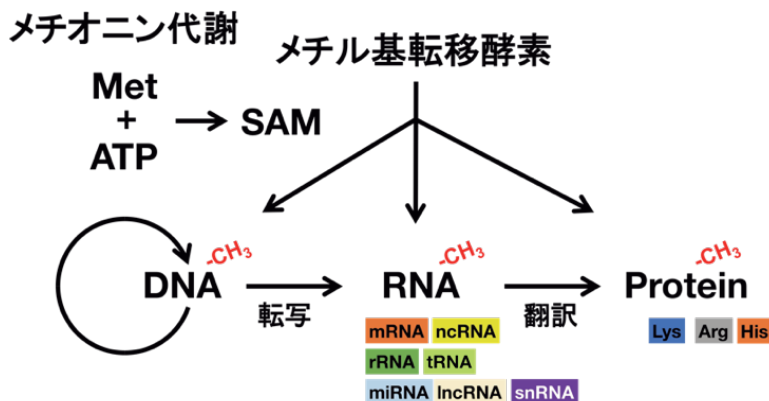


代謝ダイナミクス

「メチル化代謝から読み解く遺伝情報」

生物の生命活動は、DNA から RNA へ転写された遺伝情報をもとにタンパク質に翻訳されることで維持されており、この基本原理は生命の根幹を担う「セントラルドグマ」である。その主役は「核酸」や「タンパク質」などの生体分子であり、『メチル化』という化学反応によって機能が調節される。メチル化とは、【CH₃ (メチル基)】を生体分子に付加 (刻印) する反応で、細胞の代謝をダイナミックに変化させながら DNA や RNA、タンパク質のメチル化状態を調節して、生物は環境に適応する能力を持つ。私たちはメチル化修飾という視点から生物の生存戦略を捉え直し、線虫やマウスなどのモデル生物を利用して、細胞分化、疾患、個体老化といった生命の仕組みの理解を目指している。

The central dogma of biology is defined by the genetic information as a fundamental flow of life. Multiple layered genetic information consisted of mRNA, tRNA, rRNA and small RNAs is latent in genome sequence (DNA). These lines of information involved in protein synthesis are passing from first generations to the next via DNA. Methylation, one of biologically important modifications, is catalyzed by a set of methyltransferases, and they act on DNA, RNAs, histone and non-histone proteins, which are utilized for the regulation of homeostasis in cells and our body. Although a number of studies focus on understanding cellular biological methylation, little is known regarding the physiological relevance *in vivo*. We aim to investigate the strategic mechanisms for survival of life such as cell differentiation, disease, and individual aging using model organisms such as nematodes and mice.



生物の根幹：セントラルドグマとメチル化代謝



2018 年度 深水研究室集合写真

プロジェクトメンバー

教授

深水 昭吉

講師・助教

石田 純治

大徳 浩照

金 俊達

加香孝一郎

(生命環境系)

生命環境科学研究科

博士後期課程

水上 早瀬

西濱 夏海

須川 聡

山本 康晴

陸 偉哲

権 哲源

安藝 杏梨

藤高 啓右

矢野 秀法

博士前期課程

坂井 愛理

稲川 貴之

中島 実咲

中原 大輔

生物資源学類

田原 早央莉

室町 直人

林 岳宏

霍 思全

秘書

飯島 美穂

川崎 結子

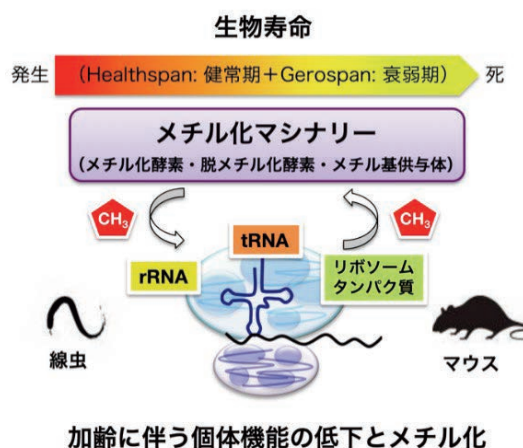
研究概要

【RNA メチル化がつなぐ翻訳と老化の接点】

メチル基供与体として働く *S*-アデノシルメチオニン (SAM) は、必須アミノ酸であるメチオニンと ATP から細胞で合成される。メチル化反応の進行は、SAM の量に規定されることから、私たちは栄養、代謝とメチル基供与体という観点から、RNA メチル化と老化をつなぐ分子の仕組みの解明に取り組んでいる。

