

iCeMS-iTHEMS, July. 4, 201

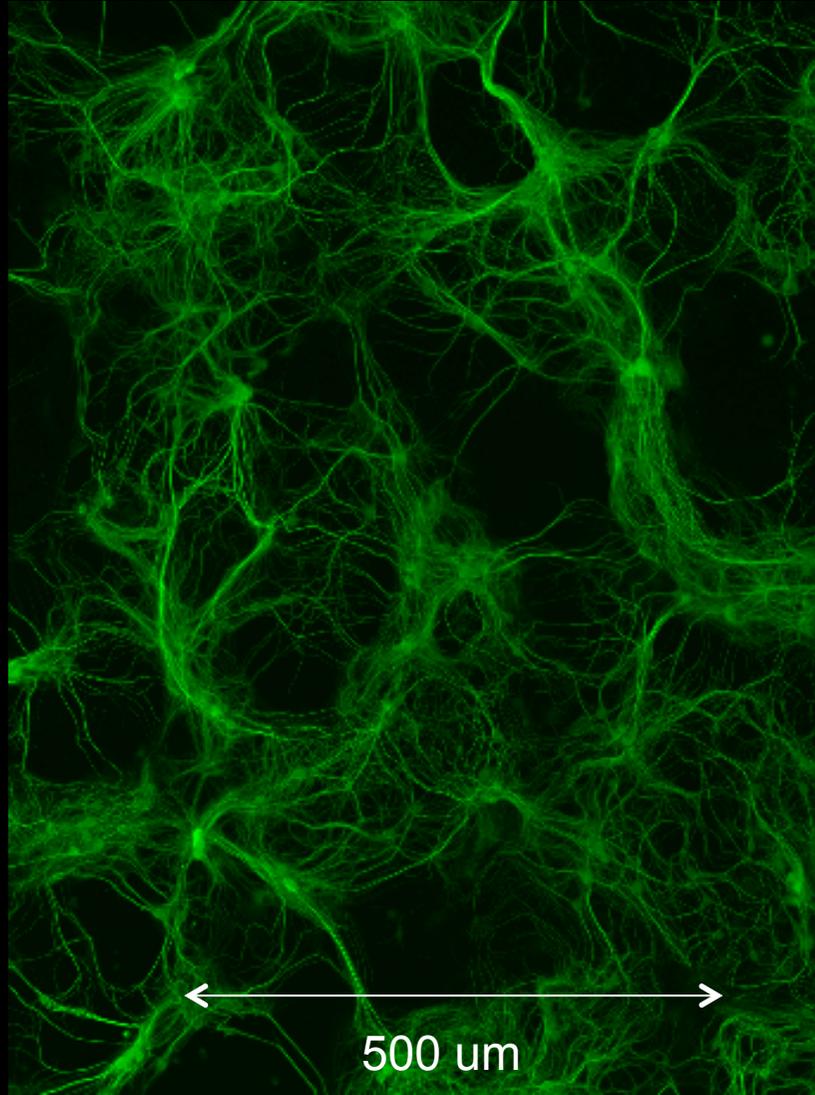
# Spatiotemporal regulation of gene expression in neurons

Dan Ohtan Wang, Ph.D.

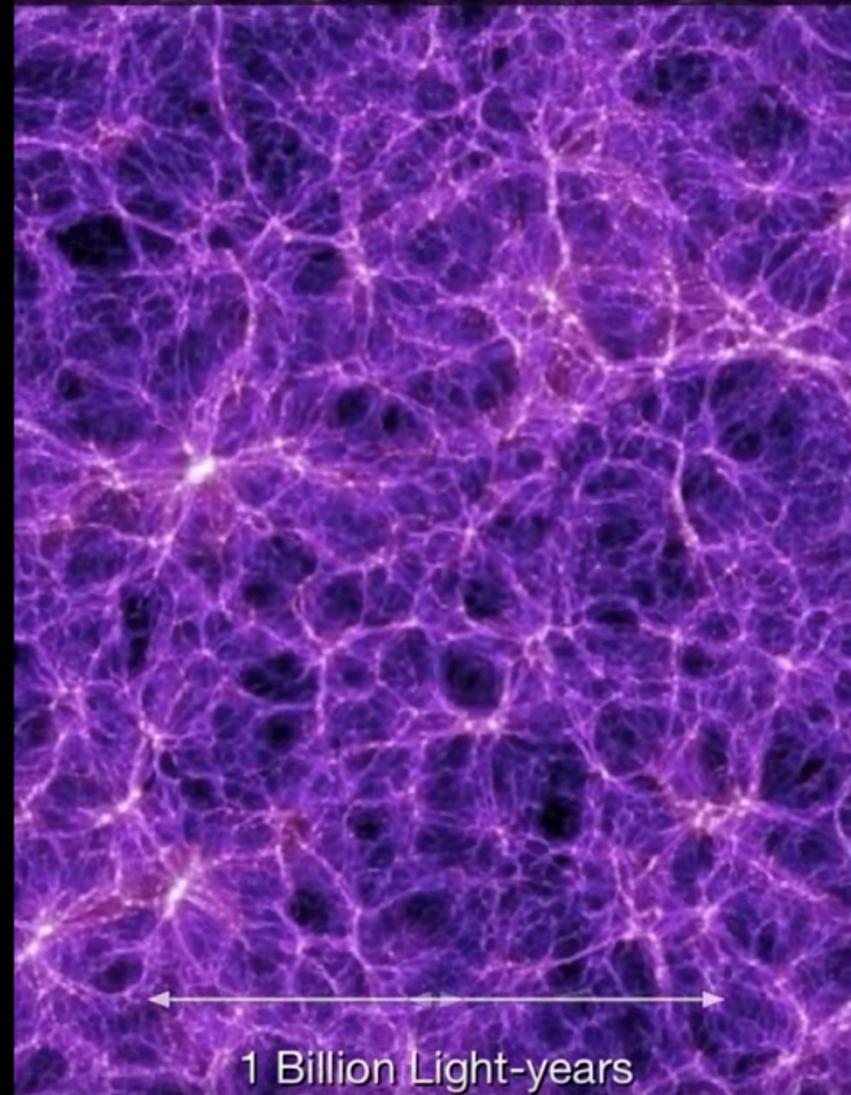
Institute for integrated Cell-Material Sciences (iCeMS),  
Kyoto University, Japan

# Neuron Network

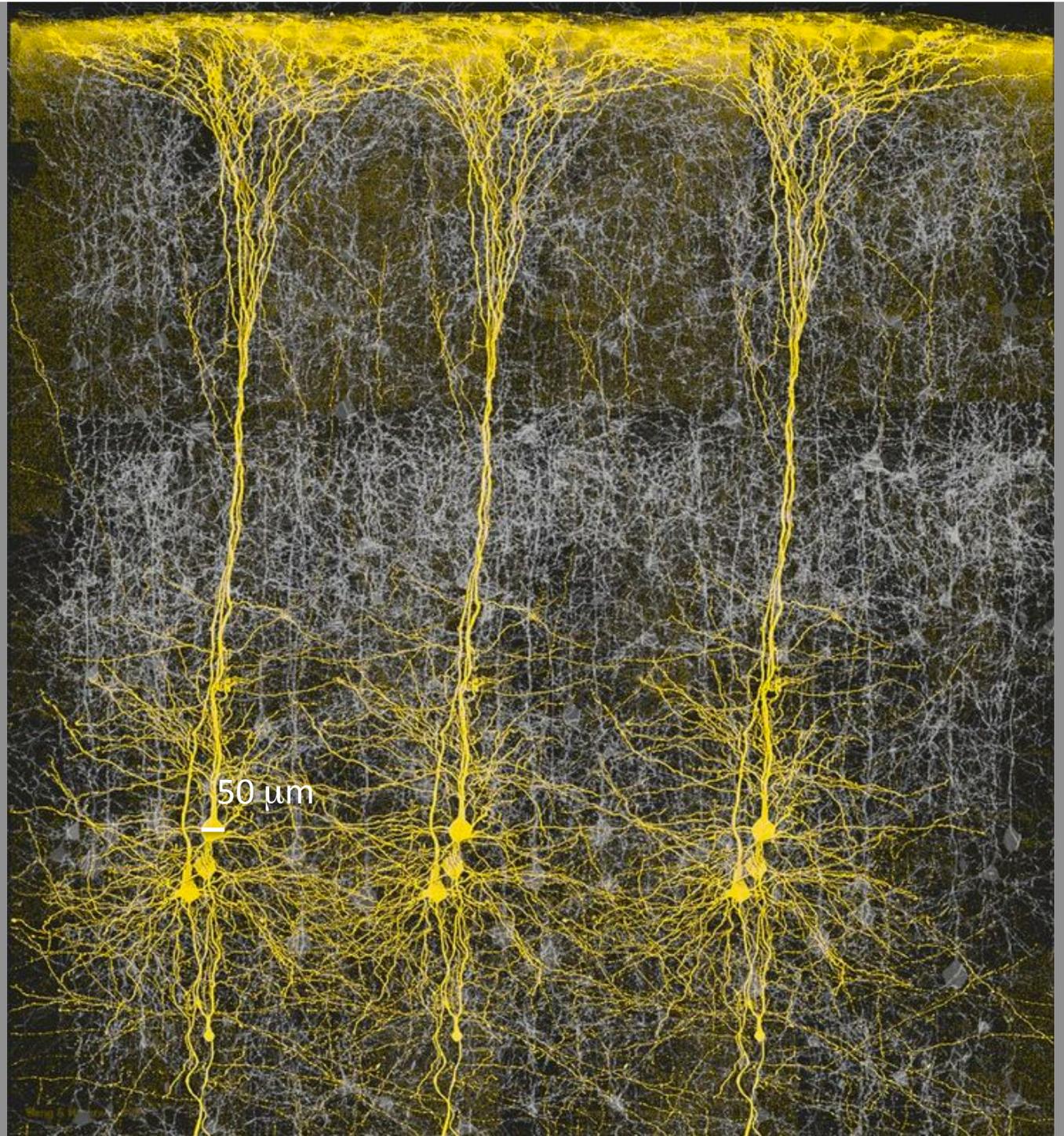
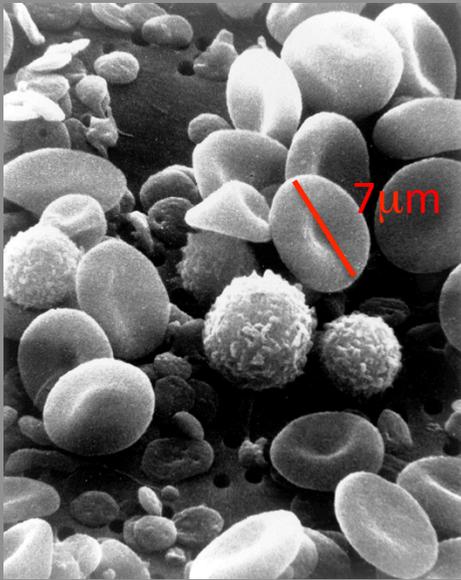
Hippocampal Neurons in Culture



Cosmic Web



# Complex geometry of neurons



A challenge for neurons: how to effectively distribute function proteins in time and space?

