

**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)
実績報告書**

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	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授
氏名	廣瀬 哲郎

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	128,000,000	128,000,000	0	128,000,000	128,000,000	0	0
間接経費	38,400,000	38,400,000	0	38,400,000	38,400,000	0	0
合計	166,400,000	166,400,000	0	166,400,000	166,400,000	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	76,440	16,922,568	14,404,816	25,116,846	56,520,670
旅費		172,720	812,355	1,424,047	2,409,122
謝金・人件費等		20,392,488	21,947,849	20,766,900	63,107,237
その他		105,200	90,357	5,767,414	5,962,971
直接経費計	76,440	37,592,976	37,255,377	53,075,207	128,000,000
間接経費計	22,932	12,766,068	12,789,000	12,822,000	38,400,000
合計	99,372	50,359,044	50,044,377	65,897,207	166,400,000

4. 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
製氷機 フレックアイスメーカー一式	ホシザキ社製 FM-120K	1	594,300	594,300	2013/10/8	北海道大学
ハイオクリンベンチ 一式	バナソニック社製 MCV-B131F-PJ	1	998,550	998,550	2013/10/9	北海道大学
CO2インキュベーター 一式	バナソニック社製 MCO-19AIGUV-PJ	1	937,650	937,650	2013/10/23	北海道大学
Milli-Q Advantage 一式	メルクリポ社製 ZOOQOVOJP	1	1,475,397	1,475,397	2013/10/25	北海道大学
液体窒素凍結保存容器	テトラワートン社製 LS3000	1	504,000	504,000	2013/11/13	北海道大学
超低温槽マイバイオ 一式	日本フリーザー社製 VT-208	1	633,360	633,360	2013/11/26	北海道大学
EVOS FL Auto Imaging System 一式	ライフテクノロジーズ社製 A0814-178C-001	1	6,669,810	6,669,810	2014/2/5	北海道大学
ライフサイクラー480メンテナンスキットA	ロシュ社製 5091985	1	682,500	682,500	2014/2/12	北海道大学

5. 研究成果の概要

ポストゲノム時代に見出された多数のノンコーディングRNAの中で、細胞内の構造体の形成を担う構造構築RNAの作用機構を、パラスペックル構造体をモデルに解析した。その結果、構造構築RNAはその生合成過程で、複数の特異的なRNA結合タンパク質と結合し、さらに会合因子複合体の介在によってRNAとタンパク質からなる複雑な分子間ネットワークが形成され、その結果巨大構造体が構築されるという基本的な道筋を明らかにした。また新たなRNA構造体も複数発見し、その構成因子を同定した。さらにRNA構造体が様々な制御因子をスポンジのように吸い込み、遺伝子の発現制御に寄与していることを明らかにした。

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) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	細胞内構造構築 RNA の作用機序と存在意義の解明
	Biological function and significance of architectural RNA for subcellular structures
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授
	Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Professor
氏名 (下段英語表記)	廣瀬 哲郎
	Tetsuro Hirose

研究成果の概要

(和文):

ポストゲノム時代に見出された多数のノンコーディング RNA の中で、細胞内の構造体の形成を担う構造構築 RNA の作用機構を、パラスペックル構造体をモデルに解析した。その結果、構造構築 RNA はその生合成過程で、複数の特異的な RNA 結合タンパク質と結合し、さらに会合因子複合体の介在によって RNA とタンパク質からなる複雑な分子間ネットワークが形成され、その結果巨大構造体が構築されるという基本的な道筋を明らかにした。また新たな RNA 構造体も複数発見し、その構成因子を同定した。さらに RNA 構造体の作用様式として、様々な制御因子をスポンジのように吸い込み、遺伝子の発現制御に寄与していることを明らかにした。

(英文):

Among numerous noncoding RNAs (ncRNAs) identified in the post-genomic era, I investigated the molecular mechanism of ncRNA functions that are involved in architecture of subcellular structure. I employed the nuclear paraspeckle as a model system. I discovered that paraspeckle structure as a massive ribonucleoprotein complex is constructed through several steps in which the complex RNA-protein network is formed during the ncRNA biogenesis with the specific assembly complexes. We also identified novel RNA-dependent subcellular structures and their components.

