

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：82648

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440099

研究課題名(和文)mRNA輸送・翻訳制御粒子の形成・解体メカニズム

研究課題名(英文)Mechanism of assembly and disassembly of RNA granules responsible for mRNA transport and translational regulation

研究代表者

椎名 伸之 (SHIINA, Nobuyuki)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・准教授

研究者番号：30332175

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文): RNA granuleの形成・解体は、翻訳のOFF・ONとリンクする。本研究では、NFAR2-NF45複合体によるRNA granule形成・解体機構およびPRMT1による解体機構を解析した。NFAR2はRNA granuleの形成を促進したが、NFAR2にNF45が結合することによってその形成促進活性を抑制し、RNA granuleを解体させた。また、PRMT1はRNG105をメチル化し、RNG105のRNA granule形成促進活性を抑制することによってRNA granuleを解体させた。以上の結果から、RNA granuleの形成・解体を制御する新たな分子機構が明らかになった。

研究成果の概要(英文): The regulation of RNA granule assembly and disassembly is a structural basis of translational control. Here, we analyzed the mechanism of RNA granule assembly and disassembly regulated by NFAR2-NF45 complex and RNA granule disassembly regulated by PRMT1. NFAR2 enhanced the assembly of RNA granules, whereas NF45 promoted disassembly of RNA granules by binding to NFAR2 and inhibiting the ability of NFAR2 to assemble RNA granules. PRMT1 methylated RNG105, which reduced the ability of RNG105 to promote RNA granule assembly and resulted in the disassembly of RNA granules. These results provided novel mechanisms of assembly and disassembly of RNA granules.

研究分野：細胞生物学

キーワード：RNA granule 翻訳制御 リン酸化 メチル化 RNG105 NF45 NFAR2 PRMT1

1. 研究開始当初の背景

RNA granule は、mRNA、リボソーム、翻訳因子、RNA 結合タンパク質等で構成される高次複合体であり、様々な細胞で mRNA 輸送・翻訳制御の重要な役割を担う。RNA granule に取り込まれた mRNA は翻訳抑制の状態にあり、目的地へ輸送される。RNA granule が解体されると、mRNA、リボソーム、翻訳因子が放出されてポリソームを形成し、翻訳が活性化する。つまり、RNA granule の形成と解体が mRNA 輸送と翻訳の OFF/ON を担っており、その形成と解体の変換機構を明らかにすることは重要な課題である。

我々は RNA granule の構成要素である RNA 結合タンパク質、RNG105 (RNA granule protein 105)/caprin1 を世界に先駆けて同定、解析している。本研究に先立ち、RNG105-GFP 融合タンパク質を培養細胞に発現し、その免疫沈降物の質量分析を行うことによって、結合タンパク質を網羅的に同定した。同定した約 40 種類のタンパク質のうち、多くのものが RNA granule に共局在することを確認した。興味深いことに、2 種類のタンパク質、NF45 (nuclear factor 45) および PRMT1 (protein arginine N-methyltransferase 1) が、RNA granule の解体を促進することを見出した。

NF45 は DNA/RNA 結合タンパク質である NFAR1/NF90 および NFAR2/NF110 のそれぞれとヘテロダイマーを形成し、転写調節や翻訳調節に関わることが報告されている。さらに NFAR1 および NFAR2 は、RNA granule の一種である stress granule の形成を誘導するマスター制御因子 PKR キナーゼによってリン酸化されることも報告されている。以上のことから、NF45、NFAR1、NFAR2 が RNA granule の形成と解体に関与する可能性が高い。

また、PRMT1 はメチル化酵素であり、RNA 結合モチーフとして知られている RGG box (Arg-Gly-Gly リピート) の Arg (アルギニン) をメチル化することが報告されている。RNG105、NFAR1、NFAR2 の他、RNA granule を構成する多くの RNA 結合タンパク質が RGG box をもっており、そのメチル化が RNA granule の形成・解体を制御する可能性も極めて高いと考えられる。以上の実験データと過去の報告に立脚し、NF45、NFAR1、NFAR2 および PRMT1 の機能およびリン酸化、メチル化による制御を解析することが、RNA granule の形成と解体の分子機構を明らかにするためのブレイクスルーになると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、RNA granule の形成・解体の変換機構について、我々が新たに見出した NF45 および PRMT1 による RNA granule 解体機能に着目して解明を目指す。この形成・解体の変換には、リン酸化やメチル化が重要な役割を果たすと考えられ、それら翻訳後修飾による制御についても明らかにする。その一つは PKR によるリン酸化であり、これによって

NF45、NFAR1、NFAR2 の RNA granule 形成・解体活性がどのように調節されるかを明らかにする。また、メチル化による制御について、PRMT1 による RNA 結合モチーフ RGG box のメチル化とその RNA granule 形成・解体に対する効果を解析する。これらの解析により、RNA granule の形成・解体を制御する新たな分子機構の解明に取り組む。

3. 研究の方法

(1) 細胞培養と遺伝子導入：A6 細胞は L-15 培地で、HeLa 細胞は DMEM 培地で、共に 10% FBS 存在下で培養した。細胞を蛍光顕微鏡下で観察する場合は、ガラスボトムディッシュ上に細胞を培養した。遺伝子導入は、A6 細胞の場合は Lipofectin (Invitrogen)、HeLa 細胞の場合は Lipofectamine (Invitrogen) を用いて行った。

(2) プラスミド構築：GFP 融合タンパク質発現のためプラスミド構築は、pEGFP-N1 ベクター (Clontech) を用いて行った。mRFP1 融合タンパク質発現のためのプラスミド構築は、pEGFP-N1 ベクターの GFP 部分を mRFP1 に交換したベクターを用いて行った。NFAR1、NFAR2、NF45、FUS、PRMT1 の cDNA は、マウス脳の RNA から RT-PCR により得た後、上記ベクターに組み込んだ。

FUS Δ LC-GFP、GQSY-FUS Δ LC-GFP、NFAR2 Δ DZF-GFP は、FUS および NFAR2 の cDNA を鋳型として PCR によって断片を得た後、pEGFP-N1 ベクターに組み込んだ。また、NFAR2 のリン酸化部位改変体 NFAR2-TA、NFAR2-TD、および PRMT1 の変異体 H293A は、QuikChange Lightning multisite-directed mutagenesis kit (Agilent Technologies) を用いて作製した。

(3) 免疫沈降：GFP 融合タンパク質を発現した A6 細胞の抽出液に、GFP 抗体-アガロースビーズ (MBL) を 1/20 量加え、4°C で 2 時間ゆっくり攪拌した。ビーズを PBS で 3 回洗浄した後、SDS-PAGE およびウェスタンブロッティングによって結合タンパク質を解析した。

(4) ウェスタンブロッティング：SDS-PAGE 後、タンパク質を PVDF 膜に転写した。各タンパク質に対する一次抗体を反応させた後、ビオチン化二次抗体およびストレプトアビジン-アルカリフォスファターゼ、NBT/BCIP 溶液を用いて目的タンパク質を検出した。

(5) 蛍光抗体染色：培養細胞を 3.7% ホルムアルデヒド-PBS 溶液で固定後、0.5% Triton X-100 による可溶化、10% FBS によるブロッキングを行った。一次抗体反応、3 回の PBS 洗浄後、蛍光標識二次抗体によって目的のタンパク質を蛍光可視化した。

(6) 蛍光顕微鏡観察：細胞の蛍光像は、Delta

Vision セクショニング顕微鏡 (Applied Precision) および A1 共焦点顕微鏡 (Nikon Instruments) を用いて取得した。得られた蛍光像の蛍光強度測定は、Adobe Photoshop ソフトウェアを用いて行った。

(7) 細胞生存率の定量: A6 細胞を亜ヒ酸存在下で 3 時間培養した。培養液で 2 回洗浄した後、亜ヒ酸非存在下でさらに 21 時間の培養を行った。その後、培養皿に付着したままの生きた細胞と浮遊した細胞の数を位相差顕微鏡下で計測した。浮遊した細胞を回収し、0.2% トリパンブルー-PBS 溶液で 15 分間染色し、死細胞の数を計測した。

