

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24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

本研究計画では、前年度から派生した以下の2つの研究項目を平行して実施する予定である。

1. 長鎖非コード(nc)RNA によるパラスペックル構造構築と作用機序の解明
2. 新しい構造構築 RNA の同定と機能解析

1については、核内構造体パラスペックル構造の根幹をなす NEAT1(MEN ϵ / β ・ncRNA と共に構造構築を司るタンパク質群の役割を解析する。これによって、これまでに明らかにしたパラスペックル構造構築のための複数の必須段階の分子基盤を理解することを目指す。さらに、パラスペックルが生体内で果たす役割を解明することを目指し、前年度までに明らかにしたパラスペックルが関わる遺伝子発現の薬剤応答制御機構の解明、NEAT1 の KO マウス由来細胞を用いた薬剤感受性の解析を実施する。2については、前年度までに実施した核内構造体画分(核質高密度画分)の RNA-seq 解析によって見出された新規非コード RNA の詳細な解析を実施し、新たな核内構造体局在 RNA の同定を目指す。一方で、ヒト FLJ cDNA クローンを用いた RNase 感受性核内構造体のスクリーニングによって、新しい RNA 依存的構造体の同定を目指す。

2. 研究の実施状況

1. パラスペックル構造構築に必須な NEAT1 の選択的 RNA プロセッシング機構を解析した。必須アイソフォーム NEAT1_2 合成に必要な HNRNPK タンパク質が、もう片方の NEAT1_1 のポリ A 付加部位上流のピリミジン配列に結合することを見いだした。HNRNPK は、その場でポリ A 付加促進因子 CPSF5 を捕獲することによって、NEAT1_1 ポリ A 付加を抑制し、結果的に NEAT1_2 が合成されることを証明した。この成果は 2012 年の EMBO Journal 誌に発表した。
2. パラスペックル構造の生体機能として、プロテアソーム阻害剤に応答した遺伝子発現制御が浮上した。この機構によって制御されている標的遺伝子を複数同定し、特定のパラスペックルタンパク質と NEAT1 間相互作用によって、標的遺伝子プロモーターへの結合が調節されていることを見いだした(論文投稿中)。
3. ヒストン遺伝子は、RNA 含有核内構造体(HLB)内で発現制御されている。今回、ヒストン遺伝子発現の細胞周期特異的制御の新しいメカニズムを明らかにした。これまで RNA プロセッシング因子として知られていた U7 snRNP が、DNA 複製期以外の細胞周期段階で、ヒストン遺伝子の転写を抑制していることを明らかにした。さらにその制御に関わる新しい U7 snRNP タンパク質 HNRNPUL1 を同定した。この成果は Proc Natl Acad Sci USA 誌に発表した。