様式21

Finally, we elucidated the mechanism for the action of these RNA-dependent subcellular structures, in which various regulatory proteins are sequestered into the structure that acts as a sponge, thereby it regulates the expression of the specific target genes.

1. 執行金額 166,400,000 円
(うち、直接経費 128,000,000 円、間接経費 38,400,000 円)

2. 研究実施期間 平成 23 年 2 月 10 日～平成 26 年 3 月 31 日

3. 研究目的

本研究では、1.ncRNA 上でのパラスペックル構造体構築の分子メカニズムとその意義の解明、2.細胞核内の新しい「アーキテクチュラル RNA」の同定の二本柱で研究を遂行する。そして得られた ncRNA 機能情報から、ncRNA 作用機序の法則性を確立することを目標にする。1 では、まず NEAT1 とパラスペックル形成に必須な RNA 結合蛋白質の相互作用を詳細にマップし、リボソームの 4000 倍もの大きさを誇るパラスペックル構造の構築に必須な生合成段階とそれを支える RNA 配列を同定することを目指す。さらにこうして構築されたパラスペックルが、どのような様式で遺伝子発現制御に関わるのかを明らかにすることによって、ncRNA を骨格とする意義を明らかにする。2 では、様々な細胞内構造体を精製して、そこに含まれる RNA 種を同定する。そのために RNA 成分を含む細胞内構造体を分画濃縮し、含有 RNA の次世代シーケンサー解析を実施する。一方でヒト完全長 cDNA リソースのタンパク質細胞内局在ライブラリーを用いて RNase 感受性の細胞内構造体のスクリーニングを平行して実施し、それらの含有 RNA の解析も行う。同定された構造体構成 RNA から、核内ノックダウン技術によって構造構築能を有する RNA を同定し、遺伝子改変マウスの作成などを実施して、その生理機能解析を実施する。さらに構造構築 RNA と相互作用する蛋白質を取得し、その結合領域を同定する。こうして得られた「アーキテクチュラル RNA」の作用モチーフについて、バイオインフォマティクスを駆使してゲノムワイドに、「RNA 機能単位」となるモチーフを探索する。この手順により ncRNA 作用の法則性が確立する。

4. 研究計画・方法

構造構築 RNA の作用機序を解明し、その細胞内での重要性を明らかにするために以下の2項目の研究を実施し、未だ確立されていない非コード RNA の新機能カテゴリーの確立を目指した。

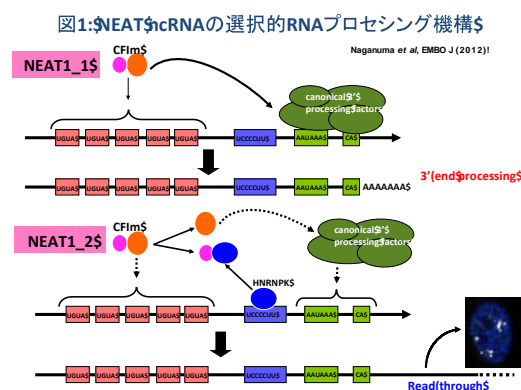
1. 長鎖非コード(nc)RNA によるパラスペックル構造構築と作用機序の解明: パラスペックルを構成する因子群を網羅的に同定し、個々の因子の機能解析を実施することによって、パラスペックル構造構築過程に必須なステップを明らかにする。パラスペックル形成には、NEAT1_2 アイソフォームの合成と安定蓄積が必須であるので、まずはこの過程に関わる因子を同定し、さらにその後 NEAT1 RNP 複合体がパラスペックル構造体に巨大化するメカニズムを担う因子を明らかにすることによって、構造体構築過程の全貌を解明する。また NEAT1 ncRNA の機能

阻害を培養細胞、マウス個体を用いて実施し、パラスペックル構造体の生体機能を分子、細胞、個体レベルで解明する。

2. 新しい構造構築 RNA の同定と機能解析: NEAT1 によるパラスペックル形成と同様に、これまでに未同定な構造構築 RNA によって形成される細胞内構造体が存在することが考えられる。そこで新しい RNA 構造体を多面的なアプローチによって探索する。特にヒト完全長 cDNA リソースを用いた細胞内局在情報を指標とした新規なスクリーニング法を確立し、RNA 構造体を探索する。また物理的な RNA 分画・調整法を至適化し、さらに次世代シーケンサー解析を組み合わせた新しい探索法を確立し、新しい構造構築 RNA の発見を目指した。