By distributing **messenger RNAs**

# To see, analyze, mimic RNA regulation

## RNA Imaging



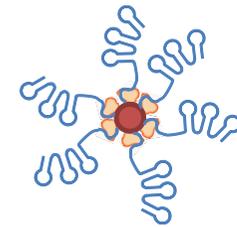
*Org. Biomol. Chem* 2011a, 2011b  
*Chem Bio Chem* 2011  
*Photomed Photobio* 2012  
*Org Bioorg Chem* 2013  
*Bioconjug Chem*, 2015  
*Ange. Chem* 2014  
RNA, 2012  
JACS, 2013  
NAR, 2016

## RNA Analysis



*Front Mol Neurosci*, 2017  
*Front Mol Biosci*, 2017  
NAR, 2016  
BioRxiv, 2017  
*Nat Neurosci*, 2018

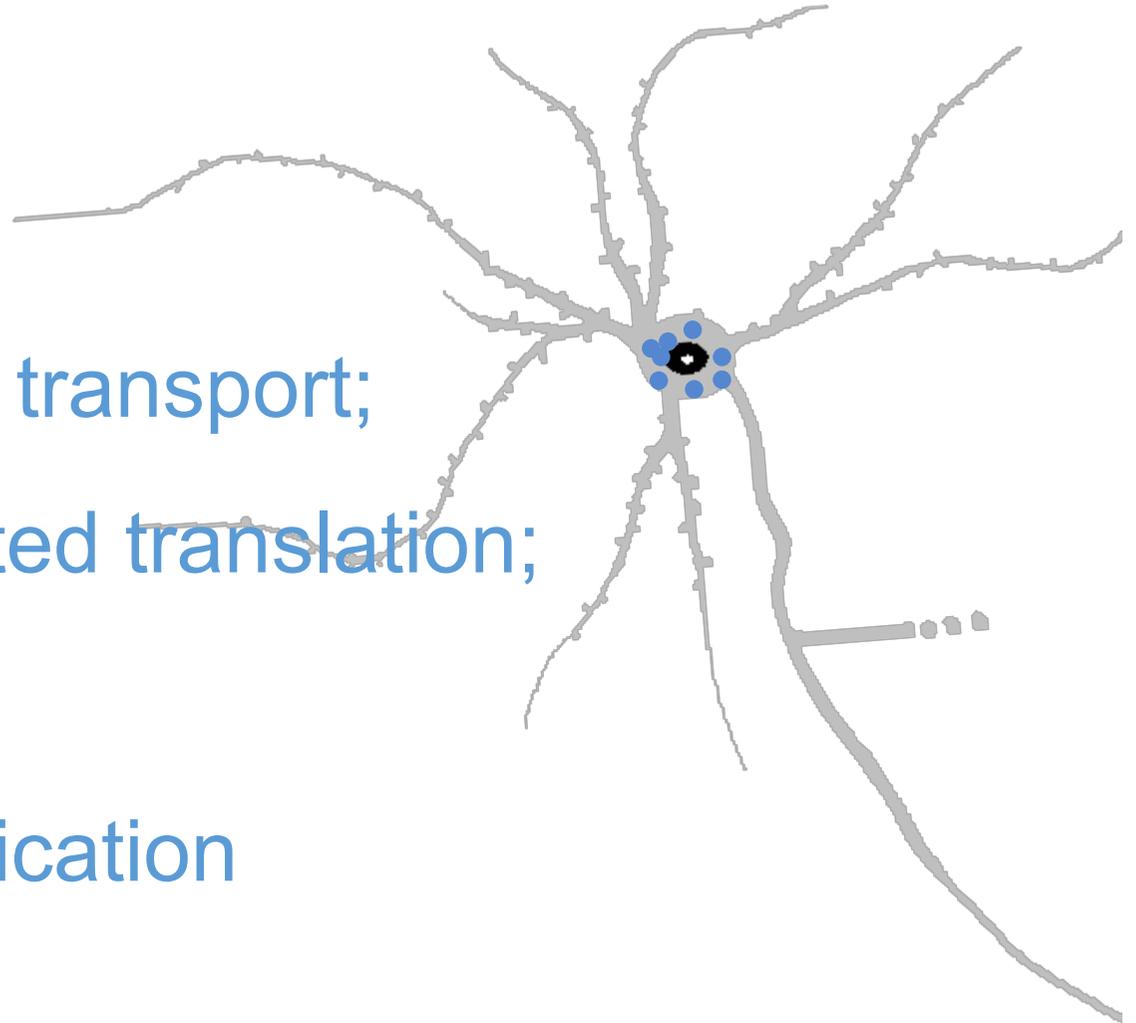
## Artificial RNP



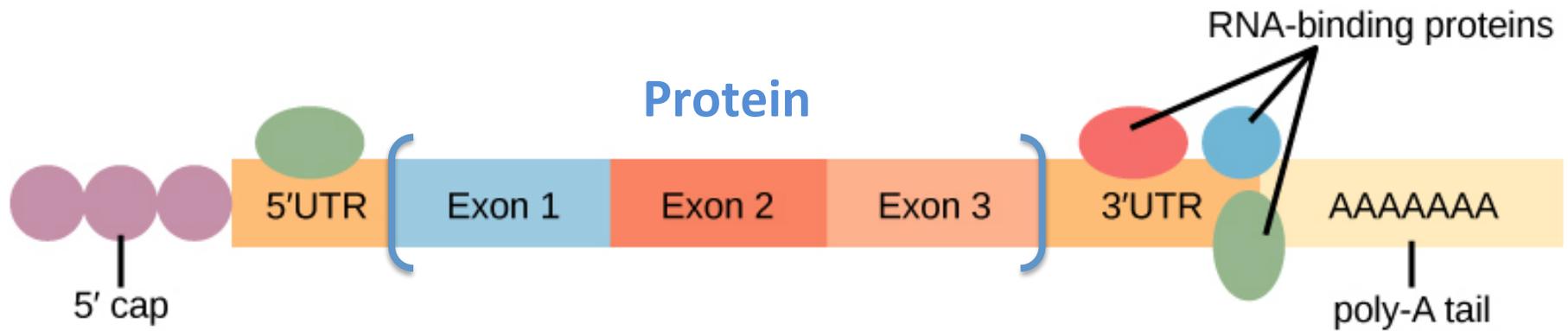
Submitted, in  
collaboration  
with Drs. Zoher  
Gueroui,  
Hirohide Saito

We have learnt 4 cellular strategies :

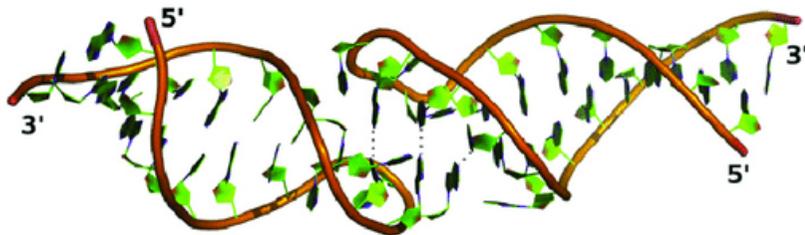
1. RNA signals for transport;
2. Spatially restricted translation;
3. High mobility;
4. Chemical modification



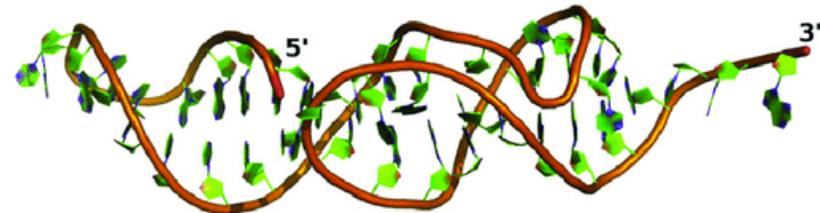
# Strategy 1: To use local structural elements to target RNA into dendrites and synapse