転写後の RNA 配列中の塩基やリボースは、100 種類を超える多種多様な化学修飾を受けることが知られ、中でもメチル化は最も多く見られる修飾であるが、その 8 割以上が tRNA (転移 RNA) に存在する。私たちは、体長 1 mm の多細胞モデル動物である線虫 (*C. elegans*) を用いた老化の研究の過程で、tRNA メチル化酵素遺伝子のひとつをノックダウンすると、線虫の寿命が延長することを見出した。これは tRNA のメチル化調節が、老化の進行や寿命の決定と何らかの接点を持つことを示唆している。

真核生物のリボゾーム RNA (rRNA) は、転写後特定の部位がメチル化され、リボゾームの中心骨格やその機能の主要な役割を担う。以前当研究室では、哺乳類で初めての rRNA の塩基メチル化酵素 (Waku *et al.*, *J. Cell Sci.* 2016) の同定に成功した。さらに、tRNA と rRNA に存在するメチル化ヌクレオシドを LC-MS/MS 分析することで、メチル化様式を網羅的に検出・定量する系を確立し、その解析技術を駆使して線虫の T07A9.8 遺伝子が 28S rRNA の m1A メチル化を担う一方で、pre-rRNA の転写には関与しないことを明らかにした (Yokoyama, Hirota *et al.*, *J. Biochem.* 2018)。現在も引き続き、加齢に伴い変化するメチル化の生理機能を理解するため、線虫の 246 個のメチル化酵素の siRNA ライブラリーの作製やノックダウン (KD) スクリーニングを行い、tRNA や rRNA のメチル化酵素を同定し、メチル化マシナリーと寿命延伸の関連性について研究を進めている。



【生存戦略として活用するタンパク質のメチル化代謝】

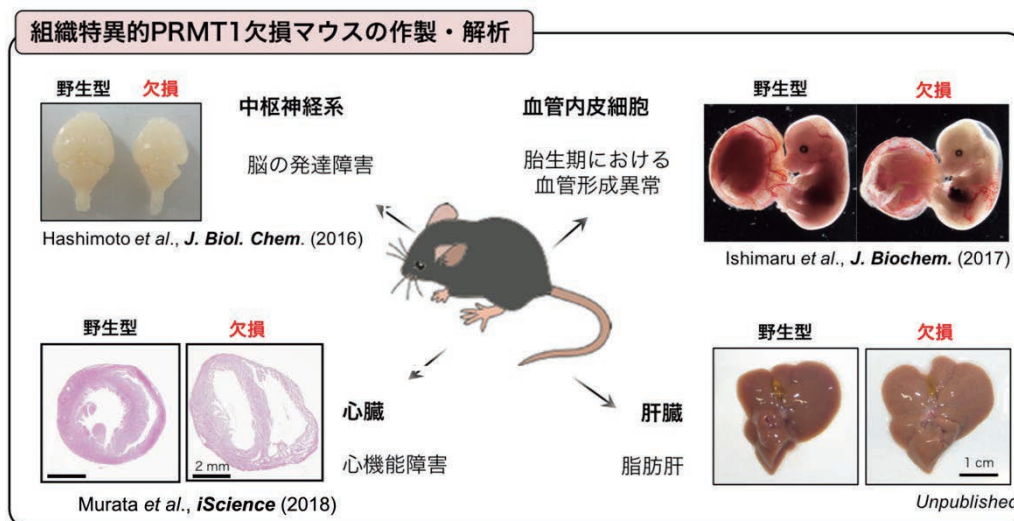
タンパク質メチル化は、主に塩基性アミノ酸 (リジン、アルギン、ヒスチジン) を標的とする翻訳後修飾の一つであり、今から 50 年以上前の 1950 年代に明らかにされたものの、その機能に関しては長い間不明であった。21 世紀に入り、タンパク質メチル化酵素の存在が報告され、ヒストンメチル化を介したエピジェネティクス制御を中心に、急速にその機能解析が進んだ。その結果、タンパク質メチル化は、リン酸化やアセチル化などと同様、

多彩な生命現象の調節におけるタンパク質の機能制御機構として重要な翻訳後修飾であることが理解されつつあるが、生物の生存戦略としてのタンパク質のメチル化代謝の全容は明らかになっていない。