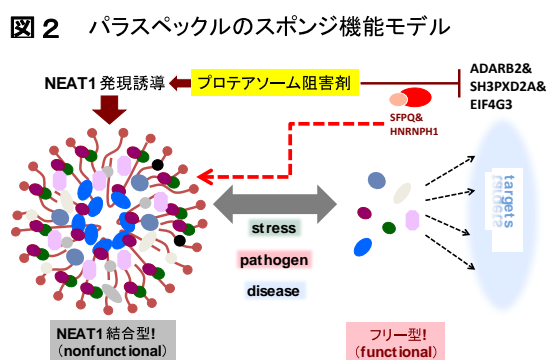
5. 研究成果・波及効果

1. パラスペックルを構成する 40 種類のタンパク質を、ヒト FLJ リソースによって可視化された核内構造体との共局在スクリーニングによって同定した。網羅的な RNAi 解析によって、その中から 7 種類のパラスペックル必須因子を同定した。必須因子の関わる事象の中から、特にパラスペックル構造構築に必須な NEAT1 ncRNA の選択的 RNA プロセッシング機構を見いだした。その制御機構として、必須



アイソフォーム NEAT1_2 合成に必要な HNRNP K タンパク質が、もう片方のアイソフォーム 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、さらに HNRNP K が、その場でポリ A 付加促進因子 CPSF5 を直接相互作用によって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(図 1)。

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明らかになった。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、パラスペックルが、NEAT1 との相互作用によってスポンジの様に特定の転写制御因子の核質内量を調整し、その結果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(図 2)。この成果は 2014 年 1 月に Mol Cell Biol 誌に発表した。



3. ヒストン遺伝子は、RNA 含有核内構造体(HLB)内で細胞周期特異的な発現制御を受けている。そのうち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、2012 年に Proc Natl Acad Sci USA 誌に発表した。

4. NEAT1 ncRNA の発現パターンをマウス個体で詳細に検討したところ、培養細胞ではほぼ例外なく発現している NEAT1 が、組織内では非常に限られた細胞種でのみ発現していることが明らかになった。一方で NEAT1 が発現していない胚性組織を培養皿で培養すると NEAT1 の発現誘導が見られ、パラスペックル形成が誘導されることが明らかになった。こうしたことから、パラスペックルは、個体組織ではストレス誘導性の核内構造体であることが明らかになった。さらに NEAT1 の KO マウスを作成し、通常形成が認められる細胞内でもパラスペックル形成が起こらないことを確認した。この研究は理化学研究所との共同研究として実施し、その成果は、2011 年に J Cell Biol 誌に発表された。
5. パラスペックル構造体の構築を担う必須タンパク質因子として、これまでクロマチン制御機能を持つことが知られていたタンパク質複合体を新たに同定した。これらの機能解析及び電子顕微鏡による微細観察から、この複合体は構造構築 RNA の転写伸長段階での調節と、その後のタンパク質間相互作用ネットワークの形成制御を介して多面的に機能していることが明らかになった。特に後者の機能は、クロマチンとは独立のこの複合体の全く新しい機能であることが強く示唆されている。またこの複合体が、パラスペックルとは別の核内 RNA 構造体の構築にも必要であることが明らかになり、構造構築 RNA による構造構築過程に存在する未解明な共通機構のための必須因子であることが示唆された(投稿中)。
6. 同定したパラスペックル構成タンパク質リストには、複数の筋萎縮性側索硬化症(ALS)の原因タンパク質が含まれていた。そこで、慶應義塾大学との共同研究によって、ALS 患者脊髄運動ニューロンにおけるパラスペックル形成状況を調べたところ、正常組織では検出できないパラスペックルが ALS 初期の組織において形成されていること、またそこに ALS 関連タンパク質が集積していることが確認された。この成果は、Mol Brain 誌に発表された。
7. 新しい RNA に依存して構築される核内構造体を、ヒト完全長 cDNA(FLJ)リソースを用いて探索し、複数の RNA 依存的な核内構造体を同定した。つまり、FLJ リソースによって収集したタンパク質の細胞内局在情報から、まず核内構造体に局在する因子を約 550 種類選別した。次にこれらの核内構造体が、RNase 処理によって崩壊するかどうかをスクリーニングした。その結果、25 種類のタンパク質が局在する核内構造体が RNase 感受性を示した。その中から癌抑制因子及び癌関連因子が局在する RNA 依存的核内構造体について解析をすすめ、細胞ライン特異的な構造体の融合・解離現象を発見した(投稿準備中)。
8. 新しい RNA に依存して構築される核内構造体の探索を、細胞分画と次世代シーケンサーを用いて行い、新しい ncRNA が局在する核内構造体を検出した。まず密度勾配遠心を組み合わせたプロトコールによって、核内構造体が濃縮した画分を得た。その画分に含まれる RNA を次世代シーケンサーによる RNA-seq 法によって解析した結果、霊長類で特異的に増幅したコピー数多型領域転写物のイントロン由来の ncRNA が濃縮されることが明らかになった。さら

