



## ノンコーディング RNA が核内構造体を組み立てるための 共通メカニズムを発見

### 研究成果のポイント

- ・ 未だ謎に満ちたノンコーディング RNA<sup>1)</sup>が、核内構造体<sup>2)</sup>を組み立てるために働く共通メカニズムを発見した。
- ・ 共通メカニズムには、クロマチン再構築複合体<sup>3)</sup>によるタンパク質同士を結びつける新しい働きが必要である。
- ・ 神経疾患の原因解明や治療技術基盤の開発につながることを期待される。

### 研究成果の概要

21 世紀に入り、ヒトゲノムから正体不明なノンコーディング RNA (ncRNA) が大量に作られていることが発見され、その働きに大きな注目が集まっています。これまでに我々は、一種の ncRNA が細胞核内に見られる粒状の構造体（核内構造体）を支える骨格として働くことを見出しました。今回、この核内構造体がどのようなメカニズムによって組み立てられるのかを明らかにし、SWI/SNF クロマチン再構築複合体（SWI/SNF 複合体）というタンパク質の複合体が、このメカニズムに重要な役割を果たしていることを見出しました。SWI/SNF 複合体は、これまでクロマチン<sup>4)</sup>の構造を変化させる重要な遺伝子発現制御因子として知られ、癌への関わりも多く報告されています。しかし本研究では、SWI/SNF 複合体が「複数のタンパク質同士を結びつける」というこれまで知られていなかった新しい働きによって、複数の ncRNA を骨格とした核内構造体を組み立てるために働いていることを発見しました。この発見は、未だに謎に満ちた ncRNA の働きを理解するだけでなく、神経疾患で検出される毒性の構造体の組み立て過程の解明につながることを期待できます。

### 論文発表の概要

研究論文名：SWI/SNF chromatin-remodeling complexes function in noncoding RNA-dependent assembly of nuclear bodies. (SWI/SNF クロマチン再構築複合体はノンコーディング RNA に依存した核内構造体形成に寄与する)

著者：川口哲哉<sup>1</sup>，谷川明恵<sup>2</sup>，長沼孝雄<sup>3</sup>，大川恭行<sup>4</sup>，Sylvie Souquere<sup>5</sup>，Gerard Pierron<sup>5</sup>，廣瀬哲郎<sup>1</sup>（<sup>1</sup>北海道大学遺伝子病制御研究所，<sup>2</sup>独立行政法人理化学研究所多細胞システム形成研究セン

ター (CDB), <sup>3</sup> 筑波大学大学院生命環境科学研究科, <sup>4</sup> 九州大学大学院医学研究院, <sup>5</sup> フランス国立科学研究センター (CNRS))

公表雑誌: Proceedings of the National Academy of Sciences USA (米国アカデミー紀要)

公表日: 日本時間 (現地時間) 2015 年 3 月 24 日 (火) 午前 4 時

(米国東部時間 2015 年 3 月 23 日 (月) 午後 3 時)

## 研究成果の概要

### (背景)

ゲノムに刻まれた遺伝情報はメッセンジャーRNA に写し取られ、それがタンパク質に翻訳されるというセントラルドグマに基づいて生命科学は発展してきました。しかし 21 世紀のポストゲノム時代に入り、ヒトゲノムの大半から正体不明の ncRNA が大量に合成されていることが発見されました。「ゲノムの暗黒物質」とも呼ばれる ncRNA の機能は、未だ大きな謎に包まれており、現在機能解明に向けた研究が世界中で行われています。我々は、こうした ncRNA 群の中から NEAT1<sup>5)</sup> という ncRNA が、細胞核内に存在する粒状構造体 (核内構造体) の一種であるパラスペックル<sup>6)</sup> の「骨格」として働くことを明らかにしました。さらにパラスペックルは、NEAT1 と 40 種類以上の RNA 結合タンパク質が相互作用することによって組み立てられる巨大な RNA とタンパク質の複合体であることを明らかにしました。こうして形成されたパラスペックルは、骨格となる NEAT1 がどれだけ発現するかによって、その大きさを柔軟に変化させ、構造体内に取り込む RNA 結合タンパク質の量を調節する「スポンジ」のような役割を果たします。これによって核内の RNA 結合タンパク質の量を変動させることができ、その結果、それぞれのタンパク質の標的遺伝子の発現を調節することができます。最近、このパラスペックルが、卵巣内の黄体という器官の形成やウィルスの感染応答、さらには神経変性疾患や癌などの疾患に関わるという知見も蓄積してきました。こうした中で、このパラスペックルが、NEAT1 という ncRNA 上にどのようなメカニズムで組み立てられるのかという問題を解き明かすために、本研究を実施しました。