アルギニンメチル化

タンパク質のアルギニンメチル化は、メチル化酵素 (PRMT) が SAM をメチル基供与体として、アルギニン残基のグアニジノ基にメチル基を転移する反応であり、シグナル伝達や転写制御など多岐に渡る細胞機能を制御する。PRMT は、メチル基転移活性に重要な分子構造の相同性から、ファミリーを形成している。中でも、PRMT1 は、細胞内のアルギニンメチル化の 85% を担うドミナントな PRMT であり、遺伝子欠損マウスが胎生 6.5 から 7.5 日目に致死を示すことから、発生に深く関与している。当研究室では、PRMT1 の機能解明に向け、組織 (脳、血管内皮細胞、心臓、肝臓) 特異的なノックアウトマウス (KO) を作製し、生体内のアルギニンメチル化の役割について解析している。これまでに、PRMT1 が神経の髄鞘形成 (Hashimoto *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2016) や血管構築 (Ishimaru *et al.*, *J. Biochem.* 2017) に必須であることを明らかにした。さらに心筋細胞特異的 KO マウス解析から、PRMT1 の遺伝子欠損が遺伝子の選択的スプライシングの異常や若齢期の拡張型心筋症を引き起こすことを見出した (Murata *et al.*, *iScience* 2018)。この研究成果は、拡張型心筋症の発症メカニズムを探るための有用なツールになると期待される。

上記のように、PRMT1 によるアルギニンメチル化は、細胞や臓器の発生や分化、そして個体の生存に幅広く重要な役割を果たしていることから、タンパク質メチル化による生存戦略を解明するためには PRMT1 活性の調節機構を理解することが不可欠である。私たちは、線虫を用いた研究で GATA 転写因子 ELT-2 が PRMT1 の発現や活性を調節することを明らかにした (Araoi *et al.*, *J. Biochem.* 2018)。



【これからの展開】

新たなメチル化研究の開拓

半世紀も前にヒト尿中でメチルヒスチジンが検出されて以来、ヒストンやアクチンなどでもヒスチジン残基のメチル化修飾が報告されてきたが、それらを触媒するメチル化酵素は未同定であった。私たちは、メチルアミノ酸の解析技術と線虫の RNAi スクリーニング法を組み合わせた独自のアプローチから、候補酵素を同定し、遺伝子欠損マウスの作出に成功している。表現型と分子の働きを解析することで、新しいメチル化修飾の生物学的意義の解明に取り組んでいる。

当研究室ではこれまでに、生体内のタンパク質や核酸のメチル化修飾レベルやメチル基供与体である SAM を、MALDI-TOF/MS や LC-MS/MS といった質量分析装置を用いることで、高感度かつ定量的に解析する方法を確立した。さらに、培養細胞や線虫、マウスの組織を用いて網羅的遺伝子発現解析 (RNA-seq, Ribo-seq) を行い、遺伝子の転写と翻訳への役割の検証や、生命現象を理解するために求められる疾患の発症および治療の基礎となる研究を行なっている (Murata *et al.*, *iScience* 2018, Ohkuro, Kim *et al.*, *Nature Commun.* 2018)。これらの技術開発は、今後のメチル化研究の進展に必要不可欠であり、現在も先駆的な創意工夫を続けている。

近年、急速な少子高齢化が進む我が国にとって、高齢者の健康維持や疾病予防を実現する「健康寿命の延伸」は重要な課題である。私たちは RNA やタンパク質のメチル化修飾という視点から、老化や疾患の基本原理に関する研究を進めることで、創薬やドラッグリポジショニングに対して、今までにないヒントが得られるものと期待している。また、食品から摂取されるメチル基供与体が、いかにして生体分子のメチル化を調節しているのかが理解できれば、栄養管理という側面からも新しい情報が提供できると考えている。今後も「代謝ダイナミクス」プロジェクトでは、線虫とマウスというモデル動物を活用しながら、メチル化という分子の刻印に秘められている生物の生存戦略の重要性を解き明かし、国民の健康維持に貢献していきたい。