にその ncRNA をプローブにノーザンブロットを行うと、イントロン相当領域由来の転写物がクリアに検出された。さらに RNA FISH 解析を行うと、核内に数個の foci が検出された。この foci は、既知のどの核内構造体のマーカーとも重ならないことから、新規の核内構造体であることが示唆された。このように霊長類特異的に増幅した領域が、ncRNA を産生し、それによって新しい核内構造体が形成されているという興味深い知見となった(投稿準備中)。

9. 汎用的な特定の RNA 抽出法によると、構造構築 RNA とその他の RNA の抽出効率が大きく異なること、そして抽出法を改善すると構造構築 RNA の抽出効率だけが著しく増大することを見出した。これを利用して NEAT1 ncRNA の再定量を行い、これまでの定量データを大きく修正する必要があることを見出した。また次世代シーケンサーによって、NEAT1 と同様に RNA 抽出法の改善によって回収効率が著しく増加する複数の ncRNA を同定した。
10. 他の核内構造体構成 ncRNA の局在解析、肺癌における HOTAIR ncRNA の発現機能解析などを共同研究として実施し、その成果を RNA 誌、Cancer Medicine 誌にそれぞれ発表した。
11. 上記の通り、本研究を通して構造構築 RNA の新しい作用機構、生体機能、さらに神経変性疾患との関わりなど多面的な重要知見を数多く得ることができた。また同じカテゴリーに属する RNA のゲノムワイドな探索手法を複数確立し、新しい構造構築 RNA 候補を多数同定した。これらの成果によって、世界的にも未だ大部分が手つかずな ncRNA 群中からの新しい機能カテゴリーの確立に向けた知見が多く得られた。今後のさらなるメカニズム解明と生理機能、疾患との関わりを理解を深めることによって、構造構築 RNA の作用原理と生理意義がさらに理解され、それを標的とした新しい医学創薬研究に波及していくことが期待される。ncRNA 研究は、この5年間で世界的にも大きく進展しており、エピゲノム制御などの新しい機能が見出された。一方構造構築 RNA については、本研究によって生み出された先進的な成果によって、他の ncRNA 群とは一線を画した機能カテゴリーとしてその地位を築きつつある。

6. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 22 件</p>	<p>(掲載済み—査読有り) 計 12 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nakagawa, S., Naganuma, T., Shioi, Hirose, T. Paraspeckles are subpopulation-specific nuclear bodies that are not essential in mice. Journal of Cell Biology (2011) 193, 31-39 ISSN 1540-8140 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. RNA (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. Frontier in Bioscience (2012) 17, 1729-1746. ISSN 1093-4715 4. Naganuma, T., Nakagawa, S., Tanigawa, A., Sasaki, Y.F., Goshima, N., Hirose, T. Alternative 3'-end processing of long noncoding RNA initiates construction of nuclear paraspeckles. EMBO Journal 31: 4020-4034 (2012). Online ISSN 1460-2075 5. Nakagawa, S., Ip, J.Y., Shioi, G., Tripathi, V., Zong, X., Hirose, T., Prasanth, K.V. Malat1 is not an essential component of nuclear speckles in mice. RNA 18:1487-1499 (2012). Online ISSN 1469-9001 6. Ideue, T., Adachi, S., Naganuma, N., Tanigawa, A., Natsume, T., Hirose, T. 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 7. Naganuma, T., Hirose, T. Paraspeckle formation during biogenesis of NEAT1 long noncoding RNA. RNA biology 10: 456-461 (2013) . Online ISSN 1555-8584 8. Hirose, T., Nakagawa, S. Paraspeckles: possible nuclear hubs by the RNA for the RNA. Biomolecular Concepts 3: 415-428 (2012). Online ISSN 1868-503X 9. Nakagawa, S., Hirose, T. Paraspeckle nuclear bodies-useful uselessness? Cell Mol Life Sci. 69: 3027-3036 (2012). Online ISSN 1420-9071 10. Nishimoto, Y., Nakagawa, S., Hirose, T., Okano, H.J., Takao, M., Shibata, S., Suyama, S., Kuwako, K., Imai, T., Murayama, S., Suzuki, N., Okano, H. The long non-coding RNA nuclear-enriched abundant transcript 1_2 induces paraspeckle formation in the motor neuron during the early phase of
------------------------	---

amyotrophic lateral sclerosis. Mol. Brain 6, 31 (2013).ISSN 1756-6606.
 11. Naganuma, T., **Hirose, T.** Paraspeckle formation during the biogenesis of long noncoding RNAs. RNA Biology 10, 456-461 (2013).ISSN 1547-6286.
 12. **Hirose, T.**, Virnicchi, G., Tanigawa, A., Naganuma, T., Li, R., Kimura, H., Yokoi, T., Nakagawa, S., Bénard, M., Fox, A., Pierron, G. NEAT1 long noncoding RNA regulates transcription via protein sequestration within subnuclear bodies. Mol. Biol. Cell 25, 169-183 (2014).ISSN 1059-1524.

(未掲載一査読有り) 計 3 件

1. **Hirose, T.**, Mishima, Y., Tomari, Y. Elements and machinery of non-coding RNAs: toward their taxonomy. EMBO Rep in press (2014).ISSN 1469-3178.
2. Ono H, Motoi N, Nagano H, Miyauchi E, Ushijima M, Matsuura M, Okumura S, Nishio M, **Hirose, T.**, Inase N, Ishikawa Y. Long non-coding RNA HOTAIR is relevant to cellular proliferation, invasiveness and clinical relapse in small cell lung cancer. Cancer Med. in press (2014). ISSN 2045-7634.
3. Chakravarty D, Sboner A, Nair S, Giannopoulou E, Li R, Hennig S, Mosquera JM, Park K, Kossai M, Erho N, Vergara I, Ghadessi M, Davicioni E, Jenkins R, Palanisamy N, Chen Z, Nakagawa S, **Hirose, T.**, Bander N, Beltran H, Fox A, Elemento O, Rubin M. The Estrogen receptor alpha regulated NEAT1 long non-coding RNA promotes prostate cancer progression. Cancer Discov. in press (2014) ISSN 2159-8274.

(掲載済み一査読無し) 計 7 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 廣瀬哲郎、谷川明恵 NEAT1 長鎖ノンコーディング RNA は、タンパク質の核内構造体への係留を介して転写を制御する 実験医学 32: 1249-1252