(8) Puromycin 抗体による翻訳活性測定: 培養細胞を 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ puromycin, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cycloheximide 存在下、23°C で 10 分間培養した後、氷冷した 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cycloheximide-PBS で 3 分間洗浄した。氷上で 1 分間、抽出液 (50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 5 mM MgCl₂, 25 mM KCl, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cycloheximide, 10 units/ml RNase inhibitor, protease inhibitors, 0.015% digitonin) を加えて細胞膜を可溶化した後、氷冷した 37% ホルムアルデヒド-PBS 溶液を 1/10 量加えて 5 分間固定した。3.7% ホルムアルデヒド-PBS 溶液で 10 分間室温で後固定した後、抗 puromycin 抗体 (KeraFAST Inc.) による蛍光抗体染色を行った。

(9) タンパク質天然変性領域の予測: 天然変性領域の予測は、DISOPRED2, PONDR-FIT および VSL2B 予測ツールを用いて行った。

4. 研究成果

(1) NFAR2-NF45 複合体による RNA granule 形成・解体メカニズム

①亜ヒ酸による stress granule の形成誘導は NF45 の発現によって抑制される

RNG105-GFP を発現した A6 細胞に 0.5 mM 亜ヒ酸を添加してストレスをかけると、経時的に細胞質に RNG105-GFP の集積した顆粒、すなわち stress granule が形成された (図 1)。この細胞に NF45-mRFP1 を共発現させたところ、stress granule の形成は顕著に抑制された (図 1)。

②亜ヒ酸による stress granule 形成は NF45 の発現によって抑制され、細胞死が増加する

①と同様の亜ヒ酸添加実験を、RNG105-GFP を発現させずにを行った。その後、細胞を抗 RNG105 抗体で染色して内在性の stress granule 形成を観察すると、対照の細胞では stress granule が形成されたのに対し、NF45-GFP を発現した細胞ではほとんど stress granule が形成されなかった。

この実験系を用い、細胞の亜ヒ酸感受性、すなわち細胞死を測定した。細胞を 3 時間 1.0 mM 亜ヒ酸処理後、亜ヒ酸を除いてさらに 21

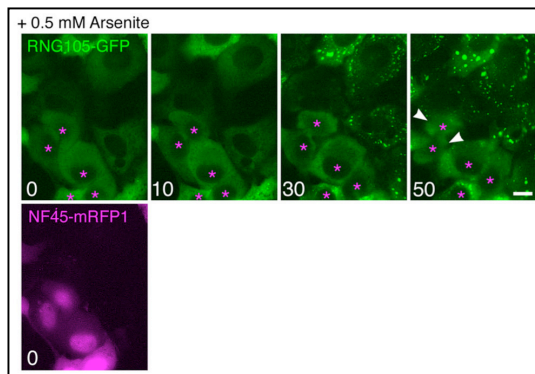


図 1. NF45-mRFP1 の発現による stress granule 形成の抑制。数字は亜ヒ酸添加後の経過時間(分)。星印は NF45-mRFP1 を発現した A6 細胞。矢頭は培養皿から剥がれてきた A6 細胞。スケールバー、10 μm 。

時間培養を続けた。この時、対照の細胞は一旦は形が丸くなり培養皿から浮き上がるが、その後再び培養皿に接着して生存した。ただし、亜ヒ酸濃度を 2.0 mM まで上昇させると、浮き上がったまま死んでしまう細胞が増えた。一方、NF45-GFP を発現した細胞は、1.0 mM 亜ヒ酸でも浮き上がったままの死細胞が有意に増加した。以上の結果から、NF45 の発現によって stress granule の形成が抑制され、細胞死が増加することが示された。このことから、stress granule の形成は、細胞のストレス耐性に関わることが示唆された。

③NFAR2 の GQSY ドメインは RNG105 複合体と結合し、RNA granule 形成を促進する

次に、NF45 の結合タンパク質 NFAR1 および NFAR2 の RNA granule 形成に対する効果を解析した。NFAR1, NFAR2 は、同一遺伝子から転写されるスプライシングバリエーションであり、NFAR2 のみが C 末端に GQSY ドメインを持つ (図 2A)。

まず、NFAR1-GFP あるいは NFAR2-GFP を RNG105-mRFP1 と共に A6 細胞に発現させ、GFP 抗体による免疫沈降を行った。その結果、NFAR2-GFP の場合のみ、RNG105-mRFP1 が共免疫沈降された。よって、NFAR2 が持つ GQSY ドメインが、RNG105 複合体と結合することが明らかになった。