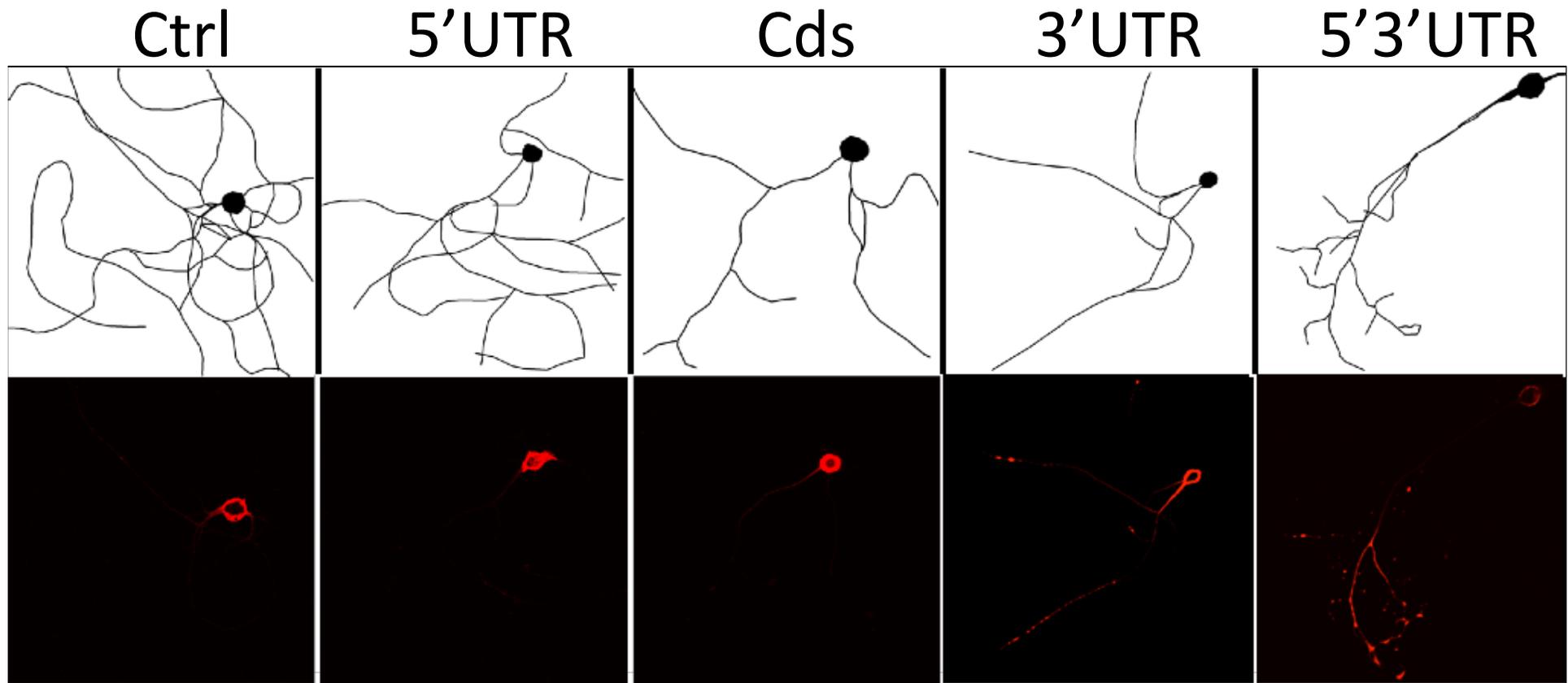
Kissing loop



Pseudoknot



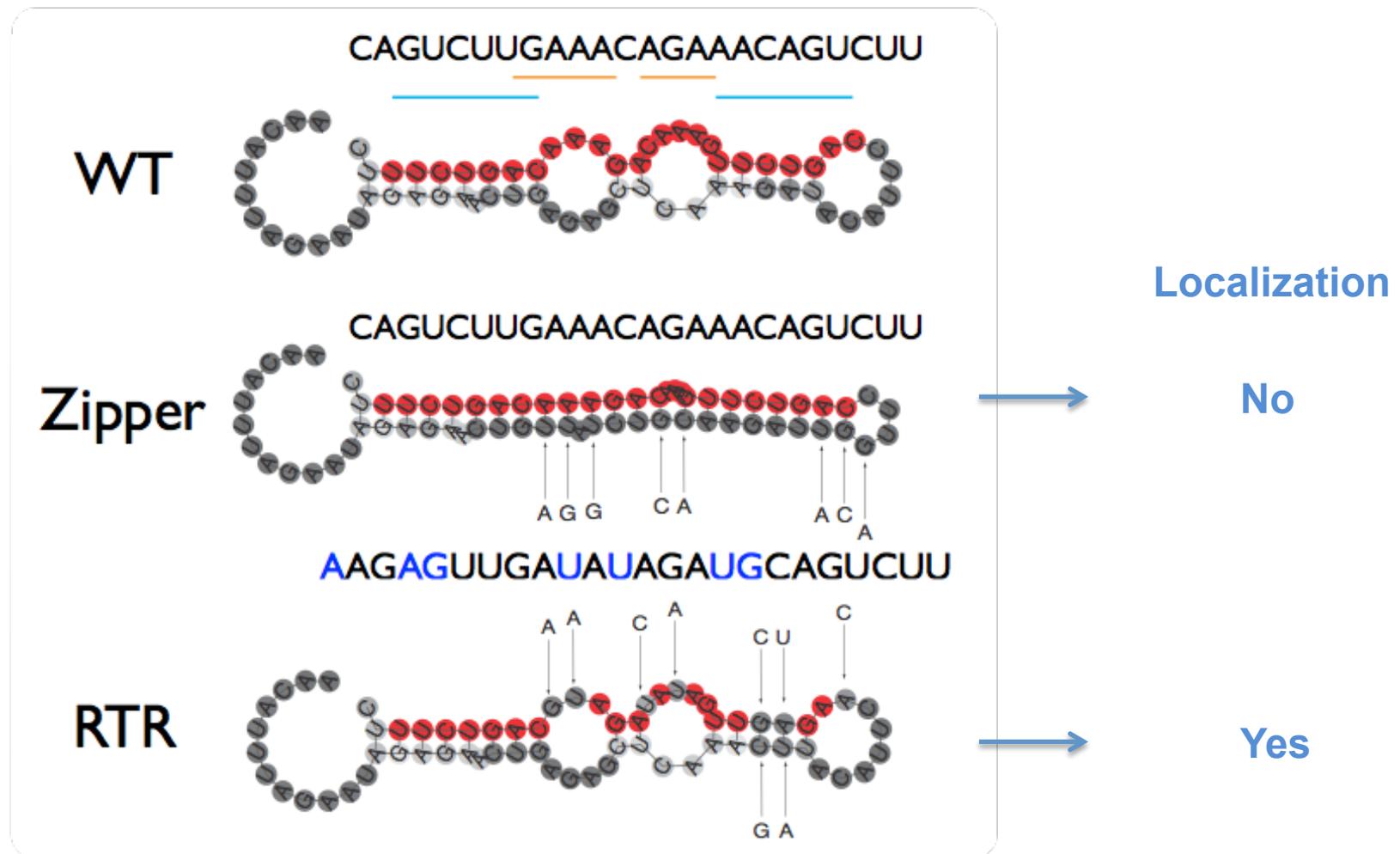
# Localization elements in UTRs



Wang et al., Science, 2009



# Local secondary structures are important for RNA localization

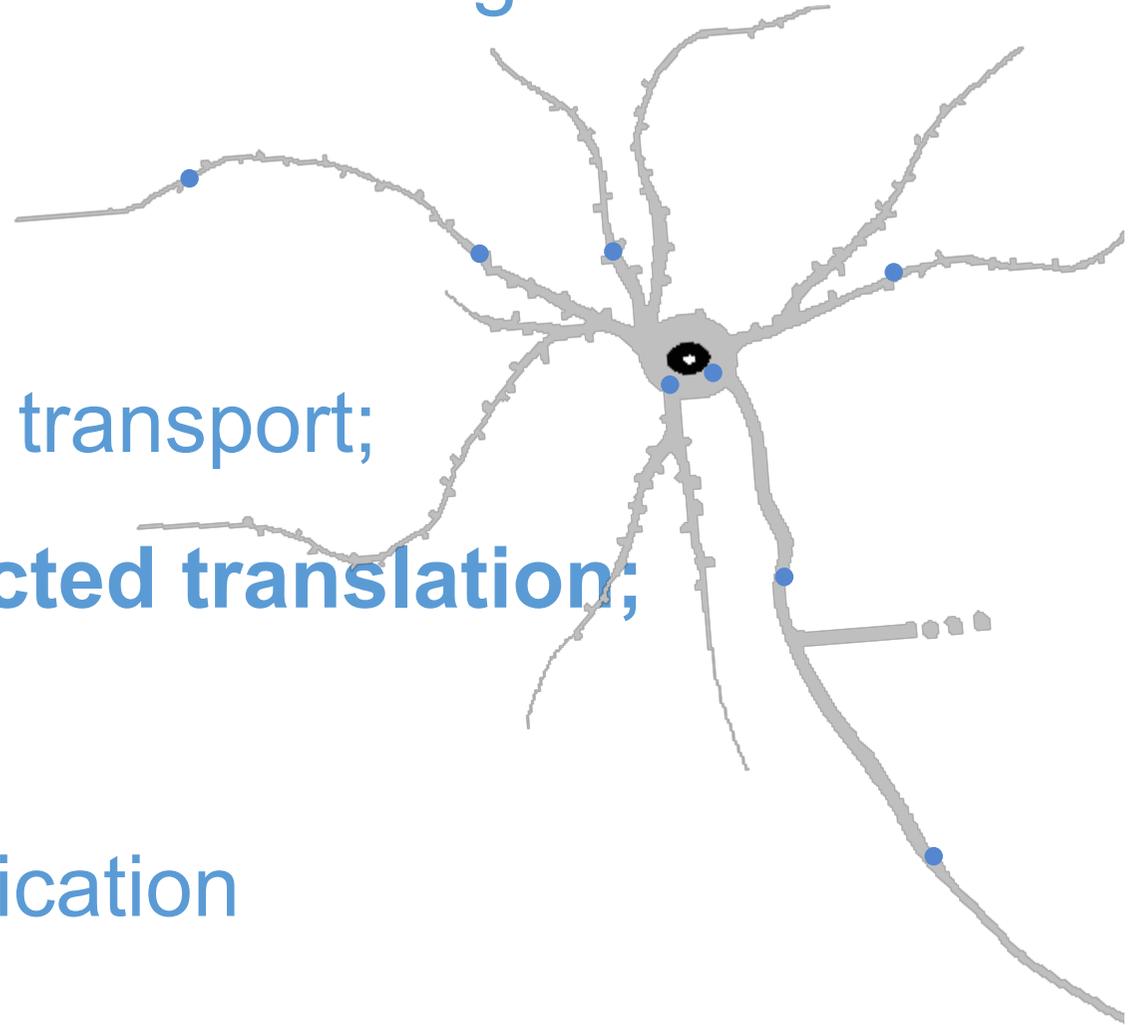


Meer\*, Wang\* et al., PNAS, 2012 (equal contribution)



