

様式 I

博士学位論文調査報告書

論文題目

Structural analysis of the interaction between FUS/TLS protein and non-coding RNA
(TLS / FUS タンパク質と非コード RNA の相互作用の構造学的な解析)

申請者 NESREEN HAMAD ABDELGAWWAD HAMAD

最終学歴 令和2年3月
京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー基礎科学専攻博士後期課程
研究指導認定退学

学識確認 平成 年 月 日 (論文博士のみ)

調査委員 京都大学大学院エネルギー科学研究科
(主査) 教授 片平 正人

調査委員 京都大学大学院エネルギー科学研究科
教授 森井 孝

調査委員 京都大学大学院エネルギー科学研究科
准教授 小瀧 努

(続紙 1)

京都大学	博士 (エネルギー科学)	氏名	NESREEN HAMAD ABDELGAWWAD HAMAD
論文題目	Structural analysis of the interaction between FUS/TLS protein and non-coding RNA (TLS / FUS タンパク質と非コード RNA の相互作用の構造学的な解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、DNA 及び RNA との相互作用を介して転写、スプライシング、翻訳等を調節し、遺伝子発現を制御する Fused in sarcoma (FUS) タンパク質(別名 TLS タンパク質)に関し、非コード RNA との相互作用によっていかにして特定の遺伝子の発現を制御するのかを研究した結果をまとめたもので、5章からなっている。</p> <p>第1章は序論で、FUS はサイクリン D1 遺伝子の上流を起点として生じる非コード RNA (promoter associated non-coding RNA, pncRNA) との相互作用によって、サイクリン D1 遺伝子の転写を抑制する事を説明している。バイオマスから、エネルギーや有用物質を生物の力を活用して獲得する為には、転写・翻訳等の調節メカニズムを解明・理解し、特定の遺伝子の発現を制御する事が必須である。そこで本論文では、FUS をモデルケースとして、pncRNA との相互作用によって、いかにして特定の遺伝子の発現を制御するのかを研究するという、本論文の目的を述べている。</p> <p>第2章では、pncRNA との相互作用によって FUS に生じる構造変化を、蛍光共鳴エネルギー移動(Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET)法によって解析した。その結果、FUS は N 末と C 末が近接したコンパクトな構造を形成するが、pncRNA が結合すると N 末と C 末が離れた伸びた構造を形成する事を見出した。この構造変化の起こりやすさは、RNA の塩基配列及び鎖長に依存する事も分かった。</p> <p>第3章では、上記の構造変化を高速原子間力顕微鏡(High-Speed Atomic Force Microscopy, HS-AFM)によって解析した。その結果、FUS 単独時のコンパクトな構造と pncRNA が結合した際の伸びた構造を、直接視覚化する事に成功した。さらに、pncRNA の結合に伴う FUS の構造変化の瞬間を捉える事にも成功した。FUS の N 末領域は負電荷に富み、一方 C 末領域は正電荷に富む。従って FUS 単独時には、N 末領域と C 末領域の静電相互作用によってコンパクトな構造が形成されたと考えられた。pncRNA は、FUS の C 末側に結合する事と、FUS の N 末側は露出した際にはヒストンアセチル基転移酵素(Histone Acetyltransferase, HAT)と相互作用して、これを阻害する事が分かっている。そこで、負に帯電している pncRNA は、正電荷に富む FUS の C 末領域に結合し、FUS の N 末/C 末の静電相互作用を断ち切る事で伸びた構造が形成されたと考えられた。伸びた構造において露出した FUS の N 末領域が HAT を阻害し、この為にサイクリン D1 遺伝子の転写の阻害がもたらされると理解された。</p> <p>第4章では、ピペッティングによるせん断応力によって、FUS の凝集が誘起される事が FRET 法によって見出された。蛍光顕微鏡及び透過型電子顕微鏡(Transmission</p>			

Electron Microscopy, TEM)による凝集体の解析も、この事を支持した。また、pncRNAには、この凝集を緩和する効果がある事も分かった。FUSは、細胞中において液液相分離(Liquid-Liquid Phase Separation, LLPS)を生じる事でも、最近注目を集めている。今回見出された凝集とLLPSとの関連が示唆された。

第5章は総括で、pncRNAがFUSに引き起こす大きな構造変化の実態と、それによって特定の遺伝子の転写を抑制して遺伝子発現を調節するメカニズムを要約している。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

バイオマスから、エネルギーや有用物質を生物の力を活用して獲得する為には、転写・翻訳等の調節メカニズムを解明・理解し、特定の遺伝子の発現を制御する事が必須である。そこで本論文では、DNA 及び RNA との相互作用を介して転写、スプライシング、翻訳等を調節し、遺伝子発現を制御する Fused in sarcoma (FUS) タンパク質(別名 TLS タンパク質)をモデルケースとして取り上げ、非コード RNA (promoter associated non-coding RNA, pncRNA) との相互作用によって、いかにして特定の遺伝子サイクリン D1 の発現が制御されるのかを研究した結果をまとめており、得られた主な成果は次の通りである。

1. FUS は N 末と C 末が近接したコンパクトな構造を形成するが、pncRNA が結合すると N 末と C 末が離れた伸びた構造を形成する事を、蛍光共鳴エネルギー移動(Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET)法によって見出した。この構造変化の起こりやすさは、RNA の塩基配列及び鎖長に依存する事も分かった。

2. FUS 単独時のコンパクトな構造と、pncRNA が結合した際の伸びた構造を、高速原子間力顕微鏡(High-Speed Atomic Force Microscopy, HS-AFM)によって直接視覚化する事に成功した。また、pncRNA の結合に伴う FUS の構造変化の瞬間を捉える事にも成功した。

3. FUS は、N 末領域と C 末領域の静電相互作用によって、コンパクトな構造を形成したと考えられた。また、pncRNA が FUS の N 末/C 末の静電相互作用を断ち切る事で、FUS が伸びた構造を形成したと考えられた。さらに、伸びた構造において露出した FUS の N 末領域が、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性を阻害し、この為にサイクリン D1 遺伝子の転写の阻害をもたらされると理解された。

4. ピペッティングによるせん断応力によって FUS の凝集が誘起される事を、FRET、蛍光顕微鏡及び透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscopy, TEM)によって見出した。また pncRNA には、この凝集を緩和する効果がある事も分かった。FUS は、細胞中において液液相分離(Liquid-Liquid Phase Separation, LLPS)を生じる事で最近注目を集めており、凝集と LLPS との関連が示唆された。

以上、本論文では、pncRNA が FUS に引き起こす大きな構造変化の実態と、それによって特定の遺伝子の転写を抑制して、遺伝子発現を調節するメカニズムを解明した。得られた知見は、バイオマスからエネルギーや有用物質を生物の力を活用して獲得する際の基盤となり、エネルギー科学の研究に寄与するところ大である。よって、本論文は博士(エネルギー科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和2年8月27日に実施した論文内容とそれに関連した試問の結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文の全文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 2021年9月30日以降