### (研究手法)

まずパラスペックル構成タンパク質の相互作用情報をもとに、パラスペックル形成に関わる新しい因子を探索し、新たに SWI/SNF クロマチン再構築複合体 (SWI/SNF 複合体) がその候補として浮上しました。そしてこれまで知られているパラスペックル構成因子と共に、免疫染色や免疫電子顕微鏡観察によってその局在を確認しました。次に RNA 干渉による機能阻害実験によって、SWI/SNF 複合体がパラスペックルの組み立て過程にどのような役割を果たしているかを解析しました。さらに CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術<sup>7)</sup> を用いて、SWI/SNF 複合体の触媒サブユニットに変異を導入し、その影響を確認しました。また SWI/SNF 複合体の機能を阻害した時に、パラスペックル形成のどの段階が妨げられているかを分子間相互作用解析によって検討しました。最後に、別の ncRNA を骨格に形成される核内ストレス体形成の過程に SWI/SNF 複合体がどのような役割を果たしているかを以上の手法を組み合わせて解析しました。

### (研究成果)

本研究によって、SWI/SNF 複合体がパラスペックルと核内ストレス体という 2 つの ncRNA を骨格とした核内構造体に局在し、これらの構造体の構成因子と相互作用していることが明らかになりました。さらに機能阻害実験の結果、SWI/SNF 複合体がこの 2 つの核内構造体の組み立てに必須であることがわかりました。SWI/SNF 複合体は、これまで ATP の化学エネルギーを利用したクロマチン再構築

活性によってクロマチンの構造変換を行う重要な因子であることがよく知られていたため、ATPase ドメイン<sup>8)</sup>に変異を導入した変異体をゲノム編集によって作成し、核内構造体の組み立てへの影響を調べたところ、これまで知られているクロマチン再構築活性は、この組み立てには必要ないことが示されました。その代わりに SWI/SNF 複合体は、核内構造体に含まれる他のタンパク質同士の相互作用を促進して構造体の組み立てを先導するという新しい役割を果たしていることが明らかになりました。これらのことから、ncRNA を骨格とした核内構造体は、SWI/SNF クロマチン再構築複合体の新しい機能による共通の分子機構によって組み立てられると考えられます。

#### (今後への期待)

本研究によって、ncRNA を骨格とした核内構造体を組み立てるための共通のメカニズムが存在すること、そして SWI/SNF 複合体の新しい働きによってこのメカニズムが行われていることが明らかになりました。今後の SWI/SNF 複合体の働き方をさらに細かく解き明かすことによって、光学顕微鏡でも検出できるほど巨大な構造体が、ncRNA 上に組み立てられる過程を明らかにできると考えます。また今後、細胞内から類似のメカニズムによって組み立てられる新しい構造体が見出される可能性もあります。本研究で取り上げた構造体は、様々な神経疾患で検出される毒性の構造体と類似していることから、本研究によって得られた知見が神経疾患の発症メカニズムの解明や治療技術基盤の開発につながることも期待できます。この研究を通じて、世界的にも未だ謎に満ちた ncRNA 研究の中で、「構造構築」という共通の働きをもつ ncRNA に関する先駆的な知見が得られることが期待されます。