次に、上記と同じ細胞を蛍光イメージングした。その結果、NFAR1-GFP は核にのみ局在するが、NFAR2-GFP はそれに加えて細胞質にも局在し、RNG105-mRFP1 と共局在する、すなわち RNA granule に共局在することが明らかになった (図 2B)。しかも NFAR2-GFP の共局在によって、RNA granule のサイズは有意に増加した。以上の結果から、NFAR2 の GQSY ドメインが RNG105 と複合体を形成し、RNA granule に局在してその形成を促進することが示された (図 3)。

④NFAR2 の GQSY ドメインは天然変性領域であり、RNA granule 形成促進活性を持つ

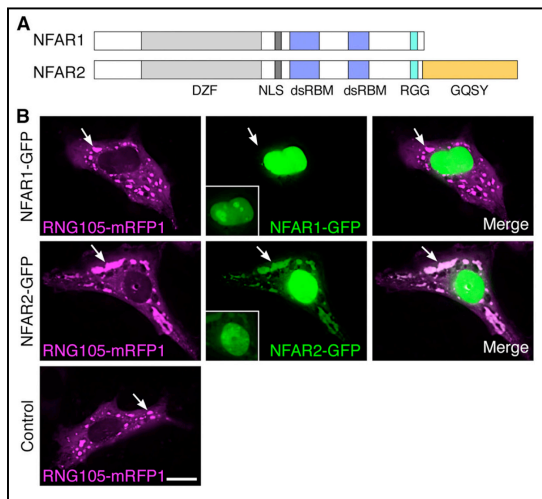


図 2. NFAR2 は RNA granule に共局在し、サイズを増大させる。(A) NFAR1, NFAR2 のドメイン模式図。(B) RNG105-mRFP1 を発現した A6 細胞に、NFAR1-GFP (上) および NFAR2-GFP (中) を共発現させた。矢印は RNA granule。スケールバー、10 μ m。

RNA granule の構成要素 FUS は、RNA granule を凝集させることが知られているが、その責任ドメインである LC ドメインは、グリシン、グルタミン、セリン、ロイシンに富んだ、立体構造を持たない天然変性領域である。NFAR2 の GQSY ドメインも FUS の LC ドメインと同じアミノ酸に富み、立体構造予測から、天然変性領域であることを見出した。

そこで次に、FUS の LC ドメインおよび NFAR2 の GQSY ドメインによる RNA granule 形成を解析した。全長の FUS-GFP は、A6 細胞に発現すると、RNG105-mRFP1 と共に巨大な RNA granule を形成した。一方、LC ドメインを欠失した FUS Δ LC-GFP は、RNG105-mRFP1 と共に RNA granule に共局在するものの、そのサイズを増加させることはなかった。そして、FUS Δ LC に NFAR2 の GQSY ドメインを付加した GQSY-FUS Δ LC-GFP は、全長の FUS と同様に RNA granule を巨大化させた。以上の結果から、NFAR2 の GQSY ドメインは、FUS の LC ドメインと同様、天然変性領域であり、RNA granule の形成を促進する活性を持つことが明らかになった。

⑤NFAR2 の DZF ドメインは、RNG105 複合体との結合には関与せずに RNA granule 形成を促進する

NFAR1, NFAR2 は DZF ドメインを共通に持ち、このドメインで NF45 と直接結合し、二量体を形成する。DZF ドメインの RNA granule 形成への関与を調べる目的で、このドメインを欠失した NFAR2 Δ DZF-GFP を RNG105-mRFP1 と共に A6 細胞に発現させた。蛍光イメージングの結果、DZF ドメインを欠失すると RNA granule 形成促進活性は顕著に低下することが分かった。また、抗 GFP 抗体による免疫沈降の結果、DZF ドメインの欠失は

RNG105-mRFP1 との結合に全く影響がないことも分かった。以上の結果から、NFAR2 の DZF ドメインは、RNG105 複合体との結合には関与せずに RNA granule 形成を促進することが示された (図 3)。

