

解禁日時:2020年9月14日(月)午後7時(日本時間)

プレス通知資料 (研究成果)



国立大学法人
東京医科歯科大学
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY

報道関係各位

2020年9月10日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「tRNA修飾酵素TruB1によるがん抑制マイクロRNA let-7の特異的制御機構の発見」 — RNA研究の新展開と新規がん病態解明への期待 —

【ポイント】

- がん抑制マイクロRNA let-7の新しい制御機構を探索するために、新たな研究手法を開発しました。
- 本手法により、tRNA修飾酵素TruB1によるlet-7の特異的な制御を発見しました。
- この研究成果は、RNA結合タンパク質とマイクロRNA研究に新しい洞察を加えるものです。
- RNA結合タンパク質とマイクロRNAを標的としたがんの病態解明と新規治療戦略への応用が期待されます。

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム発生再生医学分野の浅原弘嗣教授、栗本遼太助教らの研究グループは、東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命専攻RNA生物学分野の富田耕造教授ら、東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻の鈴木勉教授のグループとの共同研究で、tRNA修飾酵素であるTruB1が酵素活性機能とは関係なく、腫瘍抑制マイクロRNA let-7の成熟化を特異的に促進していることを新たにつきとめました。この研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の革新的先端研究開発支援事業(AMED-CREST)、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業CREST、文部科学省科学研究費補助金ならびに米国国立衛生研究所の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は国際科学誌The EMBO Journalに2020年9月14日正午(中央ヨーロッパ夏時間)にオンライン版で発表されます。

【研究の背景】

マイクロRNAは、標的mRNAの翻訳抑制および/または分解をもたらすタンパク質にならない小さな非コードRNAです。このマイクロRNAは全遺伝子の約半数の発現を制御していることが報告され、多様な生物学的プロセスにおいて重要な役割を示すことが示されています。中でもLet-7は最初に発見されたマイクロRNAの一つであり(Reinhart et al., Nature. 2000)、進化的によく保存され、がんの抑制機能や発生における役割など、医学・生物学的に非常に重要な遺伝子として知られています。このLet-7はLin28などいくつかのRNA結合遺伝子による制御を受けていることが知られていますが(Newman et al., RNA 2008; Trabucchi et al., Nature 2009; Treiber et al., Mol Cell 2017)、全RNA結合タンパク質についての細胞ベースでの検討はなく、その全貌はまだ

十分に解明されていませんでした。研究グループは、約 1000 種類の RNA 結合タンパク質全てを標的として、Let-7 を制御する遺伝子を細胞ベースで網羅的に探索する独自のスクリーニングを構築し、新しい制御機構の解明を目指しました。