	(2014) ISSN: 0288-5514
<p>会議発表 計 45 件</p>	<p>(専門家向け) 計 41 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>T. Hirose</u> Multiple steps required for construction of nuclear paraspeckle on the specific long noncoding RNAs.日本分子生物学会年会 横浜、2011.12.16 2. <u>廣瀬哲郎</u> 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., <u>Hirose, T.</u> U7 snRNP acts to repress histone gene transcription during cell cycle arrest through its new component, hnRNP UL1 RNA2011, Kyoto, 2011.6.14 4. Kawaguchi, T., Naganuma, T., Sasaki, YF., <u>Hirose, T.</u>, Functional analysis of SWI/SNF chromatin remodeling complexes in nuclear paraspeckle formation. RNA2011, Kyoto, 2011.6.14 5. Naganuma, T., Nakagawa, S., Kawaguchi, T., Aoki, K., Sasaki, YF., Goshima, N., <u>Hirose, T.</u> MENβ Noncoding RNA-dependent and -independent Steps Required for Nuclear Paraspeckle Formation RNA2011, Kyoto, 2011.6.15 6. Naganuma, T., Sasaki, YF., Goshima, N., <u>Hirose, T.</u> Alternative 3' end processing of nuclear-retained long noncoding RNAs required for subnuclear body formation. RNA2011, Kyoto, 2011.6.15 7. <u>Hirose, T.</u> Nuclear body formation on the specific long noncoding RNAs. Tokyo RNA Club the 5th meeting, Tokyo, 2011.6.13 8. <u>Hirose, T.</u> 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 9. <u>廣瀬哲郎</u> 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 10. <u>廣瀬哲郎</u>、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 11. <u>廣瀬哲郎</u>、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

	<p>12. <u>廣瀬哲郎</u>、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応答した核内構造体 noncoding RNA の転写抑制機能、日本 RNA 学会年会、2012 年 07 月 18 日、仙台</p> <p>13. 萬年太郎、五島直樹、<u>廣瀬哲郎</u>、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>14. 長沼孝雄、谷川明恵、<u>廣瀬哲郎</u>、核内構造体構築に必要な noncoding RNA の選択的 3'末端プロセシングの分子機構、日本 RNA 学会年会、2012 年 07 月 19 日、仙台</p> <p>15. 中川真一、<u>廣瀬哲郎</u>、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>16. 川口哲哉、長沼孝雄、佐々木保典、<u>廣瀬哲郎</u>、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>17. 萬年太郎、五島直樹、<u>廣瀬哲郎</u>、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>18. <u>廣瀬哲郎</u>、The paraspeckle: the noncoding RNA-centered nuclear body for gene regulation, BiWO2012, 2012 年 10 月 31 日、東京</p> <p>19. <u>廣瀬哲郎</u>、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>20. 川口哲哉、長沼孝雄、<u>廣瀬哲郎</u>、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>21. <u>廣瀬哲郎</u>、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 ADARB2 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>22. <u>廣瀬哲郎</u>、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>23. 川口哲哉、長沼孝雄、<u>廣瀬哲郎</u>、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>24. 長沼孝雄、<u>廣瀬哲郎</u>、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>25. 谷川明恵、Giorgio Virnicchi, Marianne Benard, 長沼孝雄、Archa Fox., Gerard Pierron, <u>廣瀬哲郎</u>、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>26. <u>廣瀬哲郎</u>、Nuclear body formation during the long noncoding RNA biogenesis、34th Lorne Genome Conference 2013、2013 年 02 月 18 日、Lorne, Australia</p> <p>27. <u>廣瀬哲郎</u> 長鎖非コード RNA 研究から見えてきた新しいゲノム機能 第 14 回分子複合医薬研究会 2013 年 5 月 10 日 池田</p> <p>28. <u>廣瀬哲郎</u> “長鎖”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？ ゲノム創薬フォーラム第 32 回談話会「マイクロ RNA の新展開と創薬への利用」 2013 年 5 月 28 日 東京</p> <p>29. Mannen T, Goshuman N, <u>Hirose T.</u> Screening of the RNase-sensitive subnuclear structures identified the Sam68 nuclear body that was built on RNA with novel protein components. RNA2013, 2013 年 6 月 13 日 Davos</p> <p>30. Kawagushi Tm Tanigawa A, Naganuma T, <u>Hirose T.</u> Paraspeckle formation during NEAT1 lncRNA biogenesis is integrated by SWI/SNF chromatin remodeling complexes. RNA2013, 2013 年 6 月 13 日 Davos</p> <p>31. <u>Hirose T.</u> The roles of long noncoding RNA in the architecture of subnuclear structures. SEMINAIRES RECHERCHE Institut Gustave Roussy, CNRS, 2013 年 6 月 17 日 Villejuif</p> <p>32. <u>廣瀬哲郎</u> 長鎖非コード RNA の機能を規定するタンパク質因子 厚労省 難治性疾患克服研究事業「神経変性疾患に関する調査研究」夏期ワークショップ 2013 年 7 月 19 日 東京</p> <p>33. 萬年太郎、五島直樹、<u>廣瀬哲郎</u> RNase 感受性スクリーニングにより同定された核内 RNA 顆粒状構造体の解析 第 15 回 RNA ミーティング 2013 年 7 月 25 日 松山</p> <p>34. 川口哲哉、長沼孝雄、谷川明恵、<u>廣瀬哲郎</u> クロマチン再構築複合体による ncRNA 転写伸長制御を介した核内構造体の構築機構 第 15 回 RNA ミーティング 2013 年 7 月 25 日 松山</p> <p>35. <u>Hirose T.</u> The roles of long noncoding RNA in the architecture of subnuclear structures. 新潟神経学夏期セミナー・共同利用研国際シンポジウム 2013 年 7 月 27 日 新潟</p>
--	--