⑥NFAR2 のリン酸化型は RNA granule 形成促進活性が顕著に増加する

NFAR2 の DZF ドメインは、NF45 と二量体を形成する他、PKR によってリン酸化されることも知られている。リン酸化部位は 188 番目および 315 番目のスレオニンであることから、その 2 カ所をアラニンに置換した非リン酸化型 (TA 型) およびアスパラギン酸に置換した疑似リン酸化型 (TD 型) を作製し、RNA granule 形成に及ぼす影響を解析した。

NFAR2-TA-GFP を A6 細胞に発現すると、局在はほぼ核内に局限し、細胞質局在が顕著に低下して、RNA granule の形成は促進されなかった。一方、NFAR2-TD-GFP は細胞質局在が増加し、その結果 RNA granule への局在が増加して RNA granule の巨大化を引き起こした。以上の結果から、NFAR2 はリン酸化されることによって核内から細胞質に移行し、RNA granule に局在化してその形成を促進することが示唆された (図 3)。

⑦PKR 活性化による NFAR2 の RNA granule への局在化および RNA granule の形成促進

そこで次に、NFAR2 の RNA granule への局在と RNA granule 形成の促進が、PKR の活性化に依存するかどうか解析を行った。PKR の活性化は、細胞への RNA ウイルス感染を疑似する poly (I:C) のトランスフェクションによって引き起こし、この実験のみ HeLa 細胞を用いた。また、NFAR2 は内在性のものを抗体染色によって検出した。その結果、poly (I:C) の導入によって、NFAR2 が RNA granule に集積し、RNA granule 形成の増加が観察された。この時、PKR 阻害剤を添加すると poly (I:C) による影響はキャンセルされた。

次に、A6 細胞に RNG105-mRFP1 および NFAR2-GFP を発現した系で PKR を活性化させることを試みた。しかしこの時、RNG105 を発現するだけで PKR が活性化していることを見出した。そこでこの実験系では、PKR 阻害剤の添加あり、なしの細胞を比較することにした。PKR 阻害剤あり、すなわち、PKR 不活性化の条件では、NFAR2-GFP は核内に局限し、RNA granule はほとんど形成されなかった。一方、PKR 阻害剤なし、すなわち PKR 活性化の条件では、NFAR2-GFP は細胞質局在が増加し、RNA granule にも局在して RNA granule 形成を増加させた。さらに、NFAR2-GFP の代わりに、PKR によるリン酸化の影響を受けない NFAR2-TA-GFP および NFAR2-TD-GFP を用いた同様の実験を行った。これらの場合、PKR 阻害剤あり、なしに関わらず、核と細胞質の局在に差は見られなかった。以上の結果をまとめると、PKR の活性化によって NFAR2 は核

内から細胞質に移行し、RNA granule に局在化してその形成を促進することが示された。

⑧NF45 は NFAR2 による RNA granule 形成促進を抑制する

NFAR2 の発現による RNA granule の形成促進が、NF45 の共発現によってどのような影響を受けるかについて解析を行った。RNG105-mRFP1 を発現した A6 細胞に NFAR2-GFP, NFAR2-TA-GFP あるいは NFAR2-TD-GFP を発現し、さらに NF45 の共発現あり、なしの比較を行った。蛍光イメージングの結果、NF45 を発現することによって、どの場合も RNA granule 形成が有意に抑制されることが分かった。ただし、リン酸化型 NFAR2-TD-GFP の場合は、NF45 を発現しても RNA granule の完全な解体には至らなかった。また、免疫沈降の結果から、NF45 はリン酸化の状態に左右されずに NFAR2 に結合した。さらに、NF45 の NFAR2 への結合によって、NFAR2 と RNG105 複合体の結合は影響を受けなかった。したがって、NF45 は常に NFAR2 の DZF ドメインに結合して RNA granule 形成促進活性を抑制するが、その抑制は、PKR による DZF ドメインのリン酸化による活性促進と拮抗すると考えられた (図 3)。

