

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17884

研究課題名(和文) 嗅神経細胞におけるmRNA局在制御機構とその生理的役割の解明

研究課題名(英文) mRNA localization in the mouse olfactory sensory systems

研究代表者

福田 七穂 (Fukuda, Nanaho)

新潟大学・脳研究所・講師

研究者番号：00415283

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：mRNAの局在化は、特定のタンパク質を場所特異的に発現させる転写後制御の1つである。本研究では、mRNA局在化制御因子の一つであるHnrnpabの嗅神経細胞における機能解析を行った。その結果、Hnrnpabは嗅神経細胞の回路形成期に高く発現しており、軸索投射に関わるmRNA群に結合することが明らかとなった。また、Hnrnpab欠損マウスでは、成熟期の嗅神経細胞数が減少することにより嗅上皮の厚さが減少していることが明らかとなった。これらのことから、Hnrnpabは嗅神経細胞の回路形成に必要なmRNA制御因子であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
神経細胞におけるmRNAの局在制御は、軸索伸長やシナプス形成を担い、神経変性疾患にも関与するため、その機構の解明が望まれている。本研究では、RNA結合タンパク質 HnrnpabによるmRNAの制御が嗅神経細胞の形成もしくは維持に必要不可欠であることを明らかにした。本研究から得られた、Hnrnpabが結合するmRNA群の情報や、Hnrnpab欠損マウスの表現型解析結果は、mRNAの制御不全に起因する神経変性疾患の原因の解明にも貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：mRNA localization is a widely employed mechanism that controls protein expression in a spatial and temporal manner. In this study, we revealed that Hnrnpab, an RNA binding protein related to mRNA localization, plays a key role in the mouse olfactory sensory neurons. Hnrnpab is highly expressed in the immature olfactory sensory neurons (OSNs), and RNA immunoprecipitation study showed that Hnrnpab targets to a group of mRNAs which are involved in axon targeting. Analysis of Hnrnpab knockout mice revealed that Hnrnpab KO mice have thinner olfactory neuroepithelium with a higher number of apoptotic bodies in the mature neuronal layers. These results suggest that mRNA regulation by Hnrnpab is essential for the formation and/or functions of OSNs.

研究分野：分子生物学

キーワード：転写後制御 RNA結合タンパク質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

mRNA の局在化は、特定のタンパク質を場所と時間特異的に発現させる転写後制御の一つである。神経細胞では、軸索伸長やシナプス可塑性を担い、神経変性疾患にも関与することから重要性は認識されていたが、制御機構の理解は限られた例でしか進んでいなかった。私達はこれまでに、オリゴデンドロサイトや精細胞において、RNA 結合タンパク質の一つである hnRNP A/B が RNA 輸送配列を含む一群の mRNA に結合し、それら mRNA の細胞内局在や翻訳のタイミングを制御することを明らかにしてきた。脳での発現解析より、hnRNP A/B は嗅神経細胞で特に高い発現を示した。そのため hnRNP A/B は嗅神経細胞においても、mRNA の局在化や翻訳の時空間的制御に重要な働きを担う可能性が示唆された。また、hnRNP A/B 欠損マウス嗅覚組織の予備的な解析では、「嗅神経細胞のアポトーシス数の増加や、系球体(嗅神経細胞の軸索が投射する部位)の構造異常が見られる」ことを示す結果が得られた。したがって、hnRNP A/B は嗅神経細胞の形成・維持や機能に関わる mRNA の局在制御を担っていることが示唆された。

2. 研究の目的

そこで本研究では、嗅神経細胞で hnRNP A/B が結合するターゲット mRNA を同定し、その発現様式における hnRNP A/B の寄与を検証する。また、hnRNP A/B 欠損マウスの表現型解析を行う。以上から、hnRNP A/B を介した mRNA の発現制御が嗅神経細胞の形成や維持、匂いの受容や個体の嗅覚行動に果たす役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

hnRNP A/B 抗体を作製し、嗅神経細胞における hnRNP A/B の発現様式の詳細を明らかにする。また、RNA 免疫沈降によって嗅神経細胞抽出液から hnRNP A/B と mRNA との複合体を特異的に精製する手法を確立する。この手法によって得られた画分の mRNA 配列を次世代シーケンサーにより解析し、hnRNP A/B が結合する mRNA を網羅的に同定する。この解析で得られたターゲット mRNA について配列の解析を行い、既知の hnRNP A/B 結合配列や RNA 制御モチーフが含まれるかを検証する。また、hnRNP A/B ターゲットの候補として挙げられた mRNA の発現様式を mRNA レベルと、タンパク質レベルとで解析し、mRNA 局在化制御を受けている mRNA があるか探索する。さらに、これらの mRNA について hnRNP A/B 欠損マウスにおける発現様式を解析し mRNA 制御における hnRNP A/B の寄与を検証する。これらの解析と並行して、hnRNP A/B 欠損マウスの形態学的な解析を行い、hnRNP A/B の欠損が嗅覚組織の形態や機能に与える影響を検証する。

4. 研究成果

hnRNP A/B 抗体の作製に成功し、hnRNP A/B 抗体による免疫組織染色によって hnRNP A/B が嗅神経細胞の回路形成期に高く発現することを明らかにした。また、RNA 免疫沈降によって嗅神経細胞抽出液から hnRNP A/B と mRNA との複合体を特異的に精製する手法を確立した。この手法によって得られた画分の mRNA 配列を次世代シーケンサーにより解析した結果、hnRNP A/B は神経細胞の軸索投射に関わる一群の mRNA に強く結合することが明らかとなった。

次に、hnRNP A/B との結合が検出された mRNA の発現様式を mRNA レベルと、タンパク質レベルとで解析した。その結果、hnRNP A/B ターゲットの数種は、mRNA の細胞内分布とタンパク質の細胞内分布とに顕著な違いを示し、mRNA 翻訳が限局される発現制御を受けていることが示唆された。これらの分子について、hnRNP A/B 欠損マウスにおける発現様式を解析した結果、局所におけるタンパク質発現が約 10%低下しているものがみられ

た。しかしながら、発現様式に大きな破綻を示すものはみられなかった。

hnRNP A/B 欠損マウスの形態学的な解析では、嗅神経細胞のアポトーシス数の増加や、糸球体（嗅神経細胞の軸索が投射する部位）の構造異常が確認された。種々の神経細胞マーカー分子を用いた組織染色解析によって、hnRNP A/B 欠損マウスでは、成熟期の嗅神経細胞数が減少することにより嗅上皮の厚さが薄くなっていることが明らかとなった。

これらのことから、hnRNP A/B は軸索投射に関わる一群の mRNA の制御を担い、嗅神経細胞の形成、もしくは維持に必要とされるが、ターゲット mRNA の制御には hnRNP A/B 以外の RNA 結合タンパク質も寄与しており、hnRNP A/B を欠損させても各分子の発現様式は大きく破綻しないことが示唆された。今後、他の mRNA 局在制御因子の探索や、hnRNP A/B ターゲット mRNA の配列に変異を導入したマウスの作製を行い、嗅神経細胞における mRNA 制御機構の理解を進める。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nanaho Fukuda, Yasumasa Ishida, Tomoyuki Fukuda, and Toshikuni Sasaoka
2. 発表標題 Regulation of mRNA localization and translation by hnRNP A/B variants
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nanaho Fukuda, Piergiorgio Percipalle, Kevin Czaplinski, Yasumasa Ishida, Tomoyuki Fukuda, and Toshikuni Sasaoka
2. 発表標題 Fine tuning of mRNA translation by hnRNP A/B variants
3. 学会等名 The 20th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考