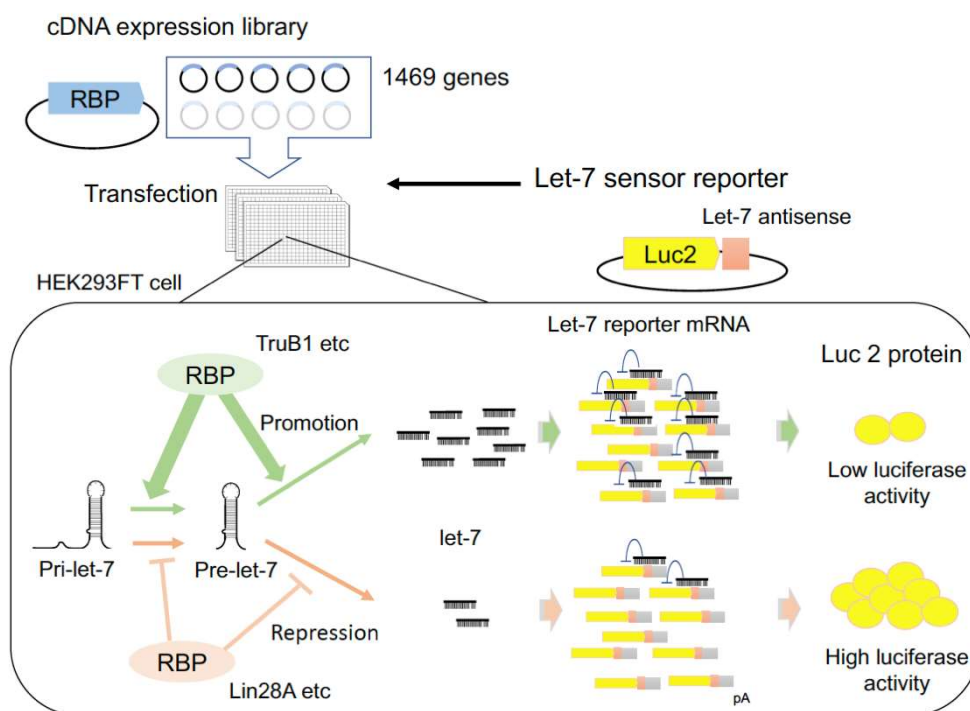


図1 Let-7 制御因子のスクリーニングの構築

Let-7 が上昇するとルシフェラーゼ活性が低下し、let-7 が低下するとルシフェラーゼ活性が上昇する。

【研究成果の概要】

研究グループは、Let-7 の結合配列を配したレポーターを作製し、Let-7 の細胞内の発現量変化を測定できるルシフェラーゼレポーターアッセイをベースにしたスクリーニング系を開発しました(図1)。同手法を用いて、1469 種類の全 RNA 結合タンパク質とその関連遺伝子を標的として、Let-7 を制御する遺伝子のスクリーニングを行ないました。その結果、既に報告されている遺伝子(Lin28)の制御に加えて、いくつかの候補遺伝子を同定しました。このうち、tRNA シュドウリジン合成酵素の一つである TruB1 が、マイクロ RNA の中でも Let-7 を特異的に上昇させることが明らかとなりました。

TruB1 は let-7 を上昇させる一方で、その前駆体である pri-let-7 を低下させており、転写への関与ではなく、転写後の成熟化を促進していることが示唆されました。研究グループは、TruB1 の RNA 修飾酵素活性を失活させた変異体を作製したところ、この変異体においても Let-7 の上昇が認められ、TruB1 がその酵素活性とは関わらずに Let-7 の成熟化を促進していることがわかりました。

次に研究グループは、細胞内の TruB1 に標識を導入した遺伝子編集細胞を樹立し、内在性の遺伝子に直接結合する RNA を次世代シーケンサーで同定する HITS-CLIP (High throughput sequencing crosslinking immunoprecipitation) 法を行ったところ、let-7 の前駆体のステムループ構造に一致して結合することが明らかとなりました。これらの現象は、細胞内のみならず、試験管内や生化学的手法によっても示されました。さらに、TruB1 はマイクロ

RNA の成熟化に中心的に関わる他の遺伝子 (DGCR8) や Lin28 と共同、あるいは競合的に働いていることも明らかとなりました (図3)。

また、TruB1 は細胞増殖を抑制しており、let-7 の抑制によってその細胞増殖抑制が部分的に解除されました。このことから、TruB1-let-7 系による細胞増殖への抑制機能が示唆されました。

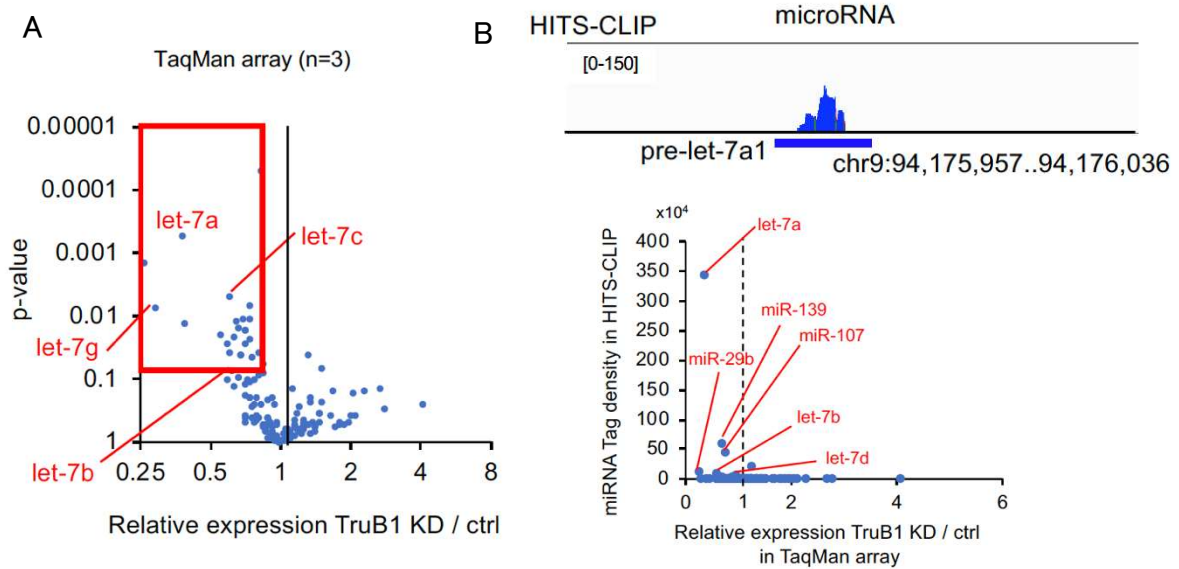


図 2 TruB1 による let-7 特異的な制御

- (A) TruB1 のノックダウンによって、let-7 ファミリーが特異的に低下する。
- (B) HITS-CLIP により、TruB1 が let-7 に特異的に結合することが示された。

