

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	三 橋 佳 奈
主 論 文 題 名				
<i>De novo</i> design of RNA-binding proteins with a prion-like domain related to ALS/FTD proteinopathies (プリオン様ドメインを持つ人工RNA結合タンパク質を用いたALS/FTD病態の検討)				
(内容の要旨)				
<p>近年原因遺伝子が次々と同定され、ALS遺伝子には共通の構造的特徴があることが分かってきた。すなわち1) RNA結合ドメインをもつ。2) プリオン様ドメインを持ち凝集性が高い。このドメインのアミノ酸配列はglycine/serine-tyrosine glycine/serine (G/S-Y-G/S) の繰り返し配列とglutamine (Q)が富むことが特徴である。3) ストレス顆粒(Stress granule: SG)の構成分子である。4) 死後脳で細胞質への局在異常を起こし封入体を形成する。従来は、それぞれの遺伝子にALS変異を導入したcDNAを用いて研究されてきたが、その毒性は一定せず、再現性が乏しく新たな実験資材が求められていた。本研究では、これらALS原因遺伝子の4つの特徴を持つアミノ酸配列を人工的に設計し、そのcDNAを培養細胞に導入することにより、人工ALSモデルを作成解析し、以下の研究結果を得た。</p> <p>1) ALS病態誘導人工遺伝子 (SYGQ-NES-GFP) を遺伝子導入したHEK293T細胞で、ALS/FTD死後脳組織の免疫組織染色同様、p62かつTDP-43陽性細胞質封入体の形成を認めた。</p> <p>2) ALS病態誘導人工遺伝子 (SYG/SYGQ-NES-GFP) を遺伝子導入したHela細胞で、ヒ素にてSG (Hur陽性) を誘導すると、SYG/SYGQ-NES-GFPともにSGに明確に共局在した。これは、この新規ALS病態誘導人工遺伝子が、TDP-43、FUSなどのALS/FTD関連遺伝子と同様に、mRNAの翻訳制御、安定化、編集などRNAの品質管理機構を担うSGの構成分子となることを確認できた。</p> <p>3) ALS病態誘導人工遺伝子 (SYG/SYGQ-NES-GFP) を遺伝子導入したNeuro2a細胞にレチノイン酸にて分化誘導を行ったところ、ALS/FTD患者由来分化誘導神経細胞の研究同様、神経突起伸展作用の抑制を確認できた。</p> <p>4) ALS病態誘導人工遺伝子 (SYG/SYGQ-NES-GFP) を遺伝子導入したNeuro2a細胞のウェスタンブロットにて、ALS/FTD死後脳組織の生化学的検討同様、凝集性が観察された。</p> <p>以上より、この人工遺伝子を培養細胞に導入することによって、細胞質に封入体形成、SGへの移行、細胞毒性、凝集を備えており、ALS関連分子の生化学的、細胞学的特性を再現できたと考えられる。</p>				