2018 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

- K. Tanimoto, H. Matsuzaki, E. Okamura, A. Ushiki, A. Fukamizu, and D. Engel (2019)
Transvection-like interchromosomal interaction is not observed at the transcriptional level when tested in the Rosa26 locus in mouse. **PLoS One** 14, e0203099.
- K. Hada, K. Hirota, A. Inanobe, K. Kako, M. Miyata, S. Araoi, M. Matsumoto, R. Ohta, M. Arisawa, H. Daitoku, T. Hanada, and A. Fukamizu (2019)
Tricarboxylic acid cycle activity suppresses acetylation of mitochondrial proteins during early embryonic development in *Caenorhabditis elegans*. **J. Biol. Chem.** 294, 3039- 3099.
- K. Kako, JD. Kim, and A. Fukamizu (2019)
Emerging impacts of biological methylation on genetic information. **J. Biochem.** 65, 9-18.
- K. Murata, W. Lu, M. Hashimoto, N. Ono, M. Muratani, K. Nishikata, JD. Kim, S. Ebihara, J. Ishida, and A. Fukamizu (2018)
PRMT1 deficiency in mouse juvenile heart induces dilated cardiomyopathy and reveals cryptic alternative splicing products. **iScience** 8, 200-213.
- M. Ohkuro, JD. Kim, Y. Kuboi, Y. Hayashi, H. Mizukami, H. Kobayashi-Kuramochi, K. Muramoto, M. Shirato, F. Michikawa-Tanaka, J. Moriya, T. Kozaki, K. Takase, K. Chiba, KL. Agarwala, T. Kimura, M. Kotake, T. Kawahara, N. Yoneda, S. Hirota, H. Azuma, N. Ozasa-Komura, Y. Ohashi, M. Muratani, K. Kimura, I. Hishinuma, and A. Fukamizu (2018)
Calreticulin and integrin alpha dissociation induces anti-inflammatory programming in animal models of inflammatory bowel disease. **Nature Commun.** 9, 1982.
- A. Sato, JD. Kim, H. Mizukami, M. Nakashima, K. Kako, J. Ishida, A. Itakura, S. Takeda, and A. Fukamizu (2018)
Gestational changes in PRMT1 expression of murine placentas. **Placenta** 65, 47-54.
- W. Yokoyama, K. Hirota, H. Wan, N. Sumi, M. Miyata, S. Araoi, N. Nomura, K. Kako, and A. Fukamizu (2018)
rRNA adenine methylation requires T07A9.8 gene as rram-1 in *Caenorhabditis elegans*. **J. Biochem.** 163, 465-474.

S. Araoi, H. Daitoku, A. Yokoyama, K. Kako, K. Hirota, and A. Fukamizu (2018)
The GATA transcription factor ELT-2 modulates both the expression and methyltransferase activity of PRMT-1 in *Caenorhabditis elegans*. **J. Biochem.** 163, 433-440.

総説

深水昭吉、五十嵐和彦

“RNA 研究の新展開 遺伝子発現制御に隠されたシステム：エピトランスクリプトーム”
実験医学 36, 3200-3204 (2018)

宮田真衣、大徳浩照、深水昭吉

“RNA メチル化によるリボソームと寿命制御”
実験医学 36, 3242-3245 (2018)

学会発表等 (国際学会*、招待講演**)

陸 偉哲、村田知弥、金 俊達、石田純治、深水昭吉

“心筋 PRMT1 欠損で誘導される心不全の遺伝子転写と翻訳の網羅的プロファイリング”
第 22 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 シーガイアコンベンションセンター (宮崎)
2018 年 4 月

石田純治、野口和之、水上早瀬、陸 偉哲、権 哲源、加香孝一郎、金 俊達、山縣邦弘、深水昭吉

“ヒスタミン H3 受容体アゴニストによる心腎病態への抗炎症プログラミング”
第 22 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 シーガイアコンベンションセンター (宮崎)
2018 年 4 月

水上早瀬、金 俊達、陸 偉哲、横山 航、中島実咲、石田純治、深水昭吉

“PRMT1 スプライスバリエント欠損がマウス個体の代謝に与える影響”
2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学 (埼玉) 2018 年 6 月

中島実咲、金 俊達、陸 偉哲、石田純治、深水昭吉

“妊娠高血圧が胎仔肝臓の遺伝子発現に与える影響”
2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学 (埼玉) 2018 年 6 月

霍 思全、石田純治、室町直人、謝 玉瑩、中島実咲、深水昭吉

“カルシウムシグナル阻害による妊娠高血圧マウスの病態改善効果の検討”

2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学（埼玉）2018 年 6 月

権 哲源、石田純治、深水昭吉

“ α 1A-アドレナリン受容体の欠損は、妊娠高血圧における心肥大を増悪させる”

2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学（埼玉）2018 年 6 月

橋本美涼、陸 偉哲、石田純治、村田知弥、中川 寅、深水昭吉

“アルギニンメチル化酵素 PRMT1 によるアストロサイト発達制御機構の解明”

2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学（埼玉）2018 年 6 月

Weizhe Lu, Kazuya Murata, Mizukami Hayase, Jun-dal Kim, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu

“Analysis of Transcription and Translation by RNA-seq and Ribo-seq in Cardiac PRMT1- Deficient Mice”

2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学（埼玉）2018 年 6 月

中原大輔、加香孝一郎、野村直人、深水昭吉

“メチル化ヌクレオシドデータベース(MNSDB)の構築”

2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学（埼玉）2018 年 6 月

宮田真衣、大徳浩照、角 直亮、横山 航、廣田恵子、深水昭吉

“線虫 *C. elegans* における開始メチオニン tRNA m¹A58 修飾が寿命に及ぼす影響 ”

2018 年度日本生化学会関東支部例会 埼玉大学（埼玉）2018 年 6 月

深水昭吉

“環境変化に適応する細胞の分子戦略ーメチル化ー”

生存ダイナミクス研究センターキックオフシンポジウム 筑波大学大学会館（つくば）

2018 年 7 月

＊ ＊深水昭吉

“Anti-inflammatory programming of gene expression induced by histamine agonist in cardiorenal pathology”

国際ヒスタミンシンポジウム（WHS2018）（神戸）2018 年 7 月

加香孝一郎、波田一誠、宮田真衣、大徳浩照、深水昭吉

“線虫におけるアセチル化スペルミジンの同定”

第 22 回活性アミンに関するワークショップ 徳島大学 (徳島) 2018 年 7 月

* Keiko Hirota, Rieko Yamauchi, Mariko Kojima, Xu Zhao, Mai Miyata, Koichiro Kako, Akiyoshi Fukamizu

“Dietary methionine influences the establishment of the germ stem cell pool mediated by *sams-1*”
8th Asia-Pacific Worm Meeting、韓国 (ソウル) 2018 年 7 月

** 深水昭吉

“PRMT8 is a bilingual protein, methyltransferase and lipase”
30 Years of CREB Signaling (Salk Institute, U.S.A) 2018 年 8 月

Chulwon Kwon, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu

“ α 1A-adrenergic receptor suppresses cardiac hypertrophy in pregnancy-associated hypertensive mice”
第 2 回日本循環器学会基礎研究フォーラム 奈良春日野国際フォーラム (奈良) 2018 年 9 月

Weizhe Lu, Kazuya Murata, Hayase Mizukami, Jun-dal Kim, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu

“Gene Expression Landscape of Heart Failure Mice model caused by Cardiac Specific PRMT1 Deficiency”
第 2 回日本循環器学会基礎研究フォーラム 奈良春日野国際フォーラム (奈良) 2018 年 9 月

** 深水昭吉

“多細胞生物のリボソーム RNA の塩基メチル化”
第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館 (京都) 2018 年 9 月

陸 偉哲、村田知弥、水上早瀬、金 俊達、石田純治、深水昭吉

“次世代シーケンサーを用いて心筋 PRMT1 欠損マウス心臓遺伝子の転写と翻訳解析”
第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館 (京都) 2018 年 9 月

水上早瀬、金 俊達、陸 偉哲、中島実咲、石田純治、深水昭吉

“糖代謝における PRMT1v2 の役割の解明”
第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館 (京都) 2018 年 9 月

村田知弥、西方圭那、橋本美涼、沖米田司、深水昭吉、海老原史樹文

“BioID ノックイン細胞を用いた PRMT1 の新規相互作用因子の同定”
第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館 (京都) 2018 年 9 月

権 哲源、石田純治、深水昭吉

“妊娠高血圧マウスにおける $\alpha 1A$ -AR 欠損は、上行大動脈の解離を引き起こす”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

室町直人、石田純治、野口和之、霍 思全、陸 偉哲、山縣邦弘、深水昭吉

“心不全下における腎臓機能の解析”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

田原早央莉、金 俊達、水上早瀬、陸 偉哲、深水昭吉

“PRMT8 のアルギニンメチル化に対する不活性化マウスの作製と標的基質の探索”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

陸 偉哲、村田知弥、水上早瀬、金 俊達、石田純治、深水昭吉

“次世代シーケンサーを用いて心筋 PRMT1 欠損マウス心臓遺伝子の転写と翻訳解析”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

中島実咲、大徳浩照、林 岳宏、加香孝一郎、深水昭吉

“線虫 *C. elegans* のリボソームに対するヒスチジンメチル基転移酵素 hpm-1 の役割”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

水上早瀬、金 俊達、陸 偉哲、中島実咲、石田純治、深水昭吉

“糖代謝における PRMT1v2 の役割の解明”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

宮田真衣、大徳浩照、角 直亮、横山 航、廣田恵子、深水昭吉

“線虫 *C. elegans* における開始メチオニン tRNA m¹A58 修飾を介した寿命調節機構の解析”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

