



特定の癌細胞で RNA 顆粒が融合して核内構造体を 形成するメカニズムを発見

研究成果のポイント

- ・ 特定の癌細胞株で見られる核内構造体¹⁾SNB は、RNA 骨格の 2 つのサブ構造体が融合して作られる。
- ・ 各サブ構造体は、癌細胞種、温度条件に応じて柔軟に消失・分離・融合する。
- ・ サブ構造体同士は、HNRNPL タンパク質と各サブ構造体の RNA 骨格との結合によってつなぎとめられている。
- ・ 腫瘍形成の新規の機構解明や治療・診断技術基盤の開発につながる。

研究成果の概要

21 世紀に入り、ヒトゲノムから機能未知のノンコーディング RNA (ncRNA)²⁾ が大量に産生されることが発見され、注目を集めています。私たちは、これまでに ncRNA が骨格として細胞内の顆粒状構造体の形作りに働いていることを発見し、それらの ncRNA を「アーキテクチュラル RNA (arcRNA)」と名付けました。今回、arcRNA を骨格に形成される新しい核内構造体を、RNA 分解酵素 (RNase) の処理によって崩壊する核内構造体をスクリーニングすることによって探索し、特定の癌細胞で形成される Sam68 核内構造体 (SNB)³⁾ を見いだしました。SNB の構成タンパク質の解析から、SNB は 2 つの RNA 骨格のサブ構造体 (RNA 顆粒)⁴⁾ が、温度条件や癌細胞種に応じて融合して作られていること、さらにサブ構造体同士を HNRNPL タンパク質がアダプターとして、各サブ構造体中の arcRNA と結合することによってつなぎとめていることが分かりました。こうした RNA-タンパク質相互作用による核内構造体の動的形態変化によって、癌細胞特有の核内遺伝子発現が後天的に制御されていると考えられ、新たな視点での癌病態解明につながることを期待できます。

論文発表の概要

研究論文名: The Sam68 nuclear body is composed of two RNase-sensitive substructures joined by the adaptor HNRNPL. (Sam68 核内構造体は、HNRNPL アダプターを介して 2 つの RNase 感受性サブ構造体が融合してつくられる)

著者: 萬年太郎¹⁾, 山下征輔²⁾, 富田耕造²⁾, 五島直樹³⁾, 廣瀬哲郎¹⁾

(¹⁾北海道大学遺伝子病制御研究所, ²⁾東京大学大学院新領域創成科学研究科, ³⁾産業技術総合研究所創薬分子プロファイリング研究センター)

公表雑誌: The Journal of Cell Biology

公表日: 米国東部時間 2016 年 7 月 4 日 (月) (オンライン公開)

研究成果の概要

(背景)

21世紀のポストゲノム時代に入り、ヒトゲノムの大部分の領域から機能未知なRNAが大量に合成されていることが分かりました。これらのRNAは、タンパク質の情報をコードすることなく、「ノンコーディングRNA(ncRNA)」としてRNA自身が固有の機能を果たすと考えられていますが、大部分の機能は未解明のままです。これまでに研究グループでは、ncRNA群の中から細胞核に存在する顆粒状構造体の骨格となるRNAを「アーキテクチュラルRNA(arcRNA)」として同定しました。そして、類似の機能を果たすarcRNAが、他にもゲノム中に数多く潜んでおり、一つの共通するRNAカテゴリーとして確立できるのではないかと期待が高まってきました。

(研究手法)

arcRNAによって形成される核内構造体を探索するために、10,432種類の蛍光タンパク質を融合したヒト発現型cDNAクローン⁵⁾から産生される各タンパク質の細胞内局在情報から、細胞核内の顆粒状構造体に局在する463クローンを選別しました。次に、それらの核内構造体の中からRNase処理によってRNA骨格が分解されて崩壊するものをスクリーニングし、arcRNAを骨格とする構造体候補を選別し、その中にSNBを見いだしました。次にSNBに局在するタンパク質5種について、RNA干渉による機能阻害とレスキュー実験によって、SNB形成にどのような役割を果たしているかを解析しました。さらに、構成タンパク質の機能ドメインに変異を導入し、SNBへの局在やタンパク質間相互作用、RNAとの相互作用への影響を解析しました。また、培養温度条件の変動や異なる癌細胞株での比較によって、核内構造体の形成が様々な環境変化でどのように変化するかを観察しました。

(研究成果)

特定の癌細胞で形成されるSNBが、arcRNAを骨格として構築されることが明らかになりました。またRNase感受性スクリーニングにより、arcRNAと共にSNBを構成する新規タンパク質として癌に関係するスプライシング制御⁶⁾因子やエピジェネティック制御⁷⁾因子を同定しました。これらのタンパク質の機能解析の結果、SNBの形成には構成タンパク質のRNA結合ドメイン⁸⁾とプリオン様ドメイン⁹⁾の両方が必要ことが分かり、arcRNAによって集められたRNA結合タンパク質の凝集が、SNB形成を誘発していることが示唆されました。さらにSNBは、RNA骨格の2つのサブ構造体(Sam68サブ構造体とDBC1サブ構造体)が融合したものであり、2つのサブ構造体は、アダプターであるHNRNPLタンパク質と各サブ構造体のarcRNAとの相互作用を介してつなぎとめられていることが分かりました。様々な癌細胞株で観察したところ、DBC1サブ構造体だけが独自の構造体(DBC1 bodyと命名)として存在している細胞株や、低温への温度シフトによってSam68サブ構造体が消失し、DBC1サブ構造体のみが残されることなどが明らかになり、arcRNAを介した複数の核内構造体が、環境条件に応じてRNA-タンパク質間相互作用を介して、柔軟に融合・分離して核内構造を変化させていることが明らかになりました。

