

# ノンコーディングRNAによる相転移を介した核内構造構築機構

北海道大学 遺伝子病制御研究所 教授

廣瀬 哲郎

(お問い合わせ先) TEL: 011-706-5071 E-MAIL: hirose@igm.hokudai.ac.jp



## 研究の背景

近年、タンパク質の情報を含まない長鎖ノンコーディングRNA (lncRNA) が多数存在することが明らかになりました。しかし、lncRNAの働きを担うRNA配列は未知のままです。私たちは、核内構造体の骨格として機能するNEAT1 lncRNAを発見し、architectural RNA (arcRNA) と名付けました。核内構造体とは、核の内部に多数存在する顆粒状の集合体のことで、その多くにRNAが含まれています。NEAT1は、非膜系核内構造体である「パラスペックル」の骨格として、その秩序だった構造を支えています。最近では、非膜系構造体が「相分離」という現象によって形成されることが示されていますが、パラスペックルも同様にNEAT1が集約したRNA結合タンパク質の相分離によって構築される可能性が示されました。そこで私たちは、NEAT1をモデルに、構造体構築と相分離を担うarcRNAの機能配列と作用機構の解明を目指しました。

## 研究の成果

NEAT1の機能配列を同定するために、ヒト一倍体HAP1細胞株とゲノム編集技術を組み合わせ、NEAT1の部分欠失変異体を多数作成しました。次に、超解像顕微鏡を用いてパラスペックル構造に異常をきたす変異体をスクリーニングし、機能的なRNAドメインを複数同定しました(図1)。その中から、構造ができる過程の重要なステップである「パラスペックル会合」に関わる中央ドメインという領域に注目し、詳細な変異解析を行い機能重複した複数のサブドメインを同定しました。次に、このサブドメインの機能をCLIP法や人為的テザリング法を駆使して解析しました。すると、サブドメインはパラスペックル形成に必須なNONO/SFPQというRNA結合タンパク質と結合し、これらのタンパク質のオリゴマー化を促進していました。一方で、相分離した構造体を崩壊させる1,6-HDという試薬で処理するとパラスペックル構造が崩壊すること、さらに上記サブドメインRNA断片が*in vitro*で相分離を誘発することがわかりました。これらの結果から、NEAT1 lncRNAは、特定の機能ドメインに特異的なRNA

結合タンパク質を集約し、相分離を誘発することによって、巨大なパラスペックル構造体を構築していることが明らかになりました(図2)。

## 今後の展望

この研究の意義は、これまで知見がほとんどないlncRNAの機能ドメインを同定し、そのドメインに相分離の誘導機能を結び付けた点です。今後さらに、lncRNAドメイン内の重要な配列や構造を明らかにしlncRNA配列に隠された暗号の解読を目指したいと思います。特にlncRNA暗号による相分離の制御機構の解明によって、相分離に関わり、様々な生理現象を規定する新たなパラダイムに本研究の成果が繋がることが期待されます。

## 関連する科研費

2014-2018年度 新学術領域研究(研究領域提案型) 計画研究「ncRNA作動エレメントの配列構造の同定」  
2015-2017年度 基盤研究(B)「非コードRNAによる細胞内構造構築機序の解明」

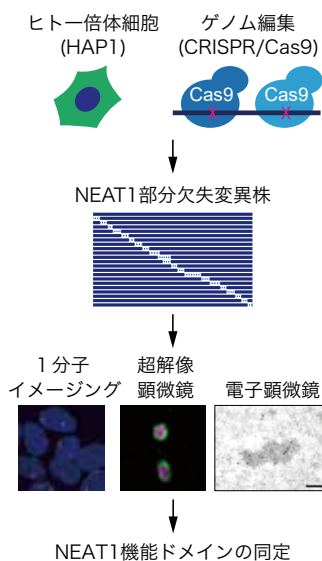


図1 パラスペックル構築のためのNEAT1 lncRNA機能ドメインの探索

ヒト一倍体細胞とゲノム編集によって創出されたNEAT1部分欠失変異細胞株のパラスペックルを種々の最先端光学機器で観察することによって、lncRNA機能ドメインを同定しました。

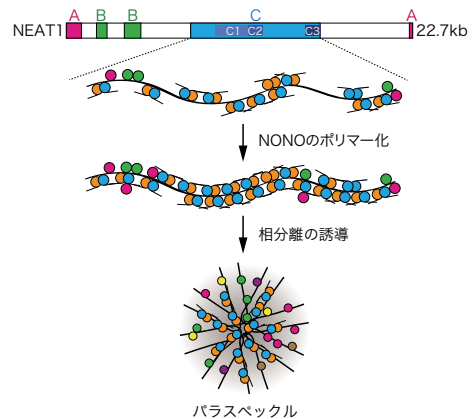


図2 パラスペックル構築モデル

NEAT1 lncRNA (22.7kb) には、A、B、Cの3つの機能ドメインが存在します。Cドメイン中には、さらにC1、C2、C3のサブドメインが存在しNONOなどのタンパク質と結合します。それによって、NONOのポリマー化と相分離が誘導され、最終的にパラスペックルが構築されると考えられます。