

吉田 稔

独立行政法人理化学研究所吉田化学遺伝学研究室
主任研究員

核エピゲノムとミトコンドリアゲノムの化学的制御とその応用

§ 1. 研究実施体制

(1) 「吉田」グループ

① 研究代表者: 吉田 稔 ((独)理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室、主任研究員)

② 研究項目

- ・ エピゲノム・ミトコンドリアゲノム制御化合物探索
- ・ 活性化合物の作用機構解析と初期化メカニズム研究
- ・ 化合物による細胞初期化／再分化効率の評価

(2) 「凌」グループ

① 主たる共同研究者: 凌 楓 ((独)理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室、専任研究員)

② 研究項目

- ・ 安定ホモプラスミー化法の確立と分子機構解析
- ・ ホモプラスミー化法の確立と分子機構解析

(3) 「後藤」グループ

① 主たる共同研究者: 後藤 雄一 ((独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所、部長)

② 研究項目

- ・ 患者由来細胞の初期化／再分化における mtDNA とミトコンドリアの機能解析
- ・ 化合物による細胞初期化／再分化効率の評価
- ・ 臨床応用に向けた新規治療法の基盤技術開発

§ 2. 研究実施の概要

細胞の初期化と分化のプロセスにおいて細胞系譜を決定づける階層的転写ネットワークの存在が明らかになってきた。その制御においてヒストン修飾を中心とする核ゲノムのエピジェネティクスが重要な役割を果たすことが明らかになり、時空間的にヒストン修飾を制御する技術が求められている。また、核ゲノムの10倍以上高頻度で変異が蓄積する体細胞ミトコンドリアゲノムをどう初期化するかも大きな課題である。成人の体細胞から iPS 細胞を誘導し、細胞治療に応用する際には、ミトコンドリア DNA の変異が問題になる可能性があるからである。本研究は、新しい技術・評価系を用いて核のエピゲノムの修飾変化とミトコンドリアゲノムのホモプラスミー化を誘導しうる活性化化合物を同定し、それらを組み合わせることによって核ゲノムとミトコンドリアゲノムの初期化の効率を上げるとともに、再分化に関して高いポテンシャルを持ち、疾患治療研究に理想的な iPS 細胞を作出する技術の確立を目指している。

