

課題番号	LS136
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	細胞内構造構築 RNA の作用機序と存在意義の解明
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人産業技術総合研究所・ バイオメディシナル情報研究センター 機能性 RNA 工学チーム・研究チーム長
氏名	廣瀬 哲郎

1. 当該年度の研究目的

<p>細胞内構造構築 RNA の作用機構を解明するために、以下の2つのサブテーマを執り行う。</p> <p>1. 長鎖 ncRNA によるパラスペックル(PS)構造構築の分子機構の解明: ncRNA に依存して形成される PS の構造構築に必須なタンパク質因子の役割を、ncRNA-タンパク質相互作用に注目して明らかにする。また新規の PS 形成に関わるタンパク質因子の探索も引き続き行う。さらに PS 構造体の作用機構を明らかにするために、PS によって制御されている遺伝子の発現制御機構を解析する。</p> <p>2. Subcellular RNomics による新しい構造構築 RNA の同定: 新しい細胞内構造構築を司る RNA を同定するために、細胞分画によって核内構造体を濃縮した分画を収集し、そこに含まれる RNA 種を RNA-seq 解析により同定する。もう一つアプローチ法として、GFP 融合ヒト完全長 cDNA ライブラリーを利用して、RNA を含む核内構造体に局在するタンパク質を選抜する。</p>
--

2. 研究の実施状況

<p>1. これまでに同定した 40 種類の PS 構成タンパク質の各々の役割を検討し、PS 形成に必須な因子7種類を同定した。そのうち 4 種類は、PS 形成に必須な MENβ ncRNA の蓄積に関わるものだったが、残りの 3 種類は、MENβの蓄積には影響を及ぼさなかった。すなわちコア RNA である MENβの蓄積は、PS 形成に必須ではあるが十分ではなく、それ以外にも PS 形成に必須な段階が存在することが明らかになった。PS タンパク質の結合 RNA 領域を明らかにするために、細胞内のタンパク質-RNA 複合体を紫外線架橋し、次に RNA を金属イオンによって断片化し、その後で PS タンパク質抗体によって免疫沈降を実施した。その結果、必須 PS タンパク質の一つが MENβの複数領域に結合することを見出した。次に PS の作用機構を解明するために、PS によって制御されるタンパク質遺伝子の発現制御機構を解析した。その結果、この遺伝子の発現が必須 PS タンパク質の一つを介して制御されていることが示された。つまり PS は、特定の制御タンパク質と ncRNA との相互作用を介して、その制御因子の機能をモジュレートしている可能性が明らかになってきた。このほかに理研グループとの共同研究で MENε/βの KO マウスを作出した。</p> <p>2. 核内構造体ヒストンローカス体に含まれる U7 snRNA の新しい遺伝子発現制御機能を発見した。この他の新たな構造構築 RNA の探索のために、ショ糖密度勾配遠心によって核内構造体が濃縮した細胞画分を収集し、そこに含まれる RNA を次世代シーケンサーによって解析した。その結果、核内構造体分画に濃縮される ncRNA を複数見出した。一方、GFP 融合ヒト完全長 cDNA ライブラリー中の約 500 個の核内構造体局在タンパク質クローンをを用いて、RNA 含有核内構造体の探索を行った。その結果、上記の PS 以外に RNA 依存的な核内構造体が見出された。</p>

