

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500431

研究課題名(和文) 脊髄性筋萎縮症原因蛋白質 SMN の神経細胞における機能の解析

研究課題名(英文) Functional analysis of Survival Motor Neuron protein in Neuronal cells.

研究代表者

鹿島 剛 (Kashima, Tsuyoshi)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：30459622

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000 円、(間接経費) 990,000 円

研究成果の概要(和文)：我々は脊髄性筋萎縮症患者由来の繊維芽細胞を使ってこの疾患の原因タンパク質である SMN タンパク質の発現調節について研究を続けてきた。その結果、RNA 結合タンパク質の hnRNP A2 が SMN タンパク質の翻訳のレベルでの調節に密接に関与しており、SMN タンパク質の安定的継続的発現には A2 が不可欠であることが解った。この A2 タンパク質は最近、同じ運動神経を侵す筋萎縮性側索硬化症に於いてその変異が見つかっており、我々の発見は脊髄性筋萎縮症に於ける SMN の発現の調節を介した神経細胞での役割を理解するうえで重要な意味を持つ。更に、筋萎縮性側索硬化症の発症のメカニズムに於いての SMN の重要な役割が示唆される。

研究成果の概要(英文)：Survival Motor Neuron (SMN) protein is involved in snRNPs assembly, essential components in splicing. A lack of SMN due to homologous loss of SMN1 gene results hereditary neurodegenerative disease, Spinal Muscular Atrophy (SMA). Previously we found that the specific suppression of hnRNP A2 by RNAi treatment induced a reduction of SMN production in SMA patient fibroblast cell. We have analyzed the molecular detail of this regulation. We provided evidences that hnRNP A2 specifically binds A2 binding sequence at 3'-UTR of SMN mRNA, and increases the interaction of mRNAs and polyribosome to enhance translation efficiency. Our data suggests that hnRNP A2 is essential for the effective translation of SMN1/2 mRNA, and that this A2 binding site functions as a translation enhancer. Our findings not only define the new regulatory mechanism to control SMN translation by hnRNP A2 specifically, but also implicate the new therapeutic drug development for treatment of SMA.

研究分野：脳神経科学

科研費の分科・細目：神経解剖学・神経病理学

キーワード：Survival Motor Neuron 脊髄性筋萎縮症 hnRNP A2 RNA 結合タンパク質 Translational control Motor Neuron Disease

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 研究者代表者は長年に渡ってSMN1及びSMN2遺伝子に於ける第7エクソンのスプライシングの制御の分子メカニズムを研究してきた。SMN2ではエクソン7の6番目の塩基はT(チミン)に置換され、この塩基を含む配列がhnRNP A1及びA2に依存したエクソン性スプライシング・エンハンサーを構成することを解明した。この結果を基に、脊髄性筋萎縮症(Spinal Muscle Atrophy, SMA)の患者由来の線維芽細胞において細胞内のhnRNP A1及びA2をRNAiの方法でノックダウンし、SMN産生量への効果を検証した。A1を減らしてやると予想通り、SMN2の第7エクソンのスプライシングは促進し、エクソン7を含む機能的なmRNAが増加し、その結果SMNの産生量も増加した。一方で、hnRNP A2をノックダウンするとエクソン7のスプライシングは促進し、エクソン7を含む機能的なmRNAは増加した(予想通りに)がSMNのタンパク質産生量は減少した。この結果は、hnRNP A2がA1とは異なりスプライシングの過程以外でSMNの発現の制御をしていることを示唆している。hnRNP A2によるSMNの発現調節の分子メカニズムの解析を続けた。前回の科研費研究計画では、この発現調節は転写中の制御ではなく、又A1とA2のノックダウンの効果は、共にエクソン7のスプライシングを促進し、機能的な全長のmRNAを増加させていた。mRNAの安定化への効果は検出できず、最終的に翻訳過程での制御によってSMNの産生量に影響していることが解った。上記のように、SMN1・2遺伝子の制御は主に第7エクソンの制御に集中しており、転写レベルでの研究は、RNA結合タンパク質HuRによる制御とストレスによる産生量の増加で報告されているが、SMAや側索性筋萎縮症(Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS)などのモーターニューロン病は、ストレスに対して極めて脆弱な状態なため、他の制御による健全な治療法又はそのターゲットの追及が望まれる。今回の研究計画では、更にこのA2に対するノックダウン効果がどの様にSMN2のmRNAの翻訳過程に影響しているかを分子メカニズムの詳細の解析を進めていく。