⑨NFAR2 による翻訳抑制およびNF45による翻訳抑制の解除

A6細胞に puromycin を添加することにより翻訳中のタンパク質をパルスラベルし、その後、抗 puromycin 抗体で染色することにより、細胞内の翻訳活性を測定した。その結果、細胞に NFAR2-GFP を発現すると染色が低下することから、翻訳活性が低下することが明らかになった。この細胞にさらに NF45-mRFP1 を共発現すると、染色はほぼ元通りに回復したことから、NF45 は NFAR2 による翻訳抑制を解除することが示された。

同様の実験を、NFAR2-GFP を NFAR1-GFP に代えて行っても、同様の結果を示した。したがって、NFAR1, NFAR2 は、GQSY ドメインの有無に関係なく、共に翻訳抑制活性を持つこと、さらに、NF45 は、NFAR1, NFAR2 の GQSY ドメインの有無に関係なく、DZF ドメインに結合することによって翻訳抑制を解除することが示唆された。

以上をまとめると、NFAR2 は 2 つのドメイン、すなわち GQSY ドメインと DZF ドメインで RNA granule の形成に関わることが示された (図 3)。NFAR2 は RNA granule を巨大化させることから、この 2 つのドメインが多面的に働くことによって、RNA granule 構成要素のコネクタ分子として機能すると推測される。GQSY ドメインは RNG105 複合体に結合する。一方、DZF ドメインは未解明の機構で RNA granule の形成を促進するが、その促進活性は PKR によるリン酸化で正に、逆に NF45 の結合によって負に制御される (図 3)。RNA

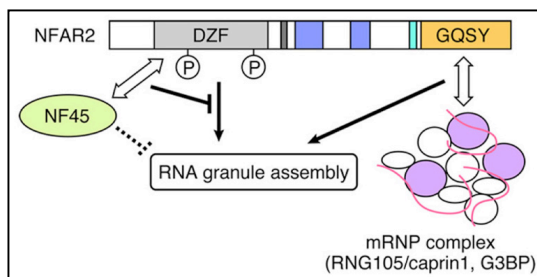


図 3. NFAR2 および NF45 による RNA granule 形成・解体モデル

granule の形成促進が翻訳抑制やストレス時の細胞生存の原因となるかどうか、その因果関係は必ずしも定かではないが、少なくとも NF45 は RNA granule の解体と翻訳抑制解除の役割を同時に果たし、この両者は密接にリンクすることが示唆された。

(2) PRMT1 による RNA granule の解体メカニズム

①メチル化阻害剤 Adox による RNG105 メチル化低下と RNA granule 形成の増加

PRMT1 によって RNA granule が解体されることから、逆にメチル化を抑制すれば RNA granule の形成が増加することが予想された。そこで、RNG105-GFP を発現した A6 細胞をメチル化阻害剤 Adox (50 μ M) で処理し、RNG105 メチル化への影響および RNA granule 形成への影響を 2 時間に渡って経時的に解析した。細胞から RNG105-GFP を免疫沈降し、抗メチル化アルギニン抗体によるウェスタンブロッティングを行ったところ、RNG105-GFP のメチル化は経時的に低下した。それと同時に、RNG105-GFP が集積した RNA granule の数が、経時的に増加することが蛍光イメージングによって観察された。以上の結果から、メチル化の阻害によって RNG105 のメチル化が低下し、RNA granule の形成が増加することが示された。

②PRMT1 による RNG105 の RGG box のメチル化

RNG105-GFP を発現した A6 細胞における RNG105 のメチル化を、①と同様に抗メチル化アルギニン抗体で検出した。その結果、PRMT1-mRFP1 を共発現していない対照細胞よりも、共発現した細胞において RNG105 のメチル化が増加した。したがって、PRMT1 が RNG105 をメチル化することが示された。

さらに、RNG105 の C 末端の RGG box を欠失した RNG105 Δ ARG-GFP を細胞に発現しても、全くメチル化されないことを見出した。以上の結果から、PRMT1 は RNG105 の RGG box をメチル化することが明らかになった。

③メチル化活性が低下した変異体 PRMT1 (H293A) の効果

②と同様の実験を、メチル化活性が低下した PRMT1 (H293A)-mRFP1 を野生型 PRMT1-mRFP1

の代わりに A6 細胞に共発現して行った。その結果、RNG105 のメチル化は増加しなかった。また、この細胞を蛍光イメージングした結果、RNA granule の解体は PRMT1-mRFP1 の場合と比較して顕著に減少した。以上の結果から、PRMT1 による RNG105 のメチル化および RNA granule の解体は、PRMT1 のメチル化活性に依存することが示された。