本年度は、それぞれの研究項目について以下のように研究を進めた。研究項目1(化合物によるエピゲノム制御と初期化・再分化誘導)については、前年度に引き続き重要標的の選定とスクリーニング系構築、最適化を継続した。特に初期化の妨げになると考えられるヒストンメチル化酵素 G9a について強力な阻害剤を得ることができ、その X 線共結晶構造の解明にも成功した。また、JARID1A, UTX などのヒストン脱メチル化酵素、ヒストン脱アセチル化酵素 SIRT2、SUMO 化 E1 および E2 酵素、脱 SUMO 化酵素など初期化や分化に関わる遺伝子発現に影響を与えると考えられる新たな標的に対する阻害剤の発見に成功した。研究項目2(化合物によるミトコンドリアゲノムの初期化と疾患治療法の基盤技術開発)については、ミトコンドリア病 (MELAS) 患者由来細胞のホモプラスミー化が化合物の処理による細胞内 ROS の発生量に依存すること、細胞内において適量の ROS を誘起する化合物がホモプラスミー化を促進することを示唆する結果を得たていたが、このようなホモプラスミー化が起きる条件下で mtDNA の二重鎖切断とローリングサークル型複製の中間体のような構造体を検出することができた。これらの結果は、ローリングサークル型複製という新しいヒトミトコンドリア DNA 複製機構の存在を強く裏付けるものである。研究項目3 (iPS 細胞によるミトコンドリア病発症機構の解明と新規治療法の開発)においては、様々な mtDNA 病原性変異を有する複数のミトコンドリア病患者由来の疾患特異的 iPS 細胞を樹立し、主要な罹患臓器細胞 (中枢/末梢神経細胞、心筋細胞など) への分化誘導に成功し、mtDNA 動態およびミトコンドリア機能解析を通じて病態発症機構の解明に向けた検証を進めている。その結果、ミトコンドリア機能異常が顕在化する変異率 90%以上の患者細胞株では、iPS 細胞の誘導効率が顕著に低下しており、ミトコンドリア機能が iPS 細胞誘導効率に大きく影響することが明らかになった。さらに同一患者の線維芽細胞から高変異率 iPS 細胞株(ミトコンドリア機能異常あり)と低変異率 iPS 細胞株(ミトコンドリア機能異常なし)が同時に樹立可能であることが明らかになり、正常なミトコンドリア機能を示す患者由来低変異率 iPS 細胞株の分離は、遺伝子修復などの人為的操作が不要な自家移植治療の可能性を示唆する重要な観察であると考えている。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1. Voet AR, Ito A, Hirohama M, Matsuoka S, Tochio N, Kigawa T, Yoshida M, Zhang KY., Discovery of small molecule inhibitors targeting the SUMO-SIM interaction using a protein interface consensus approach. *Med. Chem. Comm.* (in press) (doi:10.1039/C3MD00391D)
2. Takemoto M, Kawamura Y, Hirohama M, Yamaguchi Y, Handa H, Saitoh H, Nakao Y, Kawada M, Khalid K, Koshino H, Kimura KI, Ito A, Yoshida M., Inhibition of protein SUMOylation by davidiin, an ellagitannin from *Davidia involucrata*. *J. Antibiot.* (in press) (doi:10.1038/ja.2013.142)
3. Kumar A, Ito A, Takemoto M, Yoshida M, Zhang KY., Identification of 1,2,5-Oxadiazoles as a New Class of SENP2 Inhibitors Using Structure Based Virtual Screening. *J. Chem. Inf. Model.* **54**, 870-880, 2014 (doi:10.1021/ci4007134)
4. Chi H, Takemoto Y, Nsiama TK, Kato T, Nishino N, Ito A, Yoshida M., Design and synthesis of peptide-MCA substrates for a novel assay of histone methyltransferases and their inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **22**, 1268-1275, 2013. (doi:10.1016/j.bmc.2014.01.011)
5. Hirohama M, Voet AR, Ozawa T, Saitoh H, Nakao Y, Zhang KY, Ito A, Yoshida M., Assay methods for small ubiquitin-like modifier (SUMO)-SUMO-interacting motif (SIM) interactions in vivo and in vitro using a split-luciferase complementation system. *Anal. Biochem.* **448**, 92-94, 2013. (doi:10.1016/j.ab.2013.12.009)
6. Hirohama M, Kumar A, Fukuda I, Matsuoka S, Igarashi Y, Saitoh H, Takagi M, Shin-Ya K, Honda K, Kondoh Y, Saito T, Nakao Y, Osada H, Zhang KY, Yoshida M, Ito A., Spectomycin B1 as a Novel SUMOylation Inhibitor That Directly Binds to SUMO E2. *ACS Chem. Biol.*, **8**, 2635-42, 2013. (doi:10.1021/cb400630z)
7. Kumar A, Ito A, Hirohama M, Yoshida M, Zhang KY., Identification of sumoylation activating enzyme 1 inhibitors by structure-based virtual screening. *J. Chem. Inf. Model.*, **53**, 809-820, 2013. (doi:10.1021/ci300618e)
8. Ling F, Hori A, Yoshitani A, Niu R, Yoshida M, Shibata T., Din7 and Mhr1 expression levels regulate double-strand-break-induced replication and recombination of mtDNA at *ori5* in yeast, *Nucleic Acids Res.*, **11**, 5799-5816, 2013. (doi:10.1093/nar/gkt273)
9. Kumar A, Ito A, Hirohama M, Yoshida M, Zhang KY., Identification of quinazolinyl biaryl urea as a new class of SUMO activating enzyme 1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 5145-5149., 2013. (doi:10.1016/j.bmcl.2013.07.022)
10. Hao R, Nanduri P, Rao Y, Panichelli RS, Ito A, Yoshida M, and Yao TP., Proteasomes Activate Aggresome Disassembly and Clearance by Producing Unanchored Ubiquitin

Chains. *Mol. Cell*, **51**, 819-828., 2013. (doi:10.1016/j.molcel.2013.08.016)

11. Das J, Vo TV, Wei X, Mellor JC, Tong V, Degatano AG, Wang X, Wang L, Cordero NA, Kruer-Zerhusen N, Matsuyama A, Pleiss JA, Lipkin SM, Yoshida M, Roth FP and Yu H., Cross-Species Protein Interactome Mapping Reveals Species-Specific Wiring of Stress Response Pathways. *Sci. Signal.*, **6**, ra38., 2013.
(doi:10.1126/scisignal.2003350)

(3-2) 知財出願

①CREST 研究期間累積件数 (国内1件)