様式19 別紙1

4. ヒト完全長 cDNA ライブラリーから、核内構造体局在タンパク質クローンを多数得た。そしてそのうち RNA に依存して核内構造体に局在しているクローンをスクリーニングした。その結果、複数クローンが、RNA 依存的に構造体に局在していることを明らかにした。細胞分画による高密度核質画分の RNA-seq 解析結果を精査し、新規核内構造体に局在するユニークな構造を持つ ncRNA を見いだした。「国民との科学・技術対話」として、上記 1,3 の論文2報の成果を産総研 HP を通してプレス発表し、複数のメディアに取り上げられた。本研究を国民に対して分かり易く発信するために日本科学未来館主催のリアルラボ講師を担当し、講演会とラボ見学ツアーを実施し好評を得た。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 9 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 6 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Takao Naganuma, Shinichi Nakagawa, Akie Tanigawa, Yasnory F Sasaki, Naoki Goshima, Tetsuro Hirose, Alternative 3'-end processing of long noncoding RNA initiates construction of nuclear paraspeckles. EMBO Journal 31: 4020-4034 (2012). Online ISSN: 1460-2075 2. Shinichi Nakagawa, Joanna Y Ip, Go Shioi, Vidisha Tripathi, Xinying Zong, Tetsuro Hirose, Kannanganattu V. Prasanth, Malat1 is not an essential component of nuclear speckles in mice. RNA 18:1487-1499 (2012). Online ISSN: 1469-9001 3. Takashi Ideue, Shungo Adachi, Takao Naganuma, Akie Tanigawa, Tohru Natsume, Tetsuro Hirose, U7 small nuclear ribonucleoprotein represses histone gene transcription in cell cycle-arrested cells. Proceeding of National Academy of Science USA. 109: 5693-5698 (2012). Online ISSN 1091-6490 4. Takao Naganuma, Tetsuro Hirose, Paraspeckle formation during biogenesis of NEAT1 long noncoding RNA. RNA biology 10: 456-461 (2013). Online ISSN 1555-8584 5. Tetsuro Hirose, Shinichi Nakagawa, Paraspeckles: possible nuclear hubs by the RNA for the RNA. Biomolecular Concepts 3: 415-428 (2012). Online ISSN 1868-503X 6. Shinichi Nakagawa, Tetsuro Hirose, Paraspeckle nuclear bodies-useful uselessness? Cell Mol Life Sci. 69: 3027-3036 (2012). Online ISSN 1420-9071 <p>(掲載済み一査読無し) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 萬年太郎、廣瀬哲郎 ノンコーディング RNA による核内構造体構築機構、実験医学 8: 1157-1164 (2013) ISSN: 0288-5514 2. 中條岳志、廣瀬哲郎 長鎖非コード RNA と疾患、細胞 44, 585-588 (2012) ISSN: 0386-4766 3. 廣瀬哲郎 相反する制御機能を担う機能性 RNA を発見、産総研 TODAY 10.15 (2012) ISSN 1880-0041
<p>会議発表 計 19 件</p>	<p>専門家向け 計 18 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 廣瀬哲郎 非コードRNAによる新しい制御機構: その重要性と疾患との接点、第13回 Pharmaco-Hematologyシンポジウム、2012年6月15日、東京 2. 廣瀬哲郎、非コードRNAによる細胞内構造体の形成機構、東京理科大学RNA科学総合研究センター公開シンポジウム、2012年06月18日、千葉 3. 廣瀬哲郎、非コードRNAの機能探索: ゲノムの暗黒物質はどこまで明らかになったか?、京都大学ウイルス研究所 学術講演会、2012年07月26日、京都 4. 廣瀬哲郎、谷川明恵、Giorgio Virnicchi、Mariane Benard、長沼孝雄、佐々木保典、中川真一、Archa Fox、Gerard Pierron、プロテアソーム阻害に回答した核内構造体noncoding RNAの転写抑制機能、日本RNA学会年会、2012年07月18日、仙台