(2) SMNは脊髄性筋萎縮症(SMA)での遺伝子欠損が解っているSMN1遺伝子から生成されるタンパク質である。患者では正常者に比べてSMNの産生量は30-40%に減少し、それが原因で脊髄の運動神経細胞が進行性に変性脱落が起こる。一般的に、SMNは前駆体mRNAのスプライシングのプロセスで機能しているU1、U2、U4、U5そしてU6などのU-rich RNAとその関連タンパク質群の複合体であるU-snRNP複合体の構築と核内への輸送に関わっているとされる。従って、上記のSMNの減少とSMAの発症との関係は、運動神経細胞におけるU-snRNPの

減少と不均衡な組成によるスプライシングの異常が原因として考えられている。一方で、SMNは神経細胞内では軸索突起などの神経突起上を抹消の方向へ移動することが突き止められている。更に、神経細胞上、スプライシング以外に関与している他のRNA結合タンパク質や神経突起上を局所移動しているmRNAと共局在している事実が解ってきた。これらの事実から、SMNには神経細胞特有の機能の存在が疑われる。その機能は、軸索突起上を輸送され、他のRNA結合タンパク質や神経突起末端へ局所輸送されている一部のmRNAと関連している可能性がある。

## 2. 研究の目的

(1) SMAは常染色体劣性遺伝を取る進行性の神経変性疾患である。統計的には、800から1000の出生に一人の割合で発生する小児科領域では最も致死性の疾患である。SMAはSMN1遺伝子の欠損または突然変異がホモ接合で遺伝した時に発症する。ヒトには、SMN1とほぼ相同な遺伝子SMN2が存在するが、SMAの発症を防ぐことはできない。SMN2は全遺伝子中でSMN1とは5つの塩基が異なり、特に第7エクソン中の第6塩基の違いによって、エクソン7のスプライシング活性が異なることが解った。SMN2ではT(チミン)であることから、その周辺の配列はスプライシング活性に抑制的に働くhnRNP A1/A2に依存的なエクソン性スプライシング・サイレンサー配列を構成し、A1及びA2などとエクソン7のスプライシングを抑制していることがIn VitroそしてIn Vivoのデータから解った。我々は、これらの結果を基に、SMAで減少しているSMNのタンパク質の産生量を増やすために、hnRNP A1およびA2の細胞内での発現を抑制し、SMNの産生量を増加させる試みを行った。

現在、SMAの治療法は存在しない。これまでのSMA由来の細胞(線維芽細胞)やSMAのモデルマウス並びにそのマウス由来の細胞などを使って、SMNタンパク質を増加する小分子化合物(ブチル酸塩やバルブロン酸塩などの転写制御物質やマクロライド系スプライシング修飾物質)がSMN増量効果を示すとして、SMAの患者に治療効果が観られるかどうか試行されたが、ほとんどの化合物はその治療効果が全く観られていない。我々は、以上のような転写レベルやスプライシングレベルでの制御以外のプロセスでのSMNの産生を制御できる物質又はその新たなターゲットの発見が望まれている。従って我々の発見したSMN産生量を制御しているプロセスを分子レベルのメカニズムを解明し、新たな治療法の開発に結びつく分子ターゲットを解明することは今後のSMAの治療法だけでなくALSを含めたモーターニューロン病の治療法の開発に繋がると考えられる。

(2) 研究の背景にも記述したが、SMN の機能は Dr. Dreyfuss のグループがその詳細を同定して以来、SMA 治療方針の中心、ドグマとして存在している。SMN が U-snRNP の構築とその核内への輸送が主なまたはユビキタスな機能をもつ必須のタンパク質として確立された。SMN の減少は、神経細胞内で U-RNA (U1, U2, U4, U5, U6, U11 そして U12) の不均衡を招き、その結果、基質としての多くのスプライシングを受ける mRNA に於いて構造の異常や選択的スプライシングに異常がみられることが解った。一方でこの“異常”なスプライシングは脊髄だけに観られるわけではなく、大脳や他の臓器にも観られ、今後その特異性とモーターニューロンの選択的変性との因果関係の解明が重要なポイントとなる。一方で、幾つかの異なる観点から、SMN が樹状及び軸索突起などを末梢端へ輸送される現象が確認されている。この現象はチューブリンのレール上を末梢方向への輸送であり、SMN 自体は RNA と結合するタンパク質としての性質上、被包小胞などに内包されたのちキネシンのようなモータータンパク質によって移動していると考えられる。神経細胞内では、スプライシング反応とは異なる RNA 結合タンパク質 (hnRNP Q 及び R) との相互関係が確認されている。更に、ベータ・アクチンの mRNA との共局在も確認されている。これらの事実から、研究代表者は、SMA の原因は、この神経細胞特異的な SMN の機能の低下が神経細胞特に、脊髄の運動神経細胞に選択的に起きていることが関係しているのではないかと疑っている。この SMN の神経突起上を輸送されている分子機構を解明することは、SMA の伸の病態の解明につながるのではないかと考える。従って、SMN の軸索突起上の輸送の詳細を、特にその輸送を直接担っている分子モーターの同定を含めて解析することをこの研究計画では目指して往きたい。

