HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	低分子化合物を用いた核内構造体の形成メカニズムに関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	大峡, 咲希
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第15781号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92025
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Saki_Ohazama_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）氏　名　　大　峡　咲　希

	主　査	教　授	中　川　真　一
審査担当者	副　査	教　授	前　仲　勝　実
	副　査	准教授	黒　木　喜美子
	副　査	講　師	米　田　宏

学 位 論 文 題 名

低分子化合物を用いた核内構造体の形成メカニズムに関する研究

博士学位論文審査等の結果について（報告）

近年、非膜オルガネラと呼ばれる蛋白質やRNAが多価の相互作用を介して形成する細胞内構造体が細胞の機能制御に重要であることが明らかとなり、その形成制御に関する研究が盛んに行われている。多くの場合、非膜オルガネラは細胞の状態に応答して形成される一過性の構造であり、現状では研究の焦点はその形成過程に集中しており、消失過程を詳細に研究した報告は少ない。その理由として、特定の非膜オルガネラの誘導は化合物や人工遺伝子など様々な手段が利用可能であるのに対し、消失の誘導には十分な同調性や時間分解能を確保して解析できるツールが少ないことに由来する。一方で、非膜オルガネラが一過的な構造である以上、その構成分子が必要なタイミングで非膜オルガネラから解離することも細胞内プロセスの持続性を維持するために必要であり、集合した分子の解離メカニズムが本質的に重要であることは明らかである。また、解離メカニズムの特徴として、集合が起こってから初めて解離が起こる順序の厳密さが挙げられる。しかし、この分子の動きの順序を担保する解離メカニズムは、大半の構造体で未解明のままである。本研究ではこの未解明の課題である、非膜オルガネラからの構成分子の解離メカニズムについてSMN遺伝子を対象として取り組んでいる。

SMN遺伝子の変異による脊髄性筋萎縮症（SMA）は乳幼児の死亡原因として最も多く、多くの研究がなされている。しかし変異がアミノ酸置換を起こす場合、変異によるSMNの機能変化と発症機序の関係には依然として不明な点が多い。SMN蛋白質の主要な機能はスプライソソームを構成する蛋白質-RNA複合体snRNPの生合成過程のシャペロンであり、細胞質でsnRNPの骨格となるsnRNAにGemin複合体の一員として結合し、snRNAに必要な修飾や結合蛋白質を誘導した後、核移行して核内に存在する非膜オルガネラである「カハール体」に集合する。snRNPはこのカハール体でさらにRNA修飾やsnRNP同士の会合を経てスプライシングを触媒できる機能的なスプライソソームとして成熟する。一方、SMNはsnRNPと離れた後は細胞質に戻り、次のsnRNP生合成サイクルでシャペロンとして再利用されると考えられているが、そのためにはカハール体から解離する必要がある。SMNがカハール体に集合する分子機構はカハール体の主要構成分子Coilin蛋白質との直接の相互作用によることが知られているが、Coilinと結合したSMNがどのようにしてCoilinとの相互作用を断ち切ってカハール体から解離するのかは明らかではなかった。

本論文は、このような状況にあるSMNのカハール体への会合と解離の過程

について、独自のツール化合物群を用いて、カハール体の形成・消失を薬剤で誘導するケミカルバイオロジーのアプローチに超解像顕微鏡やライブイメージングの細胞生物学的手法を組み合わせることにより、カハール体からの SMN の解離機構の研究を行った。そして、SMN の解離がカハール体に集積した SMN の自発的な多量体形成によるという新たなモデルを提唱するに至った。さらに、この SMN の多量体形成ドメインの機能を失う SMA 原因置換変異体では解離が起こりにくく異常な構造体を形成する様子を捉えることにも成功した。多量体形成不全がカハール体からの解離の抑制につながるとの観察は、多量体形成ドメインに多く見られる疾患原因変異が SMN のリサイクル不全による SMN 量の不足を引き起こし、結果的に欠損変異と同様に発症へと進むことを示唆する。また、別のツール化合物の解析から、SMN の多量体形成ドメイン周辺部が反応性アルデヒドによって修飾され SMN のカハール体への局在と解離が破綻することも本研究で明らかにした。これは細胞内レドックス環境が SMN の多量体形成能を介して SMN の再利用効率に影響する可能性を示す初めての知見である。SMA 同様に運動ニューロンの変性を主徴とする筋萎縮性側索硬化症（ALS）では、SMN 発現量と神経変性の進行に相関性が報告され、SMA と ALS の神経変性における分子機序の共通性が注目されている。ALS では発症機序に酸化ストレスの関与が報告されており、過去の報告では ALS 患者組織で本研究で見いだされた修飾型の SMN と同サイズの SMN の増加が検出されている。これを要するに、著者は、非膜オルガネラの形成、消失過程という細胞生物学の基礎的課題に取り組み、結果として疾患発症機序の理解につながる基盤的知見を開拓したものであり、この分野の研究の発展に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格のあるものと認める。