

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14899

研究課題名(和文)非コードRNAを含有する新規核内構造体による熱ストレス応答遺伝子の発現機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of heat-response gene regulation through novel nuclear body by containing the noncoding RNA

研究代表者

小野口 玲菜(水谷玲菜)(Onoguchi-Mizutani, Rena)

東京大学・アイソトープ総合センター・特任助教

研究者番号：30780697

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文): 申請者はこれまでに「MALAT1非コードRNAが、熱ストレスに応答して新規核内構造体(HiNoCo bodyと命名)を形成する」という新しい現象を見出していた。本研究ではMALAT1/HiNoCo bodyが熱応答性遺伝子発現制御に寄与するかの検証実験を行った。その結果、熱ストレス時にMALAT1依存的に発現変動する遺伝子群及びオープンクロマチン領域を同定した。さらに、非ストレス時と熱ストレス時でMALAT1が相互作用するゲノムDNA領域が異なることも見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、MALAT1非コードRNAが熱ストレスに応答して局在変化することで、通常時と熱ストレス時では異なる遺伝子発現の制御に関与することが示唆された。本研究は「非コードRNAの局在変化を基盤とした熱応答性遺伝子の発現制御」という新しい熱ストレス応答機構の発見につながる、先駆的な事例となることが期待される。

研究成果の概要(英文): We found that heat shock induces translocation of MALAT1 noncoding RNA from nuclear speckle to a distinct nuclear body named HiNoCo body. In this study, I tried to reveal the heat-response gene regulation through MALAT1/HiNoCo body. I identified the heat-responsible mRNAs and open chromatin region which were altered in MALAT1 knockout cells. We also found that MALAT1 interacted with specific Genomic DNA region in heat shock condition.

研究分野：分子生物学

キーワード：熱ストレス応答 核内構造体 長鎖非コードRNA

1. 研究開始当初の背景

地球上に生きる生物は熱や紫外線、低酸素などの様々な環境ストレスに晒されている。環境ストレスに対して細胞レベルで正常に応答し、生体内の恒常性を保つことは生物の生存において必要不可欠である。また、細胞における環境ストレスへの応答機構の破綻は様々な疾患の発症原因となることが知られている。従って、「生物がどのようにして環境ストレスに対処し適応するか」ということを分子レベルで理解することは生物学的観点においても、また疾患の原因の解明・創薬研究の発展という観点においても極めて重要である。

申請者はこれまでに長鎖非コード RNA と呼ばれるタンパク質をコードしない機能性 RNA 群に着目しストレス応答との関連について研究を進めてきた。申請者はこれまでに DNA 損傷により発現誘導される新規核局在長鎖非コード RNA を同定し(Mizutani R, et al. *PLoS One*, 2012)、核局在長鎖非コード RNA がストレス応答に重要な役割を果たすことを示している。そこで、この成果を元に、ストレス応答と長鎖非コード RNA の関連について研究を進める過程で、以下に述べる新しい現象を発見した。

- 1) 通常は核スペckルに局在化する MALAT1 長鎖非コード RNA が、熱ストレスに応答して核スペckルから離脱し、核スペckルとは異なる核内構造体に局在変化した。
- 2) 既知の核構造体マーカー分子を系統的に免疫染色実験した実験から、熱ショック時に MALAT1 が局在する核内構造体は、既知の核内構造体とは一致しなかった。
- 3) 熱ストレスにより MALAT1 ノックアウト細胞の細胞増殖能が低下した。

上記の発見は、熱ストレスに応答して形成される「MALAT1 を含有する新規核内構造体(Heat inducible Noncoding RNA containing body; HiNoCo body と命名)」が細胞の熱ストレス応答において重要な役割を担っていることを示唆している。しかしながら、HiNoCo body による熱ストレス応答機構(遺伝子発現制御)は全く不明であり、その生理機能もよく分かっていない。

2. 研究の目的

本研究では申請者が独自に発見した MALAT1/HiNoCobody を介した熱ストレス時の遺伝子発現の制御機構を明らかにすることを目的とする。最終的に、非コード RNA を含有する核内構造体形成を基盤とした、新規熱ストレス応答機構の提唱を目指す。

3. 研究の方法

①HiNoCo body と相互作用するゲノム DNA 領域の同定

特定の RNA と相互作用するゲノム DNA 領域を網羅的に解析する手法、ChIRP-seq 法(Chu C., et al., *Molecular Cell*, 2011)を用いて、非ストレス時及び熱ストレス時に MALAT1 が相互作用するゲノム DNA 領域をゲノムワイドに解析する。