### 3. 研究の方法

(1) 上記の hnRNP A2 による SMN タンパク質の産生制御機構の解明という課題に於いて、前回の研究計画では、この制御機構がタンパク質の翻訳過程で起こっている所までは解明した。今回は、特に翻訳過程での制御機構を分子メカニズムの詳細まで掘り下げて解析する。

SMN2 の mRNA とリボゾームとの相関関係の解析

翻訳のプロセスの中心はリボゾームである。SMA2 の mRNA がリボゾームとその重合体であるポリリボゾームとどの様に關係しているかをショ糖濃度勾配 超遠心分画法を使って解析を試みる。細胞質抽出液を 10 - 50% のショ糖濃度勾配に乗せ、超遠心にてモノ・リボゾームからポリリボゾームへの分画に分け、それぞれの分画に含まれる mRNA

とリボゾームの複合体を解析し、RNA とリボゾームとの量的関わり合いを調べる。

SMN2 の mRNA における hnRNP A2 の結合部位の同定

hnRNP A2 は典型的な RNA 結合タンパク質である。SMN2 の mRNA との結合を免疫沈降法と RT-PCR 法で同定する。A2 と SMN1/2 の mRNA との間にその相互関係が確認できたら、RNA プルダウン・アッセイ法を使って、A2 の結合部位を mRNA 上に確定する (マッピング)。一般的にほとんどの遺伝子では、RNA 結合タンパク質の結合によって mRNA の安定化や翻訳調節などの制御は、3' 非コード領域にその活性がある。特に SMN1/2 の mRNA に於いては第 8 エクソンがほぼ非コーディング領域に相当する。5' 末端側より段階的に短くした RNA 鎖を用意し、大腸菌内で発現させて抽出した hnRNP A2 タンパク質を結合させ、ビオチンでラベルした RNA をプルダウンして、RNA に結合しているタンパク質をウエスタンブロット法で同定し、A2 が結合する配列を特定する。

SMN1/2 遺伝子の hnRNP A2 の結合配列のルシフェラーゼ・アッセイでの活性

で特定した A2 結合配列がタンパク質の翻訳過程で本当に活性を持つかどうかを、その配列を含む全長の SMN の 3' 非コード領域とその配列を欠損させた配列で構成された欠損した SMN の 3' 非コード領域をルシフェラーゼの下流領域に組み込み、それぞれのプラスミッドを細胞内で発現させて、ルシフェラーゼ活性を測定して、組み込んだ 3' 非コード領域の持つ活性を他の遺伝子の発現でも活性を有することを確認する。

細胞質内で hnRNP A2 と結合して翻訳制御活性を示すタンパク質の同定

hnRNP A2 はシンプルな構造をした RNA 結合タンパク質である。A2 が翻訳制御の効果を発揮するためには直接リボゾームと相互關係を持つか、あるいは他のタンパク質複合体などと結合してからリボゾームや翻訳開始因子などの複合体と関連している可能性がある。

我々は、タグを付加した A2 タンパク質をヒトの培養細胞内で強発現させ、生理的条件下で細胞質内の A2 タンパク質複合体を免疫沈降させ、精製したタンパク質複合体を MALDI 質量分析計を使って、その構成タンパク質を同定する。

