

論文内容の要旨

氏名	七浦 仁紀
<p style="text-align: center;">C9orf72-derived arginine-rich poly-dipeptides impede phase modifiers</p> <p style="text-align: center;">(和訳)</p> <p>C9orf72 リピート異常伸長より生じる毒性ペプチドは相分離制御因子の機能を阻害する</p>	

論文内容の要旨

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) や前頭側頭型認知症 (FTD) などの神経疾患では、相分離制御の異常がおこることが近年報告されている。細胞内では、アミノ酸が数種類に偏った低複雑性ドメインを持つ RNA 結合タンパク質が、相分離して機能しているが、相分離の制御が破綻すると不溶性のアミロイド形成につながると考えられる。核-細胞質間の RNA 結合タンパク質等の輸送は、Karyopherin $\beta 2$ (Kap $\beta 2$) などの核内輸送受容体が担っているが、これらは相分離の制御因子としても働いている。また、C9orf72 遺伝子異常を有する ALS/FTD で生じる毒性ペプチドが、核内輸送受容体に結合して、核-細胞質間の物質輸送を阻害することが報告されているが、その詳細な分子メカニズムや相分離への影響は不明である。そこで本研究では、C9orf72 遺伝子異常を有する ALS/FTD で生じる毒性ペプチドが、Kap $\beta 2$ などの相分離制御因子に与える影響を解析した。

まず C9orf72 の非翻訳領域リピートの異常伸長から産生される 5 種類の毒性ペプチドが、Kap $\beta 2$ の相分離制御能に与える影響を解析した。精製タンパク質を用いた濁度評価やヒドロゲル結合法により、アルギニンを多く含む毒性ペプチドである GR_n および PR_n が、Kap $\beta 2$ の相分離制御能を阻害することが明らかとなった。次に、PR_n と Kap $\beta 2$ が細胞内で相互作用することを免疫沈降法により確認した。また、等温滴定カロリーメトリーおよびサイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱法などの物理化学的解析により、Kap $\beta 2$ と PR_n は 1 : 1 で強固に結合することが示唆された。

さらに、核磁気共鳴 (NMR) により、Kap $\beta 2$ と PR_n の相互作用部位を解析した。まず、安定同位体で標識した Kap $\beta 2$ の NMR スペクトラムを取得した。Kap $\beta 2$ は、FUS などの RNA 結合タンパク質の核移行シグナル (NLS) を認識して、相分離を制御していることがこれまで報告されていることから、Kap $\beta 2$ に PR_n を加えた際のスペクトルと、Kap $\beta 2$ の NLS 結合部位に結合する M9M ペプチドを加えた際のスペクトルを比較したところ、共通して変化するピークがみられた。これにより PR_n の標的部位は、Kap $\beta 2$ の NLS 結合部位と部分的にオーバーラップすることが示唆された。Kap $\beta 2$ の NLS 結合部位は負に帯電しており、正の電荷を持つ PR_n の標的部位となっていることが推察される。分子動力学シミュレーションでも、Kap $\beta 2$ と PR_n との相互作用を検討したところ、NMR の結果と合致した。

以上の結果から、アルギニンを多く含む毒性ペプチドが、Kap $\beta 2$ の NLS 結合部位を標的とすることで相分離を破綻させる、という分子メカニズムを提唱した。本研究から、ALS や FTD をはじめとする神経変性疾患の病態解明、治療法開発につながることが期待される。