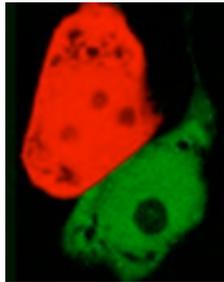
We have learnt **4** cellular strategies :

1. RNA signals for transport;
- 2. Spatially restricted translation;**
3. High mobility;
4. Chemical modification

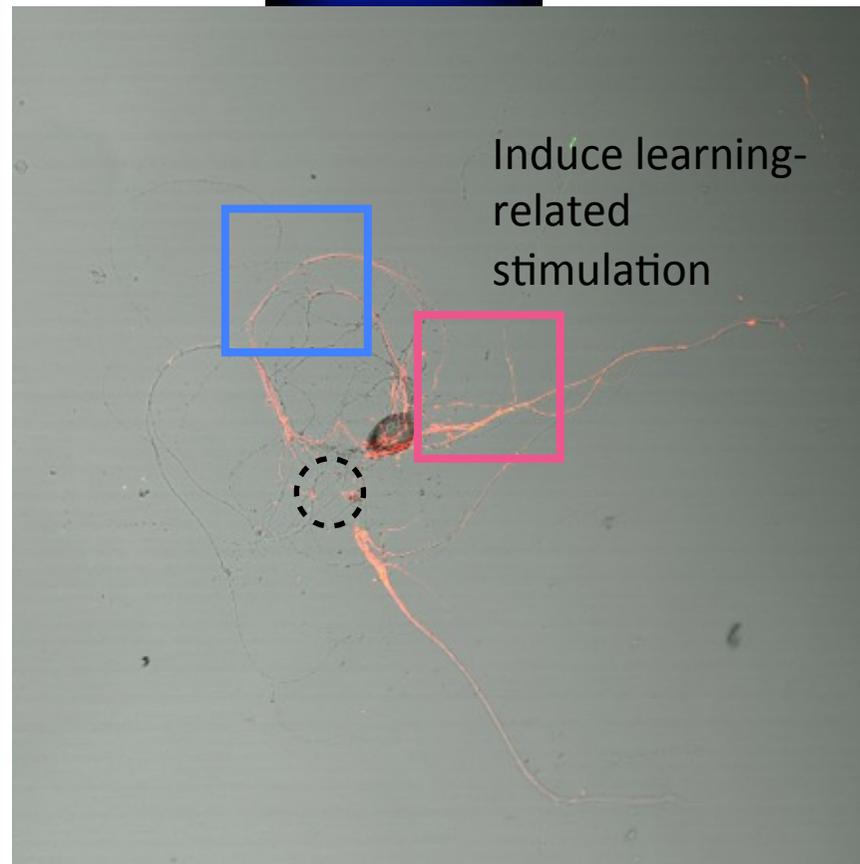
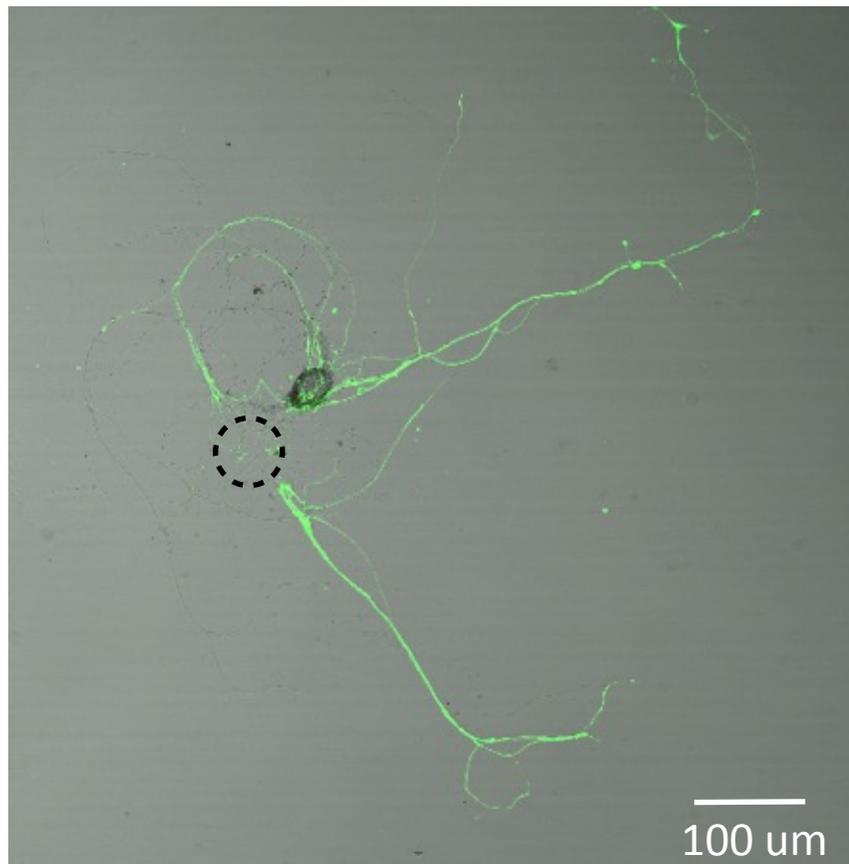


## Strategy 2: Spatially restrict protein synthesis at synapses in response to specific stimuli

UV



Pre UV

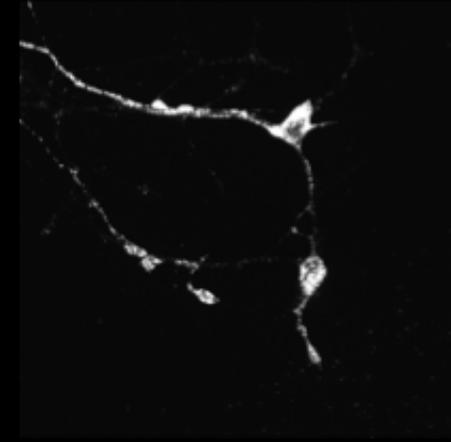
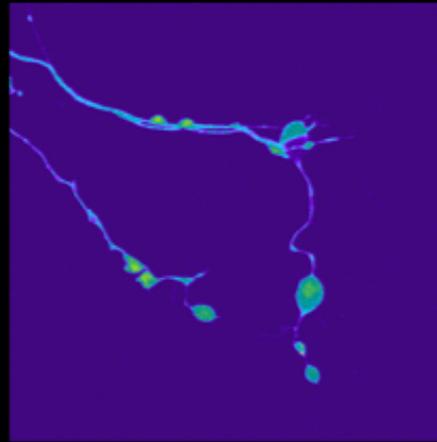


# Learning-induced protein synthesis is restricted to stimulated synapses

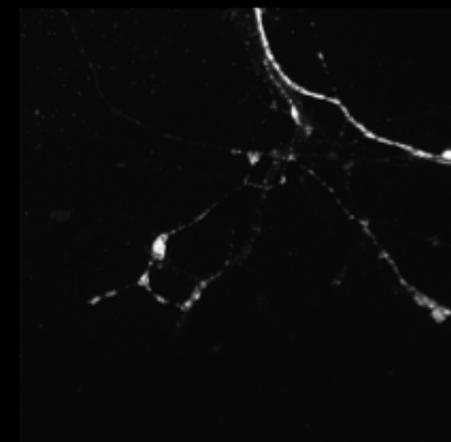
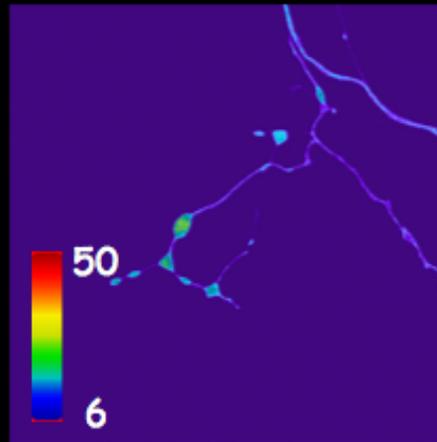
Memory induction  
(serotonin)

