

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00448

研究課題名(和文)細胞内相分離を誘導する非コードRNA暗号の解読

研究課題名(英文)Decoding the code for the lncRNA function to induce intracellular phase separation

研究代表者

廣瀬 哲郎(Hirose, Tetsuro)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

研究者番号：30273220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,100,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内相分離を誘発して非膜オルガネラ(MLO)の骨格として機能するlncRNAの作用機構について多面的な解析を実施し、lncRNAの機能ドメイン毎に結合するタンパク質セットによって、ミセル化という相分離過程をへて、シェル-コアの二層からなる内部構造を持つMLOが形成されることを物理理論と細胞生物学実験から明らかにした。さらに、外層シェルのタンパク質構成によって周囲の別のMLOからの独立性が規定されることを明らかにし、それが2種類のRNA結合因子の競合で決定されることを明らかにした。以上のことから、機能的なMLOの構造と存在様式が骨格lncRNA配列にプログラムされていることを示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、近年注目を集めている細胞内の相分離研究の中で、特に非コードRNAが先導する相分離機構に注目して、そのRNA内の責任領域と相互作用因子を同定し、その過程を物理理論に基づいたミセル化モデルとして提唱した。この成果は、当該分野の基盤的な研究指標となる成果である。さらに相分離体を会合するだけでなく、周囲の構造体から独立して存在するための分子機構を明らかにできた点も、今後の相分離体の作動機構を明らかにしていく上での基盤的知見となりうる。本成果は、RNAを相分離体の骨格に利用する利点に関する示唆を与えるものでもあり、RNA分子の新たな基盤的機能という視点でも重要な知見といえる。

研究成果の概要(英文)：We conducted a multifaceted analysis of the mechanism of action of lncRNAs, which induce intracellular phase separation and function as the skeleton of membrane-less organelles (MLOs). Through physical theory and cell biology experiments, we revealed that MLOs with a dual-layered internal structure, consisting of a core and shell, are formed via a phase separation process called micellization, in which sets of protein complexes that bind to specific functional domains of the lncRNA are involved. We also showed that the protein composition of the outer shell determines the independence of MLOs from other surrounding MLOs, which is likely determined by competition between two types of RNA binding factors. These findings demonstrate that the structural and functional characteristics of MLOs are programmed into the architectural lncRNA sequence.

研究分野：細胞生物学

キーワード：RNA 超分子複合体 核構造・機能 細胞小器官 タンパク質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

21 世紀に入って実施されたポストゲノム解析によって、哺乳類ゲノムから数万種類にも及ぶ数の長鎖非コード RNA (lncRNA) が産生されることが明らかにされた。その後、これらの lncRNA は様々な生理機能を担っていることが徐々に明らかになってきた。しかし、その機能を規定している分子機構にまで踏み込まれた例は未だ限られており、さらにこうした機能を規定している lncRNA 配列のルール (RNA 暗号) は未知のままである。実施者は、これまでに細胞内の非膜性構造体の骨格として働く lncRNA を発見しアーキテクチャル RNA (arcRNA) と命名した。さらに arcRNA の作用機構として、RNA 配列に親和性のある複数の天然変性タンパク質を選択的に集約して局所的に細胞内相分離を誘発し、巨大な非膜性構造体を形成していることを明らかにしてきた。非膜性構造体のモデルとして用いているパラスペックルは、NEAT1_2 という arcRNA を骨格として形成されるが、パラスペックルは単なるランダムな凝集体ではなく、内部にシェルとコア insRNA の二層構造を成し、決まった直径の球状形態を持っている。そして NEAT1_2 arcRNA の配列には、このような内部構造や大きさを規定する情報も含まれていることが明らかになってきた。

2. 研究の目的

本研究では、arcRNA による細胞内で観察されるシェル-コア層構造を持ったパラスペックルの複数の形質を構築するための分子機構を詳細に解明することを目的とする。機能的なパラスペックルとは、一定長の直径を持つパラスペックル構造を会合して組み立てる機構、シェル-コアからなる二層の内部構造、さらには核内に存在する他の非膜構造体から分離して存在するための機構など、それぞれの機構を駆動する arcRNA 配列中に備わった RNA 暗号を解読することを目的とする。こうした構造骨格となる arcRNA のドメインに対応した構造体形成機構は、NEAT1_2 だけでなく、類似機能を有している lncRNA がヒトゲノムから産生されている可能性を検証し、arcRNA をより一般性のある lncRNA カテゴリーとして確立させることを目標にして実施者グループがこれまでに発見した arcRNA が共通して有している難抽出性というユニークな性質を利用した独自のゲノムワイド探索法で同定した新規 arcRNA 群の機能解析を通して RNA 暗号の一般性を明らかにし、ゲノムの大部分を占める非コード領域の機能発現を規定するゲノム情報基盤を確立する。

3. 研究の方法

ゲノム編集による NEAT1 arcRNA の作動エレメントの同定

CRISPR-Cas9 によるゲノム編集による NEAT1 arcRNA の変異体を多数作成した。効率良い変異体作成を進めるために、2 つのガイド RNA と Cas9ヌクレアーゼを一体化した発現ベクターを、ヒトのハプロイド細胞株 HAP1 に導入して、目的とする変異体を選別した。変異体の表現型解析は、超解像顕微鏡、電子顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡による観察を行なった。

核内構造体形成の必須因子の同定

データベース上のタンパク質間相互作用情報を基に、既知のパラスペックル必須因子との相互作用因子を選別し、RNAi による機能解析を通して、新規のパラスペックル形成関連因子を同定した。

パラスペックル形成における液体相分離の検討

パラスペックルタンパク質とその変異体の組換えタンパク質を精製し、in vitro で様々なタンパク質濃度、バッファー条件、温度などにおける相分離状況を顕微鏡下で観察した。一方、同様の変異体の in vivo におけるパラスペックル形成能を顕微鏡観察によって評価した。

パラスペックル因子の機能検証

CRISPR-Cas9 によって変異体 NEAT1 上に MS2 フェージ由来 RNA タグ配列を付加した細胞株を樹立した。そこに MS2 コートタンパク質を様々なパラスペックルタンパク質に融合したタンパク質を発現させてテザリングし、それによるパラスペックルの表現型変化を顕微鏡で観察した。In vitro における液相分離実験には、T7RNA ポリメラーゼで転写したビオチン化 RNA 断片を磁気ビーズに結合し、そのビーズを細胞核抽出液と混合し、その際にビーズが凝集する様子を顕微鏡下で観察した。

新規 arcRNA の探索

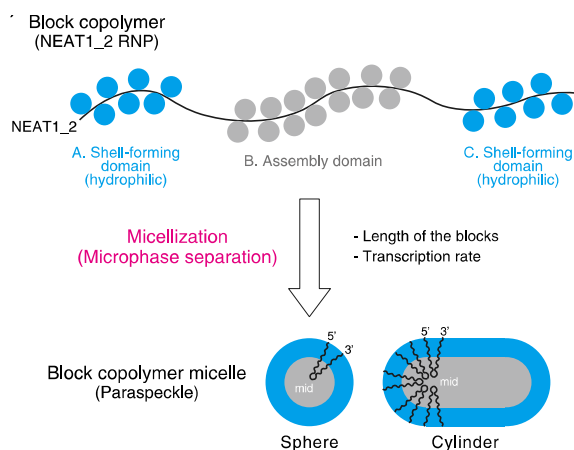
蛍光タンパク質付加ヒト完全長 cDNA ライブラリーを用いて、核内 foci に局在するタンパク質をコードする cDNA を選別し、さらにその核内 foci が RNase 処理によって消失するかどうかを顕微鏡で観察してスクリーニングした。一方、難溶性 RNA の探索には、Triol 試薬に溶かした細

胞溶解液を注射針に通したサンプルと通さない通常のサンプルを用意し、それぞれから抽出した RNA を用いて、RNA-seq 解析を行なった。その結果、注射針を通した際に著しく抽出量が増大した RNA を難溶性 RNA として arcRNA の候補とした。その後各候補の局在を蛍光 in situ ハイブリダイゼーションによって決定した。

4. 研究成果

内部構造を持った非膜構造体パラスペックルの構築モデルの提唱

本研究では、NEAT1 arcRNA を骨格にして相分離形成されるパラスペックルという相分離構造体をモデルにして、arcRNA による相分離構造体の構築、物性決定、作動のための RNA 暗号解読に取り組んだ。相分離構造体の構築機構については、特にシェルとコアという二層の内部構造の形成機構を明らかにすることを目的にして、これまでゲノム編集によって構築した様々な NEAT1 arcRNA の部分欠失変異体を用いた解析によって、シェルとコアの形成に必要な RNA 領域を同定した。さらにこの結果を基に、北海道大学の山本特任准教授との共同研究によるソフトマター物理学理論を取り入れて、NEAT1_2 RNP 複合体を高分子ポリマーのブロック共重合体として捉えた際に、パラスペックルをマイクロ相分離の一種であるミセルと捉えることができるという仮説が提唱され、それをゲノム編集による変異解析などの実証実験によって検証することによってパラスペックルがミセルとして振る舞っていることを明らかにすることができた。この成果は arcRNA による非膜構造体形成の新しいモデルとして EMBO Journal 誌に発表し、その後、総説にもまとめた (Yamazaki et al., EMBO J 2021, Frontier Bio Sci 2023、右図)。



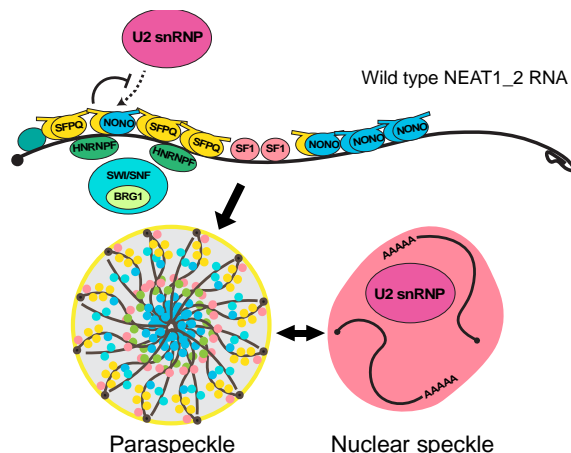
パラスペックルの二層内部構造形成を担う因子の同定

上記のミセルモデルでは、NEAT1 arcRNA がブロック共重合体として末端部位に親水性領域、中央部に疎水性領域を形成している可能性が浮上した。そこで、これらの親水性領域と疎水性領域の責任因子を同定するための MS2 係留系を確立して、その因子の探索を行った。パラスペックル二層構造の親水性シェルの形成を担う NEAT1 領域を欠失した変異体 RNA に MS2 RNA タグ配列を組み込み、そこに特定のタンパク質を係留した際にシェル構造が形成されるものを探索した。その結果、核内の代表的な RNA 結合タンパク質の HNRNP タンパク質の一種がこの機能を担っていることを明らかにした。さらに eCLIP データからこの因子が NEAT1_2 のシェル形成領域に多く結合していることを確認した。さらにこのタンパク質には様々な類似のパラログと別のもう一種の HNRNP タンパク質にもシェル形成を促進する活性があることを明らかにした。そこでこの MS2 RNA 上への係留実験系で、様々な機能ドメインを欠失した HNRNP タンパク質変異体を係留させることによって、シェル形成に必要な機能ドメインを同定することに成功した。一方、疎水性コアはパラスペックルの会合に必要な NEAT1_2 の中央領域とそこに集約される NONO/SFPQ が担っていることがこれまでに明らかになっているので、今回の成果によって、骨格分子の NEAT1_2 arcRNA の 3 つの RNA ドメインが、パラスペックルのシェルとコアをそれぞれ特徴づける RNA 結合タンパク質を選択的に集約して、その結果ミセル化によって機能的なパラスペックルが形成されることが強く示唆された。

パラスペックルが二層内部構造を有する意義の解析

上記の通り、パラスペックルは、疎水性コアの周囲に親水性シェルが層を持つ二層の球状構造体である。こうした二層構造の存在意義を示唆する現象として、パラスペックルが核内に存在する他の非膜オルガネラの核スペックルから分離して独立に存在する機構の解析を進めた。これまでに当グループでは、NEAT1_2 の 2 つの大きな領域を欠失させると、パラスペックル構造を保持したまま、核内スペックル内に取り込まれてしまうことを明らかにしていた。さらにこの欠失領域に結合している少なくとも 3 つのパラスペックルタンパク質の量が減少することによって、パラスペックルが独立に存在することができなくなり、スペックル内に取り込まれてしまう可能性が浮上した。実際に MS2 係留実験によって、この変異体 NEAT1 上にこれらの因子を係留するとパラスペックルがスペックルから分離して独立して存在するようになった。さらに重要な点として、この係留はパラスペックルのシェル上に係留した場合にのみ分離を誘導し、コアに係留した場合は、効果がないことが明らかになった。その後、パラスペックルの欠失変異体で、シェル内の上記因子が減少した結果、何が起きているかを検討したところ、パラスペックルを逆にスペックルへ取り込もうとする促進因子の存在を明らかにした。これによって、2 つの非膜オ

ルガネラの相対的な存在様式は、分離と取り込みの相反する機構のバランスから成り立っていることを明らかにした。またこれらの2つの活性は、やはり NEAT1 の特定領域に依存していることが示唆された。これによって、NEAT1_2 arcRNA 配列には、単なるパラスペックルを会合構築するためだけでなく、出来上がったパラスペックルが的確に核内に独立して存在するための機構まで配列暗号として保持されていることが示唆された。この成果は Nature Cell biology 誌に投稿し、現在リバイス中である (Takakuwa et al. 右図)。このほかに、Yapらによって示されたパラスペックル近傍に位置しているクロマチン座位の中から核内 foci として RNA 転写物が検出される lncRNA について、その発現がパラスペックルシエルによって制御されている可能性を検討したが、NEAT1 の発現上昇とこの lncRNA の発現が逆相関を示すことを見出したものの、パラスペックルの有無によってこの遺伝子発現が制御されていることを示すデータは得られなかった。

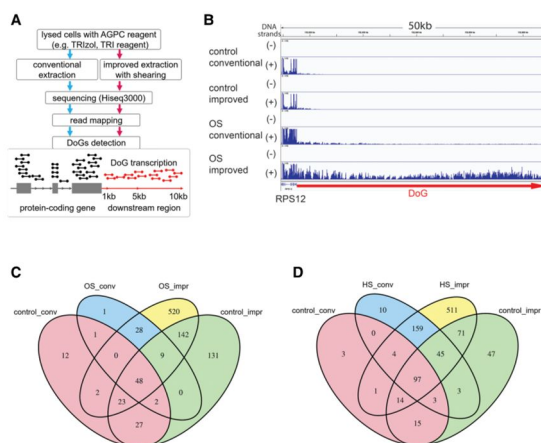


他の非膜構造体が遺伝子発現を制御する機構

パラスペックル以外に arcRNA によって構築される相分離構造体の作動機構の研究にも一部関与したので、その概要を記載しておく。HSATIII arcRNA によって熱ストレス時に形成される核内ストレスポディを介したストレス回復期のスプライシング制御機構のキーとなる温度依存的なリン酸化酵素 CLK1 の係留機構について解析を進め、CLK1 の N 末端天然変性領域にこの係留に関わる領域があることが明らかになった。また CLK1 の相互作用因子の解析から CLK1 の温度依存的な局在変化を担う複数の因子を明らかにした。さらにこの機構とは異なる温度依存的スプライシング機構について、RNA 修飾因子の機構解析を実施し、HSATIII arcRNA の m6A メチル化を介したスポンジ機構によるスプライシング制御機構を明らかにし、EMBO Journal 誌に論文掲載した (Ninomiya et al., EMBO J 2021)。さらに以前当グループが発見した DBC1 という RNA 結合タンパク質を含む新規非膜構造体が細胞株毎に異なる arcRNA を骨格によって組み立てられている可能性を見出し、Molecular Biology of the Cell 誌 (Mannen et al., MBoC 2021) に発表した。

新規非膜構造体の骨格として働く arcRNA 候補の探索

ゲノムワイドな新規 arcRNA の探索については、実施者がこれまでに開発した arcRNA 探索手法である難溶性 RNA-seq を熱、浸透圧、低栄養などのストレス処理細胞で実施して、様々なストレス誘導性の難溶性 RNA 種を同定した。これらは、複数の遺伝子転写物の 3'末端が著しく伸長した DoGs と呼ばれる RNA が各ストレスに応じて合成され、それが著しい難溶性を示すことを見出した。この DoGs の細胞内局在を FISH で解析した結果、核内非膜性構造体様の foci を形成していることが検出された。この成果は RNA 誌に発表した (Iwakiri et al., RNA 2023、右図) また、これまでに実施したストレス条件下の細胞での難溶性 RNA-seq データから血清飢餓ストレスや細胞老化家庭で発現誘導され、高発現かつ難溶性を示す新規な lncRNA を複数種類同定することに成功し、そのうち一つの SIST と命名した lncRNA が細胞内で明瞭な foci を形成していることを見出し新たな arcRNA 候補であることが明らかになった。この他にも異なるストレス条件において比較的高発現の新規な arcRNA 候補は数多く見出されており、ヒトゲノムから多数の arcRNA 様の RNA が発現し、特定の条件下で局所的に相分離構造が形成されていることが推測される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamazaki Tomohiro, Yamamoto Tetsuya, Hirose Tetsuro	4. 巻 9
2. 論文標題 Micellization: A new principle in the formation of biomolecular condensates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 974772-974772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2022.974772	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 Wu Yan, Li Pengfei, Liu Liu, Goodwin Andrew J., Halushka Perry V., Hirose Tetsuro, Nakagawa Shinichi, Zhou Jiliang, Liu Meng, Fan Hongkuan	4. 巻 30
2. 論文標題 lncRNA Neat1 regulates neuronal dysfunction post-sepsis via stabilization of hemoglobin subunit beta	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Therapy	6. 最初と最後の頁 2618 ~ 2632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymthe.2022.03.011	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 Yamamoto Tetsuya, Yamazaki Tomohiro, Hirose Tetsuro	4. 巻 9
2. 論文標題 Triblock copolymer micelle model of spherical paraspeckles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	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/fmolb.2022.925058	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 Iwakiri Junichi, Tanaka Kumiko, Chujo Takeshi, Takakuwa Hiro, Yamazaki Tomohiro, Terai Goro, Asai Kiyoshi, Hirose Tetsuro	4. 巻 29
2. 論文標題 Remarkable improvement in detection of readthrough downstream-of-gene transcripts by semi-extractable RNA-sequencing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RNA	6. 最初と最後の頁 170 ~ 177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1261/rna.079469.122	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 Hirose Tetsuro, Ninomiya Kensuke, Nakagawa Shinichi, Yamazaki Tomohiro	4. 巻 24
2. 論文標題 A guide to membraneless organelles and their various roles in gene regulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Reviews Molecular Cell Biology	6. 最初と最後の頁 288 ~ 304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41580-022-00558-8	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 Gast Martina, Nageswaran Vanasa, Kuss Andreas W., Tzvetkova Ana, Wang Xiaomin, Mochmann Liliana H., ... Poller Wolfgang	4. 巻 11
2. 論文標題 tRNA-like Transcripts from the NEAT1-MALAT1 Genomic Region Critically Influence Human Innate Immunity and Macrophage Functions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 3970 ~ 3970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells11243970	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 Mattick John S., Amaral Paulo P., Carninci Piero, Carpenter Susan, Chang Howard Y., Chen Ling-Ling, ... Wu Mian	4. 巻 -
2. 論文標題 Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Reviews Molecular Cell Biology	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) 10.1038/s41580-022-00566-8	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 Shinichi Nakagawa, Tomohiro Yamazaki, Taro Mannen, Tetsuro Hirose	4. 巻 -
2. 論文標題 ArcRNAs and the formation of nuclear bodies.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mammalian genome	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) 10.1007/s00335-021-09881-5	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 Tomohiro Yamazaki, Tetsuya Yamamoto, Hyura Yoshino, Sylvie Souquere, Shinichi Nakagawa, Gerard Pierron, Tetsuro Hirose	4. 巻 40
2. 論文標題 Paraspeckles are constructed as block copolymer micelles.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The EMBO journal	6. 最初と最後の頁 e107270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2020107270	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 Kensuke Ninomiya, Junichi Iwakiri, Mahmoud Khamis Aly, Yuriko Sakaguchi, Shungo Adachi, Tohru Natsume, Goro Terai, Kiyoshi Asai, Tsutomu Suzuki, Tetsuro Hirose	4. 巻 40
2. 論文標題 m6A modification of HSATIII lncRNAs regulates temperature-dependent splicing.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The EMBO journal	6. 最初と最後の頁 e107976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2021107976	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 Tomohiro Yamazaki, Tetsuro Hirose	4. 巻 373
2. 論文標題 Control of condensates dictates nucleolar architecture.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 486-487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.abj8350	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 Kazuhiro Fukumura, Rei Yoshimoto, Luca Sperotto, Hyun-Seo Kang, Tetsuro Hirose, Kunio Inoue, Michael Sattler, Akila Mayeda	4. 巻 12
2. 論文標題 SPF45/RBM17-dependent, but not U2AF-dependent, splicing in a distinct subset of human short introns.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature communications	6. 最初と最後の頁 4910-4910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-24879-y	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 Taro Mannen, Masato Goto, Takuya Yoshizawa, Akio Yamashita, Tetsuro Hirose, Toshiya Hayano	4. 巻 -
2. 論文標題 Distinct RNA polymerase transcripts direct the assembly of phase-separated DBC1 nuclear bodies in different cell lines	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 mbc.E21-02
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1091/mbc.e21-02-0081	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 Jennifer Cable, Edith Heard, Tetsuro Hirose, 中略, Xuhang Liu	4. 巻 1506
2. 論文標題 Noncoding RNAs: biology and applications-a Keystone Symposia report.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of the New York Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 118-141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nyas.14713	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 Mi Kyung Park, Li Zhang, Kyung-Won Min, 中略, Tetsuro Hirose, Je-Hyun Yoon, Min Sup Song	4. 巻 33
2. 論文標題 NEAT1 is essential for metabolic changes that promote breast cancer growth and metastasis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell metabolism	6. 最初と最後の頁 2380-2397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmet.2021.11.011	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 Tetsuya Yamamoto, Tomohiro Yamazaki, Tetsuro Hirose	4. 巻 16
2. 論文標題 Phase separation driven by production of architectural RNA transcripts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 4692-4698
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9sm02458a	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 Michail S Kukharsky, Natalia N Ninkina, Haiyan An, Vsevolod Telezhkin, Wenbin Wei, Camille Rabesahala de Meritens, Johnathan Cooper-Knock, Shinichi Nakagawa, Tetsuro Hirose, Vladimir L Buchman, Tatyana A Shelkovernikova	4. 巻 10
2. 論文標題 Long non-coding RNA Neat1 regulates adaptive behavioural response to stress in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational psychiatry	6. 最初と最後の頁 171-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-020-0854-2	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 Olof Gidlöf, Kerstin Bader, Selvi Celik, Mario Grossi, Shinichi Nakagawa, Tetsuro Hirose, Bernhard Metzler, Bjo:rn Olde, David Erlinge	4. 巻 11
2. 論文標題 Inhibition of the long non-coding RNA NEAT1 protects cardiomyocytes from hypoxia in vitro via decreased pri-miRNA processing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 677
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-020-02854-7	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 Tomohiro Yamazaki, Tetsuro Hirose	4. 巻 2254
2. 論文標題 CRISPR-Mediated Mutagenesis of Long Noncoding RNAs.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)	6. 最初と最後の頁 283-303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1158-6_18	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 Tomonori Shibata, Konami Nagano, Morio Ueyama, Kensuke Ninomiya, Tetsuro Hirose, Yoshitaka Nagai, Kinya Ishikawa, Gota Kawai, Kazuhiko Nakatani	4. 巻 12
2. 論文標題 Small molecule targeting r(UGGAA)n disrupts RNA foci and alleviates disease phenotype in Drosophila model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature communications	6. 最初と最後の頁 236-236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-20487-4	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47件(うち招待講演 18件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Tetsuro Hirose
2. 発表標題 Construction mechanism of nuclear paraspeckle as an isolated RNP micell
3. 学会等名 EMBO EMBL Symposia: Cellular Mechanisms Driven by Liquid Phase Separation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Regulatory Mechanisms of Intracellular Organization and Gene Expression by Noncoding RNAs
3. 学会等名 千里ライフサイエンス振興財団セミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kensuke Ninomiya, Tetsuro Hirose
2. 発表標題 The dynamics and functions of cytoplasmic HSATIII lncRNAs
3. 学会等名 第23回日本RNA学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tsuyoshi Ueno, Shungo Adachi, Kensuke Ninomiya, Tetsuro Hirose
2. 発表標題 Searching for regulatory proteins for temperature-dependent recruitment of CLK1 to nuclear stress bodies
3. 学会等名 第23回日本RNA学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomohiro Yamazaki, Tetsuya Yamamoto, Hyura Yoshino, Hiro Takakuwa, Sylvie Souquere, Wakana Isshiki, Mizuki Iwata, Rie Doi, Shinichi Nakagawa, Gerard Pierron, Tetsuro Hirose
2. 発表標題 Biomolecular condensates scaffolded by RNAs: towards their theoretical and systematic understandings
3. 学会等名 第23回日本RNA学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Manami Kakuno, Kensuke Ninomiya, Junichi Iwakiri, Kiyoshi Asai, Tetsuro Hirose
2. 発表標題 Combinations of repeat sequences in HSATIII lncRNAs dictate nSB subclasses
3. 学会等名 第23回日本RNA学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiro Takakuwa, Tomohiro Yamazaki, Sylvie Souquere, Shungo Adachi, Tohru Natsume, Masaaki Murakami, Gerard Pierron, Tetsuro Hirose
2. 発表標題 Protein compositions of the shells of the paraspeckles determine their positioning in the nucleus
3. 学会等名 第23回日本RNA学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Regulatory Mechanisms of Intracellular Organization by Noncoding RNAs
3. 学会等名 RNAインフォマティクス道場（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Regulatory mechanisms of intracellular organization and gene expression by noncoding RNAs
3. 学会等名 立命館大国際稀少疾患シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 廣瀬 哲郎, 高桑 央, 山本 哲也, 山崎 智弘
2. 発表標題 Construction mechanism of nuclear paraspeckle as an isolated RNP micell
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土井 理恵, 山崎 智弘, 廣瀬 哲郎
2. 発表標題 構成的アプローチを用いたSARS-CoV-2 viral RNP形成機構の解析
3. 学会等名 RNAフロンティアミーティング2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上野 剛志, 足達 俊吾, 二宮 賢介, 廣瀬 哲郎
2. 発表標題 CLK1の温度依存的な核内ストレス体への リクルートを担う制御タンパク質の同定
3. 学会等名 RNAフロンティアミーティング2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高桑 央, 山崎 智弘, Sylvie Souquere, 足達 俊吾, 夏目 徹, 村上 正晃, Gerard Pierron, 廣瀬 哲郎
2. 発表標題 非膜性構造体パラスペックルの表面に局在するタンパク質の組成がパラスペックルの核内における空間的な配置を決定する
3. 学会等名 RNAフロンティアミーティング2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 角野 愛美, 二宮 賢介, 岩切 淳一, 松田優一, 浅井 潔, 廣瀬 哲郎
2. 発表標題 HSAT111 lncRNAのリピート配列パターン抽出による 核内ストレス体の再構成の試み
3. 学会等名 RNAフロンティアミーティング2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuro Hirose
2. 発表標題 Intracellular Architecture by Noncoding RNAs
3. 学会等名 Academia Sinica IBMS seminar (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 廣瀬哲郎, 山崎智弘, 二宮賢介
2. 発表標題 非コードRNAを足場に形成される核内相分離構造体におけるRNA結合タンパク質の役割
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomohiro Yamazaki, Tetsuya Yamamoto, Hyura Yoshino, Hiro Takakuwa, Sylvie Souquere, Wakana Isshiki, Mizuki Iwata, Rie Doi, Shinichi Nakagawa, Gerard Pierron, Tetsuro Hirose
2. 発表標題 理論と構成的アプローチを用いたRNAを足場とする非膜オルガネラの形成原理の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田瑞季, 山崎智弘, 上野 剛志, 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 構成的手法を用いた核内ストレス体の形成機構の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土井理恵, 山崎智弘, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 構成的アプローチを用いたSARS-CoV-2 viral RNP形成機構の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二宮賢介, 足達俊吾, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 The multifunctionality of HSATIII lncRNAs and its control mechanisms
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上野 剛志, 足達 俊吾, 二宮 賢介, 廣瀬 哲郎
2. 発表標題 CLK1の温度依存的な核内ストレス体へのリクルートを担う 制御タンパク質の同定と解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 角野 愛美, 二宮 賢介, 岩切 淳一, 浅井 潔, 廣瀬 哲郎
2. 発表標題 ヒトゲノム完全配列から読み解くHSATIII lncRNAの配列パターン抽出とその人工化による核内ストレス体再構成の試み
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuro Hirose
2. 発表標題 Microphase Separation and Paraspeckles
3. 学会等名 Keystone Symposia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsuro Hirose
2. 発表標題 The Elements and Machinery of Architectural Long Noncoding RNAs
3. 学会等名 Keystone Symposia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 非コードRNAによる相分離構造体の形成と機能制御
3. 学会等名 第35回JBICバイオ関連基盤技術研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上野剛志, 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Analyses of the temperature-dependent recruitment mechanism of Cdc2-like kinase 1 to nuclear stress body
3. 学会等名 第22回 日本RNA学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎智弘, 山本哲也, SOUQUERE Sylvie, 中川真一, PIERRON Gerard, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Paraspeckles are constructed as block copolymer micells
3. 学会等名 第22回 日本RNA学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高桑央, 山崎智弘, SOUQUERE Sylvie, PIERRON Gerard, 村上正晃, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Molecular grammar of the SFPQ prion-like domain for the paraspeckle segregation from nuclear speckles
3. 学会等名 第22回 日本RNA学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 The novel molecular function of HSATIII lncRNAs in cytoplasm
3. 学会等名 第22回 日本RNA学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 角野 愛美, 二宮 賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 人工リボートRNA発現系による核内ストレス体の形成原理の解析
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上野 剛志, 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 CLK1 の温度依存的な核内ストレス体へのリクルート機構の解明
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高桑 央, 山崎 智弘, Sylvie Souquere, Gerard Pierron, 村上 正晃, 廣瀬 哲郎
2. 発表標題 非膜性構造体パラスペックルが核スペックルと分離して存在するためのSFPQプリオン様ドメインの分子法則
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 豊長類特異的なHSATIII lncRNAの細胞質における新規分子機能
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tetsuro Hirose, Tomohiro Yamazaki, Kensuke Ninomiya
2. 発表標題 Architectural roles of noncoding RNAs in formation and function of nuclear bodies
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Yamazaki, Tetsuya Yamamoto, Sylvie Souquere, Shinichi Nakagawa, Gerard Pierron, Tetsuro Hirose
2. 発表標題 RNAs as scaffolds of biomolecular condensates: from LLPS to micellization
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎智弘, 山本哲也, 高桑央, 吉野彪羅, 一色和奏, Sylvie Souquere, 中川真一, Gerard Pierron, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 非膜性構造体の骨格として働くRNA: NEAT1_2 lncRNA が構築するパラスペックルの研究から学んだこと
3. 学会等名 RNAフロンティアミーティング2021
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 HSAT111 lncRNAの細胞質における動態と分子機能
3. 学会等名 RNAフロンティアミーティング2021
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 角野愛美, 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 人工リボートRNA発現系による核内ストレス体形成機構の解析
3. 学会等名 RNAフロンティアミーティング2021
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 非コードRNAによる細胞内相分離の誘導機構とその意義
3. 学会等名 第84回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Formation and function of phase separated nuclear bodies formed by architectural RNAs
3. 学会等名 第93回 日本生化学会大会(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 ノンコーディングRNAによる相分離構造体形成と機能制御
3. 学会等名 日本遺伝学会 第92回大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 Functional dissection of architectural noncoding RNAs in phase separated membraneless organelles
3. 学会等名 HIGOプログラム最先端研究セミナー（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 ノンコーディングRNAによる核内構造体アーキテクチャ
3. 学会等名 第79回 日本癌学会 学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬哲郎
2. 発表標題 非コードRNAによる相分離構造体の形成と機能制御
3. 学会等名 核酸医薬シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 二宮賢介, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 HSATIII lncRNAs dictate primate-specific response to thermal stress through the dual mechanisms of splicing control
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 高桑央, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 生物物理学的な理解に基づいた相分離構造体パラスペックルの独立性維持機構の解明
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 山崎智弘, 山本哲也, 吉野彪羅, 高桑央, SOUQUERE Sylvie, 中川真一, PIERRON Gerard, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 パラスペックル: RNAを骨格として形成されるミクロ相分離構造体
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 二宮賢介, 廣瀬哲郎	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 62
3. 書名 細胞 2022年7月号 Architectural RNAと液 - 液相分離 (ArcRNAとストレス応答)	

1. 著者名 廣瀬哲郎	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 62
3. 書名 細胞 2022年7月号 Architectural RNAと液 - 液相分離 (総論 細胞内構造の足場としてのRNAの役割)	

1. 著者名 廣瀬哲郎, 山崎智弘, 山本哲也	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 264
3. 書名 セントラルドグマの新常識 (第3章 RNAの新常識 6.細胞内構造体の骨格として働くRNA)	

〔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
研究協力者	山崎 智弘 (Tomohiro Yamazaki)		
研究協力者	二宮 賢介 (Kensuke Ninomiya)		
研究協力者	高桑 央 (Hiro Takakuwa)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	ピエロン ジェラルド (Pierron Gerard)		

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