

令和元年度 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	がん細胞で RNA 顆粒が融合して核内構造体を形成するメカニズムの解明	
新規・継続の別	継続	
研究代表者	所属	立命館大学・生命科学部
	職名・氏名	助教・萬年太郎
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
概要 (100～150 字程度)	<p>ヒト大腸がん由来の HCT116 細胞において形成される核内 RNA 顆粒(DBC1 核内構造体)の新規構成タンパク質が構造体の形成・維持にどのように関与しているか明らかにするため、siRNA によるノックダウンをおこない解析をおこなった。さらにレスキュー実験をおこない、構造体の形成・維持に必要なタンパク質の領域を明らかにした。</p>	
研究目的 (300 字程度)	<p>ノンコーディング RNA (ncRNA)を骨格として形成される核内構造体 (核内 RNA 顆粒) が重要な生理機能に関与していることが近年明らかになってきている。核内 RNA 顆粒は RNA-タンパク質相互作用を介して形成されることから、これらの生理機能を解明するためには骨格となる RNA と構造体の構成因子やその形成機構を明らかにすることが重要となる。これまでに申請者は、特異的ながん細胞において形成される複数の核内 RNA 顆粒を見出している (Mannen et al., J Cell Biol. 2016)。本研究では、核内 RNA 顆粒の新規構成因子や形成機構を明らかにすることにより、がん細胞における RNA を骨格として形成される核内 RNA 顆粒の生理機能を解明することが目的である。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>がん細胞で RNA を骨格として形成される核内 RNA 顆粒の新規構成因子を明らかにし、がん細胞における構造体の形成機構や生理機能を理解していくことを目指す。そのために、特異的ながん細胞において形成される核内 RNA 顆粒の構成因子安定発現株を用いて、様々な生理条件下において構成タンパク質と相互作用する新規構成因子をプロテオミクス解析により明らかにする。また同定された新規構成因子が構造体形成にどのように関与するのか解析するため、構成因子の siRNA を行い構造体形成の制御因子を探索する。さらに、それらの制御因子と結合する構造体の骨格となる RNA を</p>	

	<p>同定することで、核内 RNA 顆粒の生理機能を明らかにする。</p> <p>HCT116 細胞において形成される核内 RNA 顆粒(DBC1 核内構造体)の新規構成因子を同定するため、構成タンパク質の DBC1 を免疫沈降後、RNA 分解酵素処理をおこない LC-MS/MS により解析した。その結果、RNA 結合ドメインを持つ新規構成タンパク質(HNRNPK と HNRNPL)を同定した。これらのタンパク質および DBC1 が構造体の形成・維持にどのように関与しているか解析するため siRNA によるノックダウンをおこなったところ、DBC1 または HNRNPL のノックダウンにより DBC1 核内構造体が消失した。さらに HNRNPL タンパク質のどの領域が構造体形成に必要であるかレスキュー実験をおこなったところ、RNA 結合ドメインと Prolin-Rich 領域が構造体の形成に必要なことが明らかになった。現在、これらの領域が DBC1 核内構造体の形成・維持にどのように関与するのか解析をおこなっている。</p>
<p>成果</p>	<p>【学会報告】</p> <p>参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと</p> <p>1. LLPS 様の相互作用を介して形成される核内 RNA 顆粒の機能解析, <u>萬年 太郎</u>、山下 暁朗、廣瀬 哲郎、早野俊哉, 第 4 回 LLPS 研究会・ASUKA 若手交流会 2019, 奈良県立医科大学 未来基礎医学教室内 ASUKA 医学研究会, 奈良県立医科大学内 臨床研修センター1 階 (カンファレンス室) , 2019/12/09</p> <p>2. がん細胞で形成される Sam68 核内構造体と DBC1 核内構造体の機能解析, 後藤 雅人、岸田 真実、西浦 未来、早田 美帆、<u>萬年 太郎</u>、山下 暁朗、廣瀬 哲郎、早野 俊哉, 第 42 回日本分子生物学会年会, 日本分子生物学会, 福岡マリンメッセ, 2019/12/04</p> <p>3. Analysis of protein-protein interactions within the DBC1 nuclear bodies built around RNAs in cancer cell line, <u>萬年 太郎</u>、山下 暁朗、廣瀬 哲郎、早野 俊哉, 第 42 回日本分子生物学会年会, 日本分子生物学会,福岡マリンメッセ, 2019/12/05</p> <p>4. Analysis of protein-protein interactions within the Sam68 and DBC1 nuclear bodies built around RNAs in cancer cell line, <u>Taro Mannen</u>, Akio Yamashita, Tetsuro Hirose, Toshiya Hayano, EMBO workshop~RNP network dynamics indevelopment and disease, EMBO, Ljubljana, Slovenia, 2019/10/01</p> <p>5. がん細胞で形成される Sam68 核内構造体と DBC1 核内構造体の生理機能の解析, 後藤 雅人、岸田 真実、西浦 未来、早田 美帆、<u>萬年 太郎</u>、早野 俊哉, 稀少疾患カンファレンス、国際稀少疾患シンポジウム 2019, 私大戦略的研究基盤形成支援事業 稀少疾患・難治疾患の原因究明と治療法の開発に向けた基盤研究, 立命館大学、BKC、サイエンスコア, 2019/08/30</p>

6. がん細胞で形成される DBC1 核内 RNA 顆粒の機能解析, 萬年太郎、早野 俊哉, 稀少疾患カンファレンス、国際稀少疾患シンポジウム 2019, 私大戦略的研究基盤形成支援事業 稀少疾患・難治疾患の原因究明と治療法の開発に向けた基盤研究, 立命館大学 BKC サイエンスコア, 2019/08/30

7. がん細胞で形成される DBC1 核内 RNA 顆粒のタンパク質相互作用解析, 萬年太郎、山下 暁朗、廣瀬 哲郎、早野 俊哉, 第 21 回日本 RNA 学会, 日本 RNA 学会, 東京大学 伊藤謝恩ホール, 2019/07/19

8. がん細胞で形成される核内構造体の機能解析, 萬年太郎, 第 7 回生命医科学科コロキウム, 立命館大学 生命科学部 生命医科学科, フォレストハウス F304, 2019/07/05

**【論文発表】**

著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと  
なし

**【新聞報道】**

なし