RNA

Stimulated



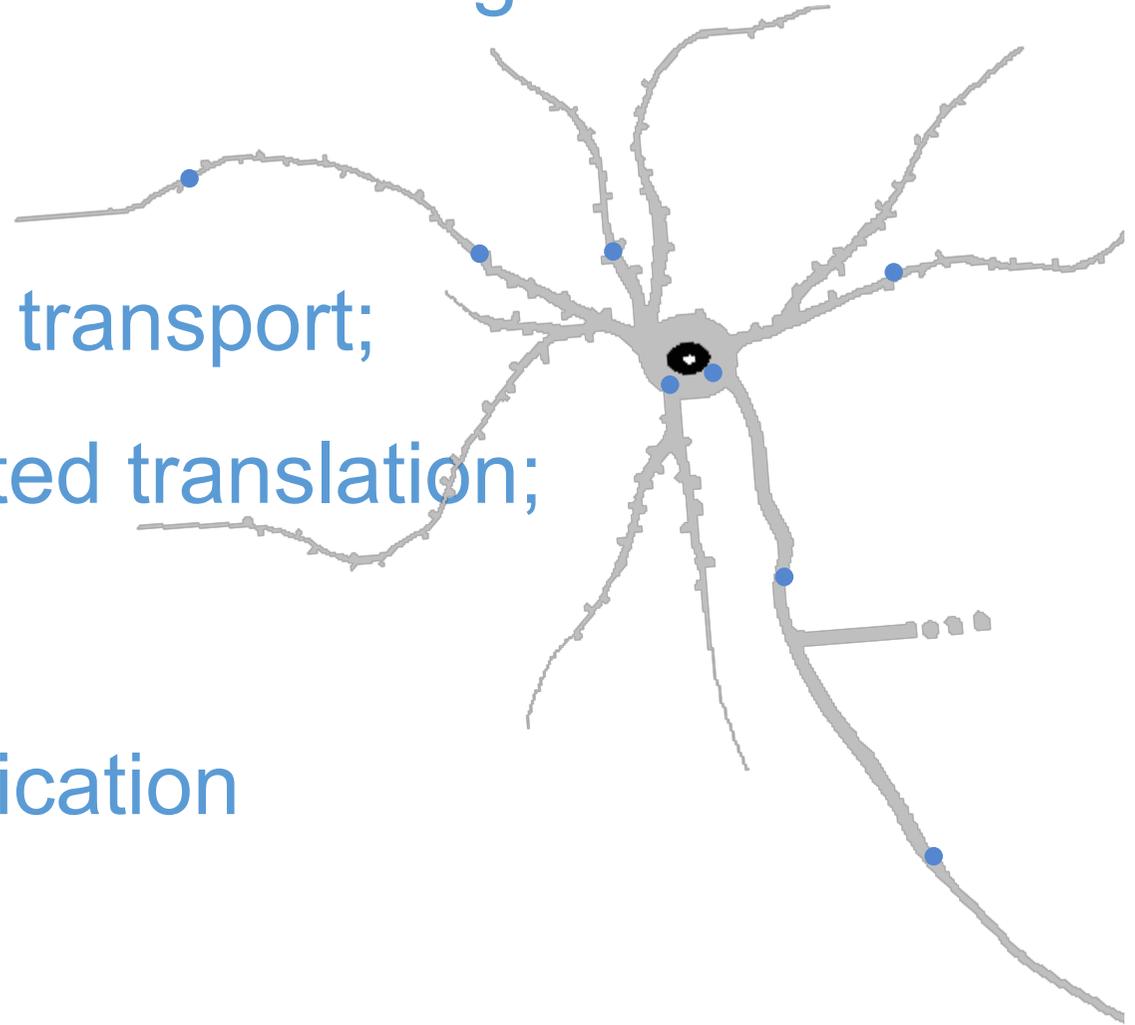
Unstimulated



Wang et al., *Science*, 2009

We have learnt **4** cellular strategies :

1. RNA signals for transport;
2. Spatially restricted translation;
- 3. High mobility;**
4. Chemical modification



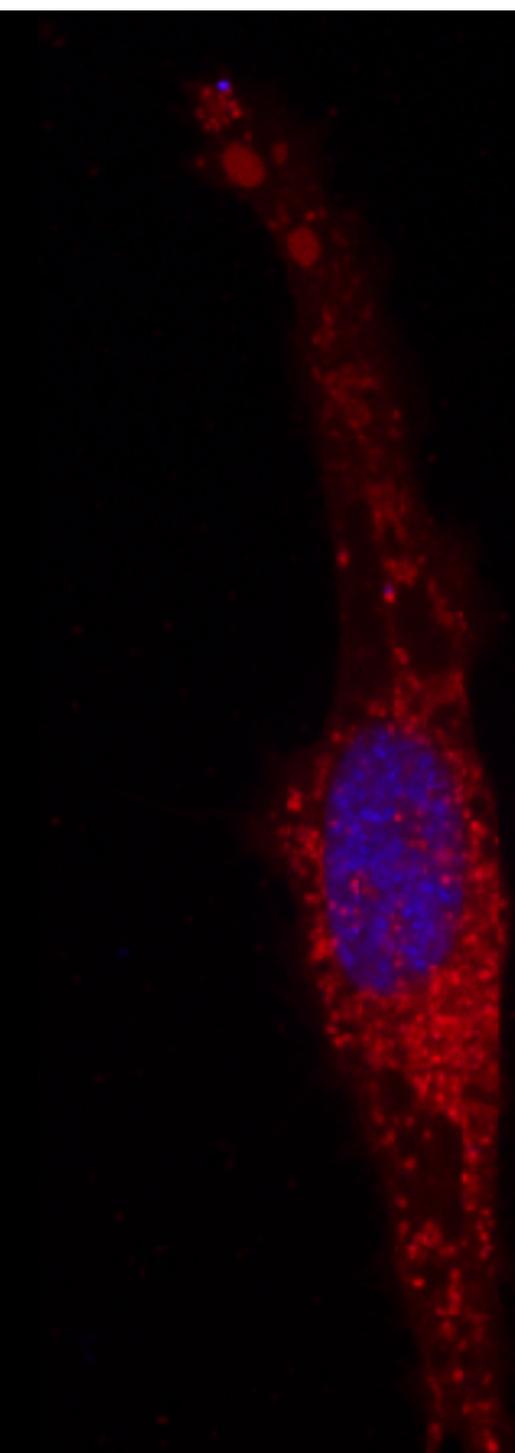
# Mobile RNA

00:00

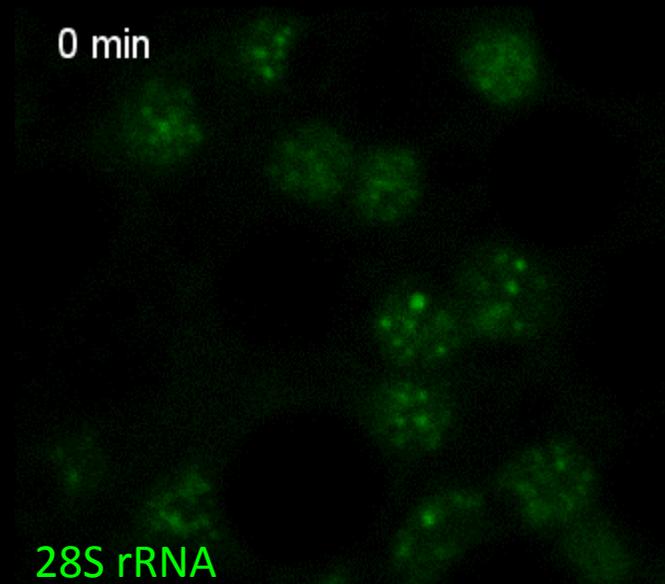
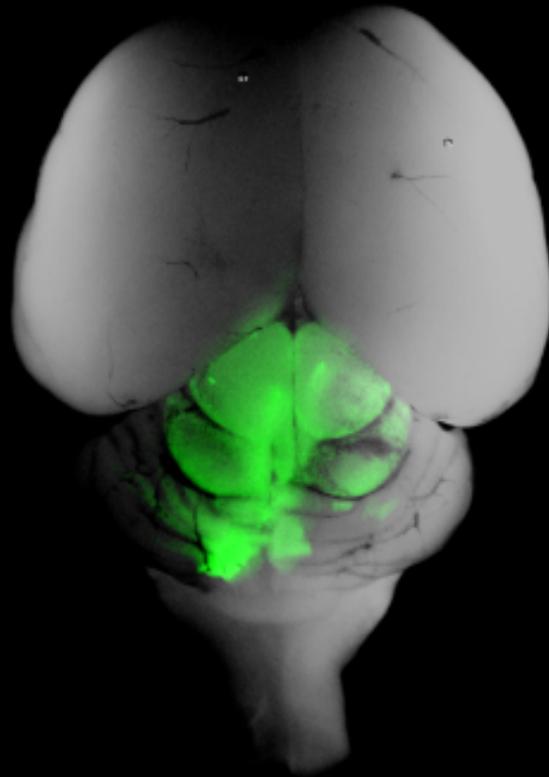
$\beta$ -actin mRNA Nucleus