様式19 別紙1

	<p>5. 萬年太郎、五島直樹、廣瀬哲郎、RNAに依存して形成される新規核内構造体の探索、日本RNA学会年会、2012年07月19日、仙台</p> <p>6. 長沼孝雄、谷川明恵、廣瀬哲郎、核内構造体構築に必要なnoncoding RNAの選択的3'末端プロセッシングの分子機構、日本RNA学会年会、2012年07月19日、仙台</p> <p>7. 中川真一、廣瀬哲郎、核内構造体パラスペックルの骨格ncRNAであるNEAT1を欠損するマウスは早期に不妊になる、日本RNA学会年会、2012年07月19日、仙台</p> <p>8. 川口哲哉、長沼孝雄、佐々木保典、廣瀬哲郎、SWI/SNFクロマチン再構築複合体による非コードRNAの転写制御を介したパラスペックル構造構築機構の解析、日本RNA学会年会、2012年07月19日、仙台</p> <p>9. 萬年太郎、五島直樹、廣瀬哲郎、RNAをコアとして構築される核内構造体の探索、RNAフロンティアミーティング、2012年09月21日、熊本</p> <p>10. 廣瀬哲郎、The paraspeckle: the noncoding RNA-centered nuclear body for gene regulation, BiWO2012, 2012年10月31日、東京</p> <p>11. 廣瀬哲郎、The paraspeckle: the noncoding RNA-centered architecture for specific gene regulation、Yale Univ MB&B seminar series、2012年09月25日、New Haven, USA</p> <p>12. 川口哲哉、長沼孝雄、廣瀬哲郎、Functional analysis of SWI/SNF chromatin remodeling complexes in nuclear paraspeckle formation、Cold Spring Harbor Meeting、2012年09月28日、NY, USA</p> <p>13. 廣瀬哲郎、Giorgio Virnicchi、谷川明恵、Marianne Benard、長沼孝雄、佐々木保典、中川真一、Archa Fox., Gerard Pierron, Giant paraspeckle formation following NEAT1 lncRNA induction negatively controls ADAR2 gene expression by dynamic sequestration of the transcriptional regulatory protein SFPQ. Cold Spring Harbor Meeting、2012年09月28日、NY, USA</p> <p>14. 廣瀬哲郎、Nuclear paraspeckle formation and function conducted by differentially regulated pathways for long noncoding RNA biogenesis、日本生化学会年会シンポジウム、2012年12月15日、福岡</p> <p>15. 川口哲哉、長沼孝雄、廣瀬哲郎、核内構造体形成を司るクロマチン再構築複合体による非コードRNAの転写伸長制御、日本分子生物学会年会ワークショップ、2012年12月13日</p> <p>16. 長沼孝雄、廣瀬哲郎、Significant roles of alternative 3' -end processing in functional acquisition of architectural long noncoding RNA、日本分子生物学会年会ワークショップ、2012年12月14日</p> <p>17. 谷川明恵、Giorgio Virnicchi、Marianne Benard、長沼孝雄、Archa Fox., Gerard Pierron、廣瀬哲郎、プロテアソーム阻害に応答した核内構造体非コードRNA、NEAT1による転写抑制機能、日本分子生物学会年会、2012年12月14日</p> <p>18. 廣瀬哲郎、Nuclear body formation during the long noncoding RNA biogenesis、34th Lorne Genome Conference 2013、2013年02月18日、Lorne, Australia</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>1. 廣瀬哲郎、ゲノムの暗黒物質に迫る、日本科学未来館リアルラボ、2012年12月22日、東京</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	<p>なし</p>

様式19 別紙1

産業財産権 出願・取得状 況 計0件	なし
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/pr20120910/pr20120910.html
国民との科 学・技術対話 の実施状況	<p>標題: 日本科学未来館リアルラボ「ゲノムの暗黒物質に迫る」</p> <p>実施日: 2012年12月22日</p> <p>場所: 日本科学未来館及び産業技術総合研究所臨海副都心センター</p> <p>対象者: 小学生5年生以上</p> <p>参加者数: 30名</p> <p>内容: 生命活動の基本的な仕組みから、遺伝子の働きについて説明した後に、ゲノムの暗黒物質と呼ばれる非コード RNA について分かりやすく解説した。さらに実施者の研究室の見学(免疫染色細胞の顕微鏡観察、ゲル電気泳動などを含む)を行った。</p>
新聞・一般雑 誌等掲載 計2件	<p>2012年09月10日、日本経済新聞 (WEB) http://release.nikkei.co.jp/detail.cfm?relID=318871&lindID=5</p> <p>2012年09月11日、マイナビニュース (WEB) http://news.mynavi.jp/news/2012/09/11/047/index.html</p>
その他	なし

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

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	42,630,000	42,740,000	0
間接経費	38,400,000	12,789,000	12,789,000	12,822,000	0
合計	166,400,000	55,419,000	55,419,000	55,562,000	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	4,960,584	42,630,000	0	47,590,584	37,255,377	10,335,207	0
間接経費	0	12,789,000	0	12,789,000	12,789,000	0	0
合計	4,960,584	55,419,000	0	60,379,584	50,044,377	10,335,207	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	14,404,816	UV照射装置、実験試薬及び実験消耗品等
旅費	812,355	研究成果発表及び情報収集旅費等
謝金・人件費等	21,947,849	博士研究員及び研究補助員人件費
その他	90,357	学会参加費
直接経費計	37,255,377	
間接経費計	12,789,000	
合計	50,044,377	

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
				0		
				0		
				0		