

ノンコーディング RNA 構造体 nSB の新機能を発見

～温度を感知したリン酸化反応の「るつぼ」として働く～

ポイント

- ・核内ストレス体 (nSB) は、熱ストレスからの回復期の RNA スプライシングを制御し、400 種類の mRNA のイントロン残留を促進。
- ・nSB は、CLK1 キナーゼによるスプライシング制御因子のリン酸化の場としてストレス回復期に働く。
- ・CLK1 によるリン酸化は、ストレス回復期の温度依存的な RNA スプライシング制御に必要。

概要

北海道大学遺伝子病制御研究所の廣瀬哲郎教授、二宮賢介助教らの共同研究グループは、ノンコーディング RNA (ncRNA) *1 を骨格として作られる細胞内構造体の核内ストレス体 (nSB) の新機能解明に成功しました。

21 世紀に入りヒトゲノムから機能未知の ncRNA が大量に産生されていることが明らかとなり、大きな注目を集めています。本研究グループは、これまでに核内構造体*2 の骨格として働く ncRNA を発見し「アーキテクチュラル RNA (arcRNA)」と命名しました。細胞核内に多数存在する核内構造体のうち、熱ストレス*3 条件下で迅速に誘導形成される核内構造体 nSB は、HSATIII という霊長類特異的な arcRNA を骨格として、多くのタンパク質と共に形成されますが、その存在意義は発見以来 30 年にわたって謎のままでした。

本研究グループは、HSATIIIarcRNA の機能阻害により、熱ストレス条件下でも nSB が形成不全の細胞から抽出した RNA の次世代シーケンス解析から、nSB が RNA スプライシング*4 を抑制し、400 種類もの mRNA のイントロン領域を保持したまま前駆体 mRNA として蓄積する現象 (イントロン残留) を促進することを発見しました。この nSB 機能は、主に熱ストレスが去った後のストレス回復期に発揮されます。さらに nSB の 141 種類の構成タンパク質を同定し、その中のリン酸化酵素である CLK1 キナーゼ*5 が、ストレス回復期になると nSB に取り込まれて、すでに熱ストレス中に取り込まれていたスプライシング因子を効率良くリン酸化していることを明らかにしました。またこのリン酸化は、上記のイントロン残留に必要なことがわかりました。以上のことから、nSB はスプライシング因子のリン酸化反応の「るつぼ」として働き、イントロン残留による温度依存的な遺伝子発現を制御していることが明らかになりました。今後、nSB の生理機能を明らかにすることによって、霊長類特有の制御機構の重要性を解明できると期待されます。

なお、本研究成果は、2019 年 11 月 29 日 (金)、The EMBO Journal 誌にオンライン掲載されました。

【背景】

21世紀に入り、ヒトゲノムの75%もの領域からノンコーディングRNA(ncRNA)と呼ばれるタンパク質のコード情報をもたない機能未知のRNAが合成されていることがわかり、その機能が注目を集めていました。しかし依然として、その役割がわからないものがほとんどで、その機能並びにメカニズムの解明が大きな課題となっていました。

廣瀬教授らの研究グループは、このようなncRNAの中から、核内構造体の構造骨格として働くアーキテクチュラルRNA(arcRNA)を発見し、その作用機構の研究を先導してきました。arcRNAの中には、様々なストレスによって発現し、核内構造体形成を誘導するものが知られていました。その中で核内ストレス体(nSB)は、熱ストレス時に誘導形成される核内構造体として30年ほど前に発見され、その後HSATIII arcRNAを骨格にして形成されることが明らかになりました。しかしnSBが熱ストレス時にどのような役割を果たしているのか、何故RNAを骨格としているのかについては、これまで不明のままでした。

【研究手法】

研究グループは、アンチセンス核酸^{*6}を用いてHSATIII arcRNAを機能阻害し、熱ストレス条件下でもnSBの形成不全となる細胞から核内RNAを調整し、次世代シーケンス解析によって遺伝子発現プロファイルを取得しました。アンチセンス核酸を用いてChIRP法^{*7}によって沈降させて回収したnSB画分を用いて、質量分析によって、その構成タンパク質を網羅的に同定し、CLK1とその基質となるスプライシング因子を同定しました。CLK1によるスプライシング因子のリン酸化は、Phos-tag SDS-PAGE^{*8}によって展開したタンパク質に対するスプライシング因子のウェスタンブロッティングによって検出しました。nSBの観察は、HSATIIIのアンチセンス核酸をプローブとしたin situハイブリダイゼーションあるいはnSBタンパク質の免疫染色で共焦点レーザー顕微鏡によって行いました。

【研究成果】

研究グループは、熱ストレス条件下で、HSATIII arcRNAを骨格として誘導形成されるnSBが、RNAスプライシングを制御し、イントロン領域を保持したまま前駆体mRNAとして蓄積する現象(イントロン残留)を促進することを発見しました。nSBは、主に熱ストレスが去った後のストレス回復期に、400種類ものmRNAのイントロン残留を促進しています。次に精製したnSB画分から141種類のnSB構成タンパク質を質量分析によって同定し、その中からリン酸化酵素のCLK1キナーゼがストレス回復期になるとnSBに取り込まれて、前もってそこに取り込まれていたスプライシング因子を効率良くリン酸化することを明らかにしました。またこのスプライシング因子のリン酸化は、上記のイントロン残留に必要なことが分かりました。以上のことから、nSBはスプライシング因子のリン酸化反応の「るつぼ」として働き、イントロン残留による温度依存的な遺伝子発現を制御していることが明らかになりました。

