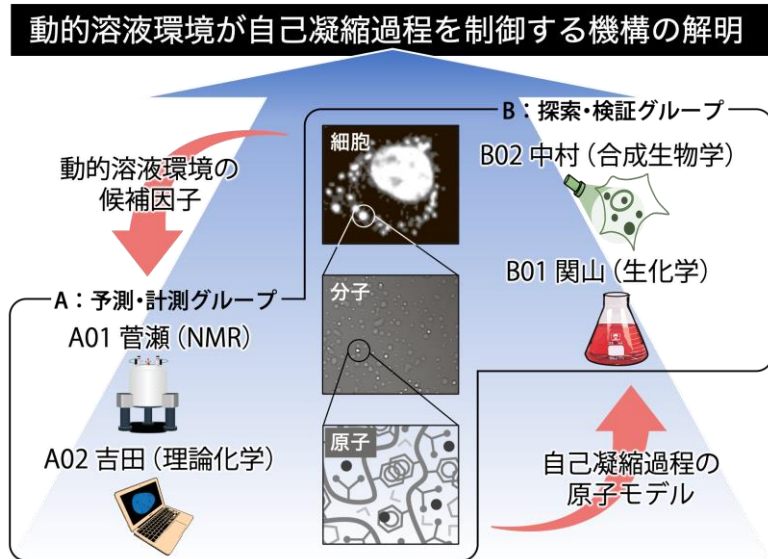


図1 本領域の全体像

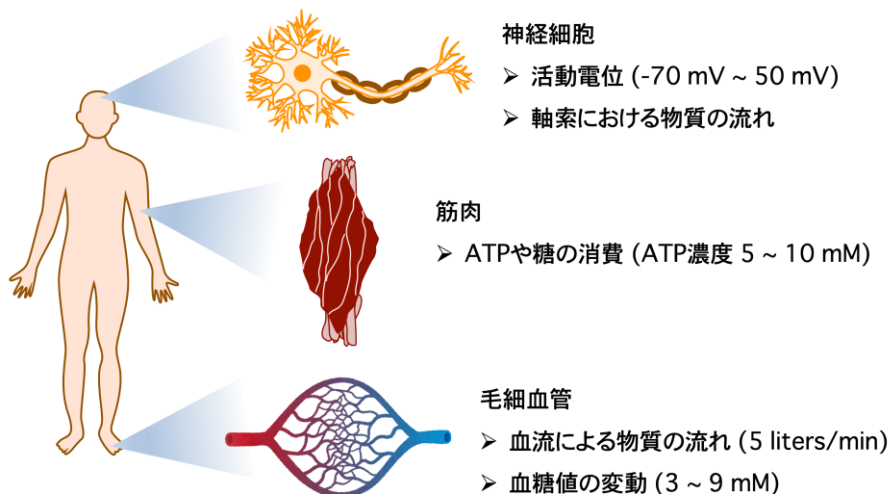


図2 動的溶液環境のイメージ図

● 本研究の目的

タンパク質の自己凝縮は、細胞内のタンパク質分子が原子レベルで相互作用することにより生じる動的な現象であるが、原子・分子・細胞の全てのレベルにおいて従来の研究手法では溶液環境を自在に変動させるのが難しく、また実験データが不足するため理論も確立していない。そのため、動的溶液環境と自己凝縮過程との関わりが正しく理解されていない。そこで、本研究領域では、原子・分子・細胞レベルの各階層で動的溶液環境とタンパク質との関わりを解析する実験手法や理論を開発し、マルチスケールな研究を展開することによって、動的溶液環境が天然変性タンパク質の自己凝縮過程を制御する機構を解明する。とくに、水分子・イオン・代謝物など物質の濃度変動を化学的溶液環境、物質の流れ・物理的振動・電場などの変化を物理的溶液環境と定義し、各々の動的溶液環境がどのように（HOW）タンパク質の自己凝縮過程を制御するのか、そして、どのような（WHAT）動的溶液環境が自己凝縮過程を引き起こすのかを明らかにする。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

