

一分子顕微鏡解析による核内mRNA-タンパク質複合体の構造多様性の解析

浅田 隆大 博士

Department of Viticulture and Enology, University of California, Davis

2023年7月12日(水) 16:00-17:00 11号館202号室

要旨

真核生物の遺伝子発現は、転写、プロセッシング、核から細胞質へのmRNAの輸送、細胞質における局在、翻訳、さらに分解の制御により複雑に制御される。これらの過程は、様々なRNA結合タンパク質(RNA-binding protein, RBP)がmRNAに結合してmRNA-タンパク質複合体mRNPを形成して制御される。近年の網羅的なmRNA結合タンパク質の解析で、酵母からヒトまで1000程度の多数のRBPが発見されておりその制御の複雑性が示唆されている。網羅的な解析ではmRNAに結合し得るRBPのリストを作り出したが、それらがどのような組み合わせで、何分子ずつ結合して個々のmRNP(制御の各段階におけるmRNPや異なる遺伝子のmRNP)を構築しているのかなどmRNPの詳細な構造は不明のままである。特にmRNAは遺伝子ごとに異なる配列を持ち、発現制御はコードする遺伝子の機能に応じて異なるので、その遺伝子に特化したmRNPの組成を持っていることが考えられ、構成するRBPの定量的な解析が遺伝子発現の制御の多様性を理解するのに重要であると考えられる。

我々は出芽酵母をモデルに、核内のmRNPを細胞内から精製して結合RBPの結合数と組み合わせを一分子のmRNPレベルで定量する一分子蛍光顕微鏡解析法を確立した。この実験法を用いて15のmRNA生合成と輸送に関わるRNPの結合を解析した。解析した各RBPの全核内mRNPの集団における結合頻度の解析から、高頻度に結合し核内mRNPのコアの構造を作るRBP(SR-proteinのNpl3, poly A結合タンパク質Nab2とmRNA exportアダプターYra1)と一部のmRNPのみに結合するRBP(mRNA輸送受容体Mex67やTHO complexなど)が存在することが明らかになった。各RBPの結合数の解析では、RBPの結合数は個々のRBPごとに特異的な分布で多様性があることが明らかになった。特にYra1は50%程度のmRNPには1分子のみの結合を示したが、その他のmRNPには2から10分子のYra1が結合していた。また、Yra1などいくつかのRBPの結合数は酵母の生育条件の違いにより変化した。興味深いことに、複数分子のYra1が結合するmRNPにのみTHO complexが共局在し、その構成因子の欠損で、多数分子のYra1が結合するmRNPが減少した。精製方法を工夫し、一分子のYra1が結合したmRNPと多数分子が結合したmRNPを形成するmRNAをRNA-seqで解析したところ、多数分子のYra1が結合するmRNAは長いmRNAや二次構造を取りやすいmRNAが多いことがわかった。これらのことから、核内のmRNPの構成は遺伝子や生育環境によって決められており、遺伝子発現制御に重要な役割を果たすことが示唆された。

浅田さんはH30年度に本学博士課程を卒業し、UCデービスにポスドク研究員として留学しました。本コロキウムでは、留学先での最新の研究成果についてわかりやすくお話しいたします。

連絡先：東京都立大学理学部化学科 廣田耕志(内線3535) khirota@tmu.ac.jp