

# 東北大学Research Showcase Vol.7 Q&A

2025. 05. 22. 開催  
東北大学オープンイノベーション事業戦略機構



## 魏范研先生（東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野）へのご質問

**Q1.** RNA修飾はどのようにして測定できるのでしょうか。スループット性はいかがでしょうか？

→ **A1.** ご質問いただき、ありがとうございます。質量分析はもっとも正確ですが、1サンプルが短くても10分ですので、あまりスループット性はありません。現在、抗体による検出も可能になりつつあります。

**Q2.** 修飾RNAを質量分析で測定する場合、前処理過程や保存中での安定性についての情報はありますでしょうか。安定的に測定可能なものでしょうか。

→ **A2.** 修飾RNAは安定性が高いので、安定した測定がメリットの一つです。

**Q3.** mtRNA修飾に関する質問です。多くの疾患がミトコンドリア障害が原因かと思いますが、特定の疾患（例えばALSやパーキンソンなど）で特異的に起きているmtRNA修飾があるのでしょうか。またその修飾を阻害することが治療薬に繋がると考えておりますでしょうか？

→ **A3.** 大変興味深いご質問、ありがとうございます。疾患特異的に本来あってはならないところに修飾が入って、機能阻害に働く可能性はあります。今後の課題です。



## 魏范研先生（東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野）へのご質問

**Q4.** 非常に面白いお話ありがとうございました。3点質問させていただきます。①今回お話いただいたRNA修飾の定量は基本的にはMSを使わないと検出できないものでしょうか？②老化や酸化ストレスでRNA修飾が変化した点が面白いですが、OCRやミトコンドリアROSといったミトコンドリア機能や、ミトコンドリアの形態といったこれまで用いられてきた指標との違いについてはいかがでしょうか？講演の中であった8-OXO-Gのように基本的には感度がいいというような理解でいいのでしょうか？③RNA修飾の変化は原因になりますでしょうか？あるいは結果になりますでしょうか？

→ **A4.** ありがとうございます。1. 基本的にはMSのほうが正確かつ感度が高いです。抗体による検出も原理的に可能です。修飾抗体をつくった実績もありますが、MSとの比較が必要です。2. tRNA修飾はミトコンドリア内のタンパク質翻訳を担っていますので、タウリン修飾などが増えれば、ミトコンドリア呼吸機能の亢進につながります。形態については不明な点が多いです。8OHGは全てのRNAに由来しており、オルガネラの情報はありません。一方、ms2Aはミトコンドリア内のRNAにしかないという点において優れています。感度という点において、分析上の感度は高いです。3. 重要な質問です。両方の可能性があります。少なくとも、修飾の低下は負のスパイラルになりますので、食い止める必要があります。



## 魏范研先生（東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野）へのご質問

**Q5.** 魏先生にご質問させていただきます。貴重なご講演ありがとうございました。ms2Aを検出している細胞株は何を用いられているのでしょうか。また、酸化ストレスを誘導する既知の化合物で検出できない（ms2Aを増加させない）ものはありましたでしょうか。どうぞよろしくお願いいたします。

→ **A5.** どんな細胞でもミトコンドリアさえあれば検出できます。我々はHeLaやHEK293がメインです。仰る通り、酸化ストレス誘導剤によってミトコンドリアに作用しないこともこのms2Aの測定で見えてきています。ですので、酸化ストレスの発生部位に応じた薬剤の開発が今後必要です。

**Q6.** 魏范研先生,興味深いお話ありがとうございました。修飾RNAは質量分析で測定できるとのことでしたが、その場合はLC/MS、GC/MSのいずれの分離方法を用いているのでしょうか？

→ **A6.** LCMSです。



## 魏范研先生（東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野）へのご質問

**Q7.** 魏先生にお伺いしたいのですが、老化や酸化ストレスがなぜRNAの修飾変化につながるのでしょうか？

→ **A7.** 老化との関連は現在研究中ですが、tRNA修飾は、修飾酵素のほかにメチオニンやNADといった補酵素を必要とします。加齢によってこれらの補酵素が減ると、ミトコンドリアでのtRNA修飾が低下すると考えられます。また、一旦修飾が低下すると、ミトコンドリア機能が低下し、さらに修飾が低下するといった悪循環も考えられます。酸化ストレスとの関連ですが、tRNA修飾自体が酸化ストレスによって生じるフリーラジカルで損傷を受け、その結果、修飾が低下します。



## 谷春菜先生（東北大学加齢医学研究所核酸修飾・損傷応答研究分野 助教）へのご質問

**Q1.** 谷先生へ) 作製されたモデルマウスは変異したミトコンドリアが高頻度に細胞内にあると言われていましたが、ヒトでのミトコンドリア病でもモデルマウスと同様に、全身に高頻度のミトコンドリア変異が生じているのでしょうか？あるいは、全身に変異が入ってなくても、発症することがあるのでしょうか？