④ PRMT1 による翻訳抑制の解除

(1)-⑨で用いた抗 puromycin 抗体の方法を用いて、PRMT1 が翻訳に及ぼす効果を解析した。まず、RNG105-GFP を A6 細胞に発現させると、対照細胞に比べて翻訳活性は低下した。この細胞に PRMT1-mRFP1 を共発現させると、翻訳活性は対照細胞と同等にまで回復した。しかし、PRMT1 (H293A)-mRFP1 を共発現させた場合は、翻訳活性は部分的にしか回復しなかった。この結果から、PRMT1 による RNG105 のメチル化は、RNG105 による翻訳抑制を解除することが示された。

以上をまとめると、PRMT1 は RNG105 の RGG box をメチル化することが明らかになった。このメチル化により、RNG105 による RNA granule 形成は低下し、RNA granule は解体して翻訳が活性化することが示された。

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)

① R. Ohashi, K. Takao, T. Miyakawa and N. Shiina. Comprehensive behavioral analysis of RNG105 (Caprin1) heterozygous mice: Reduced social interaction and attenuated response to novelty. *Sci. Rep.* 6: 20775 (2016). DOI: 10.1038/srep20775 査読あり

② D. Tsuboi, K. Kuroda, M. Tanaka, T. Namba, Y. Iizuka, S. Taya, T. Shinoda, T. Hikita, S. Muraoka, M. Iizuka, A. Nimura, A. Mizoguchi, N. Shiina, M. Sokabe, H. Okano, K. Mikoshiba and K. Kaibuchi. Disrupted-in-schizophrenia 1 regulates transport of ITPR1 mRNA for synaptic plasticity. *Nature Neurosci.* 18: 698-707 (2015). DOI: 10.1038/nn.3984 査読あり

③ N. Shiina and K. Nakayama. RNA granule assembly and disassembly modulated by nuclear factor associated with double stranded RNA 2 and nuclear factor 45. *J. Biol. Chem.* 289: 21163-21180 (2014). DOI: 10.1074/jbc.M114.556365 査読あり

[学会発表] (計 10 件)

① 椎名伸之、RNA granule のダイナミクスと高次脳機能、第 67 回日本細胞生物学会大会、2015 年 6 月 30 日～7 月 2 日、タワーホール

船堀 (東京都江戸川区)

② 大橋りえ、重信秀治、椎名伸之、記憶形成に関与する RNG105 が神経樹状突起へ輸送する mRNA の網羅的同定、第 38 回神経科学大会、2015 年 7 月 28 日～31 日、神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市)

③ 中山啓、阿部学、山崎真弥、藤川顕寛、野田昌晴、二木啓、御子柴克彦、崎村建司、椎名伸之、RNA granule 構成因子 RNG105 は記憶の成立に関与する、第 38 回神経科学大会、2015 年 7 月 28 日～31 日、神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市)

④ 大橋りえ、高雄啓三、宮川剛、椎名伸之、RNG105 ヘテロ欠損マウスの網羅的行動解析-社会的相互作用・新奇対象への興味の低下、第 38 回分子生物学会年会、2015 年 12 月 1 日～4 日、神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市)

⑤ 椎名伸之、神経 RNA granule のダイナミクスと高次脳機能・精神神経疾患、第 38 回分子生物学会年会、2015 年 12 月 1 日～4 日、神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市)

⑥ 椎名伸之、神経樹状突起 mRNA 輸送・局所的翻訳と記憶形成、第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 25 日～27 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

⑦ 椎名伸之、中山啓、RNA granule 集合・離散の NFAR2/NF110 による制御機構、第 65 回日本細胞生物学会大会、2013 年 6 月 19 日～21 日、ウインクあいち (愛知県名古屋市)

[その他]

ホームページ

<http://www.nibb.ac.jp/neurocel/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

椎名 伸之 (SHIINA, Nobuyuki)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構 (岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・准教授
研究者番号: 30332175

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

中山 啓 (NAKAYAMA, Kei)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構 (岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・助教
研究者番号: 40553590