



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                      |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Structural Analysis of Nuclear Stress Bodies Formed in Response to Thermal Stress [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | アリ, マホモド カミス マホモド                                                                                                                                    |
| Description         | 配架番号 : 2495                                                                                                                                          |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                |
| Degree Name         | 博士(医学)                                                                                                                                               |
| Dissertation Number | 甲第13719号                                                                                                                                             |
| Issue Date          | 2019-09-25                                                                                                                                           |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/75800">https://hdl.handle.net/2115/75800</a>                                                                    |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>                                              |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                      |
| File Information    | Mahmoud_Khamis_Mahmoud_Aly_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                         |



## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（医 学）    氏名    マホモド カミス    マホドモ    アリ

|       |    |     |    |    |
|-------|----|-----|----|----|
|       | 主査 | 教授  | 畠山 | 鎮次 |
| 審査担当者 | 副査 | 准教授 | 矢部 | 一郎 |
|       | 副査 | 教授  | 小林 | 弘一 |
|       | 副査 | 教授  | 大場 | 雄介 |

## 学 位 論 文 題 名

Structural analysis of nuclear stress bodies formed in response to thermal stress (熱ストレスに応答した核内ストレス体の構造解析)

本学位論文は、熱ストレスによって発現誘導される HSATIII lncRNA を土台にさまざまな RNA 関連因子が集約して形成される非膜性構造体・核内ストレスボディ (nSB) の構造に関する 2 つのサブテーマからなる。いずれも nSB 精製画分のプロテオミクス解析によって同定されたタンパク質因子の詳細な機能解析として実施されたものであり、1. HSATIII lncRNA の m6A 化を通して nSB が m6A RNA 修飾因子を高度に濃縮していること、2. HSATIII を骨格とした nSB には構成タンパク質が異なる 2 種類の nSB が存在することを示したものである。研究手法は、RNA-タンパク質複合体単離などの生化学実験、超解像顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡を用いたイメージング実験、遺伝子導入やサイレンシングなどの分子生物学実験など多岐にわたるものである。本研究によって得られた知見は、ストレス応答機構、lncRNA 機能、および非膜性構造体機能に関する新たな知見を提示するものである。

審査にあたって、副査の矢部准教授より、nSB は中枢神経系で形成されるのか、また類似のリピート RNA によって形成される nSB と SCA31 foci の関係についての説明が求められた。またこれらに関係する核酸や TDP43 抗体を神経変性疾患治療に用いることの有用性について質問があった。申請者は、まず nSB が霊長類特異的な構造体であることから通常マウスを用いて実施される生理学的な観察はこれまであまり行われていないこと、また nSB の機能については所属研究室において、細胞内の RNA メチロームへの影響、さらには制御因子のリン酸化を通じたスプライシング制御に関わっていることが最近明らかにされたため、nSB で明らかになった機能が SCA31 においても適用できるかを今後検討していきたいこと、またこれらの解析によって、nSB 機能を担う lncRNA 分子や TDP43 のような制御因子が神経変性疾患の治療標的になる可能性を説明した。

次に副査の小林教授から、nSB 形成を誘導するストレス種について、2 種類の nSB の存在形態と形成経路について、また nSB が霊長類特異的であることの意味についての質問があり、申請者は、これまでの報告では重金属、浸透圧、UV などの他のストレスも nSB 形成を誘発するが熱ストレスが最も誘発効率がよいこと、2 つの nSB のうち、nSB-M は少数しか存在しないためにもう片方の nSB-S は単独で存在することが多いこと、またそれぞれの nSB の骨格となる HSATIII は複数のクロマチン座位から転写されるので異なるクロマチン座位由来の HSATIII が 2 つの nSB を形成している可能性があること、また nSB は霊長類特異的な生理現象への関与が考えられるが、真の意義の解明は今後の課題であることを回答した。

さらに副査の大場教授より、nSB の観察に超解像顕微鏡を用いることによって新たに明らかになった事象、nSB の細胞内機能における m6A 修飾のダイナミクス（特に後期回復期におけるメチル化）について、さらに HSATIII をノックダウンした際になぜ nSB が消失するのか、といった質問がなされた。これに対し申請者は、超解像顕微鏡（SIM）を用いた解析によって各 nSB の形態の違いなどの詳細な情報を得ることができたこと、nSB は明白な細胞表現型には影響を与えないように見えるが、RNA のメチロームやスプライシングといった RNA レベルの発現制御に大きな影響を与えていることがわかっていること、m6A 修飾は可逆的でダイナミックなものであること、またストレス回復期後期には nSB に代わって核小体で m6A 化した rRNA 前駆体が蓄積し始めること、また HSATIII は nSB の構造骨格として働く RNA であることを回答した。

最後に、主査の畠山教授からは、まず nSB 形成の分子機構についての説明が求められ、申請者は HSATIII の転写レベルでの熱ストレス誘導から nSB 形成に至る過程を時系列的に説明した。次に 2 つの nSB の各機能の違いについて、また TDP43 がメチル基のライターとして働く可能性についての質問があり、申請者は、nSB 機能の違いについては今後の課題であり、現時点では異なる核内イベントに関与している可能性しか挙げられないこと、TDP43 についてはメチル転移酵素の触媒部位が存在しないのでライターそのものとして働くよりは、酵素と HSATIII lncRNA とのアダプターとして働いていることが考えられることを回答した。

上記のような各審査員からの質問に対して、申請者は十分な文献的知見と大局的視点をもって適切に回答した。また本研究成果の意義、今後解明すべき点を明確に理解し、次段階の研究指針や応用の方向性も十分把握していた。審査員一同は、これらの成果を高く評価し大学院過程における研鑽や取得単位なども併せて、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。