→ **A1.** 一般的にミトコンドリア病患者さんでは生検した組織から高い割合で変異型 mtDNA が検出されることが知られています。ただし、必ずしも全身のあらゆる組織に高頻度で変異が蓄積しているかというところではないケースもあります。

**Q2.** 基礎的な質問ですみません。ゲノムと違って mtDNA の場合は、フェノタイプを出すためにクローニングを行って変異を濃縮する必要があるというのは、魏先生がおっしゃっていた mtDNA の場合はコピーナンバーが多いからという理解で宜しいでしょうか。

→ **A2.** はい、その通りです。経験上、培養細胞レベルでミトコンドリア機能低下を見るためには変異型 mtDNA を 70～80% 程度以上含有する必要があります。



## 谷春菜先生（東北大学加齢医学研究所核酸修飾・損傷応答研究分野 助教）へのご質問

**Q3.** 谷先生に向けた質問です。ミトコンドリアゲノム編集において、標的の近傍も置換されること（off-target）があり、それを改良していくという話だったかと思いますが、具体的な方法がありますでしょうか？

→ **A3.** 難しい課題ですが、現時点で考えているのは①DNA結合配列を調整すること、②より特異性を高めた塩基置換を誘発するデアミナーゼ変異体を使用すること、によりできるだけオフターゲットの少ない組み合わせを見つけていくことが重要かと考えています。

**Q4.** 谷先生のモデルではmtRNAの変異が複合体Iの量に影響しておりましたが、mtRNAの修飾についても基本的には下流のタンパク質の翻訳に作用すると考えていいのでしょうか？

→ **A4.** 今回のモデルですと、未成熟RNAが蓄積する→そのRNAにコードされていたタンパク質であるND1の発現が阻害される→ND1はComplex1の構成因子のため、ND1が充分にないことでComplex1自体の安定性が低下し、ミトコンドリア機能低下というプロセスをとるのではないかと考えています。ややこしくてすみません。



## 友重秀介先生（東北大学大学院生命科学研究科 活性分子動態分野 助教）へのご質問

**Q1.** 友重先生）いわゆるPROTACですと、化合物濃度がかなり低濃度で、つまりかなり活性が高まっていると思います。今日のご講演に関しては、活性はまだ弱そうな印象を持ちましたが、どのくらいの活性を目指しておられますでしょうか？

→ **A1.** 標的タンパク質にもよりますが、今後、臨床応用などを目指すならば一桁nMオーダーの化合物が取得できればと考えております。

**Q2.** 友重先生に質問です。ミトコンドリア内への化合物の移行性はどの程度あるのでしょうか。

→ **A2.** 今回ご紹介した化合物についてはミトコンドリア移行性を評価できておりません。ミトコンドリア移行性を評価する方法を今度模索したいと思っております。

**Q3.** 友重先生への質問です。ミトコンドリア膜上に存在するようなタンパク質も分解できるのでしょうか？

→ **A3.** 基本的にClpPはマトリックス内のsolubleなタンパク質を基質としています。ただ、今回分解誘導できていたmSA-STMP1は一回膜貫通のタンパク質と言われており、1回膜貫通程度であれば内膜タンパク質も分解できるのかもしれませんが。



## 友重秀介先生（東北大学大学院生命科学研究科 活性分子動態分野 助教）へのご質問

**Q4.** 友重先生に質問です。今回作成したミトコンドリア内へのタンパク分解誘導技術についてですが、ミトコンドリア内膜への化合物の送達はいかがでしょうか？まだ動物レベルでミトコンドリア内膜への送達は難しいのでしょうか？

→ **A4.** 化合物が機能しておりましたので、化合物はミトコンドリアの内膜も透過し、その最深部にあるマトリックスに送達できていると思っております。動物レベルでの動態はまだ確認できておらず、今後検討したいと思います。

**Q5.** 化合物がミトコンドリア内でClpPを介して分解していることを示すデータはお持ちでしょうか。細胞質で分解が起きている可能性は無いのでしょうか。

→ **A5.** ClpPのノックダウンで化合物の活性がキャンセルされていたので、ClpP依存性は証明できたかと思います。また、今回お示ししませんでした。MTSを含まないプラスミドを用いた細胞質発現のmSAに対しては減少が認められなかったため、ミトコンドリア内で分解が起きていると思っています。



## 友重秀介先生（東北大学大学院生命科学研究科 活性分子動態分野 助教）へのご質問

**Q6.** ミトコンドリア内在タンパクを狙った場合に、分解により合成のフィードバックがかかるようなことはありますか？もしそのようなケースが考えられる場合、TPD側で何か工夫できる点はありますか？

→ **A6.** 分解と合成の平衡バランスの影響はPROTACでも認められており、合成が遅いタンパク質に対してPROTACは有利ということが分かっています。mitoTPDもおそらく同様に、合成にフィードバックがかかって合成が促進するような状況では活性が弱まると思われます。PROTAC含めそこに対応する方法はまだ見出されていない状況と認識しており、mitoTPDでも何か対策ができないか進めていきたいと思えます。