

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008年度

課題番号：19570179

研究課題名（和文） プロセシングボディーにおけるタンパク質翻訳機構に関する研究

研究課題名（英文） Translational control in processing bodies

研究代表者

片平 じゅん (KATAHIRA JUN)

大阪大学・生命機能研究科・准教授

研究者番号：30263312

研究成果の概要：

細胞質における mRNA の翻訳制御機構を明らかにすることを目的とし、hnRNP A3 結合タンパク質の一つとして NXF7 との相互作用、各々の因子の細胞内局在等に関して詳細に検討した。それらの結果に基づき、hnRNP A3 は核内で特定の mRNA に結合し、細胞質へ輸送されるとともに、翻訳を受ける際に NXF7 と会合し、プロセシングボディーなどの RNA 顆粒へ取り込まれるという翻訳装置上における特定の mRNA 種の選別モデルを提唱した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：細胞生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：mRNA、翻訳制御、RNA 結合タンパク質、核-細胞質間輸送

1. 研究開始当初の背景

一般に核内で転写された mRNA は、細胞質へ輸送された後、直ちにタンパク質に翻訳されると考えられているが、一方で、ある種の

mRNA は、細胞質に輸送された後に貯蔵され、かつ、細胞質内の適切な場所に輸送された後、外界からの刺激などに応じて活性化され、初めてタンパク質合成の鋳型として機能する。

このような翻訳レベルでの遺伝子発現制御は、転写レベルでの遺伝子発現調節に加えて、胚発生、生殖細胞の形成、細胞の極性形成、神経の可塑性の制御など、さまざまな生物種における種々の遺伝子の発現調節過程において、非常に重要な役割を果たすことが知られている。プロセシングボディーと呼ばれる細胞質内構造は、mRNA キャップ構造の分解とそれに引き続く5'→3'方向へのmRNA本体を分解する酵素群が集積する部位として同定された細胞質内構造で、これまでもつぱら不要になった mRNA の分解の場と考えられてきた。しかしながら、最近になって、マイクロ RNA およびマイクロ RNA 経路を介して遺伝子発現抑制に関係するタンパク質因子群や種々の翻訳調節因子がプロセシングボディーに局在すること、マイクロ RNA の作用を受けて翻訳抑制された mRNA もプロセシングボディーに集積することが報告され、プロセシングボディーは、mRNA の翻訳制御の場としても機能することが明らかにされつつある。さらに、局在するタンパク質因子の相同性や構成因子の動態の解析から、神経の RNA 顆粒、哺乳動物の雄性生殖細胞に認められる Chromatoid body、ショウジョウバエ胚の P-granule などといった細胞質内構造物も、機能的に P-body と相同であると考えられている。したがって、プロセシングボディーの形成機構、プロセシングボディーに局在する種々の因子による翻訳制御機構を明らかにすることは、多細胞真核生物に特有の高次機能発現機構を理解する上でも非常に重要であると考えられている。しかしながら、核内で転写された mRNA が、翻訳制御を受け、貯蔵部位であるプロセシングボディーへ蓄積する分子メカニズムは明らかではない。

2. 研究の目的

本申請研究では、hnRNP A3 タンパク質による mRNA の翻訳制御機構、標的 mRNA のプロセシングボディーへの局在化機構を明らかにすることを目的とし、hnRNP A3 タンパク質のプロセシングボディーへの局在化、ならびに、hnRNP A3 による mRNA 翻訳制御に関わる因子群の同定を試みる。

3. 研究の方法

hnRNP A3 に結合する因子群を同定し、それぞれの細胞内局在部位、およびプロセシングボディーへの局在のための領域を同定するとともに、hnRNP A3 および結合タンパク質による翻訳制御機構、レポーター mRNA のプロセシングボディーへのターゲティングの分子機構を解明する。具体的には、I) hnRNP A3 による翻訳抑制を検出するレポーターシステムを構築し、II) 種々の hnRNP A3 変異体を作成して、翻訳抑制に必要なドメインを解析するとともに、各変異体の細胞内局在を観察し、翻訳制御に必要な領域、および P-body への局在に必要な領域を同定する。III) さらに I) で同定した翻訳抑制に必要なドメインに結合し、hnRNP A3 と協調して機能するタンパク質性因子の同定を試み、hnRNP A3 による翻訳制御機構を明らかにする。

4. 研究成果

hnRNP A3 結合タンパク質の一つとして mRNA 核外輸送受容体 Tap のパラログ NXF7 との相互作用、細胞内局在等に関して詳細に検討し、NXF7 がプロセシングボディーに局在するためには、hnRNP A3 との結合

が必要であることを明らかにした。また、神経系の細胞に認められる RNA 顆粒への NXF7 の局在化にも hnRNP A3 との相互作用が必要であることを明らかにした。NXF7 は翻訳中のポリリボソームに結合するのに対し、細胞質における hnRNP A3 の局在はプロセッシングボディーのみに限局されることから、両者の相互作用は、翻訳中のポリリボソーム上で一過性に起こることが推察された。これらの結果に基づき、hnRNP A3 は、核内で特定の mRNA に結合し、細胞質へ輸送され翻訳を受ける際に NXF7 と会合し、RNA 顆粒へ取り込まれるという翻訳装置上における mRNA の選別モデルを提唱した。

プロセッシングボディーには種々の翻訳調節因子が局在することがすでに知られている。本申請研究の成果は、ショウジョウバエ胚における *oskar* mRNA などの局在化機構や神経細胞における RNA 顆粒の形成機構、さらには生殖細胞形成、神経可塑性や生物個体発生の研究など、周辺の学術分野の進展にもインパクトを与えるものと推察される。また本研究成果は、真核生物に共通に認められる翻訳制御を介した高次機能発現機構の理解に貢献するものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

①Fujimura, K., Katahira, J., Murata, M., Kano, F., and Yoneda, Y. (2009) Selective localization of PCBP2 to cytoplasmic processing bodies. *Biochim. Biophys. Acta - Molecular Cell*

Research 印刷中 査読あり

②Katahira, J., Miki, T., Takano, K., Maruhashi, M., Uchikawa, M., Tachibana, T., and Yoneda, Y. (2008) Nuclear RNA Export Factor 7 is localized in processing bodies and neuronal RNA granules through interactions with shuttling hnRNPs. *Nucleic Acids Res.* 36, 616-628.査読あり

③Takano, K., Miki, T., Katahira, J., Yoneda, Y. (2007) NXF2 is involved in cytoplasmic mRNA dynamics through interactions with motor proteins. *Nucleic Acids Res.* 35, 2513-2521.査読あり

[学会発表] (計 2 件)

①片平じゅん RNA 核外輸送機構の多様性 蛋白研セミナー 2008年7月24日 大阪大学

②片平じゅん NXF7はhnRNPとの相互作用を介してプロセッシングボディーおよび神経細胞のRNA顆粒に局在する 第9回RNAミーティング (日本RNA学会年会) 2007年7月29日 名古屋

[その他]

ホームページ等

http://www.anat3.med.osaka-u.ac.jp/research/research3_1.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片平 じゅん (JUN KATAHIRA)

大阪大学・生命機能研究科・准教授

研究者番号: 30263312

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし