

【基盤研究(S)】

生物系(農学)



研究課題名 スプライシング因子の新機能に関する化学遺伝学研究

理化学研究所・吉田化学遺伝学研究室・主任研究員 **よしだ みのる**
吉田 稔

研究分野：農学

キーワード：スプライシング、イントロン、転写、核-細胞質感輸送、非コードRNA

【研究の背景・目的】

人類も含めた真核生物では、DNA から転写された mRNA 前駆体 (pre-mRNA) には、アミノ酸配列の暗号情報を持たないイントロン (介在配列) が存在する。このイントロンを取り除き、残りの部分を結合して完全な配列を示す成熟型 mRNA を作るスプライシングは、正しい遺伝子発現に必須であると同時に異なるパターンを示すことによって遺伝子発現の多様性を担うなど、高等生物の進化の過程にも重要な役割を果たしたと考えられている。一方で近年、RNA の新大陸が発見され、膨大な数のノンコーディング RNA (ncRNA) の存在が示されたが、同時にこれまで意味を持たないと思われてきたイントロン配列中にも ncRNA である miRNA や snoRNA がコードされていることが徐々に明らかにされ、イントロンの持つ新しい機能にも注目が集まりつつある。しかし、スプライシング反応を阻害剤等によって制御することが困難であったため、イントロンの機能解析は思うように進んでいないのが現状である。我々は抗がん活性物質 Spliceostatin A (SSA) の作用機序研究から、SSA がスプライソソーム構成因子 SF3b に結合してスプライシング反応を阻害することを見いだした。SSA は一部の pre-mRNA の翻訳、ncRNA の局在・安定性変化、クロマチン修飾変化などを誘導することから、SF3b が単にスプライシング反応を担うだけでなく、様々な生体機能に関与すると考えられる。そこで本研究は、SSA を利用したケミカルバイオロジーの手法によりこれまで不明であったスプライシング因子とイントロンの新たな機能を明らかにしようとするものである。

【研究の方法】

SSA の細胞内標的として我々が見いだしたスプライシング因子複合体 SF3b の機能について、以下の 4 点に絞って研究を行う。すなわち、SF3b の (1) mRNA 監視機構における役割、(2) 転写とクロマチン調節における役割、(3) ncRNA 調節における役割、(4) 核小体および核内ドメインの機能と構造における役割である。

(1) では SF3b がどのようにイントロンを含む mRNA を認識し、どのような機構で核内繫留をするのかについて明らかにする。(2) では、

SSA 処理で引き起こされる転写とクロマチン構造の変化を詳細に解析し、SF3b がどのような機構でグローバルな遺伝子発現制御を行っているのかを解明する。(3) では核内 ncRNA である Gomafu や Xist の局在異常等の分子機構を解明する。(4) では SSA によって動物細胞では SC35 核内スペックル、分裂酵母においては核小体の構造異常を観察しており、すでにわれわれが取得に成功した分裂酵母の全遺伝子発現系 ORFeome を用いてその機構を明らかにする。

【期待される成果と意義】

SSA は世界初の小分子スプライシング阻害剤であることが判明したが、同時に細胞周期阻害タンパク質 p27 などの pre-mRNA からの翻訳を引き起こし、イントロン配列由来のタンパク質を生成させることも明らかになった。このことは SSA の処理により、pre-mRNA を核内に繫留する機構 (nuclear retention) も同時に阻害されたことを意味する。すなわち、SSA を用いてこれまで不明であった nuclear retention の分子の実態を明らかにできる可能性がある。また、さらに SSA は転写やクロマチン修飾にも影響を与えていること、核内の ncRNA の局在や安定性を変化させること、分裂酵母において核小体の形態異常を引き起こすなど多様な表現型を示すことから SF3b が多様な機能的役割をもっているか、あるいは蓄積したイントロン配列の潜在的な機能によるものと推定される。これを解明することによりスプライシング因子とイントロンの多面的役割を明らかにできると期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kaida et al. *Nature Chem. Biol.* 3: 576-583, 2007
- Lo et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 364: 573-577, 2007
- Matsuyama et al. *Nature Biotechnol.* 24: 841-847, 2006

【研究期間と研究経費】

平成 21 年度 - 25 年度
153,700 千円
ホームページ等

<http://www.riken.go.jp/r-world/research/lab/wako/chemi-gene/index.html>

<http://www.rikenresearch.riken.jp/frontline/573/>