

スプライシング異常から遺伝子発現の正確性を保つ防御機構の解析



大学院医学薬学研究部(医学)
准教授 甲斐田 大輔

研究分野

Research area

分子生物学

研究のキーワード RNA

研究内容

Research content

mRNAスプライシングは、ヒトをはじめとした高等真核生物における正確な遺伝子発現に必須な機構である。この機構の欠損により異常なmRNAが蓄積し、翻訳されることにより、異常なタンパク質が産生される危険がある。このような異常タンパク質は細胞のがん化などを引き起こす可能性がある。細胞のがん化を防ぐため、スプライシングに異常があった場合、その前段階である転写を停止することによって異常タンパク質の産生を防ぐ機構が存在することを明らかとしたので紹介したい。

研究のポイント

Research point

ヒトにおいては、ほとんどすべての遺伝子がスプライシングを受けるため、スプライシング異常による異常タンパク質の産生のリスクは非常に高い。スプライシング異常を持つ細胞の転写を停止することにより、異常タンパク質の産生を妨げると同時に、転写が停止した細胞は最終的には死に至るため、個体の中からスプライシング異常を持つ細胞を排除する恒常性維持効果もあると考えられる。このような機構は今まで報告されておらず、生物が個体として生き残る上で重要な戦略であると考えられる。

研究への取組、今後の展望

スプライシング異常により、骨髄異形性症候群や慢性リンパ性白血病が引き起こされることが広く知られている。また、本研究において人為的にスプライシングを阻害するのに用いたスプライノスタチンAは、これらの疾患の原因遺伝子の一つであるSF3b1に結合する。したがって、今回明らかとなったスプライシング異常による異常タンパク質の産生や転写の抑制が、これらの疾患の発症に大きく関与している可能性が高い。今後は、上記の機構を詳細に解析することにより、これらの疾患の病態や発症機構に関する新たな知見を得ることを目的とし研究を行う予定である。将来的には、これらの知見をもとに、これらの疾患の治療法や治療薬の開発に貢献したいと考えている。また、この研究に関連して平成26年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞を受賞している。

研究REPORT

HeLa細胞をスプライシング阻害剤スプライノスタチンAで処理したのちRNAを抽出した。リアルタイムPCRにより発現量を測定したところ、遺伝子の上流から下流に向かって段階的に減少することが明らかとなった(図1A)。また、mRNAを転写するRNAポリメラーゼIIの挙動も観察したところ、コントロール細胞と比較して遺伝子上流ではより蓄積しており、下流ではより減少していた(図1B)。これらのことから、スプライシング阻害時には転写が遺伝子の途中で停止していると考えられる。

次に、転写の一時停止の機構を明らかにするために、スプライシング阻害による転写の一時停止を解除するような因子の探索を行った。様々なRNA結合たんぱく質を過剰発現させた細胞をスプライノスタチンAで処理し、その際の転写活性を測定した。hnRNP LをはじめとしたいくつかのRNA結合タンパク質を過剰発現することにより、スプライシング阻害による転写の一時停止が解除され、遺伝子の下流領域まで正常に転写が行われるようになった(図2)。

さらに、転写の一時停止の解除を引き起こす機構を明らかにするために、hnRNP Lを過剰発現した際の転写関連因子のタンパク質量を測定したところ、転写の抑制因子であるHEXIMのタンパク量が減少していることが明らかとなった(図3)。

以上の結果から、スプライシング阻害による転写の一時停止にはhnRNP LやHEXIMが関与していることが示唆された。今後は、培養した造血幹細胞においても同様の実験を行う予定である。さらには、骨髄異形性症候群のモデルマウスから採取した造血幹細胞における各RNA結合タンパク質や転写関連因子のタンパク量変化を解析したいと考えている。

図1

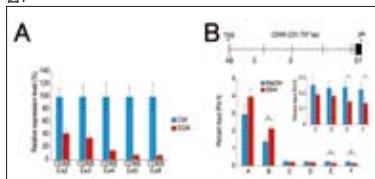


図2

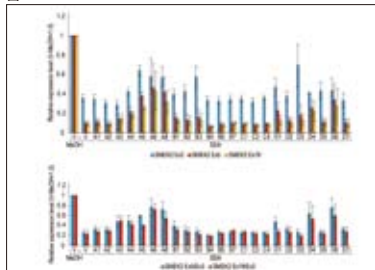


図3

