

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 13 日現在

機関番号：34419

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20112008

研究課題名（和文） mRNA 結合タンパク質による細胞統御のメカニズム

研究課題名（英文） Regulatory mechanism of the cell integrity signaling mediated by mRNA-binding proteins

研究代表者

杉浦 麗子 (SUGIURA REIKO)

近畿大学・薬学部・教授

研究者番号：90294206

研究分野：細胞内情報伝達

科研費の分科・細目：生物系薬学

キーワード：RNA 結合タンパク質、細胞内シグナル伝達、MAP キナーゼ、分裂酵母モデル生物、分子遺伝学

1. 研究計画の概要

細胞がどのようにして細胞内外のシグナルに応答し、細胞統御システムを介して、「非対称性」や「多様な細胞機能」を獲得するのか、に関する RNA 段階での遺伝子発現制御プログラムに関する分子機構やシグナル伝達経路の詳細は不明であった。

申請者は、高等生物と極めて近い細胞内シグナル伝達経路を有し、細胞形態・極性や細胞周期などの普遍的な生命現象の解明に優れた真核細胞モデル生物である分裂酵母を用いた遺伝学的スクリーニングにより、哺乳動物の増殖・癌化に関与する MAP キナーゼと相同な経路である分裂酵母の Pmk1 経路、低分子量 G タンパク質 RhoA のホモログである Rho1/Rho2 などのシグナル伝達分子を世界に先駆けて発見し、細胞形態や細胞極性、細胞質分裂といった細胞統御機構に重要な役割を果たすことを報告してきた (*Nature* 1999, *Mol. Biol. Cell* 2006, 2007, 2010)。

さらに、独自の遺伝学的スクリーニングにより、細胞統御シグナルに関わる mRNA 結合タンパク質群を同定し、“RNA を介する MAPK シグナルフィードバック制御”、“MAPK シグナル依存的なミオシン RNA を介する細胞周期の制御”など、画期的なメカニズムを提唱してきた (*Nature* 2003, *Mol. Biol. Cell* 2006, 2007, 2009, 2010)。また、同定した mRNA 結合タンパク質が、シグナル依存的に「RNA 顆粒」に局在し、標的 mRNA の制御に関わることも明らかにしている

2. 研究の進捗状況

我々は、独自の分子遺伝学的手法により同定した各種の mRNA 結合蛋白質と、MAP キナーゼを中心とした細胞統御シグナル伝達経路の関わりを、標的 mRNA 群の同定と、

mRNA 結合蛋白質の制御機構の解明に焦点をあて、研究を進め、以下のような成果を得ている。

具体的には、ミオシン軽鎖である Cdc4 の機能低下変異体である *cdc4-8 mutant* を用いた遺伝学的スクリーニングにより、RNA 結合タンパク質をコードする Nrd1 を同定し、下記の成果をあげた。

- (1) RRM 型 mRNA 結合蛋白質である Nrd1 を同定し、細胞質分裂の鍵となる Myosin をコードする Cdc4 mRNA と結合し、安定化することにより、細胞周期調節に関わることを見出した。
- (2) 高等生物の ERK のホモログである Pmk1 MAPK が、Nrd1 を細胞周期依存的にリン酸化制御することにより、細胞質分裂の調節に関わることを見出した。
これらの成果は、高度に保存された ミオシン mRNA の制御が、MAPK と mRNA 結合タンパク質依存的に行われるという、全く新しい細胞周期調節メカニズムを提唱するものである。
- (3) Nrd1 は、増殖と分化という二つの細胞運命を MAPK によるリン酸化依存的に制御する重要な mRNA 結合蛋白質であることを提唱した。
- (4) mRNA 結合蛋白質と mRNA の結合を、迅速かつ定量的に測定、解析する方法を開発し、特許出願と論文発表を行った。この手法は、従来の放射性同位元素を用いた生化学的手法と比較して、簡便かつ短時間に、しかも定量的に RNA-蛋白質相互作用解析を行える利点がある。
- (5) mRNA 結合タンパク質 Nrd1 が MAPK によるリン酸化依存的にストレス顆粒に局在し、ス

トレス顆粒の形成を誘導することも明らかにした。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

・従来提唱されていなかったミオシン mRNA の RNA 結合タンパク質による制御、さらに MAPK シグナル依存的な RNA 結合タンパク質を介する細胞運命制御機構を発見することができた。