Sato et al., 2014

10 $\mu$ m

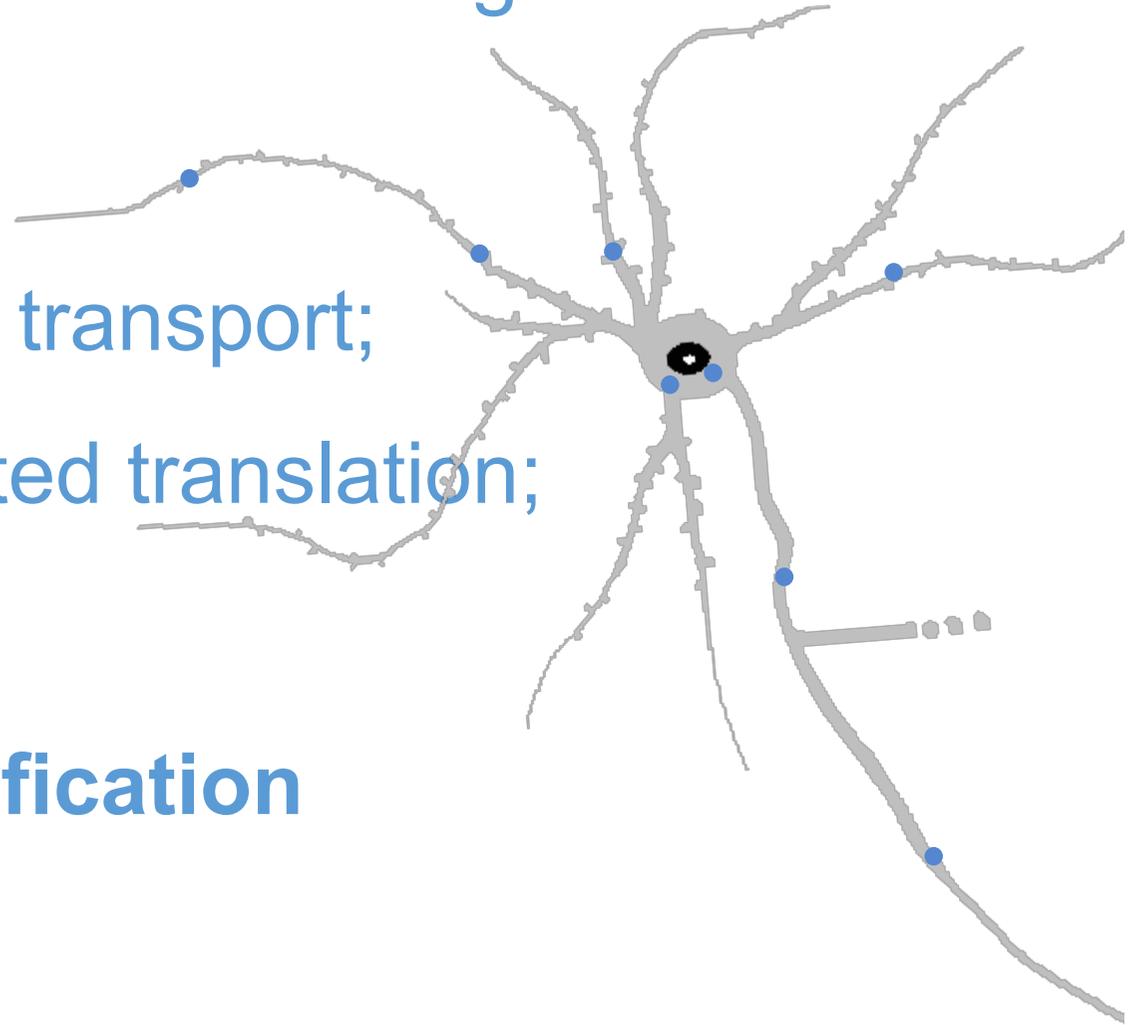


# Visualizing endogenous RNA in acute brain slices

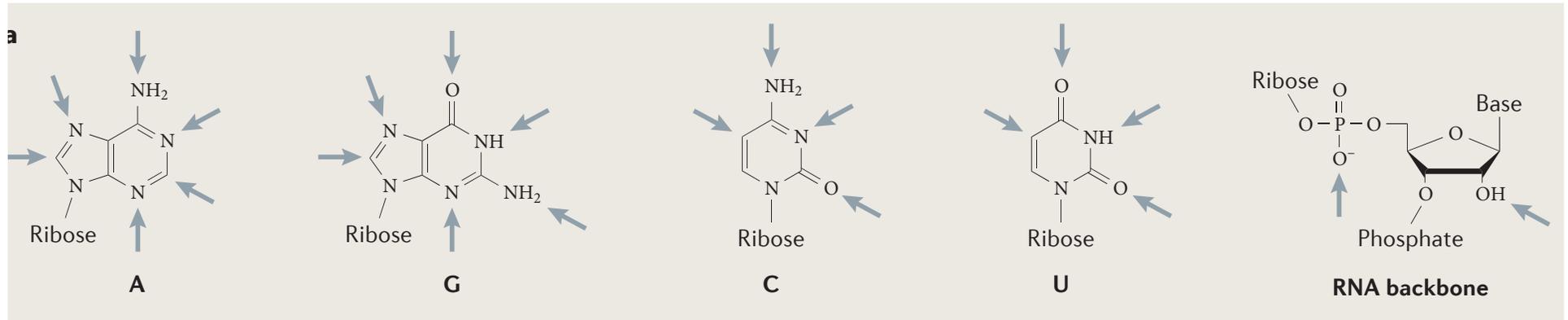


We have learnt **4** cellular strategies :

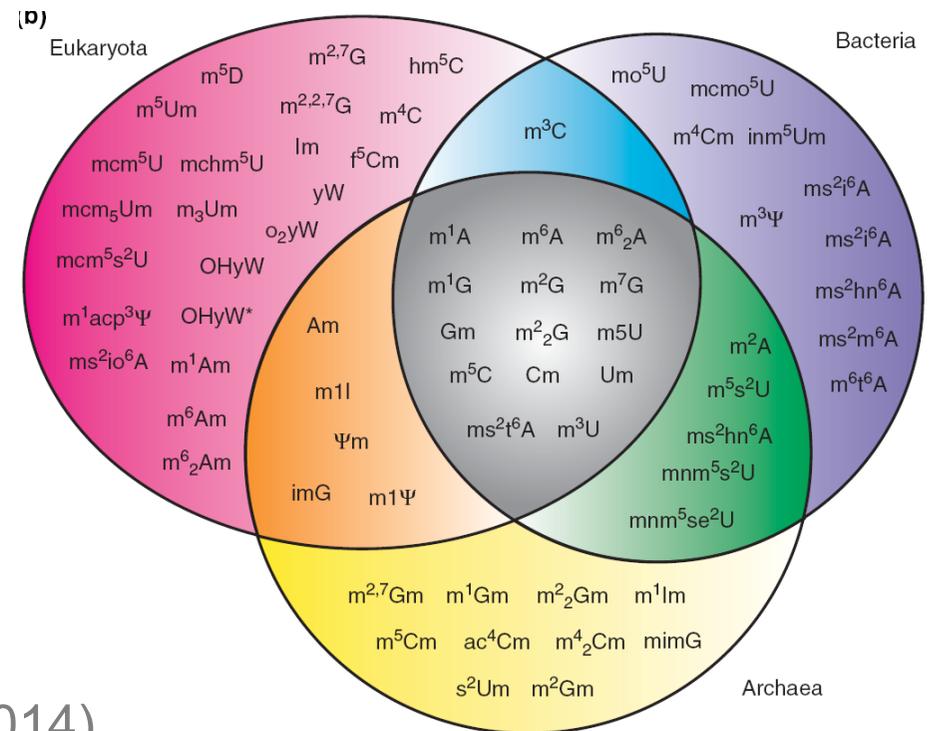
1. RNA signals for transport;
2. Spatially restricted translation;
3. High mobility;
4. **Chemical modification**



# A, U, C, G, >150 natural RNA modifications



More flexibility to our genetic program

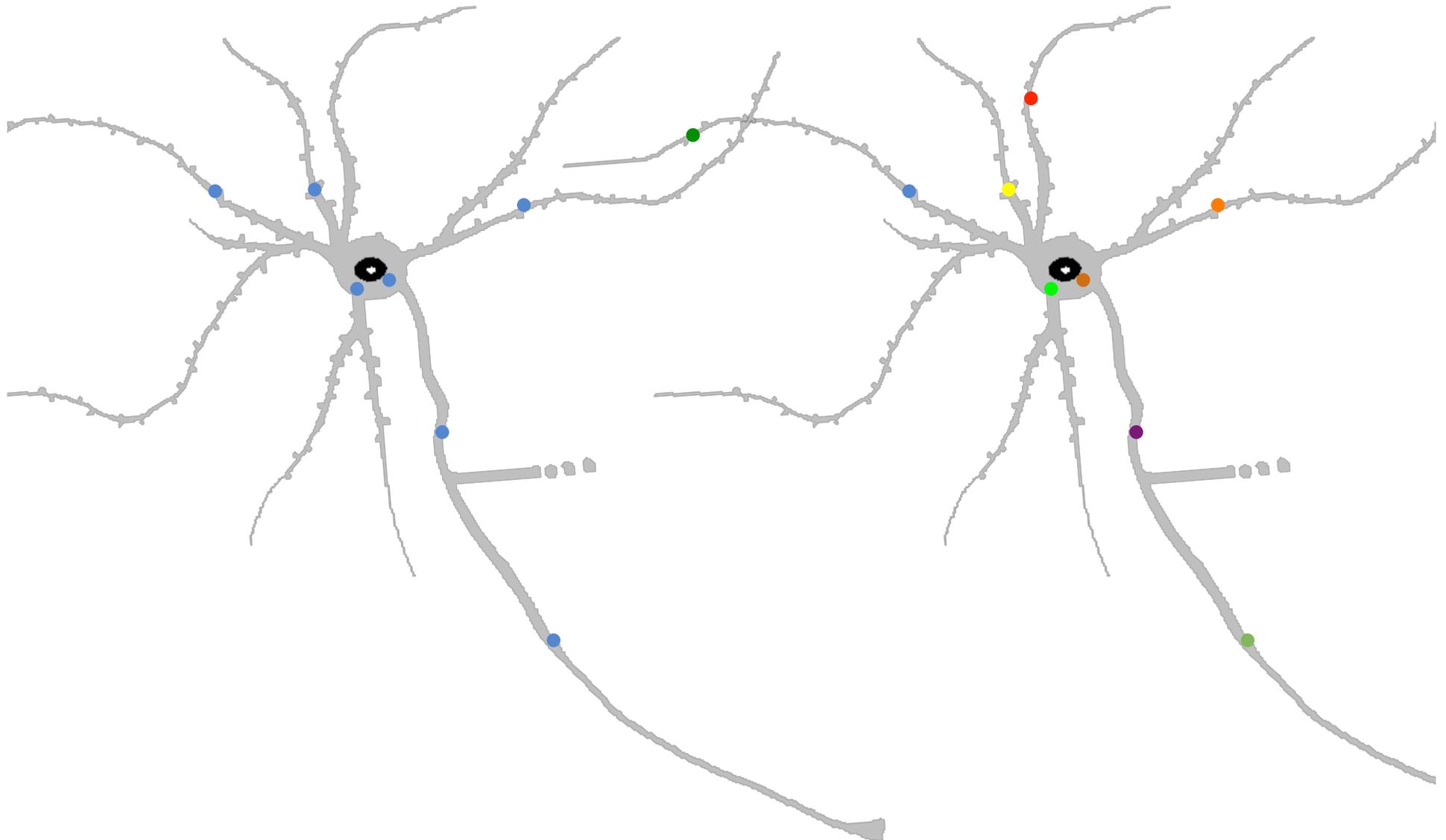


(Motorin and Helm, 2011; Fu et al., 2014)

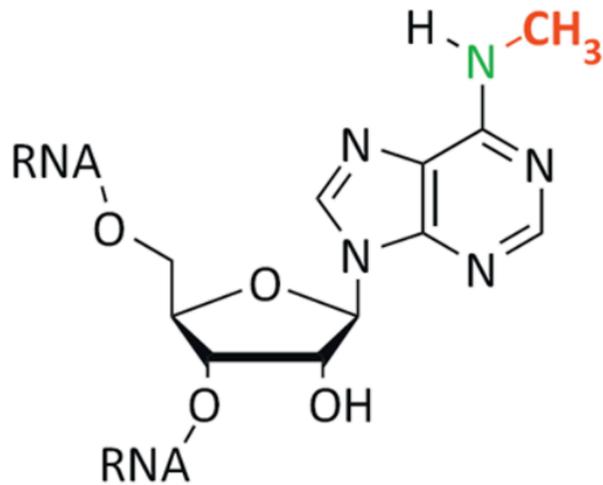
# Chemically decorated synaptic transcriptome?

Transcriptome

“Epi”transcriptome

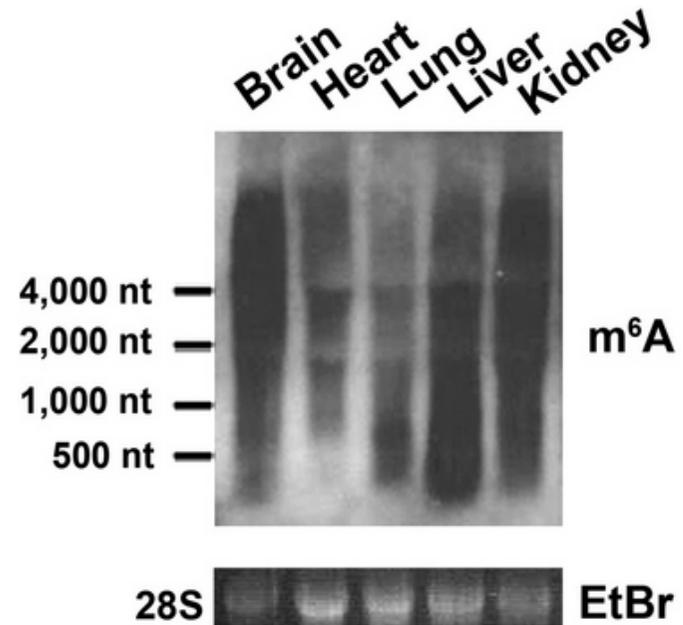


# m<sup>6</sup>A: the most abundant internal modification of mRNA in mammals



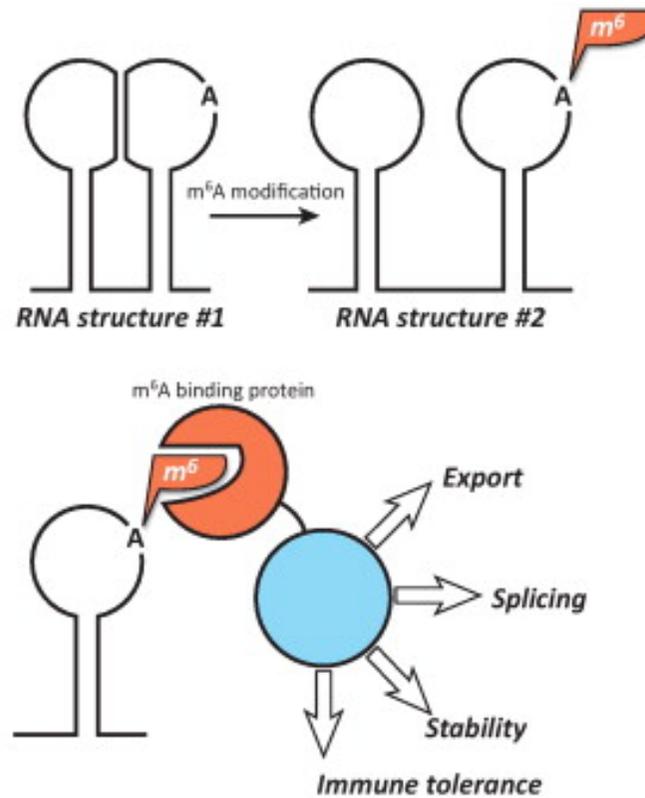
N6-methyl-adenosine (m<sup>6</sup>A)

0.1-0.4% adenosines  
1/3 transcriptome



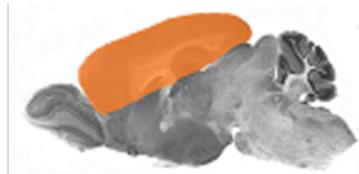
Dominissini et al., 2012; Meyer et al., 2012; Falkenberg and Johnstone, 2014; Wang et al., 2017; Zhao et al., 2017

# $m^6A$ impacts RNA metabolism and function

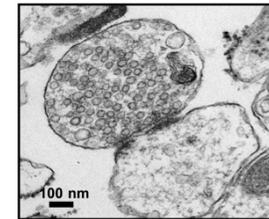


# Eight libraries from HOM and SYN

HOM



SYN



HOM\_input

HOM\_IP

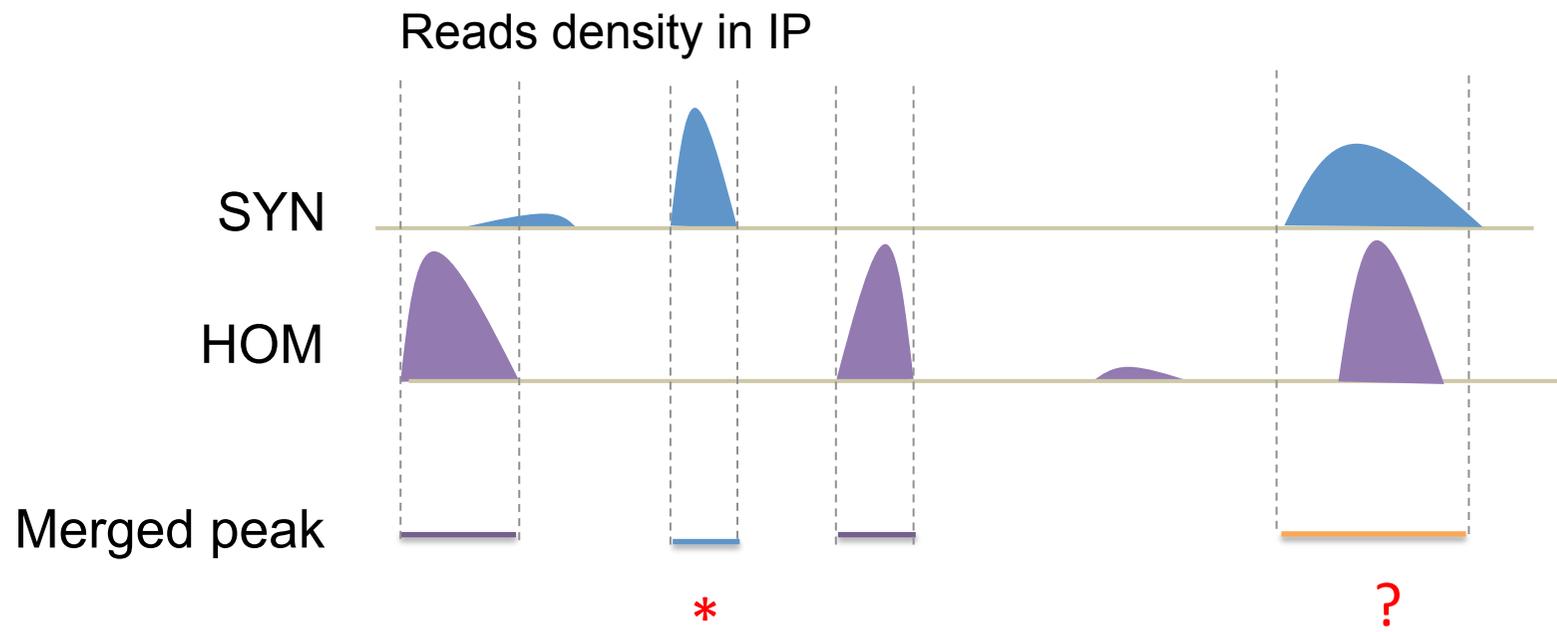
SYN\_input

SYN\_IP



Ion torrent sequencer

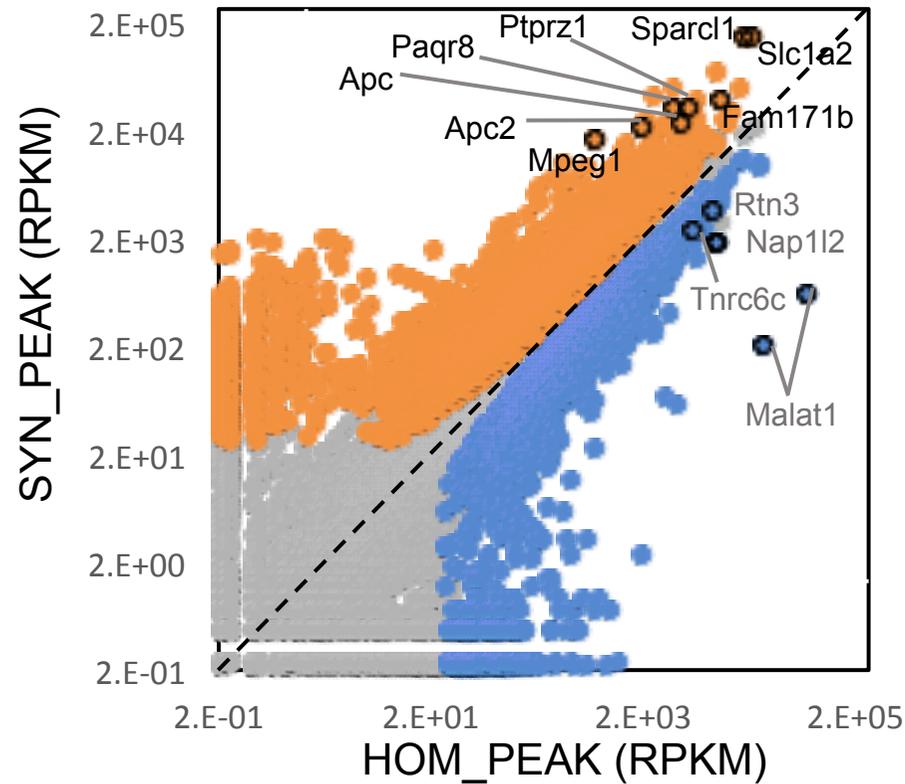
# Defining synaptic m<sup>6</sup>A epitranscriptome