(今後への期待)

2つのサブ構造体のarcRNAの実体を明らかにすることによって、特定の癌細胞において核内構造体が形成されるメカニズムとそれを誘導するシグナル経路が明らかになります。それによって、RNAによる構造体形成を介して制御される核内現象の理解が進み、腫瘍形成の新しい制御経路が明らかになる可能性が期待されます。

お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学遺伝子病制御研究所 RNA 生体機能分野

教授 廣瀬 哲郎（ひろせ てつろう）

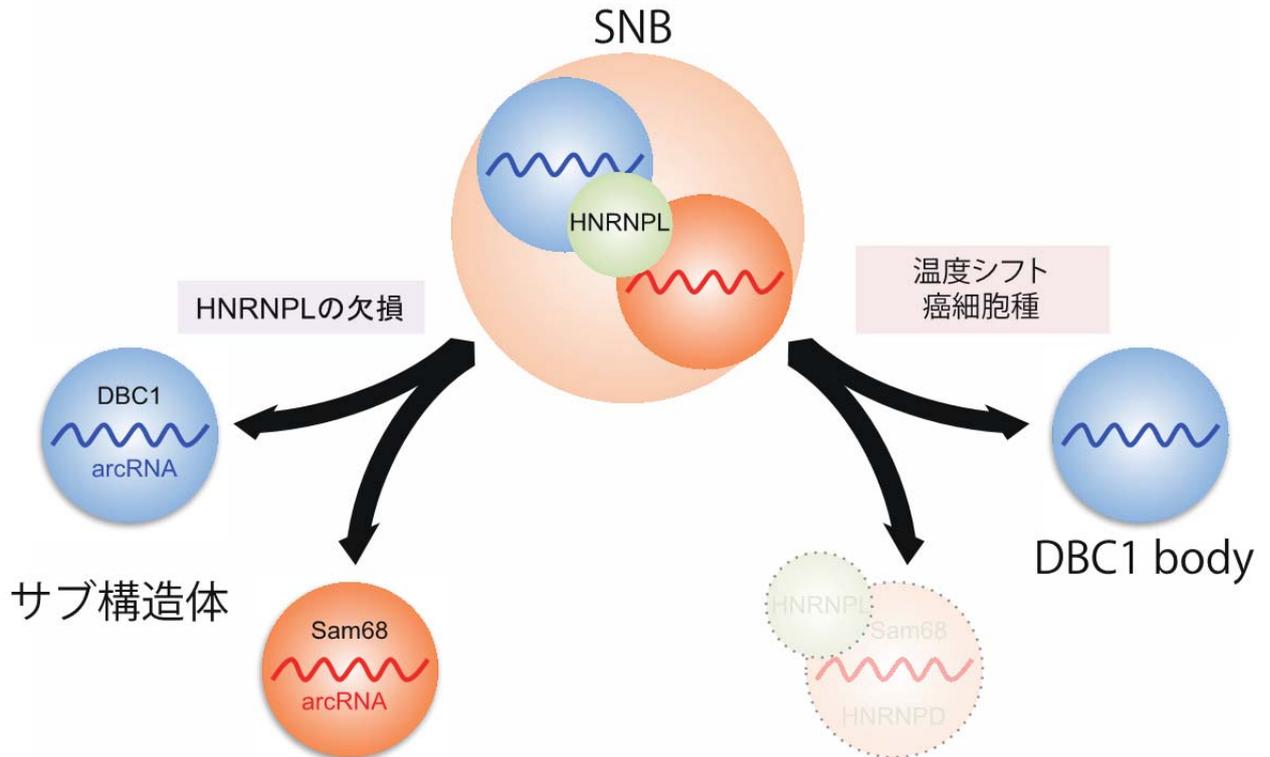
TEL：011-706-6956 FAX：011-706-7540 E-mail：hirose@igm.hokudai.ac.jp

ホームページ：<http://www.igm.hokudai.ac.jp/rna/>

[用語解説]

- 1) 核内構造体：細胞核内に存在する粒子状の構造体。主に遺伝子発現制御や制御装置の合成や貯蔵の場として働く。
- 2) ノンコーディング RNA (ncRNA)：タンパク質情報を持たず、RNA 自身で機能を果たす RNA の総称。
- 3) Sam68 核内構造体 (SNB)：核小体近傍に形成される機能未知の核内構造体。RNA 結合タンパク質 Sam68 が局在することから名付けられた。
- 4) RNA 顆粒：RNA を含む顆粒状の構造体。
- 5) 発現型 cDNA クローン：発現プラスミドに挿入された cDNA クローン。
- 6) スプライシング制御：転写された前駆体 mRNA からイントロン領域を取り除き、成熟 mRNA を合成するスプライシング反応の質的かつ量的な調節。
- 7) エピジェネティック制御：DNA の配列変化によらず、主に DNA またはヒストンの後天的な修飾によってなされる遺伝子の発現調節。
- 8) RNA 結合ドメイン：RNA との結合に必要なタンパク質領域。
- 9) プリオン様ドメイン：タンパク質の凝集やタンパク質間の相互作用に関与するタンパク質領域。

[参考図]



特定の癌細胞株における SNB の形成と動的変化の模式図

SNB (Sam68 核内構造体) は、arcRNA 骨格の2つの RNA 顆粒 (サブ構造体) から形成される。2つの RNA 顆粒は、HNRNPL がアダプターとしてつなぎとめている。温度シフトや癌細胞種の違いによって、Sam68 サブ構造体は消失し、DBC1 サブ構造体は独立の核内構造体 (DBC1 body) として存在する。