

【基盤研究(S)】

生物系(医歯薬学 I)



研究課題名 CCR4-NOT デアデニレース欠損に伴う病態解析と新たな遺伝子発現制御機構

東京大学・医科学研究所・教授

やまもと ただし
山本 雅

研究分野： 医歯薬学

キーワード： 分子

【研究の背景・目的】

遺伝子発現は転写制御と転写後制御で巧みに調節されている。近年 microRNA や shRNA による転写後制御研究が進み、それと共に mRNA 分解制御が新しい角度から見直されている。本研究では、mRNA 分解制御の重要なステップを担うデアデニレースに着目し、有核生物の主要なデアデニレースである CCR4-NOT 複合体(図1)について、その構成成分



図1 mRNAのpoly(A)に作用するCCR4-NOT

の一つ一つを欠損するマウスを作成・解析し生理機能を確立する。その生理機能情報に基づき、CCR4-NOT 複合体と Tob 蛋白質や RNA 結合蛋白質、microRNA などの相互作用を解析し、CCR4-NOT デアデニレース複合体が標的 mRNA 種を認識し分解に導く新たな仕組みを明らかにする。

【研究の方法】

CCR4-NOT 複合体を構成する 10 種の蛋白質すべてについて、遺伝子改変マウスを作成し、解剖形態学・分子病理学により解析して個体レベルでの生理的意義を確立する。また培養細胞レベルでの CCR4-NOT 複合体の作用機構に関する分子細胞生物学的解析やプロテオミクスならびに構造生物学的解析による複合体形成・維持機構の解析を進める。これらの知見を合わせ、脱アデニル化機能の不全で発現が影響を受ける mRNA 種を炙り出しながら、CCR4-NOT デアデニレース複合体を介する mRNA 代謝・分解機構を、生理機能や細胞内シグナル伝達の中に俯瞰的に捕らえて理解する。

膨大な遺伝子発現解析結果や蛋白質相互作用解析結果の情報はバイオインフォマティクス研究者の協力を得て進める。戦略として CCR4-NOT 複合体構成成分のうちでも特にデアデニレース活性を示すサブユニットやデアデニレース活性を直接制御することの分かっているサブユニットを欠損するマウスの作成・解析を優先する。Cnot7 デアデニレース欠損マウスは精子形成不全を示すことから、精巣等で発現が上昇している mRNA 種を microarray 法で探索しその中から poly(A)長が変化したり安定化したりしている mRNA を探し出す。またデアデニレース活性を調節する Cnot3 をコー

ドする遺伝子のヘテロ欠損マウスは痩せ形質を示し、肥満耐性であった。この形質に関連して発現量が変化している mRNA 群を探索し、見出した標的候補 mRNA については、その 3' UTR に結合しうる microRNA や蛋白質を同定し、それらと CCR4-NOT デアデニレース活性との機能連携を探り出す。同様の手法により他の Cnot サブユニット欠損マウスについても病態解析から明らかにされる生理機能に立脚して CCR4-NOT デアデニレース標的 mRNA を網羅し、普遍的な CCR4-NOT デアデニレース活性がどのような仕組みで特異性を発揮し標的 mRNA を識別するのかを、生理機能に基づいて明らかにする。

【期待される成果と意義】

細胞が外来刺激に応答して変化させる遺伝子発現のうちの半分以上が mRNA の安定性に依存していることからわかるように mRNA の安定性制御機構を明らかにすることは生命の仕組みの理解に大きく貢献する。本研究から、mRNA 代謝に関わる CCR4-NOT 複合体のこれまで未解明であった生理学的意義が明確になり、その結果として転写後制御の重要な仕組みが明らかになると期待される。本研究の成果は、生命現象の基幹である遺伝子発現(=mRNA 代謝)制御の中の mRNA サイレンシング・mRNA 分解について、教科書レベルの知見をもたらす。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Yoshida Y, Tanaka S, Yamamoto T et al, Negative regulation of BMP/Smad signaling by Tob in osteoblasts. *Cell* 103, 1085-1097. (2000)
- ・ Oligo-astheno-teratozoospermia in mice lacking Cnot7, a regulator of retinoid X receptor beta, *Nature Genet* 36: 528-533. (2004)
- ・ Morita M, Nakamura T, Yamamoto T. et al, Depletion of mammalian CCR4b deadenylase triggers increment of the *p27^{Kip1}* mRNA level and impairs cell growth. *Mol Cell Biol* 27: 4980-4990. (2007)

【研究期間と研究経費】

平成 21 年度 - 25 年度

159,200 千円

ホームページ等

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/gannsig/>