

## 細胞情報調節研究分野

### <研究スタッフ>

准教授 黒木 和之

助教 天野 重豊

木戸 敬治 (平成 21 年 12 月 1 日〜、腫瘍分子生物学研究分野)

### <研究概要>

真核生物では、遺伝子は先ず前駆体 RNA として転写され、その後各種のプロセッシングを受けて成熟 RNA となり、細胞内の各所に移行してそれぞれの機能を発現する。RNA の成熟機構には種々の低分子 RNA やそのタンパク質複合体が関与していることが明らかになって来たが、未だ解明されていない点が多く残されており、今後の発展が望まれている分野の一つである。当研究分野では、遺伝子発現に関与する新規低分子 RNA およびタンパク質を探索、同定し、その生成機構及び細胞内での機能を明らかにすることを目的として黒木は B 型肝炎ウイルス及び miRNA、木戸は snoRNA を対象に研究を進めている。また、黒木は B 型肝炎ウイルス感染の分子メカニズムの解明、天野はホヤの生体防御に関わる血球の機能をテーマに研究を進めている。

### <2009 年度の成果、進行状況と今後の計画>

#### B 型肝炎ウイルスの増殖と概日時計 (黒木)

時計制御遺伝子の強制発現は調べたすべてのヒトおよびダック B 型肝炎ウイルス (HBV および DHBV) 遺伝子の発現に影響を与えることがわかり、B 型肝炎ウイルスの増殖は概日時計に制御されている可能性が示唆された。時計制御遺伝子のひとつ、正の制御因子である Retinoid-related orphan receptor  $\alpha$  (ROR $\alpha$ )は、逆にこれらウイルス遺伝子の発現をひじょうに強く抑制し、増殖を阻害する。この抑制は (1) ROR $\alpha$ の DNA への結合を必要としない、(2) DHBV core promoter 上に関与する部位が少なくとも 3 カ所存在することが示された。今後、この ROR $\alpha$ による遺伝子発現抑制の分子機構を解明とともに、概日時計に依存した B 型肝炎ウイルスの増殖様式について明らかにしていく。

#### B 型肝炎ウイルス感染の分子機構 (黒木)

B 型肝炎ウイルス core 遺伝子の promoter 直下にある epsilon 構造 ( $\epsilon$ ) は、DNA 合成の起点として知られているが、DHBV では core 遺伝子の効果的な転写に必要な構造でもあることを示した。 $\epsilon$ 構造は、splicing や promoter-proximal termination の抑制に機能することを明らかにした。

B 型肝炎ウイルスレセプター探索。

## rRNA 修飾における U13 snoRNA の構造・機能相関 (木戸)

18S rRNA のアセチル化シチジンの合成に必須なノンコーディング RNA である U13 snoRNA が、どのようなメカニズムでアセチル化に関わるのかを生化学的に明らかにする目的で、U13 snoRNA と複合体を形成するタンパク質の同定を進めている。MS2 コートタンパクと親和性の高い MS2 RNA タグを挿入した U13 RNA を U13 ノックアウト DT40 細胞で発現させ、その核 extract からリコンビナント MS2 コート-GST タンパク質を用いてアフィニティー精製できるとの期待のもと、様々な条件で精製を試みたが成功には至らなかった。そこで、U13 RNA に相補的なビオチン標識オリゴ RNA を用いて精製する方法に切り替えて精製を行っている。2008 年に、RNA を標的とするアセチル基転移酵素としては最初の報告となる大腸菌 tRNA のアセチル化触媒酵素が同定されたが、このタンパク質と最も高い類似性を示す分子は、高等動物では核小体に局在する NAT10 であり、出芽酵母では rRNA 生合成に必要なタンパク質やリボソームタンパクとの相互作用が示されている KRE33 であったため、NAT10 は U13 RNA と協調して機能するアセチル基転移酵素の有力な候補になると考えており、現在、DT40 細胞においてこの遺伝子のノックアウトを進めている。

## 血球による生体防御と進化について (天野)

免疫系の主要な担い手である血球は *immune surveillance* を行い、がんの発生を未然に防いでいる。哺乳類の血球系は極めて複雑で精巧なシステムであり、それは長い進化の結果得られたものである。従って血球系の全体像を理解するためには、現生の哺乳類の血球を調べるだけでなく、その進化の過程を知ることが不可欠である。無脊椎動物において血球による生体防御機構を明らかにすることにより、哺乳類の血球系の進化を理解する上で重要な知見が得られると考えられる。ヒトと同様に脊索動物門に属するホヤ類は、その分類上の近縁さから血球系の進化を調べる上で興味深い動物群である。ホヤの血球は 10 種類程度に分類されるが、それぞれの血球の機能を調べてきた。Hemoblast は血球幹細胞と想定されているが、未だ確証は得られていない。そこでまず幼若体において、この血球が他のタイプの血球に分化していく過程を明らかにした。成体の血流中に存在する hemoblast も幹細胞であるかどうか、現在調べている。ホヤの生体防御においては、血球による phagocytosis は極めて重要な役割を果たしている。そこでどの血球が phagocytosis 能を持っているかについて調べてきた。今年、phagocytosis する対象 (yeast cells 又は polystyrene beads) によって、phagocytosis する血球が異なることを明らかにした。また phagocytosis 能は多くの場合 *in vitro* で調べているが、*in vivo* でも調べてみると、実際に行う血球が異なっていた。今後も生体防御における各血球の役割を明らかにしていきたい。

< 発表論文 >

< 主な学会発表 >

第 80 回日本動物学会大会 (平成 21 年 9 月 静岡)

天野重豊

「ホヤ血球の "Green cell" について」

第 32 回日本分子生物学会年会 (平成 21 年 12 月横浜)

黒木和之、石川隆

「Retinoid-related orphan receptor  $\alpha$  (ROR  $\alpha$ ) inhibits the activities of the promoters of hepatitis B viruses」