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 8 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 4 件 1. Ideue, T., Adachi, S., Naganuma, T., Tanigawa, A., Natsume, T., Hirose, T. U7 small nuclear ribonucleoprotein represses histone gene transcription in cell cycle-arrested cells. <i>Proceedings of National Academy of Science USA</i> (2012) 109, 5693-5698. ISSN 1091-6490 2. Miyagawa, R., Mizuno, R., Nakamura, Y., Ijiri, K., Rakwal, R., Shibato, J., Masuo, Y., Hirose, T., Akimitsu, N. Identification of the cis-acting and trans-acting determinants of noncoding RNA MALAT-1 for the nuclear speckles localization. <i>RNA</i> (2012) 18, 738-751. ISSN 1469-9001 3. Kawaguchi, T., Hirose, T., Architectural roles of long noncoding RNAs in the intranuclear formation of functional paraspeckles. <i>Frontier in Bioscience</i> (2012) 17, 1729-1746. ISSN 1093-4715 4. Nakagawa, S., Naganuma, T., Shioi, Hirose, T. Paraspeckles are subpopulation-specific nuclear bodies that are not essential in mice. <i>Journal of Cell Biology</i> (2011) 193, 31-39 ISSN 1540-8140 (掲載済み一査読無し) 計 3 件 1. 廣瀬哲郎 長鎖非コード RNA の性状と疾患への関与、臨床検査 55, 900-905 (2011) ISSN 0485-1420 2. 廣瀬哲郎 非コード RNA の新しい制御機能と疾患への関わり、医学のあゆみ 238, 400-406 (2011) ISSN 0039-2359 3. 長沼孝雄、廣瀬哲郎 核内構造体形成を司る長鎖 ncRNA、実験医学 29, 1736-1742 (2011) ISSN, 0288-5514 (未掲載) 計 1 件 1. Nakagawa S, Hirose T. Paraspeckle nuclear bodies-useful uselessness? <i>Cellular and Molecular Life Science</i> 印刷中 (2012) ISSN 1420-9071</p>
<p>会議発表 計 10 件</p>	<p>専門家向け 計 8 件 1. T. Hirose Multiple steps required for construction of nuclear paraspeckle on the specific long noncoding RNAs. <i>日本分子生物学会年会 横浜、2011.12.16</i> 2. 廣瀬哲郎 非コード RNA の細胞内構造構築機能と疾患との接点 第 84 回日本生化学会大会シンポジウム 京都、2011.9.21 3. Ideue, T., Adachi, S., Naganuma, T., Natsume, T., Hirose, T. U7 snRNP acts to repress histone gene transcription during cell cycle arrest through its new component, hnRNP UL1 <i>RNA2011, Kyoto, 2011.6.14</i> 4. Kawaguchi, T., Naganuma, T., Sasaki, YF., Hirose, T., Functional analysis of SWI/SNF chromatin remodeling complexes in nuclear paraspeckle formation. <i>RNA2011, Kyoto, 2011.6.14</i> 5. Naganuma, T., Nakagawa, S., Kawaguchi, T., Aoki, K., Sasaki, YF., Goshima, N., Hirose, T. MEN β Noncoding RNA-dependent and -independent Steps Required for Nuclear Paraspeckle Formation <i>RNA2011, Kyoto, 2011.6.15</i> 6. Naganuma, T., Sasaki, YF., Goshima, N., Hirose, T. Alternative 3' end processing of nuclear-retained long noncoding RNAs required for subnuclear body formation. <i>RNA2011, Kyoto, 2011.6.15</i> 7. Hirose, T. Nuclear body formation on the specific long noncoding RNAs. <i>Tokyo RNA Club the 5th meeting, Tokyo, 2011.6.13</i> 8. Hirose, T. The building process of nuclear paraspeckles on the specific long noncoding RNAs. 第 63 回日本細胞生物学会 札幌、2011.6.29 一般向け 計 2 件 1. 廣瀬哲郎 遺伝暗号の光と影、茗溪学園中学出前講義、つくば、2011. 12. 20 2. 廣瀬哲郎 機能性 RNA 研究の進歩と新たな創薬アプローチに向けた将来展望、第 103 回薬事エキスパート研修会 東京、2011.9.16</p>
<p>図書 計 2 件</p>	<p>1. Hirose, T. Gas5 gene. <i>The Encyclopedia on Life Sciences</i>. e1-5 (2011) ISBN 9780470015902 2. 井手上賢、廣瀬哲郎 培養細胞からの核酸抽出法、目的別で選べる核酸実験の原理とプロトコール、羊土社、152-158(2011)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	産業技術総合研究所ホームページに掲載(プレスリリース) http://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2012/pr20120327/pr20120327.html
国民との科学・技術対話 の実施状況	1. 平成23年12月20日: 茗溪学園中学にて遺伝子の働きについての出前講義(2コマ)を行った(計80名)。 2. 平成23年9月16日: 薬事エキスパート研修会にて、機能性RNA研究の最近の動向についての講師をとめた(計100名)。
新聞・一般雑誌等掲載 計3件	化学工業日報 3月27日 朝刊 6面 日本経済新聞 3月27日 化学工業日報 3月27日 朝刊 6面
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	128,000,000	42,630,000	0	85,370,000	0
間接経費	38,400,000	12,789,000	0	25,611,000	0
合計	166,400,000	55,419,000	0	110,981,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	42,553,560	0	0	42,553,560	37,592,976	4,960,584	0
間接経費	12,766,068	0	0	12,766,068	12,766,068	0	0
合計	55,319,628	0	0	55,319,628	50,359,044	4,960,584	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	16,922,568	密閉式超音波細胞破碎装置、実験用試薬・物品
旅費	172,720	学会等に参加し成果報告及び情報収集を行った
謝金・人件費等	20,392,488	博士研究員及び技術員人件費
その他	105,200	学会参加費
直接経費計	37,592,976	
間接経費計	12,766,068	
合計	50,359,044	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
密閉式超音波細胞 破碎装置	Bioruptor社製 #UCD-300	1	1,351,350	1,351,350	2011/6/22	産業技術総合研究所 臨海副都心センター
				0		
				0		