【今後への期待】

本研究成果は、熱ストレスによって誘導形成されるnSBが、そのストレスからの回復期に特異的な生化学反応の「るつぼ」として遺伝子発現を制御していることを明らかにしました。今後、この機能がどのような生理機能や疾患に関わっているかを明らかにすることによって、霊長類特有の制御機構や疾患の発症における重要性を解明できると期待されます。

論文情報

論文名 LncRNA-dependent nuclear stress bodies promote intron retention through SR protein phosphorylation (LncRNA 依存的核内ストレス体は SR タンパク質のリン酸化を通してイントロン残留を促進する)

著者名 二宮賢介¹, 足達俊吾², 夏目 徹², 岩切淳一³, 寺井悟郎³, 浅井 潔³, 廣瀬哲郎¹ (1 北海道大学遺伝子病制御研究所, ²産業技術総合研究所 Molprof, ³東京大学大学院新領域創成科学研究科)

雑誌名 The EMBO Journal (分子生物学の国際学術誌)

DOI 10.15252/embj.2019102729

公表日 2019 年 11 月 29 日 (金) 午後 8 時

お問い合わせ先

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)

T E L 011-706-5071 F A X 011-706-7540 メール hirose@igm.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.igm.hokudai.ac.jp/rna/index.html>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

【用語解説】

- *1 ノンコーディング RNA (ncRNA) … タンパク質の情報を持たず、RNA 分子自体が機能を持つ RNA の総称のこと。
- *2 核内構造体 … 真核生物の細胞核に形成される顆粒状の構造のこと。分子の集合・化学反応を促進・タンパク質の隔離などの機能を持つ。
- *3 熱ストレス … 身体が生理的障害なしに耐え得る限度を上回る暑熱条件。
- *4 RNA スプライシング … 真核生物に見られる遺伝子の分断構造中のイントロン領域を、転写後の前駆体 mRNA から取り除き、エクソン領域のみが連結した成熟 mRNA を産生する遺伝子発現の 1 ステップ。
- *5 CLK1 キナーゼ … スプライシング因子である SR タンパク質中のセリンとアルギニンが交互に現れる RS ドメインのセリン残基のリン酸化を担うリン酸化酵素。主に核内で機能している。
- *6 アンチセンス核酸 … RNA に対して相補的な配列を持つ 20 塩基程度の短い DNA 断片。
- *7 ChIRP 法 … 特定の RNA とタンパク質の複合体を、RNA に対するアンチセンス核酸によって特異的に沈降させ、その構成成分を次世代シーケンサーや質量分析によって解析する方法。
- *8 Phos-tag SDS-PAGE … 異なるリン酸化状態のタンパク質の泳動度合の違いを利用して、ゲル上で分離できる電気泳動手法。

【参考図】

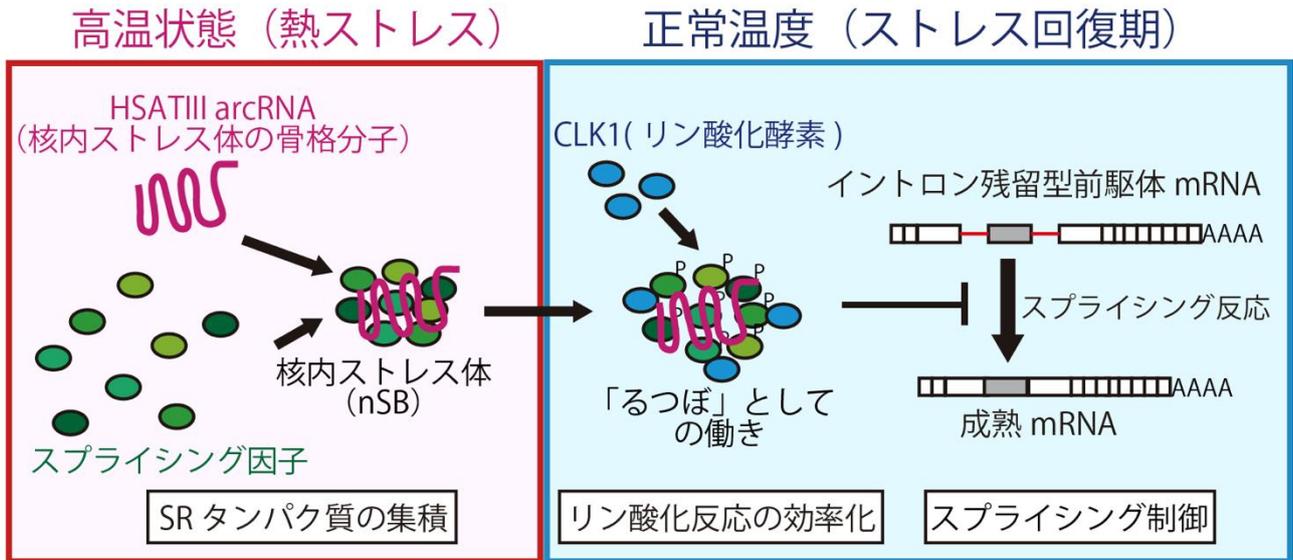


図1. 熱ストレス条件下で HSATIII arcRNA を骨格として核内ストレス体 (nSB) が形成され, そこにスプライシング因子が係留される。温度が正常に戻ると, nSB にリン酸化酵素 CLK1 が取り込まれ, そこに係留されていたスプライシング因子を効率良くリン酸化する。つまり nSB はリン酸化反応のための「るつぼ」として働く。リン酸化されたスプライシング因子は, スプライシング反応を抑える働きによってイントロン残留型の前駆体 mRNA を細胞核内に蓄積させる。