



研究課題名 RNA 結合タンパク質の病的相分離の統合的理解

京都大学・大学院医学研究科・教授

はぎわら まさとし
萩原 正敏

研究課題番号： 21H05042

研究者番号： 10208423

研究期間： 令和3年度～令和7年度 研究経費（期間全体の直接経費）： 145,600千円

キーワード： RNA 結合タンパク質、液-液相分離、RNA プロセッシング

【研究の背景・目的】

液-液相分離は化学分野では古くから知られた現象であるが、特に近年、KH ドメインや RRM (RNA recognition motif) と LC ドメインの双方を有する複数の RNA 結合タンパク質が濃度依存的に相転移を起こしハイドロゲル状の分子集合体を形成するなど細胞内の RNP 顆粒形成モデルが示され、RNA バイオロジーの新たな研究対象として注目されるようになった。膜をもたないオルガネラが液-液相分離による分子集合の物理的なコンパートメントとして種々の細胞機能を担っているという仮説が注目を集めるとともに、液-液相分離が筋萎縮性側索硬化症 (ALS) での FUS のアミロイド凝集体形成やクロイツフェルトヤコブ病でのプリオンの蓄積にも液-液相分離など、様々な疾患病態にも寄与していることが近年明らかになってきた。特に、多種類のタンパク質や核酸が高濃度で存在する核内では、核小体、核スペckル、パラスペckル、カハル体、PML 体など、さまざまな RNP 顆粒として不均一に存在するとともに、それら液相分離状態はリン酸化修飾による制御を受けることが分かってきた。このことは、悪性腫瘍、ウイルス感染、トリプレットリピート病などの転写・RNA プロセッシング異常を伴う幅広い疾患で液滴形成の異常・病的相分離が分子病態に寄与することを示唆する。本研究では、このように近年勃興してきた液-液相分離による遺伝子発現制御機構の新解釈が、遺伝病、ウイルス感染症、転移がん等の分子病態をどこまで説明出来るのかを検証する。

【研究の方法】

本研究では、SR タンパク質などの RNA 結合タンパク質や RNAPII 複合体のリン酸化状態の変化が静電作用による液-液相分離の閾値を変え、in vitro および細胞内で液滴の分散・集合がスプライシングや転写制御に与える影響を検証する。また種々の疾患の分子病態を用いて、各疾患における遺伝子発現の異常が核内の RNA 結合タンパク質と RNA から成る液滴の相分離異常の観点から解析し、病的相分離について全体像の理解を目指す。本研究のアプローチは、大きく分けて 3 項目からなる。

(1) SR タンパク質ファミリーの液-液相分離とスプライシング制御：RNA 結合モチーフ(RNA Recognition Motif: RRM)と Ser と Arg の繰り返す RS ドメインを有する SR タンパク質は核スペckルに集積しており液滴を形成している可能性が高い(図 2)。RS ドメインは高次構造が少なく動的であることが NMR 解析で示されており、液-液相分離における LC ドメインの条件に一致するとともにその可動性はリン酸化修飾により

制御を受けることが知られる。本項目では SR タンパク質ファミリーの液-液相分離性状を検証するとともに、in vitro、in vivo の解析手法を確立する。

(2) RNAPII 結合タンパク質の液-液相分離と転写・RNA プロセッシング制御：RNA ポリメラーゼ II (RNAPII)が C 末端ドメインの機能により液-液相分離を示すことが近年の解析から明らかになってきた。本研究では、RNAPII と関連分子の複合体形成が液-液相分離に与える影響を検証するとともに、転写機能との関連性を解析する。

(3) 病的状態での遺伝子発現異常と液-液相分離異常の関連：トリプレット病をはじめとする一部の遺伝性疾患や、ウイルス感染、悪性腫瘍において、液-液相分離との関連性が推測される事象が複数報告されている。本項目では、これら疾患と関連する液-液相分離の解析を行い、疾患における液-液相分離の異常、すなわち病的相分離の理解を目指す。

【期待される成果と意義】

これまで、一部の疾患で関連因子の液-液相分離の異常が認められることが報告されてきたが、RNA 結合タンパク質・RNA 複合体の動態や、転写・スプライシング制御等の細胞機能への影響を包括的に解析がなされていないのが現状である。本研究課題は in vitro から細胞機能・病態までの横断的な理解を目指す点において既存の相分離研究とは大きく異なり、そのような包括的アプローチによって病的相分離という新概念を展開する創造性を有している。さらに本研究の波及効果として、幅広い疾患に対して病的相分離という新解釈を提起することで既存の創薬理論の刷新と新たな治療薬創出に結びつく可能性が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Therapeutic manipulation of IKBKAP mis-splicing with a small molecule to cure familial dysautonomia. Ajiro M, Awaya T, Kim YJ, Iida K, Denawa M, Tanaka N, Kurosawa R, Matsushima S, Shibata S, Sakamoto T, Studer R, Krainer AR, Hagiwara M. *Nat Commun.* 2021 Jul 23;12(1):4507.
- Nuclear Import Receptor Inhibits Phase Separation of FUS through Binding to Multiple Sites. Yoshizawa T, Ali R, Jiou J, Fung HYJ, Burke KA, Kim SJ, Lin Y, Peoples WB, Saltzberg D, Soniat M, Baumhardt JM, Oldenbourg R, Sali A, Fawzi NL, Rosen MK, Chook YM. *Cell* 2018 Apr 19;173(3):693-705.e22.

【ホームページ等】

<https://www.anat1dadb.med.kyoto-u.ac.jp/>