Systematic comparison

# A synaptic $m^6A$ epitranscriptome (SME) 4,469 methylation sites on 2,921 genes

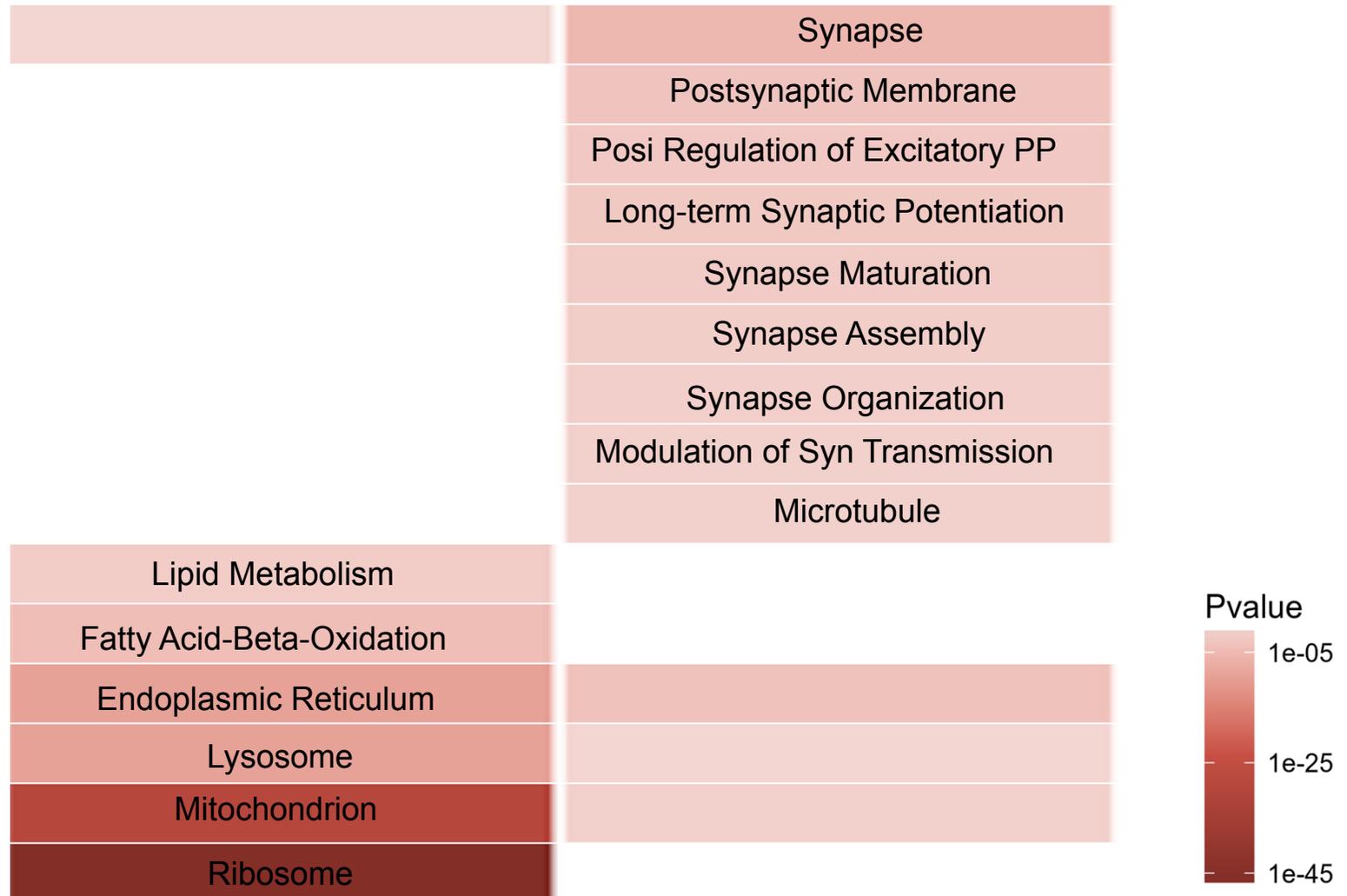
$m^6A$ -seq



# m<sup>6</sup>A methylation functionally partitions transcripts at the synapse

**Hypomethylated (n=1412)**

**Hypermethylated (n=1266)**



## 空間と時間、そして素粒子を知れば全宇宙を説明できる

「宇宙のすべての現象は、たった一つの数式であらわすことができます。こう話すのは、大阪大学で素粒子物理学を研究している理論物理学者の橋本幸士教授です。

右下に書いた数式が、その「宇宙のすべてを支配する数式」です。この数式を使って、物体がどのように運動するのかや、物体どうしにどのように力がはたらくのかといった、宇宙のほとんどすべての現象を原理的に計算することができるといいます。

### 数式は、「宇宙全体」の足し合わせであらわされている

「この数式は「素粒子の標準模型の作用」とよばれるものです。より正確には、「素粒子の標準模型の作用に、重力の作用を加えたもの」です（橋本教授）。この名前からわかるように、宇宙のすべてを支配する数式は「素粒子」と「重力」についての数式なのです。

物質は細かく分割していくと、それ以上分割できないと考えられている最小の粒にいきつきます。その粒を「素粒子」といいます。また現代物理学では、実は、力のはたらきもすべて力を伝える素粒子を使って説明できることがわかっています（あとで詳しく紹介します）。素粒子や力の法則をまとめた理論を「標準模型」といいます。

また、重力の正体は、空間（と時間）のゆがみだと考えられています（次ページで詳しく紹介します）。空間と時間の性質と、素粒子のふるまいがわかれば、原理的には、宇宙のすべてがわかるといえるわけです。そして、宇宙のすべてを支配する数式は、それらをすべて網羅しているのです。

この数式の「=」のすぐ後の部分を見てみましょう。「 $\int d^4x$ （インテグラル ディー 4乗 エックス）」という記号は、その後ろにつづく数式（関数）を、宇宙全体で「足し合わせる（積分する）」ことを意味しています。宇宙全体とは、3次元空間（縦、横、高さ）と時間のすべてです。このことから、この数式が「宇宙のすべてを支配している」ことが、なんとなく感じられるのではないのでしょうか。

この数式を細かく厳密に理解するには、大学院で学ぶ知識が必要ですが、ここから、この数式の各項や記号がどんな意味をもっているのか、そのおおまかな内容をつづつ「鑑賞」していくことにしましょう。

「たった一つの数式で宇宙のすべてをあらわせる」りんごのような物体は、物質の最小単位である「素粒子」からできています。また、りんごが木から落ちるといった現象は、「舞台」となる「空間」の中でおきています（イラスト上）。このことから、素粒子のふるまいや、空間（と時間）の性質がわかれば、宇宙のすべてを説明することが原理的にはできるわけです。そして、それを一つの数式であらわしたのが「宇宙のすべてを支配する数式」です（イラスト下）。



$$S = \int d^4x \sqrt{-\det G_{\mu\nu}(x)}$$

$$- \frac{1}{4} \sum_{j=1}^3 \text{tr} (F_{\mu\nu}^{(j)}(x))^2$$



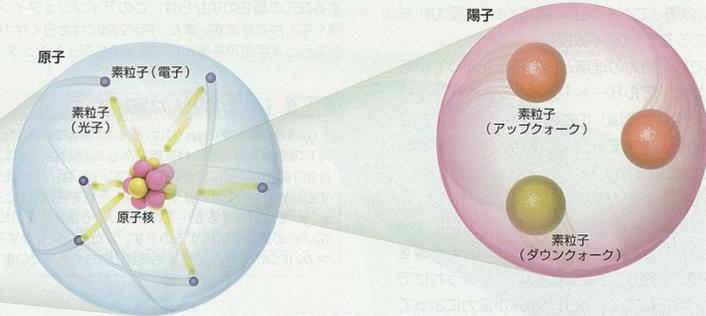
これまで世界中の物理学者たちが宇宙の法則を明らかにしてきました。「宇宙のすべてを支配する数式」は、そうした皆さんの物理学者たちが築き上げてきた叢書の結晶といえるものなんですよ。

第2項 (30～31ページ)

### 発展 「作用」は、物理法則をあらわす「方程式」のもととなる数式

宇宙のすべてを支配する数式は、「素粒子の標準模型の作用に、重力の作用を加えたもの」です。この「作用」という言葉は、日常使われる作用という言葉とは意味がことなり、物理学に登場する、ある意味をもった数式をあらわす専門用語です（英語では action といいます）。

この作用とよばれる数式は、物体の運動などについての法則（運動方程式）を導き出すもととなる数式です。作用に対して、「最小作用の原理」とよばれる、あるルールにしたがって数学的な操作を行うと、さまざまな運動方程式を導くことができるのです。



空間と時間、素粒子を知れば、宇宙のすべてを説明できる！

$$\left\{ \frac{1}{16\pi G_N} (R[G_{\mu\nu}(x)] - \Lambda) \right.$$

第1項 (28～29ページ)

$$+ \sum_f \bar{\psi}^{(f)}(x) i \not{D} \psi^{(f)}(x)$$

第3項 (32～33ページ)

$$+ |D_\mu \Phi(x)|^2 - V[\Phi(x)]$$

第4項、第5項 (34～35ページ)

$$\left. + \sum_{g,h} (y_{gh} \Phi(x) \bar{\psi}^{(g)}(x) \psi^{(h)}(x) + h.c.) \right\}$$

### 宇宙のすべてを支配する数式

「 $S=$ 」ではじまる左の数式が、「宇宙のすべてを支配する数式」です。数式の中にある、 $\psi(x)$ などの $(x)$ がついた記号は、 $x$ の「関数」であることを意味しています。この $x$ は、場所や時間をあらわして、三つの空間座標 $x, y, z$ と時間 $t$ をひとまとめに省略して書いたものです。 $\psi(x)$ は、実際には $x$ を用いて書かれる数式になっていて、 $\psi(x)$ は、それを記号であらわしたものです。宇宙のすべてを支配する数式は、このような関数の集まりでできているのです。

第6項 (36～37ページ)

# Acknowledgements

## Wang Lab

WanTing Hong  
Takayuki Ohara  
Hiroki Umeshima  
Youqi Liao  
Belinda Goldie  
Yoshie Fujiwara  
Ikumi Oomoto  
Momoe Sukegawa  
Soaad Galal  
Roihni Roy

## iCeMS

Astellas Foundation  
Tomizawa Award  
Hirose Foundation

## UCLA

Matteo Pellegrini  
Kelsey Martin  
Daria Merkejev

## U Newcastle

Murray Cairns

## U Tokyo

Akimitsu Okamoto  
Gosuke Hayashi  
Tsutomu Suzuki  
Takeo Suzuki  
Shunpei Okada

## NBRC India

Sourav Banerjee

## CiRA

Hirohide Saito

## ENS

Zoher Gueroui

## RIKEN

Tomomi Shimogori

## U Hong Kong

Kwok-On Lai

## Kyoto U

Yasunori Hayashi  
Kotaro Mizuta  
Kei Iida