(2) 神経細胞に特異的に観られる SMN タンパク質の神経突起での局在の確認と RNAi の方法を使ったモータータンパク質の同定

ラット胎仔の脊髄由来の運動神経細胞の初代細胞系を使った、GFP-SMN 融合タンパク質の発現と RNAi によるその動態の観察

この実験計画での我々の目的は、脊髄由来のモーターニューロンの初代神経細胞培養を使って、GFP-SMN 融合タンパク質を発現

させ、軸索突起上を移動する動態を観察し、RNAi 効果の後に SMN の移動の阻害効果を蛍光顕微鏡レベルで観察し、更に位相差顕微鏡などを使って定量化を目指す。

ラットの胎仔脊髄運動神経初代培養はスタンダードの方法を使い、胎生 15 日の胎仔ラット 10 匹の脊髄をペプシン処理し、細胞をばらした後、ポリエチレンイミンでコーティングしたプレートに播く。細胞を播く時に上記の GFP-SMN 融合タンパク質発現プラスミドをトランスフェクションする。その後培養神経細胞を N2 サプリメントと 2% の胎仔ウシ血清で飼い、1 週間後に細胞を固定し、様々な抗体で染色して、運動ニューロン細胞の生存率や生存数を判定する。同時に GFP-SMN の細胞内局在を観察して、神経突起上に移動している GFP-SMN 融合タンパク質がどの位の数で観られるのか、観察できる神経細胞の生存性、そしてそれらの細胞は本当に運動ニューロン細胞かどうかを確かめる。

の初代運動神経細胞培養に於いてそれ相当数の運動神経細胞に GFP-SMN の発現が得られれば、このシステムを使って SMN を運搬している可能性のある幾つかのキネシンのアイソフォームに対する RNAi の処理を施し、GFP-SMN の細胞内動態、即ち SMN が軸索突起上を運搬されているかどうかを蛍光光学顕微鏡で観察する。もし、RNAi の処理が強すぎて神経細胞の生存率が低い時は、dsRNA の濃度を下げて処理の強さを調節する。dsRNA の濃度を下げても細胞が死ぬようであれば、RNAi のターゲットの配列を変えて調整し、最終的に細胞を固定して幾つかの抗体で半定量的に画像解析プログラムを使って、SMN の動態と RNAi による効果を判定する。

もし時間が許せば、で同定した SMN の軸索輸送に関与している可能性のキネシンのアイソフォームを GST の下流にクローニングし、大腸菌化で発現後精製する。精製した GST でタグを付加したキネシンのアイソフォームをラットの胎仔脊髄組織 (50-100 匹) の抽出液 (大脳組織の抽出液に準じる) と反応させ、目的の GST を付加したキネシンと重合している被包小胞を GST カラムを使って精製抽出する。その後、この生成抽出された複合物を: 1) MALDI 質量分析計にかけて構成成分である全てのタンパク質組成を解析する。2) 1) で確認されたタンパク質をウエスタンブロット法で確認する。

#### 4. 研究成果

(1) hnRNP A2 による SMN タンパク質の産生制御機構の解明

SMN2 の mRNA とリボゾームとの相関関係の解析

10-50% のショ糖濃度勾配によってリボゾームと mRNA は若番の分画 (フラクション番号 4,5) では、モノリボゾームと mRNA、

大きなナンバーの分画 (フラクション番号、12-15) では、ポリリボゾーム (ポリゾーム) と mRNA の複合体が含まれ、中間の分画には、両者の中間にあたるオリゴリボゾームと mRNA の複合体が分布している。本来の目的の SMN2 の mRNA とコントロールとして GAPDH の mRNA そして 18S のリボゾームの RNA のそれぞれの分布を RT-PCR と Real-time PCR で検出して、その結果を考察した。この結果から、mock 処理のサンプルでは SMN2 も GAPDH の mRNA も 18S の rRNA も、若番から大きな番号まで万遍なく分布していた。A2 の RNAi を処理を施したサンプルでは、GAPDH の mRNA も 18S の rRNA もその分布や RNA の量も殆ど変化が見られなかったが、SMN2 の mRNA は、ほぼすべての分画に於いて RNA 量が減少していた。これらの結果から、A2 をノックダウンすると A2 の細胞内の量は 5% 以下に減少するが、その効果として SMN2 の mRNA とリボゾームとの相関関係は減少し、この事がタンパク質産生量の減少の直接の原因となっていると考えられる。

