

2021 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	塩田 倫史
研究機関名	熊本大学
所属部署名	発生医学研究所
役職名	独立准教授
研究課題名	グアニン四重鎖によるプリオノイド・イノベーション
研究実施期間	2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日

### 研究成果の概要

シヌクレイノパチー（パーキンソン病、レビー小体型認知症など）は、プリオン性タンパク質である  $\alpha$ -シヌクレイン（ $\alpha$ -Syn）凝集体の蓄積を特徴とした進行性の脳アミロイドーシスである。これまでのシヌクレイノパチー患者における剖検脳研究から、 $\alpha$ -Syn は凝集することで病原性を獲得し、さらに細胞間伝播により脳病態を進行させることが示唆されている。しかしながら、 $\alpha$ -Syn の凝集・伝播メカニズムは未解明である。

本年度は、核酸高次構造体である RNA グアニン四重鎖（RNA G-quadruplex; G4RNA）が液-液相分離（LLPS: liquid-liquid phase separation）を介して  $\alpha$ -Syn のゾル-ゲル相転移を引き起こし、 $\alpha$ -Syn の凝集体形成を促進することを見出した。ランダム配列 RNA を用いた RNA Bind-n-seq 解析から、 $\alpha$ -Syn はグアニンの豊富な RNA 配列に強く結合することがわかった。ゲルシフトアッセイにおいて  $\alpha$ -Syn は G4 構造を形成する RNA に結合し、G4 構造を形成しない RNA（ヘアピン構造や PolyA 鎖など）には結合しないことが示された。分子クラウディング条件下（15% polyethylene glycol）において精製  $\alpha$ -Syn タンパク質は LLPS により液滴を形成するが、G4RNA の添加により  $\alpha$ -Syn のゾル-ゲル相転移が誘導され、 $\alpha$ -Syn は凝集体を形成した。一方、精製  $\alpha$ -Syn タンパク質に G4 構造を形成しない RNA を添加したところ、 $\alpha$ -Syn のゾル-ゲル相転移は見られなかった。 $\alpha$ -Syn 過剰発現細胞における細胞ストレス刺激により  $\alpha$ -Syn は凝集体を形成するが、その凝集に先駆けて G4RNA foci が有意に増加した。この結果は、G4RNA が  $\alpha$ -Syn の凝集による病原性獲得のキーファクターであることを示唆している。現在、G4RNA による  $\alpha$ -Syn 相転移メカニズムについて細胞およびマウス個体を用いて検討中である。