

氏名	加藤 かざし		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 10307 号		
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	pre-mRNA スプライシングおよび RNA/タンパク質の液液相分離を介した分裂期染色体動態制御の解明		
主査	筑波大学准教授	博士 (薬学)	木村 圭志
副査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	谷本 啓司
副査	筑波大学講師	博士 (学術)	加香 孝一郎

## 論 文 の 要 旨

審査対象論文は、細胞内に存在する多種類の RNA に着目し、pre-mRNA のスプライシングや染色体に局在する非コード RNA が分裂期染色体の動態をいかに制御するか、その分子メカニズムを詳細に検討したものである。RNA は DNA を鋳型として転写され、スプライシングを受けたのち、その情報を基にタンパク質が翻訳される。一方で、細胞内にはタンパク質に翻訳されない非コード RNA と呼ばれる RNA が多種類存在し、広範な生命現象に密接に関与することが注目を集めている。著者は、第一章では pre-mRNA スプライシングに関与する SF3B14 が分裂期の染色体動態をいかに制御するかを解明している。さらに第二章では、分裂期染色体に局在する非コード RNA の機能を解明している。

第一章で、著者は核小体プロテオームで同定されたタンパク質の siRNA による大規模スクリーニングで同定された、分裂期に関与する 59 種類の候補タンパク質から SF3B14 に焦点を絞り解析を進めている。SF3B14 は pre-mRNA のスプライシングに関与する RNA タンパク質複合体であるスプライセオソームの構成因子としても知られている。これまでに、核小体に局在する因子や pre-mRNA スプライシングに関与する因子の一部が分裂期を直接、あるいは間接的に制御することが知られていたことから、著者は、SF3B14 のノックダウンをおこない、分裂期進行の遅延や、単極紡錘体や分裂期中期での染色体の整列異常といった表現型が引き起こされることを見出している。また著者は、核小体プロテオーム解析により同定された SF3B14 が主に核質に存在し、核小体には局在しないことを蛍光免疫染色法により明らかにしている。さらに著者は、SF3B14 が特定の分裂期の構造体に局在しないことから、同タンパク質が間接的に分裂期を制御していると推測し、SF3B14 がスプライセオソームの構成因子であることから、SF3B14 のノックダウンによる pre-mRNA スプライシングの変化を解析した結果、中心体構成タンパク質 TUBGCP6 のスプライシングに異常が生じることを見出している。以上の結果から、著者は SF3B14 が TUBGCP6 のスプライシングを制御することにより正常な紡錘体の形成を制御することを示している。

第二章で、著者は分裂期染色体に局在する非コード RNA の機能を解析するため、単離した分裂期染色体から RNA を除去したところ、分裂期の染色体が脆弱な構造に変化することを見出している。この構造変化は、

機械学習による生体画像パターン認識により客観的に数値化されている。さらに著者は、RNA 除去により分裂期染色体の骨格タンパク質、特に染色体凝縮因子であるコンデンシン I の染色体結合の減少が顕著であることを見出している。これらの知見に加え、著者はコンデンシン I が天然変性領域を有すること、天然変性領域をもつタンパク質の一部が液液相分離 (LLPS) と呼ばれるメカニズムで周囲の領域とは別の相に濃縮されることに注目し、研究を展開している。著者は、コンデンシン I が LLPS により分裂期染色体に濃縮されることで、正常な染色体が形成させるとの仮説を立て、これを検証するため、LLPS の可逆的な阻害剤である 1,6-hexanediol (1,6-HD) を細胞培養液中に加えたところ、1,6-HD が濃度依存的、時間依存的にコンデンシン I の染色体局在を減少させることを見出している。一方で、1,6-HD を培養液から除去するとコンデンシン I の染色体局在が回復するが、同時に RNase A 処理により RNA を除去するとコンデンシン I の染色体局在は回復しないことを明らかにしている。以上の結果から、著者は分裂期染色体に存在する RNA が LLPS によりコンデンシン I を染色体に局在させるというモデルを立てている。

## 審 査 の 要 旨

DNA 合成期に複製されたクロマチンは、細胞分裂期に高度に凝縮し、分裂期染色体という構造体に変換される。この過程は、分裂期染色体凝縮とよばれ、狭い細胞内での親細胞から娘細胞への正確な遺伝情報の伝達を担保する。この過程の異常は、細胞分裂の度に染色体の数が変化する染色体不安定性という病態に直結し、がんの悪性化をはじめとする様々な疾患の原因となる。現在、高齢化の進む日本においては、国民の約半数が生涯においてがんを罹患することが報告されており、分裂期染色体の構築と動態の分子メカニズムの解明は、基礎研究の観点のみならず社会的にも大きな意義を持つと考えられる。

分裂期染色体は、クロマチン、染色体骨格、セントロメア/キネトコア、テロメア、染色体周辺部位の 5 つのドメインからなり、約 4,000 種類のタンパク質と約 1,000 種類の非コード RNA が存在する。審査対象論文において、著者は核小体タンパク質が pre-rRNA を足場として分裂期染色体周辺部位に局在することから、核小体と細胞分裂に着目して研究を進めている。まず著者は、核小体のプロテオーム解析で同定された SF3B14 に着目して研究を展開しているが、意外なことに SF3B14 は核小体には局在せず、そのノックダウン細胞でも核小体の形態は変化しないことを見出している。この結果は、SF3B14 が核小体機能とは別の経路で分裂期を制御することを示している。さらに、著者は、SF3B14 がスプライセオソームの構成因子であることから、SF3B14 をノックダウンした際の pre-mRNA のスプライシングを解析し、SF3B14 が中心体構成タンパク質 TUBGCP6 の pre-mRNA のスプライシングを介して、適切な分裂期紡錘体の形成と染色体分配を関与することを明らかにしている。本研究は pre-mRNA スプライシングと分裂期を関連づける興味深い研究であり、高く評価できる。

また著者は、分裂期染色体に局在する非コード RNA に着目し、その機能を解析している。その結果、染色体 RNA がコンデンシン I をはじめとする染色体骨格タンパク質の局在を制御することにより、正常な染色体構造を維持すること、及びその過程に LLPS が関与することを明らかにしている。本成果は、分裂期染色体に存在する RNA の役割を解明しただけでなく、近年注目されつつある LLPS という物理化学的な現象と細胞分裂期という細胞生物学的過程を結びつける点が高く評価することができる。したがって、著者の研究の進展は、新たな研究分野を切り開くことが期待できる。

令和 4 年 1 月 13 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。