SMN2 の mRNA における hnRNP A2 の結合部位の同定

SMN1・2 遺伝子では、3' -非コード領域は 630 塩基長もあり、殆どが第 8 エクソンに相当し、そこに様々な制御部位の存在が疑われる。エクソン 8 を 5' 末端より 125 塩基長の長さで、それぞれ  $\Delta 125$ 、 $\Delta 250$ 、 $\Delta 375$  と  $\Delta 500$  そして全長の FL のピオチンでラベルした RNA 鎖を準備して、大腸菌にて His タグを付加して発現させ、抽出精製した hnRNP A2 を結合させ、RNA 鎖をプルダウンし、ウエスタンブロット法で結合した A2 を検出して、RNA 配列上をマッピングした。その結果、 $\Delta 500$  の RNA 鎖で A2 の結合が失われた。更に、375 と 500 の間にある A2 結合部位を特定するために 375 の部位より 23 塩基数ずつ欠損させた RNA 鎖 ( $\Delta 23$ 、 $\Delta 46$ 、 $\Delta 69$ 、 $\Delta 92$ ) を用意して上記と同じ条件で RNA プルダウン・アッセイを行った。その結果、新たに用意した 4 つの RNA 鎖には A2 結合していなかった。これらの結果より A2 の結合部位は 375 から 23 塩基下流に存在していることが解った。実際 SMN1・2 の 3' 非コード領域の配列中には、幾つかのグループが同定している A2 結合配列の UUAGG が完全に保存されていた。従って、SMN1・2 遺伝子の 3' UTR または第 8 エクソンの 393 番目の塩基より始まる UUAGG 配列が A2 の結合部位と考えられる。

SMN1/2 遺伝子の hnRNP A2 の結合配列のルシフェラーゼ・アッセイでの活性

で同定した A2 結合配列が他の遺伝子の翻訳制御でも活性があるかないかを特定するために、ルシフェラーゼ・アッセイ法を利用した。CMV プロモーターに支配下にあるルシフェラーゼ遺伝子の 3'-UTR を SMN1/2 遺伝子の 3'-UTR と で同定した A2

結合部位を欠く欠損配列(Δ500、Δ(375-23)、Δ(375-500))置き換えたプラスミッドを用意して、細胞にトランスフェクションさせ、細胞抽出液内のルシフェラーゼ活性を計測した。その結果、UUAGGのA2結合部位を欠損させた配列は、全長の配列やコントロールの配列に比べて、ルシフェラーゼ活性が低下した。これらの結果から、A2の結合配列はSMN1およびSMN2のmRNAが効率よくSMNのタンパク質を翻訳する上で必須であることが解った。

今までの結果から総合するとSMN1そしてSMN2のmRNAの効率的な翻訳には、3'-UTRに存在するhnRNP A2の結合部位が必要不可欠であることが解った。このA2結合部位がなくても、またはhnRNP A2が95%以上欠けていてもSMNの翻訳活性は多少残っている。しかし、SMAの患者は、2つのSMN1遺伝子に欠損があるため、少なくとも70-80%以上のSMNが産生されず、唯一発現しているSMN2からは20-30%位しかSMNは供給されず、このA2による効率的なSMNの翻訳促進効果は、脆弱性の運動神経細胞には決定的に重要であることが推測される。

細胞質内でhnRNP A2と結合して翻訳制御活性を示すタンパク質の同定

hnRNP A2はRNA結合タンパク質でありその主な活性はRNAに直接結合し他のタンパク質と関連して細胞内の複雑な反応を促すアダプターのような働きを持つ。従って、上記のSMNの翻訳促進効果に於いて、A2は他のRNA結合タンパク質と、または翻訳開始複合体やリボソームの1部のタンパク質と結合して働いていることが示唆される。そこで、タグを付加したA2をヒト由来の細胞にて強制発現させ、タグを介して細胞質中に存在するA2とそれに結合しているRNAを含む複合体を抽出精製する。この精製したRNA-タンパク質の複合体をMALDI質量分析計に通して、全てのタンパク質の組成を同定した。その結果、ネイチブなA2と共にhnRNP C1/C2とhnRNP Mの2種類のRNA結合タンパク質が同定された。これから解ることは、hnRNP A2は細胞質内で単独ではなくヘテロマーとして存在し、更に直接hnRNP CとhnRNP Mと共同でSMN1/2のmRNAと結合し翻訳活性を促進していると考えられる。このA2-C-Mのコンビネーションは新しい発見であり、今までに報告されていない複合体の存在を示唆している。

(2) 神経細胞に特異的に観られるSMNタンパク質の神経突起での局在の確認とRNAiの方法を使ったモータータンパク質の同定

セクション2の研究成果はあまり芳しくない。当初の研究計画に無理があったと認めざる負えない。、、の研究計画に対して、最初のを達成していないために研究計画まで到達できなかった。

