

Title	Direct Binding of Ataxin-2 to Distinct Elements in 3' UTRs Promotes mRNA Stability and Protein Expression
Author(s)	余越, 萌
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55760
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	余越 萌
論文題名 Title	Direct Binding of Ataxin-2 to Distinct Elements in 3'UTRs Promotes mRNA Stability and Protein Expression (Ataxin-2は、mRNAの3' 非翻訳領域にある特定の配列に直接結合することによって、mRNAの安定性を促進しタンパク質発現を増加させる)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>Ataxin-2は、神経変性疾患の1つである遺伝性脊髄小脳変性症2型 (SCA2) の原因遺伝子産物として知られており、N末端側のポリグルタミン (PolyQ) 鎖が正常では26個以下なのに対し、SCA2患者では34個以上に異常伸長していることが知られている。さらに最近になって、同鎖の中等度伸長 (27-33回) が、別の神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の発症を有意に高めることが明らかとなった。しかしながら、PolyQ鎖伸長の病的意義や発症機序は未だに不明である。一方、Ataxin-2は、RNAプロセッシングに関与するlike-Sm (LSm) タンパク質ファミリーに属し、poly(A) 鎖結合タンパク質PABPC1と直接結合する。このため、何らかのRNA代謝に関わると予測されてきたが、詳細な生理的機能は長らく不明であった。このため、本研究では、Ataxin-2の機能を同定した上で、PolyQ鎖伸長が生理的機能に及ぼす影響を解析することを目的に実施した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>まず、Ataxin-2が直接RNAと結合している可能性について、PAR-CLIP法と呼ばれるタンパク質に結合するRNAを高純度に回収する手法を用いて解析した。その結果、Ataxin-2がPABPC1非依存的に何らかのRNAと直接結合していることを見出した。そこで、結合RNAを抽出して、網羅的にシーケンスを行った結果、約4,000遺伝子の15,000箇所、Ataxin-2の結合部位を同定し、その主たる標的は、mRNAの3' 非翻訳領域 (UTR) 領域内にあることが判明した。また、Ataxin-2が特定のモチーフを認識して結合しているのかどうかを解析した結果、Ataxin-2が、主にmRNAの3' UTRに存在するウリジンに富んだ配列 (U-rich element) を認識することを発見した。これらの配列の中には、mRNAの安定性を規定することがよく知られているAU-rich element (ARE) も含まれていた。Ataxin-2がAREに結合することから、RNAの安定性を制御している可能性が示唆されたため、次にAtaxin-2の発現を抑制または過剰にした後、全遺伝子の発現量の変動を解析した。その結果、Ataxin-2は、標的mRNAの安定化を促進し、その結果タンパク質の発現量を増加させることが分かった。この機能を発揮するには、Ataxin-2が標的mRNAに直接結合することが必要不可欠であった。最後に、神経変性疾患で認められるPolyQ鎖の異常伸長が、Ataxin-2によるmRNA安定性促進に及ぼす影響を解析した。その結果、Ataxin-2中のPolyQ鎖異常伸長は、標的RNAの認識には余り影響せず、mRNAの安定性を促進する機能を減弱させることが分かった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>本研究により、Ataxin-2が、mRNAの3' UTR中にあるU-rich elementを認識し、標的mRNAの安定性を促進するRNA結合タンパク質であることを明らかにした。Ataxin-2の標的は、主にRNAスプライシングやmRNAのポリアデニル化などの転写後制御に関する遺伝子が多く含まれており、これらの遺伝子群の発現調節を介して、統合的にRNA代謝を制御していると考えられた。また、神経変性疾患で認められるPolyQ鎖の異常伸長は、Ataxin-2によるmRNA安定性促進機能を減弱させることが分かった。Ataxin-2の標的の中には、神経変性疾患と深く関連するTDP-43なども含まれていたことから、Ataxin-2の機能減弱が神経変性を誘導する一因になっている可能性が示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		余越 萌	
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	河原 行郎
	副 査	大阪大学教授	山下 俊英
	副 査	大阪大学教授	片山 泰一

論文審査の結果の要旨

本論文において、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、遺伝性脊髄小脳変性症2型(SCA2)、パーキンソン病などの複数の神経変性疾患の発症の鍵を握るAtaxin-2蛋白質の機能を明らかにした。これまでAtaxin-2は神経変性疾患に関連することは知られていたが、具体的にどのような機能を持っているのか不明であった。本論文では、PAR-CLIP 法と呼ばれる蛋白質に結合するRNA を高純度に精製する手法と、次世代シーケンサーを用いた解析を組み合わせ、Ataxin-2 に結合するRNA とその結合部位を網羅的に決定した。その結果、Ataxin-2 が、RNA の安定化を促進する蛋白質であることを突き止めた。また、ALS や SCA2 で認められている遺伝子変異が、Ataxin-2 のRNA 安定化機能を低下させることも発見したことから、神経変性疾患に共通した発症病態の解明や将来的に新たな治療法を確立することに繋がる結果であり、博士 (医学) の学位授与に値する。