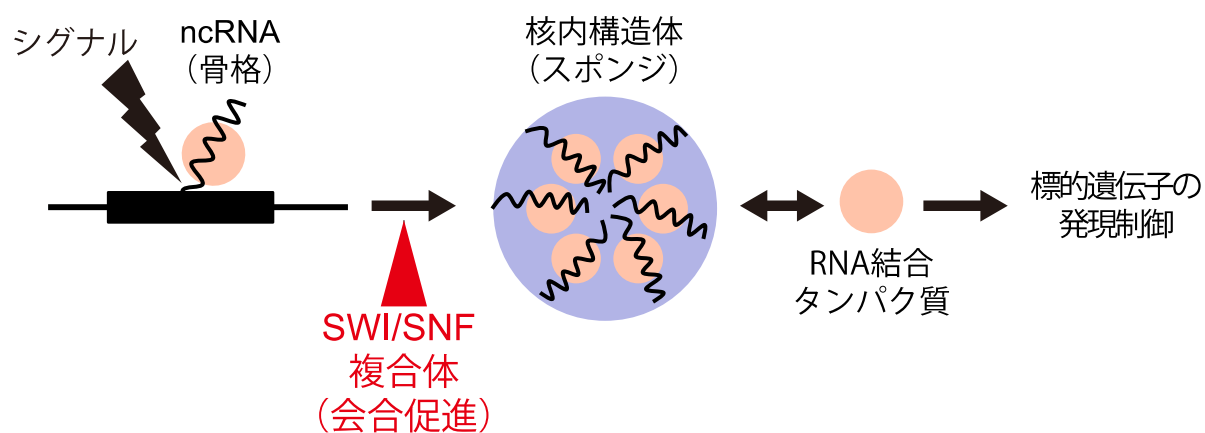
#### お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学遺伝子病制御研究所 教授 廣瀬 哲郎（ひろせ てつろう）  
TEL：011-706-6956 FAX：011-706-7540 E-mail：hirose@igm.hokudai.ac.jp  
ホームページ：<http://www.igm.hokudai.ac.jp/rna/>

#### [用語解説]

- 1) ノンコーディング RNA：タンパク質情報を持たず RNA 自身で何らかの機能を果たす RNA 分子。
- 2) 核内構造体：細胞核内に存在する粒状の構造体。主に遺伝子の発現制御や制御因子の合成や貯蔵の場として働く。
- 3) クロマチン再構築複合体：クロマチン<sup>4)</sup>上での遺伝子発現制御因子で、化学エネルギーを使ってクロマチン構造を変換するクロマチン再構築活性をもつ。
- 4) クロマチン：遺伝情報を持つ DNA とタンパク質の複合体で、核内で複雑に折りたたまれて存在する。細胞分裂時に染色体として検出できる。
- 5) NEAT1：核内構造体パラスペックルの構造骨格として働く ncRNA。2 つのアイソフォームからなり数多くのタンパク質と相互作用する。
- 6) パラスペックル：RNA をコアとする粒状の核内構造体。多くの核内制御タンパク質を含む。
- 7) CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術：バクテリア由来の特異的な DNA 切断酵素複合体を利用したゲノム編集技術。様々な生物種の任意の遺伝子の機能破壊や改変を簡便に行うことができる。
- 8) ATPase ドメイン：ATP（アデノシン 3 リン酸）の加水分解反応に必要なタンパク質内の領域。

[補足図]



SWI/SNF 複合体による ncRNA を骨格とした核内構造体形成の模式図

細胞内外からのシグナルに応じて、特異的な ncRNA が合成され、それが骨格となって様々な RNA 結合タンパク質を取り込みながら核内構造体が形成される。その会合過程を SWI/SNF 複合体が促進している。核内構造体は、RNA 結合タンパク質のスポンジとして構造体内に留め置き、これらのタンパク質の標的遺伝子の発現を調節する役割を果たす。