

磯辺 俊明

首都大学東京 大学院理工学研究科
特任教授

RNA 代謝異常症のリボヌクレオプロテオミクス解析と構造生命科学への展開

§ 1. 研究実施体制

(1)「磯辺」グループ

- ① 研究代表者:磯辺 俊明 (首都大学東京大学院理工学研究科、教授)
- ② 研究項目
RNA 解析のための質量分析技術の高度化研究

(2)「高橋」グループ

- ① 主たる共同研究者:高橋信弘 (東京農工大学大学院農学研究院、教授)
- ② 研究項目
リボヌクレオプロテオミクス研究基盤の構築

(3)「中山」グループ(研究機関別)

- ① 主たる共同研究者:中山 洋 (理化学研究所グローバル研究クラスター、専任研究員)
- ② 研究項目
RNA 解析ソフトウェアの高度化研究

§ 2. 研究実施の概要

本研究は、研究代表者らが開発を進めてきた我が国発の質量分析法を中心とする分析技術とゲノムデータベース検索エンジン Ariadne を組み込んだ世界で唯一の RNA 解析システムをさらに高度化し、プロテオミクスを基礎とした相互作用解析法と融合することで、RNA とタンパク質の相互作用によって形成される複合体の複雑なネットワークの実態とダイナミクスを定量的に解析できるリボヌクレオプロテオミクス研究の基盤作りを目指すものである。また、これらの技術を RNA 代謝異常症の原因遺伝子産物が形成する RNP 複合体の解析に適用することで、その細胞内での役割や病理との繋がりを解析することを目標とする。本研究課題の初年度にあたる平成 25 年度は、今後 5 年間の開発計画を進めるために、質量分析計をはじめとする設備や備品の使用環境を整備するとともに、網羅的な文献調査を改めて実施し、本研究課題に関連する従来の研究成果や知的資産の現状ならびに国際的な研究の現状と動向を把握して問題点の抽出や解決のための方法を探索して今後の研究の全体的な方向を定めることとした。また以下の研究を実施した。

はじめにリボヌクレオプロテオミクス解析法の高度化を目指す研究では、RNA-タンパク質複合体 (RNP 複合体) の高性能分離法などについて検討し、脊髄性筋萎縮症の原因である SMN タンパク質に結合する FOP タンパク質が細胞核内では U1snRNA を持たない SMN タンパク質複合体に特異的に結合すること、筋萎縮性側索硬化症の原因となる TDP-43 に結合する Musashi 2 タンパク質が DNA 複製の制御に関わる RNA と結合することを明らかにした。また TDP-43 が結合する RNA を細胞内で直接同定する手段として、RNP 複合体の構成成分をあらかじめ架橋してから解析する細胞内光クロスリンク法 (CLIP 法) について検討した。新規 RNP 複合体の細胞機能に関する研究では、本研究で見出した U1snRNA の新規代謝物 (U1-tfs と命名) の細胞内動態などを詳細に解析することで、細胞機能の発現に重要な U1snRNA の新たな品質管理機構を明らかにした。さらに、RNA 代謝異常症のリボヌクレオプロテオミクス解析に関する今後の研究を展望する目的で、RNA 代謝異常症の原因遺伝子に関する総合的な文献調査を実施して解析対象をリストアップするとともに、候補の 1 つとして焦点を絞った小脳脊髄失調症 (ポリグルタミン病) 関連タンパク質の解析を開始した。

一方、本研究の技術的基盤となる RNA 解析システムの高度化を目指す研究では、(1) 質量分析法のさらなる高感度化を目指したエレクトロスプレーインターフェイス加圧デバイスの設計と試作、(2) RNA の細胞機能を調節する転写後修飾の網羅的な同定法と定量法の開発、(3) 本研究で開発したゲノムデータベース検索エンジン (Ariadne) の高性能化と質量分析法を利用した RNA の定量を支援するソフトウェアの研究開発を開始した。これらの課題の多くは次年度に向けて研究の継続が必要であったが、RNA の転写後修飾の解析ではメチル化やアセチル化の解析法で新たな進展があったほか、近年の研究で細胞機能の調節やガンなどの疾病を早期診断するためのバイオマーカーとして注目される microRNA が質量分析法によって直接解析できるようになるなどの研究成果が得られた。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国内)

該当なし

論文詳細情報(国際)

1. Izumikawa K., Ishikawa H., Yoshikawa, H., Terukina G., Miyazawa N., Nakayama H., Nobe Y., Taoka M., Yamauchi Y., Philipsen S., Isobe T., and Takahashi N. Friend of Prmt1, FOP is a novel component of the nuclear SMN complex isolated using biotin affinity purification. *J Proteomics Bioinformatics, J Proteomics Bioinform S 7* (2013): 2. (DOI:org/10.4172/jpb.S7-002).
2. Ishikawa, H., Nobe, Y., Izumikawa, K., Yoshikawa, H., Miyazawa, N., Terukina, G., Kurokawa, N., Taoka, M., Yamauchi, Y., Nakayama, H., Isobe, T., Takahashi, N., Identification of truncated forms of U1 snRNA reveals a novel RNA degradation pathway during snRNP biogenesis, *Nucleic Acids Research*, 2014 Feb 1;42(4):2708-2724. (DOI: 10.1093/nar/gkt1271).