・さらに、これらの成果を発展させ、Nrd1 の MAPK 依存的なストレス顆粒局在のメカニズムとストレス応答に与える影響を明らかにすることができた。

・またこれらの研究を推進する過程で、班員の協力や共同研究の推進により、ポリソーム解析や、mRNA 局在の可視化という新しい研究手法を導入することに成功した。

4. 今後の研究の推進方策

申請者の強みである「機能に立脚した遺伝学」と「シグナル伝達解析」を武器に、以下の班員との連携をさらに強化推進し、「多様性と非対称性、品質管理」という RNA 制御プログラムのつながりを明らかにする。

※稲田領域代表：ポリソーム解析を通して、申請者の同定した mRNA 結合タンパク質とシグナル伝達のクロストーク機構がどのように品質管理に関わるのかを解明する。

※谷時雄班員：申請者の同定した mRNA 結合タンパク質が RNA 顆粒に局在することから、RBP の標的 mRNA の局在を可視化することにより、mRNA 結合タンパク質の RNA 輸送に与える影響とシグナル伝達の間接関係を解明すべく連携研究を行っている。

5. 代表的な研究成果

(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 10 件)

1. Role of the Small GTPase Rho3 in Golgi/Endosome Trafficking through Functional Interaction with Adaptin in Fission Yeast
Ayako Kita, Cuifang Li, Yang Yu, Nanae Umeda, Akira Doi, Mitsuko Yasuda, Shunji Ishiwata, Atsushi Taga, Yoshihiro Horiuchi, Reiko Sugiura
PLoS ONE, 2011; 6(2):e16842 査読有
2. In vitro assay of the interaction between Rnc1 protein and Pmp1 mRNA by affinity capillary electrophoresis with a carboxylated capillary
Atsushi Taga, Ryosuke Satoh, Shunji Ishiwata, Shunji Kodama, Atsushi Sato, Kentaro Suzuki, Reiko Sugiura
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2010 ;(53) 1332-1337 査読有
3. The Cell Surface Protein Gene *ecm33* Is

a Target of the Two Transcription Factors Atf1 and Mbx1 and Negatively Regulates Pmk1 MAPK Cell Integrity Signaling in Fission Yeast. Hirohumi Takada, Aiko Nishida, Mitsuhiro Domae, Ayako Kita, Yuki Yamano, Atsushi Uchida, Shunji Ishiwata, Yue Fang, Xin Zhou, Takashi Masuko, Mitsuhiro Kinoshita, Kazuaki Kakehi, Reiko Sugiura. **Mol Biol Cell**. 2010 Feb;21(4):674-85. 査読有

4. The Role of the RNA-Binding Protein Nrd1 and Pmk1 MAPK in the Regulation of Myosin mRNA Stability in Fission Yeast
Ryosuke Satoh, Takahiro Morita, Hirofumi Takada, Ayako Kita, Shunji Ishiwata, Akira Doi, Kanako Hagihara, Atsushi Taga, Yasuhiro Matsumura, Hideki Tohda, and Reiko Sugiura. **Mol Biol Cell**. 2009. 20(9): 2473-2485. 査読有

他 6 件

[学会発表] (計 72 件)

1. RNA を介する MAP キナーゼシグナルの新たな制御機構と創薬への展望
杉浦麗子
日本薬学会第 130 年会 3 月 28 日～30 日 (岡山), 2010
2. RNA-BINDING PROTEINS AS REGULATORS OF MAPK SIGNALING
Reiko Sugiura
The 5th International Fission Yeast Meeting (Pombe 2009), October 26-31, 2009, Tokyo, Japan

他 70 件

[図書] (計 3 件)

Sourcebook of Models for Biomedical Research
Shunji Ishiwata, Takayoshi Kuno, Hirofumi Takada, Atsushi Koike, Reiko Sugiura, Humana Press Inc., 2008, 439-44

他 2 件

[産業財産権]

○出願状況 (計 9 件)

名称：キャピラリー電気泳動による核酸-タンパク質の結合解析法
発明者：杉浦麗子、多賀淳、石渡俊二、佐藤亮介

権利者：学校法人近畿大学

種類：特許・特願

番号：2009-207005

出願年月日：2009 年 9 月 8 日

国内外の別：国内

他 8 件

[その他]

ホームページ

<http://www.phar.kindai.ac.jp/genome/>