橋本美涼、隈部彩子、中川 寅、村田知弥、石田純治、深水昭吉

“神経幹細胞特異的 PRMT1 欠損マウスにおけるグルタミン酸-グルタミンサイクル”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

中原大輔、加香孝一郎、野村直人、深水昭吉

“Analysis of RNA methylation of *C. elegans* using newly established methyl-nucleosides database (MNSDB)”

第 91 回日本生化学会大会 国立京都国際会館（京都）2018 年 9 月

**加香孝一郎、波田一誠、大徳浩照、深水昭吉

“線虫初期発生におけるトリカルボン酸回路とポリアミンの役割”

日本ポリアミン学会第10回年会 (加賀市) 2018年12月

**深水昭吉

“ヒスチジンメチル化修飾から紐解く個体スケールと寿命延伸”

ワークショップ「多面的アプローチで紐解く個体スケールリング機構と健康寿命延伸への応用」神戸大学大学院 (兵庫) 2018年9月

**深水昭吉

“想像から創造される未来：バイオテクノロジーに何が出来る？”

つくば Science Edge 2019 (つくば) 2019年3月

**石田純治

“Anti-inflammatory programming of gene expression induced by histamine agonist in cardiorenal pathology.”

TARA International Symposium, Satellite Meeting (つくば) 2019年3月

受賞

水上早瀬 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)

平成30年度 日本生化学会関東支部例会 優秀発表賞

陸 偉哲 (ヒューマンバイオロジー学位プログラム)

第2回 日本循環器学会基礎研究フォーラム ポスター賞

水上早瀬 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)

平成30年度 筑波大学 生命環境科学研究科 研究科長表彰受賞

水上早瀬 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)

平成30年度 茗溪会賞受賞

室町直人 (生命環境学群 生物資源学類)

平成30年度 茗溪会賞受賞

特許

特許第6399874号

発明者：深水昭吉、金 俊達、大黒理勝

発明の名称：化合物の抗炎症効果または免疫抑制効果を予測する方法

登録日：平成30年9月14日

特許第6320576号

発明者：深水昭吉、金 俊達、萩原昌彦、和田幸周

発明の名称：細胞を分離、除去、及び解析する方法

登録日：平成30年4月13日

アウトリーチ活動

深水昭吉

米軍子弟教育高大連携プロジェクト STEMinars 2018（平成30年9月11-12日）

深水昭吉

出張講義「特色ある理科授業」 東京成徳大学中学高等学校（平成30年11月16日）

深水昭吉

つくば Science Edge 2019 講演（平成31年3月23日）

学会および社会的活動

深水昭吉

日本心血管代謝内分泌学会・理事、日本生化学会・評議員と日本高血圧学会・評議員

東北大学 学際科学フロンティア研究所（運営協議会委員）

公益財団法人 山口内分泌疾患研究振興財団（研究助成審査委員）

公益財団法人 日本応用酵素協会（選考委員）

一般社団法人 キャノン財団研究助成（選考委員）

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

深水昭吉

研究種目名：基盤研究(A)

研究課題名：RNA メチル化を介した栄養情報と生物寿命

課題番号 : 17H01519
研究期間 : 2017 年度～2020 年度

深水昭吉

研究種目名 : 産学協同実用化開発事業 (NexTEP)
研究課題名 : 炎症性腸疾患における新たなバイオマーカーの検討
研究期間 : 2014 年度～2020 年度

石田純治

研究種目名 : 基盤研究 (C)
研究課題名 : アルギニンメチル化が担う胎児期の血管形成メカニズムの解明
課題番号 : 17K07131
研究期間 : 2017 年度～2019 年度

大徳浩照

研究種目名 : 基盤研究 (C)
研究課題名 : アセチル CoA を接点としたグルコース代謝と FOXO1 アセチル化の制御機構の解明
課題番号 : 17K08193
研究期間 : 2017 年度～2019 年度

金 俊達

研究種目名 : 基盤研究 (C)
研究課題名 : 一酵素・二活性 (PRMT8) の生物学的意義の解明
課題番号 : 18K05429
研究期間 : 2018 年度～2020 年度

加香孝一郎

研究種目名 : 基盤研究 (C)
研究課題名 : タンパク質アルギニンメチル化修飾の個体機能の解明
課題番号 : 17K01942
研究期間 : 2017 年度～2019 年度