ラットの初代神経細胞培養、胎仔脳からの

海馬の神経細胞培養の手技は、慶応大学の生理学教室の岡野秀人教授の手技を学び、自分の教室で繰り返し実験を行うことで、習得していった。最終的に神経細胞の生存率も上昇し、90%に到達し、免疫染色法ではニューロフィラメント陽性細胞の比率は50-60%に及び、非常に満足にいく結果が得られた。そこで、神経細胞培養の教科書や教科書的な論文に記述してあるラット胎仔脊髄からの初代モーターニューロン細胞培養に取り組んだ。手技的なことは、あまり問題ではなかった方が、神経細胞の生存率は海馬の神経細胞培養に比べて低調で70-80%であった。この時に、モーターニューロン細胞に特異的な抗原であるHB9やIslet-1/2陽性細胞は多くて30%で平均10-20%であった。更に、この培養細胞にGFP-SMN融合タンパク質を過剰発現させると、生存率は10%を切ってしまうことが解った。一方で、幾つかのキネシンのアイソフォームを個別にノックダウンするRNAi処理を施すと、やはりターゲットによってはモーターニューロンの生存率が著しく低下する現象を確認した。最終的に、ラット胎仔の脊髄から得られるモーターニューロン細胞は、混合細胞培養になるので10-20%になってしまい、それにプラスミッドやdsRNAの処理をすると運動ニューロンの細胞の生存率は10%またはそれ以下になってしまうことが解った。これらの結果から、今の私のモーターニューロン細胞の培養技術では、プラスミッドやdsRNAをトランスフェクトするとモーターニューロン細胞は非常に数が少なくなり、とてもスクリーニングに使えるレベルにはないことが解った。

今後の改良点としては、他のグループがやっている方法としてTrkA陽性細胞を抗体をカップリングさせたビーズで分離してから培養する方が良いであろう。また、最近ES細胞からかなりの純度でモーターニューロン細胞へ分化させる技術が整ってきたので、この技術の習得を含めて大幅に私の研究の方法を変えていく必要がある。また、多少古典的手法ではあるが、同じラット由来のPC12細胞をNGFによって神経細胞へ分化させてから、上記のES細胞から分化させたモーターニューロン細胞を使って、RNAiのアッセイ系へ掛ける方法を選択する。または最初にGFP-SMN融合遺伝子を強制発現しても生存に影響のないES細胞またはPC12細胞株を樹立してから、神経栄養因子のコックテールまたはNGFでそれぞれモーターニューロン細胞へまたは神経細胞へ分化させて、RNAiの処理を施して、観察する。最後の方法では、基本的にRNAi処理は1回で済むため細胞へのダメージは最小限に抑えられるであろう。以上のようにセクション(2)では、技術的な困難さから途中で計画自体が滞ってしまい、時間と予算を無駄にしまったことは大きな反省点である。この困難を乗り越えるために、この文節には、その対応

策を記した。

最後に、我々の発見した知見は、今まであまり研究されていない SMN のタンパク質生成の、特に翻訳過程での制御機構を分子レベルで詳細に解明している。この新しい制御機構は、SMN の発現の知られていなかったプロセスにより多くの関心を引き付けるであろう。hnRNP A2 がエクソン 7 のスプライシングだけでなく翻訳過程の調節にも関与していることは、今後の新薬の開発に貢献するであろう。それに付け加えて、エンハンサーと言うと転写過程そしてスプライシングのプロセスには欠かせない制御機構の一部として理解されてきたが、我々はこの研究で翻訳過程にも、A2 依存性の翻訳のためのエンハンサーを発見した。今まで、翻訳制御機構はストレス応答と密接にリンクしていて、純粋に翻訳のプロセスだけを促進する 生体反応が見られなかったが、我々の同定した SMN1/2 の mRNA の 3'非コード領域にある A2 結合部位は、A2 依存性のトランスレクション性のエンハンサーとして機能していることは大きな発見である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Tsuyoshi Kashima, Ritsuko Nakayama, Miyuki Agawa-Ohta and Hisashi Yamada. hnRNP A2 mediated translational control of Survival Motor Neuron. 第35回 日本分子生物学会年回. Fukuoka, Fukuoka, Japan. 2012年12月11日~2012年12月14日.

Tsuyoshi Kashima, Ritsuko Nakayama, Miyuki Agawa-Ohta and Hisashi Yamada. hnRNP A2 mediated translational control of Survival Motor Neuron. 2012 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Translational Control. Cold Spring Harbor, NY, USA. 2012年09月04日~2012年09月08日.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

鹿島 剛 (KASHIMA, Tsuyoshi)  
東京慈恵会医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 30459622

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: