

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02884

研究課題名(和文) 真核細胞におけるmRNA核外輸送体の分子進化による輸送体多様化の分子基盤の解明

研究課題名(英文) Molecular basis of mRNA exporter's diversification by evolution of mRNA nuclear exporters in eukaryotic cells

研究代表者

増田 誠司 (Masuda, Seiji)

近畿大学・農学部・教授

研究者番号：20260614

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)： mRNAの核外輸送は、mRNA輸送体によって担われている。これまで、ヒトにおいてはmRNA輸送体としてTREX複合体とAREX複合体が存在すること、加えてTREX複合体とAREX複合体に輸送されるmRNAは選択性をもつこと、さらにこれら2種類の複合体において中心となるUAP56とURH49の構造を比較してきた。本研究は、新たなAREX複合体構成因子を単離同定し、その機能解析を実施した。その結果、これまでの通説とは異なってmRNA輸送体はmRNAスプライシングにも関与することを明らかにした。これによりヒトにおいて多様化したmRNA輸送体による選択的mRNA輸送の分子機構の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

mRNAの核外輸送は、mRNA輸送体によって行われる。mRNA輸送体は酵母からヒトまで保存されているが、違いもある。酵母でmRNA輸送体は1種類であるが、ヒトではTREX複合体とAREX複合体の2種類に多様化している。本研究は、新たなAREX複合体構成因子を見出し、その機能をTREX複合体と比較解析することで、通説とは異なってmRNA輸送体がmRNAスプライシングの段階から関与していることを見出した。これは遺伝子発現さらには選択的スプライシングの制御という観点に新たな視点を与える成果である。

研究成果の概要(英文)： The nuclear export of mRNA is carried out by mRNA exporters. So far, our research group has identified TREX complex and AREX complex as mRNA exporters in humans, and compared the mRNAs selectively exported by TREX complex and AREX complex, and the structures of UAP56 and URH49, which are central components of these complexes.

In this study, our research group isolated and identified new AREX complex components and analyzed their functions. The results revealed that mRNA exporters are also involved in mRNA splicing, contrary to the previously accepted concept. This study provides a new insight into the molecular mechanism of selective mRNA export by diversified mRNA exporters in humans.

研究分野：応用生物科学

キーワード：mRNA 核外輸送 輸送体 多様化 分子進化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

mRNA は、核内で RNA ポリメラーゼ II によって転写され、キャッピング、スプライシング、ポリアデニル化のプロセッシングを受ける。これらの mRNA プロセッシング間の受け渡しを効率的に行っている因子は mRNA 輸送体と呼ばれる。mRNA 輸送体によって mRNA プロセッシング間と核外輸送が相互にリンクされ、効率よく高精度な遺伝子発現を担保している。したがって mRNA 輸送体は、遺伝子発現制御の統合的理解において鍵となる因子とされてきた(*Nat Rev Mol Cell Biol.* 16, 431-42, 2015, *Trends Genet.* 34, 79-290, 2018 等)。

報告者らは mRNA の転写と細胞質への輸送を共役する mRNA 輸送体 TREX (Transcription/Export) 複合体を同定し、その機能解析を行った。TREX 複合体の中心となる因子は UAP56 (酵母では Sub2) である。ヒトにおいて、UAP56 と 90% の相同性を持つ URH49 が存在する。URH49 が形成する mRNA 輸送体は TREX 複合体ではなかった。そこで複合体の構成因子を探索し、URH49 は CIP29 と AREX (Alternative mRNA Export) 複合体を形成していることを見いだした。すなわち、mRNA 輸送体は酵母では 1 種類であるが、ヒトなどの高等動物では 2 種類に多様化している事を明らかにした。さらに、それぞれの複合体が固有の mRNA 輸送を制御していることを示した。これにより、ヒトでは両複合体が補完しあって正確な mRNA 輸送を保証していることを明らかにした。

次いで、UAP56 と URH49 は非常にアミノ酸相同性が高いにもかかわらず、なぜ TREX 複合体と AREX 複合体を形成して独自の mRNA 輸送を担っているのかについて原因究明に取り組んだ。UAP56 と URH49 は N ドメインと C ドメインで構成されているが、申請者は N ドメインが複合体形成を制御していること、加えて N ドメインの 1 アミノ酸が決定的な役割を持つことを複合体形成能と mRNA 輸送能の両面から明らかにした。さらに立体構造的な観点からの解析を進めるために URH49 の結晶を作製し、UAP56 (PDB:1XTI) の構造と比較した。全体的な構造はお互いの相同性の高さを反映して類似していたが、UAP56 と URH49 では N ドメインと C ドメインの角度がずれており、この違いが異なる複合体形成の原因と考えられた。

次いで、UAP56 と URH49 が輸送する mRNA を詳細に解析するために次世代シーケンス解析を行った。驚いたことに、これまで TREX 複合体と AREX 複合体は mRNA 核外輸送に特化していると考えられてきたが、選択的スプライシングにも関わることが明らかとなった。したがって mRNA スプライシング時に mRNA の選択性が決定されていることが示唆された。

### 2. 研究の目的

これまでの研究から、UAP56 と URH49 がそれぞれ TREX 複合体と AREX 複合体を形成する分子機構の一端が明らかになった。一方、1. AREX 複合体構成因子を 2 因子同定しているが、まだ未同定の構成因子の存在が予想されること、2. UAP56 と URH49 が異なる mRNA を選択する分子機構、3. 新たに発見したスプライシングを制御する分子機構など「mRNA 輸送体による mRNA 輸送の分子機構」を理解する上で解決すべき課題として残されている。本研究は、上記のことを明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 本研究に用いたヒト細胞株

ヒト培養細胞株として、ヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞、ヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞、ヒト胎児腎臓由来細胞株 HEK293 Flp-In T-REx 細胞を使用した。ヒト培養細胞用培地には、56 で 30 分間非働化した FETAL BOVINE SERUM を 10 % 添加した D-MEM (High Glucose) を用いて 37 °C、CO<sub>2</sub> 5 % 条件下で培養した。

#### (2) トランスフェクション法ならびに RNAi によるノックダウン法

ヒト培養細胞へのプラスミドの導入には Lipofectamine 2000 を用いた。RNAi は Stealth RNAi siRNA を用いてプラスミド同様に Lipofectamine 2000 により細胞導入した。

#### (3) ヒト培養細胞からの蛋白質抽出

ヒト培養細胞を回収し、4 倍量の hypotonic buffer (10 mM Hepes / 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> / 10 mM KCl / 0.2 mM PMSF / 0.5 mM DTT) で洗浄し、buffer 置換を行った。さらに 2 倍量の hypotonic buffer を加え、氷上で 10 分間おくことで、細胞を膨張させた。次にホモジナイザーを用いてホモジナイズし、遠心後に上清を細胞質抽出物として回収した。沈殿物を半量の low salt buffer (20 mM Hepes / 115 mM MgCl<sub>2</sub> / 20 mM KCl / 0.2 mM EDTA / 25 % Glycerol / 0.2 mM PMSF / 0.5 mM DTT) を加え懸濁し、攪拌しながら沈殿物の半量の high salt buffer (20 mM Hepes / 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> / 1.4 M KCl / 0.2 mM EDTA / 25 % Glycerol / 0.2 mM PMSF / 0.5 mM DTT) をゆっくりと一滴ずつ添加し、更に 4 °C で 30 分攪拌した。この溶液を 15000 rpm で 30 分間遠心し、得られた上清を核抽出物とした。得られた核抽出物は、dialysis buffer (20 mM Hepes / 100 mM KCl / 0.2 mM EDTA / 20 % Glycerol / 0.2 mM PMSF / 0.5 mM DTT) を用いて 90 分 × 2 回透析を行った。以上の操作は全て氷上または 4 °C で行った。

#### (4) 免疫沈降法

Flag-融合タンパク質を発現させた細胞から得た核抽出物 (NE) を適量、protease inhibitor cocktails Complete EDTA-free 1  $\mu$ l、RNaseA 10  $\mu$ g、PBS / T buffer 200  $\mu$ l を加え 30 で 20 分間 RNase 処理した。上記の処理を行った NE とクロスリンク処理をした Anti-FLAG Affinity Gel を 4 、 3 時間攪拌した。この溶液を遠心し、沈殿物を PBS / T buffer で 4 回洗浄した後、SDS sample buffer (250mM Tris-HCl / 1 % SDS / 40 mM DTT / 0,002 % BPB / 40 % Glycerol) を添加して 37 で 5 分間静置した。この溶液を遠心し、上清に終濃度 0.5 mM になるように DTT を添加、煮沸し抗体に結合した蛋白質を溶出した。また ATP は RNase 処理と同時に終濃度 1mM となるように添加し、上記と同様の処理を行った。

#### (5) Western blotting (WB)

抽出した蛋白質は 10 % SDS-PAGE gel で電気泳動後、Polyvinylidene difluoride (PVDF) メンブレンにセミドライ式プロットング装置を用いてプロットングした。メンブレンを 5 % スキムミルク / 0.1 % Tween20 / PBS を用いてプロッキング後、0.1 % Tween20 / PBS で希釈した一次抗体を反応させた。メンブレンを 0.1 % Tween20 / PBS で洗浄し、0.1 % Tween20 / PBS で希釈した HPR 融合二次抗体 を反応させた。メンブレンを 0.1 % Tween20 / PBS で洗浄した後、Immobilom Western を用いて化学発光させ、LAS-4000 mini を用いて撮影した。

#### (6) 銀染色法

SuperSep Ace, 5-20 % グラディエントゲルを用いて電気泳動後、ゲルを Fix solution (40 % EtOH / 10 % AcOH) で 30 分間固定した。固定後、Sensitizing solution (30 % EtOH / 0.125 % Gluteraldehyde / 0.2 % Sodium thiosulphate / 0.07 % Sodium acetate) で 30 分間反応させた。滅菌水で洗浄後、Silver solution (0.25 % silver nitrate / 0.015 % Formaldehyde) で 20 分間反応させ、さらに滅菌水で洗浄後、Develop solution (0.025 % Sodium carbonate / 0.007 % Formaldehyde) で発色させた。十分に発色が確認された時点で、Stop solution (1.5 % EDTA $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O) を添加して反応を止め、滅菌水で洗浄後、LAS-1000 を用いて撮影した。

#### (7) RNA fluorescence in situ hybridization (FISH)

カバーガラス上に培養した細胞を 10 %ホルムアルデヒド / PBS を添加し 20 分間、室温で固定した。次に 0.1 % Triton-X100 / PBS を添加し 10 分室温処理して細胞膜を透過化した。その後 PBS、2 $\times$  SSC buffer で洗浄し、ULTRA-hyb-Oligo Hybridization Buffer で 42 、 1 時間処理し、Cy3-labeled oligo-d(T)<sub>45</sub> プローブで 42 、 一晚反応させた。続いて 2 $\times$  SSC、0.5 $\times$  SSC、0.1 $\times$  SSC の順で 42 にて洗浄した。DNA は DAPI を用いて染色した。最後に Slow Fade Antifade Kit を使用して封入した。核と細胞質の Poly(A)<sup>+</sup> RNA シグナルの定量化は 20 個の細胞を観察した。

#### (8) 免疫蛍光染色法

カバーガラス上に培養した細胞を 10 %ホルムアルデヒド / PBS を添加し 20 分間、室温で固定した。次に 0.1 % Triton-X100 / PBS を添加し 10 分室温処理して細胞膜を透過化した。その後 PBS で洗浄し、6 % BSA / PBS でプロッキングを行った。続いて 3 % BSA / PBS で希釈した一次抗体を室温で反応させ、PBS で洗浄後、PBS で希釈した Alexa488 融合二次抗体を反応させ染色を行った。DNA は DAPI を用いて染色した。最後に Slow Fade Antifade Kit を使用して封入した。

#### (9) 細胞質画分ならびに核分画 RNA の抽出法と RT-PCR

ヒト培養細胞を回収し、氷冷した lysis buffer (50 mM Tris-HCl / 100 mM NaCl / 5 mM MgCl<sub>2</sub> / 0,5 % NP40) で懸濁して氷上に 5 分間静置した。この溶液を遠心し、上清を細胞質分画とした。沈殿物は再度 lysis buffer で懸濁し核分画とした。続いて両分画から RNA 抽出を行った。両分画にセバゾール RNA l Super G を添加し、ボルテックスで細胞破碎した。クロロホルムを加え、遠心し上清を回収した。この上清に 2-イソプロパノールを等量添加して室温で 10 分静置した。再度遠心し、生じた沈殿物を 70 %エタノールで洗浄した。沈殿物を RNase free の滅菌水に懸濁し、各分画の RNA を得た。以上の操作は全て氷上または 4 で行った。この RNA を鋳型として、ReverTra Ace を用いて RT を行った。プライマーには Random 9 を用いた。合成した cDNA を鋳型として、プライマーを用いて PCR を行い、各分画の精製度合いを評価した。

#### (10) Real-time PCR

上述の方法により得た cDNA を鋳型として TB Green Premix Ex Taq 、 Thermal cycle Dice を用いて行った。

#### (11) プラスミド

本論で用いた UAP56 と URH49 の野生株のプラスミドはいずれも siRNA のターゲットになる塩

基配列にサイレント変異を入れたものである。また ILF2, ILF3, RUVBL1, RUVBL2, HNRNPM の野生株のプラスミドを PCR 法により作成した)。これらのプライマーを用いて合成した DNA フラグメントを制限酵素処理し、pcDNA5 / FRT / T0 に組み込み、各タンパク質発現ベクターを用いた。

#### (12) 安定発現株の取得と標的タンパク質の発現

293Flp-InT-REx 細胞およびヒト骨肉腫細胞株 U2OS Flp-InT-REx 細胞に、pcDNA5 / FRT / T0 3×Flag に組み込んだタンパク質発現ベクターを導入した。そのあと、Hygromycine を終濃度 100 µg/ml で薬剤選択を行なった。

### 4. 研究成果

#### (1) 免疫沈降による新規 AREX 構成因子の同定

ヒト胎児腎臓細胞由来細胞株 293Flp-InT-REx 細胞に Flag タグをつけた UAP56 および URH49 を用いて免疫沈降を行った。その免疫沈降サンプルを電気泳動で分離し、銀染色を行ったところ、それぞれの泳動パターンが異なった。つまり、UAP56 と URH49 では結合する因子が異なることが分かった。また、HA タグをつけた CIP29 と Flag タグをつけた URH49 を遺伝子導入した安定発現株を用いて、HA ビーズと Flag ビーズによる二回免疫沈降(共免疫沈降)を行って、より純度高い精製物を得た。各タンパク質の免疫沈降サンプルおよび共免疫沈降サンプルを用いて、LC-MS/MS スペクトル解析を行った。解析結果で検出されたタンパク質のうち、UAP56 の相互作用の度合いが低く、URH49 および URH49 と CIP29 との相互作用の度合いが高い 5 つのタンパク質 (RUVBL1, RUVBL2, ILF2, ILF3, HNRNPM) を AREX 複合体の構成因子の候補として選出した。

#### (2) 候補因子は UAP56 ではなく、URH49 と結合している。

先行研究に倣って 293 Flp-InT-REx 細胞株を用いて Flag タグをつけた UAP56 ならびに URH49 が各候補因子と結合するののかについてまず ATP の非存在下で検討した。その結果、Flag-UAP56 では各候補因子は検出されなかった。一方で、Flag-URH49 では各候補因子が検出された。また逆側、つまり各候補因子に Flag タグをつけて免疫沈降を行った場合でも UAP56 は検出されず、URH49 は検出された。このことから今回選出した各候補因子は URH49 と特異的に結合することが明らかとなった。これらより、AREX 複合体構成因子である可能性が高いと考えられた

#### (3) 各候補因子はそれぞれ mRNA 核外輸送能を持つ。

特定のタンパク質の mRNA 輸送能を解析する実験系として oligo-d(T)<sub>45</sub> プロンプを用いた RNA-FISH 法が確立している。また siRNA を用いて UAP56 ならびに URH49 をノックダウンすると mRNA の核内蓄積が生じること、さらに核内蓄積する mRNA はそれぞれのノックダウンで異なることが明らかとなっている。本研究では siRNA を用いて各候補因子をノックダウンして RNA-FISH 法により各候補因子の mRNA 輸送能を解析した。また使用する細胞には細胞核と細胞質が区別しやすいヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞を使用した。その結果、各候補因子のノックダウンでいずれも mRNA の核内蓄積が見られた。なお、RUVBL2 と ILF2 はそれぞれ RUVBL1 ならびに ILF3 と強く相互作用し、一方をノックダウンするともう一方のタンパク質も安定性を失って消失することが報告されているので、今回の実験では実証していない。それぞれの因子のノックダウンによる mRNA の核内蓄積の度合いは、URH49, RUVBL1, ILF3, HNRNPM の順に大きかった。既知の AREX 複合体構成因子である CIP29 をノックダウンした時でも mRNA 核内蓄積の程度が小さいことから、今回の結果は予想の範囲内であった。また、細胞特異的な現象ではないことを証明するために、ヒト肺基底上皮腺癌由来 A549 細胞またはヒト乳癌由来 MCF7 細胞を用いて同条件で RNA-FISH 法を行った。その結果、U2OS 細胞と同様に各候補因子のノックダウン時に mRNA の核内蓄積が生じた。以上の結果より、各候補因子は URH49 と同様に mRNA 核外輸送能を持つことが明らかとなった。

#### (4) 個別遺伝子の解析

次に URH49 と各候補因子をノックダウンした際に核内に蓄積する mRNA に共通性があるか検討した。UAP56 および URH49 をノックダウンして得られた細胞から精製した total RNA を NGS により解析し、UAP56 あるいは URH49 が特異的に機能を持つ mRNA 種を同定した。例えば、遺伝子 CENPA, MCM2, CHEK1 は URH49 をノックダウンした際に顕著に発現量が減少していたことから URH49 の標的 mRNA とした。細胞質側の cDNA 産物を RT-qPCR により評価することで遺伝子の発現変動をみた。その結果、CENPA, MCM2, CHEK1 において各候補因子のノックダウン時の発現量変動が URH のノックダウン時とよく相関していた。このことから、各候補因子は URH49 とともに CENPA, MCM2, CHEK1 のような遺伝子の核外輸送に共通して寄与することが分かった。つまり、各候補因子は AREX 複合体として mRNA 核外輸送に関わっていることを示唆する結果を得た。

#### (5) 核内蓄積した mRNA は SC35 と共局在する。

各候補因子をノックダウンした際に蓄積する mRNA の局在を観察した。スプライシングが阻害されると、mRNA はスペckルに局在することが知られている。例えば、UAP56 のノックダウンにより蓄積する mRNA は核内スペckルマーカーである SC35 と共局在する。そこで U2OS 細胞を用いて、各候補因子をノックダウンした際に蓄積する mRNA の局在が SC35 と共局在するか検討し

た。その結果、核内蓄積した mRNA は SC35 と共同在した。この結果より、AREX 複合体による mRNA 核外輸送経路にスプライシングが関連することが分かった。

(6) UAP56 と URH49 でスプライシングでの標的遺伝子が異なる。

TREX および AREX 各複合体はスプライシングに寄与する可能性があることが分かった。そこでここでは TREX および AREX 各複合体が行う mRNA 核外輸送とスプライシングの関係について調査した。NGS の結果を解析ツール(rMATS)を用いて解析すると UAP56 および URH49 のノックダウン時で各標的遺伝子におけるスプライシング変動パターンが異なることが分かった。UAP56 の標的遺伝子である MFSD10, HEMK1, DHRS1 では UAP56 のノックダウン時にイントロン保持が生じる。一方で URH49 の標的遺伝子である CAPN2, C1orf63, RHBDF1 では URH49 のノックダウン時にイントロン保持が生じる。この NGS 結果が妥当であることを評価するため、total RNA を cDNA 化したサンプルを用いて、RT-PCR により、イントロン保持の検出を行った。その結果、NGS の結果と相関した結果を得た。

次に核内蓄積の原因が、このイントロン保持が原因であると考えた。そこでイントロンが保持された標的 mRNA の局在を観察するために、UAP56 および URH49 をノックダウンして得られた RNA を核分画と細胞質分画に分けた。この二つに分画された cDNA を用いて UAP56 および URH49 の標的遺伝子のスプライシングパターンを評価した。その結果、UAP56 および URH49 をノックダウンした時に各標的遺伝子において特異的に核内でイントロン保持した標的 mRNA が検出された。その一方で細胞質分画ではイントロン保持した標的 mRNA は検出されなかった。つまり、イントロン保持により遺伝子は核内に蓄積していることが分かった。さらにそれぞれの標的 mRNA のイントロン保持は UAP56 および URH49 のノックダウン時に特異的に検出されたことから、スプライシング段階での mRNA の選択性が生じていることが考えられる。以上の結果から、UAP56 および URH49 が異なる mRNA 輸送経路を持つ一因は、スプライシングにおける標的遺伝子に違いによるものだと分かった。

(7) 複合体での選択的スプライシングの寄与

上記(6)で得られた UAP56 および URH49 でのスプライシングパターンの違いは複合体としての機能なのか評価した。TREX および AREX 各複合体の構成因子を siRNA によってノックダウンした時の各標的遺伝子のスプライシングパターンの変動を観察した。ここでは TREX 複合体の構成因子として UAP56, ALYREF, THOC2, HPR1, AREX 複合体の構成因子として URH49, CIP29, RUVBL1, ILF3, HNRNPM のノックダウン時に得られた核内と細胞質側の RNA を用いた。TREX 複合体においては各構成因子のノックダウン時に生じたイントロン保持のシグナル強度は因子間でばらつきがあった。つまり、今回の結果では TREX 複合体がスプライシングに関与することを明らかにできなかった。一方で AREX 複合体の構成因子をノックダウンすると、生じたイントロン保持が URH49 をノックダウンした時と同様なパターンとなった。また、生じたイントロン保持は核内のみでしか検出されず、細胞質では消失した。このことから URH49 の標的遺伝子においてイントロン保持により mRNA の核内蓄積が生じたことが考えられる。以上の結果より、TREX 複合体に関してはスプライシングと mRNA 核外輸送のつながりは現時点では証明できなかった。一方、AREX 複合体ではスプライシングと mRNA 核外輸送には密接な関係があることが分かった。

次にイントロン保持以外の選択的スプライシングパターンの評価も行った。UAP56 および URH49 をノックダウンした時に特異的にエキソンを包含する遺伝子を選出した。ここではそれらの標的遺伝子のエキソン包含が各複合体の構成因子をノックダウンした時においても検出されるか評価した。まず、UAP56 の標的遺伝子である SPAG9 は TREX 複合体の構成因子のノックダウン時に UAP56 と同様なスプライシングパターン変動が検出された。また、URH49 の標的遺伝子である RPGRIP1 においても AREX 複合体の構成因子のノックダウン時に URH49 と同様なスプライシングパターン変動が検出された。このことから、TREX 複合体および AREX 複合体は異なる遺伝子の選択的スプライシングパターンに関与することで、遺伝子発現の多様化にもたらしていることが考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yanagimichi Maho, Nishino Katsutoshi, Sakamoto Akiho, Kurodai Ryusei, Kojima Kenji, Eto Nozomu, Isoda Hiroko, Ksouri Riadh, Irie Kazuhiro, Kambe Taiho, Masuda Seiji, Akita Toru, Maejima Kazuhiro, Nagao Masaya	4. 巻 25
2. 論文標題 Analyses of putative anti-cancer potential of three STAT3 signaling inhibitory compounds derived from <i>Salvia officinalis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100882 ~ 100882
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2020.100882	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujita Ken-ichi, Ishizuka Takaki, Mitsukawa Mizuki, Kurata Masashi, Masuda Seiji	4. 巻 21
2. 論文標題 Regulating Divergent Transcriptomes through mRNA Splicing and Its Modulation Using Various Small Compounds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2026 ~ 2026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21062026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujita Ken-ichi, Yamazaki Tomohiro, Harada Kotaro, Seno Shigeto, Matsuda Hideo, Masuda Seiji	4. 巻 1863
2. 論文標題 URH49 exports mRNA by remodeling complex formation and mediating the NXF1-dependent pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms	6. 最初と最後の頁 194480 ~ 194480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagrm.2020.194480	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 Kurata Masashi, Fujiwara Naoko, Fujita Ken-ichi, Yamanaka Yasutaka, Seno Shigeto, Kobayashi Hisato, Miyamae Yusaku, Takahashi Nobuyuki, Shibuya Yasuyuki, Masuda Seiji	4. 巻 22
2. 論文標題 Food-Derived Compounds Apigenin and Luteolin Modulate mRNA Splicing of Introns with Weak Splice Sites	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 336 ~ 352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.11.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka Yasutaka, Ishizuka Takaki, Fujita Ken-ichi, Fujiwara Naoko, Kurata Masashi, Masuda Seiji	4. 巻 23
2. 論文標題 CHERP Regulates the Alternative Splicing of pre-mRNAs in the Nucleus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2555 ~ 2555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23052555	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Yu, Nishino Seiya, Fukuda Shizu, Nguyet Vo Thi Anh, Izawa Shingo	4. 巻 1866
2. 論文標題 Severe ethanol stress induces the preferential synthesis of mitochondrial disaggregase Hsp78 and formation of DUMPs in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 130147 ~ 130147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2022.130147	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15件(うち招待講演 6件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 吉岡英恵、猪瀬春子、藤田賢一、増田誠司
2. 発表標題 Bulk poly(A); RNA輸送受容体NXF1補因子NXT遺伝子の哺乳類における多様化とその分子機能
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田 宥哉、藤田賢一、吉岡英恵、増田誠司
2. 発表標題 mRNA輸送因子UAP56とURH49による選択的mRNAスプライシング制御機構の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度仙台大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉元啓悟、藤原奈央子、瀬尾茂人、増田誠司
2. 発表標題 核内エキソソームの分解ターゲットとなるpolyA RNAの解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度仙台大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田 賢一、池田宥哉、吉岡英恵、増田誠司
2. 発表標題 A Molecular mechanism to control selective mRNA exports by UAP56 and URH49, the two closely related DEAD-box helicases.
3. 学会等名 日本RNA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田 賢一、池田宥哉、吉岡英恵、瀬尾茂人、増田誠司
2. 発表標題 UAP56とURH49によるスプライシング制御を介した選択的mRNA輸送機構の解明
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田賢一、池田宥哉、吉岡英恵、瀬尾茂人、増田誠司
2. 発表標題 UAP56とURH49によるスプライシング制御を介した選択的mRNA輸送機構の解明
3. 学会等名 京都生体質量分析研究会シンポジウム
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 三宅 俊太郎、増田 誠司
2. 発表標題 阻害剤を用いたmRNA代謝制御解析
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三宅 俊太郎、増田 誠司
2. 発表標題 核内mRNA代謝制御シグナルの解析-ミトコンドリア呼吸鎖IIIの阻害剤はなぜmRNA代謝に影響するのか
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 倉田雅志、高島裕之、増田誠司、渋谷恭之
2. 発表標題 フラボノイドの抗腫瘍効果；スプライシング阻害による白板症治療薬への応用に向けて
3. 学会等名 日本口腔外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増田誠司、志岐拓哉
2. 発表標題 mRNA核外輸送を制御するDBP5の核膜孔への配位機構
3. 学会等名 日本分子生物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増田誠司
2. 発表標題 食品成分がmRNAスプライシングを調節する
3. 学会等名 Visionary農芸化学100シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田誠司
2. 発表標題 食品成分はスプライシングを介して遺伝子発現を制御する
3. 学会等名 第9回奈良まほろば産学官連携懇話会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田誠司
2. 発表標題 mRNAスプライシングを制御する食品化合物とその分子機構
3. 学会等名 第137回創薬科学セミナー（名古屋大学）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田誠司
2. 発表標題 食品成分によるmRNAスプライシング制御
3. 学会等名 第12回岐阜薬科大学機能性健康食品研究講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤原奈央子、藤田賢一、瀬尾茂人、増田誠司
2. 発表標題 核特異的コファクターによるヒトRNAエキソソーム複合体の活性および基質特異性の制御
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会(招待講演)
4. 発表年 2022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
研究 分担者	井沢 真吾  (Izawa Shingo)  (10273517)	京都工芸繊維大学・応用生物学系・准教授   (14303)	
研究 分担者	片山 高嶺  (Katayama Takane)  (70346104)	京都大学・生命科学研究科・教授   (14301)	

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
---------	---------