②MALAT1/HiNoCo body による遺伝子発現制御の解析

Wild type A549 細胞及び MALAT1 knock out (KO) A549 細胞をそれぞれ熱ストレス有り・無しで培養し、RNA-seq 解析により MALAT1 依存的に変化する熱応答性遺伝子群を同定する。また、同様の条件で培養した細胞を用いて、ATAC-seq 解析を行うことにより MALAT1 依存的に変化する熱応答性のオープンクロマチン領域を同定する。

4. 研究成果

ChIRP-seq 解析を行い、非ストレス時、熱ストレス時に MALAT1 と相互作用するゲノム DNA 領域を同定した。その結果、非ストレス時には相互作用しないが、熱ストレス時にのみ特異的に MALAT1 と相互作用するゲノム DNA 領域を同定した。これらの多くは熱ストレスによって発現誘導される RNA 群をコードするゲノム DNA 領域であった。

また、RNA-seq 解析及び ATAC-seq 解析により、熱ストレス処理をした MALAT1 KO 細胞で変化する RNA 群及びオープンクロマチン領域を同定した。さらにこれらのデータを解析することにより、MALAT1 依存的な熱応答遺伝子の発現制御に関与する転写因子の候補を見出した。

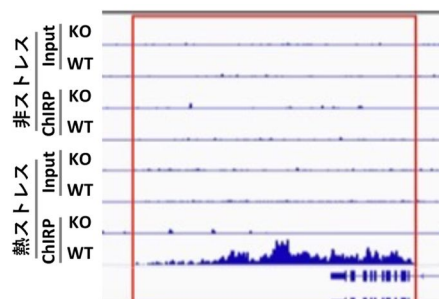


図1. ChIRP-seq法を用いたMALAT1結合DNA領域の解析

ChIRP-seqにより非ストレス条件、熱ストレス条件においてMALAT1が結合するゲノムDNA配列を解析し、IGVにて可視化した。
(KO: MALAT1 Knockout A549 cell)
(WT: MALAT1 Wildtype A549 cell)

以上の結果から、熱ストレスに応答して MALAT1 が核スペckルから局在変化することで標的となるゲノム DNA を変化させていることが示唆された。さらに MALAT1/HiNoCo body が熱応答のクロマチン構造の制御や遺伝子発現制御に重要であることも示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Onoguchi-Mizutani Rena, Kishi Yoshihiro, Ogura Yoko, Nishimura Yuuki, Imamachi Naoto, Suzuki Yutaka, Miyazaki Satoru, Akimitsu Nobuyoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Identification of novel heat shock-induced long non-coding RNA in human cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jb/mvaa126	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Rena Onoguchi-Mizutani, Yoshitaka Kirikae, Yoko Ogura, Tony Gutschner, Sven Diederichs, Nobuyoshi Akimitsu	4. 巻 -
2. 論文標題 Identification of heat-inducible long noncoding RNA MALAT1 -containing novel nuclear (HiNoCo) body	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jb/mvaa126	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tano K, Onoguchi-Mizutani R, Yeasmin F, Uchiumi F, Suzuki Y, Yada T, Akimitsu N.	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of Minimal p53 Promoter Region Regulated by MALAT1 in Human Lung Adenocarcinoma Cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontier in Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fgene.2017.00208	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Imamura K, Takaya A, Ishida YI, Fukuoka Y, Taya T, Nakaki R, Kakeda M, Imamachi N, Sato A, Yamada T, Onoguchi-Mizutani R, Akizuki G, Tanu T, Tao K, Miyao S, Suzuki Y, Nagahama M, Yamamoto T, Jensen TH, Akimitsu N.	4. 巻 37
2. 論文標題 Diminished nuclear RNA decay upon Salmonella infection upregulates antibacterial noncoding RNAs.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 EMBO journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embj.201797723	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 小野口玲菜、秋光信佳
2. 発表標題 非コードRNAを含有する熱ストレス応答性の新規核内構造体, HiNoCo-bodyの同定
3. 学会等名 日本薬学会第141年会（広島）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rena Onoguchi-Mizutani, Takeshi Kawamura, Yutaka Suzuki, Nobuyoshi, Akimitsu.
2. 発表標題 Characterization of heat-responsible novel nuclear body containing MALAT1, a long noncoding RNA
3. 学会等名 RNA Control & Regulation -84th Cold Spring Harbor Laboratory Symposium-（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野口(水谷) 玲菜、鈴木 穰、川村猛、秋光信佳
2. 発表標題 長鎖非コードRNAを含有する新規核内構造体, HiNoCo-bodyを介した熱ショック応答機構の解析
3. 学会等名 第20回日本RNA学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rena Onoguchi-Mizutani
2. 発表標題 Characterization of heat-responsible novel nuclear body containing MALAT1
3. 学会等名 第25回Tokyo RNA Club（招待講演）（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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	University of Freiburg			