● 本研究の計画

本領域では、2つのサブグループを設けており、それぞれ次のような目標を設定している。まず、予測・計測グループは、動的溶液環境がどのように（HOW）タンパク質の自己凝縮過程を制御するのかを明らかにする。次に、B：探索・検証グループは、どのような（WHAT）動的溶液環境が自己凝縮過程を引き起こすのかを明らかにする。これらを本領域内で相互循環させることによって、動的溶液環境が天然変性タンパク質の自己凝縮過程を制御する機構の解明を目指す。具体的には以下の2つの研究を実施する。

1. 動的溶液環境による自己凝縮過程の原子モデルの構築

化学的溶液環境として、水分子とATP会合体に着目し、物理的溶液環境として細胞内の物質の流れと電場に着目する。核磁気共鳴法（NMR）を用いてタンパク質の水和・ATP会合体との相互作用を原子レベルで解析する。流れの中でタンパク質の構造を解析できるRheo-NMRを用いて、自己凝縮過程に対する流れの影響を解析する。加えて、統計力学の理論を用いて、水和状態・ATP会合体の分布と、自己凝縮過程に対する熱力学的な解析を進める。NMRによる実験と統計力学を用いた理論的解析が協働することで、膜なしオルガネラやアミロイド線維化といった自己凝縮過程の原子モデルを構築する（図3）。

2. 自己凝縮過程に寄与する動的溶液環境因子の同定

細胞から膜なしオルガネラを単離し、溶媒和構造を生化学的に解析する。細胞内の自己凝縮体を試験管内で扱うことで、細胞内の影響を考慮しながら溶液環境を自由に変化させ、膜なしオルガネラやアミロイド線維を安定化する動的溶液環境を網羅的に探索する。さらに、生きた細胞内で自己凝縮過程や溶液環境を光や化合物刺激で人工的に操作し、ライブセルイメージングにより動的溶液環境の影響を細胞内で評価する。この評価系を用いて、タンパク質の自己凝縮過程に対する溶液環境因子の影響を検証する。試験管内と細胞内の実験を併用することで、生物学的に重要な動的溶液環境の候補因子を同定する（図4）。

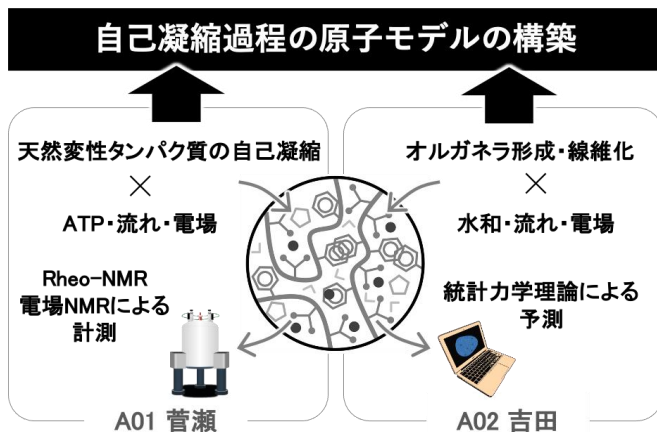


図3 予測・計測グループの研究計画

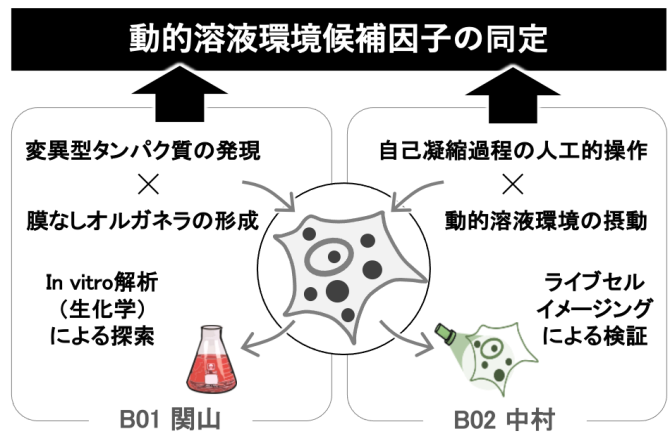


図4 探索・検証グループの研究計画