	<p>36. <u>廣瀬哲郎</u> 哺乳類 lncRNA による核内構造体構築メカニズムとその意義 第 5 回 RNAi 研究会 2013 年 8 月 31 日 広島</p> <p>37. <u>Hirose T.</u> Searching and functional analysis of the subnuclear structures built on specific long noncoding RNA. 第 86 回日本生化学会年会シンポジウム 2013 年 9 月 12 日 横浜</p> <p>38. <u>Hirose T.</u> Architectural role of long noncoding RNAs in vertebrates. 第 36 回日本分子生物学会年会ワークショップ 2013 年 12 月 4 日 神戸</p> <p>39. 萬年太郎、五島直樹、<u>廣瀬哲郎</u> RNase 感受性スクリーニングにより同定された核内 RNA 顆粒状構造体の解析 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 4 日 神戸</p> <p>40. Kawaguchi T, Tanigawa A, Naganuma T, Kimura H, Ohkawa Y, <u>Hirose T.</u> SWI/SNF chromatin remodeling complexes integrate cotranscriptional assembly of nuclear paraspeckle on NEAT1 long noncoding RNA. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 4 日 神戸</p> <p>41. <u>廣瀬哲郎</u> 細胞内構造構築 RNA の作用機序と存在意義の解明 FIRST シンポジウム「科学技術が拓く 2030 年」へのシナリオ 2014 年 2 月 28 日 東京</p> <p>(一般向け) 計 4 件</p> <p>1. <u>廣瀬哲郎</u> 遺伝暗号の光と影、茗溪学園中学出前講義、つくば、2011. 12. 20</p> <p>2. <u>廣瀬哲郎</u> 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>3. <u>廣瀬哲郎</u>、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>4. <u>廣瀬哲郎</u>、ゲノムの暗黒物質に迫る II、日本科学未来館リアルラボ、2013 年 9 月 15 日、東京</p>
<p>図書 計 2 件</p>	<p>1. <u>Hirose, T.</u>, Mannen, T. Rapid and Efficient Elimination of Specific Nuclear Noncoding RNAs in Mammalian Cells with Antisense Oligonucleotides. Methods Mol Biol. in press (2014)</p> <p>2. <u>Hirose, T.</u>, Goshima, N. Genome-wide co-localization screening of nuclear body-localized proteins using the fluorescent-tagged cDNA library. Methods Mol Biol. in press (2014)</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</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>

様式21

Webページ (URL)	産業技術総合研究所ホームページの研究成果欄とプレスリリース欄 (http://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2012/pr20120327/pr20120327.html) (http://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2012/pr20120910/pr20120910.html)及び 北海道大学遺伝子病制御研究所 (http://www.igm.hokudai.ac.jp) の研究成果欄にて発表
国民との 科学・技 術対話の 実施状況	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 3. 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 4. 廣瀬哲郎、ゲノムの暗黒物質に迫る II、日本科学未来館リアルラボ、2013 年 9 月 15 日、東京
新聞・一 般雑誌等 掲載 計 3 件	化学工業日報 2012 年 3 月 27 日 朝刊 6 面 日本経済新聞 2012 年 3 月 27 日 化学工業日報 2012 年 3 月 27 日 朝刊 6 面
その他	

7. その他特記事項