

RNA とタンパク質の相互作用を用いたヒト細胞運命制御 システムの構築

Design and construction of new systems for
regulating human cell fate

井上 丹 (INOUE TAN)

京都大学・大学院生命科学研究科・教授



研究の概要

このプロジェクトでは、分子デザインにより作成した RNP(RNA-タンパク質複合体)を基盤とするシンセティックバイオロジー研究を進め、医療応用などにつながる、新しい細胞機能制御技術を確立する。

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・ケミカルバイオロジー

キーワード：生体内機能発現、合成生物学、ヒト細胞信号伝達制御

1. 研究開始当初の背景

20 世紀後半から現在に至る、分子生物学の急速な発展により、膨大な数の遺伝子・生体高分子(DNA、RNA およびタンパク質)の機能があきらかにされてきた。さらには、それら生体分子の詳細な立体構造が解明され、選択的な分子間の相互作用および化学反応により機能が調節されることが証明された。よって、これら相互作用および化学反応ネットワークを自在に制御することができれば、新しい病気治療法や、食料・エネルギー問題などを解決する優れた方法が開発できるはずである。

2. 研究の目的

分子デザインにより作成した RNP(RNA-タンパク質複合体)を基盤とするシンセティックバイオロジー研究を進め、医療応用につながる、全く新しい細胞機能制御技術を確立する。

3. 研究の方法

1) ヒトのがん細胞内で発現するがん細胞に特有のタンパク質(マーカータンパク質)を

直接検知する人工 RNA スイッチを開発する。ついで、そのスイッチからの信号をリワイヤリングにより細胞自身が持つ信号伝達系へ連結し、アポトーシスにより細胞死を誘導するシステムを構築する。

2) 分子デザインにより作成した三角形RNAの三つの頂点に、目的とする細胞表面を特異的に認識するリガンド、及び、蛍光タンパク質等のレポーター用の分子などを結合した多機能性 RNPを作成する。この RNP を活用して、特定のヒト細胞の認識を高感度で行い、さらに、その細胞のレセプターを介したシグナル経路を ON/OFF 制御することで、細胞運命を決定できるシステムを構築する。

4. これまでの成果

ヒト細胞内の遺伝子発現ネットワークを自在に変換・改変するための手法として、shRNA と RNP 相互作用モチーフを利用した蛋白質-蛋白質シグナル変換システム(蛋白質応答型 shRNA スイッチ)を構築した。また、これまでにヒト細胞内での RNA 結合蛋白質を用いる翻訳制御の方法を確立したが、その手法をさらに進化させるために、フィードバック制御法の導入を行うことに成功した。他に、天然の

RNA-蛋白質複合体 (RNP) を改変し、新しいモジュール (独立した機能構造単位) を作成することに成功した。

ホームページ等

<http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/seika/index.html>

5. 今後の計画

細胞内で弱い信号の増幅をおこなう分子装置の開発をおこなう。また、新しいアプタマーの取得など、上記研究の基盤技術を強化する必要があるため、当初のものより簡素化したモデルシステムを構築して問題点の解決をはかる。細胞表面レセプターからの信号伝達の制御法開発においては、三角形 RNP に代表される RNP の精製法を開発する。確実にレセプターからの信号伝達の制御を行うために、レセプターの N 末端または C 末端に RNA 結合蛋白質を結合させて融合タンパク質を作成することにより、研究を完成させる。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1, Tomoaki Hara, Hirohide Saito and Tan Inoue,

Directed evolution of a synthetic RNA-protein module to create a new translational switch.

Chem. Commun. [Epub] (2013)

2, Shunnichi Kashida, Tan Inoue and Hirohide Saito,

Three-dimensionally designed protein-responsive RNA devices for cell signaling regulation,

Nucleic Acids Res. 40, 18, 9369-9378 (2012)

3, Ohmori R, Saito H, Ikawa Y, Fujita Y, Inoue T,

Self-replication reactions dependent on tertiary interaction motifs in an RNA ligase ribozyme.

J. Mol. Evol. 73, 221-229. (2012)

4, James A. Stapleton, Kei Endo, Yoshihiko Fujita, Karin Hayashi, Masahiro Takinoue, Hirohide Saito, and Tan Inoue,

Feedback Control of Protein Expression in Mammalian Cells by Tunable Synthetic Translational Inhibition,

ACS Synthetic Biology 1, 83-88. (2012)