

平成 27 年度 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	NEAT1 ノンコーディング RNA の生理機能解明	
新規・継続の別	新規 ・ 継続	
研究代表者	所属	理化学研究所
	職名・氏名	准主任研究員・中川 真一
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属	
	職名・氏名	
	所属	
	職名・氏名	
受け入れ教員	職名・氏名	教授・廣瀬哲郎
研究目的 (300 字程度)	<p>長鎖ノンコーディング RNA である Neat1 は核内構造体パラスペックルの骨格として機能しており、Neat1 ノックアウトマウスの雌個体は黄体形成不全により妊孕性が著しく低下する。本研究ではパラスペックルの分子機能や動作原理をより詳しく明らかにするために、Neat1 の各領域を認識するプローブを用いて高感度蛍光 in situ hybridization (FISH) を行い、そこで可視化された微細構造を超解像顕微鏡を用いて明らかにしてゆく。特に、本共同研究では、各種 FISH プロトコルを比較検討し、高感度 FISH のための染色条件の至適化を行う。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>様々な条件で in situ hybridization を行った結果、DNA-FISH で使用されているプロトコルと RNA-FISH で使用されているプロトコルを組み合わせることによって、非常に高感度に RNA とタンパク質を同時検出できることがわかった。また、single molecule FISH と呼ばれるプロトコルによって Neat1 を簡便に検出できることも明らかとなった。確立された高感度 FISH 法を用いてパラスペックルの微細構造観察を行ったところ、パラスペックルは Neat1 の 5'及び 3'領域が外周に、中心領域が内部に折りたたまれた core-shell スフェロイド構造を持っており、Sfpq や Nono などの DBHS ファミリーに属するパラスペックルタンパク質は core 部分に、TDP43 などのパラスペックルタンパク質は shell 部分に局在することが明らかとなった。また、パラスペックルの構造維持に必須の役割を持つ Fus のノックアウトマウス由来の細胞においては、Neat1 はパラスペックルに特徴的な core-shell 構造を作ることではできず核質に拡散するほか、転写サイトでランダムな集合体を作ることが明らかとなった。</p>	
成果	<p>【学会報告】 Shinichi Nakagawa, Regulation of female fertility by lncRNA Neat1,</p>	

	<p>BMB2015, Kobe, Dec 2nd (2015)</p> <p>中川 真一、水戸 麻理、廣瀬 哲郎 超解像顕微鏡による核内構造体パラスペクトルの微細構造観察 第17回RNA学会年会、札幌、2015年7月16日</p>
	<p>【論文発表】</p> <p>Mito M, Kawaguchi T, Hirose T, Nakagawa S. Simultaneous multicolor detection of RNA and proteins using super-resolution microscopy. <b>Methods</b> S1046-2023, 30146-8 (2015) (IF=3.645)</p> <p>Nakagawa, S. Analysis of the subcellular distribution of RNA by fluorescence in situ hybridization. <b>Methods Mol. Biol.</b> 1206, 107-22 (2015). (IF=1.29)</p>
	<p>【新聞報道】</p> <p>該当なし</p>