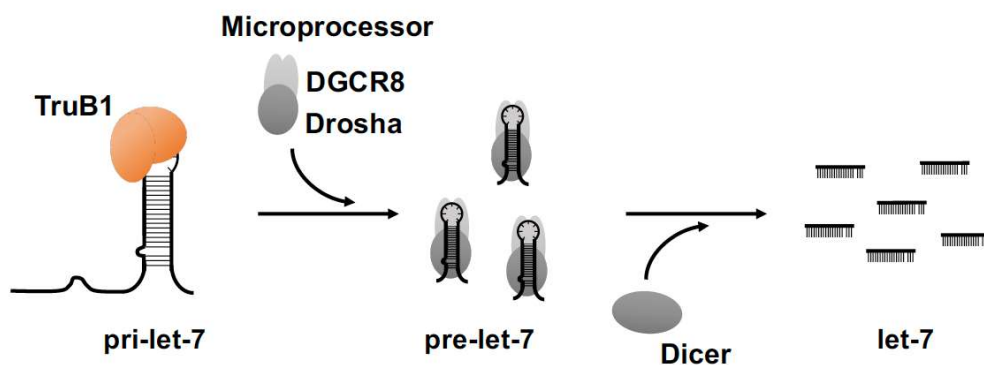


図 3 TruB1 による let-7 成熟化促進のモデル

【研究成果の意義】

本研究では、tRNA 修飾酵素の一つである TruB1 が、これまで全く予測されなかった Let-7 の成熟化の促進を担っていることを突き止めました。TruB1 による Let-7 の制御機構は非常に選択性が高いため、がんや発生の病態解明や治療開発につながることを期待されます。また、この制御機構は、TruB1 のこれまで中心的とされてきたシュードウリジン合成酵素活性には依存していませんでした。これまで RNA 修飾酵素の研究は、酵素活性を中心に着目されてきており、今回の結果は多くの RNA 研究に影響を与えることが期待されます。

【用語解説】

※¹ マイクロ RNA: 21-25 塩基長のタンパクに翻訳されない1本鎖 RNA 分子であり、真核生物において遺伝子の転写後発現調節に関与する。

※² RNA 結合タンパク質: RNA に結合するタンパク質であり、RNA の翻訳制御、転写後修飾、切断や RNA 塩基の修飾など様々な機能を有した遺伝子が存在する。

※³ シュードウリジン: 初めて同定された RNA の修飾の一つ。ヌクレオシドであるウリジンの異性体。最近になって、タンパク質をコードする mRNA にもシュードウリジンが存在することが明らかになった。

※⁴ HITS-CLIP (High throughput sequencing crosslinking immunoprecipitation) 法: 目的のタンパク質に結合する RNA を同定する方法の一つ。ゲノムから転写された全 RNA のうち、どの部位にタンパク質が結合しているのかを細胞内で捉えて、一塩基レベルで結合配列を明らかにする方法。

【論文情報】

掲載誌: The EMBO Journal

論文タイトル: The tRNA pseudouridine synthase TruB1 regulates the maturation of let-7 miRNA

【研究者プロフィール】

浅原 弘嗣 (アサハラ ヒロシ) Asahara Hiroshi

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

システム発生・再生医学分野 教授

・研究領域

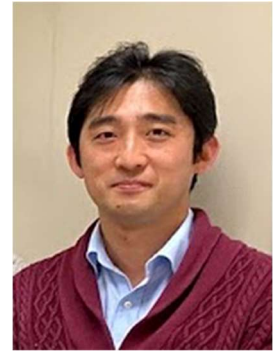
分子生物学(遺伝子発現)、発生・再生医学、整形外科学、リウマチ学



栗本 遼太(クリモト リョウタ) Kurimoto Ryota
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
システム発生・再生医学分野 助教

・研究領域

分子生物学、腫瘍内科学、呼吸器内科学



【問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
システム発生再生医学分野 氏名 浅原 弘嗣 (アサハラ ヒロシ)
TEL:03-5803-5015 FAX:03-5803-5810
E-mail: asahara.syst@tmd.ac.jp

＜報道に関すること＞

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係
〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45
TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272
E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp