

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ヒト生細胞内における核内ボディ複合体形成のダイナミクス
Title(English)	
著者(和文)	今田貴士
Author(English)	Takashi Imada
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11895号, 授与年月日:2021年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:木村 宏,岩崎 博史,田口 英樹,藤田 尚信,中戸川 仁
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11895号, Conferred date:2021/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	今田 貴士		
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名
	主査	木村 宏	教授		中戸川 仁	准教授
	審査員	岩崎 博史	教授	審査員		
		田口 英樹	教授			
		藤田 尚信	准教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「ヒト生細胞内における核内ボディ複合体形成のダイナミクス」と題し、全 6 章より構成されている。

第一章「序論」では、まず液－液相分離と核内ボディについて概説し、次に研究対象である RNA ポリメラーゼ II 凝集体 (Pol II condensate ; PC), カハールボディ (Cajal Body ; CB), ヒストンローカスボディ (Histone Locus Body ; HLB) について、遺伝子発現制御との関連も含めて詳細に述べている。その上で、PC, CB, HLB の 3 つの核内ボディがどのように形成されるのかについて、生細胞で時空間的に解析し、それらの相互作用の生物学的意義を解明することが本研究の目的であると述べている。

第二章「実験材料と方法」では、本研究における実験材料や方法について詳細に述べている。

第三章「核内ボディ間の相互作用」では、RNA ポリメラーゼ II 最大サブユニットを緑色蛍光タンパク質 (GFP) 融合型 (GFP-RPB1) に置き換えたノックイン HCT116 (ヒト大腸がん) 細胞を用いて PC を定義し、細胞周期マーカー (mCherry 融合型細胞増殖核抗原 ; mCherry-PCNA) の発現により長時間の生細胞観察を行うことで、PC の形成が細胞周期の S 期開始時に起こりやすいことを示している。次に、CB や HLB のマーカータンパク質の発現により、PC が CB よりも HLB の近くに出現しやすいことを明らかにしている。また、PC と CB、及び、PC と HLB の相互作用は、S 期の終了までに解消され、特に、PC が CB や HLB よりも早く消失する傾向があることを示している。さらに、PC, CB, HLB の三者複合体の形成機構についての解析を生細胞タイムラプス観察と固定細胞を用いた高精細解析により行い、CB の近くに PC と HLB が出現する頻度が高いことを示している。これらの解析結果から、PC の形成は HLB と CB により促進されうることを論じている。

第四章「核内ボディの相互依存性と物性」では、コイリン遺伝子をノックアウトした HCT116 細胞を用いて、CB が他の核内ボディに与える影響を解析し、CB が欠損した状態では PC は HLB とより相互作用するようになったこと、その一方で survival of motor neuron (SMN) タンパク質が濃縮する別の核内ボディは PC と相互作用しなくなったことを示している。この結果から、PC と核内ボディとの相互作用は、競合関係や促進関係にあることを論じている。また、CB が RNA ポリメラーゼ II のリン酸化状態を制御する可能性について検討し、リン酸化は CB との相互作用に依存しないことを示している。さらに、液－液相分離により形成される液滴の物理的性質の解析のため、1, 6 ヘキサンジオールを細胞培養の培地に添加することでそれぞれの核内ボディの液滴状態を調べ、CB と HLB が PC に比べてより固相状態に近いことを明らかにしている。

第五章「カハールボディの機能」では、コイリン欠損細胞と野生型細胞のトランスクリプトームを比較し、54 の遺伝子の発現に差が見られ、オントロジー解析の結果、核酸代謝等に関与する遺伝子が多いことを示している。

第六章「考察」では、本研究で得られた成果をまとめ、本研究の結論として PC, CB, HLB 間の相互作用と制御機構について議論し、PC は CB や HLB に比べてダイナミックな構造であり、それが転写制御に関わる可能性について論じている。また、核内ボディの形成と相互作用、転写制御に関する今後の展望や課題を論じている。

以上を要するに、本論文は RNA ポリメラーゼ II が形成する核内ボディの形成機構、及び他の核内ボディであるカハールボディやヒストンローカスボディとの相互作用のダイナミクスを明らかにすることで、核内ボディと遺伝子制御機構に関する理解を深めたものであり、理学的に貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。